

Technical Report

LabSolutions MD 自动筛选 pH 值实现分析方法的高效开发

 Shinichi Fujisaki¹

摘要：

由于流动相的 pH 值会影响离子化合物的保留时间，因此确定最佳 pH 值是开发 LC 方法的重要组成部分。pH 筛选需要制备多种不同 pH 值的流动相。然而，手动配制这些流动相不仅耗时，而且很容易出现错误。自动 pH 筛选过程提高了方法开发的效率和分析的可靠性。本文介绍了 LabSolutions MD（支持方法开发的专用软件）的使用示例，对流动相 pH 值（pH2.5 至 8.5）自动进行了筛选，评估了分离 12 种小分子药物的最佳 pH。

关键词： LabSolutions MD, pH 筛选, AQbD, 分析方法开发, 方法建立

1. 背景

目标化合物在不同流动相 pH 值下的保留行为反映了其 pKa 值。在方法开发的初始阶段进行流动相 pH 筛选，以评估 pH 对分离度的影响。然而，pH 筛选需要配制多个不同 pH 值的流动相，该过程的自动化可以提高方法开发的效率并避免配制错误。由于 LabSolutions MD 有 pH 筛选的专用数据库和流动相混合功能，因此可以通过在线配制任何 pH 浓度值的流动相来实现整个 pH 筛选过程的自动化。本文介绍了如何使用 LabSolutions MD 自动化 pH 筛选功能以分离 12 种小分子药物，从而更有效地评估最佳 pH。

2. LabSolutions MD 自动 pH 筛选

LabSolutions MD 通过设置每个参数（例如流动相和色谱柱）自动生成实验设计（图 1，步骤①至⑤）。单击即可选择流动相和色谱柱，且二者均可在分析过程中自动切换。表 1 显示了分离 12 种小分子药物的 pH 筛选条件。在 LabSolutions MD 的操作过程中，点击流动相 pH 值（图 1），通过流动相混合功能，使 pH 值从 2.5 每次升高 0.5 直至 8.5，自动制备特定 pH 值的 13 种流动相（见表 1）。该功能可显著减少手动配制不同 pH 值流动相的工作量且有效减少配制错误。此外，这 13 种不同 pH 值的溶液均由三种类型的流动相（储备液）制备（见表 1 中的 *1），与传统手动配制所有 pH 值的流动相相比，该方法可使用较少的流动相瓶，减少了液体的浪费。

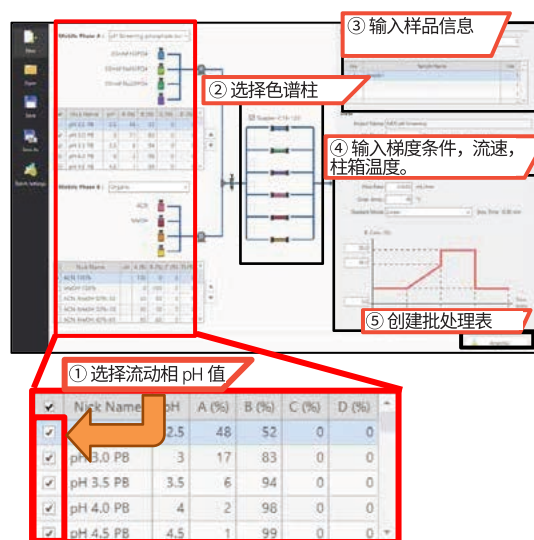


图 1 pH 筛选实验设计的创建步骤

表 1 分析条件

系统：Nexera™ X3（方法开发系统）		
样品：12 种小分子药物（见图 2）		
流动相：		
泵 A- 水溶液（20 mmol/L 磷酸钠水溶液） ^{*1}		
A1) pH 2.5	A6) pH 5.0	A11) pH 7.5
A2) pH 3.0	A7) pH 5.5	A12) pH 8.0
A3) pH 3.5	A8) pH 6.0	A13) pH 8.5
A4) pH 4.0	A9) pH 6.5	
A5) pH 4.5	A10) pH 7.0	
泵 B- 乙腈		
色谱柱：		
Shim-pack Scepter™ C18-120（100 mm × 3.0 mm I.D., 1.9 μm） ^{*2}		
分析条件：		
B 相浓度	:	5% (0 min) → 80% (8.01-11 min) → 5% (11.01-15 min)
柱温	:	40 °C
流速	:	0.7 mL/min
进样体积	:	1.0 μL
检测	:	Max plot 220-400 nm (SPD-M40, UHPLC 流通池)

*1 流动相混合功能用于自动混合如下三种类型的流动相（储备液）来自动制备不同的 pH（A1 至 A13）。

- (1) 20 mmol/L 磷酸水溶液
- (2) 20 mmol/L 磷酸二氢钠水溶液
- (3) 20 mmol/L 磷酸氢二钠水溶液

*2 P/N 227-31013-03

¹ 分析计测事业部

3. pH 筛选结果和汇总

含有 12 种小分子药物的样品在不同 pH 值 (pH2.5 至 8.5) 下的色谱图如图 2 所示。由于乙酰水杨酸 (峰 1) 含有一种杂质 (峰 2)，所以共计 13 个色谱峰。结果表明，部分化合物在 pH 2.5 时共流出，但所有化合物在 pH 7.0、7.5 和 8.5 时均分离。LabSolutions MD 可以根据以下公式 1 对每个 pH 值的分离模式进行定量评估和排序，以确定最佳 pH，而无需依赖用户经验。

$$(\text{评价值}) = P \times (Rs_1 + Rs_2 + \dots + Rs_p) \dots (\text{Eq.1})$$

评价值的计算方式为检出峰数 (P) 乘以所有峰的分度度 (Rs) 之和。图 3 按从高到低的顺序列出了通过 pH 筛选获得的评估值。结果显示 pH 7.5 为最高值。

使用 pH 筛选功能进行方法开发不仅能够检查不同 pH 值流动相下每种化合物的保留行为变化，还能够推测未知化合物的 pKa 值。因此，可以根据每种化合物的估计 pKa 值来设置 pH 值，从而开发出耐用性好的分析方法，这也有助于提高流动相 pH 筛选阶段后方法开发各个阶段的效率，如优化阶段和耐用性评估阶段。本文仅展示了方法开发过程中自动流动相 pH 筛选过程，但 LabSolutions MD 也可用于提高优化阶段和耐用性评估阶段的的分析效率。如需了解更多详细信息，请参阅技术报告“通过 LabSolutions™ Md 软件进行质量源于设计的高效方法开发 (C190-E284)”。

使用此二维码访问技术报告 C190-E284。

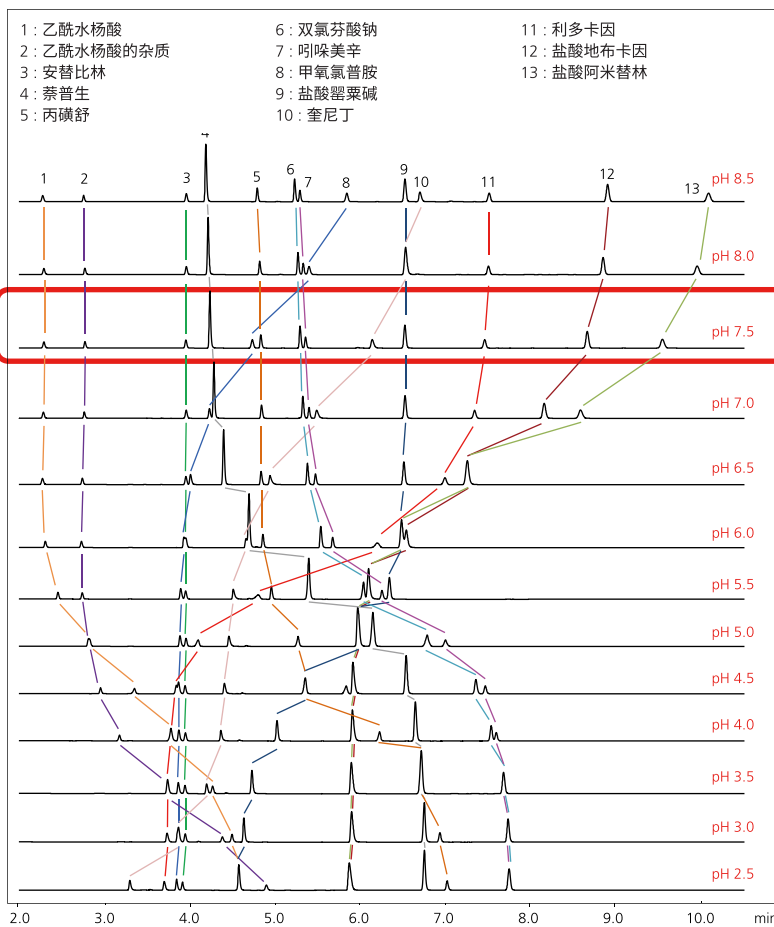


图 2 小分子药物 pH 筛选结果 (12 种)

Response	
MPA pH	Evaluation Value
7.5	233.977
8.5	233.717
7	230.157
8	196.311
6.5	194.094
5.5	190.046
4.5	182.656
6	162.67
4	160.325
2.5	135
3	135
5	135
3.5	107.326

图 3 各 pH 值按评价值的排名 (从高到低)

岛津应用云



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。

第一版发行日: 2023 年 01 月