

来自赛分科技在色谱分离领域上的最新进展

■ 赛分科技新闻

■ 产品应用园地

— 麻黄碱 (伪麻黄碱)

— 氨甲喋呤

— 氨苄西林

— 乳果糖口服液

— 脑蛋白水解液

— 小麦中毒素的检测

■ 产品订购信息

Better Surface Chemistry for Better Separation



Sepax Technologies

公司动态

赛分科技有限公司 (Sepax Technologies, Inc.) 自 2005 创办以来一直致力于化学与生物分离科学、生物表面科学和蛋白质组学 (Proteomics) 研究等领域的色谱产品的开发与生产。赛分科技以强大的技术研发为先导, 从事高性能色谱分离材料的生产与销售, 应用范围从实验室分析到工业化的药物纯化。目前的产品线涵盖了硅胶和聚合物为基质的一些列高品质的液相色谱填料、色谱柱、固相萃取 (SPE)、快速柱 (Flash) 等。赛分的创新科技使之生产出最高分辨率及最高效的生物分离产品, 包括体积排阻、离子交换、抗体分离和糖类化合物分离色谱填料和色谱柱, 以及应用于 DNA 测序和蛋白质分离的新型毛细管柱。在此基础上, 赛分科技进一步发展药物分离和中草药有效成份分离和筛选技术, 并拥有仪器和设备制造技术。赛分科技在分离、分析领域所取得的成就, 日益受到色谱工作者与同行的关注。

赛分科技将于 2010 年 10 月 19 日在色谱网举办《生物样品分析专题在线技术讲座》, 欢迎参与!

赛分科技将联合色谱网于 2010 年 10 月 19 日 14:00-16:00 在中国色谱网→色谱论坛→液相论坛板块举办**生物样品分析专题在线技术讲座**, 内容涉及生物样品的特性、常用分析方法; 常见生物分离色谱柱的分离原理及应用; 生物分离用液相色谱柱的使用及维护等内容。

期间还将举行有奖问答、抽奖活动! (具体请关注色谱网及赛分网站)。

最新《2010 版中国药典应用图谱集》已发布, 欢迎电话或通过当地赛分经销商索取!



参与既有机会获得品牌笔记本背包和瑞士军刀!!!

产品应用园地

1、 盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱的检测

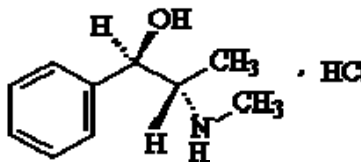
盐酸麻黄碱

英文名: Ephedrine Hydrochloride (Ephetonin)

分子式: $C_{10}H_{15}NO \cdot HCl$

分子量: 201.70

性状: 白色针状结晶或结晶性粉末; 无臭, 味苦。在水中易溶, 在乙醇中溶解, 在氯仿或乙醚中不溶, 熔点 217-220℃。



盐酸麻黄碱结构示意图

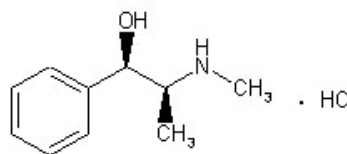
盐酸伪麻黄碱

英文名称: Pseudoephedrine Hydrochloride

分子式: $C_{10}H_{15}NO \cdot HCl$

分子量: 201.70

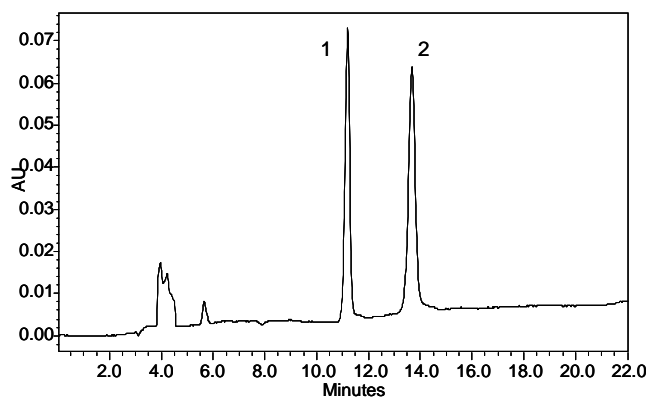
性状: 白色结晶性粉末; 无臭, 味苦。在水中易溶, 在乙醇中易溶, 在三氯甲烷中微溶。熔点 183-186℃。



盐酸麻黄碱结构示意图

麻黄碱和伪麻黄碱属仲胺衍生物, 且互为立体异构体, 它们的结构区别在于 C1 的构型不同。盐酸麻黄碱临床用于支气管哮喘、蛛网膜下腔麻醉或硬膜外麻醉引起的低血压和解除鼻粘膜充血、水肿, 盐酸伪麻黄碱主要用于减轻感冒、过敏性鼻炎、鼻炎及鼻窦炎引起的鼻充血症状。市面上含有两者或者两者之一的药品多达上百种, 如: 麻黄碱 (包含伪麻黄碱)、复方盐酸西替利嗪伪麻缓释片、氨苯伪麻片、甘草麻黄碱片、黄麻嗪胶丸、氨酚氯汀伪麻片等等, 对其建立精确、简洁的检测方法具有重要意义。

下图为使用 Sepax GP-Phenyl 色谱柱对中药麻黄药材进行分离检测的图谱, 从图谱可以看出麻黄碱 (峰 1) 与伪麻黄碱 (峰 2) 的单峰对称、尖锐, 两者分离度高。



Column: GP-phenyl (5 μ m, 120 \AA , 4.6 \times 250 mm)

(订货号: 111365-4625)

Mobile phase: 甲醇-0.092%磷酸溶液 (含 0.04%三乙胺和 0.02%二正丁胺) = 1.5: 98.5 (v/v)

Flow rate: 1.0 mL/min

Wavelength: 210 nm

Column tem.: RT

Injection Volume: 10 μ L

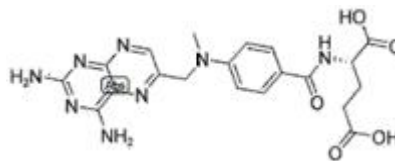
2、 氨甲喋呤的检测

英文名: Methotrexate (MTX)

分子式: $C_{20}H_{22}N_8O_5$

分子量: 454.44

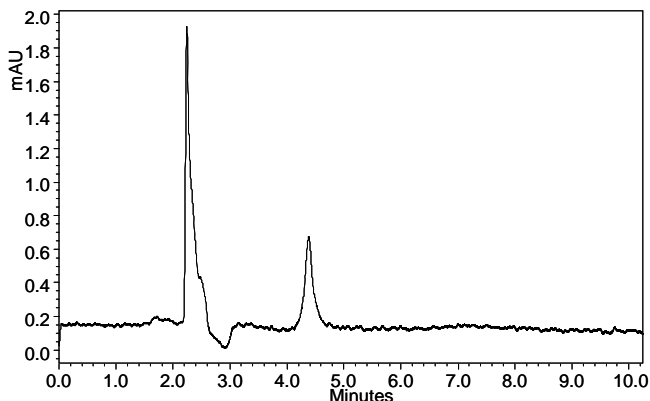
性 状: 黄色或橘黄色粉末或结晶, 不溶于水、乙醇和氯仿, 能溶于无机酸、氢氧化物的稀溶液和碳酸盐溶液。



氨甲喋呤结构示意图

氨甲喋呤属于抗叶酸类抗肿瘤药物, 主要通过对二氢叶酸还原酶的抑制而达到阻碍肿瘤细胞 DNA 的合成, 而抑制肿瘤细胞的生长与繁殖。

目前氨甲喋呤的检测方法多采用反相 C18 添加乙胺-乙酸梯度洗脱, 保留时间长、灵敏度低; 使用 HILIC 方法采用低浓度挥发性的醋酸铵做流动相, 可以在不降低灵敏度的情况下利用 LC-MS 等手段实现快速分析, 为肿瘤药物临床代谢研究提供了便利。下图为使用 HILIC Polar-Imidazole 色谱柱对氨甲喋呤的检测图谱, 其中, 氨甲喋呤保留时间在 5min 之内, LLOQ 达到 0.05uM, 且只需要简单的等度洗脱即可, 非常适合氨甲喋呤的分析。



Column: Polar-Imidazole (5 μ m, 120 \AA , 4.6 \times 150 mm)

(订货号: 135335-4625)

Mobile phase: ACN:10 mM NH₄Ac=90:10 (V/V)

Flow rate: 1.0 mL/min

Wavelength: 214 nm

Column tem.: RT

Injection Volume: 20 μ L

3、 氨苄西林的检测

英文名: Ampicillin

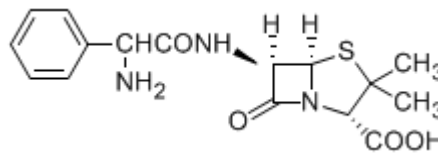
别 名: 氨苄青、安比西林、沙维西林、赛米西林、氨苄西、潘别丁、AB-PC

分子式: $C_{16}H_{19}N_3O_4S \cdot 3H_2O$

分子量: 403.45

性 状: 白色结晶粉末, 味微苦; 在水中微溶, 在

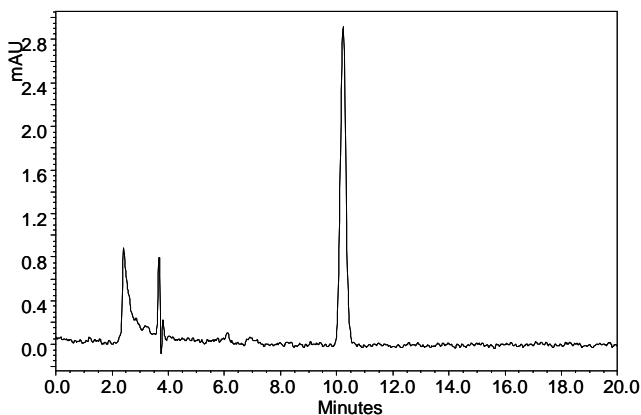
三氯甲烷、乙醇、乙醚或不挥发油中不溶, 在稀酸或稀碱溶液中溶解。



氨苄西林结构示意图

氨苄西林为广谱半合成青霉素, 2010 版药典基本保留了 05 版药典的检测方法, 仅仅微调了流动相比例和梯度洗脱时间, 即: 采用十八烷基硅烷键合硅胶作为填充剂, 以 0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液 (用磷酸调节 pH 至 3.0)-乙腈 (90:10) 为流动相 A, 以 0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液 (用磷酸调节 pH 至 3.0)-乙腈 (60:40) 为流动相 B, 检测波长 270 nm。上图为使用赛分科技 BR-C18 色谱柱对氨苄西林的检测图谱。

赛分科技 BR 系列色谱柱使用被完全覆盖的键合硅胶填料,即使在高的 pH (10.5)环境下仍具有优异的化学稳定性,专为各种碱性化合物的分离而设计。从下图可以看出氨苄西林在 BR-C18 柱上的保留时间为 10.230 min,拖尾因子 1.013,柱效 12498,完全符合新药典的要求。



Column: BR-C18, (5 μ m, 120 \AA , 4.6 \times 150 mm)

(订货号: 102185-4625)

Mobile phase: A:B=85:15 (V/V)

A: 12% HAc:0.2M KH_2PO_4 :ACN:H $_2$ O = 0.5:50:50:900

B: 12% HAc:0.2M KH_2PO_4 :ACN:H $_2$ O = 0.5:50:400:550

Flow rate: 1.0 mL/min

Wavelength: 214 nm

Column tem.: RT

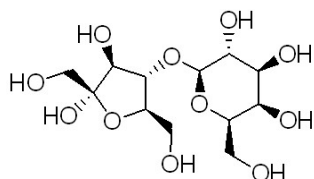
Injection Volume: 20 μ L

样品: 氨苄西林供试品 (浓度: 30 μ g/mL)

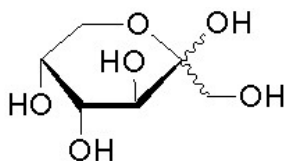
4、 乳果糖口服液的检测

英文名: Lactulose Oral Solution

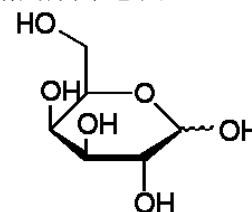
乳果糖结构示意图



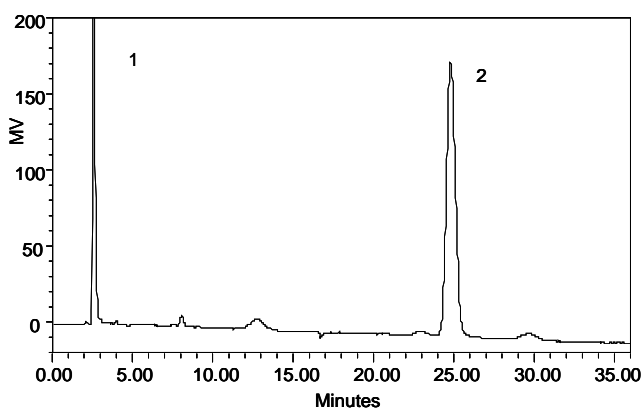
果糖结构式:



半乳糖结构示意图



乳果糖口服溶液为棕黄色澄明粘稠液体,用于治疗高血氨症及由血氨升高引起的疾病。主要成分乳果糖是由乳糖在碱的作用下异构化而得,有关物质包括未反应的乳糖,异构化相关物质塔格糖、表乳糖,以及乳糖的分解产物半乳糖和果糖。2010 版药典规定在色谱条件与系统适用性试验中以氨丙基硅烷键合硅胶为填充剂,以乙腈-磷酸盐缓冲液(取磷酸二氢钠 1.15 g,溶于 1000 mL 水中)(84-16)为流动相,以示差检测器测定。柱温和检测池温度均为 40 $^{\circ}$ C,流速为每分钟 1.5 mL,要求乳果糖峰与乳糖峰之间的分离度应大于 2.0。



Column: HP-Amino (5 μ m, 120 \AA , 4.6 \times 250 mm)

(订货号: 115305-4625)

Mobile phase: 乙腈 : 磷酸盐缓冲液(磷酸二氢钠 1.15g, 溶于 1000 ml 水)= 80:20 (V/V)

Flow rate: 1.5 mL/min

RID

Column tem.: 40 $^{\circ}$ C

Injection Volume: 20 μ L

Pressures: 1140 psi

从以上图谱可以看出,使用 Sepax HP-Amino 色谱柱分析乳果糖口服液,乳果糖峰(1)与乳糖峰

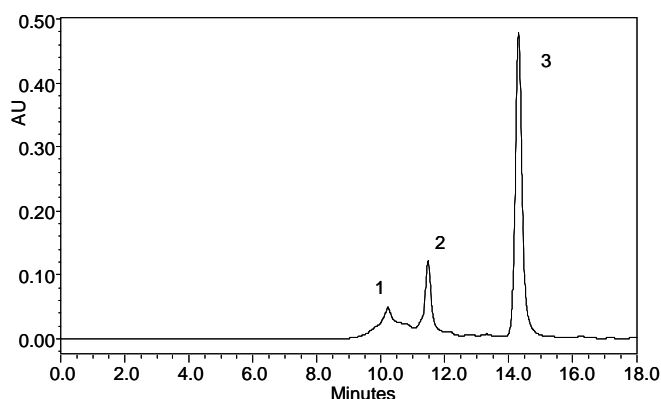
(2)之间的分离度达到 3.8，远高于药典所要求的 2.0，非常适合乳果糖口服液的检测。

5、 脑蛋白水解液

脑蛋白水解液主要成分为健康猪脑经丙酮脱脂、酶水解的产物，为无色或浅黄色澄明液体。其中含有多种游离氨基酸，并含少量多肽。

下图为采用赛分体积排色谱柱SRT-150，在280 nm紫外吸收波长下检测脑蛋白水解液中的色氨酸、酪氨酸与多肽等成份，从图谱中可以看到得益于SRT-150大的孔体积和高的分辨率两个显著特点，不仅色氨酸（2）、酪氨酸（3）两个分子量非常接近的小分子氨基酸成分得到了很高程度的分离，而且清晰看到1号多肽峰里面尚有数个成分峰的存在情况。SEC对于脑蛋白水解液复杂成分的后期纯化和质量控制是非常有益的手段。

赛分科技 SRT 系列色谱柱采用高纯度具有良好机械稳定性的硅胶为基质，表面键合一层均一、亲水、纳米厚度的中性聚合物薄膜，有 100、150、300、500、1000 和 2000 Å 多种孔径选择，具有高分辨率、高重复性、高蛋白回收率等优点。



Column: SRT-150 (5 μ m, 150 Å, 7.8x300 mm)
(订货号: 215150-7830)

Mobile phase:

0.1M Potassium Phosphate-5% isopropanol (pH=7.0)

Flow rate: 1.0 mL/min

Wavelength: 280 nm

Column tem.: RT

Injection Volume: 10 μ L

Pressures: 980 psi

6、 小麦中真菌毒素的检测

真菌毒素是真菌在食品或饲料里生长所产生的代谢产物。目前全世界粮谷、饲料中出现真菌毒素的比例高达 25%，除了对畜牧产业造成显著的经济损失外，部分真菌毒素还具有致癌性和致畸胎性，可经食物传至人类。常见的真菌毒素有呕吐毒素（DON）、伏马毒素、赭曲霉毒素（OTA）、T-2 毒素、玉米赤霉烯酮（ZEA）和黄曲霉毒素（AFT）等。

赛分科技于近日开发了一种检测小麦中真菌毒素（黄曲霉毒素 B1 和玉米赤霉烯酮）的方法，该方法简单可靠，相比目前通常采用的免疫亲和柱，更加经济实用。

1、 样品预处理

用 50mL 甲醇超声提取 10 g 小麦粉 20min；取其中 4 mL 过滤并吹干，先加入 10mL 甲醇/2 M NaCl 溶液(1:1)溶解残渣，然后加入 3 mL 正己烷，脱脂 2 次；移去正己烷后，将下相用水稀释至 20 mL，然后用封尾 C18 SPE 柱进行净化。

2、 SPE 净化

SPE 柱：封尾 C18，200 mg/3mL，订货号：CEC18123

活化: 2 mL ACN, 2 mL 水;

上样: 取预处理后的样品溶液直接上样;

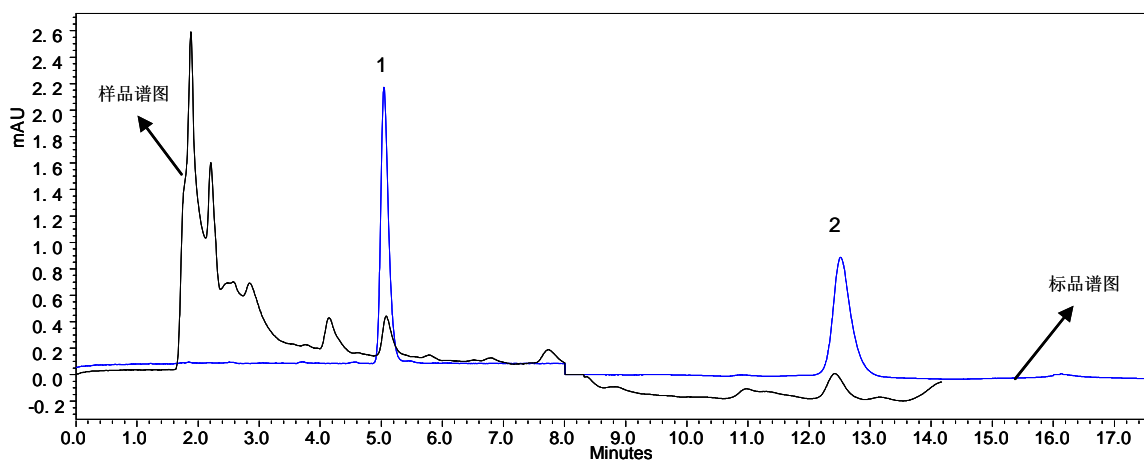
淋洗: 2 mL 水, 2 mL 35% ACN;

洗脱: 1 mL 70% ACN。

3、HPLC 检测

检测采用赛分科技 GP-C18 色谱柱进行检测, 为使检测灵敏度更高, 过程中在前后两个阶段采用不同的检测波长。该方法较常规的 LC-MS 法具有设备要求低、成本低廉的优点。

真菌毒素标准品&添加毒素的小麦样品检测色谱图



色谱柱: GP-C18, (5 μ m, 4.6 \times 250 mm, 120 \AA)
(订货号: 101185-4625)

流动相: 50% ACN

柱温: 室温

流速: 1 mL/min

进样量: 50 μ L

波长: 1 min~8 min (365 nm), 8min~ (220 nm)

回收率数据:

	检测物质	添加浓度 (μ g/kg)	回收率
1	黄曲霉毒素 B1	100	83.5%
2	玉米赤霉烯酮	100	96.8%

相关产品订购信息

Sepax GP-C18 分析柱订购信息

长度 x 内径	粒径 (μ m)	孔径 (\AA)	订货号
10mm x 4.0mm (保护柱)	3	120	101183-4001
150mm x 4.6mm	3	120	101183-4615
250mm x 4.6mm	3	120	101183-4625
10mm x 4.0mm (保护柱)	5	120	101185-4001

150mm x 4.6mm	5	120	101185-4615
250mm x 4.6mm	5	120	101185-4625

Sepax GP-Phenyl 分析柱订购信息

长度 x 内径	粒径 (μm)	孔径 (\AA)	订货号
10mm x 4.0mm (保护柱)	3	120	111363-4001
150mm x 4.6mm	3	120	111363-4615
250mm x 4.6mm	3	120	111363-4625
10mm x 4.0mm (保护柱)	5	120	111365-4001
150mm x 4.6mm	5	120	111365-4615
250mm x 4.6mm	5	120	111365-4625

Sepax BR-C18 订购信息

长度 x 内径	粒径(μm)	孔径(\AA)	订货号
100mmx4.6mm	5	120	102185-4610
150mmx4.6mm	5	120	102185-4615
250mmx4.6mm	5	120	102185-4625

Sepax HP-Amino 订购信息

长度 x 内径	粒径(μm)	孔径(\AA)	订货号
100mmx4.6mm	5	300	115305-4610
150mmx4.6mm	5	300	115305-4615
250mmx4.6mm	5	300	115305-4625

SRT SEC-150 分析柱订购信息

长度 x 内径	粒径 (μm)	孔径 (\AA)	订货号
50mm x 4.6mm (保护柱)	5	150	215150-4605
150mm x 4.6mm	5	150	215150-4615
250mm x 4.6mm	5	150	215150-4625
300mm x 4.6mm	5	150	215150-4630
50mm x 7.8mm (保护柱)	5	150	215150-7805
150mm x 7.8mm	5	150	215150-7815
250mm x 7.8mm	5	150	215150-7825
300mm x 7.8mm	5	150	215150-7830

注：赛分科技同时可提供孔径为 100、300、500、1000、2000 \AA 的分析柱。



Sepax Technologies

赛分（美国）科技有限公司
5-100 Innovation Way, Newark, Delaware, USA
Tel: 302-3661101
Fax: 302-3661151

苏州赛分科技有限公司
地址：苏州工业园区生物纳米科技园
电话：0512-69369056
传真：0512-69369025

上海办事处
地址：上海市浦东新区东昌路600号东昌大楼214室
电话：400-636-8880