

ESPECTROMETRÍA DE MASAS. FUNDAMENTO Y APLICACIÓN EN EL ÁMBITO FARMACÉUTICO

Jorge Cuesta Herrero

Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid

Trabajo de fin de grado

INTRODUCCIÓN

La espectrometría de masas (EM) es una técnica analítica muy empleada en el análisis clínico debido a que presenta unas **características analíticas** idóneas:

- Alta sensibilidad (detección de moléculas en el orden de 10^{-15} moles y 10^{-18} moles)
- Alta especificidad del análisis realizado.
- Exactitud a la hora de determinar el peso molecular.
- Alto campo de aplicación.
- Obtención de información cualitativa y cuantitativa.
- Adaptabilidad para desarrollar procedimientos analíticos de forma rápida, es muy versátil.

El espectrómetro de masas realiza **4 funciones** diferenciadas:

- Constituir una fase gaseosa con sustancias con volatilidades muy diferentes
- Formar iones a partir de moléculas neutras volatilizadas previamente.
- Separar los iones en función de su relación masa /carga
- Detectar estos iones registrando la información correctamente.

Correspondiéndose con estas 4 funciones, el espectrómetro va a constar de cuatro partes más o menos independientes: sistema de introducción de muestras, sistema de ionización, analizador encargado de la separación de iones y sistema detector y registrador de la información.

TIPO BÁSICO	NOMBRE	AGENTE IONIZANTE
Fuentes de fase gaseosa	Impacto de electrones (EI)	Electrones energéticos
	Ionización química (CI)	Iones gaseosos reactivos
	Ionización por campo (FI)	Electrodo de potencial elevado
Fuentes de desorción	Desorción por campo (CD)	Electrodo de potencial elevado
	Ionización por desorción asistida por una matriz (MALDI)	Haz de láser
	Ionización por electronebulización (ESI)	Campo eléctrico elevado
	Espectrometría de masas de iones secundarios (SIMS)	Haz de iones energéticos
	Bombardeo con átomos rápidos (FAB)	Haz de átomos energéticos
	Desorción por plasma (PD)	Fragmentos de fisión de ^{252}Cf
	Ionización por termonebulización (TS)	Alta temperatura

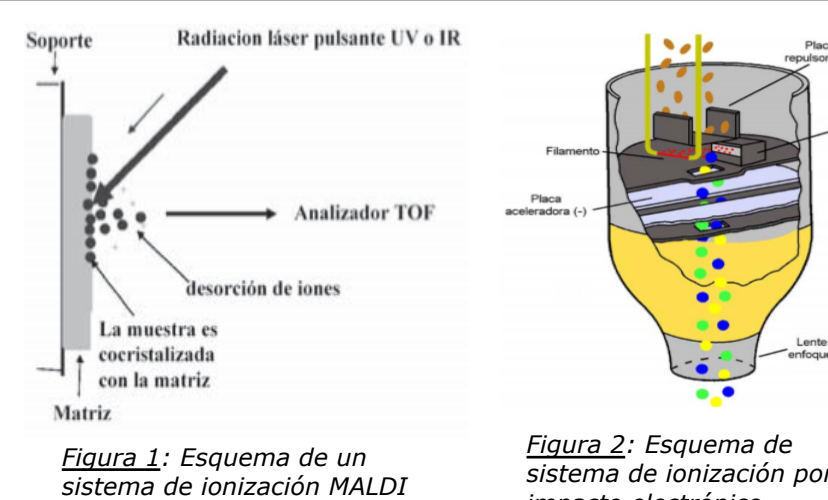


Figura 1: Esquema de un sistema de ionización MALDI

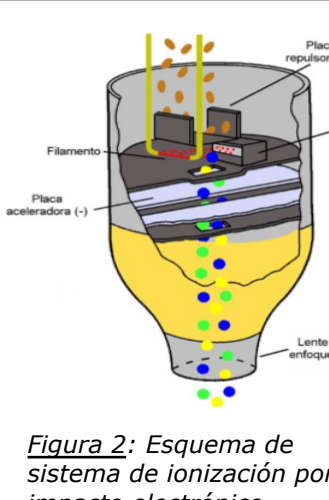
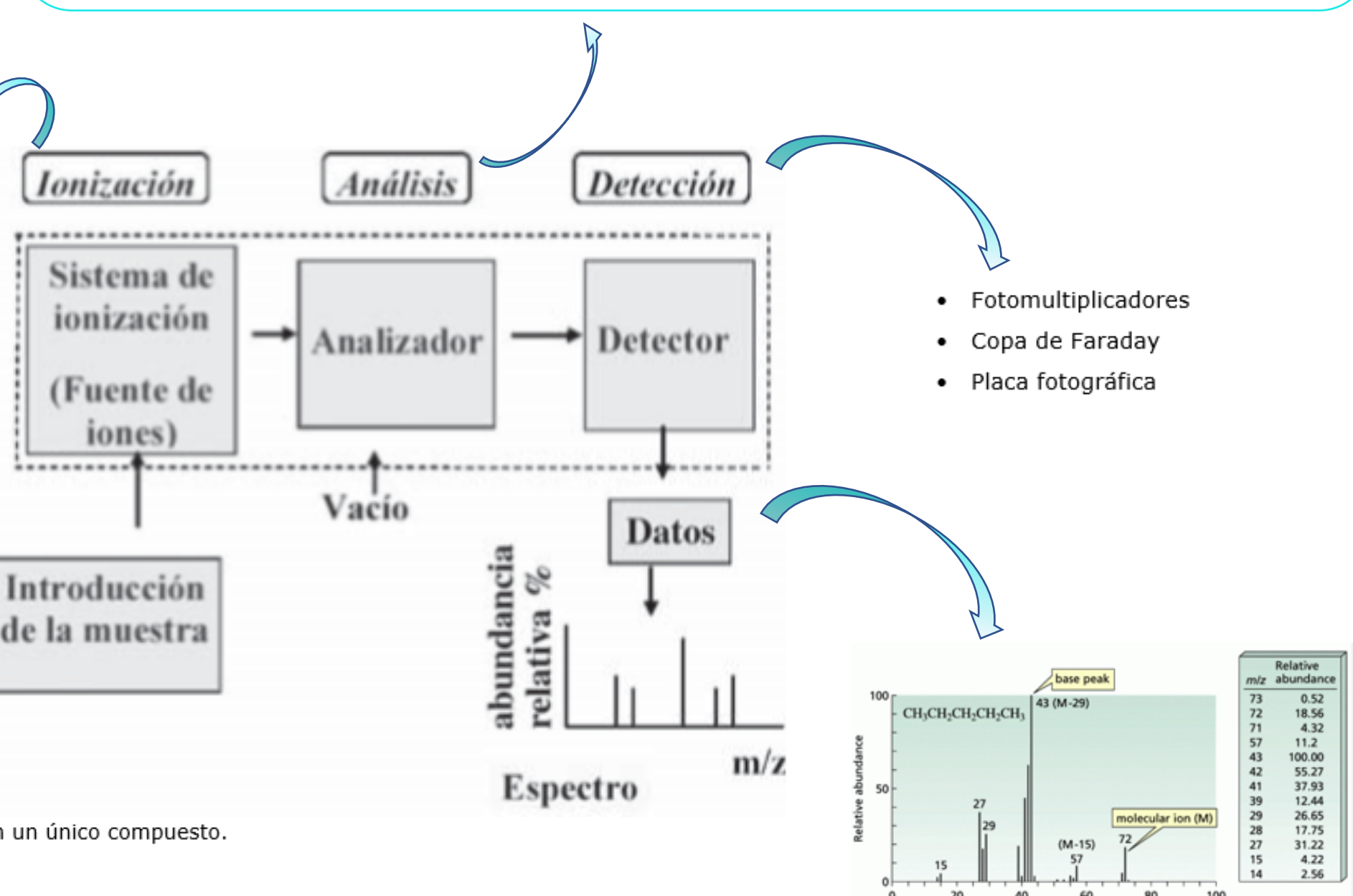
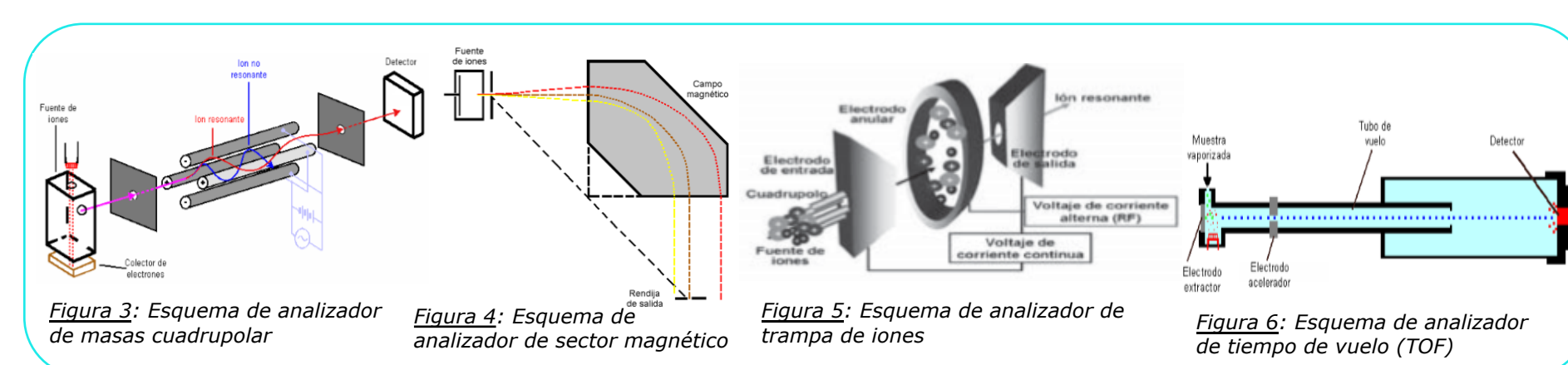


Figura 2: Esquema de un sistema de ionización por impacto electrónico



- ❖ Sistemas de introducción de muestras con un único compuesto.
 - > Sistemas directos.
 - > Sistemas indirectos.
- ❖ Sistemas de introducción de muestras de composición compleja.

OBJETIVOS

- Explicar el fundamento y funcionamiento de la espectrometría de masas como técnica analítica.
- Presentar distintos tipos de equipos analizando las prestaciones particulares de los más utilizados.
- Analizar las ventajas e inconvenientes que tiene su utilización acoplada con otras técnicas analíticas de separación.
- Presentar aplicaciones actuales de la espectrometría de masas en el ámbito clínico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Palabras clave: espectrometría de masas (EM), análisis clínico, fármaco, productos farmacéuticos, sistemas analizador, sistema de ionización, MALDI (ionización por desorción láser asistida por una matriz), cromatografía.



DISCUSIÓN Y RESULTADOS

Debido a la dificultad que plantea la identificación de componentes de **muestras biológicas**, que suponen la gran mayoría de casos en el análisis clínico, no es suficiente el uso de un espectrómetro de masas, sino que va a ser necesario el empleo de **equipos acoplados**, que nos permite aunar las ventajas de cada uno. La EM se acopla a técnicas de separación como la cromatografía de gases, el HPLC y la electroforesis.

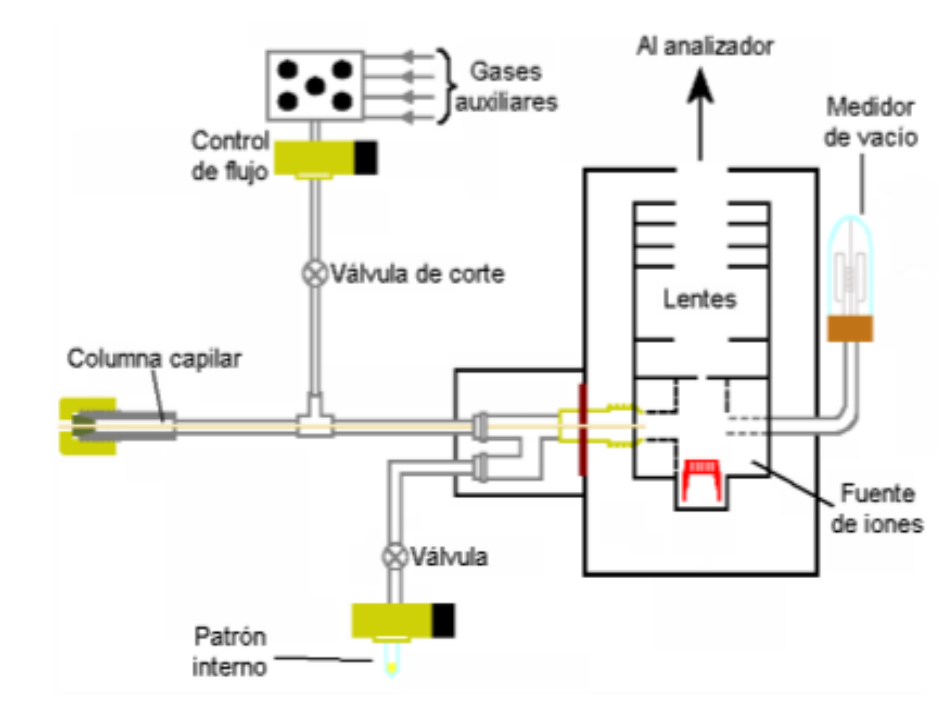


Figura 7: Esquema del acoplamiento entre cromatografía de gases y EM

DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS EN AGUAS RESIDUALES

- Desarrollo de un método analítico mediante LC-EM/EM, técnica de elección para el análisis de fármacos polares en muestras ambientales.
- Los grupos objeto de estudio fueron: sulfonamidas, fluoroquinolonas, diaminopirimidinas, anestésicos, antihelmínticos y macrólidos (Babic y col., 2010)

ANÁLISIS DE BIOMARCADORES PARA EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO

- Métodos empleados deben proporcionar la mayor información posible, permitir una alta velocidad de muestreo y un análisis e interpretación de resultados lo más sencillo posible.
- Una de las técnicas empleadas es la EM acoplada con cromatografía de gases acoplada (CG-EM).
- La CG-EM es utilizada en el diagnóstico de enfermedades como acidemias orgánicas, alcoholismo, amiloidosis familia etc. Se emplea también en el cribado neonatal.

ANÁLISIS DE RESIDUOS FARMACÉUTICOS EN EL AMBIENTE

Utilización de la **cromatografía líquida acoplada con EM en tándem** (CL-EM/EM) (Petrović y colaboradores, 2005) Los principales grupos analizados Los principales grupos analizados fueron: antibióticos, antiinflamatorios no esteroídicos, beta-bloqueantes, reguladores de lípidos y fármacos psiquiátricos. Estos grupos suponen lo que se conoce como contaminantes emergentes.

Tabla: Empleo de la técnica CL-EM para la determinación cuantitativa de compuestos farmacéuticos en muestras medioambientales

Componentes	Matriz	Pretratamiento de la muestra	Método de extracción	Solvente de elución	Separación por CL. Columna	Separación por CL. Fase móvil	Sistema de EM	Límite de detección (LOD)
Método multiresiduo para productos farmacéuticos neutros y ácidos	Agua de superficie y residual	Acidificación pH 2	EFS (extracción en fase sólida)	MeOH/MTBE	C12	(acuosa) Ac fórmico/MeOH	Triple cuádruplo ESI/APCI	1,0 (ng/l)
Método multiresiduo para productos farmacéuticos ácidos: antibióticos, reguladores de lípidos, anti-inflamatorios.	Sedimento de río	No reportado	Sonificación + EFS	Acetona	C18	(acuosa) Ac acético/ac Ac NH4(acetonitrilo)	Triple cuádruplo ESI/APCI	0,4-8 ng/g (Límite de detección, LOD)
Método multiresiduo para productos farmacéuticos ácidos y neutros.	Agua de superficie y residual	Acidificación pH 3	EFS	MeOH	C18	(acuosa) Ac NH4/MeOH	Triple cuádruplo ESI	10-50 (ng/l)
Fármacos anti-inflamatorios.	Agua de superficie, potable y residual	Agua potable: adición de $\text{N}_2\text{S}_2\text{O}_3$	EFS	MeOH/cloruro de tetrabutilamónio	C18	MeOH/ac trietilamina/ac Ac acético (par iónico)	Triple cuádruplo ESI	No reportado
Fármacos ácidos (analgésicos, anti-inflamatorios, reguladores de lípidos).	Agua de superficie y residual	Acidificación pH 2-2,5	EFS	MeOH	Fenilhexilo	MeOH/ac trietilamina/ac Ac acético (par iónico)	Triple cuádruplo ESI	0,15-2,5 (ng/l) (LOD en agua de superficie)
Método multiresiduo para analgésicos, antiinflamatorios, beta-bloqueantes, reguladores de lípidos, antibióticos, antiépilépticos.	Agua de superficie, agua potable y agua del suelo	Acidificación pH 3	EFS	MeOH/aq. NH_3	No reportado	(acuosa) Ac NH4/MeOH	Triple cuádruplo ESI Q-TOF ESI	5-25 (ng/l) (LOD)
Fármacos neutros (fenazona, pentoxifilina, carbamazepina).	Aguas residuales	Acidificación pH 3	EFS	MeOH	C18	(acuosa) Ac NH4/acetonitrilo	Triple cuádruplo ESI	0,5-1 µg/l
Reguladores de lípidos	Agua de superficie y residual	Ajuste a pH 7,5	EFS	MeOH	C18	(acuosa) Ac metilamina/ac Ac acético/acetonitrilo	Triple cuádruplo ESI	0,1-15,4 (ng/l)
Beta-bloqueantes	Agua de río y potable.	Acidificación pH 4,5	EFS	MeOH/aq. NH_3	C8	(acuosa) Ac NH4/acetonitrilo	Triple cuádruplo ESI	0,12-0,15 (ng/l)
Atorvastatina, roxitromicina, novobiocina.	Agua de río y aguas residuales	Acidificación pH 3,5	EFS	MeOH	C18	(acuosa) Ac NH4/acetonitrilo	Triple cuádruplo ESI	1 (pg) total
Macrólidos, ionóforos, tiamulina.	Suelo	No reportado	Extracción líquida a presión + EFS	ACN/aq. NH_4Ac	C18	(acuosa) $\text{NH}_4\text{Ac}/\text{ACN}$	Triple cuádruplo APCI	0,2-1,6 µg/kg
Oxitetraciclina, clortetraciclina, sulfadiazina, eritromicina, tilosina.	Suelo	Aire seco con 5% de humedad y tamizado (2mm)	Extracción líquida a presión + EFS	MeOH	C18	(acuosa) Ácido fórmico/MeOH	Triple cuádruplo ESI	1-5 µg/kg

CONCLUSIÓN

- Las técnicas de análisis permiten una mejora en el análisis y diagnóstico clínico, permitiendo la detección de cuantificación de productos farmacéuticos, biomarcadores, residuos, hierbas medicinales... que tienen una repercusión directa en la salud del ser humano.
- La espectrometría de masas es actualmente una herramienta que permite obtener los resultados buscados gracias a sus propiedades analíticas, destacando su alta sensibilidad, elevada especificidad y exactitud, así como a su versatilidad y posibilidad de acople con técnicas de separación de componentes como son las técnicas cromatográficas.
- Esta técnica analítica se ha utilizado con éxito en la determinación cuantitativa de tóxicos, fármacos, biomarcadores, principios activos, contaminantes, levaduras o microorganismos, entre otros.

BIBLIOGRAFÍA

- Gómez MCM, González MB (2010). Espectrometría de masas y análisis de biomarcadores. Monogr Real Acad Nac Farm.
- Babić S, Pavlović DM, Ašperger D, Periša M, Zrnčić M, Horvat AJ, et al. Determination of multi-class pharmaceuticals in wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS-MS). Anal Bioanal Chem. 398(2010)1185-1194.
- Petrović M, Hernando MD, Díaz-Cruz MS, Barceló D. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. J Chromatogr. A. 1067 (2005) 1-14.
- Sánchez CG. Principios de análisis instrumental, 6ta Edición Douglas A. Skoog. 11 (2008) 281.
- Y. Yang, J. Deng, Analysis of pharmaceutical products and herbal medicines using ambient mass spectrometry, Trends, Anal. Chem. 82 (2016), 68-88.