

УДК 543.51

УСКОРИТЕЛЬНАЯ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРИЛОЖЕНИЙ (КРАТКИЙ ОБЗОР)

Е. В. Пархомчук^{1,3,4}, А. В. Петрожицкий^{1,2,3}, М. М. Игнатов^{1,3}, Д. В. Кулешов^{1,3},
П. Н. Калинин⁴, Е. А. Прокопьева^{1,5}, Л. А. Кутнякова³, В. В. Пархомчук^{1,2}

¹ Новосибирский государственный университет, ЦКП «УМС НГУ-ННЦ»,
г. Новосибирск, Россия, 630090

² ФГБУН Институт ядерной физики им. Г. И. Будкера СО РАН,
г. Новосибирск, Россия, 630090

³ ФГБУН Институт археологии и этнографии СО РАН,
г. Новосибирск, Россия, 630090

⁴ ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Институт катализа им. Г. К.
Борескова СО РАН», г. Новосибирск, Россия, 630090

⁵ ФГБНУ Федеральный исследовательский центр фундаментальной и
трансляционной медицины, г. Новосибирск, Россия, 630117

В статье кратко рассмотрены биомедицинские приложения метода ускорительной масс-спектрометрии (УМС). В зарубежной практике — это определение массобаланса и исследования ADME/AME; профилирование метаболитов лекарственных средств или ксенобиотиков в сочетании с методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ); исследование фармакокинетики ксенобиотиков или лекарственных препаратов на ранних стадиях разработки с помощью метода микродоз; определение уровня цитотоксичности веществ. Приведены примеры биомедицинских экспериментов, проведенных на Уникальной научной установке УМС ИЯФ СО РАН: исследование кинетики выведения меченого ^{14}C метанола и его метаболитов из различных органов мышей и воздействия на живой организм аэрозольных частиц (микро- и наносфер из меченого ^{14}C полистирола) при низких концентрациях; опробован способ обнаружения в организме бактерии *Helicobacter pylori* с использованием меченой ^{14}C мочевины и предложен способ регистрации ультрамалых концентраций вирусов.

Возможности УМС в регистрации радиоуглерода составляют 1 атом ^{14}C на 10^{12} – 10^{15} атомов ^{12}C . Такая высокая чувствительность позволяет сдвинуть порог обнаружения интересующих веществ, меченных ^{14}C , в область более низких концентраций, недоступных для традиционных методов, применявшихся ранее. Поэтому открывается возможность использования субфармакологических доз препаратов. С одной стороны, такие малые дозы могут считаться безопасными для здоровья человека, а с другой – дают раннее представление о реакции человеческого организма на исследуемые вещества. При этом радиоактивность меченых препаратов, необходимая для точной регистрации методом УМС, в несколько раз меньше естественного уровня радиации и не представляет угрозы для здоровья. Это ускоряет разработку лекарственных средств.

Ключевые слова: ускорительная масс-спектрометрия, радиоуглерод, биомедицина, разработка лекарств, исследования ADME/AME, профилирование метаболитов, микродозирование, определение цитотоксичности.

1. Введение

Методом ускорительной масс-спектрометрии (УМС), появившемся в 70-е гг. XX в., можно измерять содержание в образце долгоживущих космогенных и антропогенных изотопов, таких как ^{10}Be , ^{14}C , ^{26}Al , ^{129}I [1, 2]. Наибольший интерес для медицинских исследований представляют возможности УМС в регистрации радиоуглерода – ^{14}C , при этом точность метода, основанного на поштучном подсчете атомов, настолько высока, что позволяет проводить достоверные измерения концентрации изотопа ^{14}C при его доле 10^{-15} от общего содержания углерода [3]. Непревзойденная чувствительность УМС дает ряд преимуществ, таких как малое количество пробы для анализа и возможность анализа углеродсодержащего образца, находившегося в любом агрегатном состоянии. Поэтому для УМС-анализа в наиболее простом исполнении потребуется около 2–4 мг сухого вещества, 10 мг образца биологических тканей и менее 50 мкл жидкости. Известны УМС-исследования с образцами, содержащими менее 1 мкг углерода [4]. К недостаткам метода с точки зрения биомедицинских приложений можно отнести: использование меченных ^{14}C препаратов, высокие операционные затраты и стоимость прибора, сложную процедуру пробоподготовки, включающую выделение углекислого газа из образца и его зауглероживание, а также малую осведомленность исследователей об этой инновационной технологии. Однако ввиду крайне малого содержания радиоуглерода в биосфере – соотношение $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ составляет всего лишь 10^{-12} – радиоактивность меченых препаратов, необходимая для точной регистрации методом УМС, в несколько раз меньше естественного уровня радиации. Это позволяет безопасно проводить многократные исследования, в т. ч. с привлечением детей в качестве испытуемых, что очень важно при разработке именно детских лекарств в связи с существенными различиями обмена веществ у взрослых и детей [5, 6]. Кроме того, за 50 лет развития ускорительные масс-спектрометры превратились из крупногабаритных машин в относительно компактные и стабильно функционирующие приборы, доступные небольшим исследовательским центрам. Разработаны системы прямого УМС-анализа углекислого газа, получаемого из микроскопических образцов, а также графитизаторы с возможностью подготовки больших партий проб для УМС-анализа из биологических тканей. До 2013 г. в мире функционировало около 100 установок УМС, сосредоточенных преимущественно в Северной Америке, западной Европе, Корее и Японии [2], а в течение следующих 20 лет только одной швейцарской компанией Ionplus было произведено и продано еще около 30 ускорительных комплексов, поступивших в основном в организации Европы и Китая. Большая часть установок УМС используется для проведения радиоуглеродного датирования археологических объектов. Первые исследования ксенобиотиков и лекарственных средств с применением УМС появились в 2000-х гг. и затем продолжили свой путь в токсикологии, предклинической фармакологии, фазах 0 и 1 клинических испытаний лекарств, науке о питании и др. [7, 8].

В России первый ускорительный масс-спектрометр был создан и запущен Институтом ядерной физики им. Г. И. Будкера СО РАН (ИЯФ СО РАН) в 2011 г. в Новосибирске и в течение последующих 10 лет представлял собой единственный в России УМС [9]. В настоящее время он зарегистрирован как Уникальная научная установка (УНУ) «УМС ИЯФ СО РАН»¹. Для получения графитизированных катодов из тестируемых образцов для УНУ УМС ИЯФ сотрудниками Института катализа им. Г. К. Борескова СО РАН (ИК СО РАН) была разработана абсорбционно-каталитическая установка, давшая хорошую производительность и достаточную для

¹<https://www.inp.nsk.su/nauka/issledovatel'skaya-infrastruktura/nauchnye-ustanovki/uskoritelnyj-mass-spektrometr>

радиоуглеродного датирования чистоту проб (собственный фон установки составляет 0,8–1 % от современного уровня ^{14}C) [10]. В отличие от зарубежных графитизаторов [11] разработанная система позволяет быстро и недорого получать качественные зауглероженные пробы от нетипичных объектов, например высокосернистых материалов (тяжелые нефти, уголь и др.), углеродсодержащих газов, биологических тканей, вирусов, органических аэрозольных частиц [12–16].

В 2019 г. Министерством образования и науки РФ был приобретен и предоставлен Новосибирскому государственному университету (НГУ) относительно компактный УМС швейцарского производства – MICADAS. В 2020 г. ресурсы четырех организаций, необходимые для проведения фундаментальных и прикладных научных исследований с использованием УМС, подготовки высококвалифицированных кадров и оказания услуг заинтересованным пользователям, были объединены в единое подразделение – ЦКП «Ускорительная масс-спектрометрия НГУ-ННЦ»², на английском – AMS Golden Valley³. Помимо НГУ, функционирование ЦКП обеспечивается также ИЯФ СО РАН, Институтом археологии и этнографии СО РАН (ИАЭТ СО РАН) и ИК СО РАН. Рассмотрим некоторые примеры различных биомедицинских исследований с использованием УМС из зарубежной и российской практики.

2. Направления использования УМС в биомедицине

Прежде чем приводить примеры использования радиоуглеродного анализа в биомедицинских исследованиях, нельзя не упомянуть об уникальном явлении, случившемся на Земле впервые за последние как минимум 50 тысяч лет. Это резкое двукратное повышение уровня радиоуглерода в биосфере в результате интенсивных ядерных испытаний в период холодной войны⁴, в т. ч. зарегистрированное в годичных кольцах деревьев с 1955 г., и экспоненциальный спад концентрации ^{14}C , начиная с 1963 г., после подписания ведущими странами – СССР, США и Великобританией – Договора о запрещении испытаний ядерного оружия в атмосфере, космическом пространстве и под водой (Московского договора) [3,17]. В 2005 г. международная группа ученых из Швеции и США предложила использовать эту непроизвольную радиоуглеродную метку для исследования времени жизни различных клеток в организме человека, измеряя концентрацию радиоуглерода в генетическом материале клеток с помощью УМС [18]. Они выделили ДНК из клеток кишечника, коры головного мозга и мозжечка взрослых людей и показали, что время жизни неэпителиальных клеток кишечника составляет 15,9 лет, а содержание радиоуглерода в клетках мозжечка соответствует уровню года рождения человека, имеющего возраст 34,8 лет, при этом клетки коры головного мозга оказались существенно моложе клеток мозжечка (более чем на 5 лет), тем самым демонстрируя более высокую скорость регенерации клеток.

В настоящее время основные медицинские направления использования УМС – это получение массового баланса ксенобиотика или разрабатываемого лекарственного средства во время клинических испытаний [19], в т. ч. в исследованиях ADME (absorption, distribution, metabolism, and excretion) или AME (absorption, metabolism, and excretion) [20, 21]; профилирование метаболитов при сочетании с методом ВЭЖХ [22], т. е. получение прямых данных о метаболизме лекарственного средства или ксенобиотика [23]; исследование фармакокинетики ксенобиотика или лекарственных препаратов на ранних стадиях разработки с

² <https://www.nsu.ru/n/research/divisions/physics/3004154/>

³ <https://radiocarbon.webhost.uits.arizona.edu/node/11>

⁴ <https://www.youtube.com/watch?v=LLCF7vPanrY>

помощью метода микродоз (1/100 от дозы, обеспечивающей фармакологическое действие, или менее 100 мкг) [23–27]; определение уровня цитотоксичности вещества, в частности, подбор лекарственной дозы в противораковой терапии [28, 29].

2.1 Определение массобаланса и исследования ADME/AME

Раннее выявление свойств абсорбции, распределения, метаболизма и выделения (ADME) молекулы-кандидата нового лекарства имеет решающее значение для его успешной разработки. Исследование массобаланса с использованием радиоактивно меченных молекул широко используется для определения степени абсорбции и распределения по метаболитам, для исследования маршрутов выделения, а также для выявления циркуляторных и экскреторных метаболитов [19]. Обычно такие исследования сначала проводят на лабораторных животных – крысах, однако результаты, полученные на крысах, не всегда можно перенести на человека, поскольку метаболизм веществ у людей сложнее и более изменчивый, чем у селекционных лабораторных животных. Люди и крысы имеют различную регуляцию желчных кислот, у крыс отсутствует желчный пузырь и имеется ряд других анатомических отличий, поэтому лекарства, которые преимущественно выводятся с желчью, имеют разные фармакокинетические (ФК) характеристики у крыс и людей. Кроме того, при выявлении массобаланса у животных используется высокая радиоактивность, например, 1–2 МБк для крыс или 5–10 МБк для собак, непригодные для систематических исследований на человеке. При испытаниях меченого лекарственного препарата на людях большую популярность приобрел метод *microtracing*, когда радиоактивность препарата, вводимого в человека в фармакологической дозе, составляет менее 1000 нКи или 0,037 МБк. При этом концентрация метки в собранных образцах может быть надежно определена только с помощью ускорительной масс-спектрометрии [30].

Корейские авторы [19] применили данный подход для исследований массобаланса KD101, единственного изомера эфирного масла [(-)- α -цедрен], выделяемого из *Juniperus virginiana* (кедрового дерева), который находится в фазе клинических испытаний для лечения ожирения у людей. Профили абсорбции, метаболизма и выделения KD101 были оценены с помощью УМС на людях после однократного перорального введения KD101 в дозе 400 мг совместно с микродозой ^{14}C -KD101 ~35,2 мкг при общей радиоактивности 6,81 кБк. Среднее общее восстановление введенной радиоактивности составило 85,2 % с преимущественной экскрецией с мочой (78,0 %) в течение 48 часов после приема препарата. Отмечена существенная разница с метаболизмом KD101 у крыс, у которых восстановление радиоактивности составило 97,6 %, при этом только 28,7 % выводилось с мочой и 66,4 % – с калом. На основании исследования авторами [19] предложены маршруты абсорбции, метаболизма и выделения KD101 у крыс и людей, необходимые для дальнейшего внедрения лекарства.

В работе [21] изучали абсорбцию, метаболизм и выведение омариглиптина (MARIZEV®) – ингибитора ДПП-4, одобренного в Японии для лечения сахарного диабета 2 типа, путем приема один раз в неделю. Эксперимент проводили следующим образом: шесть здоровых добровольцев получили однократно перорально дозу 25 мг (2,1 мКи) [^{14}C]-омариглиптина, и затем в течение 20 дней отбирались образцы крови, плазмы, мочи и кала, концентрацию ^{14}C в которых определяли методом УМС. Выяснилось, что [^{14}C]-омариглиптин быстро всасывался, пиковые концентрации в плазме наблюдались через 0,5–2 часа после приема. Большая часть ^{14}C была выделена с мочой (~74,4 %), меньшая часть выводилась с калом (~3,4 %). Омариглиптин был основным компонентом мочи (~89 % радиоактивности мочи), что указывает на почечную экскрецию неизмененного

препарата в качестве основного механизма клиренса, на омариглиптин приходилась почти вся циркулирующая радиоактивность в плазме [21].

2.2. Профилирование метаболитов

В конце 90-х гг. появилась идея объединения УМС и ВЭЖХ, успешную реализацию которой продемонстрировали в работе [31]. Она была посвящена изучению метаболитов атразина – гербицида из класса хлортриазинов (используется для борьбы с широколиственными сорняками), выделенных с мочой после введения вещества взрослым мужчинам-добровольцам путем кожной аппликации. ВЭЖХ использовалась для выяснения времени выхода возможных метаболитов из хроматографической колонки и получения спектра идентифицированных веществ из модельной смеси, а также для разделения экспериментальных смесей, получаемых из образцов мочи. Метод УМС использовали для количественной оценки метаболитов атразина по спектру, получаемому на той же колонке и в тех же условиях, но не путем регистрации УФ-поглощения, а путем измерения соотношения $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ в зависимости от времени выхода вещества при введении исходного вещества в недетектируемой ВЭЖХ дозе. Меченый в кольцевых положениях ^{14}C -атразин наносился на 24 часа в виде кожного пластыря добровольцам в низкой (0,167 мг, 6,45 мкКи) и высокой (1,98 мг, 24,7 мкКи) дозах, моча собиралась в течение 7 дней. Оказалось, что меркаптуратные метаболиты атразина и деалкилированный атразин доминировали в ранний период метаболизма и составляли примерно 90 % ^{14}C в моче, при этом исходное вещество не выделялось. Со временем метаболиты атразина становились более полярными, и был зафиксирован неидентифицированный полярный метаболит, присутствовавший во всех образцах через несколько дней после воздействия. Таким образом, была продемонстрирована прекрасная возможность с помощью УМС и ВЭЖХ проводить мониторинг ксенобиотиков и лекарственных препаратов, попадающих в организм в ничтожных нерегистрируемых традиционными методами дозах. Идея получила широкое развитие и в настоящее время используется в различных направлениях биологического, медицинского и экологического профиля [6, 24].

2.3. Метод микродозирования

В прошлом веке клинические этапы испытаний новых разрабатываемых лекарств отличались непроизводительностью и требовали больших расходов. Вывод нового лекарства на рынок занимал 10–12 лет с момента открытия молекулы и стоил от 0,8 до 1,2 млрд долл. США [25]. Особую трудность вызывала разработка лекарств для лечения заболеваний центральной нервной системы и противораковых препаратов. Около 80 % разрабатываемых лекарств не доходили до коммерческого продукта из-за проблем с эффективностью, безопасностью или токсичностью. Для преодоления данной проблемы было предложено использовать на ранних стадиях разработки лекарственного средства (перед началом фазы-1 клинических испытаний) метод микродозирования непосредственно на людях-добровольцах, при котором вводят субфармакологическую дозу – 1/100 от дозы, обеспечивающей фармакологическое действие, или менее 100 мкг. С одной стороны, такие малые дозы могут считаться безопасными для здоровья человека, а с другой – дают раннее представление о реакции человеческого организма к соединениям-кандидатам и могут повысить продуктивность разработки лекарств. После проведения тщательных исследований метода микродозирования на ряде веществ страны Евросоюза и США ввели рекомендации к его использованию при разработке новых лекарственных средств с 2004 и 2006 г. соответственно [32, 33]. Очевидно, что метод УМС предоставляет

уникальные аналитические возможности при использовании микродозирования. Применимость методов была продемонстрирована при выполнении крупных международных проектов, в которых участвовали фармацевтические компании, научно-исследовательские институты и университеты: Consortium for Resourcing and Evaluating AMS Microdosing (CREAM) и EU Microdosing AMS Partnership Programme (EUMAPP) [25].

2.4. Определение уровня цитотоксичности

В Ливерморской национальной лаборатории Лоуренса объединили систему УМС-анализа углекислого газа с комплексом ВЭЖХ для оценки степени связывания лекарственного средства с мишенью в качестве биомаркера ответа на химиотерапию [29]. Объединение УМС-анализа CO_2 и ВЭЖХ позволило разделить жидкую смесь на компоненты, получить чистый углекислый газ из каждого отдельного компонента и провести УМС-анализ ^{14}C в количестве $50 \cdot 10^{-21}$ моль ($7 \cdot 10^{-19}$ г), т. е. около 1 мкг компонента, с точностью не ниже $\pm 5\%$.

Препараты платины цисплатин, карбоплатин и оксалиплатин относятся к числу часто назначаемых химиотерапевтических препаратов и используются против широкого спектра опухолей, таких как рак мочевого пузыря, легких, яичников и толстой кишки. Однако эффективность химиотерапии на основе платины ограничена из-за серьезных побочных эффектов и врожденной или приобретенной лекарственной устойчивости. До настоящего времени клинически полезные тесты для прогнозирования резистентности организма до начала химиотерапии практически отсутствовали. Основным механизмом действия препаратов платины является ковалентная модификация (повреждение) геномной ДНК (формирование аддуктов), которая инициирует гибель клеток посредством индукции апоптоза или некроза (рис. 1).

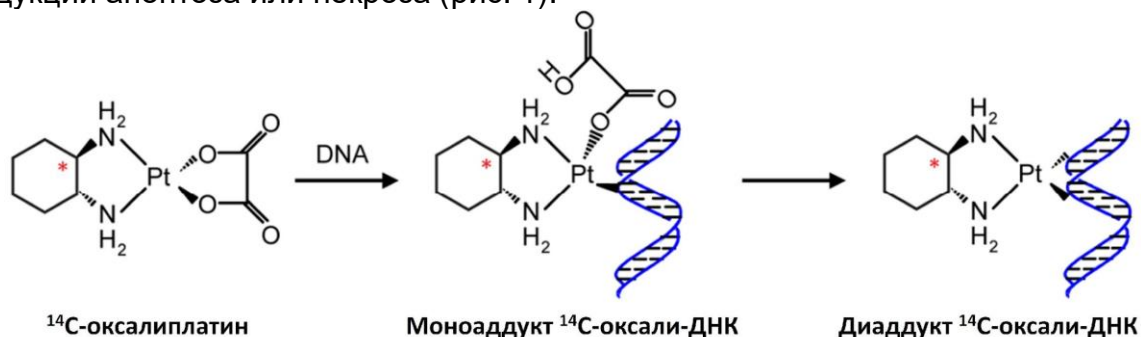


Рисунок 1. Схема формирования аддуктов препарата платины с ДНК, приводящих к гибели клетки [29]

Количественная оценка концентрации аддуктов дает важнейшую информацию о цитотоксичности препарата. Однако из-за недостаточной чувствительности имеющихся стандартных методов обнаружения (например, ИСП-МС и иммуноанализ) уровень аддуктов в клетках измеряется только после воздействия высоких, терапевтически значимых концентраций лекарственных средств. Применяя УМС, ввели в медицинскую практику подход, называемый диагностическим микродозированием, который позволяет изучать фармакокинетику и фармакодинамику платиновых препаратов после введения субтерапевтических доз, не оказывающих побочного воздействия на организм. С помощью УМС можно измерить одну молекулу лекарства, меченную ^{14}C , связанную с ДНК из 10^8 нуклеотидов, причем предел обнаружения – один аддукт на 10^{12} нуклеотидов.

Процедура диагностической методики заключается в следующем. Пациентам с раком вводят одну микродозу ^{14}C -меченого карбоплатина – в 100 раз ниже ожидаемой терапевтической дозы. Образцы крови и тканей отбирают в течение 24 часов и определяют уровень аддукта карбоплатин-ДНК с помощью УМС. Повышая дозу, определяют уровень побочных реакций и степень разрушения опухоли. Такой подход позволяет подобрать действенную дозу токсичного препарата, минимизируя вредные побочные эффекты лекарства [29].

В работе 2021 г. [28] представлены результаты использования УМС для количественной оценки включения азациитидина (Aza) в ДНК и РНК в клетках острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) человека, костного мозга мыши (КМ) и мононуклеарах периферической крови (МКПК). Азациитидин, аналог нуклеозида цитидина, используется для лечения миелодиспластических синдромов (МДС) и ОМЛ. УМС-метод позволил количественно определить всего одну молекулу азациитидина, включенную в ДНК МКПК, из примерно $2 \cdot 10^7$ нуклеотидов. На лабораторных мышах *in vivo* был установлен нижний предел количественного определения азациитидина, включенного в ДНК/РНК в МКПК ($\sim 3,7 \cdot 10^5$) и КМ ($\sim 27,8$ мг), собранных через 24 часа после введения дозы, равной 18 нКи/мышь (1 мг/кг азациитидина). Нижний предел обнаружения для анализа МКПК составил 2,5 пикограмма на микрограмм (пг-экв/г) ДНК и 0,22 пг-экв/г РНК, а для анализа КМ – 1,7 пг-экв/г ДНК и 0,22 пг-экв/г РНК. Была установлена линейная зависимость УМС-сигнала (т. е. отношения $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ в диапазоне от $2,45 \cdot 10^{-11}$ до $2,50 \cdot 10^{-10}$) от дозы препарата ^{14}C -Aza, включенного в ДНК КМ мыши, в диапазоне от 17 до 188 нКи/мышь. Предложено использовать данный метод для непосредственного измерения включения азациитидина в ДНК и РНК из МКПК и КМ пациентов для оптимизации дозирования и оценки взаимодействия с мишенью, при этом для анализа требуется всего ~ 5 мл цельной крови и ~ 3 мл костного мозга пациентов.

Таким образом, применение УМС является новым и весьма действенным подходом к сбору ключевой информации по фармакокинетике и метаболизму лекарственных средств на ранних стадиях их разработки. Можно получать основные фармакокинетические параметры клиренса, объем распределения и абсолютную биодоступность для исходного препарата и его метаболитов, не проводя длительные и дорогостоящие доклинические исследования на животных. Еще одним достоинством количественной оценки метаболизма препарата у человека является получение надежных данных о механизмах превращения и выведения чужеродного вещества, а также возможность синтеза метаболитов и их тестирования безопасности на самых ранних стадиях разработки.

3. Биомедицинские эксперименты на УНУ УМС ИЯФ СО РАН

Наши исследования с помощью УМС по биомедицинскому направлению начались с анализа динамики распределения ^{14}C после внутрибрюшинного введения меченого метанола лабораторным мышам. Кинетика выведения метанола и его метаболитов из различных органов мышей была получена путем УМС-анализа графитизированных образцов печени, почек и головного мозга мышей. После введения 20 мкл метанола с радиоактивностью 20 Бк концентрация радиоуглерода в печени оставалась стабильно высокой (400–500 мг/кг) на протяжении всего времени испытаний, тогда как в мозге это значение снижалось до 20 мг/кг в течение 24 часов. Кинетика выведения метанола и его метаболитов из почек была медленнее, чем в головном мозге: до уровня 100 мг/кг за 24 ч (рис. 2).

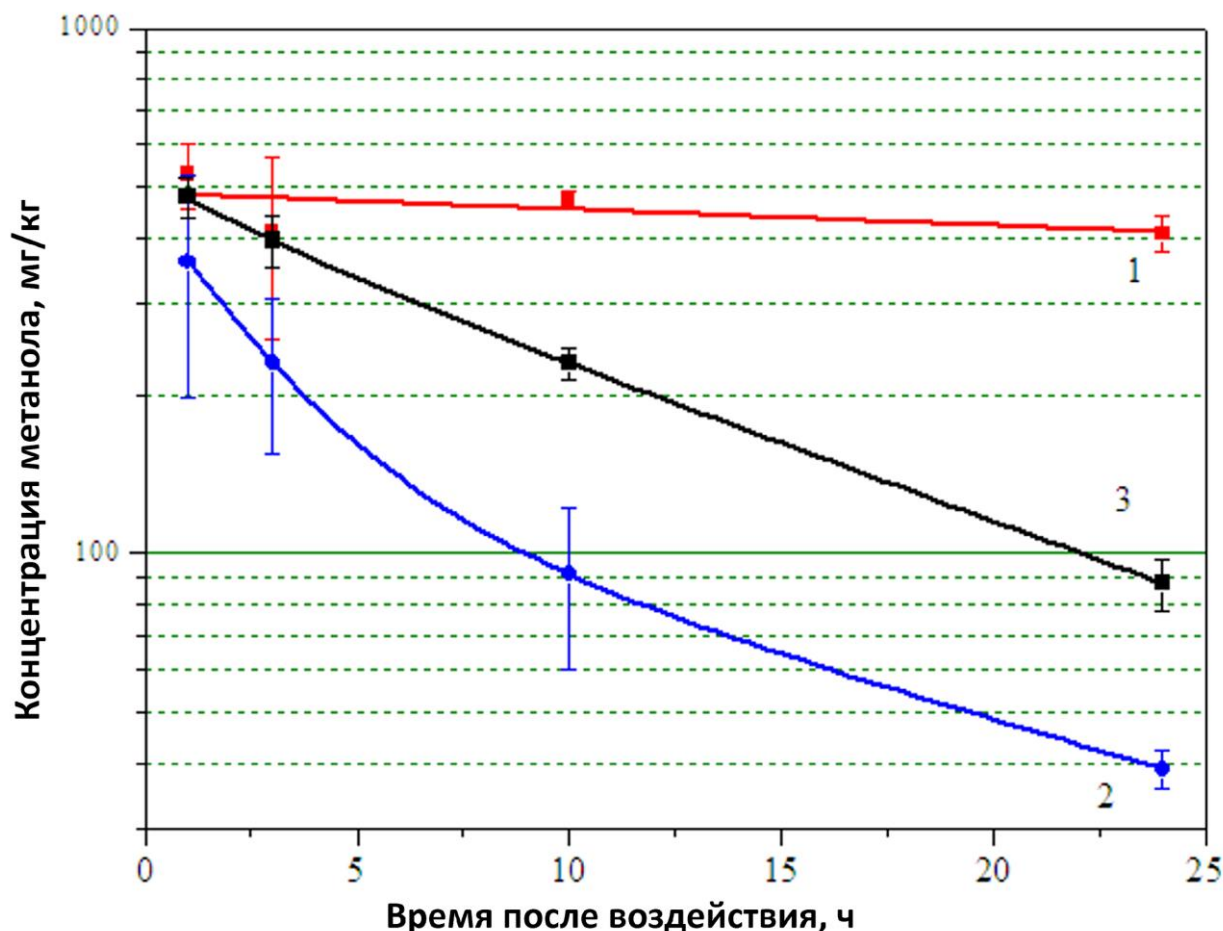


Рисунок 2. Изменение концентрации метанола и его метаболитов в печени (1), мозге (2) и почках (3) лабораторных мышей (самцы мышей линии СВА массой 23–25 г из инкубатория ФГБНУ НИИ фундаментальной и клинической иммунологии) после однократного внутрибрюшинного введения ^{14}C -метанола

В 2016 г. мы провели мультидисциплинарное исследование с привлечением сотрудников и ресурсов шести организаций Академгородка г. Новосибирска по воздействию аэрозольных частиц на живой организм и проникающей способности частиц органического происхождения разного размера при их низких концентрациях в воздухе [13, 14]. Вследствие малых размеров частиц (менее 10 мкм) и малого количества вдыхаемых (10^3 – 10^5 шт/см 3 , <100 мкг/м 3) или вводимых (10^{-6} – 10^{-8} г на 1 г органа) частиц прямые исследования инородных частиц в живых организмах методами хроматографии, электронной, флуоресцентной микроскопии, ЯМР и масс-спектрометрии крайне осложнены или невозможны из-за недостаточной чувствительности методов. Сложность прямого определения содержания органических частиц в организме вынуждает исследователей использовать слишком большие дозы вещества и/или вводить частицы в условиях, значительно отличающихся от наблюдаемых или применяемых в действительности, например, внутривенно или под повышенным давлением непосредственно в дыхательные пути. Очевидно, что результаты испытаний новых лекарственных препаратов и исследований воздействия аэрозолей в таких условиях могут значительно отличаться от результатов, наблюдаемых при практическом использовании лекарств и в реальных условиях воздействия аэрозолями.

С использованием УМС мы предложили прямое определение ультрамалого содержания инородных нано- и микрочастиц в биологических тканях, позволяющее проводить испытания новых лекарств и исследования воздействия аэрозолей на

живые организмы в естественных условиях. Для этого из меченого метанола был синтезирован меченый стирол, который подвергся полимеризации с получением меченых монодисперсных микросфер – полистирольных (ПС) частиц, которые, в свою очередь, послужили источником аэрозоли для воздействия на лабораторных мышей (рис. 3) [14]. Были проведены две серии экспериментов: в первой серии получены микросферы размером около 220 нм, во второй – около 80 нм, в обоих случаях с активностью 600 кБк/г, и в обеих сериях мыши подвергались аэрозольному воздействию в течение 5 дней по 30 мин. в день.

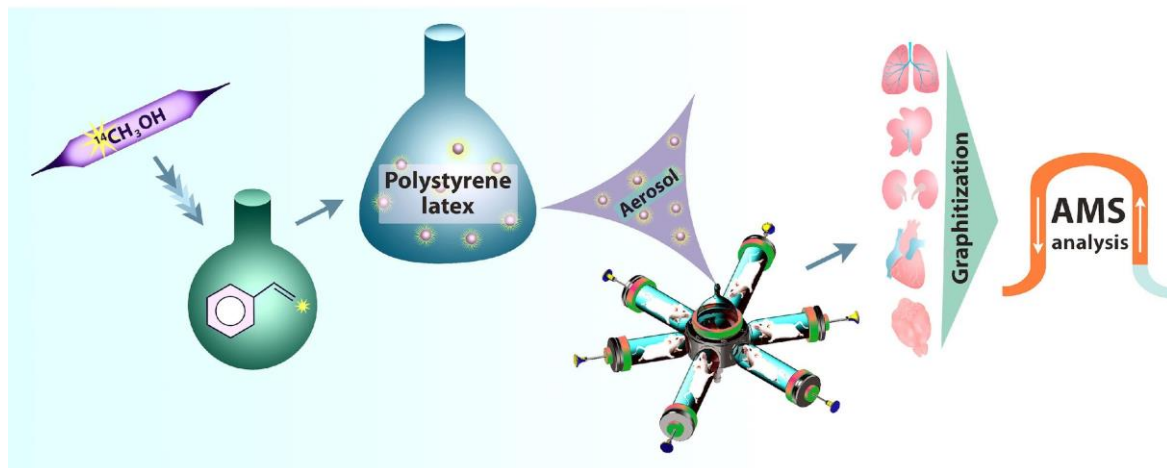


Рисунок 3. Схема проведенных экспериментов по изучению воздействия полистирольных микросфер на органы лабораторных мышей при их вдыхании в естественных условиях (авторы выражают благодарность К. А. Бабиной за создание рисунка)

Результаты УМС-анализа органов мышей в первой серии экспериментов показали повышенное относительное содержание радиоуглерода в легких и печени: $0,18 \pm 0,02$ и $0,10 \pm 0,02$ соответственно. Данное превышение означает, что в 1 г легких и печени находилось около 10^{-8} г ПС частиц, а суммарное количество меченых ПС частиц, введенных ингаляционным путем в экспериментальных мышей, составляло 10^7 шт. на 1 мышь. Во втором эксперименте оказалось, что через 6 месяцев после воздействия частицы обнаруживаются в легких, сердце, печени и мозге экспериментальных мышей. Суммарное количество введенных ингаляционным путем частиц в каждую мышь составило $6 \cdot 10^6$ шт.

Была предпринята попытка внедрения в медицинскую практику безвредного для человека способа обнаружения в организме бактерии *Helicobacter pylori*, вызывающей гастрит, язву желудка и другие подобные заболевания. Для анализа человеку дают выпить 5 мл раствора, полученного разведением медицинского препарата Уреакапс $14C^5$ в 500 мл дистиллированной воды (100-кратно меньшая доза, чем принимаемая пациентами при радиометрической диагностике *Helicobacter pylori*). Уреакапс $14C$, производимый ФГУП «НИФХИ им. Л. Я. Карпова», представляет собой капсулу с меченой мочевиной с активностью 37 кБк. Через 10 минут производится сбор углекислого газа из выдоха пациента, графитизация CO_2 и УМС-анализ полученного графита. Результаты проведенных экспериментов с участием 15 взрослых добровольцев, представленные на рис. 4, показывают достоверно различную активность бактерии в желудках разных людей – почти на два порядка, близость активности у супругов, имеющих значительный риск взаимного заражения, а также сходимость результатов, получаемых для одного человека, не высказывающего

⁵ <https://www.gosspravka.ru/lekarstva/ureakaps-14s.html>

жалобы на работу ЖКТ. Стоит отметить, что низкая радиоактивность медицинского препарата и простота процедуры графитизации углекислого газа позволяют проводить описанную диагностику безопасно для человека до 300 раз в год. Для внедрения описанного способа в медицинскую практику требуется прохождение множества длительных процедур сертификации, разработка тест-систем и организация механизма доставки проб на УМС-анализ, что потребует определенных инвестиций. С другой стороны, сейчас предлагается ряд других, более простых способов диагностики *Helicobacter pylori* – от традиционного зондирования до аммиачного дыхательного теста, поэтому при текущем уровне медицинской диагностики такие инвестиции могут показаться нецелесообразными.

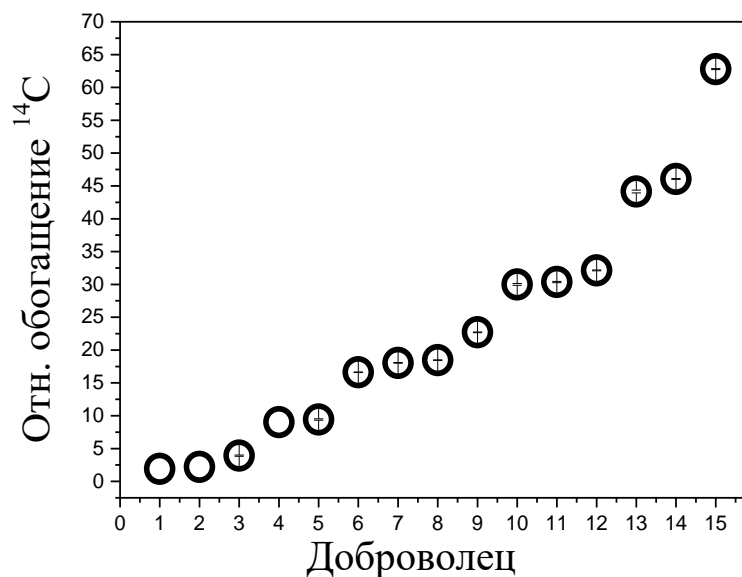


Рисунок 4. Результаты УМС-анализа превышения ^{14}C относительно фонового значения ($^{14}\text{C}_{\text{образец}}/^{14}\text{C}_{\text{фон}}$) в выдохе человека через 10 мин. после приема 5 мл 100-кратно разбавленного водой препарата Уреакапс ^{14}C . Доброволец под номерами 2 и 4 – Е. В. Пархомчук в 2013 и 2015 гг. соответственно. Добровольцы 11, 13 и 12, 14 – две супружеские пары

К недавним работам относится разработка нового метода диагностики вирус-клеточного взаимодействия на примере вируса гриппа А с введенной меткой радиоуглерода ^{14}C [15], подробно описанного Е. А. Прокопьевой в этом же номере журнала. Отличием данного метода диагностики является возможность проведения подсчета сверхнизкого количества вирионов в вируссодержащей жидкости, а также определение числа проникших вирусных частиц в любые ткани, инфицированные вирусами. Предложенный метод применим в исследованиях механизмов развития высоколетальной инфекции, а также в разработке онколитических вирусов.

4. Заключение

Уникальные возможности ускорительной масс-спектрометрии уже двадцать лет активно используются за рубежом в исследованиях биологической и медицинской направленности, в т. ч. при комбинировании метода с другими современными аналитическими подходами. К настоящему моменту накоплен большой массив данных о применении УМС в клинических испытаниях лекарств и других ксенобиотиков, на рынок поступают новые лекарства, разработанные с использованием УМС, и раковые больные получают персонализированную

медицинскую помощь. С момента запуска первого УМС в России спрос на УМС-исследования значительно возрос. В Новосибирске в ЦКП «УМС НГУ-ННЦ» в непрерывном режиме работают два ускорительных масс-спектрометра и две системы графитизации образцов, проводятся работы с мечеными радиоуглеродом соединениями, поэтому есть возможность внедрения инновационной технологии в фармакологическую и медицинскую практику.

5. Благодарности

Авторы признательны М. А. Кулешовой за аккуратную работу с навесками образцов, С. А. Растигееву за участие в измерениях на УНУ УМС ИЯФ на ранних этапах, а также всем студентам и аспирантам, принимавшим участие в работах на УМС. Помимо госзаданий указанных в аффилиации организаций, дополнительное финансирование работ на УМС в 2014–2020 гг. осуществлялось по программе «ТОП-5-100» НГУ, в 2022 г. – по программе «Приоритеты-2030», работа М. А. Кулешовой и Д. В. Кулешова в 2022 г. осуществлялась по проекту № FSUS-2020-0036 (БЧ-2020-0036) госзадания НГУ.

6. Список литературы

1. Hans-Arno Synal. Developments in accelerator mass spectrometry // *International Journal of Mass Spectrometry*. 2013. Vol. 349–350. P. 192-202.
2. Walter Kutschera. Applications of accelerator mass spectrometry // *International Journal of Mass Spectrometry*. 2013. Vol. 349–350. P. 203–218
3. Назаров Е.И., Кружалов А.В., Екидин А.А., Васянович М.Е., Пархомчук В.В., Растигеев С.А., Калинин П.Н., Пархомчук Е.В. Приборы и методы измерения ^{14}C (обзор) // *Приборы и техника эксперимента*. 2021. №6. С.8-14.
4. Mehran Salehpour, Karl Håkansson, Göran Possnert. Accelerator mass spectrometry of ultra-small samples with applications in the biosciences // *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 2013. Vol. 294. P. 97-103.
5. LT Vuong, AB Blood, JS Vogel, ME Anderson, B Goldstein. Applications of accelerator MS in pediatric drug evaluation // *Bioanalysis*. 2012. Vol. 4, Iss. 15. P. 1871–1882.
6. Le Thuy Vuong, Qi Song, Hee Joo Lee, Ad F Roffel, Seok-Ho Shin, Young G Shin, Stephen R Dueker. Opportunities in low-level radiocarbon microtracing: applications and new technology // *Future Sci. OA*. 2016. Vol. 2, Iss. 1. FSO74.
7. Graham Lappin, Lloyd Stevens Biomedical accelerator mass spectrometry: recent applications in metabolism and pharmacokinetics // *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. 2008. Vol. 4, Iss. 8. P. 1021-2033.
8. Ali Arjomand. Accelerator mass spectrometry-enabled studies: current status and future prospects // *Bioanalysis*. 2010. Vol. 2, Iss. 3. P. 519–541.
9. Алиновский Н.И., Гончаров А.Д., Ключев В.Ф., Ключев В.Ф., Константинов С.Г., Константинов Е.С., Крючков А.М., Пархомчук В.В., Петриченко М.В., Растигеев С.А., Рева В.Б.. Ускорительный масс-спектрометр СО РАН // *Журнал технической физики*. 2009. Т. 79, № 9. С. 107-111.
10. Lysikov A.I., Kalinkin P.N., Sashkina K.A., Okunev A.G., Parkhomchuk E.V., Rastigeev S.A., Parkhomchuk V.V., Kuleshov D.V., Vorobyeva E.E., Dralyuk R.I. Novel Simplified Absorption-Catalytic Method of Sample Preparation for AMS Analysis Designed at the Laboratory of Radiocarbon Methods of Analysis (LRMA) in Novosibirsk Akademgorodok // *International Journal of Mass Spectrometry*. 2018. V. 433. P. 11.
11. Wacker L., N`emec M., Bourquin J. A revolutionary graphitisation system: Fully automated, compact and simple // *Nuclear Instruments and Methods in Physics*

- Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms. 2010. Vol. 268. P. 931–934.
12. Aleksandr Sabrekov, Anatoly Prokushkin, Yuriy Litti, Mikhail Glagolev, Ekaterina Parkhomchuk, Alexey Petrozhitskii, Peter Kalinkin, Dmitry Kuleshov, Irina Terentieva. Shallow aquifers as an element of methane biogeochemical cycle in West Siberia // *Материалы конференции EGU General Assembly 2022, 23–27 May, Vienna, Austria.*
 13. Parkhomchuk E.V., Prokopyeva E.A., Gulevich D.G., Taratayko A.I., Baklanov A.M., Kalinkin P.N., Rastigeev S.A., Kuleshov D.V., Sashkina K.A., Parkhomchuk V.V. Ultrafine Organic Aerosol Particles Inhaled by Mice at Low Doses Remain in Lungs More than Half an Year // *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals.* 2019. V.62. NS11. P.785-793.
 14. Parkhomchuk E.V., Gulevich D.G., Taratayko A.I., Baklanov A.M., Selivanova A.V., Trubitsyna T.A., Voronova I.V., Kalinkin P.N., Okunev A.G., Rastigeev S.A., Reznikov V.A., Semeykina V.S., Sashkina K.A., Parkhomchuk V.V. Ultrasensitive Detection of Inhaled Organic Aerosol Particles by Accelerator Mass Spectrometry // *Chemosphere.* 2016. V.159. P.80-88.
 15. Прокопьева Е.А., Пархомчук Е.В., Соболев И.А., Шестопалов А.М. Разработка нового метода диагностики вирус-клеточного взаимодействия с помощью ускорительной масс-спектрометрии // *Современные проблемы науки и образования.* 2019. №1. С.12-.
 16. Патенты РФ: RU2638820C1, опубликован 15 дек. 2017 г., Заявка 2016143497 от 3 нояб. 2016 г; RU2617364C1, опубликован 24 апр. 2017 г., Заявка 2015148457 от 11 нояб. 2015 г.; RU2560066C1, опубликован 20 авг. 2015 г., Заявка 2014121959/13 от 29 мая 2014 г; RU2574738C2, опубликован 10 февр. 2016 г., Заявка 2014120119/13 от 19 мая 2014 г
 17. Е.И. Назаров А.В. Кружалов М.Е. Васянович А.А. Екидин В.В. Кукарских Е.В. Пархомчук А.В. Петрожицкий В.В. Пархомчук. 14C в годичных кольцах деревьев в районе расположения объектов использования атомной энергии // *Известия вузов. Ядерная энергетика.* 2022. №1. С. 107-117.
 18. K.L. Spalding, Ratan D. Bhardwaj, Henrik Druid, Jonas Frisén. Retrospective birth dating of cells in humans // *Cell.* 2005. Vol. 122. P. 133–143.
 19. Anhye Kim, Stephen R. Dueker, Jun Gi Hwang, Jangsoo Yoon, Sang-Won Lee, Hye Suk Lee, Byung-Yong Yu, Kyung-Sang Yu, Howard Lee. An Investigation of the Metabolism and Excretion of KD101 and Its Interindividual Differences: A Microtracing Mass Balance Study in Humans // *Clinical and Translational Science.* 2021. Vol. 14. P. 231–238.
 20. Douglas K. Spracklin, Danny Chen, Arthur J. Bergman, Ernesto Callegari, R. Scott Obach. Mini-Review: Comprehensive Drug Disposition Knowledge Generated in the Modern Human Radiolabeled ADME Study // *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology.* 2020. Vol. 9. P. 428–434.
 21. Shiyao Xu, Dan Tatosian, Ian Mcintosh, Maria Caceres, Catherine Matthews, Koppa Samuel, Diana Selverian, Sanjeev Kumar & Eunkyung Kauh. Absorption, Metabolism and Excretion of [14C]Omarigliptin, a Once-Weekly DPP-4 Inhibitor, in Humans // *Xenobiotica.* 2018. Vol. 48, Iss. 6. P. 584-591.
 22. M.A Seymour. Accelerator MS: its role as a frontline bioanalytical technique // *Bioanalysis.* 2011. Vol. 3, Iss. 24. P. 2817–2823.
 23. Muhammad Waqas Sadiq, Mehran Salehpour, Niklas Forsgard, Goran Possnert, Margareta Hammarlund-Udenaes. Morphine Brain Pharmacokinetics at Very Low Concentrations Studied with Accelerator Mass Spectrometry and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry // *Drug metabolism and disposition.* 2011. Vol. 39. P. 174–179.

24. Michael A. Malfatti, Bruce A. Buchholz, Heather A. Enright, Benjamin J. Stewart, Ted J. Ognibene, A. Daniel McCartt, Gabriela G. Loots, Maike Zimmermann, Tiffany M. Scharadin, George D. Cimino, Brian A. Jonas, Chong-Xian Pan, Graham Bench, Paul T. Henderson, Kenneth W. Turteltaub. Radiocarbon Tracers in Toxicology and Medicine: Recent Advances in Technology and Science // *Toxics*. 2019. Vol. 7, Iss. 27. P.1-22.
25. R Colin Garner. Practical experience of using human microdosing with AMS analysis to obtain early human drug metabolism and PK data // *Bioanalysis*. 2010. Vol. 2, Iss. 3. P. 429–440.
26. G. Lappin, C. C. Wagner, O. Langer, N. van de Merbel. New ultrasensitive detection technologies and techniques for use in microdosing studies // *Bioanalysis*. 2009. Vol. 1, Iss. 2. P. 357–366.
27. Soo Kyung Bae, Ji-Hong Shon. Microdosing Studies Using Accelerated Mass Spectrometry as Exploratory Investigational New Drug Trials // *Archives of Pharmacal Research*. 2011. Vol. 34, No 11. P. 1789-1797.
28. Xiaomin Wang, Wouter H.J. Vaes, Esther van Duijn, Irene Nooijen, Zeen Tonga, Daniel Lopes de Menezes, Stephen E. Maxwell. Quantification of azacitidine incorporation into human DNA/RNA by accelerator mass spectrometry as direct measure of target engagement // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2021. Vol. 202, Iss. 114152. P. 1-8.
29. Heather A. Enright, Michael A. Malfatti, Maike Zimmermann, Ted Ognibene, Paul Henderson, Kenneth W. Turteltaub. Use of Accelerator Mass Spectrometry in Human Health and Molecular Toxicology // *Chemical Research in Toxicology*. 2016. Vol. 29, Is. 12. P. 1976–1986.
30. Iyer GR, Patel Y, Teuscher NS. A novel study using accelerated mass spectrometry to evaluate the pharmacokinetics of total ¹⁴C AL-8309 (Tandospirone) following topical ocular administration in healthy male subjects // *Clinical Pharmacology in Drug Development*. 2012. Vol. 1, Iss.1. P. 4–13.
31. Bruce A. Buchholz et al. HPLC-Accelerator MS Measurement of Atrazine Metabolites in Human Urine after Dermal Exposure // *Analytical Chemistry*. 1999. Vol. 71. P. 3519-3525.
32. EMEA, Position Paper on Non-clinical Safety Studies to Support Clinical Trials with a Single Microdose. Position paper CPMP/SWP/2599, 23 June 2004.
33. Food and Drug Administration US Department of Health and Human Services Guidance for Industry Investigators and Reviewers. Exploratory IND Studies. January 2006.

Сведения об авторах:

Пархомчук Екатерина Васильевна, Новосибирский государственный университет, кандидат химических наук, директор ЦКП «УМС НГУ-ННЦ», 630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2, ekaterina@catalysis.ru

Петрожицкий Алексей Валентинович, Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН, научный сотрудник, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 11.

Игнатов Михаил Михайлович, Институт археологии и этнографии СО РАН, ведущий инженер, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 17.

Кулешов Дмитрий Викторович, Новосибирский государственный университет, ЦКП «УМС НГУ-ННЦ», инженер, 630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2.

Калинкин Петр Николаевич, Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, научный сотрудник, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 5.

Прокопьева Елена Александровна, Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, 630017, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2.

Кутнякова Любовь Александровна, Институт археологии и этнографии СО РАН, младший научный сотрудник, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 17.

Пархомчук Василий Васильевич, Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН, доктор физико-математических наук, академик РАН, 630090, г.Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 11.

ACCELERATOR MASS SPECTROMETRY FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS (SHORT REVIEW)

E. V. Parkhomchuk^{1,3,4}, A. V. Petrozhitskii^{1,2,3}, M. M. Ignatov^{1,3}, D. V. Kuleshov^{1,3},
P. N. Kalinkin⁴, E. A. Prokopyeva^{1,2}, L. A. Kutnyakova³, V. V. Parkhomchuk^{1,2}

¹ *Novosibirsk State University, AMS Golden Valley, Novosibirsk, Russian Federation, 630090*

² *Budker Institute of Nuclear Physics SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation, 630090*

³ *Institute of Archaeology and Ethnography SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation, 630090*

⁴ *Boreskov Institute of Catalysis SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation, 630090*

⁵ *Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia*

Biomedical applications of the ¹⁴C accelerator mass spectrometry method are presented: mass balance determination and ADME/AME studies; drug metabolites or xenobiotics profiling in combination with the HPLC method; xenobiotics or drugs pharmacokinetics study in the early stages of development using the microdose method; cytotoxicity level determination of substances. Examples of biomedical experiments at the Unique Scientific Facility AMS BINP SB RAS are given: ¹⁴C-labeled methanol and its metabolites excretion kinetics study from mice various organs; study of the aerosol particles impact on a living organism, in case of various sizes polystyrene ¹⁴C labeled microspheres at low concentrations; method of detecting Helicobacter pylori using ¹⁴C labeled urea is tested; a method for recording ultra-low concentrations of viruses is proposed.

The capabilities of radiocarbon AMS detection are one ¹⁴C atom per 10¹²-10¹⁵ ¹²C atoms. This high sensitivity makes it possible to shift the detection threshold of ¹⁴C labeled substances of interest to lower concentrations, inaccessible to the state of art methods used previously. Therefore, the possibility to use of drugs in subpharmacological doses opens up. On the one hand, such small doses can be considered to be safe for human health, and on the other hand, they give an early overview of the human body reaction to substances of interest. At the same time, the labeled drugs radioactivity, required for accurate AMS registration, is several times lower than the natural radiation level. Thus, it does not pose a threat to the human health. The use of radiocarbon AMS in biomedicine reduces drug development time.

Keywords: accelerator mass spectrometry, radiocarbon, biomedicine, ADME/AME studies, metabolite profiling, microdosing, cytotoxicity

References

1. Hans-Arno Synal. Developments in accelerator mass spectrometry // *International Journal of Mass Spectrometry*. 2013. Vol. 349–350. P. 192-202.
2. Walter Kutschera. Applications of accelerator mass spectrometry // *International Journal of Mass Spectrometry*. 2013. Vol. 349–350. P. 203–218.
3. Nazarov E.I., Kruzhalov A.V., Ekin A.A., Vasyanovich M.E., Parkhomchuk V.V., Rastigeev S.A., Kalinkin P.N., Parkhomchuk E.V. Instruments and Methods for Measuring ¹⁴C (a Review) // *Instruments and Experimental Techniques*. 2021. V.64. N6. P.790–795.
4. Mehran Salehpour, Karl Håkansson, Göran Possnert. Accelerator mass spectrometry of ultra-small samples with applications in the biosciences // *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 2013. Vol. 294. P. 97-103.
5. LT Vuong, AB Blood, JS Vogel, ME Anderson, B Goldstein. Applications of accelerator MS in pediatric drug evaluation // *Bioanalysis*. 2012. Vol. 4, Iss. 15. P. 1871–1882.
6. Le Thuy Vuong, Qi Song, Hee Joo Lee, Ad F Roffel, Seok-Ho Shin, Young G Shin, Stephen R Dueker. Opportunities in low-level radiocarbon microtracing: applications and new technology // *Future Sci. OA*. 2016. Vol. 2, Iss. 1. FSO74.
7. Graham Lappin † & Lloyd Stevens Biomedical accelerator mass spectrometry: recent applications in metabolism and pharmacokinetics // *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. 2008. Vol. 4, Iss. 8. P. 1021-2033.
8. Ali Arjomand. Accelerator mass spectrometry-enabled studies: current status and future prospects // *Bioanalysis*. 2010. Vol. 2, Iss. 3. P. 519–541.
9. Alinovsky N.I., Goncharov A.D., Klyuev V.F., Klyuev V.F., Konstantinov S.G., Konstantinov E.S., Kryuchkov A.M., Parkhomchuk V.V., Petrichenkov M.V., Rastigeev S.A., Reva V.B. Accelerator mass-spectrometer SB RAS // *Journal of technical physics*. 2009. V. 79, No. 9. S. 107-111.
10. Lysikov A.I., Kalinkin P.N., Sashkina K.A., Okunev A.G., Parkhomchuk E.V., Rastigeev S.A., Parkhomchuk V.V., Kuleshov D.V., Vorobyeva E.E., Dralyuk R.I. Novel Simplified Absorption-Catalytic Method of Sample Preparation for AMS Analysis Designed at the Laboratory of Radiocarbon Methods of Analysis (LRMA) in Novosibirsk Akademgorodok // *International Journal of Mass Spectrometry*. 2018. V. 433. P. 11.
11. Wacker L., N`emec M., Bourquin J. A revolutionary graphitisation system: Fully automated, compact and simple // *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 2010. Vol. 268. P. 931–934.
12. Aleksandr Sabrekov, Anatoly Prokushkin, Yuriy Litt, Mikhail Glagolev, Ekaterina Parkhomchuk, Alexey Petrozhitskii, Peter Kalinkin, Dmitry Kuleshov, Irina Terentieva. Shallow aquifers as an element of methane biogeochemical cycle in West Siberia // *Материалы конференции EGU General Assembly 2022, 23–27 May, Vienna, Austria*.
13. Parkhomchuk E.V., Prokopyeva E.A., Gulevich D.G., Taratayko A.I., Baklanov A.M., Kalinkin P.N., Rastigeev S.A., Kuleshov D.V., Sashkina K.A., Parkhomchuk V.V. Ultrafine Organic Aerosol Particles Inhaled by Mice at Low Doses Remain in Lungs More than Half an Year // *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*. 2019. V.62. NS11. P.785-793.
14. Parkhomchuk E.V., Gulevich D.G., Taratayko A.I., Baklanov A.M., Selivanova A.V., Trubitsyna T.A., Voronova I.V., Kalinkin P.N., Okunev A.G., Rastigeev S.A., Reznikov V.A., Semeykina V.S., Sashkina K.A., Parkhomchuk V.V. Ultrasensitive Detection of Inhaled Organic Aerosol Particles by Accelerator Mass Spectrometry // *Chemosphere*. 2016. V.159. P.80-88.
15. Prokop'eva E.A., Parkhomchuk E.V., Sobolev I.A., Shestopalov A.M. Development of a

- new method for diagnosing virus-cell interaction using accelerator mass spectrometry // Modern problems of science and education. 2019. No. 1. pp.12-15.
16. Patent RU: RU2638820C1, 15/12/2017; RU2617364C1, 24/04/2017 г.; RU2560066C1, 20/08/2015 г.; RU2574738C2, 10/02/2016 г..
 17. Nazarov E.I. Kruzhalov A.V. Vasyanovich M.E. Ekidin A.A. Kukarskikh V.V. Parkhomchuk E.V. Petrozhitsky A.V. Parkhomchuk V.V.. 14C in Tree Rings in the Vicinity of the Nuclear Facility Deployment Areas// *Izvestiya vuzov. Yadernaya Energetika*. 2022. №1. С. 107-117.
 18. K.L. Spalding, Ratan D. Bhardwaj, Henrik Druid, Jonas Frisén. Retrospective birth dating of cells in humans // *Cell*. 2005. Vol. 122. P. 133–143.
 19. Anhye Kim, Stephen R. Dueker, Jun Gi Hwang, Jangsoo Yoon, Sang-Won Lee, Hye Suk Lee, Byung-Yong Yu, Kyung-Sang Yu, Howard Lee. An Investigation of the Metabolism and Excretion of KD101 and Its Interindividual Differences: A Microtracing Mass Balance Study in Humans // *Clinical and Translational Science*. 2021. Vol. 14. P. 231–238.
 20. Douglas K. Spracklin, Danny Chen, Arthur J. Bergman, Ernesto Callegari, R. Scott Obach. Mini-Review: Comprehensive Drug Disposition Knowledge Generated in the Modern Human Radiolabeled ADME Study // *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*. 2020. Vol. 9. P. 428–434.
 21. Shiyao Xu, Dan Tatosian, Ian Mcintosh, Maria Caceres, Catherine Matthews, Koppa Samuel, Diana Selverian, Sanjeev Kumar & Eunkyung Kauh. Absorption, Metabolism and Excretion of [14C]Omarigliptin, a Once-Weekly DPP-4 Inhibitor, in Humans // *Xenobiotica*. 2018. Vol. 48, Iss. 6. P. 584-591.
 22. M.A Seymour. Accelerator MS: its role as a frontline bioanalytical technique // *Bioanalysis*. 2011. Vol. 3, Iss. 24. P. 2817–2823.
 23. Muhammad Waqas Sadiq, Mehran Salehpour, Niklas Forsgard, Goran Possnert, Margareta Hammarlund-Udenaes. Morphine Brain Pharmacokinetics at Very Low Concentrations Studied with Accelerator Mass Spectrometry and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry // *Drug metabolism and disposition*. 2011. Vol. 39. P. 174–179.
 24. Michael A. Malfatti, Bruce A. Buchholz, Heather A. Enright, Benjamin J. Stewart, Ted J. Ognibene, A. Daniel McCartt, Gabriela G. Loots, Maike Zimmermann, Tiffany M. Scharadin, George D. Cimino, Brian A. Jonas, Chong-Xian Pan, Graham Bench, Paul T. Henderson, Kenneth W. Turteltaub. Radiocarbon Tracers in Toxicology and Medicine: Recent Advances in Technology and Science // *Toxics*. 2019. Vol. 7, Iss. 27. P.1-22.
 25. R Colin Garner. Practical experience of using human microdosing with AMS analysis to obtain early human drug metabolism and PK data // *Bioanalysis*. 2010. Vol. 2, Iss. 3. P. 429–440.
 26. G. Lappin, C. C. Wagner, O. Langer, N. van de Merbel. New ultrasensitive detection technologies and techniques for use in microdosing studies // *Bioanalysis*. 2009. Vol. 1, Iss. 2. P. 357–366.
 27. Soo Kyung Bae, Ji-Hong Shon. Microdosing Studies Using Accelerated Mass Spectrometry as Exploratory Investigational New Drug Trials // *Archives of Pharmacal Research*. 2011. Vol. 34, No 11. P. 1789-1797.
 28. Xiaomin Wang, Wouter H.J. Vaes, Esther van Duijn, Irene Nooijen, Zeen Tonga, Daniel Lopes de Menezes, Stephen E. Maxwell. Quantification of azacitidine incorporation into human DNA/RNA by accelerator mass spectrometry as direct measure of target engagement // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2021. Vol. 202, Iss. 114152. P. 1-8.
 29. Heather A. Enright, Michael A. Malfatti, Maike Zimmermann, Ted Ognibene, Paul Henderson, Kenneth W. Turteltaub. Use of Accelerator Mass Spectrometry in Human

- Health and Molecular Toxicology // Chemical Research in Toxicology. 2016. Vol. 29, Is. 12. P. 1976–1986.
30. Iyer GR, Patel Y, Teuscher NS. A novel study using accelerated mass spectrometry to evaluate the pharmacokinetics of total ¹⁴C AL-8309 (Tandospirone) following topical ocular administration in healthy male subjects // Clinical Pharmacology in Drug Development. 2012. Vol. 1, Iss.1. P. 4–13.
 31. Bruce A. Buchholz et al. HPLC-Accelerator MS Measurement of Atrazine Metabolites in Human Urine after Dermal Exposure // Analytical Chemistry. 1999. Vol. 71. P. 3519-3525.
 32. EMEA, Position Paper on Non-clinical Safety Studies to Support Clinical Trials with a Single Microdose. Position paper CPMP/SWP/2599, 23 June 2004.
 33. Food and Drug Administration US Department of Health and Human Services Guidance for Industry Investigators and Reviewers. Exploratory IND Studies. January 2006.