

**САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

УТВЕРЖДАЮ

**Председатель СПбНЦ РАН
академик**



Ж. И. Алфёров

О Т Ч Е Т

**ПО ТЕМЕ «РАЗРАБОТКА НОВОГО МАСС-
СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ
МЕТАБОЛИЗМА ЭКОЛОГИЧЕСКИХ И ЖИВЫХ СИСТЕМ ПО
ОСНОВНЫМ МЕТАБОЛИЧЕСКИМ РЕАКЦИЯМ С ПОМОЩЬЮ
ИОНИЗАЦИИ ЭЛЕКТРОРАСПЫЛЕНИЕМ И ЕГО РЕАЛИЗАЦИЯ В
ВИДЕ АППАРАТНО-МЕТОДИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА»
по Государственному заданию СПбНЦ РАН в 2014–2016 гг.**

Этап 2015 года

**Научный руководитель,
д.ф.м.н. Л.Н.Галль**

A handwritten signature in black ink, written over a solid horizontal line. The signature appears to be 'Л.Н. Галль'.

Санкт-Петербург

2015

Список исполнителей.

1. Галль Л.Н., в.н.с., д.ф.м.н.




2. Масюкевич С.В., вед. специалист



3. Кулешов Д.О., м.н.с., без степени



4. Русских Я.В., с.н.с., к х.н.



5. Чернова Е.Н., инж. с высш. обр.



6. Березкина Т.Э., инж. с высш. обр.



ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ЭМП	– Электромагнитное поле
ЭРИАД	– Экстракция растворенных ионов при атмосферном давлении
ВЭХЖ	– Высокоэффективная жидкостная хроматография
ТДО	– Тиолдисульфидное отношение
ВПОУ	– Время полуокисления
АФК	– Активные формы кислорода
GSH	– Глутатион в восстановленной форме
GSSG	– Глутатион в окисленной форме
МС-МС	– Масс-спектрометрический тандем для определения дочерних продуктов реакций
SH-	– Сульфгидрильная (тиоловая) группа молекулы
ESI	– Электроспрей – метод анализа веществ в растворах при распылении в электрическом поле

РЕФЕРАТ

Отчет 45 с, 43 рис., 6 табл., 14 источников.

Ключевые слова: масс-спектрометрия, хроматография, электрораспыление, электроспрей, глутатион, спектрофотометрия, импульсное магнитное поле.

На втором этапе работы на основе аналитического обзора биохимии глутатиона показана его определяющая роль в системе антиоксидантной защиты живого организма, что определило выбор глутатиона в качестве модельного вещества в изучении реакции живого организма на внешние физические воздействия. Была изучена возможность масс-спектрометрического анализа глутатиона методом электрораспыления («электроспрей»), и показано, что глутатион в масс-спектре представлен стабильным молекулярным ионом с массой 308 а.е.м., а также продуктами его окисления. Оттестирована методика измерения скорости окисления тиоловых соединений с помощью ВЭЖХ-МС-МС, показано, что для изучения реакции окисления достаточно ВЭЖХ-МС анализа и не требуется использования систем МС-МС.

Были подобраны условия «мягкого» окисления глутатиона перекисью водорода и получены кинетические кривые, количественно представляющие динамику окисления по падению интенсивности молекулярного иона во времени одновременно с нарастанием во времени продуктов его окисления. Масс-спектрометрические результаты были продублированы известным ранее спектрофотометрическим методом и получено хорошее совпадение динамики окисления.

Для изучения влияния на живой организм внешних физических факторов был рассчитан, сконструирован и изготовлен соленоидальный источник магнитного поля, позволяющий создавать в области погруженного в него реактора однородное магнитное поле в широком диапазоне напряженностей и формы импульса. Были проведены измерения влияния магнитного поля в области напряженности $5 \cdot 10^{-6}$ Тл и показано, что под действием импульсного магнитного поля скорость реакции окисления глутатиона существенно изменяется. Поведение кинетических кривых для этого случая также было подтверждено спектрофотометрически. Установленная зависимость скорости окисления глутатиона от магнитного поля позволяет на третьем этапе работы приступить к систематическому определению условий управляемого воздействия магнитного поля на эту тестовую реакцию.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
1. СРАВНИТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА МОДЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ: УНИТИОЛ И ГЛУТАТИОН.	6
2. МАТЕРИАЛЫ И ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИБОРЫ	12
2.1. МАСС-СПЕКТРОМЕТР ESI LCMS-IT-TOF	13
2.2. МАСС-СПЕКТРОМЕТР LTQ ORBITRAP СОВМЕСТНО С ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ СИСТЕМОЙ ACCELA	14
2.3. СПЕКТРОФОТОМЕТР СФ-26	16
3. МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВЭЖХ	17
3.1 ПОДБОР УСЛОВИЙ ЭЛЕКТРОРАСПЫЛЕНИЯ И ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА	17
3.2. ВЫБОР ОПТИМАЛЬНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ, ПОСТРОЕНИЕ КАЛИБРОВОК	18
3.3. ВЫБОР РЕАГЕНТОВ И УСЛОВИЙ ДЛЯ РЕАКЦИИ ОКИСЛЕНИЯ ГЛУТАТИОНА	19
4. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ	19
5. ПРОВЕДЕНИЕ РЕАКЦИИ ОКИСЛЕНИЯ ТИОЛОВ В УСЛОВИЯХ КОНТРОЛИРУЕМОГО ВНЕШНЕГО ФИЗИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ	21
5.1. РАЗРАБОТКА ТЕРМОСТАТИРОВАННОГО РЕАКТОРА	21
5.2. ПРОВЕДЕНИЕ РЕАКЦИИ ОКИСЛЕНИЯ ТИОЛОВ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ МАГНИТНЫМ ПОЛЕМ	22
6. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	23
6.1 ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ	23
6.2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	24
7. ДЕСТВИЕ ВНЕШНИХ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА СКОРОСТЬ ОКИСЛЕНИЯ ТИОЛОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ	35
7.1. УСТРОЙСТВО ДЛЯ СОЗДАНИЯ УПРАВЛЯЕМОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ	35
7.2. МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОКИСЛЕНИЯ ГЛУТАТИОНА В МАГНИТНОМ ПОЛЕ	37
8. КРАТКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ	41
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	42
ПРИЛОЖЕНИЕ	43