

# MÉTODOS ANALÍTICOS APLICADOS A LA IDENTIFICACION DE PRODUCTOS DE LA REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA

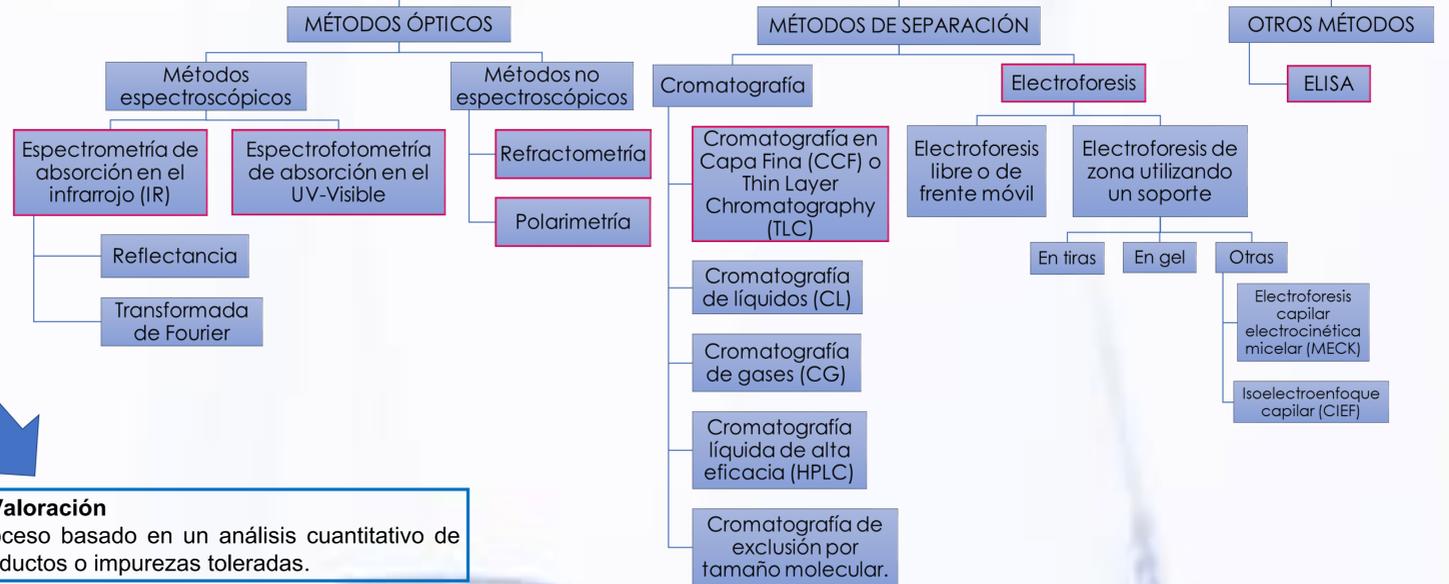
Sofía Antunes Martins y Sofía Quirós Viñuales

## INTRODUCCIÓN

### 1. IDENTIFICACION

Proceso mediante el cual se hace un análisis cualitativo.

### MÉTODOS ANALÍTICOS



### 2. Ensayos

Proceso cuya finalidad es detectar impurezas estableciendo límites permitidos.

### 3. Valoración

Proceso basado en un análisis cuantitativo de productos o impurezas toleradas.

## OBJETIVOS

- Conocer la importancia de los diferentes métodos analíticos para la identificación de sustancias o productos de uso farmacológico.
- Revisar los principios en que se basan los principales métodos analíticos para la identificación de sustancias incluidas en la RFE.
- Definir los parámetros que se utilizan para dicha identificación.
- Identificar técnicas utilizadas, aunque no estén incorporadas en los "métodos generales" en la RFE como ocurre con la técnica ELISA.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una búsqueda bibliográfica en la RFE tanto de los métodos analíticos que se utilizan para la identificación de sustancias como en las monografías de los diferentes productos a estudiar.

Posteriormente, se identificaron los parámetros que permiten la "Identificación".

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Espectrofotometría de absorción UV-VISIBLE

Los espectros de absorción UV y visible son menos útiles con fines cualitativos que los espectros en la región infrarroja ya que las bandas son más anchas aportándonos menos características.

La utilización del espectro de absorción en las regiones UV y visible puede ser de utilidad para la detección de ciertos grupos funcionales.

Para la identificación se van a utilizar un máximo de **absorbancia** a una determinada longitud de onda y/o el valor de la **absorbancia específica** de la sustancia a identificar.

### Refractometría

La refractometría se basa en la medición del **índice de refracción** de sustancias líquidas o sólidas, dependiendo éste de la composición de la muestra, de la temperatura y de la longitud de onda de la luz utilizada. Se suele medir  $n$  a una  $\lambda$  que corresponde a la línea D= 589nm y a T=20, 25 o 40°C y se denota como:  $n_D^T$ .

La refractometría, por tanto, puede ser utilizada cualitativamente para identificar y caracterizar una especie química, para identificar sustancias desconocidas por comparación con valores tabulados en la literatura, o bien para la identificación de compuestos puros, correlacionado con los puntos de ebullición y fusión.

### Cromatografía en capa fina (CCF)

La CCF es un método de separación cromatográfica que se utiliza para separar moléculas relativamente pequeñas. Al igual que en otras cromatografías encontramos una fase estacionaria y una fase móvil.

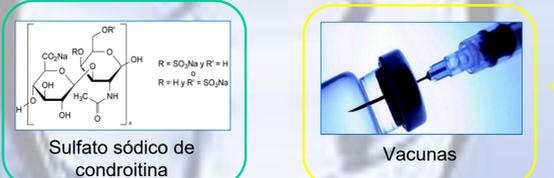
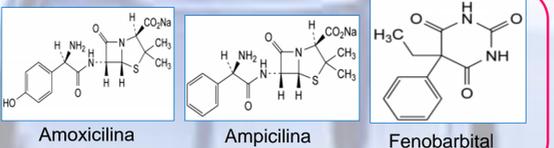
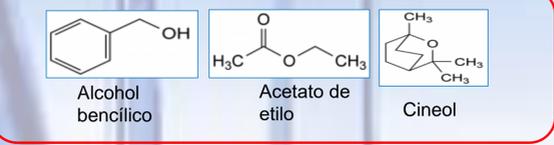
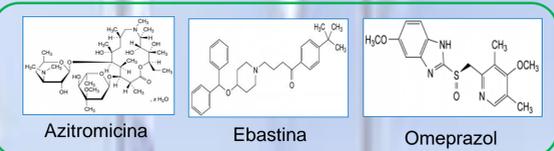
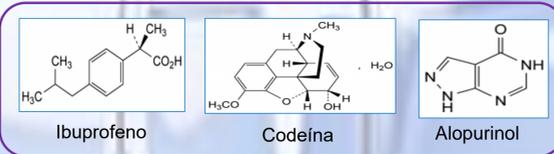
En la fase estacionaria se depositan pequeñas gotas tanto de la muestra como de las sustancias de referencia.

Para identificar la sustancia, se calculará el **factor de retardo (Rf)** Comparando este valor, podremos identificar la sustancia de la que se trata.

### Electroforesis

Se trata de una técnica para la separación de moléculas cargadas según la **movilidad** de estas en un campo eléctrico a través de una matriz porosa impregnada de un electrolito. La separación será por tamaños moleculares o por carga eléctrica dependiendo del sistema electroforético que se use.

Bajo la acción de un campo eléctrico, las partículas cargadas disueltas o dispersadas en una disolución electrolítica migran hacia el electrodo de polaridad opuesta.



### Espectrofotometría de absorción en el infrarrojo

La espectrometría infrarroja se basa en el hecho de que los enlaces químicos de las sustancias tienen frecuencias de vibración específicas, que corresponden a los niveles de energía de la molécula.

Para la identificación de sustancias, se prepara una muestra de la sustancia que se quiere examinar y una muestra de una sustancia de referencia, siendo ambas preparadas según el mismo procedimiento.

También se recurre con mucha frecuencia a la utilización de espectros de referencia para dicha identificación. En definitiva, se compara el espectro obtenido con el espectro de una sustancia patrón o con espectros procedentes de una base de datos aceptada por la FE.

- Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR):** En un instrumento FT-IR generalmente se incluye un interferómetro que proporciona una información más sensible que los equipos dispersivos.

- Espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo (IR-R):** El parámetro que se mide es la **intensidad de reflectancia relativa (R'%)**

### Polarimetría

La polarimetría nos permite medir el cambio que sufre el plano de luz polarizada cuando atraviesa un medio transparente formado por sustancias ópticamente activas.

La luz polarizada se obtiene cuando se logra que la radiación vibre en un solo plano con respecto al haz de la trayectoria. La luz polarizada se obtiene por reflexión y por refracción.

La **rotación óptica** es la propiedad que presentan las sustancias quirales de rotar el plano de polarización de la luz polarizada.

La capacidad rotatoria de una molécula ópticamente activa es constante para unas condiciones determinadas por lo que se utiliza en su caracterización.

### ELISA

El ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) utiliza un enzima como marcador para mediar la **formación de complejos antígeno-anticuerpo**. Son ensayos en fase sólida en los cuales se adsorbe un antígeno o un anticuerpo sobre un soporte sólido.

Se requiere de un paso de separación para eliminar el conjugado enzimático libre antes de proceder a determinar la cantidad de conjugado enzimático enlazado. Esto se realiza a través de la adición de un sustrato enzimático y se mide la reacción catalítica entre la enzima y el sustrato.

## CONCLUSIONES

- La utilización de los métodos analíticos es esencial para la identificación de múltiples productos, los cuales no pueden ser identificados por otras vías.
- Los métodos analíticos utilizados para la identificación de sustancias activas son muy diversos. Muchos de estos métodos que se utilizan para la identificación también son aplicados a los ensayos para identificar impurezas admitidas y desconocidas y establecer sus límites, así como para la valoración.
- No todos los métodos son igual de útiles para dicha identificación, sino que depende del grupo y tipo de sustancia a identificar.
- Los métodos más utilizados son la cromatografía en capa fina (CCF) y la espectrofotometría de absorción en el infrarrojo.

## BIBLIOGRAFIA

- España. *Real farmacopea Española*. 5ª ed. [Madrid]: Ministerio de Sanidad y Consumo, AEMPS 2015.
- European pharmacopoeia. 9ª ed. Strasbourg: Council of Europe; 2017.
- Fischer R, Peters D. *Compendio de análisis químico cuantitativo*. 1st ed. Mexico: Centro Regional de Ayuda Técnica, Agencia para el Desarrollo Internacional; 1970.
- Harris D, Balahura R. *Análisis químico cuantitativo*. 3rd ed. [Barcelona]: Reverté; 2010.
- Fischbach R. Book Review: *Non-Chromatographic Continuous Separation Techniques*. By M. Valcárel and M. D. Luque de Castro. *Angewandte Chemie International Edition in English*. 1992;31(4):484-484.
- Ródenas de la Rocha S, Martín Gómez C, Sánchez-Paniagua López M. *Manual de química analítica II*. 1st ed. [Madrid]: Compañía Española de Reprografía y Servicios; 2012.
- B. Stuart John Wiley & Sons, *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, 2004
- Rouessac, F., Rouessac, A. and Cuadros Rodríguez, L. (2010). *Análisis Químico*. 1st ed. Madrid: McGraw-Hill.