

Análisis de N-nitrosodimetilamina y N-nitrosodimetilamina utilizando el muestreador de espacio de cabeza Agilent 7697A, sistema GC/MSD 8890/5977

Análisis de impurezas de productos farmacéuticos de sartán siguiendo las pautas de la FDA de EE. UU.

Autor

Abbey Fausett
Agilent Technologies, Inc.

Resumen

Esta nota de aplicación describe el uso del sistema GC Agilent 8890 para analizar impurezas en productos de sartán de acuerdo con un método de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA de EE. UU.). El flujo de trabajo también presenta un muestreador de espacio de cabeza Agilent 7697A y GC/MSD 5977. Los resultados correspondieron a los valores de detección esperados.

Introducción

Según la Organización Mundial de la Salud, la hipertensión o presión arterial alta afecta a entre el 35 % y el 46 % de los adultos mayores de 25 años.¹ Esta patología afecta a más de mil millones de personas en todo el mundo.² Valsartán, losartán y otros bloqueadores de los receptores de angiotensina II (BRA) son un tipo de medicamento recetado comúnmente para tratar la hipertensión, ya que están disponibles en todo el mundo y son relativamente asequibles. El mecanismo de los BRA es inhibir el proceso de unión entre la angiotensina II y su receptor, lo que evita el bloqueo de los vasos sanguíneos y reduce de forma eficaz la presión arterial.³

En julio de 2018, se anunció una retirada mundial de productos de valsartán debido a un riesgo de contaminación. El contaminante inicial se identificó como N-nitrosodimetilamina (NDMA). La FDA de los EE. UU. lanzó un procedimiento para guiar a las fábricas de producción en la detección de estas posibles impurezas carcinogénicas halladas en los productos de valsartán antes de la distribución.⁴ Un segundo contaminante fue identificado poco después de la retirada y confirmado por la Agencia Europea de Medicamentos.⁵ La N-nitrosodietilamina (NDEA), al igual que la NDMA, se clasifica como un carcinógeno probable, y se cree que se genera como un producto secundario durante la síntesis del anillo de tetrazol común para los productos farmacéuticos de sartán. Con esta nueva confirmación de impurezas y enlace con el anillo de tetrazol, la retirada inicial se amplió para afectar a todos los sartanes en producción. Tras los informes de la Agencia Europea de Medicamentos, la FDA de EE. UU. creó un procedimiento reglamentario de seguimiento para abordar ambos contaminantes en un solo método. Las modificaciones incluyen un cambio en el disolvente de preparación junto con una fase de columna GC diferente.⁶ Este documento

se publicó en enero de 2019 y estableció valores de límite de cuantificación (LOQ) para la NDMA y la NDEA en 0,10 y 0,05 ppm, respectivamente, usando GC/MS con muestreo por espacio de cabeza para analizar tanto la sustancia del medicamento como el producto terminado. Si bien el procedimiento de la FDA se ejecutó en un sistema GC Agilent 7890A, esta nota de aplicación muestra que el sistema GC Agilent 8890 tiene el mismo excelente rendimiento que el sistema 7890.

Experimento

MilliporeSigma (Burlington, MA, EE. UU.) comparó los patrones de NDMA y NDEA en forma pura. Las pautas de la FDA⁶ requieren el uso de 1-metil-2-pirrolidinona (NMP) con una pureza mínima del 99,0 %. Sin embargo, el uso de un disolvente de mayor pureza (99,7 %, MilliporeSigma) dio lugar a una resolución mejorada de los compuestos diana de las impurezas del disolvente al seguir las condiciones proporcionadas. Debido a que este análisis se aplica a agencias reguladoras globales adicionales, puede haber o no flexibilidad en los parámetros cromatográficos para lograr separaciones mejoradas cuando se utilizan disolventes de menor pureza en la preparación de la muestra. Para los datos contenidos en esta evaluación, se siguió el protocolo de la FDA sin desviaciones.

Las condiciones del método se resumen en las siguientes tablas. Aunque este trabajo se realizó en un horno GC rápido (240 V), esta opción no es necesaria para obtener estos resultados. Otra opción útil en el desarrollo de métodos de espacio de cabeza es el accesorio de línea de transferencia de espacio de cabeza, que aporta la capacidad de inyección de líquido y espacio de cabeza en el mismo inyector sin cambiar la configuración. La Tabla 1 se indican los consumibles utilizados en el análisis. Las soluciones de calibración se prepararon de acuerdo con las pautas de la FDA, con un punto adicional preparado a 1 µg/ml.

Condiciones del método

Condiciones del muestreador de espacio de cabeza Agilent 7697A	
Temperatura del horno	130 °C
Temperatura de loop	180 °C
Temperatura de la línea de transferencia	185 °C
Equilibrado del vial	15 minutos
Duración de la inyección	1 minuto
Tamaño de vial (ml)	20 ml
Agitación del vial	Nivel 5
Modo de llenado	Predeterminado
Presión de llenado	15 psi
Modo de llenado del loop	Predeterminado

Parámetros del sistema GC Agilent 8890	
Inyector (split/splitless)	Helio
Temperatura	220 °C
Modo	Split
Relación de split	5:1
Presión en la entrada (inicial)	7,33 psi
Tipo de horno	Horno rápido de 240 V
Tiempo de equilibrio	1 minuto
Programa del horno	40 °C durante 0,5 minutos, 20 °C/min hasta 160 °C, 10 °C/min hasta 240 °C, Mantener 2 minutos Duración de ciclo total: 16,5 minutos
Columna	Agilent J&W DB-1701, 30 m × 250 µm, 1,0 µm
Modo	Flujo constante
Flujo	1 ml/min

Condiciones del GC/MSD Agilent 5977	
Tipo de fuente	Extractor
Temperatura de fuente	230 °C
Modo del filtro de masas	Monitorización de ión único (SIM)
NDMA m/z	74,00
NDEA m/z	102
Diámetro de la lente	6 mm
Temperatura del cuadrupolo	150 °C
Tiempo de permanencia del NDMA	150
Tiempo de permanencia del NDEA	150

Tabla 1. Consumibles utilizados en el análisis.

Descripción	Referencia
Viales para espacio de cabeza (20 ml)	5182-0837
Tapones de viales	5183-4477
Liner para GC	5190-2295
Séptums para GC	5183-4759
Columna DB-1701	122-0733
Lente de extracción (6 mm)	G3870-20448

Resultados y comentarios

Las separaciones fueron suficientes, y los picos diana están bien resueltos a partir de disolventes y especies de matriz. La figura 1 muestra un ejemplo de cromatograma.

Tiempos de retención acordados con los previstos en la normativa de la FDA. Las Figuras 2A y 2B muestran superposiciones de los tres puntos de calibración más bajos (0,025, 0,05 y 0,1 μg) para NDMA y NDEA.

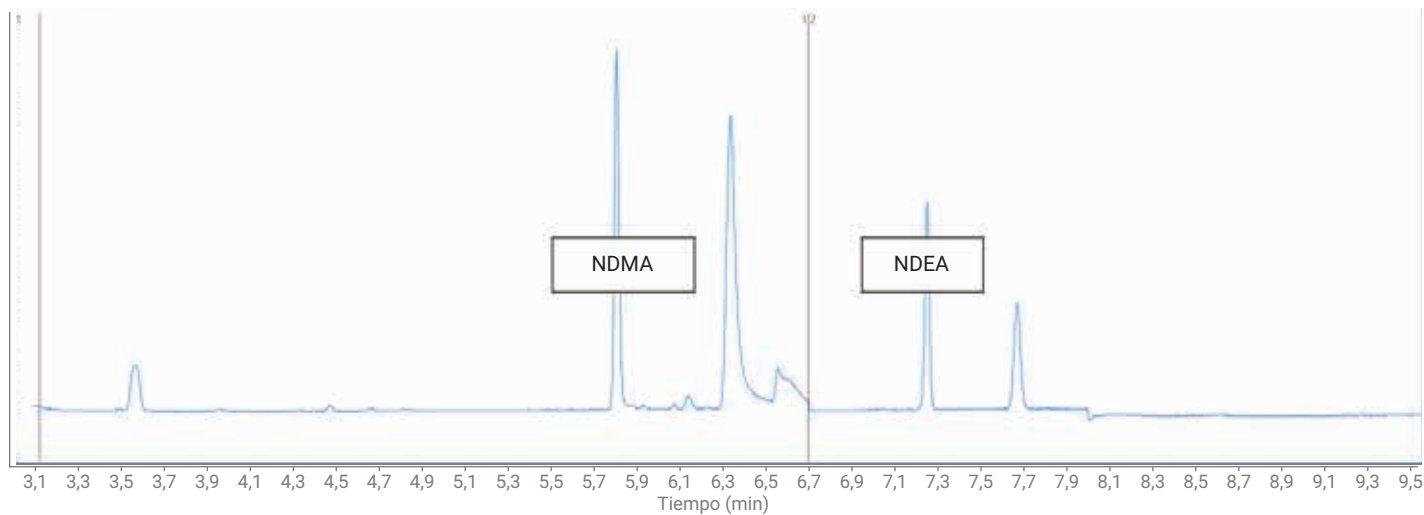


Figura 1. Cromatograma generado en modo iónico seleccionado de una mezcla de patrones de 1 μg de NDMA y NDEA en NMP. El tiempo de retención de NDMA es de 5,80 minutos y el de NDEA es de 7,25 minutos.

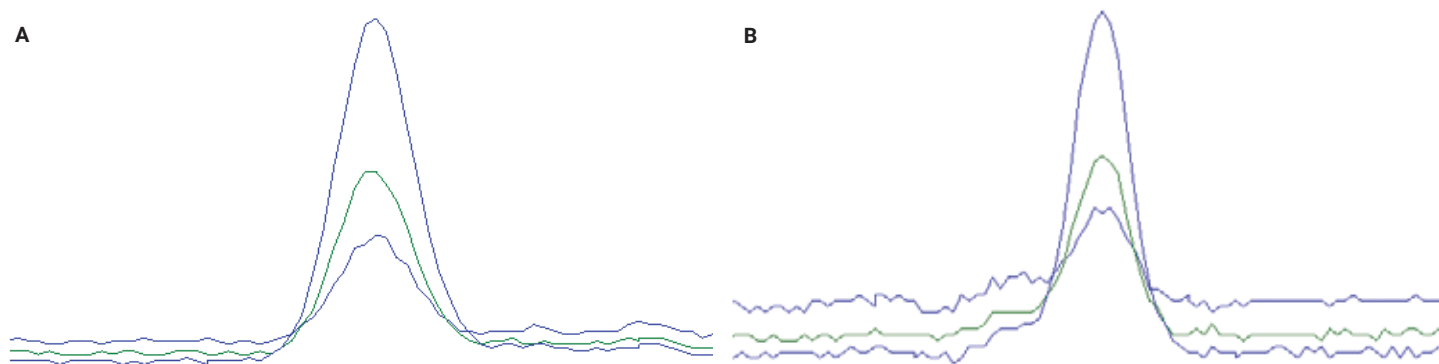


Figura 2. Superposiciones de NDMA (A) y NDEA (B) en los tres puntos de calibración más bajos.

Se generaron dos curvas de calibración utilizando el software de análisis cuantitativo Agilent MassHunter. Como los estudios de límite de cuantificación (LOQ) y límite de detección (LOD) se realizaron en el extremo inferior de la curva, los resultados cuantitativos se procesaron contra una curva de calibración entre los patrones de 0,025 y 0,5 µg. La curva de rango completo se extiende desde 0,025 a 100 µg con una correlación lineal superior a 0,995 con ponderación inversa. Las Figuras 3A y 3B muestran la información de la curva de calibración de bajo nivel obtenida en este instrumento. LOD se define registrando la menor cantidad inyectada en la columna que tiene al menos una relación señal-ruido de 3:1. En calibraciones NDMA y NDEA, el punto más bajo de 0,025 µg superó esta configuración.

Después de generar curvas de calibración para cada compuesto, se analizaron cinco patrones replicados en tres niveles dentro de la curva. La Tabla 2 resume los resultados de esta evaluación de reproducibilidad.

La evaluación final del rendimiento del método fue una prueba de adición y recuperación en matriz. Los dos patrones de calibración más bajos se añadieron a viales por triplicado, cada uno con 500 mg de comprimidos de valsartán disueltos, dirigidos a los LOQ citados. Se analizó una muestra de lote para mostrar ausencia de detecciones de los compuestos de NDMA y NDEA antes de la prueba de adición y recuperación. En la Tabla 3 se proporcionan los resultados.

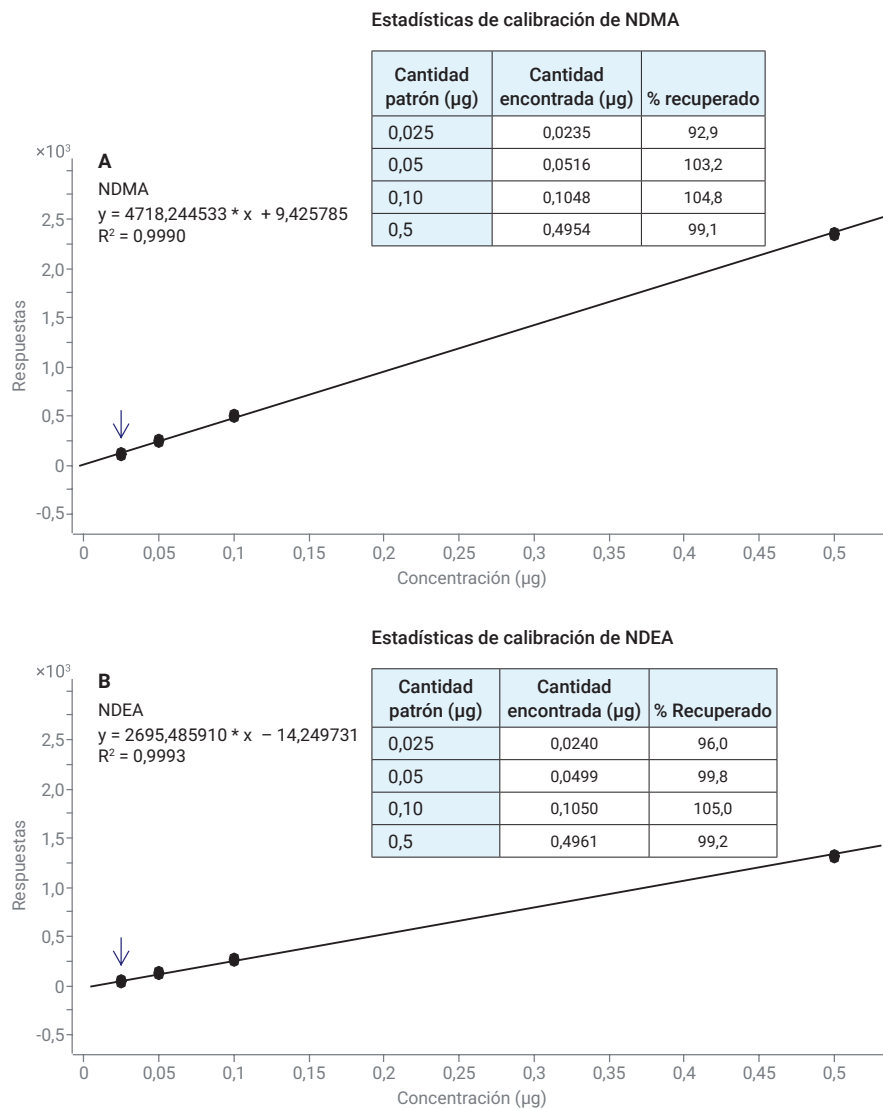


Figura 3. Regresión lineal determinada para el rango de calibración de bajo nivel y la precisión de los patrones de calibración después del procesamiento frente a la curva de calibración.

Tabla 2. Estadísticas de reproducibilidad de los patrones (n = 5).

	Patrón 0,025 µg		Patrón 0,05 µg		Patrón 0,1 µg	
	NDMA	NDEA	NDMA	NDEA	NDMA	NDEA
Cantidad promedio encontrada	0,0249	0,0248	0,0518	0,0506	0,1012	0,0988
DER (%)	4,95	2,89	6,24	0,7	2,65	4,07

Tabla 3. Determinaciones de los LOQ a partir de tres muestras replicadas para compuestos diana NDMA y NDEA.

	LOQ diana	Recuperación promedio	Recuperación promedio
	1 ppm	0,05 ppm	0,10 ppm
NDMA	0,10	0,056	0,11
NDEA	0,05	0,057	0,11

Conclusión

El sistema GC Agilent 8890 extiende el legado de rendimiento robusto y reproducibilidad de las medidas necesarios para la detección segura de productos farmacéuticos. El sistema GC Agilent 8890 junto con el muestreador de espacio de cabeza Agilent 7697A y un Agilent GC/MSD 5977 cumplen con las directivas de la FDA y los valores de detección esperados para el análisis crítico de impurezas en los productos de sartán.

Referencias

1. Global Health Observatory (GHO) data. https://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/blood_pressure_prevalence_text/en/ - Accessed 17 June 2019.
2. <http://www.bloodpressureuk.org/mediacentre/Newsreleases/1billionpeopleworldwidenowhavehighbloodpressure>.
3. Barreras, A.; Gurk-Turner, C. Angiotensin II Receptor Blockers. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* **2003**, *16*(1), 123–126. doi:10.1080/08998280.2003.11927893.
4. GC/MS Headspace Method for Detection of NDMA in Valsartan Drug Substance and Drug Products. *U.S. Food and Drug Administration*, FY18-176-DPA-S.
5. European Medicines Agency Report of NDEA.
6. Combined N-Nitrosodimethylamine (NDMA) and N-Nitrosodiethylamine (NDEA) Impurity Assay by GC/MS Headspace. *U.S. Food and Drug Administration*, FY19-005-DPA-S.

www.agilent.com/chem

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2019
Impreso en EE.UU., 11 de septiembre de 2019
5994-1132ES

