

LC Agilent 1260 Infinity II Prime avec ISET

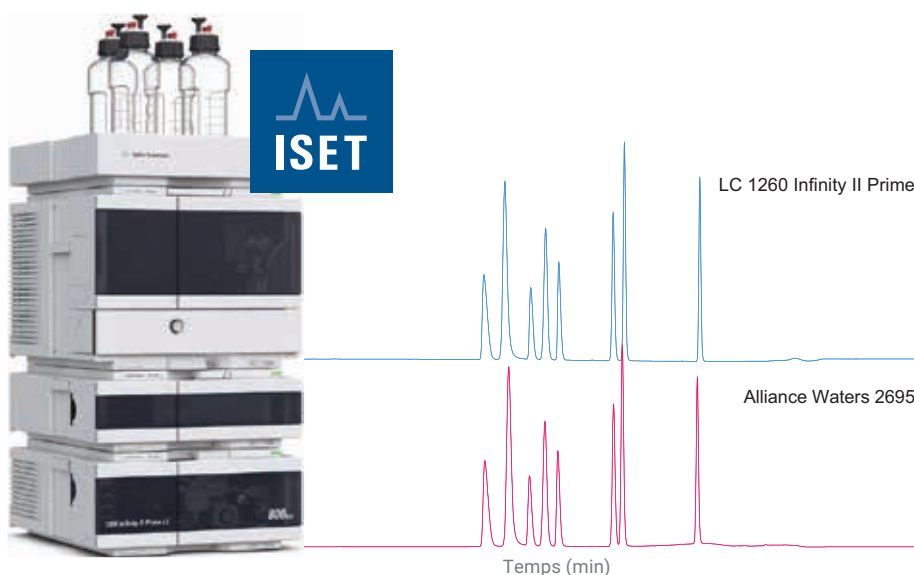
Simulation d'une LC Alliance Waters pour l'analyse
du métoprolol et de ses impuretés

Auteur

Melanie Metzloff
Agilent Technologies, Inc.

Résumé

Le transfert de méthode d'un instrument à l'autre est un sujet essentiel dans de nombreux secteurs, en particulier ceux réglementés comme l'industrie pharmaceutique. La technologie intelligente de simulation de systèmes d'Agilent (ISET) simplifie le transfert transparent de méthodes analytiques d'un système de LC conventionnel vers un système UHPLC Agilent. Cette note d'application démontre la simplicité avec laquelle ISET permet d'effectuer le transfert d'une méthode analytique d'une LC Alliance Waters 2695 à une LC 1260 Infinity II Prime. Le métoprolol et ses impuretés ont été analysés sur les deux systèmes. Les temps de rétention et la résolution des différentes expériences ont été évalués et comparés.



Introduction

Le transfert d'une méthode analytique d'un système HPLC conventionnel vers un système UHPLC comme la LC Agilent 1260 Infinity II Prime est un sujet important, voire essentiel, pour de nombreux laboratoires, en particulier dans les environnements fortement réglementés. La modification de méthodes analytiques établies peut nécessiter une revalidation chronophage et coûteuse. Avec la technologie intelligente de simulation de systèmes (ISET), la LC 1260 Infinity II Prime simplifie la simulation des anciens systèmes de LC comme la LC Alliance Waters 2695¹.

Dans la plupart des méthodes de LC, des gradients linéaires de solvants sont utilisés. Cependant, la LC Alliance 2695 permet d'utiliser différents profils de gradient, tels que les gradients concaves et convexes. La LC Agilent 1260 Infinity II Prime avec ISET peut simuler ces courbes de gradient.

Cette note d'application décrit l'analyse du métoclopramide, un médicament antiémétique, et de sept impuretés différentes. Un gradient concave a été appliqué pour réaliser la séparation du mélange contenant le médicament avec la LC Alliance Water 2695. La méthode analytique a ensuite été transférée vers la LC 1260 Infinity II Prime avec ISET. Les temps de rétention et la résolution des deux systèmes ont été évalués et comparés.

Données expérimentales

Instruments

Les instruments suivants ont été utilisés pour l'analyse du métoclopramide et de ses impuretés :

Système HPLC Alliance Waters 2695 avec détecteur d'absorbance à double longueur d'onde VWD 2487

LC Agilent 1260 Infinity II Prime :

- Pompe flexible Agilent 1260 Infinity II (G7104C)
- Échantillonneur en mode flacons Agilent 1260 Infinity II (G7129C) avec refroidisseur d'échantillons (option n° 100) et compartiment colonne (chauffage de 6 µL ; option n° 066) intégrés
- Détecteur à barrette de diodes Agilent WR 1260 Infinity II (G7115A) avec cellule standard de 10 mm (G1315-60022)

Logiciel

Agilent OpenLAB CDS 2.2 (M8413A) ; Waters DP 2017R2 a été installé pour piloter la LC Alliance Waters 2695 avec OpenLAB CDS 2.2.

Échantillon

Les composés suivants ont été utilisés pour les expériences :

- Chlorhydrate de métoclopramide
- **Impureté B** : 4-(acétylamino)-5-chloro-2-méthoxybenzoate de méthyle
- **Impureté C** : acide 4-amino-5-chloro-2-méthoxybenzoïque
- **Impureté D** : 4-(acétylamino)-2-méthoxybenzoate de méthyle
- **Impureté F** : 4-amino-5-chloro-N-(2-diéthylaminoéthyl)-2-hydroxybenzamide
- **Impureté G** : N'-(4-amino-5-chloro-2-méthoxybenzoyl)-N, N-diéthyléthane-1,2-diamine N-oxyde
- **Impureté H** : acide 4-(acétylamino)-2-hydroxybenzoïque
- **Impureté 9** : 4-amino-2-méthoxybenzoate de méthyle

Tous les composés ont été dissous à une concentration de 2 mg/mL dans du méthanol à 100 %, puis dilués avec de l'eau jusqu'à une concentration finale de 20 ng/µL.

Produits chimiques

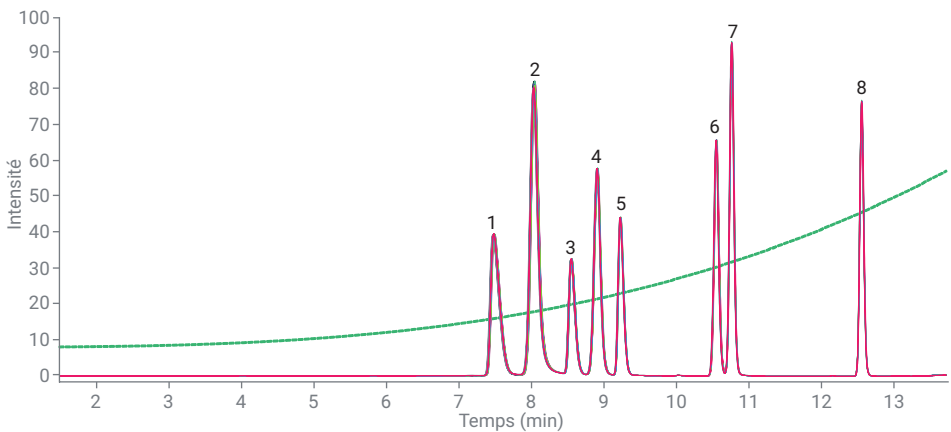
Tous les solvants utilisés étaient de qualité LC. L'eau ultrapure fraîchement préparée a été obtenue à partir d'un système Milli-Q Integral équipé d'une cartouche (Millipak) avec une membrane de 0,22 µm. L'acétonitrile a été acheté auprès de Merck (Darmstadt, Allemagne) et l'acide formique auprès de VWR (Darmstadt, Allemagne). Le métoclopramide a été obtenu auprès de Sigma Aldrich (Taufkirchen, Allemagne) et les impuretés du métoclopramide ont été achetées auprès de LGC Standards (Teddington, Royaume-Uni).

Résultats et discussion

Le métoclopramide et ses impuretés ont été analysés avec une méthode analytique conventionnelle sur une LC Alliance Waters 2695 en appliquant un gradient concave et une colonne de 4,6 × 150 mm remplie de particules de 5 µm. La Figure 1 présente la superposition des chromatogrammes de 10 analyses consécutives et un tableau contenant les temps de rétention et la résolution correspondants.

Tableau 1 : Paramètres chromatographiques pour l'analyse du métoclopramide et de ses impuretés.

Paramètre	Valeur
Colonne	Agilent ZORBAX StableBond C18, 4,6 × 150 mm, 5 µm (réf. 883975-902)
Solvant	A) 0,1 % acide formique dans l'eau B) 0,1 % acide formique dans l'acétonitrile
Gradient	0 minute – 8 % B 14 minutes – 66 % B; courbe 8 14,1 minutes – 8 % B; courbe 6
Fin d'analyse	18 minutes
Débit	2 mL/min
Injection	Volume d'injection : 10 µL avec rinçage de l'aiguille de 3 secondes (60 % d'acétonitrile dans de l'eau)
Température d'échantillon	8 °C
Température de colonne	25 °C
DAD	270/4 nm ; réf. off, 5 Hz



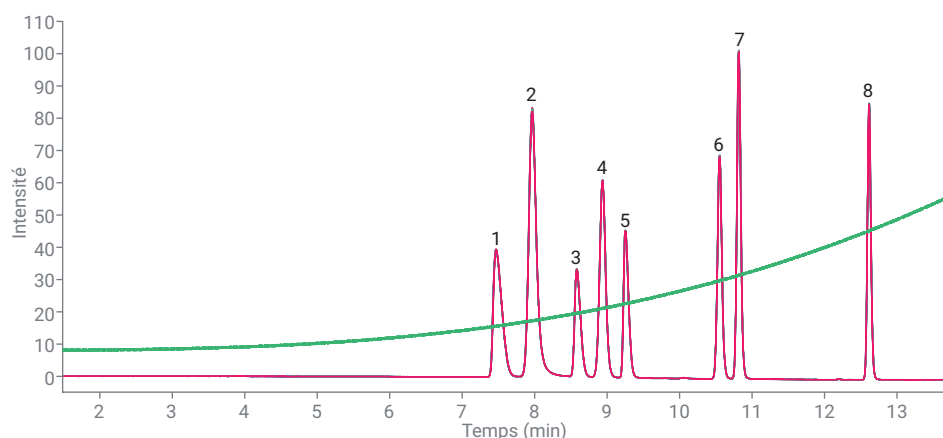
N°	Composé	TR (min)	RSD TR (%)	Résolution
1	Impureté F	7,50	0,12	–
2	Impureté H	8,05	0,12	2,58
3	Métoclopramide	8,57	0,07	2,84
4	Impureté 9	8,93	0,07	2,16
5	Impureté G	9,24	0,05	2,08
6	Impureté C	10,57	0,04	9,93
7	Impureté D	10,78	0,03	1,75
8	Impureté B	12,57	0,01	16,46

Figure 1 : Analyse du métoclopramide et de ses impuretés. Superposition de 10 analyses consécutives réalisées sur un système LC Alliance Waters 2695. La courbe verte du chromatogramme représente la proportion de solvant B.

La méthode analytique pour la séparation du métoclopramide et de ses impuretés a ensuite été transférée sur la LC 1260 Infinity II Prime munie de la fonctionnalité ISET activée. La Figure 2 représente la superposition des chromatogrammes obtenus avec les temps de rétention et la résolution correspondants.

En utilisant la technologie ISET, il est possible d'obtenir des profils de gradient concaves et convexes sur la LC 1260 Infinity II Prime. Dans OpenLAB CDS et ChemStation, les numéros attribués aux 11 différents profils de gradient sont identiques aux numéros utilisés par le système Waters. Pour ces expériences, la courbe 8 (concave) et la courbe 6 (linéaire) ont été utilisées.

Lorsque la méthode analytique a été transférée, les chromatogrammes obtenus sur la LC 1260 Infinity II Prime muni de la fonctionnalité ISET étaient très semblables à ceux de la LC Alliance 2695. La Figure 3 présente une comparaison des chromatogrammes acquis avec la LC 1260 Infinity II Prime et avec la LC Alliance 2695.



N°	Composé	TR (min)	RSD TR (%)	Résolution
1	Impureté F	7,48	0,02	–
2	Impureté H	7,98	0,05	2,38
3	Métoclopramide	8,59	0,01	3,58
4	Impureté 9	8,95	0,01	2,29
5	Impureté G	9,26	0,03	2,19
6	Impureté C	10,56	0,03	10,51
7	Impureté D	10,83	0,01	2,46
8	Impureté B	12,63	0,01	18,93

Figure 2 : Analyse du métoclopramide et de ses impuretés. Superposition de 10 analyses consécutives réalisées sur une LC 1260 Infinity II Prime. La courbe verte du chromatogramme représente la proportion de solvant B.

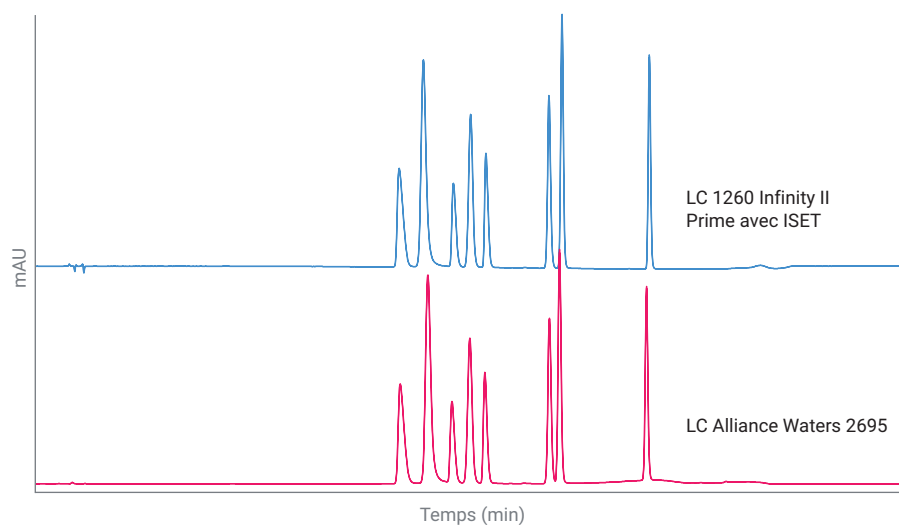


Figure 3 : Superposition d'un chromatogramme acquis sur la LC 1260 Infinity II Prime avec la fonctionnalité ISET activée et d'un chromatogramme acquis sur la LC Alliance Waters 2695 pour l'analyse du métoclopramide et de ses impuretés.

La concordance entre les temps de rétention sur les deux systèmes est excellente. L'écart maximal est de $\approx 0,9 \%$, ce qui est très en dessous de l'écart de temps de rétention spécifié (à savoir $< \pm 5 \%$)². L'écart de résolution a également été déterminé. La résolution était meilleure dans le cas des analyses effectuées sur la LC 1260 Infinity II Prime pour la plupart des pics, sauf pour l'impureté H. Les écarts des temps de rétention et de la résolution sont présentés en détail dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Comparaison des temps de rétention et de la résolution obtenus sur une LC Alliance Waters 2695 et une LC Agilent 1260 Infinity II Prime.

Composé	Écart de TR (min)	Écart de TR (%)	Écart de résolution	Écart de résolution (%)
Impureté F	-0,02	-0,27	–	–
Impureté H	-0,07	-0,90	-0,20	-8,28
Métoclopramide	0,02	0,23	0,73	20,48
Impureté 9	0,02	0,22	0,13	5,58
Impureté G	0,02	0,23	0,12	5,25
Impureté C	-0,01	-0,09	0,58	5,51
Impureté D	0,05	0,46	0,71	28,76
Impureté B	0,06	0,48	2,47	13,06

Conclusion

ISSET permet de transférer de manière transparente des méthodes existantes des systèmes HPLC conventionnels vers la LC 1260 Infinity II Prime. En activant la fonctionnalité ISET, il est possible de simuler une LC Alliance Waters, même lorsque celui-ci utilise des gradients concaves et convexes.

Dans cette note d'application, une méthode d'analyse du métoclopramide et de ses impuretés a été transférée d'une LC Alliance Waters 2695 à une LC 1260 Infinity II Prime. La corrélation était excellente pour les temps de rétention et la résolution. En outre, la résolution a été améliorée pour la plupart des pics. Cette note d'application démontre clairement la simplicité d'utilisation d'ISSET. L'analyse du métoclopramide et de ses impuretés a pu être effectuée sur la LC 1260 Infinity II Prime sans qu'il soit nécessaire d'apporter des modifications à l'instrument ou à la méthode analytique.

Références

1. Gratzfeld-Huesgen, A. Agilent 1290 Infinity Binary LC System with ISET – Emulation of the Waters Alliance 2695 LC system analyzing β – blockers, *Note d'application Agilent Technologies*, numéro de publication 5991-1603EN, **2014**.
2. Agilent InfinityLab LC with ISET, *Agilent Technologies User Manual*, référence G7120-90310, **2017**.

www.agilent.com/chem

Ces informations peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2018
Imprimé aux États-Unis, le 1^{er} juin 2018
5991-9394FR