

应对复杂基质中目标化合物分离纯化的各种挑战

——沃特世自动纯化系统的整体解决方案

桑磊, 徐永威

沃特世(科技)上海有限公司

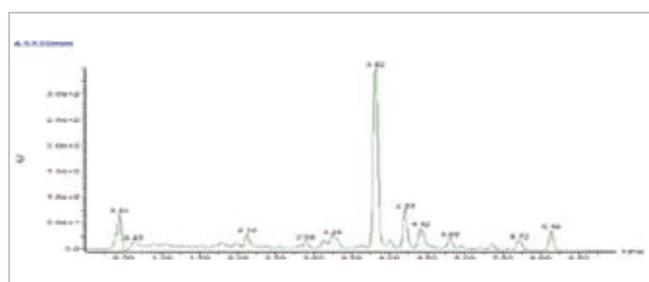
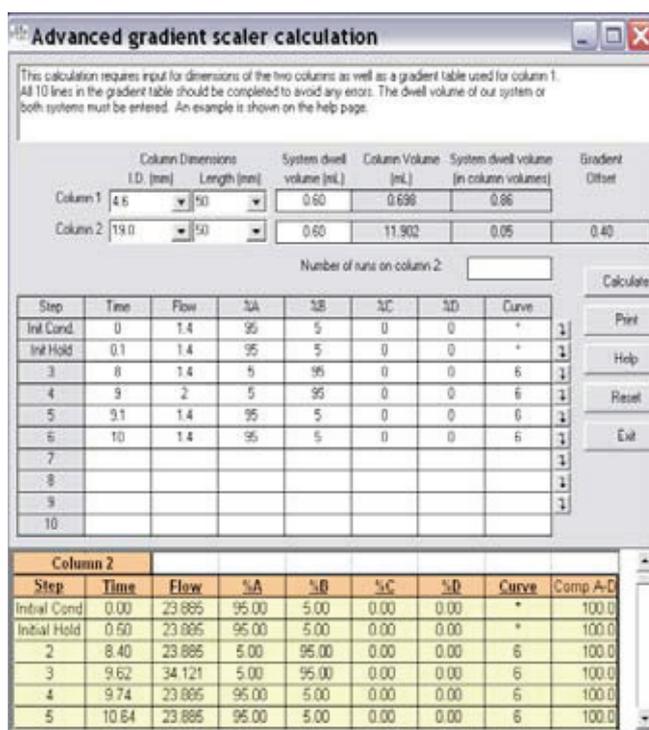
在新药研发化合物筛选、药物质量研究杂质分析、天然产物活性成分研究, 生物制药等领域中我们都需要从复杂基质粗品中分离、制备出我们的目标化合物。在这个过程中我们往往会遇到很多的挑战, 例如: 制备样品高浓度、大体积进样, 基质的干扰及溶剂效应等, 增加分离的难度; 怎样提高难溶性样品的进样量并进一步优化峰形; 如何把分析条件快速的转换到制备方法是提高制备实验室效率的关键; 制备色谱的高流速、高投入一直是实验室成本控制的难点; 提高馏分的纯度、回收率也是制备色谱使用者最关注的问题之一; 如何解决手性、大极性、脂溶性等特殊化合物的制备同样是一直困扰大家的难题。

客户的挑战就是沃特世仪器发展的方向, 我们根据客户的需求来研发我们的产品, 不断推出新的技术和应用来帮助客户解决分离纯化遇到的各种挑战。沃特世自动纯化系统是专门针对各种复杂基质样品的分离纯化而设计的, 它具有多种信号监测触发收集馏分功能、制备方法开发简便、分析-制备-馏分分析自动转换、载样范围宽、高通量、高效率、高纯度高回收率、高安全性(样品不丢失)等优点。

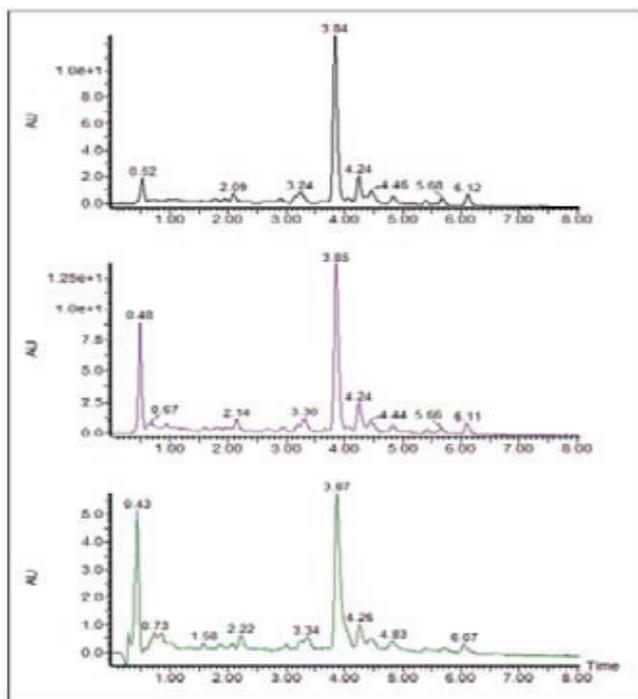
怎样实现分析方法到制备方法的转化

我们可以实现从样品的分析-制备方法开发-馏分分析的自动无忧转换:

沃特世自动纯化系统2767样品管理器具有独立的分析制备进样阀和通路, 系统流路管理器可以进行三根分析柱和两根制备柱的自动切换。Waters公司研发了一系列的方法与专利技术(OBD色谱柱技术), 多种选择性的填料覆盖了从HPLC、UPLC系列分析色谱柱, 至Prep系列色谱柱, 并一一对应。客户可以使用如下图所示的Waters Prep Calculator就能简便地实现由分析方法至制备方法的无缝转换。



分析图谱 4.6mmID。

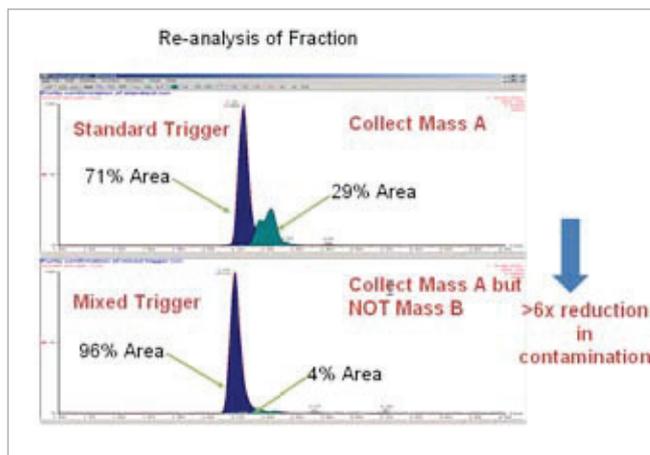
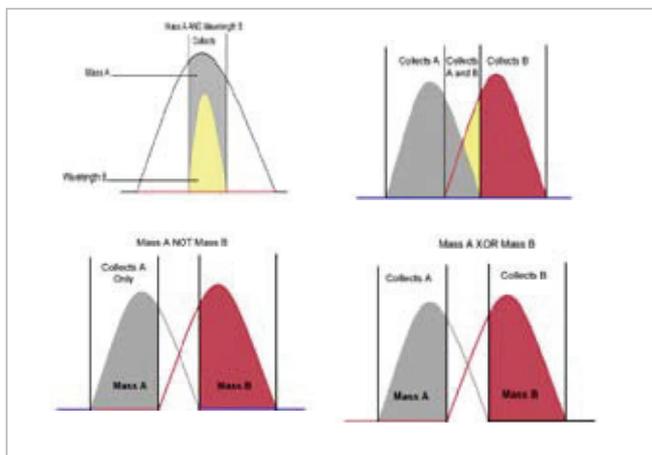


放大的制备分离, 10 mm I.D. (上), 19 mm I.D. (中), 30 mm I.D. (下).

怎样得到足够纯度的样品

在分析分离方法开发的过程中，分析工作者时常会遇到目标化合物和杂质未能基线分离的情况，但是又需要得到一定纯度的目标化合物，此时我们可以不用实现基线分离也能获得高纯度化合物：

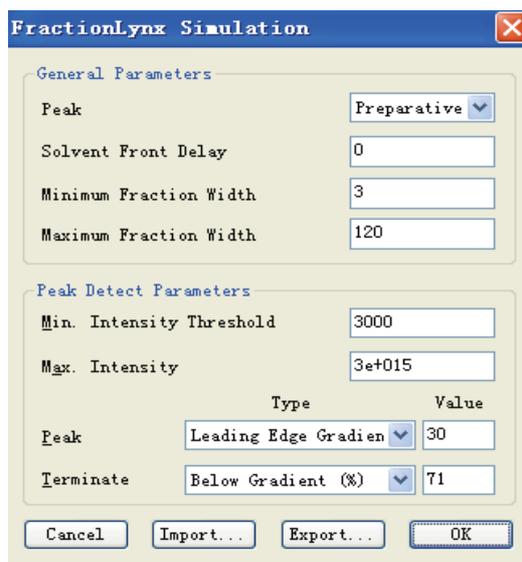
沃特世自动纯化系统能通过Fractionlynx软件多种收集方法的优化，得到更高纯度目标化合物。如下图所示，可以通过不同的逻辑关系设置，实现不同目标峰的收集，从而获得足够纯度的目标化合物，减少二次分离的成本与样品损失。



怎样提高样品的回收率

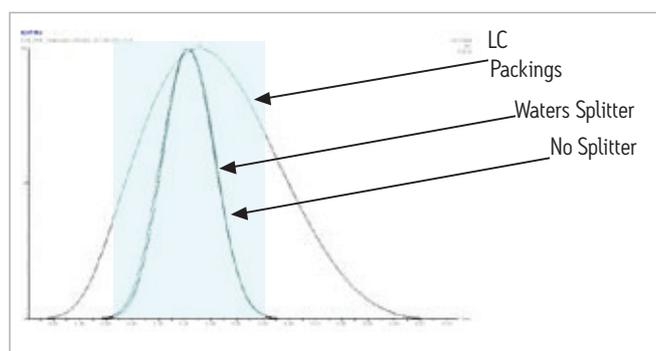
从原料起始，要得到一个足够纯度的目标化合物，通常需要若干个步骤，而在不同的步骤中，样品时常会有一定程度的损失，考虑到原料本身的成本以及整个的生产周期，化学家们需要尽可能提高收率。沃特世自动纯化系统通过下列仪器功能可以帮助客户顺利的完成样品纯化工作，并得到尽可能高的样品回收率。

1) 模拟收集功能——单次进样就可以获得满意的收集方法，通过减少方法开发过程中样品的损失而提高回收率。



2) 沃特世自动纯化系统分流器可最大程度的减少峰展宽提高回收率

在制备色谱中，当连接有MS、ELSD等破坏性的检测器时，需要分流技术实现馏分的检测，而分流后，由于涡流的影响，将导致色谱峰的展宽，如果按照检测器获得的峰进行收集，如下图中阴影部分，将有大量的样品损失。针对这一问题，沃特世研发了专利技术的Splitter设备，最大程度的减少峰的展宽，进而获得高的样品回收率。



怎样提高制备的效率或通量

在面临较大数量或者较大质量的样品纯化时，单单依靠手动进样，在工作时间的8个小时内很难完成。沃特世自动纯化系统凸现了优势，通过软件与硬件的优化可以让您的纯化系统24小时不间断运行，同时通过系统流路管理器实现双制备柱的自动切换，实现多种体系的自动更换，从而实现高效率的制备纯化工作。

1) 2767样品管理器，提供了强大的样品收集功能，448Vial收集架满足了24小时运行样品所需的收集空间；同时2767样品管理器结合SFO的色谱柱切换功能，提供了样品分析-制备-馏分再分析的自动功能，节省了人工分析的工作，从而提高工作效率。

2) SFO的双制备柱模式，一方面可以通过双柱系统的自动切换，实现不同色谱柱体系的自动切换，或者同一根色谱柱不同流动相体系的切换，从而克服了一套纯化系统每天只能运行一种体系（酸性、碱性、甲醇或乙腈）的缺点，成倍地提高了制备纯化的效率。另一方面，也通过SFO实现一根色谱柱分离样品，另一根色谱柱离线再生，节约了人工再生色谱柱的时间，进一步的提高纯化的效率。

怎样保证样品不会丢失

化学家们得到一个理想的目标化合物，通常需要数周或者数月的时间，人工、物力和时间的成本非常昂贵，保证这些化合物的安全至关重要。沃特世自动纯化系统，在保证仪器24小时高效率运行的情况下，充分考虑到了样品的安全性问题，通过以下功能可以实现。

1) 紧急手动收集功能

在方法开发的过程中，由于分离条件或者收集条件设置的不合适，可能会发生样品收集不到的情况，而紧急手动收集功能克服了这一问题，尽可能的避免了样品丢失情况的发生。

2) 失败收集监控功能

当工作人员离开工作岗位时，沃特世自动纯化系统的失败收集监控功能可以帮你站好岗，一旦发现目标化合物未能收集到，即刻停止样品运行，保证剩余样品的安全。

3) 溶剂监控功能

沃特世纯化系统可以实时监控每路流动相及废液的溶剂状态，当达到警告液位时发出提示或者电子邮件通知，当达到紧急警告位时，仪器将会自动停机，有效的保护您的样品安全和系统安全。

4) 超压、低压保护功能

当仪器在运行过程中遇到超压或者低压的情况时，超压或低压保护功能将会启动，立即停止样品运行，保证样品与系统的安全。

系统的适用性怎么样

对于科研工作者来讲，研发的课题通常具有多样性，所涉及的化合物也具有不同的化学性能。对于企业来说，制备量范围的要求也很高。针对性质各异的化合物，从毫克到公斤级的制备量，一套系统能否全部适用，对科研工作者而言至关重要。沃特世自动纯化系统从硬件配备到软件控制，最大可能的做到了兼容并包，以便实现客户需求的多样性与适用性。

1) 检测器的多样性与兼容性。沃特世自动纯化系统可以配备不同的检测器如：UV、ELSD、PDA、FLR、IR、MS等多种检测器，对于不同性质的化合物，可以选择合适的

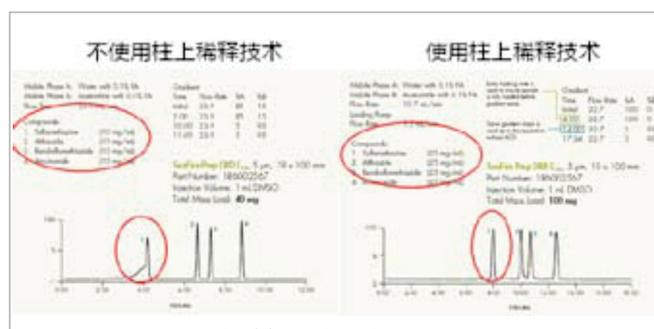
检测器与之匹配，如糖类化合物，紫外吸收很弱，可以选择ELSD或者MS检测器。

2) 沃特世自动纯化系统的制备泵系列，流速在0.5—300mL/min范围之间，色谱柱可以选择内径4.6mm—100mm的色谱柱，与之相对应的样品制备量可以涵盖几毫克至公斤级别。因此，可以满足用户在不同研发阶段的样品纯化需求。

3) 沃特世自动纯化系统的所有连接管路均为不锈钢管，可以耐受pH1-12的条件，完全满足常规制备色谱对于仪器耐受酸、碱性的要求。此外，带有泵头自动清洗功能的溶剂泵，更适用于含缓冲盐体系的流动相，从而可以适用SEC或IEX等色谱系统。

样品溶解性差怎么办

当遇到溶解性差的待分离纯化样品时，通常选择DMSO或DMF等溶剂溶解，而DMSO或DMF的使用，常常导致目标峰变形或者样品夹带，从而导致样品的纯度降低或者损失。为了克服这一问题，沃特世公司研发了At-Column-Dilution(ACD)技术，该技术的使用，消除了DMSO或DMF的溶剂化效应，大大提高了上样量（与普通的直接上样方式相比，可以提高2-3倍上样量），并保证了样品的纯度。



仪器的扩展性怎么样

当客户觉得先前的配置不能满足日益增长的业务需要时，沃特世可以提供无忧的软件和硬件的升级。如客户先前配置了UV引导的自动纯化系统，现在需要升级至MS引导的纯化系统，则只需购置一台MS检测器与先前的UV检测器并联即可，无需更换其它硬件设备。



仪器系统是否简便、易操作

当客户选择沃特世自动纯化系统时，不论是选择Empower软件系统，还是Masslynx软件系统，沃特世都充分考虑到了用户的操作简便、快捷。当您选择Empower操作系统时，您可以通过设置不同权限的用户，来保证该系统的安全、便捷运行，如需更改仪器方法或进行仪器维护，则可通过管理员帐户进入，完成相应的工作。当地选择Masslynx软件系统时，同样可以通过Open Access软件设置不同权限的用户，方便不同类型用户的方便、快捷使用，同时保证操作系统的安全。



怎样降低样品制备的成本

降低研发或者生产的成本，是每一位客户的考虑。一方面，沃特世通过提高仪器的性能（软件、硬件等），最大程度的提高样品制备纯化的成功率，另一方面，沃特世通过智能化的软件功能，降低样品与溶剂的损失，从而降低制备纯化的成本。此外，24小时自动运行的Auto-Purification系统大大提高了样品纯化的效率，缩短了产品研发的周期，由此而降低产品研发的成本。

不同类型的化合物是否有成熟的纯化方案作为使用指南。

沃特世公司作为色谱、质谱行业的领导者，不仅提供给客户性能优良的仪器，同时也向客户们提供可靠的、完整的解决方案。如纯化系统相关的方案有多肽化合物纯化方案、寡核苷酸纯化方案、手性化合物纯化方案、天然产物纯化的Total solution等。如需相关的资料，可以登录沃特世（中国）公司的主页（<http://www.waters.com/waters/home.htm>）进行浏览下载，或者致电相关的技术、销售人员获取。