

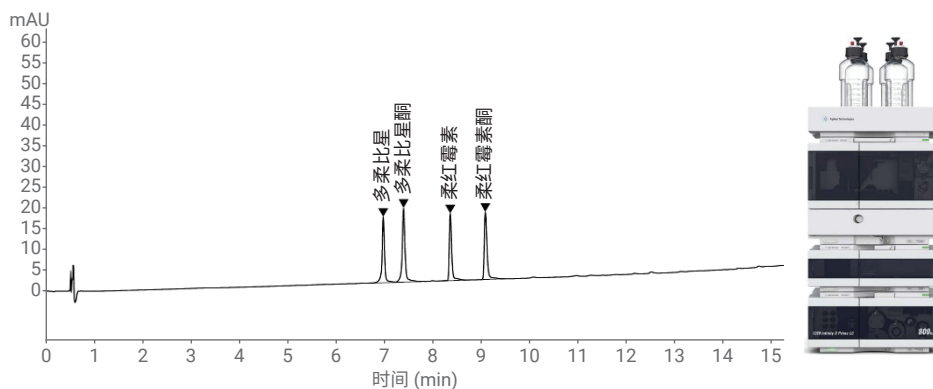
使用 Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪根据 USP 专论方法分析 盐酸多柔比星

作者

Kriti Tyagi 和
Ansuman Mahato
安捷伦科技有限公司

摘要

本应用简报介绍了使用 Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱系统，根据在亚 2 μm 色谱柱上开发的最新药典方法对盐酸多柔比星进行分析。美国药典 (USP) 正致力于实现其纲要中专论方法的现代化，以提高实验室的分析效率。近期在 USP 39 中发表的基于 UHPLC 平台开发的盐酸多柔比星专论方法就是其中之一。1260 Infinity II Prime 液相色谱系统具有高达 800 bar 的压力范围、350 μL 驻留体积并采用安捷伦智能系统模拟技术 (ISET)，可用于亚 2 μm 级方法。可轻松实现常规液相色谱系统分析方法的无缝转移，例如 Agilent 1200 Infinity 系列液相色谱仪到 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪。



前言

盐酸多柔比星是最常用的广谱抗癌化疗药物之一。在过去的专论方法中，经典的多柔比星分析方法是基于 L13 填料开发的。这需要使用 pH 值低于色谱柱耐受阈值的离子对试剂。这一专论方法由于方法条件不兼容、运行时间长，并且缺乏有机杂质清除程序，因此需要进行现代化。另一个目的是引入一种与质谱兼容的 UHPLC 方法。相比而言，最新的方法在采用 L1 填料的亚 2 μm 色谱柱上开发，并在 UHPLC 系统上运行。1260 Infinity II Prime 液相色谱仪是一款功能强大且稳定可靠的系统，同时具备 HPLC 和 UHPLC 功能。它可以满足从常规应用到挑战性应用（要求在保留时间 (RT) 和峰面积 RSD 方面具备强大性能）的各种需求。Agilent 1260 Infinity II 全能泵可耐受 800 bar 反压，有利于使用亚 2 μm 色谱柱进行分析，并提高实验室分析效率。

本应用简报展示了 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪在通过新的药典方法和 RS 方法分析盐酸多柔比星中的稳定性能。

实验部分

仪器

- Agilent 1260 Infinity II 全能泵 (G7104C)
- Agilent 1260 Infinity II Multisampler (G7167A)
- Agilent 1260 Infinity II 大容量柱温箱 (G7116A)
- Agilent 1260 Infinity II 二极管阵列检测器 HS (G7117C)

溶剂和样品

所有试剂均为液相色谱级，购自 J. T. Baker。三氟乙酸 (TFA) 为 LC/MS 级，购自 Sigma-Aldrich。新制超纯水产自配置 0.22 μm 膜式终端过滤器 (Millipak) 的 Milli-Q Integral 水纯化系统。

软件

Agilent OpenLab CDS 工作站 2.3.0 版 (M8413AA)

表 1. 色谱条件

参数	值
色谱柱	2.1 mm \times 10 cm, 1.7 mm 填料 L1
流动相	A) 将 1.0 mL TFA 转移至 1 L 水中制得的 0.1% TFA 溶液 B) 乙腈 (80%)、甲醇 (20%) 和 TFA (0.1%)
梯度	时间 (min) %B 0.0 10 15.0 75 16.0 75 16.1 10 18.0 10
流速	0.5 mL/min
进样量	2 μL
柱温	35 $^{\circ}\text{C}$
检测	254 nm

样品前处理

检测

- **稀释剂:** 溶液 A 和 B (50:50) (注: 含有多柔比星的溶液应避免光保存)
- **系统适用性溶液:** 含有 USP 盐酸多柔比星 RS 和 USP 盐酸表柔比星 RS 各 0.1 mg/mL 的稀释剂
- **标准溶液:** 含有 0.1 mg/mL USP 盐酸多柔比星 RS 的稀释剂
- **样品溶液:** 含有 0.1 mg/mL 盐酸多柔比星的稀释剂

相关物质

标准溶液: 含有 USP 盐酸多柔比星 RS、USP 多柔比星酮 RS、USP 盐酸佐柔比星 RS 和 USP 柔红霉素酮 RS 各 0.002 mg/mL 的稀释剂

样品溶液: 含有 0.4 mg/mL 盐酸多柔比星的稀释剂

结果与讨论

检测

根据表 1 所示的 USP 方法色谱条件进行多柔比星 RS 和检测方法分析。为了评估峰面积和保留时间精度，对多柔比星标准品进行 6 次连续进样。进样系统适用性溶液，检查多柔比星和表柔比星之间的分离度(图 1)。

根据最新的 USP 章节 <621> 指南，该检测方法 5 次标准品重复进样的 %RSD 限值应 < 0.73%。根据 6 次连续运行计算精度值。盐酸多柔比星的 RT RSDs 和峰面积 RSDs 均十分出色，远低于 0.73% 的规定限值。为了显示 1260 Infinity II Multisampler 的精度 (图 2)，对多柔比星标准品进行了 25 次连续进样。25 次标准品重复进样获得的峰面积 %RSD 为 0.07%，RT %RSD 为 0.13%。

表 2. USP 专论方法指标与实验结果的比较

SST 标准	预期值	实测值	合格/不合格
表柔比星 RRT	1.05 min	1.05 min	合格
分离度	NLT 1.5	2.9	合格
峰面积 %RSD	NMT 0.73	0.11	合格
RT %RSD	NMT 0.73	0.14	合格

RRT: 相对保留时间; NLT: 不低于; NMT: 不高于

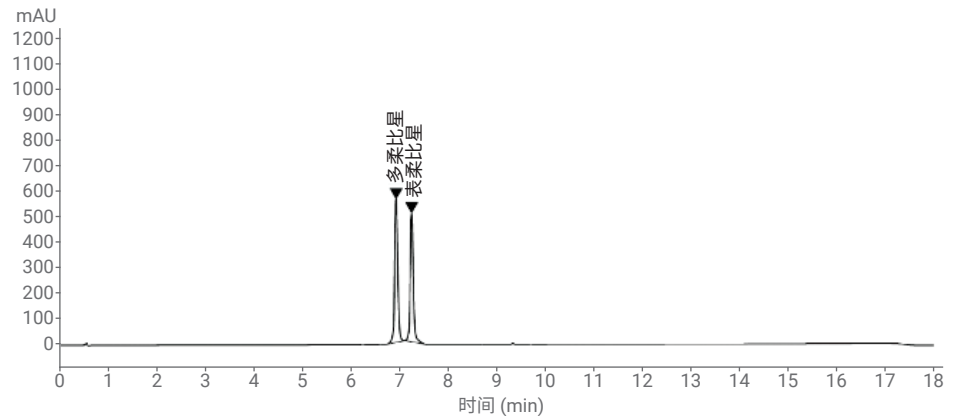


图 1. 通过进样系统适用性溶液观察多柔比星和表柔比星之间的分离度

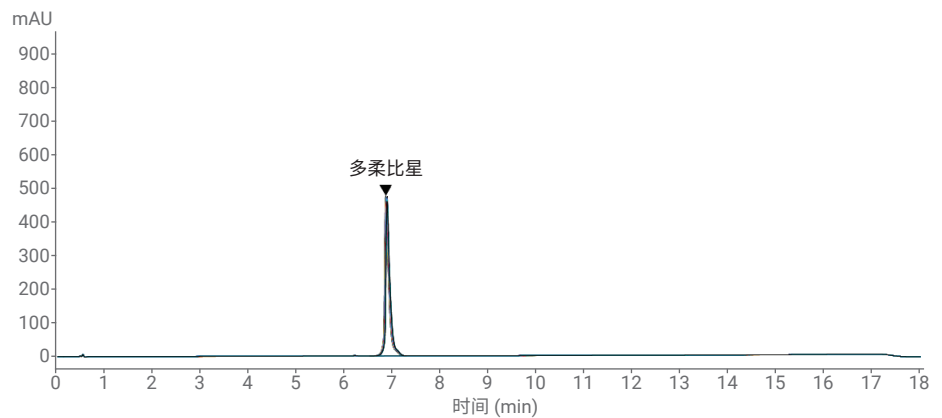


图 2. 用于评估重现性的 25 次进样叠加

相关物质

按表 1 中 USP 专论所述的色谱条件进行相关物质检测。对多柔比星 RS 混标（含有多柔比星、多柔比星酮、柔红霉素和柔红霉素酮）（图 3）进行 6 次重复进样以评估重现性。四种化合物均获得出色的 %RSD（表 3）。此外，还对多柔比星样品溶液进行了进样，检测到多柔比星酮、柔红霉素和柔红霉素酮三种已知杂质（图 4）。

结论

本应用简报展示了使用 1260 Infinity II Prime 液相色谱系统对多柔比星进行检测和相关物质分析。使用亚 2 μm 色谱柱需要 UHPLC 系统。1260 Infinity II Prime 液相色谱系统满足这一需求，可适应 < 800 bar 的方法反压。1260 Infinity II Prime 液相色谱仪是各个分析实验室的理想之选，可作为带 ISET 功能的常规液相色谱仪。也可以在 UHPLC 模式下使用，压力范围高达 800 bar。

参考文献

- 3602 Official Monographs/Doxepin – USP 39
- Physical Tests/<621> Chromatography 431 – USP 38

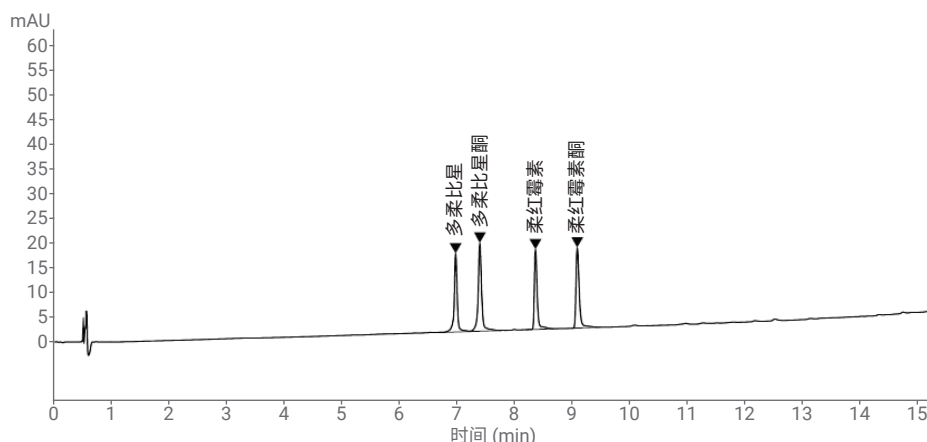


图 3. 多柔比星 RS 混标

表 3. RT 和峰面积 %RSD

	RT RSD (%)	峰面积 RSD (%)	分离度
多柔比星	0.09	0.54	-
多柔比星酮	0.07	0.78	4.74
柔红霉素	0.04	0.2	8.05
柔红霉素酮	0.03	0.31	10.85

可接受标准：RSD 不高于 5%。

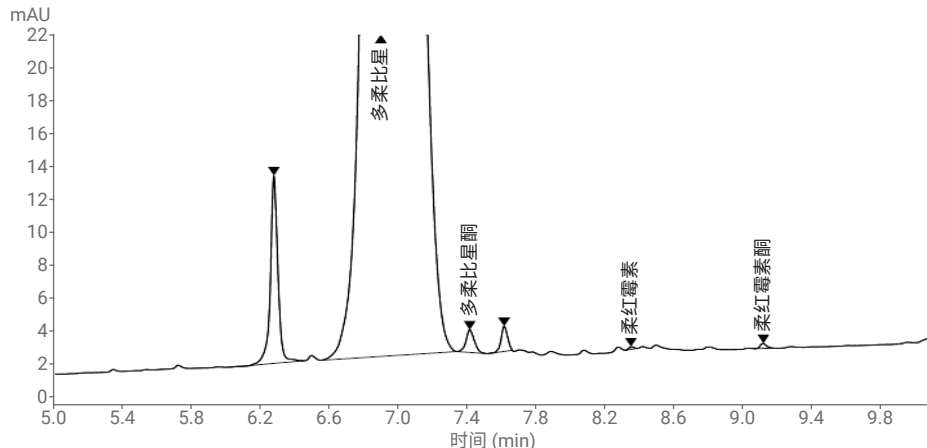


图 4. 多柔比星进样

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，2018
2018 年 11 月 1 日，中国出版
5994-0316ZHCN

 **Agilent**
Trusted Answers