



Application Note AN-C-198

Test dell'acetato di calcio nelle capsule di acetato di calcio

Validazione del metodo secondo U.S. Pharmacopeia (USP)

L'acetato di calcio funziona come legante del fosfato nel tratto gastrointestinale, aiutando a ridurre i livelli elevati di fosfato nei soggetti con malattie renali che ricevono un trattamento di dialisi [1,2]. Per soddisfare i rigorosi standard di qualità dei prodotti farmaceutici, produttori e laboratori devono utilizzare metodi convalidati dalla Farmacopea degli Stati Uniti – Formulario nazionale (USP-NF). In precedenza, tali metodi includevano la titolazione o la cromatografia liquida (LC) con rilevamento UV. Nell'ambito dei loro

sforzi di modernizzazione, l'USP ha aggiornato la monografia del calcio per includere l'analisi cromatografica ionica (IC), che è più semplice e sensibile rispetto ai metodi precedenti. Per il dosaggio dell'acetato di calcio, l'USP specifica la cromatografia ionica utilizzando una colonna a scambio cationico con materiale della colonna L76 e rilevamento della conduttività non soppressa per quantificare la quantità di ioni calcio nelle capsule di acetato di calcio [3].

L'attuale metodo IC utilizza una colonna Metrosep C 6 - 150/4.0 (L76) per separare il calcio dagli altri ioni nelle capsule di acetato di calcio. Questo metodo è stato convalidato secondo i capitoli generali USP <621> Cromatografia [4] e <1225> Validazione delle

procedure compendiali [5]. Sono soddisfatti tutti i criteri di accettazione per il dosaggio dell'acetato di calcio nella monografia USP «Calcium Acetate Capsules».

CAMPIONE E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

La soluzione standard contiene nominalmente 0,08 mg/mL di standard di riferimento dell'acetato di calcio USP (Cat# 1086334) in acqua. Viene preparato pesando accuratamente 80,0 mg di standard di riferimento dell'acetato di calcio USP e trasferendolo in un matraccio tarato pulito da 1000 mL. Si scioglie e si porta a volume con acqua ultrapura (UPW).

Per le soluzioni madre dei campioni contenenti nominalmente 6,7 mg/mL di acetato di calcio, una parte adeguata del contenuto di almeno 20 capsule viene trasferita in un matraccio tarato da 2000 mL.

L'UPW viene aggiunto a circa il 40% del volume finale del matraccio tarato e la soluzione viene quindi sonicata per 30 minuti con agitazione intermittente. Successivamente la soluzione viene portata a volume con UPW e filtrata su carta da filtro da 0,2 µm. Per le soluzioni campione contenenti nominalmente 0,08 mg/mL di acetato di calcio, 5,97 mL di soluzione madre del campione vengono trasferiti in un matraccio volumetrico pulito da 500 mL. Questo viene diluito e portato a volume con UPW. Tutte le soluzioni vengono sonicate per 5 minuti prima dell'iniezione.

ANALISI

I campioni vengono iniettati direttamente nell'IC con un 919 IC Autosampler plus (Figura 1).

I cationi vengono separati utilizzando una colonna Metrosep C 6 -150/4.0 (L76) a rilevati con conduttività non soppressa (Tabella 1). Il tempo di esecuzione è stato di 40 minuti, il che è conforme ai requisiti USP di 1,5 volte il tempo di ritenzione del picco del calcio (qui: 24 minuti).

Per la quantificazione è stata utilizzata una calibrazione a un punto con la soluzione standard di 0,08 mg/mL di acetato di calcio USP. I campioni sono stati valutati come triplicati. Gli studi di ripetibilità vengono eseguiti con iniezioni pari a 6 volte.



Figure 1. Configurazione strumentale che include un 930 Compact IC Flex Oven/Deg e un 919 IC Autosampler plus.

Tabella 1. Parametri per il metodo IC secondo la monografia USP «Calcium Acetate Capsules» [3].

Column with L76 packing	Metrosep C 6 - 150/4.0
Eluent	0.75 mmol/L dipicolinic acid + 1.7 mmol/L nitric acid
Flow rate	0.9 mL/min
Temperature	35 °C
Injection volume	10 µL
Detection	Direct conductivity

RISULTATI

I parametri del metodo IC seguivano i requisiti del test USP per l'acetato di calcio (Tabella 2). I cromatogrammi non hanno mostrato alcuna interferenza o contaminazione e il picco del calcio è eluito dopo 24 minuti (Figura 2). Tutti i risultati dei test di convalida rientravano nei requisiti USP specificati. L'efficienza della colonna era eccezionale con >5900 piastre teoriche. La deviazione standard relativa per un'iniezione standard pari a 6 volte è stata dello 0,4% (requisito USP <2,0%). La quantità misurata di acetato di calcio nelle capsule era ben correlata alla quantità di acetato di calcio etichettata, ad esempio la percentuale calcolata era pari al 102,6% del contenuto etichettato (90,0-110,0% è accettabile) (Tabella 2). Pertanto, il metodo IC era adatto per determinare il calcio nelle capsule di acetato di calcio.

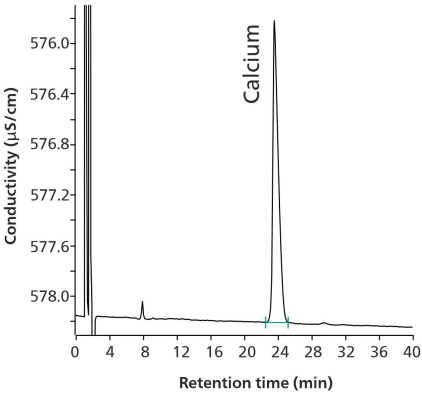


Figure 2. Cromatogramma di un picco di calcio da un campione di una capsula di acetato di calcio, contenente 0,082 mg/mL di acetato di calcio (recupero del 102%).

Tabella 2. Risultati esemplari e requisiti USP dalla validazione del metodo IC per l'acetato di calcio in capsule di acetato di calcio secondo USP [3].

Parameter	Result	USP requirement
Theoretical plates	5909	NLT 1000
RSD % (n = 6)	0.406%	NMT 2.0%
Percentage of labeled amount	102.6%	90.0–110.0%

CONCLUSIONE

Secondo la monografia USP per le capsule di acetato di calcio [3], il dosaggio dell'acetato di calcio prevede la determinazione del contenuto di calcio mediante cromatografia ionica (IC) su una colonna di separazione con materiale di riempimento L76 (qui: Metrosep C 6). I risultati della validazione hanno

soddisfatto tutti i requisiti della monografia e hanno aderito alle linee guida specificate nei capitoli generali USP <621> Cromatografia e <1225> Validazione delle procedure compendiali [4,5]. Il metodo IC descritto è appropriato per quantificare il calcio nelle capsule di acetato di calcio.

RIFERIMENTI

1. Biruete, A.; Gallant, K. M. H.; Lindemann, S. R.; et al. Phosphate Binders and Nonphosphate Effects in the Gastrointestinal Tract. *Journal of Renal Nutrition* **2020**, 30 (1), 4–10.
[DOI:10.1053/j.jrn.2019.01.004](https://doi.org/10.1053/j.jrn.2019.01.004)
2. Sekar, A.; Kaur, T.; Nally, J. V.; et al. Phosphorus Binders: The New and the Old, and How to Choose. *CCJM* **2018**, 85 (8), 629–638.
[DOI:10.3949/ccjm.85a.17054](https://doi.org/10.3949/ccjm.85a.17054)
3. U.S. Pharmacopeia. USP-NF Calcium Acetate Capsules. *Monograph*.
[DOI:10.31003/USPNF_M11403_08_01](https://doi.org/10.31003/USPNF_M11403_08_01)
4. <621> Chromatography, General Chapter; U.S. Pharmacopeia/National Formulary: Rockville, MD.
5. 1225 Validation of Compendial Procedures; General Chapter; U.S. Pharmacopeia/National Formulary: Rockville, MD.
[DOI:10.31003/USPNF_M99945_04_01](https://doi.org/10.31003/USPNF_M99945_04_01)

CONTACT

Metrohm Italiana Srl
Via G. Di Vittorio, 5
21040 Origgio (VA)

info@metrohm.it

CONFIGURAZIONE



Metrosep C 6 - 150/4,0

L'alta capacità del materiale C 6 rende la colonna di separazione Metrosep C 6 - 150/4,0 la soluzione ottimale per la separazione di cationi standard con elevate differenze di concentrazione in tempi di reazione ragionevoli. Con questa colonna è possibile determinare le acque potabili a basso contenuto di ammonio.



930 Compact IC Flex Oven/Deg

Il 930 Compact IC Flex Oven/Deg è l'intelligente strumento Compact-IC con **forno della colonna**, **senza soppressione** e con **Degasser** incorporato. Lo strumento può essere impiegato con qualsiasi metodo di separazione e di rilevamento.

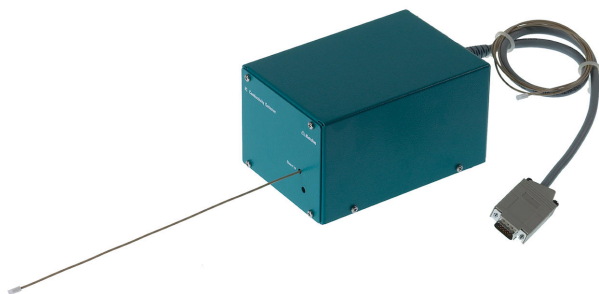
Campi d'impiego tipici:

- Determinazione di anioni e cationi senza soppressione con rilevamento della conduttività
- Applicazioni semplici con rilevamento UV/VIS o amperometrico



919 IC Autosampler plus

L'919 IC Autosampler plus soddisfa i requisiti di laboratori con una media quantità di campioni. Con esso è possibile automatizzare i vari cromatografi ionici della gamma Metrohm.



IC Conductivity Detector

Rilevatore della conducibilità ad alte prestazioni compatto e intelligente per gli strumenti IC intelligenti. Eccellente stabilità di temperatura, la completa elaborazione del segnale all'interno del blocco del rivelatore protetto e DSP – Digital Signal Processing – di ultima generazione garantiscono la massima precisione della misura. Grazie al range dinamico di lavoro non sono necessari cambiamenti (anche non automatici) del range di misura.