

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

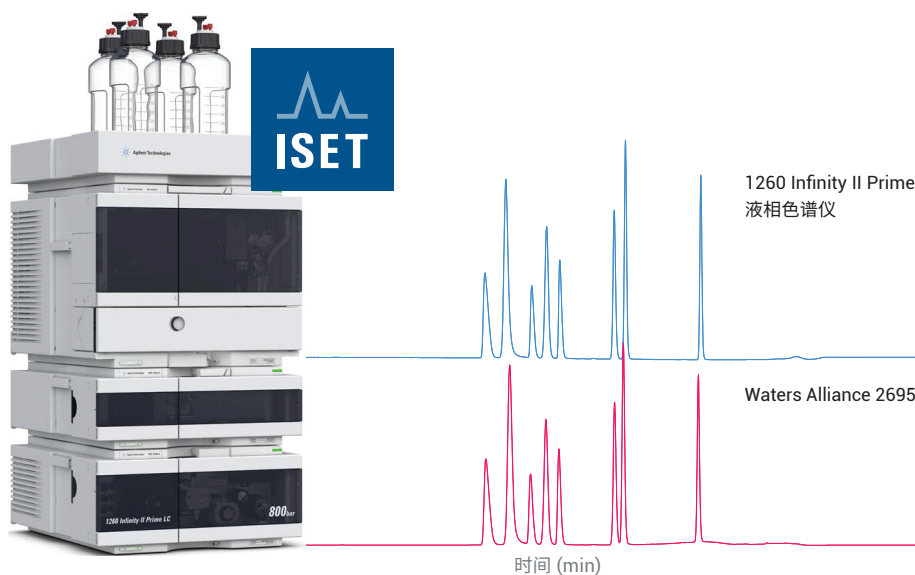
模拟 Waters Alliance 液相色谱仪对甲氧氯普胺及其杂质进行分析

作者

Melanie Metzloff
安捷伦科技公司

摘要

仪器间方法转移对很多行业来说都是一个至关重要的问题，受监管的制药行业中更是如此。安捷伦智能系统模拟技术 (ISET) 有利于在常规液相色谱系统与安捷伦 UHPLC 系统之间实现分析方法的无缝转移。本应用简报展示了使用 ISET 将分析方法从 Waters Alliance 2695 液相色谱仪直接转移到 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪的过程。采用上述两种系统对甲氧氯普胺及其杂质进行分析。对不同实验中的保留时间与分离度进行评估与比较。



前言

从常规 HPLC 系统到 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪等 UHPLC 系统的分析方法转移，对很多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。改变成熟的分析方法需要进行费时又昂贵的重新验证。1260 Infinity II Prime 液相色谱仪能够通过 ISET 对 Waters Alliance 2695 液相色谱仪等传统液相色谱系统进行模拟¹。

多数液相色谱方法中都使用线性溶剂强度梯度。然而，Alliance 2695 液相色谱仪能够提供不同的梯度曲线，例如凹形和凸形的梯度曲线。启用了 ISET 的 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪可以模拟这些梯度曲线。

本应用简报介绍了对一种止吐药物甲氧氯普胺及其七种不同杂质的分析。使用 Waters Alliance 2695 液相色谱仪以及凹线梯度对药物混合物进行分离。再用 ISET 将分析方法进一步转移到 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪。对两系统得到的保留时间与分离度进行评估和比较。

实验部分

仪器

采用以下仪器对甲氧氯普胺及其杂质进行分析：

配备双波长吸收检测器 VWD 2487 的 Waters Alliance 2695 高效液相色谱系统
Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪：

- Agilent 1260 Infinity II 全能泵 (G7104C)
- Agilent 1260 Infinity II 样品瓶进样器 (G7129C)，配备集成式样品冷却 (选件 #100) 以及集成式柱温箱 (6 μ L 加热器；选件 #066)
- Agilent 1260 Infinity II 二极管阵列检测器 WR (G7115A)，配备一个标准 10 mm 流通池 (G1315-60022)

软件

Agilent OpenLab CDS 2.2 (M8413A)，使用 OpenLab CDS 2.2 控制 Waters Alliance 2695 液相色谱仪，安装 Waters DP 2017R2。

样品

实验中使用下列化合物：

- 盐酸甲氧氯普胺
- **杂质 B**：4-乙酰氨基-5-氯-2-甲氧基苯甲酸甲酯
- **杂质 C**：4-氨基-5-氯-2-甲氧基苯甲酸
- **杂质 D**：4-乙酰氨基-2-甲氧基苯甲酸甲酯
- **杂质 F**：4-氨基-5-氯-N-[2-(二乙氨基)乙基]-2-羟基苯甲酰胺
- **杂质 G**：N'-(4-氨基-5-氯-2-甲氧基苯甲酰基)-N,N-二乙基-1,2-乙二胺-N-氧化物
- **杂质 H**：4-乙酰氨基-2-羟基苯甲酸
- **杂质 9**：4-氨基-2-甲氧基苯甲酸甲酯

每种化合物用 100% 乙醇溶解至 2 mg/mL 的浓度，再进一步用水稀释至 20 ng/ μ L 的最终浓度。

化学品

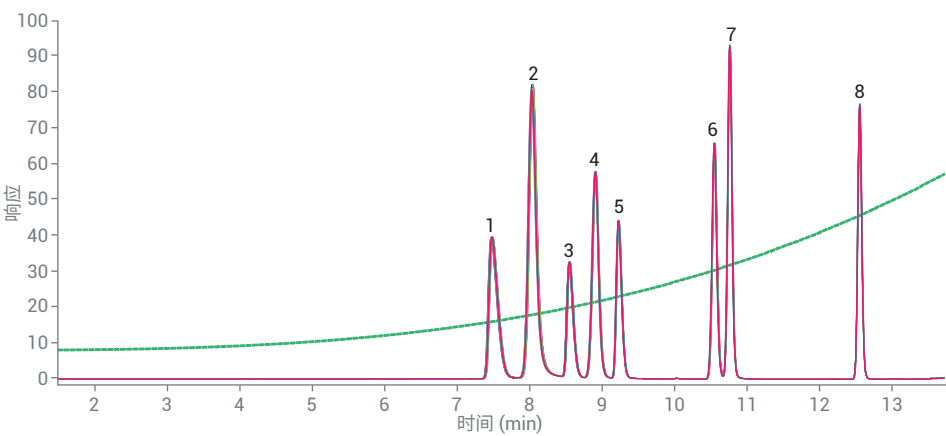
所有试剂均为液相色谱级。新制超纯水产自配置 0.22 μ m 膜式终端过滤器 (Millipak) 的 Milli-Q Integral 水纯化系统。乙腈购自 Merck (Darmstadt, Germany)，甲酸 (FA) 购自 VWR (Darmstadt, Germany)。甲氧氯普胺购自 Sigma-Aldrich (Taufkirchen, Germany)，甲氧氯普胺杂质购自 LGC Standards (Teddington, United Kingdom)。

结果与讨论

采用常规分析方法在 Waters Alliance 2695 液相色谱仪上，应用凹线梯度以及填充 5 μm 填料的 4.6 × 150 mm 色谱柱对甲氧氯普胺及其杂质进行分析。图 1 显示了 10 次连续运行的叠加色谱图，并将相应的保留时间与分离度列于表中。

表 1. 甲氧氯普胺及其杂质分析的色谱参数

参数	值
色谱柱	Agilent ZORBAX StableBond C18, 4.6 × 150 mm, 5 μm (部件号 883975-902)
溶剂	A) 0.1% 甲酸水溶液 B) 0.1% 甲酸乙腈溶液
梯度	0 min – 8% B 14 min – 66% B; 曲线 8 14.1 min – 8% B; 曲线 6
停止时间	18 min
流速	2 mL/min
进样	进样量: 10 μL, 进样针清洗 3 s (60% 乙腈水溶液)
样品温度	8 °C
柱温	25 °C
DAD	270/4 nm, 参比波长关闭, 5 Hz

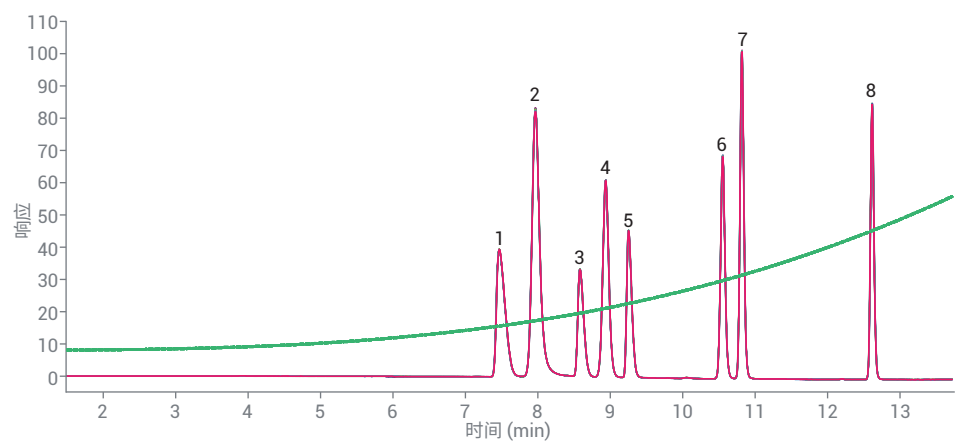


编号	化合物	RT (min)	RSD RT (%)	分离度
1	杂质 F	7.50	0.12	–
2	杂质 H	8.05	0.12	2.58
3	甲氧氯普胺	8.57	0.07	2.84
4	杂质 9	8.93	0.07	2.16
5	杂质 G	9.24	0.05	2.08
6	杂质 C	10.57	0.04	9.93
7	杂质 D	10.78	0.03	1.75
8	杂质 B	12.57	0.01	16.46

图 1. 甲氧氯普胺及其杂质的分析。在 Waters Alliance 2695 液相色谱系统上采集连续 10 次运行的叠加色谱图。色谱图中的绿色曲线表示溶剂比 B

将分离甲氧氯普胺及其杂质的分析方法进一步转移到启用了 ISET 的 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪。图 2 显示了得到的叠加色谱图以及相应的保留时间和分离度。通过在 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪上启用 ISET，凹线和凸线梯度曲线均可实现。OpenLab CDS 和 ChemStation 中，11 个不同的梯度图所用的编号与 Waters 的编号相同。在这些实验中，使用了曲线 8（凹线）和曲线 6（线性）。

采用 ISET 将分析方法转移至 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪时，能够获得与 Alliance 2695 液相色谱仪生成的色谱图高度相似的结果。图 3 显示了分别在 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪和 Alliance 2695 液相色谱仪采集的色谱图对比。



编号	化合物	RT (min)	RSD RT (%)	分离度
1	杂质 F	7.48	0.02	—
2	杂质 H	7.98	0.05	2.38
3	甲氧氯普胺	8.59	0.01	3.58
4	杂质 9	8.95	0.01	2.29
5	杂质 G	9.26	0.03	2.19
6	杂质 C	10.56	0.03	10.51
7	杂质 D	10.83	0.01	2.46
8	杂质 B	12.63	0.01	18.93

图 2. 甲氧氯普胺及其杂质的分析。在 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪上采集连续 10 次运行的叠加色谱图。色谱图中的绿色曲线表示溶剂比 B

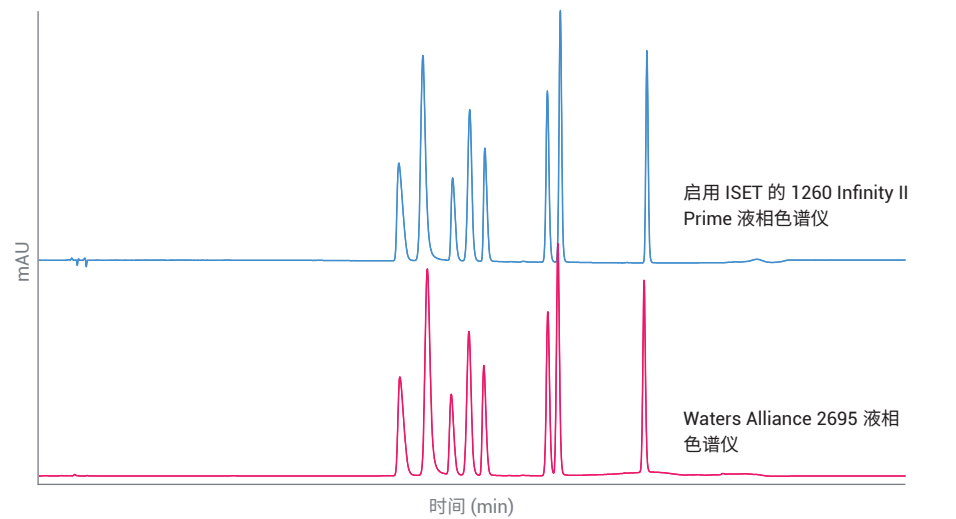


图 3. 在启用了 ISET 的 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪上分析甲氧氯普胺及其杂质采集的叠加色谱图，以及在 Waters Alliance 2695 液相色谱仪上分析甲氧氯普胺及其杂质采集的色谱图

两种系统上保留时间表现出优异的一致性，最大偏差约为 0.9%，远低于 < ±5% 的规定保留时间偏差²。此外，还测量了分离度偏差。除杂质 H 外，使用 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪运行时多数峰的分离度都更优异。表 2 显示了保留时间和分离度偏差的详细信息。

结论

ISET 支持将传统方法由常规 HPLC 无缝转移到 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪。通过启用 ISET 可以模拟 Waters Alliance 液相色谱仪，即使运行凹线和凸线梯度也能实现。

本应用简报将甲氧氯普胺及其杂质分析方法从 Waters Alliance 2695 液相色谱仪转移至 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪。保留时间和分离度都呈现了优异的相关性。此外，多数峰的分离度均有所增加。本应用简报清晰表现出 ISET 的简便易用性。无需改动仪器或改变分析方法即可在 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪上实现对甲氧氯普胺及其杂质的分析。

表 2. Waters Alliance 2695 液相色谱仪与 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪的保留时间与分离度比较

化合物	RT 偏差 (min)	RT 偏差 (%)	分离度偏差	分离度偏差 (%)
杂质 F	-0.02	-0.27	-	-
杂质 H	-0.07	-0.90	-0.20	-8.28
甲氧氯普胺	0.02	0.23	0.73	20.48
杂质 9	0.02	0.22	0.13	5.58
杂质 G	0.02	0.23	0.12	5.25
杂质 C	-0.01	-0.09	0.58	5.51
杂质 D	0.05	0.46	0.71	28.76
杂质 B	0.06	0.48	2.47	13.06

参考文献

1. Gratzfeld-Huesgen, A. Agilent 1290 Infinity Binary LC System with ISET – Emulation of the Waters Alliance 2695 LC system analyzing β – blockers (启用 ISET 的 Agilent 1290 Infinity 二元液相色谱系统 — 模拟 Waters Alliance 2695 液相色谱系统分析 β -阻滞剂), 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 5991-1603EN, **2014**
2. Agilent InfinityLab LC with ISET (启用 ISET 的 Agilent Infinity 液相色谱仪), 安捷伦科技公司用户手册, 部件号 G7120-90310, **2017**

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。