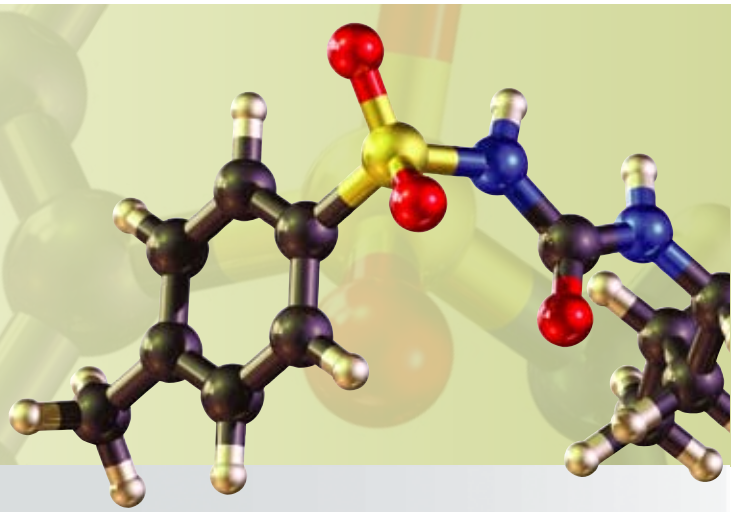
[技术摘要]

使用ACQUITY UPC^{2}系统测定甲糖宁(tolbutmide)色谱含量



这种新型的超高效合相色谱(UPC^2™)方法得到的数据与目前的HPLC方法相当，甚至更好，速度是目前的HPLC方法10倍，且消耗的溶剂更少。

目的

利用沃特世(Waters®)ACQUITY UPC^2™系统，成功地将测定甲苯磺丁脲药物含量的美国药典正相HPLC方法转换为超临界流体色谱方法。

背景

超临界液体色谱(SFC)是一种正相色谱分离技术，其使用CO_2作为主要流动相，通常使用极性溶剂(如MeOH)作为改性剂。由于SFC的原理与HPLC的原理相似，因此，目前的方法应该能够转换成SFC方法，从而减少溶剂的用量和处理，降低每次分析的成本，同时增强环境方面的保护。转换成SFC的色谱方法必须保持数据质量，而且必须得到与目前正相色谱方法一致的实验结果。目前，美国药典(USP)规定了含有甲糖宁(苯磺酰胺，CAS # 64-77-7)药物的正相HPLC方法。利用4.0 x 300 mm的硅胶柱(L3)进行等度分离，流速1.5mL/min，流动相为475:475:20:15:9的正己烷：水饱和的正己烷溶液：四氢呋喃：冰醋酸的混合溶液，运行时间约为20分钟。如大多数药典中的方法一样，本方法经过验证且可靠。但是，分析过程使用了含有正己烷和四氢呋喃的复杂流动相混合溶剂。出于环保和成本的原因，许多实验室都希望杜绝这些溶剂的使用。

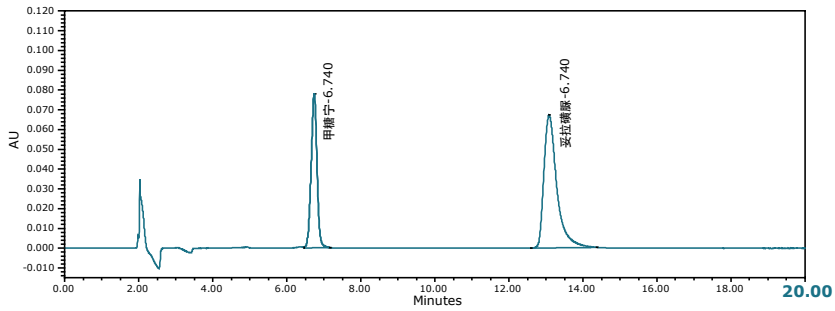


图1. 甲糖宁和妥拉磺脲的正相HPLC分析。

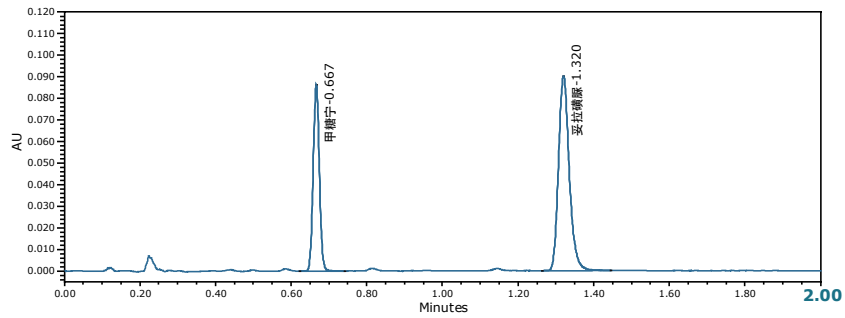


图2. 甲糖宁和妥拉磺脲的ACQUITY UPC^{2}分析。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

解决方案

将甲糖宁与内标物甲糖宁混合，利用目前USP方法制备和分析样品。分析结果与使用ACQUITY UPC^{2}方法得到的结果进行对比。UPC^{2}方法的条件如下：

色谱柱：	ACQUITY UPC^2 BEH, 3.0 x 100 mm，1.7 µm
温 度：	50 °C
流动相：	95% CO2:5%甲醇/异丙醇(1:1)，含 0.2% TFA
流 速：	2.5 mL/min
背 压：	120 Bar/1740 psi
检测器：	UV /PDA，254 nm

目前的正相HPLC方法，获得仍可接受的色谱分离(见图1)，虽然内标物色谱峰拖尾严重(拖尾因子1.65)。由于已经通过了所列出的适应性标准(重复进样的相对标准偏差不超过2.0%；妥拉磺脲和甲糖宁的分离度R不小于2.0)，因此也没有再作进一步的改进。

由新开发的UPC^{2}方法得到的结果，同样符合美国药典适应性的要求(甲糖宁和妥拉磺脲的保留时间RSD值分别为1.2%和0.9%，两个化合物的面积RSD值小于0.90%，n=6)，保持两个目标化合物间分离度(R = ~15)的同时，运行时间大大缩短。内标物妥拉磺脲拖尾现象得到大大改善(拖尾因子1.2)。需要注意的是，利用UPC^{2}从混合物中分离并检测出许多小峰，说明了本方法具有很高的分离效率。本例中，每次正相HPLC分析大约使用29mL正己烷和各少于1mL的四氢呋喃和乙醇。相比之下，UPC^{2}方法中每次进样大约使用0.25mL的甲醇和异丙醇。这说明，通过将正相HPLC方法转换为UPC^{2}方法，可以大大地减少有机溶液的使用。根据目前的溶剂价格，每次正相HPLC分析的成本大约是1.40美元，而每次UPC^{2}分析的成本大约是0.01美元，说明通过将正相HPLC方法转换为UPC^{2}方法可以大大地降低成本。

总结

使用ACQUITY UPC^2，可以成功地将美国药典的HPLC方法转换为UPC^{2}方法。这种新的UPC^{2}方法得到的数据与目前的HPLC方法相当，甚至更好，速度是目前的HPLC方法的10倍，并且消耗的溶剂更少。我们以更快的速度得到高品质的分析数据，使实验室生产率提高，每个样本的分析成本降低。对于希望将目前的正相HPLC方法转化为更高效、更省钱方法的实验室而言，ACQUITY UPC^{2}系统是一种理想的解决方案，同时也增强了健康、安全和环境方面的保护。

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Waters 是沃特世公司的注册商标。ACQUITY UPC^2, UPC^2, UltraPerformance Convergence Chromatography, 和 The Science of What's Possible 是沃特世公司的商标。所有其他商标属于各自的所有者。

©2012 沃特世公司　中国印刷

2012年3月　720004247ZH LL-PDF

沃特斯中国有限公司
沃特世科技（上海）有限公司

北京：010 - 5209 3866
上海：021 - 6156 2666
广州：020 - 2829 6555
成都：028 - 6554 5999
香港：852 - 2964 1800

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676
www.waters.com

001