

Горбунов А.Ю.^{1,2}, Бабаков В.Н.¹, Подольская Е.П.^{2,3}

МАЛДИ мишень, модифицированная TiO₂: платформа для изучения окислительной биотрансформации ксенобиотиков

¹НИИ Гигиены, профпатологии и экологии человека Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Лекарственные поражения печени представляют серьёзную клиническую проблему и являются одной из основных причин отзыва лекарственных средств с рынка. В большинстве случаев гепатотоксичность обусловлена биоактивацией лекарственных средств путём их окислительного метаболизма в печени, приводящего к образованию высокоактивных метаболитов, способных ковалентно модифицировать биологические макромолекулы с образованием стабильных аддуктов.

Перспективным и развивающимся методом неферментативного моделирования окислительного метаболизма ксенобиотиков *in vitro* является фотокаталитическое окисление (ФКО) с использованием УФ-облучения в присутствии TiO₂ (УФ/TiO₂).

Нами было сделано предположение, что УФ/TiO₂-ФКО и последующее получение аддуктов могут быть проведены непосредственно на МАЛДИ-мишени. Целью настоящей работы была разработка подхода, позволяющего последовательно осуществлять обе процедуры на TiO₂-модифицированной МАЛДИ-мишени, с дальнейшим масс-спектрометрическим анализом.

Возможность применения данного подхода была продемонстрирована на примере нестероидного противовоспалительного препарата диклофенак (DCI), окислительная биотрансформация которого приводит к образованию высокоактивных метаболитов, определяющих его гепатотоксический эффект.

В работе использовали стандартную МАЛДИ-мишень МТР 384 (Bruker), на поверхность которой был нанесен слой нанопорошка TiO_2 . На модифицированную TiO_2 МАЛДИ-мишень наносили водные растворы DCI после чего подвергали ее УФ облучению. После высыхания капли проводили идентификацию образующихся продуктов окисления методом MALDI-FT-ICR с использованием прибора Solarix XR 7T (Bruker). На основе точного измерения массы продуктов окисления DCI были идентифицированы следующие метаболиты: DCI+O (m/z 310.0032); DCI+2O (m/z 323.9825); DCI+2O-2H; и DCI+O-CO₂-2H (m/z 279.9926).

Для оценки возможности ковалентного связывания образующихся продуктов окисления с белками на МАЛДИ-мишень после завершения ФКО наносили 2 мкл гемоглобина и инкубировали при комнатной температуре до полного высыхания капли. Масс-спектрометрический анализ проводили методом MALDI-TOF на приборе AXIMA Perfomance (Shimadzu). На масс-спектрах, снятых в линейном режиме, был обнаружен массовый сдвиг величиной около +310 Да, соответствующий аддукту α -цепи гемоглобина с DCI+O - основным продуктом окислительного метаболизма DCI *in vivo*.

Таким образом, мы предлагаем простой методический подход, позволяющий проводить ФКО ксенобиотиков и оценку реакционной способности продуктов их окисления в отношении макромолекул непосредственно на МАЛДИ-мишени с последующим масс-спектрометрическим анализом. Объем образца, необходимый для анализа, составляет 1 мкл, одновременно может быть исследовано до 384 образцов.