



Application Note AN-S-380

Monofluorofosfato y fluoruro en monofluorofosfato de sodio para uso farmacéutico

Calificación del método según EE. UU. farmacopea

El monofluorofosfato (MFP) se utiliza a menudo para la remineralización del esmalte dental y para prevenir la caries dental.^{1]} Los fabricantes y laboratorios farmacéuticos están obligados a utilizar las monografías de la Farmacopea y el Formulario Nacional de los Estados Unidos (USP-NF) para evaluar la calidad de los medicamentos y las formulaciones, incluida la MFP.

La USP ha iniciado una iniciativa global para modernizar muchas de sus monografías existentes. La cromatografía iónica (IC) con detección de

conductividad suprimida ha sido aprobada por la USP como método validado para cuantificar el contenido de MFP en monofluorofosfato de sodio.^{2]}

La separación requerida de MFP del sulfato es posible utilizando Metrosep A Supp 16 - 250/4.0 (L91) columna y un gradiente de hidróxido. Se cumplen todos los criterios de aceptación para la monografía de la USP «Monofluorofosfato de sodio» y el procedimiento fue aprobado como método USP validado [2–5].

ESTÁNDAR Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

La solución de idoneidad del sistema y la solución estándar se preparan a partir de estándares certificados por la USP mediante dilución con agua ultrapura (UPW).

La solución de idoneidad del sistema contiene 4,0 µg/mL de ER Fluoruro de Sodio USP, 1,4 µg/mL de ER Acetato de Sodio USP, 150,0 µg/mL de ER Monofluorofosfato de Sodio USP y 150,0 µg/mL de ER Sulfato de Sodio USP. La solución estándar contiene 150,0 µg/mL de ER Monofluorofosfato de Sodio USP. Los análisis de muestras se realizaron con

monofluorofosfato de sodio proporcionado por el cliente (Na_2FOP_3). De esto, se pesaron 1,5 g y se añadieron a un matraz aforado de 1000 ml. El matraz se llenó hasta la marca con UPW, se sonicó durante 15 minutos y finalmente se filtró a través de papel de filtro con un tamaño de poro de 0,2 µm. Esta solución madre de muestra se diluyó adicionalmente 1:10 con UPW. La concentración final corresponde a 150 µg/ml de monofluorofosfato. No se requiere preparación adicional de la muestra.

EXPERIMENTO

La solución de idoneidad del sistema, las muestras y las soluciones estándar se inyectaron directamente en

el CI utilizando un procesador de muestras profesional 858 (Figura 1).

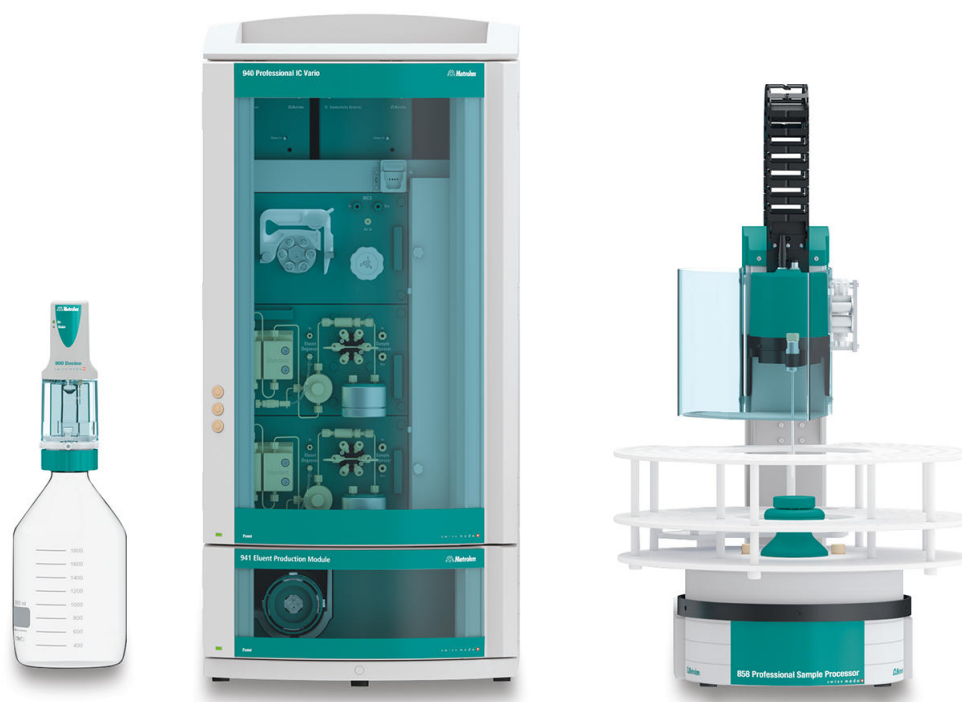


Figure 1. Configuración instrumental que incluye un 940 Professional IC Vario, un 858 Professional Sample Processor y un 800 Dosino para la regeneración del Dosino del MSM (Módulo supresor Metrohm).

La separación inicial de fluoruro, acetato, monofluorofosfato y sulfato se aseguró aplicando un gradiente de hidróxido de potasio (Tabla 2, eluyente A 100 mmol/L de hidróxido de potasio, eluyente B agua ultrapura) y utilizando la columna Metrosep A Supp 16 (listado USP L91). La detección de analitos se

logró con detección de conductividad suprimida químicamente. La calibración se realizó utilizando un único estándar de monofluorofosfato de sodio de 2,0 µg/ml inyectado seis veces. La muestra fue analizada por duplicado.

Tabla 1. Requisitos para el método IC según la monografía de la USP «Monofluorofosfato de sodio» [2].

Columna L91 packing	Metrosep A Supp 16 - 250/4.0
Tasa de flujo	1,0 ml/min
Eluyente	Eluyente A: 100,0 mmol/L Hidróxido de potasio Eluyente B: Agua ultrapura
Temperatura	40°C
Volumen de inyección	10 µl
Detección	Conductividad suprimida

Tabla 2. Programa de gradiente binario para la Monografía USP «Monofluorofosfato de sodio» [2].

Tiempo (minutos)	Eluyente A (%)	Eluyente 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

RESULTADOS

El método IC para la determinación del contenido de monofluorofosfato está calificado de acuerdo con la Monografía de la USP «Monofluorofosfato de sodio» siguiendo las referencias de la USP para los

procedimientos de validación del método [2–5]. En la siguiente figura se muestra un cromatograma para la aprobación de idoneidad del sistema. **Figura 2.**

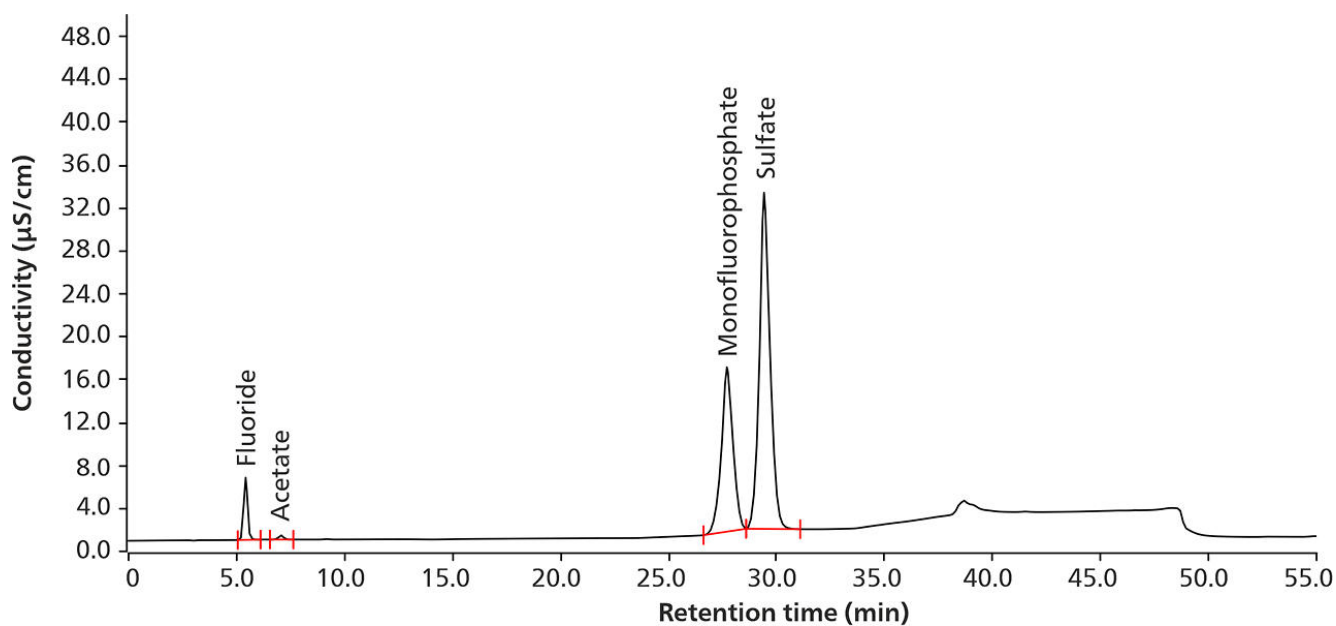


Figure 2. Cromatograma de la solución de idoneidad del sistema. La concentración de fluoruro de sodio corresponde a 4,0 µg/mL, acetato de sodio 1,4 µg/mL, monofluorofosfato de sodio 150,0 µg/mL y sulfato de sodio 150,0 µg/mL.

RESULTADOS

Los tiempos de retención relativos para fluoruro, acetato, monofluorofosfato y sulfato son 0,20, 0,26, 1,00 y 1,06, respectivamente. Estos valores sin

unidades se calculan automáticamente con el software MagIC Net aplicando la siguiente fórmula:

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

r_G = tiempo de retención relativo, sin ajustar t_{Ri} = tiempo de retención pico de interés t_{Rst} = tiempo de retención pico del pico de referencia (pico correspondiente a la sustancia a examinar, monofluorofosfato)

Se cumplen todos los criterios de aceptación para la idoneidad del sistema (resolución, factor de cola y desviación estándar relativa de inyecciones estándar replicadas) (Tabla 3).

Tabla 3. Requisitos de idoneidad del sistema según USP.

Parámetro	Actual	Requisito USP	Estado
Resolución monofluorofosfato/sulfato	1,84	No menos 1.5	Aprobar
Factor de coleo	1,02	No más de 2,5	Aprobar
*DSR (%); n=6	0,38	NMT 2.0	Aprobar

Los resultados de la solución de muestra (Tabla 4) se

calculan de la siguiente manera:

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

r_U = respuesta máxima de monofluorofosfato de la solución de muestra r_S = respuesta máxima de monofluorofosfato de la solución estándar C_S = concentración de ER Monofluorofosfato de Sodio USP

en la solución estándar ($\mu\text{g/mL}$) C_U = concentración de monofluorofosfato de sodio en la solución de muestra ($\mu\text{g/mL}$)

Tabla 4. Análisis de muestras de monofluorofosfato de sodio y requisitos según la USP.

Analito	Actual	Requisito USP	Estado
MFP de sodio [%]	95,56	91,7–100,5	Aprobar

El método IC presentado ha sido calificado con éxito para evaluar el contenido de monofluorofosfato de acuerdo con la monografía de la USP «Monofluorofosfato de sodio». Esta calificación siguió estrictamente las especificaciones de validación de la USP.

La idoneidad del sistema cumplió con todos los criterios de aceptación, incluida la resolución, el factor de cola y la desviación estándar relativa de inyecciones estándar replicadas. Además, el análisis

de la muestra también cumplió con los requisitos de la USP.

Como resultado, se ha demostrado que el análisis con cromatografía iónica es un enfoque confiable y apropiado para la determinación de monofluorofosfato en formulaciones farmacéuticas. Los fabricantes de monofluorofosfato de sodio se benefician del alto grado de automatización y de su facilidad de uso.

REFERENCIAS

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 Hispania
Calle Aguacate 15
28044 Madrid

mh@metrohm.es

CONFIGURACIÓN



Metrosep A Supp 16 - 250/4,0

La columna Metrosep A Supp 16 es ideal para problemas de separación de alta capacidad y se caracteriza por su excelente resolución, incluso con problemas de separación complejos. La columna de separación Metrosep A Supp 16 está basada en un copolímero de divinilbenceno-poliestireno con superficie funcionalizada. Los grupos funcionales están ligados de forma covalente. Esto, combinado con la estructura de la superficie del intercambiador de aniones, da como resultado una selectividad extraordinaria. La columna Metrosep A Supp 16 de alta capacidad se utiliza para solucionar problemas complejos.

La Metrosep A Supp 16 - 250/4,0 posee una resolución excelente y soluciona problemas de separación muy difíciles. Esta columna es ideal para monitorizar banos galvánicos. También permite determinar trazas de aniones en ácidos concentrados. El uso en el análisis de alimentos para la determinación de derivados de maltosa es solo una más de las muchas aplicaciones de la columna de alta capacidad Metrosep A Supp 16 - 250/4,0.



Metrosep A Supp 16 Guard/4,0

La Metrosep A Supp 16 Guard/4,0 protege eficazmente las columnas de separación analíticas Metrosep A Supp 16 contra las contaminaciones. Esta columna de protección se caracteriza por un manejo muy sencillo gracias al "On Column Guard System". La columna de protección se enrosca directamente en la columna analítica. No es necesario utilizar herramientas para unirlos.

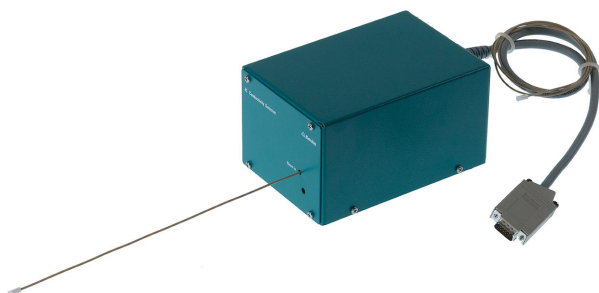


940 Professional IC Vario ONE/SeS/PP/HPG

El 940 Professional IC Vario ONE/SeS/PP/HPG es un aparato inteligente CI con **supresión secuencial**, una **bomba peristáltica** para la regeneración de supresores y **gradiente de alta presión binario**. Con el 942 Extension Module se puede ampliar hasta un sistema de gradiente cuaternario. El aparato se puede emplear con cualquier método de separación o de detección.

Ámbitos típicos de aplicación:

- Aplicaciones de gradiente para la determinación de aniones o cationes con supresión secuencial



IC Conductivity Detector

Detector de conductividad de alto rendimiento, inteligente y compacto para los aparatos CI inteligentes. La extraordinaria constancia de temperatura, el tratamiento completo de la señal dentro del bloque detector protegido y DSP (tratamiento digital de la señal controlado por microprocesador) de última generación garantizan la máxima precisión de la medida. Gracias a la zona de trabajo dinámica no es necesario el cambio de la zona (ni siquiera automático).



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.