

Note d'application

Quantification robuste et hautement sensible des impuretés nitrosamines dans le sartan et la ranitidine par UPLC-MS/MS

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

Waters Corporation



Ce document est une note d'application et ne contient pas de section détaillée concernant l'expérimentation.

Résumé

Cette note d'application présente une méthode de quantification robuste et hautement sensible pour six impuretés nitrosamines (NDMA, NDEA, NEIPA, NDIPA, NDBA et NMBA) par LC-MS/MS dans des solutions contenant de l'irbésartan, du losartan, du valsartan (sartans) et des substances médicamenteuses à base de ranitidine.

Avantages

Couplé à un système ACQUITY UPLC I-Class PLUS doté d'une colonne HSS T3 pour la séparation, le spectromètre de masse Xevo TQ-XS permet une quantification hautement sensible des impuretés nitrosamines dans la ranitidine et le sartan, atteignant des limites inférieures de quantification de 0,1 ng/mL.

Introduction

Les composés N-nitrosés sont considérés comme extrêmement cancérigènes et plusieurs médicaments ont fait l'objet de rappels en raison de la présence de ces impuretés.^{1,2} Pour garantir l'innocuité des produits pharmaceutiques, il est nécessaire de prendre des mesures visant à identifier la source de ces impuretés et à les éliminer de la substance médicamenteuse finale. La directive ICH M7 (R1) contient des informations relatives à l'évaluation et au contrôle de ces impuretés cancérigènes.³

Ce document présente une méthode LC-MS/MS robuste et hautement sensible pour la quantification simultanée de six impuretés nitrosamines (NDMA, NDEA, NEIPA, NDIPA, NDBA et NMBA). Cette méthode permet d'obtenir des limites inférieures de quantification de 0,1 ng/mL (3 pg sur colonne) avec une gamme dynamique linéaire comprise entre 0,1 et 100 ng/mL.

EXPÉRIENCE

Conditions LC/MS

Conditions LC

Système LC	Système ACQUITY UPLC I-Class PLUS, injecteur FTN avec boucle d'extension de 50 μ L
Colonne	HSS T3, 1,8 μ m, 100 Å, 2,1 \times 100 mm
Temp. de colonne :	40 °C
Temp. d'échantillon :	10 °C
Volume d'injection	30 μ L
Phase mobile	A : 5 mM de formiate d'ammonium dans une solution aqueuse à 0,1 % d'acide formique B : 5 mM de formiate d'ammonium dans une solution de méthanol à 0,1% d'acide formique
Solvant de purge	Mélange eau/méthanol 50:50
Solvant de lavage	Mélange IPA/MeOH/ACN/eau 25:25:25:25
Diluant de l'échantillon	Eau

Gradient LC

Temps (min)	Débit (mL/min)	% A	% B	Courbe
Initial	0,400	98,0	2,0	Initiale
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

Conditions MS

Source	APCI+
Corona	0,5 à 1,3 μ A (système/aiguille spécifique)
Temp. de la sonde APCI :	400 °C
Débit de désolvatation	1 000 L/h
Débit de gaz de cône	150 L/h
Gestion des données	Logiciel de chromatographie : MassLynx Logiciel de quantification : 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

Tableau 2. Transitions MRM des impuretés nitrosamines

Résultats et discussion

Des échantillons étalons contenant les six impuretés nitrosamines et les quatre substances médicamenteuses (ranitidine et sartans) ont été préparés à partir d'une solution mère concentrée contenant 1 µg/mL de chaque impureté nitrosamine et ~100 µg/mL de chaque substance médicamenteuse dans un mélange méthanol/eau 20:80. Des solutions étalons (0,05 à 100 ng/mL) ont été préparées par dilution en série de la solution à 1 µg/mL dans l'eau et placées dans une plaque de collecte d'échantillons 96 puits (référence 186005837). La plaque a été scellée à l'aide d'un couvercle adapté, préfabriqué en silicone/PTFE (référence 186006332). Les conditions LC/MS sont détaillées dans le tableau 1. Les transitions MRM spécifiques pour les nitrosamines et les substances médicamenteuses utilisées pour l'analyse sont répertoriées dans le tableau 2. L'analyse LC-MS/MS a été réalisée à l'aide d'un spectromètre de masse Tandem Quad Xevo TQ-XS de Waters couplé à un système ACQUITY UPLC I-Class PLUS. La séparation chromatographique des nitrosamines et des substances médicamenteuses a été réalisée à l'aide d'une

colonne ACQUITY HSS T3, sur la base d'une méthode préalablement établie.⁴ En raison de sa phase stationnaire polaire unique, la colonne ACQUITY HSS T3 présente une excellente capacité de rétention pour les nitrosamines, et plus particulièrement pour la NDMA, la plus polaire d'entre elles (Figure 1). Doté d'un nouveau guide d'ions StepWave et d'une sonde APCI IonSABRE, le spectromètre de masse Tandem Quad Xevo TQ-XS a permis un meilleur échantillonnage des ions dans la source, un transfert des ions plus efficace et une meilleure ionisation. Les logiciels MassLynx 4.2 et TargetLynx XS ont permis l'acquisition et la quantification des données. Les fonctionnalités de quantification utilisées sont également disponibles dans MassLynx Security, la solution de Waters répondant à la conformité réglementaire. Les performances de quantification sont présentées dans le tableau 3. La figure 2 présente, quant à elle, les performances chromatographiques, mettant en évidence les limites inférieures de quantification pour les six impuretés nitrosamines. L'analyse qui a été développée a permis d'obtenir des limites inférieures de quantification de 0,1 ng/mL, avec des exactitudes et des écarts-types $\leq 15\%$. Ces chiffres démontrent la sensibilité élevée, l'exactitude et la robustesse de la méthode pour la quantification des impuretés nitrosamines.

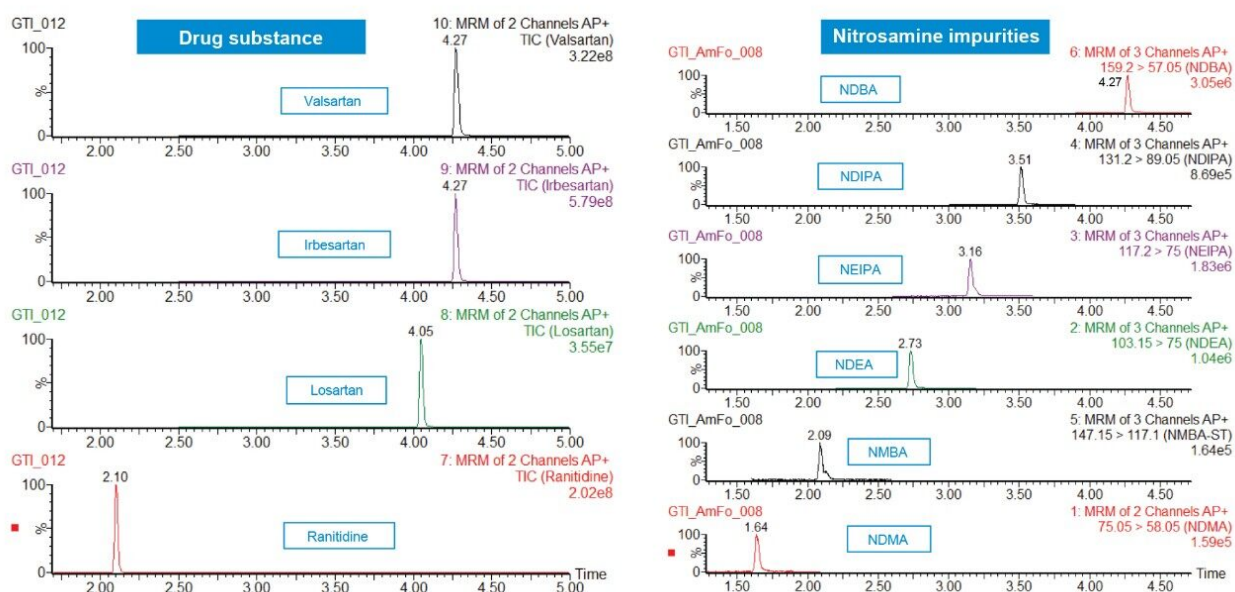


Figure 1. Chromatogrammes représentatifs des substances médicamenteuses (à gauche) et des impuretés nitrosamines (à droite) obtenus avec une colonne ACQUITY HSS T3 1,8 μm , 100 \AA , 2,1 \times 100 mm.

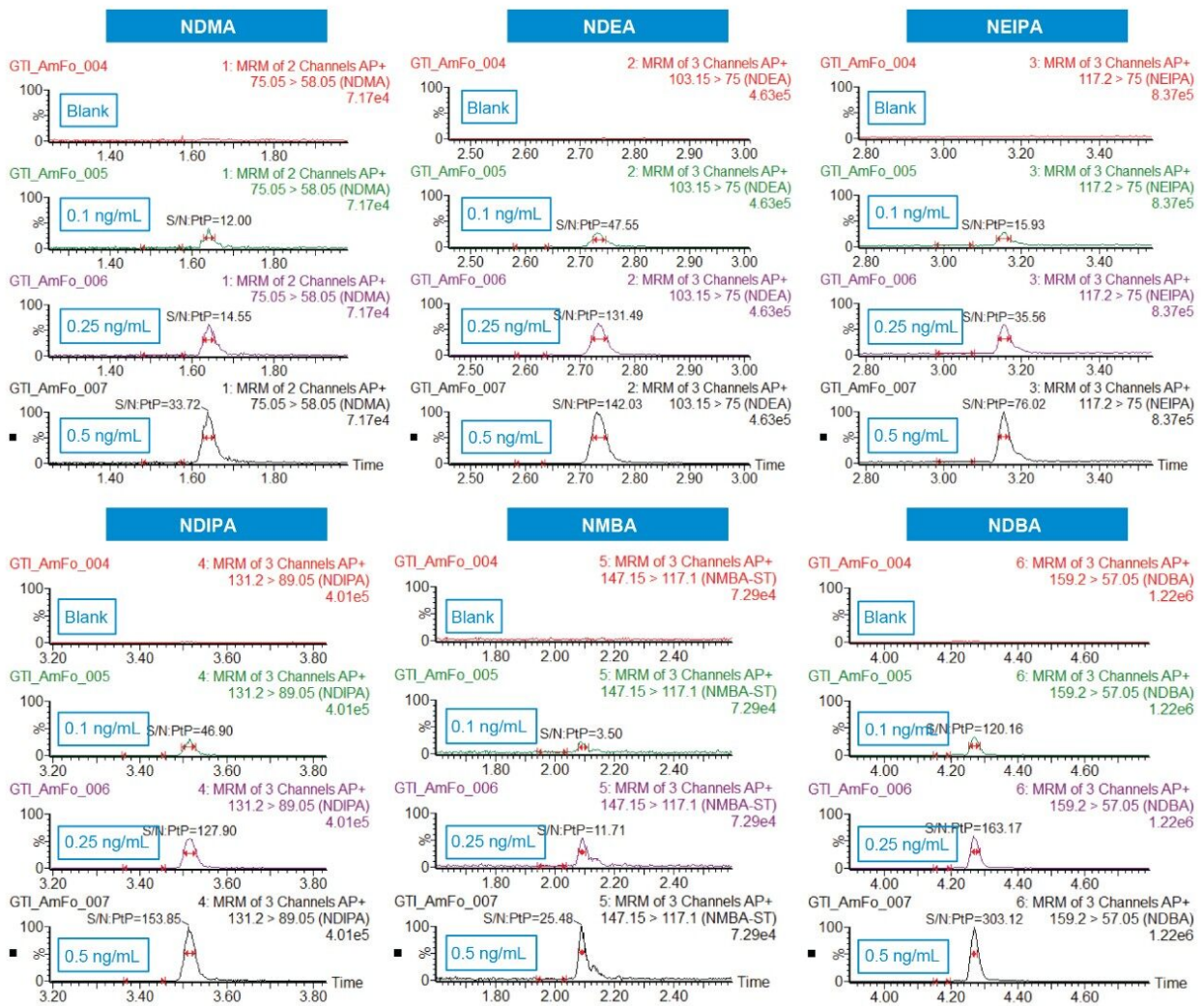


Figure 2. Chromatogrammes représentatifs illustrant une sensibilité et une spécificité élevées pour les six impuretés nitrosamines, comparant des étalons de concentrations 0,10, 0,25 et 0,50 ng/mL à un blanc. Les rapports signal/bruit pic à pic sont indiqués pour chaque pic de nitrosamine.

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

Tableau 3. Résultats de quantification représentatifs pour les six impuretés nitrosamines, démontrant d'excellentes performances en matière de sensibilité (limite inférieure de quantification ≤ 0,1 ng/mL), de linéarité (R² > 0,99) et de gamme dynamique (0,1 à 100 ng/mL)

Conclusion

Une méthode UPLC-MS/MS unique a été mise au point avec succès pour la quantification exacte, robuste et hautement sensible de six impuretés nitrosamines, obtenant une limite inférieure de quantification de 0,1 ng/mL à l'aide d'un système ACQUITY UPLC I-Class PLUS et d'un spectromètre de masse Tandem Quad Xevo TQ-XS. La colonne ACQUITY HSS T3 présente une rétention et une sélectivité excellentes pour les six impuretés nitrosamines. Cette méthode constitue un point de départ pour la quantification à haute sensibilité des nitrosamines ou de composés similaires.

Références

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. Directive ICH M7 R1, Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk (Évaluation et contrôle des impuretés [mutagènes] réactives à l'ADN dans les produits pharmaceutiques afin de limiter le risque cancérigène), International Conference on Harmonization, mars 2018.
4. Maziarz, M.; Naughton, S. Use of a proprietary polar column chemistry for the separation of nitrosamines in sartan and ranitidine drug substances (Utilisation d'une chimie de colonne polaire exclusive pour la séparation des nitrosamines dans les sartans et la ranitidine). Note d'application Waters. 720006738FR. 2020.

Produits phares

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

Spectromètre de masse Tandem Quad Xevo TQ-XS <<https://www.waters.com/134889751>>

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

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

720006751FR, janvier 2020