

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-49

**ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ НА ПОВЕРХНОСТИ МАЛДИ-МИШЕНИ
ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ОЦЕНКИ ОБРАЗОВАНИЯ РЕАКЦИОННОСПОСОБНЫХ ПРОДУКТОВ
ОКИСЛЕНИЯ КСЕНОБИОТИКОВ**

**PHOTOCATALYTIC OXIDATION ON THE SURFACE OF A MALDI TARGET FOR RAPID ASSESSMENT
OF THE FORMATION OF REACTIVE OXIDATION PRODUCTS OF XENOBIOTICS**

А. А. Афанасьева¹, О. А. Кельциева^{1,2}, Е. П. Подольская²

¹Научно-клинический центр токсикологии им. С. Н. Голикова
Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург

²Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург

A. A. Afanasyeva¹, O. A. Keltsieva^{1,2}, E. P. Podolskaya²

¹Golikov Research Center of Toxicology, Federal Medical-Biological Agency of Russia, Saint Petersburg

²Institute of Analytical Instrumentation RAS, Saint Petersburg

✉ afanasyeva.a.a.2000@yandex.ru

Аннотация

В рамках разработки экспрессных методов выявления реактивных метаболитов ксенобиотиков методом фотокаталитического окисления важным аспектом является подбор оптимального катализатора и условий проведения процесса. Проведен сравнительный анализ образцов диоксида титана (TiO₂) с различным фазовым составом в качестве фотокатализатора, а также определено оптимальное время проведения окисления.

Abstract

As part of the development of rapid methods for identifying reactive metabolites of xenobiotics using photocatalytic oxidation (PCO), an important point is the selection of the optimal catalyst and process conditions. A comparative analysis of titanium dioxide (TiO₂) samples with different phase compositions as a photocatalyst was carried out, and the optimal oxidation time was determined.

Токсичность, вызываемая лекарственными препаратами, является серьезной проблемой для развития фармакологии и медицины. Ксенобиотики и продукты их биотрансформации способны проявлять алкилирующие свойства, образуя аддукты с макромолекулами в организме, вызывая тем самым цитотоксическое и канцерогенное действие [1]. При разработке новых лекарственных средств одной из основных задач является исследование их метаболических путей с целью прогнозирования возможных токсических эффектов. Существует ряд подходов к моделированию биотрансформации ксенобиотиков, среди которых широкое распространение получил ферментативный метод УФ-индуцированного фотокаталитического окисления (УФ-ФКО), который обладает рядом преимуществ: высокой скоростью, низкими временными и ресурсными затратами [2]. Поэтому актуальной задачей является подбор оптимальных условий проведения УФ-ФКО. Цель исследования — сравнительный анализ образцов диоксида титана (TiO₂) с различным фазовым составом (с соотношением рутил : анатаз 100 : 0 %, 0 : 100 %, 20 : 80 % и 80 : 20 %) в качестве фотокатализатора процесса окисления ксенобиотика, а также определение оптимального времени проведения УФ-ФКО с использованием TiO₂ в качестве фотокатализатора (УФ/TiO₂-ФКО).

На первом этапе была проведена характеристика четырех образцов TiO₂. Элементный и фазовый состав исследуемых образцов подтверждены соответственно методами рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии и рентгенофазового анализа. Посредством сканирующей электронной микроскопии было установлено, что размеры частиц всех порошков TiO₂ не превышали 1 мкм. Методом спектроскопии диффузного рассеяния света была определена ширина запрещенной зоны, вычисляемая из спектра как край поглощения коротковолновой полосы поглощения вещества.

В качестве модельного объекта исследования для установления оптимальных условий проведения эксперимента выбрали диуретический препарат с известными свойствами — индапамид (IPM), представляющий собой галогенсодержащее соединение с молекулярной формулой C₁₆H₁₆ClN₃O₃S и m/z 364,05 ([M-H]⁻). Наличие реактивных метаболитов определяли по присутствию в масс-спектрах сигналов их аддуктов с улавливающим

агентом, в качестве которого был выбран глутатион (GSH). GSH — трипептид, который используется в качестве низкомолекулярной ловушки для детектирования реакционноспособных продуктов метаболизма ксенобиотиков [3].

Анализ активности используемых фотокатализаторов проводили методом МАЛДИ масс-спектрометрии. Эксперимент включал стадии функционализации поверхности МАЛДИ-мишени водными суспензиями TiO_2 (2 мг/мл), нанесения раствора ксенобиотика (50 мкг/мл) и раствора улавливающего агента GSH (100 мкг/мл) на функционализированные TiO_2 ячейки мишени, УФ-облучение ($\lambda = 405$ нм) в течение различных промежутков времени (1; 5; 10; 20; 30 и 40 мин), перенос раствора на соседнюю ячейку и добавление матрицы (2,5-дигидроксисобензойная кислота).

Полученные результаты показали, что наибольшее количество аддуктов GSH с метаболитами ИРМ было обнаружено при проведении УФ/ TiO_2 -ФКО на поверхности МАЛДИ-мишени в следующих условиях: УФ-облучение в течение 30 мин и использование в качестве катализатора нанопорошка TiO_2 с соотношением полиморфных модификаций рутил : анатаз = 80 : 20 %. Стоит отметить, что оптимальная длина волны поглощаемого излучения выбранного катализатора также наиболее приближена к длине волны излучения используемой УФ-лампы.

Таким образом, УФ/ TiO_2 -ФКО на поверхности МАЛДИ-мишени с последующим масс-спектрометрическим анализом позволяет проводить быструю оценку образования реактивных метаболитов ксенобиотиков, в том числе короткоживущих, благодаря объединению нескольких стадий эксперимента. Усовершенствование этой методики может способствовать созданию эффективного предварительного этапа оценки токсичности лекарственных средств.

Литература

1. Савельева Е.И., Корягина Н.Л., Орлова О.И. Определение аддуктов отравляющих веществ с биомолекулами как биомаркеров экспозиции/эффекта // Медицина экстремальных ситуаций. 2018. Т. 20 (3). С. 451–453.
2. Hynjoon L., Wonyong C. Photocatalytic oxidation of arsenite in TiO_2 suspension: kinetics and mechanisms // Environ. Sci. Technol. 2002. Vol. 17. P. 3872–3878.
3. Gavlik M., Skibiński R., Trawiński J. et al. Photocatalysis combined with chromatographic methods as a new promising tool in drug metabolism studies — a review // Acta Chromatogr. 2018. Vol. 30 (1). P. 1–8.