

Agilent 1260 Infinity II Prime LC-System mit ISET

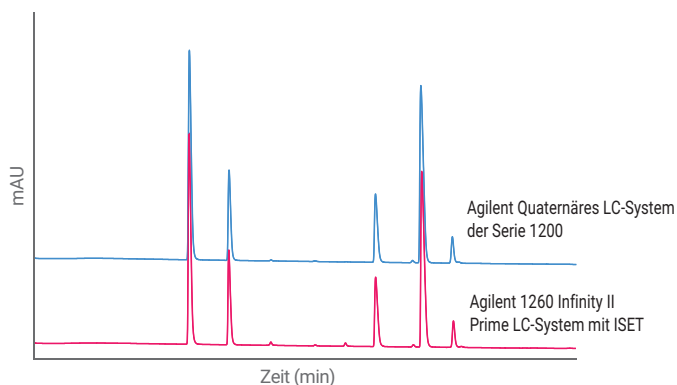
Emulation des Agilent Quaternären LC-Systems der Serie 1200 für die Analyse von Antihistaminika

Autoren

Clarissa Dickhut und
Melanie Metzloff
Agilent Technologies, Inc.
Waldbronn, Deutschland

Abstract

Die Intelligent System Emulation Technology (ISET) von Agilent vereinfacht den Methodentransfer von herkömmlichen LC-Systemen wie dem Agilent Quaternären LC-System der Serie 1200 zum Agilent 1260 Infinity II Prime LC-System. In dieser Application Note werden die Vorteile der ISET für die Analyse von fünf Antihistaminika dargestellt. Die Retentionszeiten und die Auflösung der verschiedenen Experimente wurden ausgewertet und mit den Originaldaten von einem Agilent Quaternären LC-System der Serie 1200 verglichen. Die Verwendung der ISET sorgte für eine hervorragende Übereinstimmung zwischen beiden Systemen.



Einführung

Der Transfer von analytischen Methoden von einem herkömmlichen HPLC-System zu einem UHPLC-System wie dem Agilent 1260 Infinity II Prime LC-System ist für viele Labore von äußerster Wichtigkeit, insbesondere in einem streng regulierten Umfeld. UHPLC-Systeme zeichnen sich durch niedrigere Systemtotvolumina aus als herkömmliche HPLC-Systeme und das Mischverhalten der Pumpen ist oft unterschiedlich. Diese Merkmale können im Rahmen eines Methodentransfers von einem Gerät zum anderen unterschiedliche Retentionszeiten (RT) und Auflösungen bewirken. Um eine zeitraubende und kostspielige erneute Revalidierung der alten analytischen Methoden zu vermeiden, kann zu Beginn des Analysenlaufs eine isokratische Haltezeit verwendet oder zusätzliches Totvolumen eingesetzt werden.¹ Dieser Ansatz berücksichtigt jedoch nur den Unterschied beim Totvolumen, nicht aber unterschiedliches Mischverhaltens der beiden analytischen Pumpen.

Die Agilent Intelligent System Emulation Technology (ISET) sorgt für einen reibungslosen Methodentransfer und liefert ähnliche chromatographische Ergebnisse.² Ist die ISET aktiviert, werden die Unterschiede beim Totvolumen und beim Mischverhalten der Pumpen kompensiert, ohne dass eine Änderung der analytischen Methode oder eine Modifikation des LC-Systems notwendig wären.

In dieser Application Note wird die Trennung von fünf Antihistaminika beschrieben. Die Wirkstoffmischung wurde zuerst auf einem Agilent Quaternären LC-System der Serie 1200 analysiert. Die analytische Methode wurde dann auf ein Agilent 1260 Infinity II Prime LC-System transferiert. Die Experimente wurden anschließend mit und ohne ISET durchgeführt. In einem zusätzlichen Experiment wurde die ISET-Feinabstimmungsoption benutzt, um darzustellen, wie der Transfer der analytischen Methode weiter optimiert werden kann. Die Retentionszeiten und die Auflösung der verschiedenen Experimente wurden ausgewertet und mit den Ergebnissen von einem Agilent Quaternären LC-System der Serie 1200 verglichen.

Experimentelles

Geräte

Für die Analyse der Antihistaminika wurden die folgenden Geräte benutzt.

Agilent Quaternäres LC-System der Serie 1200:

- Agilent Quaternäre Pumpe der Serie 1200 (G1311A)
- Agilent Automatischer Probengeber der Serie 1200 (G1329A)
- Agilent Säulentermostat der Serie 1200 (G1316A)
- Agilent Diodenarray-Detektor der Serie 1200 (G1315D)

Agilent 1260 Infinity II Prime LC-System:

- Agilent 1260 Infinity II flexible Pumpe (G7104C)
- Agilent 1260 Infinity II Mehrfachprobengeber (G7167A) mit integrierter Probenkühleinheit (Option 100)
- Agilent 1260 Infinity II Thermostat für mehrere Säulen (G7116A)
- Agilent 1260 II Diodenarray-Detektor (G7117C)

Tabelle 1: Chromatographische Parameter für die Analyse einer Antihistaminika-Mischung.

Parameter	Wert
Säule	Agilent ZORBAX SB C18, 4,6 × 75 mm, 3,5 µm (Bestell-Nr. 866953-902)
Mobile Phase	A) 0,1 % TFA in Wasser B) Acetonitril
Flussrate	0,8 ml/min
Gradient	10 bis 55 % B in 10 min
Stoppzeit	12 Minuten
Nachlaufzeit	5 Minuten
Injektionsvolumen	5 µl mit 3 s Nadelspülung (50 % Acetonitril in Wasser)
Säulentemperatur	25 °C
Detektion	232/8 nm, Ref. = Aus, 20 Hz

Software

Agilent OpenLab CDS 2.2 (M8413A)

Probe

Mischung aus fünf Antihistaminika, mit einer Konzentration von jeweils 150 ng/µl (in der Elutionsreihenfolge): Tripelennamin, Chlorphenamin, Tetracain, Promethazin und Cetirizin.

Chemikalien

Alle Lösemittel hatten LC-Qualität. Frisches Reinstwasser wurde einem Milli-Q Integral System entnommen, das mit einer Entnahmeeinheit mit 0,22-µm-Membran (Millipak) ausgestattet war. Die Antihistaminika wurden bei Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, USA, erworben.

Ergebnisse und Diskussion

Die fünf Antihistaminika wurden mit einer herkömmlichen analytischen Methode auf einem Agilent Quaternärem LC-System der Serie 1200 und mit einer Säule (4,6 x 75 mm, gepackt mit 3,5-µm-Partikeln) analysiert. Zunächst wurde die analytische Methode auf ein 1260 Infinity II Prime LC-System übertragen, ohne die ISET-Funktion zu aktivieren. Bei allen fünf Analyten wurde die erwartungsgemäße Verschiebung zu früheren Retentionszeiten beobachtet. Anschließend wurde die ISET-Funktion aktiviert. In Abbildung 1 wurden die beiden mit dem 1260 Infinity II Prime LC-System erfassten Chromatogramme (mit und ohne ISET) übereinander und über dem mit dem Agilent Quaternären LC-System der Serie 1200 erfassten Chromatogramm dargestellt.

Nach Aktivierung der ISET stimmten die Retentionszeiten der Antihistaminika mit dem Originalchromatogramm überein. Die Abweichung der Retentionszeiten lag unter 3 %, was die ISET-Spezifikation von 5 %² gut erfüllt. Ohne die ISET verschoben sich die Retentionszeiten zwischen 5 % und ungefähr 11 %.

Um die Übereinstimmung der Retentionszeiten weiter zu verbessern, wurde die Feinabstimmungsfunktion der ISET aktiviert. Der Parameter „Totvolumen-Offset“ (eingestellt auf -50 µl) verschob alle Peaks zu etwas früheren Retentionszeiten. In Abbildung 2 werden das Originalchromatogramm und die beiden mit dem 1260 Infinity II Prime LC-System und der ISET aufgenommenen Chromatogramme (mit und ohne Feinabstimmung) dargestellt.

Durch die Anwendung der Feinabstimmung stimmten die Retentionszeiten der fünf Antihistaminika nun mit dem Originalchromatogramm vollständig überein; die Verschiebungen der RT-Werte lagen unter 0,5 %. In Tabelle 2 werden die Retentionszeiten der durchgeführten Experimente zusammengefasst.

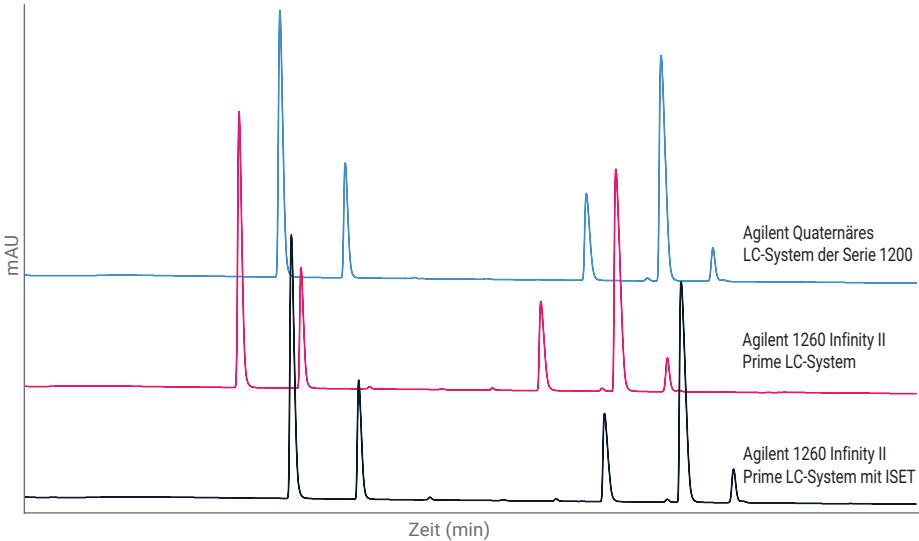


Abbildung 1: Analyse von Antihistaminika mit einem Agilent Quaternären LC-System der Serie 1200 (blau), dann Übertragung der analytischen Methode zu einem Agilent 1260 Infinity II Prime LC-System ohne (rot) und mit ISET (schwarz).

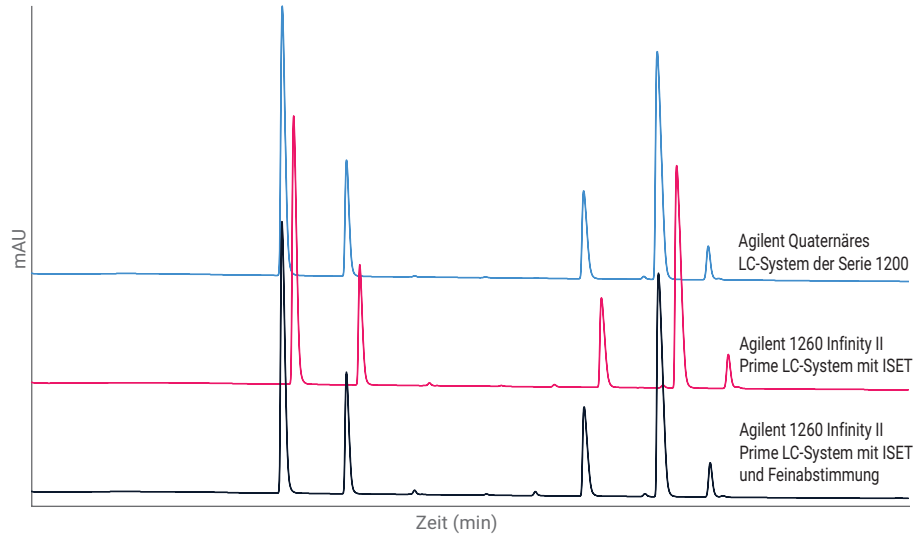


Abbildung 2: Übereinander angeordnete Darstellung der Antihistaminika-Chromatogramme eines Agilent Quaternären LC-Systems der Serie 1200 (blau) und eines Agilent 1260 Infinity II Prime LC-Systems mit ISET mit (rot) und ohne Feinabstimmung (schwarz).

Tabelle 2: Retentionszeiten der verschiedenen Antihistaminika, die mit einem Agilent Quaternären LC-System der Serie 1200 und einem Agilent 1260 Infinity II Prime LC-System ohne ISET, mit ISET und mit ISET und Feinabstimmung gemessen wurden.

Agilent Quaternäres LC-System der Serie 1200	Agilent 1260 Infinity II Prime LC-System		
	RT (min)	RT mit ISET (min)	RT mit ISET und Feinabstimmung (min)
4,51	4,02	4,64	4,50
5,28	4,75	5,43	5,27
8,11	7,58	8,33	8,13
8,99	8,46	9,23	9,02
9,60	9,06	9,84	9,64

In Abbildung 3 ist die Auswertung der RT-Verschiebungen dargestellt.

Die Präzision der Retentionszeiten und Flächen sowie die Auflösung wurden zwischen dem Agilent Quaternären LC-System der Serie 1200 und dem 1260 Infinity II Prime LC-System mit ISET und Feinabstimmung verglichen. Zur Bewertung der Ergebnisse wurden auf beiden LC-Systemen zehn aufeinanderfolgende Wiederholungsläufe durchgeführt (Tabelle 3). Beide Systeme hatten hervorragende Präzisionswerte, wobei das 1260 Infinity II Prime LC-System mit Blick auf die Präzision von RT und Flächen etwas besser abschnitt.

Abschließende Bemerkungen

Die Agilent Intelligent System Emulation Technology (ISET) erlaubt eine mühelose Übertragung der analytischen Methode von einem herkömmlichen HPLC-System zum Agilent 1260 Infinity II Prime LC-System. Die Anwendung der ISET-Funktion ist unkompliziert und erfordert keine Gerätemodifikation oder Änderung der analytischen Methode, um fast identische Chromatogramme zu erhalten. Eine bewährte analytische Methode zur Analyse von Antihistaminika wurde vom Agilent Quaternären LC-System der Serie 1200 auf ein 1260 Infinity II Prime LC-System übertragen. Mit aktivierter ISET-Funktion und Feinabstimmung stimmten die Retentionszeiten des 1260 Infinity II Prime LC-Systems hervorragend mit dem Originalchromatogramm überein, und die Abweichungen lagen unter 0,5 %. Darüber hinaus war die Übertragung der analytischen Methode auf das 1260 Infinity Prime LC-System mit einer Verbesserung der RT- und Flächenpräzision verbunden: Das 1260 Infinity Prime LC-System zeigte erstklassige Leistungen.

www.agilent.com/chem

Ausschließlich zu Forschungszwecken.
Nicht für Diagnoseverfahren geeignet.

Änderungen vorbehalten.

© Agilent Technologies, Inc. 2017
Gedruckt in den USA, 1. Dezember 2017
5991-8786DEE

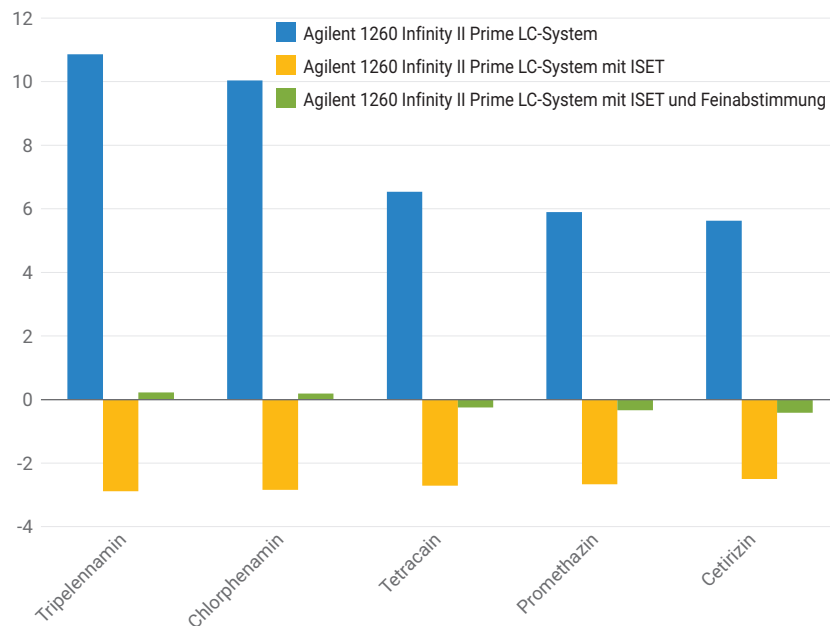


Abbildung 3: Abweichung der Retentionszeiten von einem Agilent LC-System der Serie 1200 im Vergleich zu einem Agilent 1260 Infinity II Prime LC-System ohne bzw. mit ISET und mit zusätzlicher Feinabstimmung.

Tabelle 3: Vergleich der Präzision von Retentionszeiten und Flächen und der Auflösung von einem Agilent Quaternären LC-System der Serie 1200 mit einem Agilent 1260 Infinity II Prime LC-System.

	RSD RT (%)		RSD Fläche (%)		Auflösung	
	Agilent Quaternäres LC-System der Serie 1200	Agilent 1260 Infinity II Prime LC-System	Agilent Quaternäres LC-System der Serie 1200	Agilent 1260 Infinity II Prime LC-System	Agilent Quaternäres LC-System der Serie 1200	Agilent 1260 Infinity II Prime LC-System
Trielennamin	0,06	0,03	0,091	0,052	–	–
Chlorphenamin	0,05	0,03	0,111	0,052	8,06	8,34
Tetracain	0,02	0,03	0,139	0,052	27,78	28,56
Promethazin	0,02	0,02	0,095	0,074	7,05	7,24
Cetirizin	0,02	0,01	0,135	0,072	5,47	5,59

Literatur

1. Gratzfeld-Huesgen, A. Transferring methods to the Agilent 1290 Infinity LC using Intelligent System Emulation Technology (ISET) – Analysis of metoclopramide hydrochloride and its impurities, *Agilent Technologies Application Note*, Publikationsnummer 5990-9692EN, **2014**.
2. Agilent 1290 Infinity II mit ISET, *Agilent Technologies User Manual*, Bestellnummer G4220-90313, **2015**.