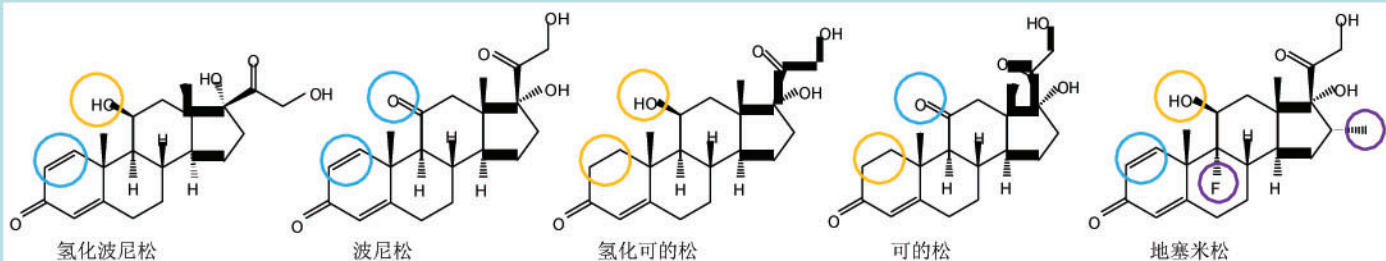


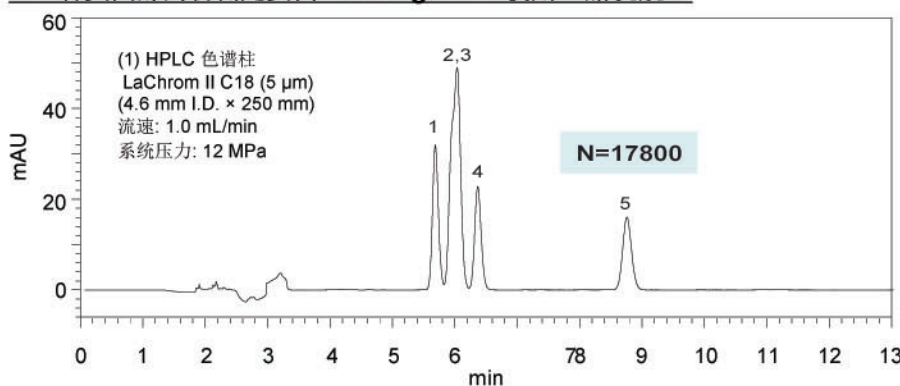
类固醇，也称甾族化合物，是基本骨架由三个六元环和一个五元环组成的一类化合物的统称，大部分具有生物活性，并且广泛应用于医药类产品。由于这些化合物结构类似，有时会被用来作为体现 HPLC 分离度的典型样品。

在此，使用日立超高压液相色谱仪 ChromasterUltra Rs 分离 5 种甾族化合物，并且对比使用高分离度 UHPLC 色谱柱(LaChromUltra II C18 (3.0 mm I.D. × 250 mm, 1.9 μm))和使用常规 HPLC 色谱柱分离 5 种化合物的分离度结果，同时分别对比了使用甲醇和乙腈作为洗脱溶剂的分离度结果。



[5 种类固醇药物结构式]

■ 5 种类固醇药物测定实例 (10 mg/L) (使用乙腈洗脱)



<色谱条件>

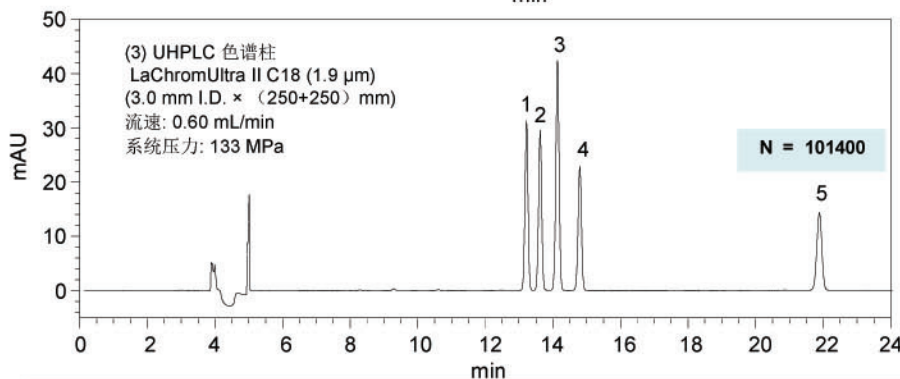
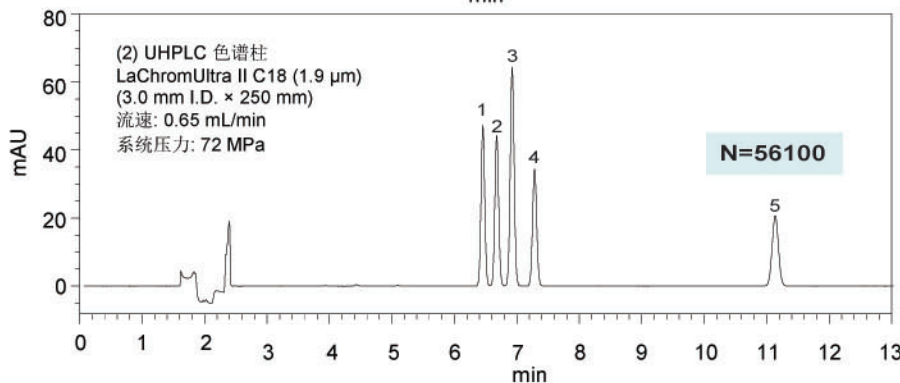
色谱柱: (1) LaChrom II C18 (5 μm)
4.6 mm I.D. × 250 mm
(2) LaChromUltra II C18 (1.9 μm)
3.0 mm I.D. × 250 mm
(3) LaChromUltra II C18 (1.9 μm)
3.0 mm I.D. × (250 + 250) mm
流动相: 水/乙腈 = 60 / 40 (v/v)
流速: (1) 1.0 mL/min
(2) 0.65 mL/min
(3) 0.60 mL/min
柱温: 40°C
检测波长: UV 254 nm(DAD)
进样体积: (1) 10 μL, (2)(3) 5 μL

<标样名称>

1. 氢化波尼松
2. 波尼松
3. 氢化可的松
4. 可的松
5. 地塞米松

<标准溶液制备>

准确称取一定量混合标样，用甲醇溶解稀释成浓度为 100 mg/L 的溶液，然后用甲醇稀释成浓度为 10 mg/L 的标准溶液，用 0.2 μm 滤膜过滤。

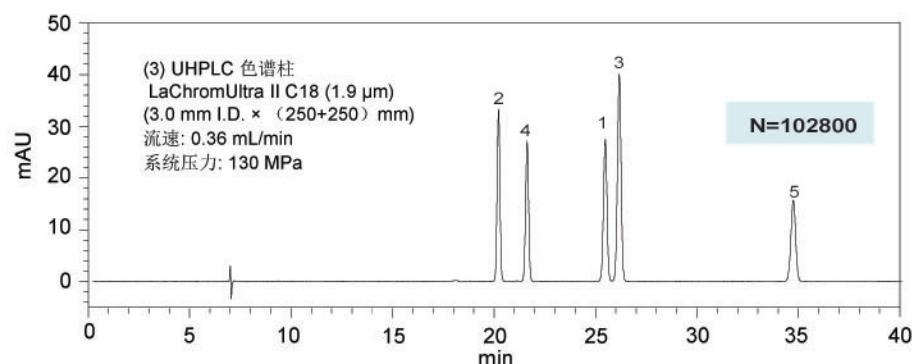
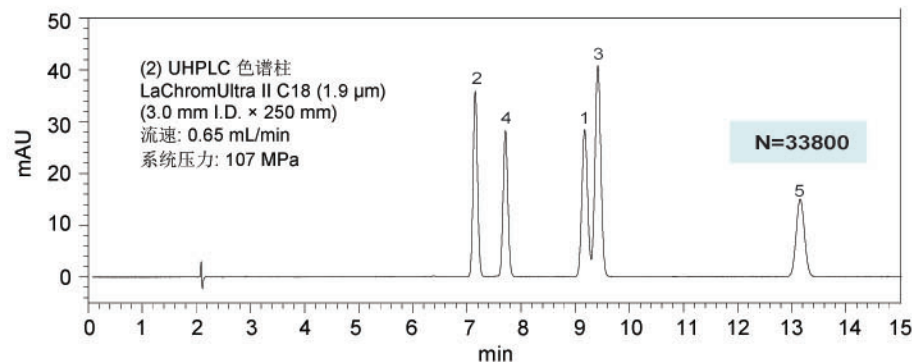
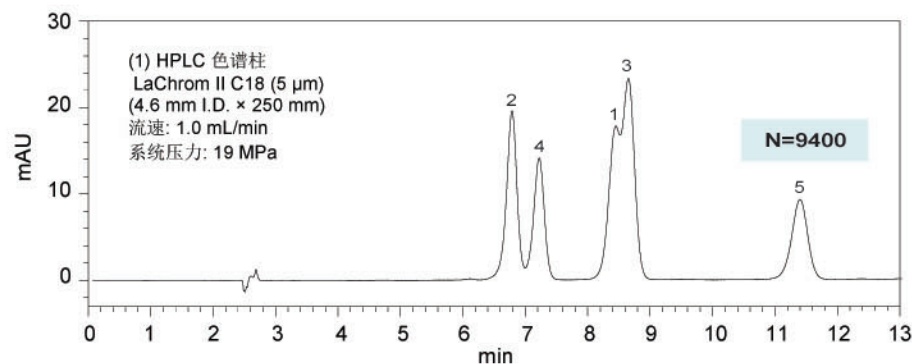


标样	分离度		
	(1) HPLC column	(2) UHPLC column	(3) 2 × UHPLC columns
1-2	—	2.0	2.4
2-3	—	2.1	2.9
3-4	—	3.0	3.6
4-5	10.5	24.9	30.9

使用乙腈/水作为洗脱溶剂，实验结果表明：

(1) 使用 5 μm 粒径的常规 HPLC 色谱柱不能分离波尼松和氢化可的松；(2) 改用 UHPLC 色谱柱，波尼松和氢化可的松分离度有所改善，并且 5 种化合物都得到了比较好的分离结果。此外，使用两根 UHPLC 色谱柱串联，虽然分析时间是使用一根色谱柱时的两倍，但是 5 种化合物得到了更好的分离和更高的理论塔板数。

■ 5 种类固醇药物测定实例 (10 mg/L) (使用甲醇洗脱)



<色谱条件>

色谱柱: (1) LaChrom II C18 (5 μ m)
4.6 mm I.D. $\times$ 250 mm
(2) LaChromUltra II C18 (1.9 μ m)
3.0 mm I.D. $\times$ 250 mm
(3) LaChromUltra II C18 (1.9 μ m)
3.0 mm I.D. $\times$ (250 + 250) mm
流动相: Water/Methanol = 40 / 60 (v/v)
流速: (1) 1.0 mL/min
(2) 0.65 mL/min
(3) 0.36 mL/min
柱温: 40°C
检测波长: UV 254 nm(DAD)
进样体积: (1) 10 μ L, (2)(3) 5 μ L

<标样名称>

1. 氢化波尼松
2. 波尼松
3. 氢化可的松
4. 可的松
5. 地塞米松

<标准溶液制备>

准确称取一定量混合标样, 用甲醇溶解稀释成浓度为 100 mg/L 的溶液, 然后用甲醇稀释成浓度为 10 mg/L 的标准溶液, 用 0.2 μ m 滤膜过滤。

标样	分离度		
	(1) HPLC column	(2) UHPLC column	(3) 2 $\times$ UHPLC columns
2-4	1.4	3.5	5.3
4-1	—	8.1	13.0
1-3	—	1.2	2.0
3-5	—	15.4	22.6

使用甲醇/水作为洗脱溶剂, 实验结果表明:

(1) 使用 5 μ m 粒径的常规 HPLC 色谱柱不能分离氢化波尼松和氢化可的松; (2) 改用 UPLC 色谱柱进行分离, 氢化波尼松和氢化可的松的分离度有所改善, 但是仍不能达到完全分离; (3) 使用两根 UHPLC 色谱柱串联, 上述两种化合物达到了基线分离, 5 种化合物之间也获得了较好的分离。

分别使用甲醇和乙腈作为流动相进行洗脱, 5 种化合物的出峰顺序分别为:

使用乙腈/水作流动相: (1) $\rightarrow$ (2) $\rightarrow$ (3) $\rightarrow$ (4) $\rightarrow$ (5)

使用甲醇/水作流动相: (2) $\rightarrow$ (4) $\rightarrow$ (1) $\rightarrow$ (3) $\rightarrow$ (5)

这是由于甲醇和乙腈的性质有所不同, 甲醇是质子性溶剂, 乙腈是非质子性溶剂, 出峰顺序的改变是由于目标化合物与洗脱溶剂之间的相互作用不同引起的。

当考察洗脱条件时, 使用 ChromasterUltra 和 LaChromUltra II C18 色谱柱, 在 140MPa 压力下, 考察用甲醇分离比乙腈分离效果更好。

仪器配置: ChromasterUltra Rs DAD system

(6170 二元泵, 6270 自动进样器, 6310 柱温箱, 6430 二极管阵列检测器, 组织器)

注意: 本资料所示数据仅为测定例用数据而非可保证仪器性能的数据。