



从 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪到 Agilent 1260 Infinity II 液相色谱仪的方法转移

三环抗抑郁药物分析的等效性证明

应用简报

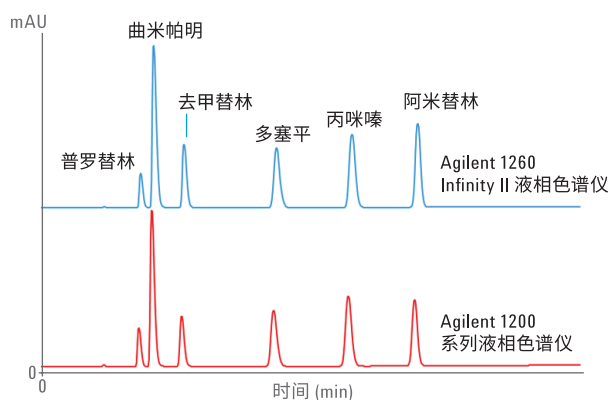
小分子药物

作者

Sonja Krieger
安捷伦科技公司
Waldbronn, Germany

摘要

仪器间的方法转移对制药及其他行业的实验室而言都是一项重要课题。本应用简报展示了三环抗抑郁药物的常规液相色谱分析方法从 Agilent 1200 系列液相色谱仪到 Agilent 1260 Infinity II 液相色谱仪的无缝转移。



Agilent Technologies

前言

三环抗抑郁药物 (TCA) 是具有药理活性的化合物，因其化学结构中含有三个环而得名，主要用作抗抑郁药^{1,2}。在 20 世纪 50 年代，最初合成 TCA 用作抗组胺药物 (H1 受体拮抗剂)^{1,2}。TCA 经口服后快速吸收²，并与多数抗抑郁药物相同，作为神经末梢血清素或去甲肾上腺素的再摄取抑制剂^{1,2}。这会使这些神经递质在突触中的浓度增加¹。

方法转移对 QA/QC 实验室、临床研究或其他行业而言十分重要，例如，用 Agilent 1260 Infinity II 液相色谱仪（一款适用于日常分析的可靠、稳定且高效的液相色谱系统）等新型液相色谱仪替代旧款液相色谱仪时需要进行方法转移。本应用简报展示了三环抗抑郁药物的常规液相色谱分析方法从 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪到 Agilent 1260 Infinity II 液相色谱仪的无缝转移。

实验部分

仪器

Agilent 1260 Infinity II 液相色谱系统包括以下模块：

- Agilent 1260 Infinity II 四元泵 (G7111B)
- Agilent 1260 Infinity II 样品瓶进样器 (G7129A)，配有集成式柱温箱、3.0 µL 加热器（选件 #063）和样品冷却装置（选件 #100）
- Agilent 1260 Infinity II 可变波长检测器 (G7114A)，配有标准流通池 (G1314-60186)

Agilent 1200 系列四元液相色谱系统包括以下模块：

- Agilent 1200 系列四元泵 (G1311A)
- Agilent 1260 Infinity 高性能脱气机 (G4225A)
- Agilent 1200 系列自动进样器 (G1329A)，配有 Agilent 1200 系列柱温箱 (G1330B)
- Agilent 1200 系列柱温箱 (G1316A)
- Agilent 1200 系列可变波长检测器 SL (G1314C)，配有标准流通池 (G1314-60186)

软件

Agilent OpenLAB CDS 2.1 版（计划于 2016 年 9 月推出）

色谱柱

Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6 × 150 mm, 5 µm（部件号 959993-902）

化学品

所有试剂均为液相色谱级。甲醇购自 Merck 公司 (Darmstadt, Germany)。新制超纯水来自配置 0.22 µm 膜式终端过滤器 (Millipak) 的 Milli-Q Integral 水纯化系统 (Millipak, EMD Millipore, Billerica, MA, USA)。碳酸氢铵、盐酸阿米替林、盐酸多塞平、盐酸丙咪嗪、盐酸去甲替林、盐酸普罗替林和盐酸曲米帕明购自 Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)。

样品

三环抗抑郁药物阿米替林、多塞平、丙咪嗪、去甲替林、普罗替林和曲米帕明的混合物以水/甲醇 (50/50; v/v) 配制，浓度为 50 µg/mL。

结果与讨论

图 1 和表 2 显示了 TCA 药物阿米替林、多塞平、丙咪嗪、去甲替林、普罗替林和曲米帕明在 1200 系列四元液相色谱仪上的常规液相色谱分析及相应的保留时间 (RT)、峰面积精度和分离度。

方法

表 1. 常规液相色谱分析的色谱条件

| 参数 | 描述 |
|-------|---|
| 色谱柱 | Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6 × 150 mm, 5 μm |
| 溶剂 | A) 10 mM 碳酸氢铵水溶液, pH 8 B) 甲醇 |
| 梯度 | 0 min 时 B 为 60%, 10 min 时 B 为 68%, 20 min 时 B 为 90% |
| 停止时间 | 20 min |
| 后运行时间 | 10 min |
| 流速 | 1.5 mL/min |
| 温度 | 40 °C |
| 进样量 | 10 μL |
| 检测条件 | 254 nm, 峰宽 > 0.05 min |

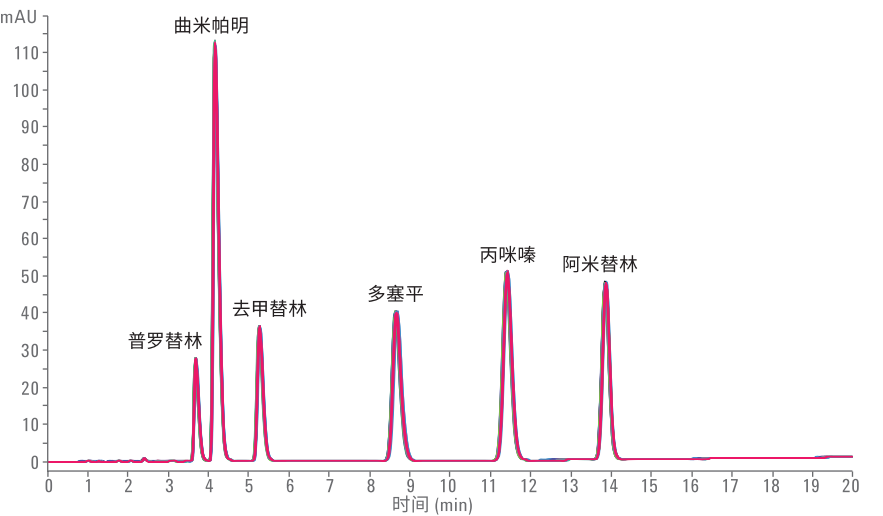


图 1. 三环抗抑郁药物在 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪上的常规液相色谱分析；10 次连续运行的叠加

表 2. 三环抗抑郁药物在 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪上的常规液相色谱分析；根据 10 次连续运行结果测定保留时间和峰面积精度

| 化合物 | RT (min) | RT RSD (%) | 峰面积 | 峰面积 RSD (%) | 分离度 |
|------|----------|------------|--------|-------------|------|
| 普罗替林 | 3.69 | 0.20 | 211.9 | 0.17 | — |
| 曲米帕明 | 4.16 | 0.19 | 1054.9 | 0.11 | 2.1 |
| 去甲替林 | 5.27 | 0.18 | 347.5 | 0.16 | 4.4 |
| 多塞平 | 8.66 | 0.19 | 553.4 | 0.18 | 11.0 |
| 丙咪嗪 | 11.41 | 0.11 | 728.4 | 0.13 | 7.4 |
| 阿米替林 | 13.86 | 0.09 | 580.9 | 0.10 | 6.9 |

TCA 的保留对溶剂中有机组分含量的细微改变非常敏感，如图 2 和表 3 所示。其中对采用原始梯度（表 1）以及多含和少含 2% 甲醇的梯度获得的 TCA 的保留时间进行了比较。

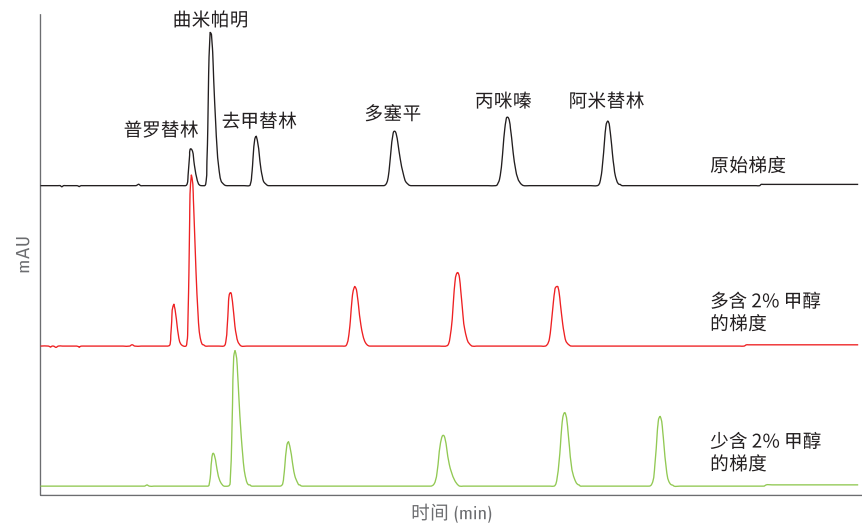


图 2. 三环抗抑郁药物在 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪上的常规液相色谱分析，使用原始梯度以及多含和少含 2% 甲醇的梯度

表 3. 三环抗抑郁药物在 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪上的常规液相色谱分析的保留时间比较，使用原始梯度以及多含和少含 2% 甲醇的梯度

| 化合物 | 原始保留时间 (min) | 多含 2% 甲醇得到的保留时间偏差 (%) | 少含 2% 甲醇得到的保留时间偏差 (%) |
|------|--------------|-----------------------|-----------------------|
| 普罗替林 | 3.69 | -11.2 | 14.8 |
| 曲米帕明 | 4.16 | -11.0 | 14.4 |
| 去甲替林 | 5.27 | -11.5 | 15.1 |
| 多塞平 | 8.66 | -11.0 | 13.7 |
| 丙咪嗪 | 11.41 | -10.5 | 12.3 |
| 阿米替林 | 13.86 | -8.9 | 9.3 |

将 TCA 的常规液相色谱分析方法在不作任何改变的情况下转移到 1260 Infinity II 液相色谱仪。所得的分离度、相应保留时间、峰面积精度以及分离度如图 3 和表 4 所示。采用 1260 Infinity II 液相色谱仪获得了优异的保留时间和峰面积精度。

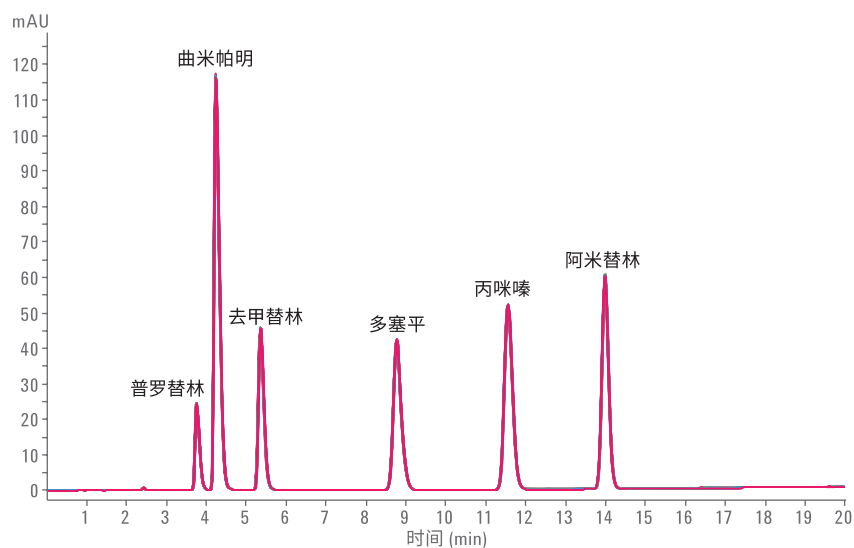


图 3. 三环抗抑郁药物在 Agilent 1260 Infinity II 液相色谱仪上的常规液相色谱分析；10 次连续运行的叠加

表 4. 三环抗抑郁药物在 Agilent 1260 Infinity II 液相色谱仪上的常规液相色谱分析；根据 10 次连续运行结果测定保留时间和峰面积精度

| 化合物 | RT (min) | RT RSD (%) | 峰面积 | 峰面积 RSD (%) | 分离度 |
|------|----------|------------|--------|-------------|------|
| 普罗替林 | 3.76 | 0.06 | 186.4 | 0.17 | — |
| 曲米帕明 | 4.24 | 0.06 | 1084.4 | 0.11 | 2.1 |
| 去甲替林 | 5.36 | 0.06 | 434.3 | 0.09 | 4.4 |
| 多塞平 | 8.77 | 0.03 | 587.6 | 0.09 | 11.1 |
| 丙咪嗪 | 11.56 | 0.03 | 740.7 | 0.07 | 7.5 |
| 阿米替林 | 13.99 | 0.02 | 713.7 | 0.05 | 7.0 |

图 4 和表 5 比较了三环抗抑郁药物在 1200 系列四元液相色谱仪和 1260 Infinity II 液相色谱仪上分析得到的保留时间。如上所示，TCA 的保留对溶剂中有机组分含量的细微改变非常敏感。即使对于这些化合物和条件，最大偏差仅 1.9%，观察到 1200 系列四元液相色谱仪和 1260 Infinity II 液相色谱仪的保留时间之间具有优异的一致性。这一结果表明能够将 TCA 的常规液相色谱分析方法从 1200 系列液相色谱仪无缝转移至 1260 Infinity II 液相色谱仪。

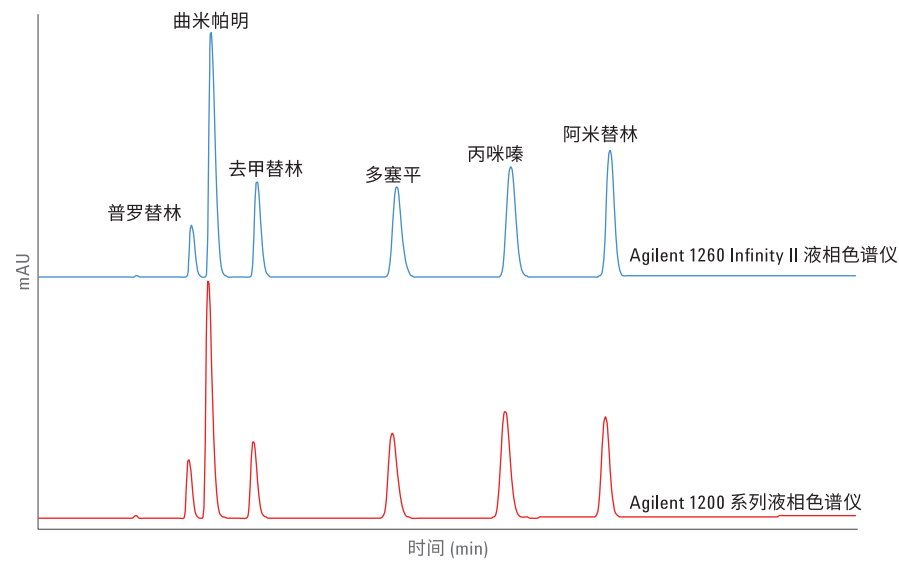


图 4. 三环抗抑郁药物在 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪和 Agilent 1260 Infinity II 液相色谱仪上的常规液相色谱分析

表 5. 三环抗抑郁药物在 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪和 Agilent 1260 Infinity II 液相色谱仪上的常规液相色谱分析；保留时间比较

| 化合物 | 保留时间偏差 (min) | 保留时间偏差 (%) |
|------|--------------|------------|
| 普罗替林 | 0.07 | 1.9 |
| 曲米帕明 | 0.07 | 1.8 |
| 去甲替林 | 0.09 | 1.7 |
| 多塞平 | 0.11 | 1.3 |
| 丙咪嗪 | 0.15 | 1.3 |
| 阿米替林 | 0.13 | 0.9 |

在本应用简报中，使用 Agilent OpenLAB CDS 2.1 版软件对 1200 系列四元液相色谱仪和 1260 Infinity II 液相色谱仪进行仪器控制及数据分析。此版本 OpenLAB CDS 提供了用于液相色谱、气相色谱和质谱的单个软件系统。它具有直观的用户界面，以及可采用拖放式模板创建的定制化交互式报告功能。图 5 显示了在 OpenLAB CDS 中进行数据分析的示例。数据分析中的 Peak Explorer 具有大型数据集一览表检查等功能。

Agilent InfinityLab 色谱柱和备件与 1260 Infinity II 液相色谱仪完美匹配，能够使液相色谱工作流程获得最高性能和效率。Agilent InfinityLab Poroshell 色谱柱与 1260 Infinity II 液相色谱仪高达 600 bar 的压力范围相结合，通过执行 UHPLC 分析能够节省时间和溶剂，同时还能保持甚至提高峰分离度。客户在订购 1260 Infinity II 液相色谱仪时，可选择不同 InfinityLab Poroshell 色谱柱随该系统一起发货。InfinityLab Quick Connect 快速连接接头（部件

号 5067-6166，带有 0.17 × 105 mm 毛细管的 Quick Connect 快速连接接头）和 InfinityLab Quick Turn 接头（部件号 5067-5966）能够实现免工具、快速且简单的色谱柱安装，确保每位用户均可实现完美色谱柱连接。将 1260 Infinity II 液相色谱仪安装到 InfinityLab Flex Bench 移动式仪器载架（部件号 5043-1252）上有利于高效利用实验室空间，并通过符合人体工程学的方式轻松操作仪器。

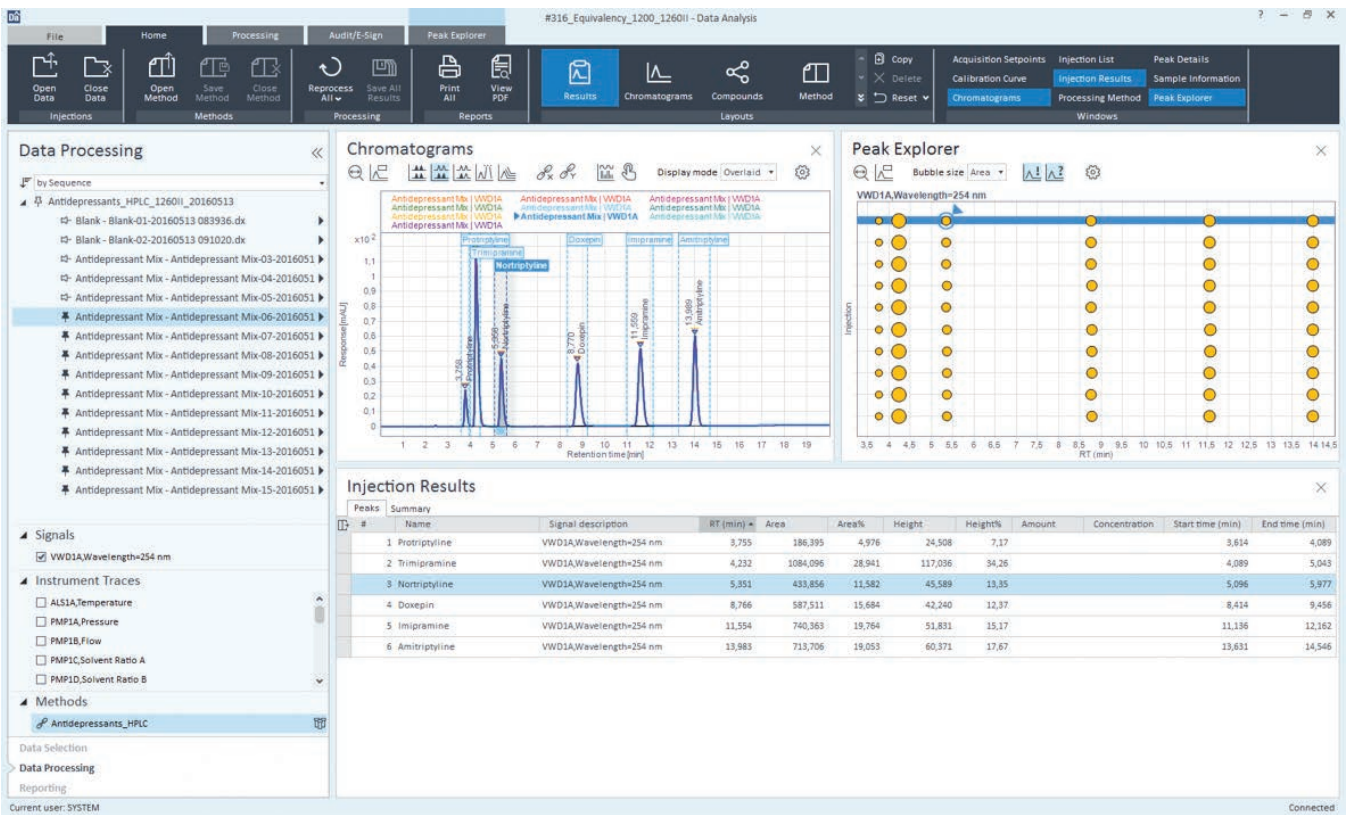


图 5. 在 Agilent OpenLAB CDS 2.1 版软件中进行数据分析的示例

结论

三环抗抑郁药物的常规液相色谱分析方法从 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪到 Agilent 1260 Infinity II 液相色谱仪的转移表现出的最大保留时间偏差为 1.9%。这一结果证明了 Agilent 1260 Infinity II 液相色谱仪与 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪在三环抗抑郁药物分析中的等效性，并且表明能够实现常规液相色谱方法的无缝转移。

参考文献

1. Tatsumi, M.; *et al.* Pharmacological profile of antidepressants and related compounds at human monoamine transporters, *European Journal of Pharmacology* **1997**, 340, 249–258.
2. Gillman, P. K. Tricyclic antidepressant pharmacology and therapeutic drug interactions updated, *British Journal of Pharmacology* **2007**, 151, 737–748.

查找当地的安捷伦客户中心：

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

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

仅限研究使用。不可用于诊断目的。

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，2016
2016 年 8 月 1 日，中国出版
5991-7095CHCN



Agilent Technologies