



ISSET 搭載の Agilent 1290 Infinity II LC による Agilent 1100 シリーズバイナリ LC の 三環系抗うつ薬分析のエミュレーション

アプリケーションノート

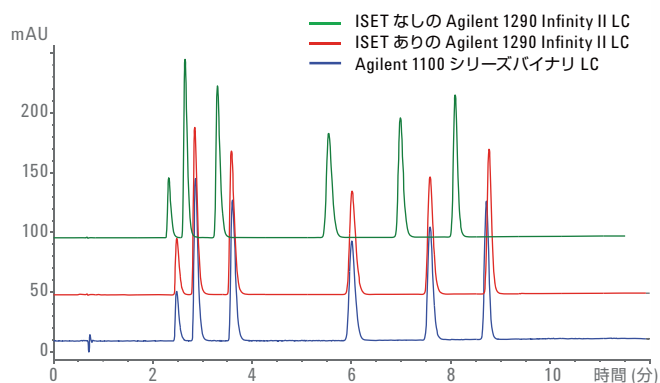
低分子医薬品

著者

Sonja Schneider
Agilent Technologies, Inc.
Waldbronn, Germany

概要

Agilent 1290 Infinity II LC に搭載されたアジレントのインテリジェントシステムエミュレーション技術 (ISSET) は、Agilent 1100 シリーズバイナリ LC などの従来の HPLC システムからのメソッド移管を容易にします。このアプリケーションノートでは 6 種類の三環系抗うつ薬の分析における ISSET の利点を解説します。ISSET が無効の 1290 Infinity II LC とは対照的に、ISSET が有効の 1290 Infinity II LC は 99 % の一致を可能にしました。



Agilent Technologies

はじめに

アジレントのインテリジェントシステムエミュレーション技術 (ISET) は、異なる液体クロマトグラフィーシステムのエミュレーションを提供し、ある機器から別の機器へのシームレスなメソッド移管を実現します^{1, 2}。元の LC メソッドを変えずにシームレスにメソッドを移管できます。例えば、イソクラティックステップを追加して同じクロマトグラフィー結果を得ることができます。ユーザーは機器や元のメソッドを修正することなく従来のメソッドを実行できるので、Agilent 1290 Infinity II LC は他の HPLC および UHPLC メソッドを実行できる真に汎用性のあるシステムとなります。しかし、ユーザーは 1290 Infinity II LC の広いパワーレンジと優れた性能がもたらす利点をオプションとして得ることができます。

三環系抗うつ薬はうつ病に初めて使用された精神安定剤の 1 つです。三環系抗うつ薬は環状構造を 3 つ持つ特徴的な化学構造にちなんで名づけられています。すべての成分に気分を高揚させる効果があり 2 週間から 3 週間後に効き目を認識できるようになります。三環系抗うつ薬は神経伝達物質のセロトニン、ノルアドレナリン、ドーパミンの脳のニューロンへの回収を抑制します。一般的に、うつ病患者の脳ではこれらの神経伝達物質の濃度が低すぎます。三環系抗うつ薬の使用後に有効性が高まることで不足した神経伝達物質のバランスをとることができます。

三環系抗うつ薬の分析は、臨床化学においても法医学毒物学においても重要です。高速液体クロマトグラフィー (HPLC) は一般的に血漿、血液、尿の分析および定量に使用されている堅牢で信頼性の高いツールです。

このアプリケーションノートでは 6 種類の三環系抗うつ薬の混合物の分離を説明します。元のメソッドを変更しなくても 1100 シリーズバイナリ LC から 1290 Infinity II LC にメソッドを簡単に移管でき、ISET 機能を有効にするだけで同じリテンションタイムが得られることを示します。

実験方法

使用機器

すべての実験は、次のモジュールで構成された 1100 Series バイナリ LC と 1290 Infinity II LC で実行しました。

Agilent 1100 シリーズバイナリ LC:

- Agilent 1100 バイナリポンプ (G1312A)
- Agilent 1100 シリーズオートサンブラ (G1313A)
- Agilent 1100 カラムコンパートメント (G1316A)
- Agilent 1100 ダイオードアレイ検出器 (G1315B)

Agilent 1290 Infinity II LC:

- Agilent 1290 Infinity II ハイスピードポンプ (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II マルチサンブラ (G7167B)
- Agilent 1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116B)
- Agilent 1290 Infinity II ダイオードアレイ検出器 (G7117B)

クロマトグラフィー条件

表 1. クロマトグラフィー条件

パラメータ	値
移動相	A) 炭酸水素アンモニウム緩衝液 10 mM、pH 8 B) メタノール
流量	1 mL/min
グラジエント	0 分、60 % B 5 分、68 % B 10 分、90 % B
ストップタイム	12 分
ポストタイム	5 分
ニードル洗浄モード	標準洗浄
注入量	1 µL
カラム温度	50 °C
検出	254/10 nm、リファレンス 360/100 nm、0.025 分未満 (0.5 秒のレスポンスタイム)、10 Hz

カラム

Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18、
4.6 × 75 mm、3.5 µm (p/n 966967-902)

ソフトウェア

LC および LC/MS システム用 Agilent OpenLab CDS ChemStation Edition、Rev. C.01.07 [ISET 4 を使用した場合 22]

サンプル

6 種類の抗うつ薬の混合 (溶出順): プロトリプチリン、トリミブラミン、ノルトリプチリン、ドキシセピン、イミブラミン、アミトリプチリン。

化学薬品

すべての溶媒は LC グレードのものでした。メタノールはドイツの Merck から購入しました。作りたての超純水は、LC-Pak Polisher および 0.22 µm メンブレンユースポイントカートリッジ (Millipak) を備えた Milli-Q Integral システムで生成しました。炭酸水素アンモニウムおよび三環系抗うつ薬は米国、ミズーリ州、セントルイスの Sigma-Aldrich から購入しました。

結果と考察

三環系抗うつ薬の分析には、2002 年のアプリケーションノート³ にすでに紹介されている従来のメソッドを用いました。このメソッドには、3.5 μm 粒子を充填した従来の HPLC カラム、4.6 $\times$ 75 mm が含まれていました。このメソッドを、1100 シリーズバイナリ LC、ISET なしの 1290 Infinity II LC、ISET ありの 1290 Infinity II LC で使用しました。通常、従来の機器から UHPLC システムへのメソッド移管は、ミキシング挙動の違いや最新 UHPLC システムの格段に向上した低ディレイおよびトランジションボリュームが原因で困難なものとなっています (図 1)。6 種類の三環系抗うつ薬のリテンションタイムは 1100 シリーズバイナリ LC のリテンションタイムと比較すると 1290 Infinity II LC では短いことが示されました。この効果は他のすべての最新 UHPLC 機器でも同様に示されるはずで

この問題の解決には 2 つの手法が一般的に適用されます。

- 1. グラジエント開始時でのインクラティックステップの追加
- 2. 特別なチューブの追加によるディレイボリュームの増大

どちらのメソッドでもより小さなディレイボリュームを補正できますが、ミキシング性能やトランジションボリュームは影響を受けません。補正が何もない場合、6 つすべての分析対象物でリテンションタイムのシフトは 6 ~ 9 % の間でした (表 2)。図 2 は 1100 シリーズバイナリ LC から ISET を有効および無効にした 1290 Infinity II LC へのメソッド移管を示しています。

ISET を有効にした後はリテンションタイムは元のクロマトグラムのリテンションタイムと一致しました。ISET が無効の 1290 Infinity II でのリテンションタイムとは異なりすべての分析成分で偏差は 1 % 未満でした (表 2 の右の列)。シフトは 5 % 未満であれば、インテリジェントシステムエミュレーション技術⁴に適合する許容範囲とみなされます。

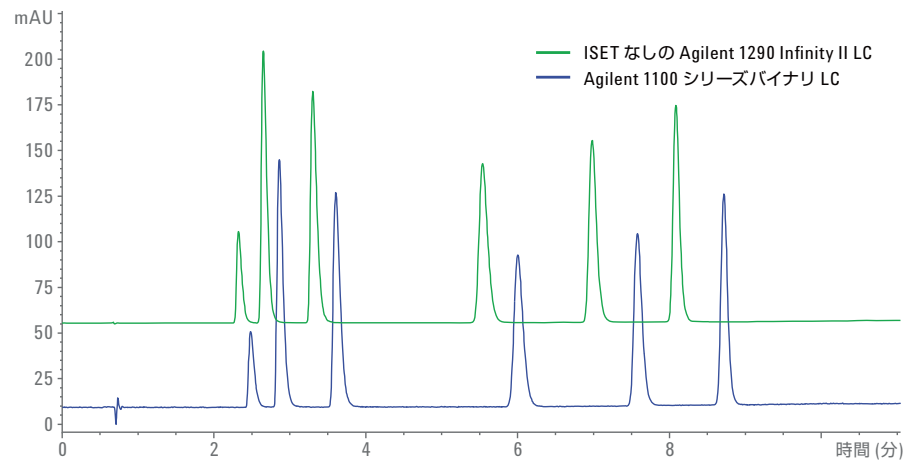


図 1. Agilent 1100 シリーズバイナリ LC から ISET が有効でない Agilent 1290 Infinity II LC システムへの 6 種類の三環系抗うつ薬分離の従来のメソッドの移管

表 2. Agilent 1100 シリーズバイナリ LC および Agilent 1290 Infinity II LC でのリテンションタイムと偏差

	Agilent 1100 シリーズバイナリ LC	Agilent 1290 Infinity II LC			
	RT (分)	ISET なしの RT (分)	ISET ありの RT (分)	ISET なしの 偏差 (%)	ISET ありの 偏差 (%)
プロトリプチリン	2.483	2.324	2.481	6.40	0.08
トリミプラミン	2.861	2.651	2.839	7.34	0.77
ノルトリプチリン	3.605	3.303	3.571	8.38	0.94
ドクセピン	6.004	5.541	5.995	7.71	0.15
イミプラミン	7.578	6.984	7.561	7.84	0.22
アミトリプチリン	8.716	8.086	8.758	7.23	-0.48

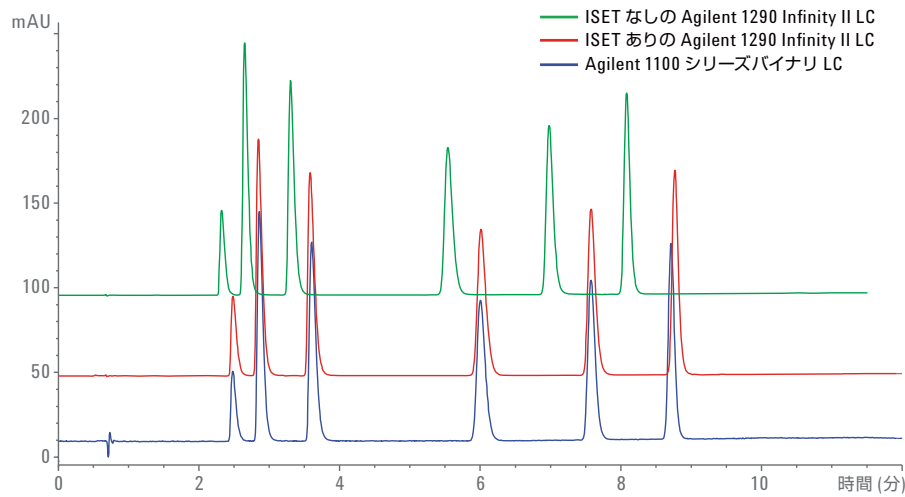


図 2. Agilent 1100 シリーズバイナリ LC システムでの従来のメソッド、ISET ありの Agilent 1290 Infinity II LC システム、ISET なしの Agilent 1290 Infinity II LC システムのクロマトグラムの重ね表示。

ISET が有効な 1290 Infinity II LC で得られるリテンションタイムおよび面積の精度は、1100 シリーズ LC の精度よりも格段に高くなりました (表 3)。

結論

ISET 機能付の Agilent 1290 Infinity II LC 機器による他の HPLC 機器および UHPLC 機器のエミュレーションにより、ユーザーは既存の HPLC または UHPLC メソッドを機器やメソッドを修正することなく実行でき、同一のクロマトグラムを得ることができます (リテンションタイムは 99 % 以上一致)。このことは、Agilent 1100 シリーズバイナリ LC および ISET が有効の Agilent 1290 Infinity II LC で実行した従来のメソッドによる 6 種類の三環系抗うつ薬の分析で示されました。さらに、リテンションタイムおよび面積の精度が大幅に向上しました。

表 3. Agilent 1100 シリーズバイナリ LC と Agilent 1290 Infinity II LC での RT と面積の精度の比較。

	RSD RT (%)		RSD 面積 (%)	
	Agilent 1100 シリーズバイナリ LC	Agilent 1290 Infinity II LC	Agilent 1100 シリーズバイナリ LC	Agilent 1290 Infinity II LC
プロトリプチリン	0.091	0.068	0.072	0.158
トリミブラミン	0.106	0.049	0.238	0.127
ノルトリプチリン	0.09	0.009	0.043	0.101
ドキシセピン	0.073	0.007	0.262	0.145
イミプラミン	0.057	0.007	0.307	0.137
アミトリプチリン	0.032	0.006	0.222	0.132

参考文献

1. Gratzfeld-Huesgen, A., Agilent 1290 Infinity Binary LC with ISET – Emulation of the Waters Alliance 2695 LC System Analyzing Analgesics, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-2792EN, **2013**.
2. Gratzfeld-Huesgen, A., Seamless instrument-to-instrument method transfer from an Agilent 1100/1200 Series LC to an Agilent 1290 Infinity LC using Intelligent System Emulation Technology (ISET), *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5990-9113EN, **2011**.
3. Huber, U., Analysis of Tricyclic Antidepressant Drugs by HPLC, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5988-7626EN, **2002**.
4. Agilent 1290 Infinity II with ISET, *Agilent Technologies User Manual*, part number G4220-90314, **2015**.

www.agilent.com/chem/jp

本資料に記載の情報は、予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2015
Published in Japan, October 1, 2015
5991-6289JAP



Agilent Technologies