

Système LC Agilent 1260 Infinity II Prime avec ISET

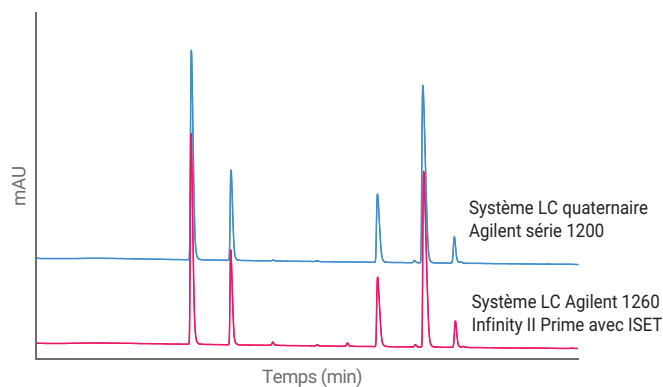
Emulation du système de LC quaternaire Agilent série 1200 pour l'analyse des médicaments antihistaminiques

Auteurs

Clarissa Dickhut et
Melanie Metzloff
Agilent Technologies, Inc.
Waldbronn, Allemagne

Résumé

La technologie intelligente d'émulation de systèmes (ISET) d'Agilent facilite le transfert des méthodes analytiques provenant des systèmes de LC conventionnels, tels que le système LC quaternaire Agilent série 1200, vers le système LC Agilent 1260 Infinity II Prime. Cette note d'application présente les avantages de l'ISET mis en évidence durant l'analyse de cinq médicaments antihistaminiques. Les temps de rétention et la résolution obtenus lors des différentes expériences ont été évalués et comparés aux données originales obtenues par un système LC quaternaire Agilent série 1200. L'activation de l'ISET a permis d'obtenir un excellent alignement des résultats sur les deux systèmes.



Introduction

Le transfert d'une méthode analytique d'un système HPLC conventionnelle vers un système UHPLC comme le système LC Agilent 1260 Infinity II Prime est un sujet important, voire essentiel, pour de nombreux laboratoires, en particulier dans les environnements fortement réglementés. Les systèmes UHPLC ont des volumes morts réduits par rapport aux systèmes HPLC conventionnelle et présentent généralement des caractéristiques de mélange au niveau des pompes qui sont différentes. Ces caractéristiques peuvent conduire, à la suite du transfert de méthode d'instrument à instrument, à des valeurs de temps de rétention (TR) et de résolution différentes. Pour éviter une revalidation longue et coûteuse des méthodes analytiques existantes, il est possible d'ajouter un plateau isocratique au début de l'analyse ou un volume mort supplémentaire¹. Cependant, avec cette approche, seules les différences de volume mort sont envisagées et non pas les différences de mélange des deux pompes analytiques.

La technologie intelligente d'émulation de systèmes Agilent (ISET) offre un transfert de méthode sans efforts avec des résultats chromatographiques similaires². L'activation de l'ISET permet de compenser les différences de volume mort et de mélange des pompes sans introduire de changements à la méthode analytique ou au système LC.

Cette note d'application décrit la séparation d'un mélange de cinq médicaments antihistaminiques. Le mélange de médicaments a d'abord été analysé sur un système LC quaternaire Agilent série 1200. La méthode analytique a ensuite été transférée sur un système LC Agilent 1260 Infinity II Prime, puis les expériences ont été menées avec et sans la fonctionnalité ISET. L'utilisation du réglage de précision disponible avec l'ISET a permis de montrer au cours d'une expérience supplémentaire comment le transfert de méthode analytique peut être davantage optimisé. Les temps de rétention et la résolution ont été évalués et comparés aux résultats obtenus par le système LC quaternaire Agilent série 1200.

Données expérimentales

Instruments

Pour l'analyse des médicaments antihistaminiques, les instruments suivants ont été utilisés.

Système LC quaternaire Agilent série 1200 :

- Pompe quaternaire Agilent série 1200 (G1311A)
- Passeur automatique d'échantillons Agilent série 1200 (G1329A)
- Compartiment à colonne thermostaté Agilent série 1200 (G1316A)
- Détecteur Agilent série 1200 à barrette de diodes (G1315D)

Système de LC Agilent 1260 Infinity II Prime :

- Pompe flexible 1260 Infinity II Agilent (G7104C)
- Multi-échantillonneur 1260 Infinity II Agilent (G7167A), équipé d'un refroidisseur d'échantillon intégré (Option n°100)
- Thermostat multicolonne 1260 Infinity II Agilent (G7116A)
- Détecteur à barrette de diodes Agilent série 1260 II (G7117C)

Logiciel

Agilent OpenLab CDS 2.2 (M8413A)

Échantillon

Mélange de cinq médicaments antihistaminiques, à une concentration de 150 ng/μL chacun (par ordre d'élution) : tripéennamine, chlorphéniramine, tétracaine, prométhazine, et cétirizine.

Produits chimiques

Tous les solvants utilisés étaient de qualité LC. De l'eau ultrapure a été obtenue à partir d'un système Milli-Q Integral équipé d'une cartouche au point d'utilisation (Millipak) avec une membrane de 0,22 μm. Les médicaments antihistaminiques ont été achetés auprès de Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, États-Unis.

Tableau 1. Paramètres chromatographiques pour l'analyse du mélange de médicaments antihistaminiques.

Paramètre	Valeur
Colonne	Agilent ZORBAX SB C18, 4,6 × 75 mm, 3,5 μm (réf.866953-902)
Phase mobile	A) TFA à 0,1 % dans de l'eau B) acétonitrile
Débit	0,8 mL/min
Gradient	10 à 55 % B en 10 minutes
Fin d'analyse	12 minutes
Durée post-analyse	5 minutes
Volume d'injection	5 μL avec rinçage de l'aiguille pendant 3 secondes (50 % d'acétonitrile dans l'eau)
Température de colonne	25 °C
Détection	232/8 nm ; Réf. Off, 20 Hz

Résultats et discussion

Les cinq médicaments antihistaminiques ont été analysés avec une méthode analytique classique sur un système LC quaternaire Agilent série 1200 utilisant une colonne de 4,6 × 75 mm remplie de particules de 3,5 µm. Tout d’abord, la méthode analytique a été transférée vers le système LC 1260 Infinity II Prime sans activer l’ISET. Comme prévu, les pics des cinq analytes ont été clairement décalés, avec des temps de rétention plus courts. Puis, la fonction ISET a été activée. La figure 1 montre une superposition du chromatogramme d’origine, acquis avec le système LC quaternaire Agilent série 1200, et des deux chromatogrammes mesurés avec le système LC 1260 Infinity II Prime, avec et sans l’ISET.

Avec l’ISET, les temps de rétention des médicaments antihistaminiques s’alignaient à ceux du chromatogramme d’origine, avec un écart du temps de rétention inférieur à 3 %, ce qui est dans la marge de spécification de 5 % de l’ISET². Inversement, les temps de rétention en l’absence d’ISET étaient caractérisés par un décalage de 5 à 11 % environ.

Pour optimiser davantage l’alignement des temps de rétention, la fonction de réglage de précision de l’ISET a été activée. Un décalage du volume mort de –50 µL a provoqué un décalage de tous les pics et un léger raccourcissement des temps de rétention. La figure 2 montre une superposition du chromatogramme d’origine et des deux chromatogrammes acquis sur le système LC 1260 Infinity II Prime en utilisant l’ISET, avec et sans réglage de précision.

Grâce à l’emploi de la fonction de réglage de précision, les temps de rétention des cinq médicaments antihistaminiques se sont alignés sur ceux du chromatogramme d’origine, avec des décalages de TR inférieurs à 0,5 %. Le tableau 2 présente les temps de rétention des expériences menées.

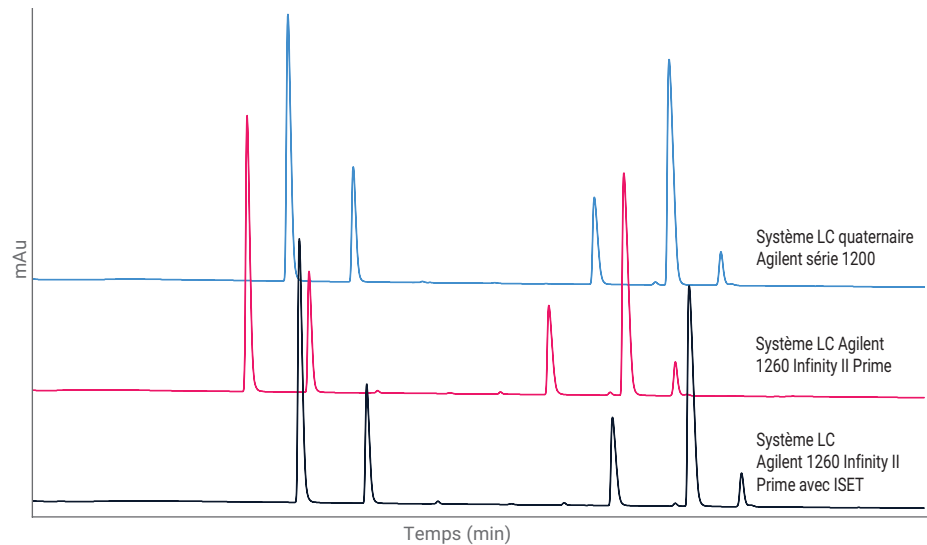


Figure 1. Analyse des médicaments antihistaminiques à l’aide du système LC quaternaire Agilent série 1200 (bleu), suivie par un transfert de la méthode analytique vers le système LC Agilent 1260 Infinity II Prime, sans ISET (rouge) et avec ISET (noir).

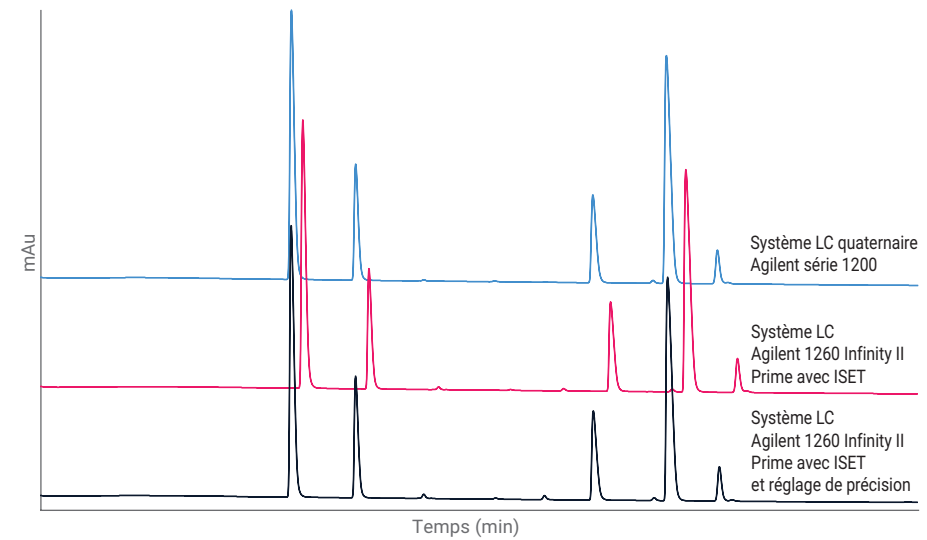


Figure 2. Superposition des chromatogrammes de l’analyse des médicaments antihistaminiques sur les systèmes LC quaternaire Agilent série 1200 (bleu), Agilent 1260 Infinity II Prime avec l’ISET activé (rouge) et Agilent 1260 Infinity II Prime avec l’ISET et son réglage de précision activés (noir).

Tableau 2. Temps de rétention des médicaments antihistaminiques analysés sur un système LC quaternaire Agilent série 1200 et sur un système LC Agilent 1260 Infinity II Prime sans ISET, avec ISET, et enfin, avec ISET et réglage de précision.

Système LC quaternaire Agilent série 1200	Système LC Agilent 1260 Infinity II Prime		
	TR (min)	TR avec ISET (min)	TR avec ISET et réglage de précision (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 figure 3 montre les décalages évalués des temps de rétention.

La précision des temps de rétention et des surfaces ainsi que la résolution obtenues avec le système LC quaternaire Agilent série 1200 ont été comparées à celles mesurées sur le système LC 1260 Infinity II Prime avec l'ISET et la fonction de réglage de précision. Pour évaluer ces valeurs, 10 analyses consécutives ont été menées sur les deux systèmes de LC (tableau 3). Les deux systèmes montrent d'excellentes valeurs de précision, alors que la performance du système LC 1260 Infinity II Prime s'est montrée légèrement meilleure concernant la précision des surfaces et des temps de rétention.

Conclusion

La technologie intelligente d'émulation de systèmes (ISET) d'Agilent facilite le transfert continu des méthodes analytiques d'un système HPLC conventionnelle vers le système LC Agilent 1260 Infinity II Prime. La fonctionnalité ISET est simple et facile à utiliser et ne nécessite aucune modification de l'instrument ou des méthodes analytiques pour fournir des chromatogrammes quasi identiques. Une méthode conventionnelle d'analyse des médicaments antihistaminiques a été transférée du système LC quaternaire Agilent série 1200 vers le système LC Agilent 1260 Infinity II Prime. L'activation de l'ISET et de l'option de réglage de précision sur le système LC Agilent 1260 Infinity II Prime a permis d'obtenir un excellent alignement des temps de rétention avec un écart inférieur à 0,5 %. De plus, en transférant la méthode analytique, la précision des temps de rétention et des surfaces s'est améliorée et le système LC Agilent 1260 Infinity Prime a montré des performances exceptionnelles.

www.agilent.com/chem

Destiné à la recherche uniquement.
Ne pas utiliser à des fins diagnostiques.

Ces informations peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2017
Imprimé aux États-Unis, le 1 décembre 2017
5991-8786FR

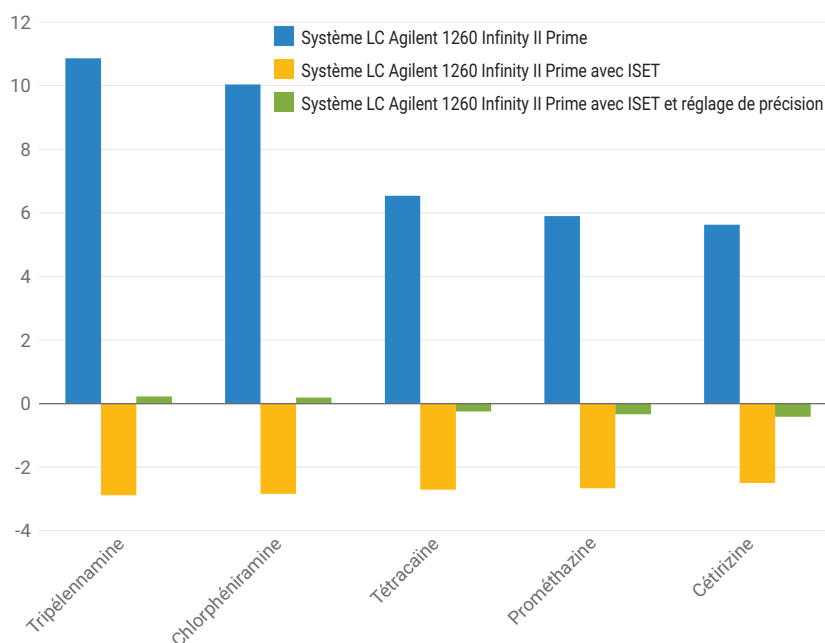


Figure 3. Écart entre les temps de rétention mesurés sur un système LC Agilent série 1200 et sur un système LC Agilent 1260 Infinity II Prime avec et sans ISET et réglage de précision.

Tableau 3. Comparaison de la précision des valeurs de temps de rétention et des surfaces, ainsi que de la résolution, obtenues sur un système LC quaternaire Agilent série 1200 et sur un système LC Agilent 1260 Infinity II Prime.

	RSD TR (%)		RSD surface (%)		Résolution	
	Système LC quaternaire Agilent série 1200	Système LC Agilent 1260 Infinity II Prime	Système LC quaternaire Agilent série 1200	Système LC Agilent 1260 Infinity II Prime	Système LC quaternaire Agilent série 1200	Système LC Agilent 1260 Infinity II Prime
Tripénnamine	0,06	0,03	0,091	0,052	–	–
Chlorphéniramine	0,05	0,03	0,111	0,052	8,06	8,34
Tétracéine	0,02	0,03	0,139	0,052	27,78	28,56
Prométhazine	0,02	0,02	0,095	0,074	7,05	7,24
Cétirizine	0,02	0,01	0,135	0,072	5,47	5,59

Références

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, *Note d'application Agilent Technologies*, numéro de publication 5990-9692EN, **2014**.
2. Agilent 1290 Infinity II with ISET, *Agilent Technologies User Manual*, référence G4220-90313, **2015**.