

# 使用带蒸发光散射检测技术的高效液相色谱法分析药物

应用文集

## 作者

Stephen Ball  
安捷伦科技有限公司  
Craven Arms, UK



**Agilent Technologies**

## 应用于药物分析的通用型检测器

Agilent 385-ELSD 是一款先进的蒸发光散射检测器，蒸发温度低至 10 °C，为在室温以下具有显著挥发性的化合物提供了最佳的检测灵敏度。385-ELSD 得益于快速液相色谱需要的高数据输出速率和极低的分散性，为具有真正代表性的低至纳克级范围的分析提供了一致响应。低于 2% 的重现性可提高结果的一致性。385-ELSD 可实时控制气体，消除了溶剂效应，在整个梯度范围内实现一致的响应。控制与数字化数据采集已成为许多供应商平台的标准，因而不再需要模拟-数字转换器。动态光源强度调整可节省运行时间。作为 LC/MS 的补充，因其无与伦比的灵活性和灵敏度，385-ELSD 是药物分析应用中蒸发光散射检测器的不二选择。

蒸发光散射检测分为三个步骤：

1. **雾化**——用惰性气体流形成液滴大小均匀的雾流
2. **洗脱液的蒸发**——不挥发性溶质形成小颗粒
3. **光学检测**——散射光的强度与通过流通池的溶质的质量成正比

### 雾化

采用低气体流速实现高效雾化是 385-ELSD 的一个特点。独立的雾化器温度控制与数字化的气体流量控制提供了优异的稳定性和重现性。通过排放口清除任何难雾化的洗脱液成分可使基线噪音最小化。

### 蒸发

雾流通过一个独立的温度控制蒸发管，溶剂在低温下在此管中去除，挥发性小的溶质则形成颗粒。385-ELSD 拥有专利的气流控制技术，使用一个短的蒸发管，其极低的吹扫体积实现了最小的峰扩散。这些特点为快速分离提供了最大的分离度，这对于小规模色谱柱分离尤其重要。

### 光学检测

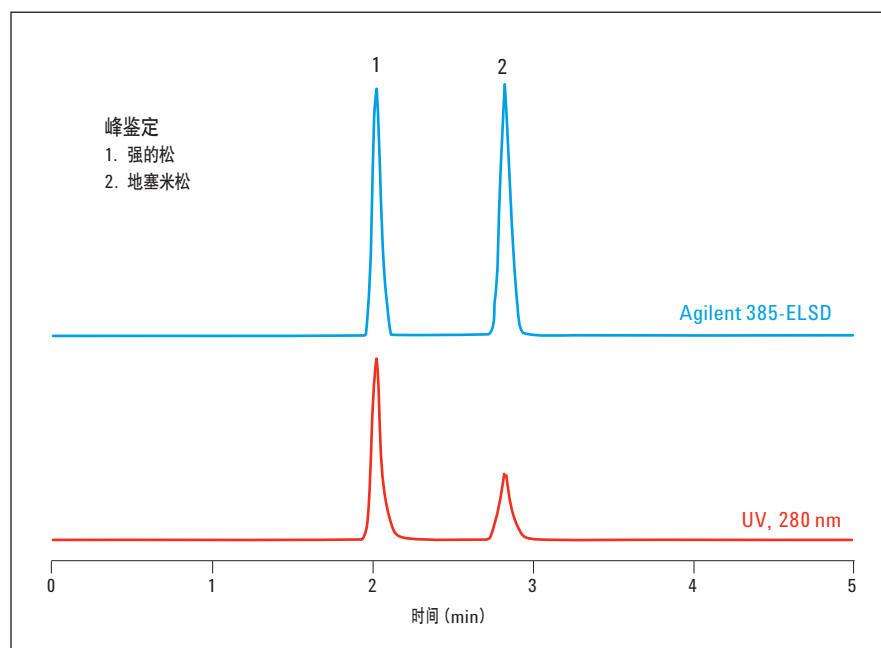
溶质颗粒通过流通池时被检测到。高功率的 LED 和先进的电子器件设计实现了最高的检测灵敏度。

## 蒸发光散射检测器 (ELSD) 的优越性

### 获得更一致的响应

385-ELSD 不依赖于化合物的光学特性，与 UV-Vis 检测相比能提供更一致的响应，因此是纯度分析或者没有校准标准品情况下的一个理想选择。

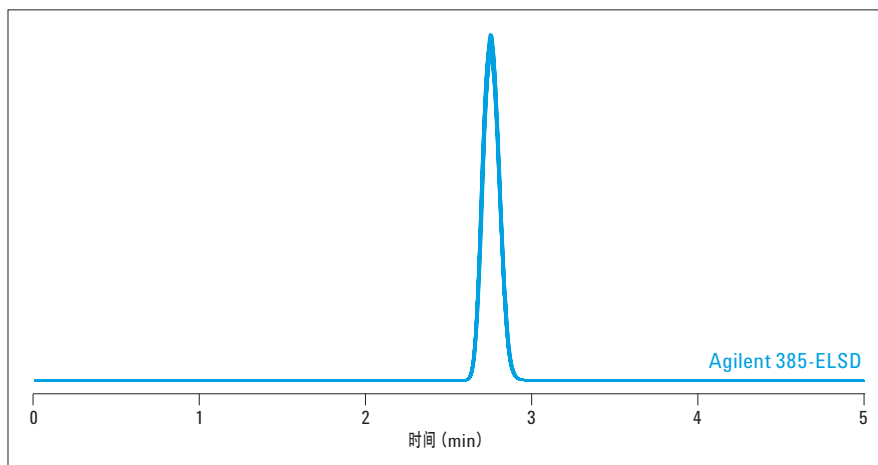
色谱柱：	Agilent Polaris C18, 150 × 4.6 mm, 5 μm
流动相：	水：乙腈 (50 : 50)
流速：	1.0 mL/min
进样量：	10 μL
蒸发光散射检测：	Agilent 385-ELSD (雾化温度 = 30 °C, 蒸发温度 = 30 °C, 气体 流速 = 1.4 SLM)
紫外检测：	280 nm



## 实现极佳的 RSD——咖啡因重复进样 50 次

低于 2% 的极佳重现性为您提供可靠而准确的结果, 使您对分析结果满怀信心。

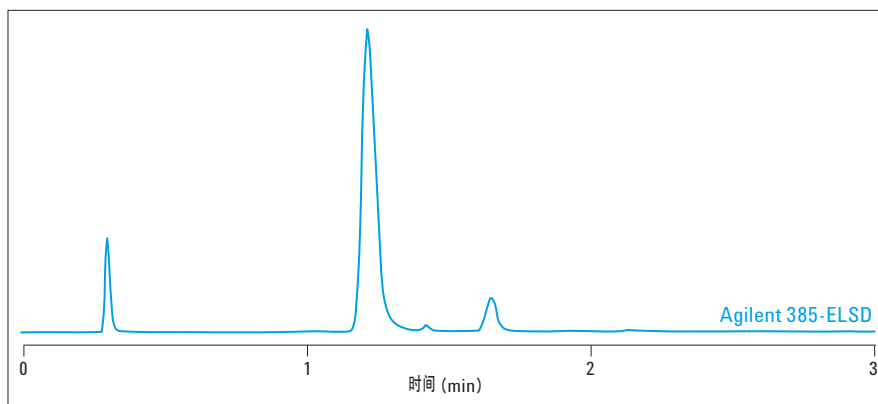
色谱柱: Agilent Pursuit C18,  
150 × 4.6 mm, 5 μm  
流动相: 水: 乙腈 (40:60)  
流速: 1.0 mL/min  
进样量: 10 μL  
蒸发光散射  
检测: Agilent 385-ELSD (雾化温度 =  
40 °C, 蒸发温度 = 40 °C, 气体  
流速 = 1.4 SLM)



## 在快速和陡梯度洗脱中获得平稳的基线

陡梯度洗脱过程中极好的基线稳定性、低分散性和高数据输出速率使 Agilent 385-ELSD 成为快速液相色谱分析的理想选择。

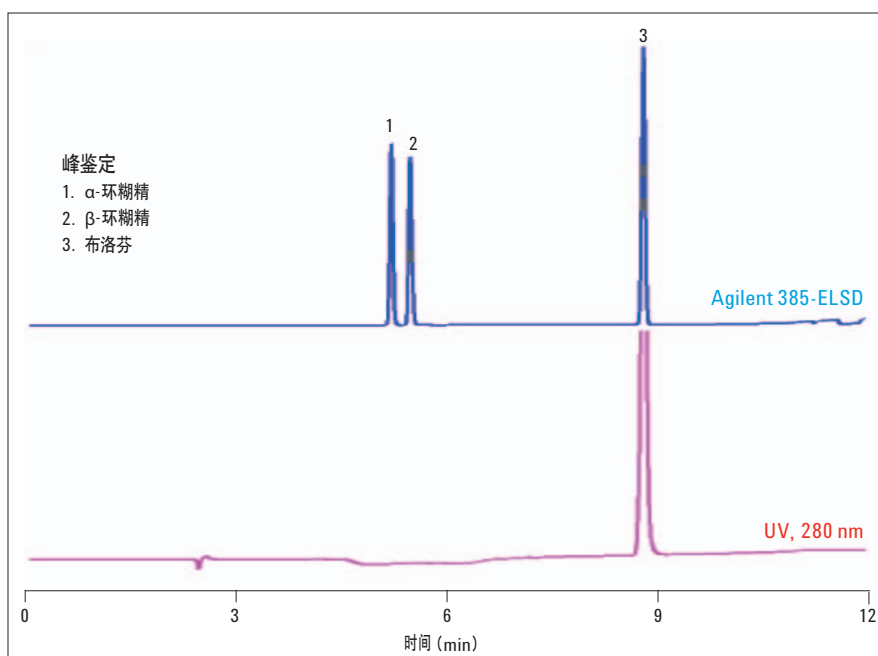
样品: 叔胺  
色谱柱: C18, 50 × 4.6 mm, 5 μm  
流动相 A: 水 + 0.1% 甲酸  
流动相 B: 乙腈 + 0.1% 甲酸  
梯度程序: 5 min 内 5–95 % B  
流速: 2.5 mL/min  
进样量: 10 μL  
蒸发光散射  
检测: Agilent 385-ELSD (雾化温度 =  
40 °C, 蒸发温度 = 50 °C, 气体  
流速 = 1.5 SLM)



## 无紫外吸收发色团化合物的检测

ELSD 对于无紫外吸收发色团, 但又需要梯度洗脱的化合物是必要的, 如环糊精。环糊精常与疏水性药物分子一起使用, 来提高目标化合物的溶解性、稳定性、生物利用度以及溶出度。因此, 它们的特性在制药行业很受重视。

色谱柱: C18, 50 × 4.6 mm, 5 μm  
流动相 A: 水  
流动相 B: 乙腈  
梯度程序: 5 min 内 50–95 % B  
流速: 1.0 mL/min  
进样量: 20 μL  
蒸发光散射  
检测: Agilent 385-ELSD (雾化温度 =  
30 °C, 蒸发温度 = 50 °C, 气体  
流速 = 1.0 SLM)

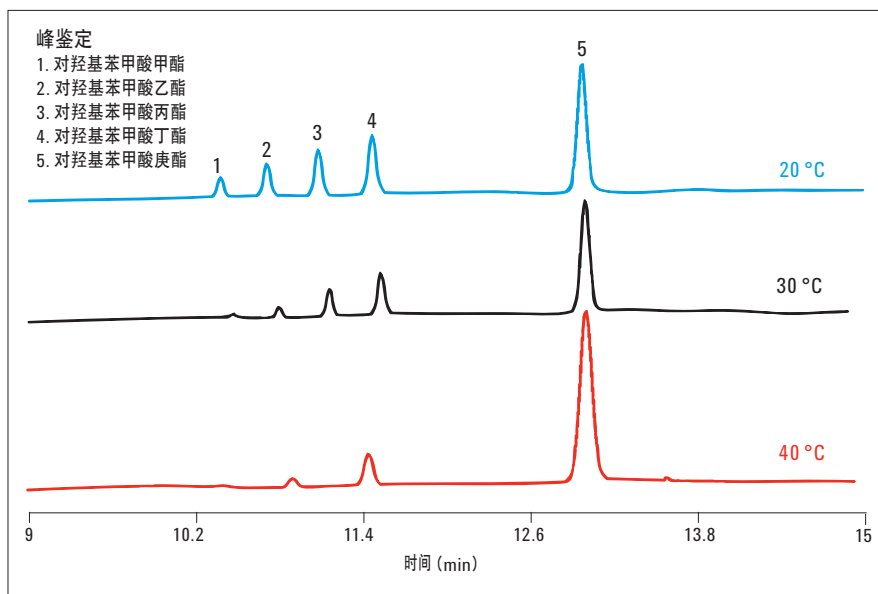


# 亚室蒸发光散射检测——低分子量化合物的理想选择

## 实现半挥发性物质的亚室温检测

Agilent 385-ELSD 独有的冷却蒸发区使其能在亚室温下运行, 实现其它 ELSD 检测不到的低分子量化合物的完美检测。385-ELSD 在 20 °C 时可以更好地检测到在药物及化妆品处方中常用的对羟基苯甲酸酯类化合物。

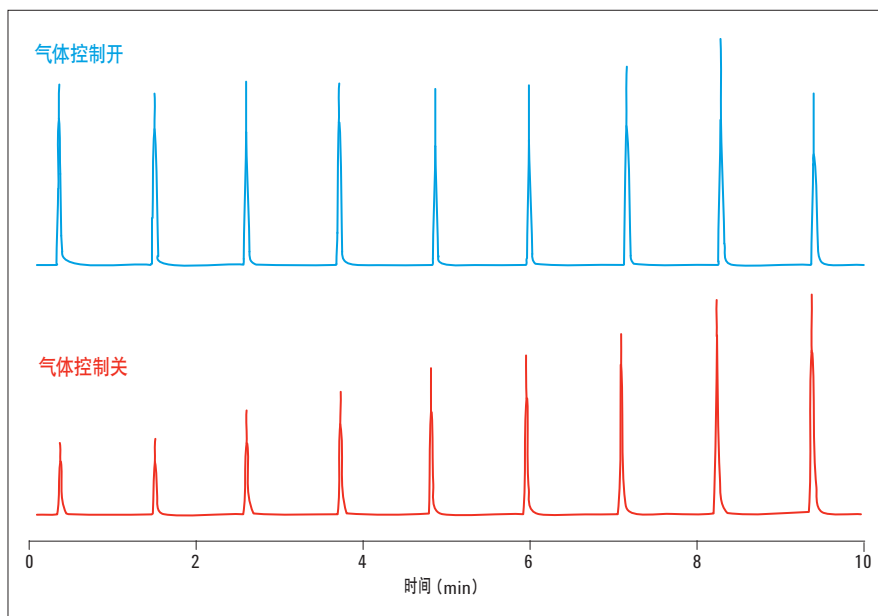
样品: 对羟基苯甲酸酯类  
色谱柱: Agilent Pursuit C18, 150 × 2.1 mm, 5 μm  
流动相 A: 水  
流动相 B: 乙腈  
梯度: 时间 (min) 流动相 B  
0 5%  
5 70%  
7 95%  
流速: 0.2 mL/min  
进样量: 10 μL  
检测: Agilent 385-ELSD (雾化温度 = 30 °C, 蒸发温度如图所示, 气体流速 = 1.4 SLM)



## 梯度洗脱中获得非凡的一致响应

385-ELSD 独特的气体控制, 能在进样运行的整个溶剂梯度范围内提供一致的检测器响应。当对未知物进行定量分析时, 这种实时控制还可以作为梯度洗脱条件下对流动相补偿的一个替代方法。

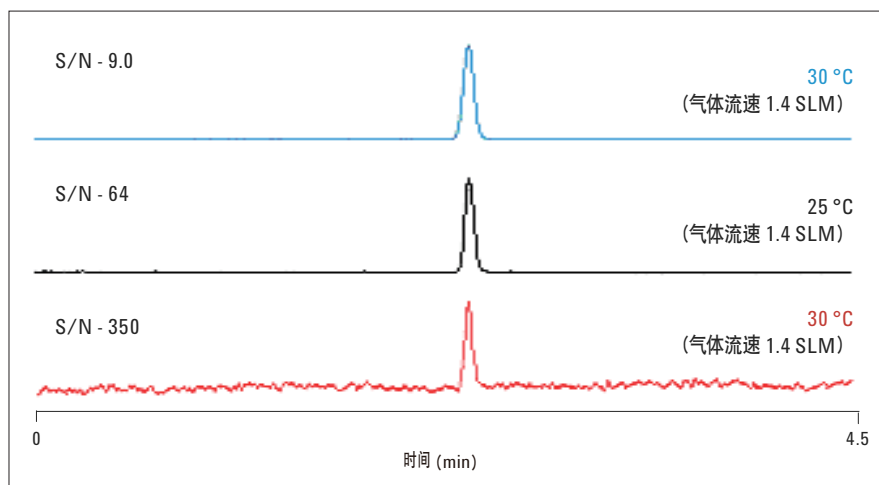
色谱柱: Agilent Pursuit C18, 150 × 2.1 mm, 5 μm  
流动相 A: 水  
流动相 B: 乙腈  
梯度: 10 min 内 5–95% B  
流速: 1.0 mL/min  
进样量: 10 μL (每分钟)  
检测: Agilent 385-ELSD (雾化温度 = 30 °C, 蒸发温度 = 30 °C)



## 采用亚室温分析提高信噪比

低分子量聚乙二醇用来提高疏水性药物的水溶性。PEG 106 是半挥发性物质且无紫外吸收发色团，因此需要蒸发光散射检测器。如图所示，在亚室温条件下运行 Agilent 385-ELSD 能显著改善此类化合物的检测限。

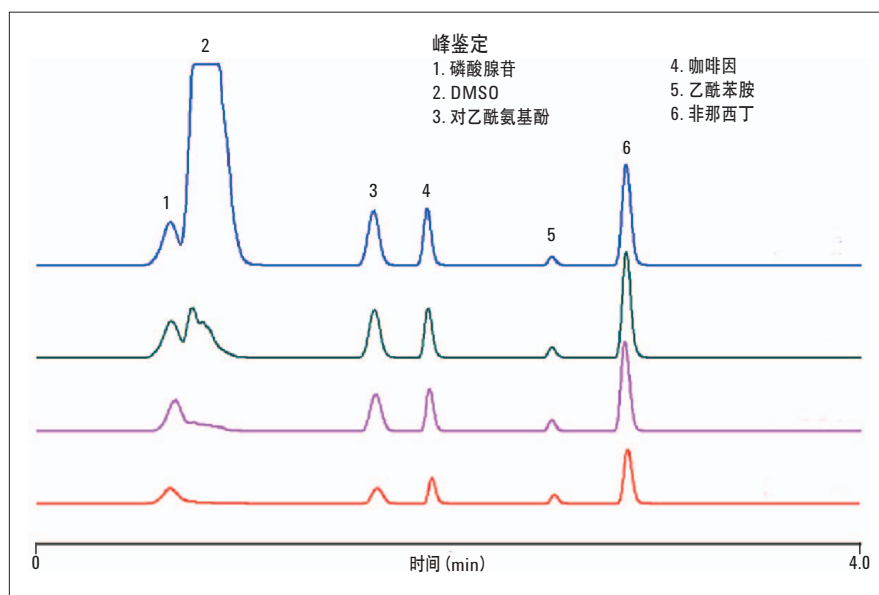
色谱柱: C8, 50 × 4.6 mm, 5 μm  
流动相 A: 水  
流动相 B: 乙腈  
梯度: 5 min 内 5–100% B  
流速: 0.2 mL/min  
进样量: 1.0 μL  
检测: Agilent 385-ELSD (雾化温度 = 30 °C, 蒸发温度 = 30 °C)



## 30 °C 时可获得透明的 DMSO

385-ELSD 独特的设计可使其通过增加气体流速使 DMSO 在低温时“透明”，从而可以检测快速洗脱的半挥发性物质。这在组合分析中可加快梯度洗脱并增加样品通量。

色谱柱: C8, 50 × 4.6 mm, 5 μm  
流动相 A: 水  
流动相 B: 乙腈  
梯度: 5 min 内 5–100% B  
流速: 0.2 mL/min  
进样体积: 20 μL  
检测: Agilent 385-ELSD (雾化温度 = 25 °C, 蒸发温度 = 30 °C)

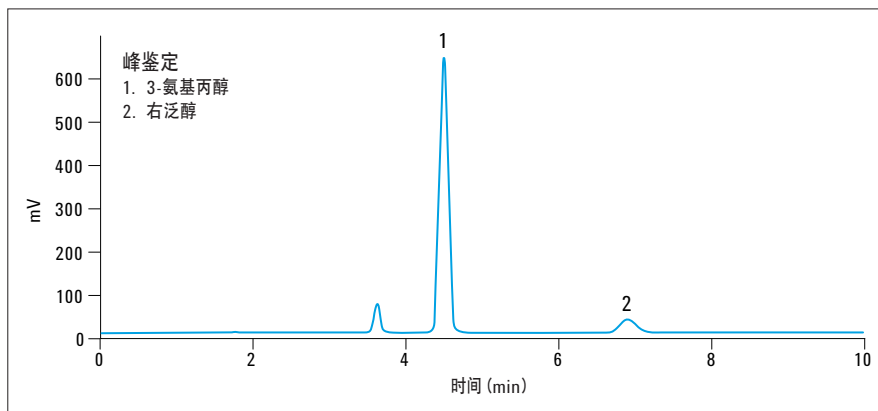


# ELSD 应用于药物分析

## 提供准确的组分数据

Agilent 385-ELSD 的一致响应为药物混合物提供准确的组分信息，如滴眼液中的右泛醇和 3-氨基丙醇。

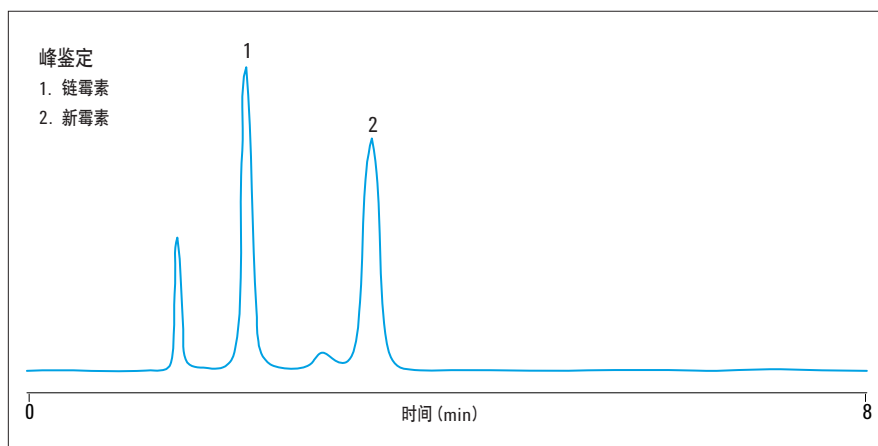
色谱柱: C18, 150 × 4.6 mm, 5 μm  
流动相 A: 0.1% 七氟丁酸 (HFBA) 水溶液  
流动相 B: 0.1% 七氟丁酸 (HFBA) 乙腈溶液  
比例: A : B = 95 : 5  
流速: 1.0 mL/min  
进样量: 20 μL  
检测: Agilent 385-ELSD (雾化温度 = 30 °C, 蒸发温度 = 60 °C, 气体流速 = 1.4 SLM)



## 检测无紫外吸收发色团的抗生素

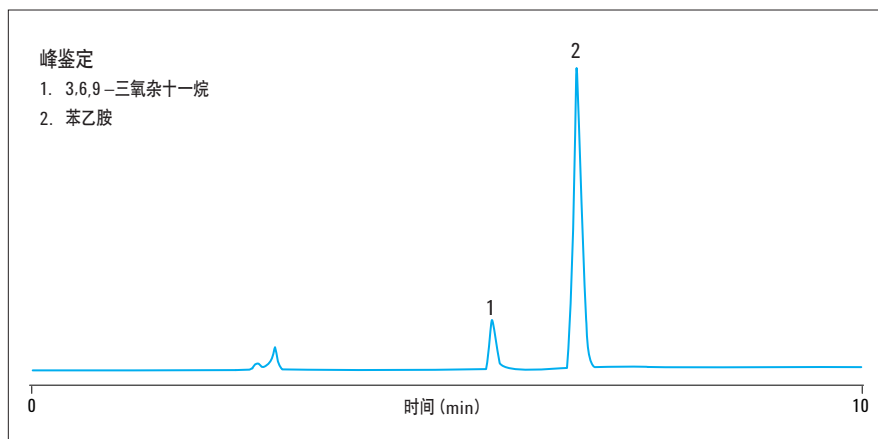
ELSD 是氨基糖苷类抗生素分析的理想选择，因为这类化合物仅有很弱的发色团，很难采用紫外检测器进行检测。链霉素和新霉素等抗生素疗效好且价格低廉，在临床治疗中非常重要。然而，由于它们潜在的毒性，这些抗生素在药物及其制剂中的准确定量就变得至关重要。

色谱柱: C18, 150 × 4.6 mm, 5 μm  
流动相 A: 0.3% 五氟丙酸 (PFPA) 甲醇溶液  
流动相 B: 0.3% 五氟丙酸 (PFPA) 的 47 mM 甲酸铵溶液  
比例: A : B = 45 : 55  
流速: 1.0 mL/min  
进样量: 10 μL  
检测: Agilent 385-ELSD (雾化温度 = 40 °C, 蒸发温度 = 85 °C, 气体流速 = 1.2 SLM)



## 无需进行衍生化

苯乙胺 (PEA) 是一个低分子量的胺类化合物，它能增加脑部的多巴胺水平。取代苯乙胺类药物被广泛用作兴奋剂、迷幻剂、抗抑郁剂以及支气管扩张剂。ELSD 提供了一种无需进行衍生化分析药物混合物中苯乙胺类药物的快速方法。



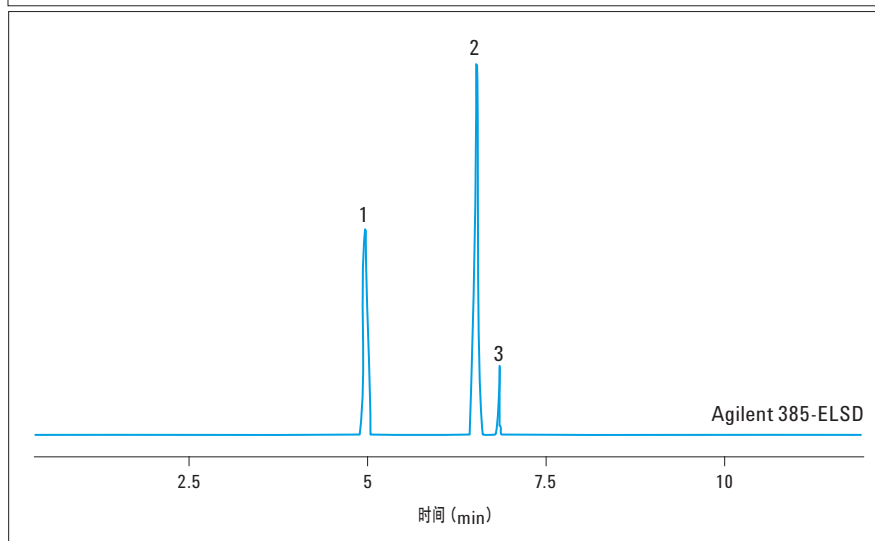
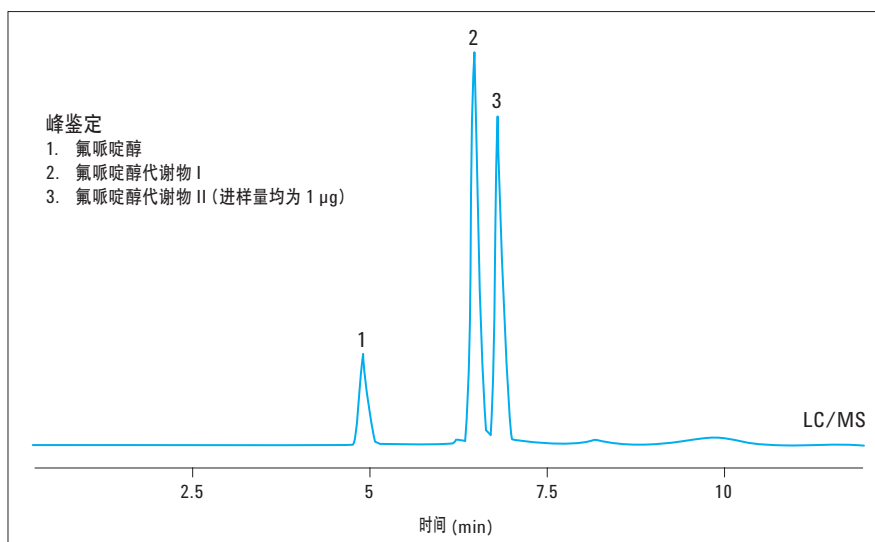
色谱柱: C8, 50 × 2.1 mm, 5 μm  
流动相 A: 0.1% 三氟乙酸 (TFA) 水溶液  
流动相 B: 0.1% 三氟乙酸 (TFA) 乙腈溶液  
梯度: 10 min 内 5-95% B  
流速: 0.2 mL/min  
进样量: 10 μL  
检测: Agilent 385-ELSD (雾化温度 = 60 °C, 蒸发温度 = 30 °C, 气体流速 = 1.3 SLM)

# LC/MS 与 ELSD 联用检测药品库

## Agilent 385-ELSD 与 LC/MS 联用分析氟哌啶醇及其代谢物可以获得更详细的信息

通过 LC/MS 系统获得结构信息在药品库检测中非常有用。然而，对于在质谱中不能很好“飞”起来的化合物，如氟哌啶醇，Agilent 385-ELSD 能够检测到这些分子，以获得补充信息和更准确的数据。对于氟哌啶醇及其代谢物，385-ELSD 比 LC/MS 具有更高的检测灵敏度，显示了 ELSD 在药物分析中的优越性。

色谱柱: Agilent Pursuit XRs C18, 150 × 2.0 mm, 5 μm  
 流动相 A: 0.1 % 甲酸水溶液  
 流动相 B: 0.1 % 甲酸乙腈溶液  
 梯度程序: 时间 流动相 B  
 0 分 10%  
 7 分 50%  
 7 分10秒 85%  
 8 分 85%  
 8 分 12 秒 10%  
 流速: 0.2 mL/min  
 进样量: 10 μL  
 检测: Agilent 385-ELSD (雾化温度 = 45 °C, 蒸发温度 = 80 °C, 气体流速 = 0.9 SLM)



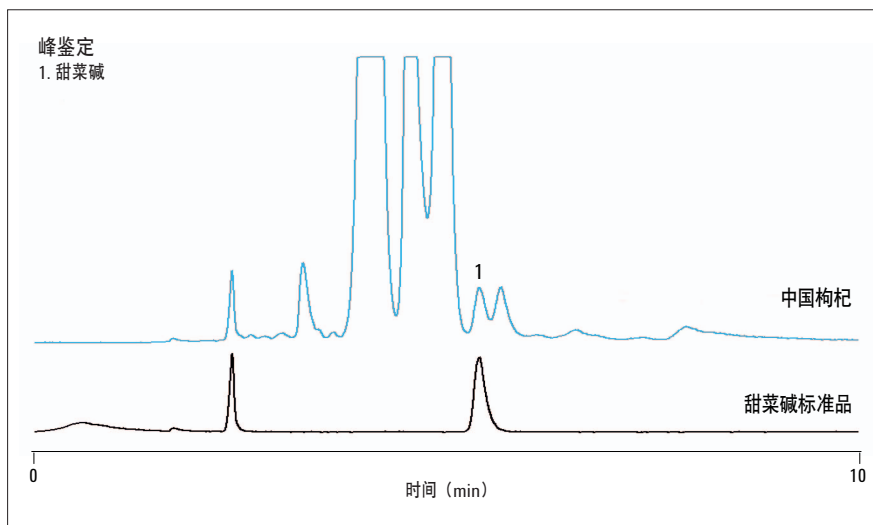
峰名称	MS 检测 (FS) S/N	ELS 检测 S/N	比较 ELS 检测与 MS 检测的灵敏度
1. 氟哌啶醇	1348	37400	28x
2. 氟哌啶醇代谢物 I	2084	68000	33x
3. 氟哌啶醇代谢物 II	1046	13000	12x

## 采用 ELSD 分析保健品

### 测定枸杞中甜菜碱的含量

枸杞是一种中药, 含有大量的多糖、维生素 C 和维生素 B、氨基酸以及甜菜碱。甜菜碱具有护肝功能, 还可降低体内同型半胱氨酸水平。甜菜碱只有一个弱的紫外吸收发色团, 这限制了其紫外检测的灵敏度, 而且由于只能在低紫外波长下进行检测, 所以不宜采用梯度洗脱。Agilent 385-ELSD 的通用型响应为甜菜碱提供了比紫外检测更高的灵敏度。

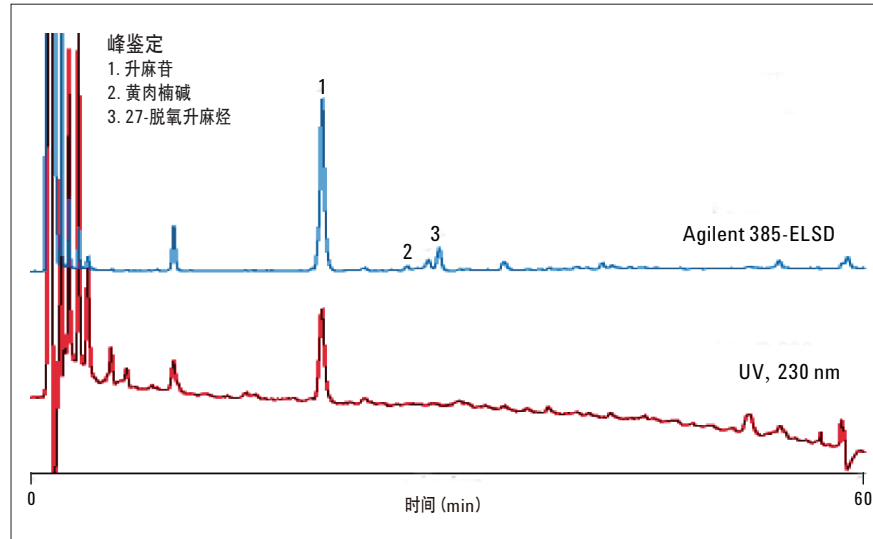
色谱柱: HILIC, 250 × 4.6 mm, 5 μm  
流动相 A: 10 mM 乙酸铵溶液, pH 6  
流动相 B: 乙腈  
流速: 1.0 mL/min  
进样量: 10 μL  
检测: Agilent 385-ELSD (雾化温度 = 30 °C, 蒸发温度 = 40 °C, 气流速度 = 1.4 SLM)



### 黑升麻中三萜皂苷的检测

三萜皂苷有的有弱的紫外吸收发色团, 有的甚至没有, 这就限制了其紫外检测的灵敏度, 尤其是在低波长 (如 230 nm) 下进行梯度洗脱时。Agilent 385-ELSD 是分析这类化合物的理想检测器, 因为它提供更高的检测灵敏度和基线稳定性。

色谱柱: C18, 150 × 4.6 mm, 5 μm  
流动相 A: 0.1 % 甲酸水溶液  
流动相 B: 乙腈  
梯度: 时间 (min) 流动相 B  
0 30%  
30 40%  
60 60%  
70 30%  
流速: 1.0 mL/min  
进样量: 20 μL  
检测: Agilent 385-ELSD (雾化温度 = 30 °C, 蒸发温度 = 50 °C, 气流速度 = 1.4 SLM)  
紫外检测: 230 nm

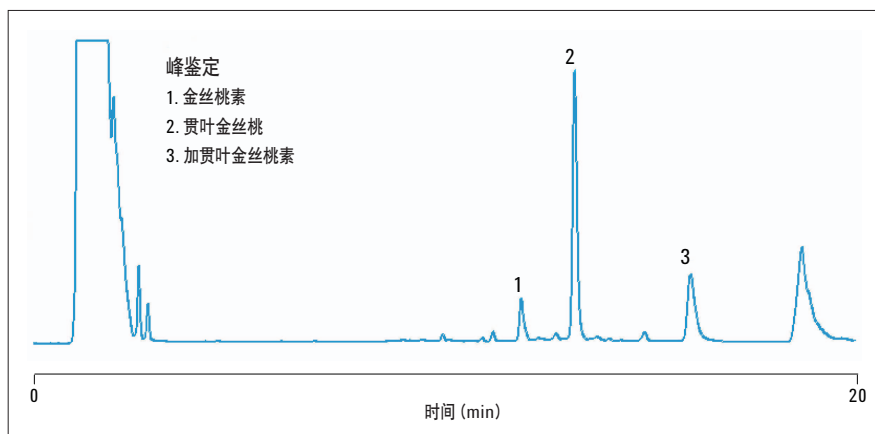




## 贯叶连翘 (圣约翰草) 中金丝桃素的检测

天然药物如贯叶连翘的疗效是多种活性成分共同作用的结果。Agilent 385-ELSD 的通用性为贯叶连翘中的成分提供了更一致的质量响应, 并能在一次色谱运行中检测出所有的成分。

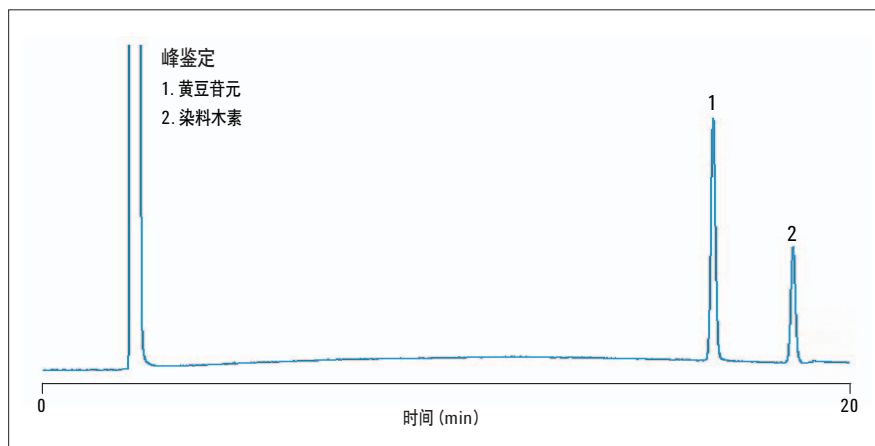
色谱柱: C18, 150 × 4.6 mm, 5 μm  
流动相 A: 0.1% 甲酸铵溶液, pH 值调至 2.5  
流动相 B: 乙腈  
梯度: 10 min 内 50–95% B, 保持 5 min  
流速: 1.0 mL/min  
进样量: 20 μL  
检测: Agilent 385-ELSD (雾化温度 = 30 °C, 蒸发温度 = 50 °C, 气体流速 = 1.6 SLM)



## 大豆蛋白中异黄酮的检测

大豆和大豆制品如豆腐中含有异黄酮类成分, 如染料木素和黄豆苷元。这些化合物对于降低某些癌症的发病率是特别重要的。染料木素和黄豆苷元具有不同的紫外特征吸收, 因此相同浓度时它们的响应却不同。这将导致异黄酮混合物的质量响应数据不准确。与紫外检测相比, Agilent 385-ELSD 能提供更准确的质量平衡响应数据, 从而更好地揭示复杂的大豆混合物中异黄酮的组成。

色谱柱: C18, 150 × 4.6 mm, 5 μm  
流动相 A: 水-甲醇-10% 乙酸溶液 (88 : 10 : 2)  
流动相 B: 甲醇-10% 乙酸溶液 (98 : 2)  
梯度程序:  
时间 (min) 流动相 B  
0 20%  
2 30%  
10 50%  
16 70%  
16.1 100%  
流速: 1.0 mL/min  
进样量: 20 μL  
检测: Agilent 385-ELSD (雾化温度 = 30 °C, 蒸发温度 = 30 °C, 气体流速 = 1.6 SLM)

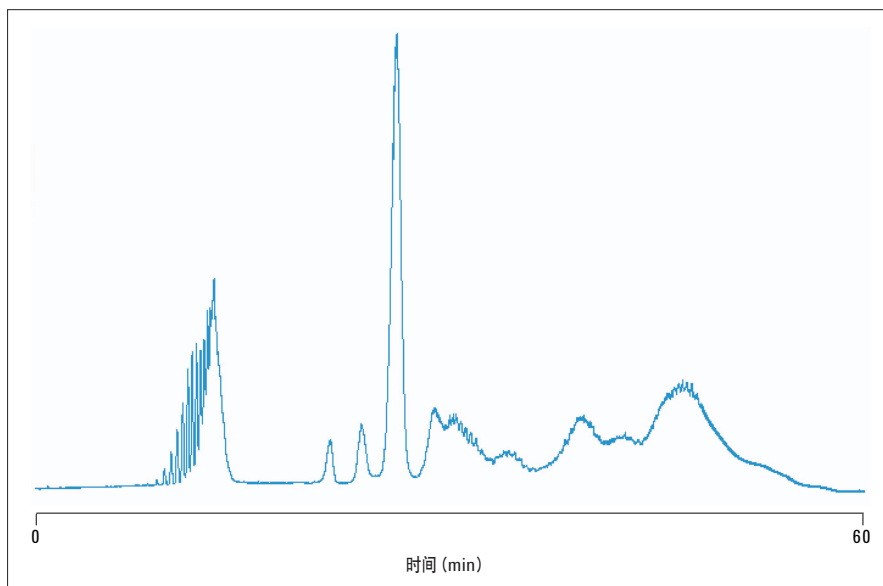


# ELSD 应用于赋形剂分析

## 非离子表面活性剂的通用性分析

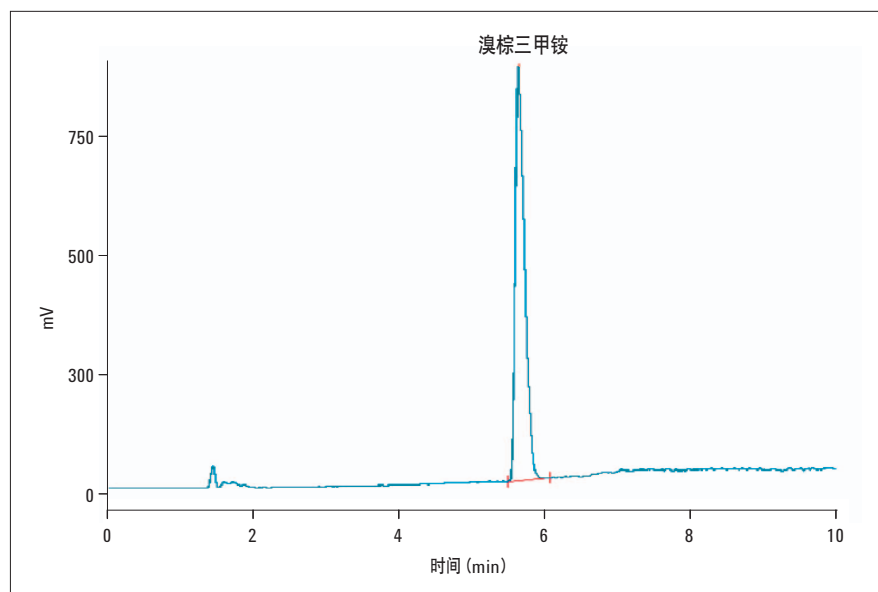
吐温 20, 也称聚山梨酯 20, 是一种能有效抑制抗体、抗原和其它分子之间非特异性反应的非离子型表面活性剂。它还在膜化学中被用作增溶剂, 也被用于病毒的密度离心。由于缺少紫外发色团, 并且需要进行梯度洗脱, 这就意味着吐温 20 的分析既不能使用示差折光 (RI) 检测器, 也不能使用紫外进行检测。Agilent 385-ELSD 检测不依赖于化合物的光学性质, 使其成为这类辅料检测的唯一选择。

样品: 浓度 1 mg/mL 的吐温 20  
色谱柱: PLRP-S 100 Å, 150 × 4.6 mm, 5 μm  
流动相 A: 水  
流动相 B: 乙腈  
梯度程序: 55 min 内 10-100% B  
流速: 1.0 mL/min  
进样量: 10 μL  
检测: Agilent 385-ELSD (雾化温度 = 30 °C, 蒸发温度 = 50 °C, 气体流速 = 1.6 SLM)



## 阳离子表面活性剂的简易分析

阳离子表面活性剂, 如溴棕三甲铵 (十六烷基三甲基溴化铵), 常被用作织物软化剂、缓蚀剂和化妆品中的防腐剂或者洗涤剂。溴棕三甲铵也是治疗脂溢性皮炎和牛皮癣的洗发水中的常用成分。385-ELSD 为这类化合物的检测提供了一个无需化学衍生化的快速简便的方法。ELSD 与示差折光 (RI) 检测器相比具有更高的灵敏度和更低的检测限, 且适用于梯度洗脱, 可以快速分离复杂的表面活性剂混合物。

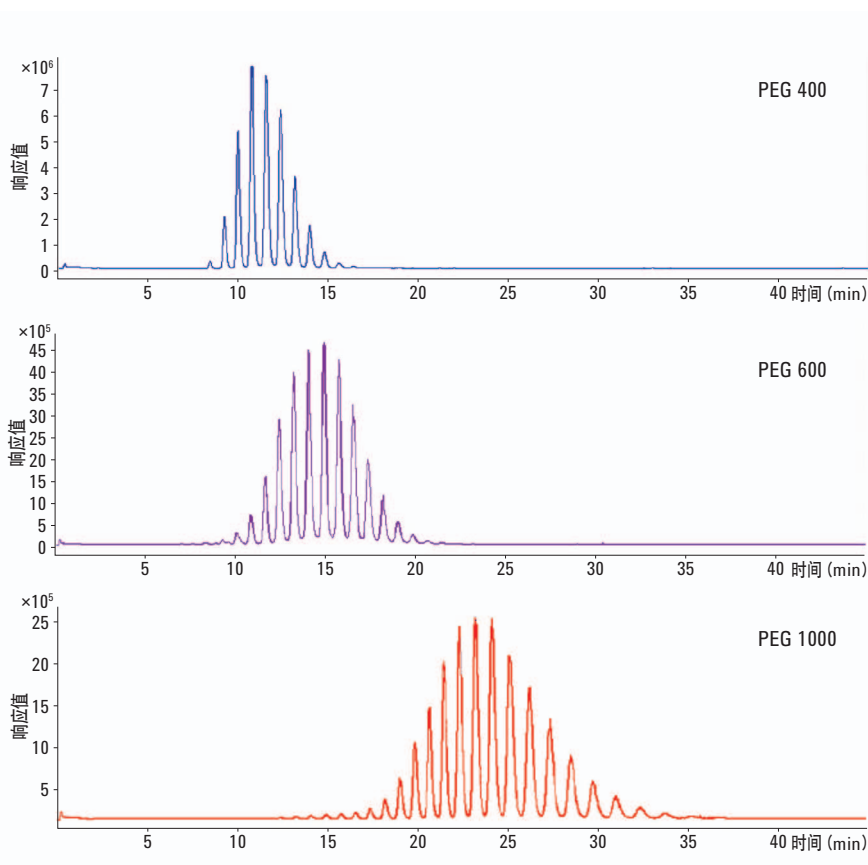


样品: 溴棕三甲铵  
色谱柱: C18, 150 × 4.6 mm, 5 μm  
流动相 A: 0.1% HFBA 水溶液  
流动相 B: 0.1% HFBA 乙腈溶液  
比例: A : B (95 : 5)  
流速: 1.0 mL/min  
进样量: 20 μL  
检测: Agilent 385-ELSD (雾化温度 = 30 °C, 蒸发温度 = 60 °C, 气体流速 = 1.4 SLM)

## SFC 与 ELSD 联用测定 PEG

与 HPLC 相比，超临界流体色谱法 (SFC) 更快、分离度更高。制药或者生物分析实验室中有大量的潜在药物需要进行筛选，SFC 能增加这些实验室的样品通量。

由于 SFC 流动相的气体性质，ELSD 可作为它的一种补充检测技术。SFC 与 ELSD 联用时，流动相无需再蒸发，因为流动相在雾化阶段就已经挥发掉了。与 SFC 常见的通用型检测器——火焰离子化检测器 (FID) 不同，Agilent 385-ELSD 不受典型的有机改性剂如甲醇的影响。与大多数 ELSD 不同，385-ELSD 标配了一个 SFC 运行所必须的可加热的雾化器，因此与 SFC 联用时，385-ELSD 无需任何调整。SFC 与 ELSD 联用分析不同的聚乙二醇样品时显示了高分离度的特点。



**[www.agilent.com/chem/elcd:cn](http://www.agilent.com/chem/elcd:cn)**

© 安捷伦科技(中国)有限公司, 2012

2012年4月1日, 中国印刷

5990-9455CHCN



**Agilent Technologies**