



Agilent 1200 シリーズ LC から Agilent 1260 Infinity II LC へのメソッド移管 三環系抗うつ薬分析の同等性の証明

アプリケーションノート

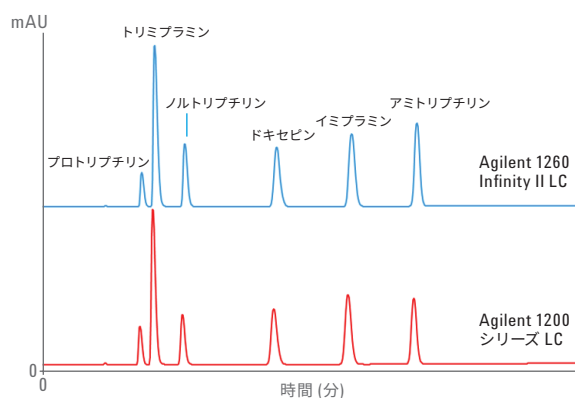
低分子医薬品

著書

Sonja Krieger
Agilent Technologies, Inc.
Waldbronn, Germany

概要

装置間でのメソッド移管は製薬業界やその他の産業のラボにとって重要なトピックです。このアプリケーションノートでは、三環系抗うつ薬の分析に適した従来の LC メソッドの、Agilent 1200 シリーズ LC から Agilent 1260 Infinity II LC へのシームレスな移管について紹介します。



Agilent Technologies

はじめに

三環系抗うつ薬 (TCA) は三環を含む化学構造から命名された、薬理学的に活性な化合物であり、主に抗うつ薬として用いられます^{1, 2}。1950 年代、TCA は当初、抗ヒスタミン薬 (H1 受容体拮抗薬) として合成されました^{1, 2}。TCA は経口投与後、急速に吸収され²、大半の抗うつ薬と同様に、セロトニンあるいはノルエピネフリンの神経末端への再取り込みを阻害します^{1, 2}。これにより、このような神経伝達物質のシナプス濃度が上昇します¹。

メソッド移管が QA/QC ラボ、臨床研究、およびその他の産業において重要になるのは、例えば、旧型の LC 装置を日々の分析において Agilent 1260 Infinity II LC などの信頼性が高く、強力で、効率的な新規 LC 装置と交換する場合です。このアプリケーションノートでは、三環系抗うつ薬の分析に適した従来の LC メソッドの、Agilent 1200 シリーズクオートナリ LC システム から Agilent 1260 Infinity II LC へのシームレスな移管について説明します。

分析条件

装置

Agilent 1260 Infinity II LC を次のモジュールで構成しました。

- Agilent 1260 Infinity II クオートナリポンプ (G7111B)
- 一体型カラムコンパートメント、3.0 µL ヒーター (オプション番号 #063) および サンプル冷却器 (オプション番号 #100) 付きの Agilent 1260 Infinity II バイアル サンプラ (G7129A)
- 標準フローセル (G1314-60186) 付き Agilent 1260 Infinity II 可変波長検出器 (G7114A)

Agilent 1200 シリーズクオートナリ LC システム を次のモジュールで構成しました。

- Agilent 1200 シリーズクオートナリポンプ (G1311A)
- Agilent 1260 Infinity ミクロデガッサ (G4225A)
- Agilent 1200 シリーズサーモスタット (G1330B) 付き Agilent 1200 シリーズ オートサンブラ (G1329A)
- Agilent 1200 シリーズカラムコンパートメント (G1316A)
- 標準フローセル付き Agilent 1200 シリーズ可変波長型 UV-Vis 検出器 SL (G1314-60186)

ソフトウェア

Agilent OpenLAB CDS バージョン 2.1 (2016 年 9 月以降リリース予定)

カラム

Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18、4.6 × 150 mm、5 µm (p/n 959993-902)

試薬

すべての溶媒は LC グレードを使用しました。メタノールは Merck (Darmstadt、ドイツ) から購入しました。超純水は、0.22 µm メンブレンユースポイントカートリッジ (Millipak、EMD Millipore、ビレリカ、マサチューセッツ州、米国) を装備した Milli-Q Integral システムで精製しました。炭酸水素アンモニウム、塩酸アミトリプチリン、塩酸ドキシセピン、塩酸イミプラミン、塩酸ノルトリプチリン、塩酸プロトリプチリン、およびトリミプラミン塩酸塩は、Sigma-Aldrich (シュタインハイム、ドイツ) から購入しました。

サンプル

三環系抗うつ薬であるアミトリプチリン、ドキシセピン、イミプラミン、ノルトリプチリン、プロトリプチリン、およびトリミプラミンの混合物は、50 µg/mL の濃度で水/メタノール (50/50、v/v) で調製しました。

結果と考察

図 1 と表 2 は、TCA 薬であるアミトリプチリン、ドキシピン、イミプラミン、ノルトリプチリン、プロトリプチリン、およびトリミプラミンの従来の LC 分析の内容を示しており、分析には Agilent 1200 シリーズクオータナリ LC システムを用い、対応するリテンションタイム (RT) および面積精度、ならびに分離能も示しています。

メソッド

表 1. 従来の LC 分析のためのクロマトグラフィー条件。

パラメータ	説明
カラム	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18、4.6 × 150 mm、5 μm
溶媒	A) 10 mM 炭酸水素アンモニウム水溶液、pH 8 B) メタノール
グラジエント	0 分: 60 %B、 10 分: 68 %B、 20 分: 90 %B
ストップタイム	20 分
ポストタイム	10 分
流量	1.5 mL/min
温度	40 °C
注入量	10 μL
検出	254 nm、ピーク幅 > 0.05 分

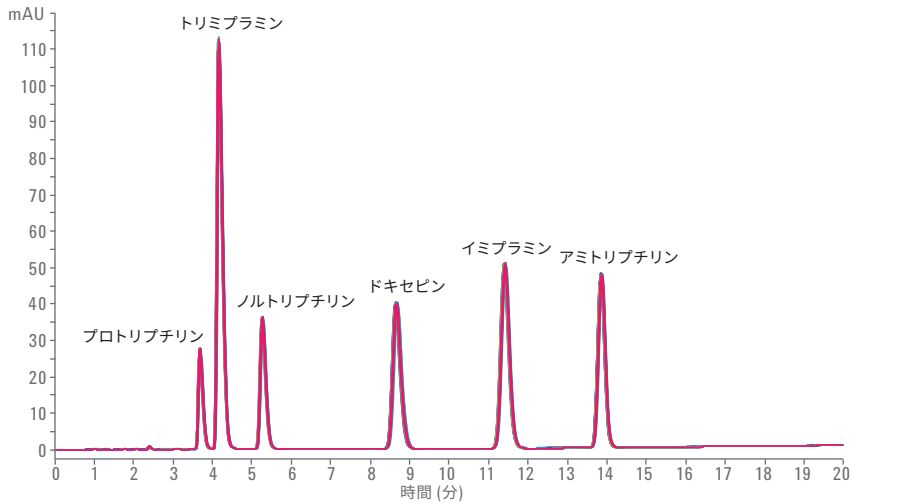


図 1. Agilent 1200 シリーズクオータナリ LC システムによる三環系抗うつ薬の従来の LC 分析、10 回の連続分析の重ね表示。

表 2. Agilent 1200 シリーズクオータナリ LC システムによる三環系抗うつ薬の従来の LC 分析、リテンションタイムおよび面積精度を 10 回の連続分析により測定。

化合物	RT (分)	RT RSD (%)	面積	面積の RSD (%)	分離能
プロトリプチリン	3.69	0.20	211.9	0.17	—
トリミプラミン	4.16	0.19	1,054.9	0.11	2.1
ノルトリプチリン	5.27	0.18	347.5	0.16	4.4
ドキシピン	8.66	0.19	553.4	0.18	11.0
イミプラミン	11.41	0.11	728.4	0.13	7.4
アミトリプチリン	13.86	0.09	580.9	0.10	6.9

TCA のリテンションは、溶媒中の有機物含有量の小さな変化に高い感度があります。元のグラジエント (表 1)、メタノールを 2 % 多く含むグラジエント、およびメタノールを 2 % 少なく含むグラジエントによる TCA の RT を比較した結果を図 2 および表 3 に示します。



図 2. Agilent 1200 シリーズクォータナリ LC システムによる三環系抗うつ薬の従来の LC 分析: 元のグラジエントならびにメタノールを 2 % 多く含む場合およびメタノールを 2 % 少なく含むグラジエントの場合

表 3. Agilent 1200 シリーズクォータナリ LC システムによる三環系抗うつ薬の従来の LC 分析でのリテンションタイムの比較: 元のグラジエントならびにメタノールを 2 % 多く含む場合およびメタノールを 2 % 少なく含むグラジエントの場合。

化合物	元の RT (分)	メタノールが 2 % 多い場合の RT 偏差 (%)	メタノールが 2 % 少ない場合の RT 偏差 (%)
プロトリプチリン	3.69	-11.2	14.8
トリミプラミン	4.16	-11.0	14.4
ノルトリプチリン	5.27	-11.5	15.1
ドキセピン	8.66	-11.0	13.7
イミプラミン	11.41	-10.5	12.3
アミトリプチリン	13.86	-8.9	9.3

TCA のための従来の LC 分析メソッドは、変更することなく、1260 Infinity II LC に移管されました。結果として生じる分離、対応する RT および面積精度、ならびに分離能は図 3 および表 4 に示します。優れたリテンションタイムと面積精度が 1260 Infinity II LC で達成されました。

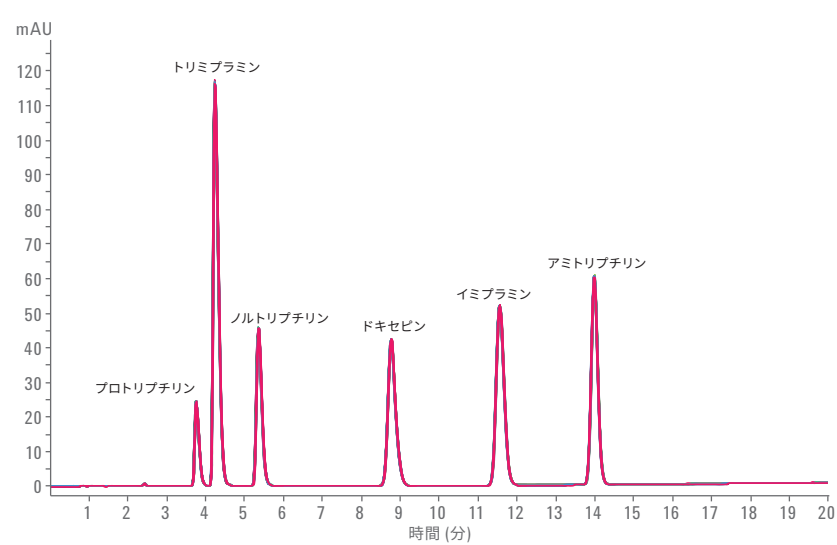


図 3. Agilent 1260 Infinity II LC による三環系抗うつ薬の従来の LC 分析: 10 回の連続分析の重ね表示。

表 4. Agilent 1260 Infinity II LC による三環系抗うつ薬の従来の LC 分析、リテンションタイムおよび面積精度を 10 回の連続分析により測定。

化合物	RT (分)	RT RSD (%)	面積	面積の RSD (%)	分離能
プロトリプチリン	3.76	0.06	186.4	0.17	—
トリミプラミン	4.24	0.06	1,084.4	0.11	2.1
ノルトリプチリン	5.36	0.06	434.3	0.09	4.4
ドキセピン	8.77	0.03	587.6	0.09	11.1
イミプラミン	11.56	0.03	740.7	0.07	7.5
アミトリプチリン	13.99	0.02	713.7	0.05	7.0

図 4 と表 5 は、Agilent 1200 シリーズクオータナリ LC システムおよび 1260 Infinity II LC で分析された三環系抗うつ薬のリテンションタイムを比較したものです。前述のとおり、TCA のリテンションは溶媒中の有機物含有量の小さな変化に高い感度で反応します。これらの化合物および条件の場合でさえ、Agilent 1200 シリーズクオータナリ LC システムと Agilent 1260 Infinity LC との間で、RT は最大 1.9 % 偏差といった優れた一致が認められました。これは、TCA の分析に適した従来の LC メソッドの 1200 シリーズ LC から 1260 Infinity II LC へのシームレスな移管の可能性を示します。

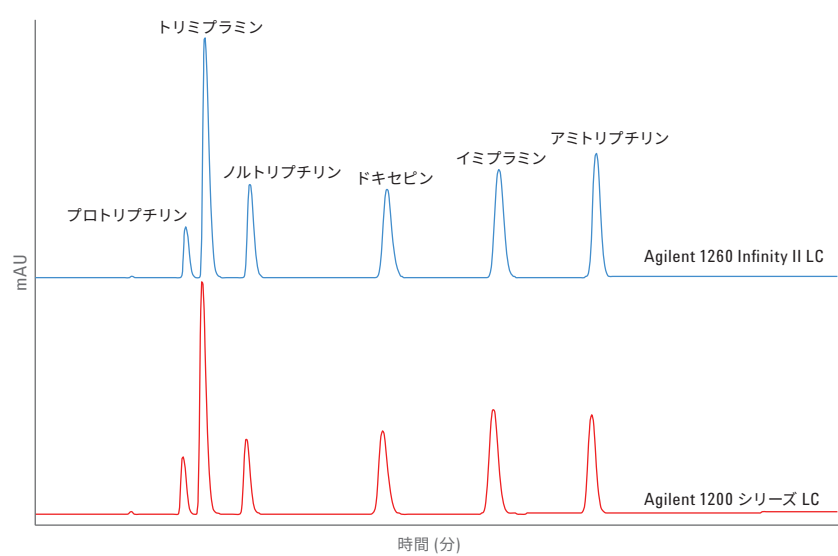


図 4. Agilent 1200 シリーズクオータナリ LC システムおよび Agilent 1260 Infinity II LC による三環系抗うつ薬の従来の LC 分析。

表 5. Agilent 1200 シリーズクオータナリ LC システムおよび Agilent 1260 Infinity II LC による三環系抗うつ薬の従来の LC 分析: リテンションタイムの比較。

化合物	RT 偏差 (分)	RT 偏差 (%)
プロトリプチリン	0.07	1.9
トリミブラミン	0.07	1.8
ノルトリプチリン	0.09	1.7
ドキセピン	0.11	1.3
イミプラミン	0.15	1.3
アミトリプチリン	0.13	0.9

このアプリケーションノートでは、データ解析と同様に 1200 シリーズクォータリ LC システムおよび 1260 Infinity II LC の機器コントロールも Agilent OpenLAB CDS ソフトウェア、バージョン 2.1 を用いて行われています。OpenLAB CDS のこのバージョンは、1 つのソフトウェアで液体クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー、および質量分析計に対応可能です。このソフトウェアにより、フラットなユーザーインタフェース、およびドラッグアンドドロップテンプレートを用いて、カスタマイズ可能なインタラクティブなレポート作成が可能です。図 5 には、OpenLAB CDS によるデータ解析の例を示します。例えば、データ解析において利用可能なピークエクスプローラは大きなデータセットを一元表示することができます。

Agilent InfinityLab のカラムや消耗品は、1260 Infinity II LC と完全に連携し、LC ワークフローの性能および効率を最大限に発揮させます。Agilent InfinityLab Poroshell カラムは、1260 Infinity II LC の最大 600 bar の圧力範囲と組み合わせることで、ピーク分離を維持または向上させて、時間および溶媒を節約しつつ、UHPLC 分析を可能にします。1260 Infinity II LC を注文する際に、お客様はさまざまな InfinityLab Poroshell カラムの中から選択してシステムに同梱させることができます。InfinityLab クイックコネクトフィッティング (p/n 5067-6166、0.17 × 105 mm キャピラリ付きクイックコネクトフィッティング) および InfinityLab ク

イックターンフィッティング (p/n 5067-5966) により、ツールを使用することなく、迅速で簡単にカラムを取り付け、ユーザーに依存することなく完全にカラムを接続することができます。InfinityLab フレックスベンチ (p/n 5043-1252) 上に 1260 Infinity II LC をセットアップすることで、ラボスペースを有効活用でき、人間工学的アプローチで装置に容易にアクセスできます。

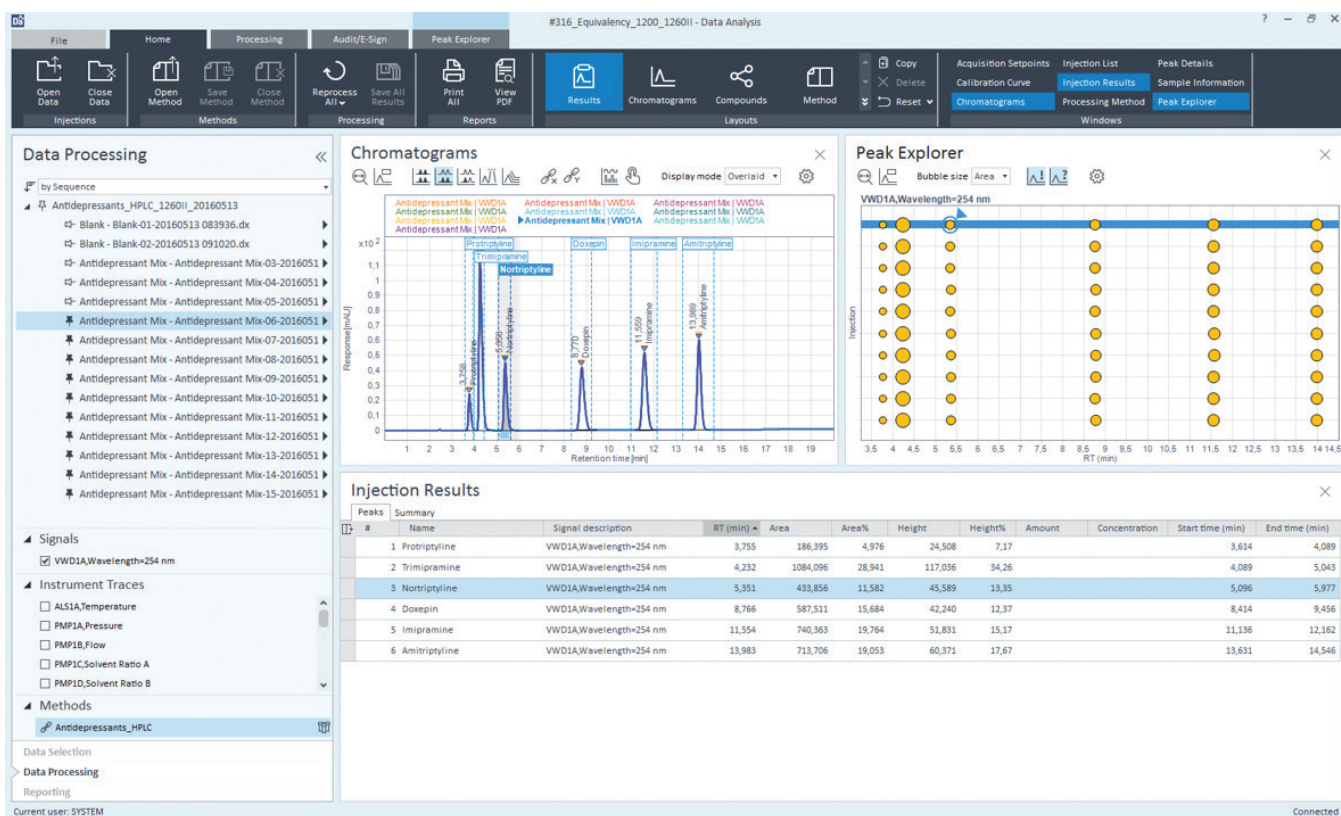


図 5. Agilent OpenLAB CDS ソフトウェア、バージョン2.1 によるデータ解析例。

結論

三環系抗うつ薬の分析に適した従来の LC メソッドの、Agilent 1200 シリーズクォータリ LC システム から Agilent 1260 Infinity II LC へのシームレスな移管に関して、最大 1.9 % のリテンションタイムの偏差を示しました。これにより、三環系抗うつ薬の分析に適した Agilent 1260 Infinity II LC が、Agilent 1200 シリーズクォータリ LC システムと同等であることが証明され、従来の LC メソッドのシームレスな移管の可能性が示されます。

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.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本資料掲載の製品は、すべて研究用です。本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2016

Printed in Japan, August 1, 2016

5991-7095JAJP



Agilent Technologies