

### Методы скрининга в допинг-контроле с помощью газовой хроматомасс-спектрометрии

Спортивный допинг противоречит не только самой идее справедливого соревнования, он несет заметный урон здоровью спортсменов. По этой причине проводится регулярный допинг-контроль спортсменов в соответствии с правилами Всемирного Антидопингового Агентства (WADA). В таблице 1 перечислены основные инструментальные методы при проведении допинг-

скрининга. Квадрупольный газовый хроматомасс-спектрометр (ГХ-МС) используется для анализа труднолетучих наркотических средств, диуретиков и  $\beta$ -блокаторов. В данном сообщении описывается анализ нелетучих наркотиков, проведенный совместно с Биоклинической лабораторией MITSUBISHI KAGAKU, официально уполномоченной WADA.

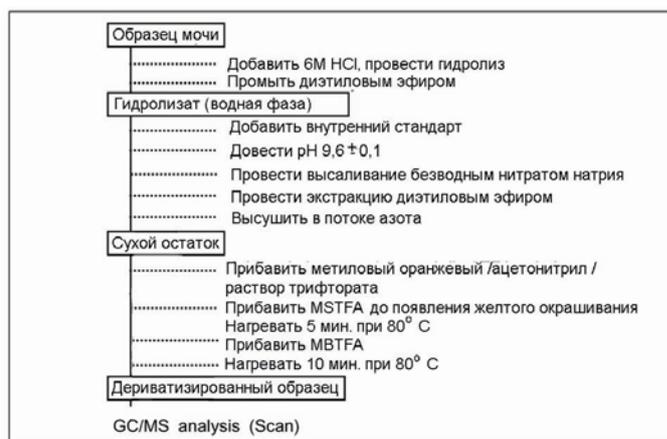
**Таблица 1. Классификация методов скрининга в допинг-анализах у спортсменов.**

№ п/п	Классы соединений	Пример	Метод анализа
1	Летучие наркотические соединения	Амфетамин	ГХ-ТИД
2	Труднолетучие наркотические соединения	Метаболиты кокаина	ГХ-МС
3	Термолабильные соединения	Дексаметазон	ЖХ-Q-TOF
4	Designer стероиды	Тестостерон	ГХ-МС (режим SIM)
	Анаболические стероиды	Станозолол	ГХ-МС высокого разрешения
5	Диуретики	Фуросемид	ГХ-МС (режим SIM)
6	Стероидные гормоны	Андростендион	ГХ-МС изотопного разрешения
7	$\beta$ -блокаторы	Метопролол	ГХ-МС (режим Scan)
	Пептидные гормоны	Эритропоэтин, ХГЧ	ИФ-анализ, иммуноблоттинг

#### ■ Аналитические процедуры.

Обработка пробы для анализа и условия его проведения на ГХ-МС приведены на рис. 1 и в табл. 2 соответственно.

При подготовке пробы к 5 мл образца мочи прибавляют 6 М соляную кислоту и выдерживают 30 мин при 105°C для проведения гидролиза. После промывки диэтиловым эфиром к водной фазе прибавляют 2-метил-2-пропанол и внутренний стандарт, доводят pH до значения 9.6±0.1 и проводят экстракцию диэтиловым эфиром. Экстракт высушивают в атмосфере азота. К сухому остатку добавляют растворы метилового оранжевого, ацетонитрила и трифторацетата, затем MSTFA до появления желтого окрашивания, выдерживают 5 мин при 80°C, прибавляют MBTFA и нагревают смесь 10 мин при 80°C, получив таким образом N-TFA-O-TMS дериватизат пробы.



**Рис. 1. Схема пробоподготовки в Методе Скрининга №2.**

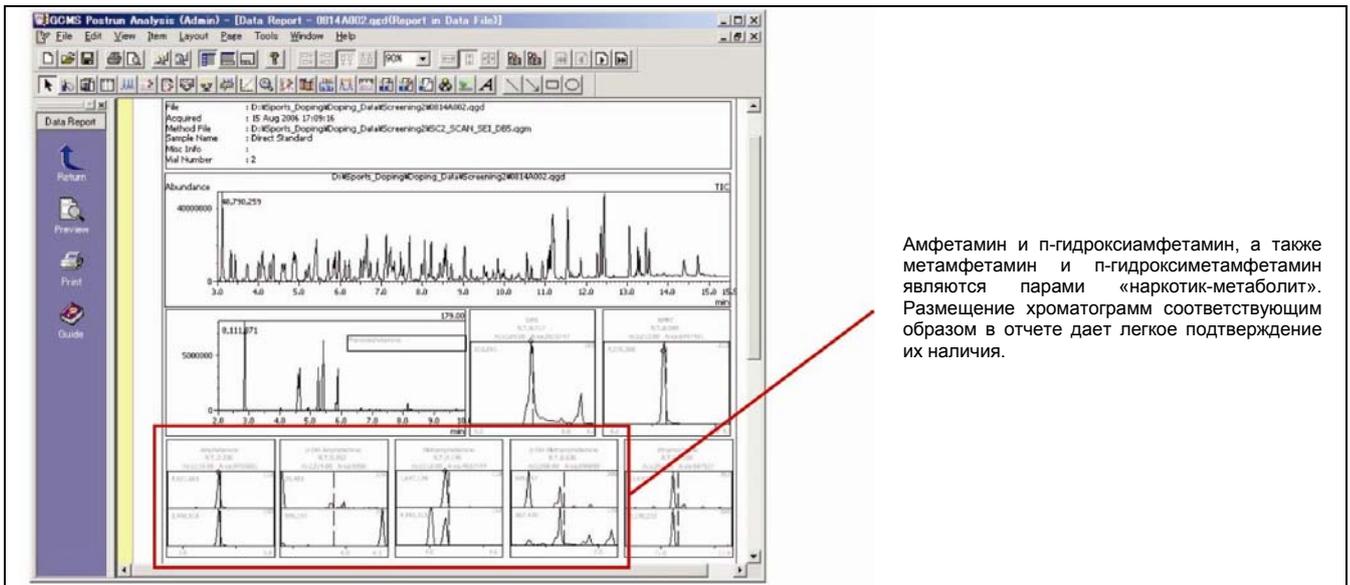
**Таблица 2 Аналитические условия**

Модель	: GCMS-QP2010		
Программное обеспечение	: GCMSsolution Ver 2.5		
Колонка	: DB-5 (15м x 0,25мм x 0.25мм)		
- GC-		-MS-	
t <sup>0</sup> инж.	: 280°C	t <sup>0</sup> интерфейса	: 300°C
t <sup>0</sup> колонки	: 100°C (1 мин) – 16°C/мин – 300°C (2 мин)	t <sup>0</sup> ионного источника	: 200°C
Газ-носитель	: He (Режим постоянной линейной скорости)	Диапазон сканирования	: m/z 50-550
Линейная скорость	: 51,8 см/сек	Интервал сканирования	: 0,5 сек
Метод инъекции	: с делением потока		
Деление потока	: 11:1		

■ **Формат отчетов спортивных допинг-тестов.**

Чтобы представить результаты тестирования наиболее эффективно, необходимо расположить показания по каждому соединению в легком для восприятия формате. Например, отчет должен быть максимально компактным, а хроматограммы

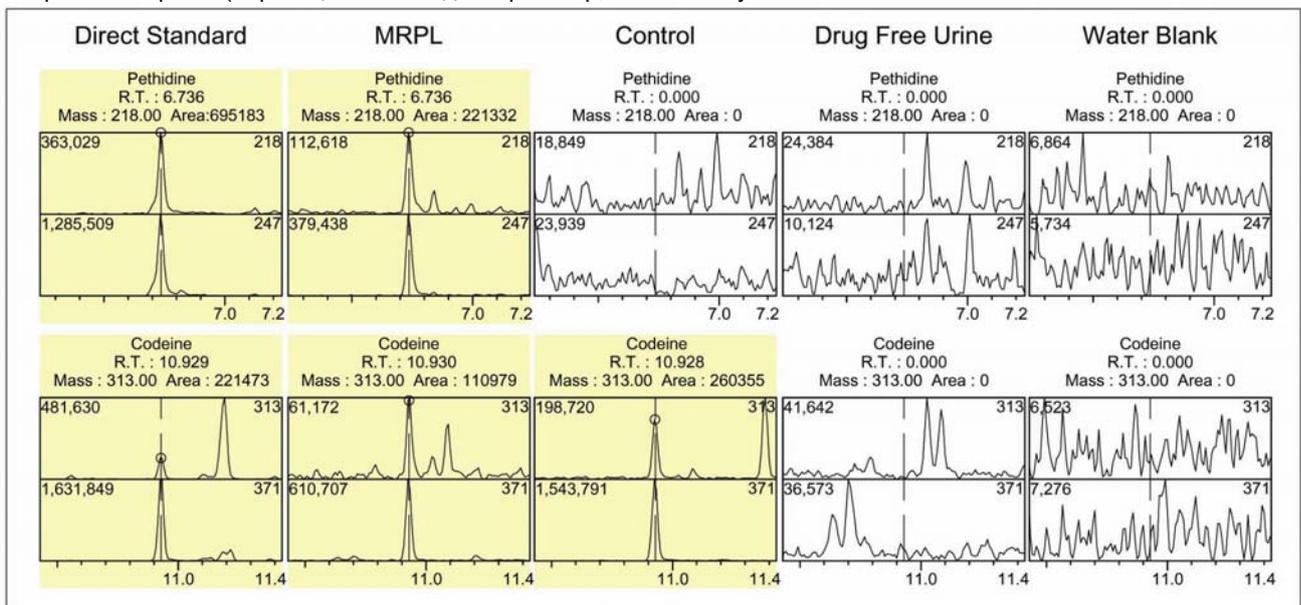
наркотиков и их метаболитов должны размещаться рядом. ПО GCMSsolution позволяет без проблем внести в единый отчет все хроматограммы и разместить их наиболее удобным для восприятия способом (рис. 2).



**Рис. 2** Окно создания отчета

Чтобы обеспечить надежность результатов, WADA требует проведения различных подтверждающих тестов. В случае применения скринингового метода №2 для подтверждения чувствительности ГХ-МС методики установлен минимальный требуемый уровень (MRPL) определения 0.5 мкг/мл (для стрихнина - 0.2 мкг/мл)<sup>1</sup>. Кроме того, анализ контрольной пробы (образец мочи и водный раствор,

не содержащие наркотиков) требует точного соблюдения процедуры пробоподготовки. На рис. 3 показаны результаты анализов в отчете, сгенерированном посредством ПО GCMSsolution. Хроматограммы нескольких анализов расположены так, что можно легко определить присутствие или отсутствие анализируемых соединений даже визуально.



**Рис. 3** Пример отчета анализа на наличие спортивного допинга

<sup>1</sup>: Минимальные пределы детектирования запрещенных препаратов – Технический документ WADA TD2004MRPL