

применением продукция не может считаться безопасной. На начальном этапе токсиколого-гигиенической оценки необходимо установить параметры токсикометрии при однократном воздействии.

Цель работы – установить в токсикологических экспериментах верхние параметры токсичности ДИНФ в условиях однократного эпикутанного и ингаляционного воздействия.

Определение степени опасности отравления при трансдермальном пути поступления проведено на 10 беспородных белых крысах-самцах, наблюдение за состоянием крыс проводили в течении 14 суток с регистрацией развития симптомов интоксикации [1]. Токсичность ДИНФ при статической ингаляционной затравке изучали на белых мышах обоего пола (10 самцов и 10 самок) в эксикаторах объемом 20 дм³. Длительность ингаляционной затравки составила 2 ч, после чего за состоянием подопытных животных наблюдали еще в течении 14 суток [1]. Обращение с животными соответствовало этическим принципам надлежащей лабораторной практики [2]. Результаты исследований обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез был принят $p \leq 0,05$.

Во время изучения токсических свойств ДИНФ в условиях эпикутанного воздействия в период наблюдения после однократных аппликаций не зарегистрировано проявлений интоксикации и гибели животных. В пересчете на массу тела подопытных животных экспозиционная доза ДИНФ составила 5000 мг/кг, что является максимально возможной величиной для условий данного эксперимента. В условиях проведения ингаляционной затравки ДИНФ наливался в чашки Петри для свободного испарения в нативном виде. В последующие 14 суток наблюдения после воздействия гибели животных и признаков интоксикации не наблюдалось. Мыши были подвижны, у них сохранялся нормальный уровень спонтанной двигательной активности. К окончанию эксперимента прирост массы тела животных, подвергнутых воздействию ДИНФ, не имел достоверных отличий по сравнению с контролем.

В результате проведенных на двух видах лабораторных животных исследования токсических свойств ДИНФ при однократном эпикутанном и ингаляционном путях воздействия, установлено, что препарат, согласно ГОСТ 12.1.007-76, относится к IV классу опасности (вещества малоопасные) $DL50 > 2500$ мг/кг для мышей и крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ: инструкция: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 14.12.2004. – Минск, 2004. – 43 с.

2. Надлежащая лабораторная практика: ТКП 125–2008 : утв. Постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь 28.03.2008, № 56. – Введ.01.05.2008. – Минск, 2008. – 35 с.

РАЗРАБОТКА ЗАВИСИМОГО ОТ ДАННЫХ МС/МС-АНАЛИЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

DEVELOPMENT OF DATA DEPENDENT MS/MS ANALYSIS USING HIGH-RESOLUTION CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY

И. А. Гулюта^{1,2}, Я. В. Тихонова^{1,2}, В. Э. Сяхович^{1,2}, С. Б. Бокуть¹, С. А. Беляев²
I. Hulyata^{1,2}, Y. Tsikhanava^{1,2}, V. Syakhovich^{1,2}, S. Bokut¹, S. Beliaev²

¹*Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь
gulyta92@outlook.com*

²*Учреждение здравоохранения «Национальная антидопинговая лаборатория»,
аг. Лесной, Республика Беларусь*

¹*Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus,*

²*National Anti-Doping Laboratory, Lyasny, Republic of Belarus*

В современных научных дисциплинах естествознания все большую роль в качестве аналитического метода играет масс-спектрометрия в связи с чем разработка методов определения соединений различной природы, а также подходы к разработке данных методов с использованием совместимых с данным устройством ПО. При написании работы был использован хромато-масс-спектрометрический метод анализа для разработки «зависимого от данных МС/МС-анализа». Были проанализированы образцы с различными биологическими матрицами, содержащими в качестве анализируемого соединения анаболические стероиды.

In modern scientific disciplines of scientific and technical developments in the field of mass spectrometry in connection with the development of methods for determining the different nature, as well as approaches to the development of these methods using compatible software with this device. When writing this work, a method

of analyzing mass spectrometric data was used to analyze the «data-dependent MS/MS analysis». Samples with different biological matrices containing the analyte of anabolic steroids were analyzed.

Ключевые слова: хромато-масс-спектрометрия, зависимый от данных МС/МС-анализ, масс-спектрометрия высокого разрешения, стероиды.

Keywords: chromatography-mass spectrometry, data-dependent MS/MS analysis, high resolution mass spectrometry, steroids.

Анаболические стероиды играют важную роль в жизни современных людей вне зависимости от происхождения. Важную составляющую в подходе определения данных соединений играет выбор аналитической системы, опирающейся на характеристические свойства молекул, позволяющие определенно точно выделить данное соединение среди огромного числа соединений матрицы, в которой оно находится. Вследствие этого перспективным методом является гибридный аналитический метод – хромато-масс-спектрометрия (рисунок). В данной работе проведена разработка «зависимого от данных МС/МС-анализа» образцов, содержащих анаболические стероиды. В ходе разработки были проанализированы образцы, содержащие мочу, прошедшую пробоподготовку методом «dilute-and-shoot». Разработка анализа, а также обработка данных проводилась при помощи ПО Xcallibur фирмы Thermo. Образцы, содержащие мочу человека, а также культуральную среду были использованы как бланковые образцы. При обработке полученных данных в результате анализа бланковых образцов в список исключений были внесены ионы матрицы, для повышения отношения сигнал/шум при сканировании масс-детектором ионов, содержащихся в анализируемом образце.

После проведения анализа аналитически значимых соединений, была установлена оптимальная ширина допустимого значения m/z иона, включаемого в список исключений МС/МС-распада, а также в список временного исключения МС/МС-распада. В результате анализа была установлена закономерность. При установке значения, отличного от минимального наблюдалось ошибочное занесение аналитически значимых ионов в данные списки, в результате чего они не детектировались и не подвергались МС/МС-распаду. В ходе обработки полученных данных был установлен минимальный порог детектирования ионов с последующим МС/МС-распадом, что в свою очередь повысило эффективность анализа, в связи с отсутствием дополнительного сканирования ионов низкой интенсивности.

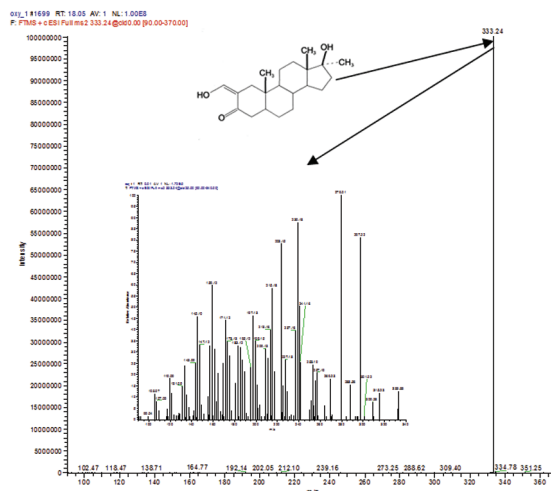


Рисунок – Модельное представление масс-спектра при использовании зависимого от данных МС/МС-анализа на примере иона оксиметалона

В результате разработки данного анализа были достигнуты оптимальные параметры для детектирования и фрагментирования соединений, содержащихся в малых количествах в биологических средах, что способствует его использованию в скрининговых анализах, в которых имеет место масс-спектрометрический метод в сочетании с ВЭЖХ. При использовании вышеназванного типа анализа с дополнительными базами данных по фрагментарным ионам соединений, делает его незаменимым при изучении метаболомики, протеомики и других смежных областей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Manuel Bauer, Erik Ahrné, Anna P. Baron, Timo Glatter, Luca L. Fava, Anna Santamaria, Erich A. Nigg, and Alexander Schmidt Evaluation of Data-Dependent and Independent Mass Spectrometric Workflows for Sensitive Quantification of Proteins and Phosphorylation Sites / Manuel Bauer и др. // J. Proteome Res. – 2014. – №13 (12). – P. 5973–5988.
2. Sobolevsky, T. Mass spectrometric description of novel oxymetholone and desoxymethyltestosterone metabolites identified in human urine and their importance for doping control. / Sobolevsky T, Rodchenkov G. // Drug Test Anal. – 2012. – № 4(9). – P. 682–691.