

*Гладчук А.С.<sup>1</sup>, Дубакова П.С.<sup>1</sup>, Щепеткова К.М.<sup>1</sup>, Степанов С.В.<sup>1</sup>,  
Гафт С.С.<sup>1</sup>, Суходолов Н.Г.<sup>2,3</sup>, Батоцыренова Е.Г.<sup>1</sup>,  
Александрова М.Л.<sup>1</sup>, Краснов К.А.<sup>1</sup>, Кашууро В.А.<sup>1</sup>, Подольская Е.П.<sup>1,3</sup>*

## **Определение жирных кислот в биологических образцах с использованием технологии Ленгмюра**

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт токсикологии Федерального

медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУВО «Санкт-Петербургский государственный университет»,  
г. Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт аналитического приборостроения Российской  
академии наук», г. Санкт-Петербург, Россия.

Технология Ленгмюра, позволяет получать нерастворимые в воде мономолекулярные слои амфифильных молекул, к которым, в первую очередь, относятся жирные кислоты (ЖК), играющие важную роль во множестве метаболических процессов. Ранее нами была показана возможность анализа насыщенных ЖК в виде монокарбоксилатов бария методом времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (МАЛДИ-МС) после растворения монослоев, полученных в установке Ленгмюра [1].

В данной работе мы предлагаем подход, в котором процесс формирования монослоев Ленгмюра переносится непосредственно на поверхность МАЛДИ мишени, что позволяет сократить и упростить пробоподготовку, а также значительно повышает чувствительность метода. При этом образование монослоя происходит в условиях, не приводящих к расщеплению липидов, следовательно, связанные ЖК не участвуют в формировании монослоя. Формирование монослоев осуществляется на капле водной субфазы (водный раствор ацетата бария с добавлением 2,5-дигидроксibenзойной кислоты) объемом менее 1 мкл, нанесенной на пятно мишени. На поверхность капли наносят равный объем органического растворителя (гексан), содержащего ЖК, так, чтобы раствор стекал с поверхности водной капли. После высыхания органической фазы на поверхности пятна МАЛДИ мишени образуется монослой с упорядоченной структурой. После разрушения монослоя с помощью 90% водного ацетонитрила образец готов к МАЛДИ-МС анализу. Стоит отметить, что использование в качестве водной фазы раствора соли бария позволяет получать монослои, состоящие пре-

имушественно из монокарбоксилатов этого металла, а характерное изотопное распределение бария позволяет упростить идентификацию соединений, содержащих барий, в масс-спектрах. Для исследования параметров линейности и чувствительности метода была использована смесь пяти стандартов ЖК (лауриновая, тридекановая, миристиновая, пентадекановая, пальмитиновая), растворенных в гексане. По результатам экспериментов со стандартами ЖК предел обнаружения составил  $10^{-14}$  моль, линейный динамический диапазон –  $10^4$ , при этом значения точности не превышали 2%, а прецизионности – 17%.

Разработанная методика была использована при исследовании хронического отравления крыс ацетатом ртути. В эксперименте белым беспородным лабораторным крысам массой 160-180 г в течение 1 месяца перорально вводили водный раствор, содержащий ацетат ртути в дозе 4 мг/кг. В плазме крови отравленных крыс (n=7) по сравнению с контрольной группой (n=7) были выявлены значимые ( $p < 0,05$ ) изменения относительной концентрации ряда ЖК: наряду с понижением содержания миристиновой, пентадекановой, пальмитолеиновой и других кислот наблюдалось повышение концентраций линолевой и арахидоновой кислот (статистическую обработку проводили с помощью программного обеспечения Progenesis MALDI 1.2), что свидетельствует об изменении метаболизма ЖК, вызванным воздействием ртути.

Таким образом, в результате работы предложен новый подход к анализу ЖК методом МАЛДИ-МС для идентификации и относительной количественной оценки ЖК в биологических образцах различной природы. Методика отличается высокой чувствительностью, экспрессностью, простотой выполнения анализа и интерпретации результатов. Предложенный подход может быть использован при фармакокинетических исследованиях и для разработки новых методик диагностики заболеваний.

#### Литература