



СИЛА. СКОРОСТЬ. ВЫНОСЛИВОСТЬ



ГЕНЕРАЛЬНЫЙ ДИРЕКТОР
Ольга Анатольевна УШАКОВА

Идея спортивного воспитания становится объединяющей для всей России. Не остается людей, равнодушных к результатам выступлений на международных соревнованиях, каждый испытывает гордость за победу своей страны. Молодое поколение спортсменов стремится поддержать престиж своего государства, установить новые рекорды. Призовые места в спорте – это один из индикаторов растущего благосостояния населения страны.



Компания «ЕвроФармСпорт» была образована в 2009 году. Целями и задачами политики компании являются:

- Создание абсолютно новой высококачественной и эффективной спортивной космецевтики и спортивного питания по принципиально новым технологиям с применением традиционных материалов.
- Ведение научно-исследовательской деятельности в области спортивной медицины для достижения наиболее высоких показателей в применении продукции компании.
- Разработка и производство специализированных продуктов питания для сохранения и укрепления здоровья населения, профилактики заболеваний, связанных с неправильным питанием детей и взрослых.
- Выход на лидирующие позиции среди производителей спортивного питания путем удовлетворения всех требований стандартов качества, антидопингового центра и санитарных правил.
- Пропаганда здорового образа жизни среди россиян.

Производство продукции осуществляется в соответствии с международными стандартами ИСО 9001-2008, ИСО 22000-2007. Продукция имеет все необходимые сертификаты, включая антидопинговый. Отличительные особенности продукции компании:

- **Научное качество.** Применение новейших технологий с использованием последних достижений в области физики, химии и биотехнологии.
- **Применение нанотехнологии.** Главным достижением «ЕвроФармСпорта» стало то, что компания впервые в истории косметической промышленности применила уникальные методы в создании тонкой мелкодисперсной наноэмульсии. Процесс смешения компонентов и инкапсулирования активных веществ в наночастицы происходит при огромном давлении удара на каплю с последующим разрежением (эффект кавитации) и огромной скорости вращения смесительных турбин. Размер частиц эмульсии составляет 200–300 нм, что подтверждено исследованиями компании «Акзонобель» (Швеция). При таком способе обработки на массу

воздействуют ультразвуковой и кавитирующий эффекты.

- **«Холодный» метод получения эмульсий.** Процессы смешения и получения кремовой эмульсии происходят при кратковременном температурном воздействии до 42–45°C, что позволяет сохранить активность всех действующих веществ (в традиционном производстве данные процессы происходят при температуре 85–95°C, что приводит к разрушению белковых структур).
- **Содержание экстрактов и активных веществ.** Впервые в косметической промышленности содержание растительных экстрактов в продукте достигает 80–85%.
- **Способ экстрагирования.** Обычно традиционный метод экстрагирования происходит с термическим воздействием. Ноу-хау компании позволяет избежать нагрева. Электродинамическая экстракция производится в экстрагирующей эмульсии «масло в воде» путем пропускания электрического разряда между электродами в экстрактивной смеси с экстрагируемой растительной смесью. При прохождении электрического разряда через жидкость на поверхности «молнии» образуется тонкая газовая пленка, отделяющая сформировавшийся ствол «молнии» от окружающей жидкости. Таким образом предотвращается процесс горения, а на экстрактивную смесь в зоне действия разряда большой мощности действуют другие различные мощные эффекты: ультразвуковой, акустический, гидрокavitационный. Под их воздействием разрушаются и прошиваются цитоплазматические мембраны растительной клетки. Сквозь произведенные разрушения мембраны содержимое растительных клеток (цитоплазма) поступает в экстрагент и растворяется в нем. Да, «молния» – это плазма, однако она изолирована и порождает мощностные кавитирующие силы, которые, в свою очередь, «разворачивают», но не разрушают белки и другие биологически активные вещества растительного происхождения. У предприятия «ЕвроФармСпорт» есть все ресурсы для производства высококачественной и безопасной продукции, необходимой для здорового образа жизни, доступной для всех слоев населения.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НОВЫХ КЛАССОВ
ДОПИНГОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ МЕТОДАМИ
ХРОМАТОГРАФИИ И МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ



ДИРЕКТОР ФГУП
«АНТИДОПИНГОВЫЙ ЦЕНТР»
МИНИСТЕРСТВА СПОРТА,
ТУРИЗМА И МОЛОДЕЖНОЙ
ПОЛИТИКИ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
Григорий Михайлович
Родченков

В 2009 году ФГУП «Антидопинговый центр» выполнило почти 16 тыс. анализов биопроб спортсменов и по этому показателю вошло в число трех лабораторий мира. В 2010 году планируется дальнейшее совершенствование аналитических методик для применения аналитического оборудования последних моделей, поступившего накануне Олимпийских зимних игр в Ванкувере. В декабре 2009 года было получено от Всемирного антидопингового агентства (ВАДА) свидетельство о полной аккредитации на 2010 год. Документ, подписанный президентом ВАДА Джоном Фейхи, свидетельствует, что Антидопинговый центр полностью соответствует Международному стандарту для лабораторий и имеет право проводить антидопинговые анализы в течение 2010 года.

Научные исследования проводились в рамках Государственного контракта от 10 сентября 2009 года №307, подписанного Министерством спорта, туризма и молодежной политики РФ. Ряд экспериментов был выполнен совместно с Центром превентивных допинговых исследований Немецкого спортивного университета Кельна. Задача определения допинговых средств нового поколения не решена в полной мере, поскольку в настоящее время проходит завершающая стадия клинических испытаний этих соединений. Общая тенденция заключается в планомерном синтезе потенциально опасных допинговых средств новых классов с последу-

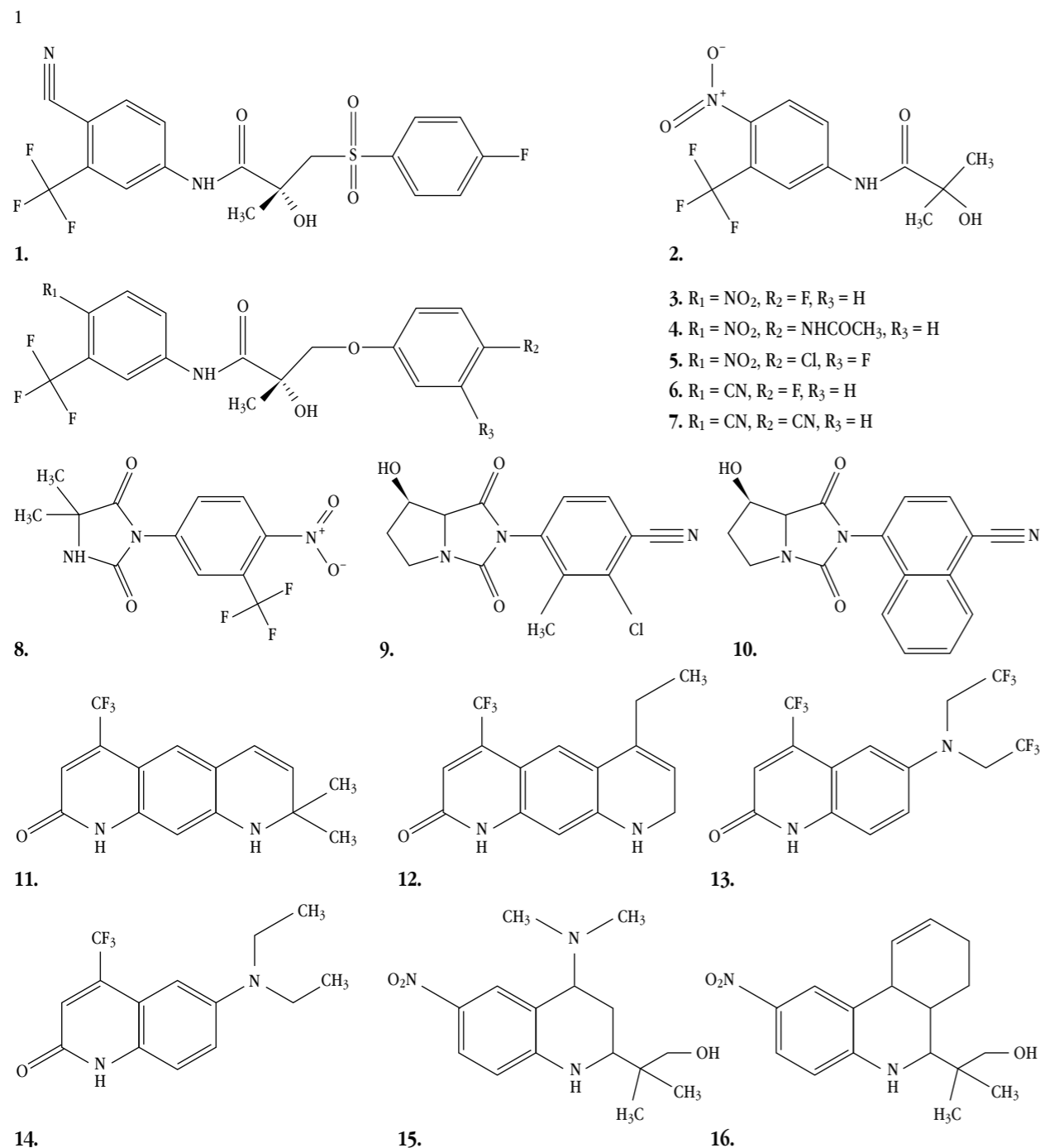
ющим изучением физико-химических свойств и метаболизма с целью создания методик обнаружения нового поколения. Новые препараты в любой момент могут появиться в спорте высших достижений как допинговые средства. Разработка методик с применением метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) и масс-спектрометрией высокого разрешения (ВЭЖХ/МСВР) для определения новых допинговых препаратов в биологических средах человека является актуальной задачей. Важным аспектом превентивных исследований в области допингового контроля является включение новейших субстанций, которые потенциально возможно использовать в качестве допинга, в аналитическую практику.

Термин «селективные модуляторы андрогенных рецепторов» (selective androgen receptor modulator, SARM, SARMS) был предложен для обозначения синтетических агонистов андрогенов, связывающихся с андрогеновыми рецепторами с высокой степенью тканевой избирательности, созданных с целью предотвращения побочных эффектов, свойственных эндогенным андрогенам. К ним относятся бикалутамид и флютамид (рис. 1, 1 и 2), а также новые соединения S-1 и S-4, названные Андарином и Остарином (рис. 1, 3 и 4), и ряд других.

В результате ежедневного приема 3 мг производного арилпропионамида – Остарина – в течение 3 месяцев у добровольцев наряду с наращиванием мышечной массы на 1,4 кг наблюдали увеличение силовых качеств и выносливости без особых диет и физических нагрузок. При этом активизируются только андрогенные рецепторы в тканях-мишенях, таких как мускулы и кости, в то время как стимуляция рецепторов в других органах, например в простате, не затрагивается, или подавляется. Этот SARMS имеет малый период полувыведения у людей – 4 часа, и к настоящему времени он прошел только вторую стадию клинических испытаний на людях. Отмечено, что его прием не вызывает задержку воды в организме. Скорее всего, данный пре-



ООО «ЕВРОФАРМСПОРТ»
РОССИЯ, МОСКОВСКАЯ ОБЛ.,
141070 КОРОЛЕВ,
УЛ. ПИОНЕРСКАЯ, Д. 4
ТЕЛ: (495) 797 8010
E-MAIL: info@eurofs.ru
HTTP://www.eurofs.ru

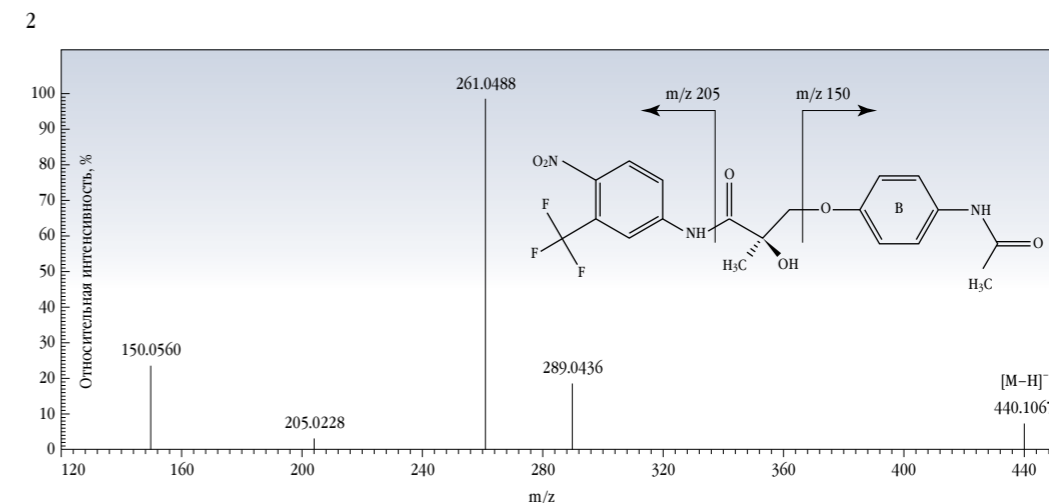


ХИМИЧЕСКИЕ СТРУКТУРЫ ОСНОВНЫХ КЛАССОВ САРМОВ: ПРОИЗВОДНЫЕ АРИЛПРОПИОНАМА С АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ ((1) – бикалутамид, (2) – флутамид) и АГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ (3–7) – типичные представители андарин (3), остарин (4); ПРОИЗВОДНЫЕ ГИДАНТОИНА С АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ ((8) – нилбутамид) и АГОНИСТИЧЕСКОЙ (BMS-564 929 (9) и (10)) АКТИВНОСТЬЮ; ПРОИЗВОДНЫЕ ХИНОЛИНА С АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ (11) И АГОНИСТИЧЕСКОЙ (LG 121 071 (12), LGD 2226 (13) и (14)) АКТИВНОСТЬЮ; ПРОИЗВОДНЫЕ ТЕТРАГИДРОХИНОЛИНА С БИЦИКЛИЧЕСКИМ (S-40 503 (15)) И ТРИЦИКЛИЧЕСКИМ (16) ЯДРОМ

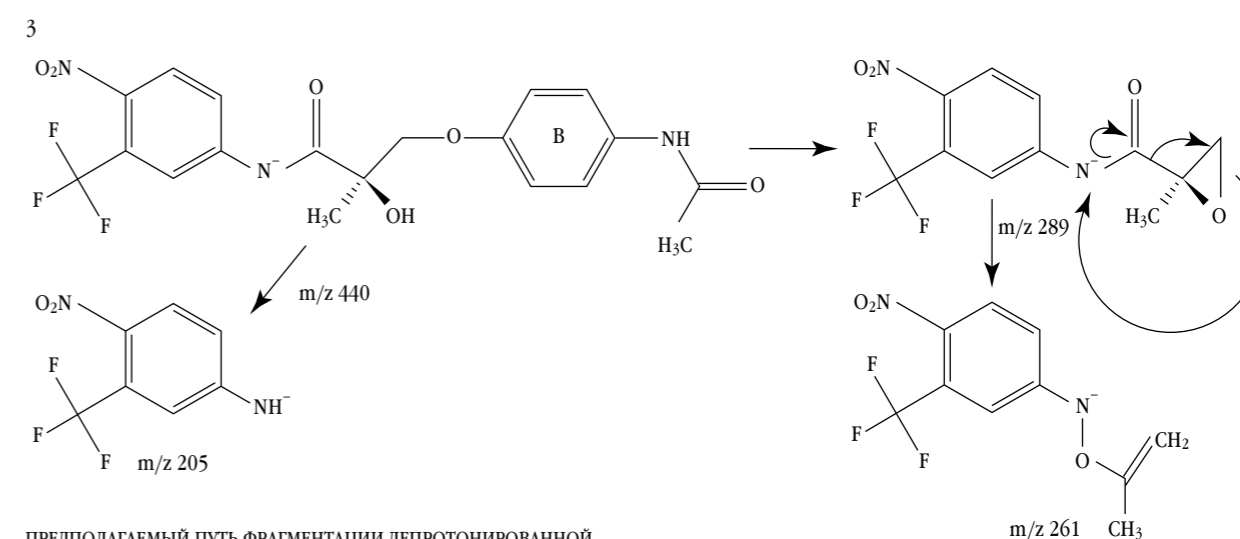
парат будет использоваться спортсменами на заключительных этапах подготовки перед соревнованиями, например тяжелоатлетами и культуристами. В ближайшие годы можно ожидать, что Остарин станет широко распространенным допинговым препаратом и будет продаваться на черном рынке.

Из-за селективной природы этого нестероидного соединения не наблюдаются побочные эффекты, характерные для гормональной заместительной терапии. Ос-

тарин обладает анаболическим эффектом, сравнимым с тестостероном. Селективные модуляторы андрогенных рецепторов действуют более селективно и обладают высокой биодоступностью, что открывает широкие перспективы для их клинического использования. Кроме того, эти соединения проявляют анаболическую активность, влияя на андрогенные рецепторы, ответственные за рост мышечных волокон, что приводит к росту мышечной массы и силы.



МАСС-СПЕКТР ДЕПРОТОНИРОВАННОЙ МОЛЕКУЛЫ [M-H]⁻ ОСТАРИНА С m/z 440 А.Е.М.



ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПУТЬ ФРАГМЕНТАЦИИ ДЕПРОТОНИРОВАННОЙ МОЛЕКУЛЫ ОСТАРИНА С 440 А.Е.М.

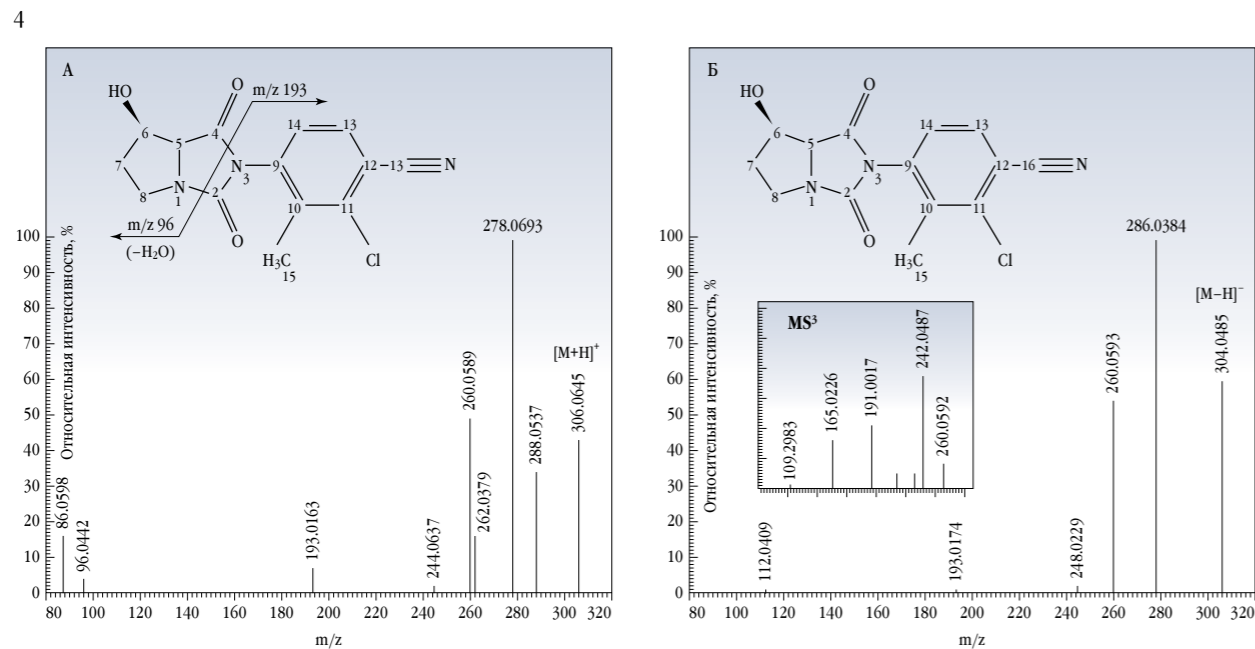
Область исследования и разработок САРМов постоянно пополняется данными о результатах *in vivo* экспериментов с разнообразными структурными матрицами. Несколько компаний выдвинули свои вещества – кандидаты для клинических исследований: *GTx, Inc.* (Ostarine™ в качестве препарата для лечения мышечного истощения), *Bristol-Myers Squibb* (BMS-564929 для лечения возрастных функциональных нарушений), *Ligand Pharmaceuticals, Inc.* (LGD2941 для лечения хрупкости костей и остеопороза, разработка приостановлена LGD2226) и *GlaxoSmithKline* (GSK971086). Некоторые из них опубликовали детальные характеристики САРМов, включая S-1 и S-4 (*GTx, Inc.*), BMS-564929 (BMS), LGD2226 и LGD2941 (*Ligand Pharmaceuticals, Inc.*).

Другая группа препаратов, увеличивающая мышечную массу вместе с выносливостью за счет изменения метаболических процессов в мышечных тканях животных, – *агонисты дельта-рецепторов активации пролиферации пероксисом* (peroxisome proliferators-activated receptor, PPAR, ППАР).

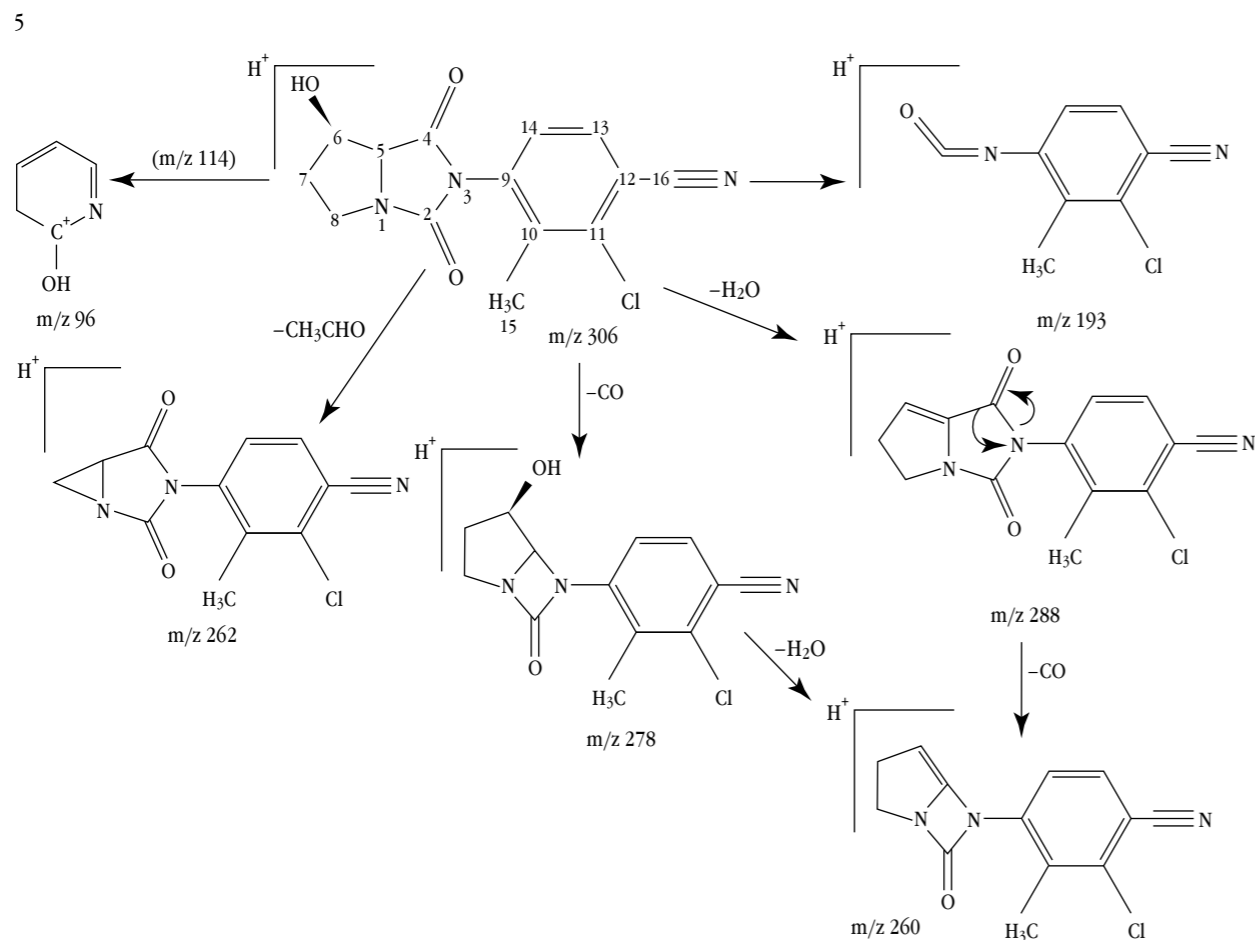
Употребление агонистов ППАР рассматривается ВАДА как применение генного допинга. Агонисты ППАР

проходят клинические испытания как средства для лечения ожирения и нормализации уровня холестерина и пока не имеют патентованных названий, только кодовые номера. Механизм действия этих соединений принципиально отличается от действия анаболических стероидов, увеличивающих мышечную массу без повышения выносливости.

Семейство ядерных рецепторов ППАР участвует в регуляции множества генов в различных метаболически активных тканях. Они участвуют в систематической регуляции метаболизма жиров, выступая в качестве сенсоров жирных кислот, эйкозаноидов, простагландинов и родственных им метаболитов. Последние исследования с использованием сильного и селективного агониста ППАР – GW501516 – показали, что активация данного подтипа может вызвать обратный транспорт холестерина и выравнивание профиля липопротеинов и уровня триглицеридов. Агонисты ППАР также влияют на образование плаценты, процессы ожирения, колоректальный рак и факторы диабета. GW0742 является близким структурным аналогом GW501516 и не уступает ему по силе и селективности.



МАСС-СПЕКТРЫ ПРОТОНИРОВАННОЙ МОЛЕКУЛЫ $[M + H]^+ = 306$ А.Е.М. (А) И ДЕПРОТОНИРОВАННОЙ МОЛЕКУЛЫ $[M - H]^- = 304$ А.Е.М. (Б) BMS-564 929

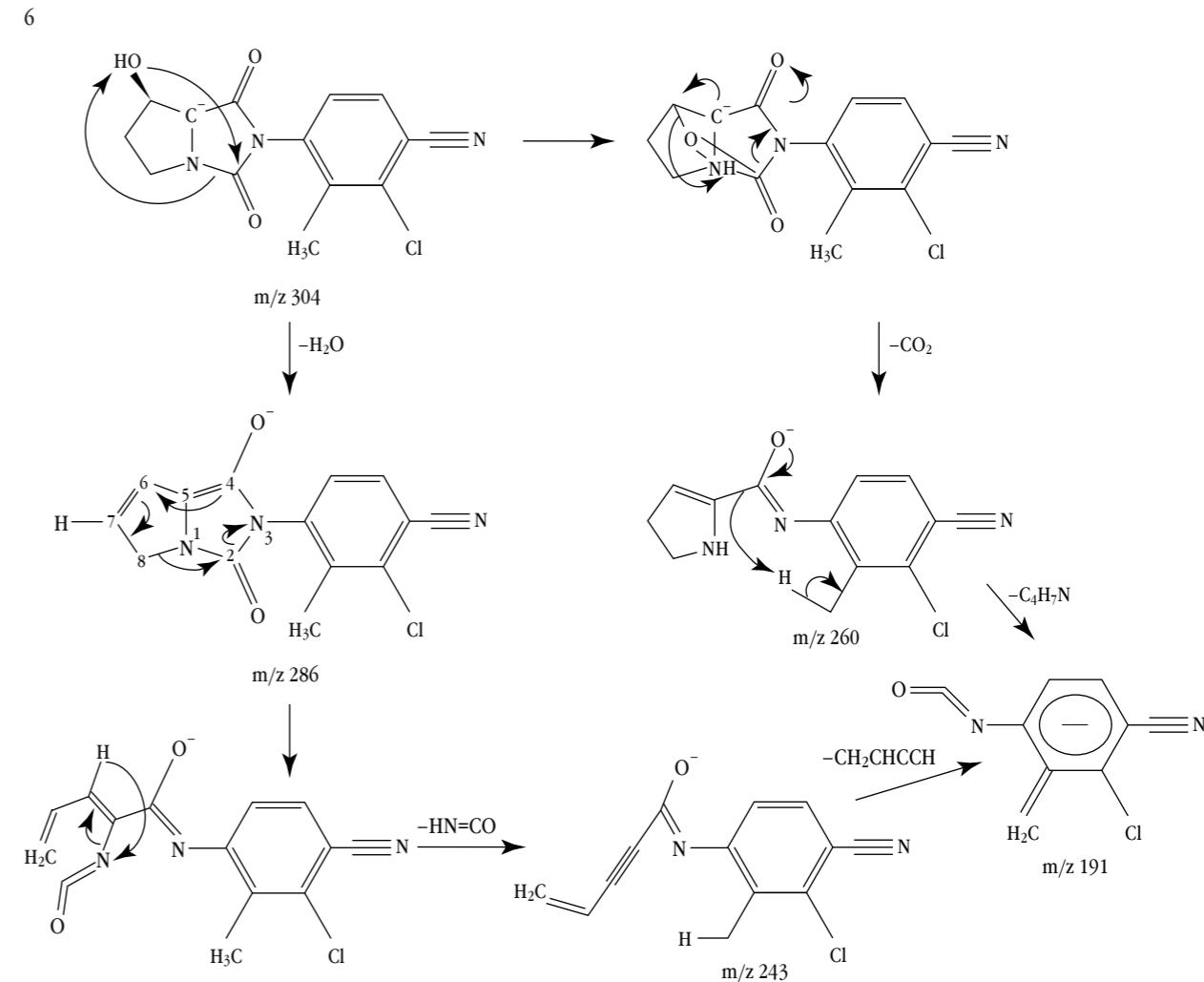


ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПУТЬ ФРАГМЕНТАЦИИ ПРОТОНИРОВАННОЙ МОЛЕКУЛЫ ГИДРОКСИБИЦИКЛИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДНОГО ГИДАНТОИНА BMS-564 929 (9)

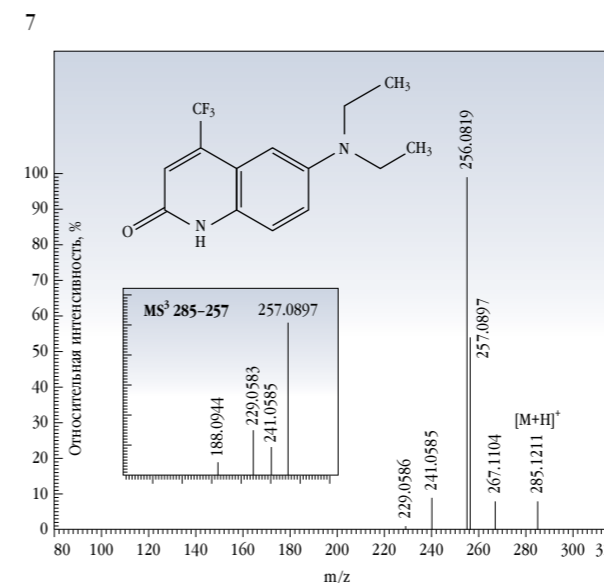
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Главными отличиями арилпропионамидных производных САРМов являются количество замес-

тителей в кольцах А и В и их природа (рис. 1, 3–7). В условиях электрораспылительной ионизации эффективно происходит процесс депротонирования у производных арилпропионида. При использо-

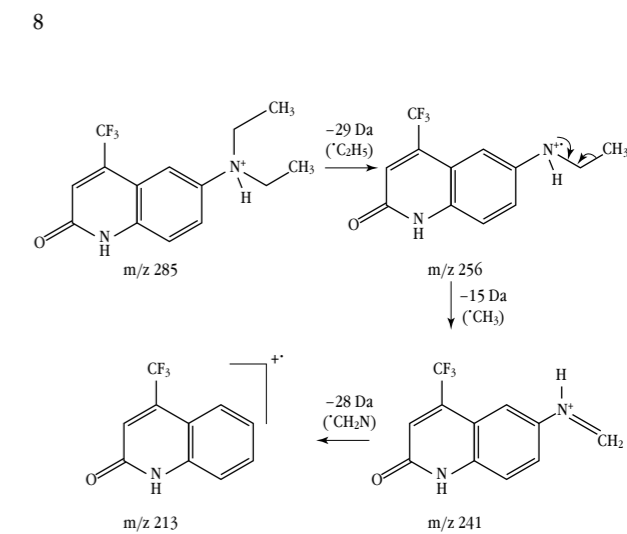


ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПУТЬ ДИССОЦИАЦИИ ДЕПРОТОНИРОВАННОЙ МОЛЕКУЛЫ ГИДРОКСИБИЦИКЛИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДНОГО ГИДАНТОИНА BMS-564 929



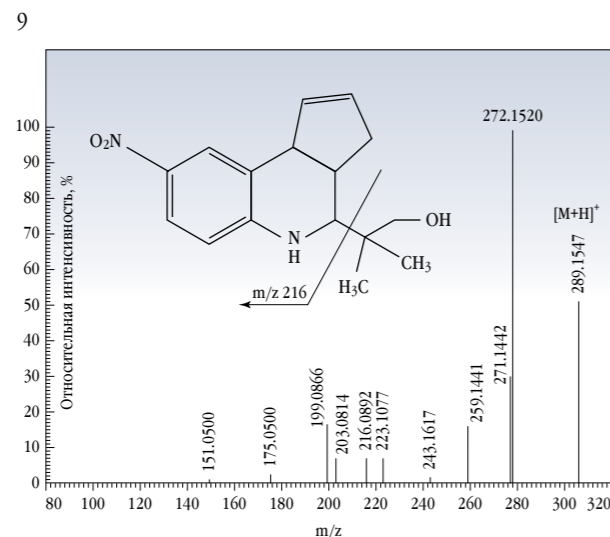
МАСС-СПЕКТР ПРОТОНИРОВАННОЙ МОЛЕКУЛЫ $[M + H]^+ = 285$ А.Е.М. БИСАЛКИЛИРОВАННОГО ПРОИЗВОДНОГО 2-КИНОЛИНОНА

вании диссоциации, индуцированной столкновениями, ион-предшественник образует диагностические ионы, характерные ароматическим кольцам А и В (рис. 2).

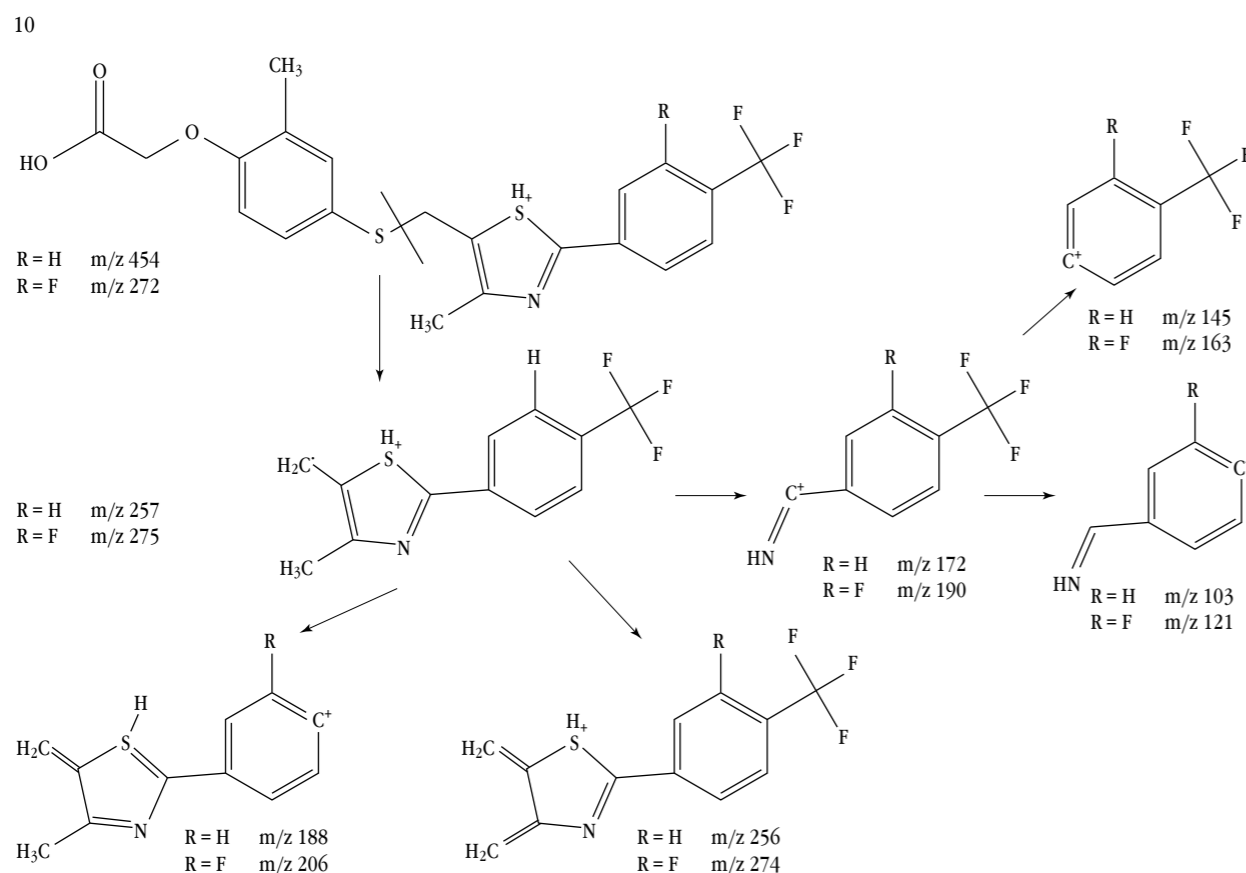


ОСНОВНОЙ ПУТЬ ФРАГМЕНТАЦИИ ПРОТОНИРОВАННОЙ МОЛЕКУЛЫ ПРОИЗВОДНОГО 2-КИНОЛИНОНА

Трактовка структуры кольца В происходит в результате образования характеристического иона, отображающего процессы депротонирования и замещения гидроксифильной группы, которые приводят к образованию иона



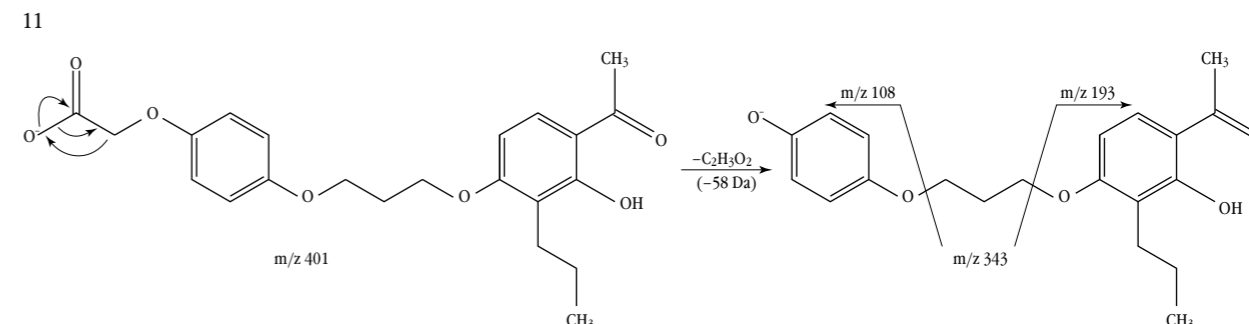
МАСС-СПЕКТР ПРОТОНИРОВАННОЙ МОЛЕКУЛЫ $[M+H]^+$ = 289 А.Е.М. ТРИЦИКЛИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДНОГО ТЕТРАГИДРОКИНОЛИНА



ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПУТЬ ФРАГМЕНТАЦИИ ПРОТОНИРОВАННЫХ МОЛЕКУЛ АГОНИСТОВ ДЕЛЬТА-РЕЦЕПТОРОВ АКТИВАЦИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ ПЕРОКСИСОМ GW501516 (R=H) И GW0742 (R=F) С 454 И 473 А.Е.М. СООТВЕТСТВЕННО

с m/z 150 в случае с Остарином (рис. 2, $R_2 = \text{NHCOCH}_3$, $R_3 = \text{H}$). Основной путь фрагментации арилпропионамидных производных SARМов представлен на рисунке 3. Таким образом, любые модификации в кольцах А и В могут быть обнаружены, если использовать диагностические ионы, это позволит проводить идентификацию не только продуктов их метаболизма в организме, но и проводить поиск новых модифицированных дизайнерских аналогов.

Производные SARМов на основе гидроксидибензодиазепина относятся к классу антагонистов андрогенных рецепторов, имеющих гидантоиновую основу, например, Нилютамид (рис. 1, 8). Однако наличие гидроксильного пятичленного кольца, как в случае с BMS-564 929 (рис. 1, 9), дает возможность воздействовать на родственные андрогенные рецепторы, характеризующиеся активирующими свойствами и высокой



ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПУТЬ ФРАГМЕНТАЦИИ ДЕПРОТОНИРОВАННОЙ МОЛЕКУЛЫ L-165,041 С 401 А.Е.М.

селективностью на мышечную ткань. Соединения этого класса в условиях электрораспылительной ионизации образуют как протонированные, так и депротонированные молекулы (рис. 4).

BMS-564 929 образует протонированную молекулу с m/z 306 (рис. 4а). Элиминирование воды (-18 а.е.м.) и оксида углерода (-28 а.е.м.) приводит к образованию ионов с m/z 288, 278 и 260. Возможная схема фрагментации протонированной молекулы BMS-564 929 представлена на рисунке 5.

При использовании электрораспылительной ионизации с регистрированием отрицательных ионов отрыв протона у BMS-564 929 происходит от атома углерода в положении 5 или от гидроксильной группы в положении С-6. Масс-спектр BMS-564 929, полученный в режиме tandemной масс-спектрометрии и условиях диссоциации, индуцированной столкновениями, является малоинформативным и содержит фрагментные ионы, с помощью которых нельзя охарактеризовать структуру данного соединения (рис. 4б). Однако существует возможность последующей изоляции и анализа ионов-фрагментов, образовавшихся в ходе первой фрагментации - MC^3 и т.д. Это дает возможность получить информацию о структуре соединения даже в отсутствие удовлетворительной фрагментации на первой стадии. В связи с этим был получен масс-спектр в условиях MC^3 . Потеря диоксида углерода (-44 а.е.м.) от депротонированной молекулы ($[M-H]^- = m/z$ 304), с предварительной сложной перегруппировкой с вовлечением переходной структуры с шестичленным кольцом, приводит к образованию фрагментного иона с m/z 260. Гидроксильная группа в 6-м положении играет ключевую роль в отрыве CO_2 . При отрыве 2,3-дигидро-1Н-пиррольной группы (-69 а.е.м.) от иона с m/z 260 образуется фрагментный ион с m/z 191. Кроме того, депротонированная молекула (9) может элиминировать молекулу воды (-18 а.е.м.), а последующая за этим потеря имино-метанола (-43 а.е.м.) и бут-1-ен-3-ин (-52 а.е.м.) также дает фрагментный ион с m/z 191 (рис. 6). Некоторые би- и трициклические хинолинон-производные обладают агонистической активностью селективных модуляторов андрогенных рецепторов. К таким соединениям относятся LG 121 071 и LGD 2226 (рис. 1, 12 и 13). Антагонист андрогенных рецепторов - LG 120 907 (рис. 1, 11), имеющий 4-трифторметил-2-хинолиновое ядро, но с различными заместителями в кольце С, приводит к активации

андрогенных рецепторов. Кетогруппа кольца А и этильная группа в кольце С, по-видимому, подобны 3-кето и 17-гидрокси-группам тестостерона. В структуре LGD 2226 (рис. 1, 13) кольцо С заменено на бис(трифторэтил)аминовую группу в 6-м положении 4-трифторметил-2-хинолинового ядра. При альтернативном алкилировании, например бисэтилировании аминогруппы (рис. 1, 14), образуются соединения, обладающие агонистической активностью к андрогенным рецепторам.

Хинолиновые производные SARМов хорошо ионизируются в условиях электрораспылительной ионизации с регистрированием положительных ионов, при этом для данной группы соединений характерен одинаковый путь фрагментации. Так, у протонированной молекулы хинолинового производного SARМа 14 с m/z 285 предпочтительно элиминирование этилена (-28 а.е.м.) и этильного радикала (-29 а.е.м.) и образование фрагментных ионов с m/z 256 и m/z 257 соответственно (рис. 7, 8). Отрыв этильного радикала связан с сопряженной π -электронной системой 2-хинолинона, которая помогает образованию катион-радикала в условиях диссоциации, индуцированной столкновениями. Получающийся ион с нечетным числом электронов и m/z 256 при дальнейшей диссоциации элиминирует метил-радикал (-15 а.е.м.) с образованием фрагментного иона с m/z 241, представляющий собой ядро бисалкилированный 4-трифтор-2-хинолинон.

Соединения, относящиеся к группе трициклических производных тетрагидрохинолина, обладают агонистической активностью к андрогенным рецепторам мышечной ткани (рис. 1, 15 и 16). Структуры трициклических тетрагидрохинолиновых производных SARМов представлены, масс-спектр протонированной молекулы соединения 16 с m/z 289 приведен на рисунке 9.

GW501516 при использовании электрораспылительной ионизации с регистрацией положительных ионов образует протонированную молекулу. В условиях столкновительной диссоциации в камере соударений протонированная молекула дает несколько характеристичных фрагментов. Мы предполагаем, что фрагментный ион с m/z 257 образуется за счет разрыва связи «сер-а-алифатический углерод», образующийся при этом катион-радикал стабилизирует систему спаренных π -электронов (рис. 10).

Использование высоких энергий столкновений в камере соударений приводит к потере водорода или

трифторметильного радикала у иона с m/z 257, при этом образуются характеристичные ионы с четным числом электронов и m/z 256 и 188 соответственно. Кроме того, отрыв тиазольного кольца от фрагментного иона с m/z 257 приводит к образованию катиона 4-трифторметилбензиденеамина с m/z 172.

L-165,041 в условиях электрораспылительной ионизации с регистрацией отрицательных ионов образует депротонированную молекулу с m/z 401. Отрыв глиоксала (-58 Da) от иона-предшественника протекает, как у GW501516 и его фторированного аналога (рис. 11). При разрывах связей «кислород – алифатический углерод» и стабилизации систем спаренных π -электронов в коль-

цах А и В происходит образование анион-радикалов с m/z 108 и 193.

Систематические исследования физико-химических свойств новых соединений, представляющих собой потенциально эффективные допинговые средства, требуют применения комплекса хромато-масс-спектрометрического оборудования для исследования их путей фрагментации в условиях электрораспылительной ионизации с регистрацией как положительных, так и отрицательных ионов. Полученные данные позволяют модифицировать имеющиеся методики с целью включения новых допинговых соединений в повседневный аналитический процесс выполнения анализов биопроб спортсменов.