

Nota de aplicación

Método UPLC-MS/MS altamente sensible y robusto para la cuantificación de nitrosaminas a nivel de impurezas en los principios activos del grupo 'sartanes' y ranitidina

Lindsay Hatch, Mary E. Lame, Dave Higton, Paul D. Rainville, Gordon Fujimoto

Waters Corporation



Este es un resumen de la aplicación y no contiene una sección experimental detallada.

Resumen

Este resumen de la aplicación muestra un método LC-MS/MS altamente sensible y robusto para la cuantificación de seis nitrosaminas a nivel de impurezas (NDMA, NDEA, NEIPA, NDIPA, NDBA y NMBA) en soluciones que contienen los principios activos irbesartán, losartán, valsartán (sartanes) y ranitidina.

Ventajas

El espectrómetro de masas Xevo TQ-XS, acoplado a un sistema ACQUITY UPLC I-Class PLUS con una columna HSS T3 para la separación, permite la cuantificación de alta sensibilidad de nitrosaminas a nivel de impurezas en principios activos del grupo 'sartanes' y ranitidina, logrando límites inferiores de cuantificación (LLOQ) de 0,1 ng/mL.

Introducción

Se considera que los compuestos N-nitroso tienen una potencia cancerígena extremadamente alta, y varios medicamentos han sido retirados del mercado debido a la presencia de estas impurezas.^{1,2} Para garantizar la seguridad de los productos farmacéuticos, se deben tomar medidas para averiguar el origen de estas impurezas y garantizar su eliminación del principio activo final. Se puede encontrar información sobre cómo evaluar y controlar estas impurezas cancerígenas en la guía ICH M7 (R1).³

Aquí se presenta un método de LC-MS/MS robusto y altamente sensible para la cuantificación simultánea de seis nitrosaminas a nivel de impurezas (NDMA, NDEA, NEIPA, NDIPA, NDBA y NMBA). Este método proporciona valores de LLOQ de 0,1 ng/mL (3 pg en columna) con un rango dinámico lineal de 0,1-100 ng/mL.

Experimental

Condiciones de LC-MS

Condiciones de LC

Sistema LC: ACQUITY UPLC I-Class
PLUS, FTN con loop de 50 μ L

Columna: HSS T3; 1,8 μ m, 100 Å,
2,1 x 100 mm

Temp. de la columna: 40 °C

Temp. de la muestra: 10 °C

Volumen de inyección: 30 μ L

Fase móvil: A: 5 mM de formiato de
amonio con ácido fórmico al
0,1% en agua B: 5 mM de
formiato de amonio con ácido
fórmico al 0,1% en metanol

Eluyente de purga: Agua:metanol 50:50

Eluyente de lavado: 25:25:25:25 IPA:
MeOH:ACN:agua

Diluyente de la muestra: Agua

Gradiente de LC:

Tiempo (min)	Caudal (mL/min)	%A	%B	Curva
Inicial	0,400	98,0	2,0	Inicial

Tiempo (min)	Caudal (mL/min)	%A	%B	Curva
0,24	0,400	98,0	2,0	6
4,00	0,400	5,0	95,0	6
4,61	0,400	5,0	95,0	6
5,00	0,400	98,0	2,0	6
7,00	0,400	98,0	2,0	6

Condiciones de MS

Fuente:	APCI+
Corona:	0,5-1,3 μ A (variable en función del sistema)
Temp. de la sonda APCI:	400 °C
Flujo de desolvatación:	1000 L/h
Flujo del gas del cono:	150 L/h
Gestión de datos:	Software de cromatografía: MassLynx Software de cuantificación: TargetLynx XS

Analyte	Parent (m/z)	Daughter (m/z)	Dwell (s)	Cone (V)	Collision (eV)
NDMA	75.1	58.0	0.032	30	10
		43.0	0.032	30	8
		75.1	0.032	30	3
NDEA	103.2	74.9	0.024	30	10
		46.9	0.024	30	14
		103.2	0.024	30	4
NEIPA	117.2	75.0	0.024	20	9
		43.1	0.024	20	13
NDIPA	131.2	89.1	0.024	20	9
		43.2	0.024	20	9
		47.1	0.024	20	12
NMBA	147.1	117.1	0.027	30	5
		44.0	0.027	30	12
		147.1	0.027	30	3
NDBA	159.2	57.1	0.024	30	12
		41.1	0.024	30	13
		103.2	0.024	30	10

Tabla 2. Transiciones MRM de cada nitrosamina

Resultados y discusión

Se prepararon soluciones patrón que contenían las seis nitrosaminas a nivel de impurezas y cuatro principios activos (ranitidina y sartanes) a partir de una solución stock concentrada que contenía 1 µg/mL de cada nitrosamina y ~100 µg/mL de cada principio activo en metanol:agua (20:80). Los patrones de calibración (0,05-100 ng/mL) se prepararon en agua por dilución en serie de la solución de 1 µg/mL y se colocaron en una placa de recolección de muestras de 96 pocillos (número de referencia 186005837). La placa se selló utilizando una tapa sellante de silicona/PTFE precortada para 96 pocillos (número de referencia 186006332). Las condiciones de LC-MS se enumeran en la tabla 1, mientras que las transiciones de MRM específicas para las nitrosaminas y los principios activos utilizados para el análisis se enumeran en la tabla 2. El análisis de LC-MS/MS se realizó con un espectrómetro de masas de cuadrupolos en tándem Xevo TQ-XS de Waters acoplado a un sistema ACQUITY UPLC I-Class PLUS. La separación cromatográfica de las nitrosaminas y los principios activos se logró con una columna ACQUITY HSS T3, basada en un

método anterior.⁴ Gracias a su química polar única, la columna ACQUITY HSS T3 proporcionaba una excelente capacidad de retención para las nitrosaminas, en particular para la retención de la nitrosamina más polar, la NDMA (figura 1). Xevo TQ-XS MS, equipado con la novedosa guía de iones StepWave y la sonda APCI IonSABRE, mejoró el muestreo de iones en la fuente, permitió una transferencia de iones eficiente y mejoró la ionización. Se utilizó software cromatográfico y de procesamiento de datos MassLynx (v4.2) y TargetLynx XS para la adquisición y cuantificación de datos. La misma funcionalidad cuantitativa también está disponible con la solución preparada para el cumplimiento normativo de Waters, MassLynx Security. El rendimiento del sistema de triple cuadrupolo se pone de manifiesto en la tabla 3, mientras que el rendimiento cromatográfico, resaltando los LLOQ de las seis nitrosaminas a nivel de impurezas, se muestra en la figura 2. Con este ensayo desarrollado, se lograron LLOQ de 0,1 ng/mL, con exactitudes y RSD $\leq 15\%$, lo que demuestra un método altamente sensible, exacto y robusto para la cuantificación de nitrosaminas a nivel de impurezas.

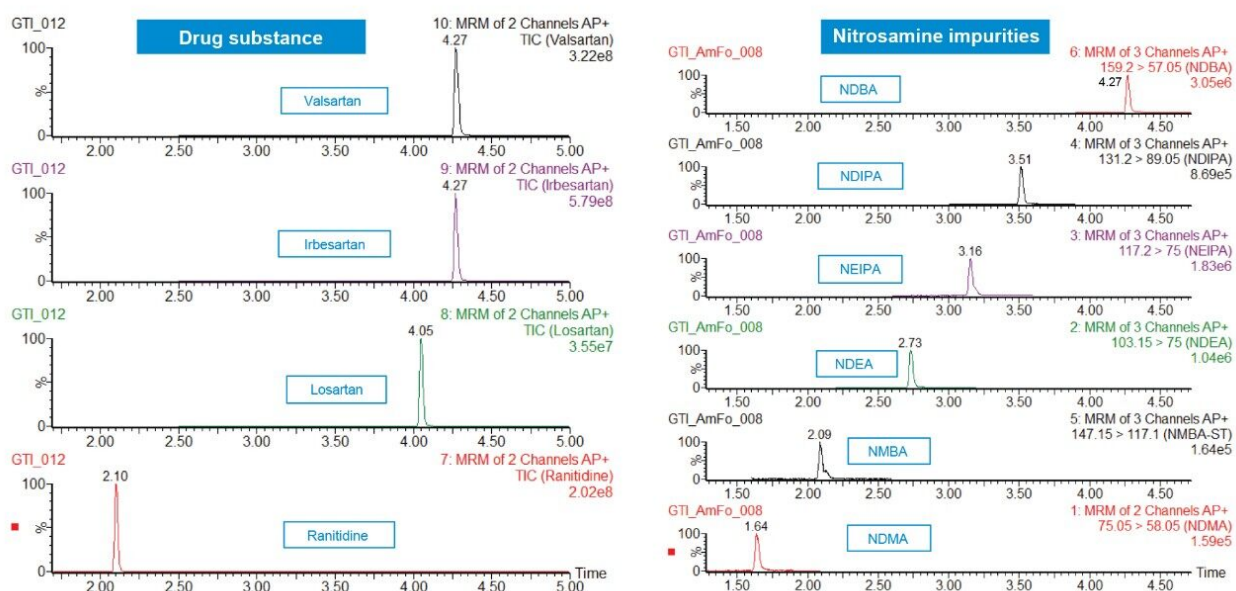


Figura 1. Cromatogramas representativos de principio activo (izquierda) y nitrosaminas a nivel de impurezas (derecha) utilizando la columna ACQUITY HSS T3 de 1,8 μm , 100 \AA , 2,1 x 100 mm.

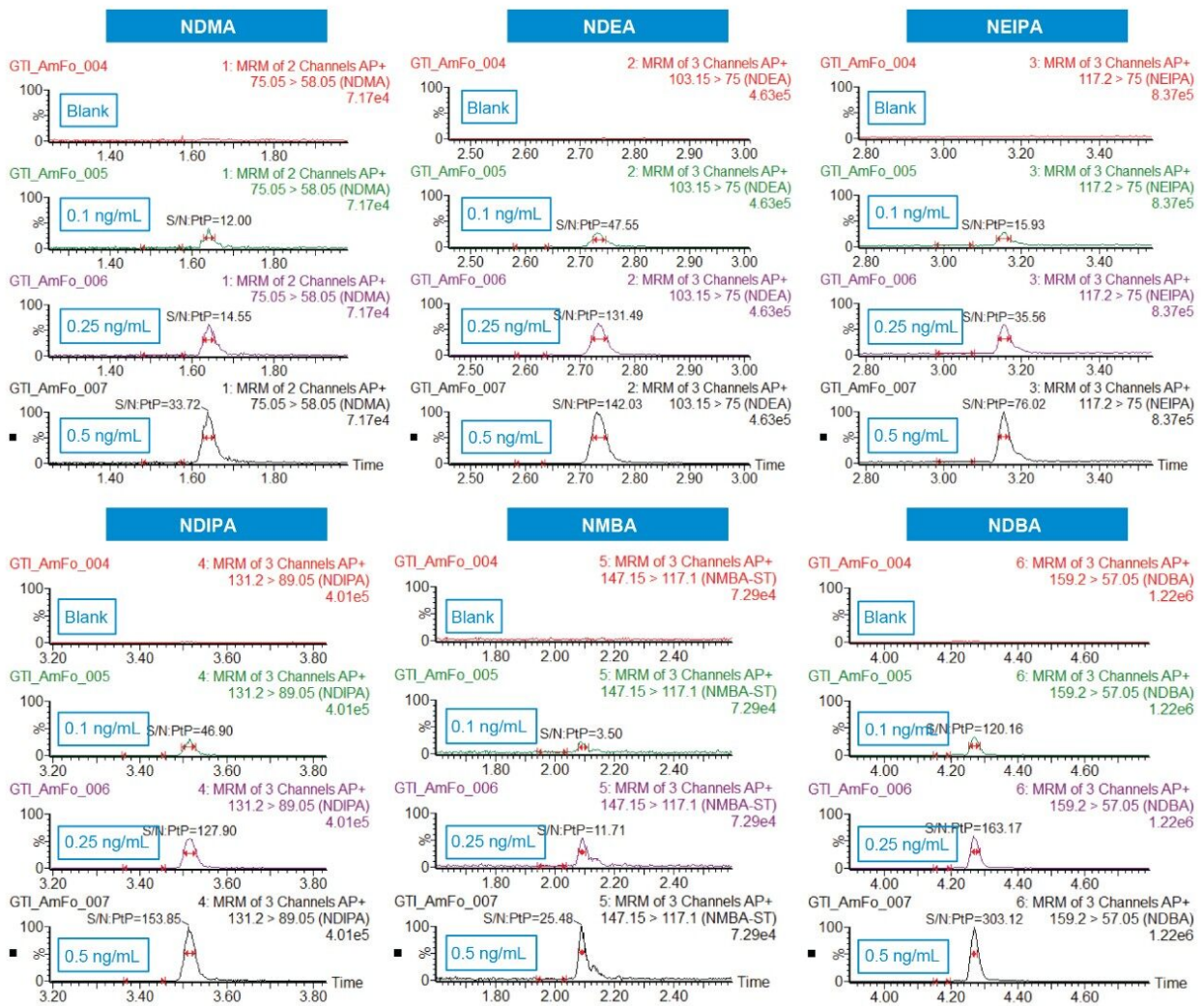


Figura 2. Cromatogramas representativos que muestran una alta sensibilidad y especificidad para las seis nitrosaminas a nivel de impurezas, comparando patrones de concentración de 0,10, 0,25 y 0,50 ng/mL con el blanco. Se muestran los valores de señal-ruído de pico a pico (PtP) para cada pico de nitrosamina.

Nitrosamine Impurity Quantification Performance				
GTI	Std curve range (ng/mL)	Weighting	Linear fit (R ²)	MRM transition
NDMA	0.1-100	1/x	≥0.99	75.1>58.0
				75.1>43.1
NDEA				103.2>74.9
				103.2>46.9
NDBA				159.2>57.1
				159.2>103.2
NMBA				147.1>117.1
	147.1>44			
NEIPA				117.2>74.9
				117.2>43.1
NDIPA				131.2>89.1
				131.2>47.1

Tabla 3. Rendimiento de cuantificación representativo de las seis nitrosaminas a nivel de impurezas, que demuestra una excelente sensibilidad (LLOQ ≤0,1 ng/mL), linealidad (R² >0,99) y rango dinámico (0,1-100 ng/mL)

Conclusión

Se ha desarrollado con éxito un método UPLC-MS/MS para la cuantificación exacta, robusta y altamente sensible de seis nitrosaminas a nivel de impurezas en una única determinación, con el que se obtienen LLOQ de 0,1 ng/mL utilizando el sistema ACQUITY UPLC I-Class PLUS y el espectrómetro de masas de cuadrupolos en tándem Xevo TQ-XS. La columna ACQUITY HSS T3 proporcionó una excelente capacidad de retención y selectividad para seis nitrosaminas a nivel de impurezas. Este método ofrece un punto de partida práctico para la cuantificación de alta sensibilidad de nitrosaminas o compuestos similares.

Referencias

1. <https://www.uspharmacist.com/article/fda-update-on-recent-voluntary-arb-drug-recalls>
2. <https://www.fda.gov/newsevents/press-announcements/statement-alerting-patients-and-health->

careprofessionals- ndma-found-samples-ranitidine

3. ICH M7 R1, Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk, International Conference on Harmonization, marzo de 2018.
4. Maziarz, M.; Naughton, S. Use of a proprietary polar column chemistry for the separation of nitrosamines in sartan and ranitidine drug substances. Nota técnica de Waters. 720006738ES. 2020.

Productos destacados

Sistema ACQUITY UPLC I-Class PLUS <<https://www.waters.com/134613317>>

Espectrómetro de masas de triple cuadrupolo Xevo TQ-XS <<https://www.waters.com/134889751>>

Software de MS MassLynx <<https://www.waters.com/513662>>

TargetLynx <<https://www.waters.com/513791>>

720006751, enero de 2020