

电喷雾检测器的工作特点及其在药物分析中的应用进展

吴雪松^{1,2},雷勇胜^{1,2,3},张慕军^{1,2,3},陈蔚^{1,2},潘毅^{1,2},陈华¹

(1 天津药物研究院有限公司,天津 300462; 2 天津泰普制药有限公司技术研发中心,天津 300462;

3 中国医学科学院药物代谢新技术创新单元,天津 300450)

[摘要] 电喷雾检测器(CAD)是近年来发展迅速的新型通用型液相色谱检测器,具有灵敏度高、线性范围宽、不依赖于化学结构的响应一致性和操作简便等优势,尤其适用于无紫外吸收物质的检测。本文简要综述了CAD检测器的工作原理、检测特点及其在中药及天然产物、化学药物、糖类物质、生化药物、药用辅料及表面活性剂等分析领域的应用,为其更好地应用于液相色谱分析检测提供参考。

[关键词] 电喷雾检测器;工作特点;药物分析;应用

[中图分类号] R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)04-0420-08

Characteristics of charged aerosol detector and its application in pharmaceutical analysis

WU Xue-song^{1,2}, LEI Yong-sheng^{1,2,3}, ZHANG Mu-jun^{1,2,3}, CHEN Wei^{1,2}, PAN Yi^{1,2}, CHEN Hua¹

(1 *Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Co., Ltd., Tianjin 300462, China*; 2 *Technology R&D Center*

of Tianjin Taipu Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300462, China; 3 *Research Unit for Drug Metabolism,*

Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300450, China)

[Abstract] Charged aerosol detector (CAD) is a new universal liquid chromatography detector rapidly developed in recent years. It has the advantages of high sensitivity, broad linear range, the signal response consistency independent of chemical structures, as well as the feature of simple operation. It is especially suitable for detecting substances without ultraviolet absorption. This paper briefly summarizes the working principle and detection characteristics of CAD detector and its application in the analysis fields of traditional Chinese medicine and natural products, chemical drugs, sugars, biochemical drugs, pharmaceutical adjuvant and surfactants, so as to provide reference for its better application in the liquid chromatographic analysis.

[Key words] charged aerosol detector; characteristics; pharmaceutical analysis; application

药物分析是保障药物质量和用药的安全、有效、合理的必要工作,其贯穿药物研发、生产及临床应用全过程。色谱分析是药物分析研究的重要手段,其

中 HPLC 法更是现代药物分析中应用最为普遍的色谱技术^[1],纵观《中华人民共和国药典》2020 年版,约 80% 的品种需通过 HPLC 法进行质量分析研究。检测器作为 HPLC 的重要组成部分,其类型及性能决定待测物响应值的高低及干扰情况,取决于 3 个关键因素:选择性、灵敏度及基线噪音,故而选择适宜的检测器尤为重要。电喷雾检测器(charged aerosol detector, CAD)是近年来发展迅速的一种新型的质量型通用检测器,相较于传统的紫外检测器

[基金项目] 中国医学科学院医学与健康科技创新工程资助项目(2019-I2M-5-020);天津市科技计划资助项目(18YFZCZY00090)

[作者简介] 吴雪松,男,硕士,研究方向:药物质量分析研究。

E-mail: wuxuesong@tipr.com.cn。

[通讯作者] 雷勇胜,男,副研究员,研究方向:药物质量分析研究。

联系电话:(022)23006878, E-mail: leiys@tipr.com。

(ultraviolet detector, UV)而言,其具有很强的通用性,尤其适用于非挥发性以及大部分半挥发性化合物的检测,响应值不依赖于化合物的光学性质或离子化效率,可替代UV检测器检测非紫外或弱紫外活性的化合物^[2]。鉴于CAD检测技术的不断发展,应用愈加广泛,本文综述了CAD检测器的发展历程、工作原理、检测条件、检测特点、性能对比及其在中药及天然产物、化学药物、糖类物质、生化药物、药用辅料及表面活性剂方面的代表性应用,为其更好地应用于HPLC分析检测提供参考。

1 发展历程

CAD检测器是美国ESA公司于2004年10月研发而成的具有专利技术的一种新型HPLC检测器^[3],一经推出就相继获得了仪器行业的最高荣誉,获2005年PITTCON“撰稿人”银奖和素有“发明领域的诺贝尔奖”之称的2005年“R&D100”奖。该发明针对解决蒸发光散射检测器(evaporative light-scattering detector, ELSD)存在的问题,如线性范围

窄且需取对数进行计算、基线噪音偏大等,新型的检测器具有更为简单的组分浓度和响应关系,动态范围更宽。在此后的发展中CAD检测器经历不断的技术更新,2006年推出Corona plus型号,实现雾化器加热控制;2009年戴安公司收购该技术,并推出Corona ultra型号,增加内置气体调节器、改进雾化器;2011年行业巨头Thermo公司收购戴安公司,统一了仪器外观,增加废液瓶感应器和内置切换阀等;2013年Thermo公司发布的Corona VEO及Corona VEO RS型号检测器采用主动排废泵代替排废液的压力瓶,设计有聚焦喷射同轴雾化系统、荷电器、可加热的蒸发管,流速范围更宽($0.01 \sim 2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$)等,提升了系统的稳健性,扩展了应用范围;2015年推出的最新一代的Vanquish CAD机壳内模块采用推拉式设计,安装维修更为简便。CAD检测器现为Thermo公司独家专利产品,自2005年匹兹堡会议上首次面向全世界推出,10余年内共推出6代产品。CAD检测器发展历程见图1。

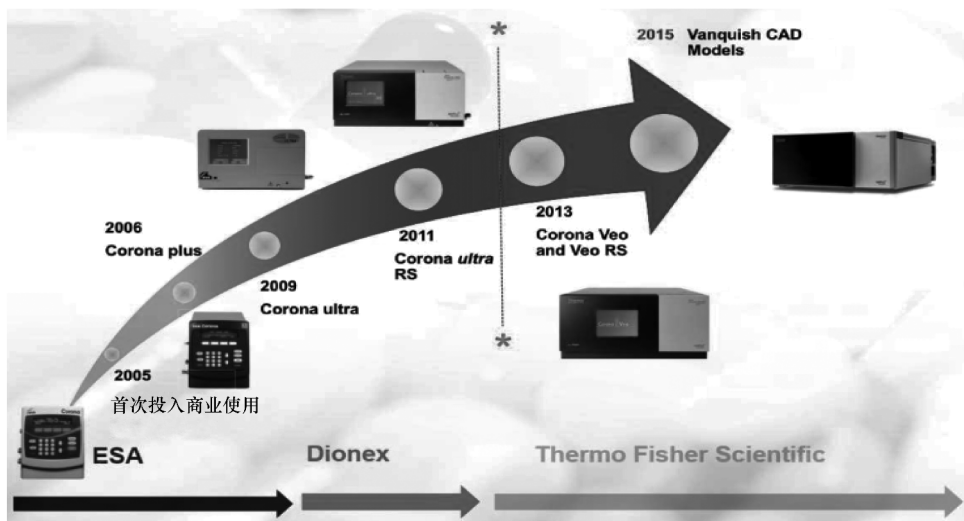


图1 电喷雾检测器的发展历程

2 工作特点

2.1 工作原理

基于雾化-气溶胶原理,经液相色谱系统而来的洗脱液由高纯氮气分散雾化,液滴形成喷雾,较大的雾滴经废液泵排出,较小的雾滴进入干燥管中,进而受热干燥形成气溶胶状的溶质颗粒。溶质颗粒与经

过电晕放电而带正电荷的高纯氮气在混合腔中逆向碰撞并带上正电荷,经过离子阱,去除多余的带正电的氮,带电溶质颗粒进入收集器,通过静电计测量分析物颗粒表面的电荷量,使得色谱峰面积(分析物颗粒的质量)与表面所带电荷量相关,最终成为确定物质浓度的依据。CAD检测器的工作原理见图2^[4]。

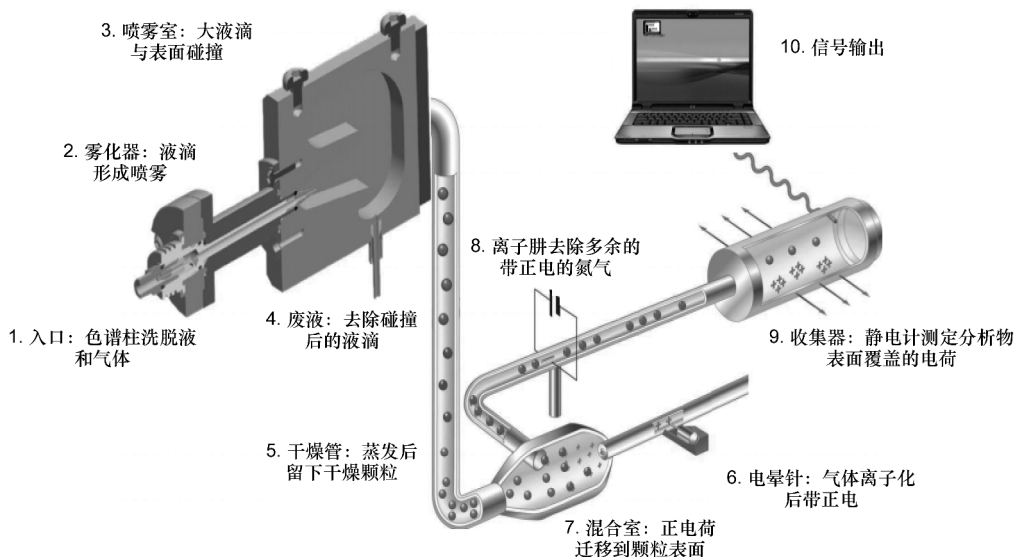


图2 电喷雾检测器的原理示意图

为进一步研究 CAD 检测器的定量依据及其信号所涉及的数学意义, Azeem 等^[4]建立了一种数学模型, 该模型认为洗脱液经氮气分散形成的雾滴直径呈正态分布, 撞击去除显著偏离正态分布的大液滴, 小雾滴蒸发形成干燥颗粒, 模型计算表明溶质颗粒的体积大小等于原液滴的体积乘以其中非挥发内容的浓度。研究发现, 颗粒大小分布的变化浓度随颗粒浓度的变化呈指数幂律, 且颗粒的直径决定了最终的平均电荷量, 静电计检测颗粒表面所带的全部电荷, 即可得到与浓度呈幂律函数关系的电流信号。同时, Ahmad 等^[5]研究结果也表明当分析物浓度较高时, 粒径分布与浓度呈现指数幂律的变化趋势, 故当待测物浓度范围较大时, 则需要使用幂律函数值 (power function value, PFV) 修正拟合标准曲线。

2.2 检测条件

因 CAD 检测器基于雾化检测的原理, 故要求被分析物必须具有难挥发性或半挥发性, 在同等检测条件下, 被分析物的挥发性越强, 其信号响应则越弱。同时, 流动相添加剂必须具有易挥发性, 常用的添加剂为甲酸铵、乙酸铵、甲酸、乙酸、三氟乙酸及五氟丙酸等, 忌用磷酸盐等难挥发性添加剂; 使用的化学试剂必须为色谱纯或 LC-MS 级别, 建议使用品牌试剂, 水相需使用超纯水 ($\geq 18.2 \text{ M}\Omega$); CAD 检测器载气为氮气, 建议配合使用液氮或氮气发生器, 氮气纯度应不低于 99.999%, 试剂或氮气纯度低均会导致噪音增大, 甚至出现“鬼峰”而干扰检测。此

外, CAD 检测器需配合使用低柱流失的色谱柱, 严重的柱流失也会导致背景噪音变大, 进而影响检测灵敏度。

2.3 检测特点

CAD 检测器的信号具有良好的线性范围, 其响应值只与进样质量有关, 仅当进样浓度过高时线性斜率会略有降低, 可满足检测范围宽且准确定量的要求^[3]。因被分析物无论是离子还是分子都会雾化形成中性的颗粒, 且电荷只加在颗粒的外表面, 故可同时检测阴阳离子和中性离子。此外, CAD 的响应会受流动相组成及比例变化的影响, 例如: 梯度洗脱时有机相含量上升, 响应会随之增大, 可能会影响重复性。但可用梯度补偿技术进行修正, 即在流动相从色谱柱流出而未进入检测器之前, 用另一个泵系统提供完全相反梯度的流动相, 使 2 种流动相在进入检测器前混合, 使得进入检测器的洗脱液始终保持相同的组分, 从而提高响应的一致性。总之, CAD 检测器的应用范围广泛, 可用于正相、反相、尺寸排阻、亲水作用色谱等多种模式, 可用于检测小分子或大分子化合物、极性化合物、非极性化合物、阴离子、阳离子、两性离子等多种物质。

2.4 性能对比

检测器是 HPLC 系统的“眼睛”, 故选择适宜的检测器对于质量研究尤为重要。HPLC 系统的常用检测器除前文提及的 CAD 及 UV 检测器外, 还有质谱检测器 (mass spectrometry, MS)、示差折光检测器 (refractive index detector, RID)、荧光检测器 (fluores-

cence detector, FLD) 以及 ELSD 等。MS 检测器成本较高、操作及维护复杂,要求实验人员具备较高的专业技能,且难以检测难电离的化合物,不利于广泛推广^[6];RID 检测器灵敏度较低且易受外界环境影响,无法进行梯度洗脱^[7];FLD 检测器仅适用于检测能激发荧光的化合物,应用范围较窄;ELSD 与 CAD 检测器工作原理相近,均为将流动相雾化蒸发后对待测物进行检测,均可用于检测无紫外吸收的化合物,区别在于 ELSD 检测为基于待测物的散射光信号,

而 CAD 则是基于带电粒子的电信号,且 CAD 具有更高的灵敏度,对同一待测物的检出限比 ELSD 约低一个数量级^[8];通过 ELSD 检测器检测的标准曲线的线性对不确定度的贡献较大,导致其线性系数低、重现性较差,而 CAD 检测具有良好的线性及重现性^[9];CAD 的日常维护较 ELSD 更为简单,ELSD 需将待测物全部雾化后进行检测,而 CAD 仅少部分样品进入干燥管中,仪器内部的污染概率更低。HPLC 系统常用检测器的性能比较见表 1。

表 1 HPLC 系统常用检测器的性能对比

检测器	CAD	ELSD	UV	MS	RID	FLD
优势	不需要样品含有紫外生色团;检测灵敏度高;受温度影响小,可进行梯度洗脱	不需要样品含有紫外生色团;受温度影响小,可进行梯度洗脱	可多波长检测;受温度影响小,可进行梯度洗脱	可提供分子量信息;受温度影响小,可进行梯度洗脱	不需要样品含有紫外生色团	受温度影响小,可进行梯度洗脱
劣势	不适用于挥发性物质检测	不适用于挥发性物质检测;重复性差;线性关系需对数转换,计算繁琐,线性范围窄	不适用于无紫外生色团物质检测	成本较高,操作复杂	受温度影响大,不可梯度洗脱,灵敏度差	仅适用于可激发荧光的物质检测
特性	基于雾化-气溶胶原理,响应值与待测物颗粒质量相关	基于雾化-气溶胶原理,光信号转化为电信号进行检测	基于待测物的紫外吸收强度进行检测	基于待测物被电离和裂解后产生离子质荷比的不同进行检测	利用待测物与流动相的折射率之差进行检测	基于待测物受紫外光激发后发射出的荧光信号进行检测

3 CAD 应用进展

3.1 中药及天然产物的分析应用

中药及天然产物种类繁多、成分复杂、性质差异大,其药效物质基础与质量控制成为现代药学研究的重点,对其进行定量分析时检测器的选择至关重要,由于 CAD 的通用性强及定量范围宽等优势,其在皂苷类、生物碱类、萜类、黄酮及有机酸类等天然产物的质量分析中具有广泛的应用。

3.1.1 皂苷类化合物的分析应用 皂苷类物质通常仅为末端吸收或无紫外吸收,UV 检测器对该类物质检测不稳定且在梯度洗脱时易出现基线漂移,ELSD 检测器对皂苷类物质的检测灵敏度高于 UV 的末端波长检测,但对低含量成分的检测重复性较差,CAD 检测器能较好地解决这些问题。南易等^[10]通过 HPLC-CAD 技术建立了同时测定知母中芒果苷和知母皂苷 B II 含量的方法,为优化知母药材的质量评价提供了简便可行的方法。王丽娜等^[11]建立了 HPLC-CAD 法对不同产地柴胡药材中柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 b2、柴胡皂苷 d 的含量进行研究,结

果显示 CAD 基线平稳无干扰、峰形对称、准确度高,检测效果显著优于 HPLC-UV 法。

3.1.2 生物碱类化合物的分析应用 生物碱指存在于植物体内的一类含氮有机化合物,呈碱性,多具有复杂的环状结构,其中部分季铵型生物碱以及异甾体生物碱等无共轭结构,不适用于 HPLC-UV 法检测,通常需要对样品进行衍生化处理。廖强等^[12]建立了柱后补偿液相色谱结合 CAD 检测法测定浙贝母中贝母素甲和贝母素乙的含量,并与《中华人民共和国药典》方法进行了对比差异分析,检测结果与药典方法结果相吻合,且进一步提高了重现性及响应因子的一致性。Zhen 等^[13]建立了非衍生化的浙贝母中异甾体生物碱的 HPLC-CAD 含量测定方法,并与 ELSD 检测结果进行比较,发现 CAD 灵敏度比 ELSD 高出 30 ~ 55 倍,可以检测到 ELSD 无法检测的低水平杂质。

3.1.3 萜类化合物的分析应用 萜类化合物多为异戊二烯衍生物,广泛存在于自然界中,其中银杏叶萜类内酯紫外吸收较弱且在银杏叶中含量很低,难

以实现准确测定^[14]。刘丽娜等^[15]采用 CAD 检测器对银杏叶提取物中白果内酯、银杏内酯 A、银杏内酯 B 和银杏内酯 C 共 4 个萜类内酯的含量进行测定,并将该检测结果与《中华人民共和国药典》采用的 ELSD 检测结果进行对比,结果显示 CAD 对这 4 种萜类内酯的检测灵敏度及响应一致性均优于 ELSD 检测器。

3.1.4 黄酮及有机酸类化合物的分析应用 黄酮及有机酸类化合物也广泛存在于中药材或中成药中,虽有紫外吸收,但各成分最大吸收波长各异,常规的 HPLC-UV 法难以实现 5 种以上多指标成分的同时测定。Cheng 等^[16]采用 HPLC-DAD-CAD 法同时定量分析高良姜中的 4 种黄酮类成分及 4 种二芳基庚烷类成分,DAD 及 CAD 中各成分的检测限 (LOD) 分别为 0.03 ~ 1.58 及 0.58 ~ 0.79 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,定量限 (LOQ) 分别为 0.10 ~ 5.28 及 1.94 ~ 2.64 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,可见各成分在 CAD 中具有更好响应一致性。方灵芝等^[17]首次建立了 HPLC-CAD 法同时测定中药复方制剂小儿解感片中芦丁等 7 种黄酮类成分的含量,检测限可达 0.05 ~ 0.07 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,加样回收率均为 97.0% ~ 100.0%,为该品种的多成分质量控制提供了有效的分析手段。候爱荣等^[18-19]也相继采用 CAD 检测器实现了经典中成药二陈丸及风湿定片中柚皮苷、甘草酸等多种黄酮类及有机酸类成分的同时测定,填补了该品种多成分质量控制的空缺,为其质量标准规范化研究提供了依据。

3.2 化学药物的分析应用

药品质量事关生命健康,各国药典都在不断地提高质量标准和分析方法的适用性,以期符合 ICH 指导原则和大众期望,CAD 检测器作为一种高灵敏度和通用性的检测技术也获得了更多的青睐,如琥珀酸美托洛尔的 CAD 分析方法已被美国药典 (USP 43)^[20] 收载,钆布醇一水合物的 CAD 分析方法已被欧洲药典 (EP 10.6)^[21] 收载,《中华人民共和国药典》2020 年版四部^[22] 也将 CAD 检测器收录其中。化学药物的质量控制、清洁验证及新药研发等均面临基质干扰、样品前处理操作复杂或检测通量低等问题,而 CAD 检测器的响应值与待测物的结构无关,无需复杂的衍生操作,可直接通过外标法进行检测。近年来,CAD 检测器在化学药物的含量、有关物质、离子杂质、对映体比例等方面均取得了良好的应用效果。

3.2.1 含量测定的分析应用 马度米星铵是一种单价糖苷聚醚离子载体抗球虫类抗生素,因其无紫外吸收,也不产生荧光,通常需要进行复杂的衍生化后采用 UV 或 FLD,或采用 ELSD 进行检测。李慧素等^[23]建立了 HPLC-CAD 法测定了马度米星铵的含量,并将该法与 ELSD 检测效果进行比较,见表 2。结果表明,CAD 法具有更好的精密度、灵敏度及稳定性。阿卡波糖为 2 型糖尿病的常用治疗药物,现行《中华人民共和国药典》2020 年版^[24] 中收载的 HPLC-UV-氨基色谱柱检测方法存在灵敏度低、柱流失大及耐用性差等问题^[25],鉴于此,赵慧^[25]采用 CAD 检测器建立了阿卡波糖胶囊的含量测定方法,多批次样品检测结果均为 98.6% ~ 100.4%,经 *t* 检验统计分析, $P > 0.05$,表明 HPLC-CAD 法与药典方法无显著性差异。

表 2 马度米星铵 CAD 法与 ELSD 法含量测定结果比较^[27]

检测器	峰面积 精密度 (RSD)/%	保留时间 精密度 (RSD)/%	3 h 峰面积 稳定性	检测限 /ng·mL ⁻¹
CAD	2.0	0.3	2.7	20 (S/N = 6.9)
ELSD	3.0	0.6	16.2	30 (S/N = 4.3)

3.2.2 有关物质的分析应用 羟基脲为核糖核苷酸还原酶抑制剂类抗肿瘤药物,现行的药典标准和文献中均采用 HPLC-UV 检测羟基脲有关物质,并采用薄层色谱法 (TLC) 进行工艺杂质脲的检测。羟基脲极性大,色谱柱保留弱,仅在低波长段有紫外吸收,易受制剂辅料干扰,且薄层色谱法操作复杂,重现性差。基于此,李建伟等^[26]建立了 HPLC-CAD 测定羟基脲胶囊有关物质的方法,该方法优于现行药典标准,能将强极性无保留的羟基脲、脲和盐酸羟胺有效分离并同时测定,可以替换传统的 TLC 法检测杂质脲。托吡酯是一种具有多重作用机制的广谱抗癫痫药物,广泛应用于多种类型的癫痫或癫痫综合征的治疗^[27-29],该品种 USP 43^[30] 标准中有关物质项下采用 TLC 法及 HPLC-RID 法,共分为 3 个方法进行测定,单个杂质限度为 $\leq 0.10\%$,杂质总和限度为 $\leq 0.5\%$,该类方法的灵敏度及重复性均存在不足;EP 10.0^[31] 标准中有关物质采用 HPLC-CAD 法进行测定,杂质总和限度收严为 $\leq 0.2\%$,相较于 TLC 法及 HPLC-RID 法,HPLC-CAD 法更值得推广。贝派

地酸是一种新型口服降脂药物,对于高胆固醇血症等具有良好的有效性及耐受性,于2020年被美国FDA批准上市^[32],美国艾斯柏伦公司申请的《贝派地酸的盐形式及其使用方法》发明专利^[33]中也收录了该品种的HPLC-CAD杂质测定方法,基于Waters XBridge BEH C₁₈色谱柱及甲酸水-乙腈流动相体系,主峰保留时间约15 min可得到良好的检测效果。

3.2.3 阴阳对离子的分析应用 临床医疗中多数药物是以药物分子的盐形式给药,其可以改善活性药物成分(API)的生物和理化性质(如水溶性、化学稳定性等),常见的药物对离子包括:氯、钠、钾、硫酸根、磷酸根、马来酸盐、柠檬酸盐等。常规检测时,需要结合采用几种不同的方法才能实现API及其多种对离子的准确测定,而CAD检测器能够实现API及其多种无机、有机对离子的同时、快速、灵敏分析。步玉如等^[34]建立了一种混合模式色谱柱(AcclaimTrinity P2柱)联用CAD检测器测定阿仑膦酸钠中磷酸根、亚磷酸根及4-氨基丁酸根离子的方法,与离子交换树脂结合示差检测器或抑制性电导检测器法的各国药典标准方法相比,该方法操作简便且重复性好,为其他双膦酸盐类物质的质量控制提供参考。

3.2.4 对映体比例的分析应用 ELSD同样作为通用型检测器,也曾用于手性拆分、对映体纯度检测等,但是由于ELSD线性范围窄,易造成对映比计算失真。Peter等^[35]采用UV,ELSD和CAD测定了3种烷基二茂锆醛亚胺结构的手性化合物手性比例值(Er值),其中CAD和UV的检测结果一致且接近理论值,而ELSD检测结果差异较大。因此,CAD检测器由于其准确度高、操作简便,尤其当待测物紫外吸收弱的情况下,非常适用于对映体比例或纯度的检测。

3.3 糖类物质的分析应用

糖类物质及其代谢产物多为无紫外吸收,目前常用的检测器为ELSD以及RID,但ELSD线性及方法耐用性不足、RID灵敏度较低且易受干扰。Ghosh等^[36]采用HPLC-CAD技术建立了多糖分析的质控平台,应用HILIC色谱柱梯度洗脱将糖醛酸、氨基糖和中性单糖实现有效分离,其中D-葡萄糖醛酸、D-半乳糖胺、L-艾杜糖醛酸等11种物质的标准曲线具有良好的线性($r > 0.999$),LOQ及LOD分别为170~278及50~83 ng·mL⁻¹,结果表明HPLC-CAD是无需复杂衍生化即可直接对复杂碳水化合物进行单糖

分析的有效手段。

3.4 生化药物的分析应用

多肽和蛋白质通常通过偶联化学基团达到增强生物利用度或稳定性等目的,PEG化修饰是其中一种化学修饰方法,修饰过程中产生的游离PEG,PEG化中间产物和终产物PEG化多肽等需要进行质量监控。Smith等^[37]采用HPLC-CAD结合MabPac RP色谱柱建立了快速分离检测游离PEG和PEG化试剂、裸多肽、PEG化多肽的方法,其中胰岛素等检测限为纳克级,保留时间及峰面积RSD均 $< 2\%$,无需复杂的样品前处理过程,方法简单、高效。此外,CAD检测器在脂类及氨基酸分析领域也有良好的应用,Nair等^[38]采用CAD检测器对伊曲康唑混悬液中鸡蛋卵磷脂的5种水解产物进行测定,并与ELSD检测结果对比,5种磷脂水解产物在15 min内出峰,均可基线分离,CAD的响应信号为ELSD的4倍以上,且具有更好的精密性及重复性,尤其在低浓度下CAD的线性范围也比ELSD宽;Satoshi等^[39]建立了HPLC-CAD法对未经过衍生化的毫摩尔级氨基酸进行检测,实现对19种氨基酸与牛磺酸的分析,大多数的氨基酸和牛磺酸的线性范围在0.1~1.6 nmol·L⁻¹,精密性及重复性RSD均 $< 5\%$ 。

3.5 药用辅料及表面活性剂的分析应用

作为健康生活方式的一部分,天然甜味剂,尤其是热量值低且适合糖尿病患者的天然甜味剂的市场需求量很大,其质量控制也同样重要,Marcela等^[40]建立了一种快速梯度UPLC结合CAD检测器测定商业甜味剂及甜糖菊提取物中的甜糖菊苷,采用Luna Omega极性色谱柱,流速为0.35 mL·min⁻¹,总运行时间7 min,甜糖菊苷的LOQ及LOD分别为0.5及0.15 μg·mL⁻¹,日内精密性RSD $< 2\%$ 。氨丁三醇常作为非钠的氨基缓冲碱药用辅料,基于其缺乏紫外发色团及高亲水性,Taslyne等^[41]采用HPLC-CAD法结合HILIC色谱柱实现注射液中氨丁三醇的定量测定,并考察流速、CAD蒸发温度及速率对信号响应的影响,氨丁三醇在170~520 μg·mL⁻¹范围内线性关系良好($r > 0.997$),LOD为1.1 μg·mL⁻¹,日内及日间精密性RSD $< 3\%$ 。成晓静等^[42]采用HPLC-CAD法测定直链烷基磺酸的相对分子量,基于CAD检测器的响应信号一致性开发出检测直链烷基磺酸钠的方法,相比于ELSD或气相色谱法具有更高的精密性与准确度,该法为表面活性剂工业生产的产品质量控制提供技术支撑。

4 展望

杂质研究是化学药物分析的一项重要内容,杂质可能来源于原辅料或由药物降解而来,因结构的未知性而常缺乏对照品,采用 CAD 检测器进行杂质的寻找、半定量及定量均具有一定优势。指纹图谱技术是中药整体质量控制的一种常用手段,基于 CAD 响应一致性的特点,指纹图谱中各色谱峰的响应值与含量呈现良好的正相关,HPLC-CAD 技术可认为是目前中药半定量指纹图谱研究效果最佳的技术方法。《中华人民共和国药典》2020 年版中多数化学药物杂质研究或中药活性成分测定均采用 ELSD 检测器,如依替米星类抗生素药物有关物质检测^[43]及中药马鞭草中齐墩果酸、熊果酸等三萜类活性成分检测^[44],原则上均可采用 CAD 检测器进行分析方法的改进,将会获得更好的检测灵敏度及准确性^[45]。CAD 还可直接用于检测氨基酸、糖、脂类、表面活性剂等,现 CAD 已收录进入《中华人民共和国药典》2020 年版,适用于非挥发或半挥发性物质的高灵敏度检测和药物全面表征。辅料分析的复杂性在于多数组分不易通过传统的 UV 检测器进行分析,如脂类、脂肪酸以及吐温等缺乏紫外生色基团,而 CAD 检测器因其一系列的检测优势必将成为新型冠状病毒核酸疫苗等辅料研究的首选。

CAD 作为一种质量敏感型通用检测器,除可用于无紫外吸收的物质检测外,由于其线性范围宽、灵敏度高、精密度和稳定性好等特点,近年来广泛地被作为 HPLC 检测器使用。CAD 检测器在药物分析新领域的应用还需要进行更深入研究及不断扩展,并通过改进方法规避其局限性,使药物分析方法更加绿色科学,有效成分更加明确,质量控制更加规范。

[参 考 文 献]

- [1] 王丽颖,唐磊,赵学尧,等. 中医药标准化研究的现状分析[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(6): 2650-2651.
- [2] KLAUS S, ULRIKE H. Recent applications of the Charged Aerosol Detector for liquid chromatography in drug quality control[J]. *J Chromatography A*, 2020, 1619:460911.
- [3] 袁明昊,魏蔼玲,刘红梅,等. 电雾式检测器在中药分析中的应用[J]. 中成药, 2021, 43(7):1852-1857.
- [4] AZEEM HA, PAUL H. Charged aerosol detection for liquid chromatography and related separation techniques[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2018, 410(11): 2663-2664.
- [5] AHMAD IAH, BLASKO A, TAM J, et al. Revealing the inner workings of the power function algorithm in charged aerosol detection; a simple and effective approach to optimizing power function value for quantitative analysis[J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1603:1-7.
- [6] 孙亚灵,赵恂,张玫,等. 蔗糖及其有关物质含量的 HPLC-CAD 分析研究[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(4):588-594.
- [7] VEHOVEC T, OBREZA A. Review of operating principle and applications of the charged aerosol detector[J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(10): 1549-1556.
- [8] MARQUEZ SI, CARDENAS S, VALCARCEL M. Comparison of two evaporative universal detectors for the determination of sugars in food samples by liquid chromatography[J]. *Microchem J*, 2013, 110: 629-635.
- [9] 冯鑫,程睿,王珮玥,等. 电喷雾检测器、蒸发光散射检测器与示差折光检测器测定食品中 5 种糖成分的方法比较[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(4): 1513-1518.
- [10] 南易,郑伟,马凤霞,等. HPLC-CAD 同时测定知母中芒果苷和知母皂苷 B II 的含量[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(1): 111-116.
- [11] 王丽娜,许柑,贾天柱. HPLC-CAD 法测定不同产地柴胡药材中柴胡皂苷[J]. 中成药, 2018, 40(4): 976-979.
- [12] 廖强,陈勇. ASE-CAD 结合柱后补偿液相色谱法测定浙贝母中贝母素甲和贝母素乙[J]. 中国民族民间医药, 2019, 28(3): 43-45; 69.
- [13] ZHEN L, ZHIMOU G, IAN N A, et al. A non-derivative method for the quantitative analysis of isosteroidal alkaloids from *Fritillaria* by high performance liquid chromatography combined with charged aerosol detection[J]. *Talanta*, 2016, 151: 239-244.
- [14] 白钢钢,袁斐,叶慧,等. HPLC-CAD 法测定 4 种银杏叶制剂中萜类内酯类成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(6): 1102-1107.
- [15] 刘丽娜,金红宇,潘媛媛,等. 高效液相色谱-电雾式检测器法测定银杏叶提取物中萜类内酯含量[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(7): 1269-1274.
- [16] CHENG W, INCHENG C, YOU Q, et al. Comparison for quantification of eight components in *Alpinia officinarum* Hance by using high-performance liquid chromatography coupled with diode array detector and charged aerosol detector with individual and substitute reference compound[J]. *J Pharm Bio Anal*, 2022, 210: 114545.
- [17] 方灵芝,吴雪松,张玥. 高效液相色谱-电雾式检测器法同时测定小儿解感片中 7 种黄酮类成分的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(23): 2402-2406.
- [18] 候爱荣,邢晔忠,吴雪松. HPLC-CAD 法同时测定二陈丸中 7 个活性成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(4): 662-668.
- [19] 候爱荣,邢晔忠,吴雪松. HPLC-CAD 法同时测定风湿定片中 7 种活性成分的含量[J]. 中国药房, 2018, 29(23): 3212-3216.
- [20] USP43-NF38[S]. 2020: 2917.
- [21] EP 10.4[S]. 2021: 5485-5486.
- [22] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 2020 年版. 四部. 北京:中国医药科技出版社, 2020: 61.
- [23] 李慧素,吴宁鹏,彭丽,等. HPLC-CAD 法测定马度米星铵的含量[C]. 成都:中国畜牧兽医学动物药品学分会第五届全国会员代表大会暨 2016 年学术年会, 2016.
- [24] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 2020 年版. 二部. 北京:中国医药科技出版社, 2020: 660.
- [25] 赵慧. HPLC-CAD 法测定阿卡波糖胶囊含量[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(5): 910-915.
- [26] 李建伟,汪敏,杨伟秋,等. HPLC-CAD 测定羟基豚胶囊含量及有关物质[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(20): 2568-2571.
- [27] SONG JM, HAHN J, KIM SH, et al. Efficacy of treatments for infantile spasms; a systematic review[J]. *Clin Neuropharmacol*, 2017, 40(2): 63-84.
- [28] KNUPP KG, WIRRELL EC. Treatment Strategies for Dravet Syndrome[J]. *CNS Drugs*, 2018, 32(4): 335-350.
- [29] MONTOURIS G, ABOUMATAR S, BURDETTE D, et al. Expert opinion: proposed diagnostic and treatment algorithms for Lennox-Gastaut syndrome in adult patients[J]. *Epilepsy Behav*,

- 2020, 110; 107146.
- [30] USP43-NF38[S]. 2020; 4429.
- [31] EP 10.0[S]. 2020; 4071 - 4073.
- [32] POWELL J, PISZCZATOSKI C. Bempedoic acid; a new tool in the battle against hyperlipidemia[J]. *Clin Ther*, 2021, 43(2): 410 - 420.
- [33] COPP R, ABDELNASSER M, CIMARUSTI CM. Salt Forms of Bempedoic acid and methods for using the same: USA, 202080003148.4[P]. 2021 - 03 - 02.
- [34] 步玉如, 顾王文, 熊亮, 等. 混合模式色谱柱全水相测定阿仑膦酸钠片的含量和有关物质[J]. *中国现代应用药学*, 2021, 38(8): 977 - 984.
- [35] PETER W, STEFAN W, LESLIE A. HPLC Determinations of Enantiomeric Ratios[J]. *Chirality*, 2007, 19;5 - 9.
- [36] GHOSH R, KLINE P. HPLC With charged aerosol detector (CAD) as a quality control platform for analysis of carbohydrate polymers [J]. *BMC Res Notes*, 2019, 12(1): 268.
- [37] SMITH MC, CLOGSTON JD. PEG Quantitation using reversed-phase high-performance liquid chromatography and charged aerosol detection[J]. *Methods Molecular Biol*, 2018, 1682; 49 - 55.
- [38] NAIR LM, WERLING JO. Aerosol based detectors for the investigation of phospholipid hydrolysis in a pharmaceutical suspension formulation[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 49(1): 95 - 99.
- [39] SATOSHI F, OGAWA NO, YOSHINORI T, *et al.* Quantitative analysis of underivatized amino acids in the sub-to several-nanomolar range by ion-pair HPLC using a corona-charged aerosol detector(HPLC-CAD)[J]. *J Chromatogr B*, 2018, 1095; 191 - 197.
- [40] MARCELA H, DALIBOR S, FRANTISEK S, *et al.* UHPLC coupled with charged aerosol detector for rapid separation of steviol glycosides in commercial sweeteners and extract of *Stevia rebaudiana*[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2022, 207; 114398.
- [41] TASLYNE IHB, BALTHAZAR T, BESTELLE S, *et al.* Investigation of hydrophilic interaction liquid chromatography coupled with charged aerosol detector for the analysis of tromethamine [J]. *Talanta*, 2022, 238; 123050.
- [42] 成晓静, 姚晨之, 严方. HPLC-CAD 测定直链烷基苯磺酸钠的平均相对分子质量[J]. *印染助剂*, 2017, 34(6): 52 - 55.
- [43] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 2020 年版. 二部. 北京:中国医药科技出版社,2020; 1598 - 1600.
- [44] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 2020 年版. 一部. 北京:中国医药科技出版社,2020; 53 - 54.
- [45] 刘照振, 李珉, 侯金凤, 等. 硫酸依替米星注射液中有物质测定方法的比较[J]. *中国药学杂志*, 2017, 52(20): 1795 - 1800.

编辑:刘卓越/接受日期:2022 - 07 - 18