

Серебряная награда Pittcon 2017: система твердофазной экстракции β -Gone компании Phenomenex для быстрого удаления β -глюкуронидазы



Серебряная награда Pittcon Today Excellence Awards 2017 года была присуждена компании Phenomenex, ведущему разработчику решений по разделению и очистке веществ для лабораторий химического анализа. Приз в конкурсе получила система твердофазной экстракции β -Gone для быстрого удаления β -глюкуронидазы из образцов гидролизованной мочи.

Значительная часть метаболитов лекарственных или токсичных веществ присутствует в моче в виде глюкуронидов – производных β -D-глюкуроновой кислоты. Анализ этих соединений методами ВЭЖХ и масс-спектрометрии требует отщепления гликозидного фрагмента молекулы. Обычно это производится путем ферментативного гидролиза с помощью β -глюкуронидазы. Однако в результате такой реакции происходит накопление значительного количества солюбилизированного фермента, который загрязняет хроматографическую колонку, снижает ее эффективность и сокращает срок эксплуатации.

Чтобы уменьшить негативное воздействие, стандартная методика рекомендует многократное разбавление аналита с его последующим прямым вводом в хроматографическую систему. Однако такой подход оборачивается потерей чувствительности и точности анализа. Кроме того происходит, хотя и с меньшей интенсивностью, загрязнение хроматографической колонки. Альтернативные методы, основанные на осаждении-фильтрации и твердофазной экстракции, многостадийны, трудоемки и не исключают потерь исследуемых веществ.

Компания Phenomenex разработала сорбент β -Gone, позволяющий селективно связывать β -глюкуронидазу. На его основе был создан ряд продуктов для простой и быстрой очистки образцов мочи от присутствующего в них фермента. Техника пробоподготовки рассчитана на работу с объемами аналита до 200 мкл, включает две-три операции и производится менее чем за минуту.

Системы твердофазной экстракции для быстрого удаления β -глюкуронидазы имеют несколько модификаций: проточные пробирки на 1 мл, 96-луночные планшеты, а также 2-мл пробирки для центрифугирования. В проточных устройствах жидкость фильтруется через сорбент под действием внешнего давления, вакуума или с помощью центрифугирования. В непроточном варианте центрифужные пробирки встряхиваются до образования внутри них устойчивой суспензии. Затем фермент, связанный β -Gone, осаждается центрифугированием при 14 000 об/мин в течение 10 мин, а надосадочная жидкость собирается и анализируется.

Практическое применение систем твердофазной экстракции на основе сорбента β -Gone показало, что они обеспечивают стабильное освобождение образцов от присутствия β -глюкуронидазы при количественном извлечении метаболитов лекарственных веществ. При этом чувствительность анализа возрастает более чем в три раза.