

Reimpressão do pôster

ASMS 2019

WP277

Aumento do uso do MS:

Um espectrômetro de massa autoconsciente projetado para não especialistas

Aprimore seus resultados de cromatografia com detecção de massas para obter uma confirmação inequívoca de analitos usando o LC/MSD iQ Agilent InfinityLab com quadrupolo simples

Kyle Covert, PhD, Maggie A. Ostrowski, PhD

Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA

Introdução

A HPLC (cromatografia líquida de alto desempenho) com detecção UV é a técnica analítica mais utilizada em laboratórios farmacêuticos. Independentemente de um laboratório estar buscando entender a cinética de reação, executar o controle interno do processo ou liberar o teste do material de partida, intermediários e APIs (ingredientes farmacêuticos ativos), o HPLC está no núcleo de suas operações. Usuários de cromatografia estão constantemente diminuindo o gradiente de suas corridas de HPLC para maximizar a eficiência. Para conseguir resultados rápidos e com alta confiança, é possível adicionar a detecção seletiva de massas para obter uma confirmação inequívoca de analitos com maior especificidade e sensibilidade a fim de confirmar e monitorar até mesmo os compostos mais elusivos.

A espectrometria de massas (MS) traz uma sensação de confiança e certeza para a análise do composto. Historicamente, muitos laboratórios não eram capazes de adicionar a detecção de massas devido à complexidade da operação, a uma íngreme curva de aprendizado, ao grande tamanho dos instrumentos e ao custo de propriedade, o que a tornava inatingível para a maioria dos laboratórios de cromatografia de rotina. O recente desenvolvimento do detector seletivo de massas LC/MSD iQ Agilent InfinityLab supera essas barreiras ao uso desse recurso, abrindo o acesso às informações de massa e facilitando a adesão à essa tecnologia analítica. O novo design de hardware e software do LC/MSD iQ InfinityLab fornece um sistema de detecção de MS com funcionamento automático que minimiza significativamente a curva de aprendizado e fornece uma confirmação de massa confiável.

Parte experimental



Figura 1. LC/MSD iQ InfinityLab com um sistema de HPLC InfinityLab II Prime no MS InfinityLab Flex Bench.

Parte experimental

Descrição geral do LC/MSD iQ InfinityLab

Desde o princípio, o detector seletivo de massas LC/MSD iQ Agilent foi projetado pensando na facilidade de uso e flexibilidade adicional, mantendo uma operação robusta e confiável. Os parâmetros de MS ideais são definidos automaticamente com base nas condições do LC para maximizar a eficiência e proporcionar aos cromatógrafos uma operação de detecção de massa sem preocupações.

Um design de hardware modular permite a manutenção rápida sem a necessidade de remover o quadrupolo simples da pilha de HPLC.

Instrumentação

- LC/MSD iQ Quadrupolo simples Agilent (G6160AA)
- Bomba de alta velocidade Agilent 1290 Infinity II (G7120A)
- Amostrador de vials Agilent 1290 Infinity II (G7129B)
- Compartimento de colunas múltiplas Agilent 1290 Infinity II
- Detector de arranjo de diodos Agilent 1290 Infinity II

Resultados e discussão

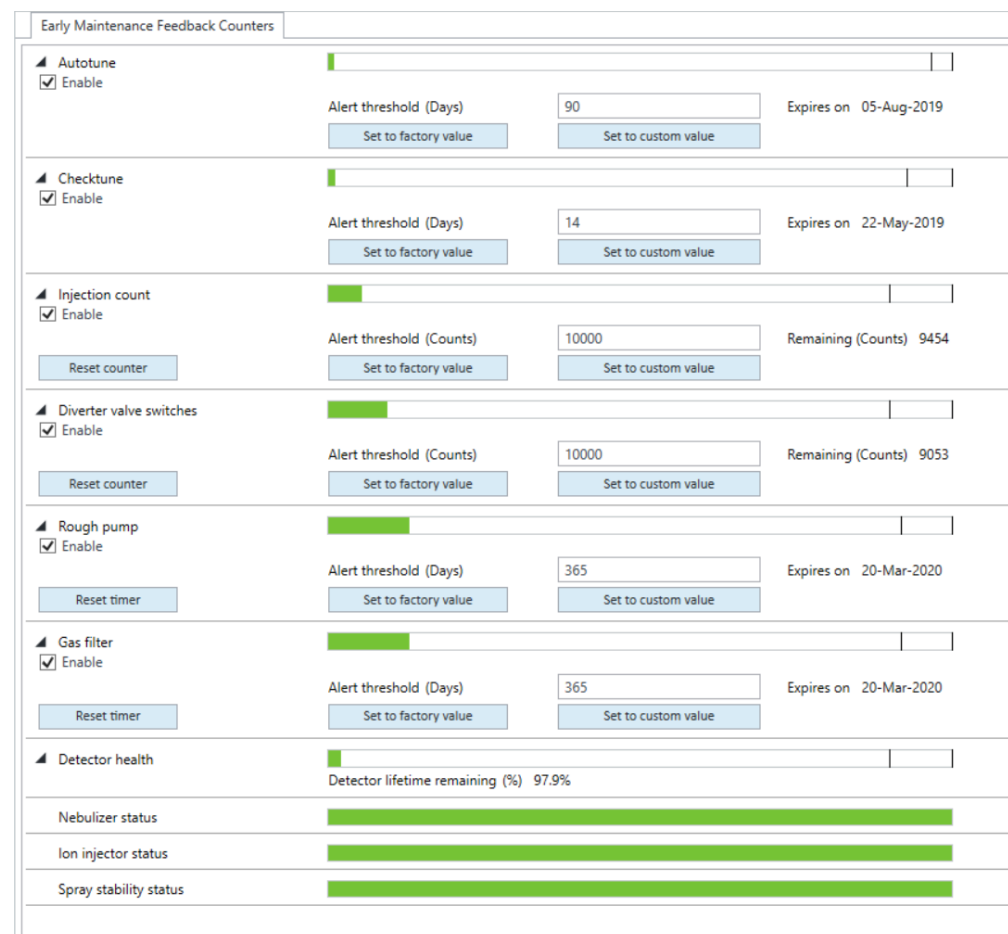


Figura 2. Informação de manutenção preventiva do instrumento.

- A informação de manutenção preventiva do instrumento prevê e notifica os usuários sobre operações de manutenção de rotina, tais como troca de capilar, desempenho do detector e outros.

Aquisição automática e Autotune agendado

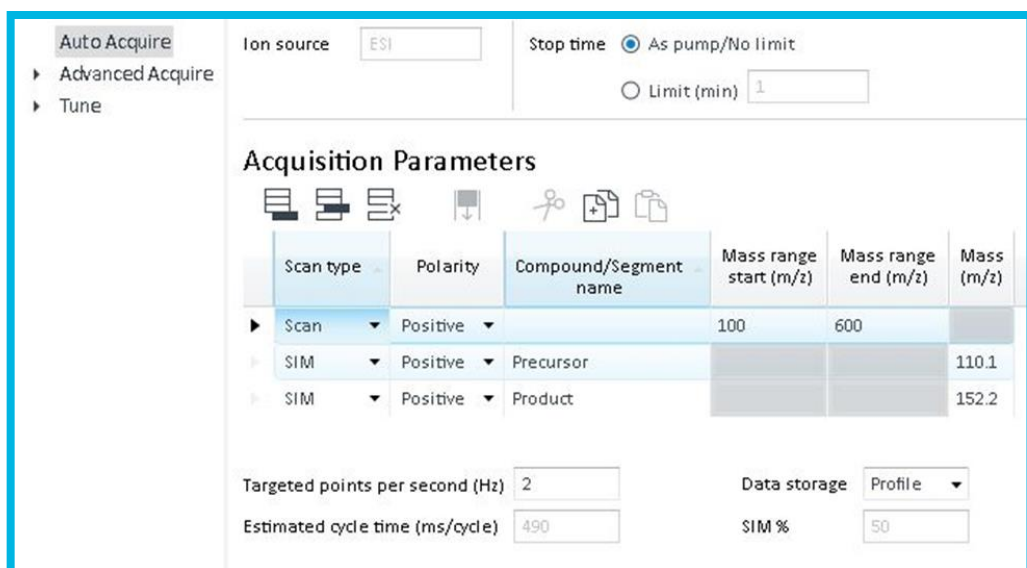


Figura 3. Modo de aquisição automática.

- O novo modo de aquisição automática configura os parâmetros MS automaticamente com base no método LC e nos analitos de interesse.
- Somente são exigidos do usuário o método LC e a faixa de massa (ou massa para SIM), o software cuida do resto.

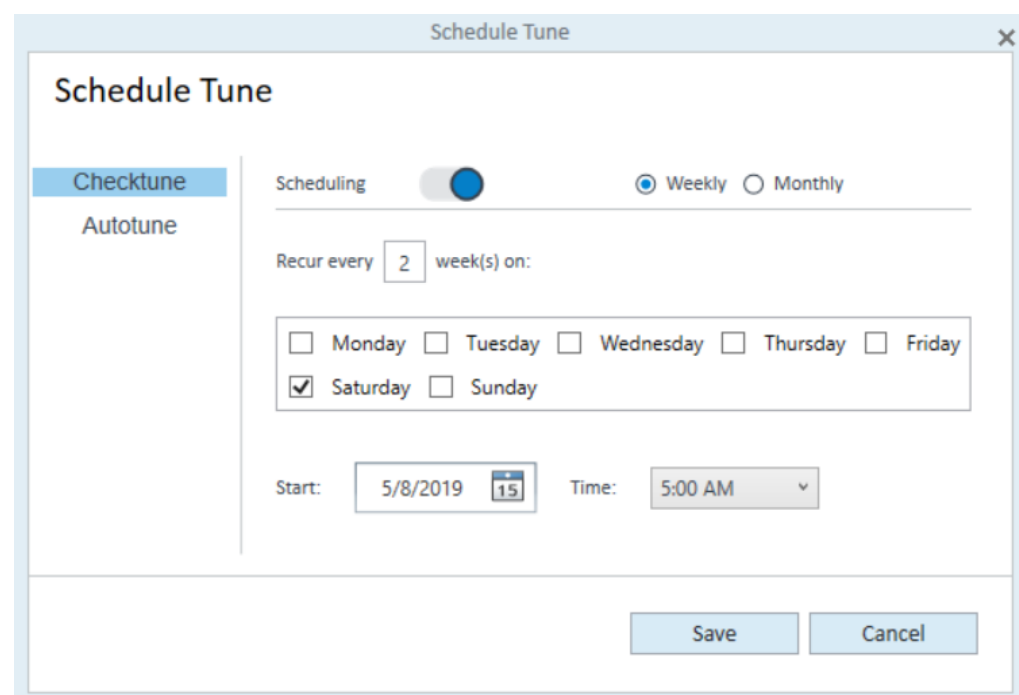


Figura 4. Agendador automático de tune.

- Agora, um Checktune pode ser agendado automaticamente para automatizar a verificação de desempenho.
- A solução de calibração é alojada no espectrômetro de massas e entregue através da válvula do sistema de fornecimento calibrante, portanto, não há necessidade de preparar ou configurar uma mistura de calibração.
- Também é possível agendar um Autotune. O autotune calibra o eixo da massa e otimiza o desempenho. Todas as tensões ópticas de íons, de filtro de massa e do detector foram otimizadas a fim de atender a critérios rigorosos para os picos de calibração e levam menos de cinco minutos, tanto para o modo positivo quanto para o negativo.

O MS melhora a sensibilidade e a seletividade

Em um cenário regulatório em evolução, com requisitos cada vez mais rigorosos, a detecção UV pode não ser sensível o suficiente para muitas aplicações. Por exemplo, no caso de impurezas mutagênicas, que têm um limiar de detecção muito baixo, um detector de massa é indispensável para detectar compostos que estão presentes na amostra em baixa concentração. (Fig. 5)

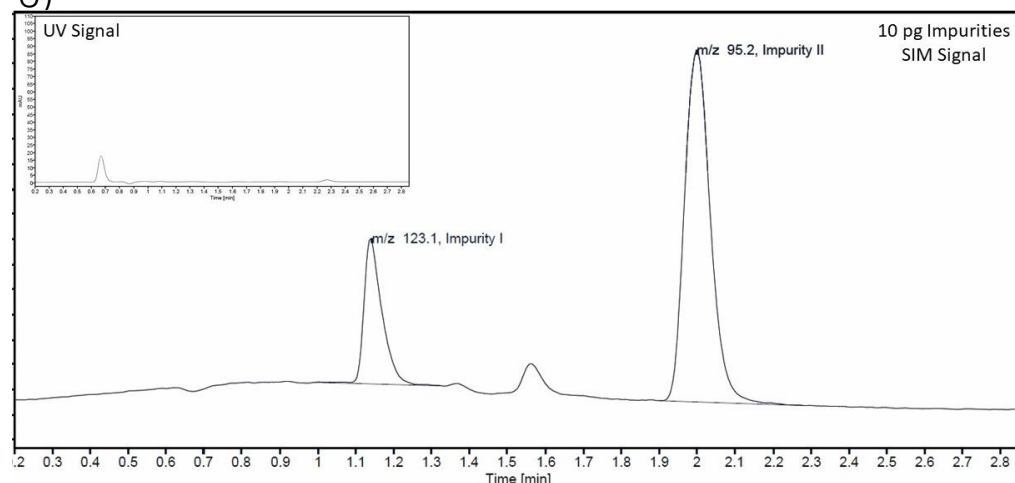


Figura 5. 10 pg de impurezas foram monitoradas por detecção de massas e de UV. As impurezas não foram detectadas no sinal UV (inlay), mas são claramente mostradas no sinal SIM.

- A detecção de massas é 100x mais sensível que a detecção UV.
- Para o modo de Monitoramento de íons simples (SIM), o MS gasta mais tempo filtrando somente as massas selecionadas, melhorando muito a sensibilidade.

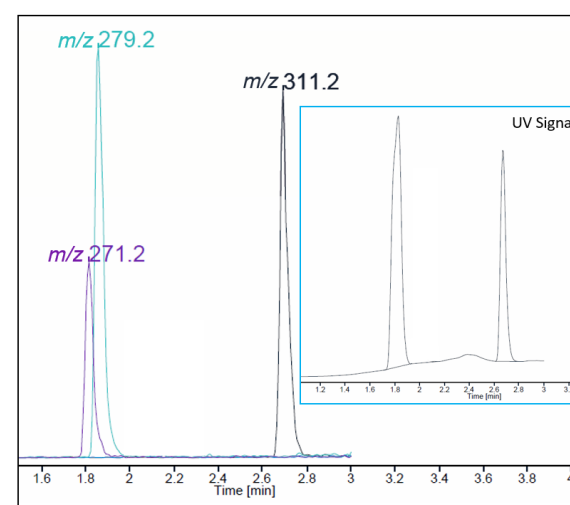


Figura 6. Compostos coeluídos podem ser facilmente identificados por cromatogramas de íons extraídos ou pelo modo SIM. Apenas dois picos estão presentes no sinal UV (inlay), onde há três compostos confirmados no sinal de massa.

- Cromatogramas de íons extraídos (EIC) mostram quanto de um pico cromatográfico é composto por uma massa selecionada, melhorando a seletividade.
- Ao selecionar as massas de três compostos sulfa, o pico coeluído da Fig. 6 é separado em dois picos.

OpenLab CDS – aquisição, análise de dados e relatórios em uma única embalagem

O software OpenLab CDS foi projetado tendo a automação em mente e possui uma interface fácil de usar que é intuitiva e rápida de aprender. (Fig. 7) O status do instrumento, o método de entrada e o envio de amostras são acessíveis a partir das guias na aquisição de dados. A análise de dados e os relatórios são incluídos e totalmente integrados à aquisição, de modo que o processamento de dados e o relatório podem ser executados automaticamente com um envio de amostra. O OpenLab CDS oferece recursos de compatibilidade total que dão suporte à integridade dos dados com a US FDA 21 CFR Parte 11, EU Anexo 11 e outras regulamentações similares.

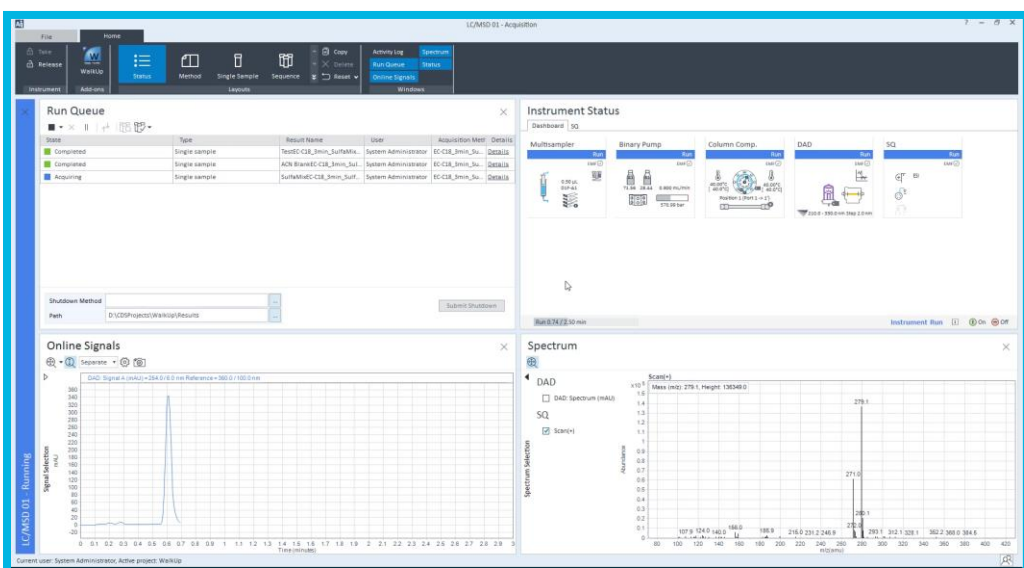


Figura 7. Tela de aquisição de dados do OL CDS.

- O OL CDS fornece uma interface intuitiva que é fácil de aprender.
- A análise de dados é integrada e pode ser executada diretamente da fila de corrida na aquisição de dados.
- Um único método de processamento irá processar automaticamente os dados e gerar um relatório assim que a corrida for concluída, como mostra a Figura 8 abaixo.

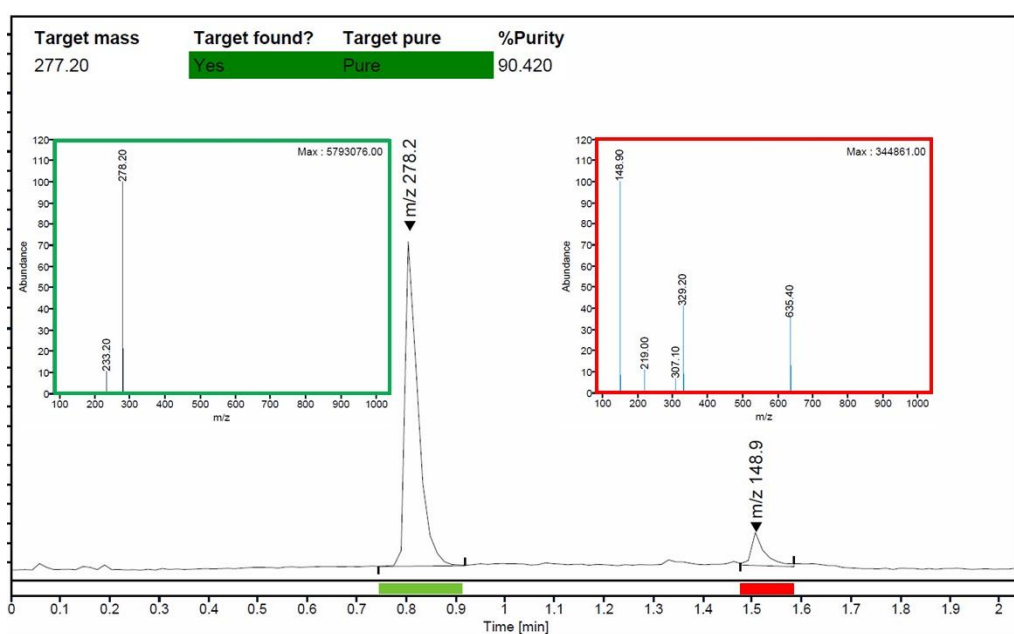


Figura 8. Análise de pureza de amostra automatizada e relatório de amitriptilina pelo LC/MSD iQ. A massa alvo para a amitriptilina (277,20) foi inserida antes da análise e esse relatório foi gerado automaticamente.

Análise de impurezas: existe diferença entre o medicamentos OTC de marca original e genéricos?

Foi realizado um experimento utilizando o OL CDS e o LC/MSD iQ para comparar as impurezas entre um medicamento de referência e um genérico de acetaminofeno. A Fig. 9 mostra os padrões de impureza detectados no modo SIM ao nível de 5 ng. Um comprimido de acetaminofeno de referência e um genérico foram dissolvidos em metanol e a percentagem de impurezas detectadas é mostrada na Tabela 1 abaixo.

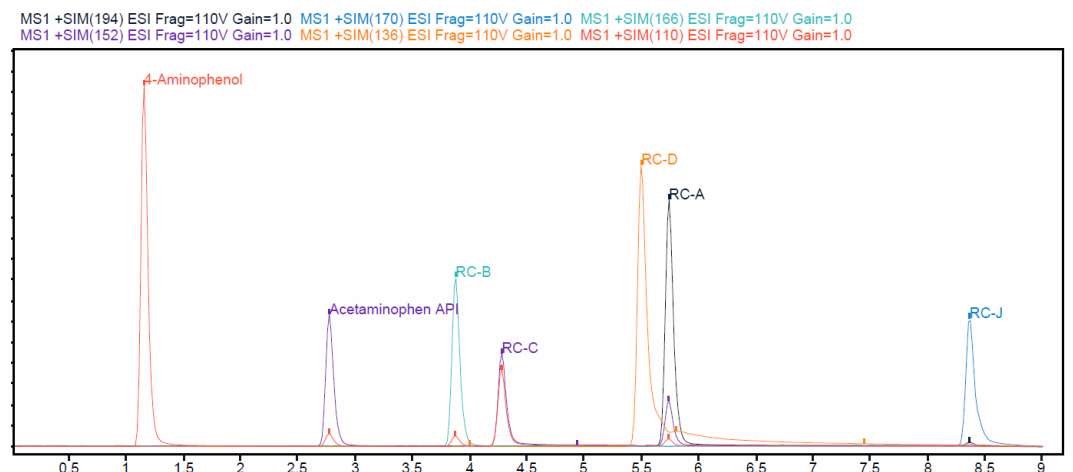


Figura 9. Análise direcionada de 5 ng na coluna de padrões de impureza para o acetaminofeno.

Impureza	Marca	Genérico
A	0,0024%	0,0029%
B	0,0017%	0,0057%
D	0,0050%	0,0004%

Tabela 1. Porcentagem de impurezas detectadas em relação ao API do acetaminofeno.

- O LC/MSD iQ foi capaz de detectar impurezas a milésima parte de um por cento em comparação com a API.
- Há de fato uma diferença na concentração de impurezas entre um medicamento de referência e um genérico.

Conclusões

- O novo LC/MSD iQ Agilent InfinityLab fornece aos novos usuários um espectrômetro de massas intuitivo para maximizar a confiança em seus resultados analíticos.
- O instrumento foi projetado tendo o usuário de cromatografia em mente, reduzindo a complexidade do espectrômetro de massas sem comprometer a facilidade de uso, a robustez e a confiabilidade.
- Em conjunto com o software OpenLab CDS, adicionar um detector de massas à sua pilha de HPLC é agora mais fácil do que nunca!