

Sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime con ISET

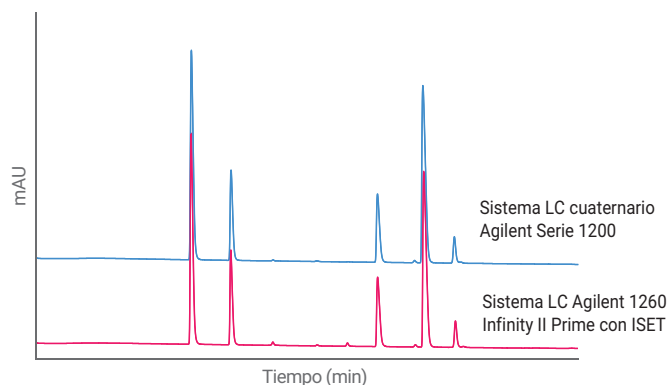
Emulación del sistema LC cuaternario Agilent Serie 1200 para el análisis de antihistamínicos

Autores

Clarissa Dickhut y
Melanie Metzloff
Agilent Technologies, Inc.
Waldbronn, Alemania

Resumen

La tecnología inteligente de emulación del sistema (ISET) de Agilent facilita una óptima transferencia de los métodos analíticos desde sistemas LC convencionales, como el sistema LC cuaternario Agilent Serie 1200, al sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime. Esta nota de aplicación muestra las ventajas de la ISET en el análisis de cinco antihistamínicos. Se evaluaron los tiempos de retención y la resolución de los distintos experimentos y se compararon con los datos originales obtenidos con el sistema LC cuaternario Agilent Serie 1200. Gracias al uso de ISET, se logró una excelente concordancia entre ambos sistemas.



Introducción

La transferencia de un método analítico desde un sistema HPLC convencional a un sistema UHPLC como el sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime es una cuestión importante y con frecuencia crítica para muchos laboratorios, especialmente en entornos altamente regulados. Los sistemas UHPLC presentan volúmenes de retardo del sistema inferiores a los sistemas HPLC convencionales y, por lo general, muestran comportamientos de mezcla de bomba diferentes. Estas características pueden causar tiempos de retención (TR) y resoluciones diferentes durante la transferencia de métodos de un instrumento a otro. Para evitar la tediosa y costosa revalidación de los métodos analíticos anteriores, puede implantarse una retención isocrática al principio del análisis o la instalación de volumen de retardo adicional¹. Sin embargo, con este planteamiento solo se consideran las diferencias en el volumen de retardo y no las diferencias en el comportamiento de mezcla de las dos bombas analíticas.

La tecnología inteligente de emulación del sistema (ISET) de Agilent permite una transferencia de métodos óptima y produce resultados cromatográficos similares². Gracias al uso de ISET, es posible compensar los diferentes volúmenes de retardo y comportamientos de mezcla en las bombas sin tener que cambiar los métodos analíticos o realizar modificaciones al sistema LC.

Esta nota de aplicación describe la separación de una mezcla de cinco antihistamínicos. La mezcla de fármacos se analizó en primer lugar en un sistema LC cuaternario Agilent Serie 1200. A continuación se transfirió el método analítico a un sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime, y los experimentos se llevaron a cabo con y sin la función ISET. También se hizo uso de la opción de ajuste fino de ISET en un experimento adicional con el fin de demostrar que la transferencia de métodos analíticos puede optimizarse aún más. Se evaluaron los tiempos de retención y la resolución y se compararon con los resultados del sistema LC cuaternario Agilent Serie 1200.

Experimento

Instrumentos

Se utilizaron los siguientes instrumentos para el análisis de antihistamínicos.

Sistema LC cuaternario Agilent Serie 1200:

- Bomba cuaternaria Agilent Serie 1200 (G1311A)
- Muestreador automático Agilent Serie 1200 (G1329A)
- Compartimento de columnas termostatzado Agilent Serie 1200 (G1316A)
- Detector de diodos Agilent Serie 1200 (G1315D)

Sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime:

- Bomba flexible Agilent 1260 Infinity II (G7104C)
- Muestreador múltiple Agilent 1260 Infinity II (G7167A), equipado con un refrigerador de muestras integrado (opción n.º 100)
- Termostato multicolumna Agilent 1260 Infinity II (G7116A)
- Detector de diodo array Agilent 1260 II (G7117C)

Software

Agilent OpenLAB CDS 2.2 (M8413A)

Muestra

Mezcla de cinco antihistamínicos, cada uno con una concentración de 150 ng/μl (en el orden de la elución): tripelenamina, clorfeniramina, tetracaína, prometazina y cetirizina.

Productos químicos

Todos los disolventes utilizados fueron de calidad LC. Se obtuvo agua ultrapura nueva a partir de un sistema integrado Milli-Q equipado con una cartucho de membrana de 0,22 μm en el punto de consumo (Millipak). Los fármacos antihistamínicos se adquirieron a Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, EE. UU.

Tabla 1. Parámetros cromatográficos para el análisis de una mezcla de antihistamínicos.

Parámetro	Valor
Columna	Agilent ZORBAX SB C18, 4,6 x 75 mm, 3,5 μm (ref. 866953-902)
Fase móvil	A) TFA al 0,1 % en agua B) acetonitrilo
Velocidad de flujo	0,8 ml/min
Gradiente	Del 10 % al 55 % de B en 10 minutos
Tiempo de parada	12 minutos
Tiempo posterior	5 minutos
Volumen de inyección	Lavado de la aguja de 5 μL en 3 segundos (acetonitrilo al 50 % en agua)
Temperatura de la columna	25 °C
Detección	232/8 nm, ref. desactivada, 20 Hz

Resultados y comentarios

Se analizaron los cinco antihistamínicos con un método analítico convencional en un sistema LC cuaternario Agilent Serie 1200 utilizando una columna de 4,6 x 75 mm empaquetada con partículas de 3,5 µm. En primer lugar se transfirió el método analítico al sistema LC 1260 Infinity II Prime sin ISET. Como era de esperar, los cinco analitos mostraron tiempos de retención más cortos. A continuación se activó la función ISET. La Figura 1 muestra una superposición del cromatograma original obtenido con el sistema LC cuaternario Agilent Serie 1200 y los dos cromatogramas medidos con el sistema LC 1260 Infinity II Prime con y sin ISET.

Al utilizar ISET, los TR de los antihistamínicos concordaron con el cromatograma original, con una desviación inferior al 3 %, muy por debajo de la especificación ISET del 5 %². En cambio, los TR sin usar ISET se desplazaron entre un 5 % y aproximadamente un 11 %.

Para optimizar aún más la concordancia de los tiempos de retención, se activó la función de ajuste fino en ISET. Una compensación del volumen de retardo de -50 µl desplazó todos los picos a tiempos de retención ligeramente más cortos. La Figura 2 muestra una superposición del cromatograma original y dos cromatogramas obtenidos con el sistema LC 1260 Infinity II Prime utilizando ISET con y sin ajuste fino.

Como resultado del uso de la función de ajuste fino, los tiempos de retención de los cinco antihistamínicos concordaron con el cromatograma original y mostraron derivas de los TR por debajo del 0,5 %. La Tabla 2 muestra una visión conjunta de los tiempos de retención de los experimentos llevados a cabo.

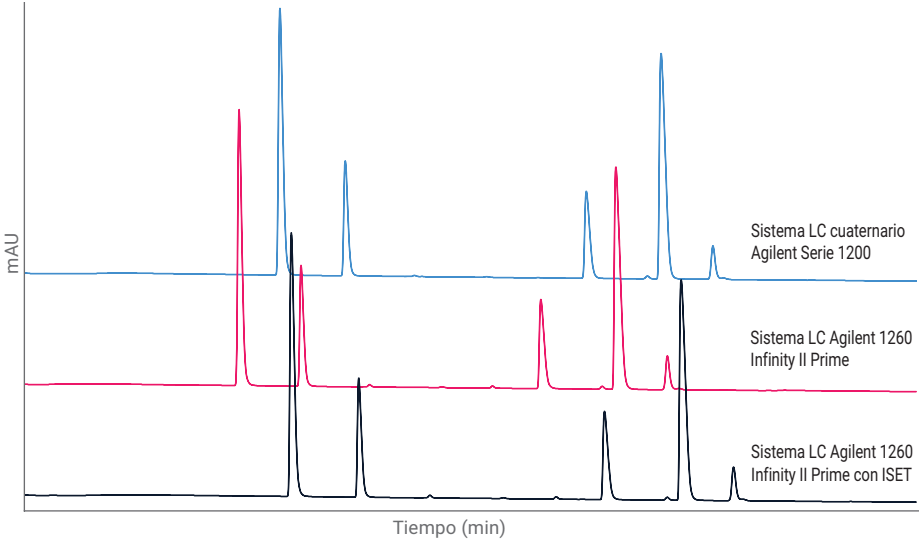


Figura 1. Análisis de antihistamínicos con el sistema LC cuaternario Agilent Serie 1200 (azul), seguido de la transferencia del método analítico al sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime sin ISET (rojo) y con ISET (negro).

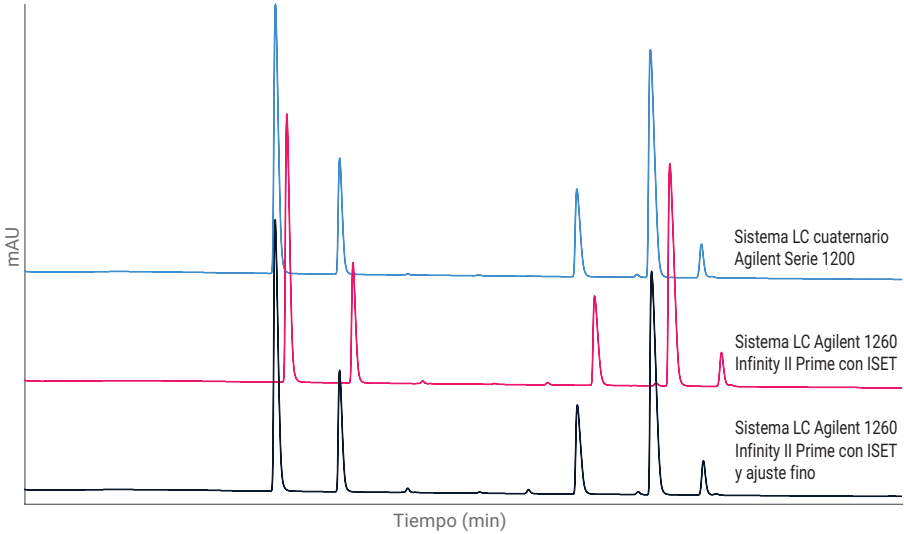


Figura 2. Superposición de cromatogramas de análisis de antihistamínicos en un sistema LC cuaternario Agilent Serie 1200 (azul), un sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime con ISET (rojo) y un sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime con ISET y ajuste fino (negro).

Tabla 2. Tiempos de retención de los distintos antihistamínicos analizados con un sistema LC cuaternario Agilent Serie 1200 y un sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime sin ISET, con ISET y con ISET más ajuste fino.

Sistema LC cuaternario Agilent Serie 1200	Sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime		
	TR (min)	TR con ISET (min)	TR con ISET y ajuste fino (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

La Figura 3 muestra las derivas de los tiempos de retención evaluados.

Se comparó la precisión de los tiempos de retención y las áreas, así como la resolución, entre el sistema LC cuaternario Agilent Serie 1200 y el sistema LC 1260 Infinity II Prime utilizando ISET y ajuste fino. Para la evaluación de dichos valores se llevaron a cabo 10 análisis consecutivos en ambos sistemas LC (Tabla 3). Los dos sistemas mostraron unos valores de precisión excelentes, aunque el del sistema LC 1260 Infinity II Prime fue ligeramente superior en precisión de TR y área.

Conclusión

La tecnología inteligente de emulación del sistema (ISET) de Agilent facilita una transferencia de métodos analíticos perfecta desde un HPLC convencional al sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime. La función ISET es sencilla y rápida de utilizar y no exige cambios en el instrumento o modificaciones del método analítico para lograr cromatogramas prácticamente idénticos. Se ha transferido un método analítico convencional para el análisis de fármacos antihistamínicos desde el sistema LC cuaternario Agilent Serie 1200 al sistema LC 1260 Infinity II Prime. Al utilizar ISET y la opción de ajuste fino para el sistema LC 1260 Infinity II Prime se consiguió una excelente concordancia de los tiempos de retención, con una desviación inferior al 0,5 %. Además, al transferir el método analítico, se mejoró la precisión de los TR y de las áreas, y el sistema LC 1260 Infinity Prime se comportó como el mejor en cuanto a rendimiento.

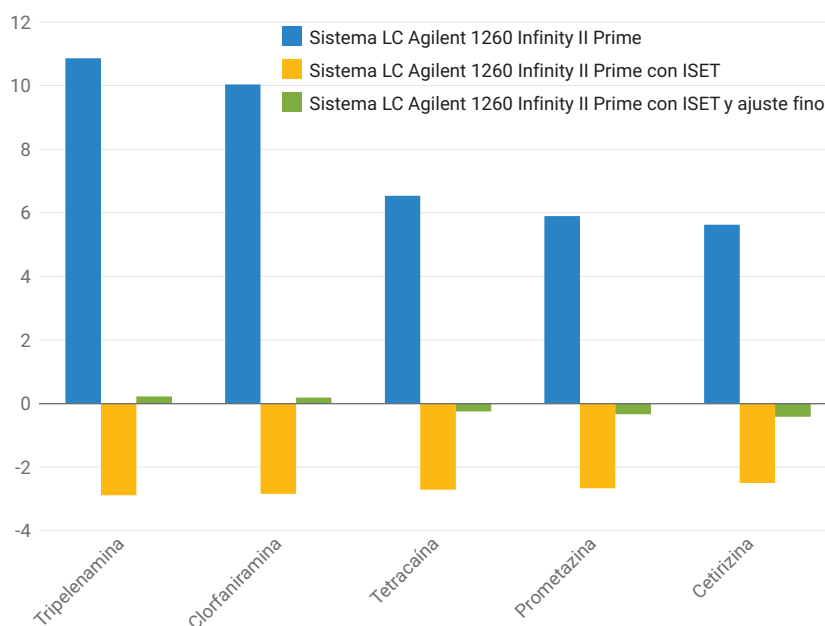


Figura 3. Desviación del tiempo de retención entre un sistema LC Agilent Serie 1200 y un sistema LC Agilent Serie 1260 Infinity II Prime con y sin ISET y con ajuste fino adicional.

Tabla 3. Comparación de la precisión de tiempo de retención y área y de la resolución entre un sistema LC cuaternario Agilent Serie1200 y un sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime.

	RSD TR (%)		RSD área (%)		Resolución	
	Sistema LC cuaternario Agilent Serie 1200	Sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime	Sistema LC cuaternario Agilent Serie 1200	Sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime	Sistema LC cuaternario Agilent Serie 1200	Sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime
Tripelenamina	0,06	0,03	0,091	0,052	–	–
Clorfaniramina	0,05	0,03	0,111	0,052	8,06	8,34
Tetracaina	0,02	0,03	0,139	0,052	27,78	28,56
Prometazina	0,02	0,02	0,095	0,074	7,05	7,24
Cetirizina	0,02	0,01	0,135	0,072	5,47	5,59

Referencias

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, *Nota de aplicación de Agilent Technologies*, número de publicación 5990-9692EN, **2014**.
2. Agilent 1290 Infinity II con ISET, *Manual de usuario de Agilent Technologies*, referencia G4220-90313, **2015**.

www.agilent.com/chem

Solo para uso en investigación. Prohibido su uso en procedimientos diagnósticos.

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.