

## 特点描述

- ◆ 可通过一个系统完成从分析 LC 到制备 LC 的尺度增加和纯度 / 回收率确认。
- ◆ LabSolutions MD 可通过自动创建分析计划优化分离条件。
- ◆ 通过四极杆质谱仪 LCMS-2050，可以获得制备目标化合物的质谱信息。

## ■ 引言

制备 LC 广泛应用于制药、食品和化工等领域，用于从混合物中纯化目标化合物、寻找天然产品中的活性成分，以及对杂质或未知化合物进行结构分析等。确立与其他组分或杂质组分分离的条件对高纯度回收目标化合物尤其重要，但在制备 LC 条件下，所使用的样品数量以及流动相消耗量较多，因此，因此分离条件的优化通常在分析规模上进行，以最大限度地降低这些消耗。在优化过程中，需要调整各种 HPLC 条件（包括梯度曲线），以找到最佳分离条件，对于创建每个分析方法而言都是一个耗时的过程。另外，在完成分析尺度的条件研究后，需要规模放大和制备目标化合物，而随后的纯度 / 回收率确认中，需要将制备的馏分从馏分收集器转移到自动进样器，这也是一项费时费力的工作。本文为您介绍使用 NexeraPrep 系列的分析制备 LC-MS 系统，完成分析尺度的分离条件研究、扩大分馏规模、纯度 / 回收率确认等一系列制备纯化工作流程（图 1）的案例。

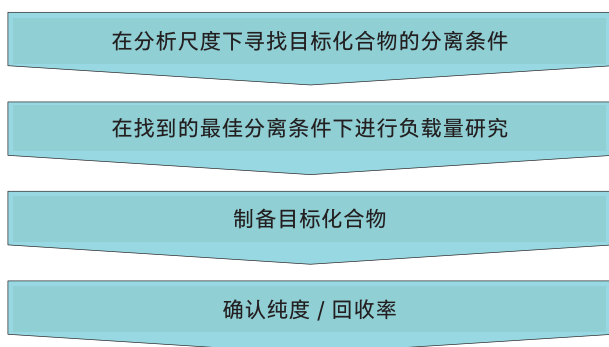


图 1 制备纯化工作流程

## ■ 分析制备 LC-MS 系统的概要

分析制备 LC-MS 系统的流路图如图 2 所示。分析流路（图 2 上）用于在分析尺度研究分离条件、负载量和确认纯度 / 回收率，而制备流路（图 2 下）则用于目标化合物的制备。液体处理器（LH-40）同时具有分析和制备两个流路，可将馏分管中的馏分直接注入分析流路，因此该系统可实现完整的制备纯化工作流程。此外，通过使用 LCMS-2050，不仅可以在研究分离条件时获得目标化合物的质谱信息，而且，还能在制备时将 UV 信号和 MS 信号组合，作为触发信号使用。因此，能以更高的纯度回收目标化合物。为此本系统将制备流路进行分流，并将部分流动相与补充溶剂一起引入质谱，以实现分馏和质谱检测。

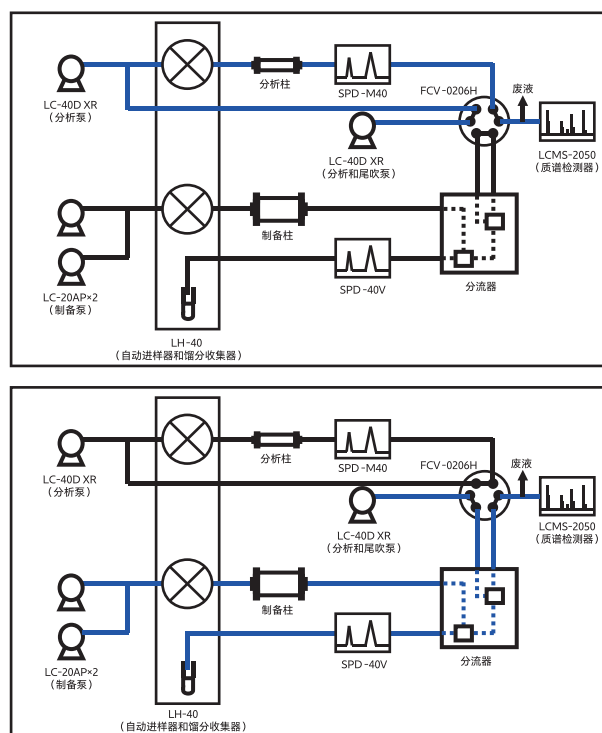


图 2 分析流路（上）、制备流路（下）  
\* 蓝色部分是使用的流路

下面将介绍使用本分析制备 LC-MS 系统，将药品的 7 种混合标准品（制备目标化合物：氢化皮质酮）作为模型化合物，提高一系列制备纯化工作流程的案例。

## ■ 在分析尺度下寻找分离条件

在分析流路下，优化了目标化合物（氢化皮质酮）的分离条件。优化分离条件之前的 LC 色谱图（分析条件：表 1）如图 3 所示。其中水杨酸在氢化皮质酮的附近被洗脱。在这种条件增加负载量，会导致两种化合物之间的分离更加恶化，存在回收时纯度下降的风险，因此，需要对分离进行改进。这里，通过改变 9 种（初始浓度和梯度斜率各 3 个模式）梯度条件，优化了分离条件。LabSolutions MD 是一款支持方法开发的专用软件，用于自动生成分析计划，以提高优化效率（图 4）。所得到的色谱图如图 5 所示，在初始浓度为 15%、梯度斜率为 20 分钟（图 5 的③）的条件下，氢化皮质酮和水杨酸的分离度得到最大改进，因此，下面以本条件为基础进行负载量研究。在优化分离条件期间，通过 LCMS-2050 获得质谱信息（氢化皮质酮： $m/z$  363.3）。

表 1 分析条件

流动相	: 泵 A: 0.1% 甲酸水溶液 : 泵 B: 乙腈
色谱柱	: Shim-pack™ Scepter C18-120 (150 mm × 4.6 mm I.D., 5 μm) <sup>-1</sup>
样品	: (A) 氢化可的松, (B) 水杨酸, (C) 甲氧氯普胺, (D) 利多卡因, (E) 吠塞米, (F) 罂粟碱, (G) 奎尼丁
样品浓度	: 100 mg/L (氢化可的松), 10 mg/L (其他)
进样量	: 10 μL
<b>LC 条件</b>	
时间程序	: B 相浓度 25%(0 min)-45%(20 min) → 25%(20.01-25 min)
柱温	: 环境温度
流速	: 1 mL/min
进样环尺寸	: 500 μL
注射器尺寸	: 500 μL
检测 (PDA)	: 245 nm (SPD-M40, 传统流通池)
<b>MS 条件</b>	
离子化	: ESI/APCI (DUIS™), 正负离子
模式	: SCAN ( <i>m/z</i> 100-500)
雾化气流量	: 2.0 L/min (N <sub>2</sub> )
干燥气流量	: 5.0 L/min (N <sub>2</sub> )
加热气体流量	: 7.0 L/min (N <sub>2</sub> )
DL 温度	: 200°C
脱溶剂温度	: 450°C
接口电压	: 3.0/-2.0 kV (正 / 负)

\*1 P/N: 227-31020-05

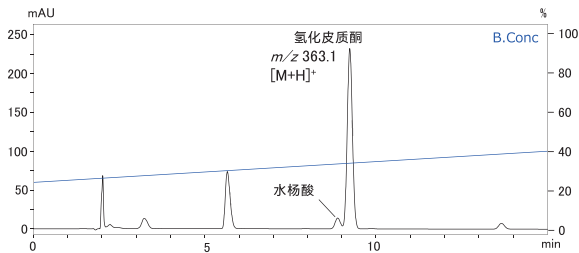


图 3 研究分离条件前的 LC 色谱图

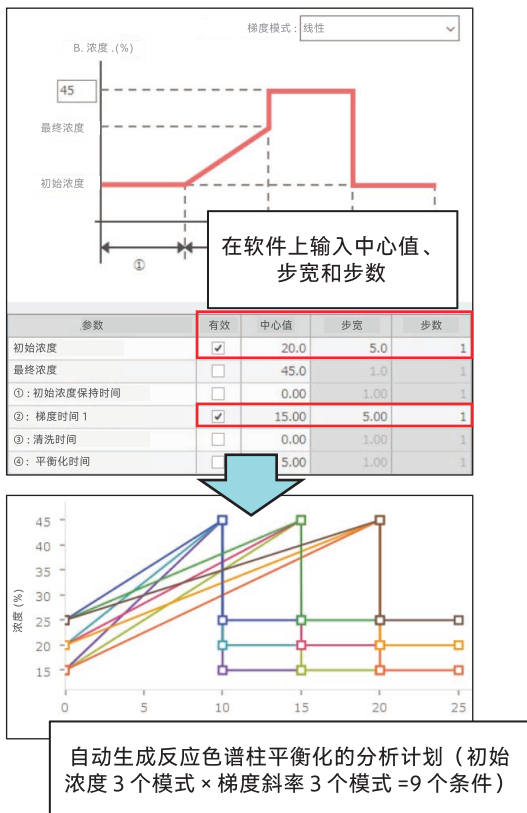


图 4 通过 LabSolutions MD 自动生成分析计划

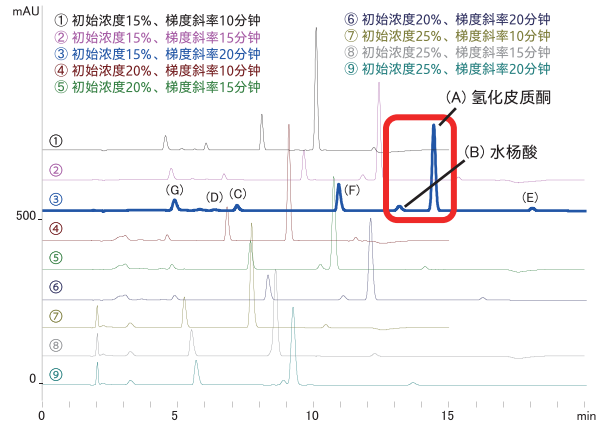


图 5 使用 LabSolutions MD 的分离条件研究结果  
\* 氢化皮质酮和水杨酸的分离条件  
最佳的是③ (蓝色) 的色谱

## ■ 负载量的研究

在分析尺度优化条件 (图 5 的③) 下, 使用氢化皮质酮 (10000 mg/L), 按 10, 20, 30, 40, 50, 100 μL 的进样量研究了负载量 (图 6)。在进样量为 100 μL 时, 氢化皮质酮和水杨酸的分离恶化 (图中蓝色圆圈内)。另外, 在峰尾重叠了疑似杂质的小峰 (图中红色圆圈办)。在进样量 50 μL 以下时, 氢化皮质酮与附近的峰的分

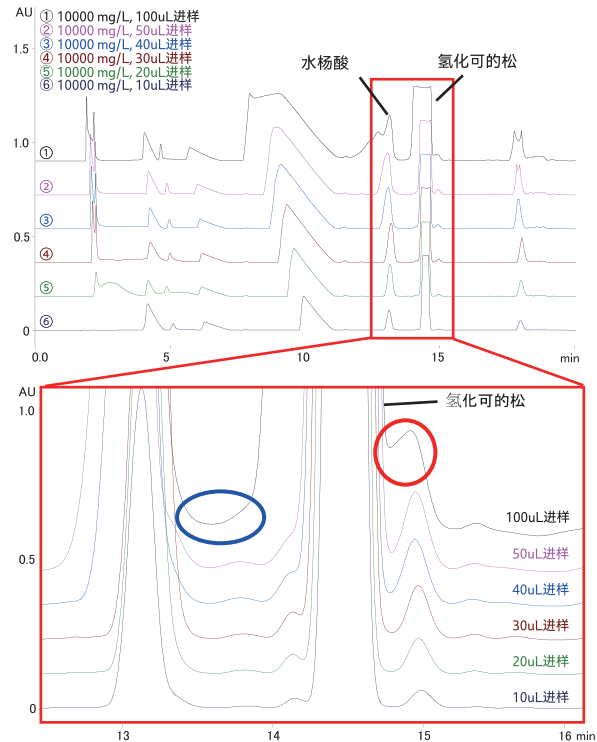


图 6 负载量的研究结果

## ■ 制备目标化合物

在 UV 触发信号下制备氢化皮质酮。制备条件如表 2 (只记载与表 1 不同的参数) 所示, 得到的 LC 色谱图如图 7 (蓝色区域为制备区域) 所示。根据制备色谱柱 (内径 20 mm) 和分析色谱柱 (内径 4.6 mm) 的截面积比 (约 20 倍), 将流速提高到 20 mL/min (放大前后的线速度保持不变), 并将进样量增加为 1 mL。结果显示, 放大前后可以得到类似的分离模式, 在保持与水杨酸的分离的同时, 完成氢化皮质酮的制备。

表 2 制备条件

色谱柱	: Shim-pack™ Scepter C18-120 (150 mm × 20 mm I.D., 5 μm) <sup>†1</sup>
样品浓度	: 10000 mg/L (氢化可的松), 1000 mg/L (其他)
进样量	: 1 mL
<b>LC 条件</b>	
流速 (Prep)	: 20 mL/min
流速 (尾吹)	: 1.5 mL/min (甲醇)
进样环尺寸	: 2 mL
注射器尺寸	: 5 mL
检测 (UV)	: 245 nm (SPD-40 V, 制备流通池)
<b>MS 条件</b>	
脱溶剂温度	: 100 °C

\*1 P/N : 227-31102-03

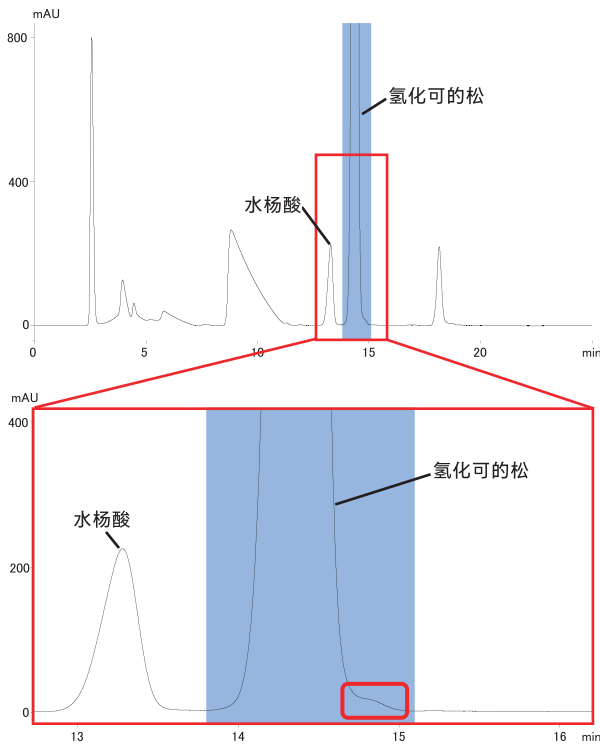


图 7 基于 UV 触发信号的制备色谱图  
\* 蓝色区域为制备区域

## ■ 确认纯度 / 回收率

图 8 显示了将制备的氢化皮质酮在分析流路中重新进样时得到的色谱图，以及按照与制备的氢化皮质酮相同浓度的混合标准品（作为计算回收率时的基准）的色谱图。氢化皮质酮的纯度和回收率如表 3 所示。纯度的面积百分比达到 99% 以上，回收率良好。

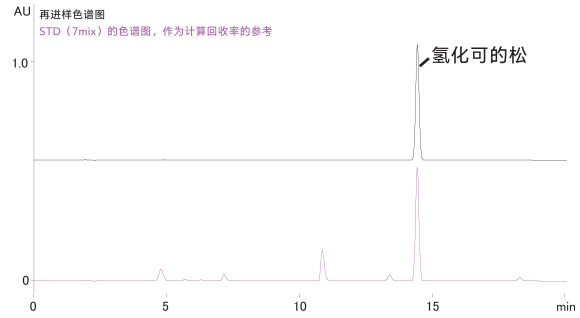


图 8 确认纯度 / 回收率的重新进样色谱图 (上)  
混合标准品的色谱图 (下)

表 3 制备的氢化皮质酮纯度和回收率  
(n=3, 平均值)

	纯度 (面积 %)	回收率 (%)
氢化可的松	99.7	101.2

图 7 的下侧显示了氢化皮质酮制备区域的放大图，在氢化皮质酮的峰尾观察到可能是杂质的小峰（红框内）。从制备结果来看，只使用 UV 触发信号时，也能得到 99.7% 的纯度（表 3），同时，本分析制备 LC-MS 系统还支持 MS 触发信号制备，因此，可以通过 MS 的高定性能力规避杂质，以得到更高的纯度制备目标化合物。MS 触发信号制备的详情请参见[应用新闻“Q1-00651-JP”](#)。

## ■ 结论

本文介绍了使用分析制备 LC-MS 系统完成分析尺度下的分离条件优化、放大分馏以及确认纯度 / 回收率等制备纯化工作流程的情况。研究分析尺度下的分离条件时，通过 LabSolutions MD 的自动分析计划生成功能改变各种 LC 参数，可提高制备目标化合物的分离条件优化效率。同时，还可以通过 LCMS-2050 获取质谱信息。此外，可以使用液体处理器 LH-40 直接将试管等制备的馏分进样至分析流路中，因此，无需从馏分收集器转移至自动进样器的作业，可实现纯度 / 回收率的无缝确认。使用本分析制备 LC-MS 系统的 MS 触发信号制备的详情请参见[“Q1-00651-JP”](#)。

岛津应用云



LabSolutions、LCMS、Nexera、Shim-pack 和 DUIS 是岛津制作所株式会社或其相关公司在日本及其他国家 / 地区的商标。



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。

第一版发行日：2023 年 10 月