

La cromatografía iónica, método analítico universal para el sector farmacéutico

En la industria farmacéutica es preciso el cumplimiento de altos estándares con respecto a la calidad del fármaco y su seguridad. Estos estándares están documentados en las farmacopeas. Las farmacopeas son colecciones oficiales de reglas farmacéuticas reconocidas, publicadas por autoridades como gobiernos y sociedades médicas. Funcionan como una herramienta jurídica para la protección del consumidor. La identificación de un fármaco y su cumplimiento de las regulaciones dependen de métodos e instrumentos sensibles y fiables.

La cromatografía iónica (CI) es el método ideal para determinar principios activos, excipientes, trazas de impurezas y metabolitos en forma de iones orgánicos, inorgánicos o sustancias polares en un gran número de fármacos, soluciones farmacéuticas o fluidos corporales. La cromatografía iónica permite determinar sustancias químicamente similares de forma rápida y en un solo análisis. La concentración de los analitos puede variar desde ng/L hasta porcentajes. Gracias a la amplia gama de columnas de separación y la amplia variedad de configuraciones cromatográficas disponibles, la CI es un método útil para casi cualquier tipo de analito. Las interferencias ocasionadas por las matrices se pueden evitar fácilmente usando una preparación apropiada de la muestra o seleccionando el método de detección adecuado. La preparación de las muestras inline es una función ofrecida por muchos sistemas modernos de CI, ya que los avances recientes en la CI se enfocan principalmente en la facilidad de uso de la técnica. Además de potenciar la productividad de la CI, la automatización reduce las interferencias humanas al mínimo, lo cual significa eliminar el origen principal de errores y contaminaciones.

Las muestras farmacéuticas se presentan en formas muy variadas, lo cual requiere enfoques analíticos diferentes y optimizados en cada caso. A continuación se describen varios tipos de muestras frecuentes en el sector farmacéutico con sus métodos de análisis más apropiados.

Soluciones farmacéuticas

Se denominan soluciones farmacéuticas las soluciones isotónicas, de hemodiálisis o de infusión. Contienen aniones, cationes, carbohidratos y ácidos orgánicos en concentraciones que pueden diferir entre sí en varios órdenes de magnitud. Para la vigilancia durante la producción y para el control final de calidad, es necesario determinar estos ingredientes de forma sencilla, rápida y con gran precisión. La aplicación de una cromatografía iónica inteligente y la preparación automática inline de las muestras es ideal para estos fines. Los siguientes ejemplos muestran los análisis de dos soluciones de hemodiálisis.

Los pacientes que sufren de una insuficiencia renal necesitan la hemodiálisis para compensar las disfunciones renales en la

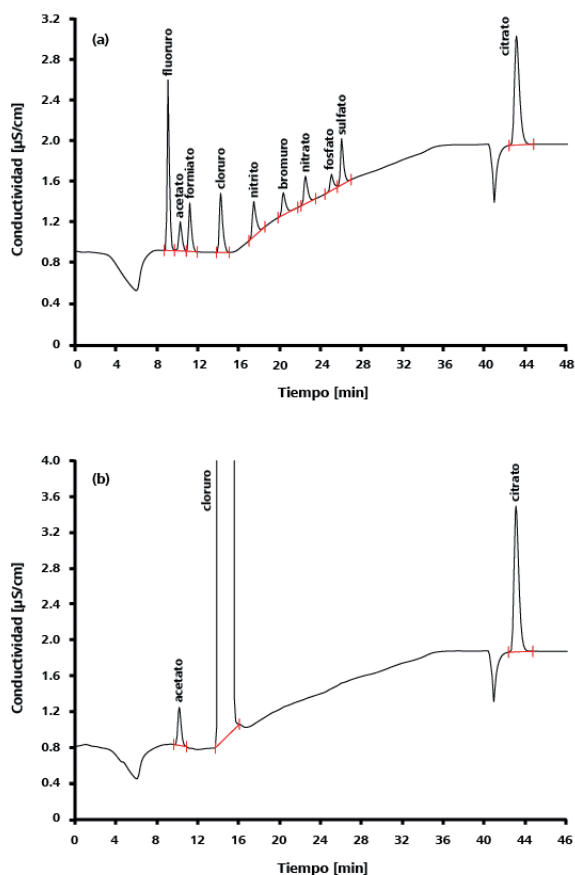


Figura 1.

(a) Cromatograma correspondiente a una solución patrón de aniones estándar, acetato y citrato aplicando un gradiente de Na_2CO_3 , supresión secuencial y detección por conductividad. Columna: Metrosep A Supp 7 - 250/4.0.

(b) Determinación por CI de acetato, citrato y cloruro en una solución de hemodiálisis empleando una columna Metrosep A Supp 7 - 250/4.0, aplicando un gradiente de Na_2CO_3 , supresión secuencial y detección por conductividad.

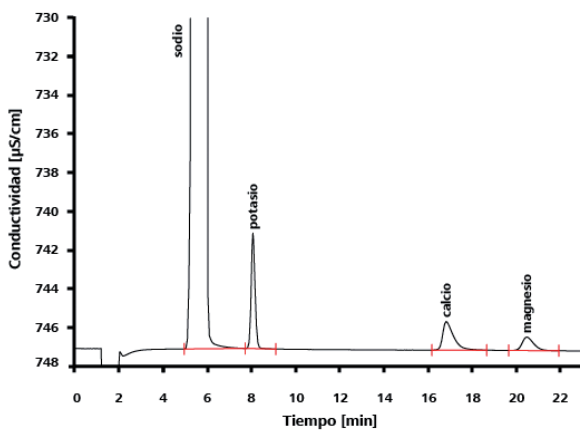


Figura 2.

Cationes en un concentrado de hemodiálisis utilizando la Metrosep C 4 - 150/4.0 y detección por conductividad sin supresión química.

limpieza sanguínea. Durante la hemodiálisis, la sangre del paciente intercambia solutos con una solución de hemodiálisis mediante una membrana semipermeable. Los solutos intercambiados incluyen, entre otros, productos de desechos tales como urea y fosfato. Siguiendo el gradiente de concentración, se produce su difusión desde la sangre hacia la solución de diálisis.

La Figura 1 muestra la determinación simultánea de citrato y acetato en una solución diluida de hemodiálisis. El cromatograma (a) muestra una determinación correspondiente a un patrón de aniones; el cromatograma (b) muestra una determinación de la muestra. El citrato es añadido a las soluciones de hemodiálisis como anticoagulante; el acetato estabiliza el pH de la sangre. Además del citrato y el acetato, el cromatograma revela la presencia de cloruro cerca de la concentración fisiológica, lo cual previene la pérdida de este soluto del cuerpo del paciente por ósmosis.

La Figura 2 muestra la determinación de cationes en una solución de hemodiálisis concentrada después de una dilución inline automatizada. Los cationes presentes en una solución de hemodiálisis son el sodio, el potasio y el calcio. Como en el caso del cloruro, los cationes están presentes en concentraciones muy cercanas a las concentraciones fisiológicas para evitar su drenaje del cuerpo del paciente por ósmosis.

Principios activos farmacéuticos

Los principios activos farmacéuticos tales como gentamicina, neomicina, cefadroxilo o cloruro de betanecol pueden ser determinados por la CI de acuerdo con las regulaciones de la US Pharmacopeia y la Pharmacopeia Europea. En la imagen (Figura 3) se observa el cromatograma de iones de un análisis de gentamicina. El antibiótico consta de varios compuestos relacionados. A pesar de sus estructuras muy similares, los diferentes componentes de la gentamicina están bien separados en el cromatograma de iones.

Impurezas en fármacos

Además del análisis de los principios activos, es también posible la determinación de impurezas en productos farmacéuticos por CI. Por ejemplo, la azida utilizada en la síntesis del anti-hipertensivo irbesartán puede ser detectado como una impureza en este producto a nivel de trazas. Debido a que la azida es altamente tóxica para los seres humanos, su concentración está sujeta a controles rigurosos. La US Pharmacopeia recomienda la determinación de la azida por cromatografía iónica mediante una inyección directa según la USP<621>. Este procedimiento es tedioso, difícil de automatizar y consume mucho tiempo.

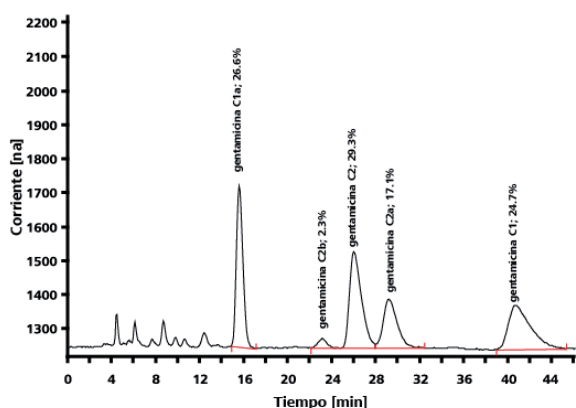


Figura 3.

Determinación por CI del antibiótico gentamicina con detección amperométrica pulsada; columna: Polymer Laboratories RP-S; eluyente: 60 g/L Na_2SO_4 , 1,75 g/L octanosulfonato de sodio, 1,34 g/L NaH_2PO_4 , 8 mL THF (pH = 3, H_3PO_4), 1,0 mL/minuto; temperatura de columna: 55 °C; volumen de la muestra: 20 μL ; adición post-columna: 300 mmol/L NaOH (0,4 mL/minuto).

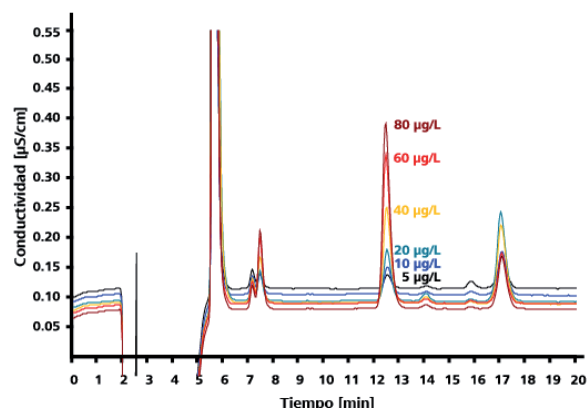


Figura 4.

Muestra de irbesartán fortificada con 5-80 $\mu\text{g/L}$ azida; columna: Metrosep A Supp 10 - 250/4.0 (6.1020.030); eluyente: 5 mmol/L Na_2CO_3 , 5 mmol/L NaHCO_3 , 1,0 mL/minuto; temperatura de columna: 60 °C, volumen de la muestra: 1000 μL ; eliminación inline de la matriz con 70:30 (v/v) metanol/agua.

Mediante una eliminación inline de la matriz se pueden optimizar los valores de selectividad y sensibilidad. El cromatograma de iones en la *Figura 4* muestra el análisis de una muestra de irbesartán fortificada con diferentes concentraciones de azida aplicando una eliminación de la matriz. Tras la correspondiente separación cromatográfica y supresión secuencia, el detector de conductividad registra la señal.

Este método cumple con todas las exigencias de las autoridades reguladoras. Por eso, sirve como una alternativa más rápida y sensible respecto a la determinación propuesta según la USP<621>.

Conclusiones

La cromatografía iónica ha llegado a ser un método analítico extremadamente versátil, debido al gran número de columnas, eluyentes y opciones de gradiente disponibles. Las técnicas de preparación de las muestras, así como las posibilidades de automatización, están a disposición del usuario. Hoy, la técnica cubre un campo diversificado de aplicaciones en la industria farmacéutica. En la tabla se encuentran 3 de casi 100 aplicaciones representativas que se pueden solucionar con la CI.

www.metrohm.es

Tabla 1. Selección de aplicaciones de la CI en la industria farmacéutica.

| Farmacéutico | Analito | | Detección |
|-------------------|--------------------------|-----------|---------------------|
| Adrenalina | Adrenalina | API* | Amperométrica |
| ... | ... | ... | ... |
| Ibuprofeno | Ibuprofeno, Valerofenona | API* | Espectrofotométrica |
| ... | ... | ... | ... |
| Ácido zoledrónico | Fosfito, fosfato | Impurezas | Conductividad |

*active pharmaceutical ingredient