**Определение мелиттина в мягких лекарственных формах методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии**

***Опруненко А.Ю., Вокуев М.Ф.***

*Студент, 6 курс специалитета*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: oprunenko\_anastasiya@mail.ru*

С древних времен и до настоящего времени яды животных, благодаря своим цитотоксическим действиям широко применяются в лечении заболеваний и в фармацевтической промышленности. Пчелиный яд все чаще используется в научных исследованиях и составляет основу многих препаратов, применяемых в медицине.

Мелиттин — основной пептид-токсин и действующее вещество в пчелином яде, обладающий разнообразными биологическими эффектами. Он составляет свыше 50% сухого вещества яда и образован 26 остатками 12-ти аминокислот. Мелиттин вызывает особый интерес среди пептидов пчелиного яда, поскольку обладает широким антибактериальным, противоспалительным, противовирусным и противоопухолевым спектром действия.

В связи с активным применением лекарственных препаратов на основе пчелиного яда в медицине возникает необходимость разработки надежных методов количественного определения основных компонентов пчелиного яда, таких как мелиттин, для облегчения оценки качества состава препаратов и выявления фальсифицированных препаратов. ВЭЖХ в сочетании с тандемной масс-спектрометрией в настоящее время является самой мощной комбинацией для определения пептидов в сложных матрицах, таких как мази.

Целью настоящей работы является разработка методики определения мелиттина в фармацевтических препаратах на основе пчелиного яда, при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС).

Данная работа проводилась с использованием жидкостного хромато-масс-спектрометра высокого разрешения Orbitrap Exploris 120 (Thermo), включающего орбитальную ионную ловушку. Хроматографическое разделение проводили на колонке Acclaim RS LC HPLC (150 × 2,1 мм, диаметр зерна сорбента 2,2 мкм). Подготовка реальных проб мази «Апизартрон» заключалась в экстракции мелиттина метанолом и дальнейшей твердофазной экстракции (ТФЭ) на картриджах Chromabond C18 1 мл/100 мг. Полученный испытуемый раствор переносили в хроматографическую виалу и отправляли на ВЭЖХ-МС анализ.

На первом этапе экспериментального исследования определяли основные направления ионизации и фрагментации молекулы мелиттина и устанавливали структуру характеристических ионов, путем анализа стандартного образца мелиттина с концентрацией 55 мкг/мл. Сначала были получены масс-спектры первого порядка (МС1) по полному ионному току в режиме сканирования в широком диапазоне масс. Далее получали спектры фрагментных ионов (МС2). В ходе работы были определены 13 фрагментных ионов молекулы мелиттина, установлена их структура и точная масса благодаря точности измерения массы не более 3 ppm. Наличие этих ионов в спектрах реальных образцов мази может однозначно говорить о присутствии в составе препарата мелиттина.