



## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

Т.И. Алюшина, А.С. Венедиктов\*

ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии  
и экологии человека ФМБА России»

188663, Российская Федерация, Ленинградская обл., Всеволожский м/р-н,  
Кузьмоловское г.п., гл. Кузьмоловский, ул. Заводская, 6/2, корп. 93

В работе представлена разработанная методика измерения массовых концентраций желчных кислот в сыворотке крови человека. Мониторинг изменений содержания желчных кислот имеет большое значение для профилактики, диагностики и лечения различных заболеваний. Селективное определение желчных кислот является особо сложной задачей, потому что они имеют структурное сходство, что затрудняет их хроматографическое разделение. Были подобраны параметры хроматографического разделения для 8 желчных кислот. Определение проводили с использованием жидкостного хроматографа Ultimate 3000 с масс-селективным детектором Q-Exactive с электрораспылительной ионизацией. Методика позволяет селективно определять 8 соединений в рамках одного анализа в линейном диапазоне концентраций 10–3000 нг/мл и в дальнейшем будет валидирована по ряду других параметров.

**Ключевые слова:** желчные кислоты, масс-спектрометрия, высокоэффективная жидкостная хроматография

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование:** работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 23-15-00510).

**Для цитирования:** Алюшина Т.И., Венедиктов А.С. Определение желчных кислот в сыворотке крови человека методом высокоэффективной жидкостной хроматомасс-спектрометрии высокого разрешения. *Биомедицина*. 2025;21(4):82–85. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-21-4-82-85>

Поступила 01.04.2025

Принята после доработки 11.09.2025

Опубликована 10.12.2025

## SELECTIVE SEPARATION OF BILE ACIDS BY HIGH-RESOLUTION HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY

Tatyana I. Alushina, Anton S. Venediktor\*

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology  
of the Federal Medical and Biological Agency of Russia

188663, Russian Federation, Leningrad Region, Vsevolozhsky District, Kuz'molovskoe,  
Kuz'molovsky Urban Village, Zavodskaja Str., 6/2, Building 93

This article proposes a method for measuring the mass concentrations of bile acids in human blood serum. Monitoring changes in the bile acid content is of great importance for the prevention, diagnosis, and treatment of various diseases. Selective determination of bile acids is a particularly difficult task due to their structural similarities, which complicates their chromatographic separation. Chromatographic separation parameters were selected for eight bile acids. The determination was performed using an Ultimate 3000 liquid chromatograph with a Q-Exactive mass-selective detector with electrospray ionization. The developed technique allows selective determination of eight compounds in a single analysis in a linear concentration range of 10–3000 ng/mL. In future studies, the method will be validated for other parameters.

**Keywords:** bile acids, mass spectrometry, high-performance liquid chromatography

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**Funding:** the Russian Science Foundation (project No. 23-15-00510) supported the work.

**For citation:** Alushina T.I., Venediktov A.S. Determination of Bile Acids in Human Blood Serum by High-performance High-resolution Liquid Chromatography Mass Spectrometry. *Journal Biomed.* 2025;21(4):82–85. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-21-4-82-85>

Submitted 01.04.2025

Revised 11.09.2025

Published 10.12.2025

## Введение

Желчные кислоты — это эндогенные меболиты, профиль которых зависит от целого ряда параметров, в т.ч. от возраста [1]. Мониторинг изменений содержания желчных кислот, связанных с определенными заболеваниями, имеет большое значение для их профилактики, диагностики и лечения, например холестаза [3] или диабета [2].

Селективное определение желчных кислот является особо сложной задачей, потому что желчные кислоты имеют структурное сходство, что затрудняет их хроматографическое разделение.

**Цель работы** — разработка высокочувствительной и селективной методики определения желчных кислот в сыворотке крови человека, основанной на применении высокоэффективной жидкостной хроматомасс-спектрометрии высокого разрешения.

## Материалы и методы

Исследование проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с tandemной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) высокого разрешения. Ошибка измерения точной массы

и элементного состава иона (отличие измеренной массы от расчетной) составляла менее 5 ppm, что обеспечивало селективность определения анализов. Разделение проводили с использованием жидкостного хроматографа Ultimate 3000 с масс-селективным детектором Q-Exactive с электрорапспидительной ионизацией.

Условия ВЭЖХ-МС/МС анализа: колонка — Zorbax SB-C8 длиной 15 см с внутренним диаметром 4,6 мм, размером частиц 1,8 мкм; скорость потока элюента — 0,400 мл/мин; температура термостата колонки — 35°C.

Подвижная фаза: компонент А — 0,1% р-р муравьиной кислоты в деионизированной воде; компонент В — ацетонитрил. Режим элюирования — градиентный. Программа градиента: 0,0–0,5 мин (10% В), 0,5–8,0 мин (10–90% В), 8,0–12,0 мин (90% В), 12,1–17,0 мин (90–10% В).

Пробоподготовка плазмы крови: к 100 мкл сыворотки крови с целью де-протеинизации добавляли 300 мкл ацетонитрила. Образец тщательно встряхивали и центрифугировали в течение 10 мин при 14000 об/мин, надосадочную жидкость переносили в хроматографическую виалу

**Таблица 1.** Времена удерживания желчных кислот  
**Table 1.** Retention time of bile acids

Название кислоты	Формула кислоты	Отношение массы прекурсор-иона к его заряду	Время удерживания, мин
Дезоксихолевая кислота	$C_{24}H_{40}O_4$	391,2853(-)	12,69
Хенодезоксихолевая кислота	$C_{24}H_{40}O_4$	391,2853(-)	12,42
Холевая кислота	$C_{24}H_{40}O_5$	407,2803(-)	10,02
Гликоурсодезоксихолевая кислота	$C_{26}H_{43}NO_5$	448,3068(-)	8,75
Гликопитохолевая кислота	$C_{26}H_{43}NO_4$	432,3119(-)	13,98
Таурохолевая кислота	$C_{26}H_{45}NO_7S$	514,2844(-)	7,26
Тауродезоксихолевая кислота	$C_{26}H_{45}NO_6S$	498,2895(-)	8,74
Таурохенодезоксихолевая кислота	$C_{26}H_{45}NO_6S$	498,2895(-)	8,49

и анализировали методом ВЭЖХ-МС/МС высокого разрешения.

Апробацию методики проводили с использованием образцов сыворотки крови 14-ти условно здоровых добровольцев. Средний возраст добровольцев  $30 \pm 5$  лет.

## Результаты и их обсуждение

Аналитические характеристики желчных кислот представлены в табл. 1.

Для определения массовых концентраций желчных кислот в плазме крови человека были построены градуировочные графики в линейном диапазоне массовых концентраций 10–3000 нг/мл. Среднее значение с погрешностью при доверительной вероятности 95%, медиана, квартили (Q<sub>1</sub>, Q<sub>3</sub>),

посчитанные по выборке из проанализированных образцов, приведены в табл. 2.

Полученные массовые концентрации холевой, хенодезоксихолевой, гликоурсодезоксихолевой, гликопитохолевой, таурохолевой, таурохенодезоксихолевой кислот соответствуют приведенным в литературе референсным интервалам содержания желчных кислот в плазме крови здоровых людей молодого возраста. Несоответствие остальных кислот референсным интервалам может быть связано с небольшой выборкой испытуемых.

## Заключение

На основании полученных времен удерживания и рассчитанных массовых концен-

**Таблица 2.** Массовые концентрации желчных кислот в образцах

**Table 2.** Concentrations of bile acids in the samples

Название кислоты	Среднее значение, нг/мл	Медиана, нг/мл	Q <sub>1</sub> , нг/мл	Q <sub>3</sub> , нг/мл
Дезоксихолевая кислота	620±192	634	430	820
Хенодезоксихолевая кислота	105±43	145	20	168
Холевая кислота	120±93	45	14	109
Гликоурсодезоксихолевая кислота	121±52	75	44	213
Гликопитохолевая кислота	62±22	53	41	89
Таурохолевая кислота	147±79	92	48	167
Тауродезоксихолевая кислота	323±208	204	79	362
Таурохенодезоксихолевая кислота	308±180	184	90	451

траций можно заключить, что подобранные хроматографические параметры обеспечивают высокую чувствительность и селективность разделения желчных кислот в диапазоне концентраций 10–3000 нг/мл.

Полученные результаты будут использоваться для дальнейшей валидации методики по ряду параметров: специфичность, предел обнаружения, предел определения, прецизионность.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Gälman C., Angelin B., Rudling M. Pronounced variation in bile acid synthesis in humans is related to gender, hypertriglyceridaemia and circulating levels of fibroblast growth factor 19. *J. Intern. Med.* 2011;270(6):580–588. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2011.02466.x.
2. Gao J., Xu B., Zhang X., Cui Y., Deng L., Shi Z., Shao Y., Ding M. Association between serum bile acid profiles and gestational diabetes mellitus: A targeted metabolomics study. *Clin. Chim. Acta.* 2016;459:63–72. DOI: 10.1016/j.cca.2016.05.026.
3. Tribe R.M., Dann A.T., Kenyon A.P., Seed P., Shennan A.H., Mallet A. Longitudinal profiles of 15 serum bile acids in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Am. J. Gastroenterol.* 2010;105(3):585–595. DOI: 10.1038/ajg.2009.633.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Алюшина Татьяна Игоревна**, к.х.н., ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека ФМБА России»;

e-mail: [orlovatianagpeh@mail.ru](mailto:orlovatianagpeh@mail.ru)

**Венедиктов Антон Сергеевич\***, ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека ФМБА России»;

e-mail: [venediktor25@mail.ru](mailto:venediktor25@mail.ru)

**Tatyana I. Alushina**, Cand. Sci. (Chem.), Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: [orlovatianagpeh@mail.ru](mailto:orlovatianagpeh@mail.ru)

**Anton S. Venediktov\***, Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: [venediktor25@mail.ru](mailto:venediktor25@mail.ru)

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author