

XP色谱柱使液相产率最大化

——在向UPLC技术跃升的同时，如何最有效的利用既有HPLC系统

王悦

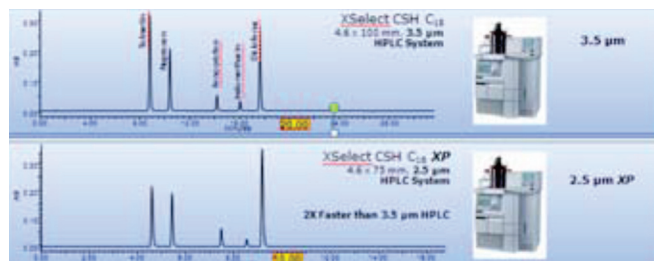
沃特世（科技）上海有限公司

自从UPLC技术于2004年推出以来，液相色谱分析市场已经全面认可了UPLC技术，全球各地的制药、食品、环境、CRO、第三方检测组织，不断吸收采纳此技术以获得工作流程中的高效、节能，以及对研发或承包项目的竞争优势。

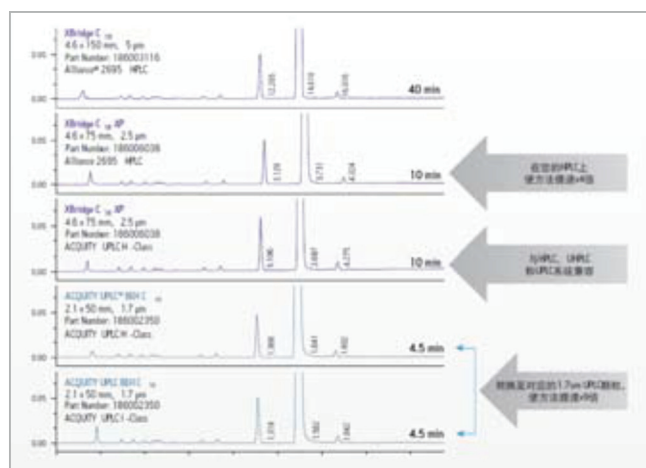
与此同时，仍有大量的传统HPLC系统、以及少量的UHPLC系统在组织中继续运行服务。对于HPLC系统，组织希望在其完全报废替换之前，能够继续充分使用，并尽可能提高产率。而那些UHPLC系统（定义为压力上限9,000psig的HPLC系统），因为仍存在较大的系统死体积，往往需要继续配用3.0和4.6mmid柱，这也使得溶剂节约效应并不显著。同时，各地组织还关注于分析方法如何在不同系统平台之间顺利转换的问题。

为了应对这些需要，沃特世最新推出了eXtended Performance [XP] 2.5 μ m柱。XP柱能够同时兼容于HPLC和UPLC仪器平台。它们采用超低扩散体积的UPLC柱硬件，设计用于较高压力系统，其中4.6mmid XP柱能够耐压9,000psig，2.1和3.0mmid XP柱能够耐压15,000psig。它具有3种填料基质、14种固定相，在化学选择性方面完全对应于现有的UPLC固定相[CSH, BEH, HSS]和HPLC固定相[XSelect, XBridge]，从而确保方法的无忧转换，以及未来向UPLC技术的全面升级。

使用较小颗粒、较短色谱柱，可以提高液相分析的速度与灵敏度。此处，与3.5 μ m 4.6x100mm色谱柱相比，2.5 μ m 4.6x75mm XP柱（L/dp保持不变确保柱效相当，L-柱长，dp-粒径）可以使HPLC系统的分析产率再提高一倍。



因为XP柱装填于超低扩散体积的UPLC柱硬件中，XP柱也完全可以与UPLC系统相兼容，为组织提供更大的灵活性与便利性。如下图所示，初始在HPLC系统上使用5 μ m、150mmL的色谱柱，分析运行时间长达40分钟。在同一系统上，使用XP柱，可以将分析运行时间缩短至初始时的1/4。将该XP柱配用ACQUITY UPLC H-Class系统，可以得到相当的分度度。因为填料的完全一致性，将来可以非常方便的转换到UPLC柱，获得最高的分析产率与通量。



XP柱的极大灵活性，还能帮助到那些已经采纳UPLC系统平台的实验室。他们的需要可能在于：对分离度要求不是最高的高通量分析任务，希望柱的背压较低，从而可以进一步提高流速、使分析通量最大化；或者，在采纳法规方法时，使用1.7 μ m色谱柱必须进行全面的再验证，而抢夺机时和耗费人力。

柱背压与分析通量方面，因为粒径稍大，与相同柱规格的亚二微米UPLC柱相比，XP柱的背压低40%。这允许高通量分析实验室（例如进行DMPK测试的GLP和non-GLP实验室）进一步提升流速、获得最高通量。

粒径与法规遵从性方面，USP规章<621>中要求：在对既有USP方法进行调整时，如果粒径的缩小程度超过50%

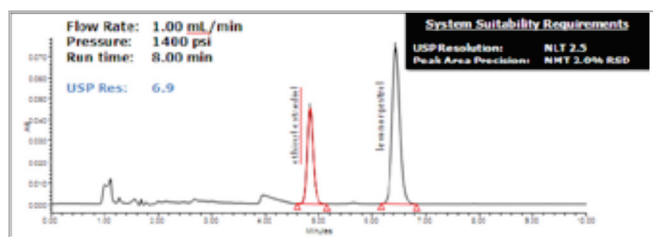
以上，就视为重大方法变更，而必须进行全面的的方法验证。这迫使采纳UPLC技术的制药企业必须对既有方法逐一进行方法验证后才能加以使用，这增加了QC实验室的工作量，也使忙碌的QC实验室人员抱怨仪器在QC分析与方法验证之间的时间分配问题。如采用2.5 μ m XP柱，就很好的规避了法规依从性问题。这还有利于那些正处于抢仿项目阶段的质量方法研究实验室，更方便的采用更高效的技术来加快项目进度。

以USP方法左炔诺孕酮（Levonorgestrel）和炔雌醇（Ethinyl Estradiol）为例，我们来看一下，XP柱分别在Alliance HPLC系统与ACQUITY UPLC H-Class系统上，如何提高分析产率而仍能遵从USP要求。

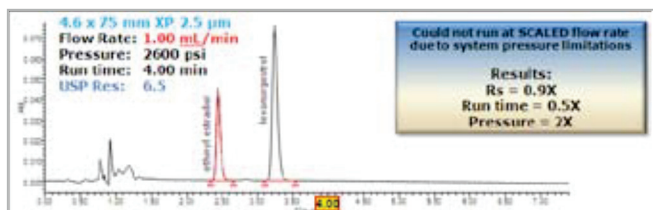
USP分析方法：

色谱柱：5 μ m 4.6x150mm, L7 (C₈)
 流动相：35:15:45 乙腈:甲醇:水
 流速：1mL/min
 检测：UV230nm
 进样量：50 μ L
 系统适应性要求：USP分离度 不低于2.5；峰面积精确度 不高于2.0% RSD

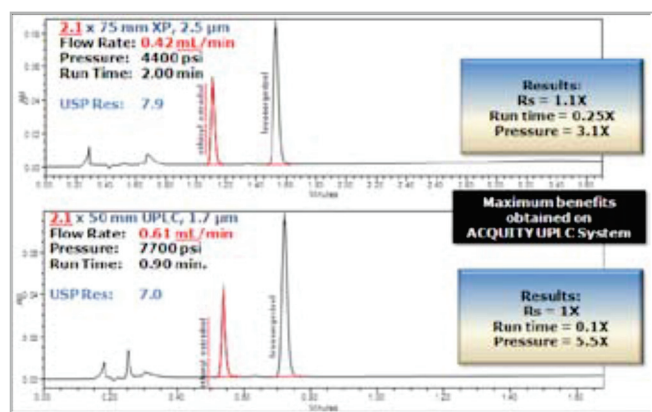
Step 1：使用XBridge C₈, 5 μ m 4.6x150mm，配合Alliance HPLC系统，获得谱图与结果如下：



Step 2：在Alliance系统上，使用XP柱（XBridge BEH C8 2.5 μ m 4.6x75mm，填料选择性完全一致，L/dp相当），因为系统的压力限制而仍使用流速1mL/min（比2.5 μ m粒径的最佳流速范围低），可获得分析运行时间缩短1倍的效果。



Step 3：仍使用2.1mmid XP柱（XBridge BEH C8 2.5 μ m 2.1x75mm），但使用ACQUITY UPLC H-Class系统。因为系统压力上限提高，允许使用最佳流速，此时分析运行时间缩短为初始的1/4。而在未来，改用亚二微米UPLC柱，就能获得UPLC技术的最大利益：分析运行时间缩短为初始时的1/10，而溶剂消耗为初始时的3/5。



综上所述，XP柱成为跨越HPLC与UPLC系统平台的桥梁工具。它具有宽泛的固定相选择，而且所有的固定相都有完全对应的、化学选择性一致的亚二微米UPLC柱与更大粒径的HPLC柱。它具有多种柱长度与柱内径，以适合不同的任务需要和系统平台。我们设计此产品，就是为了在任何一台液相系统上，都能获得最大化的效率、性能和通量。