

Sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime con ISET

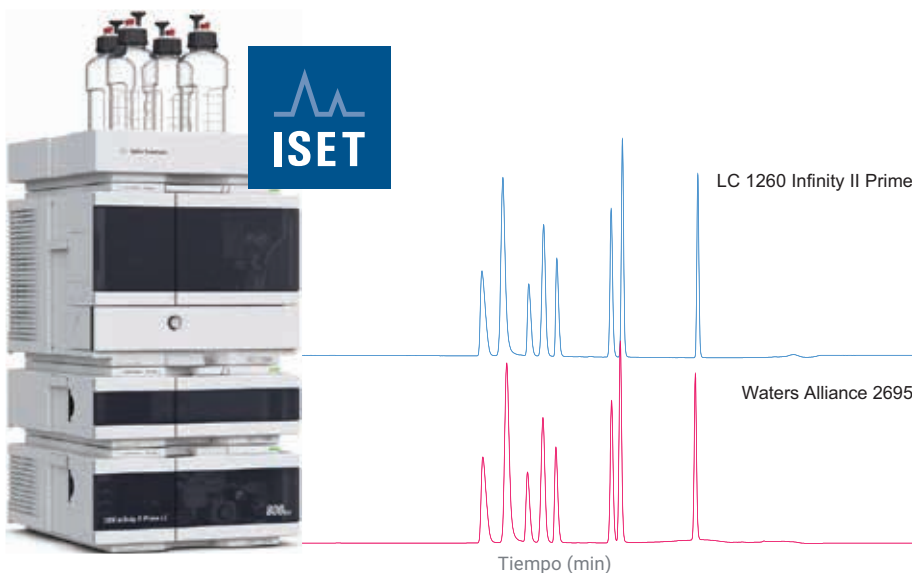
Emulación de un sistema LC Waters Alliance para el
análisis de metoclopramida y sus impurezas

Autor

Melanie Metzloff
Agilent Technologies, Inc.

Resumen

La transferencia de métodos entre instrumentos resulta esencial para numerosos sectores, en particular para la industria farmacéutica regulada. La tecnología inteligente de emulación del sistema (ISET) de Agilent facilita una óptima transferencia de los métodos analíticos desde los sistemas LC convencionales a un sistema UHPLC de Agilent. La presente nota de aplicación demuestra la transferencia directa de un método analítico del sistema LC Waters Alliance 2695 a un sistema LC 1260 Infinity II Prime mediante el uso de la ISET. En ambos sistemas se analizó la metoclopramida y sus impurezas. Se evaluaron y se compararon los tiempos de retención y la resolución de los distintos experimentos.



Introducción

La transferencia de un método analítico desde un sistema HPLC convencional a un sistema UHPLC como el sistema LC 1260 Infinity II Prime es un asunto importante y con frecuencia crítico para muchos laboratorios, especialmente en entornos altamente regulados. La modificación de los métodos analíticos establecidos puede precisar de su revalidación, lo cual resulta caro y laborioso. El sistema LC 1260 Infinity II Prime facilita la emulación de los sistemas LC antiguos, como el Waters Alliance 2695, mediante la ISET¹.

Para la mayor parte de los métodos de LC se utilizan gradientes lineales de fuerza de los disolventes. Sin embargo, el sistema LC Alliance 2695 posibilita diferentes perfiles de gradiente, como las curvas de gradiente cóncavas y convexas. El sistema LC 1260 Infinity II Prime con ISET es capaz de emular estas curvas de gradiente.

En esta nota de aplicación se describe el análisis de la metoclopramida, un antiemético, y siete impurezas diferentes. Para la separación de la mezcla de fármacos, se aplicó un gradiente cóncavo utilizando el sistema LC Waters Alliance 2695. Posteriormente se transfirió el método analítico a un sistema LC 1260 Infinity II Prime con ISET. Se evaluaron y se compararon los tiempos de retención y la resolución de ambos sistemas.

Experimento

Instrumentos

Se utilizaron los siguientes instrumentos para el análisis de la metoclopramida y sus impurezas:

Sistema HPLC Waters Alliance 2695 con detector de absorbancia dual VWD 2487

Sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime:

- Bomba flexible 1260 Infinity II de Agilent (G7104C)
- Muestreador de viales 1260 Infinity II de Agilent (G7129C) equipado con un refrigerador de muestras integrado (opción n.º 100) y un compartimento de columnas integrado (calentador de 6 µl; opción n.º 066)
- Detector de diodo array 1260 Infinity II WR de Agilent (G7115A) con celda de flujo estándar de 10 mm (G1315-60022)

Software

Agilent OpenLab CDS 2.2 (M8413A), para controlar el sistema LC Waters Alliance 2695 mediante OpenLab CDS 2.2; se instaló el sistema Waters DP 2017R2.

Muestra

Para los experimentos se emplearon los siguientes compuestos:

- Clorhidrato de metoclopramida
- **Impureza B:** Metil 4-(acetilamino)-5-cloro-2-metoxibenzoato
- **Impureza C:** Ácido 4-amino-5-cloro-2-metoxibenzoico
- **Impureza D:** Metil 4-(acetilamino)-2-metoxibenzoato
- **Impureza F:** 4-Amino-5-cloro-N-[2-(dietilamino) etil]-2-hidroxibenzamida
- **Impureza G:** N-óxido de N'-(4-Amino-5-cloro-2-metoxibenzoil)-N, N-dietiletano-1,2-diamina
- **Impureza H:** Ácido 4-(acetilamino)-2-hidroxibenzoico
- **Impureza 9:** Metil 4-amino-2-metoxibenzoato

Cada compuesto se disolvió en metanol al 100 % hasta una concentración de 2 mg/ml y se siguió diluyendo con agua hasta una concentración final de 20 ng/µl.

Productos químicos

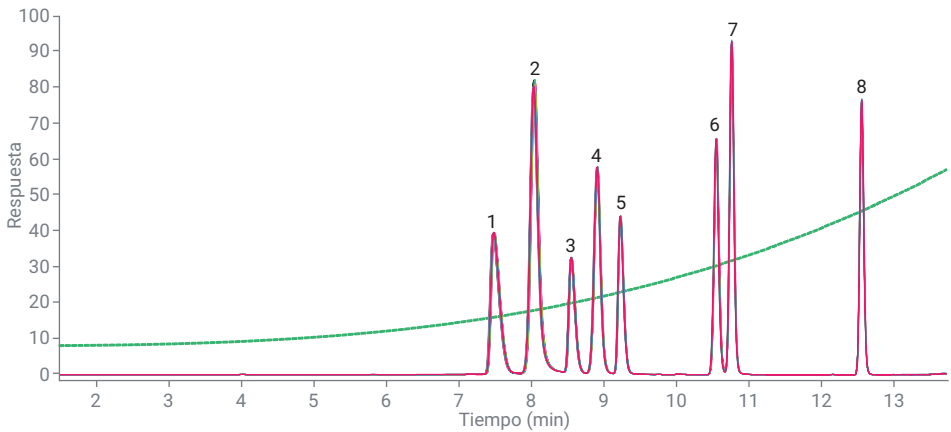
Todos los disolventes utilizados fueron de calidad LC. Se obtuvo agua ultrapura nueva a partir de un sistema integrado Milli-Q equipado con un cartucho de membrana de 0,22 µm en el punto de consumo (Millipak). El acetonitrilo se compró a Merck (Darmstadt, Alemania) y el ácido fórmico (FA) se compró a VWR (Darmstadt, Alemania). La metoclopramida se obtuvo de Sigma-Aldrich (Taufkirchen, Alemania) y las impurezas de metoclopramida se compraron a LGC Standards (Teddington, Reino Unido).

Resultados y comentarios

Se analizó la metoclopramida y sus impurezas con un método analítico convencional en un sistema LC Waters Alliance 2695 aplicando un gradiente cóncavo y utilizando una columna de 4,6 × 150 mm empaquetada con partículas de 5 µm. La Figura 1 muestra un cromatograma superpuesto de 10 análisis consecutivos y una tabla con los tiempos de retención y la resolución correspondientes.

Tabla 1. Parámetros cromatográficos para el análisis de metoclopramida y sus impurezas

Parámetro	Valor
Columna	Columna Agilent ZORBAX StableBond C18; 4,6 × 150 mm, 5 µm (Ref. 883975-902)
Disolvente	A) FA al 0,1 % en agua B) FA al 0,1 % en acetonitrilo
Gradiente	0 minutos – 8 % B 14 minutos – 66 % B; curva 8 14,1 minutos – 8 % B; curva 6
Tiempo de parada	18 minutos
Flujo	2 ml/min
Inyección	Volumen de inyección: 10 µl, tiempo de lavado de la aguja de 3 segundos (acetonitrilo al 60 % en agua)
Temperatura de la muestra	8 °C
Temperatura de la columna	25 °C
Detector DAD	270/4 nm, ref. desactivada, 5 Hz



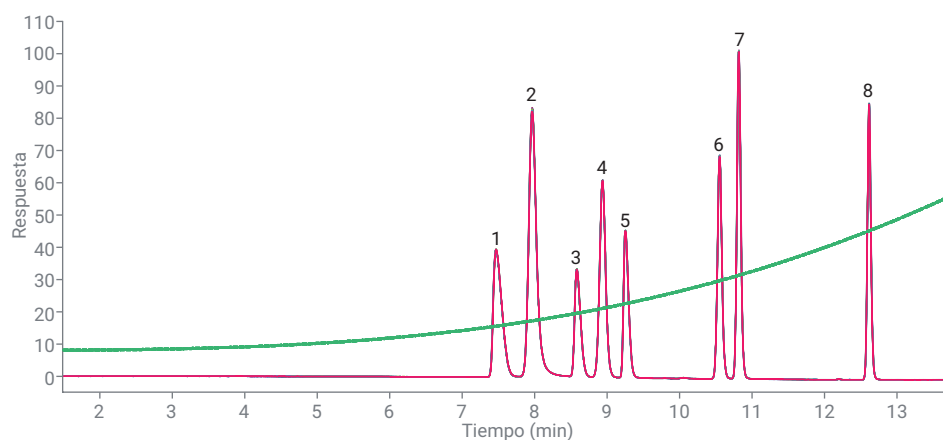
N.º	Compuesto	TR (min)	DER del TR (%)	Resolución
1	Impureza F	7,50	0,12	–
2	Impureza H	8,05	0,12	2,58
3	Metoclopramida	8,57	0,07	2,84
4	Impureza 9	8,93	0,07	2,16
5	Impureza G	9,24	0,05	2,08
6	Impureza C	10,57	0,04	9,93
7	Impureza D	10,78	0,03	1,75
8	Impureza B	12,57	0,01	16,46

Figura 1. Análisis de metoclopramida e impurezas. Obtenido en un sistema LC Waters Alliance 2695, superposición de 10 análisis consecutivos. La curva verde del cromatograma muestra la relación de disolvente B.

Posteriormente se transfirió el método analítico para la separación de la metoclopramida y las impurezas al sistema LC 1260 Infinity II Prime con ISET habilitada. La Figura 2 muestra el cromatograma superpuesto resultante junto con el tiempo de retención y la resolución correspondientes.

Mediante el uso de la ISET en el sistema LC 1260 Infinity II Prime, es posible la formación de perfiles de gradiente cóncavos y convexos. En OpenLab CDS y ChemStation, la numeración de los 11 perfiles de gradiente diferentes usados es idéntica a la numeración de Waters. Para estos experimentos se hizo uso de la curva 8 (cóncava) y la 6 (lineal).

Cuando se transfirió el método analítico a un sistema LC 1260 Infinity II Prime utilizando la ISET, se obtuvieron cromatogramas muy similares a los producidos con el sistema LC Alliance 2695. La Figura 3 muestra una comparación de los cromatogramas obtenidos con el sistema LC 1260 Infinity II Prime y con el sistema LC Alliance 2695.



N.º	Compuesto	TR (min)	DER del TR (%)	Resolución
1	Impureza F	7,48	0,02	–
2	Impureza H	7,98	0,05	2,38
3	Metoclopramida	8,59	0,01	3,58
4	Impureza 9	8,95	0,01	2,29
5	Impureza G	9,26	0,03	2,19
6	Impureza C	10,56	0,03	10,51
7	Impureza D	10,83	0,01	2,46
8	Impureza B	12,63	0,01	18,93

Figura 2. Análisis de la metoclopramida y sus impurezas. Obtenido en un sistema LC 1260 Infinity II Prime, superposición de 10 análisis consecutivos. La curva verde del cromatograma muestra la relación de disolvente B.

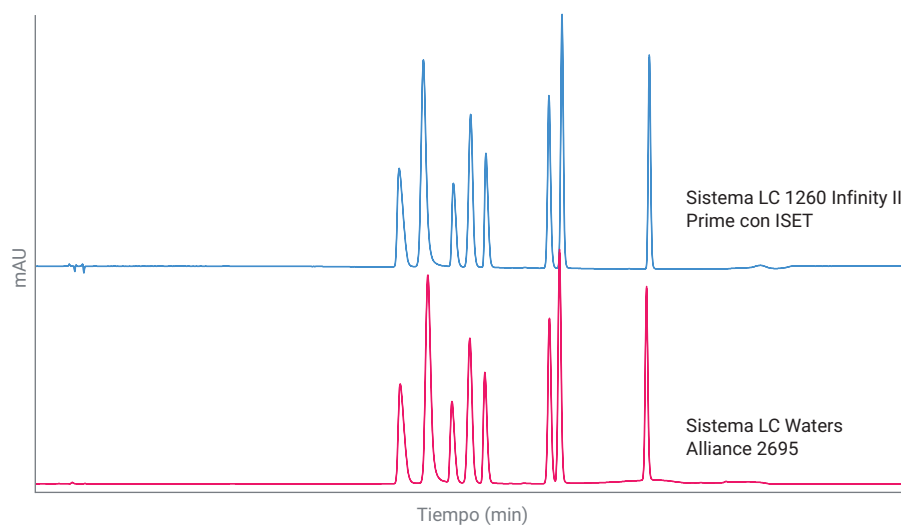


Figura 3. Superposición de un cromatograma obtenido con el sistema LC 1260 Infinity II Prime con ISET habilitada y uno obtenido con el sistema LC Waters Alliance 2695 para el análisis de la metoclopramida y sus impurezas.

Los tiempos de retención en ambos sistemas, con una desviación máxima de $\approx 0,9\%$ ofrecen una concordancia excelente y están claramente por debajo de la desviación especificada para el tiempo de retención de $\pm 5\%$. Además, se determinó la desviación de la resolución. Para la mayoría de los picos, la resolución fue mejor en los análisis que utilizaron el sistema LC 1260 Infinity II Prime, salvo para la impureza H. La Tabla 2 muestra una visión general detallada para la desviación del tiempo de retención y la resolución.

Tabla 2. Comparación del tiempo de retención y la resolución entre un sistema LC Waters Alliance 2695 y un sistema LC 1260 Infinity II Prime

Compuesto	Desviación del TR (min)	Desviación del TR (%)	Resolución de la desviación	Resolución de la desviación (%)
Impureza F	-0,02	-0,27	–	–
Impureza H	-0,07	-0,90	-0,20	-8,28
Metoclopramida	0,02	0,23	0,73	20,48
Impureza 9	0,02	0,22	0,13	5,58
Impureza G	0,02	0,23	0,12	5,25
Impureza C	-0,01	-0,09	0,58	5,51
Impureza D	0,05	0,46	0,71	28,76
Impureza B	0,06	0,48	2,47	13,06

Conclusión

La ISET permite una transferencia de métodos analíticos perfecta desde un sistema HPLC convencional al sistema LC Agilent 1260 Infinity II Prime. Al habilitar la ISET se posibilita la emulación de un sistema LC de Waters Alliance, incluso realizando gradientes cóncavos y convexos.

En esta nota de aplicación se ha transferido un método para el análisis de metoclopramida y sus impurezas de un sistema LC Waters Alliance 2695 a un sistema LC 1260 Infinity II Prime. Se obtuvieron un tiempo de retención y una resolución excelentes. Además, se mejoró la resolución en la mayor parte de los picos. Esta nota de aplicación demuestra claramente la facilidad de uso de la ISET. No fue necesario realizar modificaciones en el instrumento ni cambios del método analítico para el análisis de la metoclopramida y sus impurezas en el sistema LC 1260 Infinity II Prime.

Referencias

1. Gratzfeld-Huesgen, A. Agilent 1290 Infinity Binary LC System with ISET – Emulation of the Waters Alliance 2695 LC system analyzing β – blockers, *Nota de aplicación de Agilent Technologies*, número de publicación 5991-1603EN, **2014**.
2. Agilent InfinityLab LC con ISET, *Manual de usuario de Agilent Technologies*, referencia G7120-90310, **2017**.

www.agilent.com/chem

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2018
Impreso en EE. UU., 1 de junio de 2018
5991-9394ES