



Application Note AN-S-380

Monofluorophosphat und Fluorid in Natriummonofluorophosphat zur pharmazeutischen Verwendung

Methodenqualifikation gemäß der U.S. Pharmacopeia

Monofluorophosphat (MFP) wird häufig zur Remineralisierung des Zahnschmelzes und zur Vorbeugung von Zahnkaries (Karies) eingesetzt [1]. Pharmazeutische Hersteller und Labors sind verpflichtet, die Monographien der United States Pharmacopeia and National Formulary (USP-NF) für die Bewertung der Qualität von Arzneimitteln und Formulierungen, einschließlich MFP, zu verwenden. Die USP hat eine globale Initiative zur Modernisierung vieler ihrer bestehenden Monographien gestartet. Die Ionenchromatographie (IC) mit suppressierter

Leitfähigkeitsdetektion wurde von der USP als validierte Methode zur Quantifizierung des MFP-Gehalts in Natriummonofluorophosphat zugelassen [2].

Die geforderte Trennung von MFP von Sulfat ist durch die Verwendung der Metrosep A Supp 16 - 250/4.0 Säule und eines Hydroxidgradienten möglich. Alle Akzeptanzkriterien der USP-Monographie "Sodium Monofluorophosphate" sind erfüllt und das Verfahren wurde als validierte USP-Methode anerkannt [2-5].

PROBE UND PROBENVORBEREITUNG

Die Systemeignungslösung und die Standardlösung werden aus USP-zertifizierten Standards durch Verdünnung mit Reinstwasser (UPW) hergestellt. Die Systemeignungslösung enthält 4,0 µg/mL USP Natriumfluorid RS, 1,4 µg/mL USP Natriumacetat RS, 150,0 µg/mL USP Natriummonofluorophosphat RS und 150,0 µg/mL USP Natriumsulfat RS. Die Standardlösung enthält 150,0 µg/mL USP Natriummonofluorophosphat RS. Die Probenanalysen wurden mit Natriummonofluorophosphat (Na_2PFO_3), das von einem Kunden zur Verfügung gestellt wurde,

durchgeführt. Hiervon wurden 1,5 g eingewogen und in einen 1000-mL-Messkolben gegeben. Der Kolben wurde bis zur Markierung mit Reinstwasser gefüllt, 15 Minuten lang ins Ultraschallbad gestellt und anschließend durch Filterpapier mit einer Porengröße von 0,2 µm filtriert. Diese Probenstammlösung wurde im Verhältnis 1:10 mit Reinstwasser weiter verdünnt. Die Endkonzentration entspricht 150 µg/ml Monofluorophosphat. Eine zusätzliche Probenvorbereitung ist nicht erforderlich.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Systemeignungslösung, Proben und Standardlösungen wurden mit einem 858

Professional Sample Processor (**Abbildung 1**) direkt in den IC injiziert.

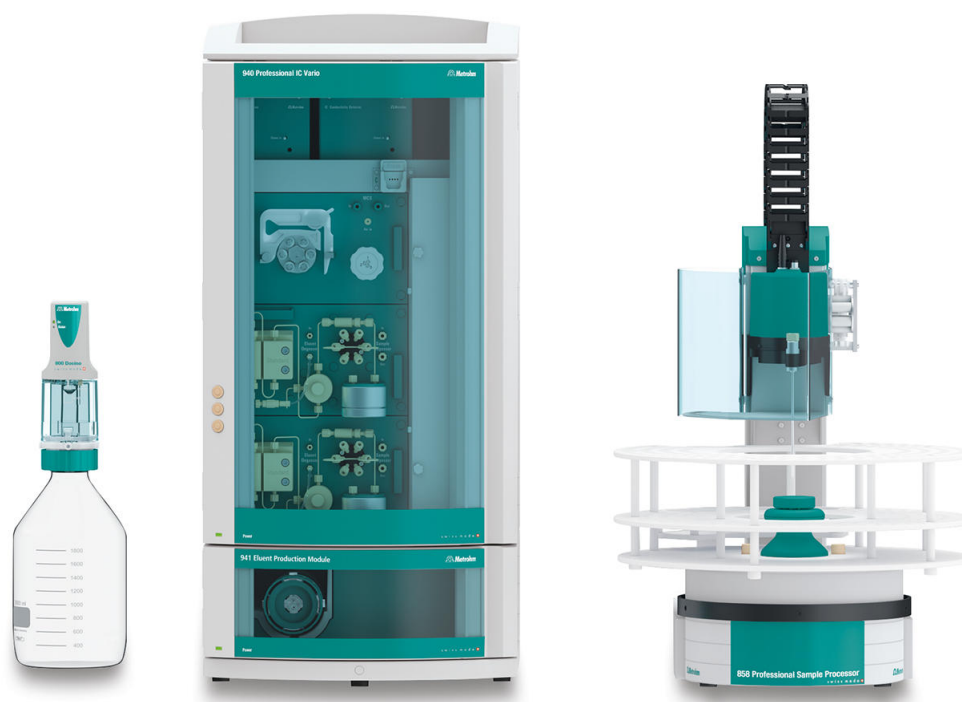


Abbildung 1. Systemaufbau mit einem 940 Professional IC Vario, 858 Professional Sample Processor und einem 800 Dosino für die Dosino-Regeneration des MSM (Metrohm Suppressor Module).

Mit Hilfe eines Kaliumhydroxidgradienten (**Tabelle 2**, Eluent A 100 mmol/L Kaliumhydroxid, Eluent B Reinstwasser) und der Metrosep A Supp 16-Säule (USP-Packung L91) werden Fluorid, Acetat, Monofluorophosphat und Sulfat basisliniengetrennt. Die Detektion der Analyten erfolgte mit chemisch

suppressierter Leitfähigkeitsdetektion.

Die Kalibrierung erfolgte mittels Verwendung eines einzelnen 2,0 µg/mL Natriummonofluorophosphat-Standards, der sechsmal injiziert wurde. Die Probe wurde in doppelter Ausführung analysiert.

Tabelle 1. Anforderungen an die IC-Methode gemäß USP-Monographie „Sodium Monofluorophosphate“ [2].

Säule mit L91-Packung	Metrosep A Supp 16 - 250/4.0
Fluss	1,0 ml/min
Eluent	Eluent A: 100,0 mmol/L Kaliumhydroxid Eluent B: Reinstwasser
Temperatur	40 °C
Injektionsvolumen	10 µL
Detektion	Suppressierte Leitfähigkeit

Tabelle 2. Binäres Gradientenprofil gemäß der USP-Monographie «Sodium Monofluorophosphate» [2].

Zeit (Minuten)	Eluent A (%)	Eluent B (%)
0.0	15	85
20.0	15	85
30.0	30	70
35.0	60	40
45.0	60	40
45.1	15	85
50.0	15	85

ERGEBNISSE

Die IC-Methode zur Bestimmung des Monofluorophosphat-Gehalts ist gemäß der USP-Monographie "Sodium Monofluorophosphate" qualifiziert und folgt den USP-Referenzen für

Methodenvalidierungsverfahren [2-5]. Ein Chromatogramm für die Systemeignungsprüfung ist in **Abbildung 2** dargestellt.

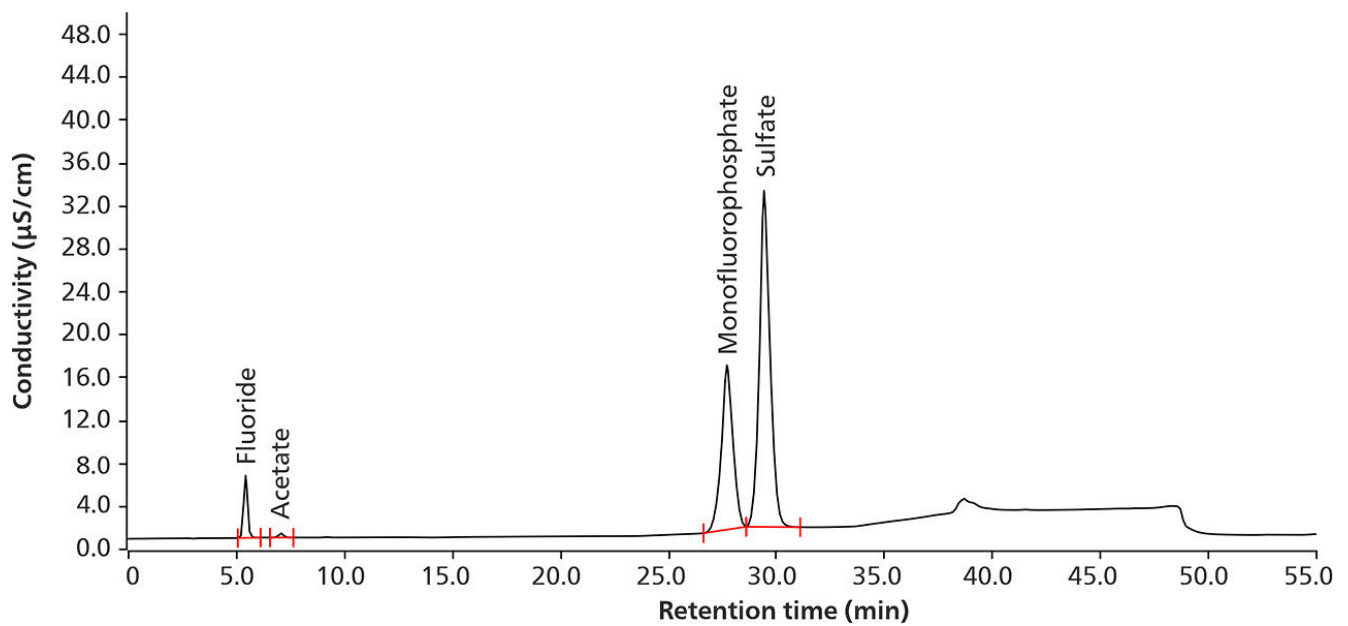


Abbildung 2. Chromatogramm der Systemeignungslösung. Die Natriumfluoridkonzentration entspricht 4,0 µg/ml, Natriumacetat 1,4 µg/ml, Natriummonofluorophosphat 150,0 µg/ml und Natriumsulfat 150,0 µg/ml.

Die relativen Retentionszeiten für Fluorid, Acetat, Monofluorophosphat und Sulfat betragen 0,20, 0,26, 1,00 bzw. 1,06. Diese einheitenlosen Werte werden

automatisch mit der MagIC Net-Software unter Anwendung der folgenden Formel berechnet:

$$r_G = \frac{t_{Ri}}{t_{Rst}}$$

r_G = relative Retentionszeit, nicht angepasst t_{Ri} = Retentionszeit des Peak von Interesse t_{Rst} = Retentionszeit des Referenzpeaks (Peak entsprechend der zu untersuchenden Substanz, Monofluorophosphat)

Alle Akzeptanzkriterien für die Systemeignung (Auflösung, Tailing-Faktor und relative Standardabweichung der wiederholten Standardinjektionen) sind erfüllt (Tabelle 3).

Tabelle 3. Anforderungen an die Systemeignung gemäß USP.

Parameter	Tatsächlich	USP erforderlich	Status
Auflösung Monofluorophosphat / Sulfat	1,84	>1,5	Bestanden
Tailing-Faktor	1,02	<2,5	Bestanden
*RSD (%); n=6	0,38	<2,0	Bestanden

Die Ergebnisse für die Beispielprobe (Tabelle 4)

werden wie folgt berechnet:

$$Result (\%) = \left(\frac{r_U}{r_S} \right) \times \left(\frac{C_S}{C_U} \right) \times 100$$

r_U = Peak-Antwort von Monofluorophosphat aus der Probenlösung r_S = Peak-Antwort von Monofluorophosphat aus der Standardlösung c_S = Konzentration von USP Natriummonofluorophosphat

RS in der Standardlösung ($\mu\text{g/ml}$) c_U = Konzentration von Natriummonofluorophosphat in der Probenlösung ($\mu\text{g/ml}$)

Tabelle 4. Probenanalyse von Natriummonofluorophosphat und Anforderungen gemäß USP.

Analyt	Tatsächlich	USP-Anforderung	Status
Natrium MFP [%]	95,56	91,7–100,5	Bestanden

FAZIT

Die vorgestellte IC-Methode wurde erfolgreich für die Bestimmung des Monofluorophosphat-Gehalts gemäß der USP-Monographie "Sodium Monofluorophosphate" qualifiziert. Diese Qualifizierung erfolgte streng nach den USP-Validierungsspezifikationen. Die Systemeignung erfüllte alle Akzeptanzkriterien, einschließlich der Auflösung, des Tailing-Faktors und der relativen Standardabweichung der Standardwiederholungsinjektionen. Darüber hinaus

erfüllte auch die Probenanalyse die USP-Anforderungen. Somit hat sich die Analyse mit Ionenchromatographie als zuverlässiger und geeigneter Ansatz für die Bestimmung von Monofluorophosphat in pharmazeutischen Formulierungen erwiesen. Die Hersteller von Natriummonofluorophosphat profitieren von dem hohen Automatisierungsgrad und der einfachen Handhabung.

REFERENZEN

1. Vogel, G. L.; Mao, Y.; Chow, L. C.; et al. Fluoride in Plaque Fluid, Plaque, and Saliva Measured for 2 Hours after a Sodium Fluoride Monofluorophosphate Rinse. *Caries Research* **2000**, *34* (5), 404–411.
<https://doi.org/10.1159/000016615>.
2. U. S. Pharmacopeia/National Formulary. *USP Monographs, Sodium Monofluorophosphate*; USP/NF, Rockville, MD, USA.
3. U. S. Pharmacopeia/National Formulary. <621> Chromatography. In *General Chapter*; USP/NF, Rockville, MD, USA.
4. U. S. Pharmacopeia/National Formulary. *General Chapter, <1065> Ion Chromatography*; USP-NF: Rockville, MD, USA, 2023.
https://doi.usp.org/USPNF/USPNF_M897_01_01.html.
5. U. S. Pharmacopeia/National Formulary. *General Chapter, <1225> Validation of Compendial Procedures*; USP-NF: Rockville, MD, USA, 2023.
https://doi.org/10.31003/USPNF_M99945_04_01.

CONTACT

Metrohm Inula
Shuttleworthstraße 25
1210 Wien

office@metrohm.at

GERÄTEKONFIGURATION



Metrosep A Supp 16 - 250/4.0

Die Metrosep A Supp 16 ist für hochkapazitive Trennprobleme bestens geeignet und zeichnet sich selbst bei komplexen Trennproblemen durch eine ausgezeichnete Auflösung aus. Die Trennsäule Metrosep A Supp 16 basiert auf einem oberflächenfunktionalisierten Polystyrol/Divinylbenzol-Copolymer. Die funktionellen Gruppen sind kovalent gebunden. Dies und die Oberflächenstruktur des Anionenaustauschers ergibt so eine einzigartige Selektivität. Die hochkapazitive Metrosep A Supp 16 kommt bei komplexen Problemlösungen zum Einsatz.

Die Metrosep A Supp 16 - 250/4.0 besitzt eine ausgezeichnete Auflösung und löst schwierigste Trennprobleme. Sehr gut geeignet ist die Säule für die Überwachung von Galvanikbädern. Spuren von Anionen sind in konzentrierten Säuren bestimmbar. Der Einsatz in der Lebensmittelanalytik zur Bestimmung von Maltosederivaten ist nur eine weitere von zahlreichen Anwendungen der hochkapazitiven Metrosep A Supp 16 - 250/4.0.



Metrosep A Supp 16 Guard/4.0

Die Metrosep A Supp 16 Guard/4.0 schützt die analytischen Trennsäulen Metrosep A Supp 16 wirkungsvoll vor Verunreinigungen. Die Guard-Säule zeichnet sich dank «On Column Guard System» durch sehr einfache Handhabung aus. Die Guardsäule wird einfach auf die analytische Säule geschraubt. Werkzeug wird hierfür nicht benötigt.

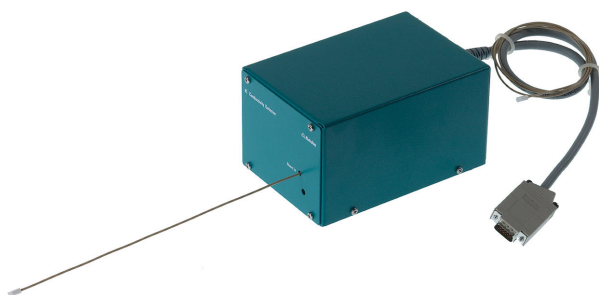


940 Professional IC Vario ONE/SeS/PP/HPG

Der 940 Professional IC Vario ONE/SeS/PP/HPG ist das intelligente IC-Gerät mit **sequenzieller Suppression**, **Peristaltikpumpe** zur Suppressorregeneration und **binärem Hochdruckgradient**. Es kann mit 942 Extension Modulen bis zu einem quaternären Gradientensystem ausgebaut werden. Das Gerät kann mit beliebigen Trenn- und Detektionsmethoden eingesetzt werden.

Typische Anwendungsgebiete:

- Gradientenanwendungen zur Anionen- oder Kationenbestimmungen mit sequenzieller Suppression



IC Conductivity Detector

Kompakter und intelligenter Hochleistungs-Leitfähigkeits-Detektor zu den intelligenten IC Geräten. Hervorragende Temperaturkonstanz, die gesamte Signalverarbeitung innerhalb des geschützten Detektorblocks und DSP – Digital Signal Processing – der letzten Generation garantieren höchste Präzision der Messung. Dank dem dynamischen Arbeitsbereich sind keine (auch nicht automatische) Bereichswechsel notwendig.



858 Professional Sample Processor – Pump

Der 858 Professional Sample Processor – Pump verarbeitet Proben von 500 µL bis 500 mL. Der Probentransfer erfolgt entweder mit der eingebauten bidirektionalen Zweikanal-Peristaltikpumpe oder mittels eines 800 Dosino.