

# ISET 搭載の Agilent 1260 Infinity II Prime LC

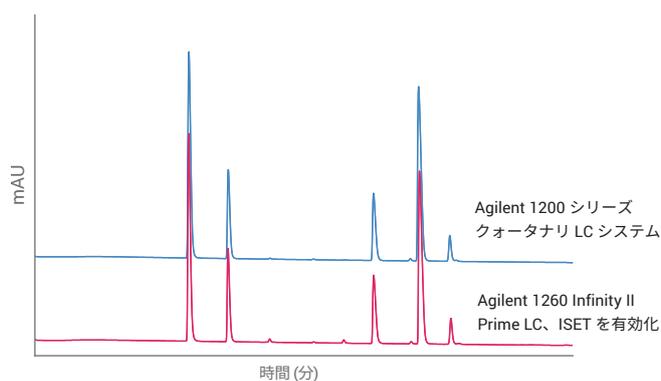
Agilent 1200 シリーズクォータナリ LC の  
エミュレーションによる抗ヒスタミン剤分析

## 著者

Clarissa Dickhut and  
Melanie Metzloff  
Agilent Technologies, Inc.  
Waldbronn, Germany

## 概要

アジレントのインテリジェントシステムエミュレーション技術 (ISET) を使用すると、Agilent 1200 シリーズクォータナリ LC システムなど旧式の LC システムから Agilent 1260 Infinity II Prime LC へ分析メソッドをシームレスに移管できます。このアプリケーションノートでは、5 種類の抗ヒスタミン剤の分析を通して ISET の利点を紹介します。今回の調査では、複数の実験のリテンションタイムと分解能を、1200 シリーズクォータナリ LC システムで得られた元のデータと比較しました。ISET を有効にすることにより、両システムの値が良好に一致しました。



## はじめに

従来の HPLC システムから Agilent 1260 Infinity II Prime LC などの UHPLC システムへの分析メソッドの移管は、重要な作業です。さまざまなラボ、特に厳しい規制が課される環境にとっては、きわめて大きな課題になることも珍しくありません。UHPLC システムは従来の HPLC システムよりデイレイボリウムが小さく、通常はポンプの混合挙動が異なります。こういった特性が、機器間でメソッドを移管する際にリテンションタイム (RT) や分解能の違いにつながる場合があります。時間とコストのかかる既存メソッドの再バリデーションを回避するために、分析の開始時に溶媒組成を一定に保つイソクラティックホールド時間を設けるか、デイレイボリウムを追加することもできます<sup>1</sup>。ただし、このアプローチで考慮されるのはデイレイボリウムの違いのみで、2つの分析ポンプの混合挙動の違いは考慮されません。

アジレントのインテリジェントシステムエミュレーション技術 (ISET) を使用すれば、メソッドをシームレスに移管し、同様のクロマトグラフィー結果を得ることができます<sup>2</sup>。ISET を有効にすると、分析メソッドを調整したり LC システムに変更を加えることなく、デイレイボリウムやポンプの混合挙動の違いを補正できます。

このアプリケーションノートでは、抗ヒスタミン剤 5 種の混合物の分離について取り上げます。まず、この医薬品混合物を Agilent 1200 シリーズクォータナリ LC システムで分析しました。次に、分析メソッドを Agilent 1260 Infinity II Prime LC に移管し、ISET 機能を有効にした状態と無効にした状態で実験を実施しました。また、分析メソッドの移管をさらに最適化できることを示すため、ISET の微調整オプションを使用して追加実験を行いました。各実験で得られたリテンションタイムと分離能を評価し、1200 シリーズクォータナリ LC システムの結果と比較しました。

## 実験方法

### 装置構成

抗ヒスタミン剤の分析には、次の機器を使用しました。

Agilent 1200 シリーズクォータナリ LC システム:

- Agilent 1200 シリーズクォータナリポンプ (G1311A)
- Agilent 1200 シリーズオートサンブラ (G1329A)
- Agilent 1200 シリーズカラムコンパートメント (G1316A)
- Agilent 1200 シリーズダイオードアレイ検出器 (G1315D)

Agilent 1260 Infinity II Prime LC:

- Agilent 1260 Infinity II フレキシブルポンプ (G7104C)
- Agilent 1260 Infinity II マルチサンブラ (G7167A)、一体型サンプル冷却器 (オプション #100) を搭載
- Agilent 1260 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116A)
- Agilent 1260 II ダイオードアレイ検出器 (G7117C)

表 1. 抗ヒスタミン剤混合物の分析に用いたクロマトグラフィーパラメータ

パラメータ	設定値
カラム	Agilent ZORBAX SB C18、4.6 × 75 mm、3.5 μm (p/n 866953-902)
移動相	A) 0.1 % TFA 水溶液 B) アセトニトリル
流量	0.8 mL/min
グラジエント	10 分で B を 10 % から 55 %
ストップタイム	12 分
ポストタイム	5 分
注入量	5 μL、ニードル洗浄 3 秒 (50 % アセトニトリル水溶液)
カラム温度	25 °C
検出	232/8 nm、参照波長オフ、20 Hz

### ソフトウェア

Agilent OpenLAB CDS 2.2 (M8413A)

### サンプル

5 種類の抗ヒスタミン剤 (トリベレナミン、クロルフェニラミン、テトラカイン、プロメタジン、セチリジン (溶出順)) のそれぞれの濃度が 150 ng/μL の混合物

### 試薬

すべての溶媒は LC グレードを使用しました。超純水は、0.22 μm メンブレンユースポイントカートリッジ (Millipak) を装着した Milli-Q Integral システムで製造しました。抗ヒスタミン剤は、Sigma-Aldrich 社 (米国セントルイス) から購入しました。

## 結果と考察

5種類の抗ヒスタミン剤を、3.5 μm 粒子が充填された 4.6 × 75 mm カラムを装着した 1200 シリーズクォータナリ LC システムで従来の分析メソッドを使用して分析しました。最初に、分析メソッドを 1260 Infinity II Prime LC に移管し、ISET を無効にして分析しました。予測したとおり、5種類すべての成分のリテンションタイムが明らかに短くなりました。次に、ISET 機能を有効にしました。図 1 は、1200 シリーズクォータナリ LC システムで得られた元のクロマトグラムと、1260 Infinity II Prime LC で ISET を無効にした状態と有効にした状態で測定した 2 つのクロマトグラムを重ね合わせたものです。

ISET を使用したクロマトグラムは、抗ヒスタミン剤の RT が元のクロマトグラムと良好に一致しています。RT の偏差は 3 % 未満で、ISET の仕様 5 % の範囲に優に収まっています<sup>2</sup>。これに対し、ISET を使用しなかった場合の RT は、5 % から約 11 % シフトしています。

メソッドをさらに最適化して RT を一致させるために、ISET の微調整機能を有効にしました。ディレイボリュームオフセットを -50 μL に設定することで、すべてのピークのリテンションタイムがわずかに短くなりました。図 2 は、元のクロマトグラムと、1260 Infinity II Prime LC で ISET を使用し、微調整機能を無効にした場合と有効にした場合に得られた 2 つのクロマトグラムを重ね合わせたものです。

微調整機能を使用した結果、5種類の抗ヒスタミン剤のリテンションタイムが元のクロマトグラムと一致し、RT のシフトは 0.5 % を下回りました。表 2 に、実施した実験のリテンションタイムをまとめます。

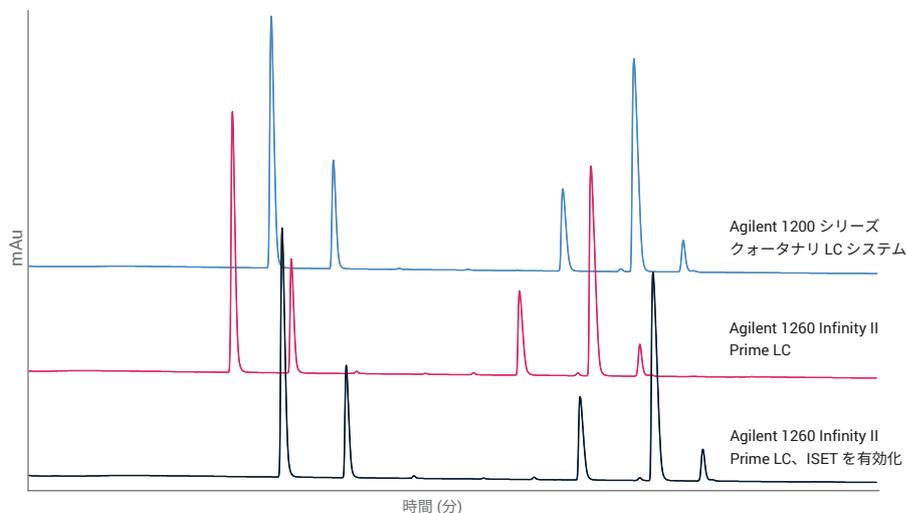


図 1. Agilent 1200 シリーズクォータナリ LC システムで抗ヒスタミン剤を分析した結果 (青) と、分析メソッドを Agilent 1260 Infinity II Prime LC に移管して ISET を無効にした状態 (赤) と有効にした状態 (黒) で測定した結果の比較

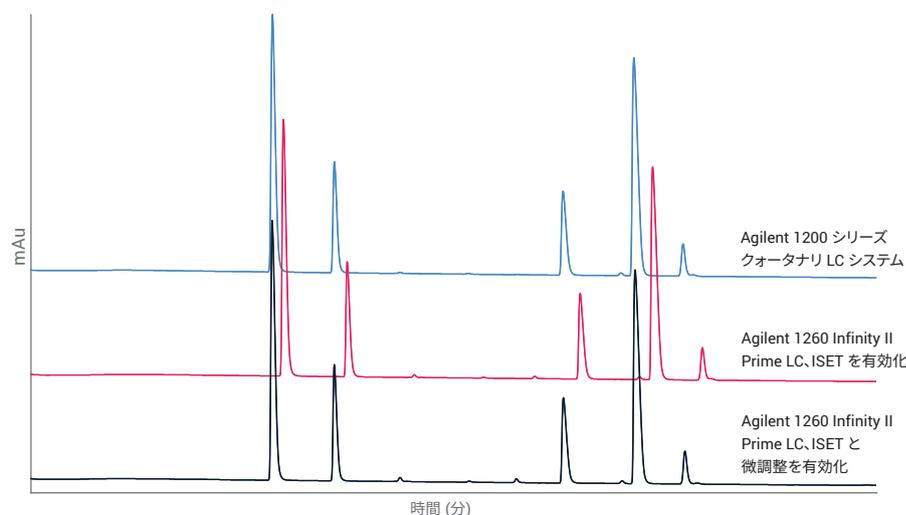


図 2. Agilent 1200 シリーズクォータナリ LC システム (青)、ISET を有効にした Agilent 1260 Infinity II Prime LC (赤)、および ISET と微調整機能を有効にした Agilent 1260 Infinity II Prime LC (黒) でのヒスタミン剤の分析により得られたクロマトグラムの重ね表示

表 2. Agilent 1200 シリーズクォータナリ LC システムと、Agilent 1260 Infinity II Prime LC で ISET を無効、ISET を有効、ISET と微調整機能を有効にして分析した複数の抗ヒスタミン剤のリテンションタイム

Agilent 1200 シリーズ クォータナリ LC システム	Agilent 1260 Infinity II Prime LC		
	RT (分)	RT (分)	ISET および微調整有効時の RT (分)
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

図 3 は、RT のシフトの評価結果です。

1200 シリーズクォータナリ LC システムと、ISET および微調整機能を有効にした 1260 Infinity II Prime LC で、リテンションタイムと面積の精度および分解能を比較しました。これらの値を評価するために、両方の LC システムで 10 回連続して分析しました (表 3)。どちらのシステムも非常に良好な精度値を示しましたが、RT および面積の精度については、1260 Infinity II Prime LC の方がわずかに優れていました。

## 結論

アジレントのインテリジェントシステムエミュレーション技術 (ISET) により、従来の HPLC から Agilent 1260 Infinity II Prime LC へ分析メソッドをシームレスに移管できます。ISET 機能は簡単に使用でき、機器を変更したり分析メソッドを調整したりしなくても、ほぼ同一のクロマトグラムが得られます。今回の調査では、抗ヒスタミン剤の従来の分析メソッドを Agilent 1200 シリーズクォータナリ LC システムから 1260 Infinity II Prime LC に移管しました。1260 Infinity II Prime LC で ISET を有効にして微調整オプションを使用することで、リテンションタイムがきわめて良好に一致し、その偏差は 0.5 % 未満でした。また、移管後の分析メソッドでは RT および面積の精度が向上し、1260 Infinity Prime LC がクラス最高の性能を備えていることが実証されました。

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

[email\\_japan@agilent.com](mailto:email_japan@agilent.com)

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc. 2017  
Printed in Japan, December 1, 2017  
5991-8786JAJP

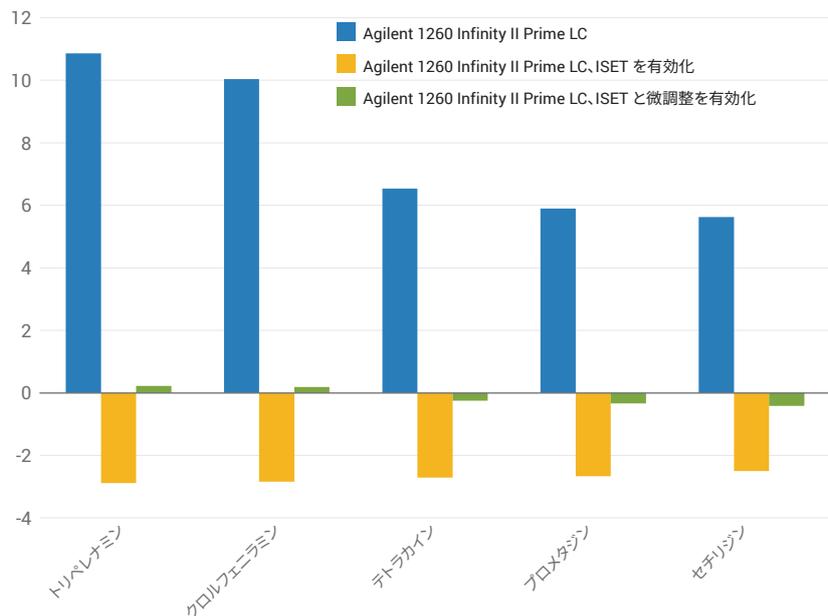


図 3. Agilent 1200 シリーズ LC システムを基準とし、Agilent 1260 Infinity II Prime LC で ISET を無効にした場合と有効にした場合、および追加で微調整機能を有効にした場合のリテンションタイムの偏差

表 3. Agilent 1200 シリーズクォータナリ LC システムおよび Agilent 1260 Infinity II Prime LC でのリテンションタイムと面積の精度および分解能の比較

	RSD RT (%)		RSD 面積 (%)		分解能	
	Agilent 1200 シリーズクォータナリ LC システム	Agilent 1260 Infinity II Prime LC	Agilent 1200 シリーズクォータナリ LC システム	Agilent 1260 Infinity II Prime LC	Agilent 1200 シリーズクォータナリ LC システム	Agilent 1260 Infinity II Prime LC
トリプロレナミン	0.06	0.03	0.091	0.052	–	–
クロルフェニラミン	0.05	0.03	0.111	0.052	8.06	8.34
テトラカイン	0.02	0.03	0.139	0.052	27.78	28.56
プロメタジン	0.02	0.02	0.095	0.074	7.05	7.24
セチリジン	0.02	0.01	0.135	0.072	5.47	5.59

## 参考文献

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, publication number 5990-9692EN, **2014**.
2. Agilent 1290 Infinity II with ISET, Agilent Technologies User Manual, part number G4220-90313, **2015**.