

# FIA-ENANTIOSEPARACIÓN DE MALEATO DE CLORFENIRAMINA EMPLEANDO NANOTUBOS DE CARBONO Y CICLODEXTRINAS COMO SELECTORES QUIRALES CON DETECCIÓN FLUORESCENTE

María Gimena Acosta\*\* , Raúl A. Silva\* , María R. Gómez\*\* , Liliana Patricia Fernández\*\*

\*Área de Química Analítica, \*\*INQUISAL-CONICET, Universidad Nacional de San Luis, Chacabuco 917, San Luis. gacosta@unsl.edu.ar

## Introducción

Un gran número de compuestos farmacéuticos poseen un centro quiral y a menudo existen diferencias significativas en la actividad farmacológica y/o toxicológica de ambas formas enantioméricas. Es por ello que el empleo de las formas enantioméricas puras puede conducir a una mejora en la eficacia del fármaco como así también a la supresión de los efectos adversos relacionados con el enantiómero no deseado [1].

El maleato de clorfeniramina (MCFA) es utilizado en el tratamiento de cuadros alérgicos, para aliviar la rinitis; urticaria; el estornudo; la picazón de ojos, nariz y garganta; la comezón por picaduras de insectos y ronchas causadas por alimentos o cosméticos.

La Conferencia Internacional de Armonización (International Conference on Harmonisation, ICH) establece, para el control de calidad de aquellas drogas quirales comercializadas como enantiómero puro, que el enantiómero no deseado debe ser considerado como cualquier otra impureza [2]. Debido a ello, es de gran importancia el desarrollo de métodos separativos de análisis con alto poder resolutivo y elevada eficiencia que permitan el monitoreo de la pureza enantiomérica, como así también el estudio desde el punto de vista farmacocinético, metabólico y clínico de tales drogas.

Los Nanotubos de Carbono (CNTs) han despertado gran interés debido a sus extraordinarias propiedades físico-químicas y mecánicas, convirtiéndose en potenciales productos biotecnológicos en la industria farmacéutica. Tales propiedades han sido utilizadas con diferentes propósitos tales como: i) aditivos para aumentar la solubilidad y biodisponibilidad de drogas poco solubles, ii) *carriers* para el diseño de sistemas de liberación controlada, iii) vehículos que mejoren tanto la permanencia de las drogas en el sistema circulatorio y iv) liberación de drogas en sitios y células específicas [3].

Las ciclodextrinas (CDs) son polisacáridos con estructura tridimensional cónica ampliamente utilizadas como selectores quirales debido a su habilidad para formar complejos diferenciales con drogas de diversa naturaleza. En este sentido existe un gran número de reportes de CDs en métodos de análisis enantioselectivos ya sea cromatográficos como no cromatográficos.

La optimización experimental multivariada es una herramienta ampliamente utilizada en el desarrollo de un método ya que permite el estudio simultáneo de los diferentes factores que influyen en su desempeño analítico, permitiendo establecer en forma estadísticamente confiable las mejores condiciones con un mínimo número de experimentos de optimización [4].

## Objetivo

El presente trabajo tiene como objetivo el desarrollo de un método enantioselectivo para la determinación de drogas racémicas mediante el uso de CNTs empleando inyección en flujo con detección fluorimétrica.

## Materiales y Métodos

El maleato de ( $\pm$ )-clorfeniramina (Sigma Chemical Co.) fue utilizado como droga modelo para la optimización del método propuesto. Se empleó beta ciclodextrina,  $\beta$ -CD (Sigma Chemical Co.) como selector quirál, adicionada a las muestras en diferentes concentraciones. Se usaron como soluciones eluyentes diferentes mezclas de dodecilsulfato de sodio, SDS (Tokyo Kasei) y ácido clorhídrico. Una microcolumna constituida por CNTs fue utilizada para lograr la adsorción y separación discriminada de ambos enantiómeros. Las experiencias fueron realizadas utilizando un espectrofluorímetro Shimadzu RF-5301PC (Shimadzu Corporation, Analytical Instrument Division, Kyoto Japan), equipado con una lámpara de descarga de Xenón. Para las medidas fluorescentes se emplearon una celda de cuarzo de 1 cm (ensayo estático) y una celda de flujo LC con una capacidad de 12  $\mu$ L (inyección en flujo). Para la configuración FIA se empleó una válvula de baja presión Model 5020 (Rohnert Park, CA, USA). Las soluciones fueron inyectadas mediante una bomba peristáltica Gilson Minipuls (Middleton, WI, USA). La optimización multivariada fue realizada en dos etapas empleando en primer lugar un diseño factorial fraccionado (screening) para establecer qué variables tienen efectos significativos sobre la sensibilidad y la resolución; y en una segunda etapa se llevó a cabo un estudio mediante un método de superficie de respuesta para localizar las condiciones que permitían la mejor sensibilidad y la mejor resolución.

#### Resultados y discusión

Una solución acuosa 1,0 mM de ( $\pm$ )-clorfeniramina adicionada de diferentes concentraciones de  $\beta$ -CD fue inyectada en la microcolumna con CNTs empleando velocidades de inyección variadas (5-20 rpm). Las soluciones eluyentes SDS (0,02 M)-HCl (0,01 M) fueron estudiadas en relaciones 10-90; 20-80; 30-70 y 40-60. La longitud de onda de excitación usada fue 240 nm y la de emisión 367 nm. El tiempo de inyección de la muestra fue optimizado en un intervalo de 5-30 segundos. Las condiciones óptimas de ensayo consistieron en: concentración de  $\beta$ -CD en la muestra 2,0 mM, caudal de inyección 20 rpm durante 20 segundos, SDS-HCl 30-70.

La adsorción de los complejos formados entre la  $\beta$ -CD y ambos enantiómeros sobre los CNTs ocurre en forma selectiva permitiendo una elución diferencial por parte de la solución SDS-HCl. Bajo condiciones óptimas ambos enantiómeros de ( $\pm$ )-clorfeniramina fueron separados a línea base, siendo eluidos en forma diferencial por la solución SDS-HCl.

#### Conclusiones

El método desarrollado representa una herramienta útil para el análisis enantioselectivo ya que permite determinar la concentración de cada uno de los enantiómeros con una elevada sensibilidad, adecuada resolución, rapidez de muestreo y sencillez operativa.

**Palabras claves:** clorfeniramina maleato, ciclodextrina, nanotubos de carbono, análisis por inyección en flujo.

#### Bibliografía

- [1] A-Van Eeckhaut, M.R. Detaevernier, Y. Michotte. *J. Chromatog. A*, 958 (2002) 291–297.
- [2] CPMP/ICH/367/96: ICH topic Q6A: Specifications: Test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products: chemical substances. ICH. Geneva, Switzerland.
- [3] A.V. Herrera-Herrera, et al., Carbon nanotubes applications in separation science: A review, *Anal. Chim. Acta* (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2012.04.035>.
- [4] L. Vera-Candiotti, A.Olivieri, H.Goicoechea. *Anal Chimica Acta*, 595 (2007) 310–318.