



HAL
open science

Analyse des phospholipides oxydés par LC (ESI) -MSMS

Spiro Khoury, Corinne Pouyet, Franck Giacomoni, Estelle Pujos-Guillot

► To cite this version:

Spiro Khoury, Corinne Pouyet, Franck Giacomoni, Estelle Pujos-Guillot. Analyse des phospholipides oxydés par LC (ESI) -MSMS. 10. journées scientifiques du Réseau Francophone de Métabolomique et Fluxomique RFMF 2016, May 2016, Montpellier, France. , 156 p., 2016, Livret des résumés 10JS RFMF. hal-01512185

HAL Id: hal-01512185

<https://hal.science/hal-01512185>

Submitted on 21 Apr 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

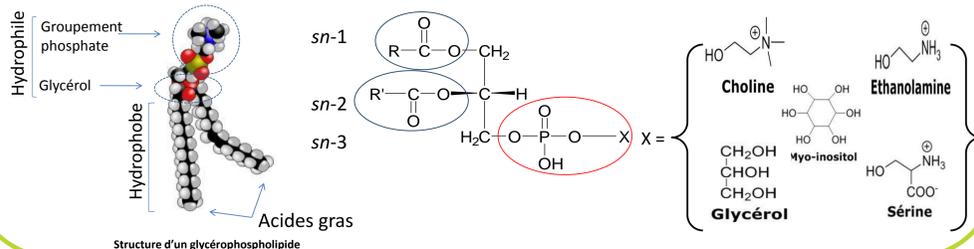
L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Introduction & Problématique

Introduction

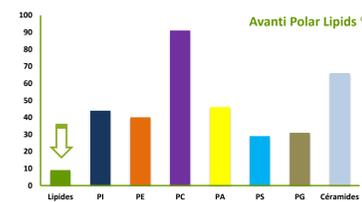
Les **phospholipides (PLs)** sont des molécules biologiques complexes, de structures très variées, et représentent une classe de métabolites d'intérêt pour l'étude des relations entre l'alimentation et le développement des **maladies métaboliques**. Cette classe de composés peut donner lieu à la formation d'un grand nombre de produits d'oxydation. Ainsi, les **phospholipides oxydés (PLs-Ox)** sont de plus en plus reconnus comme des marqueurs de différentes pathologies associées à l'inflammation, telles que l'athérosclérose et le diabète. L'objectif de ce travail était d'acquérir des nouvelles connaissances sur les **PLs-Ox** afin de proposer une **stratégie analytique** pour leur analyse.



Problématique

La disponibilité commerciale des standards de PLs-Ox:

Peu de standards de lipides oxydés et de PLs-Ox sont disponibles...



Les connaissances sur les PLs-Ox et leurs fragmentations:

- Réaliser une base de données, associée à un workflow d'aide à l'identification des PLs, implémentée dans la plateforme web **Galaxy** : **W4M** (<http://workflow4metabolomics.org>).
- Enrichir la méthode de profilage d'extraits de lipides totaux plasmatiques par LC (ESI)-MS MS par l'intégration de la détection des **PLs-Ox**.

Appareillage & Méthodes

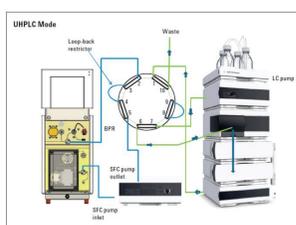
Synthèse des PLs-Ox

La préparation des PLs auto-oxydés a été faite à partir des standards de PLs non oxydés (exposition à l'air libre à température ambiante) pendant différents temps.

Les PLs étudiés possèdent un nombre et une position des insaturations différents:

PC(16:0/20:4), PC(16:0/22:6), PC(18:0/20:4), PC(16:0/18:1), PC(16:0/18:2)

Système hybride UHPLC/SFC couplé à la spectrométrie de masse



Agilent 1260 Infinity SFC/UHPLC System in UHPLC mode (Chemstation®)



AB SCIEX QTRAP® 5500 System (Analyst®)

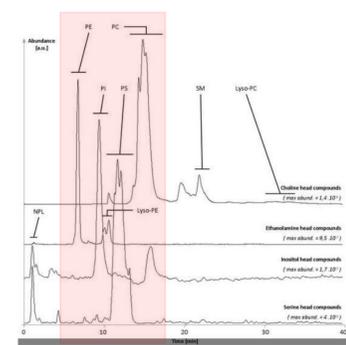
Optimisation de la phase mobile:

Solvants utilisés:

(Hexane/Chloroforme/Isopropanol/H₂O)
- Cette phase a été supplémentée par 12.5 mM de formate d'ammonium.

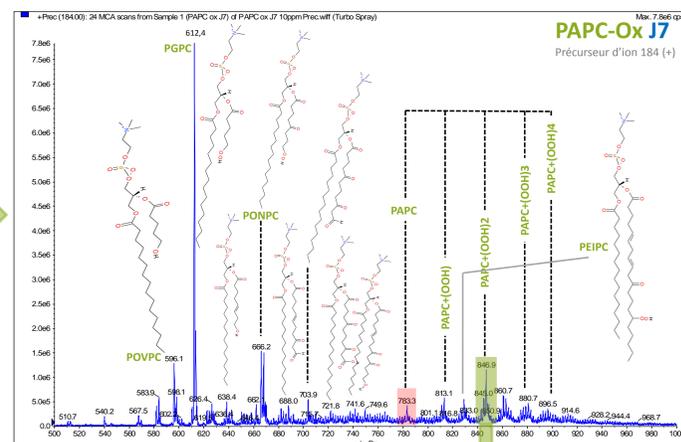
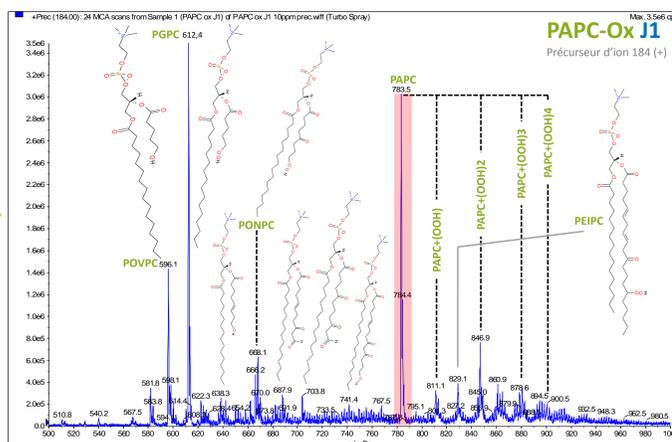
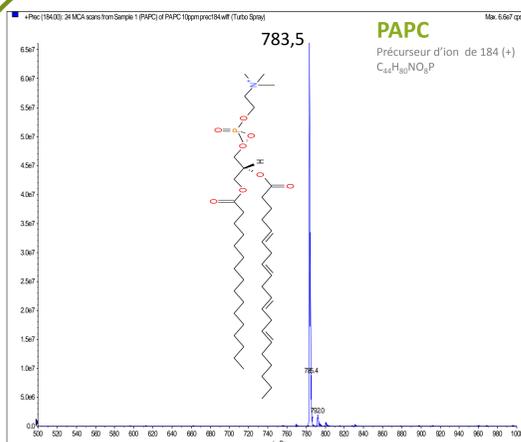
Optimisation de la méthode LC-MS MS:

- Optimisation des paramètres dépendants des composés et des paramètres « Source Electrospray ESI » en (+) et (-).
- Optimisation des conditions chromatographiques.
- Optimisation de la méthode MS et MSMS.

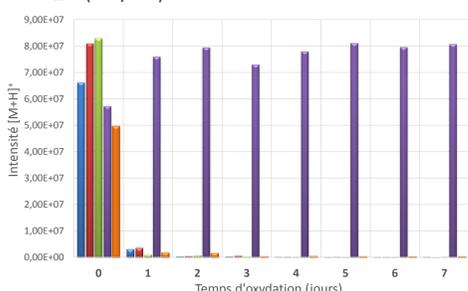


Résultats

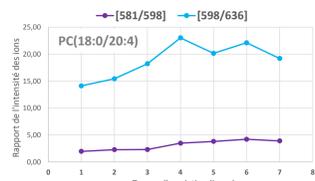
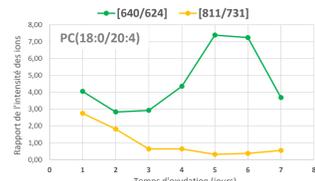
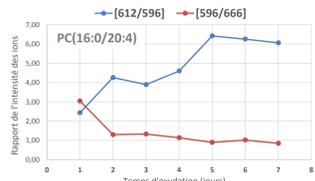
Exemple: Identification des formes oxydées d'une espèce moléculaire PAPC [PC (16:0/20:4 (5Z, 8Z, 11Z, 14Z))]



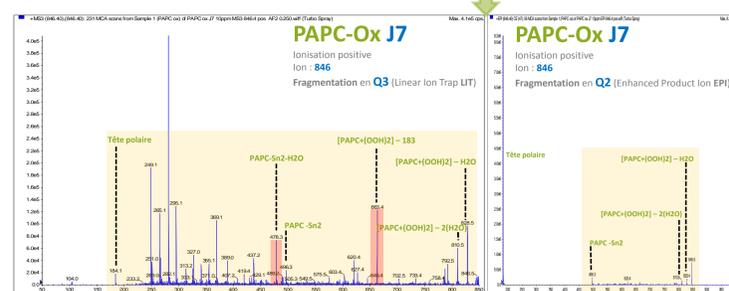
■ PC(16:0/20:4) 782.5
■ PC(18:0/20:4) 810.5
■ PC(16:0/18:2) 758.5
■ PC(16:0/22:6) 806.5
■ PC(16:0/18:1) 760.5



Evaluation de l'intensité de l'ion majoritaire des 5 espèces moléculaires de PC (variant en nombre et position des insaturations et en longueur de chaînes) en fonction du temps d'oxydation. Mode d'acquisition: Précurseur d'ion de 184 (+).



Rapport de l'intensité de certaines formes oxydées sur plusieurs espèces moléculaires de PC en fonction du temps d'oxydation. Mode d'acquisition: Précurseur d'ion de 184 (+).



Ion	Ions fils	Product Ion (PI)	EPI	Q3 LIT (AF2 = 0,250)	Q3 LIT (AF2 = 0,500)	Annotation
184	1,3949*6	8,2062*6	1,8*4	1,6667*4		Tête polaire
478	-	-	7,3*4	7,8667*4		PAPC-Sn2-H2O
494	2,99*4	2,4214*5	2,4*4	2,4*4		PAPC-Sn2
663	-	-	1,2267*5	7,8*4		[PAPC(OOH)2] - 183
810	2,2*4	1,4327*5	6,0333*4	9,6667*4		[PAPC(OOH)2] - 2(H2O)
828	2,2*4	2,0126*5	9,667*4	1,7033*5		[PAPC(OOH)2] - H2O
846	9,8*4	7,3287*5	1,4*4	-		PAPC

Exemple: Comparaison de l'identification des ions fragments de l'ion 846 [PAPC(OOH)2] par plusieurs modes d'acquisition.

Conclusion & Perspectives

Ce travail a abouti à la mise en place d'une méthode de synthèse des PLs-Ox (PC oxydés) à partir de standards de PLs non oxydés. La méthode d'analyse développée en LC (ESI) - MSMS par l'usage du QTRAP 5500 a permis la caractérisation de produits divers d'oxydation, à chaînes courtes et à chaînes longues. La formation des produits d'oxydation est fonction de la structure des PLs. Le rapport de formes oxydées varie au cours du temps.

En perspectives: Ce travail sera poursuivi afin de séparer et d'identifier des produits d'oxydation de PLs sur d'autres classes phospholipidiques, et aussi dans les matrices biologiques. De même, l'identification des produits d'oxydation des PLs pourrait enrichir les bases de données de PLs.

Références:

- Corinne M. Spickett, Ana Reis, Andrew R. Pitt. *Free Radical Biology & Medicine*, 2011, Volume 51, PP 2133-2149.
- Khoury Spiro, El Banna Nadine, Tfaii Sana, Chaminade Pierre. *Anal. Bioanal. Chem*, February 2016, Volume 408, Issue 5, pp 1453-1465.

- 10^{èmes} journées scientifiques du Réseau Francophone de Métabolomique et Fluxomique (RFMF)
Montpellier, 31 mai - 2 juin 2016.