

# 采用 ISET 的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统 — 通过 Waters Empower 软件模拟 Waters Alliance 2695 液相色谱系统

扑热息痛及其杂质的分析

## 应用简报

小分子制药

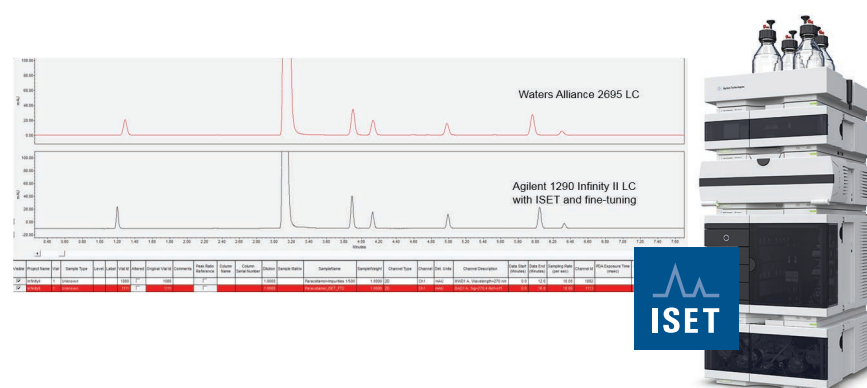
### 作者

Melanie Metzloff  
安捷伦科技有限公司  
Waldbronn, Germany

### 摘要

仪器间方法转换对多种行业的许多实验室来说都是充满挑战性的问题。难点在于不仅要在考虑各仪器性能的同时维持保留时间不变，而且还要在仪器间方法转换时不损失分离度。安捷伦智能系统模拟技术 (ISET) 能够实现从延迟体积较高且混合行为不同的液相色谱系统向 Agilent 1290 Infinity 和 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统的无缝方法转换。

本应用简报介绍液相色谱方法从 Waters Alliance 2695 液相色谱系统向启用/未启用 ISET 的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统的轻松转换，同时通过 Waters Empower 软件进行控制。采用上述两种系统对扑热息痛及其杂质进行分析，并分别将保留时间与分离度进行对比。



Agilent Technologies

前言

仪器间方法转换对多数行业来说非常重要，但通常也非常棘手。尤其在严格监管的环境下，分析物的保留时间和色谱分离度变化使得经过验证的已有方法转换非常困难且费用高昂<sup>1</sup>。偶尔，还需要将旧设备更换为新设备。

安捷伦智能系统模拟技术 (ISET) 与 Agilent 1290 Infinity/Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统相结合可模拟 Waters Alliance 2695 液相色谱系统等旧款非安捷伦仪器。ISET 会考虑高延迟体积与不同梯度混合行为的影响，并使安捷伦系统与老款非安捷伦系统的保留时间一致。

本应用简报首先采用 Waters Alliance 2695 液相色谱系统对扑热息痛及其杂质进行分析，然后将方法转换到配备有 Agilent 1290 Infinity II 全能泵的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统中。通过启用/禁用 ISET 来评估 UHPLC 系统的方法转换效果，并与 Waters Alliance 2965 液相色谱系统得到的数据结果进行比较。结果表明，启用 ISET 时保留时间相关性与分离度均非常出色。

实验部分

仪器

采用以下仪器对扑热息痛及其杂质进行分析。

Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统：

- Agilent 1290 Infinity II 全能泵 (G7104A)
- Agilent 1290 Infinity II Multisampler (G7167B)
- Agilent 1290 Infinity II 大容量柱温箱 (G7116B)
- Agilent 1290 Infinity II 二极管阵列检测器 (G7117B)，配备 10 mm 最大光强卡套式流通池

具有双波长吸收检测器 VWD 2487 的 Waters Alliance 2695

溶剂和样品

所有试剂均为液相色谱级。新制超纯水产自配置 0.22 µm 膜式终端过滤器 (Millipak) 的 Milli-Q Integral 水纯化系统。

实验中采用以下各化合物的混合物：

主成分

扑热息痛 (5 mg/mL)

杂质 A

2-乙酰氨基酚 (10 µg/mL)

杂质 B

N-(4-羟基苯基)丙酰胺 (10 µg/mL)

杂质 F

硝基苯酚 (10 µg/mL)

杂质 H

4-(乙酰氨基)乙酸苯酯(N,O-二乙酰-4-氨基酚) (10 µg/mL)

杂质 J

对氯乙酰苯胺 (10 µg/mL)

杂质 K

4-氨基苯酚 (10 µg/mL)

色谱柱

Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 柱，4.6 × 100 mm, 3.5 µm (部件号 959961-902)

方法

表 1. 扑热息痛及其杂质的色谱分析条件

参数	值
流动相	A) 0.1% 三氟乙酸的水溶液 B) 0.09% 三氟乙酸的乙腈溶液
梯度	0 min 时 B 为 5% 0.5 min 时 B 为 5% 8 min 时 B 为 70% 8.5 min 时 B 为 5% 16 min 时 B 为 5%
流速	1.2 mL/min
进样量	3 µL (采用标准注射针清洗)
柱温	30 °C
检测器	270/4 nm 参比波长关，10 Hz

软件

- Waters Empower 3 (build 3471), 用于控制 Waters Alliance 2695
- Waters Empower 3 (build 3471) 采用 Waters ICS 2.1 Hotfix 1 版和 Agilent ICF A.02.03 DU1 HF2 版共同控制 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统

结果与讨论

为展示能够轻松实现从 Waters Alliance 2695 液相色谱系统到 1290 Infinity II 液相色谱系统的无缝方法转换, 本研究对扑热息痛及其杂质进行了分析并对其保留时间和分离度进行了评估。

首先在 Waters Alliance 2695 液相色谱系统中使用方法并将其转换至未采用 ISET 的 1290 Infinity II 液相色谱系统中。图 1 显示

上述两系统分析得到的色谱图。通过比较两幅色谱图可以发现, 1290 Infinity II 液相色谱系统因较低的系统延迟体积而使所有峰均更早得到洗脱。

如需补偿两系统的延迟体积与梯度混合行为的差异, 仅需单击泵方法选项卡启用 ISET 功能。启用 ISET 后, 泵状态面板中将出现橙色图标, 如图 2 所示。

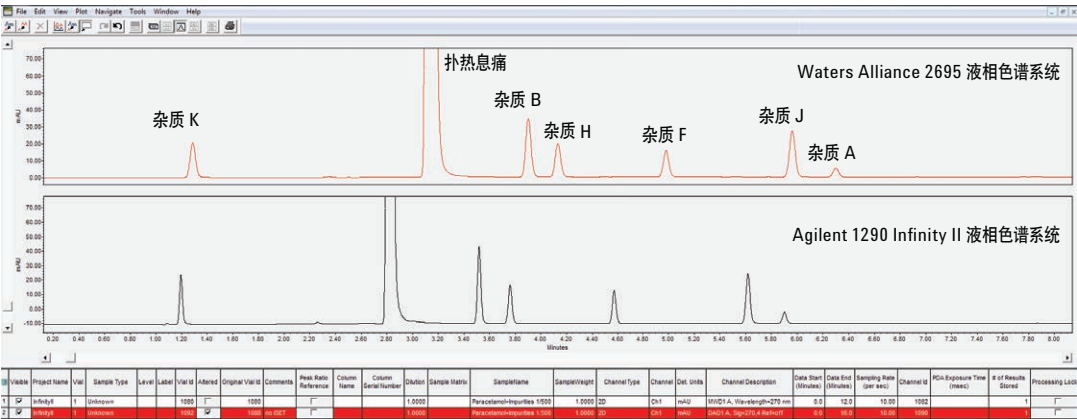


图 1. Waters Alliance 2695 和未启用 ISET 的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统对扑热息痛及其杂质的色谱分析结果比较

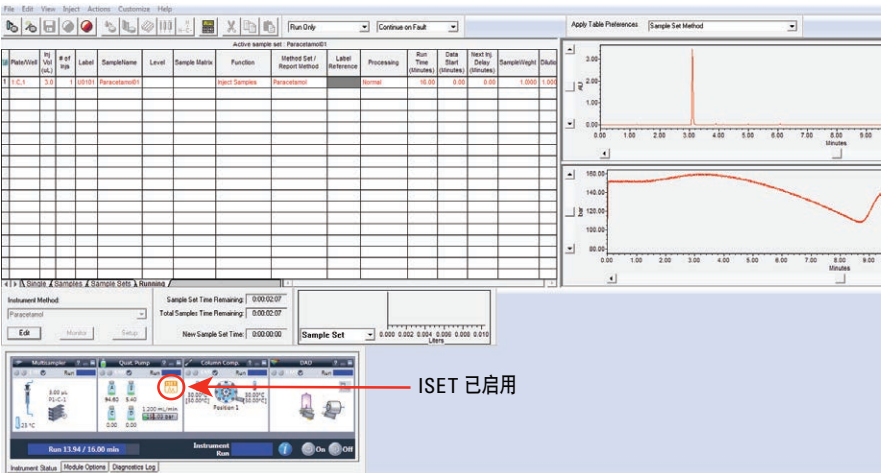


图 2. 在 Empower 3 和 ICF 下启用 ISET 后的安捷伦仪器状态界面示例

启用 ISET 可明显推迟 1290 Infinity II 液相色谱系统的保留时间，使其与 Waters Alliance 2695 液相色谱系统结果具有更好的一致性（图 3，蓝色迹线）。而采用具备微调选项的 ISET 获得的结果则与原色谱图

具有最佳相关性（图 3，黑色迹线）。用户可通过微调选项调节滞后体积从而进一步改善模拟效果<sup>2</sup>。本应用简报在 ISET 参数界面中额外增加了 100 µL 的延迟体积（图 4）。

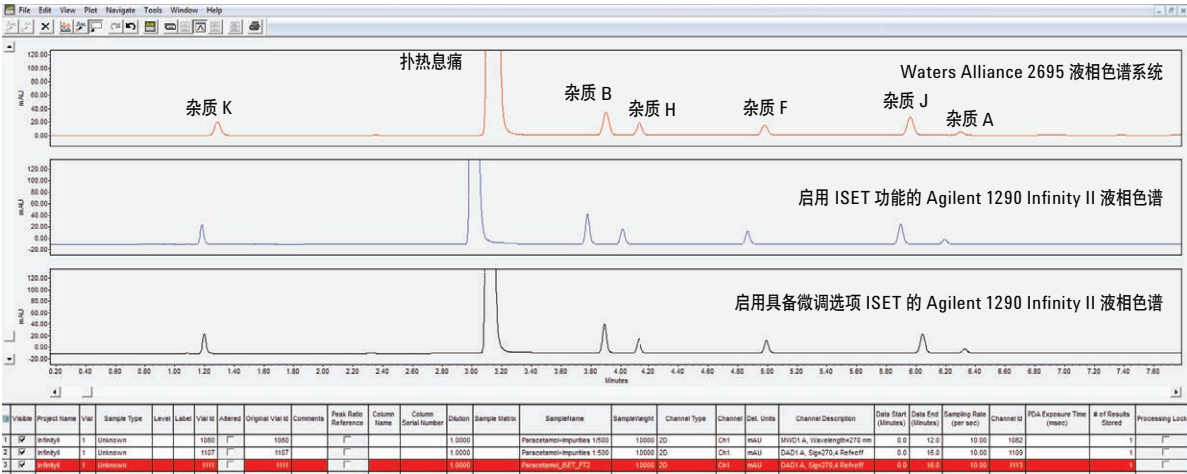


图 3. Waters Alliance 2695 液相色谱系统、启用 ISET 的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统以及启用具备微调选项 ISET 的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统对扑热息痛及其杂质的色谱分析结果比较

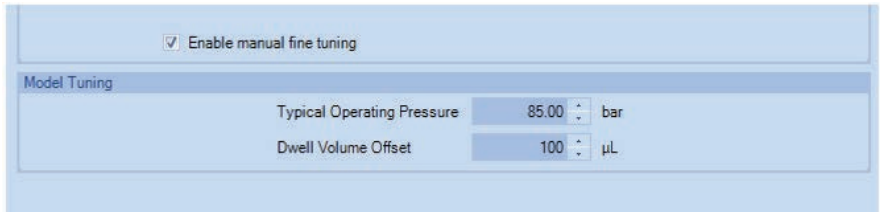


图 4. ISET 界面中的微调参数

使用设置不同的 1290 Infinity II 液相色谱系统得到的数据与 Waters Alliance 2695 液相色谱系统采集的原始数据之间保留时间偏差的详细对比如图 5 所示。ISET 的保留时间偏差指标范围为  $\pm 5\%$  ( $RT > 6 \text{ min}$  时), 或  $\pm 0.3 \text{ min}$  ( $RT \leq 6 \text{ min}$  时)<sup>2</sup>。向未采用 ISET 的 UHPLC 系统进行方法转换后得出的多数色谱峰不符合上述指标要求。而启用 ISET 后, 所有峰偏差均处于  $\pm 0.3 \text{ min}$  或  $\pm 5\%$  的指标要求范围内。使用具备微调选项的 ISET 可对 RT 偏差进行进一步优化。优化后所有峰的偏差均小于  $0.1 \text{ min}$  或  $2\%$ 。

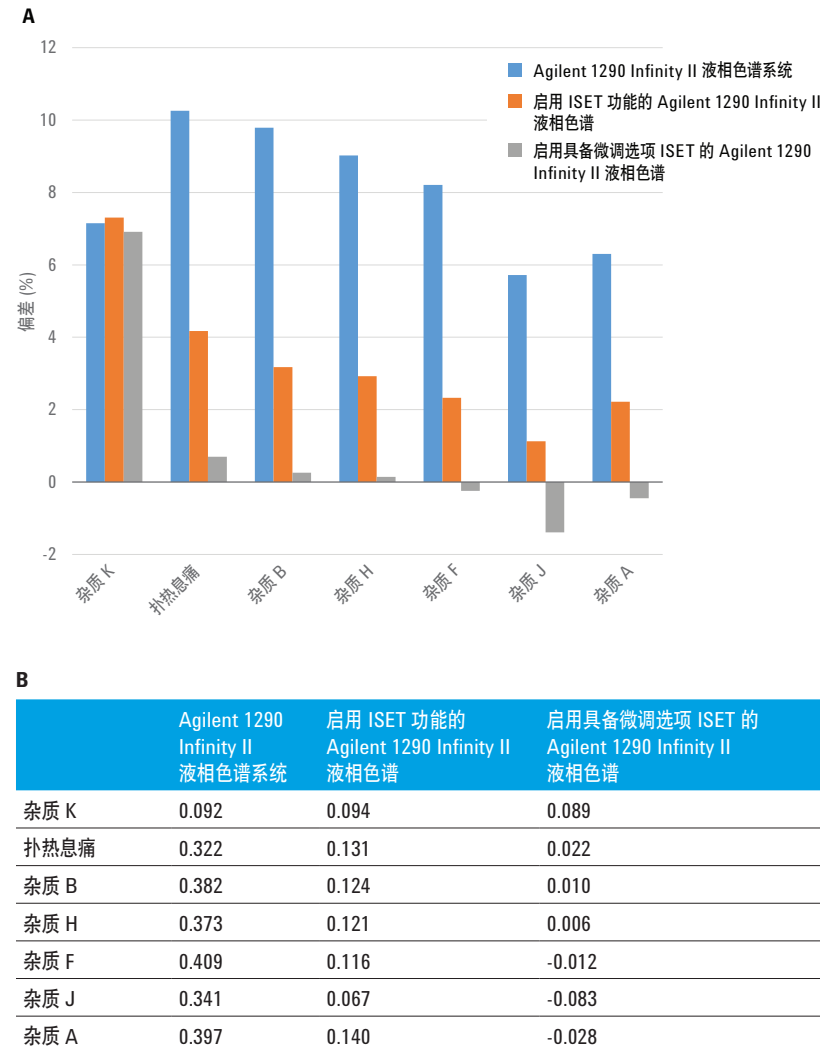


图 5. Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统不同配置的保留时间偏差。A) 保留时间偏差 (%) B) 保留时间偏差 (min)

方法转换评估时需要考虑的另一项重要色谱参数是峰分离度。指定的分离度最大允许损失为 5%<sup>3</sup>。图 6 汇总了不同 1290 Infinity II 液相色谱系统设置下的分离度偏差。将方法转换至 UHPLC 系统后，所有峰的分离度均有显著提升。

结论

安捷伦智能系统模拟技术 (ISET) 可将现有方法从传统 HPLC 系统无缝转换至 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统等 UHPLC 系统中。采用 ISET 后的 1290 Infinity II 液相色谱系统能够模拟原 HPLC 系统并获得与原数据集相近的保留时间。ISET 功能仅通过单击即可启用，无需更改液相色谱系统硬件或方法。

本应用简报将扑热息痛及其杂质分析方法从 Waters Alliance 2695 液相色谱系统转换至 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统中。通过启用具有微调选项的 ISET 使所有峰均均获得了良好的保留时间相关性，此外还提高了所有峰的分离度。

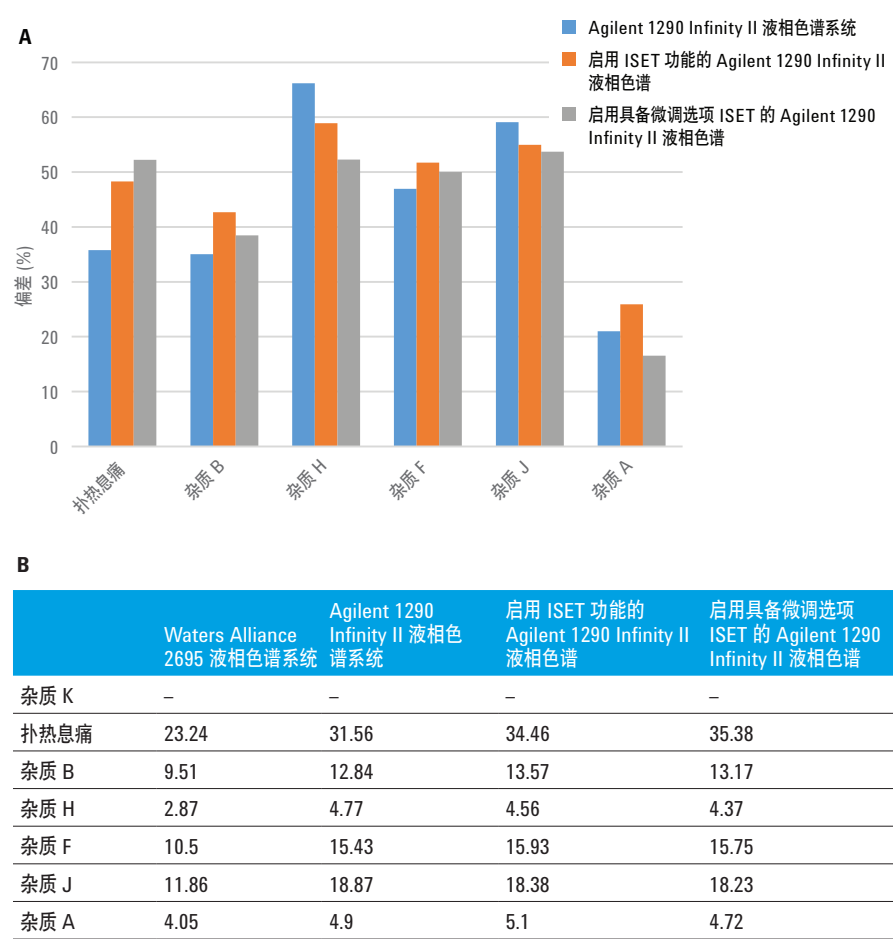


图 6. A) 分离度偏差百分比 B) Waters Alliance 2695 液相色谱系统和采用不同设置的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统的分离度

## 参考文献

1. Huesgen, A. G., Agilent 1290 Infinity Binary LC with ISET, emulation of the Waters Alliance 2695 LC system analyzing aromatic acids (采用 ISET 的 Agilent 1290 Infinity 二元液相色谱模拟 Waters Alliance 2695 液相色谱系统分析芳香酸), *安捷伦科技公司应用简报*, 出版号 5991-2019EN, **2013**
2. 采用 ISET 的 Agilent 1290 Infinity, *安捷伦用户手册*, 部件号 G4220-90313, **2014**
3. Huesgen, A. G., Agilent 1290 Infinity Binary LC with ISET – Emulation of the Waters Alliance 2695 LC System Analyzing Analgesics (采用 ISET 的 Agilent 1290 Infinity 二元液相色谱 — 模拟 Waters Alliance 2695 液相色谱系统分析镇痛药), *安捷伦科技公司应用简报*, 出版号 5991-2792EN, **2013**

查找当地的安捷伦客户中心：

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

免费专线：

**800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)**

联系我们：

**[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)**

在线询价：

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

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

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2015  
2015 年 11 月 1 日，中国出版  
5991-6408CHCN



**Agilent Technologies**