**Разработка и валидация методики таргетного метаболомного профилирования образцов плазмы крови методом ВЭЖХ-МС/МС**

***Басханова С.Н.1, Москалева Н.Е. 1, Апполонова С.А.1***

*Научный сотрудник*

*1 Центр биофармацевтического анализа и метаболомных исследований,*

*Сеченовский Университет, Москва, Россия*

*E-mail: sabina.baskhanova@mail.ru*

В соответствии с данными ВОЗ сердечно-сосудистые заболевания являются одной из главных причин смертности во всем мире. Ранняя диагностика и классификация патологий сердечно-сосудистой системы способна помочь в предотвращении тяжелых последствий и проведении успешного лечения. Одним из способов оценки состояния больного является анализ его метаболомного профиля. Таргетное метаболомное профилирование дает представление о концентрациях низкомолекулярных соединений (метаболитов) и отражает патофизиологические и биохимические процессы, происходящие в организме человека. У пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями изменения в метаболизме, происходящие в процессе развития патологии, включают в себя изменение концентраций аминокислот и их производных, ацилкарнитинов и продуктов триптофанового катаболизма [1]. Актуальной задачей является разработка методики, позволяющей проводить комплексное метаболомное исследование пациентов с кардиоваскулярными заболеваниями.

В ходе данного исследования был разработан аналитический подход для количественного определения метаболитов в плазме крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией. Методика включает в себя анализ 29 соединений аминокислот и их производных, 36 ацилкарнитинов, 27 производных триптофанового обмена, 5 соединений цикла мочевины, 6 нуклеозидов, 8 витаминов и других метаболитов. Одним из этапов подготовки образцов к анализу является проведение дериватизации соединений с первичной аминогруппой фенилизотиоцианатом. Образующиеся производные характеризуются увеличенным временем элюирования, а также высокой стабильностью и воспроизводимостью. Использование изотопно-меченных внутренних стандартов позволяет снизить влияние матричного эффекта и увеличить точность метода. Осаждение белков плазмы крови осуществлялось при помощи метанола. Разделение компонентов пробы проводилось с использованием хроматографической колонки Acquity BEH C18 50 мм с диаметром пор 1.7 µm. В качестве подвижных фаз применялся 0.1% раствор муравьиной кислоты в воде (фаза А) и ацетонитриле (фаза В). Скорость потока составляла 0.4 мл/мин. Масс-спектрометрический анализ проводился в режиме мониторинга множественных реакций. Время анализа составляло 5 мин. Для построения градуировочных кривых использовался раствор фосфатного буфера изотоничный плазме крови. Образцы контроля качества были приготовлены методом добавок.

Валидация методики была проведена по параметрам правильности, прецизионности, селективности, специфичности, воспроизводимости, линейности калибровочной кривой, переноса пробы и нижнего предела количественного определения. Перечисленные валидационные параметры соответствовали требованиям руководства проведения валидации аналитов, являющихся эндогенными соединениям [2].

**Литература**

1. Moskaleva N.E. et al. Target metabolome profiling-based machine learning as a diagnostic approach for cardiovascular diseases in adults // Metabolites. 2022. Vol. 12. P. 1185.

2. ICH ICH guideline M10 on bioanalytical method validation and study sample analysis // EMEA Guidance Document. – 2019. – Vol. 44.