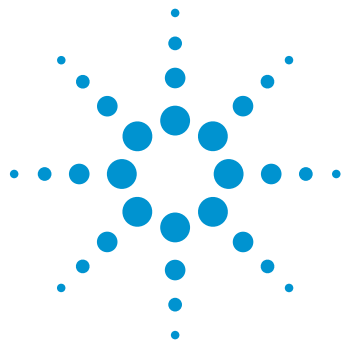




采用 ISET 的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统 — 模拟 Agilent 1100 系列二元液相色谱系统分析三环抗抑郁药

应用简报

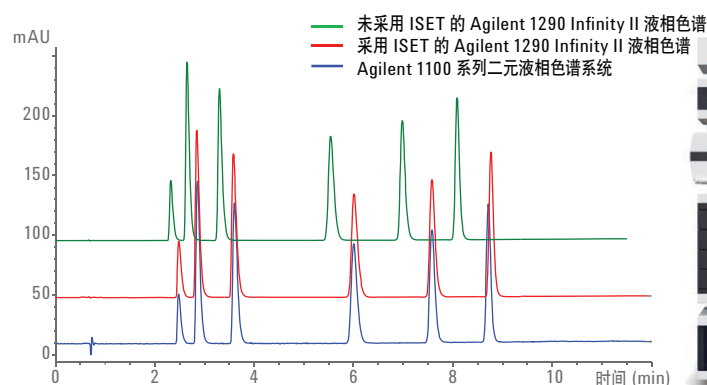
小分子制药

作者

Sonja Schneider
安捷伦科技公司
Waldbronn, Germany

摘要

Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统中的安捷伦智能系统模拟技术 (ISET) 能更加方便地将分析方法从 Agilent 1100 系列二元液相色谱系统等传统 HPLC 系统中进行转移。本应用简报举例证实了 ISET 在分析六种三环抗抑郁药方面的优势。在 1290 Infinity II 液相色谱系统中, 与未启用 ISET 相比, 启用 ISET 时可以获得 99% 的保留时间一致性。



Agilent Technologies

前言

安捷伦智能系统模拟技术 (ISET) 能够模拟不同液相色谱系统, 从而实现分析方法在仪器间的无缝转移^{1,2}。无需更改原始方法, 仅通过增加等度步骤等途径就能得到相同的色谱分析结果, 从而使液相色谱分析方法无缝转移成为可能。这使得用户在运行原先的方法时无需对仪器或方法做任何改动, 也让 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统成为真正能够运行其他 HPLC 和 UHPLC 方法的通用系统。而用户也能够选择从 1290 Infinity II 液相色谱系统广阔的能力范围与卓越的性能中受益。

三环抗抑郁药是首批用于治疗抑郁症的镇静剂之一。此类药物得名于其化学结构中特征性的三环。所有成分均有情绪增强的功效, 通常在服药 2 - 4 周后明显见效。三环抗抑郁药能够抑制脑内的神经元对神经递质血清素、去甲肾上腺素和多巴胺的再摄取。抑郁症患者的特点就是脑中上述神经递质的浓度均过低。三环抗抑郁药对神经递质利用率的提高有助于抵消神经递质缺乏带来的影响。

三环抗抑郁药的分析在临床化学与法医毒理学领域均非常重要。高效液相色谱 (HPLC) 是通常用于血清、血液或尿液样品鉴定和定量分析的稳定而可靠的工具。

本应用简报介绍了六种三环抗抑郁药混合物的分离方法。分析结果证明, 无需改动原方法即可将 1100 系列二元液相色谱系统中的方法轻松转移至 1290 Infinity II 液相色谱系统中; 还证明了启用 ISET 功能即可使保留时间保持不变。

实验部分

仪器

所有实验均在 1100 系列二元液相色谱系统和 1290 Infinity II 液相色谱系统中完成, 两台系统分别包括以下模块。

Agilent 1100 系列二元液相色谱系统:

- Agilent 1100 二元泵 (G1312A)
- Agilent 1100 自动进样器 (G1313A)
- Agilent 1100 柱温箱 (G1316A)
- Agilent 1100 二极管阵列检测器 (G1315B)

Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统:

- Agilent 1290 Infinity II 高速泵 (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II Multisampler (G7167B)
- Agilent 1290 Infinity II 高容量柱温箱 (G7116B)
- Agilent 1290 Infinity II 二极管阵列检测器 (G7117B)

色谱条件

表 1. 色谱条件

参数	值
流动相	A) 碳酸氢铵缓冲液 10 mM, pH 8 B) 甲醇
流速	1 mL/min
梯度	0 min 时 B 为 60% 5 min 时 B 为 68% 10 min 时 B 为 90%
停止时间	12 min
后运行时间	5 min
注射针清洗模式	标准清洗
进样量	1 µL
柱温	50 °C
检测器	254/10 nm, 参比波长 360/100 nm, > 0.025 min, (0.5 s 响应时间), 10 Hz

色谱柱

Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4.6 × 75 mm, 3.5 µm (部件号 966967-902)

软件

Agilent OpenLab CDS ChemStation, LC 和 LC/MS 系统版, 修订版 C.01.07 [采用 ISET 4 的 22]

样品

六种三环抗抑郁药混合物 (按洗脱顺序排列): 普罗替林、曲米帕明、去甲替林、多塞平、丙咪嗪和阿米替林。

化学品

所有试剂均为液相色谱级。甲醇购自德国 Merck 公司。新制超纯水产自配置 LC-Pak Polisher 和 0.22 µm 膜式终端过滤器 (Millipak) 的 Milli-Q Integral 水纯化系统。碳酸氢铵和三环抗抑郁药购自 Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, U.S)。

结果与讨论

三环抗抑郁药的分析选用传统方法，方法具体内容已在 2002 年的安捷伦应用简报中进行了介绍³。该方法采用 4.6 × 75 mm、装填 3.5 μm 颗粒的传统 HPLC 色谱柱。将该方法分别用于 1100 系列二元液相色谱系统、未采用 ISET 的 1290 Infinity II 液相色谱系统以及采用了 ISET 的 1290 Infinity II 液相色谱系统中。通常将分析方法由传统仪器向 UHPLC 系统进行转移时会出现问题，这些出现的问题是由混合行为差异以及现代 UHPLC 系统的延迟体积和过渡体积显著降低造成的（图 1）。与 1100 系列二元液相色谱系统相比，六种三环抗抑郁药在 1290 Infinity II 液相色谱系统中的保留时间更短。其他所有现代 UHPLC 仪器在运行传统的液相色谱方法时都会同样出现类似现象。

一般用两种途径来解决这一问题：

- 1. 在梯度洗脱的起始阶段增加等度洗脱步骤
- 2. 通过增加额外管线增大延迟体积

上述两种方法均可补偿较小的延迟体积，但并不影响混合性能或过渡体积。在不进行任何补偿的情况下，全部六种分析物的保留时间偏移范围介于 6% - 9% 之间（表 2）。图 2 显示从 1100 系列二元液相色谱系统向启用 ISET 与未启用 ISET 的 1290 Infinity II 液相色谱系统进行的方法转移。

启用 ISET 后，保留时间与原色谱图具有良好的一致性。与未启用 ISET 的 1290 Infinity II 液相色谱系统相比，启用后全部所分析化合物的保留时间偏差均小于 1%（表 2 右侧列）。智能系统模拟技术中规定的允许偏差为 5% 以下⁴。

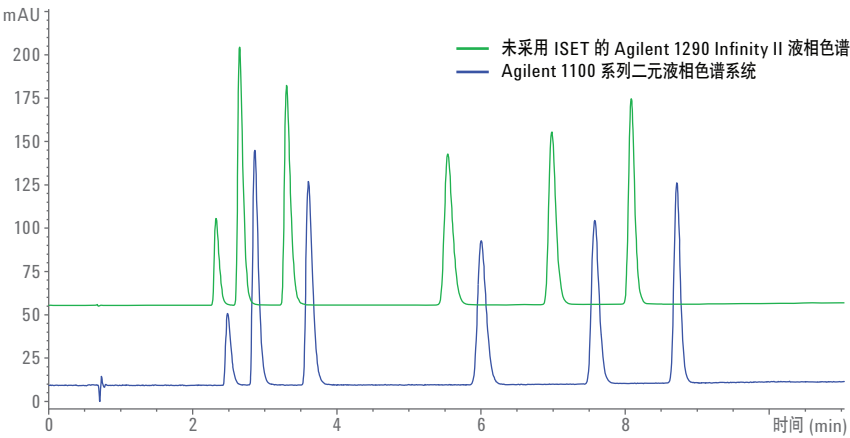


图 1. 六种三环抗抑郁药的传统分离方法从 Agilent 1100 系列二元液相色谱系统到未启用 ISET 的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统的方法转移

表 2. Agilent 1100 系列二元液相色谱系统和 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统的保留时间与偏差

	Agilent 1100 系列二元液相色谱系统	Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统			
	RT (min)	未采用 ISET 的 RT (min)	采用 ISET 的 RT (min)	未采用 ISET 的 偏差 (%)	采用 ISET 的 偏差 (%)
普罗替林	2.483	2.324	2.481	6.40	0.08
曲米帕明	2.861	2.651	2.839	7.34	0.77
去甲替林	3.605	3.303	3.571	8.38	0.94
多塞平	6.004	5.541	5.995	7.71	0.15
丙咪嗪	7.578	6.984	7.561	7.84	0.22
阿米替林	8.716	8.086	8.758	7.23	-0.48

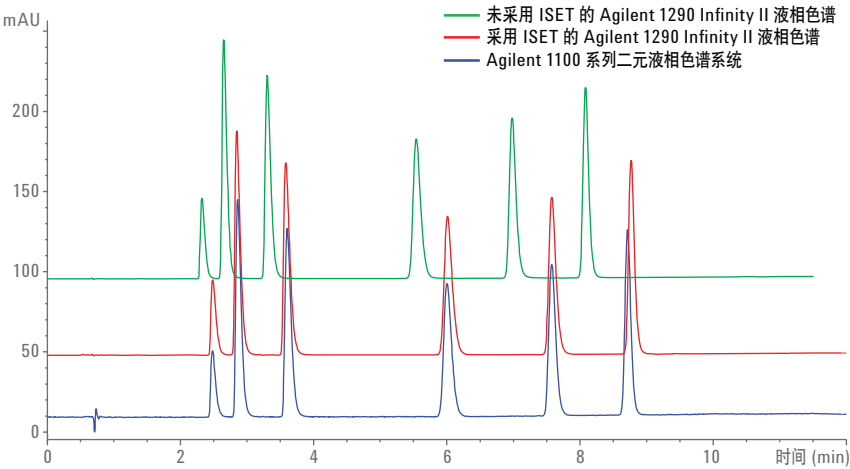


图 2. 使用传统方法，在 Agilent 1100 系列二元液相色谱系统、采用 ISET 的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统以及未采用 ISET 的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统中得到的色谱图叠加

从保留时间和峰面积的精密度方面来看，采用 ISET 的 1290 Infinity II 液相色谱系统明显优于 1100 系列液相色谱系统（表 3）。

结论

模拟其他 HPLC 或 UHPLC 仪器时，Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统具备的 ISET 功能使得用户无需改动仪器或方法即可运行现有 HPLC 或 UHPLC 方法，并能够获得高度一致的色谱图（保留时间一致性高于 99%）。在 Agilent 1100 系列二元液相色谱系统与启用 ISET 的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统中分别采用传统方法分析六种三环抗抑郁药所得到的结果证明了上述结论。此外，保留时间和峰面积的精密度也得到了明显提升。

表 3. Agilent 1100 系列二元液相色谱系统与 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统的保留时间与峰面积精密度对比

	RSD RT (%)		RSD 峰面积 (%)	
	Agilent 1100 系列二元液相色谱系统	Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统	Agilent 1100 系列二元液相色谱系统	Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统
普罗替林	0.091	0.068	0.072	0.158
曲米帕明	0.106	0.049	0.238	0.127
去甲替林	0.09	0.009	0.043	0.101
多塞平	0.073	0.007	0.262	0.145
丙咪嗪	0.057	0.007	0.307	0.137
阿米替林	0.032	0.006	0.222	0.132

参考文献

1. Gratzfeld-Huesgen, A., 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**。
2. Gratzfeld-Huesgen, A., Seamless instrument-to-instrument method transfer from an Agilent 1100/1200 Series LC to an Agilent 1290 Infinity LC using Intelligent System Emulation Technology (ISET) (采用智能系统模拟技术 (ISET) 实现从 Agilent 1100/1200 系列液相色谱到 Agilent 1290 Infinity LC 的无缝仪器间方法转移)，*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5990-9113EN，**2011**。
3. Huber, U., Analysis of Tricyclic Antidepressant Drugs by HPLC (三环抗抑郁药物的 HPLC 分析)，*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5988-7626EN，**2002**。
4. Agilent 1290 Infinity II with ISET (采用 ISET 功能的 Agilent 1290 Infinity II)，*安捷伦科技公司用户手册*，部件号 G4220-90314，**2015**。

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

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 10 月 1 日，中国出版
5991-6289CHCN



Agilent Technologies