

Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos

DETERMINACIÓN DE TRAZAS DE LIDOCAÍNA Y EPINEFRINA EN EL PROCESO DE LIMPIEZA POSTERIOR A LA FABRICACIÓN DE CARPULES

Lisette Martínez Miranda,¹ Ladyth García León,² Néstor Pérez Souto³ y Aleyda Chang Valdés⁴

RESUMEN

Se realizó la determinación de los límites de detección y cuantificación de los principios activos lidocaína y epinefrina, con el objetivo de validar el proceso de limpieza posterior a la fabricación de los carpules. En ambos métodos se empleó la cromatografía líquida de alta eficiencia, con columnas de fase reversa y detección ultravioleta. Estas técnicas se utilizaron para el monitoreo analítico de las aguas de lavado generadas en la limpieza de los reactores de fabricación. Se recomienda realizar al menos 3 enjuagues donde las trazas de los principios activos resultarán no detectables.

DeCS: LIDOCAINA/farmacología; EPINEFRINA/farmacología; TRAZADORES RADIOACTIVOS; CAPSULAS/normas; CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PRESION; QUIMICA FARMACEUTICA; TECNOLOGIA FARMACEUTICA.

En la actualidad las agencias reguladoras emiten documentos que exigen cada vez más la obtención de pruebas que demuestren la validación del proceso de limpieza en la fabricación de un medicamento; lo que nos proporciona un alto grado de confianza y seguridad en los resultados de dicho proceso (Validación de métodos analíticos. Monografía. Sección

catalana de la AEFI. Comisión de normas de buena fabricación y control de calidad, 1989:1-94 y Cleaning validation and residue limits: a contribution to current discussions. Monography. Pharmaceutical Technology Europe, 1993).

La Food and Drug Administration (FDA) en 1993 establece la confección de un procedimiento estándar de operación

¹ Licenciada en Bioquímica. Investigadora Agregada.

² Licenciada en Radioquímica.

³ Doctor en Ciencias. Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. Investigador Titular. Profesor Asistente.

⁴ Técnica en Tecnología Farmacéutica.

para estos fines, donde se detallan los pasos a seguir en la validación de la limpieza de los equipos, que incluyen la cantidad de lotes, el número de repeticiones del proceso de limpieza y demás requisitos para cumplimentar el objetivo propuesto.^{1,2} Con este fin se utilizan métodos analíticos con elevada especificidad y sensibilidad para detectar las trazas de los componentes de la formulación; aunque si estas no son detectadas no quiere decir que no estén presentes después del proceso de limpieza, si no que se encuentran en niveles de concentración inferiores a los límites de cuantificación y/o detección del método analítico seleccionado para su control.³

La producción nacional de los carpules de lidocaína 2 % epinefrina 1/50000 constituye una tarea importante en el programa de sustitución de importaciones de nuestro país, por lo que la validación del procedimiento de limpieza resulta de gran interés para la Industria Médico-Farmacéutica, en especial en una planta de reciente puesta en marcha para estas producciones.

MÉTODOS

En la realización de este estudio se utilizaron 2 técnicas analíticas. Se empleó un cromatógrafo líquido de alta eficiencia KNAUER, constituido por degasificador KNAUER, bomba de doble pistón recíprocante, inyector automático KONTRON, columnas de fase reversa y detector ultravioleta de longitud de onda variable KNAUER, e integrador acoplado a IBM con software EUROCHROM para el procesamiento de datos.

Las principales características de ambas técnicas: para el principio activo lidocaína se utilizó la técnica descrita en la USP 23⁴ y para la epinefrina como fase móvil

una mezcla de agua-metanol-ácido acético-sodio lauril sulfato 1 mg/mL (70:20:2:0,002), columna Lichrospher RP-18 (100 x 4 mm) como fase estacionaria, detección ultravioleta a 280 nm y 1 mL/min de flujo.

Los reactivos utilizados en ambas técnicas fueron de calidad MERCK puro para análisis.

Determinación de los límites de detección y cuantificación de los principios activos. Los límites de detección y cuantificación se estimaron a partir de la curva de regresión considerando concentraciones bajas del analito por extrapolación a concentración cero (Validación de métodos analíticos. Monografía. Sección catalana de la AEFI. Comisión de normas de buena fabricación y control de calidad, 1989:1-94).

Las curvas de calibración se prepararon en un rango de concentraciones comprendido entre 5,10-51,00 µg/mL para la lidocaína y 1,99 – 11,98 µg/mL para la epinefrina. Las muestras se prepararon disueltas en agua destilada y se realizaron 5 réplicas por punto. A dichas curvas se le aplicaron las pruebas de linealidad y proporcionalidad correspondientes.

La desviación estándar de la respuesta a concentración cero se obtuvo por extrapolación en la recta calculada tomando como “x” las concentraciones y como “y” las desviaciones estándar de las respuestas.

Para el procesamiento de datos y estadístico se utilizó el programa Microcal Origin.

Control analítico de las aguas de lavado del reactor de preparación de carpules de lidocaína 2 % epinefrina 1/50000. Se realizó el proceso de lavado establecido como idóneo, el cual consiste en 5 lavados del tanque de preparación con agua para inyección sin detergente a 80 °C el primer enjuague y temperatura ambiente los

restantes 4 lavados. Este procedimiento se realizó para 3 lotes y se analizaron muestras por triplicado de estos.

RESULTADOS

Determinación de los límites de detección y cuantificación de los principios activos. Las ecuaciones de regresión de las curvas de calibración obtenidas para cada principio activo fueron: lidocaína $y = 1\,639,986x - 361,430$ y epinefrina $y = 14\,821,992x - 11\,787,674$. Los coeficientes de correlación resultaron ser 0,99965 y 0,99376 respectivamente. Se toma el intercepto como y_{blanco} .

Los resultados obtenidos en cada nivel de concentración para ambos principios activos se muestran en la tabla 1.

El límite de detección para el principio activo lidocaína fue de 0,829 $\mu\text{g/mL}$ y en el caso de la epinefrina de 0,25 $\mu\text{g/mL}$.

El límite de cuantificación resultó ser 2,249 $\mu\text{g/mL}$ y 1,01 $\mu\text{g/mL}$ para lidocaína y epinefrina respectivamente.

TABLA 1. Análisis del rango de concentraciones estudiadas para la determinación de los límites de cuantificación y detección

Lidocaína conncntración en $\mu\text{g/mL}$	Epinefrina	
	Desviación estándar de la respuesta	Desviación estándar de la respuesta
5,1	215,55	1,99
10,2	620,45	3,99
20,4	617,65	5,99
30,6	803,42	7,99
40,8	809,59	11,98
51	947,87	-

Control analítico de las aguas de lavado del reactor de preparación de carpules de lidocaína 2 % epinefrina 1:50000. En las 3 preparaciones analizadas se observa que

en el primer enjuague solo se detecta la presencia de lidocaína, y no ocurre de este modo para el caso de la epinefrina (tabla 2). Para ambos principios activos a partir del segundo enjuague no se detectan concentraciones por debajo de 0,829 y 0,25 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente.

TABLA 2. Resultados del control analítico de la lidocaína en $\mu\text{g/mL}$ en las 3 preparaciones en el primer enjuague de los lavados realizados al tanque de preparación

Lidocaína (p.a.)	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
Preparación 1	204,4	161,4	184,3
Preparación 2	3,7	10,5	11,1
Preparación 3	10,6	10,9	10,9

Criterio de limpieza: $\mu\text{g/mL}$ de lidocaína $\leq 2,249 \mu\text{g/mL}$.

DISCUSIÓN

Los límites de cuantificación y detección se relacionan con la cantidad de analito requerida para dar un resultado significativo, cualitativo o cuantitativo. Según la USP 23, el límite de detección es la menor concentración de analito en una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones experimentales establecidas y el límite de cuantificación o determinación, la menor concentración o cantidad de analito de una muestra que puede ser determinada con aceptable precisión y exactitud bajo las condiciones experimentales establecidas.

La determinación de los límites de detección y cuantificación es laboriosa, por lo que solo se efectúa cuando el nivel inferior del rango del método analítico se acerca a los límites de detección o cuantificación, como es el caso de impurezas y productos de degradación.⁴

Al aplicar la prueba de significación de la pendiente y el intercepto, resultaron ser

no significativos, ya que el valor de la desviación estándar relativa de la pendiente fue menor que el 2 % en ambos casos y el intervalo de confianza incluye al valor cero.

Los coeficientes de variación obtenidos para cada uno de los niveles de concentración resultaron ser menor que el 2 %. Las ecuaciones de la recta de tendencia fueron para la lidocaína $y = 12,767x + 332,656$ y para la epinefrina $y = 314,582x - 648,278$. Los coeficientes de correlación resultaron ser 0,88922 y 0,92258 respectivamente. Se toma el intercepto como desviación estándar del blanco.

En el control analítico de las aguas de lavado del reactor de preparación de carpules, es necesario señalar que aunque las trazas de los componentes de la formulación no sean detectadas no quiere decir que no estén presentes después del proceso de limpieza, sino que se encuentran en niveles de concentración inferiores a los límites de cuantificación y detección del método analítico seleccionado para su control.

A partir del segundo enjuague no se detectan trazas de principios activos. No obstante, se recomienda realizar al menos 3 enjuagues que garanticen una segura limpieza del reactor de preparación.

SUMMARY

The determination of the detection and quantification limits of the active principles lidocaine and epinephrine was performed to validate the cleaning process taking place after the production of capsules. The high-performance liquid chromatography with reverse-phase columns and ultraviolet detection was used for both methods. These techniques were implemented for the analytical monitoring of washing waters from cleaning of the manufacturing reactors. It is recommended that sites where the active principle traces are not detectable be rinsed at least three times.

Subject headings: LIDOCAINE/pharmacology; EPINEPHRINE/pharmacology; RADIOACTIVE TRACERS; CAPSULES/standards; CHROMATOGRAPHY, HIGH PRESSURE LIQUID, CHEMISTRY, PHARMACEUTICAL; TECHNOLOGY, PHARMACEUTICAL.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agalloco J. Points to consider in the validation of equipment cleaning procedures. *J Parenteral Sci Tech* 1992;46(5):163-8.
2. Harder SW. The validation of cleaning procedures. *Pharm Technol* 1984;8(5):29-34.
3. Fourman GL, Mullen MV. Determining cleaning validation acceptance limits for pharmaceutical manufacturing operations. *Pharm Technol* 1993;17(4):54-60.
4. United States Pharmacopoeia 23 and National Formulary (XVIII). Rockville: United Pharmacopoeial Convention, 1994:888.

Recibido: 3 de noviembre del 2000. Aprobado: 11 de diciembre del 2000.

Lic. *Lisette Martínez Miranda*. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos. Ave. 26 No. 1605 entre Boyeros y Puentes Grandes, municipio Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana, CP 10600, Cuba.