

启用 ISET 的 Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪

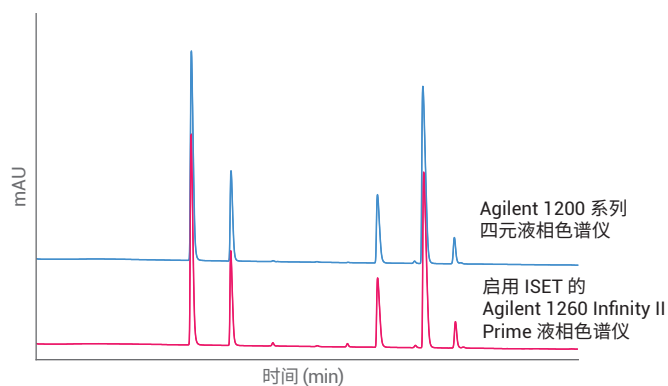
模拟 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪分析抗组胺药物

作者

Clarissa Dickhut 和
Melanie Metzloff
安捷伦科技公司
Waldbronn, Germany

摘要

安捷伦的智能系统模拟技术 (ISET) 可实现常规液相色谱系统分析方法的无缝转移，例如 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪到 Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪。本应用简报展示了 ISET 在分析五种抗组胺药物方面的优势。对不同实验的保留时间与分离度进行评估，并与采用 1200 系列四元液相色谱仪获得的原始数据进行比较。通过启用 ISET，两种系统获得了良好的一致性。



前言

从常规 HPLC 系统到 Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪等 UHPLC 系统的分析方法转移，对各种实验室都是重要而且通常很关键的问题，对处于严格监管环境下的实验室更是如此。UHPLC 系统与常规 HPLC 系统相比具有更低的系统延迟体积，并且通常会表现出不同的泵混合行为。这些特性可能会导致仪器间的方法转移产生不同的保留时间 (RT) 和分离度。为避免对传统分析方法进行费时又昂贵的重新验证，可以在开始运行时配置等度保持或部署安装额外延迟体积¹。而采用本方法时仅需要考虑延迟体积，而不用担心两种分析泵混合行为的差异。

安捷伦的智能系统模拟技术 (ISET) 可实现无缝的方法转移，并能够获得相似的色谱结果²。通过启用 ISET，无需改变分析方法或修改液相色谱系统就可以补偿延迟体积和泵混合行为的差异。

本应用简报介绍了五种抗组胺药物混合物的分离方法。首先将该药物混合物在 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪上进行分析。然后将分析方法转移至 Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪，并分别选择启用与不启用 ISET 功能进行实验。在额外实验中使用 ISET 的微调选项来展示如何对分析方法转移进一步优化。对保留时间与分离度进行评估，并与采用 1200 系列四元液相色谱仪的结果进行比较。

实验部分

仪器

采用以下仪器对抗组胺药物进行分析。

Agilent 1200 系列四元液相色谱仪：

- Agilent 1200 系列四元泵 (G1311A)
- Agilent 1200 系列自动进样器 (G1329A)
- Agilent 1200 系列柱温箱 (G1316A)
- Agilent 1200 系列二极管阵列检测器 (G1315D)

Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪：

- Agilent 1260 Infinity II 全能泵 (G7104C)
- Agilent 1260 Infinity II Multisampler (G7167A)，配备集成式样品冷却装置 (选件 #100)
- Agilent 1260 Infinity II 大容量柱温箱 (G7116A)
- Agilent 1260 II 二极管阵列检测器 (G7117C)

软件

Agilent OpenLAB CDS 2.2 (M8413A)

样品

五种抗组胺药物混合物，每种浓度为 150 ng/ μ L (按洗脱顺序排列)：曲吡那敏、氯苯那敏、丁卡因、异丙嗪和西替利嗪。

化学品

所有试剂均为液相色谱级。新制超纯水产自配置 0.22 μ m 膜式终端过滤器 (Millipak) 的 Milli-Q Integral 水纯化系统。所有抗组胺药物均购自 Sigma-Aldrich 公司 (St. Louis, USA)。

表 1. 抗组胺药物混合物分析的色谱参数

| 参数 | 值 |
|-------|--|
| 色谱柱 | Agilent ZORBAX SB-C18, 4.6 × 75 mm, 3.5 μ m (部件号 866953-902) |
| 流动相 | A) 0.1% 三氟乙酸水溶液 B) 乙腈 |
| 流速 | 0.8 mL/min |
| 梯度 | 10 min 内 B 从 10% 升至 55% |
| 停止时间 | 12 min |
| 后运行时间 | 5 min |
| 进样量 | 5 μ L, 进样针清洗 3 s (50% 乙腈水溶液) |
| 柱温 | 25 °C |
| 检测 | 232/8 nm, 参比波长关闭, 20 Hz |

结果与讨论

采用常规分析方法在 1200 系列四元液相色谱仪上使用填充 3.5 μm 填料的 4.6 \times 75 mm 色谱柱对五种抗组胺药物进行分析。首先，在不启用 ISET 的状态下将分析方法转移至 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪。与预期结果相同，所有五种分析物保留时间均明显提前。接下来，启用 ISET 功能。图 1 所示为叠加色谱图，包括使用 1200 系列四元液相色谱仪的原始色谱图以及启用和不启用 ISET 时采用 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪测得的两幅色谱图。

使用 ISET 时，抗组胺药物的 RT 能够与原始色谱图保持一致，并显示 RT 偏差小于 3%，很好地满足了 ISET 指标 5%² 的要求。相比之下，不使用 ISET 时，RT 偏移在 5% 至约 11% 之间。

为进一步优化保留时间的一致性，需要激活 ISET 的微调功能。延迟体积偏移为 -50 μL 时，所有峰的保留时间略微提前。图 2 所示为叠加色谱图，包括原始色谱图以及 ISET 激活与未激活微调功能时采用 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪获得的两幅色谱图。

由于配置了微调功能，五种抗组胺药物的 RT 与原始色谱图一致，并显示保留时间偏移的偏差小于 0.5%。表 2 所示为进行实验的保留时间数据概览。

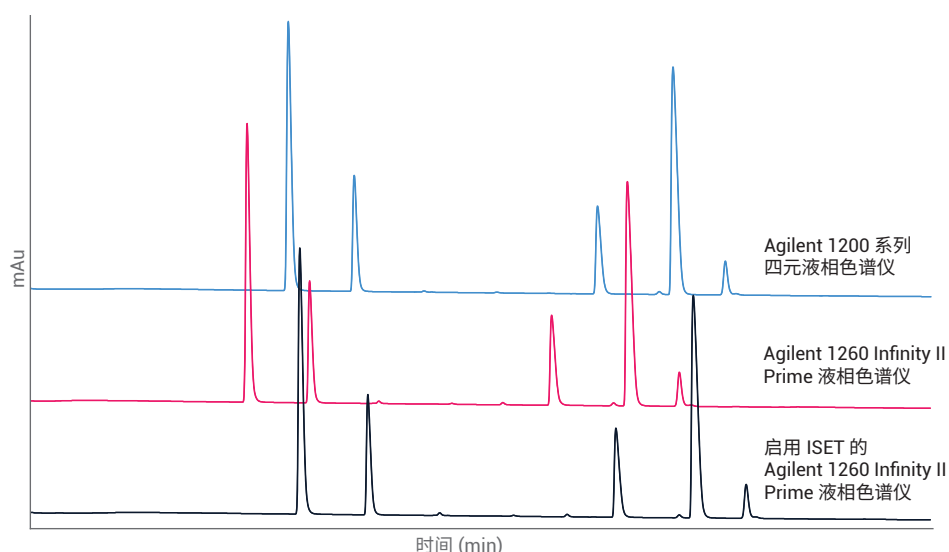


图 1. 使用 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪分析抗组胺药物（蓝色），随后将分析方法转移到启用 ISET（红色）和不启用 ISET（黑色）的 Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪上

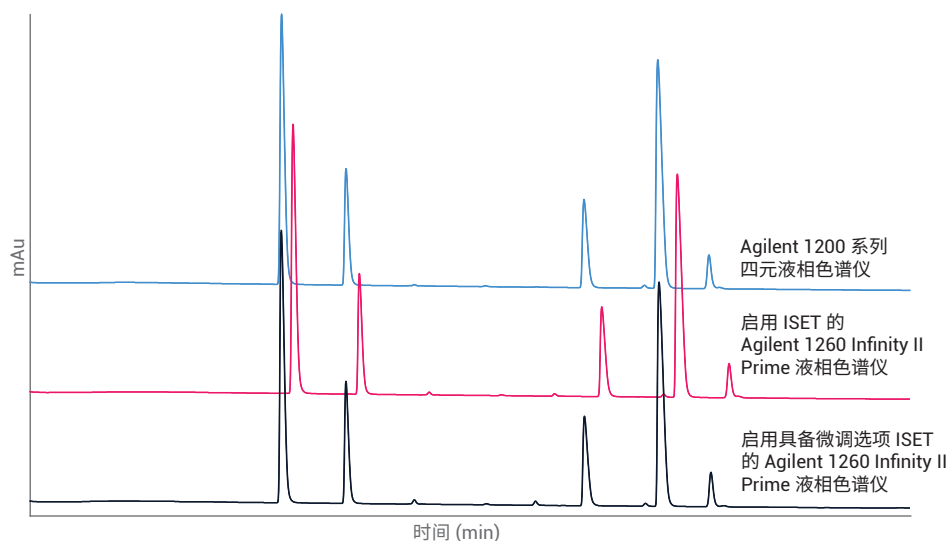


图 2. 抗组胺药物分析的叠加色谱图，包括 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪（蓝色）、启用 ISET 的 Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪（红色）以及启用具备微调功能 ISET 的 Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪（黑色）

表 2. 不同抗组胺药物的保留时间，分析仪器包括 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪以及不启用 ISET、启用 ISET 和启用具备微调功能 ISET 的 Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪

| Agilent 1200 系列 四元液相色谱仪 | Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪 | | |
|----------------------------|--------------------------------------|--------------------|-----------------------------|
| | RT (min) | 启用 ISET 的 RT (min) | 启用 ISET 和 微调功能的 RT (min) |
| 4.51 | 4.02 | 4.64 | 4.50 |
| 5.28 | 4.75 | 5.43 | 5.27 |
| 8.11 | 7.58 | 8.33 | 8.13 |
| 8.99 | 8.46 | 9.23 | 9.02 |
| 9.60 | 9.06 | 9.84 | 9.64 |

图 3 所示为 RT 偏移评估结果。

对 1200 系列四元液相色谱仪与启用 ISET 和微调功能的 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪的保留时间、峰面积以及分离度精度进行比较。为评估这些数值，在两台液相色谱系统上分别进行 10 次连续运行分析（表 3）。两台系统均表现出极佳的精度，而在 RT 和峰面积精度上，1260 Infinity II Prime 液相色谱仪略胜一筹。

结论

安捷伦的智能系统模拟技术 (ISET) 可实现从常规 HPLC 到 Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪的分析方法无缝转移。ISET 功能易于使用，无需更换仪器或改变分析方法即可获得几乎一致的色谱图。将用于分析抗组胺药物的常规分析色谱方法从 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪转移到 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪。通过在 1260 Infinity II Prime 液相色谱系统上启用 ISET 和微调功能，可获得优异的保留时间一致性，偏差小于 0.5%。另外，分析方法转移后，RT 和峰面积的精度得到了改善，体现出 1260 Infinity Prime 液相色谱仪一流的性能。

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, 2017
2017 年 12 月 1 日, 中国出版
5991-8786ZHCN

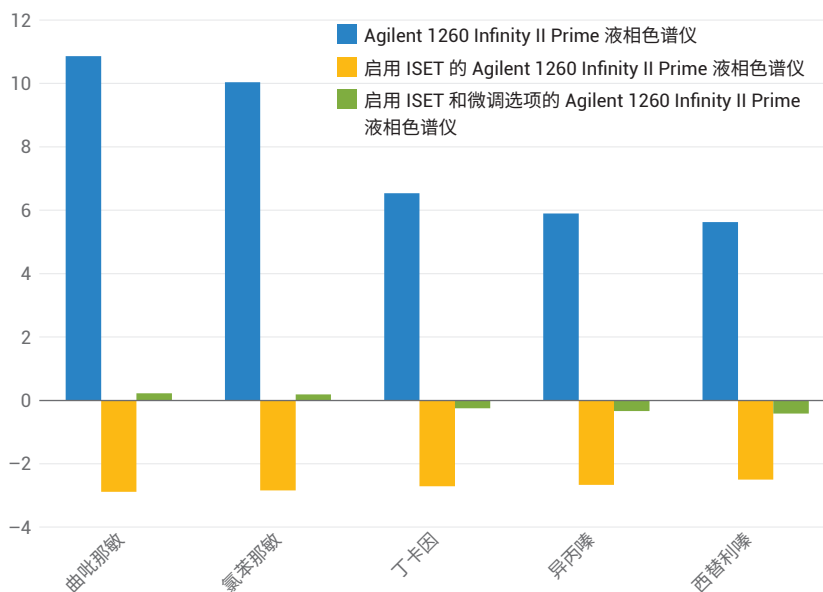


图 3. 从 Agilent 1200 系列四元液相色谱仪转移到启用 ISET、不启用 ISET 和启用具备微调功能 ISET 的 Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪的保留时间偏差

表 3. Agilent 1200 系列四元液相色谱仪与 Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪的保留时间精度、峰面积精度与分离度比较

| | RSD RT (%) | | RSD 峰面积 (%) | | 分离度 | |
|------|------------------------|--------------------------------------|------------------------|--------------------------------------|------------------------|--------------------------------------|
| | Agilent 1200 系列四元液相色谱仪 | Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪 | Agilent 1200 系列四元液相色谱仪 | Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪 | Agilent 1200 系列四元液相色谱仪 | Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪 |
| 曲吡那敏 | 0.06 | 0.03 | 0.091 | 0.052 | - | - |
| 氯苯那敏 | 0.05 | 0.03 | 0.111 | 0.052 | 8.06 | 8.34 |
| 丁卡因 | 0.02 | 0.03 | 0.139 | 0.052 | 27.78 | 28.56 |
| 异丙嗪 | 0.02 | 0.02 | 0.095 | 0.074 | 7.05 | 7.24 |
| 西替利嗪 | 0.02 | 0.01 | 0.135 | 0.072 | 5.47 | 5.59 |

参考文献

1. Gratzfeld-Huesgen, A. Transferring methods to the Agilent 1290 Infinity LC using Intelligent System Emulation Technology (ISET) – Analysis of metoclopramide hydrochloride and its impurities (通过智能系统模拟技术 (ISET) 将盐酸甲氧氯普胺及其杂质的分析方法转移到 Agilent 1290 Infinity 液相色谱仪), 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 5990-9692EN, 2014
2. 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 G4220-90313, 2015