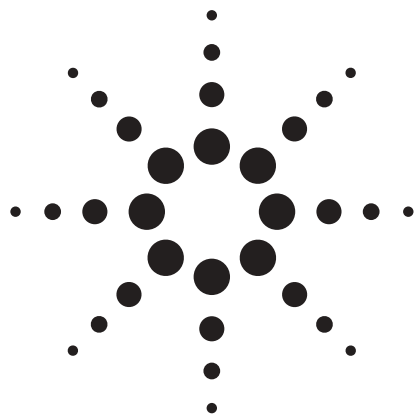
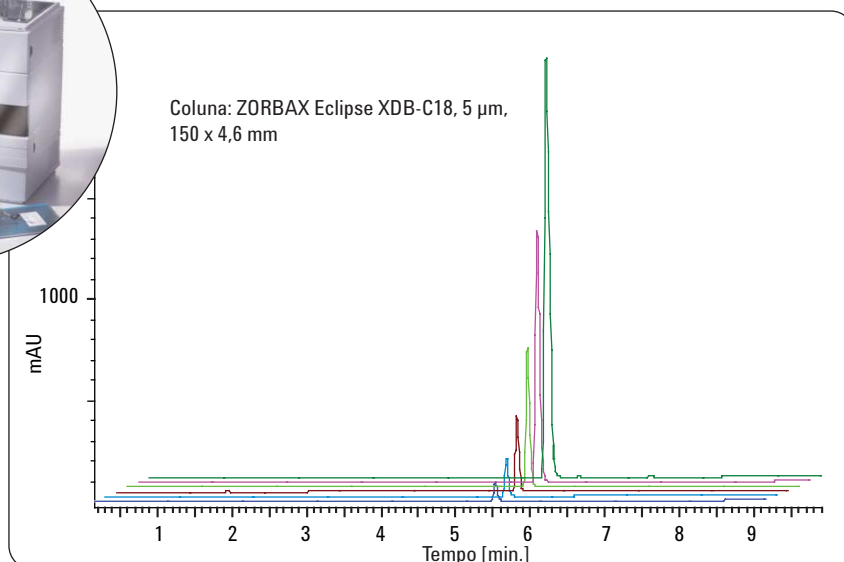




Teste de linearidade do detector para controle de qualidade de Aripiprazol com o Agilent 1120 Compact LC e colunas ZORBAX C-18

Nota de aplicação

Siji Joseph,
Patric Hörth



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 e áreas de pico muito precisos, além da excelente linearidade do detector. Essa nota de aplicação mostra:

- Excelente precisão de tempo de retenção, com desvio padrão relativo (DPR) < 0,07% para todos os seis níveis de linearidade.
- Excelente precisão de área, com DPR < 0,25% em todos os seis níveis.
- Excelente linearidade, com coeficiente de correlação > 0,9999.

Este estudo abrange um intervalo amplo de ~150 ng a 5.000 ng.

Equipamento Agilent

- Agilent 1120 Compact LC
- Coluna ZORBAX Eclipse XDB C18

Área de aplicação

- Indústria farmacêutica: QA/QC



Agilent Technologies

Introdução

No desenvolvimento de um método HPLC, o detector tem papel determinante já que ele define os limites de concentração dentro dos quais o método poderá trabalhar satisfatoriamente.

O objetivo desta Nota de aplicação é avaliar a linearidade do detector e a precisão das áreas de pico e tempos de retenção do sistema Agilent 1120 Compact LC usando a droga antipsicótica Aripiprazol (figura 2) como composto de teste.

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)

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

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

Parâmetros cromatográficos

As condições cromatográficas foram as seguintes:

- Amostra: Aripiprazol
- Coluna: ZORBAX Eclipse XDB C18, 5 µm, 150 x 4,6 mm



Figura 1
Agilent 1120 Compact LC.

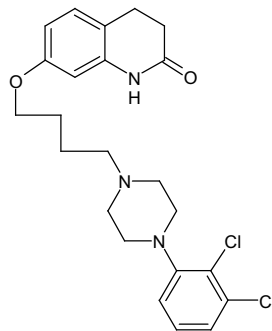


Figura 2
Estrutura do Aripiprazol.

Nº de série	Peso ou volume	Diluído a	Concentração esperada	Nome da solução
1	20,00 mg de Aripiprazol	10 mL	2,000 mg/mL ou 2.000 ng/µL	A (Mãe)
2	500 µL de A	1 mL	1,000 mg/mL ou 1.000 ng/µL	B, Nível 6
3	500 µL de B	1 mL	0,500 mg/mL ou 500 ng/µL	C, Nível 5
4	250 µL de B	1 mL	0,250 mg/mL ou 250 ng/µL	D, Nível 4
5	125 µL de B	1 mL	0,125 mg/mL ou 125 ng/µL	E, Nível 3
6	62,5 µL de B	1 mL	0,0625 mg/mL ou 62,5 ng/µL	F, Nível 2
7	31,25 µL de B	1 mL	0,03125 mg/mL ou 31,25 ng/µL	G, Nível 1

Observação: para preparar a solução-mãe, o Aripiprazol foi inicialmente dissolvido em metanol (20% do volume total da solução) e a solução foi então completada até a marca, com diluente.

Tabela 1
Preparo da amostra.

- Fase móvel:
A = água + 0,2% TFA,
B = acetonitrila + 0,16% TFA
- 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 µL
- Amostrador automático programado com um frasco de lavagem (usando acetonitrila) para enxaguar o exterior da agulha

- Tempo de execução: 9 min
- Tempo posterior: 5 min
- Forno de coluna: 40 °C
- VWD: 254 nm, largura do pico (PW) > 0,05 min
- Diluente/controle: 60:40 acetoni-trila:água

Preparo da amostra

As amostras para o teste de linearidade foram preparadas conforme a tabela 1.

Tabela de seqüência

A tabela 2 mostra a tabela de seqüência configurada no software Agilent EZChrom Elite Compact Compliance.

Resultados e discussão

A figura 3 mostra o cromatograma do Aripiprazol. A fase móvel contém ácido trifluoroacético como modificador, o que melhora a retenção e o formato do pico.

A figura 4 mostra a sobreposição cromatográfica de todos os seis níveis de linearidade. Os resultados relativos a linearidade estão sumarizados na Tabela 3, e o gráfico de linearidade é mostrado na figura 5. A correlação de linearidade observada foi dividida pela raiz quadrada > 0,9999.

Linha	Local	Nome da amostra	# Injeções	Volume de injeção (µL)
1	Frasco 1	Controle	2	5
2	Frasco 2	Linearidade nível 1	6	5
3	Frasco 3	Controle	2	5
4	Frasco 4	Linearidade nível 2	6	5
5	Frasco 5	Controle	2	5
6	Frasco 6	Linearidade nível 3	6	5
7	Frasco 7	Controle	2	5
8	Frasco 8	Linearidade nível 4	6	5
9	Frasco 9	Controle	2	5
10	Frasco 10	Linearidade nível 5	6	5
11	Frasco 11	Controle	2	5
12	Frasco 12	Linearidade nível 6	6	5

Tabela 2

Tabela de seqüência.

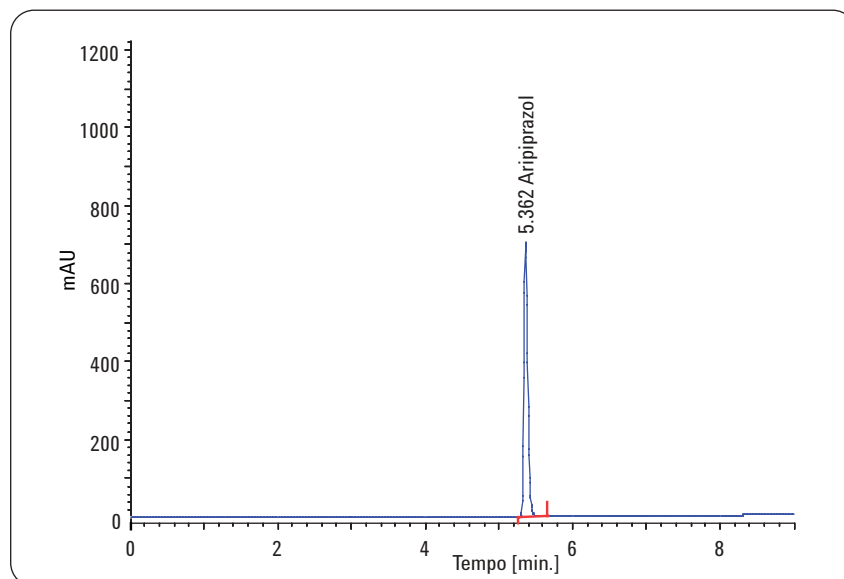


Figura 3
Cromatograma do Aripiprazol.

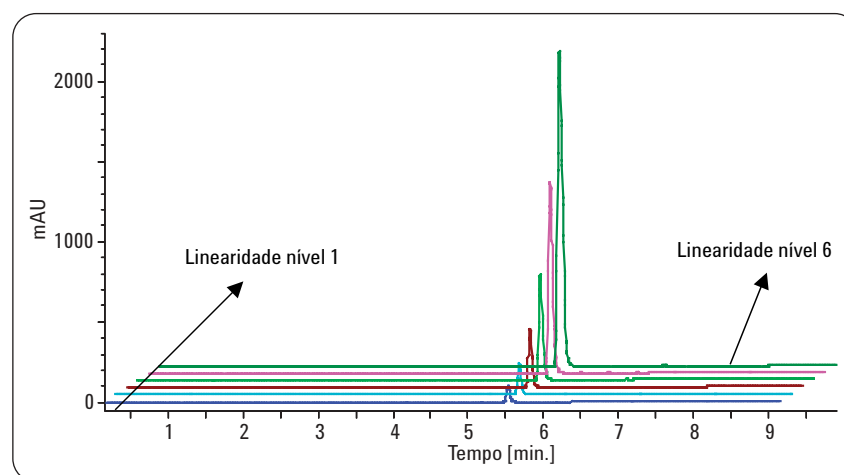


Figura 4
Sobreposição dos cromatogramas de todos os seis níveis de concentração (com variação de tempo e absorbância).

Conclusão

O detector de comprimento de onda variável do Agilent 1120 Compact LC oferece excelente linearidade em uma ampla gama de concentrações. O instrumento é capaz de analisar o Aripiprazol com alta precisão de tempos de retenção e áreas de pico. Nesse estudo, a precisão do tempo de retenção foi $< 0,03\%$ do DPR e em áreas de picos separados na linha de base foi $< 0,24\%$ do DPR.

O sistema Agilent 1120 Compact LC é ideal para essa aplicação pois oferece os dados necessários com qualidade e está baseado em um projeto robusto, testado e aprovado. Essa nota de aplicação também mostra que o sistema atende aos requisitos de linearidade do detector para um laboratório farmacêutico de QA/QC.

Resultados	Nível 1	Nível 2	Nível 3	Nível 4	Nível 5	Nível 6
DPR da área	0,243%	0,159%	0,126%	0,218%	0,124%	0,210%
DPR do tempo de retenção	0,017%	0,023%	0,025%	0,020%	0,022%	0,020%

Tabela 3
Resultados de linearidade.

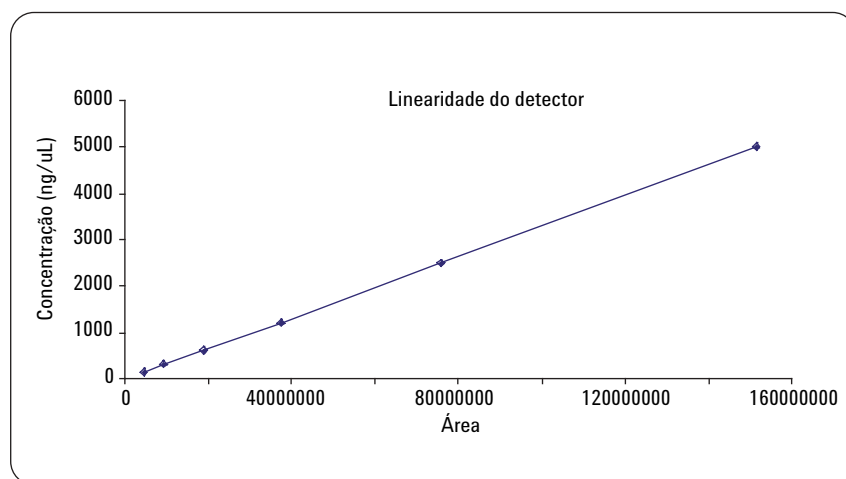


Figura 5
Curva de linearidade do Aripiprazol de ~150 a 5.000 ng injetados.

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 5989-8331PTBR



Agilent Technologies