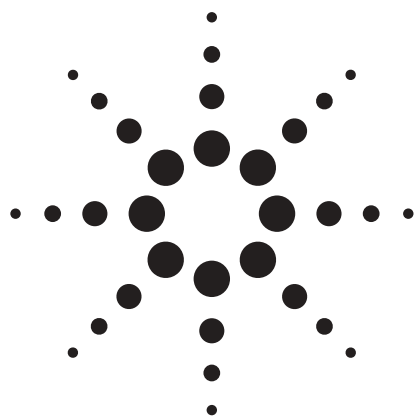
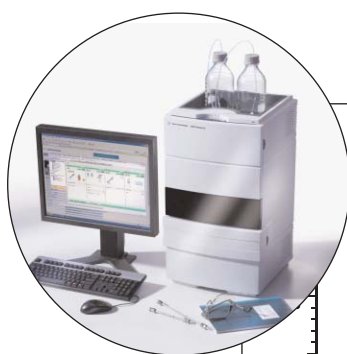




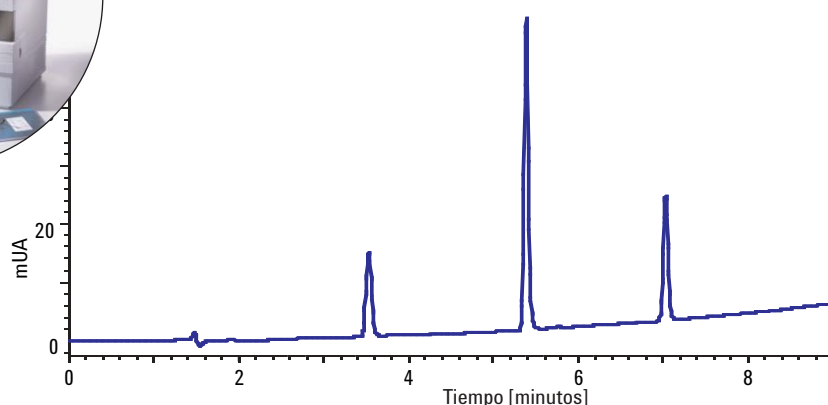
Control en proceso para la fabricación de Aripiprazol con LC Agilent 1120 Compact y las columnas ZORBAX C-18

Nota de aplicación

Siji Joseph,
Patric Hörth



Columna: ZORBAX Eclipse XDB-C18,
5 μ m, 150 x 4.6 mm



Resumen

El LC Agilent 1120 Compact es el sistema de elección para la cromatografía líquida convencional a escala analítica. Es un LC integrado diseñado para ofrecer sencillez de uso, rendimiento, y fiabilidad.

Se adapta bien al control en proceso durante la fabricación de fármacos, debido a los tiempos de retención y áreas de pico sumamente precisos.

Esta nota de aplicación muestra:

- Excelente precisión del tiempo de retención, con una desviación estándar relativa (RSD) < 0.07%.
- Excelente precisión de área, con RSD < 0.25% para picos separados a nivel de la línea base.

Equipo Agilent

- LC Agilent 1120 Compact
- Columna ZORBAX Eclipse XDB C18

Área de aplicación

- Industria farmacéutica: QA/QC, fabricación de fármacos



Agilent Technologies

Introducción

Durante la fabricación de los Ingredientes farmacéuticos activos (API) es obligatorio controlar los niveles de precursores o subproductos que se forman durante las reacciones químicas. Para asegurar estos criterios, los químicos de producción deben llevar a cabo varios análisis llamados análisis en proceso. Comúnmente se usa HPLC como técnica, principalmente porque separa los analitos individuales y también ayuda a realizar análisis cualitativos y cuantitativos. Los métodos cromatográficos desarrollados deben ser sólidos y confiables durante una cantidad de años.

El fin del presente estudio fue desarrollar un método HPLC para el análisis de Aripiprazol y sus precursores con la especificidad y sensibilidad deseadas. Esta nota de aplicación describe las ventajas obtenidas del control en proceso de Aripiprazol a través de la cromatografía líquida de fase reversa y alto rendimiento (RP-HPLC). Se destaca la energía para llevar a cabo un control riguroso en proceso de las muestras tomadas durante el transcurso del proceso completo.

Parte experimental

Equipo

El sistema LC Agilent 1120 Compact incluye:

- Una bomba de gradiente con mezclado de baja presión
- Un inyector automático con bandeja de viales
- Un compartimento de columna para una columna de hasta 250 mm de longitud



Figura 1
LC Agilent 1120 Compact.

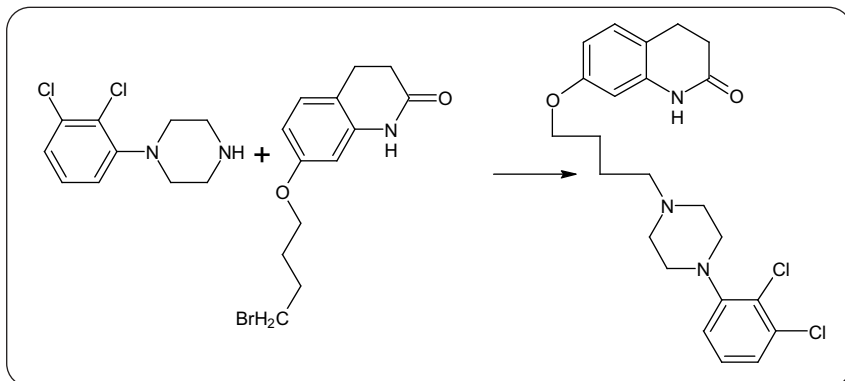


Figura 2
La síntesis de Aripiprazol de los materiales iniciales 1 y 2.

• Un detector de longitud de onda variable (VWD)
Se usó una columna ZORBAX Eclipse XDB C18, 5 μ m, 150 x 4.6 mm.

El instrumento fue controlado con el software de conformidad Agilent EZChrome Elite Compact.

Reacción sintética

Para el estudio se usaron la droga antipsicótica Aripiprazol y sus dos materiales iniciales. Hidrocloruro de 1-(2,3-diclorofenil)piperazina (material inicial-1) y

7-(4-bromobutoxi)-3,4-dihidrocabostirilo (material inicial-2) son los dos materiales iniciales para la síntesis de Aripiprazol. El esquema sintético se muestra en la Figura 2.

Muestras

Para simular las muestras de control en proceso, preparamos muestras con concentraciones variadas de los materiales iniciales 1, 2 y el producto Aripiprazol. Durante la reacción, las concentraciones de los materiales iniciales disminuyen, mientras que la concentración del producto aumenta.

Parámetros cromatográficos

Se realizaron experimentos para establecer las mejores condiciones cromatográficas para el análisis de Aripiprazol y los compuestos relacionados. Basado en estos experimentos, se eligieron las siguientes condiciones:

- Muestra: Hidrocloruro de 1-(2,3-diclorofenil)piperazina, 7-(4-bromobutoxi)-3,4-dihidrocarbostirilo y Aripiprazol
- Columna: ZORBAX Eclipse XDB C18, 5 μ m, 150 x 4.6 mm,
- Fase móvil: A = agua + 0.2% ácido trifluoroacético (TFA), B = acetonitrilo + 0.16% TFA (el TFA mejora la retención y la forma del pico).
- Flujo: 1.0 ml/minuto
- Gradiente: a 0 minutos 30%B, a 7 minutos 70%B, luego se mantiene la relación por otros dos minutos
- Volumen de inyección: 5 μ l
- Inyector automático programado con un vial de lavado (acetonitrilo) para enjuagar el exterior de la aguja
- Tiempo de corrida: 9 minutos
- Tiempo posterior: 5 minutos
- VWD: 254 nm, ancho de pico (PW) > 0.05 minutos

Tabla de secuencias

La tabla 1 muestra la tabla de secuencias que fue creada. Se variaron las concentraciones de los tres compuestos del vial 2 al vial 9, y se inyectó tres veces cada muestra para que pudiera calcularse una RSD.

Resultados y discusión

El método cromatográfico se configuró para que todos los compuestos fueran separados a nivel de la línea base. La Figura 3 muestra la separación de los materiales

Línea	Ubicación	Nombre de la muestra	Nº de inyecciones	Volumen de inyección (μ l)
1	Vial 1	Blanco	2	5
2	Vial 2	Control-1 en proceso	3	5
3	Vial 3	Control-2 en proceso	3	5
4	Vial 4	Control-3 en proceso	3	5
5	Vial 5	Control-4 en proceso	3	5
6	Vial 6	Control-5 en proceso	3	5
7	Vial 7	Control-6 en proceso	3	5
8	Vial 8	Control-7 en proceso	3	5
9	Vial 9	Control-8 en proceso	3	5

Tabla 1
Tabla de secuencia para el análisis.

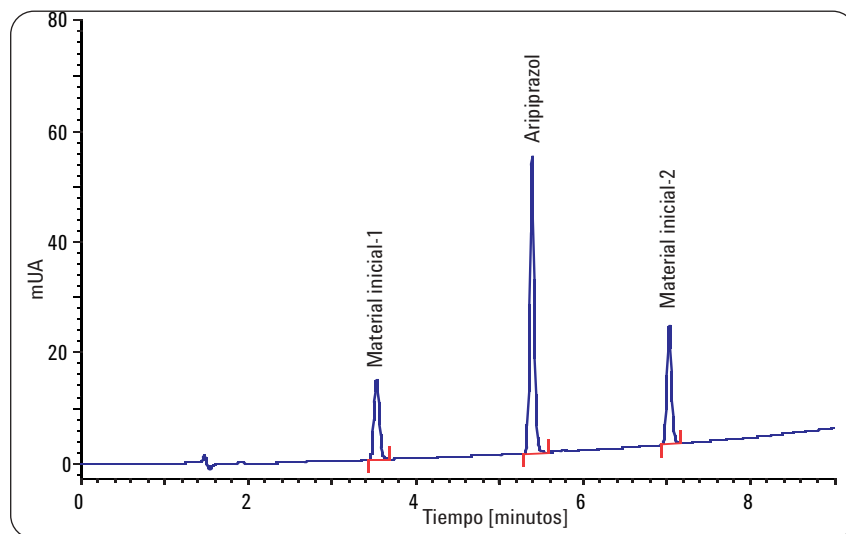


Figura 3
Cromatograma de Aripiprazol y materiales iniciales 1 y 2, con tiempos de retención.

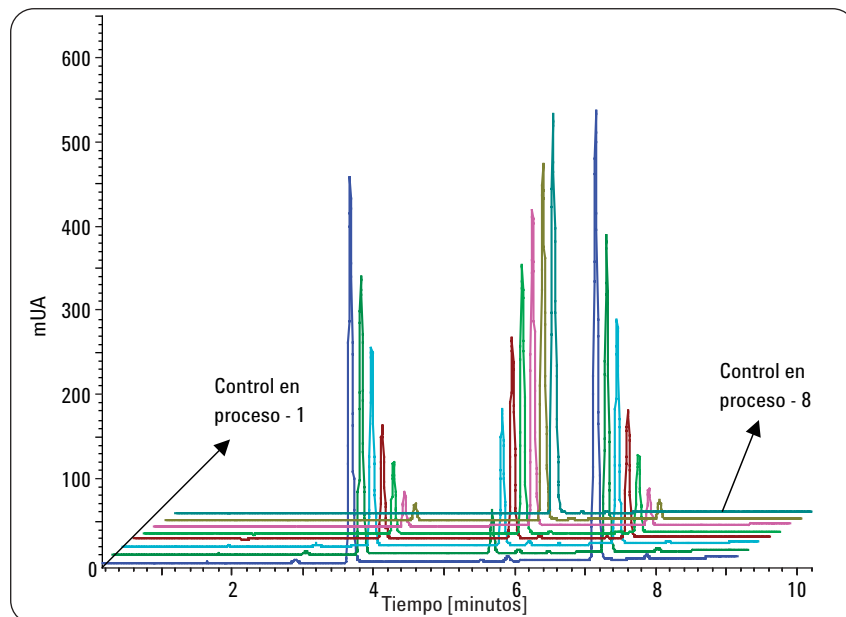


Figura 4
Superposición cromatográfica de las muestras de control en proceso, (desplazamiento eje x)

iniciales 1 y 2 y el producto Aripiprazol. El tiempo de separación fue de nueve minutos; el tiempo total de corrida (incluyendo el equilibrio) se pudo limitar a 14 minutos, incluyendo el tiempo de vuelta al equilibrio.

La superposición cromatográfica del análisis de control de reacción se muestra en la Figura 4.

La Figura 5 representa la superposición de las tres inyecciones de la última muestra de control en proceso de esta serie, más un análisis del blanco. La muestra de control en proceso contenía Aripiprazol y el material inicial 1 a un nivel de 0.025 % del compuesto principal. Se muestra la ampliación del área del material inicial.

La precisión del ensayo (RSD) fue calculada expresando la desviación estándar de medidas repetidas como un porcentaje del valor promedio. Se estimó la precisión intra-día de las tres réplicas a ocho niveles de una mezcla estándar. El tiempo de retención y las precisiones de área de las tres inyecciones consecutivas en cada comprobación de prueba en el proceso se resumen en la tabla 2. La RSD para el área de pico fue menor a 0.25 %.

Conclusión

Se desarrolló un método HPLC para la determinación simultánea de Aripiprazol y posibles productos precursores. Además, se demostró que el método cromatográfico

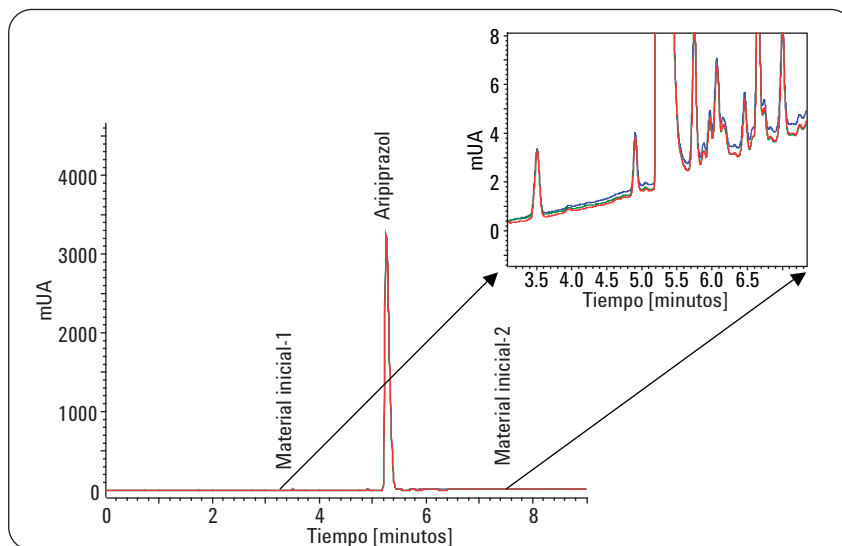


Figura 5
Cromatograma ampliado de 0.025% de material inicial-1 con respecto al compuesto principal.

Muestra	RSD del tiempo de retención			RSD del área		
	Inicial inicial 1	Aripiprazol	Inicial material 2	Inicial material 1	Aripiprazol	Material material 2
1	0.021 %	Sin pico	0.017 %	0.083 %	Sin pico	0.073 %
2	0.027 %	0.018 %	0.014 %	0.126 %	0.208 %	0.183 %
3	0.047 %	0.018 %	0.009 %	0.025 %	0.248 %	0.055 %
4	0.009 %	0.018 %	0.009 %	0.114 %	0.226 %	0.136 %
5	0.027 %	0.009 %	0.009 %	0.055 %	0.024 %	0.137 %
6	0.027 %	0.009 %	0.009 %	0.099 %	0.069 %	0.140 %
7	0.027 %	0.018 %	0.009 %	0.134 %	0.246 %	0.103 %
8	0.056 %	0.009 %	0.009 %	0.241 %	0.191 %	0.230 %

Tabla 2
Resumen de los resultados del análisis en proceso.

Es útil para el control en el proceso de la síntesis de Aripiprazol. El sistema LC Agilent 1120 Compact es una excelente opción para el control en proceso, ya que proporciona resultados reproducibles con alta precisión para los tiempos de retención y las áreas. Para nuestro ejemplo, la precisión de los tiempos de retención fue < 0.06 % RSD y para áreas de picos separados a nivel de la línea base fue < 0.25 % RSD.

Siji Joseph es un científico de aplicaciones en Agilent Technologies Life Science Center en Bangalore, India. Patric Hörth es químico de I&D en Agilent Technologies en Waldbronn, Alemania.

www.agilent.com/chem/1120

© 2008 Agilent Technologies Inc.

Publicado el 1° de junio de 2008
Número de publicación 5989-8330ESMX



Agilent Technologies