

Экспресс-анализ проб мочи методом масс-спектрометрии с ионизацией, индуцированной лазерной плазмой при атмосферном давлении

***С.И. Тимакова¹, Я.И. Симакина^{1, 2}, К.Ю. Кравец¹, А.А. Гречников¹**

¹ФГБУН «Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского
Российской академии наук»,

Российская Федерация, 119991, Москва, ул. Косыгина, 19

²ГБУЗ г. Москвы «Московский научно-практический центр наркологии

Департамента здравоохранения города Москвы»,

Российская Федерация, 109390, Москва, ул. Люблинская, 37/1

*Адрес для переписки: Тимакова Светлана Ивановна, E-mail: timackovasvet@yandex.ru

Поступила в редакцию 03 июля 2023 г., после доработки – 02 сентября 2023 г.

Метод ионизации, индуцированной лазерной плазмой при атмосферном давлении (метод APLPI), исследован для решения проблемы быстрого определения физиологически активных веществ в моче. Задачи исследования включали: изучение методом APLPI образцов мочи, полученных от проходящих лечение пациентов; определение аналитических характеристик метода; сравнительные исследования методов APLPI и ВЭЖХ-МС/МС по отношениям сигнал/шум и оценка возможности скрининга образцов мочи без пробоподготовки методом APLPI.

Приборная реализация метода основана на использовании масс-анализатора высокого разрешения "Orbitrap", в котором штатный ионный источник заменен на разработанный нами источник APLPI, в сочетании с термодесорбционным вводом пробы. Исследовали образцы мочи, в которых предварительно методом ВЭЖХ-МС/МС обнаружены физиологически активные вещества, в частности, барбитураты, карбамазепин, тиаприд, сульпирид, псилоцин, амфетамин, трамадол, димедрол и другие. Установлено, что метод APLPI обеспечивает возможность детектирования всех этих аналитов. Длительность анализа одной пробы не превышает одну минуту.

С использованием способа «разбавление в матрице» построили градуировочные зависимости для ряда соединений и определили аналитические характеристики метода. Градуировочные зависимости линейны в диапазоне трех порядков величины. Среднее значение относительного стандартного отклонения ионного сигнала в этом диапазоне составило 24 %. Пределы обнаружения, найденные на примере определения димедрола, лидокаина и фенobarбитала в экстрактах мочи составили 0.7 нг/мл, 0.5 нг/мл и 10 нг/мл, соответственно. Сравнительные исследования показали, что методы APLPI и ВЭЖХ-МС/МС характеризуются близкими значениями отношений сигнал/шум. Преимущества метода APLPI заключаются в экспрессности, ретроспективности анализа, в малом объеме проб. Ограничением метода является необходимость десорбции определяемых соединений в газовую фазу. Продемонстрирована возможность применения метода APLPI для скрининга физиологически активных веществ в моче без предварительной пробоподготовки.

Ключевые слова: масс-спектрометрия с ионизацией при атмосферном давлении, лазерно-индуцированная плазма, скрининг лекарственных соединений в моче.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2023, vol. 27, no. 3, pp. 141-149

DOI:10.15826/analitika.2023.27.3.002

Rapid analysis of urine using mass spectrometry with atmospheric pressure laser plasma ionization

***S.I. Timakova¹, Ya.I. Simakina^{1, 2}, K.Yu. Kravets¹, A.A. Grechnikov¹**

¹Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry named after V. I. Vernadsky
of the Russian Academy of Sciences,

19 Kosygina Str., Moscow, 119334, Russian Federation

²Moscow Research and Practical Centre for Narcology of the Department of Public Health,
37/1 Lublinskaya Str., Moscow, 109390, Russian Federation

*Corresponding author: Svetlana I. Timakova, E-mail: timackovasvet@yandex.ru

Submitted 03 July 2023, received in revised form 02 September 2023

Atmospheric pressure laser plasma ionization (APLPI) technique was studied in application to the problem of rapid determination of physiologically active substances in urine. The objectives of this study included investigation by APLPI method of urine samples obtained from treated patients; determination of analytical characteristics of the method; comparative studies of APLPI and HPLC-MS/MS methods in terms of signal-to-noise ratio and evaluation of the possibility of screening urine samples without sample preparation by APLPI method.

The instrumental implementation of the method is based on the use of a high-resolution mass analyzer "Orbitrap", in which the standard ion source was replaced by the in-lab developed APLPI source, combined with thermal desorption sample introduction. Urine samples, in which physiologically active substances, in particular barbiturates, carbamazepine, thiapride, sulphiride, psilocin, amphetamine, tramadol, diphenhydramine, and others were preliminarily detected by HPLC-MS/MS, were investigated. The APLPI method was found to be capable of detecting all these analytes. The duration of the analysis of one sample does not exceed one minute.

Using the "dilution in matrix" method calibration curves for a number of compounds were constructed and the analytical characteristics of the method determined. The calibration curves are linear in the range of three orders of magnitude. The mean value of the relative standard deviation of the ion signal in this range was 24 %. The limits of detection found for the determination of diphenhydramine, lidocaine and phenobarbital in urine extracts were 0.7 ng/ml, 0.5 ng/ml and 10 ng/ml, respectively. Comparative studies showed that APLPI and HPLC-MS/MS methods were characterized by close values of signal-to-noise ratios. The advantages of the APLPI method are in the rapidity, retrospective analysis, and small sample volume. The limitation of the method is the necessity of desorption of the determined compounds into the gas phase. The possibility of using the APLPI method for screening physiologically active substances in urine without sample preparation has been demonstrated.

Keywords: atmospheric pressure ionization mass spectrometry, laser-induced plasma, drug screening in urine.

Современные тенденции развития методов определения физиологически активных веществ в биологических жидкостях обусловлены растущими требованиями к чувствительности, экспрессности анализа, возможности обнаружения все большего числа компонентов в одной пробе. В настоящее время одно из ведущих мест в этой области занимает хромато-масс-спектрометрия, главным образом, газовая хроматография/масс-спектрометрия с электронной ионизацией (ГХ/МС) и высокоэффективная жидкостная хроматография/танDEMная масс-спектрометрия (ВЭЖХ-МС/МС) с тремя квадруполями и электрораспылительной ионизацией [1-3]. Оба метода характеризуются высокими значениями чувствительности и селективности определения физиологически активных веществ. Опубликовано большое количество работ, посвященных различным аспектам применения методов для анализа биологических проб (например, [4-8]), в которых рассмотрены особенности как самих аналитов, так и мешающих влияний, возникающих при их определении.

Недостатком этих методов являются большие временные затраты на анализ одной пробы, который включают длительные процедуры пробоподготовки и хроматографирования. Кроме того, применение ГХ/МС предполагает, как правило, стадию дериватизации, увеличивающую продолжительность

анализа и уменьшающую круг определяемых соединений [9, 10]. В свою очередь, метод ВЭЖХ-МС/МС, основанный на индуцированной соударениями диссоциации ионов-предшественников и детектировании характеристичных фрагментных ионов, наиболее эффективен для решения задачи определения небольшого числа компонентов в пробе (в режиме мониторинга заданных реакций) [11, 12]. Увеличение числа детектируемых соединений приводит к уменьшению длительности регистрации селективных переходов и, как следствие, к снижению чувствительности анализа. Поэтому актуальным является поиск альтернативных высокочувствительных, универсальных и экспрессных методов обнаружения физиологически активных веществ и их метаболитов.

Перспективным представляется метод ионизации органических соединений в воздухе при воздействии лазерно-индуцированной плазмы (метод APLPI – atmospheric pressure laser plasma ionization) [13]. Плазма создается путем облучения лазерными импульсами металлической мишени, расположенной вблизи входного отверстия масс-спектрометра. Генерация плазмы приводит к образованию в воздухе электронов, первичных ионов и возбужденных молекул, которые затем обеспечивают «мягкую» ионизацию широкого круга органических соединений, подаваемых в зону ио-

низации [13-17]. Ионный источник APLPI совместим с различными серийными масс-анализаторами с ионизацией при атмосферном давлении. При использовании масс-анализаторов высокого разрешения в режиме полного сканирования метод APLPI характеризуется высокой производительностью анализа, простотой интерпретации результатов, возможностью обнаружения многих компонентов одновременно в одной пробе и является перспективным методом экспресс-анализа различных, в том числе, биологических образцов.

Цель работы – оценка возможности применения метода APLPI для экспресс-анализа проб мочи на наличие физиологически активных соединений. Задачи исследования включали: изучение методом APLPI образцов мочи и экстрактов мочи, полученных от проходящих лечение пациентов; определение аналитических характеристик метода; сравнительные исследования методов APLPI и ВЭЖХ-МС/МС по отношениям сигнал/шум при анализе одних и тех же проб; оценка возможности скрининга образцов мочи без пробоподготовки методом APLPI.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оборудование. В экспериментах с ионизацией, индуцированной лазерной плазмой, использовали масс-спектрометр «Exactive» (Thermo Scientific, Германия), в котором штатный ионный источник с ионизацией электрораспылением был заменен на разработанный нами источник APLPI, описанный ранее [17]. Конструкция ионного источника APLPI включала вращающуюся мишень из нержавеющей стали диаметром 12 мм, расположенную на расстоянии 0.8 см от входного отверстия атмосферного интерфейса масс-спектрометра; электродвигатель, обеспечивающий вращение мишени; лазер, излучение которого фокусировали на поверхности мишени и устройства ввода пробы. В работе использовали импульсный Nd:YAG лазер (RL-03/355, ООО «ЭЛС-94») с длиной волны 1.06 мкм, длительностью импульса 0.5 нс, энергией в импульсе 400 мкДж и частотой повторения импульсов 100 Гц. Фокусировка лазерного излучения приводит к генерации лазерной плазмы вблизи поверхности мишени, которая индуцирует процессы ионизации органических соединений в воздухе. Для ввода определяемых соединений в зону ионизации использовали термодесорбционный способ. Анализируемые жидкие пробы объемом 2 мкл помещали в кювету. Кювета представляет собой трубку из нержавеющей стали, сквозь которую можно подавать поток газа-носителя. После испарения растворителя кювету позиционировали на расстоянии примерно 1 см от входного отверстия масс-спектрометра по оси транспортного капилляра параллельно поверхности мишени. Для нагрева испарительной кюветы использовали индукционный нагреватель, который позволял нагревать кювету до температуры 270–280 °С примерно за 20 с. Десорбированные в результате нагрева соедине-

ния подавались в зону ионизации в потоке азота с парами воды, расход которого в экспериментах составлял 30 мл/мин. Источником азота служила азотная станция Genius NM32LA (Peak Scientific, Великобритания). Для насыщения парами воды азот пропускали через склянку Дрекслера с бидистиллированной водой. Добавление паров воды в газ-носитель обусловлено тем, что молекулы воды играют важную роль в процессах ионизации органических соединений, являясь одним из основных источников протонов.

Разрешающая способность масс-спектрометра «Exactive» в экспериментах составляла не менее 7×10^4 (для пика с m/z 163). Перед каждой серией экспериментов проводили калибровку прибора по четырем внешним стандартам в диапазоне масс 60–390 а.е.м.

В экспериментах с ионизацией электрораспылением использовали систему, представляющую собой комбинацию жидкостного хроматографа Agilent 1260 и тройного квадрупольного масс-спектрометра Agilent 6460 (Agilent Technologies, Калифорния, США) с источником ионизации Jet Stream Electrospray Ionization). Для проведения исследования использовали хроматографическую колонку Zorbax Eclipse Plus C18 (1.8 мкм, 12.5×2.1 мм) (Agilent Technologies, Калифорния, США). Температура термостата колонок составляла 50 °С. В качестве подвижной фазы применяли элюент А (10 мМ водный раствор формиата аммония и муравьиной кислоты) и элюент В (метанол) в градиентном режиме элюирования со скоростью потока 0.4 мл/мин и объемом вводимой пробы 2 мкл. В экспериментах использовали следующие условия ионизации: напряжение распыления 3.5 кВ, температура капилляра 350 °С. Измерения проводили в режиме мониторинга выбранных ионов. Время анализа каждой пробы составляло примерно 18 мин.

Для экстракции проб мочи использовали: смеситель медицинский вибрационный типа вортекс V-3 (Elmi, Латвия); центрифугу Allegra X-30R (Beckman Coulter, США).

Реагенты и материалы. В качестве растворителей использовали метанол (Merck, Германия), формиат аммония (Баум-Люкс, РФ), муравьиную кислоту (Arcos, Бельгия) и бидистиллированную воду. Чистота всех использованных в работе реагентов - не ниже ХЧ.

В работе использовали товарные лекарственные препараты димедрол (Дальхимфарм ОАО, Россия), лидокаин в форме растворов для инъекций (АО «Органика», Россия), а также корвалол в форме капель для приема внутрь, содержащий фенобарбитал (Фармстандарт-Лексредства ОАО, Россия).

Исследованы образцы мочи, полученные от пациентов, проходящих лечение в больницах г. Москвы. Пробоподготовка образцов мочи заключалась в жидкостной экстракции аналитов метано-

лом. К 100 мкл мочи добавляли 900 мкл метанола, встряхивали на лабораторном смесителе вортекс, центрифугировали при 14500 об/мин в течение 10 мин при температуре 4 °С. Затем 500 мкл супернатанта переносили в виалу для хроматографии с завинчивающейся крышкой вместимостью 2 мл (Agilent) и использовали для анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для проведения исследований методом APLPI были выбраны образцы экстрактов мочи, в которых предварительно методом ВЭЖХ-МС/МС обнаружены физиологически активные вещества. В таблице приведены данные об обнаруженных соединениях,

Таблица

Исследованные пробы экстрактов мочи и соединения, обнаруженные в них методами ВЭЖХ-МС/МС и APLPI

Table

Samples of urine extracts studied and compounds detected in them by HPLC-MS/MS and APLPI methods

№ пробы	Соединение	Брутто-Формула	ВЭЖХ-МС/МС МС/МС переход, <i>m/z</i>	APLPI Диагностический ион, <i>m/z</i>
1	Карбамазепин	$C_{15}H_{12}N_2O$	237→193 194	[M+H] ⁺ 237.1022
	Карбамазепин-10,11-эпоксид (метаболит карбамазепина)	$C_{15}H_{12}N_2O_2$	253→180 236	[M+H] ⁺ 253.0972
	Тиоприд	$C_{15}H_{24}N_2O_4S$	329→213 256	[M+H] ⁺ 329.1529
	Сульпирид	$C_{15}H_{23}N_3O_4S$	342→112 214	[M+H] ⁺ 342.1482
2	Псилоцин	$C_{12}H_{16}N_2O$	205→58 160	[M+H] ⁺ 205.1335
	Амфетамин	$C_9H_{13}N$	136→91 119	[M+H] ⁺ 136.1121
	Лидокаин	$C_{14}H_{22}N_2O$		[M+H] ⁺ 235.1805
3	α-PVP	$C_{15}H_{21}NO$	232→161	[M+H] ⁺ 232.1696
	гидрокси- α-PVP (метаболит α-PVP)	$C_{15}H_{23}NO$	234→173 145	[M+H] ⁺ 234.1852
4	Алпразолам	$C_{17}H_{13}ClN_4$	309→205 281	[M+H] ⁺ 309.0904
5	Метадон	$C_{21}H_{27}NO$	310→105 265	[M+H] ⁺ 310.2165
	Димедрол	$C_{17}H_{21}NO$	256→167 165	[M+H] ⁺ 256.1696
	N-десметил-дифенилгидрамин (метаболит димедрола)	$C_{16}H_{19}NO$	242→167 152	[M+H] ⁺ 242.1539
	Габапентин	$C_9H_{17}NO_2$	172→137 154	[M+H] ⁺ 172.1332 [M-H] ⁻ 170.1176
6	Трамадол	$C_{16}H_{25}NO_2$	264→42 58	[M+H] ⁺ 264.1958
	О-дезметилтрамадол (метаболит трамадола)	$C_{15}H_{23}NO_2$	250→42 58	[M+H] ⁺ 250.1802
7	Сертралин	$C_{17}H_{17}Cl_2N$	306→159 275	[M+H] ⁺ 306.0811
8	Пентобарбитал	$C_{11}H_{18}N_2O_3$	ГХ-МС	[M-H] ⁻ 225.1234
	Тиопентал	$C_{11}H_{17}N_2NaO_2S$	241→58 101	[M] ⁻ 241.1005
9	Фенобарбитал	$C_{12}H_{12}N_2O_3$	231→188 142	[M-H] ⁻ 231.0764
	Амантадин	$C_{10}H_{17}N$	152→77 135	[M+H] ⁺ 152.1434
	Метформин	$C_4H_{11}N_5$	130→60 71	[M+H] ⁺ 130.1087

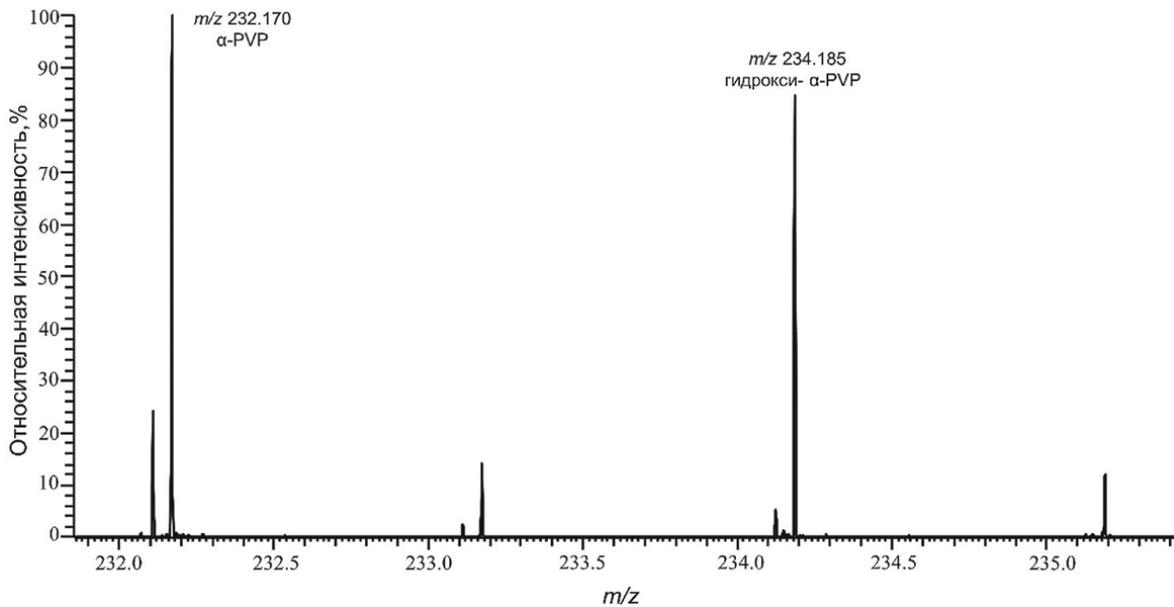


Рис. 1. Масс-спектр пробы 3 в области пиков протонированных молекул α -PVP и гидрокси- α -PVP.

Fig. 1. Mass spectrum of sample 3 in the region of peaks of protonated α -PVP and hydroxy- α -PVP molecules.

значения отношения массы к заряду m/z диагностических ионов и результаты качественного анализа образцов обоими методами. Видно, что ионный источник APLPI обеспечивает возможность детектирования всех соединений, найденных методом ВЭЖХ-МС/МС. Основным направлением ионизации аналитов в условиях генерации лазерной плазмы в воздухе является перенос протона с образованием протонированных $(M+H)^+$ или депротонированных $(M-H)^-$ молекул соединений. Большинство исследованных соединений более эффективно ионизируются путем протонирования, однако для фенобарбитала и пентобарбитала легче протекают реакции депротонирования, а тиопентал дает в условиях APLPI молекулярные пики – анион-радикалы $(M)^-$. Степень фрагментации образующихся ионов всех исследованных соединений сравнительно мала, и наиболее интенсивными пиками в масс-спектрах являются $(M+H)^+$, $(M-H)^-$ или $(M)^-$, которые выбраны в качестве диагностических ионов. При этом селективность детектирования целевых компонентов пробы обеспечивается высокой точностью измерения m/z ионов и высокой разрешающей способностью масс-анализатора «Orbitrap». При использовании непрерывной калибровки прибора по фоновым сигналам известных соединений, всегда присутствующим в воздухе, точность измерения величин m/z в экспериментах была лучше 1 ppm, что позволяет однозначно устанавливать элементный состав ионов [18]. Такой информации обычно достаточно для первичной идентификации соединений при проведении скринингового анализа. С целью более надежного обнаружения во многих случаях можно использовать одновременную регистрацию пиков физиологически активного вещества и его метаболитов. В качестве иллюстрации на рис. 1

приведен участок масс-спектра, полученного при анализе образца экстракта мочи пациента, принимавшего альфа-пирролидинопентиофенон (α -PVP). В масс-спектре регистрируются два интенсивных пика, соответствующие протонированной молекуле α -PVP с m/z 232.170 и его метаболиту – гидрокси- α -PVP с m/z 234.185. Следует отметить, что информации о точной массе зарегистрированных протонированных молекул самого соединения и метаболита, а также фрагментных ионов может быть недостаточно для однозначной идентификации соединения, и для подтверждения его наличия в пробе необходимо провести анализ другим методом, например, ВЭЖХ-МС/МС.

Универсальный характер ионизации в методе APLPI обеспечивает в режиме полного сканирования возможность детектирования всех определяемых компонентов одновременно в одной пробе. Примером может служить масс-спектр на рис.2, зарегистрированный при анализе пробы, содержащей метадон, димедрол и габапентин. Видно, что в масс-спектре наблюдаются ионные сигналы всех трех соединений. Аналогичные результаты получены при анализе других проб, содержащих несколько аналитов. Следует также отметить, что режим полного сканирования на основе точного измерения m/z позволяет при необходимости проводить ретроспективное исследование проб, что невозможно при использовании метода ВЭЖХ-МС/МС. Например, в масс-спектрах APLPI пробы 2 в таблице регистрировался интенсивный пик с m/z 235.181, а также связанный с ним пик с m/z 86.096. Исходя из брутто-формулы, изотопного состава ионов, а также отдельно зарегистрированного масс-спектра чистого раствора вещества, можно предположить, что эти пики соответствуют лекарственному соединению лидокаин. Лидокаин

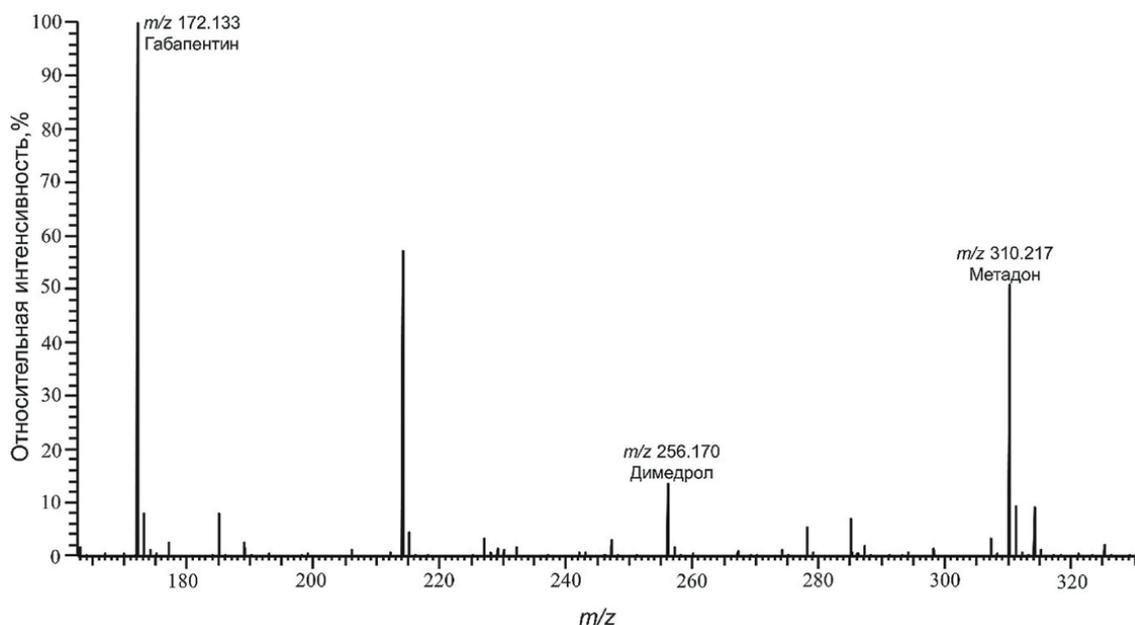


Рис. 2. Масс-спектр пробы 5, содержащей метадон, димедрол и габапентин.

Fig. 2. Mass spectrum of sample 5 containing methadone, dimedrol, and gabapentin.

не входил в список соединений, определяемых методом ВЭЖХ/МС, поэтому информация о его наличие в пробе могла быть утеряна.

Поскольку концентрации определяемых соединений в образцах мочи неизвестны, то для оценки чувствительности метода APLPI были приготовлены растворы димедрола, лидокаина и фенобарбитала способом «разбавление в матрице». В качестве исходных использовали товарные растворы с известным количеством лекарственных соединений, а растворителями являлись экстракты мочи здоровых пациентов, не содержащие этих соединений. На рис. 3 представлена зависимость ионного сигнала

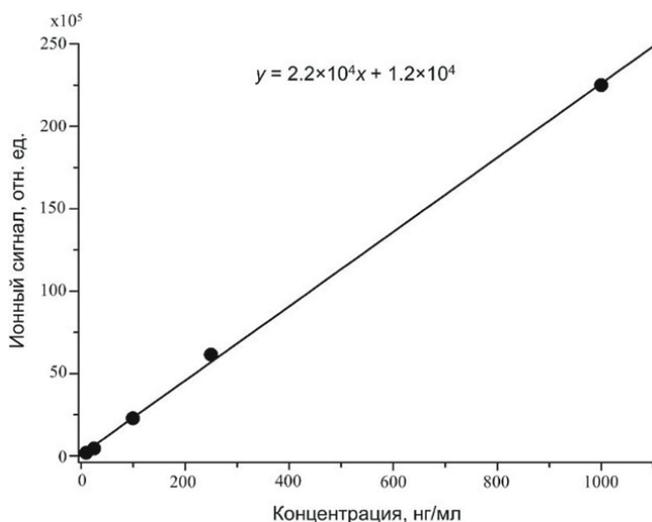


Рис. 3. Зависимость ионного сигнала протонированных молекул димедрола от концентрации в экстракте мочи.

Fig. 3. Dependence of the ion signal of protonated dimedrol molecules on the concentration in the urine extract

димедрола (m/z 256,170) от его концентрации в пробе. Каждая точка на приведенной зависимости представляет собой среднее значение для трех последовательных измерений при анализе одного и того же раствора. Видно, что зависимость линейна в исследованном диапазоне концентраций 2 – 1000 нг/мл. Среднее значение относительного стандартного отклонения ионного сигнала в этом диапазоне составило 24 %. Оценка, сделанная на основе 3σ -критерия, показала, что предел обнаружения димедрола методом APLPI в экстрактах мочи составляет примерно 0.7 нг/мл. Ионный сигнал в пробе 5 (таблица) составляет 1.3×10^7 отн.ед. С использованием полученной градуировочной зависимости концентрацию димедрола в этой пробе можно оценить как 0.6 мкг/мл.

Ближкие аналитические характеристики получены при анализе проб, содержащих лидокаин. Предел обнаружения лидокаина составляет 0.5 нг/мл. Для фенобарбитала, детектируемого в режиме отрицательных ионов, чувствительность была существенно ниже. Предел обнаружения фенобарбитала составляет 10 нг/мл.

Представляет интерес сравнить отношения сигнал/шум при анализе одних и тех же проб методами ВЭЖХ-МС/МС и APLPI. Предварительно для всех проб с использованием способа «разбавление в матрице» была подтверждена линейность зависимости ионных сигналов от концентрации соединений в анализируемом образце. Сравнительные исследования показали, что для большинства соединений оба метода характеризуются относительно близкими значениями отношений сигнал/шум. Наиболее существенные различия получены для метаболита карбамазепина и сульпирида, при определении которых методом ВЭЖХ-МС/МС отношения

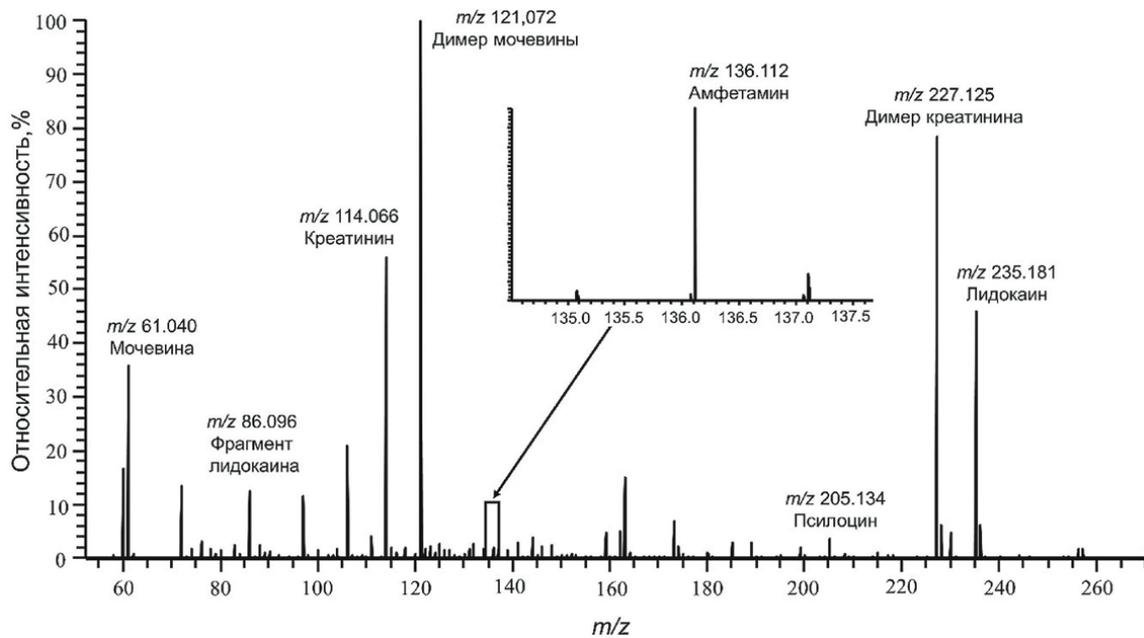


Рис. 4. Масс-спектр, зарегистрированный при анализе мочи (проба 2) без предварительной пробоподготовки.

Fig. 4. Mass spectrum recorded during the analysis of urine sample 2 without preliminary sample preparation.

сигнал/шум были выше, соответственно, в 8 и 11 раз, а также для фенобарбитала и метформина, отношения сигнал/шум которых были выше в 9 и 18 раз при определении методом APLPI. Следует отметить, что сравнение носило оценочный характер, поскольку, с одной стороны, фоновый сигнал и его стандартное отклонение могли существенно меняться в различные дни, а с другой стороны, метод ВЭЖХ-МС/МС использовал в режиме регистрации большого числа детектируемых соединений (более 50).

Исследована возможность применения метода APLPI для анализа образцов мочи без пробоподготовки. Для этого 2 мкл анализируемого образца помещали в кювету и нагревали индукционно. Эксперименты показали, что все соединения, найденные в экстрактах проб (таблица), детектируются и в условиях прямого анализа мочи. Однако отношения сигнал/шум для различных соединений были ниже от 1.5 до 3 раз по сравнению с полученными при анализе экстрактов. Очевидной причиной снижения чувствительности является высокие значения ионных сигналов сопутствующих компонентов. На рис. 4 на примере анализа пробы 2 приведен типичный масс-спектр образца мочи. Видно, что масс-спектр содержит интенсивные пики различных компонентов пробы, в частности, пики протонированных молекул мочевины, креатинина и их протонированных димеров. При детектировании большого числа ионов масс-анализатором «Orbitrap» фактором, лимитирующим чувствительность, становится емкость ловушки C-trap, используемой для фокусировки и инъекции пакета ионов в орбитальную ионную ловушку [19]. Быстрое заполнение ловушки C-trap ионами сопутствующих соединений приводит к уменьшению времени накопления ионов аналита

и, как следствие, к уменьшению ионного сигнала аналитов [20]. Другим возможным фактором, снижающим чувствительность, может быть матричный эффект подавления ионизации молекул аналита. При этом повторяемость результатов прямого анализа мочи была не хуже, чем результатов анализа экстрактов. Следует отметить, что в настоящей работе использовали термодесорбционный ввод пробы с быстрым ее нагревом. Такой режим эффективен для экспрессного скрининга. Выбирая другие режимы нагрева и учитывая, что вследствие различий в летучести соединений их переход в газовую фазу происходит в разное время, можно существенно уменьшить влияние сопутствующих компонентов, повысить чувствительность. Однако при этом возрастет длительность анализа.

В целом, полученные результаты свидетельствуют о том, что прямой (без пробоподготовки) анализ мочи методом APLPI перспективен для скрининга физиологически активных веществ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом APLPI изучены образцы мочи, в которых предварительно методом ВЭЖХ-МС/МС обнаружены физиологически активные вещества. Приборная реализация APLPI основана на использовании масс-анализатора высокого разрешения «Orbitrap» в сочетании с термодесорбционным вводом пробы. Детектирование аналитов осуществляли в режиме полного сканирования на основе точного измерения m/z . Найдено, что для различных исследованных соединений их ионизация в условиях генерации лазерной плазмы в воздухе приводит к образованию протонированных молекул, депротонированных молекул и анион-радикалов.

Сравнительные исследования показали, что методы APLPI и ВЭЖХ-МС/МС характеризуются относительно близкими значениями отношений сигнал/шум. Преимущества метода APLPI заключаются в экспрессности, ретроспективности анализа, в малом объеме проб. Ограничением метода является необходимость десорбции определяемых соединений в газовую фазу.

Метод APLPI может быть использован для высокопроизводительного экспресс-анализа проб мочи, в том числе, без пробоподготовки. При этом метод ВЭЖХ-МС/МС эффективен для проведения подтверждающего анализа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лебедев А. Т. Масс-спектрометрия в органической химии: учебное пособие. Изд. 2-ое, перераб. и доп. М.: Техносфера, 2015. 704 с.
2. Foltz R.L., Fentiman A.F., Foltz R.B. GC/MS assays for abused drugs and body fluids. National Institute on Drug Abuse Research Monograph Series 32. Rockville, Maryland, 1980. 202 p.
3. Обзор. Хромато-масс-спектрометрия запрещенных в спорте физиологически активных веществ: скрининг широкого круга соединений и их метаболитов / Э.Д. Вирус [и др.] // Масс-спектр. 2017. Т. 14, № 3. С. 149-175.
4. Annual banned-substance review: analytical approaches in human sports drug testing / M. Thevis [et al.] // Drug Test. Anal. 2017. V. 9. P. 6–29.
5. Wright T., Harris C. Twenty-one cases involving alpha-pyrrolidinovalerophenone (α -PVP) // J. Anal. Toxic. 2016. V. 40. P. 396–402.
6. Maurer H. Pitfalls in drug testing by hyphenated low- and high-resolution mass spectrometry // Drug Test Anal. 2020. V. 12. P. 172–179.
7. Validation of LC–TOF-MS screening for drugs, metabolites, and collateral compounds in forensic toxicology specimens / F. Guale [et al.] // J. Anal. Toxic. 2012. V. 00. P. 1–8.
8. Development and validation of a novel all-inclusive LC–MS-MS designer drug method / E. Strickland [et al.] // J. Anal. Toxic. 2019. V. 43. P. 161–169.
9. Maurer H.H., Pflieger K., Weber A.A. Mass spectral and GC data of drugs, poisons, pesticides, pollutants, and their metabolites, 5th Edition. German, 2016. 1756 p.
10. Chemical derivatization for the analysis of drugs by GC-MS - A conceptual review / D.L. Lin [et al.] // J. Food Drug Anal. 2008. V. 16, № 1. Article 1.
11. Ultrahigh pressure liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry in human sports drug testing: possibilities and limitations / M. Thevis [et al.] // J. Chromatogr. A. 2013. V. 31, № 1292. P. 38–50.
12. Peters F.T. Recent advances of liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry in clinical and forensic toxicology // Clin. Biochem. 2011. V. 44, № 1. P. 54–65.
13. Лазерная абляция и ионизация излучением лазерной плазмы при атмосферном давлении в масс-спектрометрии органических соединений / А.В. Пенто [и др.] // Квант. электрон. 2013. Т. 43, № 1. С. 55–59.
14. Bierstedt A., Riedel J. Airborne laser-spark for ambient desorption/ionization // Eur. J. Mass Spectrom. 2016. V. 22, № 3. P. 105-114.
15. Кравец К.Ю., Гречников А.А., Симановский Я.О. Ионизация органических соединений в условиях воздей-

- ствия излучением лазерной плазмы при атмосферном давлении // Масс-спектр. 2020. Т. 17, № 4. С. 217-224.
16. Laser-induced plasma on a metal surface for ionization of organic compounds at atmospheric pressure / A.V. Pento [et al.] // Int. J. Mass Spectrom. 2021. V. 461. Article 116498.
17. Скрининг лекарственных соединений методом масс-спектрометрии с ионизацией, индуцированной лазерной плазмой при атмосферном давлении / К.Ю. Кравец [и др.] // Ж. аналит. химии. 2022. Т. 77, № 10. С. 947-955.
18. Kim S., Rodgers R.P., Marshall A.G. Truly «exact» mass: elemental composition can be determined uniquely from molecular mass measurement at similar to 0.1 mDa accuracy for molecules up to similar to 500 Da // Int. J. Mass Spectrom. 2006. V. 251, № 2–3. P. 260–265.
19. Makarov A. Practical aspects of ion trap mass spectrometry. Volume IV: Theory and Instrumentation. U.S.: CRC Press (Taylor & Francis). 2009. 922 p.
20. Performance evaluation of a hybrid linear ion trap/orbitrap mass spectrometer / A. Makarov [et al.] // Anal. Chem. 2006. V. 78, № 7. P. 2113-2120.

REFERENCES

1. Lebedev A. T. *Mass-spektrometriya v organicheskoy himii [Mass spectrometry in organic chemistry]*. Moscow, Tekhnosfera Publ, 2015. 704 p. (in Russian).
2. Foltz R.L., Fentiman A.F., Foltz R.B. *GC/MS assays for abused drugs and body fluids. National Institute on Drug Abuse Research Monograph Series 32*. Rockville, Maryland, 1980. 202 p.
3. Virus E.D., Ivanov A.V., Luzyanin B.P., Kubatiev A.A. [Review. Mass spectrometry of physiologically active substances prohibited in sports: the problem of screening a wide range of compounds and their metabolites]. *Mass-spektrometriya [Mass Spectrometry]*, 2017, vol. 14, no. 3, pp. 54–57 (in Russian).
4. Thevis M., Kuuranne T., Geyera H., Schänzer W. Annual banned-substance review: analytical approaches in human sports drug testing // *Drug Test. Anal.*, 2017, vol. 9, pp. 6–29. doi:10.1002/dta.2139.
5. Wright T., Harris C. Twenty-one cases involving alpha-pyrrolidinovalerophenone (α -PVP) // *J. Anal. Toxic.*, 2016, vol. 40, pp. 396–402. doi: 10.1093/jat/bkw029.
6. Maurer H. Pitfalls in drug testing by hyphenated low- and high-resolution mass spectrometry // *Drug Test Anal.*, 2020, vol. 12, pp. 172–179. doi: 10.1002/dta.2744.
7. Guale F., Shahreza S., Walterscheid J., Chen H., Arndt C., Kelly A., Mozayani A. Validation of LC–TOF-MS screening for drugs, metabolites, and collateral compounds in forensic toxicology specimens // *J. Anal. Toxic.*, 2012, vol. 00, pp. 1–8. doi:10.1093/jat/bks084.
8. Strickland E., Cummings O., Mellinger A., McIntire G. Development and validation of a novel all-inclusive LC–MS-MS designer drug method // *J. Anal. Toxic.*, 2019, vol. 43, pp. 161–169. doi: 10.1093/jat/bky087.
9. Maurer H.H., Pflieger K., Weber A.A. *Mass spectral and GC data of drugs, poisons, pesticides, pollutants, and their metabolites, 5th Edition*. German, 2016. 1756 p.
10. Lin D.L., Wang S.M., Wu C.H., Chen B.G., and Liu R.H. Chemical derivatization for the analysis of drugs by GC-MS - a conceptual review. // *J. Food Drug Anal.*, 2008, vol. 16, no. 1, Article 1. doi: 10.38212/2224-6614.2373
11. Thevis M., Thomas A., Pop V., Schänzer W. Ultrahigh pressure liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry in human sports drug testing: possibilities and limitations // *J. Chromatogr. A*, 2013, vol. 31, no. 1292, pp. 38–50. doi: 10.1016/j.chroma.2012.12.048.

12. Peters F.T. Recent advances of liquid chromatography–(tandem) mass spectrometry in clinical and forensic toxicology // *Clin. Biochem.*, 2011, vol. 44, no. 1. pp. 54–65. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2010.08.008.
13. Pento, A.V., Nikiforov, S.M., Simanovsky, Y.O., Grechnikov, A.A., Alimpiev, S.S. Laser ablation and ionisation by laser plasma radiation in the atmospheric-pressure mass spectrometry of organic compounds // *Quantum Electron.* 2013, vol. 43, no. 1, pp. 55–59. doi: 10.1070/QE2013v043n01ABEH015065.
14. Bierstedt A., Riedel J. Airborne laser-spark for ambient desorption/ionization // *Eur. J. Mass Spectrom.*, 2016, vol. 22, no. 3, pp. 105–114. doi: 10.1255/ejms.1417.
15. Kravets K.Yu., Grechnikov A.A., Simanovsky Ya.O. [Ionization of organic compounds affected by laser plasma radiation at atmospheric pressure] // *J. Analyt. Chem.*, 2021, vol. 76, no. 14, pp. 217–224. doi: 10.25703/MS.2020.39.25.001.
16. Pento A.V., Bukharina A.B., Nikiforov S.M., Simanovsky Y.O., Sartakov B.G., Ablizen R.S., Fabelinsky V.I., Smirnov V.V., Grechnikov A.A. Laser-induced plasma on a metal surface for ionization of organic compounds at atmospheric pressure // *Int. J. Mass Spectrom.*, 2021, vol. 461, Artical 116498. doi: 10.1016/j.ijms.2020.116498.
17. Kravets K.Yu., Timakova S.I., Grechnikov A.A., Borodkov A.S., Laptinskaya P.K., Kuzmin V.S., Simanovsky Ya O. [Screening of medicinal compounds in blood by atmospheric pressure laser plasma ionization mass spectrometry] // *J. Analyt. Chem.*, 2022, vol. 77, no. 1, pp. 1307–1314. doi: 10.1134/S1061934822100082.
18. Kim S., Rodgers R.P., Marshall A.G. Truly «exact» mass: Elemental composition can be determined uniquely from molecular mass measurement at similar to 0.1 mDa accuracy for molecules up to similar to 500 Da // *Int. J. Mass Spectrom.*, 2006, vol. 251, no. 2–3, pp. 260–265. doi: 10.1016/j.ijms.2006.02.001.
19. Makarov A. *Practical aspects of ion trap mass spectrometry. Volume IV: Theory and Instrumentation.* U.S.: CRC Press (Taylor & Francis). 2009. 922 p.
20. Makarov A., Denisov E., Kholomeev A., Balschun W., Lange O., Strupat K. & Horning S. Performance evaluation of a hybrid linear ion trap/orbitrap mass spectrometer // *Anal. Chem.*, 2006, vol. 78, no. 7, pp. 2113–2120. doi: 10.1021/ac0518811.