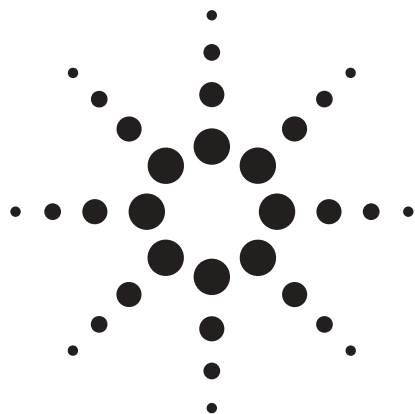
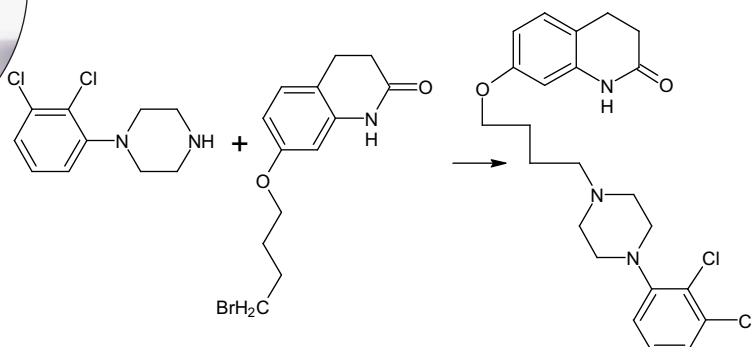
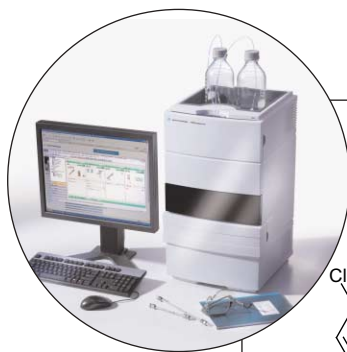




Teste de compatibilidade do sistema para controle de qualidade de Aripiprazol com o Agilent 1120 Compact LC e colunas ZORBAX C-18

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 baixos limites de detecção e 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.
- Excelente precisão de altura, 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



Agilent Technologies

Introdução

Na indústria farmacêutica, a cromatografia líquida é uma ferramenta versátil para separação de analitos individuais. Incontáveis métodos foram desenvolvidos para análise em HPLC, uma vez que ela é comprovadamente muito confiável e reprodutível em todos os estágios - da descoberta à fabricação de medicamentos. O resultado disso é que torna-se necessário verificar se qualquer sistema HPLC é capaz de oferecer desempenho reprodutível em uma faixa de precisão e exatidão aceitável.

O Teste de Compatibilidade do Sistema (SST) é uma medida diária de desempenho do instrumento. Esses testes garantem que o método e o sistema de HPLC podem gerar resultados com precisão e acurácia aceitáveis. O critério selecionado é baseado em parâmetros cromatográficos críticos como resolução, reprodutibilidade dos tempos de retenção das áreas de pico e altura, eficiência da coluna e suas variações (Desvio Padrão), dentro dos limites aceitáveis que foram pré-definidos durante os experimentos de validação dos métodos.

Nesta Nota de aplicação, nos concentramos nesta etapa final da validação e avaliamos a compatibilidade do sistema Agilent 1120 Compact LC para análise do Aripiprazol e seus precursores.

Experimental

Equipamento

O sistema Agilent 1120 Compact LC inclui:

- Uma bomba gradiente com mistura em baixa pressão



Figura 1
Agilent 1120 Compact LC.

- Um autosampler 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 Agilent ZORBAX Eclipse XDB C18, 5 μ m, 150 x 4,6 mm.

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

Compostos

Hidrocloreto 1-(2,3-Diclorofenil)piperazine (material básico 1) e 7-(4-bromobutoxi)-3,4-dihidrocarboestiril (material básico 2) são os dois materiais básicos para síntese de Aripiprazol. O esquema sintético é mostrado na figura 2. Nesse estudo, os dois materiais básicos são tratados como impurezas.

Preparo das amostras

Preparo da solução-mãe: 2 mg/mL de Aripiprazol e 5 mg/mL do material básico 1 e 2 foram preparados

como soluções-mãe individuais. O Aripiprazol e os dois materiais básicos foram inicialmente dissolvidos em metanol (20% do volume total da solução) e foi então acrescentado diluente até as marcas.

Amostra de compatibilidade do sistema: Uma mistura de teste para compatibilidade foi preparada com 10 μ g/mL de Aripiprazol e cada uma das impurezas a 5 μ g/mL.

Parâmetros cromatográficos

O método cromatográfico foi configurado de forma que todos os compostos foram separados na linha de base. As condições foram:

- Amostra: 1-(2,3-diclorofenil)piperazine, 7-(4-bromobutoxi)-3,4-dihidrocarboestiril e Aripiprazol
- Coluna: Agilent ZORBAX Eclipse XDB C18, 5 μ m, 150 x 4,6 mm
- Fases móveis: A = água + 0,2% de ácido trifluoroacético (TFA), B = acetonitrila + 0,16% de 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: 10 μ L

- 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 acetonitrila:água

Tabela de seqüência

Com base nas recomendações da ICH (Conferência Internacional de Harmonização) para testes de compatibilidade de sistema, a tabela de seqüência mostrada como tabela 1 foi configurada no software Agilent EZChrom Elite Compact Compliance.

Resultados e discussão

Na figura 3, um cromatograma de exemplo do teste de compatibilidade de sistema mostra resolução excelente. O tempo de separação foi de nove minutos; o tempo total de execução (inclusive reequilíbrio) pode ser limitado a 14 minutos. A fase móvel continha ácido trifluoroacético como modificador, o que melhora a retenção e o formato do pico.

Ao analisar drogas com detecção de UV, a precisão dos tempos de retenção é de suma importância. A precisão dos tempos de retenção e áreas foi determinada a partir de 10 injeções replicadas da amostra de compatibilidade do sistema. A figura 4 mostra uma sobreposição das 10 execuções consecutivas.

Os critérios de aceitação desse teste de compatibilidade de sistema estão tabulados na tabela 2.

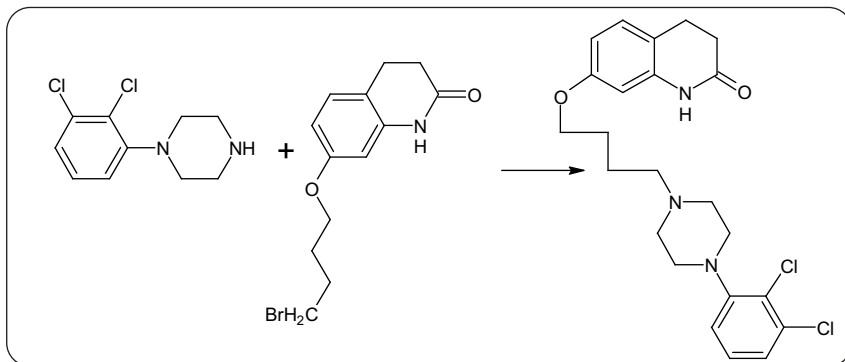


Figura 2
Estruturas dos materiais básicos 1 e 2 e do produto Aripiprazol.

Linha	Local	Nome da amostra	# Injeções	Volume de injeção (µL)
1	Frasco 1	Controle	3	10
2	Frasco 2	Compatibilidade do sistema	10	10
3	Frasco 3	Controle	1	10

Tabela 1
Tabela de seqüência.

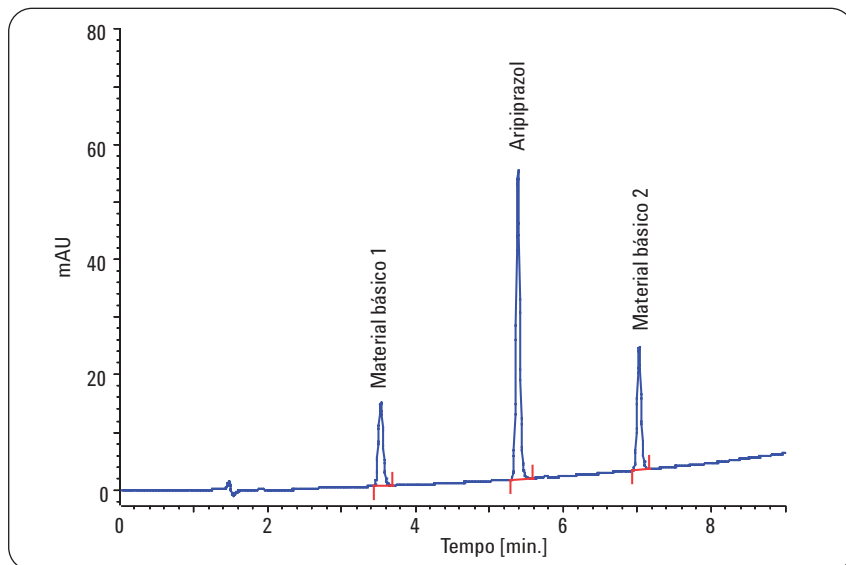


Figura 3
Cromatograma do Aripiprazol e suas impurezas.

Parâmetro	Limite
DPR do tempo de retenção (RT)	< 0,07%
DPR da área	< 1,00%
Resolução	> 2,00
Assimetria	< 2,00
Pratos teóricos	> 2000
Largura do pico	> 0,08 min
DPR da altura	< 0,50%

Tabela 2
Critérios de aceitação.

Composto	Quantidade (µg/mL)	DPR de RT (%)	DPR da área (%)	Resolução	PW	Assimetria	Pratos teóricos	DPR da altura (%)	Aprovado (sim/não)
Material básico 1	5,15	0,033	0,189	N/A	0,07	1.02470	>14000	0,228	Sim
Aripiprazol	10,1	0,027	0,129	17,87	0,05	1.14031	>58000	0,183	Sim
Material básico 2	5,4	0,021	0,137	17,48	0,06	1.09432	>60000	0,169	Sim

*N/A = não se aplica

Tabela 3

Resultados do teste de compatibilidade do sistema.

Os resultados do teste de compatibilidade de sistema são exibidos na figura 4 e resumidos na tabela 3.

Esses resultados do teste de compatibilidade de sistema do Aripiprazol demonstram que o Agilent 1120 Compact LC atende aos severos requisitos de desempenho para análise farmacêutica de QA/QC.

Conclusão

Para a análise de fármacos em QA/QC de rotina, é muito importante ter sistemas LC de alta precisão, acurados e robustos. Isso permite uma análise confiável de drogas farmacêuticas e de suas impurezas. 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.

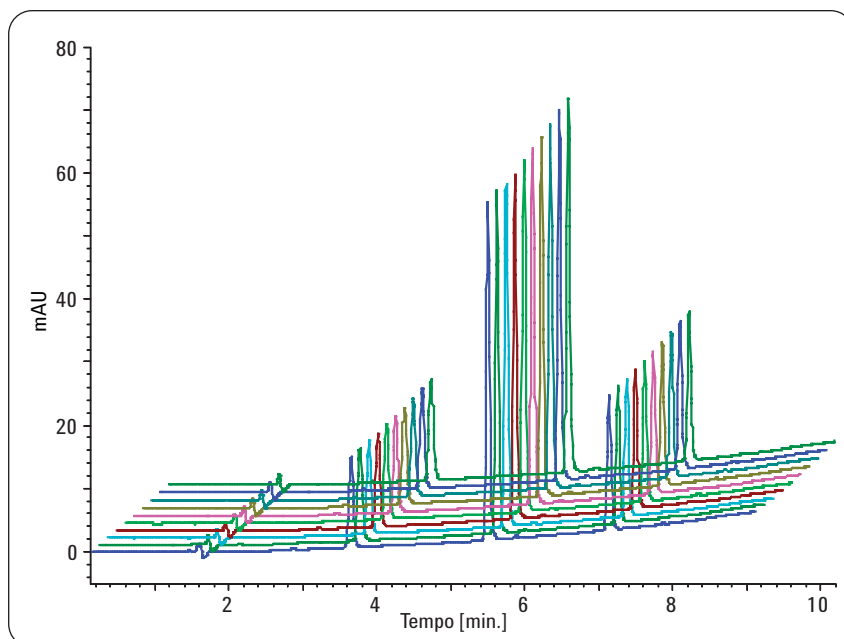


Figura 4
Sobreposição de 10 cromatogramas repetitivos.

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 5989-8333PTBR



Agilent Technologies