

Technical Report

使用 LH-40 液体处理器优化制备流程

Katsuaki Koterawasa¹, Honami Asakura¹, Kosuke Nakajima², Yusuke Osaka¹, Yasuhiro Funada¹, Keiko Matsumoto¹, Kyoko Watanabe

摘要：

制备型液相色谱（LC）是一种用于从混合物中分离目标化合物的分离技术。该技术利用高效液相色谱（HPLC）的优异分离性能纯化目标化合物。制备型液相色谱广泛应用于制药、化学和其他诸多领域，该技术能从高纯度合成产品中提取目标化合物，并能从天然材料中选择性地提取功能组分。制备型液相色谱的此类应用需要对分离和装载条件进行初步考察和优化，并需要对该步骤进行简化。

岛津 Nexera™ Prep 制备型纯化 LC 系统可为包括初步方法开发阶段在内的全套制备工作流程提供支持和优化。本文对 LH-40 液体处理器及 LabSolutions™ 控制软件的使用进行介绍，该系统可以简化条件的初步考查，规模放大至制备规模，优化制备参数，并能进行纯度检查。本文还阐述了如何扩展该系统进行大量样品的连续制备分离。

关键词：Nexera Prep、多单元液体处理器、制备型液相色谱、LH-40

■ 精简而高效化的制备型液相色谱

制备型液相色谱是一种用于从混合物中分离目标化合物的技术。该技术利用高效液相色谱（HPLC）的优异分离性能纯化目标化合物。鉴于制备型液相色谱的目标，不仅需要（1）最大限度地提高提取率和纯度水平，而且需要（2）简化从进样到纯度检查的整个制备工作流程。

本文主要介绍了 LH-40 液体处理器的使用方式及其硬件特点，即整合了馏分收集器和自动进样器功能，并通过 LabSolutions 软件将所有制备工作流程无缝衔接，包括进样条件的初步考查、规模放大至制备规模、优化制备参数和纯度检查。

■ 分析规模的条件考查

对于制备型液相色谱，一个重要的初始步骤是确定要分离的目标化合物的量。该量可根据样品中目标化合物浓度及量进行估算，并后续用于制备系统和色谱柱的选择。大量目标化合物需要具有较大内径和较大装载量的色谱柱。

制备型液相色谱需要消耗大量流动相和样品，因此通常使用分析规模预先考查分离条件。LH-40 在制备型液相色谱系统中添加了一条分析液相色谱流动路径（图 1）。可将高达 400μL 的流动相注入分析流动路径，并能精确考查装载量

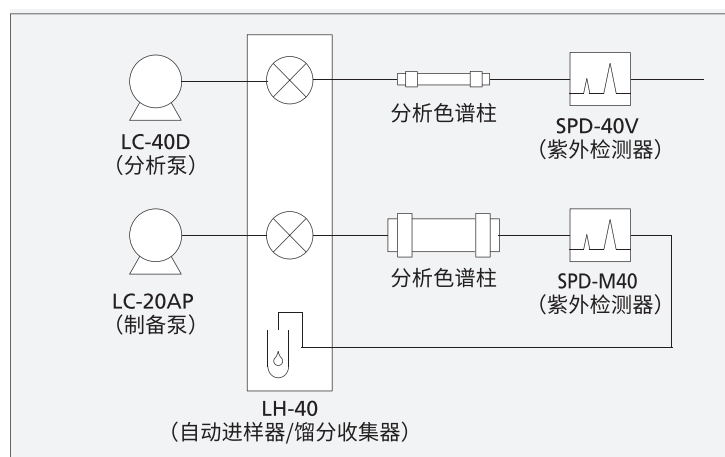
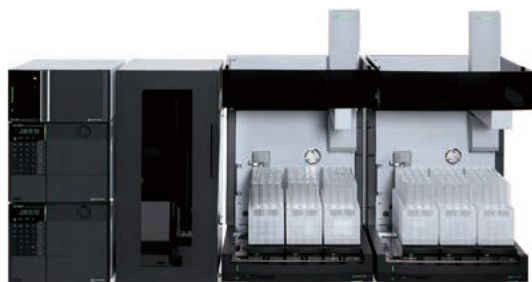


图1 组合分析/制备系统流程示意图例

1 株式会社岛津制作所分析计测事业部

2 Shimadzu Asia Paci_c

■ 制备条件的优化

在根据分析规模考查分离条件之后，放大规模进行制备应用。

在制备柱中采用相同的填料量实现相同分离，而流动相流量和装载量的增加与制备柱横截面面积的增加成正比。图2显示了在分析规模确定的装载量的规模放大示例。

将色谱柱的内径从4.6mm增加至20mm，可使横截面积增加约18.9倍，因此需要将制备级流速设置为19mL/min或分析级流速的19倍。规模放大后，所得色谱图相同。

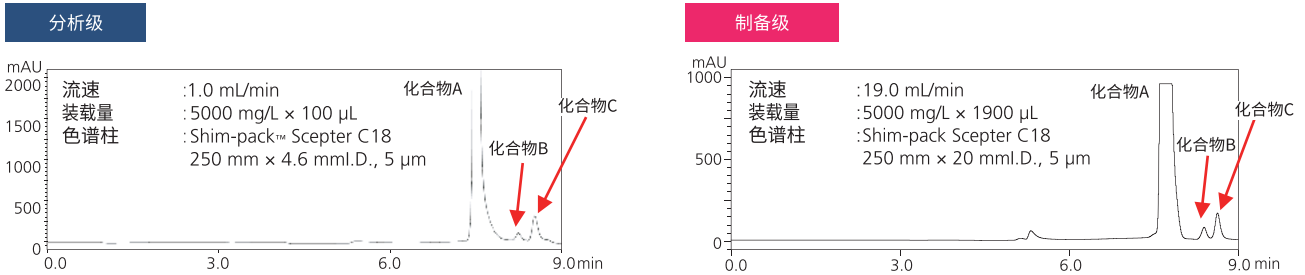


图2 从分析级到制备级的规模放大示例

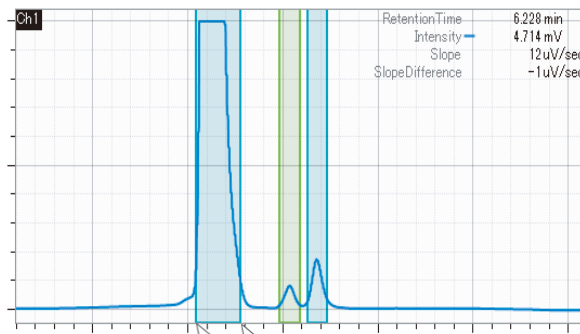
下一步是配置馏分参数。可以使用自动馏分收集、指定时间馏分收集或手动馏分收集进行馏分。

自动馏分收集包括设置峰检测信号斜率和强度阈值，并根据峰识别收集馏分。该方法独立收集馏分，而不受保留时间变化的影响。

指定时间馏分收集是指预先设置洗脱时间范围，并根据洗脱时间范围收集馏分。当重复进行制备分离时，该方法可用于在预定时间段内收集馏分。

手动馏分收集涉及收集馏分的手动控制。操作人员可通过LabSolutions软件界面监控色谱图，只需轻轻按键一次即可收集馏分。

LabSolutions软件中的馏分收集功能可轻松设置所有收集参数。操作人员仅需根据色谱图选择收集峰范围（如图3中的蓝色和绿色区域所示）参数即可，LabSolutions软件能够自动计算收集馏分所需的信号斜率和阈值强度。也可基于指定峰范围的洗脱时间设置馏分收集。



点击色谱图选择所需的峰范围

Peak Detection Parameter

Use Slope

Front Slope: 312457 uV/sec

Back Slope: - 3768 uV/sec

Peak Shape: Unspecified

Use Level

Level: 116975 uV

自动馏分收集参数

	Time	Command	Parameter
▶ 1	7.55	ValveOpen	
2	7.99	ValveClose	
3	8.30	ValveOpen	
4	8.46	ValveClose	
5	8.52	ValveOpen	
6	8.76	ValveClose	
7			
8			
9			

指定时间馏分收集参数

图3 馏分收集参数的自动配置

■ 纯度检查

根据分析规模分析的收集馏分检查纯度。LC-40 可直接分析馏分，无需在分析过程中转移任何样品。图 4 显示了分馏前的色谱图和取得分馏后化合物 A、化合物 B 和化合物 C 馏分的色谱图。色谱图表明，各馏分均不含其他化合物，由各自目标化合物的纯度馏分组成。

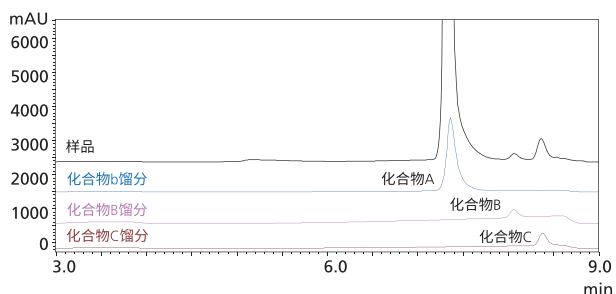


图4 各馏分的纯度检查

■ 大量样品的多单元分析

最多可将六单元的 LH-40 液体处理器组合连接使用以实现更高工作流程效率（图 5）。组合连接使用时，所有 LH-40 液体处理器单元均能够进样、收集馏分并检查所收集馏分的纯度。将多个 LH-40 液体处理器单元组合使用可实现对大量样品的连续制备分离和纯度检查。

例如，两个 LH-40 液体处理器可容纳多达 432 支 18mm 试管（图 6）。假设从每个样品中收集 5 个馏分，此配置允许多达 72 个样品依次分馏，然后将收集到的全部馏分进样到总共 360 支试管中，通过单一系统即可完成从进样到纯度检查的整个工作流程。

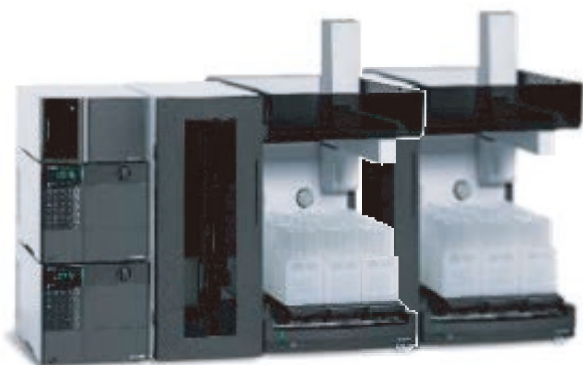


图5 多单元液体处理器系统（两单元LH-40液体处理器组合）

显示1个样品中的5种化合物的制备分离的色谱图示例

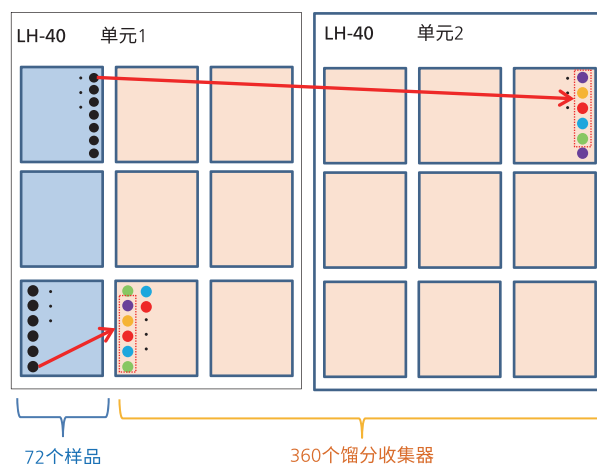
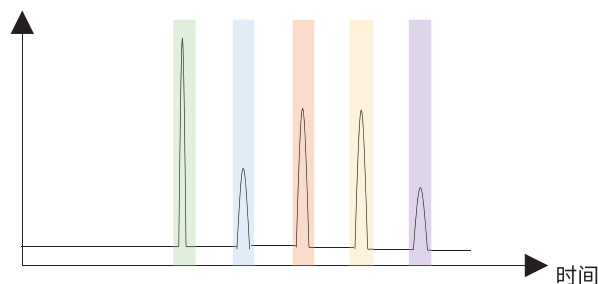


图6 多重液体处理器系统示例

■ 结论

LH-40 液体处理器及 LabSolutions™ 控制软件的组合可实现简化、单一系统进行完整制备工作流程，从制备条件初步考查到优化制备参数到纯度检查。

最多可将六单元 LH-40 液体处理器组合连接并一起配合使用进行进样、收集馏分并检查所收集馏分的馏分纯度水平。将 LH-40 液体处理器组合使用可实现对大量样品进行连续制备分离和纯度检查。

LCMS、LabSolutions 和 Shim-pack 是岛津制作所或其附属公司在日本和 / 或其他国家的商标。



岛津企业管理（中国）有限公司
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话： 800-810-0439
400-650-0439

免责声明：

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；
* 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。
如有变动，恕不另行通知。