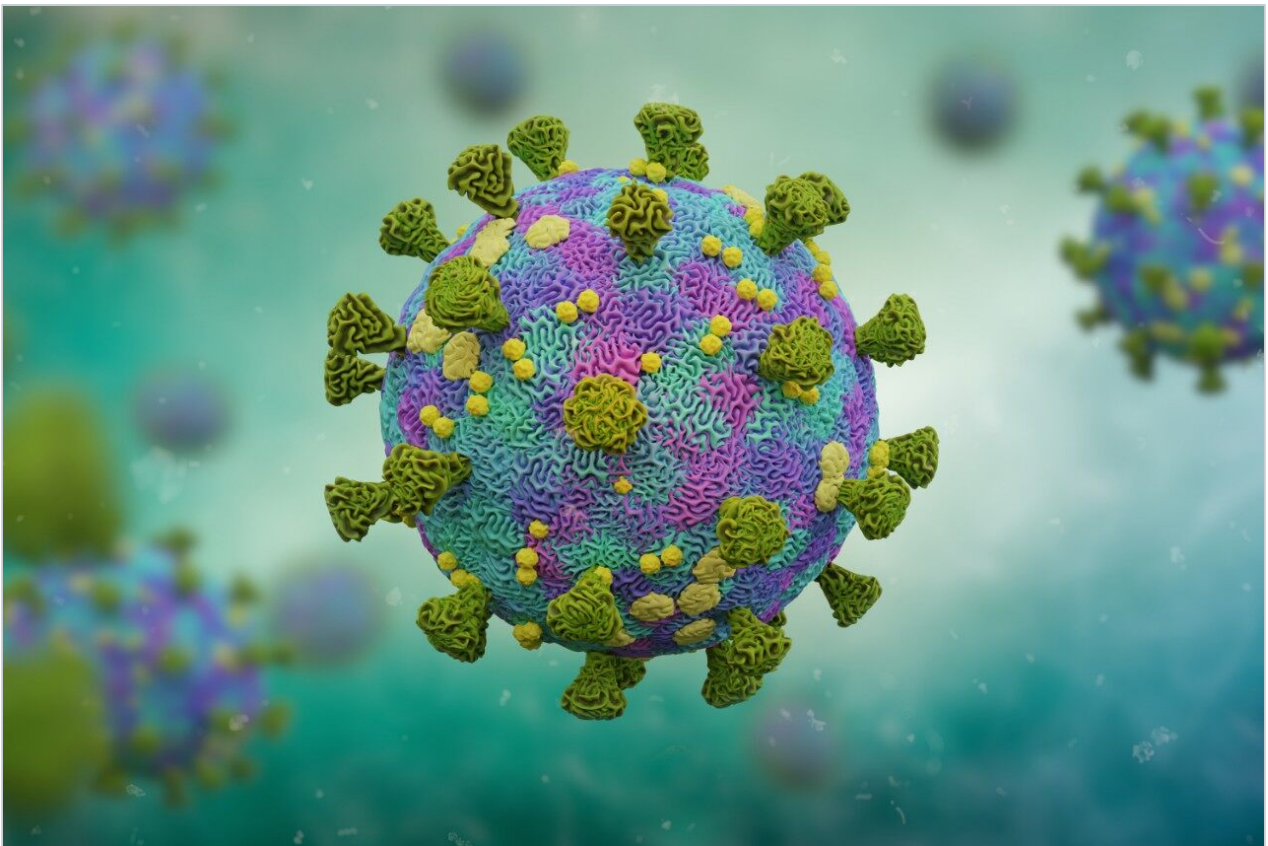


应用纪要

剖析新型冠状病毒病(COVID-19): 使用 Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX混合模式色 谱柱分析阿比朵尔

Bonnie A. Alden, Matthew A. Lauber, Thomas H. Walter

Waters Corporation



摘要

全球COVID-19疫情导致出现了大量着眼于将现有小分子药物改变用途以治疗SARS-CoV-2感染的研究。参与新型冠状病毒研究的人们日益关注原本开发用于治疗 and 预防流感的抗病毒药物。以商品名Arbidol[®]销售的阿比朵尔是目前正在COVID-19临床试验中与其他药物联用的抗病毒药物之一¹。无论阿比朵尔治疗新型冠状病毒的临床结果如何，沃特世利用该药物（含有两个碱性基团）展示了混合模式色谱法的优势。本研究证明，与常规的反相材料相比，使用混合模式固定相能够使阿比朵尔获得更清晰的峰形。

优势

使用Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX色谱图代替C₁₈色谱柱，能够获得：

- 明显更清晰、更对称的阿比朵尔色谱峰
- 阿比朵尔更快流出

简介

混合模式色谱(MMC)技术可成功用于创建以多种保留机制进行分离的方法。Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX色谱柱包含基于亚乙基桥杂化颗粒的混合模式反相/阴离子交换固定相²。该固定相不仅含有C₁₈基团，还拥有叔烷基胺基团，在低于约pH 8的条件下形成携带更多正电荷的表面。相对于常规的反相材料，该携带正电荷的表面可增加阴离子（如离子化酸）的保留，减少阳离子（如质子化碱）的保留。对于阿比朵尔等碱性分析物，携带正电荷的表面还可以改善峰形和上样能力，如之前使用表面带电杂化颗粒(CSH)固定相展示的结果一样³。本应用简报比较了使用Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX色谱柱与常规C₁₈反相色谱柱ACQUITY UPLC HSS T3分析阿比朵尔获得的峰形和峰宽。

实验

使用以下实验条件分析阿比朵尔。

LC条件

LC系统:	ACQUITY UPLC H-Class Bio
检测器:	ACQUITY UPLC PDA检测器
样品瓶:	聚丙烯塑料, 700 μ L
色谱柱:	Atlantis PREMIER BEH C ₁₈ AX, 1.7 μ m, 95 Å, 2.1 \times 50 mm ACQUITY UPLC HSS T3, 1.8 μ m, 100 Å, 2.1 \times 50 mm
柱温:	30 °C
样品:	100 μ g/mL阿比朵尔, 溶于含0.1%甲酸的 50%乙腈溶液中
样品温度:	12 °C
进样体积:	1 μ L
流速:	0.3 mL/min
流动相:	10 mM甲酸铵的 30%乙腈溶液, pH 3.0

结果与讨论

在混合模式色谱中, 通过调节流动相的pH和缓冲液浓度, 对可离子化分析物的选择性可以在很宽的范围内变化。这是使用MMC开发方法时需要考虑的一项重要手段。在使用pH 3的流动相示例中, Atlantis BEH C₁₈ AX固定相表面带有正电荷。相对于常规的反相材料, 该携带正电荷的表面可减少阳离子(例如阿比朵尔的质子化形式)的保留。

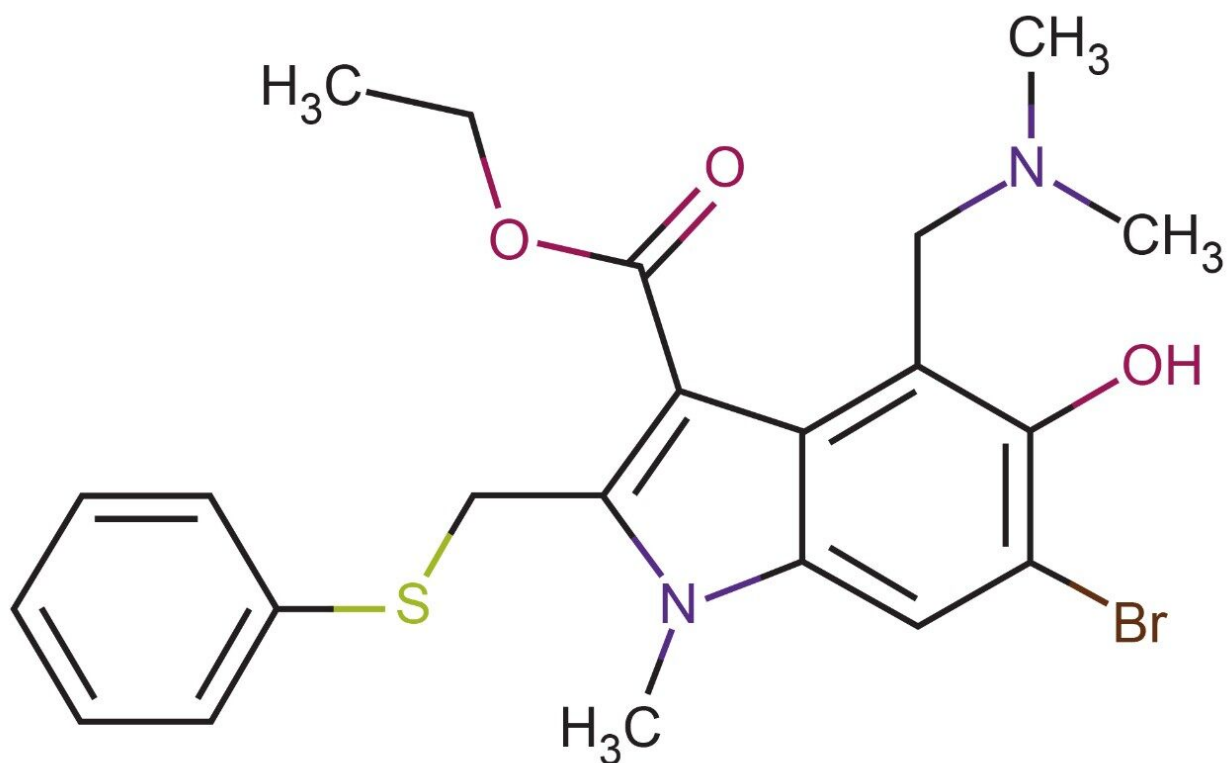


图1.阿比朵尔的结构

<https://www.drugbank.ca/drugs/DB13609> <<https://www.drugbank.ca/drugs/DB13609>>

在两种色谱柱上使用相同的等度色谱条件，发现由于发生离子排斥，带正电荷的阿比朵尔在Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX色谱柱上的保留性较差。在柱上载样量为0.1 μg时，与使用ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱获得的结果相比，利用该混合模式色谱柱还获得了更窄、更对称的峰。在图2所示的色谱图中可以明显看出这些差异。在Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX色谱柱上，阿比朵尔峰宽为6.9 s，而在ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱上，峰宽为59 s。

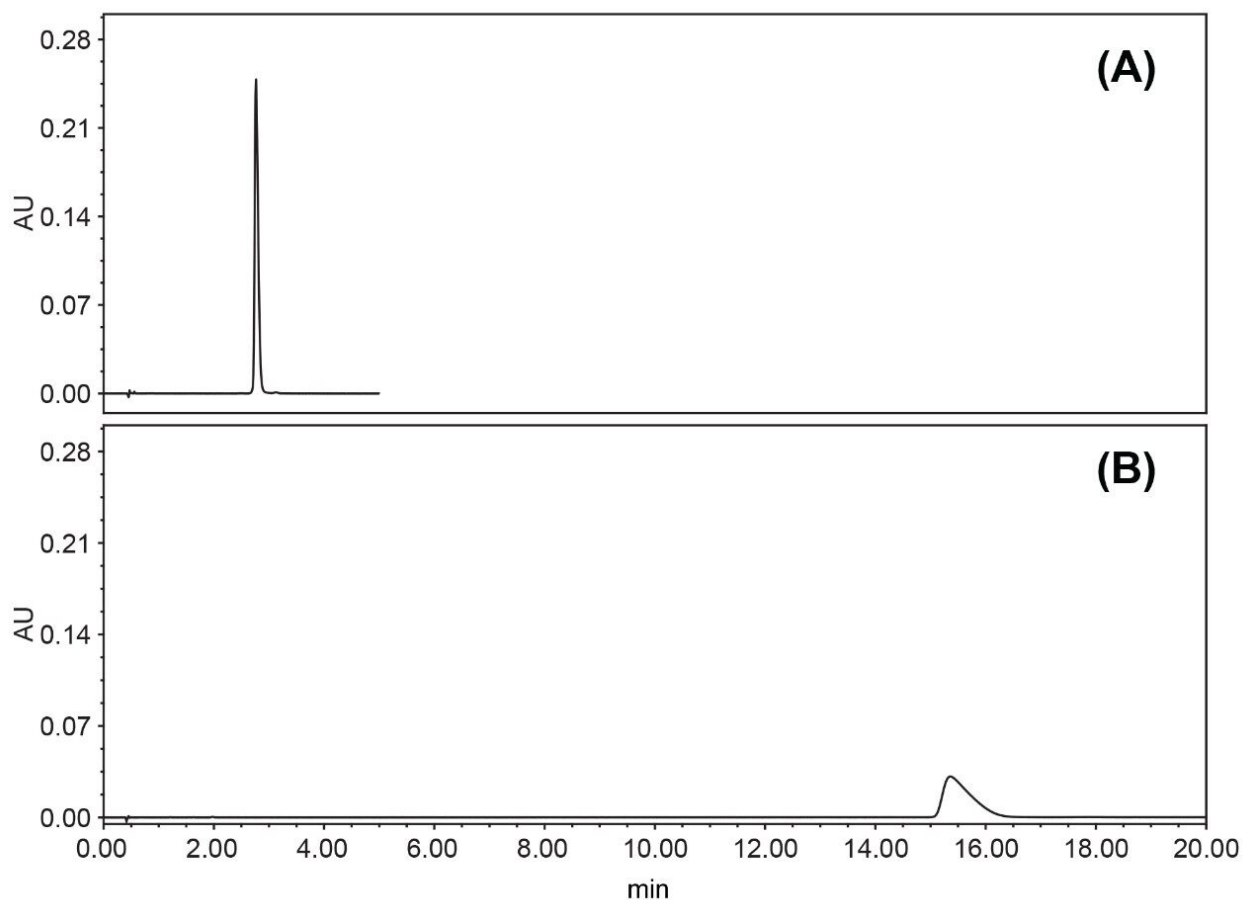


图2.在(A) *Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX* 色谱柱和(B) *ACQUITY UPLC HSS T3* 色谱柱上使用同等色谱条件 (10 mM 甲酸铵的30%乙腈溶液, pH 3.0) 得到的阿比朵尔峰形比较

在该检测条件下,使用ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱获得了高保留因子(约39)。为使该保留因子与在Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX色谱柱上观察到的保留因子更接近,将流动相中的乙腈含量提高至40%(同时保持相同的缓冲液强度和pH)。所得色谱图如图3B所示。虽然阿比朵尔的峰宽明显下降,但是仍比Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX色谱柱产生的峰宽高出大约50%。

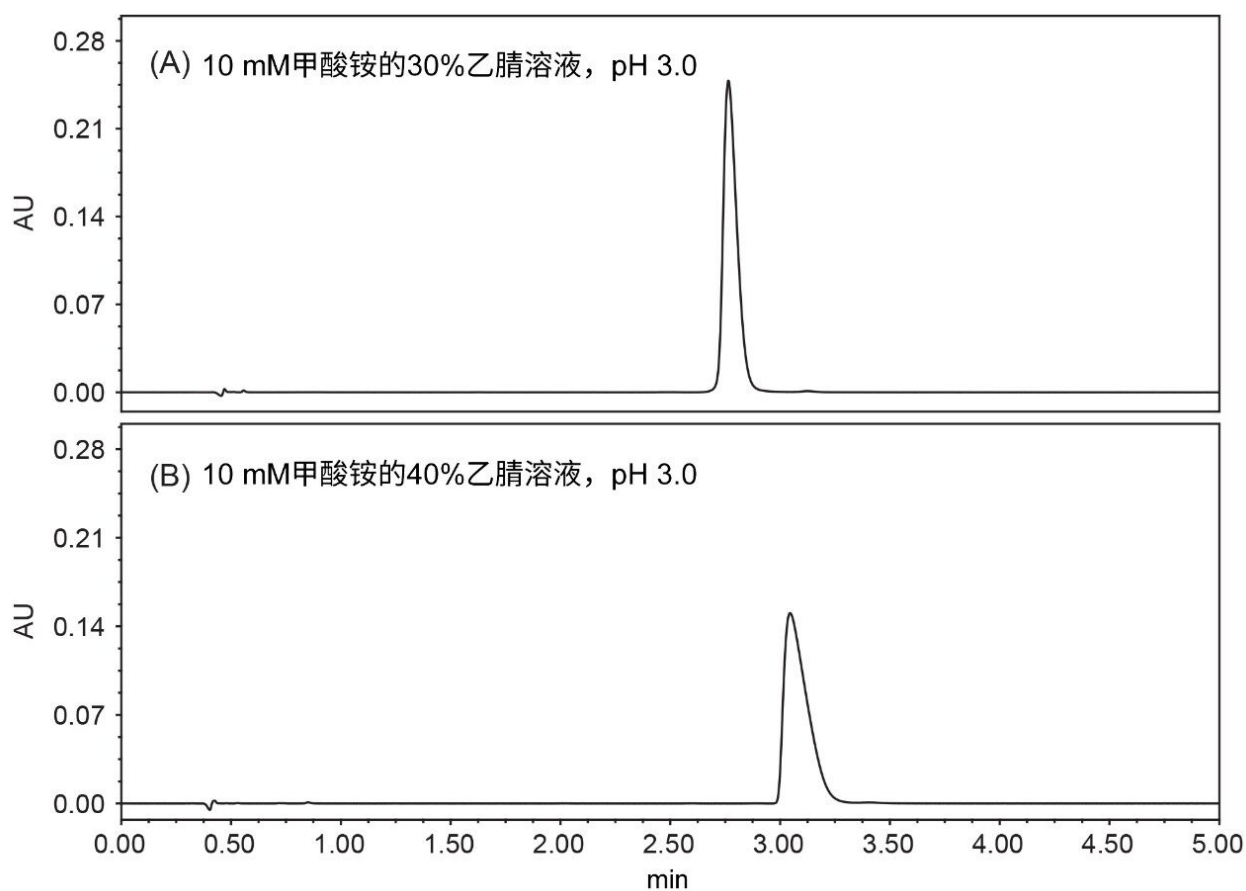


图3.使用(A) *Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX*色谱柱和(B) *ACQUITY UPLC HSS T3*色谱柱在相当的保留因子下得到的阿比朵尔峰形比较

使用*Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX*色谱柱得到了更窄、更对称的阿比朵尔峰。测得的USP拖尾因子为1.5，而使用*ACQUITY UPLC HSS T3*色谱柱时，无论采用何种流动相组成，USP拖尾因子均高于2。

结论

混合模式固定相（如*Atlantis BEH C₁₈ AX*）具有独特的选择性，并且与现有RP固定相互为补充，因此对于在方法开发过程中筛选色谱柱非常有用。除保留离子化酸的能力以外，*Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX*色谱柱还可以使质子化碱得到清晰、对称的峰，因此在开发多种化合物（无论是极性酸还是疏水性碱，如阿比朵尔）的色谱分离方法时，应将该色谱柱纳入考虑范围内。

参考文献

1. Liu, C. *et al.* *Research and Development on Therapeutic Agents and Vaccines for COVID-19 and Related Human Coronavirus Diseases*. *ACS Central Science* 2020, 6 (3), 315-331.
2. Walter, T.H. *et al.* *A New Mixed-Mode Reversed-Phase/Anion-Exchange Stationary Phase Based on Hybrid Particles* Waters Application Note [720006742EN](#) <
<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/a-new-mixed-mode-reversed-phase-anion-exchange-stationary-phase-based-on-hybrid-particles.html>>
3. Iraneta, P. C.; Wyndham, K. D.; McCabe, D. R.; Walter, T. H. *A Review of Waters Hybrid Particle Technology. Part 3. Charged Surface Hybrid (CSH) Technology and its Use in Liquid Chromatography*. Waters White Paper [720003929EN](#) <
https://www.waters.com/waters/library.htm?cid=511436&lid=10167251&locale=en_US> , 2011.

特色产品

ACQUITY UPLC H-Class PLUS Bio系统 <<https://www.waters.com/10166246>>

ACQUITY UPLC PDA检测器 <<https://www.waters.com/514225>>

720006980ZH, 2020年8月