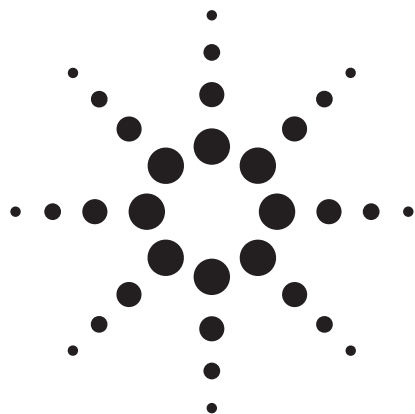
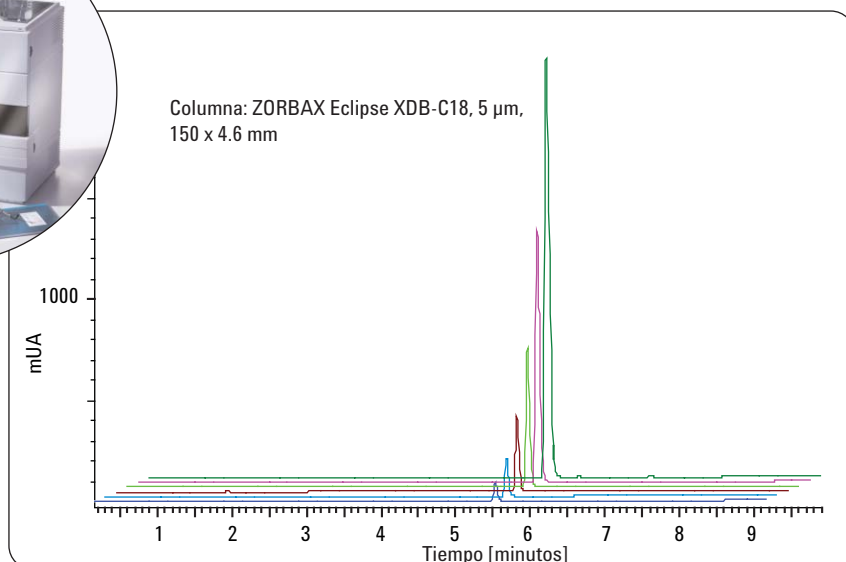




Prueba de la linealidad del detector para el control de calidad de Aripiprazol con LC Agilent 1120 Compact y las columnas ZORBAX C-18

Nota de aplicación

Siji Joseph,
Patric Hörth



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. Es adecuado para el análisis de fármacos debido a tiempos de retención y áreas de pico sumamente precisos y excelente linealidad del detector. Esta nota de aplicación muestra:

- Excelente precisión del tiempo de retención, con una desviación estándar relativa (RSD) < 0.07 % para los seis niveles de linealidad.
- Excelente precisión de área, con RSD < 0.25% para los seis niveles.
- Excelente linealidad, con coeficiente de correlación > 0.9999.

Este estudio cubre una amplia gama de ~ 150 ng a 5,000 ng.

Equipo Agilent

- LC Agilent 1120 Compact
- Columna ZORBAX Eclipse XDB C18

Área de aplicación

- Industria farmacéutica: QA/QC



Agilent Technologies

Introducción

En el desarrollo de un método HPLC para el análisis, el detector juega un papel muy importante ya que define los límites de las concentraciones sobre los cuales el método puede desempeñarse satisfactoriamente.

El fin de esta nota de aplicación es evaluar la linealidad del detector y la precisión de las áreas de pico y los tiempos de retención para el sistema LC Agilent 1120 Compact usando el fármaco anti-psicótico Aripiprazol (Figura 2) como un compuesto de prueba.

Parte experimental

Equipo

El sistema LC Agilent 1120 Compact incluye:

- Una bomba de gradiente con mezclado a baja presión
- Un inyector automático con bandeja de viales
- Un compartimento de columna para una columna de hasta 250 mm de longitud
- Un detector de longitud de onda variable (VWD)

Se usó una columna ZORBAX Eclipse XDB C18, 5 µm, 150 x 4.6 mm para todas las separaciones.

El instrumento fue controlado por el software de cumplimiento Agilent EZChrome Elite Compact.

Parámetros

Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes:

- Muestra: Aripiprazol



Figura 1
LC Agilent 1120 Compact.

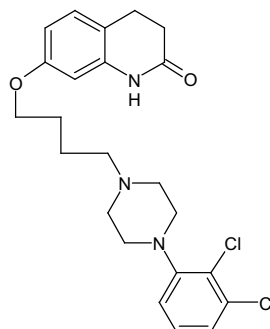


Figura 2
Estructura del Aripiprazol.

Nº de serie	Peso o volumen	Diluido en	Concentración esperada	Nombre de la solución
1	20.00 mg de Aripiprazol	10 ml	2.000 mg/ml o 2,000 ng/µl	A (Solución madre)
2	500 µl de A	1 ml	1.000 mg/ml o 1,000 ng/µl	B, Nivel-6
3	500 µl de B	1 ml	0.500 mg/ml o 500 ng/µl	C, Nivel-5
4	250 µl de B	1 ml	0.250 mg/ml o 250 ng/µl	D, Nivel-4
5	125 µl de B	1 ml	0.125 mg/ml o 125 ng/µl	E, Nivel-3
6	62.5 µl de B	1 ml	0.0625 mg/ml o 62.5 ng/µl	F, Nivel-2
7	31.25 µl de B	1 ml	0.03125 mg/ml o 31.25 ng/µl	G, Nivel-1

Nota: para preparar la solución madre, el Aripiprazol inicialmente fue disuelto en metanol (20% del total del volumen de ajuste) y luego la solución se ajustó hasta la marca con diluyente.

Tabla 1
Preparación de muestra.

- Columna: ZORBAX Eclipse XDB C18, 5 µm, 150 x 4.6 mm,
- Fase móvil:
A = agua + 0.2% TFA,
B = acetonitrilo + 0.16 % TFA
- 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 µl
- Inyector automático programado con un vial de lavado (usando acetonitrilo) para enjuagar el exterior de la aguja
- Tiempo de corrida: 9 minutos
- Tiempo posterior: 5 minutos
- Horno de columna: 40 °C
- VWD: 254 nm, anchura de pico (PW) > 0.05 minutos
- Diluyente/blanco: 60:40 acetoni-trilo:agua

Preparación de la muestra

Las muestras para la prueba de linealidad fueron preparadas de acuerdo con la tabla 1.

Tabla de secuencias

La tabla 2 muestra la tabla de secuencia configurada en el software de cumplimiento Agilent EZChrom Elite Compact.

Resultados y discusión

La Figura 3 muestra el cromatograma de Aripiprazol. La fase móvil contenía ácido trifluoroacético como modificador, el cual mejoró la retención y la forma de los picos.

La Figura 4 muestra la superposición cromatográfica de los seis niveles de linealidad. Los resultados de los resultados de linealidad se resumen en la tabla 3, y el gráfico de linealidad se muestra en la Figura 5. La correlación de linealidad observada fue r al cuadrado > 0.9999.

Línea	Ubicación	Nombre de la muestra	Nº de inyecciones	Volumen de inyección (µl)
1	Vial 1	Blanco	2	5
2	Vial 2	Linealidad Nivel-1	6	5
3	Vial 3	Blanco	2	5
4	Vial 4	Linealidad Nivel-2	6	5
5	Vial 5	Blanco	2	5
6	Vial 6	Linealidad Nivel-3	6	5
7	Vial 7	Blanco	2	5
8	Vial 8	Linealidad Nivel-4	6	5
9	Vial 9	Blanco	2	5
10	Vial 10	Linealidad Nivel-5	6	5
11	Vial 11	Blanco	2	5
12	Vial 12	Linealidad Nivel-6	6	5

Tabla 2
Tabla de secuencias.

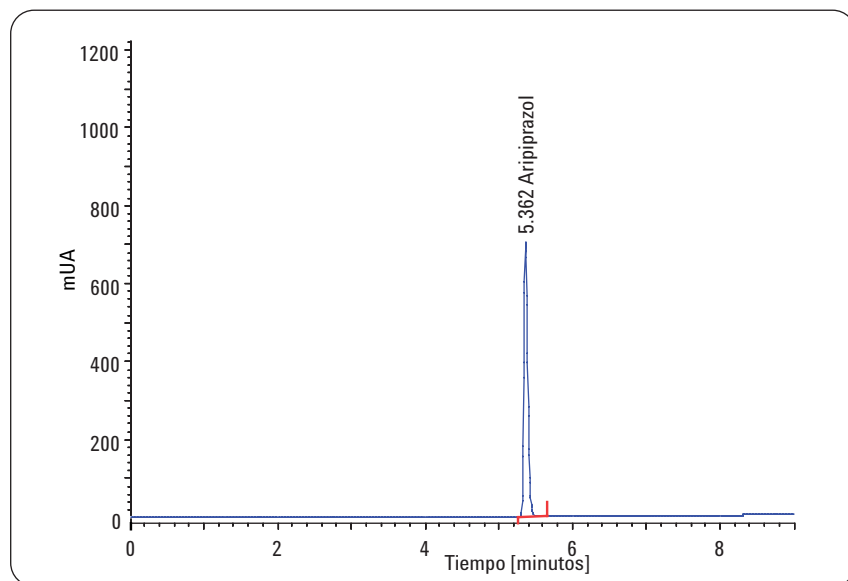


Figura 3
Cromatograma del Aripiprazol.

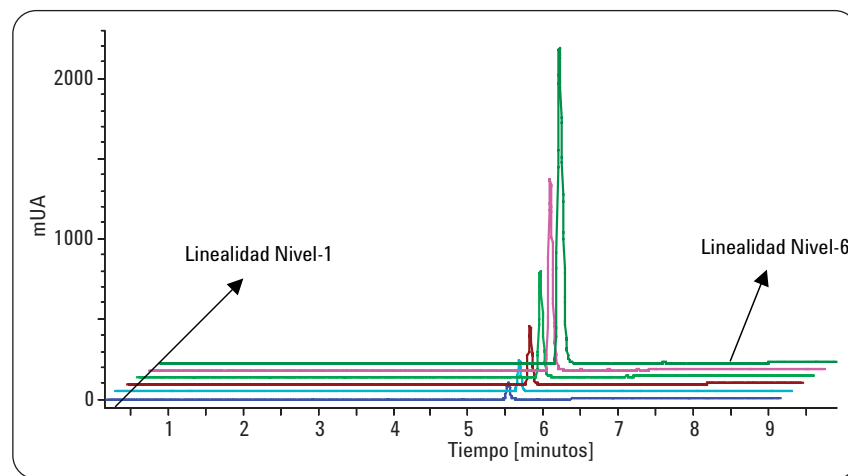


Figura 4
Superposición de los cromatogramas de los seis niveles de concentración (con desplazamiento de tiempo y absorbancia).

Conclusión

El detector de longitud de onda variable dentro del LC Agilent 1120 Compact otorga excelente linealidad sobre un rango muy amplio de concentraciones. El instrumento es capaz de analizar Aripiprazol con alta precisión para tiempos de retención y áreas de picos. En este estudio, la precisión de los tiempos de retención fue < 0.03% RSD y para áreas de picos separados a nivel de la línea base fue < 0.24% RSD.

El sistema LC Agilent 1120 Compact se adapta bien para esta aplicación, ya que proporciona la calidad de datos necesaria y está basado en un diseño sólido probado. Esta nota de aplicación también demuestra que el sistema LC Agilent 1120 Compact cumple con los requisitos del detector de linealidad de un laboratorio farmacéutico de QA/QC.

Resultados	Nivel-1	Nivel-2	Nivel-3	Nivel-4	Nivel-5	Nivel-6
RSD del área	0.243%	0.159%	0.126%	0.218%	0.124%	0.210%
RSD del tiempo de retención	0.017%	0.023%	0.025%	0.020%	0.022%	0.020%

Tabla 3
Resultados de linealidad.

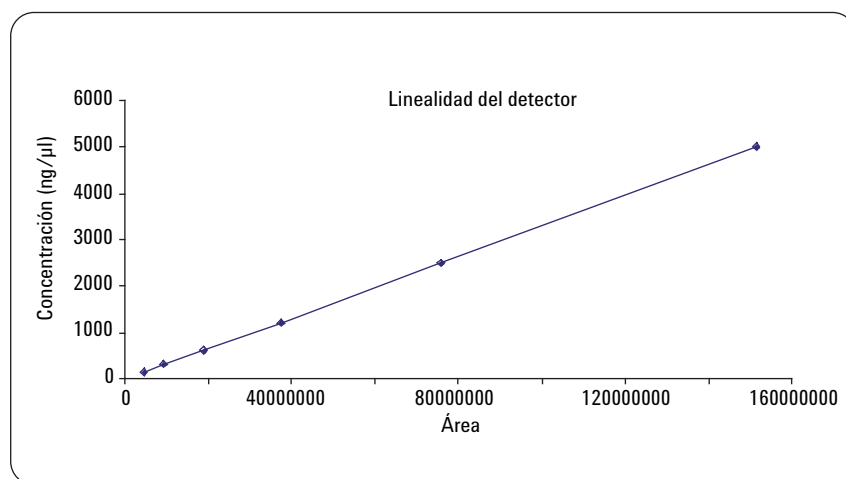


Figura 5
Curva de linealidad para Aripiprazol de ~ 150 a 5,000 ng inyectados.

Siji Joseph es un científico de aplicaciones en Agilent Technologies Life Science Center en Bangalore, India.

Patric Hörth es químico R&D en Agilent Technologies en Waldbronn, Alemania.

www.agilent.com/chem/1120

© 2008 Agilent Technologies Inc.

Publicado el 1º de junio de 2008
Número de publicación 5989-8331ESMX



Agilent Technologies