

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ОТРАВЛЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В БИОЖИДКОСТЯХ МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС

И.А. Родин

Химический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова, кафедра аналитической химии

Производные метилфосфоновой кислоты обладают способностью эффективно ингибировать фермент ацетилхолинэстеразу, отвечающую за передачу нервных импульсов в организме человека, тем самым вызывая неконтролируемые сокращения всех мышц в организме. Токсический эффект этих веществ проявляется даже при очень низких дозах, что обуславливает их использование в качестве боевых отравляющих веществ так называемого нервно-паралитического действия. На вооружении российской армии состоят три основных типа фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ): представляющих собой производные алкиловых эфиров метилфосфоновой кислоты: изопропилового (зарин), пинаколилового (зоман) и изобутилового (VX). Участие России в международных конвенциях предполагает ликвидацию запасов химического оружия, а также разработку способов контроля и обнаружения фактов применения ФОВ и точной идентификации типа использованного вещества.

После поступления в организм, ФОВ быстро подвергаются гидролизу с образованием достаточно устойчивых метаболитов – алкилметилфосфоновых кислот, обнаружение в организме человека или животного которых является фактом, свидетельствующим о воздействии на организм ФОВ, а идентификация обнаруженной алкилметилфосфоновой кислоты позволяет установить тип использованного химического оружия.

Разработан и апробирован подход к обнаружению, идентификации и определению изопропил-, изобутил-, и пинаколилметилфосфоновых кислот в плазме крови млекопитающих. Подход основан на использовании метода ВЭЖХ-МС. Стадия пробоподготовки образцов плазмы крови включает удаление белков и очистку методом ТФЭ на полимерных сорбентах. Полученные экстракты разделяют в градиентном варианте ОФ ВЭЖХ на колонке Synergi Hydro RP с последующим масс-спектрометрическим детектированием (химическая ионизация при атмосферном давлении, режим регистрации выделенных отрицательно заряженных характеристичных ионов – депротонированных молекул). Пределы обнаружения для указанных алкилметилфосфоновых кислот в плазме составляют 0,6 – 4 нг/мл. Для повышения достоверности анализа используются дейтерированные внутренние стандарты. На образцах плазмы крыс, получавших несмертельные дозы ФОВ, показано, что достоверное обнаружение метаболитов возможно вплоть до 48 – 72 часов с момента интоксикации.