

# АВТОМАТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ ПОДГОТОВКИ ОБРАЗЦОВ К ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ЗАДАЧ ФАРМАКОЛОГИИ И КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

■ **Л.В. Галактионова**, к.х.н., специалист отдела хроматографии, компания «ЭЛЕМЕНТ»

Системное изучение лекарственного препарата путем оценки его эффективности и безопасности, выявления его клинических, фармакологических, фармакодинамических свойств, оценки всасывания, распределения, метаболизма, выведения и взаимодействия с другими лекарственными средствами в настоящее время невозможно без использования метода хроматомасс-спектрометрии. Подобное исследование включает в себя несколько основных стадий:

- подготовка пробы,
- разделение,
- детектирование.

Из них качество и повторяемость проведения предварительной подготовки образца является определяющим фактором, напрямую влияющим на воспроизводимость и достоверность получаемых на масс-спектрометре результатов. Это особенно актуально при анализе сложных многокомпонентных смесей, к которым относятся биологические жидкости.

Наиболее часто используемыми методами подготовки пробы к масс-спектрометрическому анализу являются:

- жидкость-жидкостная экстракция,
- осаждение белка,
- твердофазная экстракция (ТФЭ):
  - оффлайн-ТФЭ,
  - онлайн-ТФЭ.

Классические методы подготовки пробы, такие как жидкость-жидкостная экстракция и осаждение белка, являются наиболее трудоемкими, требуют значительного расхода растворителя, наличия дополнительных стадий и имеют ограниченную селективность.

В связи с этим все больший интерес пользователей приобретает метод твердофазной экстракции, как более специфичный, воспроизводимый и

удобный метод, обеспечивающий высокую степень извлечения требуемого соединения. При этом проведение процесса пробоподготовки методом ТФЭ в онлайн-режиме имеет ряд преимуществ по сравнению с оффлайн-ТФЭ, таких как:

- перенос аналита напрямую в аналитическую колонку без промежуточных стадий, что позволяет получать более высокие значения степеней извлечения;
- постоянство скорости потока растворителя и объема анализируемой пробы и, как следствие, высокая воспроизводимость анализа;
- возможность проведения процесса пробоподготовки с последующим МС-детектированием в полностью автоматическом режиме, что способствует сокращению времени проведения одного анализа и времени разработки нового метода.

В 2013 году компания «ЭЛЕМЕНТ» представила на российском рынке не имеющие аналогов в мире полностью автоматические онлайн-ТФЭ системы подготовки образцов к масс-спектрометрии производства компании **Spark Holland** (Нидерланды). Эти системы совместимы аппаратно и программно со всеми моделями жидкостных масс-спектрометров ведущих мировых производителей, таких как Shimadzu, ABSciex, Bruker, Waters, Perkin Elmer и др. Фирмой выпускаются как комплексные системы для ВЭЖХ и ВЭЖХ-МС, объединяющие автоматическую систему онлайн-ТФЭ, ввода образца и ВЭЖХ, так и отдельные блоки: насосы, термостаты, автосемплеры и т.д.

Отличительной особенностью систем пробоподготовки Spark Holland является реализованная концепция «подготовки образца под высоким давлением» (до 300 бар), а именно:

1. Специальная запатентованная конструкция ТФЭ-картриджей – «HySphere™», заполненных оптимальными по размеру частиц сорбентами <10 мкм. Компания Spark Holland разрабатывает и производит широкий круг сорбентов ТФЭ, гарантирующих высочайшую эффективность разделения и воспроизводимость анализа. На каждую партию картриджей ТФЭ (96 штук) поставляется сертификат о проведении анализа.



Рис. 1. Внешний вид картриджа ТФЭ «HySphere™»



Рис. 2. Бокс с картриджами ТФЭ, 96 шт.

При использовании картриджей ТФЭ «HySphere» малого размера достаточно совсем небольшого количества образца для достижения наивысшей чувствительности анализа. Отработанный картридж ТФЭ может быть регенерирован в соответствующем растворителе и использован повторно.

2. Функция постоянной скорости потока растворителя для всех образцов позволяет работать с образцами высокой плотности, а также с образцами, имеющими разную плотность.

Использование системы онлайн-ТФЭ сводит к минимуму количество ручных операций (не требуется проводить процедуру центрифугирования/фильтрации), исключает контакт оператора оборудования с анализируемым образцом, что полностью соответствует стандартам GLP. Кроме того, исключаются ошибки, связанные с работой оператора.

Процедура онлайн-ТФЭ происходит одновременно с масс-спектрометрическим анализом, таким образом, время, затрачиваемое на пробоподготовку, равно нулю.

В отличие от оффлайн-ТФЭ использование онлайн-систем Spark Holland позволяет снизить себестоимость выполнения одного анализа за счет малого расхода реагентов, а также отсутствия необходимости использовать дополнительную лабораторную посуду для хранения и сбора образца после проведения пробоподготовки.

Наиболее доступной и популярной является встраиваемая в ВЭЖХ-МС/МС система онлайн-ТФЭ Spark Holland, состоящая из двух основных блоков:



Автоматический высокоточный дозатор шприцевого типа для подачи реагентов **HPD™ HighPressureDispenser**:

- стандартная скорость подачи реагентов в диапазоне от 0.1 до 10 мл/мин. Диапазон дозируемых объемов:

- 0.1–1 мл с шагом 0.01 мл;
- 1– 10 мл с шагом 0.1 мл;
- 10–100 мл с шагом 1 мл.

- работа при давлении до 30 МПа;

- возможность смешения двух растворителей в соотношении от 10% до 90%;

- рабочий диапазон pH: 1.0–12.5;

- модификация HPD™-micro: обеспечивает скорость дозирования в диапазоне от 10 до 1000 мкл/мин;

- устройство выбора растворителя позволяет подавать до 24 растворителей с возможностью смешения в онлайн-режиме или до 24 реагентов для проведения онлайн-derivатизации.



Устройство для автоматической смены картриджей твердофазной экстракции **ACE™ Automatic Cartridge Exchanger**, позволяет успешно работать в режимах онлайн, и, при необходимости, оффлайн-ТФЭ.

- вместимость: два лотка на 96 картриджей, способных выдерживать давление до 300 бар. Возможность установить дополнительный автоподатчик вместимостью до 10 лотков (960 картриджей) увеличивает производительность системы.

- устройство оборудовано роботизированным механизмом, способным захватывать ТФЭ-картридж с адсорбированными на нем аналитами и переносить в линию для десорбции компонентов в аналитическую колонку. При работе в параллельном режиме замена картриджа занимает не более 13 сек.

- запатентованная технология **TASPE™** (Temperature Assisted Solid Phase Extraction): ТФЭ с контролем температуры дает дополнительные возможности по оптимизации процесса селективной очистки образцов.



Рис. 3. Пример сопряжения онлайн-системы твердофазной экстракции ACE™ + HPD™. Spark Holland с тройным квадрупольным жидкостным хроматомасс-спектрометром LCMS-8040 Shimadzu

Помимо этого компания Spark Holland предлагает комплексные онлайн-ТФЭ системы, предназначенные для решения задач фармакологии и клинических исследований:



**Symbiosis™ Pico** – универсальная интегрированная система ТФЭ-УВЭЖХ, позволяет проводить очистку, предварительное концентрирование и анализ неподготовленных образцов в полностью автоматизированном режиме.

**Состав системы:**

- Устройство для автоматической смены картриджей ТФЭ ACE Dual 2x ISS;
- Автоматический дозатор для подачи реагентов HPD mix 2x SSM;
- Автосемплер ALIAS™ с функцией охлаждения;
- Насос высокого давления SPH-1240 со встроенным миксером и 4-канальным вакуумным дегазатором;
- Емкости (органайзеры) для хранения бутылей с растворителем и картриджами ТФЭ;
- Программное обеспечение Analyst®.

Возможна комплектация системы термостатом Mistral™ (вместимостью до 6 колонок), снабженного клапаном переключения.



**Symbiosis™ Pro** – высокопроизводительная система ТФЭ-УВЭЖХ.

**Symbiosis™ Pharma** – уникальное решение для автоматического онлайн-ТФЭ-ВЭЖХ-МС-анализа, позволяющее вводить в систему «сырые» биологические образцы.

**Состав системы:**

- Устройство для автоматической смены картриджной ТФЭ ACE Dual 2x ISS;
  - Автоматический дозатор для подачи реагентов HPD mix 2x SSM;
- Автосемплер Reliance (емкость автосемплера: 12 стандартных 96-луночных планшет или 24 планшеты с уменьшенным диаметром лунок; встроенная система охлаждения на элементах Пельтье;
  - Емкости (органайзеры) для хранения бутылей с растворителем и картриджной ТФЭ;
  - Программное обеспечение Analyst®

Примеры анализов, реализуемых на ВЭЖХ-МС/МС при помощи онлайн-ТФЭ-систем пробоподготовки Spark Holland:

**Вы можете познакомиться с системами онлайн-ТФЭ производства Spark Holland в офисе компании «ЭЛЕМЕНТ» по адресу:**

**117105 г. Москва, Варшавское ш., 1, стр. 6, БЦ «W Plaza 2»  
тел./факс: (495) 514-00-48  
e-mail: msc@element.utk.ru**

**а также получить дополнительную информацию и консультации:**

**620075, Екатеринбург, ул. Бажова, 68  
тел./факс: (343) 278-34-64 (-65, -66, -67, -68, -69)  
e-mail: element@element.utk.ru**

**630007, Новосибирск, ул. Октябрьская, 42, оф.225/3  
тел./факс: (383) 20-20-726  
e-mail: shim\_ns@element.utk.ru**

**Приглашаем также посетить наш стенд на предстоящих выставках:**

**17-я специализированная выставка химической промышленности и науки «ХИМИЯ-2013» (28–31 октября 2013, Москва, ЦВК «Экспоцентр»)  
Павильон №8, зал №1, стенд №81А15**

**Международная выставка «Pharmtech – Технологии фармацевтической индустрии».  
(25–28 ноября 2013, Москва, ВВЦ).  
Павильон 75А, стенд А 201**