

Couplage CCM/SM: Un système simple et efficace... Premiers tests

Club CCM
11 Juin 2009

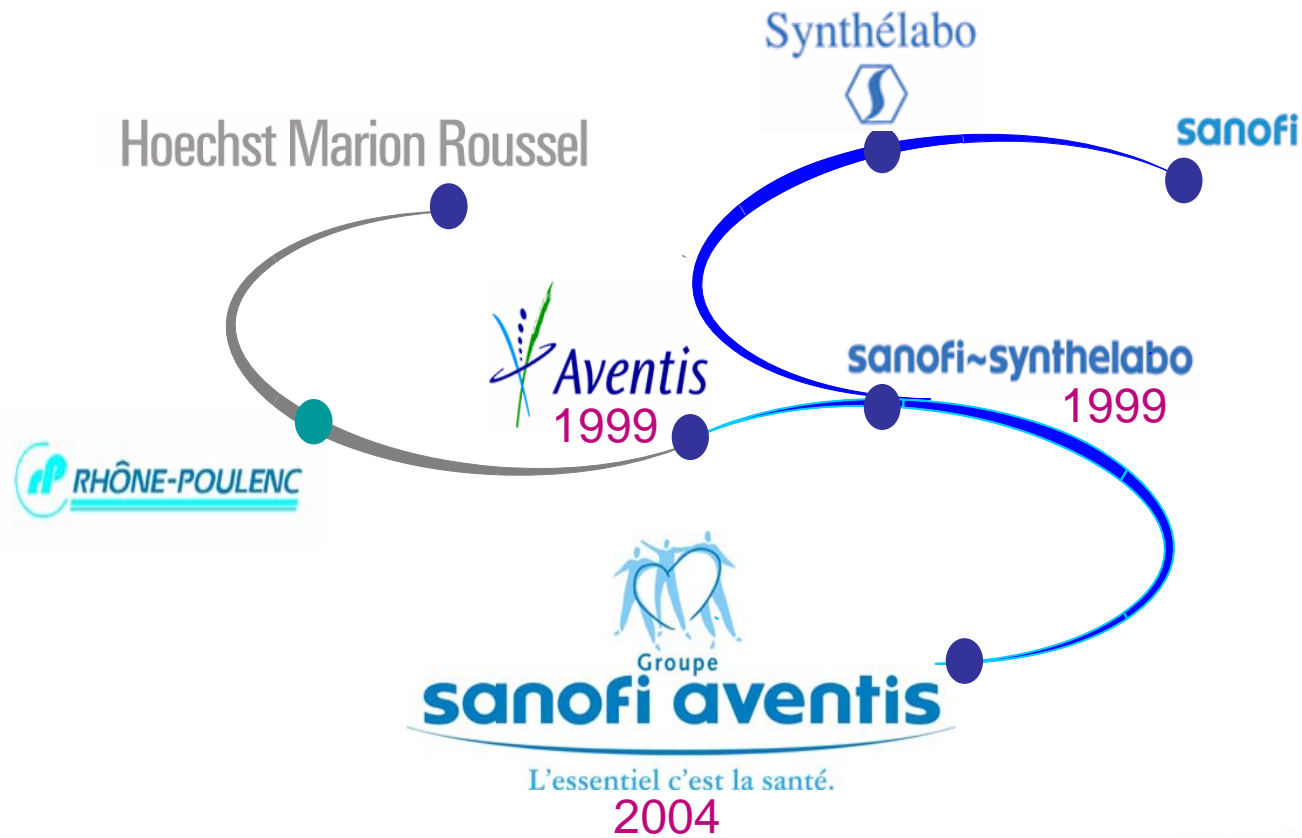


Plan de la présentation

- Présentation du groupe Sanofi-aventis
- Couplage CCM/SM



Le groupe sanofi aventis





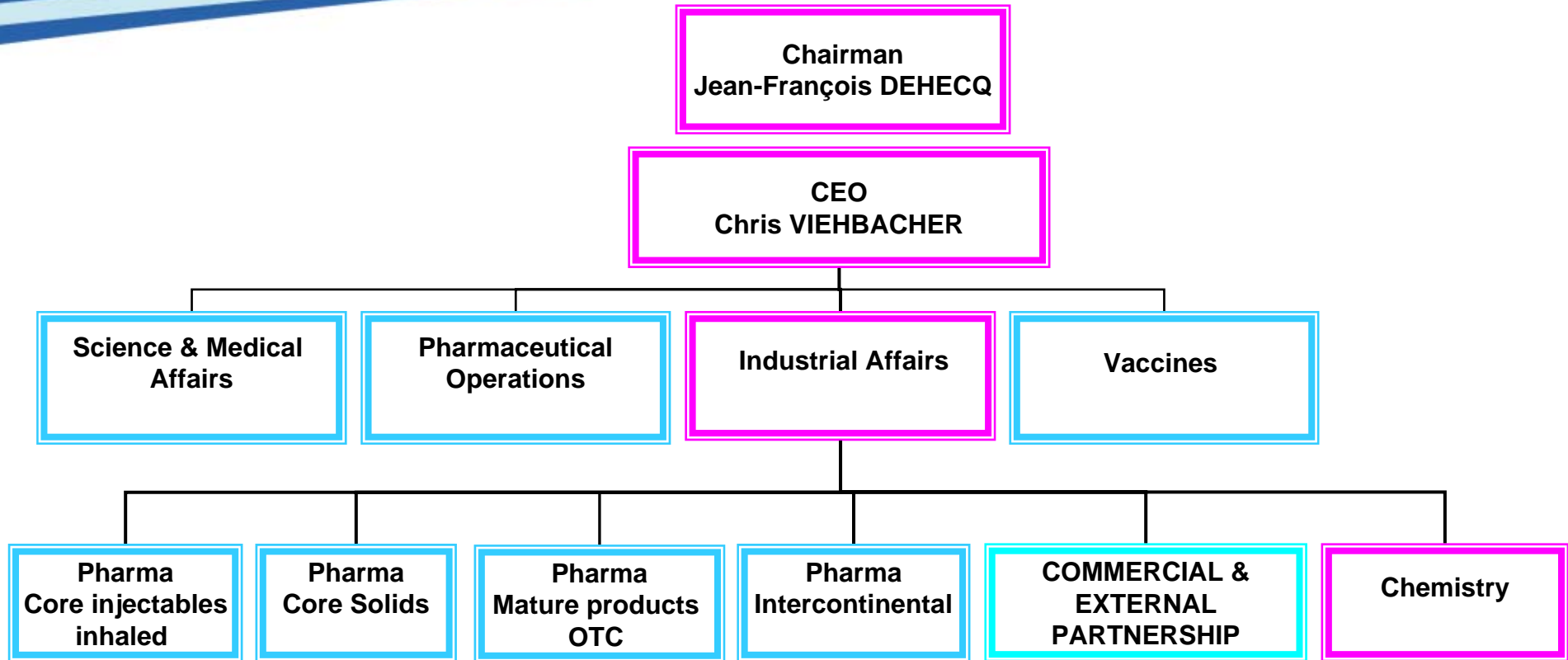
Le groupe sanofi-aventis

- **N°3** pharmaceutical company world-wide
- **28.1** €bn sales 2007
- **100,000** Employees
- **3rd** largest R&D budget in the pharmaceutical industry
- **>4** €bn R&D budget
- **19,000** People in R&D
- **125** Molecules and vaccines in development





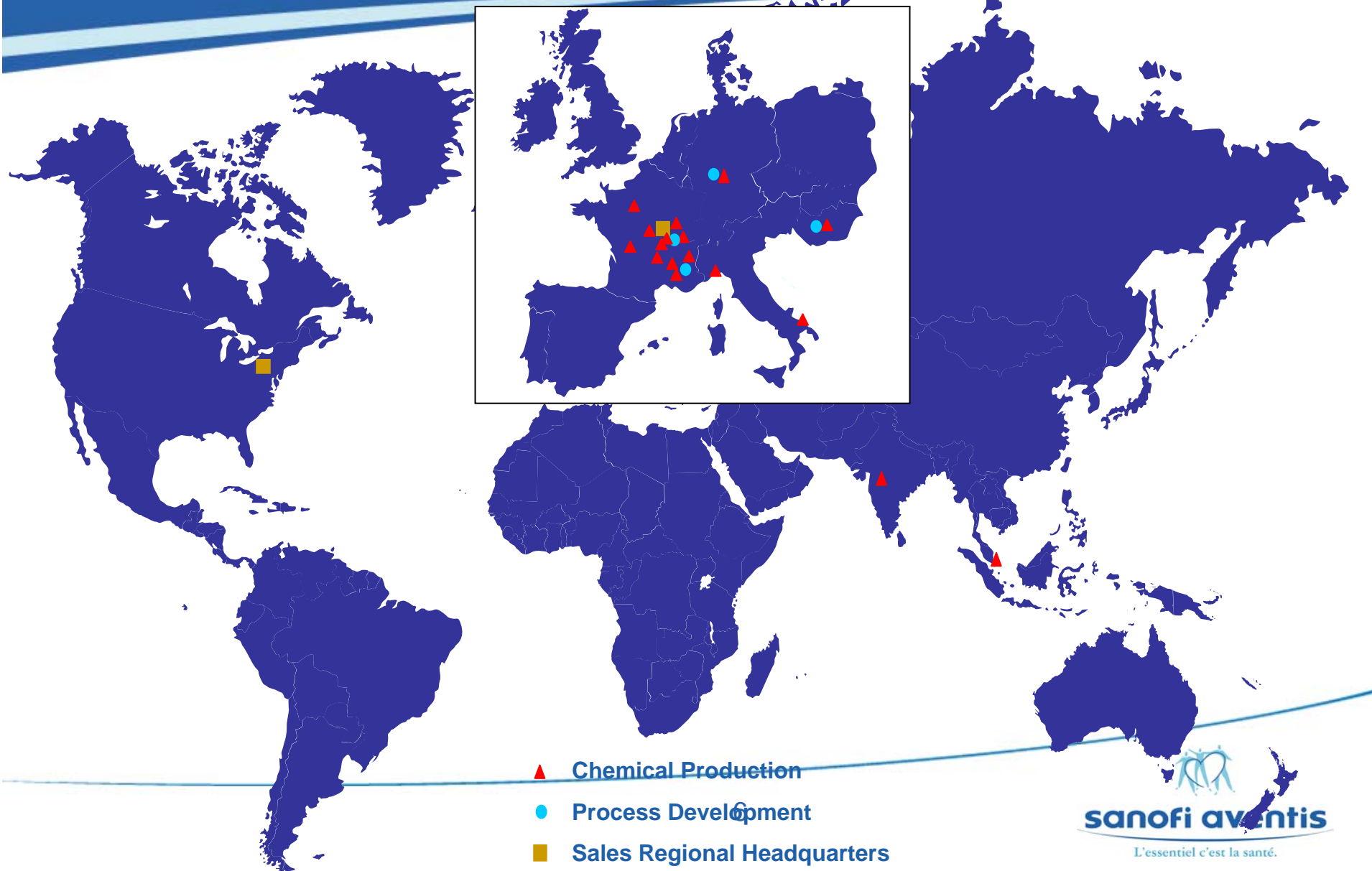
Organisation globale sanofi-aventis





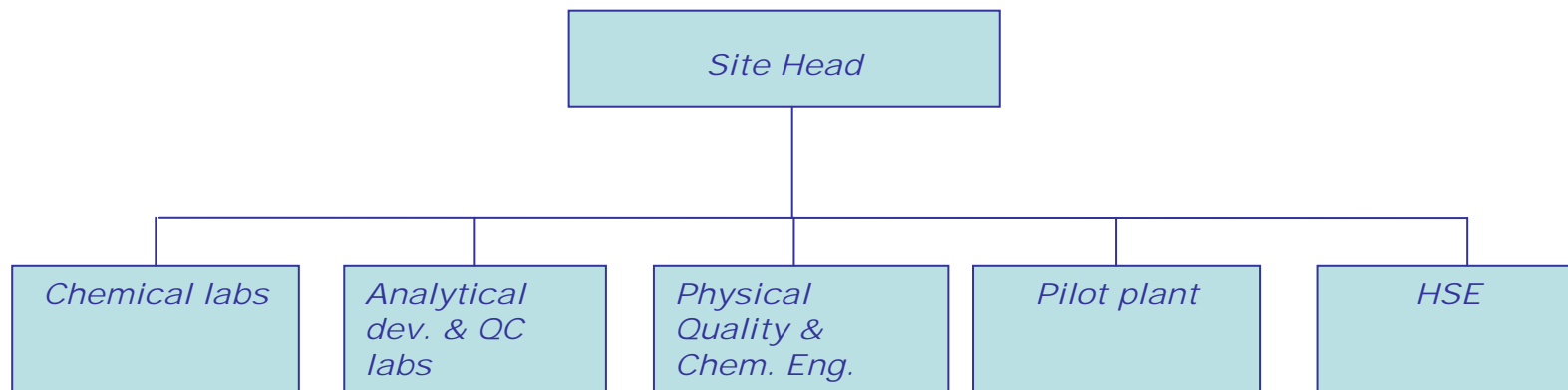
Affaires Industrielles

Sites de Production et Developpement



Organisation des sites de Développement des procédés

- Un modèle similaire pour tous les sites, avec différents domaines de compétence.



Test de l'interface TLC-MS CAMAG

CDP Neuville-sur-Saône





Test de l'interface TLC-MS

● But de ces tests :

- ▶ Juger de la praticité de l'outil, gains de temps, fiabilité, etc.
- ▶ Vérifier la désorption des spots
 - 【 En "on-line" avec des spectres exploitables
 - 【 En "off-line" pour réalisation de piègeats

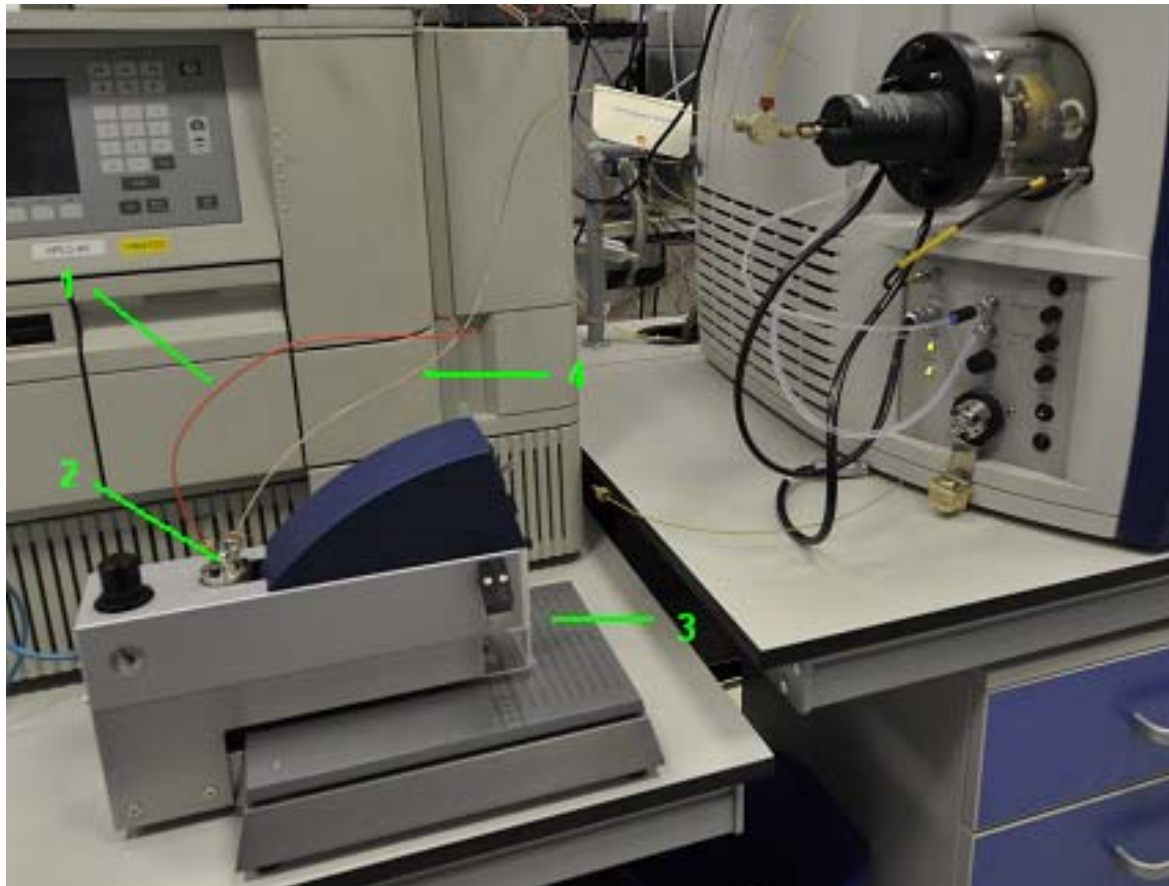


Test de l'interface TLC-MS

- Fonctionnement du système
- Essais sur plusieurs types de composés:
 - ▶ Chloroamine
 - ▶ Terpene
 - ▶ Stéroïde
- Conclusion des essais : points positifs et contraintes



Fonctionnement du système



- 1 : sortie pompe HPLC
- 2 : vanne
- 3 : piston, extraction
- 4 : sortie vers SM





Fonctionnement du système



Vanne en position “by-pass”

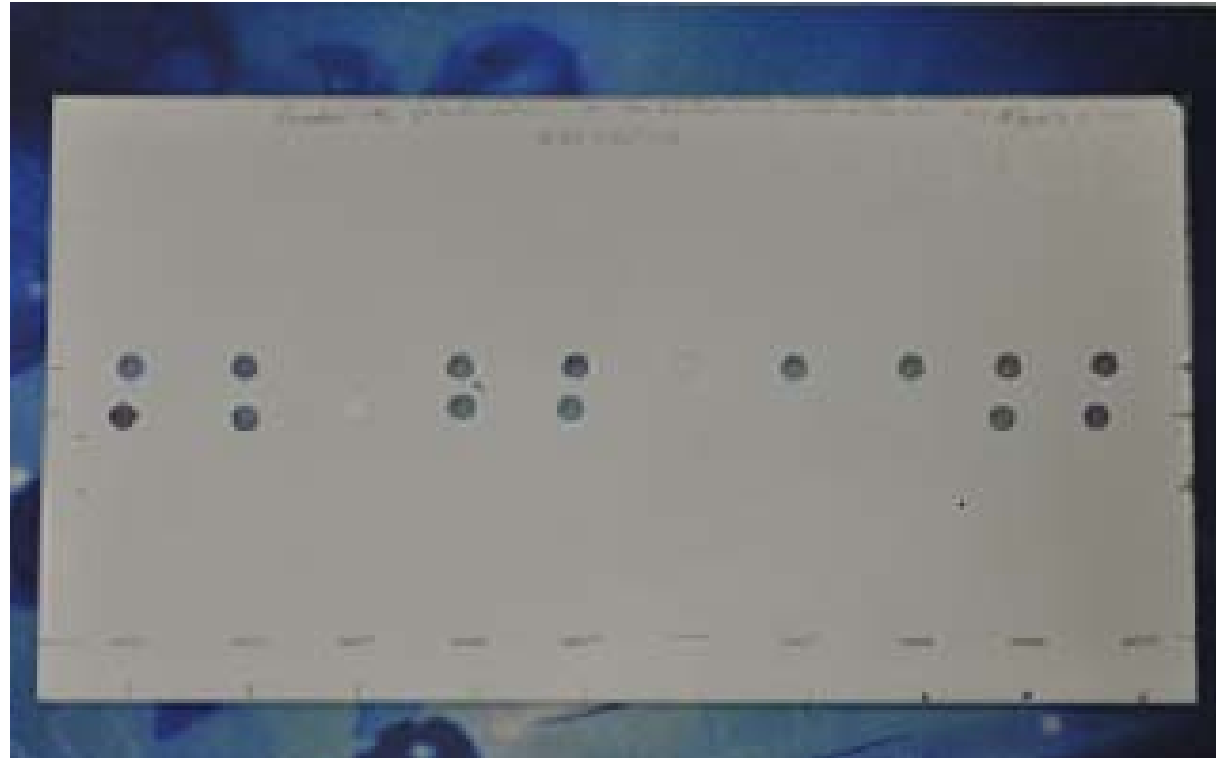
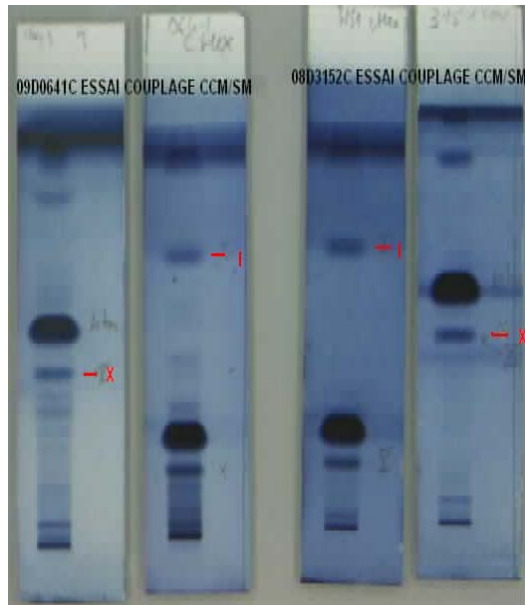
Positionner la plaque

Le spot à désorber est à l'emplacement du laser

Nécessité de repérer les coordonnées préalablement.



Fonctionnement du système



Découpage d'une bande, puis révélation; repérage des coordonnées sur la plaque à désorber



Fonctionnement du système



Faire descendre le piston afin d'assurer l'étanchéité.



Fonctionnement du système

- Démarrer l'acquisition en SM.
- Débit 100 à 300 μl / min.
- Commuter la vanne en position désorption.
- L'acquisition terminée (< 1 min) repositionner la vanne en position by-pass.
- Remonter le piston.
- Nettoyer le fritté (mécaniquement + N_2)

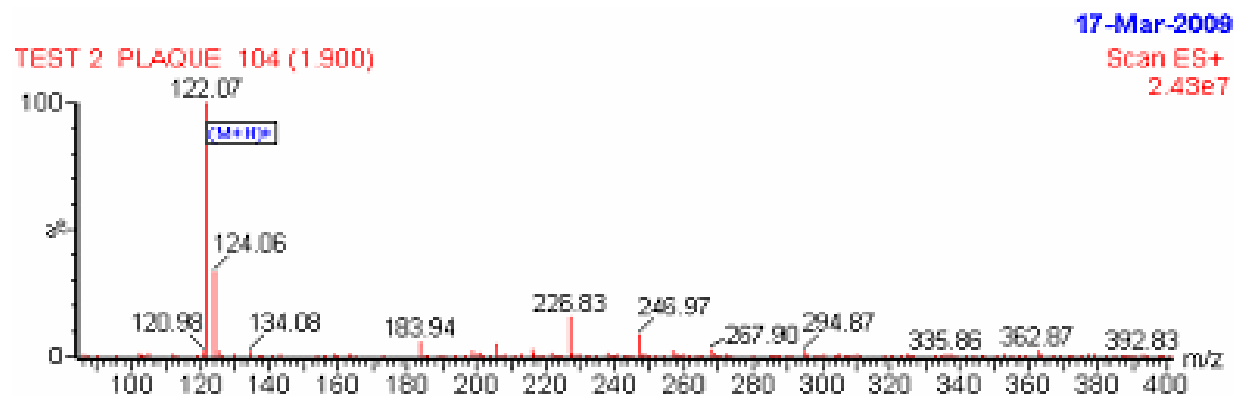


CHLOROAMINE

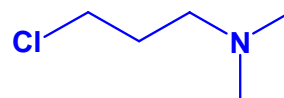
- But : identification d'une impureté de dégradation apparue lors d'un test de stabilité.
- $R_f = 0.05$
- Désorption : MeOH/Formiate ammo/ACN 80/10/10
- Débit 120 $\mu\text{l}/\text{min}$



CHLOROAMINE



Composé majoritaire :





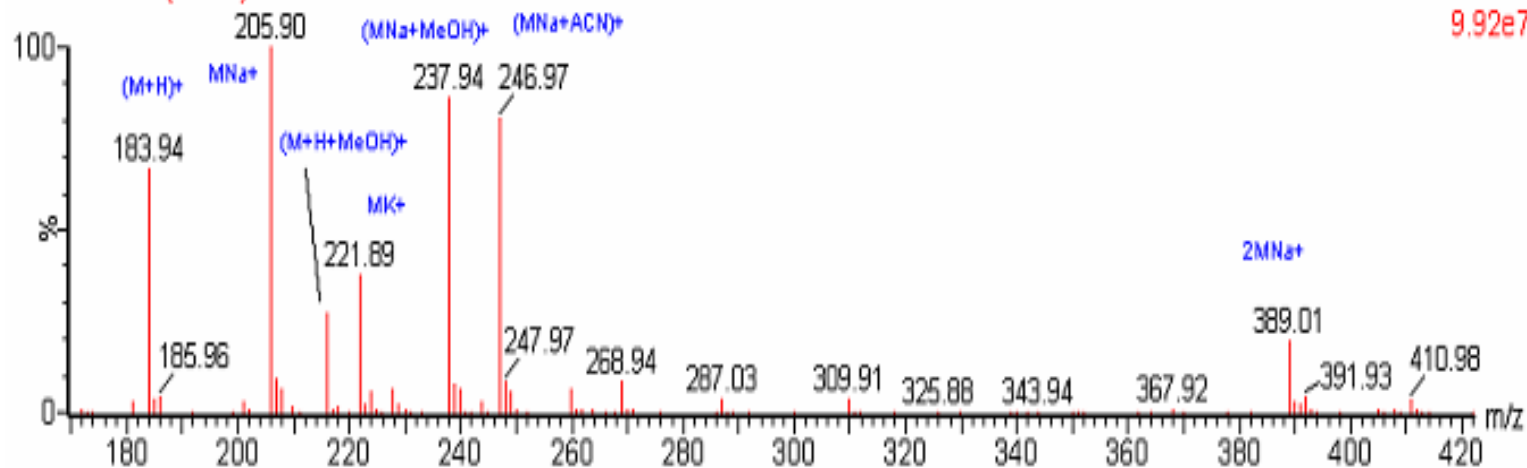
CHLOROAMINE

Splamo 09D0633C spot 17/1.3 mm

QL4542 158 (2.884)

18-Mar-2009

Scan ES+
9.92e7



Impureté : Spectre ES+ ; M = 183



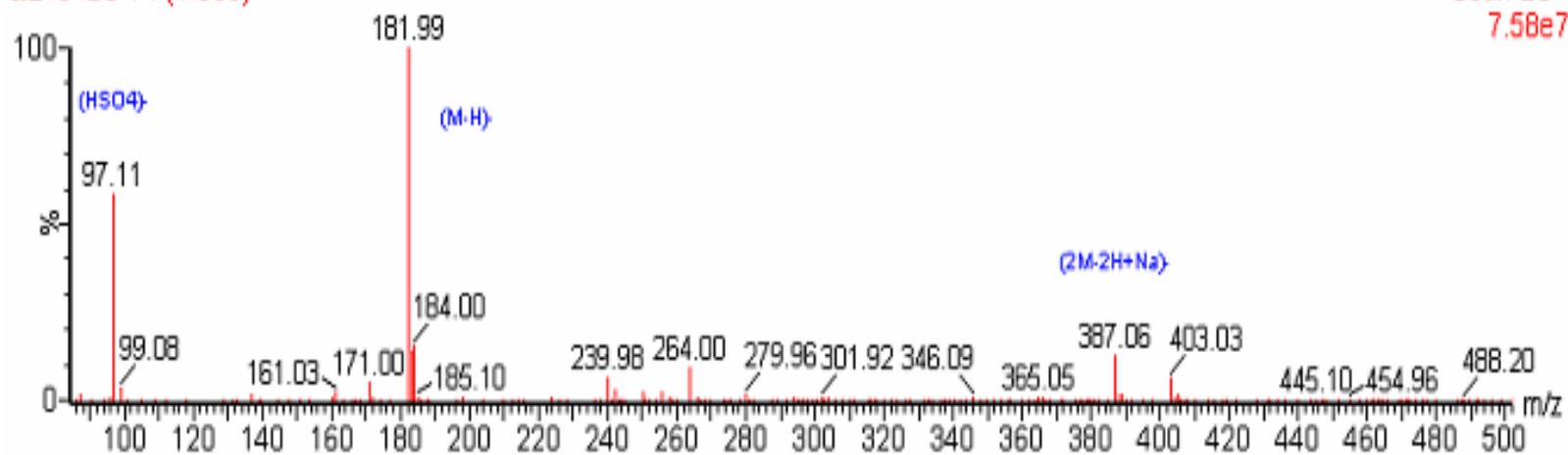
CHLOROAMINE

Splamo 09D0633C spot 17/1.3 mm

18-Mar-2009

QL4542C 74 (1.355)

Scan ES-
7.58e7



Impureté: Spectre ES- ; M = 183

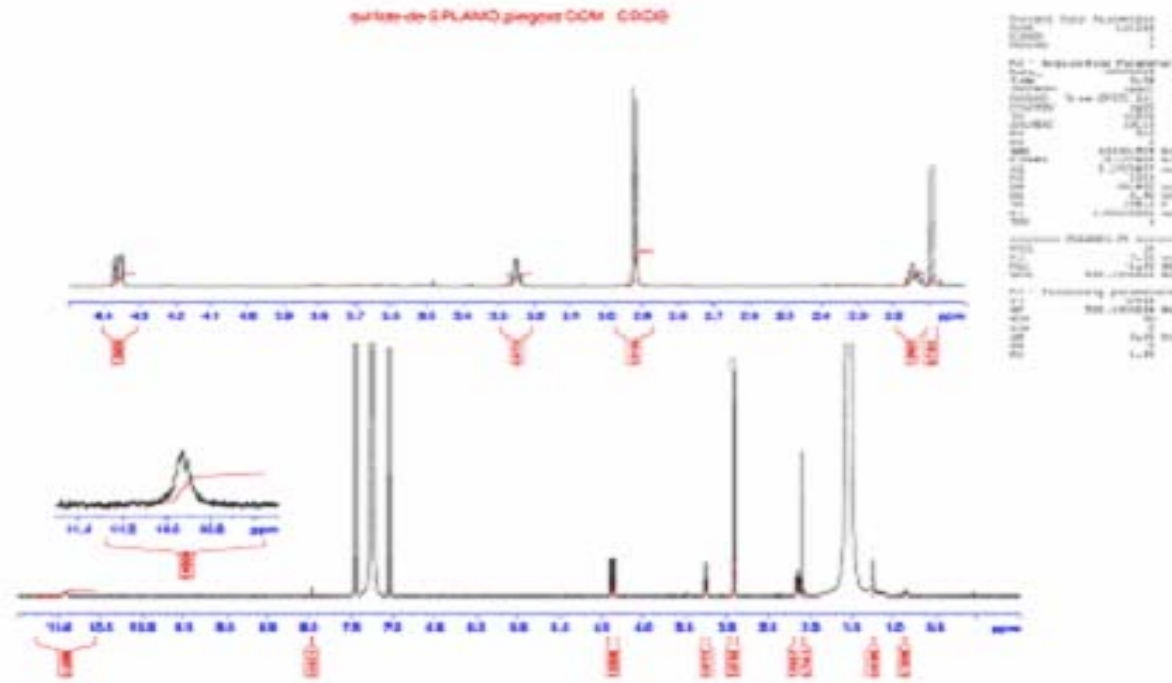


CHLOROAMINE

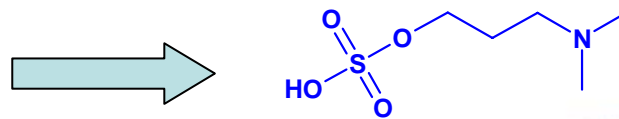
- **Réalisation de piègeats pour RMN et mesure de formule brute sur FT/MS:**
 - Désorption de 2 fois 3 spots dans vials de passeur
 - Moins de 5 minutes par spot
 - Quantité estimée env 30 µg par piège



CHLOROAMINE



Formule brute (MH) ⁺	Masse expérimentale	Masse calculée	Ecart à la théorie
C ₅ H ₁₄ O ₄ N ₁ S ₁	184.0640	184.0638	+0.8ppm





COMPOSE TERPENE



Objectif : identification des imp I et X

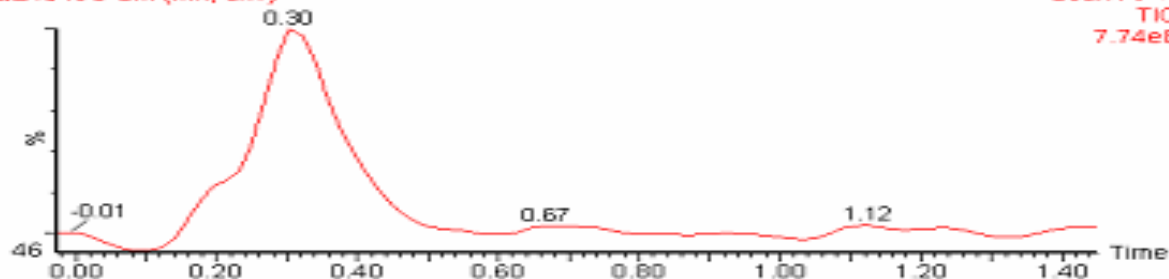


COMPOSE TERPENE

06D3152C plaque CCM Toluene APCI+ ac ammo/ACN imp I
QL4549C Sm (Mn, 3x1)

24-Mar-2009

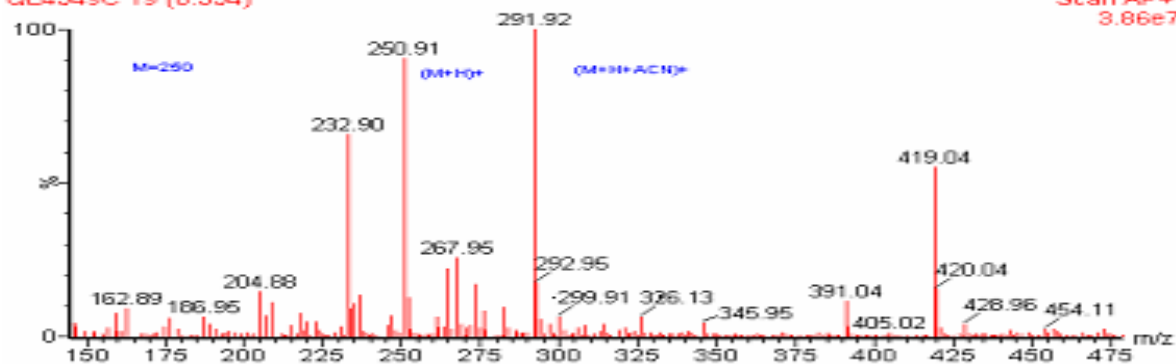
Scan AP+
TIC
7.74e8



08D3152C plaque CCM Toluene APCI+ ac ammo/ACN imp I
QL4549C 19 (0.354)

24-Mar-2009

Scan AP+
3.86e7



APCI + M = 250



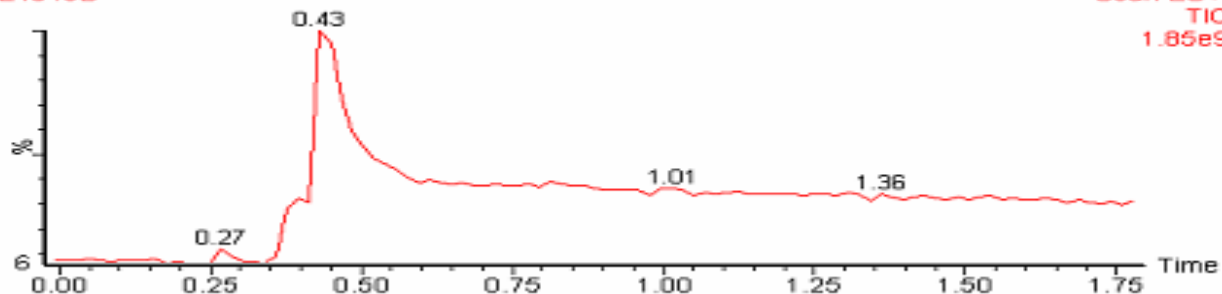


COMPOSE TERPENE

08D3152C plaque CCM Toluene ES+ ac ammo/ACN imp X
QL4549B

24-Mar-2009

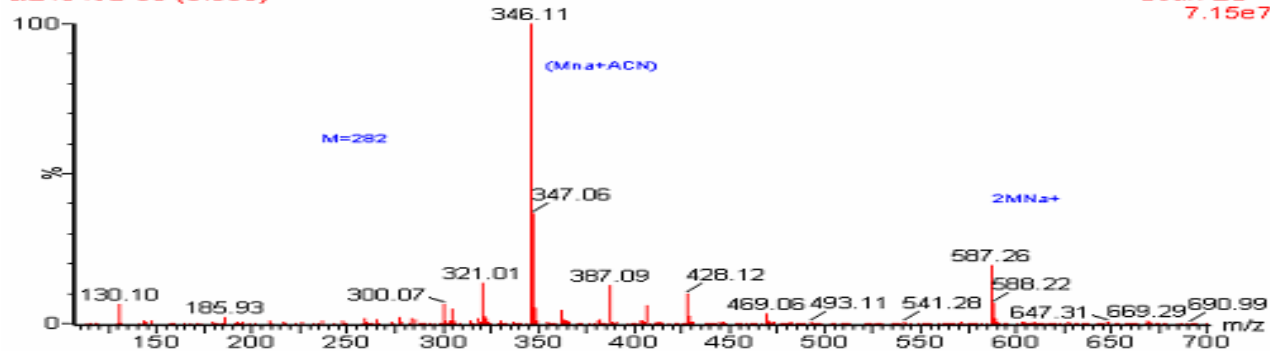
Scan ES+
TIC
1.85e9



08D3152C plaque CCM Toluene ES+ ac ammo/ACN imp X
QL4549B 36 (0.663)

24-Mar-2009

Scan ES+
7.15e7



ES+ M = 282





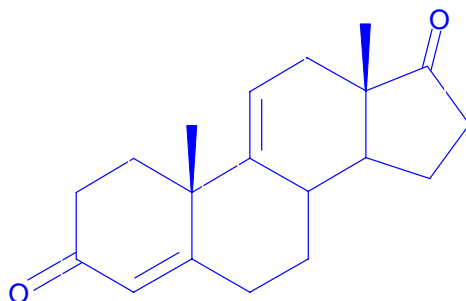
COMPOSE TERPENE

- Réalisation de piègeats pour RMN.
- Désorption de 3 spots dans vials de passeur pour chaque impureté.
- Structure établie par RMN ^1H et ^{13}C sur les 2 impuretés.



STEROÏDE

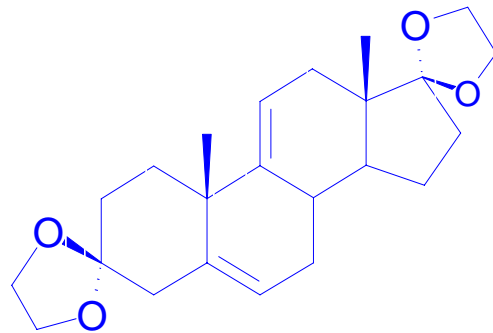
- Objectif : Identification d'une impureté rf 0.62 sur un des intermédiaires de la synthèse
- Comparaison par rapport au produit de cetalisation de la delta-androstenedione



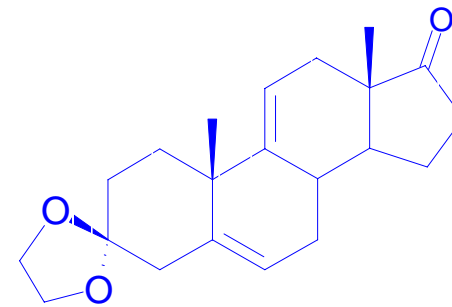


STEROÏDE

Le produit de cetalisation de la deltaandrostenedione fait apparaitre 2 composés majoritaires identifiés en RMN :



M = 372



M = 328

Dépôt sur plaque, puis désorption

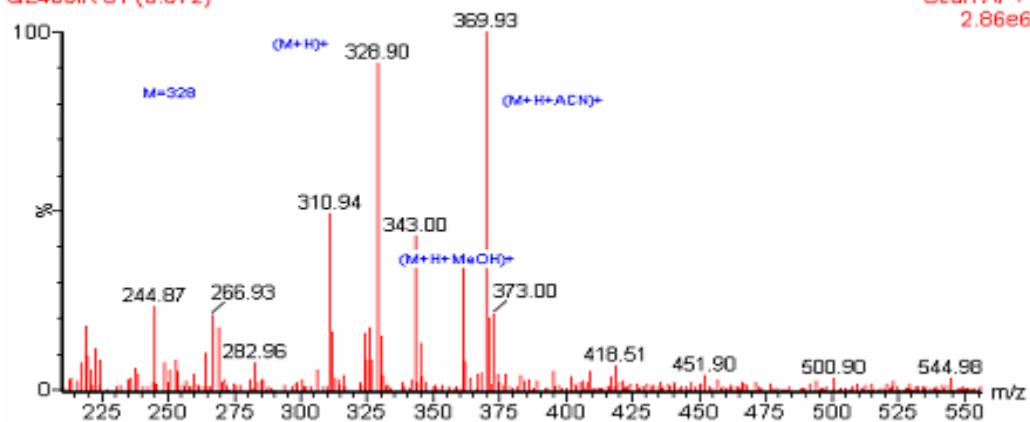


STEROÏDE

Dépôt sur plaque, puis désorption.
Composés majoritaires à rf 0.52 et 0.62

Produit de cetalisation rf 0.52 CCM APCI+ ACN
QL455IK 31 (0.572)

27-Mar-2009
Scan AP+
2.86e6

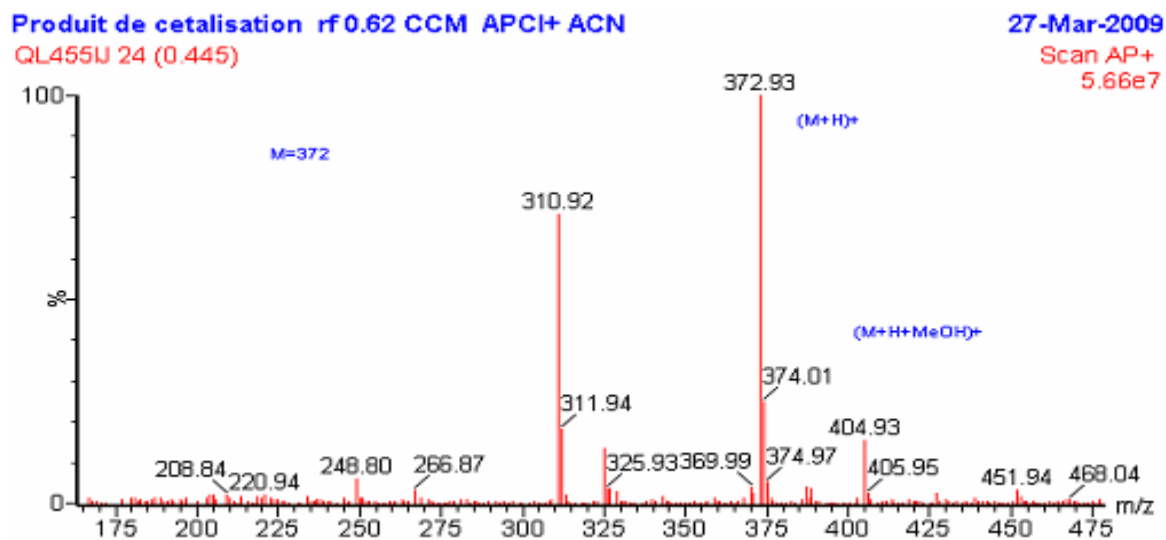


Spot rf 0.52 : M = 328



STEROÏDE

Dépôt sur plaque, puis désorption.
Composés majoritaires à rf 0.52 et 0.62



Spot rf 0.62 : M = 372



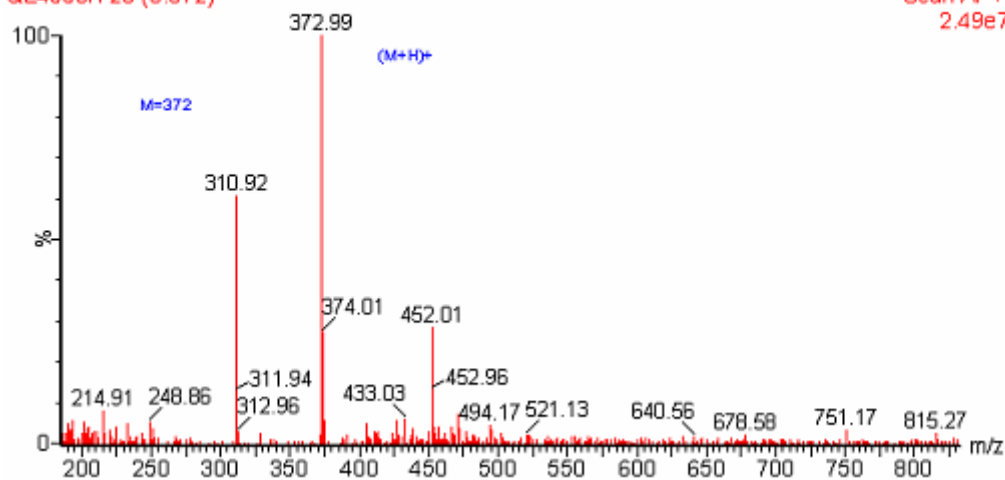
STEROÏDE

Dépôt sur plaque de l'échantillon brut à analyser
puis désorption du spot rf 0.62

Decyandrocetol 1617S + CQ09-116 rf 0.62 CCM APCI+ ACN
QL4553H 20 (0.372)

27-Mar-2009

Scan AP+
2.49e7



Spot rf 0.62 : M = 372





Test de l'interface TLC-MS CAMAG

Observations: Aspect d'une plaque après désorption des spots :



Il est nécessaire de faire un blanc sur partie de la plaque éluée.





Test de l'interface TLC-MS CAMAG

Observations: Aspect de la source après quelques désorptions :



Conclusions

Points positifs et contraintes du système

Questions/Réponses



Points positifs du système

- Compacité du système.
- Simplicité de mise en service (la connectique est réduite au minimum mais il faut prévoir une arrivée d'azote).
- Mobilité de l'appareil.
- Facilité et rapidité d'utilisation.
- Travail online ou offline avec la possibilité de récupérer l'extraction pour effectuer une analyse en RMN ou sur un autre spectromètre de masse.
- Débits utilisés directement compatibles avec le spectromètre de masse (100-300 $\mu\text{l}/\text{min}$).





Contraintes du système

- Repérage des spots et positionnement de la plaque.
- Taille du piston (4mm de diamètre).
- Robustesse : problème d'étanchéité observé rapidement au niveau du piston.
- Observation de silice à l'entrée de la source du spectromètre de masse liée probablement à la dissolution de la silice ou à la porosité du fritté du piston.
- Système de nettoyage du piston : la silice est envoyée dans l'atmosphère de travail.
- Problème d'identification possible pour les impuretés situées dans la traînée du corps principal.



Questions

- Est-ce que le piston est interchangeable?
- Est-ce que le fritté du piston peut-être remplacé?
- Quelle est la durée de vie du piston?
- Quel est le coût pour le remplacement du piston?
- Comment le piston peut-être nettoyé si le système de nettoyage inclus dans l'appareil est insuffisant?
- Quels sont les types de plaques utilisables? (épaisseur de la silice)



Remerciements

- ▶ D. Auray
- ▶ JY. Vacher