

Определение бета-блокаторов в допинговом контроле методом ВЭЖХ/МСВР с электрораспылительной и химической ионизацией при атмосферном давлении

Вирюс Э. Д., Семенистая Е. Н., Родченков Г. М.

План доклада

1. Проблемы и задачи антидопингового контроля
2. ВЭЖХ/МС высокого разрешения (Orbitrap): использование в рутинных анализах.
Выбор способа ионизации и хроматографической системы для рутинных анализов
3. Определения бета-блокаторов в моче.

Современные проблемы допингового контроля:

- Необходимость осуществлять анализ большого числа биологических проб сложного состава за короткое время (за 14 дней Олимпийских игр анализируются до 2500 проб)
- Необходимость определять большое число соединений при низких концентрациях. Некоторые определяемые соединения имеют эндогенное происхождение (половые гормоны, глюкокортикостероиды) или близки по структуре к эндогенным соединениям (анаболические стероиды)
- Рост числа запрещенных препаратов

Требования к аналитическим методам:

- Высокая чувствительность (нг/мл)
- Высокая селективность
- Универсальность (определение разных классов веществ за один анализ)
- Возможность проведения ретроспективного анализа

Список запрещенных ВАДА препаратов/методов(2009)

Запрещенные классы/методы	Предел обнаружения методами ВЭЖХ/ГХ - масс-спектрометрии, нг/мл
Вещества, запрещенные в соревновательный и внесоревновательный периоды	
Анаболические агенты	2-10
Гормоны и относящиеся к ним соединения	
Бета-агонисты	100
Анти-эстрогены	50
Диуретики и другие маскирующие агенты	250
Химические и физические манипуляции	
Усилители кислородного переноса (кровяной допинг)	
Генный допинг	
Вещества, запрещенные в соревновательный период (дополнительно к перечисленным выше)	
Стимуляторы	200-500
Наркотики	10-200
Каннабиноиды	15
Глюкокортикостероиды	30
Вещества, запрещенные в отдельных видах спорта (дополнительно к перечисленным выше)	
Алкоголь	
Бета-блокаторы	500



Выбор источника ионизации и хроматографической системы

Способ ионизации

Скорость потока газа (N_2), отн.ед.

Скорость потока газа (N_2), отн.ед.

Подвижная фаза

Условия градиентного элюирования

Скорость потока, мл/мин

Хроматографическая система

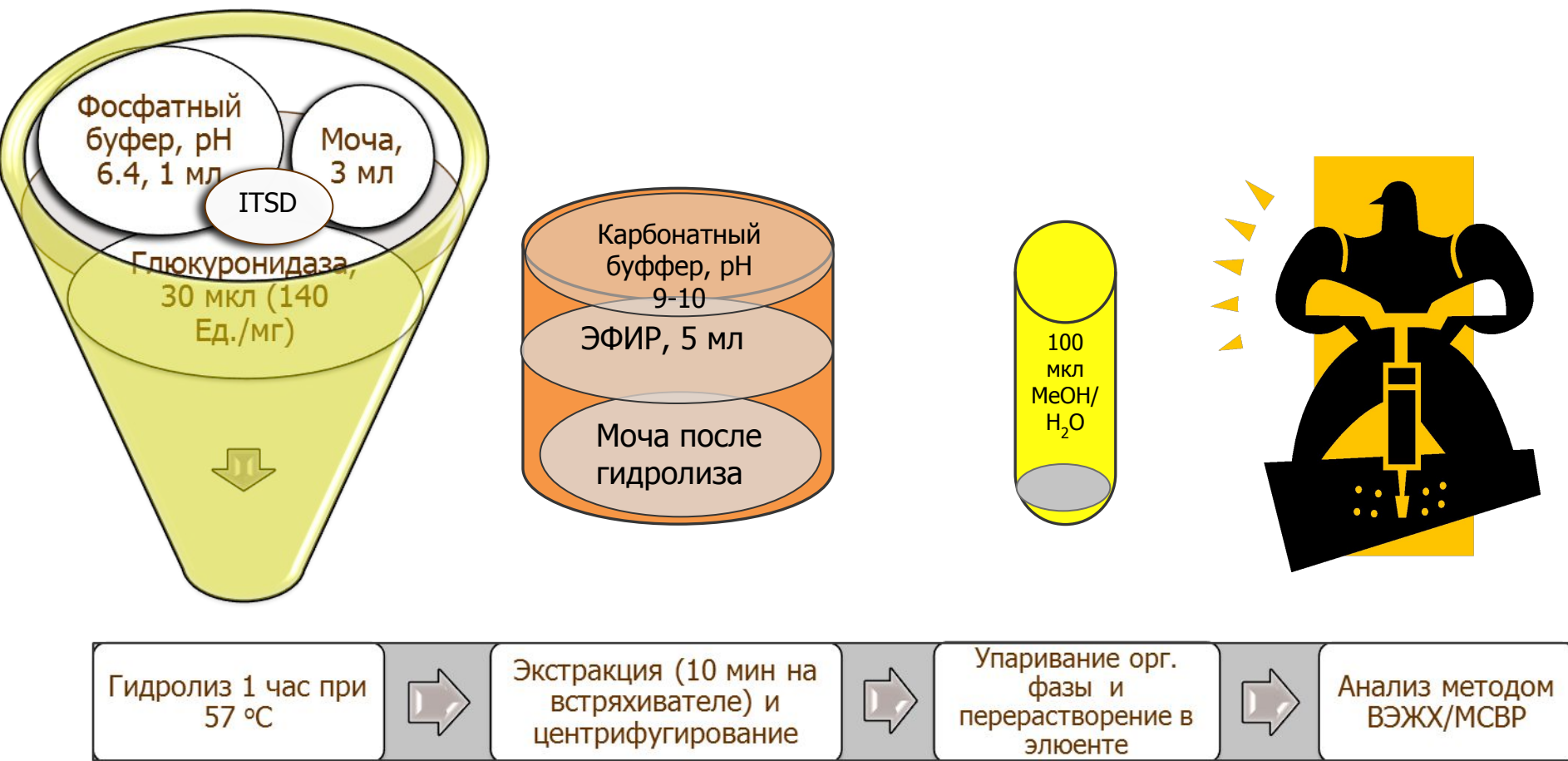
Предколонка

Объем вводимой пробы

Рабочее давление



Схема пробоподготовки

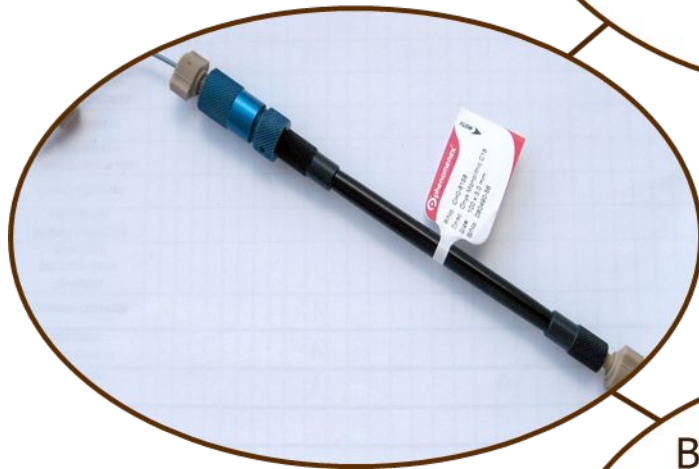


Название		APCI		ESI		APCI		ESI	
Название		APCI		ESI		S/N		t _R , мин	
Название		APCI		ESI		S/N		t _R , мин	
Название		APCI		ESI		S/N		t _R , мин	
Бета-блокаторы									
		t _R	S/N	t _R	S/N			t _R	S/N
		1	Ацебутолол	мин	1.32	12088	1.00	29656	
		2	Алленолол	мин	2.88	57977	8.26	77137	
		3	Бетаксалол	мин	1.14	41448	2.91	64185	
1	3'-	4	Биспролол	мин	2.23	73317	7.34	169892	
		5	Буфопролол	мин	5.98	25413	1.03	114068	
2	16'-	6	Карведилол	мин	6.21	83008	3.61	43071	
		7	Карведилол	мин	8.07	36829	3.47	97884	
		8	Целипролол	мин	6.91	24100	2.55	15564	
		9	Паретаполол	мин	5.90	60158	7.19	24448	
		10	Левобунолол	мин	6.13	13489	3.46	1975	
		11	Метопролол	мин	5.39	5361	9.98	4685	
		12	Метопролол	мин	8.73	15903	6.97	42477	
		13	Оксепролол	мин	7.35	16663	8.04	136731	
		14	Пропранолол	мин	11.12	3386	1.21	3344	
		15	Соранола	мин	7.78	29235	12.22	6774	
		16	Талинолол	мин	7.78	29235	12.22	6774	
		17	Тимолол	мин	1.36	46695	5.52	35991	
		18	Эсмолол	мин	1.65	26394	6.26	61755	

Использование химической ионизации для создания более универсальной скринниговой процедуры.

Экспрессный анализ благодаря высоким скоростям потока.

Возможность промывки различными растворителями продлевает срок службы предколонок и колонок.



Где можно более детально ознакомиться нашей работой

E.D. Virus, T.G. Sobolevsky, G.M. Rodchenkov. Introduction of HPLC/orbitrap mass spectrometry as screening method for doping control // **Journal of mass spectrometry**. 2008. 43 (7). P. 949-957

Э.Д. Вирюс, Г.М. Родченков. Применение метода высокоэффективной жидкостной хроматографии / масс-спектрометрии высокого разрешения с фотоионизацией при атмосферном давлении для детектирования ультрамалых количеств анаболических стероидов // **Масс-спектрометрия**, 2007, Т. 4, С. 275 – 283

Э.Д.Вирюс, Т.Г.Соболевский, Г.М.Родченков – Обнаружение оксандролона и его метаболита в моче методом высокоэффективной хроматографии/масс-спектрометрии высокого разрешения с орбитальной ловушкой с химической ионизацией при атмосферном давлении после прекращения его приема // **Журнал аналитической химии**, 2009, 64 (1), С. 38-42

Е. Н. Семенистая, М. А. Дикунец, Э. Д. Вирюс, Г. М. Родченков. Определение экземестана и 17-гидроксиэкземестана методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией и масс-спектрометрией высокого разрешения // **Журнал аналитической химии**, 2010, 65 (5), С. 513–521