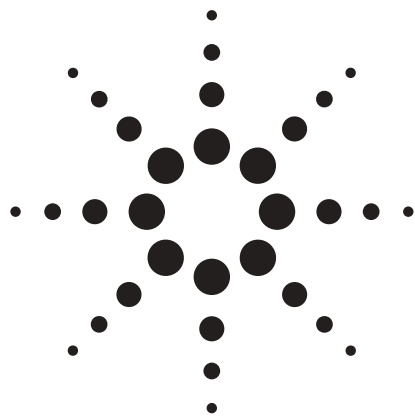
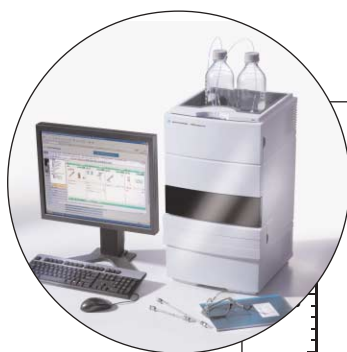




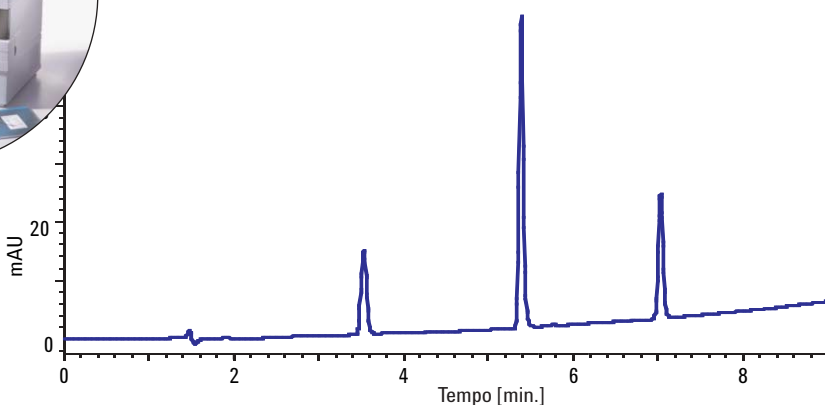
Controle integrado para fabricação de Aripiprazol com o Agilent 1120 Compact LC e colunas ZORBAX C-18

Nota de aplicação

Siji Joseph,
Patric Hörth



Coluna: ZORBAX Eclipse XDB-C18,
5 μ m, 150 x 4,6 mm



Resumo

O Agilent 1120 Compact LC é um sistema ideal para cromatografia líquida convencional em escala analítica. O LC é projetado para utilização simplificada, desempenho confiável e indicado para análise de medicamentos devido a sua capacidade de conseguir tempos de retenção e áreas de pico muito precisos. Essa nota de aplicação mostra:

- Excelente precisão de tempo de retenção, com desvio padrão relativo (DPR) < 0,07%
- Excelente precisão de área, com DPR < 0,25% em picos separados na linha de base.

Equipamento Agilent

- Agilent 1120 Compact LC
- Coluna ZORBAX Eclipse XDB C18

Área de aplicação

- Indústria farmacêutica:
QA/QC, fabricação de medicamentos



Agilent Technologies

Introdução

Durante a fabricação dos APIs é obrigatório monitorar os níveis de precursores ou subprodutos formados durante as reações químicas. Para garantir esses critérios, analistas precisam conduzir vários processos chamados análises integradas. A HPLC é uma técnica geralmente usada, principalmente porque ela separa analitos individuais e também ajuda a executar análises qualitativa e quantitativa. Os métodos de cromatografia desenvolvidos devem ser robustos e confiáveis por muitos anos.

O objetivo deste estudo é desenvolver um método de HPCL para a análise de Aripiprazol e seus precursores com a especificidade e sensibilidade desejadas. Esta Nota de aplicação descreve as vantagens obtidas com o controle integrado da Aripiprazol por meio de cromatografia líquida de alto desempenho em fase reversa (RP-HPCL). A capacidade de executar controle integrado total das amostras feitas durante todo o curso do processo foi destacada.

Experimental

Equipamento

O sistema Agilent 1120 Compact LC inclui:

- Uma bomba gradiente com mistura em baixa pressão
- Um amostrador automático com bandeja de frascos
- Um compartimento de coluna para coluna de até 250 mm de comprimento
- Um detector de comprimento de onda variável (VWD)



Figura 1
Agilent 1120 Compact LC.

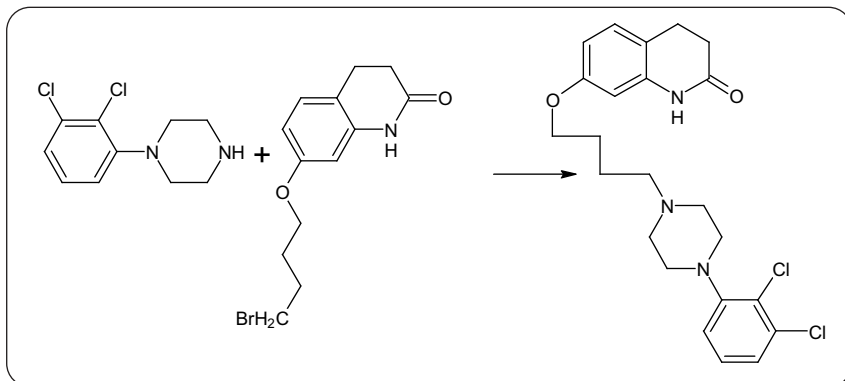


Figura 2
A síntese de Aripiprazol a partir dos materiais básicos 1 e 2.

Foi usada uma coluna ZORBAX Eclipse XDB C18, 5 µm, 150 x 4,6 mm.

O instrumento foi controlado pelo software Agilent EZChrome Elite Compact Compliance.

Reação sintética

O medicamento antipsicótica Aripiprazol e seus dois materiais básicos foram usados no estudo. Hidrocloreto 1-(2,3-Diclorofenil) piperazine (material básico 1) e 7-(4-bromobutoxi)-3,4-dihidrocar-

boestiril (material básico 2) são os dois materiais básicos para síntese de Aripiprazol. O esquema sintético é mostrado na figura 2.

Amostras

Para simular as amostras de controle integradas, preparamos amostras com concentrações variadas dos materiais básicos 1 e 2 e do produto Aripiprazol. Durante a reação, as concentrações dos materiais básicos diminuem, enquanto a concentração do produto aumenta.

Parâmetros cromatográficos

Foram realizados experimentos para estabelecer as melhores condições cromatográficas para a análise de Aripiprazol e compostos relacionados. Com base nesses experimentos, as seguintes condições foram escolhidas:

- Amostra: Hidrocloreto 1-(2,3-diclorofenil)pi-perazine, 7-(4-bromobutoxi)-3,4-dihidrocarboestiril e Aripiprazol
- Coluna: ZORBAX Eclipse XDB C18, 5 μ m, 150 x 4,6 mm
- Fase móvel:
A = água + 0,2% de ácido trifluoroacético (TFA),
B = acetonitrila + 0,16% TFA (O TFA melhora a retenção e formato dos picos.)
- Taxa de fluxo: 1,0 mL/min
- Gradiente: a 0 min, 30%B, a 7 min, 70%B, depois a proporção é mantida por mais dois minutos
- Volume de injeção: 5 μ L
- Amostrador automático programado com um frasco de lavagem (acetonitrila) para enxaguar o exterior da agulha
- Tempo de execução: 9 min
- Tempo posterior: 5 min
- VWD: 254 nm, largura do pico (PW) > 0,05 min

Tabela de seqüência

A tabela 1 mostra a tabela de seqüência criada. As concentrações dos três compostos variaram do frasco 2 ao 9, e cada amostra foi injetada três vezes, de forma que um DPR pudesse ser calculado.

Resultados e discussão

O método cromatográfico foi configurado de forma que todos os compostos fossem separados por linha de base. A figura 3 mostra a separação dos materiais básicos 1 e 2 e do produto Aripiprazol. O

Linha	Local	Nome da amostra	# Injeções	Volume de injeção (μ L)
1	Frasco 1	Controle	2	5
2	Frasco 2	Controle integrado 1	3	5
3	Frasco 3	Controle integrado 2	3	5
4	Frasco 4	Controle integrado 3	3	5
5	Frasco 5	Controle integrado 4	3	5
6	Frasco 6	Controle integrado 5	3	5
7	Frasco 7	Controle integrado 6	3	5
8	Frasco 8	Controle integrado 7	3	5
9	Frasco 9	Controle integrado 8	3	5

Tabela 1
Tabela de seqüência para a análise.

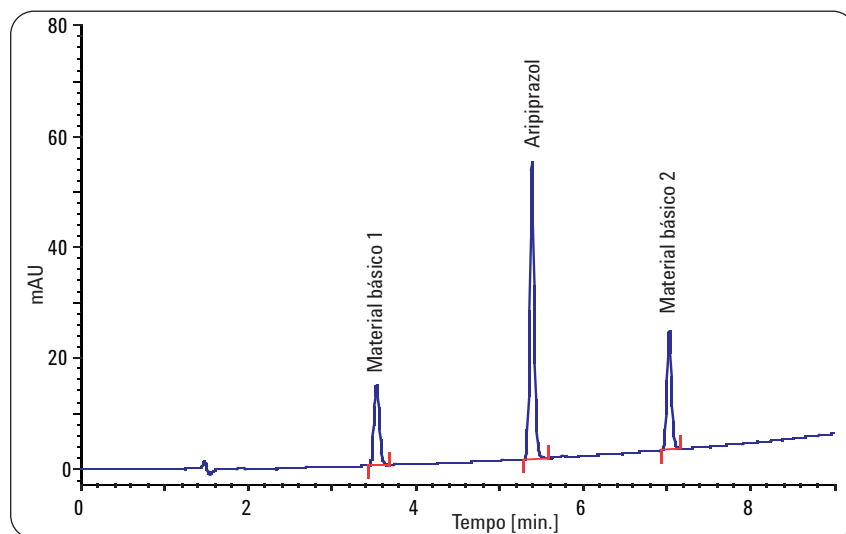


Figura 3
Cromatograma de Aripiprazol e materiais básicos 1 e 2, com tempos de retenção.

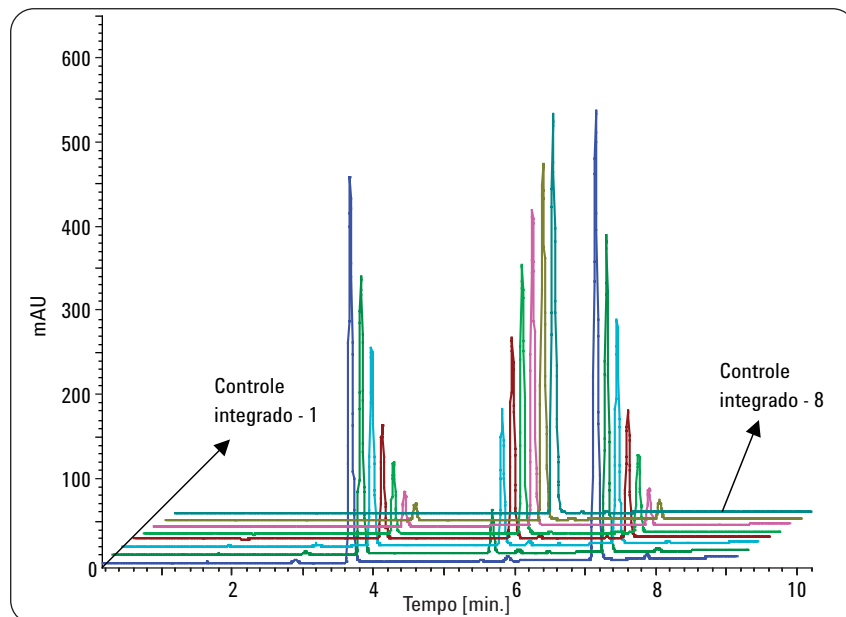


Figura 4
Sobreposição cromatográfica das amostras de controle integrado, (variação no eixo x).

tempo de separação foi de nove minutos, o tempo total de execução (inclusive equilíbrio) pode ser limitado a 14 minutos, incluindo o tempo de reequilíbrio.

As condições cromatográficas foram as mesmas da análise mostrada na figura 4.

A figura 5 representa a sobreposição das três injeções da última amostra de controle integrada desta série, mais uma execução de controle. A amostra de controle integrada continha Aripiprazol e o material básico 1 a 0,025% do composto principal. O zoom da área do material básico é mostrado.

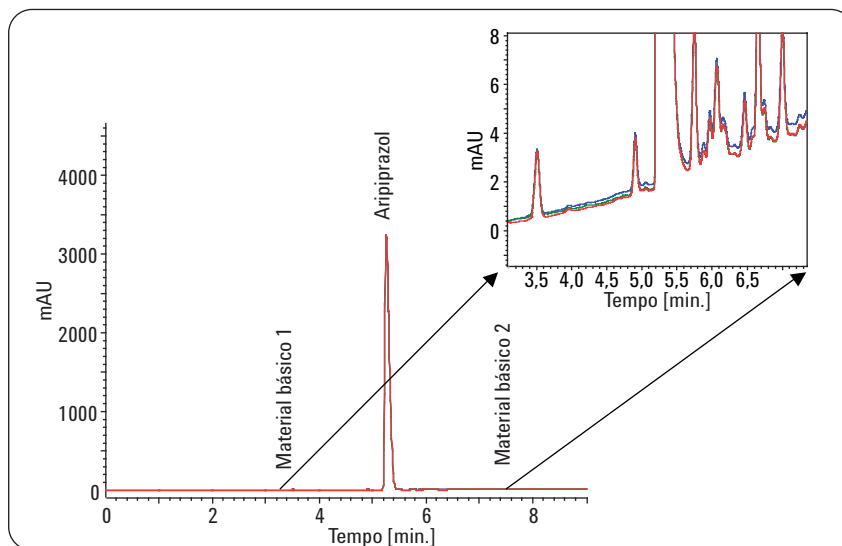


Figura 5
Zoom do cromatograma de 0,025% do material básico 1 em relação ao composto principal.

A precisão do teste (DPR) foi avaliada pela expressão do desvio padrão de medições repetidas como porcentagem do valor principal. A precisão ao longo do dia foi estimada a partir de três réplicas em oito níveis de uma mistura padrão. As precisões de tempo de retenção e de área de três injeções consecutivas de cada amostra de verificação integrada estão resumidas na tabela 2. O DPR da área de pico foi inferior a 0,25%.

Conclusão

Um método de HPLC foi desenvolvido para a determinação simultânea do Aripiprazol e de potenciais produtos precursores. Além disso, o método cromatográfico demonstrou ser útil para o controle integrado da síntese do Aripiprazol. O sistema Agilent 1120 Compact LC

Amostra	DPR do tempo de retenção			DPR da área		
	Material básico 1	Aripiprazol	Material básico 2	Início básico 1	Aripiprazol	Material básico 2
1	0,021%	Sem pico	0,017%	0,083%	Sem 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%

Tabela 2
Resumo dos resultados da análise integrada.

é uma excelente escolha para controle integrado, oferecendo resultados reprodutíveis com alta precisão de áreas e tempos de retenção. Em nosso exemplo, a precisão do tempo de retenção foi < 0,06% do DPR e em áreas de picos separados na linha de base foi < 0,25% do DPR.

Siji Joseph é cientista de aplicação no Agilent Technologies Life Science Center em Bangalore, Índia.

Patric Hörth é químico de P&D na Agilent Technologies em Waldbronn, Alemanha.

www.agilent.com/chem/1120

© 2008 Agilent Technologies Inc.

Publicado em 1 de junho de 2008
Publicação número 5989-8330PTBR



Agilent Technologies