

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

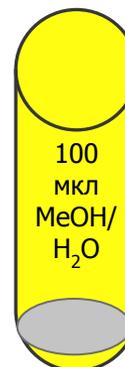
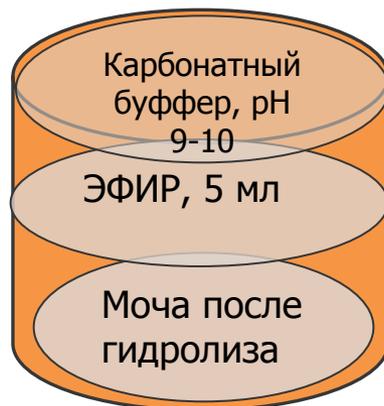
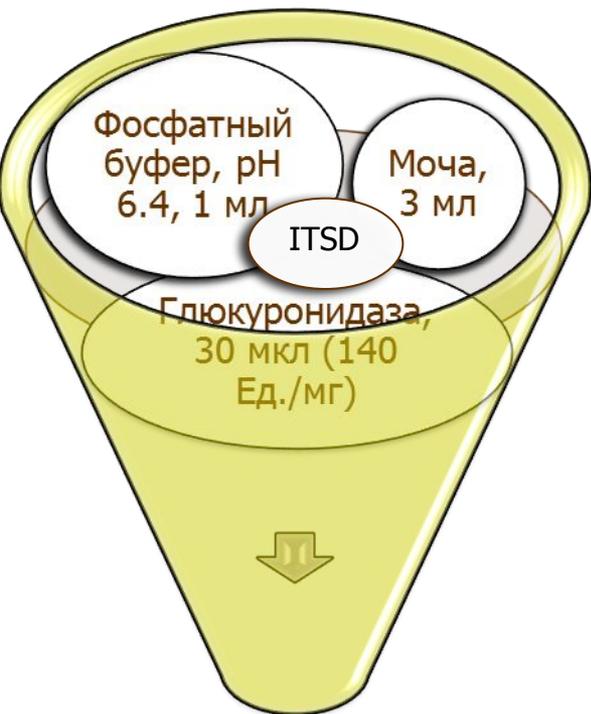
Предколонка

Объем вводимой пробы

Рабочее давление



Схема пробоподготовки



Название		Название		APCI		ESI	
Название		APCI		ESI		t _R , мин	
Название		APCI		ESI		S/N	
Название		APCI		ESI		S/N	
Бета-блокаторы							
		t _R , мин	S/N	t _R , мин	S/N	t _R , мин	S/N
		1	Ацебутолол	мин	1.32	12088	29656
		2	Атиенолол	мин	2.88	57977	77137
		3	Бетаксолол	мин	1.14	41448	64185
1	3'-гидроксистероиды	4	Биспролол	мин	2.23	73317	169892
		5	Буфупролол	мин	5.98	25413	114068
2	16'-гидроксистероиды	6	Карведилол	мин	6.21	83008	4637
3	оксандролол	7	Карведилол	мин	8.07	97884	134842
4	эпиксандролол	8	Целипролол	мин	6.91	15564	75883
5	флюоксиметерол	9	Лабеталола	мин	5.90	26731	24448
6	трэнбутиламол	10	Левобунолол	мин	6.13	7909	42054
7	эбитрофанол	11	Метипранолол	мин	5.39	48018	185364
8	6-гидрокси-3-оралтуринабол	12	Метопролол	мин	8.73	21117	42477
9	эпиметендиол	13	Окепренолон	мин	7.35	87565	136731
10	оралтуринабол	14	Пропранолол	мин	11.12	4588	3344
11	гестринон	15	Соралил	мин	7.78	100184	135628
12	тетрагидрогестринон	16	Талинолол	мин	12.22	6774	35991
		17	Тимолол	мин	1.36	46695	35991
		18	Эсмолол	мин	1.65	26394	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