



Application Note AN-S-401

Nitrito en API de clorhidrato de duloxetine

Método de cromatografía iónica con preconcentración automatizada de la muestra, eliminación de la matriz y detección UV/VIS

Recientemente, la FDA publicó un documento de orientación para los fabricantes farmacéuticos sobre el control de las impurezas de nitrosamina en los medicamentos.^{1]} La presencia de nitrosamina en los medicamentos puede ser riesgosa para los pacientes, ya que estos compuestos son cancerígenos, incluso en niveles traza. Sin embargo, la formación de

nitrosamina se puede evitar controlando y monitoreando la concentración de nitrito en productos farmacéuticos y materias primas. El desarrollo de procesos para reducir o eliminar la formación de nitrosaminas requiere métodos analíticos sensibles para la determinación de nitrito en matrices complejas.

La dimetilamina se utiliza durante la síntesis de muchos productos farmacéuticos. En condiciones de pH ácido, la dimetilamina reacciona con el nitrito para formar nitrosaminas.²]. El clorhidrato de duloxetine es un ingrediente farmacéutico activo (API) contra la depresión y otras enfermedades del sistema nervioso. Esta nota de aplicación describe el análisis de nitrito

en clorhidrato de duloxetine con cromatografía iónica (IC) utilizando una columna Metrosep A Supp 10 con detección directa UV/VIS a 215 nm. Para la preparación de muestras se utiliza la técnica inteligente de preconcentración con eliminación de matriz (MiPCT-ME) de Metrohm.

MUESTRA Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

El clorhidrato de duloxetine se recibió en forma de polvo de una empresa farmacéutica. Se pesaron con precisión aproximadamente 0,05 g de muestra y se transfirieron a un matraz volumétrico limpio de 10 ml que contenía 5,0 ml de agua ultrapura (UPW). El contenido se disolvió usando un mezclador vórtex (aproximadamente 5 min) y se rellenó hasta la línea con UPW. Se añadió una alícuota de 0,1 ml de hidróxido de sodio 1,0 mol/l y se mezclaron los contenidos. La solución de muestra preparada se filtró

usando un filtro de jeringa de 0,2 µm y luego se pasó a través de un cartucho de preparación de muestra de IC-Ag para eliminar los iones de cloruro. Con la preparación automatizada de muestras (MiPCT-ME), se preconcentraron 2 ml de la solución de muestra y la matriz se eliminó usando 3 ml de UPW.

Se realizó una calibración de un solo punto con 4 µg/L de NO₂⁻ preparado a partir de un estándar certificado NIST de 1000 mg/L (Sigma TraceCERT No. 67276).

EXPERIENCIA

La solución de muestra preparada se inyectó directamente usando MiPCT-ME (Figura 1) y analizado utilizando los parámetros del método indicados en **tabla 1**.

Los componentes aniónicos se separaron isocráticamente en un Metrosep A Supp 10 - columna 250/4.0 y el fondo se redujo al mínimo con supresión secuencial. Se registró la señal del detector UV/VIS a 215 nm. El tiempo total de ejecución fue de 40 minutos. La precisión del método fue confirmada por un estudio en el que las muestras se enriquecieron con 4 µg/l de NO₂⁻ y se evaluaron los valores de recuperación.



Figure 1. Configuración instrumental que incluye un 940 Professional IC Vario (centro), un 947 Professional UV/VIS Detector Vario SW (arriba, centro), un 858 Professional Sample Processor (derecha) y MiPCT-ME, realizado con el Metrosep A PCC 2 HC/4.0 y un Dosino (izquierda).

Tabla 1. Parámetros del método IC para la determinación de impurezas de nitrito en API de clorhidrato de duloxetine.

Columna	Metrosep A Supp 10 - 250/4.0
Eluyente	5,0 mmol/L de carbonato de sodio 5,0 mmol/L de hidróxido de sodio
Tasa de flujo	1,0 ml/min
Temperatura de la columna.	45 °C
Volumen de inyección	2 ml (volumen de preconcentración)
Detección	Detección UV a 215 nm

RESULTADOS

El nitrito se cuantificó en clorhidrato de duloxetine con un método de separación cromatográfica como se describe en USP <621> (Figura 2) [3].

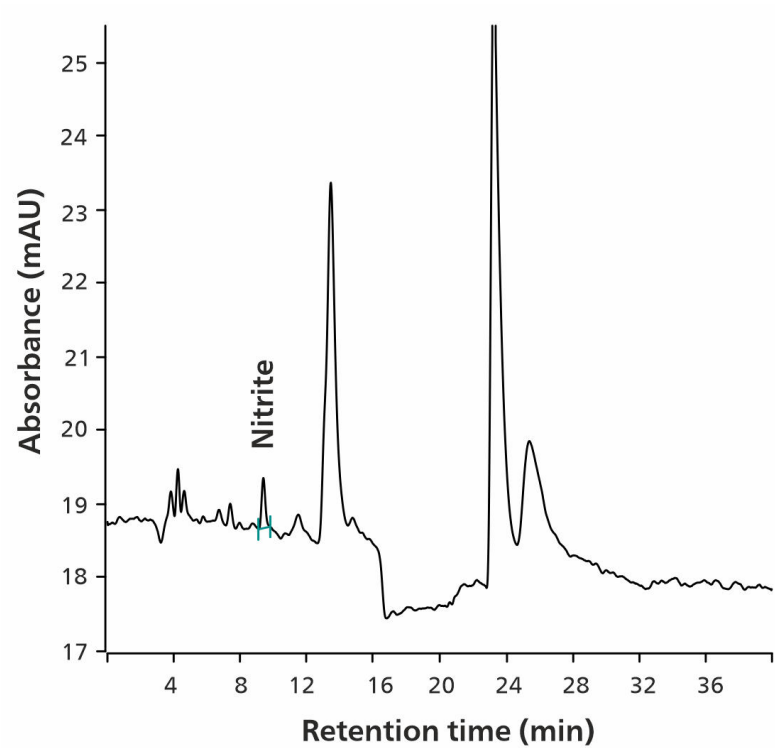


Figure 2. Cromatograma de 177 µg/kg de nitrito en clorhidrato de duloxetine.

Al utilizar la configuración MiPCT-ME, se descubrió que el método era altamente sensible y capaz de cuantificar niveles traza de nitrito presentes en la matriz de la muestra. La precisión del método, confirmada por el estudio de adición, alcanzó valores de recuperación de entre el 80 y el 120 %.

CONCLUSIÓN

El método IC presentado con la columna Metrosep A Supp 10 se puede utilizar para cuantificar niveles traza de nitrito en clorhidrato de duloxetine según USP <621>. La alta sensibilidad se logró mediante el uso de preconcentración y la matriz de muestra que

interfiere se eliminó con una técnica de eliminación de matriz en línea. Este procedimiento es preciso y sólido y, a diferencia de las técnicas de preconcentración manual, no se necesita trabajo adicional para este proceso automatizado en línea.

REFERENCIAS

1. U.S. Departamento de Salud y Servicios Humanos Administración de Alimentos y Medicamentos; Centro de Evaluación e Investigación de Medicamentos (CDER). Control de impurezas de nitrosamina en medicamentos para uso humano: orientación para la industria. *Calidad farmacéutica/Estándares de fabricación/Buenas prácticas de fabricación actuales (CGMP) 2021*.
2. U.S. Pharmacopeia. Impurezas de nitrosamina USP-NF. *Capítulo general*. https://doi.org/10.31003/USPNF_M15715_02_01.
3. *621 Cromatografía*. https://doi.org/10.31003/USPNF_M99380_01_01.

CONTACT

Metrohm Argentina S.A.
Avda. Regimiento de
Patricios 1456
1266 Buenos Aires

info@metrohm.com.ar

CONFIGURACIÓN



940 Professional IC Vario ONE/SeS/PP

El 940 Professional IC Vario ONE/SeS/PP es un aparato inteligente CI con **supresión secuencial** y una **bomba peristáltica** para la regeneración de supresores. El aparato se puede emplear con cualquier método de separación o de detección.

Ámbitos típicos de aplicación:

- Determinaciones de cationes o aniones con supresión secuencial y detección de conductividad
- Análisis de trazas para aniones o cationes
- Supervisión online para aniones o cationes



947 Professional UV/VIS Detector Vario SW

El detector inteligente de una longitud de onda, el 947 Professional UV/VIS Detector Vario SW, permite cuantificar las sustancias activas en el espectro ultravioleta o visible de forma segura y fiable. Se puede seleccionar una longitud de onda.



858 Professional Sample Processor – Pump

El 858 Professional Sample Processor – Pump procesa muestras de 500 μL a 500 mL. La transferencia de muestras se realiza por medio de la bomba peristáltica de dos canales bidireccional integrada o con un 800 Dosino.



Metrosep A Supp 10 - 250/4,0

La columna de separación Metrosep A Supp 10 - 250/4,0 está basada en un copolímero de poliestireno-divinilbenceno de alta capacidad, con un tamaño de partículas de solo 4,6 μm . La columna más larga de la familia A Supp 10 es la que ofrece la mayor selectividad y flexibilidad. En especial, se recomienda utilizar el MSM-HC para realizar cromatogramas de larga duración. En esta columna de separación también es posible modificar la temperatura, el flujo y la composición del eluyente para realizar separaciones de aniones de los más diferentes tipos.

La Metrosep A Supp 10 - 250/4,0 posee una capacidad muy alta. Es apropiada para muestras de elevada fuerza iónica, para tareas de separación complejas y para análisis de muestras con grandes diferencias de concentración entre los componentes individuales.



Metrosep A PCC 2 HC/4.0

Para la preconcentración de aniones y eliminación de la matriz. El aumento del lecho denso aumenta la capacidad de las dos columnas de preconcentración elaboradas completamente en PEEK. La alta capacidad se necesita sobre todo si los efectos de matriz pueden causar una sobrecarga de la columna de preconcentración o si se analizan muestras con una alta fuerza iónica.