

I Всероссийская конференция
с международным участием

«Химический анализ и медицина»

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

«Химический анализ и медицина»



I Всероссийская конференция



СБОРНИК ТЕЗИСОВ

Участникам Всероссийской конференции «Химический анализ и медицина»

Глубокоуважаемые коллеги!

Медики давно и в больших масштабах используют химический анализ, достаточно назвать анализ крови или мочи. С другой стороны, профессионалы-аналитики разрабатывают всё новые и новые методы и методики анализа биомедицинских объектов. Однако сообщества медиков и аналитиков, к сожалению, имеют у нас не очень много точек соприкосновения, эти сообщества как «два берега у одной реки». Между тем очевидна необходимость возведения мостов, нужно более плотное взаимодействие.

Химический анализ служит важным средством диагностики заболеваний; это, по-видимому, наиболее обширная область медицинского использования достижений аналитической химии. Здесь огромное поле совместной работы. Другие направления, где анализ играет значительную роль, – это санитарно-гигиенический контроль, спортивная медицина, быстрая идентификация микроорганизмов.

Специалисты-аналитики полны решимости разрабатывать эффективные приемы анализа медицинских объектов, но им нужна наводка, им нужно знать, куда направлять усилия. Кроме того, есть сферы, где хороший результат может быть достигнут только при совместной работе аналитиков и медиков (как, например, при отыскании новых маркеров заболеваний). Надеюсь, что конференция будет стимулировать такие контакты, будет способствовать укреплению связей между двумя рассматриваемыми сообществами.

Председатель
Научного совета РАН по аналитической химии
академик РАН

Ю.А. Золотов



Приветственное слово



«Наука никогда не бывает более точной,
чем когда она удовлетворяет
потребностям человека»

/Томас Джефферсон/

Уважаемые коллеги – участники I Всероссийской конференции с международным участием «Химический анализ и медицина»!

От всей души хочу поблагодарить вас за проявленный интерес к данной конференции.

В 2010 году по инициативе академика Юрия Александровича Золотова была создана комиссия по анализу медицинских объектов Научного совета РАН по аналитической химии. Уже первый семинар, проведенный этой комиссией, показал актуальность и большую значимость исследований, проводимых на стыке наук: аналитической химии, биохимии и медицины.

Данная конференция является логическим продолжением этой работы и позволяет создать условия для общения и плодотворного сотрудничества ученых из разных областей науки, представителей практического здравоохранения, клинических лабораторий для обмена опытом и координации усилий для решения химиками-аналитиками конкретных задач медицины и экологии человека и, в конечном итоге, для улучшения качества жизни.

Особенно хочу обратиться к молодым ученым: наша конференция предоставляет вам возможность ознакомиться с опытом старших коллег и обобщить его, а большая практическая значимость ваших исследований в такой важной области, как медицина, должна вдохновить вас на новые успехи и достижения и мотивировать ваше научное творчество.

Желаю всем участникам плодотворной работы, новых интересных задач и их успешных решений.

Удачи во всем!

Сопредседатель оргкомитета,
Председатель комиссии по анализу
медицинских объектов
профессор

Бабкина С.С.



Пробиотек

НАПРАВЛЕНИЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ «НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОГО ЦЕНТРА ПРОБИОТЕК»

Современный виварий для содержания лабораторных животных

Доклинические исследования новых лекарственных средств

Изучение сравнительной антимикробной активности антибиотиков (in vitro)

Биоаналитическая лаборатория, оснащенная современным научным оборудованием (ВЭЖХ-МС/МС)

Разработка новых высокочувствительных иммуноферментных методов для медицинской диагностики и технологии производства наборов реагентов

Тест сравнительной кинетики растворения лекарственных средств

Клинический центр с собственным стационаром для испытания препаратов различного терапевтического профиля

Собственная клиничко-диагностическая лаборатория

Адрес: 111024, г. Москва, ул. 5-я Кабельная, д.2-Б
Телефон: +7 (916) 577 7358
Электронная почта: vladimir.pisarev@probiotech.ru
Сайт: www.probiotech.ru

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
НАУЧНЫЙ СОВЕТ РАН ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ
КОМИТЕТ ГОСУДАРСТВЕННОЙ ДУМЫ ПО ОХРАНЕ ЗДОРОВЬЯ
КОМИТЕТ ГОСУДАРСТВЕННОЙ ДУМЫ ПО ПРИРОДНЫМ РЕСУРСАМ,
ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЮ И ЭКОЛОГИИ
ИНСТИТУТ ОБЩЕЙ И НЕОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ им. Н.С. КУРНАКОВА РАН

**I Всероссийская конференция
с международным участием
«ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И МЕДИЦИНА»**

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

09–12 ноября 2015
Москва

УДК 543.4/.5(075.8).

ББК 24.46я73. К68

Сборник тезисов I Всероссийской конференции с международным участием «ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И МЕДИЦИНА», 09–12 ноября 2015, г. Москва – М.: Печатный дом «КАСКОН», 2015, 156 с.

Все материалы в сборнике опубликованы в редакции авторов.

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

THE USE OF STRONG ION EXCHANGERS IN ANALYSING PROTEINS/ PEPTIDES

Becker F., YMC Europe GmbH, Germany

Conventionally, weak IEX materials are used for separations of biomolecules such as peptides, proteins, monoclonal antibodies (MAbs) and DNA. This presentation will demonstrate the benefits of using strong IEX phases and describe some examples of the superior resolution possible for these biomolecules. We will also demonstrate the suitability of these strong IEX materials for peptide mapping of tryptic digests of BSA. Important issues such as gradient and eluent optimisation will also be described.

A comparative case study will demonstrate the benefits of the strong cation exchanger, YMC-BioPro SP-F, compared to a weak cation exchanger. For this purpose the resolution for different proteins and throughput values for human monoclonal IgG1 will be presented.

YMC-BioPro IEX materials are based on either porous or non-porous hydrophilic polymer beads with low non-specific adsorption and particle sizes from 3 to 75 μm are available for all scales or application. They are available as a strong anion exchanger (quaternary ammonium, YMC-BioPro QA) and a strong cation exchanger (sulfopropyl, YMC-BioPro SP). Compared to conventional IEX materials, they show higher binding capacity and higher recovery of biomolecules through lower non-specific binding.

We invite you to join us at our talk and discuss the benefits of strong ion exchangers!

TRACE ELEMENTS IN MEDICAL DIAGNOSTICS: MOROCCAN EXPERIENCE

Sedki A., Benmazhar H., Lekouch N.

Trace elements centre for UNESCO – Morocco
Cadi Ayyad University, Marrakesh, Morocco

Trace elements, also called natural trace elements, metals or even metalloids. They're characterised by their high density which is greater than 5 grams per cm^3 . In some older publications we found them under the name of "heavy metals". Forty-one metals fit into this general definition, to which the metalloids must be added.

Trace elements present, in a particular form, in soils occur as an erosion result. The runoffs on impermeable surfaces (soils, floors) as well as various anthropogenic sources tend to amplify this phenomenon. Water is, indubitably, quite important for pollutants in general and trace elements in particular as it induces chemical reactions related to acidity, alkalinity, temperature, oxygenation...

Aquatic environments are highly sensitive to trace elements due to the coexistence of two phenomena of bioaccumulation and biomagnifications. Trace elements slowly concentrate through adsorption in the food chain which is eventually linked to humans.

The best way to elude the risks related to trace elements is to avoid exposure but this is obviously not always possible nor is it practical. You can stop smoking, live far away from any source of pollution, have quite the healthy diet and lifestyle, and you might still not be completely safe from the threat as lead, mercury and cadmium are ubiquitous in our environment. However, there is now a way to eliminate the harmful levels of trace-elements accumulated in the body; it is called chelation.

ADVANCES ON BIOMARKERS OF HUMAN EXPOSURE TO XENOBIOTICS RELATED TO HEALTH ISSUES: THE CURRENT STATUS AND FUTURE NEEDS

Tsatsakis A.M.

Center of Toxicology Science & Research, Medical School, University of Crete, Greece

Biomonitoring studies for pesticide low level long-term exposure of agricultural workers will be presented and analytical, genetic and bioethical issues related to these studies will be discussed. Organic pollutants have an impact on human health after exposure to very low doses from environmental origin, food supply or occupational exposure, and these adverse health effects are still not known in depth. There are considerable uncertainties concerning health risks as a consequence long term and low dose pesticide exposure. An important factor in these apparent discrepancies is the difficulty in reliable identification of exposed and control groups, specifically, as pointed out by most epidemiological studies,

the problem of performing a sound retrospective exposure assessment. Furthermore, the characteristics of exposure, in particular concerning duration and involvement of complex and variable mixtures typical of agricultural use, make any epidemiological approach very difficult. Additive effects are possible with some of the known organic pollutants. Principles and applications of hair analysis in biomonitoring for organic pollutant low level long-term exposure will be presented and analytical problems related to biomonitoring studies will be discussed. Dioxins, polychlorobiphenyls, polycyclic aromatic hydrocarbons, polybrominated diphenyl ethers and of course pesticides are the main groups of the most commonly measured pollutants in hair. A brief overview of all the published studies concerning hair analysis of the aforementioned chemical groups will be presented. Furthermore, the role of *in-vivo* experiments in method optimization and validation will be discussed. Findings from the most recent studies on the newly onset pollutants, such as polybrominated diphenyl ethers, pyrethroids and neonicotinoids, will be reported in details. Ongoing cross-sectional studies on pregnant women and the neonates with documented prenatal pesticide low level chronic exposure revealed the impact of pesticides on foetus development and pregnancy outcomes.

УСТРОЙСТВО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДНК «НАНОФОР 05»

Алексеев Я.И.¹, Курочкин В.Е.², Веретенников А.В.³

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт аналитического приборостроения Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

²Закрытое акционерное общество «Синтол», Москва, Россия

³Федеральное государственное унитарное предприятие Экспериментальный завод научного приборостроения со Специальным конструкторским бюро Российской академии наук, Черноголовка, Московская область, Россия

Благодаря финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ и Технологической Платформы «Медицина будущего» Институтом аналитического приборостроения РАН, ЗАО «Синтол» и Экспериментальным заводом научного приборостроения РАН был создан первый российский секвенатор «НАНОФОР 05».

Мировой рынок секвенаторов существует 29 лет.

В конце 1986 года компанией «Applied Biosystems» (США) был разработан первый секвенатор ABI 370A Sequencer, способный секвенировать в день 12 000 п.н.

В настоящее время наиболее производительные секвенаторы могут секвенировать за 1 запуск 1000 x 10⁹ п.н.

Рынок секвенаторов ДНК можно разделить на 2 сегмента в зависимости от технологии, лежащей в основе принципа работы приборов:

- 1) «капиллярные» (или «классические», «сэнгеровские») секвенаторы, в которых расшифровка нуклеотидной последовательности ДНК идёт после проведения реакции секвенирования;
- 2) секвенаторы второго поколения, NGS- (Next Generation Sequencing), или «полногеномные» секвенаторы, в которых расшифровка генома идёт непосредственно в ходе реакции секвенирования.

Российский рынок секвенаторов, по оценкам экспертов, составляет в натуральном выражении не более 1000 приборов. При этом количество «капиллярных» секвенаторов составляет не менее 85% от всего количества используемых секвенаторов. Большинство закупленных в России NGS-секвенаторов используются эпизодически из-за дороговизны расходных материалов.

Соответственно, *количество анализов* (секвенирование и фрагментный анализ), проводимых на «капиллярных» секвенаторах, в несколько сот раз превышает количество «прочитанных» на NGS-секвенаторах геномов, составляя примерно 200 000 – 300 000 анализов в год в России.

На мировом рынке секвенаторов также преобладают «капиллярные» секвенаторы.

Несмотря на появление на рынке секвенаторов второго поколения, существует целый ряд задач, которые можно быстро и экономно решить на «классических» секвенаторах. К таким задачам относятся:

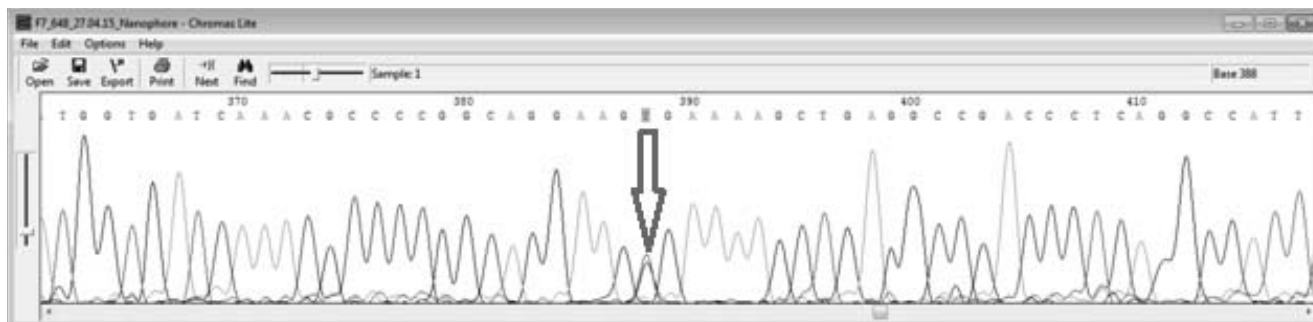


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов секвенирования, полученная на приборе «НАНОФОР 05». Стрелкой указана выявленная мутация.

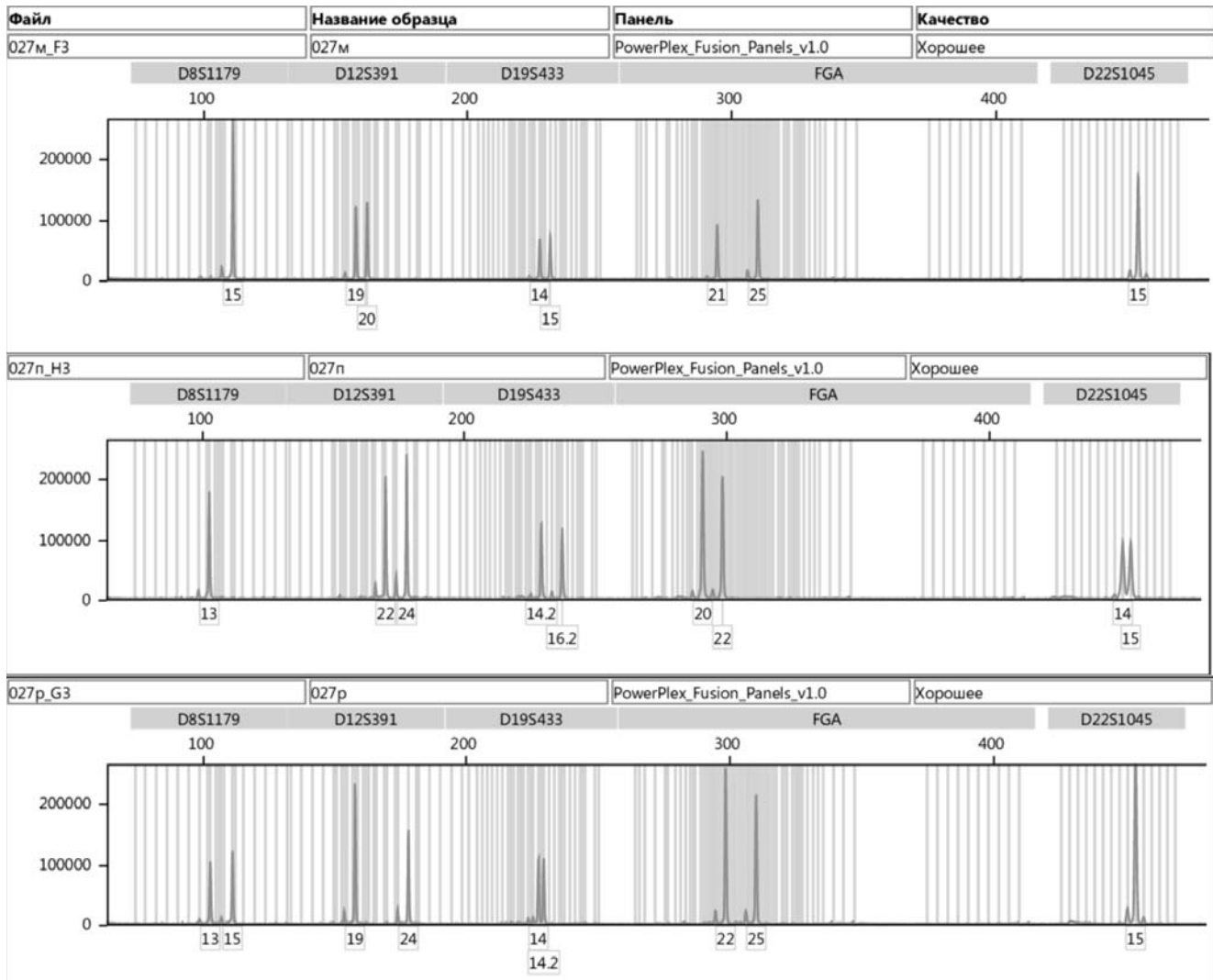


Рис. 2. Электрофореграмма разделения продуктов амплификации, полученных от ДНК матери (верх), отца (середина) и ребенка (низ) по каналу ROX.

- 1) секвенирование генетических вставок в плазмиды;
- 2) секвенирование ПЦР-продуктов.
- 3) ДНК-идентификация личности;
- 4) определение отцовства, определение степени родства;
- 5) определение однонуклеотидных полиморфизмов (SNP – Single Nucleotide Polymorphism), обнаруженных с помощью ПЦР. SNP обуславливают наследственную предрасположенность к мультифакторным заболеваниям, индивидуальную чувствительность организма к лекарственным препаратам.
- 6) генотипирование человеческой ДНК, т.е. обнаружение неизвестных SNP в анализируемых участках гена;
- 7) генотипирование микроорганизмов, например, обнаружение неизвестных ранее мутаций в геноме микобактерий туберкулёза, ответственных за лекарственную устойчивость к антибактериальным препаратам; или генотипирование возбудителей особо опасных инфекций, что необходимо для выявления источника распространения инфекции;
- 8) генотипирование (паспортизация) ценных пород животных и сортов растений с целью их селекции; «НАНОФОР 05» представляет собой аналог 8-канального генетического анализатора «3500 Genetic Analyzer» производства компании «Life Technologies» (сейчас «Thermo Fisher Scientific»).

По целому ряду важнейших технических и пользовательских характеристик «НАНОФОР 05» превосходит «3500 Genetic Analyzer»: он является прибором открытого типа, т.е. предоставляет возможность использования реагентов любых производителей, имеет 7-цветную схему детекции, что позволяет анализировать больше разных ДНК-мишеней в одном образце одновременно, а также имеет срок гарантии 2 года, стоит в 2 раза дешевле импортного аналога, значительно экономнее в эксплуатации.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В БАДАХ, ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЯХ, БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ МЕТОДАМИ ААС, ИСП-ОЭС, ИСП-МС ПОСЛЕ МИКРОВОЛНОВОЙ ПРОБОПОДГОТОВКИ

Башилов А.

Си Си Эс Сервис, Москва, Россия

Контроль содержания тяжелых металлов в различных биологических, фармацевтических пробах, добавках с каждым годом все более актуален. Например, с 2013 года по методам Американской фармакопеи 232/233 для этого требуется сочетание ИСП-ОЭС/ИСП-МС и микроволнового автоклавного разложения. Ключевыми критериями достоверности такого анализа являются: полнота минерализации пробы, отсутствие потерь летучих элементов, таких как Hg, As и др., особенно на этапе пробоподготовки, достаточная чувствительность выбранного спектрального метода и, величины навески, наконец, само спектральное определение, прежде всего, учитывающее спектральные помехи в ИСП-ОЭС, удаление комплексных ионов и изобарных интерференций в ИСП-МС, оптимизацию стадии температурной программы графитовой печи в ЭТААС.

Наиболее тяжелыми для микроволновой минерализации органическими пробами являются предельные и ароматические длинноцепочечные у.в. Одними из наиболее близких к таковым являются БАДы на масляной основе, растительные препараты масличных культур, смолистые материалы, например, березовые почки. Такие пробы требуют больших температур для минерализации, лимитированные величины навесок, аккуратного нагрева с плавным увеличением температуры разложения. Последнее касается и т. н. реактивных проб, например, эфирных масел, получаемых из растительного сырья, препаратов индивидуальных аминокислот. Их экспрессная минерализация с быстрым нагревом может приводить к сбросу давления в автоклавах и потере летучих элементов.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИЛЬНЫХ ИОНООБМЕННИКОВ ДЛЯ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ

Фредерика Беккер

УМС, Германия/Япония

Обычно, слабые ионообменники используются для разделения биомолекул, таких как пептиды, белки, моноклональные антитела и ДНК. Данная презентация продемонстрирует преимущества использования сильных ионообменных фаз и опишет некоторые примеры превосходного разделения для этих биомолекул. Мы, также, продемонстрируем возможность использования этих сильных ионообменников для пептидного картирования триптических гидролизатов БСА. Такие важные моменты, как оптимизация градиента и элюента, также будут отражены.

Сравнительные исследования продемонстрируют преимущества сильного катионита УМС-BioPro SP-F, перед слабыми катионитами. Для этого будут представлены результаты разделения для различных белков и человеческих моноклональных иммуноглобулинов (IgG1).

Матрицей ионообменных материалов УМС-BioPro IEX являются как пористые, так и не пористые гидрофильные полимерные частицы с низкой неспецифической адсорбцией и размером частиц от 3 до 75 мкм, пригодные для всего спектра применений. Доступны как сильные анионообменники (четвертичный амин, УМС-BioPro QA), так и сильные катионообменники (сульфопропил, УМС-BioPro SP). По сравнению с традиционными ионообменными материалами, они демонстрируют более высокую обменную емкость и более высокий выход биомолекул, с более низким неспецифическим связыванием.

Мы приглашаем Вас прослушать нашу презентацию и обсудить преимущества сильных ионообменников!

ЛАБОРАТОРНЫЙ МОНИТОРИНГ НОВЫХ ОРАЛЬНЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ

Берковский А.Л.

ФГБУ Гематологический научный центр МЗ РФ, Москва, Россия

Антагонисты витамина К больше не являются единственным вариантом для лечения венозной тромбозной эмболии (ВТЭ) или для предотвращения инфаркта. В настоящее время новые оральные антикоагулянты (НОАК, ривароксабан и дабигатран, прямые ингибиторы факторов Ха и Па соответственно), являются безопасной и эффективной альтернативой варфарина для профилактики ВТЭ, при заменах тазобедренного или

коленного суставов, для профилактики кардиоэмболии у пациентов с фибрилляцией предсердий, а также для лечения ВТЭ. Однако, существуют определенные ситуации, когда для клинического ведения пациентов необходимо знать точные концентрации НОАК в плазме. До настоящего времени не существовало легкодоступных методов измерения уровня этих препаратов или их анти-факторной активности. Установлено, что активированное частичное тромбопластиновое время, протромбиновое и тромбиновое время не подходят для этой цели. Высоко эффективная жидкостная хроматография в тандеме с масс-спектрометрией может быть использована для измерения уровня ривароксобана в диапазоне от 0,50 до 500 мкг/л. Однако эта методика мало доступна для рутинного клинического применения. В настоящее время общепризнанным методом для определения количества ривароксобана в крови становится методика, основанная на определении его анти Ха активности.

Для прямых ингибиторов тромбина активированное частичное тромбопластиновое время не может быть использовано для оценки количества препарата в плазме, так как имеет довольно низкую корреляцию с уровнями дабигатрана и, кроме того, зависит от многих факторов, в том числе от присутствия волчаночного антикоагулянта и от повышенного уровня фактора VIII в условиях воспалительных процессов.

В настоящее время для этих целей используются метод определения анти IIa активности с помощью хромогенного субстрата, специфичного тромбину и метод разбавленного тромбинового времени, обладающие линейностью практически во всем терапевтическом диапазоне концентраций используемых препаратов.

ИММУНОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА В МЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ: СОВРЕМЕННЫЕ ЗАДАЧИ И РЕШЕНИЯ

Дзантиев Б.Б.

Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

dzantiev@inbi.ras.ru

Расширение знаний о молекулярных механизмах патологических процессов и дисфункций, а также изменения в системе оказания медицинской помощи обусловили необходимость методического перевооружения медицинской диагностики. Двумя основными тенденциями в развитии средств современной диагностики являются рост доли анализов, выполняемых вне специализированных лабораторий, а также востребованность высокопроизводительных методов тестирования, позволяющих получить информацию о наличии и содержании большого числа (десятки) соединений за минимальное (5-15 минут) время. В докладе будут представлены разработки новых иммунохимических методов анализа, удовлетворяющих этим требованиям.

Рассмотрены возможности различных видов иммуносенсоров и иммунохроматографических тест-систем для решения задач медицинской диагностики. Важным достоинством иммунохроматографического анализа является использование принципа «сухой химии», когда все необходимые для анализа реагенты предварительно нанесены на тест-полоску, и ее контакт с анализируемой пробой инициирует все специфические взаимодействия и развитие детектируемого сигнала. Рассмотрены различные маркеры, в том числе – неорганические наночастицы, используемые в медико-диагностических системах. Представлены данные по влиянию размеров наночастиц и состава их комплексов с иммунореагентами на характеристики аналитических методов, а также разработки, направленные на управление продолжительностью, чувствительностью и специфичностью анализа. На примерах аллергодиагностики и детекции кардиомаркеров показаны преимущества применения полупроводниковых флуоресцентных наночастиц (квантовых точек), выявляемых с существенно более низким пределом обнаружения по сравнению с окрашенными маркерами. Дается теоретический и экспериментальный анализ требований, предъявляемых к экспрессным тест-системам при серодиагностике – выявлении в крови антител, специфичных к определенному соединению. Рассмотрены пути повышения производительности и диагностической значимости внелабораторных иммунохимических систем на основе мультипараметрического анализа, позволяющего одновременно детектировать значительное количество соединений. На примерах определения значимых для медицинской диагностики соединений (кардиомаркеры, маркеры воспалительных процессов, токсины, патогенные микроорганизмы и др.) представлены возможности иммуноаналитических методов и их преимущества в сравнении с другими используемыми в практике подходами.

Исследования выполнены при поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН № 10 и Российского фонда фундаментальных исследований (гранты №№ 15-08-07913, 15-53-05089).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИЗОТОПНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ

Зякун А. М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии
и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущино, Московская область, Россия
zyakun@ibpm.pushchino.ru

Базовый постулат. В организме человека, как объекте медицинских обследований, функционирование отдельных органов и биосистем связано с энергетическим обменом, который сопровождается использованием органических продуктов и окислением их до метаболической углекислоты (CO_2) (катаболический процесс). Для каждого органа (биосистемы) существуют специализированные продукты (субстраты), контроль потребления которых в организме человека может отражать возможные нарушения метаболического состояния соответствующих органов.

Инструментальный анализ. Для обнаружения продукции CO_2 , образующейся за счет окисления «тест-продукта» в общем углекислотном пуле в выдыхаемом воздухе человека используют изотопно меченый субстрат, который отличается от обычной пищи иным содержанием изотопов углерода (^{12}C , ^{13}C , или ^{14}C). Инструментом, позволяющим с высокой точностью определить появление изотопно меченой CO_2 в выдыхаемом воздухе, является специализированный масс-спектрометр, например Breath MAT Finigan (Germany).

Демонстрация использования $^{13}\text{CO}_2$. В докладе рассмотрены примеры использования изотопной масс-спектрометрии для характеристики метаболических процессов на основе анализа вариаций распространенностей стабильных изотопов углерода (^{13}C , ^{12}C) в выдыхаемой углекислоте у пациентов после приема соответствующих ^{13}C -тест-субстратов.

Прием ^{13}C -глюкозы позволяет количественно охарактеризовать состояние углеводного обмена у человека по кинетике продукции $^{13}\text{CO}_2$ в выдыхаемом воздухе, выявить склонность к сахарному диабету и ожирению, определить безопасные количества углеводов в ежедневном рационе питания и снизить опасность проявления этих заболеваний в скрытых формах.

Использование ^{13}C -мочевины, как субстрата для бактерий *Helicobacter pylori*, позволяет неинвазивно (по выдыхаемому воздуху) обнаружить наличие этих бактерий в желудочно-кишечном тракте человека, определить необходимость проведения антибактериальной медикаментозной терапии и оценить ее эффективность.

По кинетике содержания $^{13}\text{CO}_2$ в выдыхаемом воздухе человека после введения тестовых количеств ^{13}C -этанола и их окисления до $^{13}\text{CO}_2$ имеется возможность охарактеризовать состояние этанол-окисляющей системы, выявить метаболический потенциал алкогольдегидрогеназы, как основного фактора, с которым связывают опасность проявления алкоголизма.

По кинетике продукции $^{13}\text{CO}_2$ в выдыхаемом воздухе после приема ^{13}C -метацетина имеется возможность определить деметилирующую активность печени, с которой связывают ее защитные функции.

АНАЛИЗ МЕДИЦИНСКИХ ОБЪЕКТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОПТИЧЕСКИХ БИОСЕНСОРОВ ТИПА VIACORE

Иванов А.С.¹, Медведев А.Е.¹, Макаров А.А.², Гилеп А.А.³, Усанов С.А.³

¹НИИ биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, Москва, Россия

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

³Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

alexei.ivanov@ibmc.msk.ru

Оптические биосенсоры, работающие на эффекте поверхностного плазмонного резонанса (SPR) – высокоэффективные приборы, которые позволяют регистрировать любые межмолекулярные взаимодействия в реальном времени без использования каких-либо меток или сопряженных процессов. Из полученных серийных сенсограмм легко вычисляются кинетические, равновесные и термодинамические параметры взаимодействий. Поэтому SPR биосенсоры с успехом используются в фундаментальных и прикладных исследованиях медицинских объектов, таких как:

- (1) анализ аффинности, специфичности и кросс-реактивности антител, что делает SPR технологию незаменимой при разработке новых иммунных лекарств и иммуно-химических тест-систем;
- (2) анализ взаимодействия прототипов новых лекарств с белком-мишенью;

- (3) аффинное выделение потенциальных белков-партнеров целевых молекул и их комплексов из лизата биологического материала с их последующей идентификацией с помощью LC-MS/MS анализа;
- (4) высокоточный анализ пикомолярных концентраций белков-маркеров заболеваний в плазме крови человека.

Среди коммерчески доступных SPR биосенсоров модели типа Biacore (GE Healthcare, США), оснащенные 4-х канальной управляемой микрофлюидной системой с 4 проточными нано-кюветами, являются «рекордсменами» по чувствительности, низкому уровню шума, стабильности базового сигнала, минимальной молекулярной массе регистрируемого аналита и минимальному расходу биоматериалов.

С использованием SPR биосенсоров типа Biacore нами разработаны оригинальные варианты прямого аналитического и препаративного молекулярного фишинга для выявления потенциальных участников белок-белковых и белок-пептидных взаимодействий в живых системах. Метод основан на совмещении SPR технологии с колоночной хроматографией и LC-MS/MS идентификацией белков. Его применимость была продемонстрирована как в случае высокомолекулярных (белки, пептиды), так и низкомолекулярных (производные изатина) иммобилизованных лигандов. Подход был успешно применен в интерактивных исследованиях, выполняемых в рамках:

- (1) Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы по проекту «Протеом человека» для выявления в лизате ткани печени человека возможных молекулярных партнеров 7 целевых белков, кодированных в 18-й хромосоме человека;
- (2) Комплексного гранта РФФИ (13-04-40108-К) для выявления в лизате иммортализованных нейрональных клеток человека потенциальных белков-партнеров, взаимодействующих с различными изоформами металл-связывающего домена бета-амилоида, которые играют ключевую роль в развитии болезни Альцгеймера.
- (3) Грантов РФФИ (11-04-01163 и 15-04-01545) по изучению изатин-связывающих белков в норме, при гравитационной разгрузке и при нейродегенеративной патологии.

АНАЛИТИЧЕСКОЕ ОБОРУДОВАНИЕ SHIMADZU ДЛЯ КОМПЛЕКСНЫХ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исупова Н.Ю.

ООО «Аналит Продактс», Санкт-Петербург, Россия

isupova@analit-spb.ru

Стремительное развитие биологических наук на рубеже 20–21 веков привело к появлению новой дисциплины – молекулярной медицины. По сравнению с традиционной, молекулярная медицина имеет дело не со следствием (симптомы заболевания), а с причиной, а именно – определяет те молекулы, которые ответственны за развитие патологического процесса. Таким образом, проведение быстрой и точной диагностики становится неразрывно связанным с аналитическими методами, обеспечивающими анализ химического состава на молекулярном и внутримолекулярном уровнях.

Компания Shimadzu (Япония) производит уникальную линейку аналитического оборудования для комплексных медико-биологических исследований.

Газовые хроматографы и хроматомасс-спектрометры (ГХМС) используются для выявления типов микроорганизмов на основе данных о наборе жирных кислот, присутствующих в биологических средах. Большое количество метаболомных исследований выполняется с использованием ГХМС. Высокоскоростные квадрупольные Shimadzu широко используются при выявлении маркеров различных заболеваний, что делает возможной раннюю диагностику.

Высокоэффективная жидкостная хроматография с тандемными квадрупольными масс-селективными детекторами становится основной техникой в проведении неонатального и пренатального скрининга, а также в фармакокинетических исследованиях.

Спектроскопия MALDI (ионизация лазерной десорбцией при содействии матрицы) является мощным инструментом при исследовании белковых молекул, и поэтому широко используется в протеомных исследованиях: ранняя диагностика на основе сравнения протеомов здорового и больного человека, идентификация микроорганизмов, возможность наблюдения распределения белков, пептидов, эндогенных соединений в тканях (локализация опухолей), Изучение посттрансляционных модификаций белков и др.

Компания Shimadzu развивает новое инструментальное направление – приборы для визуализации молекулярных процессов. Компания уже представила на рынке приборы этого направления: масс-микроскоп **iMScope TRIO**, совмещающий мощный оптический микроскоп и MALDI спектрометр, и **LBNIRS** – прибор для визуализации мозговой деятельности.

**МНОГОКОМПОНЕНТНЫЙ ДИОДНЫЙ ЛАЗЕРНЫЙ СПЕКТРОАНАЛИЗАТОР
ДЛЯ СКРИНИНГОВОЙ ДИАГНОСТИКИ СОДЕРЖАНИЯ БИОМАРКЕРОВ
В ВЫДЫХАЕМЫХ КОМПОНЕНТАХ ВОЗДУХА****Карабиненко А.А.¹, Надеждинский А.И.², Понуровский Я.Я.², Спиридонов М.В.², Заславский В.Я.²**¹РНИМУ им. Пирогова, Москва, Россия²ИОФ РАН им. Прохорова, Москва, Россия*karabinenkoa@mail.ru, ponur1960@yandex.ru*

Проведение скрининговых дыхательных тестов является эффективным методом оценки функционального состояния организма. Под скрининговым исследованием в медицине понимают комплекс мер, направленных на выявление скрытых заболеваний в популяции обследуемых (выявление «групп риска» по конкретным заболеваниям) при отсутствии ярко выраженных симптомов болезни. Основными требованиями к скрининговым тестам является простота, неинвазивность и безопасность процедуры тестирования, высокая скорость обработки данных, возможность выявления заболеваний на ранней стадии. Анализ газообразных биомаркеров в выдохе человека является одним из перспективных и быстроразвивающихся методов неинвазивной диагностики. Помимо основных атмосферных молекул (H_2O , $^{12}CO_2$, N_2 , O_2) в выдыхаемом человеком воздухе выявлено более 1000 соединений с концентрациями на уровне ppb–ppm. Образование этих соединений связано с биохимическими метаболическими процессами в организме. Несмотря на интенсивные исследования в этой области, связь концентрации молекулярного компонента в выдыхаемом воздухе с конкретной патологией установлена лишь для нескольких десятков молекул (например, дыхательные тесты определения C_2H_5OH , $^{13}CO_2$, $^{12}CO_2$, CO , NO).

На базе диодных лазеров (ДЛ) ближнего ИК диапазона с волоконным выводом излучения разработан экспериментальный прототип многоканального газоанализатора для неинвазивных скрининговых медико-биологических исследований. Прибор позволяет одновременно в порции выдыхаемого воздуха определять биомаркеры компонентов воздуха: $^{12}CO_2$, $^{13}CO_2$, CH_4 , H_2S . Измерения концентраций молекул проводятся в многопроходной кювете Эрио с полной длиной оптического пути 26 м и объемом 2,5 л. В качестве ДЛ используются два лазерных модуля NEL фирмы NTT Electronics. Детектирование CH_4 осуществляется в диапазоне длин волн 1,65 мкм, $^{12}CO_2$, $^{13}CO_2$ и H_2S – в диапазоне 1,60 мкм. Измерения проводятся в режиме реального времени.

В терапевтической клинике ГКБ №12 г. Москвы была проведена клиническая апробация диодно-лазерной спектрометрии для газоанализа, в ходе которых исследовалось содержание CH_4 , $^{13}CO_2$, $^{12}CO_2$ и H_2S в выдыхаемом воздухе у практически здоровых лиц и у пациентов с различными заболеваниями при их удовлетворительном самочувствии. Исследование содержания этих биомаркеров проводилось при различных физиологических состояниях человека: в покое, при дозированной физической нагрузке, психоэмоциональном стрессе и пищевой нагрузке. Одновременно фиксировались показатели пульсоксиметрии (SpO_2 , ЧСС), АД, ЧДД, глюкоза крови. Воздействие нагрузочных факторов существенно изменяло содержание состава биомаркеров выдыхаемого воздуха (см. графики и таблицы). Наиболее существенно и закономерно на высоте нагрузки по отношению к исходным в покое изменялись параметры CO_2 , CH_4 , ЧСС, ЧД, SpO_2 , глюкоза крови. Исходное повышение содержания $^{12}CO_2$ свидетельствует о скрытых или явных нарушениях газообменной функции легких или о снижении основного обмена. Это может быть косвенным маркером скрыто протекающих заболеваний органов дыхания, гипофункции щитовидной железы и др. патологических процессов. При нагрузке при сравнении с покоем в выдыхаемом воздухе существенно снижается уровень CH_4 , который «сгорает» в результате ускорения метаболических реакций. Показатели $^{13}CO_2$ четко коррелируют с функциональным состоянием желудочно-пищеварения (реагируют на прием пищи, наличия функциональных нарушений желудочно-кишечного тракта), что подтверждается многочисленными клиническими исследованиями уреазных дыхательных тестов.

Основными выводами результатов предварительной клинической апробации газоанализа выдыхаемого воздуха методом диодно-лазерной спектрометрии (ДЛС) являются: 1) Применяемый метод ДЛС соответствует требованиям, предъявляемым к скрининговым инновационным технологиям для выявления скрыто протекающих патологических процессов и функциональных нарушений у человека. 2) Выявляемые отклонения параметров газообразных метаболитов выдыхаемого воздуха человека в условиях различных нагрузок позволяют обоснованно определить группы риска скрытых заболеваний и оценить степень функциональных нарушений. 3) Конструктивные усовершенствования газоаналитического ДЛС-устройства позволили упростить процедуру обследования пациентов, обеспечить его высокую мобильность и повысить безопасность его применения в массовых скрининговых медико-физиологических исследованиях.

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МЕДИЦИНСКИХ ОБЪЕКТОВ

Мильман Б.Л.¹, Журкович И.К.²

¹ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

²ФГБУН «Институт токсикологии» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия
zhurkovich@toxicology.ru, bmilman@mail.rcom.ru, bormilman@yandex.ru

Рассмотрены наиболее важные вопросы, относящиеся к анализу медицинских объектов (физиологические жидкости, ткани и другие биообразцы) методами масс-спектрометрии (МС) и хроматомасс-спектрометрии (ХМС) – наиболее чувствительными и специфичными методами молекулярного анализа. Обсуждаются «горячие» области МС/ХМС и их применение в (а) клинической диагностике и (б) фармакокинетике, а также (в) состоянии и перспективы развития нескольких «-омик» – новых научных областей, в значительной мере основанных на применении МС. Сопоставлены достоинства и недостатки различных методов и вариантов МС и ХМС.

Охарактеризованы области клинической диагностики, в которых МС/ХМС играет значительную роль: анализ выдыхаемого воздуха, идентификация микроорганизмов, скрининг новорожденных, эндокринология, лекарственная терапия, маркерные пептиды и белки, масс-спектрометрическая визуализация. Анализируются общие проблемы определения биомаркеров, переход от академических исследований к практической диагностике.

Рассмотрены варианты МС, применяемые в фармакокинетике, и ее место в ряду биомедицинских проблем. Сравняется чувствительность и селективность МС высокого разрешения и тандемной МС. Преимущества применения МС в фармакокинетике отмечены на примере определения препаратов бупренорфина и налоксона в плазме крови пациентов методом ХМС.

Анализируется современное состояние «-омик», отмечены их реальные и потенциальные достижения. Затронуты наиболее распространенные «-омики», в т.ч. те из них, в которых основную роль играет МС и ХМС: протеомика, метаболомика, липидомика и гликомика. Приведен обзор работ по липидомике, выполненных в лабораториях авторов и относящихся к липидам плазмы крови человека и легочному лаважу мышей.

ПРОСТЕЙШИЕ ХИМИЧЕСКИЕ ТЕСТ-СРЕДСТВА МЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКИ

Моросанова Е.И.

Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
emorosanova@gmail.com

В настоящее время все большее внимание уделяется профилактике различных заболеваний и мониторингу состояния здорового организма. К настоящему времени установлены надежные корреляции между содержанием в биологических жидкостях ряда веществ и состоянием организма. Известно множество таких показателей, среди которых как неорганические соединения (йодид-, хлорид-, фторид-, нитрат-ионы, пероксид водорода), так и органические (креатинин, дофамин, цистеин, салициловая кислота).

Химические тест-средства основываются на химической или биохимической (ферментативной) реакции, которая позволяет выявить в сложной смеси веществ целевое. Для повышения простоты последующего определения, а также обеспечения высокой чувствительности и селективности, предпочтительнее, чтобы химическое взаимодействие проходило в гетерогенных системах с участием чувствительных материалов.

Для синтеза таких материалов в наших работах была использована золь-гель технология. С использованием этого подхода золь-гель материалы были получены на основе оксидов кремния и титана. Полученные материалы были модифицированы различными веществами: аналитическими реагентами и ферментами, что обеспечило широкие возможности полученных чувствительных материалов для определения биологически активных молекул. В качестве источника ферментов было предложено использовать неочищенные растительные экстракты.

С использованием описанных выше подходов были разработаны новые химические тест-средства для определения фторид-ионов в слюне, нитрат-ионов в сыворотке крови и моче, йодид-, хлорид-, салицилат-ионов и креатинина в моче. Использование золь-гель материалов, модифицированных фермент-содержащими растительными экстрактами, позволило разработать тест-средства для определения пероксида водорода, дофамина и цистеина в моче.

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ УЛЬТРАВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЕ ПРИМЕНЕНИЯ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

Николаев Е.Н., Попов И.А., Кононихин А.С., Харьбин О.Н., Костюкевич Ю.И., Владимиров Г.Н.

Институт энергетических проблем химической физики им. В.Л. Тальрозе РАН, Москва, Россия

Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Московская область, Россия

ennikolaev@rambler.ru

В последние годы благодаря открытию нового метода измерения сигналов в масс-спектрометрии ионного циклотронного резонанса в нашей лаборатории и созданию и запуску сверхпроводящих магнитов с полем 21 Тесла в Национальной лаборатории сильных магнитных полей (Таллахасси, США) и в Северо-западной национальной лаборатории (Ричланд, США) [ссылки на АСМС 2015] удалось поднять разрешающую способность в масс-спектрометрии до уровня 10 миллионов и выше для ионов с отношением массы к заряду до 1000. Такая разрешающая способность соответствует современному понятию ультравысокого разрешения (определение “ультравысокого разрешения” изменяется каждые несколько десятков лет по мере прогресса в масс-спектрометрии). Масс-спектрометры ультравысокого разрешения создаются для анализа сверхсложных химических смесей, таких как нефть, физиологические жидкости человека и животных, а также клетки и ткани. При разрешающей способности близкой к 10 миллионам удается получить масс-спектры тонкой изотопной структуры ионов с массами до нескольких кило Дальтон [1,2] и разделить изотопные кластеры углерода для молекул до мега Дальтона. Тонкая изотопная структура масс-спектров позволяет определить атомный состав молекул не прибегая к их диссоциации [3]. Измерения распределения интенсивностей пиков в углеродных кластерах молекул с массами в несколько сотен кило Дальтон дают информацию о химических модификациях этих молекул, так как позволяют измерять их массу с точностью до одного Дальтона (Top-down протеомика).

1. Boldin, I.A.; Nikolaev, E.N. FTICR cell with dynamic harmonization of the electric field in the whole volume by shaping of excitation and detection electrode assembly. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2011, 25, 122-126.
2. Eugene N. Nikolaev, Ivan A. Boldin, Roland Jertz and Gökhan Baykut. Initial Experimental Characterization of a new ultra-high resolution FT-ICR Cell with Dynamic Harmonization, *J Am Soc Mass Spectrom.* 22(7) 2011, 1125-1129
3. Eugene N. Nikolaev, Roland Jertz, Anton Grigoryev, and Gökhan Baykut, Fine Structure in Isotopic Peak Distributions Measured Using a Dynamically Harmonized Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Cell at 7 T *Anal. Chem.*, **2012**, 84 (5), pp 2275–2283

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МИКРООРГАНИЗМОВ

Осипов Г.А.

Международный аналитический центр ИОХ РАН, Москва

osipovga@mail.ru

Метод масс-спектрометрии микробных маркеров дает качественно новый вариант молекулярного микробиологического исследования благодаря возможности одновременного количественного определения более сотни микробных маркеров непосредственно в клинических, биотехнологических пробах и объектах окружающей среды без предварительного культивирования микроорганизмов и использования биохимических тестовых материалов и генетических праймеров. Получение в реальном времени расширенной информации об анаэробах и трудно культивируемых аэробах, а также актинобактериях, вирусах, дрожжах и микроскопических грибах из одной пробы обеспечивает полное понимание микробной этиологии заболевания. Изучение кишечного дисбиоза методом МСММ подтверждает гипотезу нозологической специфичности изменений состава кишечной микробиоты. Точные количественные измерения показали, что анаэробы доминируют в числе и функциональной активности при воспалении. Получено новое подтверждение полимикробности инфекционных процессов, а также условности деления микробов на патогенные и непатогенные. Все микробы, обитающие в организме человека одновременно выступают в этих двух качествах. Лактобациллы и бифидобактерии оказываются агентами сепсиса и эндокардита. Микробиота кишечника содержит дополнительный геном, состоящий из миллионов микробных генов – микробиом. Поскольку этот сложный симбиоз влияет на метаболизм, физиологию и экспрессию генов хозяина, возникло предположение, что человека надо рассматривать с общебиологических позиций как сложный биологический суперорганизм. Состояние суперорганизма отражается в сумме метаболитов микробов и хозяина, которые выявляют по данным анализа крови и мочи. Для контроля состояния здоровья человека необходи-

мо разобраться в происхождении, определить источник этих метаболитов в сложной экосистеме. Так возникла метаболомика, как метод функционального анализа, целью которого является получение надежной и воспроизводимой количественной информации о внутриклеточных и внеклеточных метаболитах. Она приобретает повышенный интерес в широком перечне дисциплин, включая функциональную геномику, интегральную и системную биологию, нутриционную геномику, фармакогеномику, а также поиск биомаркеров для прогноза заболеваний, их диагностики и терапевтического мониторинга. Отечественные работы последнего десятилетия показали возможность использования ГХ-МС микробных маркеров и метаболитов (метаболомики и микро-метаболомики в современной терминологии) в качестве новой медицинской технологии для рутинного клинического анализа. Метод МСММ позволяет мониторировать микробиом и метаболом, предсказывая усугубление дисбиоза или угрозу инфекции. Высокая чувствительность и экспрессность метода делает его уникальным инструментом ранней диагностики инфекции, инструментом предсказательной, предупредительной персонализированной медицины.

ЗДРАВООХРАНЕНИЕ РОССИИ – 2015. РАЗВИТИЕ. СТАБИЛИЗАЦИЯ. КРИЗИС

Улумбекова Г.Э.

Ассоциация медицинских обществ по качеству медицинской помощи и медицинского образования (АС-МОК), Москва, Россия

В докладе описаны фундаментальные балансы, необходимые для эффективной работы системы здравоохранения, ключевые проблемы, сложившиеся в отрасли и пути их решения в 2016 г. В докладе также обсуждаются приоритеты расходов в предстоящем году. Главный вывод – сегодня в здравоохранении РФ складывается критическая ситуация – снижается доступность и качество медицинской помощи для населения. В 2014 г. число врачей сократилось на 16 тыс. чел., а число коек – на 47 тыс. И это при том, что в РФ в 2013 г. дефицит врачей уже составлял не менее 25% от необходимого. За 2 последних года число медицинских учреждений сократилось на 1300 (15% общего числа). Государственное финансирование здравоохранения сократилось в 2014 году – на 7%, 2015 г. – на 17%, в 2016 г. планируется сокращение на 20% в ценах 2013 года (с учетом девальвации рубля). И это при том, что в 2013 г. в РФ эти расходы в сопоставимых ценах были в 1,5 раза ниже, чем в «новых» странах ЕС, имеющих близкий ВВП на душу населения в год.

РОЛЬ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ В ОБЕСПЕЧЕНИИ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ НАСЕЛЕНИЯ

Хамидулина Х.Х.

Федеральное бюджетное учреждение здравоохранения «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Государственное бюджетное образовательное учреждение Российская академия последипломного образования Минздрава России, Москва, Россия

khalidiya@yandex.ru

Аналитическая химия является важнейшим инструментом в деятельности органов и организаций Роспотребнадзора по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения, которая включает:

- гигиеническое нормирование ксенобиотиков в атмосферном воздухе населенных мест, воздухе рабочей зоны, воде водных объектов, почве, продуктах питания;
- надзор за качеством объектов среды обитания человека (вода, воздух, почва);
- обеспечение безопасности для здоровья населения продуктов питания и их упаковки, игрушек, строительных материалов, парфюмерно-косметической продукции, лакокрасочных изделий, бытовой химии, химической и нефтехимической продукции и других продуктов производства и потребления;
- государственная регистрация впервые внедряемых в производство и ранее неиспользовавшихся химических веществ и изготавливаемых на их основе препаратов, потенциально опасных для человека;
- социально-гигиенический мониторинг- государственную систему наблюдения, анализа, оценки и прогноза состояния здоровья населения и среды обитания человека.

Сегодня, когда в Российской Федерации более 89 млн человек подвергается воздействию комплексной химической нагрузки, огромное внимание уделяется количественной оценке ксенобиотиков в среде обитания и биосредах организма человека в целях оценки риска воздействия и разработки эффективных управленческих решений. Рассматривая гигиенические нормативы не только как инструмент надзора, а как одну из форм

управленческих решений следует отметить, что сегодня разработано более 20 тысяч гигиенических нормативов для более, чем 7000 химических веществ. Вместе с тем, значительная часть разработанных нормативов не обеспечена аналитическими методами контроля. Кроме того, многие имеющиеся методы, разработанные в 50-80 гг., устарели и требуют актуализации.

Необходимость осуществления социально-гигиенического мониторинга, риск ориентированного надзора за объектами среды обитания человека и продукцией народного потребления, исполнения международных обязательств по Базельской конвенции о контроле за трансграничной перевозкой опасных отходов и их удалением, Стокгольмской конвенции о стойких органических загрязнителях, Роттердамской конвенции о процедуре предварительного обоснованного согласия в отношении отдельных опасных химических веществ и пестицидов в международной торговле, а также осуществление научной деятельности по проблемам профилактической токсикологии (токсикокинетика, токсикодинамика, токсикомика и т.д.) требуют внедрения в практику современных аналитических методов исследования, гармонизированных с международными.

ПРЕИМУЩЕСТВА МАСС-АНАЛИЗАТОРОВ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ LECO HRT ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ГХ/МС В КРИМИНАЛИСТИЧЕСКОЙ И СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЕ

Шайдуллина Г.М., Артаев В.Б., Alonso D., Binkley J., Gerhards P., Kovalczuk T.
ЗАО «ЛЕКО ЦЕНТР-М» – Представительство LECO Corporation, Москва, Россия
gulnara.shaydullina@leco.ru

Сочетание газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием широко применяется во всем мире в криминалистической и судебно-медицинской экспертизе благодаря своей высокой информативности. Поскольку результаты анализа могут иметь серьезные последствия для жизни подозреваемого или пациента, следует особое внимание уделять надежности используемых аналитических методов. Повысить степень надежности идентификации органических веществ при проведении хроматомасс-спектрометрического анализа возможно при использовании в качестве детекторов масс-анализаторов высокого разрешения.

Многоотражательный планарный времяпролетный масс-анализатор HRT (High Resolution Time-of-flight mass spectrometer) позволяет регистрировать масс-спектры высокого разрешения благодаря запатентованной технологии LECO. В результате 64 отражений ионы за доли секунды пролетают в детекторе расстояние равное 40 метрам, хотя размер камеры самого масс-анализатора не превышает 70 см. Благодаря такой траектории пролета удастся достичь разрешения 25000 FWHM при работе в режиме высокого разрешения и 50000 FWHM при работе в режиме сверхвысокого разрешения. При этом диапазон регистрируемых масс составляет от 10 до 1500 а.е.м., а точность измерения масс – лучше 1 ppm. При этом возможна работа в режиме химической ионизации, что существенно облегчает доказательство химического строения ранее неизвестных веществ, поскольку мягкие методы ионизации позволяют получать квазимолекулярные ионы, и в результате детектируются их точные массы.

Важным преимуществом масс-анализатора LECO HRT является также то, что все указанные характеристики сочетаются с высокой скоростью регистрации масс-спектров, а именно 200 полных масс-спектров в секунду во всем диапазоне масс. Кроме того, в регистрируемых масс-спектрах высокого разрешения относительные интенсивности ионов изотопных кластеров соответствуют теоретически рассчитанным значениям. Это позволяет интерпретировать фрагментацию с большей достоверностью, поскольку вид изотопных кластеров молекулярного и фрагментных ионов дает возможность проконтролировать правильность идентификации.

Возможность получения заранее неизвестной информации о химическом составе образца и повышение надежности идентификации детектируемых веществ – ключ к решению многих аналитических задач в криминалистической и судебно-медицинской экспертизе. Обнаружение следовых количеств наркотических препаратов и ядовитых веществ в биологических жидкостях и тканях, установление химического строения дизайнерских каннабиноидов в спайсах, подтверждение идентичности происхождения синтетических препаратов по следовым количествам побочных продуктов реакции, подтверждение медицинского и нелегального применения наркотических препаратов по сопутствующим детектируемым компонентам – вот только несколько примеров подобного рода задач, для решения которых успешно применяются во многих лабораториях мира ГХ/МС системы LECO Pegasus GC-HRT.

СЕКЦИОННЫЕ ДОКЛАДЫ

SOFTWARE TO AUTOMATE IDENTIFICATION OF MOLECULES FROM ACCURATE MASS ELECTROSPRAY LC/MS SPECTRA

C. Stacey, S.V. Rakov

Bemole Scientific, New Haven, CT, USA

We have developed and will show examples of the use of a software program to match ions measured in an LC/TOF analysis to formulas in a PubChem database of over sixty million known compounds.

The software uses both the mass-to-charge value and isotopic pattern ratios of the detected molecular ion in a high resolution electrospray spectrum. These values are used to produce a short list of candidate formulas which are scored and ranked by match factors. For each formula, the calculated isotopic pattern, with example structure and synonyms, are presented to the user for further verification.

The software allows for searches with positive or negative mode ions, or for neutral masses resulting from a charge state deconvolution. Different charge carriers, such as H⁺, Na⁺ and NH₄⁺ in positive mode, are selected. Because the detected ions may differ from the formulas in the database due the addition or loss of neutral moieties, an additional neutral formula loss or addition is also allowed. For many compounds such as dyes, which may undergo facile fragmentation or are reported as salt formulas, these search options are essential to obtaining a match to formulas in the database. Other compounds ionize in a solvent adduct form, such as [M+acetonitrile]⁺.

If fragment ions are also observed in the spectrum, resulting either from in-source fragmentation or from collisionally-induced dissociation, potential formulas for these ions are calculated. A *de novo* calculation uses the elements and limits of each candidate formula. The presence of realistic fragment ions for a known structure is a further confirmation of compound identity.

The user may enter mass and isotopic intensity numbers manually, or import an experimental spectrum in CSV format. The complete sequence of database searching on the public PubChem web site, matching and scoring of candidate formulas, and extraction of structures takes only seconds.

As an example, a black dye produced a complex negative mode spectrum, with a number of ions of different charge states. An intense ion in the spectrum at m/z 96.9602 (HSO₄⁻) confirmed that this dye is a sulfonated compound, which readily loses sulfate. Polysulfonated dyes are known to be unstable, with facile neutral losses of H₂SO₄ in the gas phase.

A search with the singly charged ion at m/z 706.0048 gave no matches, assuming a loss of [H⁺] or [Na⁺]. The detected ion was assuming to be a fragment ion and an additional custom neutral loss of the neutral group [(Na-2SO₄)₂] was set, accounting for a loss of two acidic groups and adjusting for the Na counter-ions of a dye salt. The search matched to C₂₆H₂₁N₅Na₄O₁₉S₆, for Reactive Black 5, with the detected ion being the gas-phase fragment ion of formula C₂₆H₂₀N₅O₁₁S₄.

ПРОТОЧНО-ИНЖЕКЦИОННЫЙ МЕТОД ДЛЯ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ АЦИКЛОВИРА И ЕГО АНАЛОГОВ ПРОТИВОВИРУСНОГО ДЕЙСТВИЯ

Андрюхина Е.Ю., Шпигун Л.К.

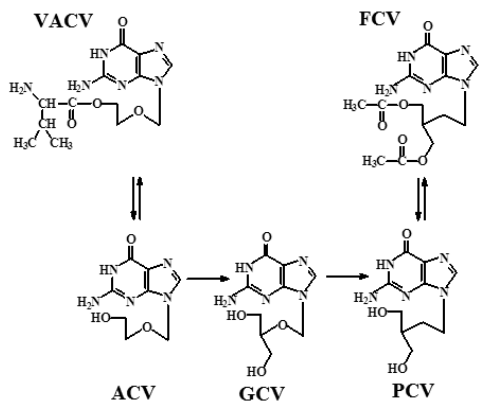
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия

shpigun@igic.ras.ru

Одной из актуальных задач современной отечественной медицины является создание и совершенствование лекарственных препаратов быстрого и эффективного действия. Необходимыми этапами выбора технологических составов лекарственных форм (ЛФ), обеспечивающих желаемый профиль поддержания концентрации активных веществ в организме, являются фармакокинетические исследования и изучение кинетики растворения ЛФ в опытах *in vitro*.

Современный арсенал химиотерапевтических препаратов содержит важную группу противовирусных ЛФ, содержащих в качестве активного вещества структурные производные гуанина – ацикловир (ACV), валацикловир (VACV), фамцикловир (FCV) и ганцикловир (GCV):

ACV является родоначальником группы ингибиторов вирусной ДНК-полимеразы. В здоровых клетках его концентрация ацикловира в 40-100 раз ниже, чем в клетках, пораженных вирусами. GCV действует не



только на вирус герпеса, но и на цитомегаловирус, нередко обуславливающий тяжелые осложнения при СПИДе.

В данной работе предложена проточно-инжекционная система с амперометрическим детектированием ACV и его аналогов, пригодная как для их количественного определения в биологическом материале, так и для реализации в автоматическом режиме «теста на растворения» таблетированных ЛФ. В качестве детектора использован электрохимически активированный углесталловый электрод, обладающий способностью адсорбировать эти вещества из раствора и катализировать процесс их анодного окисления в широком интервале pH. Показана возможность одновременного детектирования ACV и его аналогов на фоне мочевой кислоты, которая, как известно, является конечным продуктом окислительного метаболизма пуринов в орга-

низме. Установлено, что многократные избытки глюкозы, сахарозы, крахмала, декстрозы, аскорбиновой кислоты – вспомогательных веществ, входящих в состав противовирусных препаратов, практически не влияют на аналитических сигнал.

БИОСЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ ДНК – ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ И СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ

Бабкина С.С.

Московский государственный машиностроительный университет (МАМИ), Москва, Россия
sofia-babkina@mail.ru

Биосенсоры на основе ДНК заняли прочное место в аналитической химии как новый высокоспецифичный и чувствительный инструмент фармацевтического, биохимического и экологического анализа. Особое внимание уделяется электрохимическим ДНК-сенсорам и биоаффинным методы анализа на основе ДНК. В качестве элементов распознавания в биосенсорах на основе ДНК применяют нативную ДНК (н-ДНК), денатурированную (д-ДНК), олигонуклеотиды, а также синтетические рецепторы на основе длинноцепочечных олигонуклеотидов, не имеющих природных аналогов – аптамеры. Биоаффинные взаимодействия биорецептор-эффектор на сенсоре моделируют реальные процессы, связанные с передачей наследственной информации, с действием лекарственных средств, мутагенов и канцерогенов благодаря чувствительности макромолекул ДНК к присутствию различных химических агентов, в частности, противоопухолевых фармпрепаратов и экотоксикантов.

Показана возможность количественного определения эффекторов различной природы с помощью биосенсоров на основе ДНК.

В качестве примера применения ДНК и ДНК-сенсоров в фармацевтическом анализе представлены биоаффинные методы определения противоопухолевых препаратов в сыворотке крови и в лекарственных формах – таблетках и инъекциях.

ДНК-сенсоры используются также в экологическом анализе для изучения взаимодействия с ДНК и определения токсикантов, например, ионов металлов и их комплексов, ароматических аминов, афлотоксинов, бензпирена, полихлорбифенилов и т.д. Определение проводится в природной и питьевой воде, пищевых продуктах с высокой селективностью и чувствительностью.

Большое значение в настоящее время имеет изучение процессов с участием ДНК, ее фрагментов и разработка методов высокоспецифичного определения и идентификации молекул ДНК, наличия в системе «чужеродной» ДНК. Создание точных и чувствительных методов определения повреждений ДНК различными физическими и химическими агентами (такими как УФ-излучение, ионизирующая радиация, фоточувствительные красители, экотоксиканты), приводящими к мутациям, смерти клеток и раку, является приоритетной задачей химиков-аналитиков. Быстрый анализ различных нуклеотидных последовательностей необходим и в других областях, таких как диагностика и лечение заболеваний человека и животных, судебная медицина, контроль компонентов биологического оружия, обнаружение патогенных микроорганизмов в биологических жидкостях, в пищевых продуктах.

БИОАФФИННЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АДРЕНАЛИНА И ДОФАМИНА С ПОМОЩЬЮ АМПЕРОМЕТРИЧЕСКОГО ДНК-СЕНСОРА

Бабкина С.С.¹, Улахович Н.А.², Медянцева Э.П.², Галявина А.Н.²

¹Московский государственный машиностроительный университет (МАМИ), Москва, Россия

²Казанский (Приволжский) федеральный университет (КФУ), Казань, Россия

Nikolay.Ulakhovich@kpfu.ru

Электрохимические биосенсоры на основе ДНК позволяют получить информацию о взаимодействии эффекторов с ДНК и определять их на уровне низких концентраций селективно и с достаточной экспрессностью. Исследование взаимодействия катехоламинов с ДНК и их определение имеет значение при разработке более эффективных способов анализа фармпрепаратов и биологических жидкостей. Установлено, что при низких концентрациях катехоламинов реализуется электростатический механизм взаимодействия эффектора и ДНК, а при более высоких основную роль в образовании комплекса играет интеркаляция, т.е., имея планарные ароматические кольца, молекулы катехоламинов (адреналина и дофамина) встраиваются и колеблются между парами азотистых оснований двойной цепи ДНК. Учитывая выявленные два варианта взаимодействия катехоламинов с ДНК, представляется целесообразным при разработке ДНК-сенсора для их определения *in-vitro* использовать ренатурированную форму ДНК (р-ДНК) при иммобилизации в составе сенсора. Эффективность такого подхода была доказана нами ранее при определении противоопухолевых препаратов с помощью амперометрических ДНК-сенсоров.

Для количественной характеристики специфичности комплексообразования методом Скетчарда были определены константы аффинного связывания катехоламинов с иммобилизованной формой молекул р-ДНК. Значение $K_{связ}$ составило для адреналина – $(8.5 \pm 0.4) \times 10^3$ л/моль, а для дофамина – $(1.2 \pm 0.2) \times 10^3$ л/моль. Эти значения свидетельствуют о более высоком сродстве адреналина к выбранной форме молекул ДНК в составе биосенсора. В условиях концентрирования достигнута величина $\text{spin } 5.5 \times 10^{-9}$ моль/л (адреналин) и 2.3×10^{-8} моль/л (дофамин).

МАРКЕРЫ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В ДИАГНОСТИКЕ ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

Бельская Л.В., Косенок В.К., Сарф Е.А., Титов А.В.

Общество с ограниченной ответственностью «ХимСервис», Омск, Россия

LudaB2005@mail.ru

Ведущее место в патогенезе многих заболеваний и патологических состояний принадлежит кислородным радикалам и связанными с ними нарушениями молекулярных механизмов их детоксикации. Известно, что у онкологических больных даже на начальных стадиях заболевания возникают нарушения в окислительно-восстановительной системе и разбалансировка системы антиоксидантной защиты, что можно использовать в диагностике данных заболеваний. Целью исследования являлось определение биохимических маркеров эндогенной интоксикации при использовании в качестве биосубстрата слюны человека.

В качестве материала исследования была выбрана слюна трех групп людей: контрольная (группа 1 – 70 человек, возраст 19 – 21 год), группа сравнения (группа 2 – 35 человек, возраст 40 – 60 лет, без наличия онкологического заболевания в анамнезе) и исследуемая группа (группа 3 – 60 человек, возраст 40 – 60 лет, пациенты клинического онкологического диспансера). Образцы слюны собирали утром натощак до чистки зубов в стерильные пробирки, центрифугировали при 10 000 об/мин. Во всех образцах определяли содержание малонового диальдегида (МДА), продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) (диеновых конъюгатов ДК, триеновых конъюгатов ТК, оснований Шиффа ОШ), молекул средней массы (МСМ). Статистическая обработка результатов проведена с использованием пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft).

В исследуемой группе и группе сравнения выявлено повышение содержания малонового диальдегида и молекул средней массы (табл.1), что свидетельствует о формировании неспецифической эндогенной интоксикации.

Таблица 1. Сравнение результатов биохимического анализа слюны

Исследуемая группа	МСМ, единицы оптической плотности		МДА, мкмоль/л	Продукты ПОЛ, относительные единицы		
	254 нм	280 нм		ДК	ТК	ОШ
Группа 1	0,066–0,040	0,107–0,032	5,76–0,55	8,84–0,66	7,54–0,62	1,70–0,09
Группа 2	0,182–0,050	0,217–0,038	8,99–1,19	10,78–0,47	8,66–0,32	1,90–0,08
Группа 3	0,138–0,030	0,124–0,024	10,25–1,05	9,06–0,55	7,35–0,46	1,75–0,13

Известно, что МДА обладает высокой биологической активностью, взаимодействует с азотистыми компонентами белков и нуклеотидных оснований ДНК, образуя еще более токсические соединения, например, основания Шиффа, что может обуславливать запуск дегенеративных процессов в клетках. Накопление МСМ в биологических жидкостях является следствием усиленного образования нефизиологических метаболитов. МСМ относятся к белковым токсинам прямого мембранотоксического действия. Возможно выделение двух фракций МСМ: содержащих (280 нм) и не содержащих ароматические аминокислоты (254 нм). Согласно приведенным данным, в контрольной группе и группе сравнения уровень МСМ, не содержащих ароматических аминокислот, ниже, чем содержащих, тогда как в группе пациентов онкологического профиля наблюдается обратная зависимость. По-видимому, это обусловлено спецификой протекающего заболевания и особенностями нарушений метаболизма клеток при опухолевом процессе.

Таким образом, проведено определение маркеров эндогенной интоксикации в слюне. Отмечены особенности содержания фракций МСМ у пациентов онкологического профиля, что может служить косвенным признаком наличия данного заболевания в клинической лабораторной диагностике.

МИКРОФУКУСНАЯ РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ СПЕКТРОМЕТРИЯ И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ АНАЛИЗА БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ.

Болотоков А.А.¹, Куприянова Т.А.², Филиппов М.Н.²

¹ООО «Институт физической оптики», Москва, Россия

²ФГБУН Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия

optics@yandex.ru, kupr@igic.ras.ru



Рентгенофлуоресцентный метод анализа, особенно в его энергодисперсионном варианте (ЭДРФА), является одним из наиболее удобных и доступных неразрушающих методов анализа в том числе и биологических образцов. К его достоинствам также относится возможность проведения одновременно многоэлементного качественного и количественного микроанализа в широком диапазоне концентраций от 10^{-4} % (1 ppm) до 100 %. В большинстве случаев отсутствует подготовка пробы для анализа, что является важным, особенно при анализе медико-биологических материалов. Время проведения анализа составляет не более 5 мин.

Были исследованы человеческие зубы и кости, образцы, полученные при операциях на живых органах и тканях (биоптаты слизистой оболочки желудка, сосуды, нервы, надпочечники и т.д.).

Исследования проводили на рентгенофлуоресцентном микроанализаторе «MX-10» (ООО «Институт физической оптики») с поликапиллярной оптикой Кумахова с фокальным зондом 26 мкм. Спектрометр является портативным, радиационно-безопасным и не требует контроля и учета со стороны СЭС (см. фото). Спектры получали на

рентгеновской трубке с Cu-анодом при высоком напряжении 20 и 30 кВ, токе накала 50-100 мкА. Время набора одного спектра составляло 100 или 300 с. Использование эффективных фокусирующих рентгенооптических систем позволяет проводить локальный анализ с построением карты распределения элементов на поверхности. Появляется возможность исследования микрообъектов и микровключений в анализируемых образцах.

Получены распределения Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe в различных местах живых тканей, волос, зубов, сосудов. Показано, что содержание элементов значительно изменяется в местах с микровключениями по сравнению с теми местами где поверхность более-менее однородна.

Таким образом, рентгенофлуоресцентный микроанализ может быть использован для решения многих проблем в медицине при изучении роли макро- и микроэлементов при различных заболеваниях, в исследовании биосубстратов при диагностике, изучении влияния загрязненности окружающей среды на здоровье человека, определении токсичных металлов в связи с профилактикой профессиональных заболеваний и т.д.

РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ЭКСПРЕССНОЙ ДЕТЕКЦИИ ДВУХ КАРДИОМАРКЕРОВ

Бызова Н.А.¹, Жердев А.В.¹, Венгеров Ю.Ю.¹, Космынина Ю.С.², Орешкина И.В.², Гончарова А.Я.²,
Розиев Р.А.², Дзантиев Б.Б.¹

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

²ОАО «НПК «Медбиофарм», Обнинск, Калужская область, Россия

nbyzova@inbi.ras.ru

Оперативное начало терапевтических мероприятий при остром инфаркте миокарда требует эффективных средств диагностики, сочетающих быстрое получение информации и возможность тестирования во вне-лабораторных условиях. Оптимальным подходом к решению этой задачи является иммунохроматографическая детекция специфических кардиомакеров, попадающих в кровь при разрушении мышечных клеток миокарда. При этом выбираемые для контроля кардиомакеры должны обеспечивать возможность диагностики на протяжении значительного временного интервала.

Разработана иммунохроматографическая тест-система в «сэндвич»-формате, основанном на формировании комплексов (иммобилизованное антитело) – (антиген в пробе) – (комплекс антител с частицей коллоидного золота). Тест-система позволяет проводить одновременное выявление в биопробах (венозная и капиллярная кровь, сыворотка) двух кардиомакеров – сердечных изоформ тропонина I (сТнI) и белка, связывающего жирные кислоты (сБСЖК). Принципиальное значение для диагностики имеет сочетание сБСЖК как «быстрого» маркера, появляющегося в крови через час после сердечного приступа, и сТнI как «медленного» маркера, наблюдаемого до двух суток.

В рамках разработки тест-системы были получены препараты коллоидного золота со средним диаметром 34 нм и их конъюгаты с моноклональными антителами против сТнI и сБСЖК. Сопоставлена антигенсвязывающая способность конъюгатов разного состава; охарактеризованы процессы формирования детектируемых комплексов в ходе иммунохроматографии с использованием различных мембранных носителей; установлены условия нанесения иммунореагентов на мембраны и их концентрации, обеспечивающие минимальные пределы обнаружения.

Особенностью тест-системы является одновременное детектирование двух существенно различающихся по свойствам белков. В связи с этим было проведено сопоставление результатов анализа при разных режимах иммунохроматографии и выбраны мембранные носители и компоненты реакционной среды, позволяющие эффективно выявлять как сТнI, так и сБСЖК.

Проведена апробация тест-системы на клиническом материале. Показано, что пределы обнаружения кардиомакеров составляют 1 нг/мл для сТнI и 4 нг/мл для сБСЖК, время анализа – 10 минут. Исследование динамики уровней кардиомакеров подтвердило возможность мониторинга острого инфаркта миокарда в течение длительного времени за счет сочетания «быстрого» и «медленного» кардиомакеров. Рассмотрены возможности количественной иммунохроматографической оценки содержания кардиомакеров с помощью портативного фотометрического детектора. Показана корреляция результатов, получаемых с помощью разработанных тест-систем и других методов, традиционно используемых в кардиодиагностике.

Работы выполнены при поддержке ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» (государственный контракт № 13411.1008799.13.039 от 07.05.2013).

МИКРОЭКСТРАКЦИОННЫЕ МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ И КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ ДЛЯ ХИМИКО-АНАЛИТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

Вах К.С., Почивалов А.С., Булатов А.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

kristina-fulmes@mail.ru

В настоящее время в экспериментальной и клинической медицине резко возрос интерес к надежным методам исследования качественных и количественных характеристик биологических жидкостей с целью ранней диагностики различных патологических изменений в организме человека. Постоянно возрастающее число клинических анализов требует разработки новых автоматизированных и миниатюризированных подходов, которые позволят повысить не только надежность анализа, но и его производительность, а так же снизить трудозатраты и расходы реагентов. Общим решением автоматизации и миниатюризации анализа биологических жидкостей является применение проточных методов. Однако существуют про-

блемы, ограничивающие возможности известных проточных методов при анализе биологических жидкостей, – низкая селективность и недостаточная чувствительность. Эти проблемы могут быть устранены с помощью эффективных методов разделения и концентрирования веществ, среди которых наиболее популярным в последние годы является микроэкстракция. Микроэкстракционные методы разделения и концентрирования требуют минимальных объемов, как экстрагента так и самой пробы, что немаловажно при анализе биологических жидкостей, а их сочетание с проточными методами анализа позволяет проводить исследования в реальном масштабе времени.

В работе представлен критический обзор известных микроэкстракционных методов разделения и концентрирования в сочетании с проточными методами, и их применение для химико-аналитического анализа биологических жидкостей.

ВЫЯВЛЕНИЕ ПРИЗНАКОВ АДРЕНОКОРТИКАЛЬНОГО РАКА НА ОСНОВЕ СТЕРОИДНЫХ ПРОФИЛЕЙ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

Великанова Л.И., Обьедкова Е.В., Стрельникова Е.Г., Кривохижина Н.С.

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Россия
obedkovaev@gmail.com

Введение. В настоящее время остается ряд вопросов в определении ракового потенциала у больных с опухолями коры надпочечников. Изучение стероидных профилей методами хроматографии позволяет проводить дифференциальную диагностику среди доброкачественных и злокачественных опухолей надпочечников. Представляется актуальным сочетание классических лабораторных тестов и исследования стероидных профилей биологических жидкостей хроматографическими методами для поиска критериев аденокортикального рака (АКР).

Цель. Исследовать стероидные профили биологических жидкостей больных с новообразованиями надпочечников методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ/МС) для выявления биохимических критериев аденокортикального рака.

Материалы и методы. В работе проведена оптимизация регламента пробоподготовки (ферментативный гидролиз, экстракция и дериватизация) и условий газохроматографического определения стероидных гормонов. Методом ГХ/МС исследовали стероидные профили мочи (60 стероидов) в ресурсном центре «Методы анализа состава веществ» СПбГУ. Методом ВЭЖХ определяли в сыворотке крови 8 кортикостероидов и экскрецию с мочой 4 свободных форм стероидов. Обследовано 25 здоровых лиц и 19 пациентов с аденокортикальным раком, который был верифицирован на основании гистологического анализа послеоперационного материала. Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программного пакета для статистического анализа STATISTICA for Windows (версия 7). Применен непараметрический критерий Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение. В результате исследования стероидных профилей методами ВЭЖХ и ГХ/МС было выделено 3 формы аденокортикального рака, для которых установлены общие критерии: повышение экскреции с мочой тетрагидро-11-дезоксикортизола, прегнантриола, 16-гидрокси-прегненолона, 21-гидрокси-прегненолона, прегнендиола (dP2), прегнентриола (dP3), 3 α ,16-гидроксипрегнендиола (3 α ,16ОНdP₂), 3 β ,16-гидроксипрегнендиола (3 β ,16ОНdP₂), а также соотношения (3 α ,16ОНdP₂/3 β ,16ОНdP₂)<6,0 и/или 3 α dP3/3 β dP3<10. По данным ВЭЖХ для аденокортикального рака характерно повышение в крови 11-дезоксикортизола, кортикостерона, 11-дезоксикортикостерона, 18-гидроксикортикостерона и экскреции с мочой 18-гидроксикортикостерона и 6 β -гидроксикортизола. Выявлено повышение глюкостероидной и минералокортикоидной функции коры надпочечников для больных со злокачественной кортикостеромой (форма 1), для формы 2 – увеличение дегидроэпиандростерона и его метаболитов, для формы 3 – повышение андрогенной, глюкостероидной и минералокортикоидной функции коры надпочечников.

Выводы. Разработан способ получения стероидного профиля мочи методом газовой хромато-масс-спектрометрии, оптимизированы процедура пробоподготовки и условия хроматографического анализа. По данным газовой ГХ/МС и ВЭЖХ получены биохимические критерии 3-х форм аденокортикального рака.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ИНТЕГРАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА В МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Вершинин В.И.

Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского, Омск, Россия

В исследованиях, посвященных профилактике и этиологии профессиональных заболеваний, канцерогенезу, фармакодинамике, новым методам лабораторной диагностики и многим другим направлениям современной медицины, широко применяют интегральные показатели химического состава (ИП). Это приблизительные оценки суммарного содержания некоторой группы веществ, однотипных по своему строению и/или свойствам. Примерами могут быть показатель «общий белок» – важная характеристика состава биологических жидкостей; показатель «триглицериды»; индекс антиоксидантной активности пищевых продуктов и БАДов; фенольный и углеводородный индексы питьевой воды. Известно несколько десятков подобных показателей, их выражают в пересчете на одно из веществ соответствующей группы ($X_{\text{ст}}$) [1]. Например, содержание белков выражают в пересчете на альбумин. Широкое использование ИП объясняется невозможностью отдельно определять все аналиты данной группы (по экономическим и организационным причинам). Во многих случаях достаточно правильно оценить суммарное содержание аналитов. К сожалению, медики и другие исследователи, использующие ИП, обычно отождествляют числовое значение ИП, найденное по некоторой методике (далее c^*), с суммарным содержанием соответствующих аналитов (далее c_{Σ}). Однако c^* и c_{Σ} могут различаться в несколько раз, причем разные методики анализа одной и той же пробы приводят к существенно различным c^* . Результат анализа зависит не только от c_{Σ} но и от способа измерений, природы $X_{\text{ст}}$, а также от состава смеси аналитов в исследуемой пробе [2]. Методологические и метрологические аспекты применения ИП еще недостаточно изучены [3]. Нерешенной проблемой является разная чувствительность определения однотипных аналитов, то есть внутригрупповая селективность методик. Так, при использовании метода Лоури для определения «общего белка» коэффициенты чувствительности разных белков могут отличаться в 300 раз. По изменению c^* в серии однотипных проб, проанализированных по единой методике, можно судить об изменениях суммарного содержания аналитов (например, в ходе лечения данного больного). Но по ИП нельзя сопоставлять суммарные содержания этих аналитов в разнотипных пробах, усреднять значения c^* , полученные по разным методикам, а также сравнивать их с какими-либо нормативами или критериями.

В докладе будут кратко представлены результаты исследований, выполненных в последние годы в ОмГУ и связанных с оценкой суммарных содержаний антиоксидантов, углеводов, фенолов и углеводородов. На основе полученных данных выработаны общие рекомендации и алгоритмы, позволяющие:

- оптимизировать методику измерения ИП и подбирать лучший стандарт ($X_{\text{ст}}$);
- прогнозировать единичные и предельные погрешности анализа;
- рассчитывать по величине ИП действительное значение c_{Σ} (в виде интервала), и т.п.

Соответствующие теоретические рекомендации проверены при определении разных ИП с применением разных методик анализа [2]. Рекомендации имеют общий характер и могут быть использованы в любых медицинских исследованиях, независимо от того, суммарное содержание каких именно веществ хочет контролировать экспериментатор и какими аналитическими приборами он располагает.

1. Baena, J.R., Valcarcel M. / Trends in Analytical Chemistry. 2003. V.22, № 10, p. 641.
2. Vershinin V.I. / Talanta. 2015. V.131, №1, p.293.
3. Золотов Ю.А. / Журн. аналит. химии. 2004. Т.59, №7, с.677.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТИМУЛЯТОРОВ В МОЧЕ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ/МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ОРБИТАЛЬНОЙ ИОННОЙ ЛОВУШКОЙ

Вирюс Э.Д., Иванов А.В., Лузянин Б.П., Кубатиев А.А.

ФГБНУ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия
edwardvirus@yandex.ru

Введение. К стимуляторам относят вещества, которые способствуют снижению усталости и повышению конкурентноспособности. Поэтому их потребление строго запрещено во время спортивных соревнований и контролируется антидопинговыми центрами. Недавно для их определения был предложен метод жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии с тремя квадруполями. Однако, несмотря на высокую селективность, экспрессность и чувствительность данный метод охватывает только целевые стимуляторы. В этом случае, чтобы

избежать санкций, спортсмену достаточно использовать новые химические или фармакологические аналоги запрещенных препаратов. Решением данной проблемы могло бы стать применение метода жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии с орбитальной ионной ловушкой, позволяющей осуществить нецелевой скрининг широкого круга веществ.

Цель исследования. Разработать подход к скринингу широкого круга стимуляторов в моче с применением метода жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии с орбитальной ионной ловушкой.

Материал и методы исследования. При разработке данного подхода использовали 10 образцов мочи, в которых добавляли стимуляторы. Для подготовки образцов к анализу переносили 100 мкл мочи в пробирку Эппендорфа, содержащую 900 мкл элюента. Затем раствор центрифугировали в течение 5 мин. при 3000 об./мин. 10 μ L супернатанта вводили в хромато-масс-спектрометрическую систему высокого разрешения (Exactive, Thermoscientific). Разделение стимуляторов осуществляли на колонке с обращенной фазой C_{18} Acquity VEN (100 \times 2мм, 1.8 μ к) фирмы Waters. Разрешение: 50000 на половине высоты. Точность измерения масс: 1 млн.⁻¹. Диапазон сканирования: 100-700 m/z. Время анализа: 10 мин.

Полученные результаты, их обсуждение. Предел обнаружения данного способа определения составляет 10 нг/мл. Относительно высокий предел обнаружения связан с тем, что анализ проводился без концентрирования. Более того, проба разбавляется в 10 раз. Тем не менее, этого достаточно для обнаружения стимуляторов у недобросовестных спортсменов.

Выводы. Разработан способ определения 47 стимуляторов. При появлении «новых» стимуляторов нет необходимости в оптимизации условий диссоциации, индуцированной соударениями и поиске условий детектирования. Знание точной массы протонированной молекулы «нового» стимулятора бывает достаточно для включения его в список определяемых веществ.

ХИМИЧЕСКИЕ ЭЛЕМЕНТЫ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА И МЕТОДЫ ИХ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Вольфсон И.Ф.

Российское геологическое общество, Москва, Россия

rosgeo@yandex.ru

Как известно, в организме человека присутствуют практически все элементы таблицы Менделеева. Те из них, концентрация которых в организме колеблется от 0,01% до 70%, относятся к группе макроэлементов – основы биологических и органических соединений – O, H, C, N, K, Mg, Fe, Na, Ca, S, Cl, P, I, Si, F. Множество химических элементов, входящих в состав минеральных форм, присутствуют в живых тканях и биологических жидкостях в концентрациях от сотых до миллионных долей процента и характеризуются как микроэлементы Fe, Zn, Cu, Mn, Se, V, Ni, Cr, Sn, Mo. Указанные металлы относятся к категории биофильных, так как они являются стержневой частью ферментов (ферментов), вовлеченных в метаболические или биохимические процессы. В биологических системах эти металлы являются катализаторами, причем для обеспечения жизнедеятельности клеток необходимы лишь следовые их концентрации. Очевидно, что недостаток или превышение концентраций указанного спектра металлов может приводить как к функциональным, так и структурным нарушениям, с которыми связаны специфические биохимические изменения и процессы в организме человека. Например, дефицит Se приводит к нарушению работы сердечной мышцы (кешанская болезнь), а также остеоартропатии (уровская болезнь) [2; 4].

Макроэлементы и их соединения – K, Na, Ca, SO_4 , NO_3 , Si, Cl, P, I, F несут свою нагрузку в работе организма, отвечая за работу сердечно-сосудистой системы и эндокринной системы, деятельность мозга, обменные процессы и также являются биофильными элементами (соединениями). Известно, например, что Ca и P, помимо других важных функций, вместе с витамином D и медью отвечают за минерализацию костей.

Воздействие элементов на организм человека обычно происходит через пищу, в том числе из-за особых диетических пристрастий к тому или иному ее виду, питьевую воду, в процессе производства промышленных изделий и товаров, т.е. в связи с особенностями профессиональной деятельности. В производственной среде, как правило, воздействие осуществляется путем ингаляции, так как элементы могут присутствовать в виде аэрозолей (радон), входить в состав летучих соединений, как например йод, ртуть, фторид урана, мышьяк, тетраэтил свинец, концентрироваться в пыли (асбест, окись бериллия и др.).

Химические элементы, которые используются для приготовления инсектицидов, медицинских и косметических препаратов, а также моторного топлива могут попадать в организм через кожу. Например, мышьяк, который в давние времена использовался в жидкостно-тонике Фулера, а сегодня он же является важной составной частью в препарате *тризенокс*, используемом в химиотерапии некоторых форм рака, в частности, острой промиелоцитарной лейкемии; ртуть в отбеливающих кожу средствах; фтор и двуокись титана в зубной пасте; мышьяк в составе инсектицидов, применяемых в сельском хозяйстве при выращивании виноградной лозы и других культур; тяжелые металлы и тетраэтилсвинец из бензина и других топливных смесей и т.д.

В течение последних десятилетий происходил процесс взаимопроникновения, по сути конверсии, методов и методик исследования химического состава вещества в сферах, являющихся предметом естественных наук и, в частности, медицины и геологии. В настоящее время широко применяются минералого-аналитические и геохимические методы контроля с целью выявления возможных путей проникновения в организм человека токсичных веществ-продуктов геологических и производственных процессов, изучения отклонений в здоровье человека и животных и их связи с концентрациями различных химических элементов, ионов и ключевых микронутриентов (йода, железа, селена и многих других), а также менее изученных соединений, например кремнезема, в органах и тканях.

Современные методы анализа химического состава позволяют:

- проводить прогнозную оценку вероятных и экологических последствий освоения месторождений и деятельности предприятий по добыче и переработке минерального и энергетического сырья;
- определять состав загрязняющих компонентов, форм их нахождения и оценку воздействия на окружающую среду;
- осуществлять экологический мониторинг окружающей среды, выявление очагов загрязнения, разработку технологий и проведения компенсационных мероприятий по снижению негативного воздействия загрязнений.

В современных экосистемах существенная роль принадлежит твердофазным депонирующим средам, к которым могут быть отнесены поликомпонентные образования природного и техногенного происхождения. Очевидно, что достоверная информация об экологической и эпидемиологической ситуации в конкретной экосистеме может быть получена лишь в том случае, когда известен не только элементный состав объектов, но, и идентифицированы минеральные и (или) техногенные фазы токсичных веществ, характер их распределения в среде (атмосфере, морских акваториях, водоемах, подземных водах, почвах и пр.). Именно такая информация позволяет оценивать степень экологической опасности и осуществлять профилактические и санитарно-гигиенические мероприятия по предотвращению и ликвидации негативного воздействия на здоровье населения.

Комплексирование современных прецизионных минералогических методов (высокоразрешающая оптическая и электронная микроскопия, рентгенография, рентгеновская микротомография, ИК- и ЯГР-спектроскопия, термический и люминесцентный анализ) позволяет определять форму нахождения токсичных компонентов, оказывающих негативное воздействие на здоровье человека, в горных породах, почвах, донных осадках, бытовых и промышленных отходах, воде, воздухе, снеге, растениях и т.д., а также выявлять формы нахождения разнообразных органических фаз – полициклических ароматических углеводородов, ароматических аминов, алифатических углеводородов.

В настоящее время успешно проводятся определения твердофазных частиц в воздухе, воде, снеге методами высокоразрешающей оптической микроскопии, включая автоматический анализ изображений. Например, оценка содержания асбеста в пыли и определение его морфометрических характеристик, прежде всего, удлинения, что имеет принципиальное значение, т.к. оказывает пагубное влияние на здоровье человека, вызывая такие заболевания легких, как асбестоз, пульманоз, туберкулез, рак. Определение асбеста в промышленных отходах в иммерсионных препаратах позволяет оценивать класс их опасности.

Рентгеновские методы анализа становятся основой оценки качества глин, используемых для создания лечебных и косметических средств. Аналитическая электронная микроскопия позволяет выявить и диагностировать минеральные и техногенные фазы в различных средах и определить их морфоструктурные характеристики. Например, химический состав и форму частиц пыли, почв, донных отложений водоемов, водохранилищ и растений с их берегов, металлургических шлаков и шламов предприятий цветной металлургии. Перспективным направлением исследований является изучение патогенных минеральных фаз в организме человека, в генезисе которых участвуют различные бактерии, идентификация морфологических особенностей которых возможна только при использовании электронной микроскопии.

Метод мессбауэровской спектроскопии (ЯГРС) позволяет определять железосодержащие фазы и коэффициент окисленности железа в почвах, донных осадках, техногенных образованиях и т.д. Как известно железо является эссенциальным элементом, от которого зависит уровень гемоглобина, миоглобина, осуществляющих е-транспорт энзимов в организме. Недостаток железа приводит к развитию анемии, ослабляет иммунитет организма к инфекционным заболеваниям и приводит к задержке роста. Превышение содержания железа в пищевых цепочках приводит к поражению печени, а в пыли к сидерозу и силикосидерозу легких.

К перспективным направлениям следует отнести разработку и создание специальных тестов на обнаружение токсичных элементов в природных средах, подобных армейским полевым химическим лабораториям (ПХЛ). Удачным примером ПХЛ является тест на выявление As в углях, разработанный специалистами Геологической службы США. Он предназначен для профилактики здоровья населения угленосных провинций, вынужденного

использовать в качестве топлива для обогрева жилищ и приготовления пищи уголь с высокими концентрациями токсиканта. Повышенный интерес к мышьяку обусловлен высоким уровнем заболеваемости населения целого ряда стран Азии и Латинской Америки – КНР, Тайвань, Бангладеш, Чили. Доказаны эпидемиологическими исследованиями случаи заболевания населения этих стран диабетом, раком кожи, ишемической болезнью сердца и многими другими [1; 3] (Табл.1).

Применение метода газовой хроматографии при изучении водных вытяжек из плиоценовых лигнитов (бурых углей) позволило установить причину возникновения эпидемии такого тяжелого заболевания почек, как балканская эндемическая нефропатия. Ею стало присутствие в питьевых водах ряда сельских районов бывшей Югославии и Румынии целого спектра органических соединений, включая ПАУ, в концентрации 0,1 – 10 мг/л.

Таблица 1. Частота проявлений заболеваний, обусловленных хроническим отравлением мышьяком (n = 180) в г. Антафагаста, Чили в 1969 (по Allison et al., 1996 [1]).

Обследованы 180 человек. Из них 71, 8% в возрасте от 1 до 19 лет	
<i>Заболевание</i>	<i>Частота, %</i>
Изменение цвета кожи	80.0
Гиперкератоз	36.1
Хронический ринит	59.7
Хронический кашель	28.3
Бронхопневмония	14.9
Болезнь Рейно	30.0
Цианоз	22.0
Хроническая диарея	7.2
Колики в области живота	39.1

Литература

- Allison, M.J., Figueroa, L., Razmilic, B. and González, M. (1996). Arcenismo crónico en el Norte Grande Chileno. *Dialogo Andino*, 14/15, 159–168.
- Selinus O., Lindh U., Fuge R., Centeno J., Alloway B., Smedley P., Finkelman R. (Eds.) *Essentials of Medical Geology. Impacts of the Natural Environment on Public Health*. Elsevier Academic Press, 2005.
- Tchounwou Paul B., Patlolla Anita K., Centeno. Jose A. Carcinogenic and Systemic Health Effects Associated with Arsenic Exposure – A Critical Review. *Toxicologic Patology*. Vol 31 (6). December 2003.
- Volfson I.F, Paul W. and Pechenkin I.G. *Geochemical Anomalies: Sickness and Health// Man and the Geosphere (Earth Sciences in the 21st Century)*. Editor: I.V. Florinsky. Nova Science Publishers, Inc. 2010, pp.69–113.

КОНЦЕПЦИЯ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ПЛАТФОРМЫ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ДВУХУРОВНЕВОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИЙ

Гладышев П.П.¹, Васильев А.А.⁴, Моренков О.С.³, Врублевская В.В.³, Бабкина С.С.¹, Дежуров С.В.², Крыльский Д.В.², Ибрагимова С.И.¹

¹ Государственный университет «Дубна», Дубна, Россия

² Научно-исследовательский институт прикладной акустики», Дубна, Россия

³ Институт биофизики клетки Российской академии наук, Пушкино, Россия

⁴ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Россия

pglad@yandex.ru

Очевидно, что проблема разработки прецизионных методов ранней диагностики особо опасных и резистентных инфекций может быть решена на основе протеомных технологий, и новые эффективные аналитические платформы иммунодиагностики могут быть созданы на базе иммунохроматографического анализа (ИХА).

Целью исследования является разработка концепции аналитической платформы двухуровневой иммунохроматографической диагностики инфекций.

В основе концепции лежит двухуровневая диагностика инфекций на основе ИХА, обеспечивающая повышение чувствительности, воспроизводимости, технологичности и автоматизации направленной на объективную количественную регистрацию аналитического сигнала, совершенствование технологии чтение / запись и интегрирование в информационные системы для сбора, хранения и обобщения данных.

Это позволит создавать «бесшовные» медицинские услуги в системе врачи – клиники – лаборатории – больницы.

Основным препятствием проведения количественного ИХА анализа является не достаточно высокая воспроизводимость современных тестов. Использование в качестве флуоресцентных меток квантовых точек (КТ), совершенствование технологий получения высокочувствительных и специфических антител и конъюгатов антител с КТ, а также высокочувствительная техника обнаружения комплексов «антиген-антитело» позволяют разработать новую аналитическую платформу и роботизированную технику для двухуровневой иммунохроматографической диагностики инфекций. Техника первого уровня предназначена для диагностики по месту отбора образцов для анализа (РОСТ диагностика), а второго уровня для централизованного анализа образцов. Для испытаний и комплексной поверки создаваемой роботизированной техники разрабатывается образцовая тест-система на основе модельного апаатогенного для человека вируса болезни Ауески и его антител.

Для создания диагностических тестов на конкретные инфекции необходимо учитывать свойства каждой конкретной системы, в том числе диапазон концентрации аналита, метод отбора проб и методику предобработки образца. Разработка методов пробоотбора, пробоподготовки, маркировки компонентов аналитической системы, а также методов детектирования взаимосвязаны и требуют комплексного рассмотрения. Высокий уровень автоматизации может обеспечить экономическую целесообразность использования нетипичной для РОСТ аналитической платформы RAMP, обеспечивающей существенное повышение отношения аналитический сигнал/шум.

Таким образом, авторами разработана концепция новой аналитической платформы двухуровневой иммунохроматографической диагностики инфекций, в рамках которой ведется разработка роботизированной техники, позволяющей в комплексе решить проблему ранней диагностики особо опасных и резистентных инфекций на основе протеомных технологий.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда в рамках гранта № 15-19-00229.

ПРИМЕНЕНИЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ПОЛУПРОВОДНИКОВ ДЛЯ АНАЛИЗА И ВИЗУАЛИЗАЦИИ

Горячева И.Ю.

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

goryachevaivy@mail.ru

В докладе рассмотрено применение люминесцентных квантовых точек в качестве биометок в анализе и для целей визуализации. Люминесцентные квантовые точки представляют собой наночастицы полупроводников нанометрового размера, которые используются как новый класс люминесцентных меток для химического анализа (в том числе для развития внелабораторных тест-методов), молекулярной визуализации и биомедицинской диагностики. Небольшой размер, яркая люминесценция и варьируемые спектральные характеристики испускания хорошо подходят для обнаружения одного или нескольких аналитов одновременно с высокой чувствительностью. Физическая, химическая и фотостабильность создают предпосылки для использования квантовых точек в качестве меток для использования их во внелабораторных условиях.

В докладе будут обсуждаться свойства квантовых точек, особенности их синтеза и модификации, варианты меток на основе квантовых точек, условия генерации сигнала, а так же преимущества и недостатки. Изначально используемые для визуализации в гистологических методах и экспериментах *in vivo*, позднее квантовые точки применяются для иммуноферментного анализа в традиционном формате микротитрационных планшетов (люминесцентный твердофазный иммуноанализ) и в экспресс-тестах. Интерес к такого рода меткам для аналитических приложений может быть даже шире, потому что токсичность (главное ограничение применения квантовых точек в опытах *in vivo*) не так принципиальна для анализа.

Узкие симметричные люминесцентные пики квантовых точек делают возможным использование их в качестве меток для одновременного определения нескольких аналитов. Эта возможность особенно важна для анализа более чем одного аналита в одной тест-зоне. Малый размер позволяет объединить несколько квантовых точек в одну структуру.

Приведены примеры использования люминесцентные квантовых точек в анализе, в том числе для разработки внелабораторных тест-методов, представлены, а также для модификации классических методов.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки, проект RFMEFI57414X0128.

КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДНК В БОЛЬШИХ ОБЪЕМАХ РАСТВОРОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СУСПЕНЗИОННЫХ КОЛОНОК И КОМБИНАЦИИ УЛЬТРАЗВУКОВОГО И МАГНИТНОГО ПОЛЕЙ

Дженлода Р.Х.¹, Шкинев В.М.¹, Петров Д.Г.², Князьков Н.Н.², Курочкин В.Е.², Спиваков Б.Я.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции
Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук (ГЕОХИ РАН),
Москва, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт аналитического
приборостроения Российской академии наук (ИАП РАН), Санкт-Петербург, Россия
dzhenloda@gmail.com

Зернистые сорбенты в виде суспензии (суспензионные колонки) можно применять вместо традиционных набивных слоев для использования более эффективных мелких зёрен сорбента (несколько микрон), удерживаемых в колонке низкого давления за счет ультразвукового поля [1]. Это позволяет извлекать из относительно больших объемов водных растворов различные вещества, от ионов металлов до антигенов, ускорять процесс сорбции под действием ультразвука и разделять аналиты большого размера. К таким аналитам относятся нуклеиновые кислоты, которые можно извлекать с помощью различных сорбентов, в том числе и магнитных. Однако большинство используемых сорбционных и других методов являются статическими и многостадийными, требуют применения центрифугирования и других длительных процедур. В данной работе для извлечения ДНК впервые предложено использование суспензионных колонок с покрытыми силикагелем магнитными сорбентами в комбинированном акустическом и магнитном полях. Применение ультразвуковой суспензионной колонки позволяет интенсифицировать сорбционный процесс. Использование магнитного «фильтра» дает возможность применять большую массу сорбента, количественно удерживаемую даже в случаях, когда одно акустическое поле не полностью удерживает в потоке пробы мелкие фракции сорбционного материала. Таким образом, предложен проточный способ сорбционного выделения и концентрирования различных ДНК с последующим их элюированием в режиме on-line и определением с помощью метода полимеразной цепной реакции.

Литература

1. В. Ya. Spivakov, V.M. Shkinev, T.V. Danilova, N.N. Knyazkov, V.E. Kurochkin, V.K. Karandashev, Suspension column for recovery and separation of substances using ultrasound-assisted retention of bead sorbents. *Talanta* 102 (2012) 88-92.

Авторы благодарят за финансовую поддержку РФФИ (проект No 13-03-00069).

ОПЫТ ДИАГНОСТИКИ ХЕЛИКОБАКТЕРИОЗА ПО АММИАКУ. ЧАСТЬ 2. ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ УСТРОЙСТВ

Дмитриенко М.А., Эмануэль А.В., Дмитриенко В.С., Евдокимова М.И.

ООО «Ассоциация Медицины и Аналитики», Санкт-Петербург, Россия

m_dmitrienko@amamed.ru

Введение. Диагностика инфекции *Helicobacter pylori* (НР) – актуальная задача Российской гастроэнтерологии. На основе выбранных типов сенсоров (см. Часть 1) нами были разработаны устройства для диагностики НР. Принцип действия устройств основан на определении активности фермента уреазы, вырабатываемой НР в желудке пациента, по образующемуся продукту-биомаркеру – аммиаку.

Цель исследования. Оценить диагностическую эффективность различных устройств для диагностики инфекции (НР).

Материал и методы исследования. Исследуемые устройства: тест-система ХЕЛПИЛ® (быстрый уреазный тест), тест-система ХЕЛИК® с индикаторной трубкой – ИТ (с компрессором или с системой комбинированной ХЕЛИК®-Скан-М), индикатор компьютеризированный ХЕЛИК®-аппарат на основе электрохимического датчика.

Диагностическая эффективность устройств оценивалась в 8 лечебных учреждениях при определении НР у детей и взрослых. В качестве референсных методов использовались: гистологическое исследование, уреазный дыхательный тест, полимеразно-цепная реакция, серологический метод.

Результаты и их обсуждение. Сводная таблица результатов определения диагностических характеристик устройств:

Диагностические характеристики	Тест-система ХЕЛИК®		Тест-система ХЕЛПИЛ®	Индикатор ХЕЛИК®-аппарат
	в случае применения с компрессором	в случае применения с системой ХЕЛИК®-Скан-М		
Чувствительность, %	95	96	95	95
Специфичность, %	92	93	96	95
Прецизионность, %	98	97	95	96
Точность, %	95	96	97	97
PPV (Прогностическая ценность положительного результата), %	98	98	97	95
NPV (Прогностическая ценность отрицательного результата), %	80	81	93	92

Полученные высокие значения диагностической чувствительности и специфичности позволили широко внедрить разработанные устройства в практику работы медучреждений России и других стран. За 17 лет работы диагностика НР была проведена более 3,5 млн человек инвазивно и более 1,5 млн человек – инвазивно.

Заключение. Исследуемые устройства для диагностики инфекции *Helicobacter pylori* имеют высокую диагностическую эффективность и могут быть рекомендованы в качестве надёжных методов как для диагностики НР, так и для оценки эффективности проведенной эрадикации.

БИОСОВМЕСТИМЫЕ КВАНТОВЫЕ ТОЧКИ ПОКРЫТЫЕ ОБОЛОЧКОЙ НА ОСНОВЕ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ

Дрозд Д.Д., Гофтман В.В., Горячева И.Ю.

Саратовский Государственный Университет им. Н.Г. Чернышевского,
Саратов, Россия
dan64rus@gmail.com

Благодаря своим уникальным оптическим свойствам квантовые точки (КТ) нашли широкое применение в области биомедицинских исследований. Для КТ характерны широкие спектры поглощения, узкие симметричные пики испускания и высокая фотостабильность. Кроме того, можно получить КТ с заданным цветом флуоресценции, варьируя их размер в процессе синтеза. Для использования КТ в биохимическом анализе важно, чтобы они обладали такими характеристиками, как монодисперсность и хорошая стабильность в водной фазе в широком диапазоне рН и ионной силы. Так же необходимо наличие функциональных групп, доступных для биоконъюгации. Оболочки на основе оксида кремния позволяют создать КТ, которые отвечают всем этим требованиям. Многообразие силанизирующих агентов дает широкие возможности для модификации поверхности КТ привязкой различных функциональных групп и получения биолюминесцентной метки с заданными свойствами.

Синтезированные нами структуры оболочка-ядро (CdSe/CdS/CdZnS/ZnS), покрывали кремниевыми оболочками с помощью метода обратной микроэмульсии (water-in-oil). При помощи реакций со-конденсации поверхность силанизированной КТ была модифицирована различными функциональными группами, такими как амино-, эпокси- и карбоксильными. Изучено влияние природы функциональных групп на стабильность и спектральные характеристики модифицированных КТ. Для повышения стабильности и улучшения биосовместимости, к полученным модифицированным КТ были привязаны фрагменты PEG. Нами были подробно исследованы оптические характеристики полученных частиц и выявлен ряд преимуществ оболочек такой структуры по сравнению с другими типами покрытий.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки, проект 4.1708.2014/К.

**ЭКСПРЕССНОЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕКАРСТВ МЕТОДОМ
ПОЛЯРИЗАЦИОННОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА****Еремин С.А.**Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
saeremin@gmail.com

Определение концентраций лекарств как в биологических объектах (кровь, моча и т.д.), так и для детекции остаточных количеств лекарств в продуктах питания является одной из основных задач медицинской диагностики и повышения жизненного уровня людей. Необходимы простые, быстрые и чувствительные методы определения различных лекарств, прежде всего таких как карбамазепин, диклофенак, антибиотики, фторхинолоны, сульфамидные препараты, хлорамфеникол, и др. широко используемые лекарственные вещества. Для определения лекарств все более широко используются различные иммунохимические методы, такие как иммуноферментный анализ, поляризационный флуороиммуноанализ (ПФИА), иммунохроматографические тест-полоски и др., в которых в качестве распознающего реагента используются антитела.

Один из простых и количественных методов является ПФИА. Метод ПФИА это конкурентный метод иммуноанализа, который заключается в конкуренции определяемого вещества и вещества, меченого флуоресцентной меткой (трейсера), за связывание со специфическими антителами и детекции изменения поляризации флуоресценции реакционной смеси. Метод ПФИА проводится в течение нескольких минут без специальной пробоподготовки. Но для проведения ПФИА необходимы специальные приборы. В настоящее время для измерения поляризации флуоресценции широко применяются приборы ТДх фирмы «Эбботт», а также появляются и другие приборы, в том числе портативные, например «Сентри-200», дающие возможность проводить измерения в нелабораторных условиях.

В докладе будут рассмотрены последние достижения по разработке ПФИА на лекарства. Более детально об этом можно найти в наших публикациях.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 15-33-50021 и 15-53-46015 СТ_a

Литература

1. Lidia Oberleitner, Sergei A. Eremin, Andreas Lehmann, Leif-Alexander Garbe, Rudolf J. Schneider. Fluorescence Polarization Immunoassays for Carbamazepine – Comparison of Tracers and Formats. *Anal. Methods*, 7, 5854-5861 (2015).
2. Шанин И.А., Шаймарданов А.Р., Нгуен Ти Диу Тхай, Еремин С.А. Определение антибиотика фторхинолонового ряда левофлоксацина в моче методом поляризационного флуоресцентного иммуноанализа. *Журнал аналитической химии*. 70(6), 617-623 (2015).
3. Hongtao Mu, Baoling Wang, Zhenlin Xu, Yuanming Sun, Xinan Huang, Yudong Shen, Sergei A. Eremin, Anatoly V. Zherdev, Boris B. Dzantiev, Hongtao Lei. Stereospecific recognition and quantitative structure-activity relationship between antibodies and enantiomers: ofloxacin as model hapten. *Analyst*, 140(3), 1037-1045 (2015).
4. Tiejun Mi, Xiao Liang, Long Ding, Suxia Zhang, Sergei A. Eremin, Ross C. Beier, Jianzhong Shen and Zhanhui Wang. Development and optimization of a fluorescence polarization immunoassay for orbifloxacin in milk. *Anal. Methods*, 6(11), 3849-3857 (2014).
5. Linlin Ren, Meng Meng, Peng Wang, Zhihuan Xu, Sergei A. Eremin, Junhong Zhao, Yongmei Yin, Rimo Xi. Determination of sodium benzoate in food products by fluorescence polarization immunoassay. *Talanta*, 121, 136-143 (2014).

**ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ НА ОСНОВЕ
НОВОГО ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО ИНТЕРФЕЙСА С НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА****Ермаков С.С.¹, Николаев К.Г.^{1,2}, Mourzina Yu.², Offenhausser A.²**¹Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии, Санкт-Петербург, Россия²PGI-8, Research Centre Jülich, Jülich 52425, Germany*ermakov.sergey@chem.spbu.ru*

Определению глюкозы в крови посвящено огромное число работ, что говорит об актуальности этих исследований. В настоящей работе предложен новый высокочувствительный электрохимический интерфейс на основе наночастиц золота. Высокая чувствительность достигается за счет нового способа получения наночастиц, основанного на *in situ* синтезе наночастиц золота олеиламиновым методом с последующей активацией поверхности электрода реактивом Меервейна. Предложенный метод позволяет получить наноструктуры со стабильной архитектурой и размерами частиц 5-15 нм для их дальнейшей модификации глюкозооксидазой. Поверхность электрода охарактеризована сканирующей электронной микроскопией, а электрохимические свойства изучены спектроскопией электрохимического импеданса и циклической вольтамперометрией. Предложенный способ

позволил получить новый биосенсор с улучшенными аналитическими характеристиками: широким динамическим диапазоном 0.06–18.5 mM с чувствительностью $22.6 \pm 0.5 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$, пределом обнаружения 0.02 mM, хорошей воспроизводимостью и длительным временем жизни. Такие характеристики связаны с электрокаталитической активностью наночастиц золота, увеличению электрохимически активной поверхности золотого электрода и умью сопротивления переносу заряда благодаря обработке поверхности электрода реактивом Мервейна.

Работа сенсора была проверена на образцах плазмы крови и показала хорошее согласие с клиническими анализами.

РАЗРАБОТКА СЕНСОРОВ НА ОСНОВЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК

Жаркова И.С.¹, Занишевская А.А.², Горячева И.Ю.¹

¹Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

²ООО Наноструктурные технологии стекла, Саратов, Россия

zharkova_i.s@mail.ru

Развитие новых средств для клинической диагностики тесно связано с разработкой оптических архитектур и биосовместимых систем, в том числе и с включением люминесцентных квантовых точек. Квантовые точки (КТ) являются наноматериалами с уникальными спектральными характеристиками, которые находят применение в медицине, биологических исследованиях, а так же стали основой наноустройств. Высокая фотоустойчивость, широкий спектр возбуждения и узкий спектр люминесценции позволяют проводить многоцветное определение при использовании минимума оптических фильтров и мониторинг динамических процессов. Оптические биосенсоры обладают высокой чувствительностью и разрешением при обнаружении и количественном анализе химических веществ и биологических процессов.

Работа направлена на разработку и оптимизацию новых принципов детектирования и конструкции миниатюризированных биосенсорных устройств. За основу взяты люминесцентные КТ, а в качестве матрицы для иммобилизации КТ были использованы фотонно-кристаллические волноводы (ФКВ).

Системы включают одноразовые средства на основе стабильных меток (КТ) помещенных внутрь модифицированных ФКВ. Модификацию поверхности ФКВ проводили методом послойной адсорбции противоположно заряженных полиэлектролитов. В качестве меток использовали гидрофилизированные КТ на основе CdSe различных цветов свечения. Помимо собственно подложки-носителя, ФКВ выполняет роль оптического фильтра, «вырезая» целевые оптические сигналы за счет моделируемых при производстве «окон прозрачности».

Таким образом, нами была разработана и оптимизирована схема модификации внутренней поверхности ФКВ методом послойного нанесения.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект 14-13-00229).

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА МИКРОПЛАЗМЕННОЙ АТОМНО-ЭМИССИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ С КАПЕЛЬНО-ИСКРОВОМ РАЗРЯДОМ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ СТЕПЕНИ ЗАЖИВЛЕНИЯ ВИЗУАЛЬНО НЕДОСТУПНЫХ РАНЕВЫХ ПОВЕРХНОСТЕЙ

Жирков А.А.¹, Ягов В.В.¹, Власова А.А.², Зуев Б.К.¹

¹Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, Москва, Россия

²Центральная клиническая больница РАН №1, Москва, Россия

vdomah@gmail.com

Определение степени заживления труднодоступных для визуального наблюдения травмированных поверхностей является сложной задачей, для решения которой используют общий анализ крови, клинический анализ мочи и качественную оценку выделений из систем дренажа. Первые два метода позволяют оценить общее состояние больного, но дают мало информации о собственно процессе заживления. Третий способ является в значительной мере субъективным и зависит от клинического опыта персонала.

В настоящей работе рассмотрен метод определения степени заживления эпителиальных тканей и слизистых оболочек по минеральному составу выделяемого раневого экссудата. Изменение минерального состава раневого экссудата в процессе заживления отражает состояние поврежденной поверхности. Возможность оперативно отслеживать минеральный состав экссудата позволяет контролировать протекание процессов заживления. Для этого в настоящей работе используется соотношение молярных концентраций калия и кальция.

Предложен новый экспрессный метод медицинской диагностики, основанный на определении калия и кальция в раневом экссудате при помощи микроплазменной атомно-эмиссионной спектроскопии с капельно-ис-

кровым разрядом, пригодный для экспресс-диагностики состояния больного. Источником атомизации и возбуждения служит капельно-искровой разряд, возникающий при сближении разноименно заряженных менисков жидкости. Концентрацию калия и кальция определяли по интенсивности линий 768 и 423 нм, соответственно, в эмиссионном спектре разряда. Использовали метод добавок. Создан компактный прибор на основе миниатюрного спектрографа *mauа 200 pro* с проводящим столиком для пробы объемом 25 мкл (нанесение в виде капли, определение нескольких элементов из одной капли образца). Процедура нанесения новой и удаления предыдущей капли занимала около 30 секунд, весь анализ – несколько минут. Метод позволяет анализировать пробы сложного фазового состава, поэтому пробоподготовка ограничивается подкислением и, при необходимости, разбавлением эксудата дистиллированной водой до оптимального диапазона концентраций определяемого элемента (в 5-50 раз). Важным преимуществом микроплазменного варианта АЭС, помимо высокой чувствительности и экспрессности, является легкость миниатюризации и отсутствие газовых коммуникаций, существенно упрощающие создание сенсоров для использования в медицинской лабораторной диагностике.

Установлено, что повышение концентрации кальция при одновременном значительном снижении концентрации калия свидетельствует о благоприятном протекании процесса заживления, а снижение количества выделяемого эксудата является дополнительным признаком благоприятного завершения процесса заживления.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОМАРКЕРА ПРОМЫШЛЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ВИНИЛХЛОРИДА И 1,2-ДИХЛОРЭТАНА МЕТОДАМИ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ И ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ЦЕЛЬЮ ВНЕДРЕНИЯ В КЛИНИКЕ

Журба О.М., Алексеенко А.Н.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Восточно-Сибирский институт медико-биологических исследований», Ангарск-27, Иркутская область, Россия
labchem99@gmail.com

Винилхлорид и 1,2-дихлорэтан – основные хлорорганические токсиканты производства поливинилхлорида. Для их оценки воздействия на организм работников необходимо определить биомаркер воздействия. В качестве биомаркера могут служить сами вещества и/или их метаболиты (2-хлорэтанола, монохлоруксусная кислота, тиодиксусная кислота) в биологических матрицах (кровь, моча). Была поставлена цель определить оптимальный биомаркер воздействия измерив содержания винилхлорида и 1,2-дихлорэтана и их метаболитов в крови и моче сопоставив их с данными содержания хлорорганических веществ в воздухе рабочей зоны. Достижение этой цели было осуществлено разработкой соответствующего методического обеспечения, а именно методики определения винилхлорида и 1,2-дихлорэтана в крови газохроматографическим анализом паровоздушной фазы; 2-хлорэтанола в крови и монохлоруксусной кислоты в моче методом капиллярной газожидкостной хроматографии; тиодиксусной кислоты в моче методом газовой хромато-масс-спектрометрии.

Уникальность разработанного методического обеспечения заключается в том, что для извлечения винилхлорида и 1,2-дихлорэтана из крови предложено парофазное концентрирование вместо жидкостно-жидкостной экстракции, что даёт возможность устранить мешающее влияние органического растворителя. Для экстракции 2-хлорэтанола из крови предложен способ жидкостно-жидкостной микроэкстракции этиловым эфиром с последующим газохроматографическим анализом с детектором электронного захвата. Для повышения чувствительности определения тиодигликолевой и монохлоруксусной кислоты и более полного извлечения их из проб мочи предложено сначала проводить дериватизацию кислот $\text{CH}_3\text{OH}\cdot\text{BF}_3$, а затем жидкостно-жидкостную микроэкстракцию производных этилацетатом. После пробоподготовки метиловый эфир монохлоруксусной кислоты в экстракте определяли на газовом хроматографе с детектором электронного захвата, а диметиловый эфир тиодиксусной кислоты методом газовой хромато-масс-спектрометрии в режиме SIM (по иону с m/z 146).

Данное методическое обеспечение прошло метрологическую аттестацию в соответствии с ГОСТ 8.563 – 2009 «Методы (методики) измерений». Методическое обеспечение было апробировано на биообразцах работников производства поливинилхлорида. В результате установлено, что наилучшим биомаркером воздействия винилхлорида и 1,2-дихлорэтана является тиодиксусная кислота (ТДУК) в моче. Результаты определения тиодиксусной кислоты в моче работников производства поливинилхлорида показали, что в зависимости от места работы и содержания хлорорганических веществ в воздухе возрастает уровень экскреции ТДУК в моче. Повышенный уровень содержания в моче тиодиксусной кислоты является показателем профессионального воздействия винилхлорида в цехе получения поливинилхлорида, а в цехе получения винилхлорида – показателем суммарного воздействия винилхлорида и 1,2-дихлорэтана.

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЙОДА И ЙОДАТА В ПИТЬЕВОЙ ВОДЕ И ПИЩЕВОЙ СОЛИ ПРИ СОВМЕСТНОМ ПРИСУТСТВИИ

Зайцев Н.К., Мельников П.В., Федулов В.С.

Московский Технологический Университет, Москва, Россия

Как дефицит, так и избыток йода в организме человека вызывает тяжелые патологии. От 70 до 80% йода поступает в организм через пищу. Поэтому так важно организовать правильный контроль за содержанием йода в в продовольственном сырье при производстве йодированной пищевой продукции, БАДов, и в готовых продуктах питания. Основные формы, в которых встречается неорганический йод – йодид и йодат, причем в окружающей среде могут встречаться обе формы. Йодат токсичен.

Совместными усилиями специалистов Федерального центра госсанэпиднадзора Минздрава России, Медицинского радиологического научного центра РАМН, ООО НПП «Медбиофарм», ООО «Эконикс-Эксперт» при участии ЦГСЭН в Смоленской, Тульской областях, Республике Карелия и др. разработана и успешно внедрена методика «МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ЙОДА В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОМ СЫРЬЕ, ПИЩЕВЫХ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВКАХ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ», утвержденная в качестве МУК 4.1.1481-03. Методика позволяет надежно измерять йод от 4 мкг/дм³. Методика выполняется на приборном комплексе «Экотест-ВА-йод» (пр-во «Эконикс-Эксперт», Российская Федерация). К настоящему времени более 150 комплексов «Экотест-ВА-йод» успешно работают в Центрах гигиены и эпидемиологии, на заводах, в исследовательских лабораториях в России и в странах СНГ.

В настоящей работе вольтамперометрическая методика была распространена на определение йодата и йодида при совместном присутствии. Для этого предложено было определять в пробе исследуемого вещества йодид, а затем, действуя подходящим восстановителем, переводить весь йодат в форму йодида и затем определять сумму йодида и йодата. В качестве подходящего восстановителя была успешно использована цинковая пыль. Интересно, что использование в качестве восстановителя гранулированного цинка не приводит к искомому результату.

Предложенная методика была первоначально количественно отработана нами на модельных смесях йодида и йодата калия, а затем применена для определения йодида и йодата в болгарской морской соли медицинского назначения из соляниц города Бургас (основа зубной пасты «Поморин»), так как избыток хлорида не препятствует нашему методу определения йодида. Содержание йодата на порядок превосходит содержание йодида. Обсуждаются методические особенности вольтамперометрического метода определения форм йода в практически важных образцах.

РАЗРАБОТКА ДЫХАТЕЛЬНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ УЛАВЛИВАНИЯ ПАРОВ АЦЕТОНА

Иванова А.М.

ООО «Ассоциация Медицины и Аналитики», Санкт-Петербург, Россия

ivanovanastia91@mail.ru

Введение. Патологические состояния, сопровождаемые повышением уровня кетоновых тел в крови, могут привести к кетозу и кетоацидозу. Быстрая и точная диагностика заболеваний является актуальной темой в современной медицинской практике. Неинвазивная дыхательная тест-система, позволяющая улавливать малые концентрации паров ацетона в выдыхаемом воздухе, способна упростить диагностику заболеваний на ранних стадиях развития патологических состояний.

Цель исследования. Разработка устройства определения паров ацетона в выдыхаемом воздухе с концентрацией от 5 ppm и выше, влажности 85-98%, температуры 33,0-37,0 °С.

Материалы и методы. В основе лежит экспрессный метод – адсорбция молекул ацетона из газовой фазы на поверхности твердого сорбента. Цветовой переход индикаторного слоя свидетельствует о протекании качественной реакции.

Результаты и обсуждения. Выбор концентрационной чувствительности исследуемого молекулярного вещества обусловлен содержанием паров ацетона в выдыхаемом воздухе здорового человека $\approx 0,6$ ppm и при патологии – 2-15 ppm. Повышение уровня ацетона в пределах от 2 до 15 ppm свидетельствует о развитии патологии, поэтому минимально определяемая концентрация должна быть 2 ppm.

Неинвазивная тест-система должна обладать высокой селективностью детектирования относительно газовой смеси выдыхаемого воздуха, быть не чувствительна к CO₂, парам воды, алифатическим и аро-

матическим углеводородам. В качестве твердых носителей применяли силикагель, фарфоровый порошок, кварцевый песок, хроматографическую бумагу. Изменение аналитической чувствительности в пределах 20-60% и специфичности в пределах 10-20% достигалось за счет характеристик матрицы тест-системы, исключая преобразование преаналитических, аналитических и постаналитических процедур. В результате в качестве носителя для протекания целевой реакции был выбран силикагель КСКГ фракции 0,25-0,315;

Качественная реакция для определяемого молекулярного вещества удовлетворяет динамическим условиям протекания реакции. Для детектирования паров ацетона была выбрана индикаторная реакция, способная резко изменять первоначальный цвет носителя. Проводился сравнительный анализ данной тест-системы на образцах газовой смеси, имеющей разные концентрации паров ацетона, характерные заболеваниями щитовидной железы, сахарного диабета, диетическому дисбалансу, имитирующие выдыхаемый воздух.

При пропускании паров ацетона концентрацией 2ppm, объемом 50 мл, индикаторный слой тест-системы окрашивается за 7 минут. При пропускании паров ацетона концентрацией 10ppm, объемом 50 мл, индикаторный слой тест-системы окрашивается за 5 минут. При пропускании паров ацетона концентрацией 15ppm, объемом 50 мл, индикаторный слой тест-системы окрашивается за 3 минуты.

Вывод. Разработанная тест-система позволяет улавливать пары ацетона концентрацией более 2ppm, характерной для выдыхаемого воздуха пациентов с кетоацидозом.

ON-LINE КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ БЕЛКОВ, СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ, КАТЕХОЛАМИНОВ ПРИ ИХ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ

Карцова Л.А., Бессонова Е.А., Галлямова В.Ф.

Санкт-Петербургский государственный университет, Институт Химии, Санкт-Петербург, Россия
kartsova@gmail.com

Важной задачей в клиническом анализе является контроль за содержанием следовых количеств биологически-активных веществ, включая остаточные лекарственные препараты в плазме, сыворотке крови и моче. Предложены новые подходы *on-line* концентрирования для высокочувствительного электрофоретического (КЗЭ, МЭКХ, КЭХ) разделения биологически активных веществ (белков, стероидных гормонов, катехоламинов, аминокислот и т.д.) и лекарственных (синтетических стероидных средств и нестероидных противовоспалительных лекарственных препаратов) препаратов в сложных матрицах. Получены сравнительные оценочные характеристики по пределам обнаружения, эффективности, селективности разделения, факторам концентрирования. Показано, что перспективным направлением в хроматографии и электрофорезе является использование новых сорбционных полимерных материалов – *дендримеров и сверхразветвленных полимеров* – в качестве модификаторов кварцевого капилляра и компонентов подвижных и неподвижных фаз в КЭ и хроматографии, что позволяет расширить аналитические возможности этих методов разделения, благодаря уникальным свойствам этих веществ, образовывать с субстратами различной природы комплексы по типу «гость – хозяин». Выявлена роль дендритных полиэтилениминовых полимеров с олигосахаридной оболочкой и ионных жидкостей на основе имидазолия на процессы разделения и концентрирования. Установлено, что применение свипинга с введением ионной жидкости $C_{16}MImCl$ в фоновый электролит в концентрации ниже критической концентрации мицеллообразования позволяет сконцентрировать аналиты в 8-12 раз. Пределы обнаружения катехоламинов – 0,1 мкг/мл. Установлено, что использование ионной жидкости в условиях свипинга с высокопроводящей матрицей пробы, привело к увеличению эффективности до $\sim 1 \cdot 10^6$ т.т., что обеспечило снижение пределов обнаружения для катехоламинов до 50 нг/мл, для стероидных гормонов до 25-100 нг/мл. Методом мицеллярной электрокинетической хроматографии обнаружен синергетический эффект совместного введения ионной жидкости и додецилсульфата натрия в фоновый электролит при разделении стероидных гормонов, что привело к значительному росту эффективности.

Предложена схема электрофоретического определения (МЭКХ) стероидных гормонов в реальных объектах (моча, сыворотка крови) с введением ионной жидкости $C_{16}MImCl$ в фоновый электролит (конц.) и внутрикапиллярным концентрированием.

РАЗДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ ВЭТСХ ЭНАНТИОМЕРОВ β -БЛОКАТОРОВ И НЕСТЕРОИДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ХИРАЛЬНЫХ СЕЛЕКТОРОВ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

Карцова Л.А., Дзема Д.В., Капизова Д.А., Протасова И.Д.

Санкт-Петербургский государственный университет, Институт Химии, Санкт-Петербург, Россия
kartsova@gmail.com

Предложены различные способы модификации хиральными селекторами (*аминокислоты, β -циклодекстрин, макроциклические антибиотики, дендритные полимеры на основе полиэтиленimina с олигосахаридной оболочкой*) хроматографических систем для разделения энантиомеров нестероидных противовоспалительных средств (*ибупрофена, кетопрофена и кеторолака*) и β -блокаторов (*карведилола, пропранолола и соталола*) методом ВЭТСХ с денситометрическим детектированием. Полученные при разделении всех энантиомеров значения факторов разрешения превысили 1,5, что позволяет рекомендовать разработанный вариант для препаративных целей. Выявлены возможности хиральнойлигандо-обменной ВЭТСХ для разделения энантиомеров НПВС (*модификация подвижной фазы комплексами Cu^{2+}/L -пролин или Cu^{2+}/L -гидроксипролин*), β -блокаторов (*модификация неподвижной фазы комплексами Cu^{2+}/L -пролин*) с концентрацией хирального селектора 4мМ в модифицирующем растворе; получены высокие значения факторов энантиоселективности ($\sim 9,4$). Установлено влияние природы терминальных групп полимера и степени функционализации на факторы энантиоселективности. Полученные значения последних при разделении энантиомеровпропранолола и соталола с использованием дендритного полимера в качестве хирального селектора превысили соответствующие величины для другого хирального селектора β -циклодекстрина в 4-5 раз. Обнаружено, что совместное использование двух хиральных селекторов – дендритного полимера в составе стационарной фазы и L -пролина в подвижной – обеспечило разделение энантиомеровкарведилолас высокой энантиоселективностью.

Оптимизирована процедура пробоподготовки биологических жидкостей (моча) с использованием твердофазной экстракции на сверхшхитом полистироле для определения нестероидных противовоспалительных препаратов и осуществлено разделение энантиомеров ибупрофена в моче в условиях двумерной ТСХ на пластинах с импрегнированным L -пролином (2%). Найденные условия ВЭТСХ хирального разделения энантиомеров на модельных системах применены при определении энантиомерного состава фармпрепаратов «Акридилол», «Анапрпилин», «Сотагексал» и «Ибупрофен».

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СОСТАВА КОНДЕНСАТА ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА НОВОРОЖДЕННЫХ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ИСКУССТВЕННОЙ ВЕНТИЛЯЦИИ ЛЕГКИХ

Кононихин А.С.^{1,2,3}, Стародубцева Н.Л.^{1,2,3}, Чаговец В.В.¹, Бугрова А.Е.¹, Попов И.А.^{1,2,3}, Франкевич В.Е.¹,
Рындин А.Ю.¹, Ионов О.В.¹, Сухих Г.Т.¹, Николаев Е.Н.^{2,3}

¹ ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава России,
Москва, Россия

² Институт энергетических проблем химической физики им. В.Л. Тальрозе РАН, Москва Россия

³ Московский Физико-Технический Институт (ГУ), Московская область, Долгопрудный, Россия
ennikolaev@gmail.com

Введение. При интенсивной терапии и выхаживании недоношенных детей представляет серьезную проблемой инвазивность многих методов терапии и исследования. Выдыхаемый воздух (ВВ) является легкодоступным неинвазивным источником потенциальных биомаркеров заболеваний дыхательных путей. Одним из методов изучения состава ВВ является масс-спектрометрический анализ собранного конденсата (КВВ). Сбор и анализ конденсата выдыхаемого воздуха представляется простым неинвазивным методом оценки степени воспаления в дыхательных путях, дифференциальной диагностике легочных заболеваний (воспалительного и не воспалительного генеза), мониторинга эффективности проводимого лечения.

Цель исследования. Цель данного исследования заключалась в разработке основных методических принципов по сбору КВВ и дальнейшему анализу высокомолекулярных (белков, пептидов, липидов, жирных кислот и других компонент) и низкомолекулярных метаболитов (до 500 Да) в составе КВВ у новорожденных.

Материалы и методы. Образцы КВВ (6 образцов) были собраны у новорожденных, находящихся на искусственной вентиляции в отделении реанимации и интенсивной терапии НЦАГиП им. В.И. Кулакова Минздрава России. У всех новорожденных детектировались дыхательные нарушения инфекционно-

го (врожденная пневмония, 3 ребенка) и неинфекционного генеза (апноэ новорожденных, 3 ребенка). Пробоподготовка образцов КВВ, хромато-масс-спектрометрические эксперименты (с использованием масс-спектрометров Maxis Impact, Bruker Daltonics и LTQ-FT, Thermo, Германия), идентификация белков/метаболитов проводились по ранее разработанной в лаборатории методике анализа КВВ взрослых людей [1].

Результаты. Для сбора КВВ у новорожденных была предложена конструкция устройства на основе коммерческого конденсора R-tube (США) с подключением к аппарату с искусственной вентиляцией легких (ИВЛ). В результате протеомного и метаболомного исследования полученных таким методом образцов КВВ 6-ти новорожденных было выявлено, что в конденсате, собранном в режиме с ИВЛ, присутствует постоянный спектр инвариантных белков кератинов 1, 10, 2, 9, которые являются мажорными белками, а также минорные белковые компоненты, содержание которых варьируемо у разных пациентов и скорее всего, связано со стадией развития и респираторной патологией новорожденных. Были идентифицированы молекулярные профили белков и метаболитов, в составе выдыхаемого воздуха новорожденных, характерные для развития респираторных осложнений инфекционного и неинфекционного генеза.

Исследования были выполнены при поддержке Министерства образования Российской Федерации (грант 2014-14-585-0014-027, RFMEFI61314X002514).

ЭЛЕКТРОАНАЛИЗ ЦИТОХРОМА P450 17A1 КАК МОЛЕКУЛЯРНОЙ МИШЕНИ ДЛЯ ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Кузиков А.В., Шумянцева В.В., Масамрех Р.А., Козин М.С., Арчаков А.И.

ФГБНУ «Институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ), Москва, Россия

alexejc@yandex.ru

Цитохром P450 17A1 (CYP17A1) – ключевой гем-содержащий фермент синтеза андрогенов, катализирующий 17 α -гидроксилазную и 17,20-лиазную реакцию по отношению к прегненолону и прогестерону. Снижение уровня андрогенов в организме является эффективным способом лечения андроген-зависимого рака простаты, в связи с этим, CYP17A1 является молекулярной мишенью при разработке потенциальных противоопухолевых лекарственных препаратов. Электрохимические системы на основе рекомбинантных изоферментов CYP являются современным аналитическим высокочувствительным количественным методом анализа субстрат-ингибиторного потенциала этого класса гемопротеинов.

Целью работы явилось создание высокочувствительного электрохимического биосенсора на основе рекомбинантного CYP17A1 для скрининга потенциальных ингибиторов каталитической активности.

Материалы и методы исследования. В работе использовался рекомбинантный CYP17A1, полученный в институте биоорганической химии НАН Беларуси. Тестируемые потенциальные ингибиторы CYP17A1 – оксазолин-содержащие производные прегна-5,17(20)-диена, отличающиеся заместителями в оксазолиновом цикле, были получены в лаборатории синтеза физиологически активных соединений ИБМХ. В работе использовались планарные графитовые электроды, полученные методом трафаретной печати. CYP17A1 был иммобилизован на поверхности рабочего графитового электрода (диаметр 2 мм), модифицированного жидкокристаллическим мембраноподобным дидодецилдиметиламмонием бромидом. Электрохимический анализ проводился методами циклической вольтамперометрии и амперометрического титрования раствором субстрата прегненолона. С помощью регистрации каталитического тока в присутствии потенциальных ингибиторов были рассчитаны константы ингибирования тестируемых оксазолин-содержащих стероидных производных прегна-5,17(20)-диена.

Полученные результаты, их обсуждение. На основе анализа электрохимических характеристик были рассчитаны кинетические параметры (K_M , k_{cat} , k_{cat}/K_M) по отношению к прегненолону. Чувствительность CYP17A1-биосенсора по отношению к прегненолону составила 0,5 нА/мкМ. Масс-спектрометрический анализ продуктов CYP17A1-зависимой электрокаталитической реакции показал, что конверсия прегненолона протекает в соответствии с природным каталитическим циклом CYP17A1. Полученный биосенсор был использован для скрининга ингибиторной активности оксазолин-содержащих стероидных производных прегна-5,17(20)-диена. Среди тестируемых оксазолин-содержащих производных прегна-5,17(20)-диена выявлены эффективные ингибиторы каталитической активности CYP17A1.

Выводы. Разработан высокочувствительный электрохимический биосенсор на основе рекомбинантного CYP17A1 для скрининга потенциальных ингибиторов каталитической активности.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА

Кузьмин А.Г.¹, Ткаченко Е.И.², Орешко Л.С.², Титов Ю.А.¹

¹Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, Россия

²Медицинский Университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия
agqz55@rambler.ru

Большинство методов медицинского клинического анализа являются инвазивными. Как отмечал Ю.А. Золотов (*ЖАХ*, 2005, т.60, №6, с 565), выдыхаемый воздух является наиболее легкодоступной субстанцией для неинвазивного анализа и диагностики. Методы анализа состава выдыхаемого воздуха могут быть дополнением клиническому анализу.

В работе предлагается метод неинвазивной медицинской диагностики: масс-спектрометрическая аромадиагностика. Метод основан на регистрации в режиме реального времени индивидуального отпечатка компонентов выдыхаемого воздуха в широком диапазоне концентраций. Поскольку большинство заболеваний сопровождаются появлением специфических наборов продуктов метаболизма, концентрации которых лежат в определенных диапазонах, то из массива этих характерных отпечатков может быть сформирована база данных для вероятностной экспресс-диагностики различных заболеваний в реальном времени. По виду отпечатка может быть определена вероятность наличия того или иного заболевания.

Внедрение в практику метода масс-спектрометрической неинвазивной аромадиагностики позволит формировать для пациента индивидуальный газометаболитный профиль, который ставит предварительный диагноз, дает оценку риска развития либо обострения хронической соматической патологии, оценку эффективности проводимой терапии.

Для реализации метода был разработан образец малогабаритного квадрупольного масс-спектрометра с прямым вводом пробы выдыхаемого воздуха непосредственно от пациента. Прибор был протестирован в экспериментах по контролю содержания микропримесей в выдыхаемом воздухе здоровых и больных людей в клинике Медицинского университета им. Мечникова (С-Петербург). Для этого пациенты клиники производили выдох воздуха в тестовые емкости, затем образцы анализировались на масс-спектрометре.

Состав выдыхаемого воздуха практически здоровых пациентов, как правило, содержит три основных компонента: ацетон (C_3H_6O), уксусная кислота (CH_3COOH), изопрен (C_5H_8). Концентрации указанных компонентов лежат в диапазоне $0.05 \div 0.1$ ppm, причем у здоровых людей они могут варьироваться в некоторых пределах (пределы нормы $\pm 20 \div 30\%$), в зависимости от состояния человека и от его индивидуальных особенностей. Однако более значительные отклонения от средних значений могут указывать на наличие определенных заболеваний. У пациентов клиники, в некоторых случаях, были зафиксированы дополнительные компоненты, такие как *Limonene* – $C_{10}H_{16}$, *1 Pentyn -3ol*, *3 methyl* ($C_6H_{10}O$) и др. Концентрации этих примесей оцениваются на уровне $0.05 \div 0.5$ ppm.

Высокое быстродействие прибора (до 0.1 сек) позволяет исследовать так же неравномерность легочной вентиляции. Основными компонентами энергетического обмена веществ в организме являются кислород и углекислый газ, поэтому прибор был протестирован в экспериментах по контролю динамики изменения содержания кислорода, углекислого газа и паров воды в процессе дыхания.

ВЭЖХ-МС² АНАЛИЗ ОКИСЛЕННОЙ И ВОССТАНОВЛЕННОЙ ФОРМ ГЛУТАТИОНА

Кулешов Д.О.¹, Березкина Т.Э.², Чернова Е.Н.³, Русских Я.В.³, Жаковская З.А.³, Галль Л.Н.¹, Галль Н.Р.^{1,2}

¹Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, Россия

²Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург, Россия

³Научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН, Санкт-Петербург, Россия

hellchemist@yandex.ru

Все аэробные организмы могут быть подвержены действию окислительного стресса, причиной возникновения которого являются активные формы кислорода (АФК), образующиеся в процессе неполного восстановления кислорода [1].

Развитию окислительного стресса препятствует сложный многокомпонентный механизм антиоксидантной защиты (АОЗ), который превращает АФК в малоактивные продукты, прерывает реакции перекисного окисления липидов, инактивирует перекисные соединения [2].

Глутатион, низкомолекулярный тиол – важнейший компонент физиологической антиоксидантной системы. В организме глутатион присутствует в восстановленной (GSH) и окисленной (GSSG) формах. Отношение GSH/

GSSG является важной характеристикой, по величине которой можно судить о наличии или отсутствии окислительного стресса в живой системе.

Целью данной работы было изучение возможности применения тандемной масс-спектрометрии с электро-распылением для качественного и количественного анализа окисленной и восстановленной форм глутатиона.

Измерения проводились на масс-спектрометре LTQ Orbitrap (Thermo Scientific, USA) совместно с хроматографической системой Accela (Thermo, USA). Разделение окисленной и восстановленной форм глутатиона осуществлялось на колонке SupelcoSil C18. Для приготовления исследуемых образцов использовались окисленная и восстановленная формы глутатиона производства фирмы «Вектон» (Россия), а также ацетонитрил сорта «0» производства фирмы «Криохром» (Россия) и муравьиная кислота производства фирмы «Merck» (Германия).

Масс-спектры молекулярных ионов были получены в единичном разрешении, в режиме регистрации положительных ионов, без использования орбитальной ловушки. Тандемные масс-спектры были получены также в единичном разрешении с использованием фрагментации молекулярных ионов в CID-режиме (collision induced dissociation – диссоциация, индуцированная соударениями) в линейной ионной ловушке. Детектирование молекулярных ионов и ионов-продуктов осуществлялось в линейной ионной ловушке.

В ходе работы была изучена фрагментация окисленной и восстановленной форм глутатиона, определены оптимальные для их разделения условия хроматографирования, а также определены наиболее интенсивные и воспроизводимые молекулярные и фрагментные ионы для GSH и GSSG.

Литература

1. Толпыгина О.А. Роль глутатиона в системе антиоксидантной защиты // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – №2 (84), ч. 2. – С. 178–180.
2. Соколовский В.В. Тиолдисульфидная система в реакции организма на факторы окружающей среды. СПб: Наука. – 2008. – С. 24–25.

РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА

Куприянова Т.А.¹, Лямина О.И.¹, Филиппов М.Н.¹, Юрина Т.М.²

¹ФГБУН Институт общей и неорганической химии им.Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия

²ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова
«НКЦ геронтология», Москва, Россия

lyam@igic.ras.ru

Последние десятилетия большое значение приобретает биоэлементная медицина, в основе которой лежит изучение роли химических элементов и изменения их содержания от нормы до патологического состояния. Ранее нами было исследовано изменение S, K, Ca, Fe и Zn в цельной крови больных бронхиальной астмой в пожилом возрасте [1] и у пациентов пожилого и старческого возраста, страдающих хронической ишемической болезнью сердца [2]. Методические особенности определения S, K, Ca, Fe и Zn, Cu в сыворотке и клетках периферической крови рентгенофлуоресцентным методом рассмотрены в работе [3].

Данная работа посвящена исследованию мягких тканей организма, в частности слизистой оболочки желудка, с помощью метода рентгенофлуоресцентного микроанализа (РФМА). Объектом исследования служили биоптаты слизистой оболочки желудка. Отбор проб производили при гастродуоденальном эндоскопическом исследовании. Исследованы пробы пациентов с различной патологией желудка: атрофический гастрит, острая язва желудка, гиперплазия слизистой желудка.

РФМА позволяет определять элементы от Na до U в диапазоне содержаний от 100 % до 1 ppm, а в некоторых случаях до 0.1 ppm. РФМА выполнен на рентгенофлуоресцентном микроанализаторе Orbis (EDAX, США) с капиллярной оптикой, позволяющем получать аналитический сигнал от области пробы диаметром 30 мкм. Условия анализа: Rh-трубка, напряжение 40 кВ, ток 400 мкА, вакуум, детектор с дисперсией по энергии с разрешением 132 эВ. В каждом образце исследовали по 5-10 зон. Время регистрации рентгеновского спектра от одной зоны составляет 100 с.

В спектрах, полученных от разных проб, зафиксированы значимые превышения над фоновым излучением характеристических линий K-серии следующих элементов: Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Se, Br, Rb, Sr, Zr. Сравнение аналитических сигналов элементов позволило выделить идентификационные признаки, характерные для проб с различной патологией, без количественных опре-

делений содержаний элементов. Наиболее информативными при анализе исследованных проб оказались относительные интенсивности К α -линий Zn, Ca, Fe, Cu, K и P.

Проведенное сопоставление полученных идентификационных признаков с данными гастродуоденоскопии, цитологических исследований и результатами на наличие *Helicobacter pylori* показало перспективность использования метода рентгенофлуоресцентного микроанализа при определении степени заболевания, динамики развития и уточнении диагноза.

Литература

1. Юрина Т.М., Черейская Н.К., Куприянова Т.А., Лямина О.И. и др. // 2002. Клиническая медицина. № 11. С. 32–41.
2. Юрина Т.М., Куприянова Т.А., Лямина О.И., Чеботарева Е.В. и др. // 2005. Клиническая медицина №1. С. 20–24
3. Куприянова Т.А., Лямина О.И., Семенов В.Ф., Шабалин В.Н. // 1999. Клиническая лабораторная диагностика. № 8. С.11–15.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В СТАНДАРТНЫХ ОБРАЗЦАХ СОСТАВА НА ОСНОВЕ ПЕЧЕНИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА РАЗЛИЧНЫМИ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫМИ МЕТОДАМИ

Куприянова Т.А., Лямина О.И., Филиппов М.Н.

ФГБУН Институт общей и неорганической химии им.Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия

kupr@igic.ras.ru

Микроэлементы играют важную роль в биологических процессах. Изменение элементного состава мягких тканей, включая микро-и ультрамикроэлементы, в медицине используют при изучении их роли в различных заболеваниях, поэтому важное значение приобретает правильность количественного определения элементов. Современные инструментальные методы чрезвычайно чувствительны и позволяют определять малые содержания большинства элементов таблицы Менделеева и получать данные об изменении микроэлементов в тканях и жидких средах организме человека. О правильности определения элемента использованного метода анализа можно судить по относительному расхождению экспериментально полученного с использованием конкретного метода анализа и аттестованного значения определяемого элемента в стандартном образце состава (СОС).

В данной работе по литературным данным за период 1972 – 2014 проведено сравнение результатов анализа СОС NBS SRM 1577, NBS SRM 1577 a, NIST SRM 1577 b, BCR 185R и NCS ZC 85005 (печень крупного рогатого скота) девятью инструментальными методами. Рассмотрены результаты атомно абсорбционного анализа (42 работы), атомно эмиссионного анализа, в том числе и с индуктивно связанной плазмой (19 работ), масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (20 работ), нейтронно-активационного анализа (89 работ), рентгенофлуоресцентного анализа (РФА) – (12 работ), рентгеноспектрального анализа с возбуждением аналитического сигнала протонами (10 работ), РФА с возбуждением аналитического сигнала синхротронным излучением (9 работ), РФА с дисперсией по энергии (12 работ), РФА с полным внешним отражением (11 работ), рентгенофлуоресцентного микроанализа (2 работы) и рентгеноспектрального электронно-зондового микроанализа.

Рассмотрены достигаемые в каждом случае пределы обнаружения, диапазоны определяемых содержаний, относительные расхождения определенных и аттестованных значений. Определяемые элементы можно разделить на 4 группы. «Основные элементы» (массовая доля более 1%) – это N, P, S, K. Макроэлементы (массовая доля от 100 ppm до 3000 ppm) – это Na, Mg, Cl, Ca, Fe, Cu, Zn. Микроэлементы (массовая доля от 1 ppm до 10 ppm) – это F, Al, Si, Mn, Se, Br, Rb, Mo. Ультра-микроэлементы (массовая доля менее 1 ppm) – Li, Be, B, Sc, Ti, V, Cr, Co, Ni, As, Sr, Zr, Ag, Cd, In, Sn, Sb, I, Cs, Ba, Pt, Au, Hg, Tl, Pb, U, La и другие РЗЭ. Установлены методы, с лучшими аналитическими характеристиками для каждой группы элементов.

Показано, что для тканей, которые характеризуются сильной неоднородностью проб, следует отдавать предпочтение методам с высокой локальностью, таким как РФА с капиллярной оптикой и локальный РФА с синхротронным возбуждением. Наиболее доступным можно считать РФА с капиллярной оптикой, у которого практически отсутствуют требования к подготовке проб для анализа, что позволяет проводить неразрушающий многоэлементный анализ малых площадей органических образцов сразу после получения материала для исследования (биопсии или цельной крови).

ДИАГНОСТИКА МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ И МЕТАФИЛАКТИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ С РЕЦИДИВИРУЮЩИМ КАЛЬЦИЙ-ОКСАЛАТНЫМ УРОЛИТИАЗОМ

Кустов А.В.^{1,2}, Смирнов П.Р.¹, Стрельников А.И.², Айрапетян А.О.², Волков Д.В.³, Журавлева Н.И.³

¹Институт химии растворов РАН, Иваново, Россия

²Ивановская государственная медицинская академия, Иваново, Россия

³ООО «Импакт», Москва, Россия

kustov@isuct.ru

Мочекаменная болезнь (МКБ) продолжает оставаться важной проблемой, затрагивающей в течение жизни от 1 до 15 % населения, при этом в 70 % случаев основной минералогической фазой камней являются гидраты оксалата кальция [1, 2]. Применяемые в клиниках методы лечения МКБ очень редко позволяют установить причины камнеобразования, поскольку анализ ключевых биохимических показателей мочи, таких как ионы кальция, оксалат- и, особенно, цитрат-ионы, обычно не проводится. Несмотря на то, что важность определения суточной экскреции цитратов для успешного лечения МКБ подтверждена большим числом исследований (см. [3] и ссылки там), уровень цитрат-ионов в моче у пациентов определяется крайне редко.

В работе представлены результаты годичного скрининга биохимических показателей мочи пациентки с рецидивирующим оксалатно-уратным уролитиазом. На основе данных количественного рентгенофазового анализа состава камня, главным компонентом которого является дигидрат оксалата кальция), и комплекса клинико-лабораторных исследований были установлены причины рецидивирующего камнеобразования, главными из которых оказались гипоцитратурия, гиперосмолярность мочи и мочекислый диатез. Терапия цитратными смесями и обильный питьевой режим (суточный диурез 2-2.5 л) в течение 10 недель позволили достоверно повысить рН мочи, в 2,5 раза увеличить суточную экскрецию цитратов и избавиться от резидуальных конкрементов в обеих почках. Впервые проведенный в течение года мониторинг суточной экскреции цитратов и оксалатов показал, что эффект цитратной терапии сохранялся еще в течение полугода после отмены препарата, при этом суточная экскреция цитрат-иона не опускалась ниже 2 ммоль, и даже спустя 8 месяцев оставалась выше исходного значения. Секреция оксалатов определялась исключительно диетическими предпочтениями, поскольку лишь в двух случаях было отмечено незначительное превышение референтного значения 0.5 ммоль/сутки [2]. Сделан вывод, что для пациентов с рецидивирующим кальций-оксалатным уролитиазом следует:

- при биохимическом исследовании мочи определять суточную экскрецию цитратов;
- при диагностировании гипоцитратурии назначать курсовую терапию цитратными смесями длительностью не менее 8 недель;
- при обнаружении в камне минорных компонентов (мочевая кислота и ее производные, гидроксилатит) исследовать рН-профиль мочи;
- соблюдать гипооксалатную диету и поддерживать диурез не менее 2-2.5 л;
- раз в полгода проводить ультразвуковое исследование почек.

Работа поддержана РФФИ, проект 15-44-03016-рег.

Литература

1. Вошула В.И. Мочекаменная болезнь. Этиотропное и патогенетическое лечение, профилактика. М.: ВЭВЭР. 2006.
2. Straub M., Strohmaier W.L., Berg W. et al. W J Urol. 2005; 23:309-323.
3. Caudarella R., Vescini F., Buffa A., Stefoni S. Front. Bioscience. 2003; 8:1084-1106.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ИНФЕКЦИЙ, ПЕРЕДАВАЕМЫХ ПОЛОВЫМ ПУТЕМ, ПО АНАЛИЗУ РАВНОВЕСНОЙ ГАЗОВОЙ ФАЗЫ НАД БИОМАТЕРИАЛОМ

Кучменко Т.А.¹, Шуба А.А.¹, Тюркин И.А.², Битюкова В.В.²

¹ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия

²ООО «Новые медицинские технологии», Воронеж, Россия

В настоящее время в медицине диагностирование различных инфекционных заболеваний проводят по наличию возбудителей в биоматериале, взятом для анализа. Одной из актуальных проблем в гинекологии является диагностика инфекций, передаваемых половым путем (ИППП) с необходимостью обследования несколькими методами (микроскопия, ПЦР, ИФА), в том числе длительными и дорогими из-за необходимости применения специального оборудования, реактивов и высоко квалифицированного персонала. Перспективным направлением в диагностике является применение сенсорных систем, с помощью которых возможно исследовать небольшие объемы и массы биопроб без многостадийной пробоподготовки.

Цель исследования. Оценить возможность идентификации возбудителей ИППП по результатам анализа равновесной газовой фазы (РГФ) над биоматериалом массивом пьезосенсоров с химически селективными пленками с обработкой данных хемометрическими методами.

В качестве объектов анализа выбраны 83 пробы цервикальной слизи пациенток, для которых по результатам ПЦР, ИФА и микроскопии установлено наличие/отсутствие возбудителей ИППП. Для анализа РГФ над цервикальной слизью подобран массив пьезосенсоров с тонкими пленками сорбентов, чувствительных к основным метаболитам возбудителей ИППП (аммиак, алифатические амины, карбоновые и гидроксикислоты).

Дифференциацию проб по наличию/отсутствию возбудителей ИППП проводили с помощью обработки выходных данных массива пьезосенсоров методом регрессии на главные компоненты (РГК) с проверкой тестовым набором. Оптимизированная РГК-модель характеризуется хорошими прогнозирующими свойствами и погрешностью 10%. Возможность ранжирования проб по модели оценили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Установлено, что с вероятностью 95 % различия между группами «больные» и «условно здоровые» статистически значимы при использовании первых двух главных компонент РГК-модели.

Оценку возможности идентификации вида возбудителя ИППП по результатам анализа РГФ над биоматериалом из группы «больные» проводили методом главных компонент (МГК). Установлено, что возможно выделить две большие группы – «моноинфекции» и «микст-инфекции». В группу «моноинфекции» объединены пробы пациентов с диагнозами «кандидоз», «уреаплазмоз». Внутри группы «микст-инфекции» в подгруппу I объединены пробы с диагнозами «гарднереллез», «хламидиоз», в подгруппу II – с диагнозом «кандидоз», в подгруппу III – с диагнозом «уреаплазмоз». Установлено, что для проб с диагностированной моноинфекцией и наличием кокковой флорой или сопутствующим воспалительным процессом изменяется газовый состав проб, и они классифицируются по МГК-модели как «микст-инфекция». Чувствительность и специфичность предлагаемого способа детектирования возбудителей инфекций, передаваемых половым путем, составляет 87,5 % и 100 % соответственно.

Применение РГК-модели для обработки результатов анализа РГФ над биоматериалом массивом пьезосенсоров позволяет высоко специфично, экспрессно получить диагностическую информацию о наличии возбудителя ИППП, с уточнением вида возбудителя с помощью МГК.

УСТАНОВЛЕНИЕ ПЕРВИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ПЕПТИДОВ АМФИБИЙ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Лебедев А.Т., Самгина Т.Ю.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
a.lebedev@org.chem.msu.ru

Исследования болезней 21-го века заставляют обратиться к объектам живой природы в надежде постичь механизмы их иммунной защиты от окружающей агрессивной среды и патогенных организмов. Амфибии, как лидер такой иммунной резистентности, попали в поле зрения ученых 30 лет назад. В их коже есть железы, синтезирующие целый арсенал биологически активных пептидов, которые являются действующим началом в борьбе внешне малозащищенных амфибий с хищниками и патогенами. В кожных секретах амфибий есть пептиды-антибиотики широкого спектра действия, активные в концентрациях 10^{-6} - 10^{-9} М в отношении бактерий, а также нейропептиды, отвечающие за иммунный ответ в концентрациях 10^{-10} - 10^{-8} М. Известна противогрибковая и противовирусная активность пептидов амфибий. Они могут стимулировать выработку инсулина, ингибировать синтез NO в организмах, могут быть анальгетиками. Способ действия пептидов-антибиотиков амфибий коренным образом отчается от действия существующих на сегодня фармпрепаратов: амфипатическая α -спираль разрушает фосфолипидный бислой, приводя к лизису патогенных клеток. Поскольку этот механизм полностью исключает привыкание со стороны патогенов, антимикробные пептиды становятся крайне перспективными объектами для разработки лекарств нового поколения, направленных на борьбу с резистентными патогенами.

Первым этапом изучения этих потенциальных лекарств является установление их структуры, т.е. проведение секвенирования. Для нетриптических природных пептидов это сложная задача. Основными проблемами являются следующие.

1. Длина пептида. Например, эскулентины кожных секретов лягушек имеют в цепочке до 47 звеньев. Их можно считать небольшими белками, а установление первичной последовательности аминокислот в них – секвенированием “сверху-вниз”.
2. Присутствие нескольких основных аминокислот в цепочке. В результате характер фрагментации оказывается существенно отличным от стандартного, причем предсказать его, не зная заранее последовательности, невозможно. Не эффективно и энзиматическое расщепление таких пептидов, поскольку образуется большое число коротких пептидов, которые легко можно потерять при проведении анализа.

3. Неполное покрытие сиквенса. Практически никогда не удается получить в одном спектре фрагментные ионы, образующиеся при разрыве всех пептидных связей. В этом случае необходимо использовать несколько методов активации фрагментации.
4. Наличие дисульфидных мостиков за счет присутствия в составе цистеиновых остатков. Особенностью нескольких семейств биоактивных пептидов лягушек является 5-7 членный цикл на С-конце, для прочтения последовательности внутри которого обычно используется дериватизация. Тем не менее, недавно нами показано, что установить последовательности аминокислотных остатков внутри такого цикла можно и напрямую при наблюдении специфической серии ионов.
5. Присутствие изомерных (лейцин/изолейцин) остатков аминокислот в цепочках. Проблема изомерных аминокислот надежно решена только для индивидуальных пептидов в ручном режиме.
6. Циклизация коротких пептидов. Процесс в результате взаимодействия “голова-хвост” приводит к образованию циклического иона, который далее раскрывается по любой пептидной связи. Последующие фрагментные ионы будут соответствовать уже измененной последовательности. Наиболее надежным выходом является дериватизация.

НЕИНВАЗИВНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ В КОЖЕ ЧЕЛОВЕКА

Лебедева Е.Л.¹, Неудачина Л.К.¹, Маркина М.Г.², Стожко Н.Ю.², Брайнина Х.З.²

¹ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»,
Екатеринбург, Россия

²Уральский государственный экономический университет, Екатеринбург, Россия
Ludmila.Neudachina@urfu.ru

В последнее десятилетие не угасает интерес к исследованию окислительного стресса и системы антиоксидантной защиты человека. Предложен ряд подходов к определению индивидуальных антиоксидантов (АО) и их суммарного содержания в различных биологических жидкостях, гомогенатах тканей. Отбор проб при этом осуществляется инвазивно (с нарушением целостности кожи). Потенциометрический метод с медиаторной системой позволяет определять антиоксидантную активность (АОА) кожи неинвазивно [1]. При этом получают информацию об интегральной антиоксидантной активности кожи. Отсутствие данных о качественном и количественном составе АО, извлекаемых из кожи, побудило нас провести параллельное исследование двумя методами: потенциометрическим и методом капиллярного зонного электрофореза (КЗЭ), к достоинствам которого относятся высокая эффективность разделения ионов, достаточно высокая чувствительность, простота осуществления анализа, экспрессность и доступность.

Целью настоящей работы являлась разработка методик определения некоторых АО (аскорбиновая и мочева кислота, глутатион, цистеин, токоферол) методом капиллярного электрофореза с УФ-детектированием, анализ водного экстракта эпидермиса кожи и сравнение этих данных с результатами, полученными потенциометрическим методом. Исследования проводили с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель 105М» (ГК «Люмэкс», Санкт-Петербург) и прибора ПА-S (УрГЭУ, Екатеринбург) с рабочим платиновым электродом.

Разработаны методики электрофоретического определения всех исследуемых аналитов. Возможно одновременное определение аскорбиновой и мочевой кислот, цистеина и глутатиона в водном растворе методом КЗЭ при использовании отрицательной полярности источника напряжения и фонового электролита на основе фосфатного буферного раствора (рН 7.5). Определение жирорастворимого токоферола возможно из спиртового раствора в режиме микроэмульсионной электрокинетической хроматографии при положительной полярности с использованием тетраборатного фонового электролита (рН 9.2) с добавлением ацетонитрила, петролейного эфира, бутанола и додецилсульфата натрия.

Анализ водного экстракта эпидермиса кожи человека показал, что основным водорастворимым АО в водном экстракте является мочева кислота, несколько меньше содержится аскорбиновой кислоты, а концентрации глутатиона и цистеина в большинстве случаев ниже предела обнаружения метода КЗЭ. Величины АОА, рассчитанные из электрофоретических и потенциометрических данных, коррелируют друг с другом (в эксперименте участвовали 23 человека). Можно предположить, что наибольший вклад в величину АОА кожи, определяемую потенциометрическим методом, вносит мочева кислота. Однако для более корректных выводов целесообразно провести дополнительные исследования с привлечением методов, более чувствительных к другим антиоксидантам.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки (проект 1458) и РФФИ (грант 13-08-96050).

БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ ОТКРЫТОГО КОДА В ЗАДАЧАХ ПРОТЕОМНОГО АНАЛИЗА БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБ

Левицкий Л.И.^{1,2}, Иванов М.В.^{1,2}, Тарасова И.А.^{1,2}, Лобас А.А.^{1,2}, Придагченко М.Л.^{1,2}, Бубис Ю.А.¹, Соловьева Е.М.¹, Горшков М.В.^{1,2}

¹ФГБУН Институт энергетических проблем химической физики им. В. Л. Тальрозе РАН, Москва, Россия

²ООО «КуБ», Москва, Россия

mike.gorshkov@gmail.com

Развитие методов протеомного анализа, и в первую очередь тандемной масс-спектрометрии высокого разрешения, позволило идентифицировать десятки тысяч индивидуальных соединений, присутствующих в биологических пробах, в рамках одного эксперимента. Обратной стороной существенного повышения эффективности такого анализа явилась проблема обработки получаемых массивов экспериментальных данных. При этом, проблема не столько в производительности обработки, сколько в специализации имеющихся биоинформатических ресурсов, реализующих те или иные протоколы обработки первичных экспериментальных данных, поиска идентификаций, анализа результатов и т.п., под задачи конкретного исследования. Соответственно, разработка программных средств, реализующих все необходимые операции работы с данными, и делающих процесс их обработки максимально гибким и предсказуемым, является одной из основных задач протеомной биоинформатики. Решение этой задачи видится в создании ресурсов с открытым исходным кодом, что позволяет оперативно перенастраивать любые из стадий обработки результатов измерений под задачи конкретного протеомного анализа и используемые технологии.

В последние годы нами были созданы ресурсы на языке программирования высокого уровня Python с открытым исходным кодом, предназначенные для реализации всех стадий обработки протеомных данных и работы с результатами протеомного анализа. Разработанные ресурсы включают: (1) библиотеку функций Pyteomics, позволяющую разрабатывать приложения для работы с различными форматами данных, рассчитывать физико-химические свойства белков и пептидов, а также визуализировать результаты обработки; (2) алгоритм MPscore для многопараметрической оценки степени достоверности идентификаций и количественного анализа результатов поиска; а также (3) пакет IdentiPy, позволяющий реализовать все операции анализа протеомных данных, начиная с обработки исходных спектров, поиска идентификаций с оценкой уровня их достоверности и заканчивая валидацией и количественным анализом средствами MPscore. Возможности разработанных ресурсов будут продемонстрированы на примере разработки специализированного программного обеспечения, в частности протеомной поисковой машины IdentiPROT, а также утилит GroupFilter для работы с протеомными данными и результатами идентификации белков и пептидов и perxmltk, позволяющей конвертировать выходные файлы поискового алгоритма X! Tandem в стандартный формат perXML и предоставляющей возможность выбора гидролизующего реагента с произвольно задаваемой специфичностью по отношению к аминокислотным остаткам последовательности белков.

Разработка протеомной поисковой машины IdentiPROT и утилиты GroupFilter выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ по лоту 2014-14-576-0128, проект RFMEFI57614X0073 (Соглашение № 14.576.21.0073). Биоинформатические ресурсы perxmltk и IdentiPy, обновления и техническая поддержка библиотеки Pyteomics осуществлялись при поддержке Российского научного фонда, проект № 14-14-00971.

РЕНТГЕНСПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КРОВИ БЕЗ ОТДЕЛЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ

Лямина О.И.¹, Куприянова Т.А.¹, Филиппов М.Н.¹, Вирюс А.А.²

¹Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия

²Институт экспериментальной минералогии РАН, Черноголовка, Московская область, Россия

fil@igic.ras.ru

Особенностью медико-биологических проб для рентгеноспектрального анализа является то, что приблизительно 90 масс. долей в % приходится на четыре элемента: H, C, N и O, которые не регистрируются обычными спектрометрами с дисперсией по энергии (ЭДС) с бериллиевым окном.

Бериллиевое окно, являющееся обычно ограничением метода, в данном случае выполняет полезную функцию фильтра, задерживающего характеристическое излучение неопределяемых в данном эксперименте H, C, N, O и, тем самым, уменьшает загрузку ЭДС длинноволновым излучением этих элементов. Более тяжелые элементы с атомными номерами $Z > 10$ (от 11 Na до 92 U), общее содержание которых в пробе мало, в этом случае более надежно и за небольшое время – 1 – 2 минуты определяются методами рентгеноспектрального электроннозондового микроанализа и различными вариантами рентгенофлуоресцентного анализа

Проведение традиционного количественного анализа медико-биологических проб осложнено, а в некоторых случаях невозможно в связи с трудностью подбора адекватных образцов сравнения (т.е. близких по химическому составу и физико-химическим характеристикам). Невозможность применения для таких объектов способа добавок, делают необходимым использование расчетных методов построения градуировочной характеристики. Программное обеспечение современных приборов (реализация метода фундаментальных параметров (МФП) для рентгенофлуоресцентного анализа, ZAF-коррекция в случае электроннозондового рентгеноспектрального микроанализа (ЭЗРСМА)) позволяет достигнуть хороших показателей правильности. Однако для корректного учета матричных эффектов должны быть определены все элементы пробы, включая элементы, аналитические линии которых лежат в длинноволновой области рентгеновского спектра.

При анализе цельной крови или сыворотки, учитывая, что в исходной (жидкой) пробе распределение органической составляющей является практически однородным, предложено для учета влияния неопределяемых и некоторых легких элементов использовать классический метод определения валового содержания H, C, N и S в органическом веществе. Затем, результаты этого анализа используются при расчете содержаний других элементов в РФМА и ЭЗРСМА.

ЭЗМА проводили на растровом электронном микроскопе Tescan Vega II XMU со спектрометром с дисперсией по энергии с INCAx-sight и системой для рентгеноспектрального микроанализа INCA; РФМА – на рентгенофлуоресцентном микроанализе EAGLE III μ -probe

Таким образом, показана возможность рентгеноспектрального анализа крови, сыворотки и плазмы крови без предварительного отделения органической составляющей.

ЭСТЕРАЗНЫЙ СТАТУС ОРГАНИЗМА ДЛЯ КОРРЕКТНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОТРАВЛЕНИЯ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

Махаева Г.Ф., Рудакова Е.В., Болтнева Н.П.

ФГБУН Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка, Россия
gmakh@ipac.ac.ru

Разработка биомаркеров воздействия фосфорорганических соединений (ФОС) на человека и их количественная оценка (квантификация) является важнейшим компонентом системы предсказания и ранней диагностики вызываемых ими заболеваний. Нами была предложена концепция «эстеразного статуса» организма как совокупности активностей эстераз крови, с которыми взаимодействуют ФОС. Это ацетилхолинэстераза (АХЭ), бутирилхолинэстераза (БХЭ), нейротоксичная эстераза (НТЭ), карбоксилэстераза (КЭ), параоксоназа (PON1).

Эстеразный статус определяет в значительной степени индивидуальную чувствительность организма к ФОС и другим антихолинэстеразным соединениям и может быть использован в качестве комплексного биомаркера воздействия таких соединений. Мы полагаем, что этот комплексный биомаркер является более эффективным и информативным по сравнению с стандартным определением активностей отдельных ферментов – БХЭ плазмы, АХЭ эритроцитов и НТЭ лимфоцитов, поскольку оценка эстеразного статуса позволит сразу определить: 1) подвергался ли человек вообще воздействию ФОС, 2) оценить характер воздействия – дискриминировать острую и отставленную нейротоксичность, 3) оценить степень воздействия, что важно для последующей терапии.

Проведенные эксперименты на грызунах с использованием нескольких ФОС, обладающих различным собственным эстеразным профилем и различной острой и отставленной нейротоксичностью, показали, что определение эстеразного статуса позволяет улучшить возможности корректной диагностики отравлений и прогноза развития интоксикаций, вызываемых ФОС. Обсуждаются методы оценки эстеразного статуса и различные аспекты его применения для биомедицинской диагностики.

Литература

1. Makhaeva G.F., Rudakova E.V., Boltneva N.P., Sigolaeva L.V., Eremenko A.V., Kurochkin I.N., Richardson R.J. Blood Esterases as a Complex Biomarker for Exposure to Organophosphorus Compounds. In: Counteraction to Chemical and Biological Terrorism in the East Europe Countries, Eds C. Dishovsky, A. Pivovarov, Springer, 2009, pp. 177-194.
2. Makhaeva G.F., Rudakova E.V., Sigolaeva L.V. Investigation of esterase status as a complex biomarker of exposure to organophosphorus compounds. In: Toxicological Problems, Ch. Dishovsky, J. Radenkova-Saeva Eds., Military Publishing Ltd., Sofia, 2014, pp.15-26.
3. Boltneva N.P., Rudakova E.V., Sigolaeva L.V., Makhaeva G.F. Esterase Status of Various Species in Assessment of Exposure to Organophosphorus Compounds. In: Toxicological Problems, Ch. Dishovsky, J. Radenkova-Saeva Eds., Military Publishing Ltd., Sofia, 2014, pp. 27-38.
4. Rudakova E.V., Sigolaeva L.V., Makhaeva G.F. (2014) Investigation of Mice Blood Neuropathy Target Esterase as Biochemical Marker of Exposure to Neuropathic Organophosphorus Compounds. In: Toxicological Problems, Ch. Dishovsky, J. Radenkova-Saeva Eds., Military Publishing Ltd., Sofia, pp. 39-50.
5. Kurochkin I.N., Sigolaeva L.V., Eremenko A.V., Dontsova E.A., Gromova M.S., Rudakova E.V. and Makhaeva G.F. (2014) Layer-by-layer electrochemical biosensors for blood esterases assay. In: Toxicological Problems, Ch. Dishovsky, J. Radenkova-Saeva Eds., Military Publishing Ltd., Sofia, pp. 51-67

ВЛИЯНИЕ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ МАТЕРИАЛОВ НА АНАЛИТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ АМПЕРОМЕТРИЧЕСКИХ БИОСЕНСОРОВ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ СТРОГО УЧЕТА

Медянцева Э.П., Брусницын Д.В., Варламова Р.М., Будников Г.К.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Elvina.Medyantseva@kpfu.ru

В настоящее время все большее значение приобретает контроль за распространением и применением лекарственных препаратов строго учета, к которым относятся антидепрессанты (АД), в связи с увеличением количества стрессовых ситуаций и, соответственно, депрессивных состояний. В то же время развитие персонализированной медицины невозможно без использования биосенсорных технологий. Для повышения чувствительности определений аналитов при разработке биосенсоров для их модификации применяют наноструктурированные материалы. В качестве модификаторов электродов в работе рассмотрен широкий круг углеродных наноматериалов (различные углеродные нанотрубки, графен, оксид графена) и наночастицы (НЧ) различных металлов – (Au, Ag, Ni, Cu), а также композиты на их основе. При этом НЧ металлов получали как непосредственно в растворе в результате химических реакций, так и на поверхности электродов электрохимически. Для более прочного закрепления наноструктурированных материалов на поверхности электродов использовали дисперсии наноматериалов, стабилизированные растворами полимеров (хитозан) или сверхразветвленными молекулами (дендримерами). В качестве сверхразветвленных молекул в работе применяли полиэфирополиолы, что объясняется их невысокой стоимостью и наличием у них свойств, аналогичных дендримерам.

Разработаны амперометрические моноаминоксидазные биосенсоры на основе печатных графитовых электродов, модифицированных углеродными наноматериалами, и НЧ Au, Ag, Ni, Cu, стабилизированные хитозаном или сверхразветвленными полиэфирополиолами на платформе карбокси – и аминоксидных 2 и 3 поколения для определения лекарственных веществ, относящихся к антидепрессантам (амитриптилина, имипрамина, моклобемида, феназепам, гвайфенезина, тианептина). Наличие НЧ металлов на поверхности электродов подтверждено методами микроскопии, в качестве показателя эффективности модификации НЧ использовали метод спектроскопии электрохимического импеданса, позволяющего оценить сопротивление переноса электрона на границах раздела фаз. Наилучшими операционными и аналитическими характеристиками обладают биосенсоры модифицированные углеродными нанотрубками и НЧ Au в хитозане, НЧ Ag в «Болторне Н20». Аналитический отклик обусловлен процессами двухпараметрически рассогласованного ингибирования. Диапазон рабочих концентраций АД – от 1×10^{-4} до 1×10^{-9} моль/л с нижней границей определяемых концентраций на уровне $n \times 10^{-10}$ моль/л. Моноаминоксидазные биосенсоры апробированы при анализе лекарственных препаратов строго учета в искусственной и натуральной моче.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 13-03-01101-а).

АНАЛИЗАТОР РАСТВОРЕННОГО КИСЛОРОДА С ОПТИЧЕСКИМ ДАТЧИКОМ

Мельников П.В., Терещенко Г.С., Зайцев Н.К.

Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова,

Москва, Россия

melnikovsoft@mail.ru

Контроль содержания растворенного кислорода (РК) – чрезвычайно важная проблема, в решении которой заинтересованы практически все отрасли экономики: промышленность, рыбное хозяйство, медицина и т.д. В аппаратах искусственного кровообращения и насыщения крови кислородом (оксигенаторах) контроль содержания РК является критически важной задачей, напрямую связанной с жизнью пациента.

Амперометрический датчик Кларка, являющийся наиболее распространенным средством измерения РК, имеет ряд недостатков среди которых: расходование РК в процессе анализа, отравление сероводородом и другими серосодержащими соединениями, влияние растворённых веществ на показания.

Созданный нами датчик использует принципиально иной метод – измерение тушения фосфоресценции красителя под действием кислорода. Молекула индикатора возбуждается светом ($S_0 \rightarrow S_1$), далее происходит внутримолекулярный безызлучательный переход ($S_1 \rightarrow T_1$). Данное состояние либо тушится кислородом, либо происходит фосфоресценция (переход $T_1 \rightarrow S_0$ с излучением света). Чем больше содержание кислорода, тем быстрее происходит тушение фосфоресценции. Данная зависимость описывается уравнением Штерна-Фольмера. С его помощью прибор рассчитывает концентрацию кислорода. При этом автоматически вносится температурная коррекция.

Благодаря своей высокой селективности и практически отсутствию мешающих влияний (окислителей, восстановителей, взвешенных и окрашенных веществ), новый анализатор РК с оптическим датчиком лишен недостатков традиционных методов.

Другим преимуществом новой технологии является невосприимчивость датчика к давлению. Т.е. возможно проводить измерение непосредственно в магистрали или сосуде под давлением через прозрачный иллюминатор, не нарушая герметичность.

Датчик (рис. 1) состоит из корпуса (1), источника света (3), фотоприемника (2) и сменной насадки (4) с нанесенным красителем, фиксируемой колпачком-держателем (5). Для температурной коррекции показаний в корпусе также установлен термодатчик. Первичный преобразователь подключается к измерительно-му преобразователю, однако возможно исполнение в едином корпусе. Имеется встроенный аккумулятор, позволяющий работать автономно в течение нескольких недель. Возможна передача текущих показаний на ПК или мобильное устройство по USB, Bluetooth и Wi-Fi.

В настоящее время в ассортименте продукции отечественных производителей подобные приборы отсутствуют. Импортные аналоги дороги, что значительно тормозит внедрение данной технологии. Анализатор по стоимости сравним с повсеместно применяющимися сейчас амперметрическими датчиками Кларка, т.е. доступен широкому кругу потребителей, при этом обладая значительно превосходящими эксплуатационными показателями.

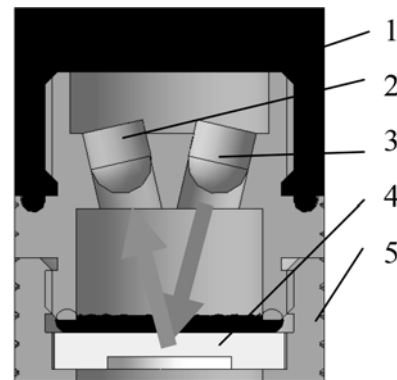


Рис. 1. Устройство оптического датчика погружного типа

ИНФРАКРАСНЫЙ СПЕКТР КРОВИ У ЖЕНЩИН С АЛИМЕНТАРНО-КОНСТИТУЦИОНАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ

Милая Н.О., Белякова Н.А., Зубарева Г.М., Лясникова М.Б., Беляева И.А.

ГБОУ ВПО Тверской государственной медицинской университет МЗ РФ, Тверь, Россия
tverendo@mail.ru

Цель. Оценить показатели инфракрасного спектра (ИКС) сыворотки крови у женщин с алиментарно-конституциональным ожирением.

Материалы и методы. Проведено клинико-лабораторное обследование 27 женщин с избыточной массой тела и алиментарно-конституциональным ожирением (средний возраст 39,0±9,7 лет). Инфракрасный спектр сыворотки крови у них изучался с помощью девятиканального анализатора (аппаратно-программный комплекс «Икар»; сертификат № 5745 от 20.11.98г., патент на изобретение № 2137126 от 10.09.99г.), позволяющего регистрировать изменения показателей поглощения биологической жидкости. В систему входит прибор с набором узкополосных фильтров для анализа различных классов соединений по характерным зонам поглощения. Определялось поглощение (%) липидно-фосфолипидных комплексов в инфракрасном спектре сыворотки крови на 9 каналах (в диапазоне 3500-960 см⁻¹): 1-й (3500-3100 см⁻¹) – химические группировки в составе холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), жирных кислот (ЖК) и всех фосфолипидов (ФЛ): сфингомиелинов (СФМ), фосфотидилсерина (ФС), фосфотидилхолина (ФХ), фосфатидилинозитов (ФИ), фосфатидилэтаноламинов (ФЭА); 2-й (3085-2732 см⁻¹) – ХС, ТГ и ЖК; 3-й (2120-1880 см⁻¹) – слабые сигналы всех функциональных групп, входящих в состав сыворотки крови; 4-й (1831-1623 см⁻¹) – полосы СФМ, ФХ; 5-й (1729-1533 см⁻¹) – СФМ; 6-й (1543-1396 см⁻¹) – метиленовые и метиловые группы; 7-й (1470-1330 см⁻¹) – ФЛ и ЖК; 8-й (1170-1057 см⁻¹) – все ФЛ кроме СФМ; 9-й (1087- 963 см⁻¹) – ФС и ФХ. Цикл одного измерения по всем каналам не превышал 1 секунды.

Результаты. Среди обследованных женщин у 38,4% имелась избыточная масса тела и I степень ожирения, у 26,9% – II степень и 34,7% – III степень. Средний индекс массы тела (ИМТ) у пациенток составил 37,1±7,1 кг/м², ОТ- 105,9±15,47 см, ОТ/ОБ 0,85±0,08, общий холестерин – 5,3±1,34, ТГ – 1,33±0,57, ХЛПНП – 3,2±1,34, ХЛПВП -1,3±0,40 ммоль/л. Давность ожирения у обследованных была 13,6±6,88 лет. Исследование ИКС крови у больных продемонстрировало, что средние показатели липидных комплексов на всех каналах превышали уровень опорного 3-го канала (18,2±17,18%). Отмечались наиболее высокие концентрации СФМ (5-й канал, 67,5±6,3%), атерогенных липидов – ХС, ТГ и ЖК (2-й канал, 48,5±13,5%), а так же СФМ с ФХ (4-й канал, 41,7±14,3%). Значения по 8 каналу составили 35,4±14,02%. Среди всех метаболических показателей выявлена корреляционная взаимосвязь между концентрацией ФЛ (8-й канал) и уровнем ЛПНП (Rxy=0,55; p<0,05).

Выводы. У женщин с алиментарно-конституциональным ожирением в 62% диагностирована II степень, в основном абдоминального типа, сопровождающаяся повышением ХЛПНП, коррелирующих с большинством фосфолипидов (8 канал инфракрасного спектра крови). Наиболее высокий процент поглощения липидно-фосфолипидных комплексов в инфракрасном спектре сыворотки крови у женщин с ожирением отмечен в 5-ом канале (сфингомиелин) и 2-ом канале (холестерин, триглицериды и жирные кислоты).

МУЛЬТИСЕНСОРНАЯ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКАЯ ПРОТОЧНАЯ ЯЧЕЙКА ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОГО АНАЛИЗАТОРА

Муратова И.С., Михельсон К.Н.

Институт химии Санкт-Петербургского гос. университета, Санкт-Петербург, Россия
konst@km3241.spb.edu

Клинические анализаторы, применяемые для диагностики и для получения объективных данных о состоянии пациентов выпускаются рядом компаний: Thermo Scientific, Hitachi, Radiometer, Frezenius и др. Они позволяют определять содержание электролитов, газов, биохимических аналитов в образцах крови, ее сыворотки или плазмы, мочи, слюны. Блок для измерения электролитов (ионы K^+ , Ca^{2+} , Na^+ , Li^+ , Cl^- , pH) представляет собой проточную ячейку, состоящую из набора соответствующих потенциометрических сенсоров – ионоселективных электродов и электрода сравнения. Каждый из электродов представляет собой отдельный элемент, которые соединяются в единую ячейку подобно элементам конструктора LEGO. Недостатками такой ячейки являются сложность изготовления отдельных сенсоров, неизбежный подсос воздуха в сочленениях между элементами, разнородность материалов сенсорных мембран (стекло, полимеры).

Цель данной работы. Разработка новой конструкции мультисенсорной ячейки и технологии ее изготовления. Эта задача частично решена, на новую ячейку получен патент РФ [1]. Ячейка представляет собой узкий поливинилхлоридный катетер, в котором методом диффузионного допирования сформированы сенсорные зоны, содержащие ионофоры, селективные к соответствующим ионам. Электрод сравнения в ячейке работает по принципу потенциала распределения [2], он выполнен аналогично электродам-сенсорам, как по конструкции, так и по применяемым материалам. Новая ячейка представляет собой единое целое, изготавливается по единой технологии, что избавляет ее от недостатков существующих ячеек, и делает перспективной для применения в составе клинического анализатора.

К настоящему времени ячейка успешно испытана (вне анализатора) на примере определения ионов K^+ , с применением как встроенного электрода сравнения, так и классического, вынесенного в отдельный сосуд.

Работа выполнена при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (УМНИК).

Литература

1. Михельсон К.Н., Муратова И.С., Проточная мультисенсорная потенциометрическая ячейка для анализа малых объемов жидких образцов, Патент РФ № 2537094
2. Mattinen U., Bobacka J., Lewenstam A., Solid-Contact Reference Electrodes Based on Lipophilic Salts, *Electroanalysis*, 2009, 21, 1955.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОКАИНАМИДА В МОЧЕ И СЛЮНЕ КАК ТЕСТ ДЛЯ ОЦЕНКИ ФЕНОТИПА АЦЕТИЛИРОВАНИЯ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА

Нугбиенью Л., Салахов И.А., Бухаров С.В., Гармонов С.Ю.

Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Россия
lorenskobb@googlemail.com

Проблемой персонализированной медицины является обеспечение эффективности и безопасности применения лекарственных веществ (ЛВ), что во многом определяется генетическими факторами, детерминирующими процессы их метаболизма. В связи с этим особое значение приобретает использование методов биофармацевтического анализа для выявления ферментативной активности метаболических систем и фармакологической коррекции биохимических фенотипов, а также в осуществлении диагностики и профилактики заболеваний, оценке индивидуальной чувствительности больных при фармакотерапии.

Для ЛВ, содержащих аминные функциональные группы, как прокаинамид, биотрансформация осуществляется главным образом путем реакций N-ацетилирования, и у человека сформированы фенотипы быстрого и медленного метаболизма, различающиеся генетически детерминированной активностью N-ацетилтрансферазы (НАТ) гепатоцитов. Однако в литературе описано установление фенотипов ацетилирования при определении концентрации прокаинамида только в системном кровотоке организма человека, что имеет ограничения по широкому клиническому применению этого теста.

Цель исследования состояла в разработке методик хроматографического определения прокаинамида и его ацетильного метаболита в моче и слюне, оценке фармакокинетических параметров при их выведении из организма человека для косвенного неинвазивного установления фенотипа ацетилирования.

Выбран и обоснован биофармацевтический маркер – прокаинамид для установления фенотипов ацетилирования организма человека, проведен синтез его ацетильного метаболита. Установлены условия хро-

матричного разделения прокаинамида и его ацетильного метаболита в условиях обращено-фазной ВЭЖХ (хроматографическая система Shimadzu LC-20 с диодно-матричным детектором и программным обеспечением LabSolutions), а также выявлены факторы повышения избирательности и чувствительности биофармацевтического анализа этих веществ в биологических жидкостях организма человека. Найдены и обоснованы рабочие условия высокочувствительного и избирательного определения прокаинамида и его ацетильного метаболита в моче и слюне методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием, оптимизированы способы их пробоподготовки при высокопроизводительных определениях тест-препаратов процессов ацетилирования. Проведен расчет и оценка фармакокинетических параметров прокаинамида и его ацетильного метаболита в моче и слюне здоровых добровольцев.

На основе проведенных исследований разработаны способы косвенного определения активности N-ацетилтрансферазы путем оценки фармакокинетических параметров прокаинамида при экскреции с мочой и в слюне с применением ВЭЖХ, а также обосновано их использование для персонализации фармакотерапии.

Таким образом, предложены диагностические подходы для оценки индивидуальной активности метаболической системы ацетилирования организма человека, которые могут быть рекомендованы как лабораторные тесты при персонализированном применении лекарственных средств.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОРРОЗИОННЫХ СВОЙСТВ БИОСОВМЕСТИМЫХ ОКСИНИТРИДНЫХ ПОКРЫТИЙ ТИТАНА ОСАЖДЕННЫХ МЕТОДОМ РЕАКТИВНОГО МАГНЕТРОННОГО РАСПЫЛЕНИЯ

Павлюк У.В.

Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Россия

ulya05011994@gmail.com

Большинство разрабатываемых и получаемых на металлах функциональных оксидных покрытий широко применяется во многих отраслях промышленности. В современной медицине широко используются стенты и имплантаты с биосовместимыми покрытиями [1], поэтому исследование таких покрытий является весьма актуальным. Оксинитридные покрытия, на стентах и имплантатах подвергаются воздействию веществ, содержащихся в организме человека. Происходит выделение оксидов азота, которые вовлечены в многочисленные физиологические реакции, начиная от регуляции сердечнососудистой системы и до повреждения функций нейронов.

Цель работы. Установление влияния условий нанесения покрытий и растворение в физиологических условиях, то есть в сложных физиологических растворах, а также обнаружение оксидов азота в растворе.

Образцы были сделаны из стали марки 316L, на которые методом реактивного магнетронного распыления [2] наносились покрытия TiO_2 , $TiON$ в различных весовых соотношениях. Образцы с покрытиями подверглись растворению в физиологическом растворе NaCl (0,9%). Объем раствора NaCl в зависимости от площади образца определяется согласно ГОСТ [3]. После этого измерялось pH растворов и содержание нитратов, нитритов в растворах с покрытиями. Также были проведены качественные и количественные реакции на обнаружении нитрит, нитратов-ионов. Для достижения поставленных целей был использован спектрофотометрический метод определения нитрит-иона, основанный на реакции нитритов с реактивов Грисса [4].

Таким образом, проводилось экспериментальное обнаружение оксидов азота после растворения покрытий оксинитрида титана в растворе NaCl.

Литература

1. В.Ф. Пичугин, И.А. Хлусов и другие. Биоконпозиты на основе кальцийфосфатных покрытий, наноструктурных и ультрамелкозернистых биоинертных металлов, их биосовместимость и биодеградация – Томск, Издательский дом ТГУ, 2014, 596 с.
2. М.А. Сурменова, Р.А. Сурменов, И.А. Хлусов, В.Ф. Пичугин. Известия Томского политехнического университета, 2010, 317, 101-106.
3. ГОСТ Р ИСО 10993-12-2009. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Приготовление проб и контрольные образцы. Стандартиформ. М., 2010. Часть 2, 16 с.
4. Ю.Я. Харитонов. Аналитическая химия. Книга.2. Количественный анализ. Физико-химические (инструментальные) методы анализа – М.: Высшая школа, 2001, 559 с.

БЫСТРЫЙ ФОТОНЕКРОЗ – МЕХАНИЗМ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ НОВОГО ПОЛИФТОРЗАМЕЩЕННОГО БОРИРОВАННОГО ХЛОРИНА

Петрова А.С.¹, Зайцев А.В.², Ольшевская В.А.², Татарский В.В.мл.³, Пучнина С.В.⁴, Сульдин А.В.⁴,
Калинин В.Н.², Мийоши Н.⁵, Штиль А.А.⁴

¹Российский технологический университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия

²Институт элементоорганических соединений имени А.Н.Несмеянова РАН, Москва, Россия

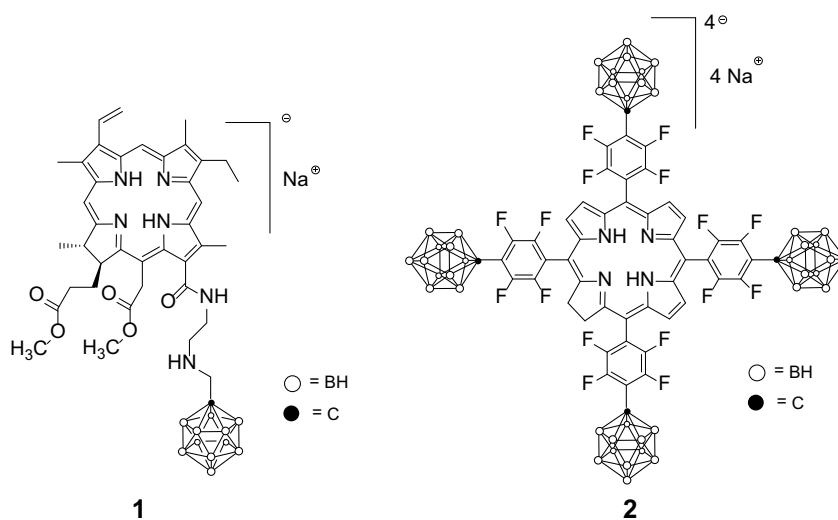
³Российский онкологический научный центр имени Н.Н.Блохина, Москва, Россия

⁴Пермская фармацевтическая академия, Пермь, Россия

⁵Университет префектуры Фукуи, Фукуи, Япония

Химические модификации тетрапиррольных соединений проводятся для оптимизации их характеристик как противоопухолевых фотосенсибилизаторов. Конъюгация борных кластеров к периферическим группам порфиринов и хлоринов может существенно повысить способность вызывать фотогибель (по механизму некроза) культивируемых опухолевых клеток и перевиваемых опухолей у лабораторных животных [Moisenovich et al., *PLoS One*, 2010]. Этот эффект связан с повышенным сродством борхлоринамида **1** к клеточным мембранам. Предположив, что повышенная амфифильность могла бы усилить терапевтический эффект, мы синтезировали водорастворимую тетранатриевую соль 5,10,15,20-тетракис[4-(1-карба-клязо-додекарборан-1-ил)тетрафторфенил]-17,18-дигидропорфирина (**2**).

Производное **2**, содержащее не только карбораны, но и атомы фтора, лучше накапливалось в клетках глиомы крысы (линия С6) по сравнению с **1**, содержащим только атомы бора. Оптимум накопления **2** в клетках достигался за 36–48 ч. Освещение клеток после инкубации с 5 мкМ **2** приводило к быстрой (спустя 5–10 мин.) гибели, сопровождавшейся резкими изменениями их морфологии и включением иодида пропидия – признаками некроза. Соединение **2** было более активным, чем **1**, в индукции фотонекроза трансплантированных опухолей, образовавшихся на месте инъекции клеток С6 иммунодефицитным мышам. Водорастворимость, низкая темновая токсичность, широкий диапазон переносимых концентраций и высокая фотодинамическая активность *in vivo* позволяют



рассматривать новый фторированный карборанилхлорин **2** в качестве перспективного кандидата в лекарственные препараты. Соединения **1** и **2** проходят испытания в рамках Федеральной программы “Фарма-2020”.

ГОМЕОСТАЗ ЭЛЕКТРОГЕННЫХ МЕТАЛЛОВ В КЛЕТКАХ ЭПИДЕРМИСА: ПРИЗНАКИ САМООРГАНИЗОВАННОЙ КРИТИЧНОСТИ

Петухов В.И.^{1,2}, Дмитриев Е.В.³, Баумане Л.Х.⁴, Скальный А.В.⁵, Лобанова Ю.Н.⁵

¹Балтийская международная академия, Рига, Латвия

²Владимирский государственный университет, Владимир, Россия

³Латвийский институт органического синтеза, Рига, Латвия

⁴Институт вычислительной математики РАН, Москва, Россия

⁵Центр биотической медицины, Москва, Россия

vip-val@yandex.ru, lbaumane@osi.lv, yegor@inm.ras.ru, skalny3@microelements.ru

Наши предыдущие исследования [1] обнаружили сопряжённость результатов количественной спектрометрии электрогенных металлов (Ca, K, Na) в эпидермальных клетках (волосы) у практически здоровых лиц и ликвидаторов Чернобыльской аварии (хронический окислительный/нитрозативный стресс). Природа этой «сопряжённости», как и многие интимные механизмы металл-лигандного гомеостаза в эпидермисе, остаются нераскрытыми. Вместе с тем трансмембранный трафик электрогенных металлов (и в первую очередь ионов Na⁺) непосредственно связан с биоэнергетикой клетки. Поэтому внутриклеточные биоэнергетические процессы, происходящие как в мембранах, так и в дыхательной цепи митохондрий, могут определять гомеостаз электрогенных металлов. Нельзя исключить также,

что в клетке, которая представляет собой открытую динамическую систему, можно найти признаки самоорганизованной критичности (СК) [2], что позволило бы отнести гомеостаз Ca^{2+} , K^+ , Na^+ в разряд СК-явлений.

Материал и методы. В Центре биотической медицины (г. Москва) с помощью атомно-эмиссионной спектрометрии был сделан анализ минерального состава волос (Ca, K, Na) у практически здоровых 10 000 жителей Москвы и 297 жителей Риги в возрасте от 2 до 85 лет. С целью выявления степенной зависимости между уровнем минерала в определённом интервале значений и количеством людей, принадлежащих этому интервалу, был сделан математический анализ всего массива данных для K и Na и отдельно для Ca (у мужчин и женщин), поскольку содержание Ca в волосах, как показали наши исследования, имеет достоверные половые различия. Кроме того, была проанализирована динамика изменений медианы значений для K и Na в разные возрастные периоды.

Результаты. По результатам проведенного математического анализа для каждого минерала были построены графики с двойным логарифмическим масштабом, линии которых оказались неоднородными. В центральной части они представляли собой прямую (что соответствует степенному закону и может, по-видимому, свидетельствовать о критическом состоянии системы). Концы же линий, которые на наш взгляд, отражают до- и надкритический (начало) уровни динамики СК, имели отклонения от прямой.

Динамика медианы уровня Na и K в эпидермисе (в зависимости от возраста) была следующей. Наиболее высоким этот показатель был в детском (от 2 до 9 лет) и старческом возрасте (60-85 лет): соотв., Na=324,9 [233-580,7] мкг/г; K=376,9 [231,9-972,3] мкг/г и Na=293,9 [222,9-346,7] мкг/г; K=121,4 [87,9-161,5] мкг/г. Достоверно ниже – в возрасте 20-49 лет: Na=99,9 [78,1-122,1] мкг/г; K=47,1 [35,7-58,5] мкг/г. В квадратных скобках – доверительные интервалы по bootstrap-методу. Причины возрастных сдвигов в гомеостазе Na и K, а также их возможная связь с биоэнергетикой клетки будут обсуждены в докладе.

Литература.

1. Petukhov V.I., Dmitriev E.V., Kalvinsh I., Baumane L.Kh., Reste E.D., Zvagule T., Skesters A.P., and Skalny F.V. (2011) *Vitamins & Trace Elements*, 1 (2), 1-8.
2. П.Бак. Теория самоорганизованной критичности, 2014, изд. ЛИБРОКОМ, 276 с.

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЕ ЭНАНТИОРАЗДЕЛЕНИЕ В-БЛОКАТОРОВ В ПРИСУТСТВИИ ДВУХКОМПОНЕНТНОГО МАКРОЦИКЛИЧЕСКОГО ХИРАЛЬНОГО СЕЛЕКТОРА

Прохорова А.Ф., Булгакова Г.А., Голосная М.Н., Шаповалова Е.Н., Шпигун О.А.

Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

alexapro@gmail.com

Разделение и определение оптических изомеров является важной задачей клинического анализа, анализа пищевых продуктов, но особенно высокие требования к хиральной чистоте предъявляют в фармацевтической промышленности. Довольно часто биологическая активность фармацевтического препарата ассоциируется с одним энантиомером, поэтому в последние годы наблюдается отказ от производства лекарственных препаратов, содержащих рацемическое активное вещество, и переход на гомохиральные средства. Знание свойств комплексов хиральной селектор-аналит ускоряет процесс оптимизации условий разделения, необходимый при разработке методов контроля качества выпускаемой продукции. В нашей работе качестве хиральных селекторов для энантиоразделения аминоспиртов использованы гидроксипропил- β -циклодекстрин (ГП-ЦД) и антибиотик макролид кларитромицин (КЛМ). ГП-ЦД известен не только своей высокой энантиоселективностью, но возможностью использования его в качестве переносчика лекарств, характеризующегося биодоступностью, хорошей растворимостью и безопасностью применения [1]. Энантиоразделение в присутствии двух хиральных селекторов, одним из которых является макролид, не изучено вовсе.

Ранее нами показано, что КЛМ обеспечивает энантиоразделение основных соединений в метанольном электролите [2], аналогичные условия оптимальны и при использовании ГП-ЦД. После исследования влияния состава фонового электролита (ФЭ), а также концентрации и соотношения хиральных селекторов найдено, что в 70 мМ КЛРТ, 5 мМ ГП-ЦД, 100 мМ лимонная кислота, 10 мМ NaOH, 240 мМ H_3BO_3 в MeOH достигается частичное энантиоразделение следующих соединений: альпренолол, атенолол, метопролол, пиндолол, пропранолол, синефрин, а также полное энантиоразделение окспренолола и эфедрина. В этих условиях разделение даже диастереомеров фенотерола, формотерола и лабеталола не происходит.

В то же время возможно разделение энантиомеров салбутамола и фенотерола и диастереомеров формотерола в присутствии только лишь одного ГП-ЦД. ФЭ, состоящий из 100 мМ фосфатного буферного раствора (pH 2), 20 мМ ГП-ЦД, благоприятствует разделению до базовой линии энантиомеров фенотерола и диастереомеров формотерола. В этих условиях достигается лишь частичное энантиоразделение салбутамола. Показано, что стехиометрия образующихся комплексов с гидроксипропил- β -ЦД имеет более сложную стехиометрию, нежели 1:1. Рассчитаны условные константы связывания энантиомер – ГП-ЦД, небольшие величины ($300\text{--}400\text{ M}^{-1}$) которых коррелируют с необходимой большой добавкой хирального селектора (20–25 мМ).

Литература.

[1] T. Loftsson, D. Duchene // Int. J. Pharm. 329 (2007) 1–11

[2] M. V. Lebedeva, A. F. Prokhorova, E. N. Shapovalova, and O. A. Shpigun. // Electrophoresis. 35 (2014) 2759–2764.

**НОВЫЙ ПОДХОД К КОНТРОЛЮ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ОРГАНИЗМА,
ОПАСНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ, ОСНОВАННЫЙ НА БЫСТРОМ СКРИНИНГЕ ПРОБ ВОЛОС
НА СУММАРНОЕ СОДЕРЖАНИЕ F-, Cl-, Br- И S-ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ
НА УРОВНЕ СЛЕДОВ**

Ревельский И.А., Чиварзин М.Е., Ревельский А.И., Скальный А.В.

Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

revelsky@environment.chem.msu.ru

Согласно данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), человечество сегодня производит либо выделяет более 500000 соединений, которые широко используются для различных целей. Более 40000 из них считаются опасными и около 12000 – токсичными. В то же время предельно-допустимые концентрации (ПДК) были установлены (либо оценены) в воде (и воздухе) только для 1500 соединений, которые считаются нормируемыми. В случае пищевых продуктов ПДК известны для гораздо меньшего числа соединений. Обязательному контролю как в воде, воздухе и пище подлежат не более 10% всех соединений, для которых установлены ПДК. Наиболее опасными являются галоген-, серу- и фосфорсодержащие органические вещества средней летучести (Ткип – 250-450 °С и более).

Такие соединения накапливаются в организме и могут оказывать негативное влияние на здоровье человека.

Существующие методы анализа этих соединений в организме обладают рядом существенных недостатков: они основаны на сложной пробоподготовке, покомпонентном определении состава ограниченного набора заданных соединений в экстрактах, представляющих сложные по составу смеси. Все это требует больших затрат времени на проведение самого анализа, калибровки и требует наличия стандартных образцов заданных соединений. Поэтому такой анализ очень малопроизводителен и он требует особых специфичных условий для каждой смеси заданных соединений и конкретной матрицы. При использовании существующего подхода невозможно осуществление оперативного контроля за загрязнением человеческого организма всеми опасными органическими соединениями (как заданными, так и неизвестными).

Для обеспечения оперативного аналитического контроля актуальной является разработка метода быстрого скрининга проб на содержание всех опасных (нормированных и ненормированных) органических соединений на ультраследовом уровне, при этом метод должен быть как высокоселективным, так и универсальным, приложимым к различным соединениям и матрицам.

Нами разработана новая методология быстрого, надежного и экономически эффективного контроля загрязнения внутренней среды организма, основанная на быстром определении суммарного содержания фтор-, хлор, бром и сераорганических соединений в волосах на ультранизком уровне. Она основана на высокотемпературной окислительной конверсии проб волос или экстрактов из них и ионохроматографическом определении анионов F-, Cl-, Br-, SO₄²⁻, соответствующих определяемым элементам. При использовании этой методологии подлежат определению только пять неорганических соединений (анионов) – продуктов окислительной конверсии проб волос либо экстрактов из них, которые дают информацию практически о всех (более 99%) нормируемых и ненормируемых опасных соединениях, известных сегодня. Разработанная методология позволяет осуществлять быстрый скрининг соответствующих проб на присутствие всех возможных галоген- и сераорганических соединений на уровне 10⁻⁶ – 10⁻⁵% и ниже, в зависимости от величины анализируемой пробы и определяемого элемента. Пробоподготовка либо минимизирована, либо исключена полностью. Результаты, полученные с использованием предложенной методологии, дают сжатую информацию о суммарном содержании опасных соединений в исследуемой матрице (в пересчете на элемент). В случае необходимости отобранная в результате скрининга проба может быть проанализирована в соответствии с общепринятыми методами анализа (газовая хроматография с селективными детекторами и хромато-масс-спектрометрия).

**ПРОБЛЕМЫ И ОПТИМИЗАЦИЯ ОТБОРА ОБРАЗЦОВ, ИХ ХРАНЕНИЯ И ПРОБОПОДГОТОВКИ
ПРИ АНАЛИЗЕ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА СЛЮНЫ****Савинов С.С., Анисимов А.А., Дробышев А.И.**Санкт-Петербургский Государственный Университет, Институт химии, Санкт-Петербург, Россия
s.sergei.s@mail.ru

Мониторинг содержания эссенциальных и токсичных микроэлементов в организме людей является актуальной задачей современной клинической диагностики, судебно-медицинской экспертизы и токсикологии. Наиболее информативным объектом для определения содержаний микроэлементов по праву считается кровь. Однако, анализ этой жидкости осложнен такими факторами как, например, инвазивность взятия образца, выполнение специальных требований к инструментам и помещению, в котором производится забор крови, а также отрицательная эмоциональная нагрузка на пациента. Поэтому в последние годы возрастает интерес к другим биожидкостям организма человека, в частности, к слюне. Из научных публикаций известно, что состав слюны отражает изменение уровня содержания микроэлементов, депонированных из окружающей среды или специально введенных в организм человека, а также дает важную информацию о функционировании различных органов, является индикатором эмоционального, иммунологического, неврологического статусов и обмена веществ. Перспективность микроэлементного анализа слюны как средства диагностики различных заболеваний, продемонстрирована в ряде публикаций достоверной корреляцией содержаний некоторых элементов в слюне и сыворотке крови.

Тем не менее, авторы упомянутых публикаций зачастую не уделяют достаточного внимания оптимизации таких этапов микроэлементного анализа слюны, как отбор образцов, в частности его продолжительность, условия и продолжительность их хранения и пробоподготовка, включающая, как правило, процедуру минерализации слюны. Кроме того, в ряде публикаций не учитывается влияние субпопуляционных факторов на содержание некоторых элементов в слюне, что приводит к некорректности заключений об отклонении уровней их содержаний от «нормы».

Исследования проводились с применением атомно-эмиссионного цифрового спектрографического анализа жидких проб с возбуждением спектра их сухого остатка с торца угольного электрода в дуге переменного тока. В докладе приводятся полученные экспериментальные данные, касающиеся влияния технологии, времени и продолжительности отбора образцов, стимулирования слюноотделения, технологии хранения образцов и пробоподготовки (центрифугирования) на результаты последующего определения микроэлементов в слюне.

Оптимизированная на основе проведенных исследований методика атомно-эмиссионного спектрального анализа была использована для получения данных о среднем содержании пятнадцати элементов в проанализированных образцах слюны, отобранных у шестидесяти человек в возрасте от 18 до 25 лет. С использованием статистических критериев выявлена связь содержаний некоторых элементов с индивидуальными и популяционными признаками обследованных людей.

Часть исследований выполнена с использованием оборудования ресурсного центра Научного парка СПбГУ «Ресурсный Образовательный Центр по направлению химия».

**ТЕРМООКСИЛИТЕЛЬНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО
СОСТОЯНИЯ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА****Сараева А.Е.¹, Зуев Б.К.¹, Моржухина С.В.², Романовская Г.И.¹, Жирков А.А.¹**¹Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, Москва, Россия²Международный университет природы, общества и человека «Дубна», Московская область, Россия
saraeva.88@inbox.ru

Важным органом, участвующим в поддержании гомеостаза организма, является кожа человека. Изучение функционального состояния кожи – актуальная задача дерматологии и дерматокосметологии. Одним из важных параметров, позволяющих охарактеризовать это состояние, является жирность кожи. Известно [1], что по жирности кожи можно оценить гормональный фон и работу некоторых внутренних органов человека. Кроме этого, жирность кожи учитывается при выборе косметических средств. Существующие методы оценки жирности кожи имеют ряд существенных недостатков: неточность, субъективная визуальная и качественная оценка.

Нами предложен новый метод, позволяющий устранить эти недостатки. Главная особенность метода – количественная оценка жирности кожи человека. Метод основан на пробоотборе органического вещества с поверхности кожи на поверхность специального пробоотборника с последующим его определением методом термоокислительной спектроскопии – окситермографии [2]. Окситермография – это метод программируемого высокотемпературного окисления органического вещества в потоке бинарного газа (кислород – инертный газ). Содержание органического вещества определяют по количеству молекулярного кислорода, затраченного на окисление этого вещества (по спек-

грам – оксистермограммам). Данным подходом возможно одновременное решение двух задач: пробоотбор вещества с поверхности (кожи человека) и последующий анализ (этого вещества) на поверхности пробоотборника.

Для построения градуировочной характеристики в качестве модельного вещества была выбрана олеиновая кислота (обычно входит в состав кожного сала [3]) и подложка (из пенополиуретана) как имитатор человеческой кожи. Объектами исследования были выбраны различные участки кожи лица человека и рук. В результате эксперимента было установлено, что полученные спектры (оксистермограммы) индивидуальны для разных участков кожи человека (аналогия с дерматоглификой) по параметру жирности. Это позволило соотнести жирность кожи и ее тип [3]. Результаты нашего эксперимента согласуются с данными, полученными независимыми методами.

Результаты исследования жирности кожи методом термоокислительной спектроскопии могут быть использованы в косметологии как количественный метод определения типа кожи человека и в медицине как метод диагностики состояния некоторых внутренних органов человека после консультации со специалистом.

Литература

1. Неверов В.Н., Долбилова Ю.В. Определяем болезни по лицу. – М.: Научная книга, 2013. – 140 с.
2. Зуев Б.К. Способ оксистермографии Патент № 2411509 Приоритет 15.01.2010.
3. Миринова Л.Г. Медицинская косметология: Пособие для врачей и косметологов. – М.: Крон-пресс, 2000. – 250 с.

ПРИМЕНЕНИЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ПРОДУКТОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА – ДОНОРОВ NO, С ФОСФОНОЛПИРВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТОЙ

Саратовских Е.А.¹, Занина А.А.², Мартыненко В.М.¹, Психа Б.Л.¹, Санина Н.А.¹

¹Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Московская область, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

easar@icp.ac.ru

Оксид азота (NO) является чрезвычайно важным биологическим медиатором, который вовлечен во множество физиологических процессов: вазодилатация, нейротрансмиссия, агрегация тромбоцитов, реакции иммунной системы; регуляция тонуса гладких мышц, сердечно-сосудистой системы и памяти [1].

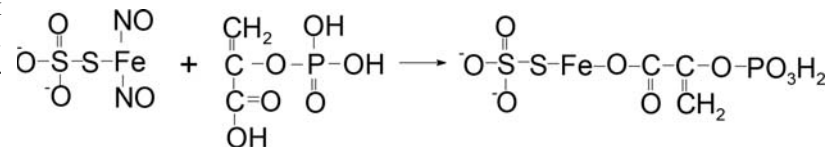
На основе нитрозильных комплексов железа – NO-доноров, могут быть созданы лекарственные препараты нового поколения, обладающие способностью направленной доставки NO к биологическим мишеням клетки. Одним из потенциальных лекарственных средств является тетранитрозильный комплекс железа (ТНКЖ), его терапевтические свойства описаны ранее [2-4]. Интерес представляет исследование влияния такого рода комплексов на энергетический метаболизм вообще, и на гликолиз, в частности, поскольку установлено [5], что в онко-поражённой клетке выработка энергии происходит не в цикле Кребса, а через гликолиз.

Фосфоенолпирвиноградная кислота (ФЕП) является одной из основных макроэргических молекул и используется в синтезе аденозинтрифосфорной кислоты в процессе гликолиза. Кроме того, ФЕП играет роль межклеточного триггера высвобождения инсулина, регулирует его секрецию, стимулируемую глюкозой; и глюконеогенез [6,7].

При исследовании реакционной способности ТНКЖ в отношении ФЕП методом ИК-спектроскопии было показано образование нового соединения за счёт связи железо-кислород. Методом масс-спектроскопии идентифицированы основные продукты реакции – молекулярные ионы с массовыми числами: 318 m/z , отвечающие частице $[O_3S_2-Fe-ФЕП]^-$; и 256 m/z , отвечающие частице $[S-Fe-ФЕП]^-$. Кроме того, в масс-спектре наблюдается пик 420 m/z , вероятно, отвечающий молекулярному иону третьего продукта реакции. Это соединение, в котором остаток молекулы ТНКЖ скоординирован

с двумя молекулами ФЕП: $[S-Fe-2ФЕП]^-$.

Схему протекания реакции можно представить следующим образом:



Литература

1. Stryer L. Biochemistry. /W.H. Freeman & Company, 4th Ed. 1995. 732 p.
2. Доброхотова О.В. и др. Хим.-фарм. ж. 2009. Т. 43. № 8. с. 55-59.
3. Санина Н. А. и др., Патент РФ № 2437667, 2012
4. Санина Н.А. и др. Рос. хим. ж. 2009. Т. LIII. № 1, с. 164-171.
5. Warburg O.H. The Prime Cause and Prevention of Cancer. Revised lecture at the meeting of the Nobel-Laureates on June 30, 1966. Publ. Konrad Triltsch, Würzburg, Germany. 1969.
6. Stark R., Kibbey R.G. Biochimica et Biophysica Acta. 2014. V. 1840, p. 1313–1330.
7. Perez-Martinez P., et all. Clinical Nutrition. 2013. V. 32. p. 630-635.

**ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО ИММУНОАНАЛИЗА
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ АГЕНТОВ**

Свалова Т.С., Глазырина Ю.А., Малышева Н.Н., Самкова И.А., Козицина А.Н.

ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет имени первого президента России Б. Н. Ельцина»
Екатеринбург, Россия

В современном мире бактериальные агенты, такие как стрептококки, стафилококки, кишечная палочка и др. распространяются среди населения стремительно и могут вызвать масштабные заражения, включая эпидемии. В связи с этим, актуальной задачей является быстрое, точное и недорогое определение видового состава и степени обсемененности, как биологических образцов пациента, так и проб продуктов питания и объектов окружающей среды. Уникальное сочетание высокой специфичности иммунореакции с экспрессностью и чувствительностью электрохимической детекции позволит поставить правильный диагноз непосредственно у постели пациента, а использование в качестве метки магнитных наноматериалов позволит включить в процедуру иммуноанализа стадии магнитной сепарации и концентрирования, что положительно повлияет на чувствительность и точность определения. Целью данной работы являлась разработка бесферментных электрохимических иммуносенсоров для определения грамположительных и грамотрицательных бактерий. Принципиальная схема проведения электрохимического иммуноанализа для определения бактериальных агентов приведена на рисунке.



В качестве сигналообразующей метки использовали магнитные наночастицы Fe_3O_4 , которые синтезировали методом соосаждения. Поверхность наночастиц модифицировали хитозаном в случае определения грамотрицательных бактерий и 3-аминопропилтриэтоксисиланом – для определения грамположительных бактерий. Электрохимический отклик от модифицированных наночастиц регистрировали в апротонной среде (ацетонитриле). Были предложены вероятные пути электропревращений наночастиц магнетита, выбран аналитический сигнал и оптимальные условия его регистрации. На следующем этапе проводили исследования взаимодей-

ствия модифицированных наночастиц с бактериальными клетками методом просвечивающей электронной микроскопии. В результате проведенных экспериментов получены градуировочные зависимости аналитического сигнала метки от концентрации бактерий в модельных растворах. Сравнительные исследования селективности, точности, чувствительности, а также анализ реальных объектов показали, что электрохимический иммуноанализ с использованием в качестве метки магнитных наночастиц Fe_3O_4 является перспективным инструментом для детектирования бактериальных агентов.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ТИОЛДИСУЛЬФИДНОГО СТАТУСА (ТДС) КРОВИ И ЕЕ ФРАКЦИЙ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ ИНВЕРСИОННО-ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОГО ТИТРОВАНИЯ**Скиба Т.В.¹, Борисова Н.С.¹, Солдатова Г.С.², Сапрыкин А.И.^{1,2}, Захарчук Н.Ф.¹¹Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН, Новосибирск, Россия²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

tatiana_chka@ngs.ru

К настоящему времени точно установлено, что нарушение в организме баланса между количеством прооксидантов и компонентов системы антиоксидантной защиты приводит к развитию “окислительного стресса” (ОС). Защитные свойства относительно окислителей и активных радикалов проявляют, прежде всего, тиолы. Являясь физиологическим показателем активности внутриклеточной системы защиты от действия реактивного кислорода, и благодаря их способности подвергаться окислительно-восстановительным превращениям ($2RSH \leftrightarrow RSSR + 2H^+ + 2e^-$), они могут быть использованы для непосредственной диагностики антиоксидантного статуса организма, а соотношение восстановленной (-SH) и окисленной (-SS-) форм тиоловых антиоксидантов в крови отражает степень повреждающего воздействия ОС и может служить для совершенствования диагностики заболеваний, прогнозирования их исхода и оценки лечебных и профилактических средств. Но для использования результатов исследования в медицинской практике, требуется применение дешевого и компактного оборудования, доступного для каждого медицинского учреждения.

В данной работе для исследования ТДС крови и ее фракций предлагается новый метод электрохимического анализа - инверсионно-вольтамперометрическое титрование (ИВТ), в т.ч. и унифицированные экспрессные варианты титрования с регистрацией всего двух (ИВТ-2) и трех (ИВТ-3) точек. В отличие от амперометрического

титрования, здесь в качестве аналитического сигнала использована высокочувствительная инверсионная вольтамперная кривая титрующего реагента, что позволило отказаться от предварительной подготовки проб, использовать дешевое и компактное программно-управляемое оборудование, повысить экспрессность анализа и снизить количество драгоценной исследуемой пробы до 5 – 100 мкл. Разработанные методики вполне пригодны для использования во внелабораторных условиях.

С помощью разработанных ИВТ способов исследования тиолов и дисульфидов в крови проведено обследование здоровых людей (контрольная группа) и пациентов с диагнозом лимфогранулематоз (ЛГМ) в период стойкой клинико-гематологической ремиссии (КГР) после многократных курсов цитостатической и лучевой терапии. Кроме того, обследовалась кровь больных ЛГМ сразу после курса полихимиотерапии (ПХТ). Более низкая буферная емкость SH ↔ SS системы, которая определяется в большей мере количеством SH-групп, наблюдается у больных ЛГМ по сравнению со здоровыми людьми, и это свидетельствует о том, что интенсивность окислительно-восстановительных процессов для таких больных значительно менее выражена. Особенно это касается больных ЛГМ, находящихся на курсе полихимиотерапии. У них самая низкая буферная емкость. Значение $K = SH/SS$ ниже 2.4 ед. косвенно характеризует истощение адаптационных резервов организма. После проведения курса восстановительной терапии сорбентами и поливитаминами в период реабилитации средние показатели K заметно изменились в сторону достижения равновесия. Количество SH-групп увеличилось, а -SS-групп уменьшилось так, что K достиг значений, характерных для здоровых лиц (2.4 – 4.0 ед.). Улучшилось качество жизни пациентов. Тем не менее, буферная емкость осталась достоверно ниже, чем это наблюдается для пациентов контрольной группы.

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АГРЕГАЦИИ И КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ БЕТА-АМИЛОИДА

Супрун Е.В., Хмелёва С.А., Радко С.П., Арчаков А.И., Шумянцева В.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»,

Москва, Россия

lenasuprun@mail.ru

В рамках ведущей гипотезы развития болезни Альцгеймера (БА), известной как «амилоидный каскад», ключевым процессом патогенеза БА является переход β -амилоидного пептида ($A\beta$) из мономерного состояния в агрегированное, что запускает цепь патогенных молекулярных событий. Детали молекулярного механизма БА до сих пор остаются неясными. $A\beta$ – пептид длиной 39–42 аминокислотных остатка (а.о.), содержащийся в спинномозговой жидкости. Агрегация $A\beta$ может быть вызвана различными факторами, в том числе ионами переходных металлов. Ионы переходных металлов, такие как Zn(II) и Cu(II), образуют комплексы с N-концевым участком пептида длиной 16 а.о. ($A\beta_{16}$) – металл-связывающим доменом. Целью данного исследования стал электрохимический анализ агрегации и комплексообразования $A\beta$. $A\beta$ способен окисляться на поверхности электрода благодаря электроактивному остатку тирозина в положении 10 аминокислотной последовательности. Связывание ионов металлов и/или агрегация приводят к изменению конформации пептида и, следовательно, доступности остатка тирозина для окисления на электроде. Электрохимические свойства синтетических пептидов $A\beta_{16}$ и $A\beta_{42}$ были исследованы методами циклической и квадратно-волновой вольтамперометрии на печатных графитовых электродах. Сигналы окисления $A\beta_{16}$ и $A\beta_{42}$ при потенциале максимума 0,6–0,7 В (отн. Ag/AgCl) были использованы для изучения взаимодействия $A\beta$ с ионами металлов и агрегации *in vitro*. Ионы Zn(II) и Cu(II) значительно снижали ток окисления $A\beta_{16}$ и сдвигали потенциал максимума пика в область более положительных значений [1]. Мутантные формы $A\beta_{16}$ с аминокислотными заменами или модификациями демонстрировали электрохимический сигнал отличный от нормального $A\beta_{16}$ и индивидуальное поведение в присутствии ионов Zn(II). Агрегация $A\beta_{42}$ приводила к снижению сигнала его окисления. Была найдена зависимость между интенсивностью пика окисления $A\beta_{42}$ и размером образующихся агрегатов, определенным методом динамического рассеяния света. Таким образом, предложенный электрохимический анализ, основанный на прямом окислении $A\beta$ за счет остатка тирозина, представляется перспективным для изучения различных факторов, влияющих на процесс комплексообразования $A\beta$ с ионами металлов и его агрегации *in vitro*.

Исследование поддержано Министерством науки и образования РФ (Соглашение № 14.604.21.0074, уникальный идентификатор RFMEFI60414X0074).

Литература

- [1] E.V. Suprun, N.V. Zaryanov, S.P. Radko, A.A. Kulikova, S.A. Kozin, A.A. Makarov, A.I. Archakov, V.V. Shumyantseva, Tyrosine Based Electrochemical Analysis of Amyloid- β Fragment (1-16) Binding to Metal(II) Ions, *Electrochim. Acta* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2015.01.066>.

**МУЛЬТИПЛЕКСНОЕ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПСИХОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ****Таранова Н.А., Бызова Н.А., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б.**Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия
taranovana@gmail.com

К современным методам анализа предъявляются такие требования, как экспрессность, производительность, чувствительность и возможность проведения тестирования на месте отбора проб. В работе предлагается совместить преимущества иммунохроматографических тест-систем и иммуночипов, что позволит быстро определять большое количество соединений в одной пробе.

Иммунохроматографический анализ реализован в мультизонном формате: аналитическая зона тест-полоски представляет собой упорядоченный массив из нескольких десятков микроточек диаметром 100-300 нм с иммунореагентами разной специфичности или иммобилизованными в разных концентрациях. При проведении иммунохроматографии в микроточках формируются иммунные комплексы, содержащие маркер – коллоидное золото, интенсивность окраски которого отражает концентрацию аналита в тестируемой пробе.

Данный подход был реализован для детекции психоактивных соединений: амфетамина, метамфетамина, морфина и бензоилэкгонина (основной метаболит кокаина). Аналитическая зона формируется растворами иммунореагентов в двух концентрациях, отличающихся в 4 раза. Такой способ расширяет рабочий диапазон тест-системы и обеспечивает возможность мультипороговой детекции.

Тест-система характеризуется низкими пределами обнаружения: амфетамин – 1,2 нг/мл, метамфетамин – 20,1 нг/мл, морфин – 2,0 нг/мл, бензоилэкгонин – 3,2 нг/мл. Для тест-системы характерны широкие рабочие диапазоны: амфетамин – 2,1-24,3 нг/мл, метамфетамин – 44-2000 нг/мл, морфин – 3,0-19,0 нг/мл, бензоилэкгонин – 5,5-550,0 нг/мл.

Тест-система охарактеризована при работе с пробами мочи. С использованием контаминированных проб проведена серия экспериментов «добавлено-выявлено». Полученные результаты свидетельствуют о высокой степени выявления целевых антигенов – 95–114%. Результаты повторных измерений характеризуются высокой степенью воспроизводимости – относительное среднее отклонение результатов определения концентраций аналитов при повторных измерениях варьирует в интервале от 0,3 до 2,0%.

Предложенный формат мультиплексного иммунохроматографического анализа может быть использован для определения различных биологически активных соединений. Количество точек в аналитической зоне тест-полоски может быть увеличено до 100-150 без изменения процедуры их формирования.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-14-01131.

**ЭКСПРЕССНОЕ ИММУНОХИМИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОКАЛЬЦИТОНИНА –
МАРКЕРА ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ****Таранова Н.А., Жердев А.В., Садыхов Э.Г., Дзантиев Б.Б.**Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия
taranovana@gmail.com

Воспаление, возникающее после тканевого повреждения, сопровождается продукцией ряда белков – биомаркеров воспаления и индикаторов степени его тяжести. Одним из приоритетных биомаркеров воспалительных процессов является прокальцитонин, что обуславливает интерес к высокочувствительным и экспрессным методам его контроля. Прокальцитонин является маркером воспаления, позволяющим проводить диагностику на ранних стадиях и различать локальные инфекции и сепсис. Задача настоящего исследования – разработка экспрессной иммунохимической тест-системы для определения прокальцитонина в сыворотке крови.

Предлагаемая тест-система представляет собой мультимембранный композит (тест-полоску) с нанесенными специфическими и антивидовыми антителами, формирующими аналитическую и контрольную зоны соответственно. В рамках ее разработки были синтезированы конъюгаты коллоидного золота с моноклональными антителами против прокальцитонина. Определены оптимальные мембранные носители для работы с образцами сыворотки крови, разработаны протоколы иммобилизации на них иммунореагентов. На основании результатов оптимизации изготовлены тест-полоски и определены аналитические характеристики тест-системы. Предел определения прокальцитонина – 1 нг/мл, рабочий диапазон измеряемых концентраций – 2,5-50 нг/мл. Длительность анализа – 10 мин. Проведена апробация разработанной тест-системы на образцах сыворотки крови.

Благодаря экспрессности и методической простоте предлагаемая тест-система является эффективной альтернативой существующим методам определения прокальцитонина. Коммерческие импортные тест-системы позволяют диагностировать локальные инфекции за 20 минут. Разработанные иммунохроматографические системы детектируют системные инфекции (выше 1 нг/мл) за 10 минут. Предел детекции прокальцитонина может быть снижен до 9 пг/мл за счет применения ионов серебра в качестве усилителя.

РАЗРАБОТКА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ЭКСПРЕССНОГО ДЕТЕКТИРОВАНИЯ ФТОРХИНОЛОНОВ

Таранова Н.А.¹, Зверева Е.А.¹, Шанин И.А.^{1,2}, Еремин С.А.^{1,2}, Жердев А.В.¹, Дзантиев Б.Б.¹

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

²Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
zverevaea@yandex.ru

Фторхинолоны (левофлоксацин, ципрофлоксацин и др.) – антибиотики нового поколения, все более широко применяемые в современной ветеринарной практике. Однако их использование сопряжено с необходимостью широкого мониторинга пищевой продукции, поскольку поступление антибиотиков с продуктами питания в организм человека может приводить к таким негативным последствиям, как аллергические реакции, дисбактериозы, развитие устойчивых форм микроорганизмов.

Широкий мониторинг содержания антибиотиков возможен лишь при использовании быстрых и высокопроизводительных внелабораторных тестов, позволяющих оперативно получать информацию о содержании антибиотиков в сырье и готовой продукции. Наиболее эффективным решением для решения этой задачи является иммунохроматография. В отличие от антибиотиков других классов, для фторхинолонов на сегодняшний день отсутствуют экспресс-методы контроля, соответствующие отечественным санитарно-эпидемиологическим нормативам, что и обусловило необходимость проведенного исследования.

Целью работы было создание и апробация иммунохроматографических тест-систем для экспрессного детектирования фторхинолонов на основе применения коллоидного золота в качестве маркера.

Синтезированы конъюгаты коллоидного золота с поликлональными антителами против левофлоксацина и ципрофлоксацина. Определены оптимальные мембранные носители, разработаны протоколы иммобилизации на них конъюгатов гаптен-(бычий сывороточный альбумин). Установлены концентрации реагентов, обеспечивающие достоверное различие окраски индикаторных линий для положительных и отрицательных проб. На основании результатов оптимизации изготовлены тест-полоски и проведены эксперименты по контролю наличия антибиотиков в стандартных растворах и образцах молока. Длительность определения с помощью разработанных тест-систем составляет 10 минут. Порог детекции левофлоксацина – 0,10 нг/мл, ципрофлоксацина – 0,05 нг/мл, что удовлетворяет российским санитарно-эпидемиологическим нормативам (суммарная концентрация ципрофлоксацина, энрофлоксацина, офлоксацина и норфлоксацина не должна превышать 100 мкг/кг).

Благодаря экспрессности и методической простоте разработанные тест-системы являются эффективной альтернативой существующим методам определения антибиотиков, расширяя возможности защиты здоровья населения.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» (соглашение о предоставлении субсидии № 14.613.21.0028 от 28.11.2014; уникальный идентификатор RFMEFI61314X0028).

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ СЕРПИНОВ В3 И В4 И ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕЦИФИЧНОСТИ ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С АНТИТЕЛАМИ НА БИОЛОГИЧЕСКОМ МИКРОЧИПЕ

Тихонов А.А.¹, Бутвиловская В.И.¹, Цыбульская М.В.¹, Белоусов П.В.², Сазыкин А.Ю.²,
Стомахин А.А.¹, Солопова О.Н.³, Рубина А.Ю.¹

¹Институт молекулярной биологии им.В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения, Москва, Россия
alex.tihonoff@gmail.com

Введение. Серпины В3 и В4 (SPB3 и SPB4) являются высоко гомологичными (92% по аминокислотному составу) белками – онкомаркерами плоскоклеточных карцином различной локализации. В клинической практике обычно определяют общее содержание двух белков в сыворотке крови, однако при некоторых патологиях важно определять уровень экспрессии каждого из них индивидуально.

Цель исследования. Получение рекомбинантных SPB3 и SPB4, а также изучение их взаимодействия с различными моноклональными антителами на гидрогелевом биологическом микрочипе (биочипе).

Материал и методы. Полноразмерные рекомбинантные серпины В3 и В4 получали в виде слитных белков с фрагментами, кодирующими His6-группы на N конце. Моноклональные антитела были наработаны путем иммунизации мыши линии BALB/c рекомбинантными серпинами В3 и В4. По технологии, разработанной в ИМБ РАН, изготовлены биочипы с иммобилизованными серпинами, моноклональными антителами к ним (к SPB3: C5, H5, H81, G9; к SPB4: H3, A11, F8, D10) и двумя моноклональными антителами к природному серпину SCC140 и SCC107 (CanAg Fujirebio, Швеция). Регистрацию и расчет интенсивности флуоресцентных сигналов проводили с помощью анализатора биочипов (ИМБ РАН).

Результаты и обсуждение. На изготовленных биочипах был проведен прямой иммуноанализ $Cy5$ -меченых серпинов В3 и В4. Показано, что антитела С5 специфично взаимодействуют с SPB3, антитела А11 – с SPB4, антитела Н3 – как с SPB4, так и с SPB3. Антитела SCC107 и SCC140 взаимодействуют с обоими белками. Для проведения сэндвич-иммуноанализа были получены конъюгаты с красителем $Cy5$ антител, которые показали наличие связывания с антигенами в прямом анализе: С5, SCC107, SCC140, А11 и Н3. После проведения сэндвич-иммуноанализа были выбраны пары антител для анализа SPB3: С5/Н3- $Cy5$, С5/SCC107- $Cy5$; и для анализа SPB4: А11/Н3- $Cy5$, А11/SCC107- $Cy5$. Антитела Н3, выработанные против рекомбинантного SPB4, показали способность к связыванию и с SPB3, что говорит об их взаимодействии с общим сайтом связывания этих двух высоко гомологичных белков. Для выбранных пар антител были получены зависимости интенсивности флуоресценции ячеек биочипа от концентрации SPB3 и SPB4 в растворе, что позволило проводить количественный анализ серпинов. Также нами была продемонстрирована возможность одновременного анализа этих белков при их совместном присутствии в образце.

Выводы. Получены и охарактеризованы рекомбинантные белки SPB3 и SPB4. Показано, что молекулярные массы белков соответствуют литературным данным. Правильный фолдинг белков подтвержден взаимодействием серпинов с антителами к природному серпину SCC140 и SCC107. С помощью гидрогелевого биочипа подобраны пары антител, позволяющие проводить одновременное селективное количественное определение SPB3 и SPB4 в сыворотке крови.

Работа поддержана Минобрнауки РФ, уникальный номер научного исследования RFMEFI60414X0103.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПАТОЛОГИЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ И ИЗМЕНЕНИЙ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ПО ДАННЫМ РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА С ВОЗБУЖДЕНИЕМ СИНХРОТРОННЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ

Трунова В.А.

Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН, Новосибирск, Россия
valna-t@mail.ru

Интерес к изучению элементного состава биологических тканей в норме и патологии обусловлен активным участием химических элементов в деятельности ферментов, гормонов и в процессах регуляции систем организма. Механизмы взаимодействия на молекулярном уровне между двумя или более химическими элементами могут быть очень сложными и неоднозначными, и знания в этой области ещё очень поверхностны.

Актуальной является информация о многоэлементном составе биопсийного материала живых организмов. Поскольку этот материал всегда имеет очень малую массу – от 4 мг до 0.5 мг на сухой вес, такое количество материала образца напрямую не может быть подвергнуто исследованию современными методами анализа. Метод РФА-СИ позволяет анализировать образцы малой массы (до 0,5 мг) и подбирать оптимальные условия для анализа элементов. Метод был развит в Новосибирске с 1979 г. на ускорительном кольце ВЭПП-3 ИЯФ СО РАН, экспериментальная станция рентгенофлуоресцентного анализа (РФА-СИ). Совместные систематические исследования с НИИ патологии кровообращения им. акад. Е. Н. Мешалкина проводили в течение 9 лет. Проанализировано порядка 1000 образцов сосудистой системы у больных разных патологий: врожденный порок сердца, ишемическая болезнь, дилатационная кардиомиопатия (пересадка сердца), аневризма аорты и др.

Разработана методика анализа фрагментов биопсийного, операционного материала по К-линиям. Определяли элементы: S, Cl, K, Ca, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Br, Kr, Rb, Sr, Mo. По результатам анализов метода РФА-СИ фрагментов аутопсийного и биопсийного материала физиологами сделаны следующие выводы:

Дефицит **Cu** может провоцировать синдром Марфана, формирование аневризмы аорты. Дефицит **Zn** приводит к развитию пороков сердца. Дефицит **Se** – возрастает риск развития коронарной болезни, инфаркта миокарда и кардиомиопатии.

В миокарде больных с ишемической болезнью сердца на фоне сниженного содержания **K** повышено содержание всех ХЭ, особенно **Ca**, **Fe**, **Rb**.

Повышенное содержание **Fe** в артериальной стенке может свидетельствовать о начальном развитии атеросклеротических процессов.

Дилатационная кардиомиопатия с выраженной гипертрофией миокарда – снижено содержание основных химических элементов: **K**, **Ca**, **Sr**, **Mn**, **Fe**, **Ni**, **Se** по сравнению с нормой в 2 раза. Единственным возможным маркером патологии дилатационная кардиомиопатия является повышенное в 2 раза содержание **Rb**.

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ С ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ В СОВРЕМЕННЫХ ГИГИЕНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Уланова Т.С., Гилева О.В.

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», Пермь, Россия

Для предупреждения и устранения вредного воздействия химических факторов необходимо постоянное развитие адекватных методов оценки негативных последствий воздействия, которое возможно только при наличии высокочув-

ствительных, селективных и воспроизводимых методик анализа основанных на современных физико-химических методах определения химических соединений и элементов в объектах окружающей среды и биосредах человека.

В современных гигиенических исследованиях метод масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS) широко зарекомендовал себя, как наиболее высокочувствительный и селективный, а широкий динамический диапазон определяемых концентраций и экспрессность анализа позволяют проводить гигиеническую оценку качества объектов окружающей среды, биологических жидкостей человека на референтном уровне.

На протяжении последних 10 лет в лаборатории методов элементного анализа химико-аналитического отдела ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» ведется разработка методик определения химических элементов в объектах окружающей среды, биосредах человека, продуктах питания с использованием масс-спектрометра с индуктивно связанной плазмой с октопольной реакционно/столкновительной ячейкой Agilent 7500сх.

На базе ICP-MS разработана и утверждена методика определения ванадия в атмосферном воздухе, позволяющая определять содержание токсичного элемента ванадия на уровне референтной концентрации (МУК 4.1.2953-11). Для установления уровня контаминации биосред населения утверждены методические указания по определению 12 химических элементов (ванадий, хром, марганец, никель, медь, цинк, селен, стронций, таллий, свинец, кадмий, мышьяк) в биосредах человека (МУК 3230-14), отличающиеся достоверностью, селективностью определения, обоснованными параметрами подготовки образцов к анализу, параметрами настройки чувствительности масс-спектрометра. Разработанные методики зарегистрированы в Федеральном информационном фонде по обеспечению единства измерений (ФР.1.31.2011.09887; ФР.1.31.2014.17064).

В настоящее время проводится дальнейшая разработка масс-спектрометрических методик по определению широкого спектра химических элементов в атмосферном воздухе на уровне референтных концентраций, по определению токсичных металлов (мышьяк, кадмий, свинец, ртуть) в молоке и молочных продуктах.

Представленные методики измерения используются в практике социально-гигиенического мониторинга при разработке и реализации программ по гигиенической оценке ситуации и диагностики нарушений здоровья, ассоциированных с негативным воздействием факторов среды обитания, при оценке уровня контаминации биосред (кровь, моча) экспонированного населения. К качеству критерия контаминации с использованием метода ICP-MS разработаны региональные фоновые уровни содержания химических элементов в крови и моче населения Пермского края.

Таким образом, методики на базе ICP-MS позволяют оценить реальную экспозицию населения от объектов среды обитания и продуктов питания для установления причинно-следственных связей и зависимостей между состоянием здоровья населения и воздействием вредных факторов с последующей оценкой рисков.

ИММУНОХИМИЧЕСКИЕ ЭКСПРЕССНЫЕ МЕТОДЫ ДЕТЕКЦИИ МИКОТОКСИНОВ

Урусов А.Е., Петракова А.В., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б.
Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, Россия
Urusov.alexandr@gmail.com

Микотоксины, низкомолекулярные метаболиты плесневых грибов, являются токсичными соединениями, вызывающими при попадании с пищей в организм человека тяжелые заболевания. Для обеспечения широкого и производительного мониторинга данных соединений в пищевых продуктах необходим комплекс аналитических подходов с низким пределом обнаружения и малой продолжительностью анализа. С этой целью были разработаны новые форматы иммунохроматографического и иммуноферментного анализа (ИХА и ИФА) микотоксинов, проведена их апробация на примере обнаружения афлатоксина В1, охратоксина А, зеараленона и Т2-токсина.

Для экспрессного внелабораторного высокочувствительного детектирования аналитов в иммунохроматографии предложено использование сочетания немодифицированных специфических антител и меченных коллоидным золотом антивидовых антител. Данный подход обеспечивает более эффективное выявление образующихся при конкурентном взаимодействии комплексов антиген-антитело, тем самым давая возможность сдвинуть рабочий диапазон метода в область более низких концентраций аналита. На примере афлатоксина В1 показано, что предлагаемое решение приводит к снижению предела обнаружения в 10 раз в иммунохроматографии, позволяя выявлять 20 пг/мл микотоксина при продолжительности определения 20 минут.

Для иммуноферментных аналитических систем предложено использование иммуносорбентов на основе магнитных наночастиц. Данный подход позволяет концентрировать аналит и проводить иммунохимические взаимодействия в объеме реакционной среды – тем самым снижая предел обнаружения и продолжительность анализа. Магнитные наночастицы были получены совместным осаждением солей железа, а для синтеза конъюгатов была использована физическая адсорбция, в отличие от обычно применяемого ковалентного связывания. Как результат, была достигнута суммарная продолжительность ИФА 30 мин (с 5-минутным специфическим иммунным взаимодействием), а предел детекции в случае афлатоксина В1 составил 2 пг/мл, что на порядок меньше, чем при использовании традиционного подхода с этими же реагентами. Установлено также, что иммобилизация антител на поверхности нанодиспергированного оксида железа повышает их стабильность к денатурирующему действию органических растворителей. Данное свойство позволяет проводить тестирование водно-метанольных экстрактов пищевых продуктов с минимальным разведением (конечное содержание метанола при проведении иммунохимической реакции – 30%), что позволяет достигать высокую чувствительность определения.

Разработанные методики апробированы для тестирования проб кукурузы и ячменя, предварительно охарактеризованных традиционно используемыми хроматографическими методами. Показана высокая степень достоверности данных ИФА и ИХА: степень выявления микотоксинов – 90%.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения разработанных методов для контроля контаминации микотоксинами сельскохозяйственной продукции и продуктов питания, что снизит риск попадания токсинов в организм человека.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы»; соглашение о предоставлении субсидии № 14.607.21.0015 от 05.06.2014, уникальный идентификатор соглашения RFMEFI60714X0015.

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ МЕТАЛЛОМА ЧЕЛОВЕКА

Фотеева Л.С., Тимербаев А.Р.

ФГБУН Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, Москва, Россия
foteeva-lidia@mail.ru

Создание и успешное применение новых противоопухолевых средств в клинической онкологии было и до сих пор остается необходимым, но, к сожалению очень трудоемким и дорогостоящим явлением. Одно из направлений современных исследований сосредоточено на разработке новых металлосодержащих противоопухолевых соединений (как на основе платины, так и других металлов), имеющих более высокую эффективность и меньшую токсичность по сравнению с одним из самых распространенных в химиотерапии препаратов – цисплатином. Одной из основных причин, почему эффективность процесса разработки и внедрения новых соединений металлов остается невысокой, является недостаточные знания о механизме их действия. В частности, остается малоизученным, какую роль в метаболизме, накоплении и переносе в раковую ткань играют белки, в какой форме препарат доставляется и выделяется в клетке и каким образом вызывает ее гибель и таким образом подавляет рост раковой ткани. В этой связи изучение взаимодействия комплексов металлов и биологических (макро)молекул (транспортные белки крови, фрагменты ДНК и др.) приобрело за последнее десятилетие возрастающее значение. Для вещественного анализа такого типа необходимо, однако, существенно улучшить аналитическую методологию. Принципиальными требованиями к методам биовещественного анализа являются способность разделять и определять отдельные формы металлов, оказывая минимальное воздействие на их состав в ходе анализа, и достаточная для этого чувствительность. С этих позиций важное место в разработке металлосодержащих целевых соединений занимает капиллярный электрофорез (КЭ) и некоторые другие методы разделения (ультрафильтрация, «мягкие» варианты жидкостной хроматографии) в сочетании с масс-спектрометрией с индуктивно связанной плазмой.

В настоящем докладе будут рассмотрены и обсуждены новые подходы к изучению метаболических превращений комплексов металлов противоопухолевого действия, идентификации и определению образующихся химических форм металлов в биологических объектах [1,2] и, таким образом, расшифровки металлома – совокупности форм данного металла в организме. Особое внимание будет уделено применению КЭ в протеомике, связанной с доставкой, активацией (с освобождением цитотоксически активной формы) и нарушением функций раковой клетки [3]. Это будет продемонстрировано на примере комплексов рутения(III) и галлия, находящихся на стадии клинических исследований.

Литература

- [1] A.R. Timerbaev, L.S. Foteeva, A.V. Rudnev, J.K. Abramski, K. Polec-Pawlak, C.G. Hartinger, M. Jarosz, B.K. Keppler, Electrophoresis 28 (2007) 2235-2240.
- [2] K. Polec-Pawlak, J.K. Abramski, J. Ferenc, L.S. Foteeva, A.R. Timerbaev, B.K. Keppler, M. Jarosz, J. Chromatogr. A 1192 (2008) 323-326.
- [3] A.R. Timerbaev, K. Pawlak, S.S. Aleksenko, L.S. Foteeva, M. Matczuk, M. Jarosz, Talanta.

РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНОЕ И ЦВЕТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАРМПРЕПАРАТОВ НА ПЕНОПОЛИУРЕТАНОВЫХ СОРБЕНТАХ

Чапленко С.А., Осолок К.В., Моногарова О.В., Чапленко А.А.

Химический факультет МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия
sophie.chaplenko@gmail.com

Одной из приоритетных задач современной фармацевтической химии является разработка новых эффективных способов определения действующих веществ в составе лекарственных препаратов в широком диапазоне концентраций (10⁻²–10¹ мас. %). Принимая во внимание огромное количество этих веществ, относящихся к разным классам органических соединений, возникает необходимость в создании общих унифицированных подходов к разработке способов их определения. В последние годы при определении разных классов органических веществ всё чаще используют пенополиуретан (ППУ) [1]. ППУ матрица удобна для измерения аналитического сигнала разными

спектроскопическими методами. После химической обработки ППУ можно использовать в качестве твердофазного аналитического реагента для определения ряда ароматических соединений. Он дешёв, доступен, удобен в применении [1]. Разделение и концентрирование можно проводить как на исходных, так и на химически модифицированных ППУ сорбентах, что позволяет влиять на селективность определения. Цель настоящей работы – развитие комбинированного химико-инструментального способа определения ряда фармпрепаратов, относящихся к группам антибиотиков, антиоксидантов, антисептиков, анестетиков, диуретиков, спазмолитиков, а также витаминов.

Определение действующих компонентов лекарственных препаратов, в молекулах которых присутствуют одно или несколько бензольных колец со свободными о- или п-положениями по отношению к электронодонорным заместителям (гидрокси- или амино-группам), может быть основано на взаимодействии этих веществ с ППУ. Для химического модифицирования ППУ проводят реакцию диазотирования концевых толуидиновых групп и последующего азосочетания с аналитом [1]. Эти процессы обуславливают интенсивное окрашивание ППУ, глубина которого зависит от содержания аналита в объекте. Описанная процедура использована в работе для цветометрического определения таких препаратов как хинозол, парацетамол, этакридин, новокаин и др. Измерение аналитического сигнала (светлоты выбранного цветового канала) выполнено с помощью офисного сканера и компьютерной программы для обработки изображений.

Для проверки адекватности этого подхода использована альтернативная процедура, основанная на взаимодействии ионов Fe(III), Co(II), Ni(II) с хелатообразующими N,O- и N,N-группами, возникающими в ППУ сорбенте в результате химического модифицирования молекулами лекарственных препаратов. Последующее косвенное определение аналитов по «тяжёлым меткам» было выполнено рентгенофлуоресцентным (РФ) методом [2]. Для РФ-определения металлоорганических соединений (цианокобаламин), а также лекарственных препаратов в виде комплексов с «тяжёлой меткой» (кверцетин-As, ДДТК-Se) проводили их предварительное концентрирование из водных растворов на немодифицированных ППУ сорбентах на основе простых эфиров. Измерение аналитического сигнала проводили на портативном РФ-спектрометре с волновой дисперсией *Спектроскан Макс-G* НПО «Спектрон» (Санкт-Петербург). Показана возможность определения указанных веществ в интервале от 10^1 – 10^3 мкг/мл.

Литература

1. Дмитриенко С.Г., Аяри В.В. Пенополиуретаны: сорбционные свойства и применение в химическом анализе. М., 2009.
2. Осколок К.В., Моногарова О.В., Алов Н.В. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2015. Т. 56. № 2. С. 65–69.

ДИАГНОСТИКА ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ У ТЕЛЯТ ПО СОСТАВУ РАВНОВЕСНОЙ ГАЗОВОЙ ФАЗЫ НАД ПРОБАМИ КОНДЕНСАТА ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА

Черницкий А.Е.¹, Шуба А.А.², Кучменко Т.А.², Шабунин С.В.¹

¹ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук, Воронеж, Россия

²ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», Воронеж, Россия

Диагностическая значимость исследований конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ) при воспалительных заболеваниях органов дыхания (ВЗОД) у телят показана в работах отечественных и зарубежных авторов. Однако концентрации веществ, которые содержатся в КВВ, чрезвычайно малы и не всегда могут быть выявлены традиционными лабораторными тестами. Для исследования КВВ необходима разработка принципиально новых высокочувствительных, быстрых аналитических подходов и методов, доступных для практической ветеринарии. Цель работы – оценка возможности применения массива пьезосенсоров («электронный нос») для диагностики ВЗОД у телят по составу равновесной газовой фазы (РГФ) над пробами КВВ.

В качестве объектов исследования выбраны 23 пробы КВВ, объемом 1 см^3 , в том числе от 7 животных двукратно для оценки изменений в составе РГФ в динамике заболевания. Состав РГФ над пробами КВВ исследовали в статическом режиме на анализаторе газов «МАГ-8». В качестве селективных покрытий пьезокварцевых резонаторов для создания сенсоров выбраны стандартные хроматографические фазы, а также универсальные и специфические сорбенты, пленки которых характеризуются стабильностью, высокой чувствительностью к летучим аминам, кислотам и аммиаку. Всех животных подвергали детальному клиническому исследованию с обязательным лабораторным контролем – бактериологические исследования носовых и трахеальных смывов, определение традиционных гематологических и биохимических показателей воспаления в крови и КВВ (концентрации H_2O_2 , малонового альдегида, рН). Для ранжирования проб КВВ телят на группы по результатам анализа РГФ массивом сенсоров с метками «здоров со стороны дыхательной системы» (1) и «с наличием воспалительного процесса в органах дыхания» (2) предложен показатель воспаления (ПВ). Он отражает особенности качественного состава проб КВВ по содержанию основных газов-маркеров воспаления: аммиак, амины, гетероатомные полярные соединения и некоторые неорганические газы. По рассчитанным значениям ПВ пробы КВВ классифицировали в соответствии с клиническими данными. Установлено, что ПВ для группы 1 принимает минимальные значения, что свидетельствует о равном соотношении легких газов основной природы и общего количества летучих веществ в РГФ над пробами КВВ телят, при значениях ПВ больше $1,1 \pm 0,1$ пробы относятся к группе 2, при этом возможно идентифицировать как клинически выраженное, так и субклиническое течение болезни. Для проверки возможности классификации проб по ПВ проследили изменения в составе РГФ над пробами КВВ в динамике заболевания. Предложены дополнительные

расчетные параметры на основе сигналов массива сенсоров с последующей их обработкой методом главных компонент. Установлены особенности изменения состава РФФ над пробами КВВ при положительной (выздоровление животного) и отрицательной динамике по сигналам отдельных сенсоров с пленками, селективными к полярным кислородсодержащим соединениям, алифатическим аминам, аммиаку и гетероциклическим соединениям.

РЕШЕНИЕ НЕКОТОРЫХ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОПТИЧЕСКИХ БИОСЕНСОРНЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ИММОБИЛИЗОВАННОЙ ПЕРОКСИДАЗЫ И ЕЕ АНАЛОГОВ

Шеховцова Т.Н., Веселова И.А., Мугинова С.В.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
tnshekh@yandex.ru

К медико-биологическим проблемам, решение которых является прерогативой химического анализа, относят контроль качества лекарственных препаратов и растительного сырья для них; контроль содержания в организме человека, прежде всего его биологических жидкостях, маркеров различных заболеваний. В этих целях перспективно применение оптических сенсоров на основе иммобилизованных ферментов, в частности пероксидаз. Нами предложены твердофазные спектрофото-метрические и флуориметрические сенсорные системы на основе пероксидазы из корней хрена и ее аналогов для определения в объектах со сложной матрицей биологически активных веществ, обладающих антиоксидантной активностью, – полифенольных соединений различного строения (кверцетина, рутина, эскулетина и пр.), а также пероксида водорода и органических пероксидов (пероксида мочевины, 2-бутанонпероксида, бензоилпероксида и др.). Спектрофотометрическая индикаторная система включает взаимодействие продуктов пероксидазного окисления фенолов с хитозаном, нанесенным на оптическое стекло, с образованием ковалентно связанного с ним светопоглощающего аддукта, что позволяет регистрировать аналитический сигнал непосредственно в матрице биочувствительного слоя вне анализируемого раствора. Чувствительный слой флуоресцентного сенсора состоит из пленки меченого флуоресцентной меткой хитозана, содержащего иммобилизованную пероксидазу. При ферментативном окислении фенолов интенсивность флуоресценции чувствительного слоя уменьшается пропорционально содержанию аналита. Достижимые чувствительность и селективность анализа позволяют определять перечисленные соединения в фармацевтической продукции, сырье и биологических жидкостях.

Созданные нами методом растворения-осаждения из ионной жидкости [BMIm][Cl] пленки состава {целлюлоза–пиронин Б–комплекс Mn(II)–додецилсульфат натрия} использованы для чувствительного, селективного и экспрессного флуориметрического определения 0.25–8 мкМ природного эндопероксида артемизинина в противомаларийных биологически активных добавках. В основу определения положена реакция окисления пиронина Б артемизинином, катализируемая комплексом {Mn(II)–додецилсульфат натрия} (аналогом пероксидазы).

Для определения в биологических жидкостях маркеров нейромедиаторного обмена – катехоламинов (КА) и их метаболитов (дофамина, эпинефрина, норэпинефрина, метилдофы, гомованилиновой и ванилилминдальной кислот), не обладающих собственной флуоресценцией, использован прием получения интенсивно флуоресцирующих производных в результате их пероксидазного окисления в присутствии ароматических и алифатических аминов: бензиламина (БА), *мезо*-1,2-дифенилэтилендиамин (ДЭД), *о*-фенилендиамина (*о*-ФДА) и этилендиамина (ЭДА). На основе предложенных индикаторных систем создан флуоресцентный биосенсор для определения КА и их метаболитов в диапазоне концентраций 10 нМ – 20 мкМ. Реакции ферментативной дериватизации КА с ДЭД и БА в присутствии пероксидазы, иммобилизованной в лунках полистирольного планшета, положены в основу флуоресцентных экспресс-методик мультиплексного определения указанных КА в биологических жидкостях.

Исследование поддержано грантом РФФИ (№15-03-05064-а).

ЭЛЕКТРОСИНТЕЗ И ХАРАКТЕРИСТИКА СВЯЗЫВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ МОЛЕКУЛЯРНО ИМПРИНТИРОВАННОГО ПОЛИ-О-ФЕНИЛЕНДИАМИНА В КАЧЕСТВЕ АНАЛОГА АНТИТЕЛ В ЭЛЕКТРОАНАЛИЗЕ МИОГЛОБИНА

Шумянцева В.В.^{1,2}, Булко Т.В.^{1,2}, Сиголаева Л.В.¹, Кузиков А.В.^{1,2}, Арчаков А.И.¹

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва, Россия

²ООО «ИБМХ – ЭкоБиоФарм», Москва, Россия

viktoria.shumyantseva@ibmc.msk.ru

В пост-геномную эру особое значение приобретает развитие методов выделения и детекции целевых белков, так как белки играют важную роль в качестве маркеров многочисленных заболеваний. В связи с этим в настоящее время раз-

вивается новое направление – создание сенсоров на основе синтетических биомимических (или «биоподражательных») материалов, осуществляющих, как и биореагенты, селективное комплементарное связывание определяемых веществ по принципу «ключ-замок». Такими биомимическими материалами являются полимеры с молекулярными отпечатками, или молекулярно импринтированные полимеры (МИП, от англ. molecularly imprinted polymers). Цель данной работы заключалась в электросинтезе молекулярно импринтированного поли-о-фенилендиамина. Полученная система была использована в качестве полимерного аналога антител для специфического связывания миоглобина как потенциального кардиомаркера при остром инфаркте миокарда. Методом электрополимеризации синтезирован молекулярно импринтированный поли-о-фенилендиамин с темплатными молекулами миоглобина. Прирост массы пленки контролировали также методом микрогравиметрии с мониторингом диссипации (QCM-D, quartz crystal microbalance with dissipation monitoring Q-Sense E1). Оптимизация процесса электрополимеризации позволила найти соотношение ФДА/миоглобин = 10/1, при котором наблюдается максимальное различие масс пленок МИП/НИП = 5, которое было использовано в дальнейшем для анализа связывания миоглобина с МИП и оценки распознавательной способности полимера по отношению к миоглобину. Анализ миоглобина проводили прямой электрохимической регистрацией пика восстановления Fe^{+3} гемопротейна в диапазоне потенциалов $-0,4 \div -0,6$ В методом квадратно-волновой вольтамперометрии. По данным электрохимического анализа, МИП поверхности обладали заметно большей способностью к связыванию белка, чем поверхности, синтезированные в тех же условиях, но без темплатного миоглобина (поверхности немоллекулярно импринтированного полимера, НИП поверхности): фактор импринтинга $I_{max}(МИП)/I_{max}(НИП)$ составил 2÷4. Равновесная константа диссоциации K_d для процесса взаимодействия миоглобина с МИП электродами составила $(2,4 \pm 0,5) \times 10^{-8}$ М. Нижний предел обнаружения миоглобина МИП-сенсором составил $0,5 \times 10^{-9}$ М, диапазон определяемых концентраций $10^{-9} \div 10^{-5}$ М.

Исследование поддержано Министерством науки и образования Российской Федерации в рамках соглашения № 14.576.21.0045 (уникальный идентификатор RFMEFI57614X0045).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАРКЕРОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА-ПРЕДШЕСТВЕННИКА ОПАСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МЕТОДОМ ВЭЖХ

Яшин Я.И., Веденин А.Н., Яшин А.Я.

ООО «ИНТЕРЛАБ», Москва, Россия

yashin@interlab.ru

Окислительный (оксидантный) стресс имеет место при повышенных содержаниях в организме человека реакционных кислородных и азотных соединений, в т.ч. свободных радикалов. Состояние такого стресса можно достоверно установить по определению в биологических жидкостях человека специальных маркеров, появляющихся в результате воздействия на молекулы ДНК, белков, липидов и углеводов реакционных соединений и свободных радикалов. Окислительный стресс предшествует или сопутствует многим болезням – сердечнососудистым, онкологическим, сахарному диабету, нарушениям мозгового кровообращения, воспалительным, ревматоидным, нейродегенеративным (Паркинсона, Альцгеймера и др.). Многие теории старения также основаны на свободнорадикальном окислении.

Исключительно важно диагностировать начало развития окислительного стресса, пока он не перерос в серьезное заболевание. В настоящее время лучше всего это определять методом ВЭЖХ. Нами на базе прибора «МАЭСТРО – ВЭЖХ» разработан хроматографический комплекс с тремя детекторами (амперометрическим, фотометрическим на семи длинах волн в диапазоне 240-2500 нм и флуориметрическим на трех длинах волн), с изократическим и градиентным насосами. Комплекс позволяет без концентрирования определять в биологических жидкостях (сыворотка крови, моча, слюна, конденсат выдыхаемого воздуха) основные маркеры окислительного стресса на уровне нано – пико граммов. На комплексе отработаны методики определения наиболее представительных маркеров: 3-хлортирозина, 3-нитротирозина, малонового диальдегида, 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина, цистеина, глутатиона. На этом же комплексе можно определять окислительно-восстановительный баланс биологических жидкостей по отношениям восстановленных и окисленных форм глутатиона (GSH-GSSG), цистеина к цистину, убихинола к убихинону, мочевой кислоты, аскорбиновой кислоты и др. Этот показатель характеризует общее состояние здоровья человека, т.к. практически нет болезней, при которых бы не нарушалось окислительно-восстановительное равновесие.

Массовое внедрение этого комплекса позволит выявлять опасные болезни на самой ранней стадии и, используя антиоксидантную терапию, не допустить дальнейшего развития болезней. Это позволит значительно сократить затраты на лечение, увеличить продолжительность жизни и снизить смертность населения Российской Федерации.

Обследования на предмет раннего выявления окислительного стресса могут быть организованы в больницах и диагностических центрах, но и в других оздоровительных учреждениях: санаториях, профилакториях, домах отдыха. Стоимость таких обследований будет доступна большинству населения.

Выявление окислительного стресса – предшественника болезней – и его устранение можно отнести к новой профилактической медицине.

СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ

НОВЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУЛЬФАТ-ИОНА В ВОДАХ

Арабова З.М.¹, Симаккина Я.И.¹, Арабов М.Ш.², Корсакова Н.В.¹, Кригман Л.В.¹, Дедков Ю.М.¹¹Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, Москва, Россия²Астраханский государственный технический университет, Астрахань, Россия

j13021936@gmail.com

Анализ уровня загрязненности окружающей среды – одно из важнейших направлений в экологических исследованиях. Одним из основных минералообразующих и биофильных элементов, имеющих большое хозяйственное и экологическое значение, является сера.

Распределение её кислородных соединений в приземной тропосфере и верхней стратосфере определяет региональное закисление водоемов, пагубное для биоса, а также образование высоких облаков, влияющих на глобальное изменение климата.

Серосодержащие анионы изменяют качественный состав компонентов биогеоценоза, преобразуют их структуру, нарушают нормальное функционирование и в конечном счете вызывает деградацию биогеоценоза. В этой связи особый интерес представляет оценка количества реперного иона SO_4^{2-} .

Вследствие доступности оборудования и реактивной базы в случае аналитической химии иона SO_4^{2-} одни из важнейших мест занимают титриметрический метод (ТМ) *определения средних содержаний* и спектрофотометрический метод (СФМ) *определения малых содержаний иона SO_4^{2-}* с использованием органических реагентов.

Целью работы было усовершенствование и внедрение в практику санитарно-гигиенического анализа новых экспрессных ТМ и СФМ методик определения иона SO_4^{2-} в природных объектах.

В работе на основании литературных данных выявили наиболее перспективную группу металлоиндикаторов для определения иона SO_4^{2-} – органиловые, доказали, что оптимальный по нашим данным является реагент этой группы сульфатон, сформулировали оптимальные условия выполнения реакций с ним, определили спектрофотометрические характеристики цветной реакции и разработали с ним методики ТМ и СФМ определения иона SO_4^{2-} ,

Влияние посторонних ионов на реакцию иона бария с сульфатом (соотношение бария к реагенту 1:1), характеризовали фактором селективности – предельно допустимым массовым отношением «элемент – сульфат-ион», при котором изменение результатов определения сульфат-иона было $\leq 10\%$. Полученные данные приведены в табл. 1.

Таблица 1. Влияние катионов и анионов на определение сульфат-иона в присутствии и отсутствии (в скобках) маскирующих веществ (факторы селективности)

	Маскирующий агент	Органиловый К	Сульфатон	Карбоксарсеназо	Нитхромазо
SO_3^{2-}	Параформ	10 (0,1)	10 (0,1)	5 (0,1)	5 (0,1)
NH_4^+	Параформ	400 (150)	300 (150)	50 (20)	50 (10)
Ca^{2+}	ЭДТА	20 (10)	15 (10)	10 (5)	5 (5)
Fe^{2+}	ЭДТА	10 (1)	10 (0,5)	5 (0,3)	5 (0,3)
Fe^{3+}	ЭДТА	5 (0,5)	3 (0,3)	1,5 (0,1)	1 (0,1)
Al^{3+}	ЭДТА	20 (0,5)	10 (0,2)	5 (0,1)	5 (0,3)

Методика СФМ определения иона SO_4^{2-} с помощью реагента сульфатон, основана на разрушении синего комплекса барий – сульфатон действием иона SO_4^{2-} (окраска раствора реагента малиновая).

При проведении реакции при рН 2 и фотометрировании растворов в течение 30 мин, избирательность анализа повышается: определению не мешают 1000-кратные количества фосфат-иона. С целью повышения избирательности определения иона SO_4^{2-} в условиях было дополнительно исследовано влияние. В присутствии тиомочевины, аскорбиновой кислоты и ЭДТА, реакция иона SO_4^{2-} с комплексом бария становится селективной относительно Fe(III, II), Cu(II), Zn(II) и т.п., что дает возможность выполнять анализ без предварительного отделения этих элементов.

С этим реагентом анализировались питьевые воды ряда иностранных посольств в г. Москва, а также был проведен мониторинг водных объектов и почв Астраханской области. Приводятся результаты анализа.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БОРНОЙ КИСЛОТЫ В ВОДАХ

Арапова З.М.¹, Симакина Я.И.¹, Казакова Т.А.², Корсакова Н.В.¹, Кригман Л.В.¹, Дедков Ю.М.¹

¹Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, Москва, Россия

²ООО «Ферон», Москва, Россия

j13021936@gmail.com

Потребность в боре для народного хозяйства России непрерывно возрастает. Бор и его соединения используются, в частности, в сельском хозяйстве, бытовой химии, фармацевтике и др. Широкое использование бора ведёт к его накоплению в окружающей среде (ОС) и организмах, с другой – к недостатку его, например, в почвах. Недостаточное содержание бора приводит к потере урожайности, при избытке же его в ОС возникает потенциальная угроза для животных (ПДК бора в питьевой воде в странах ЕС 0,1 мг/л, в России – 0,5 мг/л, в пресных водоемах рыбохозяйственного значения – 0,017 мг/л; в пищевых продуктах 0,5 мг/кг). Требуется строгий контроль за содержанием бора в водах и почвах.

Для определения бора в водах различной истории и целевого назначения на уровне ПДК необходимы достаточно чувствительные методики. Инструментальные методы требуют дорогостоящего оборудования, наличия высококвалифицированного персонала, дорогих расходных материалов. До сих пор основными остаются спектрофотометрические методы (СФМ) с применением органических реагентов (ОР).

Среди ОР для СФМ определения бора в форме H_3BO_3 наиболее часто применяют азосоединение на основе АШ-кислоты бериллон III. Но для развития цветных реакций при 25°C необходимо не менее 12 – 18 час. К тому же, чувствительность и селективность известных методик определения H_3BO_3 не всегда достаточна.

В настоящей работе экспрессность реакций повышена активацией H_3BO_3 в цветных реакциях с реагентом бериллон III введением в систему диольных соединений – сорбита или глицерина, чувствительность и селективность – применением экстракционно-фотометрического варианта методики.

В качестве маскирующей выбрали смесь 200 мг ЭДТА + 40 мг аскорбиновой кислоты на 25 мл конечного раствора.

Новые методики позволяют определять H_3BO_3 в диапазонах 0,008 – 0,8 мг/л (модифицированная СФМ в присутствии сорбита), 0,004 – 0,8 мг/л (экстракционно-спектрофотометрическая методика, ЭСМ).

Селективность методик характеризовали «факторами селективности» – допустимым массовым отношением посторонний – ион, при котором неопределенность определения < 10 %. Полученные значения ФС для предлагаемых методик показаны в табл. 1.

Таблица 1. Селективность реакции бериллона III с H_3BO_3 в присутствии маскирующих агентов в случае Ф-Гл-методики и ЭФ-методики

Ион	ПДК, мг/мл	ФС в случае модифицированной СФМ -методики	ФС в случае ЭФ-методики
Al ³⁺	0,0002	10	500
Fe ³⁺	0,5	10	500
Cu ²⁺	0,3	50	100
Cr ³⁺	0,3	1000	1000
V(V)	1	500	500
Ti ⁴⁺	0,5	115	115

Таблица 2. Результаты фотометрического и экстракционно-фотометрического определения H_3BO_3 в минеральных водах бериллоном III (n=5; P=0,95)

Образец воды, метод определения	Введено, мг/л	Найдено, мг/л	s_r	Метод сравнения (АЭС-ИСП)
«Эссендуки №4», (ЭФ)	0	7,22±0,02	0,01	7,20±0,02
	5,0	12,22±0,02	0,01	
«Эссендуки №17», (Ф)	0	7,20±0,03	0,02	7,23±0,04
	5,0	12,20±0,04	0,01	

«Новотерская целебная», (ЭФ)	0	0,83±0,03	0,03	0,82±0,04
	0,2	1,03±0,04	0,03	
«Липецкий бювет», (Ф)	0	0,055±0,020	0,03	0,055±0,003
	0,2	0,255±0,030	0,05	
«Stelmas», (Ф)	0	0,322±0,003	0,002	0,322±0,003
	0,2	0,522±0,020	0,07	
«Родники России», (Ф)	0	0,078±0,030	0,02	0,078±0,003
	0,2	0,278±0,040	0,05	
Водохранилище р. Уча (ЭФ)	0	0,046±0,01	0,02	0,046±0,002
	0,5	0,546±0,03	0,05	
	1	1,064±0,04	0,06	
р.Уча (ЭФ)	0	0,060±0,01	0,02	0,060±0,003
	0,5	0,560±0,02	0,03	
	1	1,060±0,06	0,05	
р. Скамба (Ф)	0	0,022±0,002	0,002	0,022±0,002
	0,5	0,522±0,03	0,04	
	1	1,022±0,03	0,05	
р. Яуза (Ф)	0	0,047±0,07	0,02	0,047±0,002
	0,5	0,547±0,04	0,05	
	1	1,047±0,05	0,07	

ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ТИТАНА И ЦИРКОНИЯ В ОРГАНАХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ

Айсувакова О.П., Скальный А.А., Тиньков А.А., Медведева Ю.С., Алчинова И.Б., Карганов М.Ю.,
Никоноров А.А., Скальный А.В.

Оренбургский государственный педагогический университет, Оренбург, Россия

Институт токсикологии ФМБА, Санкт-Петербург, Россия

Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург, Россия

НИИ Общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия

Вопросам использования соединений титана в медицине в настоящее время уделяется особое внимание. Если проблема взаимодействия титана с биологическими молекулами и его кинетика в организме исследована недостаточно, то поведение циркония – ближайшего аналога титана по свойствам и по положению в периодической системе химических элементов – практически не изучено. Целью настоящего исследования явилось определение характера распределения титана и циркония при их алиментарном поступлении в организм лабораторных животных. Исследование проведено на 36 лабораторных животных, содержащихся на рационе с содержанием титана $15,33 \pm 0,56$ мкг/г и циркония $1,2 \pm 0,2$ мкг/г в течение 1 месяца. Определение содержания титана и циркония в тканях животных осуществлялось методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой на приборе NexION 300D (PerkinElmer) после микроволнового разложения образцов в концентрированной азотной кислоте. Калибровка прибора осуществлялась с помощью стандартных растворов металлов с концентрацией 0,5, 5, 10 и 50 мкг/л. Статистический анализ полученных данных включал определение медианы, 25 и 75 перцентилей, а также проведение U-теста Манна-Уитни для погруппового сравнения. Установлено, что содержание титана в печени, почках, миокарде, скелетной мышце и шерсти животных составляет $0,227(0,144-0,834)$, $0,168(0,122-0,265)$, $0,081(0,066-0,174)$, $0,149(0,084-0,294)$ и $0,440(0,350-0,588)$ мкг/г, соответственно. При этом уровень циркония в соответствующих тканях был определен как $0,004(0,002-0,013)$, $0,006(0,002-0,011)$, $0,002(0,001-0,005)$, $0,004(0,003-0,009)$ и $0,021(0,015-0,033)$ мкг/г. Сыво-

роточная концентрация титана и циркония была установлена как 0,006(0,005-0,009) и 0,00007(0,00005-0,00011) мкг/л, соответственно. Таким образом, содержание титана убывает в следующем ряду: шерсть >печень> почка> мышца> миокард> сыворотка, а циркония: шерсть > печень = почка = мышца > миокард > сыворотка. Существенная разница в содержании металлов в организме, вероятно, обусловлена их распространенностью в земной коре. Титан наряду с железом – наиболее распространённые элементы земной коры среди металлов d-семейства, в то время как цирконий относят к группе редких элементов. Корреляционный анализ выявил достоверную взаимосвязь между уровнем титана и циркония в печени ($r=0,569$; $p<0,001$), миокарде ($r=0,784$; $p<0,001$), скелетной мышце ($r=0,555$; $p<0,001$), сыворотке ($r=0,463$; $p=0,004$) и шерсти животных ($r=0,346$; $p=0,039$). В то же время, содержание металлов в паренхиме почек не было взаимосвязано. Также было установлено, что сывороточная концентрация титана коррелирует с его уровнем в печени ($r=0,379$; $p=0,023$) и миокарде ($r=0,350$; $p=0,037$), в то время как содержание Тiв шерсти взаимосвязано с концентрацией металла в сердечной ($r=0,661$; $p<0,001$) и скелетной мышцах ($r=0,520$; $p=0,001$). При этом что уровень циркония в различных тканях не был достоверно взаимосвязан. Концентрирование ионов данных металлов в органах и тканях, вероятно, объясняется образованием устойчивых комплексов с биолигандами. Большинство стабилизирующих Ti(IV) и Zr(IV) в водных растворах лигандов (оксисоединения, аминокислоты и полипептиды)содержат донорные атомы кислорода (жесткие основания). Эти полидентатные соединения могут хелатировать центральный ион металла посредством карбоксильной, гидроксильной, фенольной или амино-группы. Центральный ион координируясь с би(поли)дентатной группировкой образует очень устойчивый пятичленный цикл. При этом корреляция между уровнем металлов в тканях может быть объяснена исходя из сходства их химических свойств. Таким образом, результаты проведенного исследования характеризуют распределение титана и циркония в организме животных, а также демонстрируют возможность использования сыворотки и шерсти для оценки баланса титана в организме.

НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ (ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ БИОМАРКЕРЫ РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ) В КОНДЕНСАТЕ ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА ПАЦИЕНТОВ

Андрянов А.В., Пантелеев А.А., Ревельский И.А.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

andriyanov@youngscience.ru

Отбор и анализ образцов конденсата выдыхаемого воздуха человека (КВВ) – один из путей к неинвазивной диагностике заболеваний. На сегодняшний день существуют стандартизованные методики отбора образцов КВВ с применением соответствующего серийного оборудования, но информация о химическом составе образцов, позволяющем выделить потенциальные биомаркеры различных заболеваний, пока что не является полной.

Отражением особенностей биохимических процессов в организме человека являются и низкомолекулярные органические соединения. Одним из методов их эффективного покомпонентного обнаружения в образцах (в том числе и в виде продуктов дериватизации) является метод газовой хроматографии/масс-спектрометрии (ГХ/МС).

В качестве предварительных результатов анализа образцов КВВ пациентов с диагнозом рак прямой кишки (РПК) методом ГХ/МС предложены данные, полученные в условиях ацилирования (непосредственно в аликвоте образца с последующей жидкость-жидкостной экстракцией органическим растворителем) и силилирования этих образцов. В образцах КВВ пациентов обнаружено в 5 раз больше низкомолекулярных органических соединений по сравнению с образцами здоровых доноров. Часть этих соединений идентифицирована (ряд жирных, дикарбоновых и аминокислот) и оптимизированы условия их обнаружения в образцах.

СИНТЕЗ И ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ МИКРОКАПСУЛ

Бакал А.А., Николаева А.Н., Вострикова А.М. Горячева И.Ю.

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

vostrikova2401@bk.ru

Одним их перспективных направлений в формировании носителей на микроуровне, является создание мультислойных контейнеров. Данные контейнеры позволяют реализовать инкапсуляцию различных материалов внутри их объема, расширяет их перспективы применения в качестве систем адресной доставки лекарственных веществ, микросенсоров, антикоррозионных покрытий и т.д.

Свойства оболочки микрокапсул и высвобождение инкапсулированного вещества зависят от ряда факторов: состава полиэлектролитной оболочки, толщины и количества полиэлектролитных слоев, их пори-

стости, химического состава и др. Проницаемостью полиэлектролитных капсул можно управлять за счет изменения их внутреннего объема, изменения pH, ионной силы, температуры, полярности растворителя и других физико-химических параметров. Включение веществ различной химической природы в состав полиэлектролитной оболочки позволяет создавать капсулы с определенными магнитными, оптическими, электропроводящими свойствами. Визуальные метки в составе микрокапсул открывают возможность изучения их стабильности. В этом плане определенный интерес представляют люминесцентные полупроводниковые нанокристаллы (квантовые точки, КТ), характеризующиеся уникальными свойствами: широкими спектрами поглощения, узкими и симметричными полосами в спектрах люминесценции, высокой яркостью свечения и высокой фотостабильностью.

Целью исследования является изучение проницаемости нанокомпозитных микрокапсул при влиянии ионной силы и pH среды. Объекты исследования: полиэлектролитные комплексы с включенными люминесцентными полупроводниковыми нанокристаллами в разные области микрореактора.

При синтезе нанокомпозитных микрокапсул возможно включать более одного цвета свечения КТ. В качестве полиэлектролитов использовали анионный поли(стиролсульфонат) натрия (ПСС) и катионный поли(аллиламин гидрохлорид) (ПАА). Размер синтезированных капсул определяется исходным размером коллоидных частиц, используемых в качестве ядер, и может лежать в интервале от нескольких десятков нанометров до десятков микрометров.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект 14-13-00229).

ВАРИАЦИИ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ СЛЮНЫ В НОРМЕ

Бельская Л.В., Сарф Е.А.

ООО «ХимСервис», Омск, Россия

LudaB2005@mail.ru

В последнее время возросло внимание исследователей к изучению свойств слюны человека, как материала с уникальными свойствами и диагностическими возможностями. К числу наиболее диагностически важных параметров можно отнести активность ферментов слюны. Однако основной проблемой при использовании слюны в качестве биосубстрата в клинической лабораторной диагностике остается вариабельность значений ее параметров даже у одного человека, а, следовательно, достаточно условные критерии нормы и патологии. Целью настоящего исследования являлось изучение суточных вариаций ферментативной активности слюны человека.

Пробы слюны отбирали в утренние часы (время максимальной секреции) в течение 10 минут, после чего центрифугировали при 3000 об/мин. Для каждой пробы по стандартным методикам определяли активность ферментов щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), амилазы (АМ), каталазы (КАТ) и аминокотрансферазы (АлАТ, АсАТ). Статистическая обработка проводилась с использованием пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft).

В эксперименте принимали участие 15 добровольцев (возраст 20.2 ± 1.3 года). Ранее было показано, что половая принадлежность не оказывает значительного влияния на состав слюны человека, поэтому при дальнейшем исследовании в группы были включены добровольцы обоих полов. Было проведено исследование воспроизводимости состава слюны человека при заборе образцов у одного и того же человека в течение недели с интервалом в 24 часа (табл.1).

Таблица 1. Ферментативная активность слюны в норме (на примере 1 добровольца)

Параметр, Е/л	1 день	2 день	3 день	4 день	...	7 день	Среднее
Щелочная фосфатаза	18.5	17.8	21.3	21.1	...	21.7	20.7±0.9
Каталаза, ·10 ⁵	2.05	2.30	2.18	2.02	...	2.25	2.52±0.18
Лактатдегидрогеназа	347.7	303.4	371.9	365.4	...	316.6	334.3±5.2
Амилаза	78.6	91.6	102.1	90.9	...	77.3	89.1±6.1
АсАТ/АлАТ	2.16	2.01	2.15	2.18	...	2.09	2.03±0.09

Как видно из приведенных данных, наблюдаются колебания активности ферментов, однако статистически достоверных отличий между полученными значениями установить не удалось. После обработки данных по всем добровольцам можно вывести «нормальные» значения ферментативной активности для возраста 20–22 года (табл.2).

Таблица 2. Ферментативная активность слюны в норме

№	ЩФ, Е/л	КАТ, · 10 ⁵ Е/л	ЛДГ, Е/л	АМ, Е/л	АсАТ/АлАТ
1	18.2±0.5	2.75±0.42	401.2±8.7	100.3±12.1	1.98±0.11
2	20.7±0.9	2.52±0.18	334.3±5.2	89.1±6.1	2.03±0.09
3	20.3±0.4	2.58±0.32	393.4±9.1	78.2±7.2	1.84±0.08
...
Среднее (t=1.96, n=47)	19.8±0.7	2.62±0.21	384.2±5.3	94.2±5.8	1.95±0.12

Таким образом, в ходе проведенных исследований показано, что вариабельность суточных колебаний ферментативной активности не превышает статистически значимой погрешности эксперимента, что позволяет использовать полученные значения в качестве критериев нормы в клинической лабораторной диагностике при применении слюны в качестве биосубстрата.

БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ СЛЮНЫ ЧЕЛОВЕКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РЕГИОНА ПРОЖИВАНИЯ

Бельская Л.В., Сарф Е.А.
ООО «ХимСервис», Омск, Россия
LudaB2005@mail.ru

Исследование слюны по многим клинико-биохимическим показателям имеет преимущества по сравнению с рутинными методами лабораторной диагностики с использованием крови. Зависимость биохимического состава от региона проживания до настоящего времени широко не обсуждалась. Цель исследования – изучить региональные особенности биохимического состава слюны.

Пробы слюны отбирали в утренние часы (время максимальной секреции) в течение 10 минут, после чего центрифугировали при 10 000 об/мин. Для каждой пробы по стандартным методикам определяли следующие показатели: рН, концентрацию ионов кальция, фосфора, хлоридов.

В эксперименте принимали участие 50 добровольцев, студенты 1-го курса Омской государственной медицинской академии (возраст 18.71±0.62 лет), проживающие последние 5 лет на территории г. Омска, г. Курган, р. Казахстан и ХМАО (Ханты-Мансийск, Нижневартовск, Сургут, Лангепас). Количество образцов, принадлежащих каждой региональной группе, составило 17.9, 39.3, 10.7 и 32.1 % соответственно.

В качестве исследуемых параметров были выбраны показатели минерального обмена, а именно: концентрация ионов кальция, неорганического фосфора и хлоридов (табл.1). Кальцию принадлежит важная роль в осуществлении процессов жизнедеятельности: он влияет на проницаемость биологических мембран, участвует в нервно-мышечной проводимости, формировании костей и хряща, воздействует на обмен веществ в клетках, секрецию гормонов, биологически активных веществ, является важным фактором свертывания крови. Неорганический фосфор представляет собой один из компонентов кислоторастворимой фракции фосфора, включающей в себя также пиррофосфаты (АТФ, АДФ и др.), гексозо-, глицерофосфаты и т.д. Ионы хлора являются наиболее важными осмотически активными ионами плазмы крови, лимфы, спинномозговой жидкости, клеточного содержимого.

Таблица 1. Показатели минерального обмена в зависимости от региона проживания

Параметр	р. Казахстан	г. Курган	г. Омск	ХМАО
рН	6,56±0,14	6,73±0,33*	6,10±0,07**	6,63±0,16
Кальций, ммоль/л	0,92±0,06**	1,41±0,14	1,54±0,36*	0,95±0,23
Фосфор, ммоль/л	4,73±0,42	4,76±0,86	6,85±1,01*	3,86±0,71**
Хлориды, ммоль/л	18,60±1,91**	24,47±3,31	25,68±1,94*	24,32±2,36
Са/Р	0,195±0,014**	0,296±0,016*	0,224±0,036	0,246±0,032

* – максимальное значение, ** – минимальное значение

Как видно из приведенных данных (табл.1), минеральный состав слюны существенно варьирует в зависимости от региона проживания добровольцев, наблюдаются локальные минимумы и максимумы значений изучаемых показателей. Для диагностики различных патологических состояний важное значение имеет установление количественного соотношения между содержанием кальция и неорганического фосфора. Показано (табл.1), что данное соотношение также существенно отличается в региональных пределах, причем отличия между группами статистически достоверны. Таким образом, на примере выбранных параметров показано, что существует однозначная зависимость биохимического состава слюны и региона проживания, что необходимо учитывать при формировании критериев нормы и патологии.

РАЗРАБОТКА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ АНТИГЕНОВ *HELICOBACTER PYLORI*

Бызова Н.А.¹, Жердев А.В.¹, Свешников П.Г.², Садыхов Э.Г.¹, Дзантиев Б.Б.¹

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

²Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения, Москва, Россия
nbyzova@inbi.ras.ru

Бактерия *Helicobacter pylori* является одним из основных патогенов, вызывающих заболевания желудочно-кишечного тракта. Поэтому в медицинской диагностике крайне востребованы средства быстрого и достоверного выявления антигенов *H. pylori* в биопробах. Для экспрессного внелабораторного тестирования оптимальным решением является применение иммунохроматографических тест-систем, не требующих при использовании дополнительного оборудования и реактивов и позволяющих быстро получать визуально контролируемые результаты тестирования. Проведенные работы были направлены на создание иммунохроматографической тест-системы для экспрессной детекции антигенов *H. pylori*.

Детекция реализована в «сэндвич»-формате иммунохроматографии, основанном на формировании комплексов (иммобилизованное антитело) – (антиген в пробе) – (комплекс антител с частицей коллоидного золота). В соответствии с этим были проведены работы по получению и характеристике реагентов, а также выбору условий проведения иммунохроматографии. Получены препараты коллоидного золота со средним диаметром частиц (по данным просвечивающей электронной микроскопии) 34 нм и их конъюгатов с моноклональными антителами против белковых антигенов клеточной стенки *H. pylori*. Сопоставлена антигенсвязывающая способность конъюгатов разного состава; показана оптимальность использования препарата с мольным отношением антитело : наночастица при синтезе 160:1. Охарактеризованы процессы формирования детектируемых комплексов в ходе иммунохроматографии с использованием различных мембранных носителей. Установлены условия нанесения иммунореагентов на мембраны и их концентрации, обеспечивающие минимальный предел обнаружения. Определены режимы стабилизации иммобилизованных реагентов, показана неизменность характеристик тест-системы при хранении в течение не менее 12 месяцев.

Предложен режим пробоподготовки, определен состав среды для гомогенизации проб кала. При апробации изготовленных тест-систем показана возможность за 10 мин детектировать антигены *H. pylori* в диапазоне концентраций от 20 до 0.3 мкг/мл. Усиление окрашивания при добавлении солей серебра позволяет снизить предел обнаружения до 0.03 мкг/мл. Экспрессность и методическая простота детекции антигенов *H. pylori* с использованием разработанной тест-системы позволяют рассматривать ее как эффективную альтернативу существующим медико-диагностическим методам.

Исследования проведены при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 14-14-01131).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ТЕРПИНЕОЛА И СОСНОВОГО МАСЛА ДЛЯ ЭКСТРАКЦИИ И ОТДУШКИ КОЛЛАГЕНА

Валетова Н.Б., Кузнецова Ю.Л., Таранкова О.А., Гераськина Е.В., Новоселов А.С.,
Кулешова Н.В., Смирнов В.Ф., Семенычева Л.Л.

Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского, Нижний Новгород, Россия
nata-bor-2005@mail.ru

В последнее время коллаген находит широкое применение в косметологии, медицине, производстве функциональных продуктов питания. При выборе методики выделения коллагенового компонента из различных видов сырья важными являются такие параметры, как устойчивость продукта, безопасность, органолептические свойства. Коллаген, химической основой которого являются аминокислоты, имеет неприятный запах. Известно, что α -терпинеол и

сосновое масло (на 80 % состоит из α -терпинеола), являющиеся продуктами глубокой переработки скипидара, используются в качестве отдушек для мыл, дезинфектантов и синтетических моющих средств.

Целью исследования является применение α -терпинеола и соснового масла для подавления запаха коллагеновой субстанции, в сочетании с уксусной кислотой (УК) – в качестве экстрагентов при получении рыбного коллагена, консервантов при хранении, а также проведение оценки их биологической активности.

Коллаген выделяли из кожи форели, используя в качестве экстрагентов растворы УК, а также растворы α -терпинеола или соснового масла в сочетании с УК, α -терпинеол. Для оценки биологической активности использовали метод бумажных дисков. Запах коллагеновой субстанции определяли органолептически.

Массовая доля коллагена составляет ~ 5% независимо от состава экстрагирующего раствора. Значения среднечисленной молекулярной массы (ММ) коллагена ~ 170-190 кДа, коэффициент полидисперсности ~ 1.1. Хроматограммы растворов коллагена унимодальны, что характеризует однородность коллагена по ММ. Замена раствора УК раствором смеси УК с α -терпинеолом или сосновым маслом не приводит к уменьшению концентрации выделенного коллагена и к разрушению макромолекул. Анализ результатов показал, что терпинеол и сосновое масло проявляют фунгицидный и бактерицидный эффект к отдельным видам микроорганизмов – наиболее активным деструкторам промышленных материалов, а также являющихся условно-патогенными, способными вызывать заболевания человека и животных.

Установлено, что водные растворы α -терпинеола и соснового масла в сочетании с УК, как и растворы УК, эффективны при экстракции рыбного коллагена из шкур рыб. Показано, что молекулярно-массовые характеристики коллагена идентичны в случае выделения раствором УК или его смеси с α -терпинеолом и сосновым маслом. Выявлено подавление запаха коллагеновой субстанции как при введении α -терпинеола и соснового масла при экстракции, так и в готовую коллагеновую субстанцию. Установлено, что благодаря биоцидной активности α -терпинеол и сосновое масло в сочетании с УК предотвращают микробную деструкцию коллагеновой субстанции в условиях хранения.

Работа выполнена в ННГУ им. Н.И. Лобачевского при поддержке Министерства образования и науки РФ (задание №2014/134, соглашение от 27 августа 2013г. № 02.В.49.21.0003) с использованием оборудования ЦКП “Новые материалы и ресурсосберегающие технологии” (проект RFMEFI59414X0005).

ВЛИЯНИЕ ИОННОЙ СИЛЫ И pH СРЕДЫ НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ МИКРОКАПСУЛ

Вострикова А.М., Викторова К.И., Горячева И.Ю.

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия
vostrikova2401@bk.ru

Одним из перспективных направлений в формировании носителей на микроуровне, является создание мультислойных контейнеров. Данные контейнеры позволяют реализовать инкапсуляцию различных материалов внутри их объема, расширяет их перспективы применения в качестве систем адресной доставки лекарственных веществ, микросенсоров, антикоррозионных покрытий и т.д.

Свойства оболочки микрокапсул и высвобождение инкапсулированного вещества зависят от ряда факторов: состава полиэлектролитной оболочки, толщины и количества полиэлектролитных слоев, их пористости, химического состава и др. Проницаемостью полиэлектролитных капсул можно управлять за счет изменения их внутреннего объема, изменения pH, ионной силы, температуры, полярности растворителя и других физико-химических параметров. Включение веществ различной химической природы в состав полиэлектролитной оболочки позволяет создавать капсулы с определенными магнитными, оптическими, электропроводящими свойствами. Визуальные метки в составе микрокапсул открывают возможность изучения их стабильности. В этом плане определенный интерес представляют люминесцентные полупроводниковые нанокристаллы (квантовые точки, КТ), характеризующиеся уникальными свойствами: широкими спектрами поглощения, узкими и симметричными полосами в спектрах люминесценции, высокой яркостью свечения и высокой фотостабильностью.

Целью исследования является изучение проницаемости нанокомпозитных микрокапсул при влиянии ионной силы и pH среды..., содержащих. Объекты исследования: полиэлектролитные комплексы с включенными люминесцентными полупроводниковыми нанокристаллами в разные области микрореактора.

При синтезе нанокомпозитных микрокапсул возможно включать более одного цвета свечения КТ. В качестве полиэлектролитов использовали анионный поли(стиролсульфонат) натрия (ПСС) и катионный поли(аллиламин гидрохлорид) (ПАА). Размер синтезированных капсул определяется исходным размером коллоидных частиц, используемых в качестве ядер, и может лежать в интервале от нескольких десятков нанометров до десятков микрометров.

Исследовано влияние pH и ионной силы раствора на стабильность нанокомпозитных микрокапсул на основе детектирования люминесценции квантовых точек.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект 14-13-00229).

**ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКИХ РАСТВОРОВ
ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМПЛЕКСОВ МЕТАЛЛОВ**

Газизуллина Е.Р., Герасимова Е.Л., Свалова Т.С., Матерн А.И., Иванова А.В.
Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина,
Екатеринбург, Россия
a.v.ivanova@urfu.ru

Свободнорадикальное повреждение клеток сопровождается большим количеством заболеваний, в т.ч. заболевания глаз, среди которых особое значение уделяется катаракте. В хрусталике глаза, поврежденные свободными радикалами белки, аминокислоты, нуклеиновые кислоты и углеводы образуют нерастворимые агрегаты большой молекулярной массы и размера, которые и являются причиной помутнения хрусталика. Одним из эффективных способов лечения и профилактики катаракты является использование офтальмологических растворов с антиоксидантным действием.

В данной работе предложен потенциометрический метод исследования антиоксидантной активности (АОА) офтальмологических растворов, основанный на использовании окисленной формы металла в составе комплексного соединения в качестве модели окислителя¹. Измерение потенциала проводится после прохождения химической реакции между антиоксидантами исследуемого образца и окислителем (E_1), и последующей добавки окислителя (E_2). Типичная кривая изменения потенциала от времени приведена на рисунке 1.

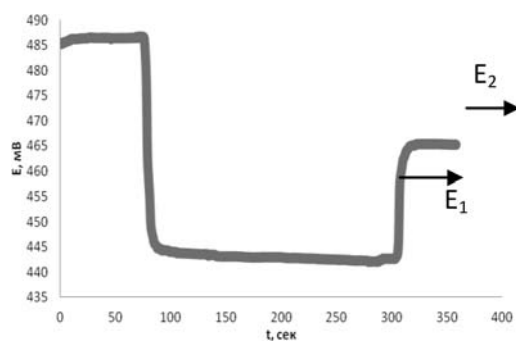


Рисунок 1. Зависимость потенциала от времени при добавлении к окислителю исследуемого образца (E_1) и добавку окислителя (E_2).

Предложенным методом были исследованы наиболее часто применяемые при лечении катаракты офтальмологические растворы: Офтан Катахром, Квинакс, Эмоксипин. АОА исследуемых препаратов составила от $1,00 \cdot 10^{-5}$ до $7,5 \cdot 10^{-4}$ М-экв. Достоверность полученных результатов была подтверждена спектрофотометрическим методом на модели стабильного радикала ДФПГ. Коэффициент корреляции составил 0,94. Таким образом, предложенный метод может быть успешно использован для определения АОА офтальмологических растворов и других лекарственных препаратов.

1. Патент РФ № 2532406 «Способ потенциометрического определения антиоксидантной/окислительной активности с использованием комплексов металлов». Дата приоритета 22.03.2013. Дата выдачи 05.09.2014.

**КОНТРОЛЬ ИСТОЧНИКА ЦЕНТРАЛИЗОВАННОГО ВОДОСНАБЖЕНИЯ НАСЕЛЕНИЯ
НА СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

Горюнова А.Г.¹, Бабкина С.С.²

¹Рублевское отделение Центра контроля качества воды АО «Мосводоканал», Москва, Россия

²Московский государственный машиностроительный университет (МАМИ), Москва, Россия
alggor@mail.ru

Проблема химического загрязнения окружающей среды и ее влияние на здоровье населения на сегодняшний день остается чрезвычайно актуальной и требует новых научно обоснованных подходов к ее решению [1].

Наибольшую опасность с точки зрения биологической активности и токсичности представляют металлы, которые наиболее широко и в значительных объемах используются в производственной деятельности человека. К ним относятся свинец, ртуть, кадмий, мышьяк, цинк, висмут, кобальт, никель, медь, олово, сурьма, ванадий, марганец, хром, молибден. Масштабы производства и применения тяжелых металлов, их высокая токсичность, способность накапливаться в организме человека, оказывать вредное влияние даже в сравнительно низких концентрациях или дозах определяют статус этих химических загрязнений как веществ, вызывающих так называемые экологически обусловленные заболевания [2].

Вода – главное и наиболее распространенное химическое соединение на нашей планете – обязательный компонент всех живых организмов (составляющий до 99% их массы), главный компонент среды их пребывания, а также большинства продуктов питания [3]. Поэтому разработка новых экспрессных и экономичных методов количественного определения тяжелых металлов в воде актуальна и практически значима.

Целью данного исследования является разработка нового экономичного и экспрессного метода мониторинга воды на содержание молибдена, меди, цинка, и никеля по результатам анализа других основных показателей качества воды, например, водородному показателю pH, мутности, цветности и т.д.

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи: проведено сезонное исследование изменений основных показателей качества воды; изучены годовые изменения основных показателей качества воды с целью оценки устойчивости данных параметров; на основании выявленных закономерностей установлено наличие корреляции между этими параметрами и содержанием молибдена, меди, цинка, никеля в природной воде; установлена возможность использования найденной корреляции для оценки содержания молибдена, меди, цинка, никеля в природной в воде; разработан новый метод экомониторинга воды на содержание молибдена, меди, цинка, никеля в воде.

Литература

1. Белецкая Э.Н., Онул Н.М. Комбинированное действие свинца и цинка на эмбриональное развитие лабораторных крыс. Гигиена и Санитария. 2014; 6 том 93: 55
2. Рыбкин В.С., Богданов А.Н., Чуйков Ю.С., Теплая Г.А. Тяжелые металлы как фактор возможных экологически обусловленных заболеваний в Астраханском регионе. Гигиена и Санитария. 2014; 2: 27–5.
3. Ивчатов А.Л., Малов В.И. Химия воды и микробиология. М.: Инфра-М, 2014. 218 с.

МОДИФИЦИРОВАННЫЕ БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ МИКРОКАПСУЛЫ ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ

Горячева О.А., Гао Х.

Саратовский Государственный Университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов Россия
Университет Королевы Марии, Лондон, Великобритания
olga.goryacheva.93@mail.ru

Одной из важнейших задач поставленных перед мировым научным сообществом является идея адресной доставки лекарств, однако для успешной реализации необходимо создать структуру обладающую рядом свойств, таких как: адресная доставка, контролируемый выпуск содержимого и нетоксичность. Одним из перспективных проектов является создание полиэлектролитных микрокапсул, основанное на последовательной адсорбции полиэлектролита различного заряда на ядре с дальнейшим растворением последнего. Однако такие микрокапсулы обладают высокой проницаемостью и не способны к биодegradации и для синтеза подходящего носителя необходимо подобрать материалы, которые, кроме всего прочего, будут нетоксичны. По аналогии были созданы микрокапсулы из искусственных полимеров природного происхождения, которые отвечают тем же параметрам, что и микрокапсулы, однако, нетоксичны. Микрокапсулы обладают пористой структурой и низкомолекулярные вещества способны проникать на поверхность оболочки микрокапсулы из ядра. Для возможности транспортировки низкомолекулярных веществ необходимо понизить проницаемость стенки микрокапсулы. С этой целью микрокапсулы силанизировали тетрозоксисиланом (ТЭОС), что приводило к уплотнению стенки микрокапсулы и тем самым понижали проницаемость микрокапсулы. Микрокапсулы из синтетических материалов и силика способны к биодegradации. Силанизированные микрокапсулы так же способны к биодegradации и уже спустя 72 часа после проникновения микрокапсул в клетку, разлагаются в ней полностью.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИСМУТА И МЕДИ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ

Дедкова В.П., Швеева О.П., Гречников А.А., Симакина Я.И.

Институт геохимии и аналитической химии им. В.И.Вернадского РАН, Москва, Россия
agrech@bk.ru

Развиваемые в последние годы методы определения ионов элементов с органическими реагентами на твердой фазе, как правило, характеризуются более низкими пределами обнаружения и большей избирательностью по сравнению с фотометрическими методами. В качестве твердой фазы внимание привлекает использование полиакрилонитрильного волокна (ПАНВ), наполненного тонкодисперсным ионообменником. Диски тонкого полотна носителя характеризуются высокой емкостью, удобной формой, позволяющей их использование в статическом и динамическом режимах сорбции, и прочным закреплением реагента.

Разработаны методики определения висмута(III) и меди(II) в воде и моче. Методики апробированы способом «введено-найдено» при анализе пресных вод, стандартных растворов и мочи. При анализе на содержание висмута использована сорбция при pH 2 иодидных комплексов висмута на ПАНВ, наполненном анионообменником АВ-17, с последующим определением на твердой фазе в виде комплексного соединения с 4-(2-пиридилазо)резорцином (ПАР). Определению не мешает присутствие 4-кратных количеств Cd, Cu, Pb, Zn. Для определения меди использована сорбция на ПАНВ, наполненном катионообменником КУ-2, с иммобилизованным на носителе реагентом 1-(2-пиридилазо)-2-нафтол (ИМПАН-2). Определению не мешают равные количества Cu, Zn, Pb и 2-кратные количества Ag, Fe(III), Cd, Mn(II), Bi(III), Cr(III).

При анализе мочи на содержание висмута пробоподготовки не потребовалось, при анализе на медь использовали 2-х минутное кипячение или 15-ти мин. нагревание в УЗ-ванне проб мочи с H_2O_2 .

Элемент	Носитель ПАНВ	Условия		Предел обнаружения мкг/мл	Объекты анализа
		сорбции	определения		
Bi(III)	AB-17	KI, pH 2	ПАР, 570нм	0,03	Вода, моча
Cu(II)	ИМΠΑН	Аск.к-та, pH 2	ПАР, 640нм	0,03	Вода, моча

Висмут определяется в интервале концентраций 0,04 – 0,4 мкг/мл, медь в интервале 0,05 – 0,40 мкг/мл. Относительное стандартное отклонение не превышает 0,25. Продолжительность анализа 5=6 проб составляет 30–35 мин. Возможно визуальное определение меди сравнением окраски дисков с цветовой шкалой для концентраций меди 0,1; 0,3; 0,6 и 0,8 мкг/мл. Окраска изменяется от оранжевой до красно-коричневой.

Работа выполнена при поддержке Гранта РФФИ 14-03-00853

ОПЫТ ДИАГНОСТИКИ ХЕЛИКОБАКТЕРИОЗА ПО АММИАКУ. ЧАСТЬ 1. ВЫБОР СЕНСОРОВ

Дмитриенко М.А., Джагацпанян И.Э., Евдокимова М.И., Коломина Е.О., Харьковский А.В.

ООО «Ассоциация Медицины и Аналитики», Санкт-Петербург, Россия

m_dmitrienko@amamed.ru

Введение. Инфекция *Helicobacter pylori* (НР) широко распространена и представляет собой угрозу здоровью людей, и ее надлежит диагностировать точно, быстро и безопасно для пациента. Мы использовали лежащую в основе жизнедеятельности бактерии НР биохимическую реакцию гидролиза карбамида и определяли инфекцию по образовавшемуся продукту-биомаркеру – аммиаку.

Цель исследования. Сравнить аналитические характеристики различных сенсоров аммиака и оценить их пригодность для инвазивной (по биоптату слизисой оболочки желудка) и неинвазивной (по воздуху ротовой полости) диагностики инфекции НР. Условия проведения анализа предъявляют жесткие требования к сенсорам.

Материал и методы исследования. Использовались быстрые уреазные тесты (БУТ) для определения уреазной активности в растворе или в биологическом образце, индикаторные трубки (ИТ), электрохимические датчики (ЭХД) и датчики металл-диэлектрик-проводник (МДП) для определения аммиака в газовой фазе. Все сенсоры производятся серийно.

Аналитическая чувствительность и специфичность сенсоров оценивалась на лабораторном испытательном оборудовании по аттестованным образцовым препаратам и смесям.

Результаты и их обсуждение. Определены следующие характеристики сенсоров:

Сенсор	Аналитические характеристики
Инвазивный анализ	
БУТ	Наименьшая определяемая активность уреазы – $3,3 \cdot 10^{-3}$ ЕА (соответствует 2,5 мкмоль аммиака) Принцип действия – pH-индикация прохождения ферментативной реакции гидролиза карбамида уреазой НР. Время срабатывания – не более 3 мин
Неинвазивный анализ	
ИТ	Минимально определяемая концентрация аммиака – 0,5 ppm Диапазон детекции – 0,5 - 15ppm Принцип действия – линейно-колористический
ЭХД	Минимально определяемая концентрация аммиака – 1 ppm Чувствительность – 130nA/ppm ± 30 nA/ppm Время отклика – не более 60 с Диапазон измерения – 0-100 ppm Принцип действия – изменение силы тока при диффузии газа через гидрофобную мембрану на электрод со специальным покрытием.
МДП сенсор	Минимально определяемая концентрация аммиака – 0,2 ppm Диапазон измерения – 0,2 - 10 ppm Время отклика – 8 минут Время выхода на нулевой сигнал – более 20 минут после каждого измерения.

Заключение. Оптимальными для применения при инвазивном анализе оказались БУТ, при неинвазивном – ИТ как детекторы для одноразовых тест-систем и ЭХД – для многократного применения в диагностических приборах.

ОЦЕНКА БИОЭФФЕКТИВНОСТИ ПЕПТИДНЫХ АНТИГЕНОВ ПРИ РАЗРАБОТКЕ СИНТЕТИЧЕСКОЙ ПЕПТИДНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ГЕПАТИТА С

Егорова Е.А.¹, Мельникова М.В.^{1,2}, Таланова А.В.¹, Каширцева В.Н.¹, Кострюкова Л.В.¹, Санжаков М.А.¹, Атауллаханов Р.И.³, Мельникова Т.М.², Колесанова Е.Ф.¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ), Москва, Россия

²Институт Органической Химии имени Н.Д. Зелинского РАН (ИОХ), Москва, Россия

³Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

le1111a@mail.ru

Отсутствие модели инфекции вирусом гепатита С (ВГС) на доступных лабораторных животных требует разработки аналитических методов оценки биоэффективности разрабатываемых препаратов вакцины против гепатита С. Из-за высокой вариабельности структуры основных протективных антигенов ВГС, его оболочечных белков, в качестве вакцинных антигенов были предложены пептидные конструкции, состоящие из высококонсервативных участков оболочечного белка Е2 ВГС, на основе которых начата разработка препарата вакцины и его доклинические испытания.

Целью данной работы было исследование биоэффективности разрабатываемых вариантов препарата вакцины против гепатита С, т.е. оценка их способности вызывать образование антител, взаимодействующих с целыми оболочечными белками ВГС. Конкретные задачи состояли в разработке и получении синтетических пептидных антигенов; подборе оптимальных адъювантов, способа введения и дозировки вакцины; оценке эффективности иммунного ответа при иммунизации животных.

В работе были использованы методы: конструирование *in silico* пептидных антигенов; твердофазный пептидный синтез; масс-спектрометрический анализ полученных пептидов; очистка пептидных антигенов при помощи ВЭЖХ; конъюгация полученных пептидов с гликопротеином ИММУНОМАКС (с) и с декстраном (500 кДа); получение наноземульсии сквалена и фосфолипидов методом микрофлюидизации; иммунизация лабораторных животных; определение титра вырабатываемых антител методом иммуноферментного адсорбционного анализа (в качестве антигенов использовали оригинальные пептиды и целые оболочечные белки ВГС).

Были сконструированы и получены в виде очищенных препаратов два потенциальных пептидных антигена, составленных из двух высококонсервативных участков оболочечного белка Е2 ВГС. Показано, что оба антигена обладают иммуногенностью, но их биоэффективность различна при прочих равных условиях.

В опытах по иммунизации мышей наибольшей биоэффективностью обладал конъюгат пептида с ИММУНОМАКСом в присутствии наноземульсии сквалена, несколько меньшую биоэффективность проявил конъюгат пептида с ИММУНОМАКСом без дополнительного адъюванта. Оптимальным способом введения признан внутримышечный. Автоклавирование конъюгата пептидного антигена с ИММУНОМАКСом приводит к падению иммуногенности до нуля.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы и частично поддержана ГК № 14N08.12.0025 от 08.08.2013 г. с Министерством образования и науки РФ.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИОНОВ ЖЕЛЕЗА(III) И МАРГАНЦА(II) В ПРИРОДНЫХ ВОДАХ ТЕСТ-СИСТЕМОЙ НА ОСНОВЕ КАРБОКСИЛЬНОГО КАТИОНИТА КБ-2Э

Жаркова В.В., Бобкова Л.А.

Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

petrovalentina2012@mail.ru, labobkova@rambler.ru

Превышение предельно допустимой концентрации ионов марганца(II) и железа(III) в 10 – 40 раз в природных водах Западно-Сибирского региона связано с действием природных и, в ряде случаев, техногенных факторов. Разработка новых эффективных средств экспресс-анализа природных объектов «on-site» на содержание ионов Fe³⁺ и Mn²⁺ весьма актуальна. Индикаторные трубки на основе макросетчатого карбоксильного катионита КБ-

2Э-16 являются перспективными тест-средствами для определения ионов металлов. Данный сорбент синтезирован Кемеровским ООО ПО «ТОКЕМ» и представляет собой сополимер полиметакрилата и дивинилового эфира диэтиленгликоля. Катионит обладает высокой избирательностью к ионам Mn^{2+} и Fe^{3+} ($K_d \sim 10^3$), в динамических условиях формирует четкие границы хроматографических зон на высоте слоя $\sim 3,5$ см и незначительно уменьшается в объеме при изменении солевой формы. Цель данной работы – оптимизация условий одновременного определения ионов марганца(II) и железа(III) с помощью тест-индикаторной трубки, заполненной катионитом КБ-2Э-16.

Сорбцию ионов Fe^{3+} и Mn^{2+} проводили в динамическом режиме в стеклянных колонках диаметром 0,5 см, заполненных катионитом на высоту ~ 4 см. Кислотность (рН) исследуемых растворов изменяли в интервале $1 \div 2$, ионную силу (I) поддерживали постоянной ($I = 1, NaNO_3$). Раствор пропускали через колонку со скоростью 1 мл/мин. При выборе условий сорбции учитывали четкость формирования границ окрашенных зон ионов. Эксперимент показал, что оптимальным условием сорбции Fe^{3+} и Mn^{2+} катионитом КБ-2Э-16 являются рН ~ 2 .

Определение марганца(II) и железа(III) проводили в две стадии. Анализируемый раствор со смесью ионов пропускали через трубку заполненную катионитом КБ-2Э-16 и после сорбции измеряли длину зоны Fe^{3+} , окрашенную в желтый цвет. Для получения окрашенной зоны ионов Mn^{2+} катионит обрабатывали небольшим объемом раствора реагента формальдоксима (3-5 капель), образующего с Mn^{2+} в щелочной среде комплекс коричневого цвета. Затем измеряли суммарную длину окрашенных зон и по разности длин зон находили содержание марганца(II). Длина зон ионов зависит от их концентрации и служит визуальным аналитическим сигналом. Диапазон определяемых концентраций (содержаний) для Mn^{2+} составляет $0,03 \div 1$ мг/л, для Fe^{3+} – $0,03 \div 0,5$ мг/л. Предел обнаружения (ПрО) ионов рассчитывали по отношению величины аналитического сигнала для минимально определяемой концентрации к тангенсу угла наклона градуировочной прямой. ПрО для марганца(II) составляет 0,06 мг/л, для железа(III) – 0,14 мг/л. Правильность определения Fe^{3+} и Mn^{2+} оценивали методами «введено-найдено». Величина относительного стандартного отклонения среднего значения не превышает $\sim 0,12$. Не мешают определению 10-кратный избыток ионов натрия, магния (II), кальция и 3-кратный – стронция, бария. По разработанной методике с использованием способа «введено-найдено» проведен анализ водопроводной воды на содержание Fe^{3+} и Mn^{2+} . Найденные концентрации незначительно превышают введенные, что объясняется наличием следовых количеств Fe^{3+} и Mn^{2+} в водопроводной воде. Таким образом, разработанная методика может быть применима для анализа реальных объектов.

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ТКАНЕЙ ОПУХОЛЕЙ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА КАК СПОСОБ ИНТРАОПЕРАЦИОННОГО КОНТРОЛЯ ХОДА НЕЙРОХИРУРГИЧЕСКОЙ ОПЕРАЦИИ

Жванский Е.С.^{1,2}, Попов И.А.^{1,3}, Кононихин А.С.^{1,2}, Шурхай В.А.⁵, Бормотов Д.С.^{1,2}, Бугрова А.Е.³,
Потапов А.А.⁵, Николаев Е.Н.^{1,3,4}

¹Институт энергетических проблем химической физики им. В.Л. Тальрозе РАН, Москва, Россия

²Московский Физико-Технический Институт (Государственный Университет), Долгопрудный,
Московская область, Россия

³Институт Биохимической Физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

⁴Институт Биомедицинской Химии имени В.Н. Ореховича РАН, Москва, Россия

⁵ФГБНУ Научно-исследовательский институт нейрохирургии имени акад. Н.Н. Бурденко, Москва, Россия

Хирургическое вмешательство и в особенности резекция опухоли во многих случаях заболеваний, связанных с развитием опухолей является наиболее часто применяемым (а подчас и единственно возможным) видом лечения. Для реализации хирургических процедур используются методы построения изображений, в частности магнитно-резонансная томография. Однако, методы магнитно-резонансной и компьютерной томографии не позволяют четко зафиксировать границы и пределы опухоли. Масс-спектрометрические методы могут быть использованы для анализа состава смесей и организованных объектов, в том числе биологического происхождения. В последнее время широкое развитие получили методы прямого масс-спектрометрического анализа и методы построения молекулярных изображений на их основе. Целью данной работы являлась демонстрация возможностей прямой масс-спектрометрии при работе с биологическими тканями. В качестве исследуемых образцов были взяты удаленные во время нейрохирургической операции фрагменты опухолей мозга. Они были исследованы с использованием методов иммуногистохимии, поэтому при масс-спектрометрическом анализе имелась возможность сравнить молекулярный состав разных тканей.

Все образцы были получены во время нейрохирургических операций по удалению опухолей и представлены НИИ Нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. От ткани отрезался образец объемом порядка 2мм^3 . Та-

кой образец располагался на конце острия медицинской инъекционной иглы. Игла располагалась напротив входа масс-спектрометра. Внутри иглы располагался капилляр, через который велась подача растворителя (метанола). Также к капилляру прикладывалось высокое напряжение, что приводило к появлению конуса Тейлора на конце иглы. В полученном электроспрее содержались в том числе экстрагированные молекулы вещества. Конструкция представляет собой разработанный источник атмосферной ионизации. Измерения проводились при помощи масс-спектрометра ионно-циклотронного резонанса LTQ FT Ultra (Thermo Finnigan). Диапазон измерения составил 100-1300 Да с разрешением 56000 на 800 Да.

В результате работы создана база масс-спектров высокого разрешения различных видов опухолей. Высокое разрешение позволило точно идентифицировать наиболее интенсивные пики, соответствующие липидам. Метод атмосферной ионизации позволяет осуществлять длительную регистрацию масс-спектров (до 30 минут) от одного образца, что может способствовать детальному пониманию процессов экстракции/ионизации. В дальнейшем результаты работы могут быть применены в нейрохирургической практике с целью мониторинга границы опухоли.

ВЛИЯНИЕ РАДИАЦИИ НА ВОДНЫЕ СИСТЕМЫ ФОСФОЛИПИДОВ

Зайцева Н.Б.², Шакин Д.Ю.¹, Зайцев В.В.³, Шилов А.А.³

¹ ФГУП «Радон», Москва, Россия

²Закрытое акционерное общество им. Н.А.Семашко, Москва, Россия

³Институт промышленной безопасности, МГИИ, МИССиС, Москва, Россия

mosconfere@rambler.ru

Плоский капилляр с молекулярной системой лецитина в воде обладает свойствами ячейки с лиотропным жидким кристаллом. Такими же свойствами обладает и плоский капилляр с плазмой крови. В зависимости от степени разрушения молекул лецитина в поле зрения поляризационного микроскопа образуются так называемые текстуры. Ранее было показано [1], что обработка альфа – и гамма – излучениями позволяет получить в поле зрения поляризационного микроскопа текстуры, свидетельствующие о разрушении фосфолипидов по механизму свободнорадикального перекисного окисления липидов. Регистрируются и мишенные эффекты. В настоящей работе обосновывается возможность определения значений Керма (Гр в системе СИ) альфа излучения, вводимой в систему смесей с биологическими молекулами, что в свою очередь позволяет связать значения вводимой в молекулярную систему дозы с эффектами изменения в самоорганизации.

В качестве модели введения энергии альфа-излучателей в биологическую модель смеси лецитина (5 %) с водой было принято обычное уравнение для поглощённой дозы:

$$X_i D = \frac{\text{ЭРОА}_{(Rn+Tn)} \times T \times V \times 10^{-3} \times 6 \times 10^6 \times 1,6 \times 10^{-19}}{m}, \text{ где:}$$

X_i – ненаблюдаемая случайная величина; К – поглощенная доза, Гр; ЭРОА_(Rn+Tn) – эквивалентная равновесная объемная активность радона и торона в воздухе, Бк×м³; Т – время барботации, сек; V- объем радонсодержащей смеси, пропускаемый за время Т, л; 6×10^6 – энергия излучения альфа-частиц, эВ; m – масса пробы смеси лецитина, кг; $1,6 \times 10^{-19}$ – коэффициент, учитывающий систему единиц.

В исследованиях использованы установки и методы: фотометрии для регистрации продукта СПОЛ – малонового диальдегида; источник излучения цезий-137 с активностью до 0,014 Кюри и дозой облучения до 2 мГрей в день, установка Gammacell -220 (Англия) с кобальтом – 60 и мощностью дозы один Грей в минуту; оригинальная установка барботации газа с контролируемым и измеряемым ЭРОА радона и торона; а также спектральная, биофизическая и клиническая аппаратура кардиологи. Работа оригинальной экспериментальной установки позволяла регулировать и точно определять объём V проходящей радонсодержащей смеси за время Т, и изменяя Т, m и V, регулировать вводимую дозу К в соответствии с математической моделью.

Согласно теории точечной теплоты, радиация вызывает нагревание отдельных точек до очень высокой температуры, что и ведет, в конечном счете, к биологическому поражению. Несмотря на то, что теория точечной теплоты была отвергнута, от нее остался «принцип попадания». В настоящих исследованиях изменение дозы альфа – излучения и экранирование гамма – излучения показало, что «принцип попадания», эффект мишенных эффектов развивается за 1-2 часа, а СПОЛ за 24-26 часов.

Проведённые исследования можно рассматривать как новый комплексный метод анализа в медицине.

**ЭКСТРАКЦИЯ ПРОИЗВОДНЫХ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В СИСТЕМАХ
С ПОЛИЭТИЛЕНОКСИДОМ-1500****Заходяева Ю.А.¹, Изюмова К.В.², Шкинев В.М.³, Вошкин А.А.¹**¹Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия²МИТХТ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия³Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, Москва, Россия
yz@igic.ras.ru

Развитие новых экологически безопасных методов извлечения, разделения и концентрирования веществ – одна из фундаментальных задач современной фармацевтической химии. В настоящее время интенсивно развивается метод экстракции в системе с двумя несмешивающимися водными фазами [1–3]. Гетерогенность в такой системе достигается добавлением растворов двух несмешивающихся водорастворимых полимеров или соли – фазообразователя, в верхнем слое находится насыщенный раствор полимера, выполняющего роль органической фазы в традиционной экстракции, а нижний слой насыщен фазообразующей солью. Данные системы являются экологически безопасными, вследствие чего, их применение для решения задач разделения в медицинской химии представляется весьма перспективным.

В данной работе проведены исследования по распределению ряда органических кислот – производных салициловой кислоты в двухфазной водно-полимерной системе на основе полиэтиленоксида с молекулярной массой 1500 (ПЭО-1500). По результатам проведенных систематических исследований фазовых равновесий в системах ПЭО-1500 – минеральная соль – H₂O установлены положения критических точек и выбраны оптимальные составы системы, обеспечивающие устойчивое расслоение фаз.

Установлены коэффициенты распределения и разделения для салициловой, ацетилсалициловой и сульфосалициловой кислот в системах ПЭО-1500 (15% (масс.)) – M₂SO₄ (9% (масс.)) – H₂O. Данные кислоты являются лекарственными средствами, оказывающими анальгезирующее (обезболивающее), жаропонижающее, противовоспалительное и антиагрегантное действие. Они имеют широкое применение в амбулаторной практике, что и было основанием при выборе их в качестве модельных.

Развитие мембранных методов разделения, в особенности, для решения аналитических и препаративных задач медицинской химии в настоящее время весьма актуально. Авторами проведен цикл исследований возможностей применения двухфазных водно-полимерных систем в совмещенных мембранно-экстракционных процессах разделения компонентов жидких смесей. В частности, показано, что возможно эффективное извлечение и концентрирование производных салициловой кислоты в двухфазных водно-полимерных системах на основе ПЭО-1500 в мембранных экстракторах с управляемой структурой потоков.

Литература.

1. Hatti-Kaul R. Aqueous two-phase systems: review // *Molecular Biotechnology*. 2001. V.19. P.269–276.
2. Mazzola P.G., Lopes A.M., Hasmann F.A. et al. Liquid-liquid extraction of biomolecules: an overview and update of the main techniques // *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 2008. V.83. P.143–157.
3. Шкинев В.М., Мокшина Н.Я., Хохлов В.Ю., Спиваков Б.Я. Экстракция биологически активных веществ в двухфазных водных системах на основе поли-N-винилпирролидона // *Доклады Академии Наук*. 2013. Т.448. № 4. С.427–429.

**ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ «ЭЛЕКТРОННЫЙ ЯЗЫК» ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ****Зильберг Р.А., Яркаяева Ю.А., Хаблетдинова А.И., Сидельников А.В., Майстренко В.Н.**

Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

ZilbergRA@yandex.ru

Вольтамперометрические методы широко применяются для контроля качества фармацевтических средств, поскольку многие лекарственные соединения проявляют электрохимическую активность в доступной области потенциалов. Во многом это связано с наличием соответствующих приборов и электродов, в том числе одноразовых, включая модифицированные, а также с повышением чувствительности и селективности определений за счет использования аппаратных вариантов вольтамперометрии (циклическая, дифференциально-импульсная, квадратно-волновая и др.) и управления спецификой электродных реакций модифицированием поверхности индикаторных электродов.

В последние годы в практику фармацевтического анализа активно внедряются экспресс-методы идентификации и контроля качества лекарственных средств, позволяющие достаточно просто и экономически обоснованно оценивать их соответствие нормативным требованиям, в том числе устанавливать присутствие контрафактной продукции. Актуальной проблемой является сопоставление свойств оригинальных фармацевтических субстанций, а также ряда

препаратов на их основе и их воспроизведенных копий – дженериков. Дженерики становятся более распространенными вследствие своей дешевизны. В результате ряда исследований было выявлено, что дженерики могут уступать оригиналу в терапевтической эффективности и нередко приводят к множеству побочных эффектов.

В настоящей работе рассмотрены возможности вольтамперометрии применительно к задачам идентификации антиаритмических препаратов, входящих в группу β -адреноблокаторов (биспролол, атенолол, пропранолол, метопролол и др.), различных производителей с использованием “электронного языка” на основе модифицированных полиариленфталидами стеклоуглеродных электродов.

Для оценки схожести и различий между вольтамперограммами проводили их моделирование с помощью метода главных компонент (МГК). При этом, чем больше состав вспомогательных веществ одних лекарственных средств отличается от других, тем дальше друг от друга на плоскости главных компонент находятся соответствующие кластеры. Идентификация лекарственных средств, отличающихся составом вспомогательных веществ, с использованием трехфакторных образов (регистрация вольтамперограмм на трех модифицированных полиариленфталидами стеклоуглеродных электродах) позволяет существенно повысить процент правильно распознанных образцов по сравнению с регистрацией вольтамперограмм только на одном электроде. В последнем случае кластеры лекарственных средств различных производителей пересекаются между собой даже в том случае, когда лекарственные средства содержат разные вспомогательные вещества.

Предложенная вольтамперометрическая система типа «электронный язык» чувствительна к составу таблетированных лекарственных форм, что позволяет различать лекарственные средства, содержащие одно и то же действующее вещество, но выпущенные различными производителями.

Работа выполнена при поддержке РФФИ: гранты № 14-03-97067-р_поволжье_a и № 15-03-01388-а.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИСПРОЛОЛА РАЗЛИЧНЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПОЛИАРИЛЕНФТАЛИДАМИ СТЕКЛОУГЛЕРОДНЫХ ЭЛЕКТРОДОВ

Зильберг Р.А., Яркаяева Ю.А., Хаблетдинова А.И., Сидельников А.В., Майстренко В.Н.

Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

ZilbergRA@yandex.ru

Биспролол – β -адреноблокирующее средство, широко применяющееся в кардиологической практике. Биспролол входит в «Перечень важнейших лекарств ВОЗ», необходимых для базовой системы здравоохранения. На рынке существуют множество доступных по цене дженериков биспролола. Это препараты бисогамма, бипрол, нипертен и многие другие. Дженерики различных производителей отличаются по физико-химическим показателям и терапевтической эффективности, поскольку представляют собой многокомпонентные системы, содержащие наряду с одинаковыми действующими соединениями различные вспомогательные вещества. Дженерики нередко вызывают побочные эффекты, отсутствующие при применении оригинальных препаратов. Поэтому интерес представляют методы, позволяющие не только идентифицировать, но и отличать одних производителей от других.

В последние годы в практику фармацевтического анализа активно внедряются экспресс-методы идентификации и контроля качества лекарственных средств. Среди них широко применяются вольтамперометрические методы. На их основе созданы системы типа “электронный язык”, представляющих собой устройства, состоящие из одного или нескольких индикаторных электродов, с последующей хемометрической обработкой вольтамперограмм с помощью МГК-моделирования. Идентифицировать объекты можно с помощью модифицированных электродов, отклики которых (перекрестная чувствительность) по-разному зависят от природы и содержания электроактивных соединений и неэлектроактивных веществ в образце [1]. В нашей работе в качестве модификаторов были использованы полиариленфталиды, отличающиеся соотношением мономерных звеньев.

В данной работе вольтамперометрическим методом были исследованы оригинал биспролола Конкор и его дженерики: Арител, Бипрол, Нипертен, Бисогамма, Биспролол, Бидоп, Биол, Конкор Кор, Кардинорм. Полученные вольтамперограммы были обработаны с помощью методов хемометрики, в частности, метода главных компонент (МГК). В большинстве случаев на графиках счетов МГК-моделей в координатах ГК1 – ГК3 вольтамперограммы лекарственных средств различных производителей принадлежат к разным кластерам в зависимости от природы и содержания вспомогательных веществ. Результаты показывают, что предложенная нами мультисенсорная система на основе модифицированных полиариленфталидами электродов оказывается чувствительной к составу таблетированных лекарственных форм, что позволяет надежно различать лекарственные формы одного препарата, выпущенные различными производителями.

Литература

1. Будников Г. К., Евтюгин Г. А., Майстренко В. Н. Модифицированные электроды для вольтамперометрии в химии, биологии и медицине. // М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. 2009. – 415 с.

Работа выполнена при поддержке РФФИ: гранты № 14-03-97067-р_поволжье_a и № 15-03-01388-а.

ИМПЕДАНСОМЕТРИЧЕСКИЙ СПОСОБ ТИТРОВАНИЯ КАТИОННЫХ ПОВЕРХНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В АНТИСЕПТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВАХ

Зильберг Р.А., Сидельников А.В., Дубровский Д.И., Майстренко В.Н.

Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

ZilbergRA@yandex.ru

Импедансная спектроскопия – это метод исследования различных объектов, основанный на измерении и анализе зависимостей импеданса от частоты переменного тока. Важным преимуществом метода является высокая чувствительность измерений, отсутствие требований к селективности электродов, присутствию окрашенных компонентов, наличию гетерогенных фаз и др.

В настоящей работе предложен новый способ определения КПАВ – цетилпиридиния хлорида – методом импедансной спектроскопии, позволяющей снизить нижний предел обнаружения КПАВ и уменьшить объемы исследуемых проб в условиях on-line анализа.

Проведено определение хлорида цетилпиридиния, обладающего противомикробным, противогрибковым и вирулицидным действием в препаратах Septolete® plus, Septolete® Neo, Novosept Forte, зарекомендовавших себя на аптечном рынке в качестве антисептических препаратов.

Нами разработаны электрохимические системы к извлечению информации о содержании КПАВ в антисептических лекарственных средствах способом импедансометрического титрования. Спектры мнимой и действительной составляющих импеданса, регистрируемые онлайн в процессе титрования, преобразовывали методом главных компонент (ГК) в точки на плоскости ГК. Впервые показано, что вокруг точки эквивалентности на графике счетов МГК-моделирования формируются линейные участки, а перегиб кривых характеризует состояние эквивалентности титриметрической реакции между катионным и анионным ПАВ. Рассчитаны метрологические характеристики предлагаемой методики определения КПАВ.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 14-03-97067 p_поволжье_a)

ДОСТУПНЫЙ СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВЯЗАННЫХ ТИОЛОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Иванов А.В., Кучукова М.Ю., Вирюс Э.Д., Лузянин Б.П., Кубатиев А.А.

ФГБУН “Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии”, Москва, Россия

Ivanov_av82@mail.ru

Введение. Гомоцистеин (Гцис) является независимым фактором риска развития осложнений большого числа сердечно-сосудистых заболеваний. Для повышения его диагностической значимости в начале XXI в. Хортином и коллегами было предложено использовать соотношение содержания цистеина (Цис) к Гцис в плазме крови [Hortin et al., *Clin. Chem.*, 2001, **47**, p. 1121]. К сожалению, эффективные биохимические подходы, основанные на применении хроматографических и электрофоретических методах, пока остаются малодоступными для клинической диагностики при решении данной задачи.

Цель исследования. Разработать доступный подход, позволяющий определять связанные формы Цис и Гцис, а также их соотношение с использованием системы КЭ, оснащенной диодно-матричным УФ-детектором. Так как в крови большая часть Гцис (~80%) и около половины Цис находится в связанном с белками состоянии и емкость белков плазмы многократно превышает нормальную концентрацию Гцис в плазме (<10 мкМ), то связанные формы хорошо отражают их общее содержание [Williams et al., *Clin. Chem.*, 2001, **47**, p. 1031].

Материал и методы исследования. Для анализа были использованы 19 образцов венозной крови доноров, собранных в пробирки с цитратом Na. После получения плазмы были выделены её белки ультрафильтрацией, связанные тиолы переведены в восстановленную форму и модифицированы 1,1'-тиокарбонилдимидазолом. Аналиты были очищены от белков также ультрафильтрацией. КЭ проводили в обращенном поле с рН-зависимым концентрированием аналитов в капилляре.

Полученные результаты, их обсуждение. Разработанный метод показал высокую чувствительность (менее 1 мкМ), воспроизводимость (<5%), линейность в диапазоне 0-500 мкМ Цис и 0-100 мкМ Гцис ($r > 0.995$), правильность 94-108%. Время анализа составило 15 мин. Средние концентрации связанных Цис и Гцис в образцах составили 132 и 5.7 ± 2.7 (1.9-13.3) мкМ соответственно. Среднее Цис/Гцис составляло 26 ± 8 , что близко к значениям, ранее полученным для соотношения общего Цис/Гцис [Hortin et al., *Clin. Chem.*, 2001, **47**, p. 1121]. Соотношение Цис/Гцис отличалось в 1,5 раза меньшим разбросом, чем связанный Гцис. Выявлена тесная корреляция между Гцис и Гцис/Цис ($r = 0,86$), но её не выявлено между Цис и Цис/Гцис ($r = -0,41$).

Выводы. Используя представленный подход можно проводить определение связанных форм Цис/Гцис. Это соотношение имеет довольно высокую степень корреляции с уровнем связанного Гцис и характеризуется меньшей вариабельностью, что дает основания использовать его в качестве альтернативы определению общего Гцис.

КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РЕАКЦИЙ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПЕКТИНОВ С СОЛЯМИ МАГНИЯ, ЖЕЛЕЗА (II), МЕДИ (II)

Иванова Л.И., Кайшева Н.Ш.

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал
ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» МЗ РФ,
Ставропольский край, Пятигорск, Россия

Способность пектинов к образованию комплексов с катионами металлов обусловлена наличием в их структуре атомов кислорода карбоксильных и гидроксильных групп, пиранозного цикла, гликозидного центра. Образующиеся пектинаты металлов отличаются относительно невысокой устойчивостью, выраженной биологической доступностью и практической нетоксичностью. Одними из важнейших характеристик реакций взаимодействия пектинов с катионами металлов являются кинетические параметры: порядок реакции и константа скорости реакции.

Целью работы явилось определение порядка и константы скорости реакций взаимодействия свекловично-го пектина с магния сульфатом, аммония железа (II) сульфатом и меди (II) ацетатом. Выбор катионов магния и железа (II) обусловлен их жизненной необходимостью для функционирования биологических систем, а катионов меди (II) – их токсичностью. Объектом исследования служил свекловичный пектин со следующими физико-химическими характеристиками: средняя молярная масса 3200 кг/моль, степень полимеризации 18, содержание галактуроновой кислоты 90%, свободных карбоксильных групп 5,1%, метилированных карбоксильных групп 9,2%, ацетилованных гидроксильных групп 5,4%, рамнозы 0,5%, константа диссоциации в воде $3,2 \cdot 10^{-4}$.

Для определения частного порядка реакции по катионам металла учитывали изменение концентрации пектина ($4,0 \cdot 10^{-3}$ – $2,9 \cdot 10^{-2}$ моль/л) при минимальном влиянии (в недостатке) концентрации катионов металла: магния ($2,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л), железа (II) ($1,7 \cdot 10^{-4}$ моль/л) и меди (II) ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л). В различные моменты времени от начала реакции (0,25 ÷ 2,0 час) определяли содержание в растворе катионов магния и меди (II) комплексонометрическим титрованием, содержание железа (II) – по фотометрической реакции взаимодействия с кислотой сульфосалициловой; во взятых пробах тормозили реакцию погружением колб с растворами в холодную водяную баню.

Для расчета порядка реакций использовали 2 метода:

- интегральный: путем выявления графической системы, в которой наблюдается прямолинейная зависимость между продолжительностью взаимодействия и концентрацией катионов металла; по тангенсу угла наклона прямой определяли константу скорости реакции;

- дифференциальный (метод Вант – Гоффа): в графической системе зависимости концентрации катионов металла и продолжительности взаимодействия по тангенсу угла наклона касательных определяли скорость реакции взаимодействия в различные моменты времени; по логарифмическим значениям скорости и концентрации катионов металлов определяли временной порядок реакции взаимодействия.

В результате проведенных исследований установлено, что реакции взаимодействия пектина с катионами магния и меди (II) являются реакциями первого порядка, а реакция с катионами железа (II) – реакцией второго порядка с соответствующими константами скорости (час^{-1}): 1,3; 6,5 и 4,0. Можно допустить, что в условиях *in vivo* пектины быстрее свяжут катионы меди (II), чем магния и железа (II), существенно не повлияв при этом на содержание последних в биологических тканях и жидкостях.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ Se(IV), As(III) и Cu(II) В ПИТЬЕВЫХ ВОДАХ НА МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЗОЛОТЫХ ЭЛЕКТРОДАХ

Каменев А.И., Витер И.П., Лебедев А.М.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия
kamenev_ai@mail.ru

Ионы тяжелых металлов, в частности, Se(IV), As(III) и Cu(II), проявляют физиологическую активность. Их содержание в питьевых водах нормируется и подлежит обязательному контролю. Инверсионная вольтамперометрия (ИВ), широко используемая при исследовании экологических объектов [1,2] является альтернативой спектральным методам. К важным достоинствам этого метода относятся: многоэлементность, низкие пределы обнаружения, возможность оценки ионного состава пробы (speciation-анализ), включая измерения в полевых условиях, невысокая стоимость компьютеризованной аппаратуры. Ограничения метода ИВ связаны с использованием ртутных электродов и сложностью процесса удаления кислорода из анализируемого раствора, с другой стороны, взаимное влияние компонентов, концентрируемых на неоднородной поверхности рабочих электродов, и сложность ее регенерации затрудняют применение твердых электродов.

Концентрирование на твердых электродах Se(IV), As(III) и некоторых других деполяризаторов проводят в присутствии вспомогательных элементов, например, Cu(II). Затем аналитические сигналы (АС) получают путем растворения электрохимических концентратов (ЭК), используя модулированные развертки напряжения. Хотя результаты измерений в ИВ существенно зависят от условий эксперимента, а также от концентрации (состава) фонового электролита и природы вспомогательного элемента, литературные данные по этим вопросам противоречивы. Целью данной работы было получение информации о процессах формирования и растворения ЭК компонентов системы Se(IV)-As(III)-Cu(II) для их совместного определения в питьевых водах методом ИВ.

Исследование проводили на компьютеризованном комплексе ХАН-2 («Алтей-Аналит», г. Санкт-Петербург), используя разработанное ранее программное обеспечение. Применяли трехэлектродную ячейку: золотой дисковый электрод, х.с.э. с катионпроницаемой мембраной и углеситалловый вспомогательный электрод. Изучено влияние различных факторов (способа подготовки и модифицирования поверхности золотых индикаторных электродов, параметров и вариантов модуляции разверток напряжения, состава фона и концентрационных соотношений деполяризаторов) на АС бинарных и тройной системы. Найдены оптимальные условия получения ЭК и измерений АС. Установлены диапазоны линейности градуировочных зависимостей, оценены погрешности результатов измерений. Предложен алгоритм для совместного определения этих элементов в питьевых водах на уровне их ПДК. Рассмотрена возможность использования метода ИВ для расширения круга определяемых компонентов в рамках концепции многоэлементного вольтамперометрического анализа.

1. A.I. Kamenev, I.P. Viter, K.A. Kovalski, A.V. Tulakin, E.F. Gorshkova. Stripping voltammetric estimation of water, air and food pollution by heavy metals. International ecologic forum «Environmental and human health». St. Petersburg, 2003. P.103-104.
2. Г. Хенце. Полярография и вольтамперометрия. Теоретические основы и аналитическая практика. Пер. с нем., под ред. А.И.Каменева. М.; БИНОМ. Лаборатория знаний. 2008. 284 с.

АМИНОКИСЛОТЫ АРКТИЧЕСКИХ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

Каплицин П.А., Боголицын К.Г., Амосова А.С., Овчинников Д.В., Паршина А.Э.

Северный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова, Архангельск, Россия
tph@agtu.ru

В последнее время немалое внимание уделяется биологически активным белкам макроводорослей. Белки состоят из различных аминокислот и их пищевая и фармацевтическая ценность определяется их аминокислотным составом [1, 2]. Белки бурых водорослей содержат все незаменимые для человека аминокислоты, за исключением триптофана. Белки бурых водорослей могут быть интересным источником ингредиентов для функциональной косметики и фармацевтических препаратов.

Целью данного исследования было определение аминокислотного состава и общего содержания азота в 25 образцах бурых водорослей (*Laminaria saccharina* (L.) Lamour, *Laminaria digitata* (Huds.) Lamour, *Fucus vesiculosus* (L), *Ascophyllum nodosum* (L) LeJolis), отобранных на 3 точках Белого моря и 5 точках Баренцева моря, в ходе комплексной научно-исследовательской экспедиции «Арктический Плавающий университет 2012».

Аминокислотный состав определялся на аминокислотном анализаторе Biochrome 30+. Содержание общего азота определялось на элементном анализаторе Euro EA – 3000.

Суммарное содержание аминокислот в исследованных видах варьируется от 3,9 до 10,1% масс. Наибольшим содержанием характеризуется вид *L. digitata* (5,6-9,6% масс), наименьшим – *a. nodosum*.

В образцах бурых водорослей были обнаружены 20 аминокислот, в том числе 9 из 10 незаменимых. При этом доля незаменимых аминокислот (НА), составляла в среднем 39,9% от общего содержания аминокислот для ламинариевых водорослей и 37,1% для фукусовых. В исследованных образцах соотношение основных аминокислот примерно одинаково, отличается лишь их суммарное содержание. Коэффициент пересчета общего азота в белок 5,6 для *Laminaria saccharina*, *L. digitata*, *Fucus vesiculosus* и 4,4 для *Ascophyllum nodosum*.

Научно-исследовательская работа выполнена в рамках проектной части государственного задания Министерства образования и науки РФ в сфере научной деятельности № 4.1288.2014/К. С использованием оборудования ЦКП НО «Арктика» Северного (Арктического) федерального университета имени М.В. Ломоносова при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (уникальный идентификатор работ RFMEFI59414X0004, соглашение № 14.594.21.0004 от 15 августа 2014 года).

Литература

1. FAO/WHO/UNU. 1985. Energy and protein requirements, Report of a joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation, World Health Organization (WHO) Technical Report Series, WHO, Geneva, Switzerland
2. Becker, E. W. (2007). Micro algae as a source of protein. *Biotechnology Advances*, 25, 207–210.

ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО–ИМПРИНТИРОВАННЫХ ТРИПСИНОМ ПОЛИМЕРОВ В ПЬЕЗОКВАРЦЕВЫХ СЕНСОРАХ

Карасева Н.А.^{1,2}, Беляева Е.А.¹, Мизайкофф Б.², Ермолаева Т.Н.¹

¹Липецкий государственный технический университет, Липецк, Россия

²Университет г. Ульма, Ульм, Германия

karaseva_nadia@mail.ru

Трипсин – эндогенный протеолитический фермент класса гидролаз, синтезируемый в поджелудочной железе в виде неактивного трипсиногена, превращающегося в двенадцатиперстной кишке в трипсин под действием энтеропептидазы. Определение концентрации трипсина в крови используется для выявления муковисцидоза у новорождённых, в дуоденальном содержимом для оценки функционального состояния поджелудочной железы и дифференциальной диагностики панкреатита. Кроме того, трипсин применяют в качестве лекарственного средства, поскольку он способствует разрушению некротизированных тканей, разжижению мокроты и других вязких секретов, сгустков крови, а также оказывает противовоспалительное и противоотечное действие, снижает резистентность гноеродной микрофлоры к действию антибиотиков. Поскольку трипсин неустойчив и при неправильном хранении препараты на его основе теряет свою эффективность, поэтому актуальным является разработка методик определения фермента в лекарственных препаратах.

В настоящее время активно развиваются методы анализа с применением сенсоров на основе молекулярно-импринтированных полимеров (МИП), по аффинности и специфичности не уступающих антителам и обладающих рядом преимуществ. Процесс импринтинга низкомолекулярных соединений хорошо изучен и широко описан, в то время как синтез МИПов высокомолекулярных соединений до сих пор остается сложной задачей. Это объясняется большими размерами молекул, наличием множества функциональных групп, конформационной гибкостью, ограниченной растворимостью и нестабильностью в различных растворителях.

Разработан пьезокварцевый сенсор на основе МИПов для определения трипсина в лекарственных препаратах. Для синтеза МИПов применяли метод мини-эмульсионной полимеризации, в качестве функционального мономера использовали метакриловую кислоту, кросс-мономера – этиленгликольдиметакрилат (дивинилбензол, триметилпропантриметакрилат), инициатора – 2,2 – диметил-2-фенил-ацетофенон, ПАВ и со-ПАВ – Лютенсол АТ50 и гексадекан. Методом динамического светорассеивания установлены диаметр и связывающая способность синтезированных частиц, индекс полидисперсности и z-потенциал, методом адсорбции-десорбции азота – удельной площади поверхности. Оптимальные свойства имеют частицы МИПы диаметром 220 ± 10 нм, синтезированные с применением этиленгликольдиметакрилата, которые использовали для создания рецепторного слоя пьезокварцевого сенсора, закрепляя их на поверхности золотого электрода методом «spin – coating», после смешивания с тетрагидрофураном в соотношении 2:1. Градуировочный график линеен в диапазоне концентраций 0,125 – 2 мг/мл, предел обнаружения трипсина составил 0,07 мг/мл. Разработанные сенсоры апробированы при определении содержания трипсина в лекарственных препаратах «Панзинорм форте», «Пензитал» и «Панкреатин».

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦЕФТРИАКСОНА ПОСЛЕ НЕКОВАЛЕНТНОГО СВЯЗЫВАНИЯ С ПОЛИЭТИЛЕНИМИНОМ ПО ТУШЕНИЮ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК

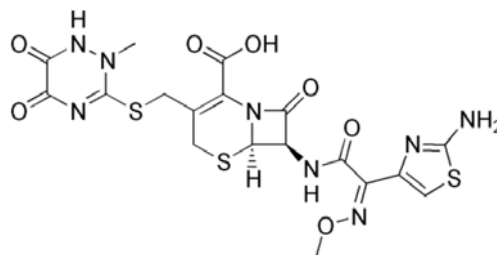
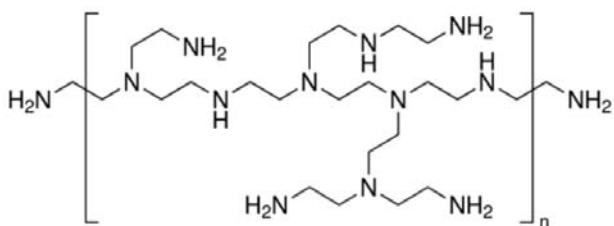
Карпов В.М., Спектор Д.В., Беклемишев М.К.

Химический факультет МГУ, Москва, Россия

mkb@analyt.chem.msu.ru

Квантовые точки – полупроводниковые нанокристаллы диаметром несколько нанометров, применяемые, в частности, для создания оптических сенсоров. Чтобы такой сенсор функционировал, необходимо селективное связывание аналита с квантовой точкой и изменение интенсивности ее флуоресценции. Если эти условия выполнены, такие квантовые точки могут быть использованы для селективной визуализации аналита в тканях и организмах.

В работе стояла задача селективного связывания и флуориметрического определения некоторых антибиотиков (цефтриаксон, тетрациклин, пefлоксацин и др.). В целях связывания антибиотиков изучали их взаимодействие с полиэлектролитами, при этом в некоторых системах (цефтриаксон – полиаллиламин, цефтриаксон – полиэтиленимин, тетрациклин – поливиниловый спирт) наблюдали образование молекулярных комплексов (за таковым следили по изменению коэффициента распределения аналита в системе вода – N,N-диэтиламиноэтилцеллюлоза).



Полиэтиленимин (ПЭИ) и цефтриаксон (ЦЕФ)

Взаимодействие ЦЕФ – ПЭИ не описано в литературе. Мы предположили, что оно может быть достаточно селективным для того, чтобы быть использованным при определении цефтриаксона по изменению квантового выхода флуоресценции квантовых точек (КТ) CdSe/CdS/ZnS. Для того, чтобы цефтриаксон, связанный в продукт взаимодействия с ПЭИ (далее – Продукт) тушил флуоресценцию КТ, проводили его гидролиз, приводящий к образованию свободных тиольных групп. Использовали следующую схему: 1) получение Продукта в водном растворе, 2) взаимодействие Продукта с немодифицированными КТ, 3) нагревание смеси в слабощелочной среде при 60° 4) измерение флуоресценции КТ на спектрофлуориметре или с помощью фотоаппарата при облучении УФ-светодиодом ($\lambda = 365$ нм) с определением интенсивностей в Adobe Photoshop (меню «Гистограмма»).

Показана возможность полуколичественного определения цефтриаксона в водных растворах по такой схеме с пределом обнаружения $1 \cdot 10^{-6}$ М и стандартным отклонением 0.1. В условиях определения цефтриаксона не дают аналитического сигнала Na^+ , Ca^{2+} , глюкоза, мочевины, мочевиная кислота, эритромицин, ципрофлоксацин, доксициклин.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 13-03-00441а).

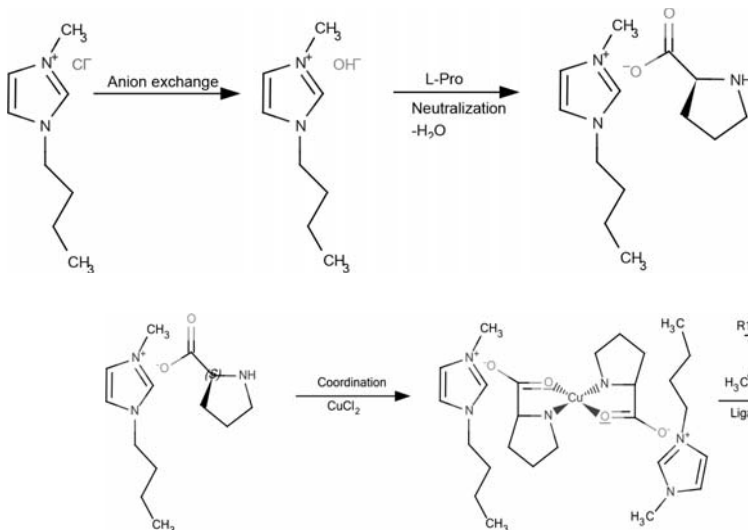
ВОЗМОЖНОСТИ ИОННОЙ ЖИДКОСТИ C4MImL-Pro КАК ХИРАЛЬНОГО СЕЛЕКТОРА ПРИ РАЗДЕЛЕНИИ ЭНАНТИОМЕРОВ АМИНОКИСЛОТ, β -БЛОКАТОРОВ И НЕСТЕРОИДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ В УСЛОВИЯХ ЛИГАНДОБМЕННОГО КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Колобова Е.А., Карцова Л.А., Бессонова Е.А., Сафонова Е.А., Алопина Е.В.

Институт химии, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
ekatderyabina@mail.ru

Многие синтетические лекарственные препараты существуют в виде смеси изомеров, по-разному воздействующие на организм человека. В связи с этим контроль энантиомерной чистоты лекарственных средств крайне важен.

В работе изучалась возможность применения ионных жидкостей (ИЖ) на основе имидазола в качестве хирального селектора при разделении энантиомеров аминокислот, β -блокаторов и НПВС в условиях ЛОКЭ. Для этой цели была синтезирована ионная жидкость по схеме:



Введение хиральной ИЖ в фоновый электролит, содержащий соли меди(II), сопровождалось образованием комплекса между ИЖ, металлом и энантиомерами аналитов, обеспечивая разделение последних (Прибор для капиллярного электрофореза «Agilent 7100», США; условия разделения: фоновый электролит – 50 мМ NaOH, 20 мМ C₄MImL-Pro, 10 мМ CuCl₂; U=15 кВ.). Достигнуты факторы энантиоселективности 1,05–1,20.

Применение в качестве металла-комплексобразователя ионов цинка в аналогичных условиях также вызвало подобный эффект, но с меньшими значениями факторами разрешения и эффективности.

ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ МИКРОКАПСУЛЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ pH ПОЛОСТИ РТА

Колонтаева О.А., Бурмистрова Н.А.

ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»,
Саратов, Россия
kolontaevaao@mail.ru

Капсулирование веществ различной природы в нано- и микрочастицы одно из приоритетных направлений современной химии. В настоящее время разработаны подходы к инкапсулированию белков, ферментов, лекарственных препаратов в нано структуры. Одной из таких задач является определение pH полости рта и, как следствие, более тщательной гигиены, обнаружения в труднодоступных местах остатков пищи, которые при брожении смещают pH в область кислых значений.

На поверхности эмали в течение длительного времени создаётся критически низкое значение pH (<6), что приводит к деминерализации эмали и возникновению кариеса. Контроль показателя pH позволяет предотвращать разрушение зубной эмали. В этой связи интерес представляет включение кислотно-основных индикаторов, значения перехода pH которых лежит в области биологических значений (pH слюны), в микрокапсулы и структуры ядро-оболочка.

Целью данной работы явилась оценка возможности капсулирования кислотно-основных индикаторов в структуру ядро-оболочка различными методами и применение микрочастиц в составе зубной пасты для оценки pH ротовой полости.

В качестве объектов исследования выбраны индикаторы сульффталеинового ряда: бромтимоловый синий (БТС), крезоловый красный (КК), пирокатехиновый фиолетовый (ПКФ), бромфеноловый синий (БФС), бромпиригалловый красный (БПК). Капсулирование проводилось различными методами (капсулирование в момент образования ядер, адсорбция на ядро, в полиэлектролитную оболочку, полую капсулу) самого индикатора и в виде комплекса с полиэлектролитами.

Установлено, что эффективность включения ПКФ, БФС и БПК не зависит от способа капсулирования, индикаторы прочно связываются с микрочастицами. Слабое связывание БТС и КК с микрочастицами не позволяет включить их в структуры ядро-оболочка. Показано, что строение индикаторов влияет на эффективность включения. Большая эффективность загрузки наблюдалась для лакмуса.

Устойчивые к вымыванию и интенсивно окрашенные микрочастицы, содержащие лакмус включали в зубные пасты различного состава: основу зубной пасты без абразива, в основу, содержащую CaCO_3 и основу с SiO_2 . Результаты показали, что при внесении микрочастиц в пасту без абразива и содержащую SiO_2 и последующем внесении в буферные растворы, слюну происходит изменение окраски зубной пасты в течение незначительного времени (~ 25–30 сек). Внесение частиц в пасту с карбонатом кальция наблюдается сдвиг в основную область индикатора, причиной которой может служить гидролиз абразивных микрочастиц.

КАПСУЛИРОВАНИЕ КАК МЕТОД АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ЙОДА В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА

Колонтаева О.А., Бурмистрова Н.А.

ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»,
Саратов, Россия
kolontaevaao@mail.ru

Адресная доставка веществ имеет ряд преимуществ, как в экономическом плане, так и в возможностях применения. ПМК обычно применяют для инкапсуляции биоактивных химических веществ с целью доставки лекарств, например, в противоопухолевой терапии, для сохранения витаминов и т.д. Одной из важнейших задач для фармацевтики и медицины является адресная доставка йода.

Биологические свойства йода многообразны. Йод обладает антибактериальной и антивирусной активностью, которые используются в качестве важнейшей характеристики лекарственных антисептических препаратов. Наибольшее биологическое значение йода проявляется в роли микробиоэлемента, заключающееся в обеспечении нормального состояния и функционирования щитовидной железы. Однако использование йода ограничивается его токсичностью (смертельная доза 3 г). Поэтому для этих целей целесообразно использовать менее токсичные комплексные соединения йода; уникальность широкого спектра антимикробного действия стимулирует поиски соединений йода, обладающих меньшей токсичностью при сохранении антимикробных свойств.

Включение йода в микрокапсулы представляет интерес с двух позиций: с одной стороны в качестве доставки лекарственного средства в заданное место с пролонгированным высвобождением йода, с другой стороны – использование рентгеноконтрастных свойств йода для контроля за движением микрокапсул в кровеносной системе.

Целью данной работы является получение и исследование свойств полиэлектролитных микрокапсул, созданных на основе комплексообразования йода с высокомолекулярными соединениями.

В работе были использованы комплексы йода с крахмалом, поливиниловым спиртом и хитозаном, характеризующиеся высокими константами устойчивости и нетоксичностью по сравнению с молекулярным йодом. Капсулирование проводили методом полиионной самосборки на основе кальций карбонатных ядер с биосовместимыми полиэлектролитами (полиаллиламин гидрохлоридом, полистиролсульфонатом натрия, хитозаном). Изучено влияние различных факторов (температурный режим, время и метод инкапсуляции, концентрации веществ) на эффективность включения комплексов в состав ядро-оболочка.

Показано, что лучшей сорбцией на ядра и в полиэлектролитные капсулы обладает комплекс йод – хитозан. Величина загрузки йода рассчитывалась по спектрам поглощения растворов и составляет порядка 10^2 мкг на 1 г ядер CaCO_3 для всех комплексов.

Значение загрузки йода позволяет использовать полученные микрокапсулы в качестве лекарственных средств с пролонгированным выделением йода.

АНАЛИЗ ПЕПТИДОМА МОЗГА МЫШИ КАК ПОДХОД К ВЫЯВЛЕНИЮ НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ

Копылов А.Т., Таланова А.В., Егорова Е.А., Колесанова Е.Ф.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»,
Москва, Россия
bionasty@mail.ru

Современные технические возможности масс-спектрометрии в сочетании с ультравысокоэффективной жидкостной хроматографией позволяют проводить анализы сложных смесей пептидов с установлением их первичной структуры путём MS/MS анализа. Одну из таких сложных смесей представляет водно-органический экстракт головного мозга. В 1970–1980 гг. анализы подобных экстрактов мозга и других тканей позволили выявить нейроактивные пептиды энкефалины, эндорфины, вещество Р и многие другие. Использование современных технических возможностей для анализа экстрактов органов и тканей позволит, с одной стороны, полнее исследовать их белковый метаболитом, а с другой – выявить ранее не известные соединения, обладающие биологической активностью. Особый интерес представляют короткие и/или модифицированные пептиды, на основе которых могут быть разработаны новые соединения с фармакологической активностью.

Цель. Определить первичные структуры пептидных компонентов водно-органических экстрактов мозга мышей (пептидом мозга мыши), выявить половые различия пептидомов. Оценить влияние ингибитора металлопептидаз о-фенантролина на пептидом экстракта мозга мышей с целью возможной коррекции методики подготовки экспериментального материала.

Методы. В опытах использовали взрослых интактных мышей, самцов и самок. После извлечения из черепной коробки мозг промывали в физиологическом растворе, содержащем или не содержащем 5×10^{-4} М о-фенантролина, необратимого ингибитора металлопептидаз, и замораживали при -80°C . Пептид-содержащие экстракты мозга получали путём гомогенизации ткани мозга в 90%-ном водном ацетонитриле с 2,5% муравьиной кислоты и содержащем или не содержащем 5×10^{-4} М о-фенантролина с последующим центрифугированием. Экстракты упаривали и после повторного растворения проводили ВЭЖХ-МС/МС анализ с ионизацией электро-распылением.

Результаты. В экстрактах мозга мышей с помощью ВЭЖХ-МС/МС анализа были выявлены разнообразные пептидные компоненты длиной от 2 до свыше 40 аминокислотных остатков. Обнаружена значительная вариабельность индивидуальных пептидомов экстрактов мозга. Тем не менее выявлены половые особенности пептидома. Присутствие ингибитора металлопептидаз о-фенантролина в составе растворителя для экстракции приводило к уменьшению в пептидоме числа выявляемых коротких пептидов. Поиск возможных биологически активных пептидов в составе полученного пептидома экстракта мозга мыши с помощью базы данных EROP Moscow выявил небольшое количество известных биологически активных пептидов в составе пептидома. Ряд этих пептидов ранее в составе мозга мыши не выявлялся.

Выводы. ВЭЖХ-МС/МС анализ водно-органических экстрактов мозга мышей выявил в их составе большое количество разнообразных пептидов. Продемонстрирована индивидуальная вариабельность пептидомов и их половые особенности. Использование в составе экстрагирующего раствора ингибитора металлопептидаз способствует сохранению большего числа пептидов средней длины.

Работа выполнена в рамках государственного задания «Поиск фармакологических мишеней и создание биологически активных соединений» (0518-2014-0003).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАСТВОРИМОСТИ АМИНОПРОИЗВОДНЫХ ДЕЙТЕРОПОРФИРИНА И ХЛОРИНА е6 В ВОДЕ, ВОДНЫХ РАСТВОРАХ HCl И ТЕТРАОКСАЛАТНОМ БУФЕРЕ ПРИ 15-55 °С

Кручин С.О.,^{1,3} Кустов А.В.^{1,3}, Романенко Ю.В.³, Желтова Е.Н.², Березин М.Б.¹, Каримов Д.Р.^{1,2}, Макаров В.В.^{1,3}, Белых Д.В.⁴, Березин Д.Б.³

¹Институт химии растворов РАН, Иваново, Россия

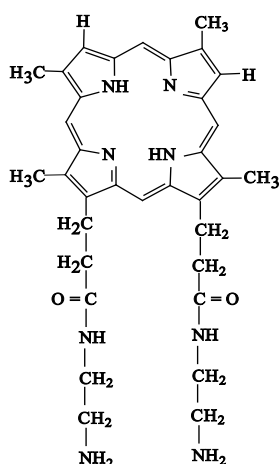
²Ивановская государственная медицинская академия, Иваново, Россия

³Научно-исследовательский институт макрогетероциклических соединений Ивановского государственного химико-технологического университета, Россия

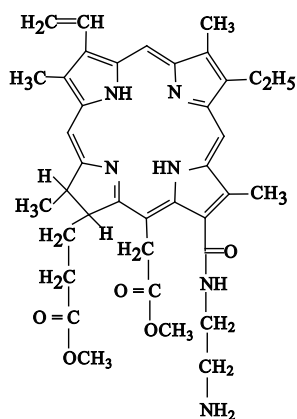
⁴Институт химии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

kustov@isuct.ru

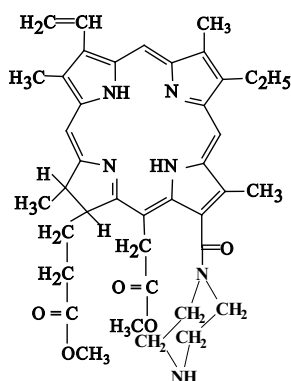
Фотодинамическая терапия – одно из наиболее быстро развивающихся направлений в лечении антибактериальных инфекций. В этой связи, интерес к исследованию свойств сенсibilizаторов, удовлетворяющих предъявляемым в клинике требованиям, постоянно растет. Нами были синтезированы фотосенсibilizаторы на основе аминопроизводных дейтеропорфирина IX (I) и хлорина е6 (II, III), содержащих гидрофильные фрагменты, которые могут быть использованы для создания перевязочных материалов, обладающих антибактериальным действием за счет генерации активных форм кислорода непосредственно на волокне. Соединения были идентифицированы методами видимой, УФ-, ¹H ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. Методом изотермического насыщения со спектрофотометрическим контролем определена их растворимость в воде, тетраоксалатном буфере (pH=1.68) и 0.01н водном растворе HCl (pH=2.2) при 15–55 °С.



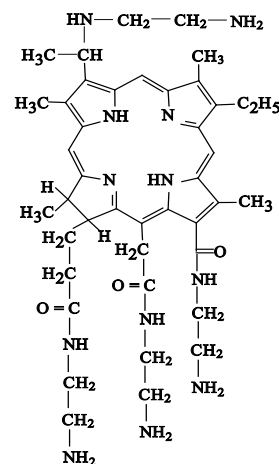
13,17-ди-*N*-
(2-аминоэтиламин)
дейтеропорфирина-IX (I)



13-*N*-
(2-аминоэтил) амид
15,17-диметилового
эфира хлорина е₆ (II)



13 (1)-пиперазинаминд-
15(2),17(3)-диметиловый
эфир хлорина е₆ (III)



3-(1-этилендиамино)-
этил-13,15,17 *N,N',N''*-
(2-аминоэтил) триамид
хлорина е₆ (IV)

Обнаружено, что соединения (I-III) в воде практически не растворимы. Четырехзамещенный хлорин, в свою очередь, обнаруживает высокую растворимость, и для него концентрация насыщенного водного раствора составляет ~ 0.1 моль/кг, что дает прекрасные перспективы для получения ярко окрашенных текстильных материалов. Использование кислых растворов, эффективно протонирующих концевые аминогруппы и центральные атомы азота макроциклов, резко увеличивает растворимость, достигающую для соединений (I-III) в зависимости от используемого растворителя и температуры величины 5·10⁻⁵- 3·10⁻⁴ моль/кг. С увеличением температуры растворимость в кислых средах падает, что связано с уменьшением основности макрогетероциклов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 15-13-00096)

РАЗРАБОТКА АНАЛИТИЧЕСКОЙ ТЕХНИКИ ПРЕЦИЗИОННОЙ РАННЕЙ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ

Крыльский Д.В.¹, Гуцин А.П.¹, Гуцин С.А.¹, Дежуров С.В.¹, Моренков О.С.²,
Гладышев П.П.³, Васильев А.А.⁴

¹ФГУП НИИ прикладной акустики, Дубна, Московская область, Россия

²Институт биофизики клетки РАН (ИБК РАН), Пущино, Московская область, Россия

³Международный университет природы, общества и человека «Дубна», Дубна, Московская область, Россия

⁴Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

krdvmail@mail.ru

Федеральным медико-биологическим агентством (ФМБА) России разработана концепция контроля и предупреждения биологических угроз на территории Российской Федерации, предусматривающая трехуровневую структуру биологического контроля. Общим принципом оснащения лабораторий всех уровней является стандартизация оборудования, реагентов и материалов, стандартных протоколов исследования. При выявлении доминирующего возбудителя базовые лаборатории должны координировать сбор материала и проведение первичных исследований мобильными лабораториями. Также выдвигается требование соблюдения единой Политики информационной безопасности.

Целью настоящей работы являлась разработка новой роботизированной аналитической платформы двухуровневой прецизионной ранней иммунохроматографической диагностики, отвечающей требованиям ФМБА.

Устройство первого уровня предназначено для проведения разовых анализов «point-of-care», т.е. по месту возникновения заболевания. Содержит платформу для одновременно размещаемых тест-полосок до 5 шт; блок отбора и микродозирования проб на тест-полоски; блок детектирования; микропроцессорную систему управления. Режимы работы – ручной, полуавтоматический и автоматический. В автоматическом режиме задача оператора – поместить микропробирки с образцами в гнезда и запустить программу. Тем самым минимизируются риски контаминации образцов и ошибок при проведении анализа. Тип флуоресцентных меток – коллоидные квантовые точки (КТ) с пиком люминесценции от видимой до ближней ИК-области (600–800 нм). КТ в качестве меток имеют ряд преимуществ по сравнению с коллоидным золотом и органическими флуорофорами. Система возбуждения – УФ светодиод или лазер 365–480 нм; тип детектирующего устройства – спектрометр с рабочим диапазоном 500–800 нм на основе ПЗС-линейки TCD1304DG «Toshiba». Предусмотрена возможность считывания RFID меток образцов и передача результатов анализа на внешний компьютер. Предусмотрены режимы вывода результатов анализа на дисплей, либо отсылки на внешнее устройство без ознакомления оператора – в рамках политики информационной безопасности. Имеется система термостатирования (подогрева) тест-полоски с точностью ± 1 °С. Конструктивно устройство выполнено в пластиковом кейсе для переноски.

Для испытаний и комплексной проверки созданной техники планируется разработать образцовую тест-систему для выявления модельного вируса – апатогенного для человека вируса болезни Ауески и антител к этому вирусу, которая может быть прототипной при разработке тест-систем для диагностики других заболеваний.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда в рамках гранта № 15-19-00229.

СОЗДАНИЕ ВЫСОКОСЕЛЕКТИВНЫХ ПОЛИМЕРНЫХ СОРБЕНТОВ ДЛЯ ОЧИСТКИ КРОВИ

Лешинская А.П.¹, Ежова Н.М.¹, Писарев О.А.^{1,2}

¹Институт высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский государственный политехнический университет, Санкт-Петербург, Россия

Nastya.Leshinskaya@gmail.com

Самыми эффективными методиками очищения крови пациентов от токсинов в современной медицине являются методы экстракорпоральной детоксикации. Разработка методов синтеза биоспецифических сорбентов для эфферентной терапии является актуальной. Современным подходом к получению высокоселективных сорбентов является метод молекулярного импринтинга. При синтезе в смесь сомономеров и сшивателя добавляется молекула целевого вещества (темплат). После синтеза темплат извлекается из полимерной сетки, образуя высокоспецифическую комплементарную полость. В данной работе для синтеза в качестве сомономеров были выбраны биогенные соединения диметакрилат этиленгликоля (ДМЭГ) и 2-гидроксиэтилметакрилата (ГЭМА), в качестве темплата использовалась мочевиная кислота (МК, уремический токсин). Целью работы являлось исследование условий синтеза на формирование структуры и сорбционную емкость новых полимеров. Были синтезированы молекулярно импринтированные полимеры (МК-МИП-1

и МК-МИП-2) и контрольный полимер сравнения (КП), В табл.1 приведены их основные физико-химические характеристики. Изучение сорбции из водных растворов МК показало, что сорбенты МК-МИП-1 и МК-МИП-2 способны извлекать МК (в сравнении с КП) с большей равновесной сорбционной емкостью, что свидетельствует о наличии высокоспецифических сайтов связывания. Сорбент МК-МИП-1 способен извлекать МК из физиологического раствора с максимальным значением сорбционной емкостью – 20 мкмоль/г, а МК-МИП-2 – 25 мкмоль/г.

Таблица 1. Синтез высокоселективных полимеров на основе ГЭМА и ДМЭГ.

№	Полимер	Соотношение мономеров моль%		Масс. выход %	масс. % введения МК	% удаления МК	ρ , г/см ³	$K_{наб}$	пороген об.%
		ГЭМА	ДМЭГ						
1	КП	50	50	98	-	-	0,56	1,1	-
2	МК-МИП-1	50	50	95	30	90	0,59	1,4	гептан 10
3	МК-МИП-2	50	50	95	30	82	0,46	1,9	гептанол30

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (код проекта № 15-03-07968).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ ФТОРИДОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА НАСЕЛЕНИЕ

Лисецкая Л.Г.

ФГБУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», Ангарск, Россия
Lis_lu154@mail.ru

Всемирная ассамблея здравоохранения приняла резолюцию, призывающую ВОЗ и ее государства-члены признать безопасность пищевых продуктов в качестве основной функции общественного здравоохранения (ВОЗ, Женева, 2003). Повышение уровня безопасности для здоровья продовольственного сырья и непосредственно влияет на снижение заболеваемости населения (Онищенко Г.Г., Тутельян В.А., 2006, 2007). Оценка воздействия химических веществ на здоровье населения предполагает учет поступления веществ в организм всеми возможными путями, в том числе с продуктами питания, а также измерение содержания токсиканта в биологических средах.

Нормативными документами, регламентирующими оценку химической безопасности пищевого сырья и пищевых продуктов предусмотрено определение небольшого перечня контаминантов, общих для всех регионов РФ (свинец, мышьяк, кадмий, ртуть, медь, цинк, нитраты, пестициды, радионуклиды). Однако на конкретных территориях могут быть и другие специфичные загрязнители. Региональной проблемой гигиенической безопасности населения, обусловленной биогеохимическим окружением и загрязнением почв Иркутской области, является контаминация сельскохозяйственной продукции фтористыми соединениями (Савченков М.Ф., 2006, 2008, 2011). В связи со сказанным представляется очень важным оценка содержания фтора в пищевом сырье и продуктов, произведенных на территории Иркутской области, для характеристики воздействия на здоровье населения. Однако методики определения фторидов в пищевом сырье и пищевых продуктах в нормативных документах и в доступной литературе не найдено.

Целью настоящей работы является разработка доступной и информативной методики определения фторидов в пробах картофеля – основного сельскохозяйственного растительного продукта питания.

За основу предлагаемой методики взят потенциометрический метод анализа с использованием фторселективного электрода. Основной задачей при разработке методики явилось проведение адекватной пробоподготовки, позволяющей разрушить органическую матрицу, перевести пробу в раствор и отделить от мешающего влияния катионов. Поставленные задачи решали предварительным озолением проб в платиновых тиглях, растворением остатка в адекватном растворителе и удалением мешающего влияния катионов.

Методика апробирована при анализе проб картофеля, взятого из районов с различной фтористой нагрузкой. Содержание фторидов в исследованных пробах колеблется от 0,04 до 0,26 мг/кг.

Методика определения фторидов в продуктах питания позволит более точно рассчитать нагрузку при оценке рисков.

**СПЕКТРОМЕТР ПОЛНОГО ВНЕШНЕГО ОТРАЖЕНИЯ С РЕНТГЕНОВСКИМ
ВОЛНОВОДОМ-РЕЗОНАТОРОМ (РФА ПВОВР) –
ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ПРИБОР ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Лукьянченко Е.М.¹, Егоров В.К.², Руденко В.Н.¹, Егоров Е.В.²

¹ООО «Полнос», Санкт-Петербург, Россия

²ИПТМ РАН, Черноголовка, Россия

emluk@mail.ru, egorov-iptm@mail.ru

Применение рентгеноспектрального анализа для исследования биологических объектов имеет давнюю историю с начала 70-х годов, и в основном, это были исследования на электронно-зондовых микроанализаторах с тщательной и сложной подготовкой образцов, которые помещались в высокий вакуум и должны были покрываться тонким электропроводным слоем[1]. Метод полного внешнего отражения (ПВО) идеально подходит для анализа малых количеств вещества с минимальными концентрациями элементов, особенно, новый метод РФА ПВОВР с рентгеновским волноводом-резонатором[2]. Достоинства РФА ПВОВР заключаются в высокой плотности возбуждающего потока излучения, в простоте пробоподготовки и измерения объекта без вакуумирования измерительного объема, возможности изменения режима исследования и простоте манипулирования образцом в процессе исследования объекта.

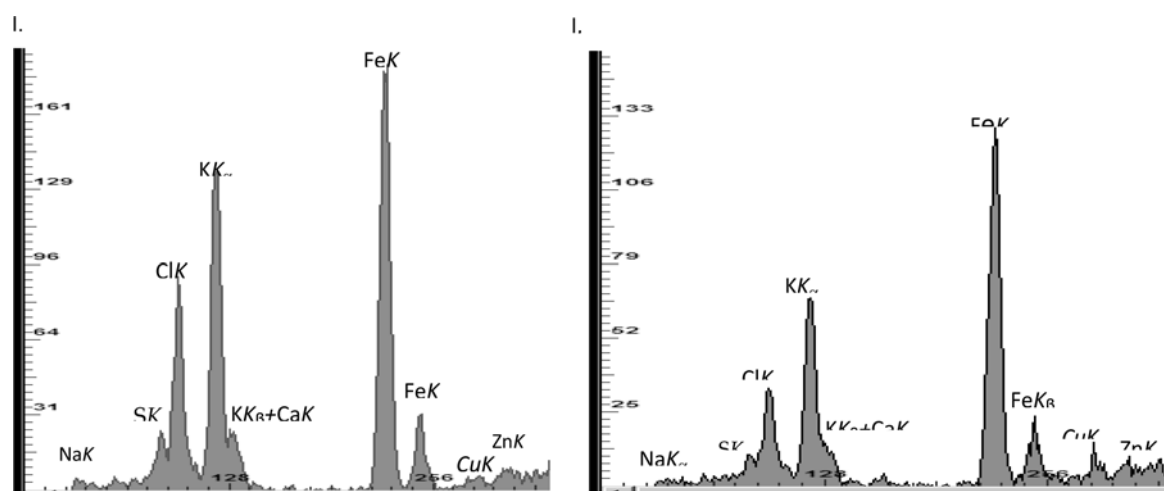


Рис. Спектры крови здорового человека (слева) и больного анемией (справа). Соотношение $P=I_{Fe}:I_K$ (слева $P=2.00$, справа $P=1.34$).

Нами исследованы образцы крови и биологических объектов. При исследовании крови оценены соотношения интенсивности линий железа и калия в крови здорового человека и страдающего анемией (рис.). Соотношение у больного анемией значительно ниже (1,34), чем у здорового (2,0). Была исследована кровь у трех поколений семьи, где средний возраст страдает анемией. Результаты интересны сравнением вышеназванных соотношений. Метод ПВОВР может применяться для различных областей медицины, вплоть до судебно-медицинской экспертизы, где чувствительность анализа путем адсорбирования на твердых адсорбентах может быть доведена до десятых и сотых долей ppb[3].

1. Н.Б. Пивоварова, А.П. Таганцева, Е.М. Лукьянченко, А.А. Марченко, И.В. Буровина «Количественный микроанализ биологических образцов на микроанализаторе SEMQ(FRL)», Ленинград, Аппаратура и методы рентгеновского анализа, 1980, вып.23, с.56-66.
2. Лукьянченко Е.М., Егоров В.К., Руденко В.Н., Егоров Е.В «Особенности РФА с полным внешним отражением в схеме с волноводом резонатором» II Съезд аналитиков России, Москва, 23-27 сентября 2013 г. с. 98.

ВОЗМОЖНОСТЬ ДИАГНОСТИРОВАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫМИ МЕТОДАМИ

Мазницына Е.А., Еменова А.Ю., Платонов И.А., Никитченко Н.В.

Самарский государственный аэрокосмический университет имени академика С.П.Королева
(национальный исследовательский университет), Самара, Россия

Несмотря на значительные успехи современной медицины, поиск методов профилактики и лечения различных заболеваний остается актуальным. Качественная диагностика заболеваний необходима для раннего выявления отклонений в работе организма, определения факторов риска различных заболеваний и назначения грамотного лечения. Для диагностики многих болезней применяют биохимические, молекулярно-генетические методы. В диагностике наследственных болезней важнейшую роль играют и хроматографические методы. Это обусловлено тем, что современный арсенал хроматографических технологий чрезвычайно широк и позволяет эффективно и информативно разделять сложные многокомпонентные смеси, к которым, в том числе, относится и биологический материал. Для количественного анализа маркеров-метаболитов успешно применяются такие хроматографические методы как газовая и высокоэффективная жидкостная хроматографии, а также хромато-масс-спектрометрия. Газовая и высокоэффективная жидкостная хроматографии являются универсальными методами разделения сложных смесей соединений, отличаются высокой чувствительностью и воспроизводимостью. Хроматографические методы применяются достаточно широко и в современной медицине с их помощью определяют белковые фракции сыворотки крови, уровень сахара в моче, концентрации тех или иных лекарственных препаратов в сыворотке крови.

В настоящем исследовании был проведён ГХ-МС анализ вагинальной жидкости с целью определения моносахаридов для диагностики заболеваний и оценки эффективности пребиотика из растительных моносахаридов для лечения бактериального вагиноза.

В ходе выполнения работы были подобраны оптимальные способы пробоподготовки с использованием дериватирующих агентов, а также оптимальный режим проведения качественного и количественного анализа.

Подготовка проб к анализу осуществлялась путем высушивания 10 см³ вагинального смыва при температуре 30°C в течение 24 часов для получения сухого остатка; затем получение триметилсилильных (ТМС) производных моносахаридов по следующей схеме: навеску сухого остатка массой 35 мг обрабатывали 300 мкл смеси N, O-бис-(триметилсилил)ацетамида (BSA), триметилхлорсилана (TMCS), N-триметилсилилимидазола (TMSI) в соотношении 3:2:3 (Sylon BTZ, Supelco, США) и 40 мкл N, O-бис-(триметилсилил)-трифторацетамида (BSTFA, Supelco, США), далее смесь выдерживалась в вials при 80°C в течение 15 минут.

Полученные ТМС-производные исследовали на хромато-масс-спектрометре Agilent 7890A с масс-селективным детектором при температуре аналитического интерфейса 280°C и температуре испарителя 280°C. Разделение осуществляют на кварцевой капиллярной колонке HP-5MS длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, толщина пленки неподвижной фазы 0,25 мкм при программировании температуры: 120°C – 5 мин, 10°C/мин до 130°C – 0 мин, 3°C/мин до 210°C – 0 мин, 15°C/мин до 240°C – 0 мин, 3°C/мин до 265°C – 10 мин, 15°C/мин до 295°C – 15 мин, время анализа – 70 мин, скорость потока газа-носителя (гелия) – 1 см³/мин, средняя линейная скорость газа-носителя – 37,6 см/сек, диапазон сканирования m/z 45.0-350.0 а.е.м., объем вводимой пробы – 5 мкл. Для идентификации ТМС-производных моносахаридов по их масс-спектрам используется база данных NIST, входящая в состав штатной программы обработки данных масс-спектрометра.

Определяются 1,2,3,4,6-пентакис-О-(триметилсилил)-глюкопираноза, 2,3,4,5,6-пентакис-О-(триметилсилил)-D-галактоза, тетракис (триметилсилиловый) эфир L(-)-фукозы, 5ТМС глюкоза, 5ТМС D-галактоза, 1,2,3,4-тетракис-О-(триметилсилил)-.beta.-D-ксилопираноза, 1,2,3,4,6-пентакис-О-(триметилсилил) гексапираноза, 1,2,3,4,6-пентакис-О-(триметилсилил)-.alpha.-D-галактопираноза, 2,3,4,5,6-пентакис-О-(триметилсилил)-талоза, 2,3,4,5,6-пентакис-О-(триметилсилил)- D-манноза, пер-ТМС фукоза, 1,2,3,4,6-пентакис-О-(триметилсилил)-D-маннопираноза при норме и патологии.

Предлагаемый способ за счет большой чувствительности (до 0,005 мкг вещества) может быть использован для диагностики моносахаридов в вагинальной жидкости, состав которых клинически соответствуют дисбиотическим изменениям во влагалище.

СИНТЕЗ И ГЕНЕРАЦИЯ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА СЕНСИБИЛИЗАТОРАМИ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ ХЛОРИНА e_6

Макаров В.В.^{1,2}, Кручин С.О.^{1,2}, Березин М.Б.¹, Каримов Д.Р.^{1,3}, Романенко Ю.В.²,
Белых Д.В.⁴, Венедиктов Е.А.¹, Кустов А.В.^{1,3}, Березин Д.Б.²

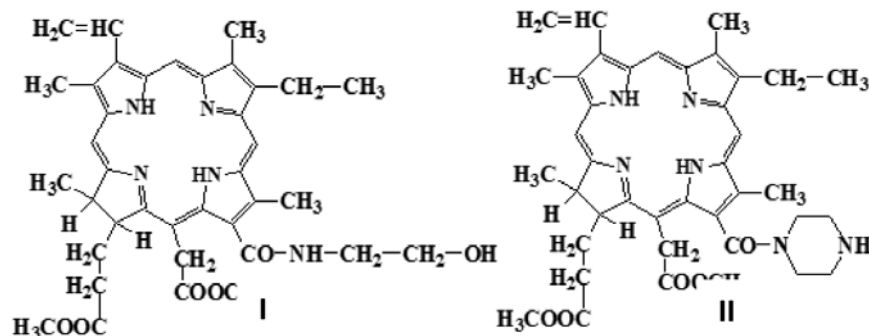
¹Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, Иваново, Россия

²Ивановский государственный химико-технологический университет, НИИ макрогетероциклических соединений, Иваново, Россия

³Ивановская государственная медицинская академия, Иваново, Россия

⁴ Институт химии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – один из перспективных малоинвазивных методов лечения онкологических заболеваний, основанный на использовании окрашенных веществ – фотосенсибилизаторов (ФС), избирательно накапливающихся в опухоли и способных при облучении светом определённой длины волны приводить к её гибели. К ФС выдвигается широкий спектр требований – одновременная водо- и жирорастворимость, эффективная генерация синглетного кислорода, низкая токсичность и т.д. Для большинства химических соединений достигнуть одновременного выполнения перечисленных условий не удаётся, поэтому постоянно ведётся интенсивный поиск новых препаратов, обладающих необходимыми характеристиками.



Нами при действии аминов (этанолламин, пиперазин) на метилфеофорбид *a*, выделенный из водоросли *Spirulina*, при комнатной температуре в хлороформе путем неокислительного расщепления изоциклического кольца получены амидные производные хлорина e_6 (соед. **I**, **II**). Синтезированные соединения идентифицированы методами ¹H ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии.

Методом люминесцентной спектроскопии определены значения квантового выхода (ϕ_{Δ}) и времени жизни (τ_{Δ}) синглетного кислорода (табл.) хлоринов **I**, **II**.

Таблица. Фотофизические характеристики генерации синглетного кислорода

Соединение	Растворитель	ϕ_{Δ}^*	$\tau_{\Delta} \times 10^6, \text{с}^{**}$
I	DMF	0,30	20±1
I	OctOH-1	0,43	24±1
II	OctOH-1	0,62	18±1

* – квантовый выход ¹O₂ (ϕ_{Δ}); ** – время жизни синглетного кислорода (τ_{Δ}).

Показано, что химически модифицированные хлорины e_6 (соед. **I**, **II**) обладают выраженной способностью к фотоактивации молекулярного кислорода (табл.). 13-N-Пиперазиламид хлорина e_6 (д.м.э.) (соед. **II**) в н-октаноле показал на 44% более высокое значение квантового выхода ¹O₂ (ϕ_{Δ}^*) по сравнению с 13-N-(2-гидроксиэтил)амидом хлорина e_6 (д.м.э.) (соед. **I**), значения времени жизни синглетного кислорода (τ_{Δ}) близки в пределах погрешности (±30%).

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 15-13-00096).

ЭЛЕКТРОХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДОКСОРУБИЦИНА И ТЕТРАЦИКЛИНА В ВОДНОЙ СРЕДЕ

Макеева Д.А.¹, Ненашева М.В.¹, Ягов В.В.², Оленин А.Ю.¹, Королева М.В.², Ягова И.В.³

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Институт геохимии и аналитической химии им. В.И.Вернадского РАН, Москва, Россия

³Московский государственный медико-стоматологический университет, Москва, Россия

vlady@rambler.ru

Определение активных компонентов медицинских препаратов – важная задача, особенно для таких небезопасных веществ, как тетрациклины. В настоящей работе, по-видимому, впервые описана возможность определения доксорубицина и тетрациклина в водных растворах методом катодной электрохемилюминесценции (КЭХЛ).

КЭХЛ наблюдается на алюминиевом катоде, покрытом пленкой Al_2O_3 , под действием импульсов тока отрицательной полярности. При подходящей форме возбуждающего потенциала в потоке кислого носителя алюминиевый электрод устойчив практически неограниченное время и может работать в режиме детектора. При введении тетрациклинов в кислый носитель наблюдали слабый отклик с отношением сигнал/фон (S/B) порядка 10. Более эффективной оказалась инъекция слабощелочных растворов доксорубицина и тетрациклина к электроду; в этом случае S/B превышает 1000. Осуществлена оптимизация условий определения, в результате которой мы остановились на инъекции 1 мл аналита в водном растворе, содержащем 40 мМ Na_2CO_3 и 1 мМ $KBrO_3$, использовании 0.02 М H_2SO_4 в качестве элюента и времени сорбции 1 мин. В этих условиях возможно количественное определение доксорубицина (в диапазоне концентраций 35 – 1000 нМ) и тетрациклина (2 – 1600 нМ). Зависимость аналитического сигнала от концентрации линейна в указанных диапазонах концентраций. Пределы обнаружения для доксорубицина и тетрациклина составляют 25 нМ и 0.8 нМ, соответственно.

КЭХЛ сопоставляли с фотолюминесценцией (ФЛ) доксорубицина и тетрациклина. В отличие от КЭХЛ ФЛ обоих веществ в 40 мМ Na_2CO_3 менее интенсивна, чем в нейтральных и слабокислых растворах. Так же неожиданным является то обстоятельство, что обладающий менее интенсивной ФЛ тетрациклин характеризуется более яркой КЭХЛ. Отличия, видимо, связаны с хемосорбцией ароматических анионов, образующихся в Na_2CO_3 , на алюминиевом электроде. При концентрациях обоих аналитов, превышающих верхнюю границу области линейности, зависимость интенсивности КЭХЛ от концентрации выходит на насыщение. Это может быть связано как с ограниченной емкостью монослоя, так и с концентрационным тушением люминесценции, усиленным за счет концентрирования вещества на поверхности.

Механизм возбуждения КЭХЛ, вероятно, связан с образованием относительно устойчивых радикалов при анодном окислении доксорубицина и тетрациклина. Эти радикалы могут взаимодействовать с горячими электронами, в результате чего образуются возбужденные молекулы доксорубицина и тетрациклина, впоследствии излучающие избыточную энергию в виде квантов света.

Результаты позволяют считать метод КЭХЛ перспективным для экспрессного определения доксорубицина и тетрациклина, и, возможно, других ароматических соединений, образующих анионы в щелочной среде, в том числе активных веществ лекарственных препаратов.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 08-03-00987-а).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛИАЛКИЛГУАНИДИНОВ МЕТОДОМ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ НА ГРАНИЦЕ РАЗДЕЛА ДВУХ НЕСМЕШИВАЮЩИХСЯ РАСТВОРОВ ЭЛЕКТРОЛИТОВ

Мартынов Л.Ю., Наумова А.О, Зайцев Н.К.

Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

martynov_leonid@mail.ru

Бактерицидные средства на основе олигогексаметиленгуанидинов (ОГ-МГ) находят все возрастающее применение в медицине, ветеринарии, косметологии, а также при очистке воды и воздуха в жилищно-коммунальном хозяйстве. Аналитическое определение ОГ-МГ имеет ряд сложностей, обусловленных недостаточной точностью и чувствительностью используемых методик.

Для определения содержания ОГ-МГ предложен метод вольтамперометрии (ВА) на границе раздела двух несмешивающихся растворов электролитов (ГРДНРЭ) с использованием нового ионоселективного вольтамперометрического сенсора на основе мембраны из полиэтилентерефталата (ПЭТФ), в которой с помощью фемтосекундного лазера была проделана перфорация из 100 микроотверстий диаметром 22 мкм.

В работе использовали 4-х электродную электрохимическую цепь, схема которой представлена в табл. 1. Все измерения проводили на 4-х электродном вольтамперометрическом анализаторе «Экотест-ВА-4» (ООО «Эко-никс-Эксперт», Россия), управляемом с компьютера.

Таблица 1. Схема электрохимической цепи

Ag ЭС(О)	AgТФБСl	Органическая фаза: о-НФОЭ + ТДАТФБСl Pt-ВЭ (О)	мембрана ПЭТФ	Исследуемый водный раствор: $MgSO_4 \cdot 10^{-2}$ M,nX Pt-ВЭ (В)	3,5 М KCl	AgCl	Ag ЭС(В)
-------------	---------	--	------------------	--	-----------	------	-------------

О – органическая фаза; В – водная фаза; о-НФОЭ – ортонитрофенилоктиловый эфир; ЭС – электрод сравнения; ВЭ – вспомогательный электрод; ТФБСl – тетраakis-(4-хлорфенил)борат анион; ТДАТФБСl – тетраakis-(4-хлорфенил)борат тетрадодециламмония; X – ОГ-МГ, n – мг/л

В качестве анализируемого вещества был выбран полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГ-ГХ), являющийся распространенным компонентом отечественных дезсредств. С помощью разработанного сенсора подобраны оптимальные условия определения содержания аналита. Получена градуировочная зависимость, линейная в диапазоне 0,05-5,0 мг/л ($r^2=0,995$). Проведена проверка правильности анализа и оценены метрологические характеристики: предел обнаружения составил 0,01 мг/л, разброс между параллельными измерениями не превышал 8%. основании полученных результатов можно сделать вывод о перспективности применения ВА на ГРДНРЭ для определения ОГ-МГ целях санитарно-гигиенический контроля, табл.2.

Таблица 2. Результаты определения ПГМГ-ГХ методом ВА на ГРДНРЭ (P=0,95, n=5).

Определяемое вещество	Диапазон определяемых концентраций, мг/л	Предел обнаружения, мг/л	S _r , %
ПГМГ	0,05 – 5,0	0,01	0,08

СЕЛЕКТИВНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ В УРИНЕ АНТИДЕПРЕССАНТОВ МОНОАМИНОКСИДАЗНЫМИ БИОСЕНСОРАМИ НА ОСНОВЕ ЭЛЕКТРОДОВ МОДИФИЦИРОВАННЫХ НАНОМАТЕРИАЛАМИ

Медянцева Э.П., Брусницын Д.В., Ситдикова Р.Р., Будников Г.К.
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
Elvina.Medyantseva@kpfu.ru

Биосенсоры – аналитические устройства, которые все чаще используют в качестве высокочувствительного инструмента для уточнения или постановки правильного диагноза заболеваний, оценки эффективности терапевтического действия лекарственных препаратов. Для этих целей разработаны амперометрические моноаминоксидазные (МАО) биосенсоры, позволяющие селективно определять антидепрессанты (АД) в присутствии лекарственных веществ, относящихся к другим по природе и терапевтическому действию препаратам. Наиболее часто в качестве модификаторов биосенсоров применяют углеродные наноматериалы (многостенные углеродные нанотрубки – МУНТ, восстановленный оксид графена – ВГО) и наночастицы (НЧ) металлов (Au, Ag, Ni, Cu и другие), что связано с необходимостью улучшения аналитических и операционных характеристик при определениях лекарственных и токсичных веществ в биологических жидкостях.

В качестве модификаторов поверхности графитовых печатных электродов как основы биосенсоров предложены МУНТ, ВГО, НЧ Ni и Cu, полученные методами хроноамперометрии (ХА) и циклической вольтамперометрии. Использовали также НЧ Ag в растворах не модифицированных гиперразветвленных полиэфираполиолов (ГРПО) «Voltorn» 2-го и 3-го поколений при разных значениях pH. Размер НЧ металлов установлен УФ спектрофотометрией и микроскопическими методами (атомно – силовой – АСМ и сканирующей электронной микроскопией – СЭМ). Согласно АСМ – изображениям наибольшее значение шероховатости поверхности наблюдается в случае НЧ Ag, полученных в растворе ГРПО «Voltorn» 3-го поколения с pH 6. НЧ Ni, полученные в режиме ХА имеют преимущественно размер 22 нм, НЧ Ag в ГРПО «Voltorn» 3-го поколения с pH 10 – 8 нм. Изучены различные комбинации углеродный наноматериал – НЧ

металла методом спектроскопии электрохимического импеданса. Установлено, что наилучшими сочетаниями, согласно диаграмме Найквиста, являются ВГО – НЧ Ni и МУНТ – НЧ Ni, полученные в режиме ХА, что связано с наименьшим сопротивлением переносу электрона по сравнению с отдельными модификаторами (ВГО, МУНТ), т.е. в данном случае наблюдается синергетический эффект, связанный предположительно с природой НЧ металлов. Наилучшими аналитическими характеристиками обладают биосенсоры, имеющие в составе модифицирующих покрытий вышеперечисленные композитные сочетания.

Предложенные МАО биосенсоры с использованием рассмотренных модификаторов были использованы для селективного определения АД «Мелипрамина», «Коаксила», «Феназепам», «Налтрексона» в присутствии антибиотиков на примере «Веро-ципрофлоксацина», нестероидного противовоспалительного препарата «Найз», сосудорасширяющих и противоаллергических препаратов с S_r не более 0.075. Показана возможность определения АД как препаратов строгого учета в искусственной и натуральной моче в интервале концентраций 10^{-4} – 10^{-8} моль/л с нижней границей определяемых концентраций на уровне $n \times 10^{-9}$ моль/л, что имеет значение не только для медицинских целей, но и для судебной медицины и токсикологии.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 13-03-01101-а).

РАЗДЕЛЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ПАРАЦЕТАМОЛА МЕТОДОМ ОБРАЩЕННО-ФАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С ВНУТРЕННИМ ГРАДИЕНТОМ pH

Мурашова Т.Н.¹, Иванов А.В.²

¹Центр семейного здоровья «Энотера», Москва, Россия

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
sandro-i@yandex.ru

Хроматографическое разделение лекарственных препаратов представляет актуальную задачу при контроле качества фармацевтической продукции, проверке на фальсификат и т.д. Для решения этой задачи часто применяют градиентные методы элюирования, например, градиенты содержания органического модификатора или активного компонента, градиенты pH или ионной силы. Для создания внешних (доколоночных) линейных и ступенчатых градиентов pH за счет смешивания буферных растворов по определенной программе перед хроматографической колонкой требуется более сложное оборудование, чем для изократического варианта элюирования, что значительно повышает стоимость такого анализа. Кроме того, при создании внешних ступенчатых градиентов pH на хроматограмме могут возникать ложные пики, вызванные переключением элюентов с резко различающимися свойствами, что существенно осложняет интерпретацию результатов. Подобных недостатков лишено хроматофокусирование (ХФ) – хорошо разработанная к настоящему моменту техника формирования внутреннего градиента pH в слое сорбента, предварительно уравновешенного стартовым раствором, при пропуске через хроматографическую колонку буферного элюента при отличающемся pH.

ХФ традиционно используют для pH-градиентного разделения веществ биполярного строения (белков, пептидов, аминокислот и др.) на слабокислотных или слабоосновных ионообменных сорбентах, проявляющих буферные свойства. Полученные градиенты имеют линейную или квазилинейную форму. Нами показано, что внутренние градиенты pH можно формировать простыми элюентами на сульфокатионитах или на обращенных фазах. Технику ХФ на обращенных фазах интересно было бы применить для разделения компонентов лекарственных средств

В условиях pH-градиентного элюирования изучено удерживание компонентов парацетамола (ПФК «Обновление», г. Новосибирск; ОАО «Татхимфармпрепараты», г. Казань; ОАО «Лексредства», г. Курск); средства от кашля Максиколд (ОАО «Лексредства», г. Курск); жаропонижающего средства Эффералган-С («Bristol-Myers Squibb», Франция) при УФ-детектировании (220 нм). В составе средств Максиколд и Эффералган-С есть аскорбиновая кислота, поэтому проверяли ее удерживание. Выбраны условия формирования квазилинейных градиентов в интервале pH 3,1 – 6,8 на сорбентах Диасорб Д-130- C_{18} и Диасорб-100-CN-моно. Наиболее плавные квазилинейные градиенты получены при использовании 25 мМ KH_2PO_4 (pH 3,0) в качестве стартового раствора и 3 мМ KH_2PO_4 (pH 6,8-7,0) в качестве элюента. Плавный градиент pH на сорбенте C_{18} также может быть сформирован элюентом на основе 2,5 мМ KH_2PO_4 и 1,5 мМ Трис при создании невысокой ионной силы (до 0,01-0,02). Добавки CH_3CN (2,5–25 %) незначительно сказываются на профиле градиента pH, но позволяют улучшить форму хроматографических пиков. Для всех изученных препаратов получили узкие и симметричные пики парацетамола при pH 3,30 (16,2-16,5 мин), аскорбиновой кислоты и сорбитола, что говорит о фокусирующем эффекте.

Таким образом, техника ХФ применима для разделения компонентов лекарственных препаратов на сорбентах с обращенными фазами.

**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ
В ПОЧВАХ И РАСТИТЕЛЬНОЙ ХВОЕ С РАЗЛИЧНОЙ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ НАГРУЗКОЙ****Нартов А.С., Белянин М.Л.**Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Россия
Alximik13@sibmail.com

Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) являются сильными канцерогенами, относящимися к веществам 1 класса опасности. Образуясь в процессе неполного сгорания топлива, они аккумулируются в поверхностном слое почвы в виде частиц сажи и смолы. Существует несколько методик качественного и количественного определения ПАУ в почвах, однако большинство из них обладают существенными недостатками. Ввиду этого нами была разработана новая методика пробоподготовки и анализа ПАУ в почвах методом ГХ-МС, отличающаяся простотой исполнения и хорошими метрологическими показателями.

В данной методике в качестве экстрагента почв используют гексан (степень извлечения $\geq 97\%$), а количественные расчёты проводятся по градуировке (корреляция $\geq 99,4\%$), без использования дорогих внутренних стандартов, как в других методах), является высокочувствительной (предел обнаружения ПАУ $2 \cdot 10^{-3}$ мкг/кг при селективном сканировании по ионам 128, 178 и 202 m/z) в широком диапазоне концентраций ПАУ (от 2 нг/кг до 4 мг/кг).

С помощью разработанной методики нами были исследованы образцы почвы из районов г. Томска с различной экологической нагрузкой. Было показано, что содержание этих ПАУ в почве пригородной лесной зоны ниже предела обнаружения. Т.о., данную матрицу можно принять за фоновое содержание ПАУ. При сокращении расстояния до города (увеличение влияния антропогенного фактора), содержание ПАУ возрастает, хотя ещё и не превышает допустимых норм. Концентрация ПАУ в городских почвах согласуется с интенсивностью автомобильного движения вблизи исследованных участков, возрастая в районах с наибольшей загруженностью. Количественных корреляций между содержанием в образце различных ПАУ не обнаружено, однако при увеличении концентрации одного из исследуемых компонентов в образце неизменно возрастают концентрации остальных, причём, чем выше молекулярная масса ПАУ, тем, как правило, быстрее растёт его концентрация. В большинстве случаев концентрация нафталина ниже концентраций остальных ПАУ из-за его высокой летучести. Содержание фенантрена ниже концентрации антрацена, вероятно, из-за образования устойчивых димеров последнего и, как следствие, низкой микробиологической трансформации.

При изучении состава хвои пихты, произрастающей на исследованных загрязнённых почвах, в составе некоторых экстрактов также были обнаружены следовые количества ПАУ (фенантрена и антрацена).

Таким образом, в ходе проведённых работ была доказана применимость разработанной методики для достоверного количественного определения ПАУ в почвах и растительной хвое в областях с различной экологической нагрузкой, и продемонстрированы её преимущества перед большинством других аналитических методик. Методика также пригодна для контроля эффективности процессов и технологий микробиологической трансформации ПАУ в почвах с целью их рекуперации.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭТАНОЛА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ МЕТОДОМ ИК-СПЕКТРОСКОПИИ
В ЖИДКОЙ И ПАРОВОЙ ФАЗАХ****Нехорошева Д.С., Таги-заде Х.Б., Клименко Л.С.**ФГБОУ ВПО «Югорский государственный университет», Ханты-Мансийск, Россия
dafootka@outlook.com

В настоящее время этанол и его водные растворы находят широкое применение в фармацевтическом производстве и медицине. Повсеместно применяющиеся неселективные методы определения концентрации этанола в водных растворах [1] и воды в спирте [2] имеют значительные ограничения. Из селективных физико-химических методов определения различных спиртов в водных, водно-спиртовых и спиртовых растворах наиболее разработанным является газовая хроматография [3]. Кроме этого для количественного определения этанола разрабатываются электрохимические биосенсорные системы, с помощью которых предлагается анализировать различные вина и виноматериалы [4]. В связи с появлением водостойких оптических материалов объекты с высоким содержанием воды стали чаще исследоваться методом ИК-спектроскопии [5], что указывает на перспективность этого метода для селективного определения этанола в водных растворах.

Однако из-за образования водородных связей относительная погрешность определения этанола в водных растворах методом ИК-спектроскопии может достигать 10 % и более. Одним из путей решения этой проблемы является повышение температуры до 50-60 °С. В данной работе представлены результаты новой, разработанной нами, методики по определению содержания этанола в жидкой и паровой фазе методом ИК-спектроскопии.

ИК-спектры водных растворов этанола в диапазоне 4000-650 см⁻¹ и разрешением 4 см⁻¹ в жидкой фазе регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре «Nicolet 5700» фирмы «Thermo Electron Corporation» методом ОНПВО на кристалле селенида цинка, а в паровой фазе – на ИК-Фурье-спектрометре «Spectrum One» (PerkinElmer) с использованием газовой кюветы (оптический путь 50 мм) с окнами из селенида цинка.

Результаты проведенных экспериментов показали, что относительная погрешность определения этанола по данной методике в водных растворах составила 3%, а нижний предел определения составил 0,1% (мас.).

Литература

1. ГОСТ 3639-79. Растворы водно-спиртовые. Методы определения концентрации этилового спирта. – Введ. 1982–01–01. – М.: Изд-во стандартов, 2004. – I. – С. 1-7.
2. Макаровская Я.Н. Сопоставление газохроматографического метода определения малых содержаний воды в спиртах с титриметрическим ее определением по Фишеру / Я.Н. Макаровская, А.И. Федоров, Т.А. Бланк, В.А. Аверин, Л.П. Экспериандова // Методы и объекты химического анализа. – 2006, т. 1, № 2. С. 141–146.
3. ГОСТ Р 51786-2001. Водка и спирт этиловый из пищевого сырья. Газохроматографический метод определения подлинности. – Введ. 2002–07–01. – М.: ИПК Изд-во стандартов, 2001. – I. – С. 1–10.
4. Шкотова Л.В. Амперометричний біосенсор для аналізу етанолу у вині та у виноградному суслі під час його ферментації / Л.В. Шкотова, Е.А. Сластья, Т.А. Жиликова // Укр. біохім. ж. – 2005, Т. 77, № 1. – С. 96-103.
5. Yibin Y. Prediction of ethanol in bottled Chinese rice wine by NIR spectorscopy / Ying Yibin, Yu Haiyan, Pan Xingxiang, Lin Tao // Proc. SPIE. – 2006, Т. 6381. – С. 638108/1-638108/9.

РАЗРАБОТКА И ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ ИММУНОХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЕМКОСТНОГО ИММУНОСЕНСОРА

Новикова А.С., Белоглазова Н.В., Горячева И.Ю.

Саратовский Государственный Университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия
novikova.anastasiya.18@mail.ru

Наиболее востребованными и перспективными методами скрининга на сегодняшний день являются сенсоры, основанные на высокоаффинном и специфичном взаимодействии антиген–антитело. Поэтому целью работы стали разработка и оптимизация емкостного сенсора, основанного на измерении изменения емкости, позволяющего в перспективе реализовать удаленное детектирование.

Основные преимущества данного метода заключаются в небольших размерах прибора, высокой степени автоматизации и получении аналитического сигнала в режиме реального времени.

Принцип функционирования емкостного сенсора заключается в измерении диэлектрических свойств органического слоя, нанесенного на один из электродов конденсатора, в результате изменения его толщины и диэлектрических характеристик. В частном случае изменение диэлектрической константы является следствием поверхностной иммунохимической реакции антиген–антитело. Он включает золотой электрод с ковалентно – привитыми к нему антителами. Золотая поверхность электрода покрыта изолирующим слоем, препятствующим прохождению фарадеевского тока от металлической поверхности в раствор, а также слоем рецептора, иммобилизованного на поверхности этого слоя. В этом случае, при связывании молекул аналита с молекулами рецептора сольватированные ионы выталкиваются дальше от поверхности электрода таким образом, что приводит к изменению общей емкости системы.

В качестве распознающих элементов иммуносенсоров сопоставлены природные антитела и полимеры с молекулярными отпечатками. При использовании природных антител в качестве рецептора важно получить оптимальный изолирующий слой. Для оптимизации такого слоя мы использовали три различных покрытия на основе тирамина, 3-меркаптопропионовой кислоты и α -липоевой кислоты. Было установлено, что покрытие электрода данными органическими кислотами включает в себя меньше стадий и, следовательно, требует меньшего времени синтеза. Кроме того, молекулы 3-меркаптопропионовой и α -липоевой кислот содержат в своем строении тио-группу, благодаря которой осуществляется ковалентное связывание с поверхностью золотого электрода. В то время как для тирамина, необходима стадия электроосаждения в результате которой происходит образование анионов, которые взаимодействуют с поверхностью золота.

Разработанный метод использовали для обнаружения полициклических ароматических углеводородов в водных объектах. Показано, что полимеры с молекулярными отпечатками не проявляют в достаточной степени распознающей способности. А электрод модифицированный α -липоевой характеризуется более низким значением предела обнаружения Это может быть связано с лучшим взаимодействием молекул α -липоевой кислоты с поверхностью электрода, так как в ней присутствуют сразу несколько атомов серы.

Работа выполнена при поддержке Министерства Образования и науки РФ, грант 4.1708.2014/К.

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ АРКТИЧЕСКИХ БУРЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ ВИДА *FUCUS VESICULOSUS* И *LAMINARIA DIGITATA*

Овчинников Д.В., Боголицын К.Г., Каплицин П.А., Шульгина Е.В., Амосова А.С.,
Богданов М.В., Покрышкин С.А.

Северный (Арктический) федеральный университет, Архангельск, Россия
ovchinniko-deni@yandex.ru

Содержание липидов в бурых водорослях зависит от вида, географического положения, сезона, температуры, солености воды и интенсивности солнечного света. В среднем их содержание невелико и составляет 1-3%, основную массу составляют триглицериды жирных кислот. Принято считать, что бурые водоросли, растущие в умеренных или субарктических областях, могут накапливать омега-3 и омега-6 полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК). Являясь физиологически активными веществами, они принимают активное участие в обменных процессах, являются факторами роста, обладают антисклеротическим действием, участвуют в обеспечении нормального углеводно-жирового обмена, регулировании окислительно-восстановительных процессов, нормализации холестерина обмена.

Целью исследования является идентификация и определение содержания жирных кислот в бурых водорослях вида *Fucus vesiculosus* и *Laminaria digitata* Западного сегмента Арктики.

В ходе работы экстракция липидов осуществлялась смесью хлороформ-метанол. Получение метиловых эфиров жирных кислот проводилось путем омыления триглицеридов с последующей этерификацией в кислой среде в соответствии с ГОСТ Р 514886-99. Для проверки полноты этерификации, а также для количественного анализа в навеску водоросли вносились внутренние стандарты – нонадекановая кислота и метиловый эфир гептадекановой кислоты.

Анализ осуществлялся на газовом хроматографе 7820A GC System Maestro (Agilent Technologies) с пламенно-ионизационным детектором.

Исследуемые образцы водорослей содержат жирные кислоты в количестве около 0,4 процента (*Laminaria digitata*) и около 1,0 процента (*Fucus vesiculosus*) от массы воздушно-сухого образца водоросли. Основными насыщенными жирными кислотами являются миристиновая и пальмитиновая (до 1.5 мг/г), обнаружено незначительное количество стеариновой и арахидиновой кислот (до 0.1 и 0.02 мг/г соответственно). Кроме того, в обоих видах водорослей обнаружено относительно высокое содержание ω -3 жирных кислот – α -линоленовой, стеариδοновой, эйкозапентаеновой (0.5-1.0 мг/г для *Fucus vesiculosus* и 0.3-0.4 мг/г для *Laminaria digitata*) и ω -6 жирных кислот – линолевой и арахидиновой (1.1-1.3 мг/г для *Fucus vesiculosus* и 0.3-0.4 мг/г для *Laminaria digitata*). Также эти типы водорослей характеризуются высоким содержанием мононенасыщенной олеиновой кислоты (2.4 мг/г для *Fucus vesiculosus* и 1.1 мг/г для *Laminaria digitata*).

Таким образом, исходя из полученных данных, арктические бурые водоросли могут являться потенциальным источником полиненасыщенных жирных кислот.

Научно-исследовательская работа выполнена в рамках проектной части государственного задания Министерства образования и науки РФ в сфере научной деятельности № 4.1288.2014/К

Научно-исследовательская работа выполнена с использованием оборудования ЦКП НО «Арктика» Северного (Арктического) федерального университета имени М.В. Ломоносова при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (уникальный идентификатор работ RFMEFI59414X0004, соглашение № 14.594.21.0004 от 15 августа 2014 года).

КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ МЕДИ (II) ПРИРОДНЫМ СОРБЕНТОМ ХИТОЗАНОМ

Оскотская Э.Р., Чепелев С.В., Сенчакова И.Н., Осипова А.В.
ФГБОУ ВПО Орловский государственный университет, Орел, Россия

Количественное определение следов тяжелых металлов в объектах окружающей среды по-прежнему остается весьма актуальной аналитической задачей. Различные классы сорбентов широко используются для повышения чувствительности и снижения предела обнаружения следовых количеств определяемых ионов. Они часто применяются для концентрирования, разделения и эффективного извлечения элементов из большого объема пробы сложного состава.

Существует ряд фармацевтических препаратов, обладающих сорбционными свойствами, одним из которых является хитозан.

Химическая структура хитозана относит его к полисахаридам, мономером хитина, лежащего в основе данного препарата, является N-ацетил-1,4-b-D-глюкопиранозамин. Молекула хитозана содержит в себе большое количе-

ство свободных аминогрупп, что позволяет ему связывать ионы водорода и приобретать избыточный положительный заряд, и как следствие, хитозан обладает свойствами хорошего катионита. Кроме того, хитозан способен образовывать большое количество водородных связей, поэтому он может связывать большое количество органических водорастворимых веществ (бактериальные токсины и токсины, образующиеся в процессе пищеварения).

Данная работа является актуальной, в связи с тем, что сорбционные свойства хитозана, позволяют использовать его в качестве эффективного сорбента для извлечения неполярных соединений, ионов тяжелых металлов и т.д., что делает его перспективным для целей очистки и анализа реальных объектов.

Цель настоящего исследования: определение оптимальных условий сорбции ионов Cu (II) и сорбционной емкости сорбента хитозан в связи с возможностью использования в количественном анализе.

Исследуемый образец сорбента представляет собой порошок серовато-белого цвета, плохо растворимый в воде. Экспериментальным путем установлены оптимальные условия количественной сорбции ионов Cu (II) хитозаном: кислотность среды, время, температура и сорбционная емкость сорбента. Количественная сорбция ($R \approx 99\%$) происходит при постоянном перемешивании в нейтральной среде ($\text{pH} \approx 7$). Ион меди в двухвалентном состоянии может существовать как в нейтральных, так и в кислых растворах.

Нами были установлены следующие параметры сорбции ионов Cu^{2+} хитозаном: продолжительность сорбции 20 минут, оптимальное значение температуры сорбции 300C , сорбционная емкость $0,05 \text{ мг Cu}^{2+}/\text{г сорбента}$.

Изучены условия количественной десорбции меди (II) из фазы сорбента минеральными кислотами ($0,5\text{M HNO}_3$, 1M HNO_3 , 2M HNO_3 , $0,5\text{M HCl}$, 1M HCl , 2M HCl), которая достигается промывкой концентрата на бумажном фильтре «синяя лента» $5 \text{ мл } 2 \text{ M}$ раствора азотной кислоты.

В результате проведенного исследования определены оптимальные условия количественного концентрирования катионов меди (II). Эти данные положены в основу разрабатываемой методики определения микроколичеств меди (II), включающей предварительное концентрирование сорбентом хитозан.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ С ПОМОЩЬЮ ТЕСТ-СРЕДСТВ С ВИЗУАЛЬНОЙ ИНДИКАЦИЕЙ И ФОТОМЕТРИЕЙ

Островская В.М.¹, Полянская Е.О.²

¹Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия

²ГБУЗ Специализированная клиническая инфекционная больница, Краснодар, Россия

ostr@igic.ras.ru

При развитии фармацевтической промышленности возникли проблемы качества и подлинности лекарственных средств (ЛС) в клинической лаборатории, аптеке или у постели больного. Методы спектрофотометрии с помощью диазосоединений, вступающих в реакции азосочетания с лекарственными веществами (ЛВ), содержащими в молекулах гидрокси- и amino-арилгруппы, не отличаются селективностью. Реагенты такого типа относят к групповым [1].

Цель данной работы – создание более селективных методов индикации ЛВ органической природы, с помощью твердофазных хромогенных индикаторов.

Нами предложен подход к повышению селективности метода анализа с помощью хромогенного индикатора, ковалентно закрепленного на целлюлозе или силикагеле, в молекуле которого кроме ранее известной функциональной группы включена группировка, составляющая с функциональной группой и фрагментом определяемого ЛВ полидентатную координационную полость, обеспечивающую последующую селективную цветную реакцию комплексообразования с определенным металлом.

Созданы реагенты, содержащие диазоарилгруппу и раскрытоцепный фрагмент краун-эфира в орто-положении к этой группе в форме индикаторных бумаг и индикаторных порошков; например, индикаторная бумага

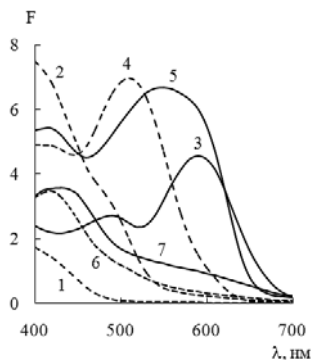


Рис. Спектры отражения: 1 – ИБ, 2 – соединение ИБ и тетрациклина, 3 – его коричневый комплекс с Fe^{3+} , 4 – соединение ИБ и пиридоксина, 5 – его сине-фиолетовый комплекс с Cu^{2+} , 6 – соединение ИБ и норадреналина, 7 – его оранжево-коричневый комплекс с Au^{3+} . Спектры сняты на миниспектрофотометре Eye-One Pro (X-Rite Inc), его масса $0,2 \text{ кг}$, окошко детектора диаметром 4 мм ; скорость снятия спектра – 5 с .

Проведено также полуколичественное определение этих ЛВ в растворах с чувствительностью определения на уровне $0,01 \text{ мг/мл}$. Соединения ИБ с амоксициллином, адреналином и другими ЛВ не дали подобных реакций с металлами.

(ИБ), содержащая 1-(2-диазо-5-нитрофенил)-1,5-диоксапентаноцеллюлозу. Содержимое таблетки, ампулы или порошка ЛС помещали в ячейку пластинки, добавляли растворитель, полученным раствором пропитывали эту ИБ, затем добавляли раствор металла. ЛВ, содержащие фенольную или анилиновую группировку, образовывали с ИБ азосоединения, окрашенные в оранжево-красные тона, а комплексы с металлами с цветовым переходом образовали лишь некоторые азосоединения (рис.).

Таким образом предложен способ определения подлинности ЛВ с помощью тест-методов на примере индикации тетрациклина, норадrenalина и пиридоксина.

Литература

1. Глушенко Н.Н., Плетнева Т.В., Попков В.А. Фармацевтическая химия. М.: Академия, 2004. 382 с.

ОЦЕНКА КОЛИЧЕСТВА ДИОКСИНОВ В ДЫМОВЫХ ГАЗАХ ИНСИНЕРАТОРОВ С ЦЕЛЬЮ СНИЖЕНИЯ ИХ ВЛИЯНИЯ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА

Петров В.Г.¹, Стомпель С.И.², Буков В.А.²

¹ФГБУН Институт механики УрО РАН, Ижевск, Россия

²ЗАО «Безопасные технологии», Санкт-Петербург, Россия

ipt@udman.ru

В настоящее время процессы высокотемпературного обезвреживания отходов и опасных веществ широко распространены как в России, так и за рубежом. Методом сжигания в разных странах уничтожаются такие опасные вещества и отходы, как реакционные массы детоксикации отравляющих веществ, медицинские отходы, различные виды промышленных отходов. Метод сжигания позволяет уменьшить количество отходов, снизить их токсичность, уничтожить возбудителей опасных заболеваний. В то же время исследования работы инсинераторов показывают, что продукты горения таких отходов имеют сложный химический состав, который включает, в том числе, галогенсодержащие вещества, что может привести к загрязнению атмосферы и прилегающих к установкам территорий диоксинами, диоксиноподобными соединениями, устойчивыми в окружающей среде, обладающими высокой токсичностью и влияющими на медицинские показатели здоровья человека.

На основании полученных термодинамических и кинетических характеристик реакции синтеза полихлорированных дибензо-п-диоксинов и дибензофуранов (ПХДД/Ф) авторами разработана методика количественной оценки образования диоксинов в различных узлах инсинераторов. Методика опробована при научно-технической экспертизе экологической безопасности работы промышленного инсинератора КТО-50, выпускаемого ЗАО «Безопасные технологии» (г. Санкт-Петербург) при вероятном образовании ПХДД/Ф. Конструкцией установки предусмотрено, что отходы сжигаются при температуре 850 – 950 °С и времени пребывания газов более 3 с. Далее происходит дожигание дымовых газов при температуре 1100 – 1200 °С, времени пребывания более 2 с и концентрации кислорода не менее 6 %. После этого происходит быстрое охлаждение дымовых газов в сухом скруббере до температуры 250 – 350 °С.

При количественной оценке образования ПХДД/Ф было установлено распределение диоксинов в различных узлах инсинератора КТО-50. Сравнение использования расчетного метода с результатами анализов дымовых газов методом хромато-масс-спектрометрии на содержание ПХДД/Ф приведено в таблице.

Таблица

Содержание ПХДД/Ф, пг/ нм ³	Расчетный метод	Результаты анализа
Общее количество	33,7	64,6
Содержание в токсическом эквиваленте к 2,3,7,8-ТХДД (ЭТ)	3,0	5,9

Проведенный анализ позволил сделать вывод, что содержание ПХДД/Ф в отходящих газах установки по сжиганию отходов КТО-50 значительно ниже существующих норм экологической безопасности инсинераторов (100 пг ЭТ/ нм³). Установка может быть рекомендована для обезвреживания отходов, при вероятном образовании ПХДД/Ф с соблюдением заявленного технологического регламента работы.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭКОАНАЛИТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ОПАСНЫХ ПРОМЫШЛЕННЫХ ОБЪЕКТОВ КАК ФАКТОР СОХРАНЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА

Петров В.Г.¹, Шумилова М.А.¹, Трубочёв А.В.², Лебедева М.Г.¹

¹ФГБУН Институт механики УрО РАН, Ижевск, Россия

²ФГБУН Удмуртский научный центр УрО РАН, Ижевск, Россия

udnc@udman.ru, ipm@udman.ru

Выбросы потенциально-опасных промышленных объектов являются фактором, во многом определяющим уровень безопасности окружающей среды. Учет и снижение их влияния на человеческий организм играет важную роль в сохранении и развитии здоровья человека. Способы контроля таких выбросов в большинстве случаев сводятся к тому, что анализ загрязняющих веществ в пробах проводится в специализированных лабораториях, зачастую значительно удаленных от источника выбросов, что ведет к существенному разделению между собой этапов мониторинга. Пробоподготовка соответствующих образцов является весьма трудоемким процессом в связи с тем, что имеются специальные требования для проведения анализа с помощью высокочувствительного аналитического оборудования, особенно в условиях низкого уровня воздействия особотоксичных химических веществ. С учетом загруженности лаборатории и большого числа анализируемых проб последующий отбор образцов в одной и той же территориальной точке и их анализ может быть осуществлен спустя продолжительное время. Приближенность во времени момента отбора пробы к технологическому событию имеет вероятностный, а не системный характер. В этом случае в природных объектах возможны различные трансформации загрязняющих веществ в соответствии с их химическими свойствами и биологической активностью, физическими и физико-химическими процессами в окружающей среде. Данные явления ведут к искажению результатов мониторинга.

Существующие методы мониторинга потенциально опасных промышленных объектов, как правило, не учитывают специфических особенностей поведения загрязняющих веществ в окружающей среде, к которым относятся такие процессы, как катионно-анионные обменные реакции в почвах и донных отложениях, диффузионные процессы, особенности миграции поллютантов в почвах под действием атмосферных осадков, динамика соотношений между их подвижными и неподвижными формами. Учет этих особенностей позволяет разработать новые принципы организации мониторинга загрязняющих веществ промышленных объектов, обладающих повышенной опасностью, например таких, как объекты по уничтожению химического оружия, атомные станции и др.

Авторами предложен метод контроля поллютантов в окружающей среде с использованием специальных устройств, фиксирующих загрязнение и позволяющих минимизировать воздействие некоторых природных факторов, что дает возможность создать более верную картину промышленного воздействия. Такой подход в организации мониторинга целесообразен для контроля фосфорсодержащих и мышьяксодержащих техногенных выбросов объекта по уничтожению ОВ в пос. Кизнер Удмуртской Республики. Метод может быть применен для контроля выброса радиоактивных веществ, в частности Cs_{137} , при инцидентах на АЭС, а также для контроля некоторых особотоксичных веществ на других промышленных производствах.

РАЗРАБОТКА ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОГО МЕТОДА ВЫДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ, НА МАГНИТНЫХ ЧАСТИЦАХ

Петров Д.Г., Князьков Н.Н., Макарова Е.Д., Малышин С.Н., Курочкин В.Е.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт аналитического приборостроения Российской академии наук (ИАП РАН), Санкт-Петербург, Россия

dimoon888@gmail.com

Целью работы является разработка методики обладающей высокой эффективностью выделения нуклеиновых кислот и пригодной для дальнейшей автоматизации процесса. Для достижения цели предлагается использовать некавитирующее ультразвуковое излучение, так как применение ультразвука повышает эффективность выделения нуклеиновых кислот.

Обычно, одним из путей повышения эффективности сорбции нуклеиновых кислот служит управление температурными параметрами процесса сорбции. Известно, что повышение температуры существенно влияет на кинетику физических и химических процессов (увеличение массопереноса за счёт броуновского движения). Поскольку температура влияет на сорбцию исключительно за счет броуновского движения, то направленный массоперенос в данном случае отсутствует, что в свою очередь уменьшает вероятность взаимодействия целевого продукта с сорбентом, что в конечном счёте сказывается на количестве выделенной НК.

В ряде публикаций показано, что создание в жидкости поля ультразвуковой стоячей волны меггерцового диапазона, может являться основой быстродействующего механизма массопереноса.

В данной работе исследована зависимость эффективности выделения НК от температурного и ультразвукового воздействия. Показано, что воздействие некавитирующего ультразвука меггерцового диапазона позволяет достичь эффективности выделения НК равной эффективности выделения с использованием температурного воздействия. Для данного объекта (плазмидная ДНК *m.tuberculosis*) оптимальным воздействием, около 2 Вт/см², удаётся достичь эффективности выделения близкой к 90 %.

ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИАНИЛИНА ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ МОРФОЛОГИИ ВНУТРЕННЕЙ ПОВЕРХНОСТИ ФОТОННО-КРИСТАЛЛИЧЕСКИХ ВОЛНОВОДОВ С ЦЕЛЬЮ ВЫСОКОТОЧНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНТРАФАКТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Пиденко С.А., Пиденко П.С., Бондаренко С.Д. Бурмистрова Н.А., Скибина Ю.В., Горячева И.Ю.

Саратовский Государственный Университет, Саратов, Россия

Уникальные оптические свойства фотонно-кристаллических волноводов (ФКВ) с поллой сердцевинной (ПС) делают их перспективной основой для создания конструктивных элементов сенсоров. Особенности спектральных характеристик данных ФКВ позволяют получать отклик на самые незначительные изменения показателя преломления среды, заполняющей структурные каналы волноводов. Для определения концентрации лекарственных препаратов и их подлинности можно использовать рефрактометрический метод, основанный на изменении показателя преломления раствора лекарственного вещества. С уменьшением количества определяемого вещества в растворе линейно уменьшается его показатель преломления, а значит, его значение можно связать с концентрацией лекарственного вещества в растворе. Применение этого подхода в сочетании с использованием ФКВ с ПС в качестве конструктивного элемента позволяет не только определить концентрацию искомого вещества, но и отличить лицензионный препарат от самых высококачественных контрафактных подделок.

Одним из важных параметров, влияющем на воспроизводимость результатов определения является качество и морфология внутренней поверхности ФКВ с ПС. Существующие не дорогие ФКВ с ПС, полученные на основе технического стекла, не всегда обладают достаточно выровненной внутренней поверхностью, что связано с технологией их получения и приводит к снижению точности и селективности анализа. Одним из методов улучшения качества и морфологии внутренней поверхности ФКВ с ПС является использование самоорганизующихся пленок полианилина (ПАНИ) которые нивелируют неровности поверхности с точностью до 20 нм.

Разработан метод нанесения плёнок ПАНИ устойчивого качества, толщиной до 100 нм, на образцы ФКВ с ПС, пригодные для использования в качестве конструктивных элементов сенсоров для анализа лекарственных препаратов.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект 14-13-00229.

ДЕТЕКТИРОВАНИЕ КАННАБИНОИДОВ В МОЧЕ И СЛЮНЕ С ПОМОЩЬЮ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТ – ПОЛОСОК

Райсян А.С.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

raysyan195@gmail.com

Иммунохроматографический анализ (ИХА), так называемые тест-полоски, является наиболее удобным и недорогим скрининговым методом на наркотики. Они отличаются высокой специфичностью, скоростью и простотой проведения, при этом они не требуют пробоподготовки или концентрирования субстрата. Тест-полоски позволяют за минимальное время определить групповую принадлежность токсиканта, а также проводить полуколичественное определение, основанное на цифровой регистрации интенсивности окрашивания тест-полосок

Было проведено исследование по определению эффективности иммунохроматографических тест-полосок (ABON Biopharm Co., Ltd, Китай и ОРАНАРК, Россия) для определения каннабиноидов в моче и слюне у людей, не состоящих на учете у наркологов, а также в качестве контроля у людей употребивших в пищевой продукт «Урбеч» содержащие в своем составе семена конопли. Для количественной регистрации резуль-

татов использовалась программа TotalLab TL 120 v2009 (www.totallab.com). В качестве стандартных растворов наркотиков для калибровки использовались стандартные растворы на каннабиноиды фирмы Abbott (США). Образцы мочи и слюны, содержащие каннабиноиды выше пороговой концентрации тест-полосок (50 и 4 нг/мл соответственно), давали положительные результаты. Образцы мочи и слюны у 2- человек из 3-х тестируемых человек, употребивших 300 г пасты «Урбеч» и собранные в промежутке 1, 2, 4 и 8 ч, не содержали детектируемого уровня каннабиноидов. Только у одного человека в моче наблюдалось некоторое содержание каннабиноидов на уровне 25-35 нг/мл, что ниже пороговой концентрации. Образцы мочи этого человека по данным ГЖХ-МС не содержали каннабиноидов.

Таким образом, показано, что употребление продуктов, содержащих семена конопли, не может привести к детекции каннабиноидов как ложно-положительный результат и иммунохроматографические тест-полоски на каннабиноиды могут быть правомерно использованы для детекции употребления наркотика класса каннабиноидов.

Литература

1. Бызова Н.А., Сотников Д.В., Жердев А.В., Андреев И.В., Санков М.Н., Мартынов А.И., Дзантиев Б.Б. Иммунохроматографический анализ специфического сывороточного IgE человека для диагностики аллергии на пыльцу тимотефески луговой // Иммунология. – 2010. – Т. 31, № 1. – С. 47–51.
2. Дыкман Л.А., Богатырев В.А., Щеголев С.Ю., Хлебцов Н.Г. Золотые наночастицы: Синтез, свойства, биомедицинское применение. – М.: Наука. 2008. – 319 с.
3. Еремин С.К., Изотов Б.Н., Веселовская Н.В. Анализ наркотических средств. Руководство по химико-токсикологическому анализу наркотических и других одурманивающих средств. – М.: Мысль, 1993. – 265 с.
4. Коллинз У.П. Новые методы иммуноанализа / Пер. с англ.; под ред. А.М. Егорова. – М: Мир, 1991. – 280 с.
5. Wong R.C., Tse H.Y. Lateral Flow Immunoassay. – USA: Humana Press, 2009. – 223 p.

НОВЫЙ ФОРМАТ ПРОБОПОДГОТОВКИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ В ВИДЕ СУХИХ ПЯТЕН ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Саушкин Н.Ю. , Самсонова Ж.В. , Осипов А.П. , Кондаков С.Э.

Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Москва, Россия
sushk_90@mail.ru

В последние годы технология сухих пятен крови (СПК) находит все более широкое применение в диагностических целях для медицины и ветеринарии. Данная технология основана на капельном нанесении образца исследуемой биологической жидкости на специальную мембрану с последующим высушиванием на воздухе. Метод СПК имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционным отбором крови и других биологических жидкостей. Для получения биопроб в виде сухих пятен достаточно микроколичеств биологического материала (менее 100 мкл), что позволяет уменьшить инвазивность процесса. Метод предлагает упрощенное хранение и транспортировку образцов, так как в большинстве случаев анализируемые компоненты стабильны после высушивания и не требуют холодной цепи. Сухие пятна могут быть легко получены как врачом, так и самим пациентом в «полевых» условиях либо на дому и направлены в лабораторию по почте. Технология снижает риск заражения инфекционными заболеваниями до минимума. Описанные достоинства метода позволяют значительно упростить отбор проб и работу с новорожденными, маленькими животными и другими особыми группами пациентов для различных исследований.

Предложен новый формат мембранного носителя для пробоподготовки, транспортировки, хранения и анализа сухих пятен биологических жидкостей, позволяющий упростить процедуру отбора образца, доставки и последующего анализа. Образец исследуемой жидкости наносят на специальную пористую мембрану, выполненную в виде тонкой полоски с нанесенной маркировкой. Жидкость равномерно распределяется вдоль мембраны под действием капиллярных сил. После высушивания необходимую для анализа часть мембраны определенной площади отрезают с помощью ножниц. Новый подход к получению сухих пятен был апробирован для анализа различных низкомолекулярных антигенов, белковых веществ и ДНК в биологических жидкостях (цельная кровь, сыворотка и плазма крови, цельное молоко) методами ИФА и ПЦР. Предложенный подход может быть использован для целей как медицинской, так и ветеринарной диагностики инфекционных болезней человека и животных, в частности, таких как инфекционный энцефаломиелит, бурсальная болезнь и реовирусная инфекция у птиц, лейкоз коров, лейкемия кошачьих, инфекций, вызываемых *Helicobacter pylori*, и других.

**ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТАЛЛОВ И ИХ КОМПЛЕКСНЫХ
СОЕДИНЕНИЙ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ МЕТОДОМ
ЛАЗЕРНОЙ ДЕСОРБЦИИ-ИОНИЗАЦИИ****Симакина Я.И., Бородков А.С., Гречников А.А.**Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, Москва, Россия
yana.igorevna@list.ru

В докладе представлены результаты исследований по разработке нового подхода к масс-спектрометрическому определению комплексных соединений металлов, основанного на лазерной десорбции/ионизации. Анализируемая проба наносится на поверхность твердотельной подложки, после чего на поверхность воздействуют излучением импульсного лазера, длина волны которого выбирается из условия поглощения излучения как молекулами аналита, так и материалом подложки. В отличие от традиционных масс-спектрометрических методов анализа нелетучих соединений, ионизация основана на переносе электрона с молекулы в подложку, что открывает перспективы для высокочувствительного определения нелетучих неполярных соединений с низкой величиной основности.

Исследования проводились с использованием времяпролетного масс-спектрометра, оборудованного лазерным ионным источником. Для лазерной десорбции-ионизации использовали излучение третьей гармоники Nd:YAG-лазера (длина волны 355 нм, частота следования импульсов 300 Гц). Исследование проводили в режиме регистрации как положительных, так и отрицательных ионов.

На предварительном этапе были определены аналитические параметры разрабатываемого метода при анализе модельных растворов, содержащих комплексные соединения Pt и Os – аналогов лекарственных препаратов с противоопухолевой активностью. Показано, что разрабатываемый подход может быть использован для высокочувствительного определения металлов путем их комплексования с органическими реагентами и последующей лазерной десорбцией/ионизацией полученных комплексных соединений. Исследованы параметры метода при анализе растворов, содержащих ионы Cu, Hg, Ag, Au, Pd. Комплексные соединения этих металлов получали с использованием органических реагентов, широко используемых в спектрофотометрии. Содержание металлов в растворах до и после проведения реакции комплексообразования контролировали методом ИСП-АЭС. Получены масс-спектры комплексных соединений исследованных металлов, на основе анализа которых установлены составы комплексов. Найдены оптимальные условия лазерной десорбции-ионизации.

Метод апробирован при определении комплексных соединений Pt и Os, а также ионов Cu, Hg, Ag в биологических жидкостях – моче и сыворотки крови. Показано, что предел обнаружения при определении этих элементов не превышает 0,1 пг вещества, введенного в прибор при объеме введенной пробы не выше 10 мкл. Концентрационные характеристики остаются линейными в диапазоне по крайней мере трех порядков величины.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ, контракт №14.579.21.0016, уникальный идентификатор RFMEFI57914X0016.

**ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХИНОЛОНОВЫХ И ТЕТРАЦИКЛИНОВЫХ
АНТИБИОТИКОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОРГАНИЗОВАННЫХ СРЕД****Смирнова Т.Д., Штыков С.Н., Желобицкая Е.А.**Саратовский государственный университет, Институт химии, Саратов, Россия
smirnovatd@mail.ru

Основными методами определения антибиотиков являются хроматография, капиллярный электрофорез в их гибридных вариантах с масс-селективным детектором, а также люминесцентный анализ. В последнем случае используют простой и высокочувствительный флуориметрический метод, основанный на измерении сенсibilизированной флуоресценции хелатов лантанидов с антибиотиками. Увеличению эмиссионных свойств комплексов способствует минимизация безызлучательной дезактивации лантанидов, связанная с передачей энергии электронного возбуждения на колебательные уровни связи – ОН молекул воды. Целью настоящей работы явилась разработка подходов к повышению чувствительности флуориметрического определения тетрациклиновых и хинолоновых антибиотиков за счет переноса энергии в хелатах европия и тербия, их солюбилизации в организованных средах. Нами установлен перенос энергии в изучаемых хелатах в водных и организованных средах, выявлены факторы, способствующие понижению предела обнаружения антибиотиков. Показано, что результатом влияния второго лиганда в разнолигандных комплексах и солюбилизации в мицеллах ПАВ является уменьшение числа остаточных молекул воды в ближай-

шем окружении иона комплексообразователя, а также скорости безызлучательных переходов. Выявлено влияние липофильности и основности физиологически активного лиганда, а также кислотности среды на эффективность переноса энергии. Определены и сопоставлены времена жизни возбужденных состояний бинарных и разнолигандных хелатов, скорости безызлучательных и излучательных процессов в водной и мицеллярной средах. Установлено, что в присутствии вторых лигандов, содержащих хромофорные группы, увеличение интенсивности флуоресценции может быть связано не только с замещением остаточных молекул воды, но и дополнительным внутримолекулярным переносом энергии возбуждения (усилением эффекта антенны). Показано, что в спектрах флуоресценции водных растворов бинарных комплексов численное значение отношения интенсивностей сверхчувствительного к магнитно-дипольному переходу свидетельствует о низкой симметрии координационного окружения иона лантанида и дополнительно уменьшается при переходе к мицеллярным средам. Выявлены особенности влияния мицеллярных растворов ПАВ, микроэмульсий, биополимеров и молекул рецепторов на интенсивность сенсibilизированной флуоресценции бинарных, разнолигандных хелатов европия, тербия, а также влияние мицелл на флуоресценцию самих антибиотиков. Изучены факторы, увеличивающие эффективность переноса энергии электронного возбуждения в хелатах, сорбированных на модифицированных твердых матрицах.

Предложены направления практического применения разработанных методик для флуориметрического определения антибиотиков в лекарственных препаратах и биологических жидкостях.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 15-03-99704).

АЛГОРИТМ НАДЕЖНОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИОНОВ В ПРОБАХ НЕИЗВЕСТНОГО СОСТАВА МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Сурсякова В.В.¹, Бурмакина Г.В.^{1,2}, Рубайло А.И.^{1,2}

¹Институт химии и химической технологии СО РАН, Красноярск, Россия

²Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

viktoria_vs@list.ru

Метод капиллярного электрофореза (КЭ) является современным методом определения содержания ионов и молекул в различных объектах. Чаще всего метод используется для целевого анализа (target analysis) – определения предполагаемых исследователем веществ. Для образцов неизвестного состава методом КЭ предложена только простейшая предварительная схема анализа [1, 2]. К недостаткам этой схемы, относится, во-первых, то, что предлагаемые фоновые электролиты предназначены только для прямого детектирования неизвестных соединений, в то время как существует большая группа ионов, которые не поглощают в УФ области. Такие ионы, в том числе большинство неорганических анионов и анионов низкомолекулярных органических кислот, могут быть определены методом КЭ только с использованием косвенного детектирования. Второй недостаток этой схемы заключается в ограниченном наборе фоновых электролитов и неясности дальнейшей оптимизации условий эксперимента.

Целью данной работы являлась разработка алгоритма надежной идентификации и определения ионов в пробах неизвестного состава методом КЭ.

Измерения проводили на приборе КРЦКП СО РАН – системе капиллярного электрофореза с диодноматричным детектором Agilent ^{3D}CE G1600A (Agilent Technologies, USA).

Разработан алгоритм надежной идентификации, основанный на выборе состава, концентрации и pH фонового электролита, позволяющий разделить возможные вещества, вероятность присутствия которых в пробе была установлена после предварительного анализа исследуемого объекта с использованием стандартного фонового электролита. Для выбора оптимальных условий впервые предложены динамические карты электрофоретического разделения, учитывающие помимо изменения электрофоретических подвижностей еще и изменения ширины и коэффициентов асимметрии электрофоретических пиков как функции состава, концентрации и pH фонового электролита, условий электрофоретического разделения [3]. Особое внимание уделено учету положения системных пиков при тех или иных условиях электрофоретического разделения [4-5]. Проведена апробация предложенного подхода при анализе ряда реальных объектов сложного состава.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках проекта № 14-03-32028 мол_a.

Литература.

1. A Quick start guide to Capillary Electrophoresis. Agilent Technologies. 2000. 8 p.
2. Комарова Н. В., Каменцев Я. С. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ». СПб.: «Вед», 2006. 212 с.
3. Sursyakova V.V., Rubaylo A.I. J. Sep. Sci. 2015. V. 38. № 4. P. 690-696.
4. Sursyakova V.V., Kalyakin S.N., Burmakina G.V., Rubaylo A.I. Electrophoresis 2011. V. 32. P. 210.
5. Сурсякова В.В., Калякин С.Н., Бурмакина Г.В., Рубайло А.И. Журн. аналит. химии 2012. Т. 67. С. 871.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНСЕРВАНТОВ В БЕЗАЛКОГОЛЬНЫХ НАПИТКАХ И ВИНАХ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА**Сурсякова В.В.¹, Степанов А.А.², Попова А.А.², Попова О.В.¹, Бурмакина Г.В.^{1,2}, Рубайло А.И.^{1,2}**¹Институт химии и химической технологии СО РАН, Красноярск, Россия²Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия*viktoria_vs@list.ru*

Производство пищевых продуктов в настоящее время практически не обходится без применения консервантов – добавок, повышающих срок хранения продуктов, защищая их от порчи, вызываемой микроорганизмами. Максимально допустимое содержание консервантов в пищевых продуктах регламентируется СанПин 2.3.2.1293-03 «Гигиенические требования по применению пищевых добавок». Для определения консервантов используют различные методы, среди которых преобладают хроматографические и электрофоретические.

С применением метода капиллярного электрофореза (КЭ) разработан ряд методик определения консервантов. В методиках используются сложные по составу фоновые электролиты, включающие различные модификаторы электроосмотического потока, органические амины, поверхностно-активные вещества [1]. Такие электролиты имеют ограниченный срок хранения. В ИХХТ СО РАН в группе капиллярного электрофореза предложено вместо модификаторов ЭОП применять гидродинамическое давление для подавления электроосмотического потока [2]. Это позволяет использовать недорогие и менее сложные по составу фоновые электролиты с большим сроком хранения.

Целью работы являлась разработка методик определения консервантов (бензойной и сорбиновой кислот) в безалкогольных напитках и винах методом капиллярного электрофореза с использованием простых по составу фоновых электролитов и гидродинамического давления для подавления ЭОП.

Измерения проводили на приборе КРЦКП СО РАН – системе капиллярного электрофореза с диодноатричным детектором Agilent ³DCE G1600A (Agilent Technologies, USA). Использовали реактивы не ниже ч.д.а. Все растворы готовили с применением деионизованной воды, полученной при помощи системы очистки воды Direct-Q3 (Millipore, France) с электропроводностью менее $0,1 \cdot 10^{-6}$ Ом-1см-1.

Рассмотрен ряд фоновых электролитов для разделения бензойной и сорбиновой кислот. Найдено, что более низкий предел обнаружения наблюдается при использовании прямого детектирования. Подобран оптимальный состав фонового электролита и условия определения. Показано, что неорганические анионы и анионы основных алифатических кислот не мешают определению изученных консервантов. Оценены метрологические характеристики разработанных методик. Найдено, что посторонние вещества, присутствующие в анализируемых объектах, не мешают определению. Правильность результатов анализа подтверждена методом введено–найдено. С использованием разработанных методик проведен анализ реальных образцов безалкогольных напитков и вин.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках проекта № 14-03-32028 мол_а.

1. ГОСТ Р 53193-2008. Напитки алкогольные и безалкогольные. Определение кофеина, аскорбиновой кислоты и ее солей, консервантов и подсластителей методом капиллярного электрофореза. М.: Стандартинформ, 2010. 11 с.
2. Калякин С.Н., Сурсякова В.В., Бурмакина Г.В., Рубайло А.И. // Журн. аналит. химии. 2009. Т. 64. № 4. С. 415-420.

ЯМР-КОНТРОЛЬ ИЗМЕНЕНИЙ СОСТАВА ЖИДКОСТЕЙ ДЛЯ ЭЛЕКТРОННЫХ СИГАРЕТ КАК ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ УГРОЗЫ ЭКОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА**Урюпин А.Б., Перегудов А.С., Кочетков К.А.**

Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова РАН, Москва, Россия

abur@ineos.ac.ru

Медицинская оценка последствий потребления «электронных сигарет» («e-sig»), нередко позиционируемых на рынке как «электронные антитабачные ингаляторы», включая воздействие их «пара» на окружающих, требует привлечения современных высокочувствительных методов аналитической химии. Ранее было проведено исследование состава жидкостей («tobacco juice») для заполнения картриджей «e-sig» (производства КНР) с использованием методов ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии и амперометрического титрования по Карлу Фишеру (1). Аналитические возможности метода ЯМР позволили идентифицировать никотин в большинстве исследованных образцов «tobacco juice» на фоне интенсивных сигналов 1,2-пропилен-гликоля, глицерина и воды, а также зафиксировать присутствие ряда минорных

ком-понентов, относящихся, возможно, к примесям в основных составляющих смеси. До настоящего времени остается открытым вопрос о влиянии нагревательного элемента «e-cig» на состояние жидкостей в картридже этих изделий. Дополнительные токсичные примеси, несущие угрозу здоровью потребителя, могут образоваться при длительном хранении картриджей и емкостей для «tobacco juice» при нарушении поставщиками условий хранения продукции. Нежелательные превращения под действием окислителей из окружающей среды может претерпевать и собственно никотин «e-cig». Нами зарегистрированы (прибор Bruker Avance 600) спектры ЯМР ^1H и ^{13}C жидкостей, содержащих и не содержащих никотин, хранившихся более 3,5 лет при 20–27°C. Сравнение со спектрами, зарегистрированными в 2011г. показало, что несмотря на присутствие окислителя, состав жидкости, не содержащей никотина практически не изменился. В спектре «tobacco juice», содержащего никотин, появились дополнительные сигналы, отнесенные к продуктам окисления никотина. На физиологический эффект никотина при вдыхании паров «e-cig» влияет степень его протонирования, контролировать которую оказалось возможным не только сильнополюсным, но и слабополюсным ЯМР с рабочей частотой 60МГц (настольный прибор компании Oxford Instruments, Великобритания), позволяющим отказаться от использования дорогостоящего сверхпроводящего магнита.

1. А.Б.Урюпин, А.С.Перегулов, К.А.Кочетков, Л.Н.Булатникова, С.С.Киселев, Ю.С.Некрасов. Химико-фармацевтический журнал (2012), №11, 44-49.

ХИРАЛЬНЫЙ СОРБЕНТ НА ОСНОВЕ СИЛИКАГЕЛЯ, МОДИФИЦИРОВАННОГО БЫЧЬИМ СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ: СИНТЕЗ И ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Федорова И.А., Шаповалова Е.Н., Шаранов П.Ю., Алов Н.В., Шпигун О.А.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

irinafedorova89@gmail.com

Хиральные сорбенты для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) имеют в своем составе селекторы различных классов, таких как антибиотики, белки, полисахариды. Интерес к белкам в качестве хиральных селекторов, прежде всего, связан с их уникальными энантиоселективными свойствами, возможностью разделять энантиомеры широко круга веществ без предварительной дериватизации в режиме обращенно-фазовой хроматографии. Возможность разделять энантиомеры на хиральных сорбентах с белками особенно актуальна для оценки энантиомерной чистоты фармацевтических препаратов.

В работе синтезирован хиральный сорбент на основе силикагеля, модифицированного бычьим сывороточным альбумином (БСА), методом физической адсорбции с последующим закреплением БСА на поверхности с помощью глутарового альдегида. Исследование поверхности сорбента проводили методом спектроскопии диффузного отражения света. Характеристичный максимум при 280 нм, соответствующий БСА, в спектре диффузного отражения свидетельствует об успешном модифицировании поверхности хиральным селектором.

Количественное определение белка на поверхности силикагеля проводили двумя способами: спектрофотометрически и с помощью рентгенофлуоресцентного анализа с полным внешним отражением (РФА ПВО). При спектрофотометрическом определении измеряли оптическую плотность при длине волны 280 нм для исходного раствора белка и раствора после проведения сорбции. Наличие атомов серы только в структуре БСА позволило использовать метод РФА ПВО для определения его содержания на поверхности сорбента. Определяли концентрацию серы в 1 мл суспензии сорбента в воде, с дальнейшим пересчетом массы белка на 1 г сорбента. В качестве внутреннего стандарта использовали галлий. Масса бычьего сывороточного альбумина составила около 290 мг на грамм силикагеля.

Хроматографические свойства синтезированного сорбента изучали в обращенно-фазовом варианте ВЭЖХ на примере оптически активных соединений, среди которых бензоил-производные аминокислот, бензоин, триптофан, варфарин. На примере бензоина выявлена зависимость хроматографических параметров (коэффициент емкости, разрешение, селективность) от состава подвижной фазы (рН используемого буферного раствора, его концентрация, концентрация и природа органического модификатора).

Таким образом, синтезирован хиральный сорбент на основе силикагеля, модифицированного бычьим сывороточным альбумином, который позволил успешно разделить энантиомеры ряда оптически активных соединений, в том числе фармацевтических препаратов. Метод РФА ПВО впервые был применен для исследования поверхности сорбентов такого типа.

СОРБЦИОННО-РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ВИТАМИННО-МИНЕРАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ

Чапленко С.А., Моногарова О.В., Осолок К.В., Чапленко А.А.
Химический факультет МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия
a.a.chaplenko@yandex.ru

Микроэлементы (МЭ) обладают высокой биохимической активностью, оказывают существенное влияние на обмен веществ в организме человека. Недостаточное или, наоборот, избыточное поступление МЭ приводит к нарушению метаболических процессов и, как следствие, различным заболеваниям. Для профилактики и лечения недостатка МЭ традиционно используют витаминно-минеральные комплексы (ВМК) и биологически активные добавки. Кроме того, МЭ входят в состав лекарственного растительного сырья (ЛРС). Традиционно используемые методы анализа микроэлементного состава ЛРС и ВМК имеют следующие ограничения: (1) продолжительность анализа может достигать нескольких часов; (2) высокие энергозатраты (при термической минерализации); (3) возможное снижение правильности результатов анализа вследствие потери аналитов при термической минерализации; (4) одноэлементное определение. **Цель.** Создание доступного альтернативного способа определения микроэлементов в лекарственном растительном сырье и витаминно-минеральных комплексах, лишённого перечисленных ограничений традиционного подхода.

В настоящей работе предложен способ рентгенофлуоресцентного (РФ) определения ряда МЭ (Mn, Co, Ni, Zn, Se) в ЛРС и ВМК на уровне 10^{-6} – 10^{-3} мас. % с предварительным сорбционным концентрированием. Из водной или кислотной вытяжки ионы определяемых элементов извлекаются в виде ацидокомплексов, хелатов или ионных ассоциатов на пенополиуретановом (ППУ) сорбенте. В работе использован ППУ на основе простых эфиров как исходный (немодифицированный), так и ковалентно модифицированный 8-оксихинолином, резорцином или 2-нитрозо-1-нафтолом [2]. Процедура химического модифицирования ППУ основана на реакции диазотирования, протекающей с участием концевых толуидиновых групп, и последующей реакции азосочетания с органическим реагентом. РФ-измерения проводили на портативном спектрометре с волновой дисперсией *Спектроскан Макс-G* НПО «Спектрон» (Санкт-Петербург).

Применение ковалентно модифицированных ППУ сорбентов позволяет осуществлять как индивидуальное, так и групповое извлечение МЭ в статическом или динамическом режиме, добиваясь высоких коэффициентов концентрирования. Повышению чувствительности и снижению погрешности определения также способствует измерение аналитического сигнала непосредственно в фазе сорбента без предварительного элюирования и, соответственно, разбавления концентрата. Развитый подход является доступной и эффективной альтернативой методам оптической атомной спектроскопии, которые традиционно используют для определения МЭ в ЛРС. В отличие от этих методов анализ проводится без длительного энергозатратного озоления образцов ЛРС, использования горючего газа или дорогостоящего высокочистого аргона. Разработанный способ был использован для определения МЭ в листьях крапивы, почках берёзы, траве тысячелистника, листьях мать-и-мачехи, ВМК «Centrum», «Vitrum», «Multi-tabs».

Литература.

1. Дмитриенко С.Г., Аяри В.В. Пенополиуретаны: сорбционные свойства и применение в химическом анализе. М., 2009.
2. Осолок К.В., Моногарова О.В., Алов Н.В. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2015. Т. 56. № 2. С. 65–69.

СЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ИМПРИНТИРОВАННЫХ ПОЛИМЕРОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЛЕДОВЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ БЭТА-АГОНИСТОВ В МЯСЕ

Чеснокова Е.В., Бессонов О.И., Ермолаева Т.Н.
Липецкий государственный технический университет, Липецк, Россия
etn@stu.lipetsk.ru

Применение бэта-агонистов (кленбутерол, рактопамин, сальбутамол) в качестве кормовой добавки для повышения продуктивности животноводства запрещено в РФ из-за негативного воздействия остаточных содержаний этих препаратов на здоровье потребителей. Однако они разрешены в качестве стимуляторов роста и жиросжигающих средств на последней стадии откорма животных в некоторых странах, импортирующих в РФ мясо и изделия из него. Поэтому актуальной является разработка экспрессных, селективных и высокочувствительных методов контроля содержания β -агонистов в пищевой продукции..

Разработаны пьезокварцевые гравиметрические сенсоры на основе полимеров с молекулярными отпечатками (ПМО) токсикантов для определения следовых концентраций этих соединений в мясе. Изучены условия формирования импринтированных β -агонистами полимерных пленок непосредственно на поверхности электрода пьезоэлектрического сенсора методами фотополимеризации и электрополимеризации. В методе фотополимеризации на поверхность электрода сенсора дозировали раствор, содержащий метилметакрилат (ММА), этиленгликольдиметакрилат (EGDMA), 2,2-азобисизобутиронитрил (AIBN) – инициатор фотополимеризации и темплат (сальбутамол) и проводили полимеризацию под действием УФ-излучения. Показано, что покрытия на основе ПМО характеризуются высокой концентрацией поверхностных «сайтов» распознавания.

Использование техники электрополимеризации обеспечивало получение химически стабильных с высокой адгезией к поверхности электрода ультратонких молекулярно импринтированных рактопамином и кленбутеролом пленок. Было отмечено, что наиболее привлекательными свойствами обладают электрогенерированные пленки ПМО на основе сополимера пиррола и анилина или метиленового синего.

Степень импринтинга β -агонистов оценивали методом пьезокварцевого микровзвешивания по разности между массой пленки ПМО до и после удаления молекулы темплата. Оценка селективности сенсоров с помощью коэффициентов кросс-реактивности (CR,%) показала возможность определения индивидуальных β -агонистов в присутствии β -лактамных антибиотиков и других соединений родственной структуры.

Диапазон определяемых концентраций β -агонистов составляет (мкг/мл) 11 – 60; 0,125–5,0; 30–530 для кленбутерола, рактопамина и сальбутамола соответственно. Предел обнаружения кленбутерола – 0,5, рактопамина – 0,10, сальбутамола – 9,6 мкг/мл. Сенсоры апробированы при анализе мяса птицы и телянка. Продолжительность анализа не превышает 15 мин. Результаты характеризуются высокой воспроизводимостью и правильностью.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 13-03-97505.

СЕЛЕКТИВНОЕ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГУАНОЗИНА И АДЕНОЗИНА НА ЭЛЕКТРОДЕ, МОДИФИЦИРОВАННОМ ПЛЕНКОЙ ИЗ ГЕКСАХЛОРОМЕТАЛЛАТОВ

Шайдарова Л.Г., Гедмина А.В., Челнокова И.А., Будников Г.К.
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
Anna.Gedmina@ksu.ru

Пуриновые нуклеозиды известны своими метаболическими и биологическими функциями. Так, например, аденозин регулирует физиологические функции сердца и головного мозга, функцию почек, подачу кислорода во время повреждения клеток в результате окислительного стресса, а также играет важнейшую роль в модуляции активности нейронов. Гуанозин играет защитную роль при ишемии головного мозга. Кроме того, завышенный уровень обоих нуклеозидов в биологических жидкостях связывают с возникновением рака. Измерение содержания аденозина и гуанозина в плазме крови может служить новым диагностическим маркером для диагностики заболеваний печени. Поэтому разработка методов селективного определения аденозина и гуанозина при совместном присутствии в биологических жидкостях является актуальной задачей биомедицины.

В настоящей работе изучена возможность селективного вольтамперометрического определения аденозина и гуанозина при совместном присутствии на электроде из стеклоуглерода (СУ) с иммобилизованными пленками из гексахлорорутената и гексахлороплатината рутения.

Сопоставлено электрохимическое поведение неорганических полимерных пленок из гексахлороплатината (ГХП) и гексахлорорутената (ГХР) рутения. Установлено, что иммобилизованная пленка ГХР рутения проявляет электрохимическую активность в более широкой области pH (в кислых и нейтральных средах), чем пленка ГХП рутения. Изучено электроокисление нуклеозидов – гуанозина и аденозина на ХМЭ с пленкой ГХП или ГХР рутения. Установлено, что в слабокислых средах (с pH 4.0) на рассматриваемых ХМЭ окисляется только гуанозин. Электроокисление обоих нуклеозидов по медиаторному механизму происходит только на электроде с пленкой из ГХР рутения в нейтральных растворах (с pH 6.86). Полученные значения каталитического эффекта при электроокислении нуклеозидов хорошо согласуются с константами электрохимических реакций, рассчитанными из зависимости потенциала от скорости наложения потенциала. Наибольшую каталитическую активность проявляет пленка из ГХР рутения. Оценено влияние условий иммобилизации пленок на величину каталитического эффекта при окислении гуанозина и аденозина. Разность потенциалов окисления гуанозина и аденозина составляет 250 мВ, что позволяет разработать способ селективного определения этих аминокислот по одной вольтамперограмме.

На основании полученных экспериментальных результатов разработан способ селективного вольтамперометрического определения гуанозина и аденозина при совместном присутствии на электроде, модифицированном пленкой из ГХР рутения. Разработанная методика селективного определения аденозина и гуанозина при

совместном присутствии была апробирована при определении содержания рассматриваемых нуклеозидов в модельном растворе, содержащем урину человека. Получена хорошая воспроизводимость результатов вольтамперометрического определения гуанозина и аденозина на ХМЭ с пленкой ГХР рутения. Относительное стандартное отклонение (S_r) не превышает 0.05 во всем диапазоне концентраций.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 13-03-01101).

АМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ДЕТЕКТИРОВАНИЕ ТРИПТОФАНА И ВИТАМИНА В₆ НА МОДИФИЦИРОВАННОЙ НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА ДВУХЭЛЕКТРОДНОЙ СИСТЕМЕ В УСЛОВИЯХ ПРОТОЧНО-ИНЖЕКЦИОННОГО АНАЛИЗА

Шайдарова Л.Г., Челнокова И.А., Ильина М.А., Лексина Ю.А., Будников Г.К.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Irina.Chelnokova@mail.ru

Триптофан (Трп) – естественный релаксант, который помогает бороться с бессонницей, состоянием беспокойства и депрессии. В состав лекарственных препаратов, содержащих в качестве действующего вещества Трп, так же входит электроактивный витамин В₆. Для их определения используют различные физико-химические методы, в том числе вольтамперометрию с химически модифицированными электродами (ХМЭ). Анализ в потоке жидкости с использованием электрохимических детекторов является одним из распространенных способов автоматизации процесса, обеспечивающий высокую чувствительность определения и широкий линейный динамический диапазон при относительно низкой стоимости оборудования. Использование двухэлектродной системы (планарный электрод с двумя рабочими электродами) в качестве электрохимических детекторов для многокомпонентного анализа в условиях проточно-инжекционного анализа (ПИА) позволяет улучшить селективность, чувствительность определения и сократить время проведения анализа.

Целью исследования было изучение возможности селективного определения Трп и витамина В₆ на модифицированной наночастицами золота двухэлектродной системе в стационарном режиме и в условиях ПИА.

На углеродных электродах Трп и витамин В₆ окисляются в одной области потенциалов, поэтому их определение при совместном присутствии осложнено перекрыванием пиков. Наночастицы золота, иммобилизованные на поверхность углеродного электрода, проявляют каталитическую активность при окислении рассматриваемых соединений. При этом регистрируется многократный прирост тока по сравнению с током окисления модификатора и уменьшение перенапряжения окисления субстратов на ХМЭ по сравнению с немодифицированным электродом. Каталитический отклик полученного ХМЭ отличается высокой стабильностью и воспроизводимостью.

Разработан способ амперометрического детектирования Трп и витамина В₆ на ХМЭ в условиях ПИА. В качестве детектора использована модифицированная наночастицами золота двухэлектродная система. Установлено, что при параллельном расположении рабочих электродов возможно одновременное определение Трп и витамина В₆ при двух различных потенциалах. Определены рабочие условия регистрации сигналов на модифицированной наночастицами золота двухэлектродной системе в условиях потока. Линейная зависимость сигнала от концентрации аналита наблюдается в интервале от 5×10^{-7} до 5×10^{-3} М для Трп и от 5×10^{-10} до 5×10^{-3} М для витамина В₆. При использовании ХМЭ в проточной ячейке без обновления поверхности электродов в течение суток воспроизводимость сигнала достаточно устойчива ($S_r < 2.0\%$). Разработанный способ отличается простотой, воспроизводимостью и экспрессностью метода анализа и позволяет проводить одновременное определение Трп и витамина В₆ с высокой чувствительностью.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 13-03-01101).

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХОЛЕСТЕРИНА НА ЭЛЕКТРОДЕ, МОДИФИЦИРОВАННОМ ЧАСТИЦАМИ ПАЛЛАДИЯ

Шайдарова Л.Г., Челнокова И.А., Махмутова Г.Ф., Аллахвердили Г.Р.,

Гедмина А.В., Будников Г.К.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Irina.Chelnokova@mail.ru

Холестерин – это липид, а именно стерин животного происхождения, который в значительной степени обеспечивает существование и функционирование биологических мембран, является незаменимым материалом для синтеза стероидных гормонов, витамина D, а также желчных кислот. Уровень холестерина является важ-

ным биомаркером при диагностировании таких заболеваний, как ишемическая болезнь сердца, атеросклероз, инфаркт миокарда, тромбоз головного мозга, инсульт, стенокардия, дисфункция метаболизма липидов, гипертония и другие сердечно-сосудистые заболевания. В медицинской диагностике необходимо контролировать как высокое, так и низкое содержание холестерина.

Для количественного определения холестерина используют различные физико-химические методы: колориметрический, спектрофотометрический, флуориметрический, электрохимический методы, высокоэффективную жидкостную хроматографию и капиллярный электрофорез. Наиболее простым, относительно дешевым и экспрессным по сравнению с другими методами является метод вольтамперометрии. Использование химически модифицированных электродов (ХМЭ) с каталитическими свойствами расширяет возможности этого метода и улучшает аналитические характеристики вольтамперометрического определения органических соединений. В качестве модификаторов широко применяют платиновые металлы.

В настоящей работе изучена возможность вольтамперометрического определения холестерина на стеклоуглеродном электроде (СУ), модифицированном частицами палладия.

Холестерин не окисляется на немодифицированном СУ в исследуемой области потенциалов. Установлено, что частицы палладия, электроосажденные на поверхность СУ, проявляют каталитическую активность по отношению к холестерину. На вольтамперограмме окисления холестерина на рассматриваемом ХМЭ на анодной ветви наблюдается один пик при потенциале $E_{1.10}$ В, высота которого зависит от концентрации аналита. Использование ХМЭ ведет к уменьшению перенапряжения окисления холестерина и увеличению тока его окисления по отношению к току окисления модификатора. Каталитический эффект, рассчитанный как отношение каталитического тока окисления субстрата к току окисления модификатора (КАТ/ИМОД), равен 3.0. Таким образом, при окислении холестерина на электроде, модифицированном частицами палладия, наблюдается катализ по току и потенциалу.

На основании полученных результатов разработан вольтамперометрический способ определения холестерина по электрокаталитическому отклику электрода, модифицированного частицами палладия. Линейная зависимость величины электрокаталитического отклика этого ХМЭ от концентрации холестерина наблюдается в интервале от 5×10^{-3} до 5×10^{-6} М. Правильность методики оценена методом введено-найдено. Относительное стандартное отклонение (S) не превышает 5 % во всем диапазоне исследуемых концентраций.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 13-03-01101).

МУЛЬТИКАПИЛЛЯРНЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦАХ

Шкинев В.М.^{1,4}, Простякова А.И.², Ларичев В.Ф.¹, Скибина Ю.С.³, Капустин Д.В.²

¹Подразделение Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи»
Минздрава России, Москва, Россия

²ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (ИБХ РАН),
Москва, Россия

³ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла», Саратов, Россия

⁴ФГБУН Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН (ГЕОХИ РАН), Москва, Россия
vshkinev@mail.ru

Способы выделения биополимеров, как правило, основаны на различной растворимости нуклеиновых кислот, белков и полисахаридов. Большинство методов разделения биологических смесей многостадийны, трудоемки и сопровождаются потерями выделяемого компонента. Такие методы основаны на селективной сорбции специальным сорбентом определяемого биополимера на первом этапе выделения с последующей отмывкой от примесей и десорбцией целевого компонента. Многостадийный протокол для выделения нуклеиновых кислот широко применяется с использованием спин-колонок [1] и имеет два существенных недостатка: необходимость использования центрифуги (или специального насоса) и дороговизна автоматизации процесса выделения (очистки). Использование традиционных сорбентов при выделении нуклеиновых кислот исключает возможность одновременного выделения суммарной белковой фракции (тем более отдельных фракций белков или пептидов) из образца. Особенно существенным является данный недостаток при работе с особо опасными вирусами при выделении их РНК.

Известно, что некоторые композиционные сорбенты (в частности, содержащие покрытия на основе фторированных полимеров или полианилина) эффективны при одностадийном выделении нуклеиновых кислот за счет того, что нуклеиновые кислоты не удерживаются сорбентом, в то время как белки и другие компоненты смеси эффективно сорбируются [2]. При этом удастся последовательно десорбировать компоненты белковой фракции в зависимости от заряда белковой макромолекулы.

Предложенные нами устройства на основе стеклянных мультикапилляров, модифицированных нанослоями полианилина, лишены указанных выше недостатков, так как основные манипуляции проводятся в закрытой системе, и нет необходимости в механическом перенесении компонентов из одной установки в другую. Это значительно снижает опасность контаминации пробы посторонними РНК и ДНК.

Разработанные нами ранее [3] системы оказались эффективными в процедуре пробоподготовки при выделении РНК вирусов Западного Нила, лихорадки денге и др. для последующего ПЦР-анализа.

Литература

1. Robert S. Matson. Microarray methods and protocols. – CRC Press, 2009. ISBN: 1420046659; 216 p.
2. Kapustin D. et al. New Composite Materials Modified with Nano-Layers of Functionalized Polymers for Bioanalysis and Medical Diagnostics. In: Nanocomposites and polymers with analytical methods./ Cuppoletti J. (Ed.) – Croatia: Intech, 2011. ISBN: 978-953-307-352-1, p.p. 83-106.
3. Скибина Ю.С. и др. Многоканальный наконечник для экстракции нуклеиновых кислот, белков и пептидов. Патент РФ № 2547597 (2015).

АЛЮМОГЕЛИ, СОДЕРЖАЩИЕ НАНОЧАСТИЦЫ СЕРЕБРА, ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОГО КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТОДОМ ГИГАНТСКОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА

Юрова Н.С., Маркин А.В., Русанова Т.Ю.

Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия
tatyanarys@yandex.ru

Фолиевая кислота, также известная как Витамин В9, является важным фактором питания и ценной пищевой добавкой. Фолиевая кислота принадлежит к группе водорастворимых кислот и необходима для роста и развития кровеносной и иммунной систем. Традиционно используемые методики ее определения зачастую являются устаревшими и трудоемкими. Перспективным подходом является совмещение метода концентрирования фолиевой кислоты на алюмогелях и последующее ее определение непосредственно в твердой фазе методом гигантской КР-спектроскопии (ГКР). При этом для получения сигнала ГКР необходим контакт определяемого вещества с наночастицами (НЧ) металлов, например серебра. Целью данной работы явилось получение материалов на основе оксида алюминия, содержащих НЧ серебра, изучение их сорбционных свойств по отношению к фолиевой кислоте, и оценка возможности использования для одновременного сорбционного концентрирования и детектирования аналита методом ГКР.

Алюмогели получали по реакции взаимодействия сульфата алюминия и карбоната натрия в среде, содержащей готовые НЧ серебра (приготовленные методом цитратного восстановления нитрата серебра). Данный способ отличается такими преимуществами, как простота, дешевизна, а также возможность «загружать» НЧ необходимого размера и контролировать степень их агрегации. В процессе приготовления НЧ серебра варьировали концентрацию нитрата серебра и визуально наблюдали различие в цвете дисперсий, что говорит о различном размере образующихся НЧ серебра. Была получена серия материалов на основе оксида алюминия, содержащих НЧ серебра различного размера, а также модифицированных полиэлектролитами (полиэтиленимин, ПЭИ, полистиролсульфонат, ПСС, полиаллиламина гидрохлорид, ПААГ). Материалы охарактеризованы методами СЭМ и динамического рассеяния света.

Далее нами изучены сорбционные свойства полученных материалов по отношению к фолиевой кислоте. Наибольшее значение степени извлечения – 93,1% – показал алюмогель с предварительно агрегированными НЧ серебра (с концентрацией НЧ Ag 0,12 % масс., размер частиц порядка 40-50 нм). Обработка сорбентов полиэлектролитами (ПЭИ, ПСС, ПААГ) практически не влияла на степень извлечения. Дополнительно изучено влияние времени контакта раствора фолиевой кислоты с сорбентом, и установлено, что основное количество аналита сорбируется в первые 15 минут. Также установлено, что с увеличением pH раствора фолиевой кислоты (в диапазоне 6-8) степень извлечения уменьшается.

Спектры КР получали с помощью зондовой нанолаборатории ИНТЕГРА Спектра (НТ-МДТ, г. Зеленоград) с использованием гелий-неонового лазера ($\lambda_0 = 632,8$ нм, мощность 0,5 мВт). Зарегистрированы спектры ГКР фолиевой кислоты при ее концентрации в исходном растворе $5 \cdot 10^{-5}$ М и показано линейное возрастание сигнала ГКР с увеличением концентрации фолиевой кислоты.

Работа поддержана Российским научным фондом (проект 14-13-00229).

ПУБЛИКАЦИИ

ELECTROCHEMISTRY OF BIOMACROMOLECULES. APPLICATIONS AND POSSIBILITIES IN BIOMEDICINE

E. Paleček, V. Ostatná, H. Černocká, M. Trefulka, V. Dorčák

Institute of Biophysics AS CR, Brno, Czech Republic

palecek@ibp.cz

First paper on electrochemistry of proteins was published in 1930 showing the ability of proteins to catalyze hydrogen evolution at Hg electrodes (1). About 30 years later it was shown that DNA produced reduction signals reflecting DNA structure (2). At present electrochemistry of nucleic acids (NAs) and proteins are booming fields (reviewed in 2b,3) NAs sensing deals predominantly with DNA hybridization and damage (2b) with application in various areas in practical life, including biomedicine.

In the recent decades electrochemistry of proteins was oriented mainly on a small group of conjugated proteins yielding reversible reactions of their non-protein components (e.g. metals in metalloproteins) while thousands of proteins important in proteomics and biomedicine, etc. were neglected. Recently we have shown that using constant current chronopotentiometric stripping (CPS) practically any protein produces electrocatalytic peak H at Hg and solid amalgam electrodes (SAEs). Using peak H at low current densities, proteins can be determined down to nM and subnanomolar concentrations. We have shown that proteins do not denature when adsorbed to Hg electrodes or SAEs close to the potential of zero charge but can be denatured at negative potentials (3). Enzymatic activity of urease attached to Hg electrodes was retained while prolonged exposure to negative potentials resulted in the enzyme denaturation. At higher current densities (where the rate of potential changes is extremely fast) CPS protein structure-sensitive analysis was developed (4). At thiol-modified electrodes, changes in properties of mutant proteins (e.g., in the tumor suppressor protein p53) could be detected (4b). Using CPS, detection of p53 sequence-specific DNA-protein binding was possible (5).

In humans about 70% of proteins are glycosylated. Differences in protein glycosylation can be involved in pathological processes including cancer [6]. Combination of mass spectrometry with separation techniques has been successfully applied in studies of glycans and their glycosylation sites in glycoproteins. For better understanding of progression of various forms of different diseases and for identification of new glycan-containing biomarkers for early diagnostics, simpler and less expensive methods are sought. For decades polysaccharides (PSs) were considered as electroinactive biopolymers. Recently it was shown that some PSs produce peak HPS (7), similar to peak H of proteins. Very recently we have shown that glycans containing N-acetylated glucosamine residues (which are electroinactive) can be easily deacetylated and transformed into electroactive species. Moreover, facile modification of PSs and oligosaccharides with osmium(VI) complexes transformed the electroinactive carbohydrates in electroactive Os(VI) adducts, detectable down to pM concentrations. Glycan detection in glycoproteins without deglycosylation was shown (8). Our results show new possibilities in glycoprotein analysis (4).

References.

1. Heyrovský J and Babička J, *Coll. Czech. Chem. Commun.* **1930**, **2**, 370
2. a. Paleček, E., *Nature* **1960**, **188**, 656; b. Paleček E., Bartosik M., *Chem. Rev.*, **2012**, **112**, 3427
3. Paleček E, et al., *Chem. Rev.* **2015**, **115**, 2045.
4. Ostatná V et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, **132**, 9408; b. Paleček E et al, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, **133**, 7190.
5. Paleček E. et al. *Anal. Chim. Acta* **2014**, **828**, 1.
6. Alley W. R., et al., *Chem. Rev.* **2013**, **113**, 2668.
7. Paleček E., Rimankova L.: *Electrochem. Commun.* **2014**, **44**, 59.
8. Trefulka M., Paleček E.. *Electrochem. Commun.* **2014**, **48**, 52.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА В ВОЗДУХЕ НА УРОВНЕ ОБУВ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА

Андреев С.В.¹, Панкратова Г.П.¹, Беляев Е.С.¹

¹ФБУН НИИ Дезинфектологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

nautilusser@gmail.com

Сегодня появляется все больше дезинфицирующих средств и установок для обеззараживания воздуха в медицинских организациях. Перекись водорода является одним из наиболее популярных биологически активных химических веществ, используемых для этих целей. Однако в Российской Федерации нет утвержденного метода для определения перекиси водорода в воздухе на уровне гигиенического норматива для атмосферного воздуха населенных мест (ОБУВ = 0,02 мг/м³). В то же время, эта задача весьма актуальна в виду роста популярности аэрозольного метода дезинфекции в различных помещениях для оценки степени безопасности таких обработок для населения.

В данной работе мы предлагаем спектрофотометрический способ определения перекиси водорода в воздухе с чувствительностью $0,01 \text{ мг/м}^3$. Метод заключается в выделении свободного йода при взаимодействии перекиси водорода с йодистым кадмием в кислой среде с последующим определением выделившегося йода с помощью УФ-спектрофотометрии. Диапазон измерений от $0,01$ до 100 мг/м^3 .

Для проведения анализа 20 дм^3 исследуемого воздуха аспирируют со скоростью $1 \text{ дм}^3/\text{мин}$. Через 2 последовательно установленных поглотителя Зайцева, содержащих по $10 \text{ см}^3 0,1\%$ раствора йодистого кадмия.

Содержимое поглотителей затем количественно переносят в мерные колбы вместимостью 25 см^3 , вносят 2 см^3 раствора серной кислоты и $0,5 \text{ см}^3$ раствора крахмала, затем доводят объем в колбе дистиллированной водой до метки, оставляют на 90 минут в темном месте и определяют оптическую плотность при длине волны $\lambda=540 \text{ нм}$.

Затем по калибровочному графику определяют содержание перекиси водорода в пробе (мкг). Концентрацию ПВ в воздухе $X \text{ (мг/м}^3)$ рассчитывают по формуле:

$$X=a/V_0$$

где a – количество ПВ в поглотителях, найденное по калибровочному графику, мкг;

V_0 – объем исследуемого воздуха, приведенный к нормальным условиям, дм^3 .

Проводят не менее двух параллельных измерений. Допускаемая относительная суммарная погрешность результата анализа $\pm 10\%$ при доверительной вероятности $0,95$.

Данная методика хорошо себя зарекомендовала во ФБУН НИИДезинфектологии Роспотребнадзора при исследовании модельных растворов перекиси водорода, а также промышленных образцов отечественных и зарубежных дезинфекционных средств

ВЛИЯНИЕ СПОСОБА МИНЕРАЛИЗАЦИИ ПРОБЫ НА ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЕЛЕНА В БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВКАХ К ПИЩЕ

Андреева Н.Н., Дудукалова В.А., Долматова Л.В., Рудакова Л.В.

Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н.Бурденко, Россия

andreeva-nina1947@mail.ru

Селен относится к одним из эффективных антиоксидантов, устраняющих разрушительное действие свободных радикалов. Он входит в состав глутатионпероксидазы, фермента, который может обезвреживать те агрессивные свободные радикалы, с которыми другие антиоксиданты не взаимодействуют. Биологическая роль селена, находящегося в БАДах к пище, определяется не только его содержанием, но и формой соединений, в которой этот эссенциальный элемент присутствует в добавках.

Необходимость разработки надежных методов контроля за содержанием селена в различных биологических объектах и добавках к пище обусловлена узким интервалом допустимого и достаточного уровня потребления этого микроэлемента человеком, составляющим $50 - 200 \text{ мкг/сутки}$. Для восполнения дефицита селена в организме человека успешно используют различные селенсодержащие биологически активные добавки к пище.

Для определения селена в БАДах в санитарно-гигиенической практике применяют оксидиметрические, спектрофотометрические, флуоресцентные, электрохимические методы. В аналитической химии этого халькогена нашли применение комбинированные методы, предусматривающие предварительное выделение и отделение селена от компонентов матрицы и последующее его определение с ароматическими диаминами (3,3-диаминобензидином, о-фенилендиамином, 2,3-диаминонафталином). В лабораториях Роспотребнадзора для определения селена в БАДах применяют также инверсионно-вольтамперометрический метод.

Большое значение для определения селена в БАДах всеми указанными методами имеют способы минерализации пробы. В настоящем сообщении представлены результаты исследования различных способов минерализации проб селенсодержащих БАДов: мирра-селена, селен-актива, новомегина. Рассмотрены: мокрая минерализация проб смесью азотной (HNO_3) и хлорной (HClO_4) кислот, кислотнo-пероксидное разложение образцов смесью HNO_3 и H_2O_2 , а также определены условия дополнительного микроволнового (МВ) воздействия на оба указанных способа разложения.

Установлены влияние концентрации кислот, пероксида водорода, времени и температуры обработки, мощности микроволнового излучения на минерализацию образцов БАДов. Для устранения мешающего влияния компонентов селенсодержащей матрицы в данной работе использовали экстракцию сопутствующих компонентов расплавами легкоплавких органических веществ (ЛОВ), в качестве которых применили экологически чистые расплавы парафина, высших карбоновых кислот с добавками комплексонов.

Найдено, что применение кислотнo-пероксидного способа минерализации с дополнительным микроволновым воздействием приводит к полному переходу содержащегося в образце БАДа селена в форму селенит-иона и позволяет устранить мешающее влияние органической составляющей на определение селена флуоресцентным методом с 2,3-диаминонафталином (ДАНом), снизить систематическую погрешность определения. В образцах БАДов, подвергавшихся анализу, содержание селена не всегда соответствовало заявленному производителем. Для оценки воспроизводимости экстракционно-флуоресцентного метода с применением экстракции ЛОВ использовали метод добавок.

КОМБИНИРОВАННЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХРОМА В БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВКАХ К ПИЩЕ

Андреева Н.Н., Цвирова А.С., Краснокова В.С., Пономарева Н.И.

Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н.Бурденко, Воронеж, Россия
andreeva-nina1947@mail.ru

Хром – жизненно важный микроэлемент, регулирующий углеводный и липидный обмен, оптимизирующий выработку инсулина, активизирующий деятельность некоторых ферментов. Для восполнения дефицита хрома в организме рекомендовано использовать биологически активные добавки (БАД), содержащие хром в различных формах: пиколиновой, полиникотинаминовой, хелатной.

В соответствии с «Руководством по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище» (Р.4.1.1672-03) хром в биологически активных добавках определяют атомно-абсорбционным методом с электротермическим или пламенным детектированием, а также спектрофотометрически с 3,5- дифенилкарбазидом. Подготовку проб и их минерализацию проводят по ГОСТ 26926-86.

Определению хрома указанными методами мешают сопутствующие компоненты матрицы, особенно кальций. Их влияние устраняют специальными приемами, чаще всего экстракцией хрома раствором диэтилдитиокарбамина натрия в *n*-бутилацетате или метилизобутилкетоне.

В настоящем сообщении представлены результаты спектрофотометрического определения хрома в хромсодержащих БАДах: Хром-хелате и Хром-пиколинате после предварительного отделения мешающих компонентов экстракцией экологически чистыми легкоплавкими экстрагентами (ЛОЭ). В качестве легкоплавких органических экстрагентов использовали расплавы парафина и высших карбоновых кислот с добавками ди-2-этилгексилфосфорной кислоты (Д2ЭГФК) и триоктиламина (ТОА). После минерализации образца БАД по известной методике проводили отделение мешающих элементов из Cr-содержащего минерализата расплавами ЛОЭ при соответствующем значении кислотности раствора. Хром в минерализате находится в анионной форме – Cr (VI) и после экстракции остается в растворе, в котором его определяли спектрофотометрически с дифенилкарбазидом, измеряя светопоглощение при 545 нм на спектрофотометре СФ-46.

В ходе исследований установлены: оптимальная концентрация Д2ЭГФК и ТОА в расплавах, время достижения экстракционного равновесия при извлечении мешающих элементов, значение кислотности минерализата, при которой достигается максимальное извлечение этих элементов в экстракт, температура количественной экстракции. Показано, что изменение температуры в интервале 363-383 К не изменяет параметров процесса извлечения сопутствующих компонентов

При определении Cr (VI) комбинированным методом для учета уровня загрязнения выполняли контрольные опыты, которые проводили через все стадии пробоподготовки аналогично пробам БАД.

Предложенным методом выполнен анализ БАДов: Хром-пиколината (№RU 77.99.11.003.F) и Хром-хелата (NSP). Проведено сопоставление полученных результатов определения хрома в указанных БАДах с результатами его определения в этих же образцах БАДов утвержденными методами: атомно-абсорбционным и спектрофотометрическим. Для оценки воспроизводимости комбинированного метода использовали метод добавок и образцы БАДов с установленным содержанием хрома. Предложенный метод позволяет повысить экспрессность определения, исключить применение токсичных органических веществ в качестве экстрагентов, снизить систематическую погрешность определения. Показано, что содержание хрома в анализируемых образцах БАДов практически соответствует указанному в сопроводительных документах биологически активных добавок к пище.

ПОЛУЧЕНИЕ АПТАМЕРОВ МЕТОДОМ SE-SELEX ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВОГО СРЕДСТВА ДЕТЕКЦИИ МАРКЕРА РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ β 2-МИКРОГЛОБУЛИНУ

Аристова И.П., Панфилов В. И., Харичкин А.С.

Российский химико-технологический университет им. Менделеева Д. И., Москва, Россия
irinaaristova@list.ru

В настоящее время проблема успешного прогноза в лечении большинства заболеваний является наиболее актуальной. Своевременная и точная диагностика очень важна для минимизации риска развития различных заболеваний, осложнений и выбора правильной тактики лечения. Одним из новых подходов в диагностике опухолевых и других заболеваний связан с технологией получения аптамеров [1]. Аптамеры часто называют искусственными антителами, так как они являются их аналогами и обладают высокой специфичностью. Однако по сравнению с моноклональными антителами аптамеры имеют ряд существенных преимуществ: химически синтезируются и модифицируются, лучше проникают в ткани и клетки, и в десятки раз дешевле. [2].

В качестве мишени для получения аптамеров выбрали белок $\beta 2$ -микроглобулин, который является маркером для различных заболеваний, таких как: почечная недостаточность, В-клеточная лимфома, множественная миелома и других воспалительных процессов в организме [3]. Аптамеры к белку $\beta 2$ -микроглобулину получали методом CE-SELEX (capillary electrophoresis systematic evolution of ligands by exponential enrichment – систематическая эволюция лигандов при экспоненциальном обогащении с применением капиллярного электрофореза). В каждом цикле комплексы олигонуклеотидов с мишенью отделяли от несвязавшихся молекул с помощью капиллярного электрофореза (КЭФ) в нативных условиях.

Селекцию аптамеров к $\beta 2$ -микроглобулину человека осуществляли путем чередования позитивной и негативной технологии CE-SELEX, что позволило выбрать наиболее специфичные для белка-мишени аптамеры и исключить олигонуклеотиды, способные связываться с бычим сывороточным альбумином (БСА) («отрицательная» мишень).

В качестве исходного олигонуклеотидного пула использовали ДНК-библиотеку, содержащую последовательность 5'-ATGTCCAGCGTCAGGTCCG-(N)20-CGCAGCAATAGCCAAGTCATT-3'.

Один цикл отбора содержал в себе несколько последовательных операций. Библиотеку ДНК-олигонуклеотидов термостатировали. Далее ДНК-библиотеку инкубировали с $\beta 2$ -микроглобулином при 4°C в течении 30 мин. Затем методом КЭФ отделяли комплексы аптамеров с мишенью от несвязавшихся молекул. Обогащенную ДНК-библиотеку вновь термостатировали, после чего инкубировали с БСА в течении 30 мин при 4°C и методом КЭФ отделяли комплексы аптамеров с БСА от несвязавшихся аптамеров. С несвязавшимися аптамерами проводили асимметричную реакцию амплификации с праймерами, комплементарными константным участкам ДНК-библиотеки.

После амплификации цепи двухцепочечной ДНК (дцДНК) разделяли на магнитных частицах со стрептавидином. Полученные одноцепочечные ДНК-олигонуклеотиды (оцДНК) использовали в следующих циклах отбора. Отбор аптамеров осуществлялся на протяжении 14 повторяющихся циклов.

Обогащенную дцДНК-библиотеку, полученную в последнем цикле CE-SELEX, клонировали и секвенировали. После анализа индивидуальных клонов определили 6 уникальных последовательностей олигонуклеотидов:

1. ATGTCCAGCGTCAGGTCCGAGGCCTAAAGTTACGAGGAGGCGTCGTTATCGGTTTCAGTAA;
2. ATGTCCAGCGTCAGGTCCGAGTGCGGAAAGTACGTTAAAGCGTCGTTATCGGTTTCAGTAA;
3. ATGTCCAGCGTCAGGTCCGCGGGGACCGCCACTATGTGAGCGTCGTTATCGGTTTCAGTAA;
4. ATGTCCAGCGTCAGGTCCGCGAGGGGACAGAGGTATGGGCGTCGTTATCGGTTTCAGTAA;
5. ATGTCCAGCGTCAGGTCCGGAGGAAAGCCCGGACCCACGGCGTCGTTATCGGTTTCAGTAA;
6. ATGTCCAGCGTCAGGTCCGTAACGGGGCACCGCCGGAAGGCGTCGTTATCGGTTTCAGTAA.

Методом вертикального электрофореза в 8% полиакриламидном геле в нативных условиях установлено, что отобранные аптамеры являются специфичными и аффинными лигандами к белку $\beta 2$ -микроглобулину и не связываются с БСА («отрицательная» мишень).

Таким образом, показана возможность создания новых, высокоэффективных, простых и недорогих средств детекции маркеров различных заболеваний для диагностики и терапии.

Литература

1. Zhou J, Rossi JJ. The Therapeutic Potential of Cell-Internalizing Aptamers. *Current topics in Medicinal Chemistry*. – 2009. – V. 9; N. 12. – P. 1144–1157.
2. Jayasena SD. Aptamers: An Emerging Class of Molecules that Rival Antibodies in Diagnostics. *Clinical Chemistry*. – 1999. – V. 45; N. 9. – P. 1628–1650.
3. Москалец А. И., Щербина О.В., Опухолевые маркеры в лабораторной диагностике// *Лабораторная диагностика*. – 2011. – Т. 1; № 55.

ПРОБЛЕМЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОД

Баренбойм Г.М., Чиганова М.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт водных проблем
Российской академии наук, Москва, Россия

mblshok@mail.ru

В мировой практике используется не менее 4000 лекарственных веществ (ЛВ), составляющих активную основу лекарственных средств (ЛС). Остатки ЛС найдены в окружающей среде 71-ой страны в основном в поверхностных и сточных водах, но их присутствие также зафиксировано в подземных и питьевых водах, в почве, в биоте и других средах. К концу 2014 г. в окружающей среде было найдено около 600 ЛВ, принадлежащих к разным терапевтическим группам, их метаболитов и продуктов их химической деградации [1]. В целом, проблема лекарственного загрязнения среды приобрела глобальный характер по его распространенности и глобальную общественную значимость.

Наши исследования, проведенные на водохранилищах и реках, входящих в систему питьевого водоснабжения Москвы, выявили 47 ЛВ, 38 метаболитов иных ЛВ, вспомогательные компоненты ЛС. [2]. Таким образом,

проблема загрязнения вод лекарствами с учетом их доказанного негативного действия на гидробионты и существующими рисками воздействия на население является и российской проблемой.

Глобальность проблемы требует создания метода или группы методов определения веществ лекарственного происхождения в окружающей среде. Международный стандарт такого рода, представленный как стандарт ISO или E-ISO, отсутствует. Россия также не имеет своего стандартного метода по определению лекарственного загрязнения. Необходимы методы для тотального скрининга ЛВ в воде, обнаружения априорно заданных групп ЛВ, индивидуальных ЛВ.

В настоящее время в соответствующих исследованиях доминируют методы газовой или жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией. В большинстве стран используется метод Агентства охраны окружающей среды США 1964 US EPA, который требует хорошо оснащенной лаборатории и ориентирован только на 4 группы ЛВ, хотя во многих случаях априорно неизвестно, какие ЛВ «плавают» в реке. Этот метод не используется для определения метаболитов, которые могут быть намного опаснее исходных ЛВ. Во многих странах (в России, в частности) этот метод не является легитимным.

Наш опыт показывает, что основными проблемами при анализе загрязнения вод ЛВ являются их низкая концентрация в природных водах (вплоть до долей нг/л), трудность получения стандартных образцов ЛВ и их метаболитов. Следует учитывать и сильную загрязненность матрицы (пробы воды) другими органическими и неорганическими соединениями, которые могут выступать синергистами действия лекарств, а потому также нуждаются в определении их содержания в воде. В целом, для исследований, связанных с лекарственным загрязнением вод и с оценкой его опасности, необходимо создание взаимосвязанного комплекса аналитических методик и их стандартизация в общероссийском, а затем и в общемировом масштабах.

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект №14-17-00672).

Литература.

1. Pharmaceuticals in the environment – the global perspective. – <http://pharmaceuticals-in-the-environment.org>.
2. Баренбойм Г.М., Чиганова М.А. Загрязнение природных вод лекарствами. – М.: Наука, 2015. – 283 с.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТРИКЛОЗАНА В АНТИСЕПТИЧЕСКИХ МЫЛАХ И КОЖНЫХ АНТИСЕПТИКАХ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Бендрышева С.Н.¹, Шестопалова Т.Н.¹, Андреев С.В.¹

¹ФБУН НИИДезинфектологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

bendrysheva@mail.ru

Триклозан (5-хлоро-2-(2,4-дихлорофенокси)фенол) более 40 лет применяется в качестве противомикробного средства. Наиболее часто – в составе антимикробных мыл, а также в составе кожных антисептиков в комплексе с другими действующими веществами (спирты, хлоргексидина биглюконат, др.). Кроме того, триклозан широко употребляется в качестве антимикробной добавки при производстве средств для ухода за полостью рта, дезодорантов. В готовых дезинфицирующих средствах триклозан преимущественно используется в концентрациях от 0,1 до 0,3%.

Антимикробное действие триклозана максимально в отношении грамположительных бактерий (за исключением возбудителя туберкулеза), менее выражено в отношении грамотрицательных бактерий, минимально в отношении грибов. На споры триклозан не действует, сведений о вирулицидной активности и воздействии на прионы недостаточно.

Наиболее распространенным методом определения триклозана в дезинфицирующих средствах является УФ-спектрофотометрия при 275-290 нм. Антисептические мыла и кожные антисептики являются объектами сложного состава, которые в качестве вспомогательных компонентов, как правило, содержат красители и душистые вещества. Данные соединения часто поглощают в диапазоне длин волн 275-290 нм, что затрудняет выполнение измерения. Очевидно, что анализ таких средств требует дополнительных операций для устранения мешающего влияния и необходимо приложить много усилий для минимизации вклада вспомогательных компонентов в общую величину аналитического сигнала. В результате, поиск новых селективных методов определения 5-хлоро-2-(2,4-дихлорофенокси)фенола в дезинфицирующих средствах является актуальной задачей.

Газовая хроматография является распространенным методом анализа многокомпонентных объектов. В данной работе газожидкостная хроматография с пламенно-ионизационным детектором успешно применена для определения триклозана в дезинфицирующих средствах. При анализе антисептического мыла триклозан экстрагировали гексаном и хроматографировали полученный экстракт. Подготовка пробы кожного антисептика включала в себя только разбавление средства изопропиловым спиртом. Разделение проведено с использованием капиллярной колонки BR-5 (длина колонки 30 м, внутренний диаметр колонки 0,25 мм, толщина слоя неподвижной фазы 0,25 мкм) в условиях программированного нагрева (начальную температуру колонки 100° выдерживали 2 мин, затем колонку нагревали до 270°C со скоростью 20°C/мин).

ПОВЕРХНОСТНО-СЛОЙНЫЕ УГОЛЬНОФТОРОПЛАСТОВЫЕ СОРБЕНТЫ ДЛЯ САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ЛЕТАЧИХ ЭКОТОКСИКАНТОВ В ВОЗДУХЕ

Бугайченко А.С.

Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии, Санкт-Петербург, Россия
alexandrastepanjuk@gmail.com

Разработка высокоэффективных методов концентрирования определяемых веществ является одной из актуальных задач для санитарно-гигиенического контроля атмосферного воздуха. Одним из наиболее эффективных и распространенных методов концентрирования летучих органических веществ из газовых сред считается динамическая сорбция. К недостаткам традиционных объемно-пористых сорбентов можно отнести невысокую скорость массообмена, которая приводит к высокой продолжительности стадии сорбционного концентрирования, а вместе с ней и всего анализа.

Для повышения эффективности массообмена сорбционных процессов возможно применение поверхностно-слоистых сорбентов (ПСС), в которых мелкодисперсный сорбционно-активный материал (САМ), находится в порах относительно крупнодисперсного носителя. Универсальным носителем для неполярных САМ является пористый политетрафторэтилен (ПТФЭ), который наряду с минимальной полярностью обладает достаточно высокой адгезионной способностью, что позволяет наносить на него практически любые неполярные адсорбенты. К наиболее эффективным и универсальным САМ принадлежат активные угли, среди которых наибольшей гидрофобностью и наименьшей каталитической активностью обладает активный уголь марки БАУ. В отличие от полярных микропористых адсорбентов активные угли имеют относительно небольшое адсорбционное сродство к водяному пару и могут быть использованы для выделения органических веществ из влажного воздуха. В поверхностно-слоистых сорбентах сорбционные процессы протекают в тонком поверхностном слое, обеспечивая высокую скорость массообмена, а применение достаточно крупных частиц носителя позволяет осуществлять сорбционное концентрирование при невысоких входных давлениях анализируемого воздуха.

Установлено, что параметры удерживания аналитов и эффективность массообмена определяются содержанием САМ и не зависят от способа получения ПСС. Для синтеза поверхностно-слоистых сорбентов с повышенным содержанием (до 50%) САМ был использован метод суспензионного насыщения, основанный на импрегнировании носителя суспензией адсорбента в летучем растворителе с его последующим испарением.

Благодаря более высокой эффективности массообмена ПСС с массовой долей угля более 20% позволяют при прочих равных условиях количественно извлекать аналиты из больших объемов воздуха, чем объемно-пористый активный уголь БАУ. Кроме этого, в случае ПСС объемы до проскока относительно слабо зависят от скорости потока воздуха.

Использование предложенных неполярных ПСС для концентрирования аналитов с последующей термодесорбцией и газохроматографическим анализом позволило разработать экспрессные схемы определения низкомолекулярных органических веществ (низшие спирты, кетоны и сложные эфиры) на уровне ПДК в воздухе с ненормируемым влагосодержанием.

ИЗУЧЕНИЕ СПЕКТРА ОКИСЛЕННЫХ БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Вавилов Н.В., Годовалов А.П.

ГБОУ ВПО Пермский государственный медицинский университет
имени академика Е.А. Вагнера Минздрава России, Пермь, Россия

Окислительный (оксидативный) стресс – процесс повреждения клетки в результате окисления, с последующим распространением повреждения во внеклеточную среду. В организме человека продуцируется большое количество активных форм кислорода, как в процессе нормального метаболизма, так и в побочных путях обмена веществ. Являясь высоко химически активными молекулами, они вмешиваются в молекулярное равновесие организма. Изучение вопроса влияния активных форм кислорода на молекулярный гомеостаз началось с начала 70-х годов прошлого века, когда основным маркером свободнорадикальных процессов служили продукты перекисного окисления липидов. Однако под действием оксидативного стресса так же изменяется нативная конформация белковых молекул, вплоть до фрагментации, что отражается на их функции. С середины 80-х годов появились методики по выявлению окисленных форм белковых молекул, но до сих пор нет унифицированной методики для определения концентрации окисленных белков.

Цель исследования – определить уровень окислительной модификации белка сыворотки крови человека.

Материалы и методы исследования. Исследована сыворотка периферической крови 34 практически здоровых доноров в возрасте $21,1 \pm 0,3$ года. Оценку окислительной модификации белка проводили по методу Reznick et al. (1994) в нашей модификации, сущность которой заключалась в пропорциональном уменьшении объемов участников реакции. Принцип реакции основывается на взаимодействии окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-денитро-

фенилгидразином с образованием производных 2,4-динитрофенилгидразона (ДНФ), плотность поглощения которого оценивали спектрофотометрически при 360 нм для нейтральных кетон-ДНФ, при 430 нм для основных кетон-ДНФ и при 530 нм для нейтральных альдегид-ДНФ (Копытова и соавт., 2014). Концентрацию окисленных белков выражали в нмоль/мг общего белка сыворотки, который определяли микробиуретовым методом. Для статистической обработки использовали t-критерия Стьюдента. За пороговый уровень значимости принимали величину $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Известно, что кроме фрагментации окислительная модификация белков может приводить к образованию карбонильных производных, что не связано с распадом белковой молекулы, но сопровождается значительным изменением ее структурной организации (Дубинина, 2006). Именно такой тип изменений рассматривают как возможный пусковой механизм многих патологических процессов (Лопухин и соавт., 2000). В настоящем исследовании установлено, что уровень нейтральных кетон-ДНФ сыворотки здоровых доноров составил $1,84 \pm 0,06$ нмоль/мг белка, что соответствует результатам, полученным как в классическом варианте реакции ($p > 0,05$), так и литературным данным (Dalle-Donne et al., 2003; Sheth et al., 2011). Уровень основных кетон-ДНФ составляет $1,12 \pm 0,05$ нмоль/мг, а нейтральных альдегид-ДНФ – $0,48 \pm 0,02$ нмоль/мг.

Выводы. Таким образом, проведенные исследования позволили выявить базальный уровень окисленных белков сыворотки крови практически здоровых людей, а предложенный вариант микрометода может быть использован для определения окислительной модификации белка сыворотки крови, что значительно снижает количество используемых реактивов.

СРАВНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЙ АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ В ОРИГИНАЛЬНЫХ И ВОССТАНОВЛЕННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ В СОЧЕТАНИИ С МАТЕМАТИЧЕСКИМИ АЛГОРИТМАМИ

Власова И.В., Томашевский И.А., Клишева Г. И.

ФГБОУ ВПО Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского, Омск, Россия
vlaso-iri@yandex.ru

В настоящее время на фармацевтическом рынке все большую долю занимают лекарственные препараты, взаимозаменяемые или аналогичные по составу оригинальному лекарственному препарату – дженерики. Дженерики должны полностью соответствовать оригинальным препаратам, т.е. быть эквивалентными. Важнейшим показателем качества дженериков является их фармацевтическая эквивалентность. Учитывая возрастающие объемы поступающих на фармацевтический рынок лекарственных средств, актуальной становится задача разработки экспрессных методик оценки фармацевтической эквивалентности дженериков, т.е. соответствие их оригинальным препаратам по содержанию активных компонентов.

Цель работы: разработка спектрофотометрической экспресс-оценки качества лекарственных препаратов по содержанию активных компонентов.

Объектами исследования выступали одно-, двух- и трехкомпонентные растворы лекарственных веществ (кофеин, парацетамол, ацетилсалициловая кислота, ибупрофен), входящие в состав оригинальных препаратов и дженериков, а также сами эти препараты. В ходе работы были проанализированы 27 препаратов, среди которых 5 оригинальных и 12 восстановленных.

Анализ выполняли методом УФ- спектрометрии, все спектры снимали на спектрофотометре СФ-2000. Обработку спектральной информации вели с применением методов главных компонент (ГК) и проекции на латентные структуры (ПЛС), для чего использовали программу Unscrambler 10.3 (CAMO, Норвегия), а также метода множественной линейной регрессии (МЛР). В последнем случае расчеты выполняли с использованием программы Orthic-MLR, написанной в пакете MATLAB.

В результате работы нами была показана возможность применения метода ГК для ранжирования растворов ацетилсалициловой кислоты (АСК), парацетамола, ибупрофена, а также растворов двух- и трехкомпонентных смесей этих веществ по спектрам поглощения. Удастся отдельно сгруппировать однотипные, т.е. одного качественного состава, растворы, отличающиеся между собой по содержанию компонентов на $\pm 5\%$.

Для экспресс-оценки содержания активных компонентов в лекарственных препаратах предложено использовать новые показатели: для однокомпонентных – обобщенную оптическую плотность, для двух- и трехкомпонентных – обобщенное отклонение оптической плотности. Установлено, что данные показатели наряду с методом ГК позволяют правильно предсказать содержание компонентов в препаратах. При этом объем вычислений минимален и не требует специального программного обеспечения.

Методами МЛР и ПЛС выполнен количественный анализ лекарственных препаратов. Правильность определения компонентов подтверждена методом добавок. Погрешности определения добавок составляют 0,1 – 5 % отн. Показано, что результаты количественного анализа хорошо согласуются с экспресс-оценкой препаратов по содержанию активных компонентов.

**ОСОБЕННОСТИ МИКРО- И УЛЬТРАМИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА КОСТНОЙ ТКАНИ
ЧЕЛОВЕКА ПРИ КОКСАРТРОЗЕ****Герк С.А., Голованова О.А.**Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского, Омск, Россия
gerksa_11@mail.ru

Несмотря на стремительный темп развития современной медицины среди заболеваний костно-мышечной системы человека коксартроз занимает одно из первых мест по распространённости среди населения и неблагоприятным последствием. В большинстве случаев альтернативным способом лечения данной патологии остается замена суставов имплантатами (эндопротезирование) [1]. В связи с чем, детальное исследование химического состава костной ткани, подвергшейся дегенеративно-дистрофическим изменениям, для разработки эффективных способов его профилактики, диагностики и лечения является актуальной проблемой.

Цель работы. Изучение особенностей микро- и ультрасикроэлементного состава костной ткани человека при коксартрозе.

Материал и методы исследования. Объектами исследования являлись костные ткани головок бедренных костей мужчин и женщин Омского региона в возрасте от 30 до 60 лет, удаленных вследствие коксартроза. В качестве контрольных проб костной ткани использованы контрольные образцы (, которые извлекались в соответствии с нормативными документами № 694 от 21.07.1978 г. п. 2.24, №8-ФЗ от 12.01.1996 г. п. 3, №73-ФЗ от 31.05.2001 г. п. 14, 16. Динамика заболевания оценивалась путем сравнения трех горизонтальных срезов, полученных из бедренных головок: верхний, средний и нижний. Содержание ионов микроэлементов в костных образцах проведено с помощью масс-спектрографии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) на спектрофотометре ELAN 9000. Предел обнаружения элементов составлял 10-9- 10-13 масс. %.

Полученные результаты, их обсуждение. В костных образцах определены следующие микроэлементы – Zn, Si, Fe, Sr (10-3-10-2 масс. %) и ультрамикроэлементы – Ni, Al, Cr, Ba, Ti, Cu, Co, Mn, Sn (10-6 -10-3 масс. %). Установлено, что абсолютное содержание элементов во всех контрольных образцах близко по массовому количеству к нижним поврежденным срезам. В пораженных верхних срезах костных тканей лиц первой и второй возрастных групп (30-49 и 50-59 лет) по сравнению с контрольными пробами повышено содержание ионов меди в 3 раза, олова в 4 раза, железа в 11 раз, марганца в 17 раз и хрома (в ряде образцов) в 18 раз. Также в отличие от «нормы» в поврежденных пробах можно отметить незначительное уменьшение количества ионов стронция.

Полученные результаты свидетельствуют о нарушении процессов костного ремоделирования при кокартрозе. С одной стороны, возрастает содержание элементов, оказывающих активирующее действие на костную минерализацию (Cu и Mn), с другой, изменяется количество микроэлементов, ускоряющих скорость костной резорбции (Fe и Sn). Завышенные концентрации токсичного элемента хрома в ряде образцов также указывает на разрушающий (дегенеративный) характер метаболизма при данном заболевании. Роль олова в костном обмене в настоящее время не изучена.

Литература

Кузьмин И.И. Эндопротезирование тазобедренных суставов: история и современность // Журнал здоровья. Владивосток. 2013. № 2.

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ ДВУХФАЗНОГО ФОСФАТА КАЛЬЦИЯ**Герк С.А., Голованова О.А.**Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского, Омск, Россия
gerksa_11@mail.ru

В настоящее время наиболее биосовместимыми считаются материалы на основе фосфатов кальция (гидроксилапатита, β -фосфата кальция, брусита и др.) вследствие химического и кристаллического сходства с минеральной компонентой костной ткани человека. Однако, данные биоматериалы реасорбируются *in vivo* с различной скоростью. Например, гидроксилапатит, составляющий неорганическую фазу кости, отличается стойкостью к реасорбции в физиологических условиях (от 3 до 6 лет после имплантации в организм) [1]. В связи с чем, с целью улучшения способности к реасорбции кальций-фосфатных имплантатов и увеличения их остеокондуктивной способности, синтез полифазных материалов, содержащих более растворимые, чем гидроксиапатит фосфаты кальция является актуальным направлением.

В работе получен двухфазный кальций-фосфатный материал методом осаждения из модельного раствора – прототипа, соответствующего по ионно-электролитному составу, pH ($\text{pH}=7,40\pm 0,05$) и ионной силе синовиальной жидкости человека при стократном пересыщении по ионам Ca^{2+} и HPO_4^{2-} . Приливание раствора, содержащего анионы к раствору с катионами кальция и магния, осуществлялось по каплям (со скоростью 1 капля в сек.). Время кристал-

лизации твердых фаз составляло 7 суток. Фазовый состав полученных осадков исследован с помощью РФА и ИК-спектроскопии. Установлено, что синтезированный кальций-фосфатный материал состоит из двух фаз – витлокита (магний содержащий фосфат кальция $\text{Ca}_{18}\text{Mg}_2\text{H}_2(\text{PO}_4)_{14}$ (JCPDS № 70-2064) и гидроксилapatита ГА, $(\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_2(\text{OH})_5$, JCPDS, № 73-293). Расчет концентраций присутствующих фаз по методу корундовых чисел показал, что содержание в образце витлокита составляет 60 %, а ГА – 40%. Размер кристаллитов вычисленных по формуле Дебая-Шеррера составляет 4,2 нм. Атомное соотношение Ca/P для двухфазного материала составляет 1,22 и близко к плохо окристаллизованному гидроксилapatиту, который образуется на начальной стадии костной минерализации [2]. Показано, что для ГА полученного материала в отличие от стехиометричной фазы (Ca/P = 1,67) отмечается увеличение значения параметра a и уменьшение c , и как следствие наименьшая величина соотношения c/a . Объем элементарной ячейки данного ГА незначительно возрастает. Подобные характеристики кристаллической решетки характерны для нестехиометрических кальцийдефицитных гидроксилapatитов, в том числе, карбонатсодержащих, которые обладают большей растворимостью по сравнению со стехиометричным ГА.

Таким образом, на основе прототипа синовиальной жидкости человека получен двухфазный материал, содержащий помимо гидроксилapatита (40 мас. %) витлокит (60 мас. %), который характеризуется умеренной реабсорбируемостью *in vivo* [1].

Работа выполнена при финансовой поддержке совета по грантам Президента Российской Федерации (проект № СП-933.2015.4).

Литература.

1. Фонт Перес Х. и др. Пат. 2491960 Российская Федерация. МПК А61L27/12, А61F2/02, А61F2/28, С01В25/32. Трехмерные матрицы из структурированного пористого монетита для тканевой инженерии и регенерации кости и способ их получения. Патентообладатель Истосель, С.Л. 2010153515/15, заяв. 08.07.2009; опубл. 10.09.2013.
2. Е. Браунвальд, К. Л. Иссельбахер, Р. Г. Петерсдорф, Внутренние болезни. 1997. 4944.

СОРБЦИОННО-СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ

Голуб А.Я., Неудачина Л.К.

Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия
Alexey.Golub@urfu.ru

Микроэлементозы являются частыми патологиями живых организмов. Особенно актуальна данная проблема в свете интенсификации антропогенного загрязнения биосферы промышленными выбросами. Поскольку патофизиологическое действие избыточных количеств различных микроэлементов способно вызывать стойкие, а иногда и необратимые изменения в органах и тканях человека, необходимо предупреждение или, как минимум, снижение вероятности контакта живого организма с избыточными концентрациями загрязнителей. В особенности это важно в отношении элементов, имеющих достаточно низкие ПДК. В то же время даже с применением современных методов анализа из-за следовых количеств веществ не всегда удается с достаточной точностью определить концентрации различных токсикантов в воздухе рабочей зоны и других объектах. В связи с этим возникает необходимость в предварительном концентрировании микроэлементов с целью последующего их определения. Кроме того, совместное присутствие некоторых металлов затрудняет определение их без разделения. В данной работе в качестве сорбционного материала предлагается полисилоксановый сорбент, обладающий рядом преимуществ, в сравнении как с органополимерными матрицами, так и с другими неорганическими сорбентами (углем, алюмосиликатами и пр.). В роли ковалентно закрепленных ФАГ сорбента выступают тиокарбамидные группы, обладающие высоким сродством к таким микроэлементам, как свинец и кадмий.

Показано, что свинец количественно извлекается тиокарбамоилированным полисилоксаном из умеренно-кислых сред (при этом логарифм коэффициента распределения достигает 4-х порядков), в то время как кадмий извлекается сорбентом из умеренно-щелочных сред (логарифм коэффициента распределения приближается к 1,5). Время достижения равновесия сорбции не превышает 15-20 минут, что выгодно отличает исследуемый полисилоксан от широко используемых материалов, таких как цеолиты, почвы и т.д. Следует отметить, что ионы обоих металлов взаимодействуют с функциональными тиомочевинными группами преимущественно по комплексообразовательному механизму за счет наличия в структуре поглотителя донорных атомов серы и азота. Такой механизм обеспечивает прочное связывание микроэлементов. Тем не менее, их удастся десорбировать многократной обработкой твердой фазы разбавленным (около 2 моль/дм³) раствором HCl. Более эффективным в качестве десорбента является подкисленный раствор тиомочевины.

Была оценена возможность последующего спектроскопического определения кадмия и свинца методами атомно-абсорбционного и атомно-эмиссионного анализа. В обоих вариантах существенное влияние на величину сигнала оказывает, во первых, фоновый буферный раствор (универсальная буферная смесь), во-вторых, в случае десорбции тиомочевинной, сам десорбент, который в условиях атомизации забивает узлы спектрометра. В связи с этим предложено при построении градуировочных графиков в стандартные растворы солей металлов вводить в качестве фона универсальную буферную смесь в соответствующей концентрации. Нивелировать негативное влияние тиомочевинной удастся предварительным разбавлением растворов. Таким образом, возможно раздельное определение кадмия и свинца при их следовом содержании в анализируемом объекте методом атомной спектроскопии с предварительным концентрированием на тиокарбамоилированном полисилоксане.

СОСТОЯНИЕ ГЕМОГЛОБИНА И СЕЛЕЗЕНКИ У ОБЛУЧЕННЫХ МЫШЕЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СОЕДИНЕНИЙ АЗОТА И СЕРЫ

Гончаров С.В., Сушко С.Н.

ГНУ «Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси, Гомель,
Республика Беларусь

Воздействие атмосферных поллютантов отражается на системе эритронов – клеток и органов, отвечающих за синтез и распад эритроцитов и гемоглобина (Hb). В число приоритетных загрязнителей воздуха входят соединения азота и серы. Диоксид серы (SO₂) может проникать в кровь и органы, вызывая нарушения в печени и селезенке, костном мозге, и способствовать образованию метгемоглобина (MetHb); снижает pH и может выступать и окислителем, и восстановителем. Рост концентрации аммиака (NH₃) в крови может как повышать сродство Hb к O₂, так и приводить к общему энергодефициту. У крупных животных паренхиматозные органы (селезенка и др.) имеют относительно меньшую массу, и именно эти «критические органы» являются мишенью для химических соединений. Поэтому у мелких животных удельная эффективная концентрация яда в этих органах выше, чем у крупных. В этом плане актуально оценить взаимосвязь параметров системы эритронов при воздействии смеси газов и облучения для определения модифицирующей роли данных факторов в развитии патологических процессов.

Цель исследования – оценить в динамике реактивность Hb и селезенки мышей на воздействие смеси SO₂+NH₃ и последующее острое облучение и установить связь между данными параметрами. Ингаляцию смесью SO₂ + NH₃ проводили на мышах линии Af в возрасте 2,5-3 мес. на установке УИН-2М в течение 4 дней по 1 ч (C_{NH3} = 1 мг/м³, C_{SO2} = 2,5-3 мг/м³). Облучение производили в день окончания последней заправки на установке ИГУР в дозе 0,5 Гр при мощности дозы 0,46 Гр/мин. Определяли уровень MetHb в эритроцитах по Evellyn–Malloy, реактивность селезенки – по индексу массы селезенки (ИМС).

Присутствуя в крови постоянно, MetHb является интегральным показателем сбалансированности процессов его генерации в результате поступления и образования в организме окисляющих агентов и функциональности метгемоглобинредуктазы. После ингаляции мышей смесью SO₂+NH₃, как и после облучения, уровень MetHb в крови возрастает до максимума на 18-25-е сутки, а комбинированный эффект на 4-18-е сутки остается в норме, статистически значимо возрастая к 25-ым суткам. Кроме того, в поздние сроки при комбинированном воздействии изменения уровня MetHb по типу взаимодействия факторов коррелируют с результатами кинетики нитритного окисления Hb (период полуокисления, скорость реакции).

Показано, что в течение 11-х суток при монофакторных воздействиях, а также при комбинации факторов, ИМС снижался до 10-15% и был устойчиво понижен у облученных мышей с последующим возрастанием роли ингаляции; при комбинации наблюдался значимый эффект аддитивного характера. К 18-ым суткам при монофакторном воздействии ИМС возрос: после облучения повысился на 13%, а после ингаляции достоверно превышал на ~32% (максимум) уровень контроля; при комбинации факторов расчет показал величину коэффициента взаимодействия ниже аддитивной (KB=0,39).

В ходе опыта у облученных мышей динамика ИМС шла с возрастанием до 18-х суток с последующим убыванием к 32-ым. По тенденции изменений динамика ИМС комбинированного эффекта коррелировала с таковой при ингаляции, происходила с более сильными перепадами и носила волнообразный характер. К окончанию эксперимента общая направленность изменений свидетельствовала о стабилизации состояния системы эритронов. В целом по эксперименту отмечена корреляция между ИМС и MetHb. Это обусловлено, очевидно, непрерывной динамической взаимосвязью процессов синтеза/разрушения эритроцитов, при которой может происходить реакция фиксированных макрофагов селезенки на эритроциты с измененными свойствами с пока недостаточно изученным механизмом.

МЕХАНИЗМ МЕТИЛГЛИОКСАЛЬ-ИНДУЦИРОВАННЫХ НАРУШЕНИЙ ПРОЦЕССА УБИКВИТИЛИРОВАНИЯ, КАТАЛИЗИРУЕМОГО ГЕТЕРОДИМЕРОМ UBE2N/UEV1

Гурьев Е.Л.¹, Жуков И.Ю.^{1,2}, Мезенцев Ю.В.³, Згода В.Г.³, Иванов А.С.³, Гайнуллин М.Р.^{1,2}

¹Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

²ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва, Россия

murat_g@mail.ru

Убиквитин-конъюгирующий фермент UBE2N в составе гетеродимерного комплекса с адаптерным белком UEV1 катализирует формирование мультиубиквитиновых цепей, полимеризованных по внутренним остаткам лизина-63 в молекуле убиквитина. Регуляторная роль данного типа убиквитилирования показана для большого числа ключевых клеточных процессов. Представляет интерес исследование механизмов, связанных с нарушением адекватного функционирования системы UBE2N/UEV1 под действием патогенетических факторов. В данной работе изучена неферментативная модификация убиквитин-конъюгирующего фермента UBE2N метилглиоксалем (МГ). МГ является эндогенным метаболитом, обладающим выраженной гликирующей способностью и рассматривается как ведущий фактор в развитии таких патологий, как сахарный диабет и хроническая почечная недостаточность. Нами установлено, что UBE2N, модифицированный МГ *in vitro*, а) подвергается олигомеризации с образованием стабильных высокомолекулярных агрегатов; и б) теряет способность синтезировать мультиубиквитиновые цепи в составе гетеродимера с UEV1. При этом индивидуальная автокаталитическая активность UBE2N сохраняется без изменений. Для расшифровки механизма реализации выявленных эффектов проведено масс-спектрометрическое картирование МГ-индуцированных модификаций остатков лизина и аргинина, а также методом поверхностного плазмонного резонанса исследовано влияние неферментативного гликирования на образование комплекса UBE2N/UEV1. Мы выявили набор структурных и функциональных изменений, которые претерпевает молекула убиквитин-конъюгирующего фермента UBE2N под влиянием МГ *in vitro*. Ключевыми модификациями структуры являются а) МГ-зависимая дериватизация остатков аргинина и лизина с образованием преимущественно гидроски-имидизалонных карбоксиэтил-лизиновых аддуктов; и б) формирование высокомолекулярных агрегатов, предположительно, за счет МГ-индуцированных поперечных сшивок. Важнейшим функциональным последствием неферментативного гликирования является потеря способности UBE2N димеризоваться с адаптерным белком UEV1. В результате этого ферментативный комплекс UBE2N/UEV1 теряет способность к синтезу мультиубиквитиновых цепей. При этом индивидуальная автокаталитическая активность UBE2N сохраняется без изменений. Полученные результаты указывают, что воздействие неферментативного гликирования на белок-белковые взаимодействия является ведущим механизмом нарушений UBE2N-опосредованного убиквитилирования. Таким образом, белок-белковые взаимодействия могут рассматриваться как значимая мишень МГ-опосредованных патологических процессов.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант №14-04-01199-а.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОДУКТОВ ФОТООКИСЛЕНИЯ БИСРЕТИНОИДА A2E В ЛИПОФУСЦИНОВЫХ ГРАНУЛАХ ПО СООТНОШЕНИЮ ИНТЕНСИВНОСТИ ЗЕЛеноЙ И КРАСНОЙ АУТОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

Донцов А.Е., Сакина Н.Л.

Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

adontsov@sky.chph.ras.ru

Сетчатка глаза проявляет внутреннюю аутофлуоресценцию (АФ), обусловленную, в основном, флуорофорами липофусциновых гранул клеток ретинального пигментного эпителия (РПЭ). Неинвазивная технология регистрации АФ изображения глазного дна – это перспективная диагностическая возможность получения информации о распределении и количестве липофусциновых гранул в клетках РПЭ, картина, которая может меняться не только с возрастом, но и при различных глазных патологиях. Предполагается, что накопление бисретиноидных флуорофоров и особенно продуктов их окисления, приводит к повреждению клеток РПЭ, что вероятно связано с этиологией таких заболеваний глаза, как например, возрастная макулярная дегенерация сетчатки, болезнь Штаргардта, диабетическая ретинопатия. Поэтому для диагностики и прогноза развития таких заболеваний важно видеть не только общую картину АФ глазного дна, но и попытаться выделить вклад в нее более токсичных фотоокисленных бисретиноидов, появление и нарастание концентрации которых может быть важным прогностическим фактором при диагностике многих заболеваний глаза. Накопление фотоокисленных продуктов приводит к спектральным изменениям, и этот процесс может быть выявлен при использовании техники АФ глазного дна с видеоразрешением в двух спектральных областях – так называемой цветной АФ глазного дна.

Цель настоящего исследования – выяснение возможности количественной оценки относительного содержания фотоокисленных бисретиноидов путем регистрации интенсивности флуоресценции при разных длинах волн. Объектом исследования служили модельные липофусциновые гранулы, содержащие в качестве флуорофора бисретиноид А2Е и его фотоокисленные продукты в различных соотношениях. Модельные липофусцины были приготовлены из наружных сегментов фоторецепторов (НСФ) глаза быка. Для этого НСФ инкубировали с малоновым диальдегидом или метилглиоксалем в течение суток при температуре 37°C с последующим диализом. К модифицированным НСФ добавляли или исходный химически синтезированный бисретиноид А2Е или полностью фотоокисленный А2Е (облучение видимым светом в течение 2 часов, 80 мВт/см²) или их смеси в различных соотношениях. Измеряли интенсивность суммарной флуоресценции модельных липофусциновых гранул в области 510-575 нм (зеленая флуоресценция) и 575-715 нм (оранжево-красная флуоресценция) при длинах волн возбуждающего света 440 нм и 488 нм. В качестве измеряемого параметра использовали величину отношения интенсивности флуоресценции в зеленой области к величине интенсивности флуоресценции в оранжево-красном диапазоне. Установлено, что величина этого отношения резко возрастает для модельных липофусциновых гранул, содержащих только фотоокисленные бисретиноиды, и составляет 1,63. В то же время для модельных липофусциновых гранул, содержащих только исходный, неокисленный бисретиноид А2Е, она была равна 0,97 (при длине волны возбуждающего света 488 нм). Это различие усиливалось при использовании коротковолнового возбуждения (440 нм). Предполагается, что предложенный подход может быть использован для расширения возможностей метода АФ глазного дна для диагностики заболеваний сетчатки.

ТЕСТ-МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИЗОНИАЗИДА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Зрелова Л.В.¹, Беляева Е.И.², Марченко Д.Ю.², Иванова Е.А.², Санджиева Д.А.², Дедов А.Г.²

¹ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия

²ГБОУ ВПО РГУ нефти и газа имени И.М. Губкина, Москва, Россия

dmitrismailr@mail.ru

В связи с непрерывно расширяющимся ассортиментом лекарственных средств в последнее время наблюдается потребность в простых и эффективных методах контроля лекарственных препаратов, требующих не только быстроты проведения анализа и отсутствия высокой квалификации исполнителя, но и применения распространенных легкодоступных реактивов и измерительной аппаратуры.

Мы разработали [1,2] новый тест-метод количественного определения гидразида изоникотиновой кислоты широко применяемого в виде лекарственного препарата «Изониазид» и «Тубазид».

Метод основан на свойстве водных растворов изониазида образовывать окрашенные соединения с солями меди на поверхности оксида алюминия. Для количественного определения достаточно нанесения одной капли водного раствора на таблетку из спрессованного оксида алюминия и сканирования офисным сканером графических изображений в графическую программу-редактор изображений. Количественное определение в препаратах производится по градуировочному графику.

Таблица 1. Метрологические характеристики разработанной методики определения изониазида в воде с применением индикаторных таблеток и цветометрического метода регистрации аналитического сигнала при помощи сканера графических изображений ($n=5$; $p=0.95$)

Введено Сиз., г/л	Найдено Сиз., по разработанному методу, г/л	σ_r	Δc	$\pm\delta$, %	Сиз. $\pm\Delta$	S_r
30	28,06	1,72	1,94	6,5	2,14	0,061
15	15,66	1,09	0,66	4,4	1,35	0,069
10	11,38	0,35	1,38	13,8	0,43	0,031
5	3,22	0,14	1,78	35,6	0,17	0,040

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ в рамках выполнения базовой части государственного задания «Организация проведения научных исследований», анкета № 1422

1. Положительное решение по заявке выдачу патента №2013154042/15(084424) от 05.12.2013
2. Заявка на выдачу патента №2015123825 от 19.06.2015. Способ обнаружения биоцидного азотсодержащего органического соединения в водном растворе этого соединения

ХРОМАТО-ДЕСОРБЦИОННЫЕ МИКРОСИСТЕМЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОМАРКЕРОВ В ВЫДЫХАЕМОМ ВОЗДУХЕ ПРИ СКРИНИНГЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Платонов И.А., Колесниченко И.Н., Платонов В.И., Михеенкова А.Э., Лобанова М.С.
ФГАОУВО «Самарский государственный аэрокосмический университет имени академика
С.П. Королёва (национальный исследовательский университет)», Самара, Россия
pia@ssau.ru

Неинвазивная диагностика – одно из передовых направлений современной медицины, которое позволяет повысить эффективность определения заболеваний на ранних стадиях. Выдыхаемый воздух содержит более 800 летучих соединений, многие из которых являются биомаркерами функциональных нарушений, так *n*-пентан, изопрен являются биомаркерами нарушения деятельности сердечно-сосудистой системы (ССС). В связи с этим актуальным является разработка аналитических средств и приемов, позволяющих осуществлять количественное определение биомаркеров в выдыхаемом воздухе.

Целью настоящей работы является разработка методических приемов и способов, позволяющих осуществлять адекватную градуировку и пробоподготовку для анализа *n*-пентана в выдыхаемом воздухе с использованием планарных микросистем.

В работе показана возможность комплексного использования микроаналитических систем для исследования выдыхаемого воздуха при скрининге СССР и выявления факторов риска нарушения функций СССР. Представлены результаты экспериментального определения и сравнения точности определения *n*-пентана в выдыхаемом воздухе при реализации стандартных процедур и при использовании микроаналитических систем. Экспериментально обоснована возможность осуществления градуировки и пробоподготовки в идентичных условиях с использованием хромато-десорбционных микросистем (ХДМС) для приготовления градуировочных растворов и концентрирования с использованием планарных микроконцентрационных систем (ПмКС). Показаны преимущества разработанных способов и приемов, реализация которых позволяет повысить точность анализа на 20%. Время анализа после проведения процедур пробоподготовки и градуировки составило 90 секунд, что отвечает требованиям экспресс-анализа и в два раза быстрее, чем при использовании стационарного газового хроматографа, при сохранении уровня предела детектирования. Было проведено концентрирование *n*-пентана из модельных смесей с известным содержанием аналита, осуществленного с использованием ПмКС и ХДМС. Установлено, что ПмКС позволяет осуществлять концентрирование не менее чем в 100 раз, и характеризуются более широким рабочим диапазоном. Причем применение ХДМС характеризуется более высокими значениями предела сходимости и воспроизводимости (12 и 15% соответственно), по сравнению с ПмКС (6 и 8% соответственно), что закономерно вследствие уменьшения вклада случайной составляющей погрешности, которое имеет место при переходе от ручного к автоматическому дозированию пробы.

Несомненным преимуществом реализуемого подхода является его соответствие принципам «зеленой химии», так как он позволяет значительно сократить применение органических растворителей.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, в рамках государственного задания на выполнение работ, Проект №608.

МОНИТОРИНГ СОДЕРЖАНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ НЕКОТОРЫХ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ В ПШЕНИЦЕ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЙ МЕТОДОМ ГХ-МС

Саунина И.В., Грибанов Е.Н., Оскотская Э.Р., Долгова Н.Н.
ФГБОУ ВПО «Орловский государственный университет», Орёл, Россия
saunina-inna@rambler.ru

Фосфорорганические пестициды объединяют большую группу препаратов различной химической структуры и представляют собой эфиры различных фосфорсодержащих кислот (фосфорной, пиррофосфорной, фосфористой и другие) и их сернистых и азотистых производных. Несмотря на эффективность в борьбе с вредителями сельскохозяйственных культур, данный вид пестицидов относится к высокотоксичным веществам. Они способны накапливаться в почве, воде, стеблях и плодах растений, зерне злаковых культур и таким образом попадать в пищу человека, вызывая острые отравления и осложнения.

Целью настоящей работы явился мониторинг остаточного содержания некоторых фосфорорганических пестицидов – диазинон, диметоат, малатион (карбофос), пиримифос-метил (актеллик), хлорпирифос, фозалон и фенитротрион – в продовольственной пшенице, используемой для производства муки хлебопекарной, отрубей и пшеничной крупки для диетического питания.

Взяты 16 проб пшеницы различных сортов урожая 2014 года, выращенных в Орловской области. Отбор образцов осуществлялся в соответствии с требованиями нормативной документации. Анализ проводили методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием аналитического сигнала согласно методическим указаниям, в день отбора проб.

В работе использовали хромато-масс-спектрометрическую систему, включающую: газовый хроматограф Agilent 7890A с масс-спектрометрическим детектором низкого разрешения Agilent 5975C; устройство для введения образца Agilent 7683B с микрошприцем Agilent G08-C6195 10 μ l; капиллярную хроматографическую колонку HP – 5MS (30 м, 0,25 мм), неподвижная фаза 5%-фенил-95%-метилполисилоксан. Условия хроматографирования: газ-носитель – гелий, скорость потока 1 мл/мин, температура испарителя 100°C, температура инжектора 230°C, режим работы детектора – полное сканирование ионов (по полному ионному току) от 50 до 550 а.е.м. В качестве стандартов определяемых действующих веществ пестицидов использовали соответствующие ГСО.

Для всех исследуемых образцов зерновой продукции, после их предварительной пробоподготовки и последующего анализа, были получены соответствующие хроматограммы и спектрограммы. По результатам определения диазинон, диметоат, малатион, пиримифос-метил, хлорпирифос, фозалон и фенитротрион в 13 исследуемых пробах пшеницы продовольственной отсутствуют. В 2 пробах обнаружен малатион (карбофос), в количестве, не превышающем допустимый уровень (0,28 мг/кг и 0,47 мг/кг при норме 3,0 мг/кг), в 1 пробе обнаружен пиримифос-метил (актеллик) (0,04 мг/кг при норме 0,1 мг/кг).

Таким образом, проведенный мониторинг содержания остаточных количеств некоторых фосфорорганических пестицидов в пробах зерновой продукции показал, что все исследуемые образцы соответствуют установленным нормам безопасности, а исследованная продовольственная пшеница может быть использована для производства пищевой продукции.

ЭЛЕМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ПЛАЗМЫ КРОВИ В МЕДИЦИНЕ ТРУДА, КАРДИОЛОГИИ И НАРКОЛОГИИ

Иванова О.М., Иванова М.А.

ФГБОУ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
o.m.ivanova@spbu.ru

Цель исследования – выявление достоверных функциональных связей между уровнями микро- и макро- элементов и параметрами систем кровообращения, гемостаза, эндокринной, иммунной, неспецифической резистентности, форменных элементов крови, уровнями макроэлементов. В работе обобщены результаты обследования 561 человека (мужчин) в возрасте 50,14±10,39 лет. Среди них: операторы котлов и турбин теплоэлектростанции (практически здоровые) – 50 человек; больные ИБС (ишемической болезнью сердца) – 457 человек, больных хроническим алкоголизмом (ХА) – 54 человека. Уровни микроэлементов в сыворотке крови определяли атомно-абсорбционным методом на спектрометре ААС-3. Са в сыворотке крови определялся унифицированным методом по цветной реакции с крезолфталеинкомплексом. К и Na в сыворотке крови определялись унифицированным методом фотометрии пламени. Содержание гормонов определяли в сыворотке крови, взятой из локтевой вены с 9 до 11 часов. Набор реактивов “Тиреоид ИФА-тироксин” фирмы “Алкор БИО” Россия использовался для количественного определения тироксина (Т4). Фактор некроза опухолей – альфа человека (ФНО- α) в сыворотке крови определялся набором реагентов ProCon TNF- α методом твердофазного иммуноферментного анализа.

У больных ИБС со стенокардией повышены уровни Zn и IgG. Отношение шансов (ОШ, odds ratio) логистической регрессии стенокардии I класса в зависимости от уровней Zn и IgG равно 2.8, II класса – 4.4, III класса – 0.84, IV класса – 5.12. ОШ логистических регрессий «физическая зависимость от алкоголя – уровни цинка, тироксина, ФНО- α /ППТ (площадь поверхности тела) равны нулю, ОШ зависимостей от уровней общего белка, Cu, Са приблизительно равны 1. Патологический процесс ХА характеризуется значимым снижением уровней Zn, общего тироксина, отношения содержания ФНО к ППТ, и не обязательно связан со снижением уровней общего белка крови, кальция и меди сыворотки крови, как считалось ранее. Поскольку ингибиторы АПФ (ангиотензин-преобразующего фермента) являются лигандами Zn и, как и умеренное потребление алкоголя, снижают уровни Zn плазмы крови, то необходимо отказаться от медицинских рекомендаций умеренного потребления алкоголя.

Удельное периферическое сосудистое сопротивление всех обследованных имеет значимую инверсную корреляцию с отношением Cu/Zn в сыворотке крови и значимую прямую корреляцию с уровнем Na в сыворотке крови. Но ударный объем имеет значимую инверсную корреляцию с уровнем Zn. Содержание кальция в сыворотке крови имеет значимую инверсную корреляцию с отношением Fe/Cu.

Впервые выявленные связи позволили рассматривать системы кровообращения, иммунитета, гемостаза, неспецифической резистентности как единую систему крови, на которую оказывают воздействие условия труда в целом.

Литература

1. O. Ivanova, M. Ivanova Adaptation to stresses induced by the effects of external low dose ionizing radiation. Journal of Cardiovascular Diseases and Diagnosis, V3, №3, 2015
2. О. М. Иванова. Воздействие низкодозовых техногенных ионизирующих излучений.

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ НАНОСИСТЕМА НА ОСНОВЕ КОЛЛОИДНОГО ЗОЛОТА ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ОПУХОЛЕВЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Игнатов Д.В., Прозоровский В.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт
биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича» РАН, Москва, Россия

guest_@rambler.ru

В последние годы в проблеме ранней диагностики онкологических заболеваний всё большее место занимает использование различного рода наночастиц, что обусловлено их способностью накапливаться в опухолевой ткани в связи с особенностью ее васкуляризации. Перспективными в этом отношении являются наночастицы (НЧ) золота благодаря их биосовместимости и оптическим свойствам. В то же время существенной проблемой остаётся визуализации мелких опухолевых образований в лимфатических узлах, которые служат источником для рецидива. Это обуславливает необходимость повышения опухолевой специфичности и чувствительности диагностических НЧ, их способности поступления в лимфосистему. Таким свойством обладают фосфолипиды, а использование их в виде наночастиц снабженных адресным вектором будет способствовать их проникновению в опухолевую клетку. По разработанной ранее технологии, нами были получены образцы фосфолипидных НЧ с коллоидным золотом, размером 30–65 нм, с добавлением конъюгированного производного фолиевой кислоты в качестве вектора.

Способность полученных наночастиц золота накапливаться в клетках была показана в экспериментах *in vitro* на культуре клеток HepG2 с помощью ISP-масс-спектрометрии и флуоресцентной микроскопии. Установлено повышенное более чем вдвое накопление золотых НЧ в клетках при включении в наносистему фосфолипидов. При этом присутствие конъюгата фолиевой кислоты почти в 3 раза повышало их поглощение клетками. После введения эмульсии НЧ мышам с перевитой опухолью LLC показано более выраженное и быстрое (через 3–6 часов после введения) накопление в опухоли золотых НЧ с фолатным вектором по сравнению с НЧ без фосфолипидов. Результаты свидетельствуют о перспективности использования для визуализации опухолей полученной диагностической системы на основе наночастиц фосфолипидов и коллоидного золота.

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ КОМПОЗИТА СВЕРХВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ПОЛИЭТИЛЕНА КАК МАТЕРИАЛА ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КАЧЕСТВЕ ХРЯЩЕВОГО БИОИМПЛАНТАТА

Копылов А.Н.¹, Лебединская О.В.², Анисимова Н.Ю.¹, Сенатов Ф.С.³, Максимкин А.В.³, Киселевский М.В.¹

¹ ФГБУ «РОНЦ им Н.Н. Блохина» РАН, Москва, Россия

² ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет имени академика
Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения РФ, Пермь, Россия

³ Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Москва, Россия
lebedinska@mail.ru

В работе исследуются механические и биологические свойства дисперсно-упрочненных нанокомпозитов на основе сверхвысокомолекулярного полиэтилена (СВМПЭ), которые были подвергнуты механоактивационной обработке.

Порошок СВМПЭ был использован в качестве полимерной матрицы. Наночастицы Al_2O_3 применялись как наполнитель. На данной основе было подготовлено 3 типа образцов: СВМПЭ, композит СВМПЭ/ Al_2O_3 и композит СВМПЭ/ Al_2O_3 после механической активации. Для исследований были изготовлены образцы различной формы: цилиндрической размерами 24×12,5 мм и 10×6,3 мм, а также полусферы диаметром 1,8 мм. Из материала, который продемонстрировал лучшие механические и трибологические свойства, готовили образцы для испытаний *in vivo* (полусферы диаметром 1,8 мм). Измерение модуля Юнга композита при сжатии проводили по ГОСТ 4651-82 на универсальной испытательной машине Zwick/Roell Z 020.

Трибологические испытания проводили в режиме трения в дистиллированной воде по методу «пальчик-диск» (pin-on-disk) на установке CETR-UMT-3 (Bruker AXS, Швейцария), при параметрах, соответствующих стандартным параметрам трибологических испытаний хрящей суставов.

При исследовании биосовместимости использованы самцы крыс линии Wistar. После наркотизации диэтиловым эфиром в суставной поверхности большеберцовой кости крыс формировали дефект полусферической формы, в который помещали образец материала. Через 60 суток экспериментальные образцы изымали вместе с окружающими тканями для макро- и микроскопического исследования, подвергая выделенные суставы стандартной гистологической обработке.

Исследования механических свойств показали, что материал, приготовленный из СВМПЭ с использованием механической активации и с добавкой Al_2O_3 , обладает самыми высокими механическими характеристиками, в част-

ности, наибольшей стойкостью к истиранию по сравнению с образцами СВМПЭ без добавки Al_2O_3 и не подвергнутого механической активации. Через 60 суток после ортотопической трансплантации крысам образцов из данного материала отмечено отсутствие каких-либо признаков воспаления, клеточной инфильтрации, разрушения образца и дальнейшего разрушения костно-хрящевого дефекта. Выявлено плотное прилегание образца к окружающим тканям. В соседних к дефекту участках сохранялся неизменённый суставной гиалиновый хрящ. На границе дефекта с неизменёнными тканями выявлялись очаги хондролиза. В прослойках соединительной ткани не обнаружено лейкоцитарной инфильтрации, что можно рассматривать как отсутствие реакции острого отторжения и, следовательно, рассценивать в качестве доказательства биосовместимости исследуемого образца с тканями организма. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования СВМПЭ в качестве материала для создания имплантатов с целью замещения хрящевых дефектов.

ОЦЕНКА ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ СВОЙСТВ ХЛОРИНА Е6, ВСТРОЕННОГО В ФОСФОЛИПИДНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ

Кострюкова Л.В., Прозоровский В.Н., Ипатов О.М., Медведева Н.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва, Россия

lyubov.kostryukova@ibmc.msk.ru

Фотодинамическая терапия является эффективным неинвазивным методом лечения и диагностики различных заболеваний, широко применяемая в последнее десятилетие в онкологии. Метод основан на использовании фотосенсибилизаторов, которые под воздействием облучения определенной длины волны способны инициировать окислительные процессы, вызывающие гибель клеток опухоли без повреждения здоровой ткани. В настоящее время одним из наиболее успешных фотосенсибилизаторов, широко используемых в медицинской практике, является хлорин е6. В ИБМХ была разработана лекарственная композиция хлорина е6, снабженного системой транспорта на основе фосфолипидных наночастиц (Хлорин-НФ) (Патент РФ № 2535054).

Хлорин е6 под воздействием облучения лазером с $\lambda = 650$ нм продуцирует синглетный кислород и другие свободные радикалы, индуцирующие окислительные процессы в окружающей среде. Окислительные свойства е6 оценивали по его способности окислять глутатион (ГЛУ). Известно, что ГЛУ является основным антиоксидантом, прямо или опосредованно участвующим в наиболее важных процессах жизнедеятельности клетки. Сравнительную оценку окислительных свойств хлорина е6 в свободном виде и в составе Хлорина-НФ в экспериментах *in vitro* проводили с помощью разработанного нами метода масс-спектрометрического определения восстановленного ГЛУ.

С этой целью сравнивали кинетику окисления ГЛУ в плазме крови здорового донора в присутствии 0,5 мг/мл хлорина е6, введенного в свободном виде и в составе Хлорина-НФ. Контролем служили образцы, в которых вместо хлорина добавляли дистиллированную воду. Образцы плазмы крови инкубировали в темноте в течение 15 мин, затем облучали лазером с длиной волны 650 нм и анализировали на содержание ГЛУ в них в зависимости от времени облучения.

Анализ результатов показал, что кинетика окисления ГЛУ добавленного в плазму крови здоровых доноров при введении хлорина е6 в свободном виде и в составе фосфолипидных наночастиц была практически одинаковой. Конечное содержание ГЛУ восстановленного в обоих случаях составляло 56-60%. В контрольных образцах (без фотосенсибилизаторов) облучение приводило к незначительному снижению содержания ГЛУ восстановленного, которое учитывалось при интерпретации экспериментов в присутствии фотосенсибилизаторов.

Таким образом, на примере хлорина е6 показано, что разработанный нами ранее метод масс-спектрометрического определения восстановленного ГЛУ может быть применен для оценки окислительных свойств фотосенсибилизаторов, а также включение хлорина е6 в фосфолипидные наночастицы не оказывает влияния на его окислительные свойства.

ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФИРОВ О-ФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ В ВОДЕ И СЛАБОУАЛКОГОЛЬНЫХ НАПИТКАХ

Крылов В.А., Мосягин П.В., Нестерова В.В., Каляпина О.Е., Пичужкина Ю.А., Ермаков А.А.

Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

k658995@mail.ru

Эфиры о-фталевой кислоты являются веществами весьма опасными для здоровья человека. Поступление их в организм приводит к возникновению раковых опухолей, заболеваниям печени, почек, репродуктивных органов. о-Фталаты – это весьма распространенные токсиканты. Их появление в питьевой воде и напитках связано с поступлением из пластифицированных полимерных уплотнений, тары и трубопроводов. В настоящем исследо-

вании впервые в России разработано высокочувствительное определение о-фталатов в воде, и слабоалкогольных напитках (красное и белое вино, шампанское) с использованием микроэкстракционного концентрирования с ультразвуковым эмульгированием экстрагента. Высокую эффективность концентрирования обеспечивало улучшение массообмена между анализируемой пробой и экстрагентом за счет диспергирования экстрагента в микрокапли размером 0.01 – 0.1 мкм. В качестве экстрагентов предложены экологически безопасные углеводороды – н-октан и гексан. Исследованы источники систематических погрешностей определения примесей. Определение примесей проводили методом хромато-масс-спектрометрии. Достигнутые пределы обнаружения токсикантов в воде и слабоалкогольных составляют, соответственно, 10^{-7} - 10^{-6} и 10^{-5} - 10^{-6} мг/л и находятся на уровне лучших мировых достижений. В работе исследованы источники возможных систематических погрешностей определения: поступление о-фталатов из хроматографических самоуплотняющихся мембран; загрязнения о-фталатов в растворителях и гидролиз о-фталатов. Впервые показано, что воздействие этих факторов может привести к завышению действительной концентрации примесей на 1–2 порядка. Предложены способы учета и устранения систематических погрешностей. Очистка растворителей методом рэлееской дистилляции позволяет получать образцы с содержанием примесей ниже $(1-4) \cdot 10^{-3}$ мг/л. Показано, что продолжительность хранения водных образцов перед анализом не должна превышать трех суток. Емкости для пробоотбора и хранения анализируемых образцов следует использовать из боросиликатного или кварцевого стекла. Относительная расширенная неопределенность определения токсикантов составляет 13–30 %.

КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ СОДЕРЖАНИЕМ ДИОКСИНОВ В КУРИНЫХ ЯЙЦАХ И ПОЧВАХ ВЬЕТНАМА

Кудрявцева А.Д., Шелепчиков А.А., Бродский Е.С.

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН,

Москва, Россия

a.kudryavtseva1@gmail.com

Известно, что основным источником поступления диоксинов в организм человека и животных (более 90%) является передача их по пищевым цепям. Одной из важнейших составляющих рациона человека независимо от страны или региона являются куриные яйца. Загрязнение яиц кур, находящихся на свободном выгуле, определяется загрязнением почвы и зависит от биодоступности, устойчивости в процессе метаболизма и степени экскреции в яйца. Биодоступность, в свою очередь, зависит от почвенных характеристик, влияющих на прочность связи диоксинов с матрицей. Она также является конгенер-специфичной, поскольку физико-химические и биологические свойства индивидуальных конгенов различны. Так, конгенеры с меньшей степенью хлорирования абсорбируются в пищеварительном тракте лучше, чем высокохлорированные.

Целью настоящей работы являлась оценка связи между содержанием и профилями распределения конгенов полихлорированных дибензо-п-диоксинов (ПХДД) и дибензофуранов (ПХДФ) в яйцах кур, находящихся на свободном выгуле, и в соответствующих почвах.

Образцы куриных яиц и почв были отобраны в 2013–2014 гг. в частных хозяйствах в различных провинциях Вьетнама от г. Ханой в северной части Вьетнама до провинции Донгнай в южной части. Было отобрано по 36 образцов куриных яиц и соответствующих почв. В пробы вносили смесь изотопномеченых стандартов и после лиофилизации экстрагировали методом проточной экстракции. После очистки и фракционирования последовательно на угольной колонке, многослойной колонке и колонке с оксидом алюминия экстракты анализировали на газовом хроматографе Agilent Technology 7890, соединенном с масс-спектрометром высокого разрешения Waters Autospec Premier.

Содержание ПХДД/ПХДФ в куриных яйцах составляет от 1 до 361 пг WHO-TEQ/г липидов, в почвах – от 0,1 до 1272 пг WHO-TEQ/г. При этом, в большинстве хозяйств в южных провинциях Вьетнама наблюдается превышение действующего в настоящее время норматива 2,5 пг WHO-TEQ/г липидов, что может представлять определенную опасность здоровью населения в случае употребления в пищу яиц в этих районах. В северных провинциях ни в одном из образцов данное значение превышено не было. Были посчитаны коэффициенты бионакопления как отношение концентрации ПХДД/Ф в яйцах к их концентрации в почвах. Полученные значения в целом согласуются с данными в литературе. Подтверждается более слабая биоаккумуляция конгенов с высокими степенями хлорирования. Так, коэффициент бионакопления 2,3,7,8-ТХДД составил 6; а ОХДД – 0.5.

Коэффициент корреляции между суммарной концентрацией диоксинов в яйцах и почве равен 0,74, что можно признать достаточно высокой величиной с учетом высокой вариабельности значений.

Таким образом, яйца кур, находящихся на свободном выгуле, могут служить универсальным и удобным биоиндикатором загрязнения почвы диоксинами.

АДИПОКИНЫ КАК МАРКЕР ЭКОЛОГИЧЕСКОГО НЕБЛАГОПОЛУЧИЯ**Лебедева Е.Н., Красиков С.И., Шарапова Н.В., Алехина Е.М.**ГБОУ ВПО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия
lebedeva.e.n@mail.ru

Оренбургская область входит в число регионов России с наибольшими выбросами вредных веществ (более 500 тыс. т). Многочисленные эколого-гигиенические исследования, проведенные на территории Оренбургской области, обнаруживают не равнозначную химическую нагрузку зон области: Восточной, Западной и Центральной. Качественный состав химических загрязнителей воздуха и воды показал, что на территории Оренбургской области наибольший вклад в суммарное загрязнение d-металлами вносят никель, медь, цинк и железо.

Целью настоящего исследования являлось изучение взаимосвязи между степенью загрязненности питьевой воды соединениями d-металлов, массой тела и содержанием адипокинов у молодых людей, проживающих на территории агропромышленного региона (на примере Оренбургской области).

Проокислительная способность питьевой воды $\varphi_{\text{сумм}}$ рассчитывалась как модуль алгебраической суммы произведений стандартных red-ox-потенциалов катионов d-металлов на их концентрацию. Окислительно-восстановительный потенциал для каждого соединения рассчитывался по формуле Нернста.

Обследовано 252 человека в возрасте 17-22 лет обоего пола, проживающих на территории Оренбургской области. Все обследованные лица были разделены на 3 группы зависимости от зоны проживания (восточная, центральная и западная зоны области). На основании антропометрических данных рассчитывали индекс Кетле (ИМТ). Методом иммуноферментного анализа определяли уровень лептина и адипонектина и их отношение.

Максимальная величина суммарного содержания химических веществ в воде наблюдалась на востоке и в центре Оренбургской области (309,4 и 319,6 мг/л соответственно). $\varphi_{\text{сумм}}$ была наибольшей на западе области (3,86 в), что по сравнению с др. районами на 35-40% выше, и связано, по-видимому, с различиями в структуре загрязнителей и преобладанием в воде западной зоны поллютантов с высоким red-ox-потенциалом (в первую очередь, железа).

Как ИМТ, так и процент лиц с избыточной массой тела, был наибольшим у жителей запада области (юноши-27,7%, девушки-12,3%), что было существенно выше, чем у жителей других районов (юноши, восток – 20%, центр – 25%; девушки, восток – 11,4%, центр – 7,1%). Отношение лептин/ адипонектин изменялось аналогичным образом, достигая максимального значения у лиц, проживающих на западе.

Результаты показывают определенную зависимость между содержанием в воде соединений с высокой проокислительной активностью и избыточной массой тела. Возможным механизмом реализации обесогенного действия окружающей среды является активация процессов свободнорадикального окисления, вызываемого проокислителями из числа d-металлов.

Адипокиновый профиль, представляющий собой совокупность (секретом) регуляторных веществ жировой ткани, может являться индикатором ее дисфункции. Интегральный показатель – отношение лептин/ адипонектин-представляет собой наиболее чувствительный маркер.

**ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОДИНАМИКИ ЦИКЛОФОСФАНА
У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ****Лебединская Е.А., Лебединская О.В., Годовалов А.П., Доненко Ф.В.**ГБОУ ВПО Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера
Минздрава России, Пермь, Россия²ГУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», Москва, Россия
lebedinska@mail.ru

Известно, что циклофосфан (ЦФ) имеет широкое применение в клинической практике. Однако при использовании ЦФ отмечается масса побочных эффектов (Alkam et al., 2014), обусловленных его микросомальным метаболизмом (Ahmed et al., 1984). Несомненно, имеется потребность в разработке адекватных методов коррекции таких эффектов ЦФ (Ma et al., 2015), для чего необходимо создание модели индуцированной иммуносупрессии с известной фармакокинетикой метаболитов ЦФ.

Целью исследования явилось изучение влияния различных режимов введения ЦФ экспериментальным животным на содержание его реактивных метаболитов, а также оценка токсических свойств данного препарата.

Материалы и методы. Содержание реактивных метаболитов ЦФ определяли в плазме крови у мышей по методу Friedman и Boger (1961), модифицированному Alberts (1976). ЦФ вводили мышам линии СВА массой 23-26 г внутрибрюшинно однократно, двукратно или трёхкратно с 72-часовым интервалом в дозе 100 мг/кг массы тела. Для определения периода полуэлиминации реактивных метаболитов ЦФ выявляли их количественное содержание в плазме крови в мг/мл плазмы. Затем вычисляли десятичный логарифм концентрации реактивных

метаболитов в течение 6 часов через различные промежутки времени после введения ЦФ. Кроме того, определяли число лейкоцитов в периферической крови после каждого введения ЦФ.

Результаты и обсуждение. Показано, что общетоксическое действие ЦФ проявлялось в изменении числа лейкоцитов периферической крови. Выраженная лейкопения формировалась уже на 3-5-й день после введения ЦФ. При двукратном введении ЦФ лейкопения наблюдалась с 3 по 8-й день, а при трёхкратном введении ЦФ возникла стойкая лейкопения, которая держалась более 10 суток. Однократное введение ЦФ сразу повышало концентрацию реактивных метаболитов ЦФ в плазме крови, которые достигали максимума через 10 минут после введения препарата и снижались до нуля через 3 часа. Максимум концентрации реактивных метаболитов наблюдался через 15 мин после двукратного введения ЦФ. Максимальная концентрация реактивных метаболитов при двукратном введении ЦФ была меньше, чем при однократном. Это связано с тем, что изначально ЦФ не обладает ни цитотоксической, ни алкилирующей активностью, а для появления его реактивных метаболитов ЦФ нуждается в метаболической активации монооксигеназами печени (Boddy et al., 2000). Однако в процессе образования реактивные метаболиты ЦФ повреждают гепатоциты, в которых содержатся монооксигеназы, и активность ферментных систем клеток печени при этом снижается (Honjo et al., 1988; Shokrzadeh et al., 2014). Полное исчезновение реактивных метаболитов ЦФ в плазме крови мышцей наблюдалось через 5 часов при любом режиме введения ЦФ. Таким образом, ЦФ быстро метаболизируется в печени и обладает выраженным кумулятивным эффектом. Установлено изменение фармакокинетики ЦФ, снижение уровня его реактивных метаболитов и расширение пика их максимальной концентрации. Трёхкратное введение ЦФ оказывает общетоксическое действие, но не приводит к гибели животных. Продолжительность нарушений при трёхкратном введении ЦФ позволяет использовать данный режим для создания модели индуцированной иммуносупрессии.

ПОДГОТОВКА СОРБЦИОННОЙ КОЛОНКИ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ФЕНОЛОВ В ВОДНЫХ ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Медведев Е.И.

Санкт-Петербургский государственный университет, Институт Химии, Санкт-Петербург, Россия
medvedev.evgeny@hotmail.com

Согласно классификации американского агентства по охране окружающей среды фенолы классифицируются как приоритетные, токсичные загрязнители группы С (канцерогенны). Поэтому их определение в водных объектах окружающей среды является актуальной задачей. Динамическая сорбция, или так называемая в настоящее время твердофазная экстракция, является эффективным способом концентрирования органических веществ из водных и газовых сред. А активные угли нашли широкое применение в качестве сорбентов ввиду своей коммерческой доступности и высокой эффективности. Однако их применение затрудняется по причинам неполноты десорбции фенолов и недостаточной повторяемости результатов при высоких скоростях концентрирования. Поэтому авторы поставили перед собой цель – выяснить и устранить причины недостаточной повторяемости результатов серийных анализов.

В работе исследовано влияние подготовки сорбционной колонки для экспрессного сорбционного концентрирования фенолов, как активных углей, так и на их модифицированных поверхностно-слоистых угольно-фторопластовых сорбентах [1]. В общепринятом способе первой стадией подготовки колонки является полная десорбция органическим растворителем от целевого анализатора и возможных сорбирующихся примесей из матрицы раствора. Вторая стадия заключается в продувке колонки потоком инертного в данной системе газа для полного удаления растворителя. Третий этап – удаление из колонки избытков органического растворителя дистиллированной водой. И заключительный – продувка колонки потоком воздуха, чаще всего с использованием микрошприца на 1 мл.

Как показали результаты проведенных исследований, подобная схема негативно влияет на сходимости результатов по причинам недостаточного удаления органического растворителя и удерживания примесей из дистиллированной воды. Поэтому нами предложено включить в схему подготовки сорбционной колонки стадию термообработки, которая заключается в нагревании колонки с сорбентом в сушильном шкафу при температуре выше температуры испарения наиболее высококипящего растворителя. Существующая и предложенная схемы были проверены при сорбции фенола и изомерных крезолов на активном угле марки БАУ-А (фракция 0.25-0.3 мм) и композиционном сорбенте 15% активного угля марки БАУ-А (фракция <0.056 мм) на политетрафторэтилене (фракция 0.25-0.3 мм). В качестве десорбента использовали ацетонитрил. В работе использовали колонки из нержавеющей стали следующих размеров: длина – 50 мм, диаметр – 3 мм. Внедрение стадии термообработки позволяет повысить повторяемость результатов, при этом наблюдается увеличение объемов до проскока, которые определяют максимальный объем пробы, пропускаемой через сорбционную колонку, при анализе реальных объектов. Использование поверхностно-слоистых сорбентов позволяет снизить объем десорбента, увеличивая коэффициенты концентрирования в 5-15 раз в зависимости от линейной скорости подвижной фазы при увеличении скорости концентрирования в 7 раз.

[1] O.V.Rodinkov, A.S. Bugaichenko, A. Yu. Vlasov, Talanta 119 (2014) 2012 417-411.

**ЭКСТРАКЦИОННО-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
АМИНОКИСЛОТ В ТАБЛЕТИРОВАННЫХ ПРЕПАРАТАХ****Мокшина Н.Я.¹, Быковский Д.В.², Шаталов Г.В.², Пахомова О.А.³**¹ВУНЦ ВВС «Военно-воздушная академия им. проф. Н.Е.Жуковского и Ю.А.Гагарина», Воронеж, Россия²Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия³Елецкий государственный университет им. И.А. Бунина, Елец, Россия

Известно, что большинство α -аминокислот характеризуются широким спектром биологической активности. Использование свободных аминокислот, в отличие от белка, не требует энергетических затрат от организма на расщепление при всасывании. Объекты данного исследования – аминокислоты различного строения гистидин, метионин и пролин. Метионин характеризуется наличием легко подвижной метильной группы, используемой для синтеза важных соединений в организме (холина, креатина, тимины, адреналина). Гистидин необходим для синтеза белков, является предшественником гистамина, влияющего на кровяное давление и секрецию желудочного сока. Важным примером модификации аминокислотных остатков является превращение остатков пролина в остатки гидроксипролина, которое происходит при образовании важного белкового компонента соединительной ткани – коллагена.

Цель исследования – разработка легко осуществимого и хорошо воспроизводимого способа определения гистидина, метионина и пролина в одноименных таблетированных препаратах с применением жидкостной экстракции.

В работе применяли препараты «Метионин» («Фармстандарт», «ОЗОН», «Марбиофарм»), «Гистидин» и «Пролин» фирмы «ОЗОН», «L-Histidin» («Twinlab», «Аджиномото»), «Prolin» («Vitaline») и «L-prolin» (НПК РОЗ). Содержание аминокислот в препаратах 250 мг (метионин), 500 мг (гистидин) и 25 мг (пролин). Для определения аминокислот в указанных препаратах применяются следующие методики в соответствии с ГОСТ: йодометрическое титрование (пролин), нингидриновая реакция (гистидин), титрование соляной кислотой со сложной пробоподготовкой (метионин).

Нами предлагается единая методика определения гистидина, метионина и пролина в таблетированных препаратах, включающая жидкостную экстракцию водорастворимыми полимерами в присутствии высаливателя и последующее спектрофотометрическое определение аминокислот при собственных характеристических длинах волн. В качестве экстрагентов применены растворы следующих полимеров: поли-N-винил-пирролидон (ПВП), поли-N-винилкапролактама (ПВК), поливинилформамид (ПВФ), поли-N-винилимидазол (ПВИ), поли-1-винил-1,2,4-триазол (ПВТ), полиакриламид (ПАА), а также сополимеров N-винилкапролактама с N-винилимидазолом (ВК-ВИ) и N-винилкапролактама с N-винилформамидом (ВК-ВФ), высаливатель – сульфат аммония. Для работы нами синтезированы полимеры со средневязкостной молекулярной массой от 10000 до 25000, концентрация полимеров в водном растворе 0,12 г/см³. Преимущества использования таких систем – экспрессность, экологическая безопасность, хорошая воспроизводимость, легкая пробоподготовка, отсутствие дорогостоящей аппаратуры и реактивов.

Полученные данные спектрофотометрического определения аминокислот после их экстракции растворами полимеров полностью согласуются с результатами, полученными методами ГОСТ для всех препаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках государственного задания № 2468.

**СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ И ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЕ
ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОФЕИНА В АНАЛЬГЕЗИРУЮЩИХ ПРЕПАРАТАХ****Мокшина Н.Я.¹, Логинова О.А.², Пахомова О.А.³**¹ВУНЦ ВВС «Военно-воздушная академия им. проф. Н.Е. Жуковского и Ю.А. Гагарина», Воронеж, Россия²Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия³Елецкий государственный университет им. И.А. Бунина, Елец, Россия

Кофеин относится к психостимуляторам, характерными свойствами которых являются повышение умственной и физической работоспособности, выносливости к нагрузкам, уменьшение утомления. Кофеин применяется при мигрени, артериальной гипотензии, угнетении дыхательного центра. При передозировке кофеина (свыше 300 мг в сутки) могут развиваться побочные эффекты: тревожность, возбуждение, спутанность сознания, двигательное беспокойство, тахикардия, обезвоживание.

Цель исследования. Разработка легковыполнимого, экспрессного способа определения кофеина в препаратах «Цитрамон» и «Кофеин-бензоат натрия» с применением жидкостной экстракции и последующим анализом концентрата физико-химическими методами.

Пробоподготовка. При проведении аналитических исследований по содержанию кофеина в качестве стандартных образцов применяли индивидуальные вещества фирмы Fluka Chemie GmbH. Готовили раствор препарата в дистиллированной воде, к полученному раствору добавляли 75 г высаливателя (сульфат аммония) и при тщательном перемешивании доводили раствор до метки дистиллированной водой. Кофеин извлекали смесью этилацетат-хлороформ (0,2:0,8 мол.доли) из водно-солевого раствора при $20 \pm 20^\circ\text{C}$. Экстрагировали на вибросмесителе, в течение 7–10 мин устанавливается межфазное равновесие, раствор оставляли на 3–5 мин для расслаивания системы.

Спектрофотометрическое определение кофеина. Органический концентрат разбавляли в 25 раз дистиллированной водой, измеряли оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре ($l=1$ см, $\lambda_{\text{max}} = 272$ нм). Содержание кофеина в препарате рассчитывали по уравнению:

$$Q = \frac{1,0 \cdot 1250 \cdot A}{2000} \cdot 194,2$$

, где 1,02 – коэффициент, учитывающий потерю кофеина при экстракции; 1250 – коэффициент, учитывающий кратность разбавления концентрата; A – оптическая плотность водного раствора кофеина; 2000 – молярный коэффициент светопоглощения; 194,2 – молярная масса кофеина, г/моль.

Электрофоретический анализ концентрата. В сухую пробирку типа Эппендорф помещали $0,5\text{--}1,0$ см³ раствора пробы, центрифугировали в течение 5 мин при 5000 об/мин и анализировали в следующих условиях: ввод пробы при давлении 30 мбар в течение 5 с., длина волны 254 нм, напряжение +25 кВ, температура 20°C , время ввода пробы 7 мин, ведущий электролит – смесь раствора додецилсульфата натрия и тетрабората натрия. Регистрировали электрофореграммы, проверяли правильность автоматической разметки пиков, с помощью программного обеспечения «Эльфран», идентифицировали компоненты. По разработанным методикам найдено кофеина в препарате «Цитрамон» 168,7 мг/л (заявлено в пересчете на моногидрат 218 мг/л), в препарате «Кофеин-бензоат натрия» обнаружено 114,3 мг/л (заявлено 200 мг/л).

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках государственного задания № 2468.

ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ НАРКОТИКОВ В ПОМЕЩЕНИЯХ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ИХ АЭРОЗОЛЯМИ

Нехорошев С.В.

Югорский государственный университет, Ханты-Мансийск, Россия
serg-nehor@rambler.ru

В настоящее время в России среди всего разнообразия производственных, административных и жилых помещений существуют такие, для которых высока вероятность загрязнения твердыми аэрозолями наркотиков. Кроме помещений, специально предназначенных для производства и хранения наркотических лекарственных средств, к таким помещениям следует отнести помещения экспертно-криминалистических и токсикологических лабораторий, комнаты хранения вещественных доказательств, помещения для досмотра задержанных лиц, а также рабочие кабинеты сотрудников оперативных и следственных подразделений некоторых федеральных органов исполнительной власти, специализирующихся на контроле за оборотом

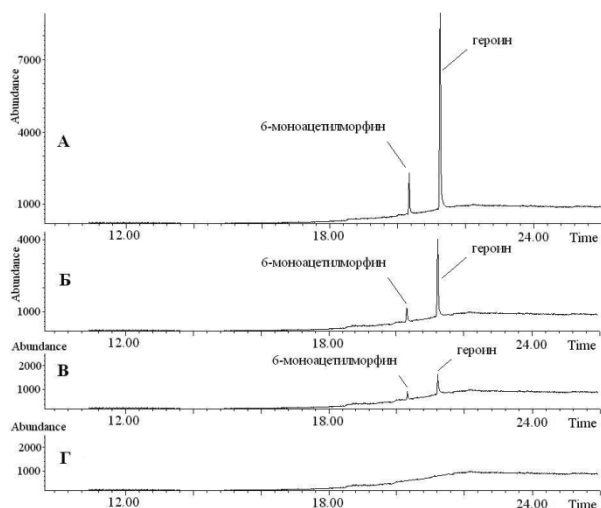


Рис. 1. Хроматограммы экстрактов пыли с детектированием по выбранным ионам (m/e 369+327+310+268) с решетки вентиляции (А) и с тыльной стороны панели подвесного потолка (Б) лаборатории, в которой выполнялись аналитические работы с героином, а также с верхней крышки шифоньера (В) в кабинете, в котором за 1 сутки до пробоотбора проводился осмотр вещественного доказательства – 500 г героина (концентрация активного вещества 10%) и с той же поверхности до манипуляций с героином (Г). Площадь пробоотбора 100 см², растворитель – метанол.

В результате исследования доказана необходимость и показаны возможности хроматомасс-спектрометрического контроля пылевых отложений в помещениях после манипуляций с такими чрезвычайно опасными веществами, как наркотики

наркотиков. Кроме этого присутствие в нелегальном обороте наркотиков вызывает неизбежное загрязнение их аэрозолями некоторого количества жилых помещений. При этом в атмосфере таких помещений одновременно с нахождением людей могут присутствовать наркотики, которые имеют распространение на нелегальном рынке и в качестве загрязнителей в настоящее время не контролируются. Эта ситуация усугубляется вторичным загрязнением атмосферы помещений за счет накопления вредных веществ в отложениях пыли на элементах внутренней обстановки.

Целью исследования являлась оценка возможности идентификации различных наркотиков после манипуляций с ними в отложениях пыли внутри помещений. В ходе экспериментов пробы пылевых отложений отбирались на фильтровальную бумагу с горизонтальных поверхностей предметов в помещениях различного назначения. В качестве метода контроля широкого спектра наркотиков была выбрана газо-жидкостная хроматография на капиллярной колонке «HP-5MS» длиной 30 м с масс-спектрометрическим детектированием по выбранным ионам. Для предварительной экстракции проб применяли метанол. При этом в пылевых отложениях различных помещений после манипуляций с порошкообразными наркотиками удалось обнаружить героин и кодеин. На рис. 1 представлены хроматограммы экстрактов пылевых отложений, образующихся в помещениях после манипуляций с героином.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОФИЛИ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ЭНДОКРИННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Объедкова Е.В.¹, Карцова Л.А.², Великанова Л.И.¹, Кирсанов Д.О.²

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
obedkovaev@gmail.com

Введение. Одним из основных направлений в практике клинической медицины становится экспресс-диагностика разнообразных заболеваний по характерным хроматографическим и электрофоретическим профилям биологически активных соединений с последующей хемометрической обработкой полученных данных, что позволяет обнаруживать новые диагностические биомаркеры и осуществлять контроль эффективности проводимой лекарственной терапии.

Цель. Оценить возможности применения профилей биологически активных соединений в комплексной диагностике различных заболеваний.

Материалы и методы.

В работе получены характеристические профили стероидных гормонов методами высокоэффективной жидкостной, высокоэффективной тонкослойной и мицеллярной электрокинетической хроматографии с учетом оптимизации процедуры пробоподготовки и условий хроматографического/электрофоретического анализа. Были использованы образцы сыворотки крови здоровых доноров (15 образцов), больных синдромом Иценко – Кушинга – СИК (16 образцов), первичным гиперальдостеронизмом, обусловленным альдостерон-продуцирующей аденомой – ПГА-АПА (10 образцов). Определение стероидных гормонов проводилось также в образцах суточной мочи контрольной группы («норма») (11 образцов), группы пациентов с синдромом Иценко – Кушинга (14 образцов) и первичным гиперальдостеронизмом (8 образцов). Обработка хроматографических профилей осуществлялась в программном пакете The Unscrambler v 9.7 (САМО, Норвегия) методами главных компонент и формального независимого моделирования аналогий классов.

Результаты и обсуждение. Применяя метод формального независимого моделирования аналогий классов к хроматографическим стероидным профилям возможно проводить классификацию образцов сыворотки крови на образцы без патологий и образцы с патологиями (СИК, ПГА-АПА). При этом точность классификации образцов сыворотки крови на изученной выборке составила 73 % (7 образцов из 26 ошибочно классифицированы как образец без патологий). В случае образцов мочи точность классификации составила 91% (2 образца из 22 классифицированы неверно). Возможности высокоэффективной тонкослойной хроматографии ограничены менее низкой эффективностью по сравнению с ВЭЖХ, точность идентификации составила 67%; для МЭКХ профилей – 88%.

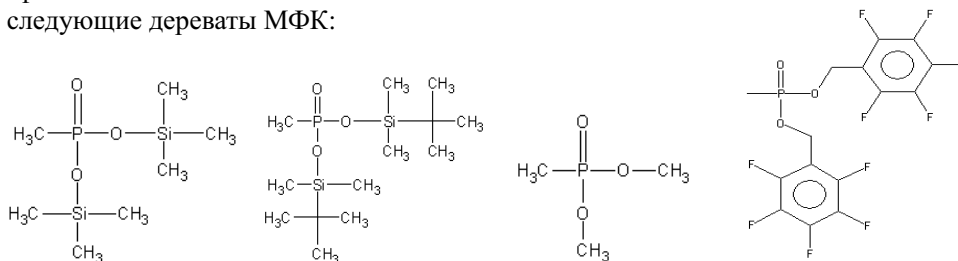
Выводы. Показана перспективность применения метаболических профилей в качестве дополнительных диагностических критериев различных заболеваний в целом, и патологий эндокринной системы в частности.

**ИССЛЕДОВАНИЕ СПОСОБОВ ДЕРЕВАТИЗАЦИИ МАРКЕРОВ
О-АЛКИЛАЛКИЛФТОРФОСФАТОВ ПРИ АНАЛИЗЕ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРОБ****Орешкин Д.В., Бабкина С.С.**Московский государственный машиностроительный университет (МАМИ), Москва, Россия
deeeor@my.com

Конвенция о запрете разработки, производства, хранения и использования химического оружия (КЗХО) вступила в силу 29 апреля 1997. В записке технического секретариата Организации по Запрещению Химического Оружия (ОЗХО) (ЕС- 42/S/4) указывается, что в КЗХО предусматривается отбор и анализ биомедицинских проб, источником которых являются люди и животные (пробы крови, мочи, кала, тканей и т.д.), при проведении расследований предполагаемого применения химического оружия. В тех случаях, когда доступ к месту предполагаемого применения ХО задерживается или невозможен, анализ биомедицинских проб, взятых у подвергшихся воздействию ОВ людей или животных, может оказаться единственным источником информации.

Известно, что О-алкилалкилфосфонаты в биомедицинских пробах метаболизируются до метилфосфоновой кислоты (МФК), вследствие чего данное соединение может служить их маркером. Идентификация и определение МФК является актуальной задачей при определении фактов заражения высокотоксичными О-алкилалкилфосфонатами.

Исследованы следующие дериваты МФК:



В данной работе продемонстрированы различные методы дериватизации МФК при анализе проб, также были выбраны условия разделения, позволяющие проводить обнаружение данных веществ.

Сравнительное исследование эффективности различных дериватирующих реагентов показало, что наиболее предпочтительные результаты получены с применением пентафторбензилбромида (PFBBBr), образующего пентафторбензилные производные кислоты, который позволяет получить качественные хроматограммы и масс-спектры при наименьших концентрациях МФК.

Благодарности. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 15-13-10005) на Костромской государственной технологической университет.

**СОРБЦИОННОЕ КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ БЕНЗ(А)ПИРЕНА
И ЕГО ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИЛОЖЕНИЕ****Оскотская Э.Р., Грибанов Е.Н., Тасканова Е.В.**ФГБОУ ВПО «Орловский государственный университет», Орёл, Россия
gribanovEN@gmail.com

Бенз(а)пирен относится к полициклическим ароматическим углеводородам. Он обладает свойством биоаккумуляции, накапливаясь в тканях оказывает канцерогенное, мутагенное, эмбриотоксическое, гематотоксическое и другие негативные воздействия на организм человека и животных [1]. Бенз(а)пирен опасен для живых организмов даже в следовых количествах. В связи с этим необходим жесткий санитарно-гигиенический контроль данного токсиканта в реальных объектах. Тем не менее, проблема разработки надежных и простых в исполнении способов определения бен(а)пирена остается актуальной. Это связано с необходимостью его предварительного концентрирования при определении на уровне и ниже ПДК в объектах сложного химического состава. Перспективным представляется сорбционное концентрирование с использованием природного цеолита – экономически доступного и эффективного с позиции химического анализа материала.

Цель настоящей работы состояла в исследовании сорбции бенз(а)пирена цеолитом Хотынецкого месторождения Орловской области и разработке комбинированной сорбционно-хроматографической методики его определения.

Элементный и химический состав цеолита данного месторождения установлен в работе [2].

Нами систематически изучена сорбция бенз(а)пирена цеолитом из водных растворов в статических условиях методом ограниченного объема при периодическом перемешивании. Установлено, что при температуре $20 \pm 1^\circ\text{C}$ данный минерал количественно ($R > 95\%$) сорбирует бенз(а)пирен в интервале pH 2.5 – 4.5 в течение 15–20 минут. Коэффициент распределения в системе «сорбент-бенз(а)пирен» при оптимальных условиях сорбции достигает $\sim 1 \cdot 10^4$.

В работе исследована десорбция бенз(а)пирена веществами различной природы (гексан, хлороформ, этилацетат, тетрахлорметан) с поверхности цеолита. Установлена возможность количественной десорбции аналита 20 мл хлороформа при комнатной температуре или 15 мл при нагревании до $40\text{--}45^\circ\text{C}$.

На основе полученных данных разработана и апробирована комбинированная сорбционно-хроматографическая методика определения бенз(а)пирена в природных и сточных водах, объектах легкой промышленности (пластилин, пластмассовые изделия), включающая стадию предварительного сорбционного концентрирования аналита цеолитом. Достоинствами разработанной методики являются экспрессность, хорошие метрологические характеристики, простота исполнения, низкая себестоимость анализа, возможность замещения импортных сорбционных материалов, используемых в химическом анализе для определения бенз(а)пирена.

Литература

1. Егоров В.В. Экологическая химия: учебное пособие / В.В. Егоров.- СПб; Краснодар: Лань, 2009.- 192 с.
2. Грибанов Е.Н., Оскотская Э.Р. Элементный состав цеолита Хотынецкого месторождения по данным энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии // «Ученые записки Орловского государственного университета. Серия: Естественные, технические и медицинские науки». 2012. №6 (50). С. 90-92.

ЭЛЕМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ВОЛОС МЕТОДОМ ДУГОВОЙ АТОМНО ЭМИССИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ С ЦЕЛЬЮ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Отмахов В.И., Катаева Н.Г., Кускова И.С., Петрова Е.В.

Национальный исследовательский Томский государственный университет (ТГУ), Томск, Россия

Настоящая работа посвящена разработки методики дугового атомно-эмиссионного спектрального анализа на содержание макро- и микроэлементов в волосах пациентов с целью определения элементного статуса и диагностики различных заболеваний. Количественное определение макро- и микроэлементов в концентратах проб волос проводили методом дуговой атомно-эмиссионной спектроскопии (ДАЭС) с использованием комплекса «Гранд», включающего спектроаналитический генератор «Везувий-3», полихроматор «Роуланда» и многоканальный анализатор эмиссионных спектров (МАЭС) (НПО «Оптоэлектроника», Россия). Для проведения дугового атомно-эмиссионного спектрального анализа, пробу волос, переводили в порошкообразную форму путем термического озоления, пробы волос массой 0,5000–1,0000 помещали в предварительно прокаленные и взвешенные кварцевые тигли, озоляли в муфельной печи в течение 2 часов постепенно повышая температуру до $450\text{--}500^\circ\text{C}$. При разработке методики анализа особое внимание уделялось пробоподготовки. Для оценки матричных влияний исследована природа зольных остатков путем установления химического, фазового и молекулярного состава. Определение матричных элементов в золе при разбавлении пробы 1:100 проводили методами ДАЭС с МАЭС, а также для проверки использовали методы МС ИСП (Agilent 7500 cx (Agilent Technologies, США), ААС и ПФ (SOLAAR серии S, Thermoelectron, США. Из проведенных исследований установлено, что зола волос главным образом состоит из следующих элементов в порядке возрастания их в пробах $\text{Ca} > \text{Mg} > \text{Zn} > \text{K} > \text{Na} > \text{P}$. Причем содержание кальция превосходит содержание других элементы почти на порядок. С помощью ИК-спектроскопии с использованием Фурье спектрометра «Nicolet 6700» установлен анионный состав золы в порядке возрастания $\text{SO}_4^{-2} > \text{CO}_3^{-2} > \text{PO}_4^{-3}$. С помощью (РФА) на дифрактометре Rigaku MiniFlex 600 установлен фазовый состав в порядке возрастания $\text{CaSO}_4 > \text{CaCO}_3$. На основании проведенных исследований разработано несколько вариантов учета матричных влияний: введение в конечную расчетную формулу поправочных коэффициентов, увеличение погрешности определения и введение корректирующих добавок в стандартные образцы в строгом соответствии с содержанием пробы. Наиболее эффективным по оценки правильности оказался вариант с введением поправочных коэффициентов. На основании проведенных исследований создана методика на 25 элементов (Ca, Mg, P, Si, Zn, Al, Fe, Cu, Mn, As, Ba, Pb, Ti, Sr, B, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Sn, Mo, Ni, Zr, Ag), которая прошла метрологическую аттестацию. На основании разработанной методики были проведены исследования микроэлементного анализа волос 85 пациентов с постинсультными когнитивными нарушениями (ПИКН) разной степени тяжести поступившими в порядке скорой медицинской помощи в клиники СибГМУ г. Томска. На их основании специалисты выявили ряд закономерностей, таких как увеличение содержания алюминия и свинца и уменьшение содержания марганца у пациентов с постинсультными когнитивными нарушениями относительно контрольной группы, дефицит Mg у больных с инсультом и др.

РОЛЬ И ЗНАЧЕНИЕ САНИТАРНО-ХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В СИСТЕМЕ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

Перова Н.М., Маклакова И.А., Новикова М.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский и испытательный институт медицинской техники» Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения, Москва, Россия
vniimt34@mail.ru

Одним из факторов, определяющих темпы и объемы разработок изделий для всех областей практической медицины, является создание и внедрение новых химических веществ. Этим обусловлено то значимое место в системе охраны здоровья человека, которое занимает относительно новое (молодое) направление профилактической медицины – токсикологические исследования медицинских изделий.

Исследование медицинских изделий является необходимым этапом в системе обеспечения безопасности их применения, так как характер взаимодействия двух систем «изделие – живой организм» непредсказуем и весьма разнообразен: от прямого цитотоксического действия до избирательной «тропности» к высококодифференцированным клеточным системам организма вплоть до мутации в геноме.

Негативный опыт применения в практической медицине полимеров и резин был накоплен и в нашей стране, и в целях более строгого контроля за использованием полимерных медицинских изделий в 1967 году Приказом МЗ СССР № 733 от 23 сентября на ВНИИ медицинских полимеров была возложена задача по проведению токсикологической оценки полимеров,

Таким образом, необходимость проведения токсикологических исследований медицинских изделий обусловлена целым рядом факторов, начиная с выбора сырья, технологии изготовления, способов стерилизации, упаковки, условий хранения.

В соответствии с международной классификацией медицинские изделия (МИ) принято разделять на группы по виду и продолжительности контакта.

Первый этап оценки безопасности – санитарно-химические испытания – включает исследование вытяжек из МИ с помощью современных высокочувствительных, высокоселективных методов аналитической химии. Для этого «ВНИИИМТ» Росздравнадзора располагает соответствующим оборудованием. Квалифицированными специалистами проводится определение потенциально опасных органических соединений с помощью спектрофотометрии, высокоэффективной жидкостной хроматографии, газо-жидкостной хроматографии, хромато-масс спектрометрии, металлов с помощью абсорбционно-атомной спектрофотометрии, определение интегральных показателей методами титрования, рН-метрии и др. При этом чувствительность применяемых методов значительно выше (на 2-3 порядка) предельно допустимых уровней определяемых соединений.

Второй этап оценки безопасности медицинского изделия – собственно токсикологические исследования – включают эксперимент на лабораторных животных, максимально приближенный к реальным условиям клинического применения изучаемого изделия с целью получения данных об ответной реакции организма животных на воздействие чужеродного агента и экстраполяции полученных данных на человека.

В результате многолетних комплексных исследований в институте разработана и научно обоснована система токсикологического контроля материалов и медицинских изделий, начиная с этапов подбора материалов, технологии изготовления изделия, способов и режимов стерилизации и заканчивая контролем готовой продукции на предприятиях.

ЦИКЛИЧЕСКОЕ ИНЖЕКЦИОННОЕ ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КУРКУМИНА В БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВКАХ И СПЕЦИЯХ НА ЧИПЕ

Петрова А.В., Булатов А.В.

Институт Химии, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
stacychem.spb@yandex.ru

В настоящее время наблюдается значительный рост ассортимента пищевых добавок (ПД) и биологически активных добавок (БАД). Пищевые и биологически активные добавки могут быть сравнительно легко разработаны, запущены в производство и продажу. Это одна из причин, почему новые автоматизированные аналитические методы контроля качества БАД и ПД следует разрабатывать.

В состав многих БАД и пищевых продуктов входит куркумин. Сейчас куркумин привлекает большое внимание исследователей из-за перспектив его использования в качестве противоспалительного сред-

ства и созданий противоопухолевых лекарств на его основе. Рекомендуемое всемирной организацией здравоохранения суточное потребление куркумина в качестве пищевой добавки составляет до 3 мг кг^{-1} [1]. На данный момент, куркумин находит широкое применение в пищевой промышленности в качестве красителя (зарегистрирован в виде пищевой добавки E 100). Его добавляют в напитки, кондитерские изделия, горчицу, майонез для придания им желтого или оранжевого цвета. Также куркумин входит в состав многих специй [2].

Впервые разработан и изготовлен чип, функционирующий на принципах циклического инъекционного анализа, для флуориметрического определения куркумина. Основные элементы разработанного устройства: реакционная емкость и оптический канал, в который вмонтирован кварцевый капилляр. Коническая форма реакционной емкости обеспечивает эффективное перемешивание растворов реагентов потоком газовой фазы и быстрое протекание аналитической реакции до достижения равновесного состояния. Измерение аналитического сигнала в равновесных условиях обеспечивает наибольшую чувствительность и воспроизводимость количественного анализа. В качестве источника света использовали светодиод, в качестве детектора – фотоумножительную трубку, при этом все элементы системы детектированы были вмонтированы в чип.

Предложен новый флуоресцентный реагент 4-(2,3,3-триметил-3Н-индолий-1-ил)бутан-1-сульфонат натрия для определения куркумина.

Для обоснования аналитических возможностей разработанного чипа была разработана методика циклического инъекционного флуориметрического определения куркумина в БАДах и специях с использованием нового реагента 4-(2,3,3-триметил-3Н-индолий-1-ил)бутан-1-сульфонат натрия. Предел обнаружения разработанной методики определения куркумина составил 0.3 мМ . Производительность анализа – 24 проб/час.

Литература

[1] Huang Y.-Sh., T.-J. Hsieh, Ch.-Y. Lu // Food Chemistry, 174 (2015) 571–576.

[2] M. L.A.D. Lestari, G. Indrayanto, Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology, Burlington: Academic Press, 39 (2014) 113–204.

ХРОМАТОМЕМБРАННОЕ ГЕНЕРИРОВАНИЕ СТАНДАРТНЫХ ГАЗОВЫХ СМЕСЕЙ ДЛЯ САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ВОЗДУШНЫХ СРЕД И ДИАГНОСТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА С ПРИМЕНЕНИЕМ НАСЫПНЫХ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТРИЦ

Родинков О.В., Горбачёва А.Р., Москвин Л.Н.

Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии, С.-Петербург, Россия

rodinkov@rambler.ru

Одной из актуальных задач санитарно-гигиенического контроля воздушных сред и диагностического анализа выдыхаемого воздуха является создание простых и воспроизводимых методов получения стандартных газовых смесей (СГС), адекватных по составу анализируемым объектам, с заранее заданной концентрацией целевых компонентов. Известные методы получения СГС обладают рядом недостатков, ограничивающих их применение для решения указанных задач. В статических методах негативное влияние оказывает адсорбция на стенках сосуда, затрудняющая получение СГС с микроконцентрациями компонентов. Динамические неравновесные методы, основанные на диффузии компонентов в поток газа-носителя через мембрану или капилляр, отличаются длительностью выхода на стационарный режим и сложностью получения СГС с заранее заданными концентрациями компонентов. Для традиционных динамических равновесных методов, основанных на насыщении потока газа-носителя целевыми компонентами при его контакте с генерирующим раствором, характерны относительно невысокие объемные скорости пропускания носителя, необходимые для его насыщения, и небольшие объемы генерируемых СГС.

Ограничения динамических равновесных способов в значительной степени снимает генерирование СГС на принципах хроматомембранной газовой экстракции, при осуществлении которой газа проходит по микропорам, а генерирующий водный раствор находится в макропорах бипористой матрицы из политетрафторэтилена (ПТФЭ) [1]. Введение в микропоры сорбционно-активных материалов (активного угля, наноглерода) позволяет многократно увеличить объем генерируемой СГС с квазипостоянной концентрацией целевых компонентов, а развитая поверхность массообмена обеспечивает равновесное насыщение потока газа-носителя целевыми компонентами при скоростях, сопоставимых со скоростью потока выдыхаемого воздуха. Особенно ярко достоинства хроматомембранного генерирования СГС проявляются при

использовании не традиционными монолитных, а насыпных матриц, в которых частицы ПТФЭ не спечены в монолитный блок. Применение насыпных матриц позволяет в 5–6 раз увеличить содержание сорбционно-активного материала и во столько же раз увеличить объем генерируемых СГС.

Установлено, что объем генерируемой СГС определяется коэффициентами адсорбции целевых компонентов и при объеме композиционной матрицы 10 см^3 с содержанием активного угля ФАС объемы СГС для спиртов $\text{C}_3\text{-C}_6$, кетонов $\text{C}_3\text{-C}_6$ и сложных эфиров $\text{C}_3\text{-C}_7$ находятся в диапазоне от $0,01 \text{ м}^3$ до $0,3 \text{ м}^3$. Показана возможность генерирования многокомпонентных СГС с заданными концентрациями компонентов в диапазоне от 0,1 до 100 мг/м^3 , исходя из их коэффициентов распределения между водной и газовой фазой. При этом содержание и природа сорбционно-активного материала не влияет на концентрацию целевых компонентов в СГС, а влияет только на объем генерируемой СГС.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 15-03-05151а).

[1] L.N. Moskvina, O.V. Rodinkov. Rus. Chem. Bull. 2012. V. 61 (4). P. 723–740.

ВЛИЯНИЕ КОНДЕНСАЦИИ ВОДЯНОГО ПАРА НА РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛЕТУЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В ВЫДЫХАЕМОМ ВОЗДУХЕ

Родинков О.В., Прокофьев Д.В., Бугайченко А.С.

Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии,
С.-Петербург, Россия
rodinkov@rambler.ru

Одной из актуальных задач неинвазивной медицинской диагностики является разработка высокочувствительных и воспроизводимых методик анализа выдыхаемого воздуха. Многие летучие органические соединения, присутствующие в выдыхаемом воздухе, могут служить маркерами различных заболеваний, а его хроматографический анализ относится к высокоинформативным методам неинвазивной диагностики. Однако серьезной проблемой при анализе выдыхаемого воздуха является высокая концентрация водяного пара, соответствующая давлению насыщенного пара при температуре тела, которая, как правило, выше температуры окружающей среды. Независимо от выбранной схемы пробоотбора и пробоподготовки в процессе их осуществления может происходить неконтролируемая конденсация водяного пара внутри дозирующих устройств, вызывающая низкую повторяемость результатов анализа. Кроме того, появление конденсата в сорбирующей фазе при отборе проб «на сорбент» осложняет процедуру термодесорбции удержанных аналитов и приводит к появлению размытых пиков на хроматограмме.

Цель настоящей работы – оценка влияния и устранение мешающего влияния конденсации водяного пара в процессе пробоподготовки. Исследования проводились с использованием модельных газовых смесей, генерируемых при пропускании азота высокой чистоты с заданным расходом через термостатируемые при 37 °C водные растворы тестовых веществ с заданной концентрацией.

Как показал теоретический расчет, для неполярных и слабополярных аналитов, ограниченно растворимых в воде, конденсация водяного пара не оказывает существенного влияния на их концентрацию в потоке газовой фазы. Для полярных же компонентов, таких как алифатические спирты $\text{C}_1\text{-C}_4$, кетоны $\text{C}_3\text{-C}_4$, альдегиды $\text{C}_1\text{-C}_3$ и др. конденсация приводит к уменьшению концентрации на 10 – 40 % и её необходимо учитывать, вводя поправку в результат анализа. В качестве условной границы необходимости введения поправки в результат анализа может служить условие $K > 10^3$, где K – коэффициент распределения аналита между водной и газовой фазой при температуре отбора пробы. Введение в линию пробоотбора выдыхаемого воздуха конденсатора водяного пара позволяет в несколько раз повысить повторяемость результатов хроматографического определения полярных органических веществ (спиртов и кетонов). При этом стандартное отклонение не превышает 3 %. Кроме того, присутствие конденсатора почти в 2 раза увеличивает объемы удерживания этих веществ на углеродных сорбентах, а при использовании двухступенчатой схемы термодесорбции полностью устраняет отрицательное влияние водяного пара.

Принимая во внимание высокие и нерегулируемые скорости потока при отборе выдыхаемого воздуха, для удерживания аналитов целесообразно использовать так называемые поверхностно-слоистые сорбенты, в которых микродисперсный сорбционно-активный материал (активный уголь) нанесён на поверхность относительно крупнодисперсного носителя [1]. Подобные угольно-фторопластовые сорбенты, с одной стороны, обеспечивают высокую эффективность массообмена, а, с другой стороны, не оказывают большого сопротивления потоку выдыхаемого воздуха.

[1] O.V. Rodinkov, A.S. Bugaichenko, A.Yu. Vlasov, Talanta 119 (2014) 2012 417-411.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЭНАНТИОСЕЛЕКТИВНОСТИ ПЛАСТИН ДЛЯ ТСХ,
МОДИФИЦИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА,
СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ТИХОХОЛЕСТЕРИНОМ****Рожманова Н.Б., Шаповалова Е.Н., Анистратова Е.С., Шабатина Т.И., Шпигун О.А**

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

nb.rozhmanova@mail.ru

Развитие химии поверхностных соединений оказалось необходимым для разработки различных сорбентов или неподвижных фаз для хроматографии. Собственно, появление химически модифицированных неорганических носителей сделало возможным создание хроматографии как универсального и удобного метода разделения и определения веществ. Важной проблемой фармацевтики и агрохимии является разделение оптических изомеров. В основе любого хроматографического разделения энантиомеров лежит способность так называемых хиральных агентов или селекторов предпочтительно взаимодействовать с тем или иным оптическим изомером. Для разделения энантиомеров в тонкослойной хроматографии используется модифицирование поверхностей пластинок различными хиральными селекторами. Одним из вариантов таких селекторов могут служить наночастицы металлов, стабилизированные оптически активными лигандами, однако такие системы пока практически не исследованы.

Целью данной работы являлось получение пластинок для ТСХ, модифицированных наночастицами серебра, стабилизированными тиохолестерином, и изучение хроматографического поведения ряда оптически активных веществ: прометазина, хлорпромазина, дилтиазема, 1,1-би-2-нафтола, 2,2'-диамино-1,1'-бинафтола, метионина, фенилаланила, триптофана, серина трифторантранилэтанола и хизалафопа-п-этил на полученных пластинках. В качестве подложки для получения хиральных пластинок использовали коммерческие пластинки со слоем силикагеля, гидрофобного силикагеля и аминосиликагеля. Наночастицы серебра получали путем восстановления ионов серебра боргидридом натрия. Для нанесения модификатора на поверхность пластинки либо погружали в толуольный раствор наночастиц, либо их обрабатывали опрыскиванием. В качестве подвижных фаз использовали смеси воды и полярных органических растворителей, отличающихся по природе и полярности: метиловый и изопропиловый спирты, ацетонитрил, ацетон и бутилацетат. Показано, что подвижность изученных тестовых соединений имеет сложную зависимость, связанную как с полярностью подвижной фазы, так и с природой растворителя. Установлено, что силикагель, модифицированный наночастицами серебра, стабилизированными тиохолестерином, проявляет энантиоселективность по отношению к 2,2'-диамино-1,1'-бинафтолу и трифторантранилэтанола. Лучшая подвижная фаза для разделения энантиомеров трифторантранилэтанола – смесь (50:50) ацетонитрил-вода, а 2,2-диамино-1,1-бинафлен – смесь (20: 40: 40) ацетонитрил-ацетон-вода.

**ИК-СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЙ СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ
РЕЗУЛЬТАТОВ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ТРАВМ ГЛАЗА****Рудаков О.Б., Полянская Н.К., Карпов С.И., Рудакова Л.В., Селеменев В.Ф.**

Воронежский ГАСУ, Воронежская областная клиническая офтальмологическая больница,

Воронежский ГУ, Воронежский ГМУ, Воронеж, Россия

rudakov@vgasu.vrn.ru

Применение современных инструментальных методов контроля состава биологических жидкостей позволяет оперативно диагностировать заболевания по результатам химического анализа и отслеживать динамику лечения выявленных заболеваний. Было показано, что изменение интенсивности полос поглощения пептидных групп в ИК-спектре белковых веществ, содержащихся в слезной жидкости, может быть использовано в диагностике этиологии и контроле воспалительного процесса в роговице [1-3]. Патентован способ экспресс-диагностики заболеваний [4] и травм [5] роговицы с использованием ИК-спектроскопического анализа слезной жидкости. В проведенных исследованиях представлена дифференциальная диагностика кератитов, проникающих, непроникающих ранений роговицы и повреждений хрусталика при отсутствии клинических данных. Предлагаемый способ позволяет определить тактику, объем хирургического вмешательства при травмах глаза, прогнозировать течение и осложнения посттравматического процесса.

Разработанный способ испытан на репрезентативной выборке больных пациентов. Он характеризуется тем, что проводится анализ ИК-спектра сухого остатка слезной жидкости на кремниевой подложке в диапазоне волновых чисел 500-3500 см⁻¹ до и после лечения пациентов с различной патологией роговицы, сравнивается с анализом в контрольной группе здоровых лиц, определяются характеристичные полосы ИК-спектра при различной

патологии, количественно оценивается площадь пиков полос поглощения с определенными длинами волн и их соотношении при различной патологии роговицы в зависимости от этиологии и тяжести течения заболевания. Способ прост в использовании, не требует длительного анализа и трудоемкой обработки полученных результатов. Слезную жидкость (СЖ) микрошприцом объемом 50 мкл наносят на пластинки кремния, прозрачного в области ИК-поглощения, характерной для белковых веществ. После испарения жидкой фазы и кристаллизации компонентов СЖ на поверхности кремния регистрируют ИК-спектры и количественно обрабатывают методом базовой линии. Для этой цели нами использовано ПО Grams/32R Version 4.02 Spectral Notebook. Наиболее информативной областью ИК-спектра СЖ является диапазон 1300–2000 см⁻¹, где проявляются валентные колебания карбоксильных групп и деформационные колебания групп -NH- и -ОН, входящих в состав полипептидов.

Литература

1. Фурсова Н.Ю., Полянская Н.К., Карпов С.И., Рудаков О.Б. Вестник ВГУ. Серия: Химия, биология, фармацевтика. 2013, №2. с. 96.
2. Щербаков С.Я., Полянская Н.К., Рудаков О.Б. Системный анализ и управление в биомедицинских системах, 2007, Т.6, №3, с. 658.
3. Рудаков О.Б., Полянская Н.К., Байдичева О.В., Селемнев В.Ф., Рудакова Л.В. Журнал аналитической химии, 2009, т. 64, №5, с. 506
4. Способ диагностики заболеваний роговицы. Пат. РФ на изобр. №2324183 от 10 мая 2008
5. Способ диагностики травм глаза. Пат. РФ на изобр. № 2488825 от 27.07.2013

ЦВЕТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ НИТРАТОВ И НИТРИТОВ В МОЧЕ БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ДИСПЕПСИИ

Рудакова Л.В., Рудаков О.Б.

Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко,
Воронежский ГАСУ, Воронеж, Россия
rudakov@vgasu.vrn.ru

Кислородсодержащие соединения азота непрерывно продуцируются ферментативным путем в организме как продукт клеточного метаболизма. К настоящему времени накоплено много данных, отражающих зависимость суммарного содержания кислородных соединений азота (нитратов и нитритов) в биологических жидкостях от какого-либо заболевания или отдельных стадий болезни. Причем возможно как угнетение синтеза азотсодержащих продуктов, так усиление. Таким образом, их количество может служить как для диагностики определенного рода заболеваний, так и для оценки стадии заболевания.

Целью исследования – определение содержания стабильных метаболитов оксида азота в моче у больных с синдромом диспепсии и у больных с синдромом диспепсии в сочетании с гипертензионным синдромом.

Для оценки количества нитритов и нитратов в моче проводили предварительное восстановление нитратов до нитритов и окрашивание последних с помощью реактива Грисса-Илошвая. Полученный окрашенный раствор фотометрировали с помощью КФК-5М при длине волны 490 нм. Наряду с этим методом для определения цветности использовали цифровые технологии. Для регистрации изображения использовали планшетный сканер со слайд-адаптером HP ScanJet 3500 и специальным боксом, в котором помещали оптическую кювету $l=10$ см [1]. Изменение цветности регистрировали в шкале RGB. Графический файл данных, содержащий изображения всех образцов, формировали в программе Adobe Photoshop. Для градуировки использовали интенсивность голубой компоненты В. Обе методики сопоставимы по метрологическим характеристикам, однако цветометрическая методика отличается меньшей себестоимостью анализа, не требует много времени и дорогого оборудования, позволяет анализировать даже мутные образцы.

Для клинических исследований брали под наблюдение 64 человека 20–65 лет. У больных, страдающих синдромом диспепсии в сочетании с артериальной гипертензией, выявлено наиболее значительное снижение выделения нитритов. Отмечены особенности экскреции метаболитов оксида азота в зависимости от времени суток. Так, в контрольной группе максимальная экскреция приходилась на ночную порцию и составляла 2/3 суточной экскреции, а у больных, страдающих синдромом диспепсии в сочетании с артериальной гипертензией наибольшая экскреция (около 2/3 суточной) приходилась на дневное время. Эти данные позволили предположить, что у больных с синдромом диспепсии и с артериальной гипертензией наблюдаются не только снижение суточного выделения метаболитов оксида азота, но и изменения их суточного хроноритма экскреции.

Литература.

1. Рудакова Л.В., М.М. Романова, В.В. Хрипушин, Рудаков О.Б. Системный анализ и управление в биомедицинских системах, 2008, т. 6, №4, с. 1015

**БЫСТРЫЕ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОГЕСТЕРОНА
НА ОСНОВЕ ПРИНЦИПА ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА****Сафронова В.А.¹, Самсонова Ж.В.^{1,2}, Осипов А.П.^{1,2}**¹ Химический факультет, МГУ им М.В.Ломоносова, Москва, Россия² Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Москва, Россия*Safronova.valentina88@gmail.com*

Одним из наиболее распространенных и удобных методов для быстрого определения биологически активных веществ является метод латерального проточного иммуноанализа, основными преимуществами которого являются отсутствие пробоподготовки, возможность применения вне лаборатории, быстрота проведения анализа и визуальная регистрация результата. Такие тест-системы представляют собой тест-полоски, состоящие из нескольких пористых мембран, плотно прилегающих друг к другу: нитроцеллюлозной аналитической мембраны, где нанесены тестовая и контрольные зоны, мембрана, куда наносится образец, и впитывающая мембрана. В качестве меток традиционно применяют коллоидное золото, однако использование такого рода метки не всегда позволяет достичь необходимой чувствительности анализа, например в случае с низкомолекулярными веществами.

Таким образом, был разработан новый метод – латеральный проточный иммуноферментный анализ (ЛПИ-ФА), где в качестве метки применяли фермент – пероксидазу хрена. Данный метод был разработан для определения низкомолекулярного гормона – прогестерона. Принцип метода заключается в конкурентном взаимодействии свободного прогестерона, содержащегося в анализируемой пробе, и прогестерона, меченого ферментом, за центры связывания специфических антител. В процессе работы были изучены основные закономерности иммунохимических реакций в пористых мембранах, были рассмотрены различные методики проведения анализа и условия регистрации визуального результата. Было показано, что применение ферментативной метки увеличивает чувствительность анализа на порядок по сравнению с использованием коллоидного золота. Предел обнаружения составил 1 нг/мл, а время проведения анализа – 15 мин.

Также в работе был разработан альтернативный быстрый метод для определения прогестерона, основанный на принципе вертикального проточного иммуноанализа, где в качестве метки также применяли пероксидазу хрена. В данном случае поток реагентов движется в вертикальном направлении, что позволило уменьшить время анализа и упростить процедуру его проведения. Такая тест-система представляет собой пластиковый футляр, в который в определенной последовательности содержатся аналитическая и впитывающая мембрана. Были рассмотрены различные типы аналитических мембран, изучено влияние некоторых поверхностно-активных веществ на образование аналитического сигнала. Предел обнаружения метода составил 0,4 нг/мл. Эффективность данных методов была подтверждена применением данных тест-систем при определении прогестерона в молоке коров с целью диагностирования стельности.

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ АНАЛИЗА РАСТИТЕЛЬНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ
НА СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ МЕТОДОМ АТОМНО-ЭМИССИОННОЙ
СПЕКТРОМЕТРИИ С ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ****Северина Е.Ю., Шукин В.М., Житенко Л.П.**

Московский государственный университет тонких химических технологий

имени М.В. Ломоносова (МИТХТ), Москва, Россия

ek28@mail.ru

Загрязнение почвы тяжелыми металлами (ТМ) приводит к увеличению их содержания в лекарственном растительном сырье (ЛРС) в концентрациях, превышающих допустимые уровни потребления. На данный момент содержание ТМ в ЛРС не нормируется, а в фитопрепаратах нормируется суммарное содержание ТМ.

Европейская фармакопея (ЕР) для анализа тяжелых металлов в ЛРС рекомендует использовать метод атомно-адсорбционной спектроскопии (ААС) с пробоподготовкой образцов с помощью микроволнового разложения [1].

В работе предложено использовать метод атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП) для контроля качества лекарственного растительного сырья на примере цветков ромашки с целью разработки проекта методики.

В России это метод пока не включен в частные фармакопейные статьи, несмотря на его несомненные преимущества: высокую чувствительность, многоэлементность (позволяет определять более 40 элемен-

тов одновременно), экспрессность, линейность градуировочной зависимости до 5 порядков, относительно небольшое влияние матрицы на аналитические сигналы определяемых элементов. В проект XIII ГФ РФ данный метод предложен в качестве альтернативного, при анализе ТМ в ЛРС.

Измерения проводились на атомно-эмиссионном спектрометре с индуктивно связанной плазмой Optima 8300 DV с программным обеспечением WinLab 32 версии 5.5 фирмы Perkin Elmer (США) с концентрическим распылителем Мейнхарда и циклонной камерой в лаборатории нанолечарств, препаратов для клеточной и генотерапии ФГБУ «НЦЭСМП» МЗ РФ.

Подготовку проб проводили с использованием микроволнового разложения по методике ЕР (1), ЕРА (2) и по разработанной нами методике с азотной кислотой (3). В табл. 1 представлены средние значения по результатам измерений 16 параллельных проб по каждой методике. Измерения проводили по методу градуировочного графика.

Таблица 1. Результаты содержания ТМ в цветках ромашки

Методика	Содержание, мг/кг									
	Fe	Ni	Zn	Cu	Al	Cr	As	Pb	Cd	Hg
1	445,0	1,34	20,13	7,58	522,8	1,46	-	0,47	0,09	-
2	591,5	1,78	27,15	9,76	630,9	1,83	-	0,51	0,11	-
3	591,2	1,79	25,77	9,78	653,8	1,80	-	0,46	0,11	-

Результаты содержания тяжелых металлов по методике с азотной кислотой выше, чем по методике ЕР и сравнимы с методикой ЕРА. Возможности метода АЭС-ИСП позволяют использовать его для количественного химического анализа ТМ в лекарственном растительном сырье, однако, при этом следует учесть пределы обнаружения для определяемых элементов.

Литература

1. Heavy metals in herbal drugs and fatty oils. General Chapter 2.4.27. /European Pharmacopoeia, the 8th ed. Supplement 8.2. 2014 (URL: <http://www.edgm.eu>).
2. Методика ЕРА. Environmental Protection Agency, Method 3052, SW-846, 1996.

ЭКСПРЕСС-МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОКАЛЬЦИТОНИНА НА ОСНОВЕ ЛАТЕРАЛЬНОГО ПРОТОЧНОГО ИММУНОАНАЛИЗА

Серебренникова К.В.^{1,2}, Самсонова Ж.В.^{1,2}, Осипов А.П.²

¹Химический факультет, МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия,

²Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Москва, Россия

ksenijasereb@mail.ru

Несмотря на значительный прогресс в диагностике и лечении инфекций, сепсис остается одной из наиболее актуальных проблем здравоохранения. Одним из новых перспективных маркеров сепсиса является сывороточный белок прокальцитонин (ПКт). Свойства этого белка позволяют проводить дифференциальную диагностику бактериального и небактериального воспаления, оценивать тяжесть состояния больного и эффективность проводимого лечения.

При системном воспалении бактериальной этиологии в течение 6–12 часов концентрация ПКт резко возрастает. Уровень концентрации ПКт от 0,05 до 0,5 нг/мл свидетельствуют о наличии локальной бактериальной инфекции. Значения концентраций ПКт от 0,5 до 2 нг/мл указывают на наличие системной инфекции, но не подтверждают диагноз «сепсис». Для уточнения диагноза в этих случаях определение ПКт рекомендуется повторить через 6–24 часа. Содержание ПКт выше 2 нг/мл с высокой вероятностью свидетельствует об инфекционном процессе с системным воспалением, приводящем к сепсису. Концентрация ПКт более 10 нг/мл (максимально до 1000 нг/мл) наблюдается исключительно у пациентов с тяжелым сепсисом или септическим шоком. Ежедневные измерения уровня концентрации ПКт дают информацию о течении заболевания и позволяют прогнозировать исход сепсиса. Повышенное содержание ПКт в течение продолжительного времени свидетельствует о неблагоприятном течении заболевания.

В настоящее время одним из наиболее распространенных методов определения диагностически важных биологических активных веществ является иммунохроматографический анализ, также известный как латеральный проточный иммуноанализ. Данный вид анализа осуществляется при помощи специальных тест-полосок, которые обеспечивают быстроту проведения тестирования. Реакция протекает в один этап, так как данные тест-системы содержат все компоненты в готовом виде, остается только добавить анализируемый образец. Результат анализа выявляется в виде окрашенных полос в тестовой и контрольной зонах аналитической мембраны. Основными преимуществами данного метода являются экспрессность, простота в использовании и визуальная детекция результатов анализа.

В большинстве случаев для проведения латерального проточного иммуноанализа в качестве детектирующего агента используют комплекс антител с коллоидным золотом. Преимущество коллоидного золота в качестве метки определяется легкостью получения частиц заданного размера, а также хорошей чувствительностью определения с помощью таких комплексов.

Нами был разработан экспресс-метод определения прокальцитонина в сыворотке крови человека на основе латерального проточного иммуноанализа с использованием в качестве метки коллоидного золота. В процессе работы были получены и охарактеризованы образцы наночастиц золота различных размеров, получены конъюгаты со специфическими моноклональными антителами против прокальцитонина и разработаны методики проведения анализа.

ВЛИЯНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ НА СОСТОЯНИЕ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА ПРИ ЛУЧЕВОМ ПОРАЖЕНИИ

Скакалова Н.В., Сушко С.Н., Гончаров С.В., Милевич Т.И., Тимохина Н.И.

ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси», Гомель, Беларусь

svetsu50@mail.ru

Анализ состояния альбумина сыворотки крови является важным этапом в раскрытии молекулярных механизмов жизнедеятельности организма в условиях постлучевой эндогенной интоксикации и коррекции возникающих нарушений.

В работе изучали радиозащитное действие растворов, полученных путем водной экстракции (ВЭ) из плодовых тел культивируемых грибов-базидиомицетов: щелелистника обыкновенного (*Schizophyllum commune*), гериция гребенчатого (*Hericium erinaceus*) и вешенки лёгочной (*Pleurotus pulmonarius*). Эксперименты выполняли на лабораторных мышах линии Af, которые профилактически с питьем в течение 1 месяца получали грибные экстракты (250 мг/кг) до облучения в полудетальной дозе (7 Гр).

Оценку состояния сывороточного альбумина (СА) в образцах крови мышей выполняли через 10 суток после облучения флуоресцентным методом с помощью наборов реактивов «ЗОНД-Альбумин» (НИМВЦ «Зонд», Москва) на спектрофлуориметре CM 2203 Solar. По стандартной методике определяли общую (ОКА) и эффективную концентрацию альбумина (ЭКА). Рассчитывали резерв связывания альбумина (РСА=ЭКА/ОКА*100%), характеризующий физико-химические свойства альбумина и индекс токсичности (ИТ=ОКА/ЭКА-1), пропорциональный концентрации метаболитов в тканях. В отличие от ОКА, ЭКА чрезвычайно чувствительна к наличию различных патологических процессов и зависит не только от концентрации белка, но и от физико-химического состояния альбуминовой глобулы, и свидетельствует о конформационных изменениях молекулы альбумина при воздействиях.

Показано, что при приеме всех исследованных ВЭ происходит повышение функциональных свойств СА, увеличение показателей ЭКА и ОКА. Максимальная концентрация альбумина (ОКА) была отмечена в группах, которые перорально получали ВЭ *Pleurotus pulmonarius* и *Schizophyllum commune*, соответственно на 34% и 29% по сравнению с контролем, ЭКА повысилась на 52% и 40%. В то же время при облучении в дозе 7 Гр показатели существенно ниже контроля: для ЭКА на 40%, для ОКА – на 13%. С увеличением значений ЭКА и РСА более чем в 1,5 раза для всех исследованных групп снижается общая интоксикация организма в среднем в 2-2,5 раза по сравнению с облученными животными, достигая максимума при приеме ВЭ *Hericium erinaceus*.

Профилактический прием ВЭ *Hericium erinaceus*, *Schizophyllum commune* и *Pleurotus pulmonarius* повысил выживаемость облученных мышей на 23,0; 19,9 и 19,0% соответственно и среднюю продолжительность жизни погибших мышей, которые положительно коррелируют с пострадиационным восстановлением гемопоеза, определяемым стимуляцией колониеобразования в селезенке (до 6,5 ед/селезенку) полисахаридами грибов, с максимальной эффективностью применения ВЭ *Hericium erinaceus*.

Таким образом, ВЭ исследованных грибов оказывают достоверное влияние как на функционирование сывороточного альбумина, так и на метаболические процессы изучаемых животных.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ICP-MS ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВВЕДЕНИЯ ЦИНК-СОДЕРЖАЩЕЙ ДОБАВКИ В ОРГАНИЗМ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Скальный А.А., Тиньков А.А., Медведева Ю.С., Алчинова И.Б., Крганов М.Ю., Никоноров А.А.

Институт токсикологии ФМБА, Санкт-Петербург, Россия

Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург, Россия

НИИ Общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

andrey_sk@microelements.ru

Соединения цинка в настоящее время рассматриваются как потенциальные лекарственные препараты. В то же время, особенности кинетики и механизмы действия изучены недостаточно. В связи с этим, целью настоящего исследования явилось изучение влияния внутрижелудочного введения аспарагината цинка на распределение цинка в органах и тканях крыс Wistar. Крысы-самцы ($n=36$) были распределены на 3 группы: контроль (1), внутрижелудочное введение аспарагината цинка в дозах 5 (2) и 15 мг/кг/сут (3). В ходе эксперимента проведено 2 серии опытов с длительностью 7 и 14 суток. По окончании эксперимента у животных производился забор сыворотки крови, шерсти, печени, почек, сердца, а также икроножной мышцы. Определение содержания цинка в исследуемых тканях производилось методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой на приборе NexION 300D (PerkinElmer) после микроволнового разложения образцов в концентрированной азотной кислоте в системе Berghof speedwave 4. Полученные данные оценивались с помощью однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA) с использованием критерия наименьшей значимости Фишера. Полученные данные свидетельствуют о том, что 7-дневное введение цинка аспарагината в организм лабораторных животных приводило к достоверным изменениям баланса цинка в организме. Так, введение 15 мг/кг/сут цинка аспарагината приводило к достоверному повышению уровня цинка в печени, почке и сыворотке на 23, 7 и 45%, соответственно. При этом, содержание металла в скелетной и сердечной мышцах, а также шерсти достоверно не изменялось. Стоит также отметить, что внутрижелудочное введение 5 мг/кг/сут приводило к достоверному повышению сывороточной концентрации металла на 35% относительно контрольных значений, при этом не вызывая достоверных изменений в других исследуемых биотопах. Однофакторный дисперсионный анализ позволил выявить достоверную тенденцию к увеличению уровня цинка в печени ($p=0,026$), почке ($p=0,017$) и сыворотке крови ($p=0,021$) в ответ на введение металла. Анализ биологических образцов показал, что поступление аспарагината цинка в организм животных в течение 2 недель обладает большей эффективностью. При этом уровень металла в печени, почке, миокарде, сыворотке и шерсти животных, получавших максимальную дозу добавки, превышал контрольные значения на 19, 19, 6, 106 и 12%, соответственно. Несмотря на относительное увеличение, достоверное повышение уровня цинка в ответ на введение 5 мг/кг/сут аспарагината цинка отмечалось лишь в сыворотке, составляя 55% от контрольных значений. Как и в случае 7-дневного введения, достоверная тенденция к введению-ассоциированному увеличению уровня металла отмечалась в печени ($p=0,002$), почке ($p=0,007$) и сыворотке ($p<0,001$). Стоит отметить, что в случае шерсти данный тренд приближался к достоверному ($p=0,077$). Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что исследуемые концентрации аспарагината цинка (5 и 15 мг/кг/сут) эффективны в модификации уровня цинка в организме. При этом, сыворотка крови может являться маркером баланса цинка в организме при краткосрочном воздействии, в то же время, использование шерсти для оценки уровня цинка в организме обосновано в более поздний период (2 недели).

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ КАРИЕСА ЗУБОВ У ДЕТЕЙ

Скрипкина Г.И., Солоненко А.П.

ГБОУ ВПО ОмГМУ Минздрава России, Омск, Россия

skripkini@mail.ru

Введение. Проведение стереотипных профилактических мероприятий при таком многофакторном заболевании, как кариес зубов, в настоящее время не обеспечивает удовлетворительного конечного результата. В связи с этим необходимым становится определение предрасположенности человека к кариесу с целью назначения индивидуализированной профилактики, базирующейся на донозологической диагностике и прогнозировании. Осуществление донозологической диагностики возможно с использованием объективных и доступных для внедрения в практику прогностических клинико-лабораторных критериев, которыми являются, в первую очередь, возрастные физико-химические параметры ротовой жидкости кариесрезистентных детей.

Цель исследования. Определение информативных, с точки зрения прогнозирования кариозного процесса, лабораторных параметров гомеостаза полости рта у детей различных возрастных групп.

Материалы и методы. Для решения поставленных задач обследовано 1158 кариесрезистентных детей дошкольного и школьного возраста на предмет изучения лабораторных параметров стоматологического статуса. Определяли общий кальций, фосфор, активный калий и натрий, вязкость слюны, рН слюны, удельную электропроводность, тип микрокристаллизации слюны и массу осадка ротовой жидкости. Вычисляли произведение растворимости, активную концентрацию ионов кальция и фосфора, деминерализующую активность (ΔCa) и утилизирующую способность (ΔpH) осадка ротовой жидкости. Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с использованием современных статистических программ «SPSS Statistics 17.0». При оценке статистической значимости полученных результатов применяли двухвыборочный тест для связанных выборок (Paired – Samples T test). Факторный анализ проводился по методу «VARIMAX». Кластерный анализ выполнен с использованием метода «k-средних».

Результаты и их обсуждение. По результатам выполненного исследования установлено, что для кариесрезистентных детей различного возраста характерны определённые уровни значений физико-химических параметров ротовой жидкости. Достоверно различаются вязкость ротовой жидкости, общая концентрация кальция, удельная электропроводность ротовой жидкости, произведения растворимости слюны, утилизирующая способность и масса осадка ротовой жидкости. В ходе динамического наблюдения установлен комплекс наиболее информативных лабораторных показателей состояния органов и тканей полости рта, отражающих резистентность и предрасположенность к кариесу у детей различных возрастных групп. Полученные данные позволили создать математические модели донозологического прогнозирования кариозного процесса у детей дошкольного и школьного возраста, которые легли в основу программ для ЭВМ «Стоп-кариес».

Заключение. Результаты исследования доказывают, что в детском возрасте возможно донозологическое прогнозирование развития кариозного процесса с помощью математического моделирования и программирования, базирующегося на комплексе информативных лабораторных данных возрастной физиологической нормы стоматологического статуса ребёнка.

Исследование выполнено в рамках государственного задания Минздрава РФ на 2015 – 2017 гг., № гос. регистрации темы 115032020031.

ГХ-МС-ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛИДОКАИНА В УРИНЕ С ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫМ ЭКСТРАКЦИОННЫМ ИЗВЛЕЧЕНИЕМ

Суханов П.Т.¹, Шорманов В.К.², Чибисова Т.В.¹, Галушкин С.Г.²

¹ «Воронежский государственный университет инженерных технологий», Воронеж, Россия

² «Курский государственный медицинский университет», Курск, Россия

tatya-chibiso@yandex.ru

Лидокаин [2-(диэтиламино)-N-(2,6-диметилфенил)ацетамид гидрохлорид] широко применяется в современной медицине. В связи с возможным отрицательным воздействием на организм человека необходимо устанавливать точное количество лидокаина в биологических объектах, в частности в моче. Поставленная задача может быть решена с применением экстракционного концентрирования.

Определение лидокаина в моче проводили методом «введено-найдено». Водный раствор лидокаина (0,5 см³) с концентрацией (0,1-2,5 мг/см³) вводили в 4,5 см³ мочи. К 5 см³ жидкости прибавляли 10 см³ этилацетата и выдерживали при периодическом перемешивании 10 мин. Далее смесь фильтровали, осадок промывали этилацетатом. Фильтрат упаривали до 3-4 см³ при комнатной температуре в токе воздуха, разбавляли дистиллированной водой до 10 см³, добавляли карбонат калия до получения насыщенного водно-солевого раствора и раствор диметилфталата в пропиловом спирте (1:5). Соотношение объемов водно-солевой и органической фаз 10:2. Экстрагировали 10 мин, раствор оставляли для расслаивания системы. Экстракт отделяли. Экстракцию повторяли. Экстракты объединяли и анализировали методом газо-жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором.

Для хроматографирования 0,2 см³ раствора упаривали до сухого остатка, растворяли его в 10 см³ метилового спирта. Отбирали 1,0 см³ полученного раствора, переносили в мерную колбу вместимостью 25 см³, разбавляли метиловым спиртом до метки. Полученный раствор (4·10⁻³ см³) вводили в испаритель хроматографа.

Хроматограф предварительно подготавливали к работе. В течение 1 мин температуру термостата колонки поддерживали на уровне 80 °С, затем температуру повышали до 200 °С со скоростью 40 °С и далее до 300 °С со скоростью 12,5 °С в минуту и выдерживали при 300 °С не менее 16 минут. Температуру инжектора поддерживали на уровне 200 °С, температура квадруполя 150 °С, интерфейса детектора – 300 °С.

Пик на хроматограмме с временем удерживания 7,8 мин соответствует лидокаину. В масс-спектре соединения, полученному по полному ионному току, обнаруживаются сигналы характеристических заряженных частиц с массовыми числами 42, 50, 58, 77, 86, 91, 104, 120, 163, 234. Наибольшая интенсивность соответствует частице с массовым числом 86, интенсивность которой принимается за 100 %.

Таблица 1. Результаты определения лидокаина в моче методом «введено – найдено»; $n = 3$; $P = 0,95$

Введено, мг/см ³	Найдено, мг	S_r , %	Δ , %
0,10	0,09 ± 0,01	5,2	8,0
0,50	0,47 ± 0,06	4,3	6,0
1,25	1,19 ± 0,11	3,4	4,8
2,50	2,32 ± 0,21	3,3	7,2

Количественно лидокаин определяли по уравнению градуировочного графика: $S = (1,93 \cdot C + 0,03) \cdot 10^5$, где S – площадь хроматографического пика; C – содержание лидокаина в хроматографируемой пробе, нг. График линеен в интервале концентраций $4,0 \cdot 10^{-9} - 4,0 \cdot 10^{-7}$ г. (табл 1).

По предложенной методике двукратной экстракцией максимально возможно определить в моче 95 % лидокаина. Минимально определяемая концентрация на уровне 0,3 мкг/см³. Погрешность определения не превышает 10 %.

ПАРАМАГНИТНЫЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ ГОССИПОЛА

Тошов.Х.С., Ярмагов С.С., Тыщенко А.А., Хаитбаев А.Х.

Национальный университет Узбекистана (НУУз), Ташкент, Узбекистан

polyphenol-10@yandex.ru

В теории устойчивости биологических объектов особое место занимают не ферментативные цепные процессы окисления метаболитов в системе хозяин-паразит. Если при ферментативном окислении появляются продукты с хиральными центрами только одного вида, то при не ферментативном – всегда рацематы в соотношении 1:1. Это означает, что 50% продуктов не ферментативного окисления не могут быть использованы далее, т.е. происходит потеря (диссипация) веществ и энергии, затраченной на их биосинтез. Поэтому основная задача защитных систем – не допустить не ферментативного окисления метаболитов. Для выполнения этой задачи служат антиоксиданты, которые в высших и низших растениях представлены полифенолами. Антиоксидантная активность некоторых полифенолов как в гидрофильной, так и в липофильной среде снижается после окисления гидроксильных групп в исходных структурах [1]. Для основного полифенольного антиоксиданта семейства мальвовых госсипола – отмечено, что в ряде случаев он проявляет прооксидантный эффект [2].

В данной работе впервые было проведено сопоставления параметров полученных спектров оптического и парамагнитного поглощений этой новой природной структуры и причины ее прооксидантного эффекта.

Мультиплетность (взаимное направление спинов) основного состояния неспаренных электронов в бирадикалах определяет их способность к «выстраиванию» в цепи, что экспериментально проявляется в спектрах электронного спинового резонанса (ЭСР) и может влиять на локальную вязкость в окружении биологических мембран. Кроме того, мультиплетность определяет каталитическую активность бирадикальных структур в отношении самого распространенного природного бирадикала – молекулярного кислорода [3].

Приведенные нами экспериментальные факты позволяют утверждать, что чередование кратковременных стрессов и нормальных условий для системы хозяин-паразит способствует насыщению молекулярным кислородом внеклеточных липидных образований. Складывающаяся ситуация близка к условиям, необходимым для развития не ферментативного цепного окисления липидов в указанной системе.

Литература

1. Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Кандалицева Н.В. Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине. Строение, свойства, механизмы действия. Авторское право-2012. 495 с.
2. В.И.Рыбаченко, А.М.Дикун, Н.С.Илькевич, К.Ю.Чотий, Л.В.Гребенюк Таутомерные равновесия и антирадикальная активность имино-производных госсипола. НАУКОВІ ПРАЦІ Донецького національного технічного університету Серія: Хімія і хімічна технологія. Випуск 19(199) Донецьк – 2012. С.75.
3. foroff.phys.msu.ru/phys/med/pat/pat_07rd.pdf.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ФТАЛАТОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ**Уланова Т.С., Карнажицкая Т.Д.**

Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», Пермь, Россия

Фталаты – сложные эфиры о-фталевой кислоты, синтетические вещества, используемые в качестве добавок и пластификаторов при производстве полимерных материалов промышленного, бытового, пищевого и медицинского назначения. Фталаты относятся к стойким органическим загрязнителям и широко распространены в окружающей среде (природных водах, донных отложениях, почве, продуктах растительного и животного происхождения, питьевой воде, домашней пыли и т.д.). Повсеместное присутствие фталатов обуславливает их поступление в организм, что увеличивает риск возникновения заболеваний. Негативное действие фталатов проявляется в разрушении эндокринной системы, тератогенном, антиандрогенном эффектах, канцерогенезе отдельных представителей (ди-(2-Этилгексил)фталат).

Проведены исследования по разработке и апробации методики определения метаболитов фталатов (монометилфталата, монобутилфталата, монобензилфталата моно-2-этилгексилфталата) в биологических средах (моча) для оценки воздействия химических факторов среды на здоровье населения. Анализ свободных монофталатов в биосредах проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией ((ВЭЖХ/МС), обеспечивающим высокую селективность и чувствительность определения. Извлечение аналитов из биопроб проводили методом твердофазной экстракции на сорбенте Oasis HLB.

В ходе апробации методики выполнены исследования содержания метаболитов фталатов в моче детей в возрасте 4-7 лет, посещающих детские дошкольные учреждения и проживающих на территориях с различной экологической нагрузкой (1 группа, n=21 и 2 группа, n=19). В результате исследований установлено, что из 4-х метаболитов в моче в свободном виде присутствует монометилфталат (ММФ) в 63 % биопроб в диапазоне концентраций от 0,0004 до 0,012 мг/дм³. Среднегрупповое значение концентрации ММФ в моче детей 1 группы составило 0,0013±0,0004 мг/дм³, диапазон измеренных значений 0,0004-0,0068 мг/дм³, доля положительных результатов 57 %. Во 2 группе среднегрупповая концентрация ММФ в моче детей – 0,0049±0,0014 мг/дм³, диапазон измеренных значений ММФ 0,004-0,012 мг/дм³, доля положительных проб 73 %. Присутствие в моче свободного монометилфталата связано с метаболизмом, направленным с одной стороны, на гидролиз фталатов с образованием моноэфиров, с другой – с тем, что фталаты с длинными алкильными цепями распадаются на короткоцепочечные фталаты и затем выводятся из организма. Растворимость монометилфталата в воде составляет 1,76 мг/дм³, и его выведение из организма в свободной форме, не связанной с глюкуроновой кислотой, вполне вероятно, что подтверждают настоящие исследования.

При сравнении двух обследованных территорий установлено, что дети из группы № 2 оказались более подвержены действию фталатов по сравнению с детьми из группы № 1 (межгрупповое различие по средним (p)<0,05), что предполагает различные источники выделения и путей поступления фталатов в организм, включающие взвешенные вещества (пыль), продукты питания, упакованные в пластик, выщелачивание из игрушек, воздух помещений, питьевая вода и другие.

В результате исследований обнаружено присутствие свободного монометилфталата в моче детей, что может быть использовано для доказательства и оценки воздействия фталатов, присутствующих в объектах окружающей среды, на здоровье.

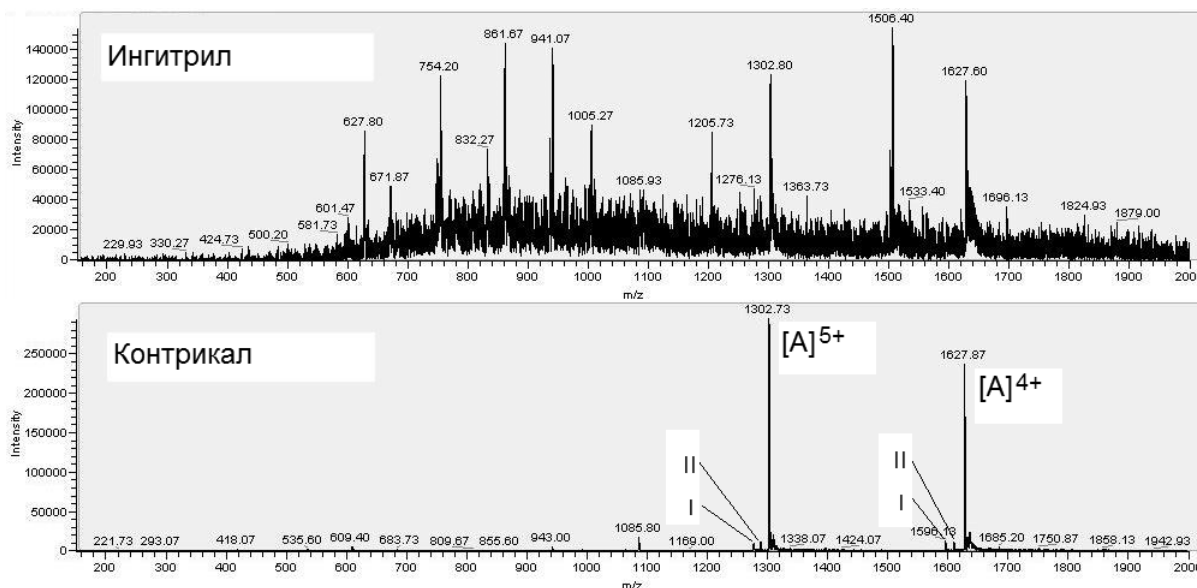
ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЧЕСТВА ПРЕПАРАТОВ АПРОТИНИНА МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС**Хасанов В.В., Дычко К.А., Куряева Т.Т., Томилова Е.В.**

Томский государственный университет, Томск, Россия

serga01net@yandex.ru

Апротинин – ингибитор сериновых протеаз, полипептид из 58 аминокислотных остатков (АКО) со стабильной третичной структурой, является одним из наиболее хорошо охарактеризованных белковых соединений. Производится генноинженерными способами, а также из животного сырья и выпускается под различными торговыми марками, в России (Ингитрил и др.) и за рубежом (Контрикал и др.).

Контроль качества препарата описан в Европейской Фармакопее (EP) с использованием метода зонного капиллярного электрофореза (CZE) [1]. Контролируемыми примесями являются два полипептида, в 56 АКО (дез-Ала-дез-Гли-Апротинин, I) и 57 АКО (дез-Ала-Апротинин, II). Согласно EP, препарат разделяют методом CZE и контролируют наличие пиков соединений I и II, время миграции которых составляет 0,98 и 0,99 от времени миграции Апротинина, а интенсивность пиков примесей не превышает 8,0 и 7,5% от основного пика, соответственно. Однако подобная процедура не является вполне удачной при контроле недостаточно чистых препаратов.



Для контроля качества препаратов коротких пептидов и небольших белков может быть с успехом применена техника ВЭЖХ-МС с электроспреем (ESI) в качестве интерфейса. Относительно короткие пептиды при прямом введении в ESI⁺ дают отчетливые пики многозарядных ионов (на рисунке – [A]⁵⁺ и [A]⁴⁺, соответствующие Апротинину), которые могут быть легко интерпретированы и количественно определены. Ниже приведены масс-спектры двух препаратов: Ингитрил (лиофилизат из ампулы 15 ЕД, в разведении 0,5 мг/мл и препарат Контрикал 10000 АТрЕ, в таком же разведении).

Литература

1. Monograph 01/2011:0579 – Aprotinin. European Pharmacopoeia, 7th ed., EDQM, Strasbourg, France, 2011. p. 1409.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛЮТЕНА В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ (ПЦР)

Цзерава А.У.¹, Шилина Н.М.², Хомутова Е.Г.¹

¹Московский Государственный Университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Научно-исследовательский институт питания”, Москва, Россия

Контроль содержания количества глютена в пищевых продуктах играет ключевую роль в обеспечении качества пищевых продуктов, предназначенных для больных целиакией. Целиакия (глютеновая энтеропатия) – это хроническое, прогрессирующее, наследственно обусловленное заболевание, характеризующееся стойкой непереносимостью определённых белковых фракций (проламинов) злаковых культур (пшеницы, ржи, ячменя и овса), имеющих обобщенное название «глютен». Целиакия не исчезает с возрастом и на фоне лечения. Единственным методом лечения целиакии и профилактики ее осложнений является строгая и пожизненная безглютеновая диета.

На сегодняшний день разработаны методические указания МУК 4.1.2880-11 «Методы определения глютена в продовольственном сырье и пищевых продуктах», позволяющие определить загрязнение продуктов глютеном ржи, пшеницы, ячменя с помощью иммуноферментного метода анализа (ИФА), однако данный метод не позволяет детектировать загрязнения продуктов глютеном овса.

В настоящее время, предложен ПЦР-метод для выявления глютена овса. По сравнению с альтернативными аналитическими методами, основанными, например, на идентификации белка (ИФА), ПЦР имеет существенное преимущество: молекула ДНК является достаточно стабильной, что позволяет проводить ее достоверное определение. Предложенный ПЦР-метод обладает высокой специфичностью и чувствительностью определения (около 5 копий ДНК). Кроме того, имеет практические преимущества возможность анализа всех параметров после одной процедуры выделения ДНК, включая внутренний контроль амплификации в одном определении.

Однако, данный метод не получил широкого распространения, ввиду отсутствия его метрологической аттестации, поэтому целью работы было апробировать и метрологически аттестовать количественный ПЦР – метод для определения остаточных количеств глютена овса и других злаковых в безглютеновых продуктах.

В методе использованы тест-система для выделения и очистки ДНК SureFood Prep Advanced, лабораторный референс-материал SureFood QUANTARD Allergen 40 и набор для количественного определения ДНК глютена SureFood Allergen QUANT Gluten (производство фирмы R-Biopharm, Германия).

Проведена метрологическая аттестация количественного ПЦР-метода определения глютена в овсе. Получены следующие характеристики: диапазон определяемых концентраций от 1 до 400 мг глютена/кг пробы, при Sr не более 0,06. Правильность результатов подтверждена методом добавок и по референс-материалу, с содержанием глютена 40 ppm.

АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ МАКРО И МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ У ЛИЦ МОЛОДОГО ВОЗРАСТА

Чеминава Н.Р., Кучумова И.Д., Якимова Н.М.

Санкт-Петербургский государственный университет им. акад. И.П.Павлова, Санкт-Петербург, Россия
Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Химический анализ смешанной нестимулированной слюны – индикатор процессов созревания, реминерализации и деминерализации зубов. Химический состав слюны позволяет в той или иной степени судить о микроэлементном составе твердых тканей зуба.

Цель: Изучить содержание макро- и микроэлементов (кальция, меди, магния, стронция, цинка) в ротовой жидкости студентов

Материалы и методы.

В исследовании 23 образца. Проведено стоматологическое обследование, анкетирование. Сбор ротовой жидкости проводился в объеме 3 мл, натошак, до чистки зубов. Для анализа ротовой жидкости использовался оптический эмиссионный спектрометр параллельного действия с индуктивно-связанной плазмой Shimadzu ICPE 9000, технические характеристики составляют: спектральный диапазон 167– 800 нм, Тип детектора 2-мерных полупроводниковый (CCD),

Во всех пробах определяли содержание Ba, Ca, Cu, Mg, Mn, Sr, Zn.

Результаты

В исследуемом биосубстрате присутствовали основные элементы (кальций, медь, магний, марганец, стронций, цинк, барий). У обследованной группы выявлено повышенное содержание меди ($m=0,52$ мг/л). Дисбаланс меди может отражаться на функциях Cu-зависимой лизилоксидазы и вызывать снижение репаративных и регенераторных свойств тканей в очаге воспаления (Danks D.M., 1993). Установлено количество стронция в ротовой жидкости, оно составила 0,033 мг/л. У 68% обнаружено низкое содержание кальция ($m = 30,3$ мг/л).

У пациентов, имеющих выраженное воспаление тканей пародонта (индекс РМА, $m= 31,27\%$) наблюдаются в повышенное содержание Cu ($m=0,51$), и низкое содержание Ca. Индекс КПУ составил 10,1. В среднем у студентов наблюдалось неудовлетворительная гигиена (ОНИ-s, $m= 0.89$).

Выводы. В исследуемой группе наблюдается дисбаланс элементарного состава, требующий более детального исследования.

Таблица 1. Концентрация элементов в ротовой жидкости.

Элемент	Концентрация в ротовой жидкости (n=23), мг/л	«Условная норма», мг/л
Ba	0,0501	0,04
Ca	43,7091	45-100
Cu	0,5268	0,02-0,12
Mg	7,6114	1,9-13
Mn	0,0212	0,002-0,01
Sr	0,0337	0,065
Zn	0,7594	0,01-0,08

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИКАРИИНА И ЕГО ОСНОВНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В БИОСУБСТРАТАХ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С ТАНДЕМНЫМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

Шевлякова О.А.¹, Ихалайнен А.А.¹, Антохин А.М.¹, Таранченко В.Ф.¹, Митрофанов Д.А.¹,
Аксенов А.В.¹, Родин И.А.², Шпигун О.А.²

¹ Федеральное государственное унитарное предприятие «Научный центр «Сигнал», Москва, Россия

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия
olesya.shevlyakova@gmail.com

Икариин – один из основных действующих компонентов горянки (*Epimedium*), обладающий физиологическим действием и проявляющий антиопухолевую, андрогенную и антидепрессантную активности [1-2]. В связи с этим, существует необходимость расчета эффективной дозировки, исследования фармакокинетики, метаболизма, биодоступности икариина.

Цель нашей работы заключалась в разработке метода определения икариина и его основных метаболитов – икаризида I и икаризида II. Отработка методики осуществлялась на моче белых нелинейных крыс.

Моча представляет собой сложный объект для исследований в связи с многокомпонентным составом, влияющим на точность идентификации и пределы детектирования. Поскольку применение различных способов пробоподготовки не всегда позволяет избавиться от мешающих примесей, требуется выбор оптимальных условий. В данной работе проводили жидкость-жидкостную экстракцию в кислой, щелочной и нейтральной средах и твёрдофазную экстракцию. В результате проведённых экспериментальных исследований был выбран метод пробоподготовки с использованием твёрдофазной экстракции с применением концентрирующих патронов Oasis(R) HLB 60 мг/ 3 мл. Коэффициент извлечения из мочи составил не менее 85%, а пределы обнаружения оказались на уровне 1-2 нг мл⁻¹.

Разделение исследуемых образцов мочи проводили в режиме градиентного элюирования на обращенно-фазовой хроматографической колонке Hypersil Gold aQ, длиной 150 мм, внутренним диаметром 2.1 мм, размером зерна сорбента 3 мкм, фирмы «Thermo Scientific», с использованием в качестве подвижной фазы 0,1% раствор муравьиной кислоты в смеси вода/ацетонитрил (95/5 по объёму) и 0,1% раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле.

Детектирование целевых соединений осуществляли на гибридном масс-спектрометре с орбитальной ионной ловушкой высокого разрешения Q-Exactive (Thermo Scientific, Германия) с ионизацией электрораспылением в режиме мониторинга выбранных реакций (MRM). В результате проведенных исследований оптимизировали параметры масс-спектрального определения, условия масс-фрагментации действующих веществ при высокоэнергетической диссоциации соударением (HCD), выбрали характеристичные ионные переходы для каждого исследуемого соединения.

Преимуществом указанного способа анализа является его высокая достоверность и чувствительность. Данный метод можно применять для фармакокинетических исследований икариина.

Литература

1. Humfrey C.D. // Nat. Toxins. 1998. Vol. 6, N. 2. P. 51–59.
2. Felson D.T., Zhang Y., Hannan M.T., et al. // N. Engl. J. Med. 1993. Vol. 329, N. 16. P. 1141–1146.

АМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД И ПРИБОР ДЛЯ ЭКСПРЕССНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА ЧЕЛОВЕКА

Яшин Я.И., Веденин А.Н., Яшин А.Я.
ООО «ИНТЕРЛАБ», Москва, Россия
yashin@interlab.ru

Одной из основных причин патологических изменений в организме человека, приводящих к развитию многих болезней и преждевременному старению, является избыточное содержание в биологических жидкостях реакционных кислородных и азотных соединений, включая и свободные радикалы (супероксида аниона, пероксида водорода, гидроксильного радикала, пергидроксильного радикала и др.)

Стойкое увеличение содержания в клетках свободных радикалов создает условия для так называемого окислительного стресса, при котором свободные радикалы окисляют стенки сосудов, мембраны клеток, молекулы ДНК, белков, липидов. Эти радикалы особенно активно взаимодействуют с мембранными липидами, содержащими ненасыщенные связи, и нарушают свойства клеточных мембран. Самые активные свободные радикалы разрывают связи в молекулах ДНК, повреждают генетический аппарат клеток, регулирующий их рост, что приводит к онкологическим заболеваниям. Липопротеиды низкой плотности после окисления могут откладываться на стенках сосудов, что приводит к атеросклерозу и сердечнососудистым заболеваниям. Окислительный стресс играет также ключевую роль в патогенезе старения. Поэтому исключительно важно диагностировать начало окислительного стресса, пока он не перешел в серьезное заболевание. Окислительный стресс можно приостановить, используя антиоксидантные лекарства или антиоксидантную терапию специальными пищевыми продуктами и напитками.

Антиоксидантная активность биологических жидкостей человека – это показатель, характеризующий активность защитных реакций организма в ответ на появление избыточного содержания свободных радикалов. Значения антиоксидантной активности могут меняться при патологиях, отражая физическое и функциональное состояние органа или системы, продуцирующей эту жидкость, либо при воздействии внешних неблагоприятных факторов.

На приборе «БЛИЗАР» впервые оценено суммарное содержание антиоксидантов (ССА) в различных биологических жидкостях (сыворотки крови, слюны, желчи, желудочного сока, мочи), взятых одномоментно у каждого пациента и проанализировано, как показатели могут изменяться с возрастом. Было проведено исследование ССА сыворотки крови у 480 пациентов разного возраста и пола (от 18 до 102 лет). Исследована связь значений ССА с желудочно – кишечными заболеваниями. Основные выводы этого исследования – показатели ССА могут быть использованы в клинической практике как скрининговый тест определения патологических состояний.

**МОНОСПЕЦИФИЧНЫЕ АНТИПЕПТИДНЫЕ АНТИТЕЛА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ
ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ОНКОМАРКЕРА – ИЗОФОРМЫ 2 ФАКТОРА ЭЛОНГАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ
eEF1A**

**Мишин А.А.^{1,2}, Колесанова Е.Ф.², Егорова Е.А.², Шалак В.Ф.³, Висловух А.А.³, Новосильная А.В.³,
Хоруженко А.И.³, Коваленко М.И.³, Кротевиц М.С.⁴, Скорода Л.В.⁴, Негруцкий Б.С.³**

¹ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» ФАНО, Москва, Россия

³Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев, Украина ⁴Национальный институт рака,
Министерство здравоохранения Украины, Киев, Украина

a56m@mail.ru

Изоформа 2 фактора элонгации трансляции eEF1A (eEF1A2) в норме локализована в терминально дифференцированных и долгоживущих клетках - миоцитах и нейронах, во всех остальных клетках присутствует изоформа 1 - eEF1A1. Показано, что при малигнизации клеток, содержащих в норме eEF1A1, в них может начаться экспрессия мРНК с гена *eEF1A2* и продукция eEF1A2, проявляющей антиапоптотическую активность. Таким образом, eEF1A2 может служить одним из онкомаркеров. Однако селективное определение eEF1A2 затруднено: степень идентичности eEF1A1 и eEF1A2 составляет 93%.

Цель. Получить антипептидные антитела против фрагмента eEF1A2 и охарактеризовать их специфичность в отношении eEF1A2 и eEF1A1. Определить наличие eEF1A2 в послеоперационных образцах опухолей молочной железы, лёгких, желудка человека и сравнить с условной нормой соответствующих тканей.

Методы. Пептидный антиген для получения моноспецифичных антител выбирали путём сравнительного анализа аминокислотных последовательностей eEF1A1 и eEF1A2 человека. Пептид синтезировали методом твердофазного синтеза и конъюгировали с белками-носителями. Содержащую антипептидные антитела сыворотку крови получали после иммунизации козы. Антитела выделяли из фракции иммуноглобулинов аффинной хроматографией на колонке с ковалентно присоединённым пептидным антигеном. Анализ специфичности антител проводили методами иммуноферментного анализа, иммуноблоттинга и иммуногистохимии. Методы иммуноблоттинга и иммуногистохимии использовались для выявления eEF1A2 в образцах опухолей человека, а также условной нормы (послеоперационные образцы, не содержавшие клеток, фенотипически определяемых как опухолевые).

Результаты. Антипептидные антитела против 14-членного фрагмента eEF1A2 специфически распознавали этот белок в экстрактах и на гистологических срезах и перекрестно не взаимодействовали с eEF1A1. Белок eEF1A2 был обнаружен в послеоперационных образцах опухолей молочной железы, легких и желудка, а также в образцах условной нормы этих тканей.

Выводы. Полученные антипептидные антитела против eEF1A2 являются высокоспецифичными по отношению к антигену, не дающими перекрестной реакции с близкородственным белком eEF1A1. Данные антитела могут быть использованы в иммунологических исследованиях опухолей.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-90413.

ПАРТНЕРЫ И УЧАСТНИКИ ВЫСТАВКИ

ООО «Аналит Продактс»

Адрес: 199106, Санкт-Петербург, В.О., 26-ая линия, 15/2, офис 9.08

Тел.: +7 (812) 325-55-02

Факс: +7 (495) 325-40-08

E-mail: analit@analit-spb.ru

Web: www.analit-spb.ru

Компания «Аналит» была основана в 1992 году. В настоящее время АНАЛИТ – это группа компаний, имеющая представительства в Санкт-Петербурге, Москве, Казани, Нижнем Новгороде и Уфе, один из крупнейших в России поставщиков аналитического и испытательного оборудования. АНАЛИТ предлагает своим клиентам комплексные решения для оснащения лабораторий, поставляя оборудование, расходные материалы, реагенты, мебель, осуществляет методическую поддержку и стажировку специалистов. Наличие собственной аккредитованной аналитической лаборатории позволяет выполнять широкий спектр исследований, разработку методик и обучение специалистов.

ООО «Брукер»

Адрес: 119017, Москва, ул.Пятницкая, 50/2 стр.1

Тел.: +7 (495) 517-92-84

Факс: +7 (495) 517-92-86

E-mail: info@bruker.ru

Web: www.bruker.com

Компания Bruker является лидером в производстве высокопроизводительного научного оборудования и предлагает решения для исследований биомолекул и материалов, а также производственных и прикладных задач. Уже более 50 лет Bruker представляет Вашему вниманию широчайший ассортимент научного оборудования, объединенного одной маркой – синонимом инноваций, качества и превосходства!

Наши продукты и решения:

- Магнитный резонанс
- ИК спектроскопия, ИК в ближней области и КР спектроскопия
- Масс-спектрометрия
- Хроматография
- Рентгеновское аналитическое оборудование
- АСМ/СЗМ и Рентгеновский микроанализ
- Оптическая метрология

ООО «Диаэм»

Адрес: 129345, Москва, ул. Магаданская, д. 7, корп. 3

Тел.: +7 (495) 745-05-08

Факс: +7 (495) 745-05-09

E-mail: info@dia-m.ru

Web: www.dia-m.ru

Компания Диаэм – один из крупнейших поставщиков на Российском рынке лабораторного оборудования. Каталог компании насчитывает более 500 000 наименований приборов, реагентов и расходных материалов.

В каталоге компании представлено оборудование таких ведущих фирм, как: Binder, Thermo, Bio-Rad, Corning, Eppendorf, Olympus, Nikon Zeiss, Sanyo, Sigma-Aldrich.

- Биохимические и гематологические анализаторы
- ИФА-анализ: ридеры, вошеты и термостаты для планшет
- Микроскопы и микроманипуляторы
- Оборудование для проведения генетического скрининга наследственных и инфекционных заболеваний
- CO₂-инкубаторы и термостаты
- Сухожаровые стерилизаторы
- Системный контроль качества в ЭКО лабораториях
- Шкафы биологической безопасности для работы с биологическими пробами

ООО «Лабораторное и научное оборудование»

Адрес: 119602, Москва, ул. Никулинская, д. 27, к. 3

Тел.: +7 (495) 437-90-05

Факс: +7 (495) 437-90-05

E-mail: info@cheminst.ru

Web: www.cheminst.ru

ООО «Лабораторное и научное оборудование» – официальный представитель в России ведущих мировых производителей научного оборудования, приборов и комплектующих для различных областей науки, промышленности, медицины: OLYMPUS; GRACE; HAMILTON; GILSON; CECIL Instruments; THERMO Fisher Scientific; RESEARCH Instruments; IVFTECH; EUROCLONE; LUMENERA Corp.; LABOTECT; LINKAM Scientific; KARL HECHT Assistant; STEROGLOSS и др.

Основные направления нашей программы:

- Оптическая микроскопия: микроскопы любой сложности.
- Вспомогательное оборудование для микроскопов: программируемые и моторизованные модули; системы высокоточного контроля температуры; цифровые камеры и программы анализа изображений.
- Оборудование для лабораторий репродуктивных технологий и эмбриологии: микроманипуляторы для работ с культурами клеток; установки для лазерной клеточной микрохирургии; оборудование для крио консервации и хранения биологического материала; CO2 инкубаторы; рабочие станции для ЭКО/ИКСИ и др.;
- Принадлежности для работы с микроскопом: предметные, покровные стёкла, лабораторное стекло; камеры для подсчета клеток и др.;
- Принадлежности для любых видов хроматографии и пробоподготовки: колонки, виалы, пла-стины для ТСХ, и т.д.;
- Оборудование для прецизионного дозирования жидкостей: пипетки-дозаторы для любых жидкостей; прецизионные шприцы, дозаторы, смесители для жидкостей и газов;
- Общелабораторное и специализированное лабораторное оборудование: спектрофотометры; анализаторы на базе спектрофотометров; роторные испарители и реакторы; лабораторные центрифуги; термостаты, магнитные мешалки, миксеры, водяные бани, испарители, шейкеры, колба-греватели, дистилляторы, деионизаторы; лабораторный пластик.
- Ламинарные боксы; вытяжные шкафы и шкафы микробиологической защиты.

ЗАО «ЛЕКО ЦЕНТР-М»

Адрес: 115280, Россия, Москва, 1-й Автозаводский проезд, д.4, к.1

Тел.: +7 (495) 710-38-18

E-mail: referent@leco.ru

Web: www.leco.ru

LECO Corporation более 75 лет производит надежное оборудование для решения различных аналитических задач: от рутинных промышленных элементных анализаторов до сложнейших хроматомасс-спектрометрических комплексов с времяпролетными масс-анализаторами высокого разрешения. Представительства компании во всем мире, в том числе и в Москве, обеспечивают поставку приборов и всех необходимых расходных материалов, а также методическую поддержку и сервисное обслуживание. Оборудование LECO имеет международный сертификат качества ISO-9001, а также внесено в Государственный реестр средств измерений РФ, что подтверждается соответствующими сертификатами. В этом году компания представила новое поколение оборудования, в котором сочетается многолетний опыт создания надежных высокотехнологичных решений и инновационные подходы для достижения новых абсолютно уникальных характеристик. Узнать об этом подробнее можно на сайте www.leco.ru.

ЗАО «МС-АНАЛИТИКА»

Адрес: 119334, Москва, ул. Косыгина, д. 13, к. 1

Тел.: +7 (495) 995-88-90

E-mail: moscow@textronica.com

Web: www.textronica.com

Группа компаний «МС-АНАЛИТИКА» рада Вам представить мирового лидера в аналитическом приборостроении «Thermo Fisher Scientific», который разрабатывает и производит лучшие в мире аналитические приборы – от настоль-

ных газовых и жидкостных хроматографов и их комбинаций с МС до масс-спектрометров высокого и сверхвысокого разрешения – для анализа органических и биоорганических объектов («химические»), для измерения изотопного состава атомов и молекул («изотопные»), для установления элементного состава образцов («элементные»). В свою очередь, каждый из этих приборов подразделяется на модели, приспособленные для решения специфических задач. МС-АНАЛИТИКА является эксклюзивным дистрибьютором концерна Thermo Fisher Scientific и занимается поставкой и обслуживанием данных комплексов более 25 лет, по всей России, в том числе и в СНГ. Наши специалисты с радостью ответят на все Ваши вопросы, а также дадут рекомендации в выборе представленного оборудования и расходных материалов Thermo Fisher Scientific. Свои предложения и запросы можете отправлять на e-mail: moscow@textronica.com. Более подробную информацию на русском языке Вы сможете найти на сайте www.textronica.com.

ООО МЦ Пробиотек

Адрес: 111024, г. Москва, ул. 5-я Кабельная, д.2-Б, стр. 1, офис 3-1
Тел.: +7 (916) 577 7358
Факс: +7 (916) 577 7358
E-mail: vladimir.pisarev@probiotech.ru
Web: www.probiotech.ru

Научно-производственный центр ПРОБИОТЕК был основан в 2006 г. Основные виды исследований на сегодняшний день – доклинические и клинические исследования новых лекарственных средств. Для успешного осуществления исследований в распоряжении ПРОБИОТЕК имеются собственные клинический центр и биоаналитическая лаборатория, оснащенные современным научным оборудованием. Также особо следует отметить, что ПРОБИОТЕК обладает собственным современным виварием для содержания лабораторных животных. Действует система менеджмента качества, имеются СОПы на все процедуры. ПРОБИОТЕК успешно прошел аудит крупнейших международных фармацевтических компаний и российских регуляторных органов. Центральный офис группы компаний ПРОБИОТЕК расположен в Москве, отделения компании в Ярославле и Серпухове. Более подробная информация доступна по адресу www.probiotech.ru

ООО «НКЦ «ЛАБТЕСТ»

Адрес: 123557, г. Москва, Большой Тишинский переулок, д.38
Тел.: +7 (495) 605-36-10 / +7 (495) 518-94-52 / +7 (495) 605-35-07
E-mail: info@lab-test.ru
Web: lab-test.ru

ООО «НКЦ «ЛАБТЕСТ» – российская компания, интегрирующая в своей деятельности десятки ведущих мировых производителей научного и химико-аналитического оборудования для исследований состава и свойств веществ различной природы. Среди наших партнеров: TELEDYNE (США), XENOMETRIX (Израиль) и OLYMPUS (Япония) в элементном анализе, JASCO (Япония) – в молекулярном и BMG LABTECH (Германия) – в биохимическом анализе. Наличие собственной службы технической и методической поддержки, склада запасных частей, материалов и стандартных образцов, делают сотрудничество с нами надёжным и динамичным. Полная информация доступна на сайте www.lab-test.ru.

РЕНАМ, НПО

Адрес: 125167, Москва, Новый Зыковский пр-д, д. 4, Гематологический Научный Центр
Тел.: +7 (495) 225-12-61, +7 (499)707-76-30, 8-800-200-90-57 (call-free in Russia)
Факс: +7 (495) 225-12-61, +7 (499)707-76-30
E-mail: info@renam.ru
Web: www.renam.ru

НПО РЕНАМ – ведущий российский производитель диагностических наборов для гемоглобинометрии и исследования системы гемостаза. Система менеджмента качества НПО «РЕНАМ» соответствует требованиям: ГОСТ ISO 9001-2011 (ИСО 9001:2008), ГОСТ Р ИСО 13485-2011 (ИСО 13485:2003), Сертификат соот-

ветствия РОСС RU.ФК39.К00021. Компания является постоянным поставщиком контрольных материалов для Федеральной Системы Внешней Оценки Качества, а также первой из российских фирм, успешно вошедшей в системы Международного контроля качества (UK NEQAS for blood coagulation, ECAT Foundation). В 2012 году компания НПО «РЕНАМ» получила Декларацию Соответствия продукции требованиям Директивы 98/79/ЕС и право маркировки знаком **CE**.

ООО «Си Си Эс Сервис»

Адрес: Россия, Москва, 121351 ул. Ивана Франко, д. 48Г, стр.4

Тел.: +7 (495) 626 59 43

Факс: +7 (495) 564 80 52

E-mail: info@ccsservices.ru

Web: www.ccsservices.ru

Компания CCS Services – поставщик аналитического, лабораторного и вакуумного оборудования с 20-летним опытом работы на российском рынке. Мы стремимся обеспечить наших клиентов оборудованием высокого класса и безупречным сервисом.

Для задач химического анализа в медицинских исследованиях мы предлагаем различные аналитические решения:

- элементный анализ на основе ААС/ИСП-ОЭС/ИСП-МС Agilent Technologies и микроволновых систем про-бодготовки Milestone, микроволновые муфели (определение общей/сульфатной золы);
- молекулярный анализ, научные и кинетические исследования на основе УФ-Вид-ИК и ИК-Фурье спектро-метров Agilent Technologies;
- высоковакуумные системы Agilent для масс-спектрометрических приборов;
- системы Milestone для органического синтеза в микроволновом поле с выходом по целевому веществу от нескольких мкг до десятков кг.

Мы осуществляем полный цикл поддержки оборудования: поставка, обучение, сервис, расходные материалы.

ООО «ФИЗЛАБПРИБОР»

Компания YMC

Адрес: 117587, Москва, Варшавское шоссе, д. 125 Ж, корп. 5

Тел.: +7 (495) 280-13-48, 740-54-06

E-mail: info@fizlabpribor.ru

Web: www.fizlabpribor.ru

ООО «ФИЗЛАБПРИБОР» поставляет материалы и оборудование для жидкостной хроматографии от аналитических до промышленных масштабов; комплектующие для газовой и жидкостной хроматографии; сверх-чистые растворители для ВЭЖХ, LC/MS, ULC/MS, реагенты и сырье для синтеза субстанций; микрореакто-ры, реакторы смешения и каталитические реакторы. Специалисты компании оказывают помощь в разработ-ке и постановке методик, выборе оборудования. Сервисная служба проводит инсталляцию оборудования, гарантийное и послегарантийное обслуживание. ООО «ФИЗЛАБПРИБОР» организует обучение покупателей на предприятиях производителей оборудования. Компания представляет в России YMC, VICI (Valco), Bio-Lab, Ludger, TCI, Tosoh, Zellwerk, ChemRe SYStem. Inc.

Компания YMC (Япония/Германия) является одним из ведущих поставщиков аналитических, препаративных и пилотных колонок для производителей фармацевтической продукции и биотехнологии. Сорбенты YMC отличаются высокой механической прочностью силикагелевой основы, самым низким из всех имеющихся на сегодняшний день стационарных фаз содержанием металлов, расширенным интервалом pH и температура-турной стабильностью. Уникальные по сроку службы и воспроизводимости результатов, сорбенты YMC производятся большими партиями по нескольку сотен килограмм с высокой стабильностью свойств от пар-тии к партии, и могут использоваться для решения фактически любых задач жидкостной хроматографии: от лабораторного до промышленного масштаба.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ПАРТНЕРЫ

Sensor 100

Адрес: Cumberland House, 35 Park Row, Nottingham NG1 6EE, United Kingdom

Тел.: + 44 (0) 115 988 6005

E-mail: info@captum.com

Сайт: www.captum.com

Sensor100 is an international network of organisations and people active in the development and commercialisation of bio-sensors and chemo-sensors. Formed in 2011, Sensor100 now has 2000 members in over 70 countries worldwide. Members receive a free monthly eNewsletter which contains articles, coming events, company and technology news, and book reviews. Sensor100 organises conferences which bring together leading academic researchers and industry experts to facilitate the commercialisation of new sensor technology – the Sensors in Medicine and Sensors in the Environment conference series.

Журнал «Аналитика»

www.j-analytics.ru

Журнал «Аналитика» – межотраслевой научно-технический журнал о создании, изучении и применении новых веществ и материалов – от фундаментальных исследований до внедрения передовых промышленных технологий. Журнал посвящен инновационным междисциплинарным решениям и технологиям в химии и нефтехимии, материаловедении, металлургии, нанотехнологиях, фармакологии, биологии и медицине, биоинженерных технологиях. Основная цель журнала – формирование единого информационного пространства для взаимодействия науки, бизнеса и государства в целях создания и развития высокотехнологичных импортонезависимых отечественных производств и решении вопросов инновационного развития экономики России.

Портал «Аналитическая химия в России»

www.rusanalytchem.org

Портал «Аналитическая химия в России» является сайтом Научного совета РАН по аналитической химии (НСАХ РАН). Он был создан в 2002 г. членами совета и работает на базе Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН.

Его целью является сбор и консолидация материалов по аналитической химии. На портале публикуется информация о работе НСАХ РАН, о конференциях по аналитической химии, проходящих в России и за рубежом, о выпусках Журнала аналитической химии, можно ознакомиться с терминологией и персоналиями. Здесь же собраны и интернет-ресурсы по данной тематике.

Ассоциация Российских Фармацевтических Производителей

Адрес: 117105, г.Москва, ул.Нагатинская, д.3а

Тел.: + 7 (495) 231 42 53

E-mail: arfp@arfp.ru

Сайт: www.arfp.ru

Ассоциация Российских Фармацевтических Производителей (АРФП) основана в 2002 году. Её миссия – развитие российской фармпромышленности, способной в необходимом объеме обеспечить население России современными, качественными и доступными лекарственными средствами. АРФП является членом ТПП РФ, РСПП, сотрудничает с профильными федеральными государственными органами власти, представители АРФП входят в Совет по развитию фармацевтической и медицинской промышленности при Правительстве РФ.

Биофармацевтический журнал

submit.biopharmj.ru

Биофармацевтический журнал: фундаментальные исследования в биофармацевтике; биофармпрепараты (БФ); биотехнология генно-инженерных эукариотических и прокариотических продуцентов; технологии и аппаратура; особенности методов контроля качества БФ; специфика разработки технологий производства ГЛФ; особенности доклинической и клинической оценки эффективности и безопасности БФ; экономика и менеджмент; практическое применение, стандартизация и регистрация БФ в РФ.

Врачи РФ

vrachirf.ru

«Врачи РФ» – первая Российская система e-Дитейлинг 2.0, объединяющая более 460 тыс. профессионалов в медицине и фармацевтике с наибольшими одноименными группами в популярных соц. сетях, а также крупнейшей именной базой e-mail контактов. Сообщество «Врачи РФ» входит в состав инновационного фонда «Сколково».

ГосНИИгенетика

www.genetika.ru

Государственный научный центр Российской Федерации ФГУП Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов («ГосНИИгенетика») - ведущий исследовательский центр России в области биотехнологии и один из признанных в мире лидеров в области фундаментальных исследований генетики и геномной инженерии промышленных микроорганизмов.

В соответствии с тенденциями мирового развития и реальными потребностями России, в ГосНИИгенетике создают новые биотехнологические процессы получения биологически активных веществ.

На основе микроорганизмов в Институте разрабатываются биопроцессы получения аминокислот, ферментов, нуклеотидов и нуклеозидов, витаминов, антибиотиков, рекомбинантных белков человека и животных, биокатализаторов для химической промышленности, биологических средств защиты растений и других природоохранных технологий.

ГосНИИгенетика – уникальный научный центр, практически не имеющий аналогов в мировой практике, соединяющий в своей деятельности глубокие фундаментальные исследования (в области генетики про- и эукариотических организмов, биоинженерии, иммунологии, биокатализа, биоинформатики) с созданием на этой основе индустриальных биотехнологий. Это органичное сочетание фундаментальных исследований и прикладных разработок - принцип деятельности Института, залог его творческих успехов и конкурентоспособности на мировом рынке.

ДЖЕНЕРАЛЭКСПО.РУ / GENERALEXPO.RU

Адрес: 109544, Москва Нижний Международный пер., д. 10, стр. 1

Тел: +7 (909) 993 18 59, +7 (495) 641 22 35, 36

Email: info@generalexpo.ru

Сайт: www.generalexpo.ru

«GeneralExpo.ru – выставочный портал для профессионалов, где представлена информация о выставках и околотоварных мероприятиях, компаниях, работающих в выставочном бизнесе, выставочных площадках, новостях выставочного бизнеса, выставочных услугах, тендерах, вакансиях и многое другое.

Кроме того, на портале можно заказать дизайн и застройку выставочного стенда, сувенирную продукцию, рекламные акции, а также иные услуги, необходимые для участия в выставке или для организации мероприятия.

На портале предусмотрена возможность самостоятельного размещения информации о выставках и выставочных компаниях.»

Клуб практикующих врачей iVrach.com

www.ivrach.com

Клуб практикующих врачей iVrach.com — это лидирующая профессиональная сеть для русскоязычных специалистов практической медицины. Сообщество iVrach объединяет десятки тысяч грамотных и опытных профессионалов, элиту врачебного сообщества, чье мнение ценится коллегами, и чей совет востребован у более молодых докторов.

Сообщество iVrach является единственной русскоязычной сетью врачей, признанной на международном уровне. С августа 2012 года iVrach.com входит в международный альянс Networks in health.

Лабораторка.ру

Тел.: + 7 (930) 800 49 49

E-mail: info@laboratorka.ru

Сайт: www.laboratorka.ru

Новый интернет-каталог «Лабораторка» рассчитан на поставщиков и производителей лабораторного и аналитического оборудования – как участников каталога и на потребителей лабораторного и аналитического оборудования – как пользователей данного каталога. Кроме того, регистрироваться как участники каталога, могут выставочные компании, проводящие профильные выставки; специализированные лаборатории по проведению лабораторных анализов; организации, проводящие обучение, курсы повышения квалификации, семинары, встречи по данной тематике; представители и сервисные центры заводов-изготовителей лабораторного оборудования. Мы приглашаем фирм-производителей и фирм-поставщиков лабораторного и аналитического оборудования регистрироваться в нашем каталоге. В нем Вы сможете обновлять новостную ленту своей фирмы, добавлять производимые и продаваемые Вашей организацией оборудование и услуги.

Издательство «Медиа Сфера»

Адрес: 127238, Москва, Дмитровское ш., д. 46, к. 2

Тел.: +7 (495) 482 4329

Факс: +7 (495) 482 4312

E-mail: info@mediasphera.ru

Сайт: www.mediasphera.ru

Издательство «Медиа Сфера» — одно из крупнейших российских медицинских издательств. Основано в 1993 году группой видных российских ученых-медиков. Издательство выпускает 25 рецензируемых научно-практических медицинских журналов, которые включены в перечень ВАК, в том числе журнал: «Судебно-медицинская экспертиза». Журналы представлены в международных библиографических базах данных MEDLINE, SCOPUS (EMBASE), GOOGLE SCHOLAR, ПИНЦ.

Научно-практический журнал «Медицинская генетика»

Адрес: 115478, Москва, ул. Москворечье, д.1

Тел.: (499) 612-80-25; 612-81-07

Ежемесячный рецензируемый научно-практический журнал «Медицинская генетика» – официальный печатный орган Российского общества медицинских генетиков, издается с 2002 г.

Журнал публикует статьи, представляющие новые научные результаты или обзоры по медицинской генетике и генетике человека, а также в связанных с ними других разделах науки. Основные направления публикуемых работ: организация генома человека в норме и при патологии, эпигенетика, молекулярная природа моногенных заболеваний, цитогенетика и хромосомные болезни, наследственные болезни обмена веществ, геномные и постгеномные технологии диагностики и лечения наследственной патологии, генетика широко распространенных заболеваний, популяционная генетика человека и эпидемиология наследственных болезней, клиническая генетика и медико-генетическое консультирование, пренатальная и доимплантационная диагностика, этические проблемы медицинской генетики, организация медико-генетической службы страны и другие актуальные проблемы современной медицинской генетики.

Медицинский Алфавит

Адрес: 129344, г. Москва, ул. Верхоянская, д. 18, корп. 2

Тел.: + 7 (495) 616 48 00

E-mail: medalfavit@mail.ru

Сайт: www.medalfavit.ru

Издательство медицинской литературы ООО «Альфмед» основано в 2002 году. Основное направление деятельности – содействие развитию медицинской науки и практики. В процессе развития, издательство приобрело известность на территории РФ и зарубежом. Журналы, выпускаемые издательством, выходят под редакцией известных специалистов в области медицины.

Медсовет

Тел.: + 7 (812) 380 71 88

E-mail: kontakt@medsovet.info

Сайт: www.medsovet.info

Medsovet.info – федеральный медицинский информационный интернет-портал, занимает 9-ое место по всей России в категории Медицина (по данным LiveInternet). Ежемесячно на портал приходят более 2-х миллионов человек со всей России для поиска информации по разделам:

- Врачей
- Пациентов
- Медицинских учреждений
- Фармацевтических компаний

Medsovet.info предоставляет:

- Полную базу по лекарственным препаратам с возможностью поиска по МНН
- Информацию о медицинских учреждениях России с рейтингом
- Форум для врачей и пациентов
- Медицинский интернет-магазин Medsovet Market
- Покупка лекарств через интернет-аптеки
- On-line запись на приём к врачу в Москве

И многое другое.

МЕДФАРМКОННЕКТ

Адрес: Украина, Киев, 03150, ул. Большая Васильковская 72

Тел./факс: + 38 044 568 59 19/21, + 38 044 537 41 61

E-mail: medpharmconnect.com

Интернет-портал МЕДФАРМКОННЕКТ предлагает ежедневный обзор последних международных новостей фармацевтической и медицинской отраслей. Портал содержит подборку актуальных статей и интервью на отраслевые темы, а также результаты маркетинговых исследований на мед и фарм рынках.

Интернет-портал «Научная Россия»

Адрес: 119991, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, МГУ, д. 1, стр. 46, офис 138

Тел./Факс: +7 (495) 939-42-66, +7 (495) 939-45-63

Сайт: scientificrussia.ru

«Научная Россия / Scientific Russia» – международный интерактивный телекоммуникационный Интернет-портал /www.scientificrussia.ru/, посвященный фундаментальной науке, технологиям, инновациям, культуре и образованию.

Портал представляет деятельность научного сообщества России: самые последние новости, исследования по всем направлениям, выдающиеся открытия, новые имена, публикации, дискуссии, всевозможные мероприятия.

Национальное Интернет Общество специалистов по внутренним болезням

Адрес: 109029, г. Москва, ул. Нижегородская, д. 32, стр.4, оф. 255

Тел: +7 (495) 730-20-26

Сайт: internist.ru

ИНТЕРНИСТ – всероссийская общественная система дистанционного профессионального образования врачей и студентов, а также других специалистов здравоохранения.

Портал WWW.INTERNIST.RU создан при поддержке Национального Интернет Общества специалистов по внутренним болезням. Объединяет программы для врачей «Интернет Сессия», и «Интернет Конгресс», а также служит площадкой для проведения он-лайн трансляций, обеспечивая участникам присутствие на мероприятии в режиме реального времени. Каждый врач, где бы он ни находился, имеет возможность бесплатного оперативного доступа к научной информации.

Журнал «Поликлиника»

Адрес: 111524, Россия, г. Москва, ул. Электродная, 10

Тел.: (495) 672-70-29 (92)

E-mail: medpres@mail.ru

Сайт: www.poliklin.ru

Профессиональный медицинский журнал «ПОЛИКЛИНИКА» издается с 1999 года. Рассчитан на руководителей и врачей всех специальностей ЛПУ. В нашем журнале вы найдете: информацию о законодательных, нормативных документах в области здравоохранения, деятельности Минздрава РФ; новости науки и практической медицины; консультации специалистов для работников ЛПУ; статьи о новых лекарственных препаратах, методах их применения и медицинской технике.

С 2013 года журнал «Поликлиника» включен в систему Российского индекса научного цитирования (РИНЦ), присвоен Международный стандартный серийный номер ISSN 2311-2441, являющийся уникальным идентификатором журнала.

Журнал выходит в формате А-4. Тираж – 11700 тыс. экз.

Форма распространения:

- подписка через каталог агентства «Роспечать»;
- подписка через редакцию;
- адресная рассылка по ЛПУ
- распространение на выставках.

Разработка и регистрация лекарственных средств

Адрес: 115516, Москва, Россия, ул. Промышленная 11/3, офис 419

Тел.: + 7 (495) 720 42 20

E-mail: info@pharmjournal.ru

Сайт: www.pharmjournal.ru

Научно-производственный рецензируемый журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств» – первое бесплатное прикладное издание для специалистов, задействованных в сфере обращения лекарственных средств. Журнал предназначен для фармацевтических предприятий-производителей и их сотрудников из отделов разработки, контроля качества, регистрации, производства и развития; сотрудников лабораторных центров, контрактно-исследовательских организаций, научных и образовательных учреждений. В настоящее время аудитория журнала насчитывает около 15 000 подписчиков. Издание распространяется на всех ключевых мероприятиях фармацевтической и химико-технологической направленности. Нас читают и обсуждают во всех городах России. Среди наших подписчиков жители России, стран СНГ и Европы.

ИД Русский врач

Адрес: 119048, ул. Усачева, д. 11, корп.17, 1-й этаж

Тел.: +7 (495) 789-92-72

Факс: +7 (499) 246-81-90

E-mail: info@rusvrach.ru

Сайт: www.rusvrach.ru

Издательский Дом «Русский Врач» создан в 1995 г. и продолжает традиции издания в России научно-практических журналов для специалистов:

«Врач» – ведущий медицинский журнал, предназначенный для врачей всех специальностей, ученых и преподавателей медицинских вузов.

В журнале «Молекулярная медицина» публикуются результаты научных исследований в таких областях, как исследование молекулярных и генетических основ этиологии и патогенеза социально значимых заболеваний с целью разработки новых методов диагностики и способов эффективной терапии заболеваний человека, в том числе на основе технологий ядерной медицины.

На страницах «Фармации» освещаются все вопросы, связанные с теорией и практикой современной фармацевтики, технологией изготовления лекарственных средств, получения и исследования лекарственных препаратов.

Научно-практический журнал «Спортивная медицина: наука и практика» – первое в России специализированное научно-практическое издание в области спортивной медицины и антидопингового обеспечения спорта.

Научно-популярный журнал «Медицинская Сестра» информирует о новых направлениях в сестринской науке, образовании, международном сестринском движении, актуальных проблемах здравоохранения и медицины, эффективных подходах к оказанию медицинской помощи и уходу за больными.

Издания входят в Научную электронную библиотеку и занимают лидирующие позиции в индексе научного цитирования.

Химико-фармацевтический журнал

chem.folium.ru

Химико-фармацевтический журнал: молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств (ЛС) и изучение механизма их действия; методы синтеза, исследование строения и технология производства ЛС; методы анализа и контроль производства ЛС.

Экспериментальная и клиническая фармакология

www.ekf.folium.ru

Экспериментальная и клиническая фармакология: фундаментальные исследования по фармакологии, клинические испытания фармпрепаратов синтетического и растительного происхождения, подробная информация о новых отечественных и зарубежных лекарственных средствах.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

- | | | | | | |
|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|------------------|-----------------------------|
| Alonso D. | 14 | Беляева Е.А. | 81 | Владимиров Г.Н. | 12 |
| Becker F. | 3 | Беляева Е.И. | 122 | Власова А.А. | 29 |
| Benmazhar N. | 3 | Беляева И.А. | 44 | Власова И.В. | 117 |
| Binkley J. | 14 | Белякова Н.А. | 44 | Волков Д.В. | 38 |
| Černocká H. | 111 | Белянин М.Л. | 95 | Вольфсон И.Ф. | 22 |
| Dorčák V. | 111 | Бендрышева С.Н. | 115 | Вострикова А.М. | 65, 69 |
| Gerhards P. | 14 | Березин Д.Б. | 85, 90 | Вошкин А.А. | 76 |
| Kovalczuk T. | 14 | Березин М.Б. | 85, 90 | Врублевская В.В. | 24 |
| Lekouch N. | 3 | Березкина Т.Э. | 35 | | |
| Mourzina Yu. | 28 | Берковский А.Л. | 6 | Газизуллина Е.Р. | 70 |
| Offenhausser A. | 28 | Бессонов О.И. | 106 | Гайнуллин М.Р. | 121 |
| Ostatná V. | 111 | Бессонова Е.А. | 32, 82 | Галль Л.Н. | 35 |
| Paleček E. | 111 | Битюкова В.В. | 38 | Галль Н.Р. | 35 |
| Rakov S.V. | 15 | Бобкова Л.А. | 73 | Галлямова В.Ф. | 32 |
| Sedki A. | 3 | Богданов М.В. | 96 | Галушкин С.Г. | 144 |
| Stacey C. | 15 | Боголицын К.Г. | 80, 96 | Галявина А.Н. | 17 |
| Trefulka M. | 111 | Болотоков А.А. | 18 | Гао Х. | 71 |
| Tsatsakis A.M. | 3 | Болтнева Н.П. | 42 | Гармонов С.Ю. | 45 |
| | | Бондаренко С.Д. | 100 | Гедмина А.В. | 107, 108 |
| Айрапетян А.О. | 38 | Борисова Н.С. | 52 | Герасимова Е.Л. | 70 |
| Айсывакова О.П. | 64 | Бормотов Д.С. | 74 | Гераськина Е.В. | 68 |
| Аксенов А.В. | 149 | Бородков А.С. | 102 | Герк С.А. | 118 |
| Алексеев Я.И. | 4 | Брайнина Х.З. | 40 | Гилева О.В. | 56 |
| Алексеев А.Н. | 30 | Бродский Е.С. | 127 | Гилеп А.А. | 8 |
| Алехина Е.М. | 128 | Брусницын Д.В. | 43, 92 | Гладышев П.П. | 24, 86 |
| Аллахвердили Г.Р. | 108 | Бубис Ю.А. | 41 | Глазырина Ю.А. | 52 |
| Алов Н.В. | 105 | Бугайченко А.С. | 116, 137 | Годовалов А.П. | 116, 128 |
| Алопина Е.В. | 82 | Бугрова А.Е. | 33, 74 | Голованова О.А. | 118 |
| Алчинова И.Б. | 64, 143 | Будников Г.К. | 43, 92, 107, 108, | Голосная М.Н. | 48 |
| Амосова А.С. | 80, 96 | Буков В.А. | 98 | Голуб А.Я. | 119 |
| Андреев С.В. | 111, 115 | Булатов А.В. | 19, 135 | Гончаров С.В. | 120, 142 |
| Андреева Н.Н. | 112, 113 | Булгакова Г.А. | 48 | Гончарова А.Я. | 19 |
| Андряинов А.В. | 65 | Булко Т.В. | 60 | Горбачёва А.Р. | 136 |
| Андрюхина Е.Ю. | 15 | Бурмакина Г.В. | 103, 104 | Горшков М.В. | 41 |
| Анисимов А.А. | 50 | Бурмистрова Н.А. | 83, 100 | Горюнова А.Г. | 70 |
| Анисимова Н.Ю. | 125 | Бутвиловская В.И. | 55 | Горячева И.Ю. | 25, 27, 29, 65, 69, 95, 100 |
| Анистратова Е.С. | 138 | Бухаров С.В. | 45 | Горячева О.А. | 71 |
| Антохин А.М. | 149 | Бызова Н.А. | 19, 54, 68 | Гофтман В.В. | 27 |
| Арабов М.Ш. | 62 | Быковский Д.В. | 130 | Гречников А.А. | 71, 102 |
| Арапова З.М. | 62, 63 | | | Грибанов Е.Н. | 123, 133 |
| Аристов И.П. | 113 | Вавилов Н.В. | 116 | Гурьев Е.Л. | 121 |
| Аргаев В.Б. | 14 | Валетова Н.Б. | 68 | Гущин А.П. | 86 |
| Арчаков А.И. | 34, 53, 60 | Варламова Р.М. | 43 | Гущин С.А. | 86 |
| Атауллаханов Р.И. | 73 | Васильев А.А. | 24, 86 | | |
| | | Вах К.С. | 19 | Дедков Ю.М. | 62, 63 |
| Бабкина С.С. | 16, 17, 24, 70, 133 | Веденин А.Н. | 61, 150 | Дедкова В.П. | 71 |
| Бакал А.А. | 65 | Великанова Л.И. | 20, 132 | Дедов А.Г. | 122 |
| Баренбойм Г.М. | 114 | Венгеров Ю.Ю. | 19 | Дежуров С.В. | 24, 86 |
| Баумане Л.Х. | 47 | Венедиктов Е.А. | 90 | Джагацпанян И.Э. | 72 |
| Башилов А. | 6 | Веретенников А.В. | 4 | Дженлода Р.Х. | 26 |
| Беккер Ф. | 6 | Вершинин В.И. | 21 | Дзантиев Б.Б. | 7, 19, 54, 55, 57, 68 |
| Беклемишев М.К. | 81 | Веселова И.А. | 60 | Дзема Д.В. | 33 |
| Белоглазова Н.В. | 95 | Викторова К.И. | 69 | Дмитриев Е.В. | 47 |
| Белоусов П.В. | 55 | Вирюс А.А. | 21, 41 | Дмитриенко В.С. | 26 |
| Белых Д.В. | 85, 90 | Вирюс Э.Д. | 78 | Дмитриенко М.А. | 26, 72 |
| Бельская Л.В. | 17, 66, 67 | Висловух А.А. | 150 | Долгова Н.Н. | 123 |
| Беляев Е.С. | 111 | Витер И.П. | 79 | Долматова Л.В. | 112 |

Доненко Ф.В.	128	Иванова М.А.	124	Крыльский Д.В.	24, 86	Медведева Н.В.	126
Донцов А.Е.	121	Иванова О.М.	124	Кубатиев А.А.	31, 78	Медведева Ю.С.	64, 143
Дробышев А.И.	50	Игнатов Д.В.	125	Кудрявцева А.Д.	127	Медянцева Э.П.	17, 43, 92
Дрозд Д.Д.	27	Изюмова К.В.	76	Кузиков А.В.	34, 60	Мезенцев Ю.В.	121
Дубровский Д.И.	78	Ильина М.А.	108	Кузнецова Ю.Л.	68	Мельников П.В.	31, 43
Дудукалова В.А.	112	Ионов О.В.	33	Кузьмин А.Г.	35	Мельникова М.В.	73
Дычко К.А.	146	Ипатова О.М.	126	Кулешов Д.О.	35	Мельникова Т.М.	73
		Исупова Н.Ю.	9	Кулешова Н.В.	68	Мизайкофф Б.	81
Евдокимова М.И.	26, 72	Ихалайнен А.А.	149	Куприянова Т.А.	18, 36, 37, 41	Мийоши Н.	47
Егоров В.К.	88			Курочкин В.Е.	4, 26, 99	Милая Н.О.	44
Егоров Е.В.	88	Казакова Т.А.	63	Куряева Т.Т.	146	Милевич Т.И.	142
Егорова Е.А.	73, 84, 150	Кайшева Н.Ш.	79	Кускова И.С.	134	Мильман Б.Л.	11
Ежова Н.М.	86	Калинин В.Н.	47	Кустов А.В.	38, 85, 90	Митрофанов Д.А.	149
Еменева А.Ю.	89	Каляпина О.Е.	126	Кучменко Т.А.	38, 59	Михеенкова А.Э.	123
Еремин С.А.	28, 65	Каменев А.И.	79	Кучукова М.Ю.	78	Михельсон К.Н.	45
Ермаков А.А.	126	Капизова Д.А.	33	Кучумова И.Д.	148	Мишин А.А.	150
Ермаков С.С.	28	Каплицин П.А.	80, 96			Мокшина Н.Я.	130
Ермолаева Т.Н.	81, 106	Капустин Д.В.	109	Ларичев В.Ф.	109	Моногарова О.В.	58, 106
		Карабиненко А.А.	10	Лебедев А.М.	79	Моренков О.С.	24, 86
Жаковская З.А.	35	Карасева Н.А.	81	Лебедев А.Т.	39	Моржухина С.В.	50
Жаркова В.В.	73	Карганов М.Ю.	64, 143	Лебедева Е.Л.	40	Моросанова Е.И.	11
Жаркова И.С.	29	Каримов Д.Р.	85, 90	Лебедева Е.Н.	128	Москвин Л.Н.	136
Жванский Е.С.	74	Карнажицкая Т.Д.	146	Лебедева М.Г.	99	Мосягин П.В.	126
Желобицкая Е.А.	102	Карпов В.М.	81	Лебединская Е.А.	125, 128	Мугинова С.В.	60
Желтова Е.Н.	85	Карпов С.И.	138	Лебединская О.В.	128	Муратова И.С.	45
Жердев А.В.	19, 54, 55, 57, 68	Карцова Л.А.	32, 33, 82, 132	Левицкий Л.И.	41	Мурашова Т.Н.	93
		Катаева Н.Г.	134	Лексина Ю.А.	108		
Жирков А.А.	29, 60	Каширцева В.Н.	73	Лещинская А.П.	86	Надеждинский А.И.	10
Житенко Л.П.	140	Кирсанов Д.О.	132	Лисецкая Л.Г.	87	Нартов А.С.	94
Жуков И.Ю.	121	Киселевский М.В.	125	Лобанова М.С.	123	Наумова А.О.	91
Журавлева Н.И.	38	Клименко Л.С.	94	Лобанова Ю.Н.	47	Негруцкий Б.С.	150
Журба О.М.	30	Клишева Г.И.	117	Лобас А.А.	41	Ненашева М.В.	91
Журкович И.К.	11	Князьков Н.Н.	26, 99	Логинова О.А.	130	Нестерова В.В.	126
		Коваленко М.И.	150	Лузянин Б.П.	21, 78	Неудачина Л.К.	40, 119
Зайцев А.В.	47	Козин М.С.	34	Лукуянченко Е.М.	88	Нехорошев С.В.	131
Зайцев В.В.	75	Козицина А.Н.	52	Лямина О.И.	36, 37, 41	Нехорошева Д.С.	95
Зайцев Н.К.	31, 43, 47, 91	Колесанова Е.Ф.	73, 84, 150	Лясникова М.Б.	44	Никитченко Н.В.	89
Зайцева Н.Б.	75	Колесниченко И.Н.	123			Николаев Е.Н.	12, 33, 74
Занина А.А.	51	Колобова Е.А.	82	Мазницына Е.А.	89	Николаев К.Г.	28
Занишевская А.А.	29	Коломина Е.О.	72	Майстренко В.Н.	76, 77, 78	Николаева А.Н.	65
Заславский В.Я.	10	Колонтаева О.А.	83	Макаров А.А.	8	Никоноров А.А.	64, 143
Захарчук Н.Ф.	52	Кондаков С.Э.	101	Макаров В.В.	85, 90	Новикова А.С.	95
Заходяева Ю.А.	76	Кононихин А.С.	12, 33, 74	Макарова Е.Д.	99	Новикова М.А.	135
Зверева Е.А.	55	Копылов А.Н.	125	Макеева Д.А.	91	Новоселов А.С.	68
Згода В.Г.	121	Копылов А.Т.	84	Маклакова И.А.	135	Новосильная А.В.	150
Зильберг Р.А.	76, 77, 78	Королева М.В.	91	Максимкин А.В.	125	Нугбиенью Л.	45
Зрелова Л.В.	122	Корсакова Н.В.	62, 63	Мальшева Н.Н.	52		
Зубарева Г.М.	44	Косенок В.К.	17	Мальшин С.Н.	99	Объедкова Е.В.	30, 132
Зуев Б.К.	29, 50	Космынина Ю.С.	19	Маркин А.В.	110	Овчинников Д.В.	80, 96
Зякун А.М.	8	Кострюкова Л.В.	73, 126	Маркина М.Г.	40	Оленин А.Ю.	91
		Костюкевич Ю.И.	12	Мартыненко В.М.	51	Ольшевская В.А.	47
Ибрагимова С.И.	24	Кочетков К.А.	104	Мартынов Л.Ю.	91	Орешкин Д.В.	133
Иванов А.В.	21, 78, 93	Красиков С.И.	128	Марченко Д.Ю.	122	Орешкина И.В.	19
Иванов А.С.	8, 121	Красюкова В.С.	113	Масамрех Р.А.	34	Орешко Л.С.	35
Иванов М.В.	41	Кривохижина Н.С.	20	Матерн А.И.	70	Осипов А.П.	101, 140, 141
Иванова А.В.	70	Кригман Л.В.	62, 63	Махаева Г.Ф.	42	Осипов Г.А.	12
Иванова А.М.	31	Кротевич М.С.	150	Махмутова Г.Ф.	108	Осипова А.В.	96
Иванова Е.А.	122	Кручин С.О.	85, 90	Медведев А.Е.	8	Осколок К.В.	58, 106
Иванова Л.И.	79	Крылов В.А.	126	Медведев Е.И.	129	Оскотская Э.Р.	96, 123, 133

Островская В.М.	97	Русанова Т.Ю.	110	Стрельникова Е.Г.	20		
Отмахов В.И.	134	Русских Я.В.	35	Сульдин А.В.	47	Чаговец В.В.	33
		Рындин А.Ю.	33	Супрун Е.В.	53	Чаплинко А.А.	58, 106
Павлюк У.В.	46			Сурьякова В.В.	103, 104	Чаплинко С.А.	58, 106
Панкратова Г.П.	111	Савинов С.С.	50	Суханов П.Т.	144	Челнокова И.А.	107, 108
Пантелеев А.А.	65	Садыхов Э.Г.	54, 68	Сухих Г.Т.	33	Чеминава Н.Р.	148
Панфилов В.И.	113	Сазыкин А.Ю.	55	Сушко С.Н.	120, 142	Чепелев С.В.	96
Паршина А.Э.	80	Сакина Н.Л.	121			Черницкий А.Е.	59
Пахомова О.А.	130	Салахов И.А.	45	Таги-заде Х.Б.	94	Чернова Е.Н.	35
Перегудов А.С.	104	Самгина Т.Ю.	39	Таланова А.В.	73, 84	Чеснокова Е.В.	106
Перова Н.М.	135	Самкова И.А.	52	Таранкова О.А.	68	Чибисова Т.В.	144
Петракова А.В.	57	Самсонова Ж.В.	101, 140, 141	Таранова Н.А.	54, 55	Чиварзин М.Е.	49
Петров В.Г.	98, 99	Санджиева Д.А.	73, 122	Таранченко В.Ф.	149	Чиганова М.А.	114
Петров Д.Г.	26, 99	Санжаков М.А.	73	Тарасова И.А.	41		
Петрова А.В.	135	Санина Н.А.	51	Тасканова Е.В.	133	Шабатина Т.И.	138
Петрова А.С.	47	Сапрыкин А.И.	52	Татарский В.В.мл.	47	Шабунин С.В.	59
Петрова Е.В.	134	Сараева А.Е.	50	Терещенко Г.С.	43	Шайдарова Л.Г.	107, 108
Петухов В.И.	47	Саратовских Е.А.	51	Тимербаев А.Р.	58	Шайдуллина Г.М.	14
Пиденко П.С.	100	Сарф Е.А.	17, 66, 67	Тимохина Н.И.	142	Шакин Д.Ю.	75
Пиденко С.А.	100	Саунина И.В.	123	Тиньков А.А.	64, 143	Шалак В.Ф.	150
Писарев О.А.	86	Саушкин Н.Ю.	101	Титов А.В.	17	Шанин И.А.	55
Пичужкина Ю.А.	126	Сафонова Е.А.	82	Титов Ю.А.	35	Шаповалова Е.Н.	48, 105, 138
Платонов В.И.	123	Сафронова В.А.	140	Тихонов А.А.	55	Шаранов П.Ю.	105
Платонов И.А.	89, 123	Свалова Т.С.	52, 70	Ткаченко Е.И.	35	Шарапова Н.В.	128
Покрышкин С.А.	96	Свешников П.Г.	68	Томашевский И.А.	117	Шаталов Г.В.	130
Полянская Е.О.	138	Северинова Е.Ю.	140	Томилова Е.В.	146	Швоева О.П.	71
Полянская Н.К.	97	Селеменев В.Ф.	138	Тошов Х.С.	145	Шевлякова О.А.	149
Пономарева Н.И.	113	Семенычева Л.Л.	68	Трубачёв А.В.	99	Шелепчиков А.А.	127
Понуровский Я.Я.	10	Сенатов Ф.С.	125	Трунова В.А.	56	Шестопалова Т.Н.	115
Попов И.А.	12, 33	Сенчакова И.Н.	96	Тыщенко А.А.	145	Шеховцова Т.Н.	60
Попова А.А.	104	Серебренникова К.В.	141	Тюркин И.А.	38	Шилина Н.М.	147
Попова О.В.	104	Сиголаева Л.В.	60			Шилов А.А.	75
Потапов А.А.	74	Сидельников А.В.	76, 77, 78	Уланова Т.С.	56, 146	Шкинев В.М.	26, 76, 109
Почивалов А.С.	19	Симакина Я.И.	62, 63, 71, 102	Улахович Н.А.	17	Шорманов В.К.	144
Придатченко М.Л.	41	Ситдикова Р.Р.	92	Улумбекова Г.Э.	13	Шпигун Л.К.	15
Прозоровский В.Н.	125, 126	Скакалова Н.В.	142	Урусов А.Е.	57	Шпигун О.А.	48, 105, 138, 149
Прокофьев Д.В.	137	Скальный А.А.	47, 64, 143	Урюпин А.Б.	104		
Простякова А.И.	109	Скальный А.В.	49, 64	Усанов С.А.	8	Штиль А.А.	47
Протасова И.Д.	33	Скиба Т.В.	52			Штыков С.Н.	102
Прохорова А.Ф.	48	Скибина Ю.В.	100	Федорова И.А.	105	Шуба А.А.	38, 59
Психа Б.Л.	51	Скибина Ю.С.	109	Федулов В.С.	31	Шульгина Е.В.	96
Пучнина С.В.	47	Скорода Л.В.	150	Филиппов М.Н.	18, 36, 37, 41	Шумилова М.А.	99
		Скрипкина Г.И.	143	Фотеева Л.С.	58	Шумянцева В.В.	34, 53, 60
		Смирнов В.Ф.	68	Франкевич В.Е.	33	Шурхай В.А.	74
		Смирнов П.Р.	38				
Радько С.П.	53	Смирнова Т.Д.	102	Хаблетдинова А.И.	76, 77	Щукин В.М.	140
Райсян А.С.	100	Солдатова Г.С.	52	Хайтбаев А.Х.	145	Эмануэль А.В.	26
Ревельский А.И.	49	Соловьёва Е.М.	41	Хамидулина Х.Х.	13		
Ревельский И.А.	49, 65	Солоненко А.П.	143	Харичкин А.С.	113	Юрина Т.М.	36
Родин И.А.	149	Солопова О.Н.	55	Харыбин О.Н.	12	Юрова Н.С.	110
Родинков О.В.	136, 137	Спектор Д.В.	81	Харьковский А.В.	72		
Рожманова Н.Б.	138	Спиваков Б.Я.	26	Хасанов В.В.	146	Ягов В.В.	29, 91
Розиев Р.А.	19	Спиридонов М.В.	10	Хмельёва С.А.	53	Ягова И.В.	91
Романенко Ю.В.	85, 90	Стародубцева Н.Л.	33	Хомутова Е.Г.	147	Якимова Н.М.	148
Романовская Г.И.	50	Степанов А.А.	104	Хоруженко А.И.	150	Яркаева Ю.А.	76, 77
Рубайло А.И.	103, 104	Стожко Н.Ю.	40	Цверара А.У.	147	Ярматов С.С.	145
Рубина А.Ю.	55	Стомахин А.А.	55	Цвилова А.С.	113	Яшин А.Я.	61, 150
Рудаков О.Б.	138, 139	Стомпель С.И.	98	Цыбульская М.В.	55	Яшин Я.И.	61, 150
Рудакова Е.В.	42	Стрельников А.И.	38				
Рудакова Л.В.	112, 138, 139						
Руденко В.Н.	88						

СОДЕРЖАНИЕ

Пленарные доклады	3
Стендовые доклады	62
Публикации	111
Партнеры и участники выставки	151
Информационные партнеры	155
Авторский указатель	161



АНАЛИТ

WWW.ANALIT-SPB.RU

ГЕНЕРАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

 **SHIMADZU**
Excellence in Science

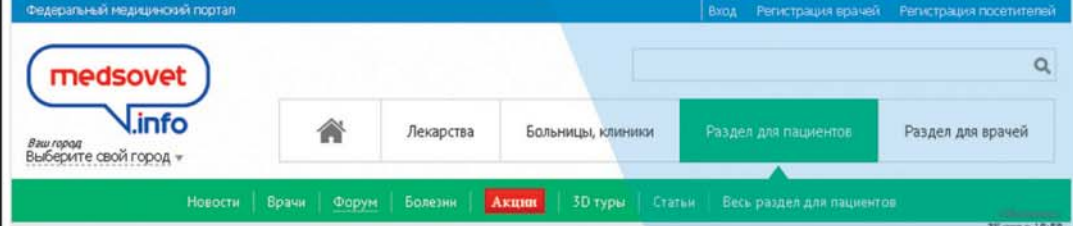
АНАЛИТИЧЕСКОЕ ОБОРУДОВАНИЕ **SHIMADZU** ДЛЯ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

SHIMADZU предлагает весь спектр аналитического оборудования для научных и практических исследований в биологии, медицине, фармакологии и смежных областях.



199106, Санкт-Петербург
26-я линия В.О., д. 15, корп. 2, лит. А, офис 9.06
Тел./факс: 8 (812) 325-5502, 325-4008
info@analit-spb.ru

Офис в Москве: (495) 640-7631
Офис в Уфе: (347) 233-8831
Офис в Н. Новгороде: (831) 228-4685
Офис в Казани: (843) 519-4617



Федеральный медицинский информационный интернет-портал

Здесь вы можете:

- **Выбрать себе клинику**
- **«Прогуляться» по ней с помощью виртуального 3D-тура**
- **Задать вопрос врачу онлайн**
- **Прочитать статьи о здоровье**
- **Обсудить на форуме волнующие вас вопросы**
- **Купить лекарства**



www.medsovet.info
тел.: (812) 380-71-88
e-mail: kontakt@medsovet.info

Научно-производственный журнал

ISSN2305-2066



Более
16000
ПОДПИСЧИКОВ

Тираж
40000

Издание публикует прикладные, научно-методические и обзорные статьи ведущих ученых и экспертов в области аналитических методов исследований

+7 (495) 720 42 20

info@pharmjournal.ru

www.pharmjournal.ru



ВОПРОСЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНСКОЙ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

ISSN 1560-9596

Учредитель — Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР).

Журнал рекомендован Высшей аттестационной комиссией (ВАК) для публикаций основных результатов диссертационных исследований.

Научно-практический журнал освещает новое в науках о жизни, включая метаболомику, протеомику, разработки нанобиомедтехнологий живых систем;

- уделяет внимание разработкам современных биотест-систем на разных уровнях, используемых для контроля качества, оценки безопасности продуктов, мониторинга окружающей среды;
- знакомит с достижениями по совершенствованию биообъектов, используемых в качестве средств производства для создания перспективных лекарственных препаратов.

Подписка с любого месяца по каталогам:

«Роспечать» – индекс **47284**.

«Пресса России» – индекс **12181**.

Подписка через Издательство – со скидкой.

Подробная информация о подписке на сайте www.rusvrach.ru



Издательский дом «Русский врач»

www.rusvrach.ru

(499) 246-81-90