

特点描述

- ◆ 可通过一个系统可完成从分析 LC 到制备 LC 的放大和纯度 / 回收率确认。
- ◆ 通过基于 MS 的高性能能力，能够制备出高纯度的目标化合物。
- ◆ 通过使用制备模拟功能，可以优化制备参数，减少工作量。

■ 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。在应用文章“01-00650-JP”中，介绍了一种分析 / 制备转换 LC-MS 系统，其制备纯化工作流程如图 1 所示。该系统包括：在分析模式下的分离条件研究、规模放大、馏分纯度 / 回收率确认等。具体来说，使用分析方法开发软件 Lab Solutions MD 进行分析方法的高效的分离条件优化，确保目标化合物（氢化皮质酮）及其附近共洗脱的峰之间有充分的分离。然后，进行负载量研究，规模放大，使用 UV 信号作为触发信号进行制备。本文为您介绍通过使用比 UV 更具定性能力的 MS 触发收集信号，可最大限度地排除杂质的混入，提高氢化皮质酮纯度的制备案例。

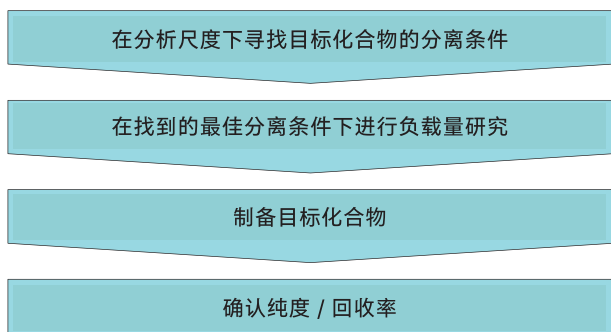


图 1 制备纯化工作流程

■ 分析制备 LC-MS 系统的概要

分析制备系统的流路图如图 2 所示。分析流路（图 2 上）用于在分析模式下研究分离条件、负载量和纯度 / 回收率确认，而制备流路（图 2 下）则用于目标化合物的制备。LH-40 具有分析用和制备用的两个流路，可以直接将制备的试管馏分注入分析流路进行分析，可在本系统中完成以上系列的制备纯化工作流程。制备时，可以将 UV 信号和 MS 信号组合，作为触发信号使用。由于 MS 是通过流动相的雾化和挥发来检测化合物，无法回收目标化合物。因此，将制备流路进行分流，需使用补给泵将部分流动相引入 MS 中，从而实现了 MS 触发制备和检测功能。该系统同时具有分析和制备功能，可通过工作站 Lab Solutions 进行控制。该软件制备模拟功能，只要在色谱图上选择要制备的峰，就能轻松设置制备所需的参数。

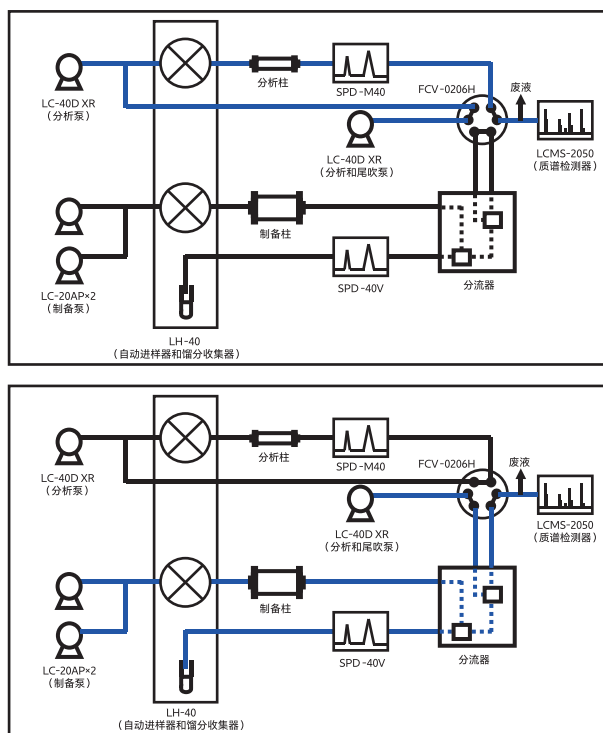


图 2 分析流路（上）、制备流路（下）
* 蓝色部分是使用的流路

■ 将 UV 和 MS 信号作为触发信号的高纯度制备

如图 3 所示，实施氢化皮质酮制备模拟的结果，软件有“只使用 UV 触发信号”和“使用 UV + MS 触发信号”的两个模式。在只使用 UV 触发信号（图 3 中上侧的①）制备时，在氢化皮质酮峰的上升峰和峰尾洗脱的微量杂质也可能被制备分离出来。而在组合 MS 触发信号（图 3 中下侧的②、③）后，可以在制备时使用杂质的 MS 色谱图信息，排除杂质的洗脱区间，以更高的纯度回收氢化皮质酮。实际进行分别设置触发条件，制备的结果如图 4 所示（制备条件：表 1）。如图 3 的制备模拟设置所示，“只使用 UV 触发信号”时，蓝色区域被制备，痕量的杂质包含在回收液中，但在“使用 UV + MS 触发信号”时，根据杂质的 MS 色谱图（图 3 中③），杂质在氢化皮质酮的上升峰和峰尾位置洗脱，可以在不包含该位置的范围进行制备分离。

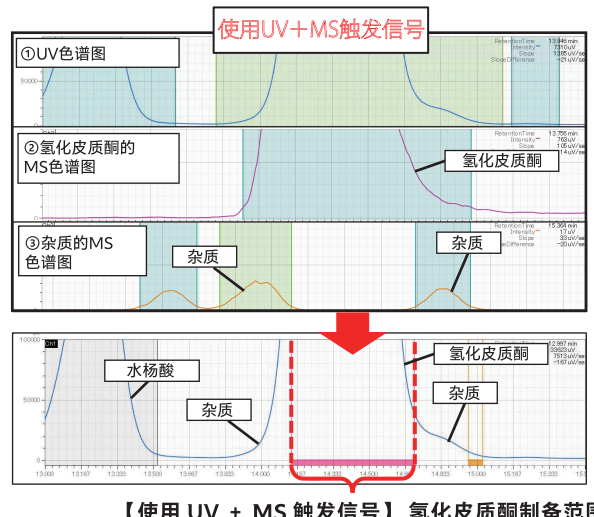
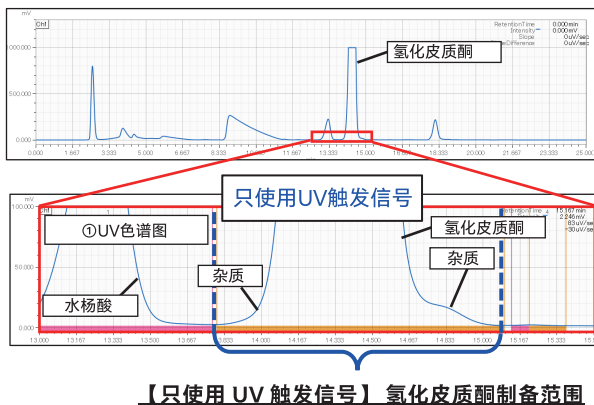


图3 LabSolutions 的模拟制备结果

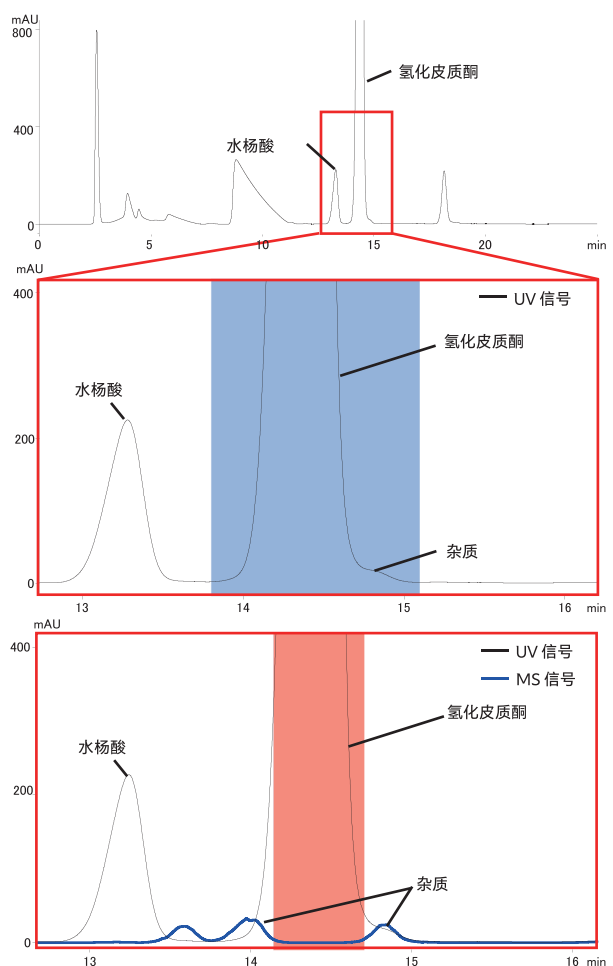


图4 “只使用UV触发信号” (蓝色区域)和“使用UV + MS触发信号” (红色区域)的制备结果比较 (*带颜色的区域为制备区域)

表1 制备条件

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 × 20 mm I.D., 5μm) ⁻¹
样品	: 氢化可的松、水杨酸、甲氧氯普胺、利多卡因、咪塞米、罂粟碱、奎尼丁
样品浓度	: 10000 mg/L (氢化可的松), 1000 mg/L (其他)
进样量	: 1 mL
LC 条件	
时间程序	: B 相浓度 25% (0 min) → 45% (20 min) → 25% (20.01-25 min)
柱温	: 室温
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 (PDA)	: 245 nm (SPD-40V, 制备流通池)
MS 条件	
离子化	: ESI/APCI (DUIS™), 正、负离子模式
模式	: SCAN (m/z 100-500)
雾化气流量	: 2.0 L/min (N ₂)
干燥气流量	: 5.0 L/min (N ₂)
加热气体流量	: 7.0 L/min (N ₂)
DL 温度	: 200 °C
脱溶剂温度	: 100 °C
接口电压	: 3.0/-2.0 kV (正 / 负)

*1 P/N: 227-31102-03

■ 纯度 / 回收率确认

将“只使用UV触发信号”和“使用UV + MS触发信号”制备的化皮质酮分别在分析流路中重新进样时得到色谱图、以及相同的制备浓度的混合标准品 (作为计算回收率时的基准) 的色谱图如图5所示。各自的纯度和回收率如表2所示。“使用UV + MS触发信号”时,是按照不含杂质的范围进行制备,因此,重新进样的色谱图 (图5中红线)与“只使用UV触发信号”的色谱图 (图5中蓝线)相比,没有检测出杂质峰。但是,由于杂质的含量极低,因此,通过“只使用UV触发信号”和“使用UV + MS触发信号”制备的馏分纯度 (面积%)和回收率都得到了接近100%的良好结果。

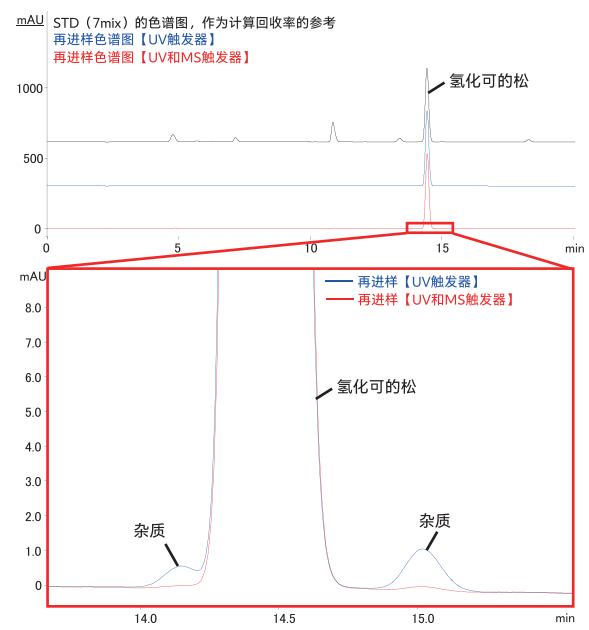


图5 确认纯度 / 回收率时重新进样的色谱图和混合标准品的色谱图

表 2 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 (%)
只使用 UV 触发信号	99.7	101.2
使用 UV + MS 触发信号	100.0	100.7

■ 结论

本文介绍了将 UV 信号和 MS 信号的组合作为触发器使用，达到更高的纯度的制备案例。通过使用 MS 触发信号，可以在制备时去除目标化合物附近的共流出杂质的收集，实现目标化合物更高纯度的制备。本文中使用的分析制备 LC-MS 系统具有分析用和制备用的两个流路，因此，可提高一系列的制备纯化工作流程的效率。详情请同时参见[应用文章“01-00650-JP”](#)。

岛津应用云



LabSolutions、LCMS、Nexera、Shim-packScepter 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