

Formación del aducto M+NH₄ para cuantificación de ibuprofeno en modo positivo mediante LC-MS-ESI

Sandra Montoya-Eguía, Christian Badillo-Castañeda*, Lourdes Garza-Ocañas

Departamento de Farmacología y Toxicología Facultad de Medicina UANL, Gonzalitos 235 Norte Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León

*E-mail de autor responsable correo@christianbadillo.com

Palabras clave: Aducto, Ibuprofeno, LC-MS.

Introducción

La determinación de Ibuprofeno y otros analgésicos anti inflamatorios no esteroides (AINES) puede realizarse a través de diferentes metodologías como cromatografía de gases (GC) y cromatografía de líquidos de alta resolución con detector ultravioleta. Sin embargo, debido a su naturaleza química es difícil su separación mediante GC, y los métodos basados en HPLC con detector UV tienen baja sensibilidad¹. Algunos trabajos reportan la cuantificación de ibuprofeno mediante ionización por electro-spray operado en modo negativo¹⁻²; sin embargo, ésta configuración puede presentar problemas. En este trabajo evaluamos la formación de un aducto con amonio (M+NH₄) para la cuantificación del ibuprofeno en modo positivo.

Parte experimental

Se prepararon por triplicado curvas de calibración de ibuprofeno a siete niveles de concentración (625, 1250, 2500, 5000, 10000, 20000, 40000 ng/mL) en un plasma humano. Las curvas de calibración fueron tratadas con la técnica de precipitación de proteínas con acetonitrilo acidificado al 0.1% con ácido fórmico, y centrifugadas a 14,000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se evaporó a sequedad bajo corriente de nitrógeno, y se reconstituyó en 300 microlitros de fase móvil.

Para la separación cromatográfica se utilizó una columna Zorbax Eclipse Plus C-18 3.0x150 mm x 3.5 μm, como eluyente una mezcla 20/80% v/v de acetonitrilo y formiato de amonio 0.02M pH 4.0. Se monitoreó el ion 224.2 m/z (M+NH₄) en modo positivo y 205.2 (M-H) en modo negativo.

Para evaluar la linealidad se emplearon los indicadores de coeficiente de determinación (R²) con un criterio de aceptación mayor a 0.990, y el porcentaje de error de las concentraciones calculadas al emplear el modelo de regresión, con un criterio de aceptación menor al 15% promedio por nivel, con excepción del límite inferior de cuantificación, el cual debe ser menor al 20%.

Se empleó un modelo matemático lineal con ponderación 1/x. Para determinar la selectividad se analizaron soluciones de paracetamol, naproxeno, aspirina, diclofenaco, loratadina y cafeína en plasma humano, y se procesaron según lo descrito; el criterio de aceptación establecido es una respuesta menor al 20% del límite inferior de cuantificación al tiempo de retención del analito.

Resultados y discusión

En la tabla 1 se muestran los resultados de los diferentes indicadores para los modos de ionización positivo y negativo. La medición de ibuprofeno en modo positivo, en comparación con el modo negativo, presenta una mayor sensibilidad (pendiente 237.59 vs 99.84), linealidad (coeficiente de determinación 0.996 vs 0.991) y menor error. En la figura 1 se muestra una comparación de tres niveles de concentración, bajo, medio y alto en los diferentes modos de ionización.

El tiempo de análisis fue de tres minutos. En ninguna de las muestras para la evaluación de selectividad se

presentó una respuesta mayor al 20% del límite inferior de cuantificación al tiempo de retención del analito. Nuestros hallazgos pueden ser utilizados para su aplicación en métodos de detección de multianalitos donde sea necesaria la cuantificación de ibuprofeno en modo positivo sin necesidad de cambiar la polaridad del instrumento.

Tabla 1. Comparación de linealidad y sensibilidad entre modos de ionización.

Modo	Coefficiente de Determinación R ²	Pendiente	Promedio de error*
Negativo [M-H]	0.991	99.84	26.49
Positivo [M+NH ₄]	0.996	237.59	8.83

N = 21

*Se reporta el promedio de error del nivel de calibración con mayor desviación. Para ambos fue el límite inferior de cuantificación.

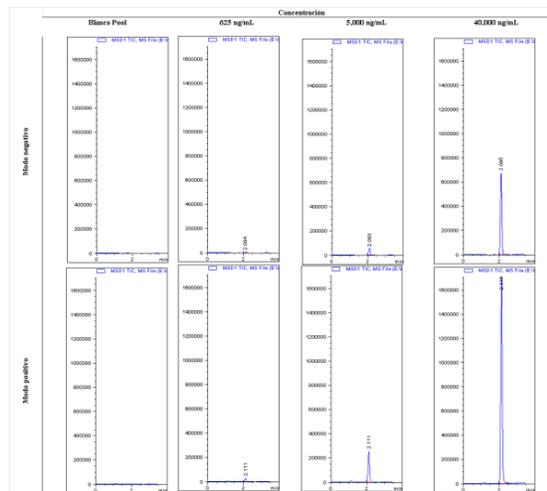


Figura 1. Comparación de la respuesta del blanco pool y tres diferentes niveles de concentración de la curva de calibración en los dos modos de ionización estudiados. Parte superior, modo negativo, parte inferior, modo positivo.

Conclusiones

El método es selectivo y lineal para la cuantificación de Ibuprofeno en plasma humano

Referencias

- Suenami, K.; Lim, L. W.; Takeuchi, T.; Sasajima, Y.; Sato, K.; Takekoshi, Y.; Kanno, S. *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, 384 (7-8), 1501-5.
- Gajula, R.; Maddela, R.; BabuRavi, V.; Inamadugu, J. K.; Pilli, N. R. *Journal of Pharmaceutical Analysis.* **2013**, 3 (1), 36-44.