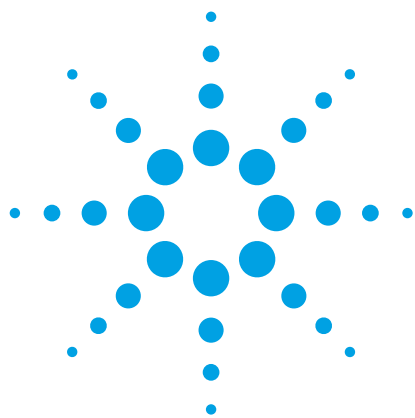




使用 Agilent Poroshell HPH C18 柱在低 pH 和高 pH 条件下分离 β -受体阻滞剂

应用简报

小分子制药

作者

William Long
安捷伦科技有限公司

前言

β -受体阻滞剂或 β -肾上腺素受体阻滞剂是一类用于治疗高血压与控制心律失常的药物。 β -肾上腺素受体拮抗剂可通过阻断肾上腺素及其他应激激素与神经末端的 β -受体的结合而减少这些激素的影响。礼来实验室在 1958 年合成出了第一种 β -受体阻滞剂，但直到 1962 年才开发出首批具有临床意义的 β -受体阻滞剂心得安和蔡心定，并将其用于治疗心绞痛。

β -受体阻滞剂可阻断肾上腺素和去甲肾上腺素对尤其是 β -肾上腺素受体的作用，而 β -肾上腺素受体是调节“战斗或逃跑”反应的交感神经系统的一部分。已知存在三种类型的 β -受体，分别称为 β_1 、 β_2 和 β_3 受体。 β_1 -肾上腺素受体主要存在于心脏和肾脏中； β_2 -肾上腺素受体主要存在于肺、胃肠道、肝脏、子宫、血管平滑肌和骨骼肌中； β_3 -肾上腺素受体则存在于脂肪细胞中。

数量众多的 β -受体阻滞剂根据其阻断 β -受体的类型而分为不同种类，因此其作用也各不相同。心得安等非选择性 β -受体阻滞剂能够阻断 β_1 和 β_2 受体，并对心脏、血管和呼吸道产生影响。美托洛尔等选择性 β -受体阻滞剂主要阻断 β_1 受体，因此主要影响心脏而不影响呼吸道。而心得乐等某些 β -受体阻滞剂则能够模拟肾上腺素和去甲肾上腺素的作用，并可导致血压和心率的升高 [1,2]。

采用填充 2.7 μm 或 4 μm 颗粒的 Agilent Poroshell HPH C18 色谱柱在高 pH 流动相下分析诸如 β -受体阻滞剂等碱性化合物是一种常规方法。这些色谱柱填充表面多孔颗粒，可在方法开发中探索更宽的 pH 范围。填充此类颗粒的色谱柱凭借其高效和快速的特点得到了越来越多的应用。



Agilent Technologies

实验部分

采用 Agilent 1260 Infinity 液相色谱, 该系统包括:

- Agilent 1260 Infinity SL 型二元泵, 最高耐压 600 bar (G1312B)
- Agilent 1260 Infinity 柱温箱 (G1316C)
- Agilent 1260 Infinity SL Plus 型高性能自动进样器 (G1376C)
- Agilent 1260 Infinity 二极管阵列检测器 (G4212A), 配备 10 mm 光程的 1 μ L 流通池 (部件号 G4212-60008)

本研究中使用下列色谱柱。

- Agilent Poroshell HPH C18, 4.6 $\times$ 100 mm, 2.7 μ m (部件号 695975-702)
- Agilent Poroshell HPH C18, 4.6 $\times$ 100 mm, 4 μ m (部件号 695970-702)

采用 Agilent ChemStation C.1.05 版控制仪器并处理数据。

所测定的化合物包括尿嘧啶和一系列 β -受体阻滞剂, 用 50:50 水:乙腈将这些化合物配制为 1 mg/mL, 然后等份混合以制得含有大约 0.143 μ g/mL 阿替洛尔、心得乐、醋丁洛尔、美托洛尔、氧烯洛尔、阿普洛尔和心得安的溶液。图 1 显示了以上化合物的结构和详细信息。将甲酸铵和甲酸配制为 10 mM 的溶液, 并用其配制 pH 为 3 的低 pH 缓冲液。甲酸铵购自 Sigma-Aldrich 公司, 二次蒸馏甲酸购自 GFS。利用碳酸氢铵和氢氧化铵配制 pH 为 10 的缓冲液, 这两种化合物均由 Sigma-Aldrich 提供。

在测试之前将色谱柱加热至 25 $^{\circ}$ C, 并在 1 mL/min 的流速下平衡 10 分钟。

结果与讨论

图 1 展示了所用 β -受体阻滞剂的不同结构。这一多样性可实现对身体不同部位的各种作用。 β -受体阻滞剂为结构中包含仲氨基的碱性化合物。

图 2 显示了由初始方法开发筛选得到的色谱图。如图所示, 尽管各化合物得到了充分分离, 但较晚洗脱的色谱峰峰形并不理想。

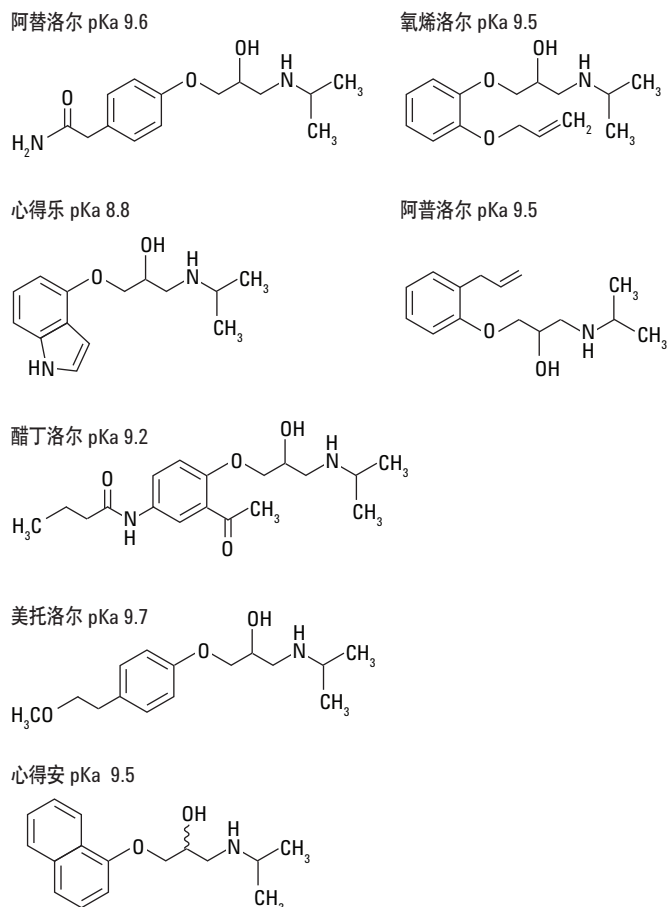


图 1. β -受体阻滞剂结构

基线随着流动相中缓冲液浓度的降低而逐渐下降, 且色谱峰略有增宽、高度减小, 因此难以进行定量分析。通过向乙腈中加入缓冲液或流动相改性剂可使这种情况得到修正。我们看到化合物在 2.7 μ m Poroshell HPH C18 (A) 和 4 μ m Poroshell HPH C18 (B) 色谱柱上的色谱行为相同, 表明该色谱方法具有可转移性。

图 3 显示了在 pH 10.5 下得到的色谱图。在这一碱性流动相中, 完全质子化的碱性化合物的分离效果优于图 2 中采用酸性流动相所得到的结果。在所有情况下, 与图 2 所示的结果相比, 图 3 获得的峰形更优异、拖尾减小、色谱峰更高且保留时间更长。在以上碱性条件下, 峰对 6 和 7 得到完全分离。由于色谱分离结果得到了改善, 因此能够对浓度更低的化合物进行定量分析。我们看到化合物在 2.7 μ m Poroshell HPH C18 (A) 和 4 μ m Poroshell HPH C18 (B) 色谱柱上的色谱行为相同, 表明该色谱方法具有可转移性。

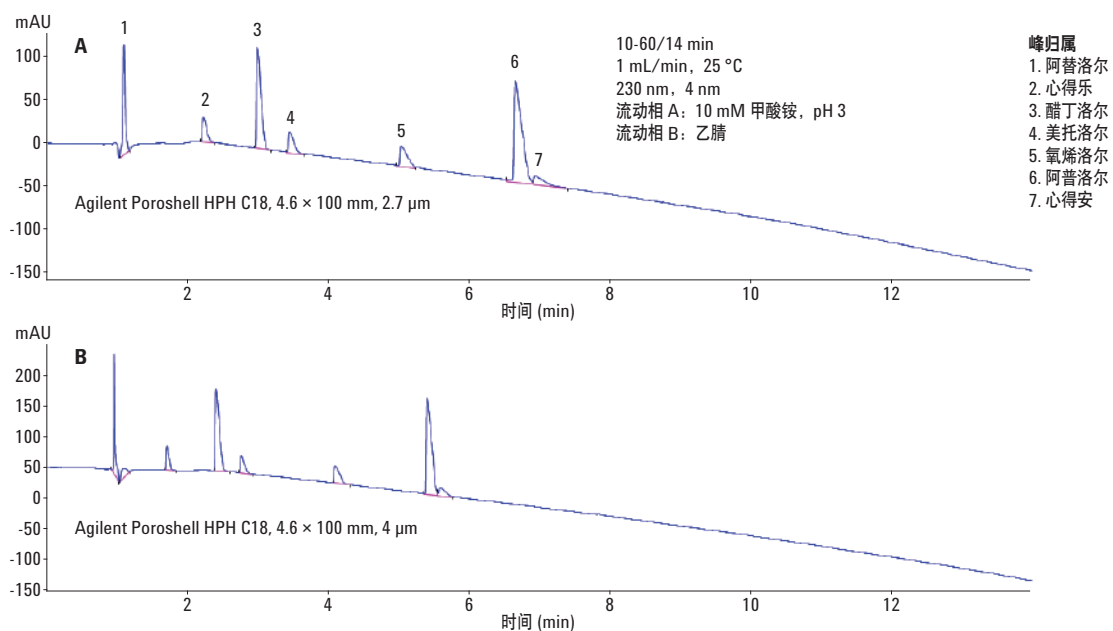


图 2. Agilent Poroshell HPH C18 色谱柱在低 pH 条件下对 β -受体阻滞剂的分离

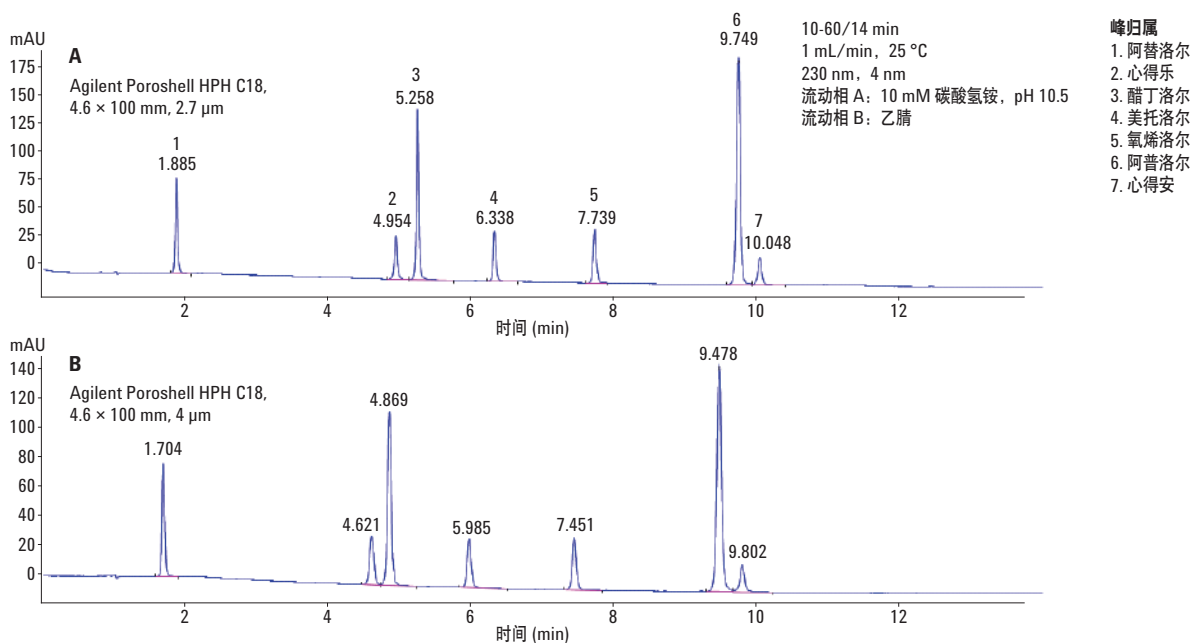


图 3. Agilent Poroshell HPH C18 色谱柱在高 pH 条件下对 β -受体阻滞剂的分离

结论

采用填充 2.7 μm 或 4 μm 粒径填料的 Agilent Poroshell HPH C18 色谱柱可在高 pH 流动相下对碱性化合物进行常规分析。在两种情况下，高 pH 均可产生更尖锐且保留特性更优异的色谱峰。在某些情况下还可获得更出色的分离度。使用 Poroshell HPH C18 等可在新的 pH 条件下保持稳定的新型色谱柱，无需牺牲色谱柱使用寿命即可通过控制 pH 来调整选择性。相似的选择性允许根据压力因素的要求在 2.7 μm 和 4 μm 色谱柱之间进行方法转移。

如今，色谱工作者可通过这些色谱柱在方法开发中采用表面多孔颗粒技术探索更宽的 pH 范围，表面多孔颗粒技术以其高效和快速的特点得到了越来越多的应用 [3]。

参考文献

1. <http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/high-blood-pressure/in-depth/beta-blockers/art-20044522>
2. <http://www.webmd.com/heart-disease/guide/beta-blocker-therapy>
3. Long, W. J.; Mack, A. E.; Wang, X.; Barber, W. E. Selectivity and Sensitivity Improvements for Ionizable Analytes Using High-pH-Stable Superficially Porous Particles. *LCGC* **2015**, 33 (4)

更多信息

这些数据仅代表典型的结果。有关我们的产品与服务的详细信息，请访问我们的网站 www.agilent.com。

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

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2015

2015 年 12 月 7 日，中国出版

5991-6519CHCN



Agilent Technologies