

Cuantificación de 6 Nitrosaminas en materia prima y producto terminado por LC-MS/MS de acuerdo con lo indicado en el MGA 0612 de la FEUM 13.0 ed.

El análisis de nitrosaminas llega a la FEUM 13.0 ¿Estás listo para conocerlo?

Resumen

Este método en conjunto con el sistema U-HPLC Vanquish acoplado al espectrómetro de masas TSQ Plus de la marca Thermo Scientific le permitirá el análisis de las seis principales nitrosoaminas en materia prima y producto terminado en distintas formas farmacéuticas como tabletas, cápsulas y solución entre las que destacan: **clorhidrato de metformina, losartán potásico, valsartán, irbesartán, telmisartán, clorhidrato de ranitidina y rifampicina.**

Introducción

Debido a la relevancia que el análisis de nitrosaminas ha tomado en las últimas fechas dentro de la normatividad internacional para el aseguramiento de la calidad de los productos farmacéuticos como una forma de mantener la salud humana, es fundamental conocer el nivel de exposición a dichos compuestos orgánicos durante el consumo de los tratamientos médicos para el combate de enfermedades crónicas como los “sartanes”, antidiabéticos, antituberculosos, entre otros; que durante su fabricación pueden detonar la producción de estos compuestos los cuales son potencialmente carcinogénicos.

Es por lo anterior que la integridad del paciente podría verse afectada y debido a ello las instancias regulatorias como la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA por sus siglas en inglés) han exhortado a los fabricantes de estos productos a realizar una evaluación de estos.

Canitec como siempre a la vanguardia, reitera el compromiso con sus clientes a través del desarrollo de una técnica analítica capaz de detectar y cuantificar nitrosaminas en una amplia gama de productos farmacéuticos, la cual satisface los requerimientos internacionales y locales para su aplicación, a través de la plataforma TSQ Thermo Scientific para LC MS/MS más robusta del mercado, misma que cuenta con los atributos de sensibilidad y reproducibilidad adecuados para este análisis.



• Figura 1. TSQ Quantis Plus Thermo Scientific acoplado al sistema U-HPLC Vanquish Flex

Dicho trabajo experimental contribuyó a la creación del método general de análisis MGA 0612: Determinación de nitrosaminas en fármacos y preparados farmacéuticos, por lo cual recibe un agradecimiento de la Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos en la FEUM 13.0 edición.

De acuerdo con los requerimientos de FDA para los procedimientos analíticos de nitrosaminas deben cumplir con los siguientes parámetros de desempeño:

•Sensibilidad:

Debe ser establecida de acuerdo con el límite de ingesta aceptable (IA) por lo tanto el LOQ debe ser menor o igual a IA y se debe cumplir con las recomendaciones regulatorias.

•Selectividad:

Selectivo para las nitrosaminas objetivo, las cuales puedan formarse durante el proceso de fabricación o almacenaje.

•Exactitud y precisión:

Eficiencia de extracción adecuada a nivel de trazas de las matrices empleadas.

•Linealidad:

Dentro del rango de concentración propuesto de acuerdo con la especificación de cada impureza.

• **Robustez:**

Asegurar resultados consistentes y reproducibles.

Los cuales dependerán de las necesidades de liberación de la materia prima o el producto terminado como se indica en el MGA 0621 de la FEUM 13.0 ed.

Se recomiendan los siguientes límites de ingesta aceptable (AI) para NDMA, NDEA, NMBA, NDIPA, NIPEA y NDBA en fármacos y preparados farmacéuticos.

• Tabla 1. Límites de Nitrosaminas en productos farmacéuticos

Nitrosaminas	Límite AI (ng/día)
NDMA	96.0
NDEA	26.5
NMBA	96.0
NDIPA	26.5
NEIPA	26.5
NDBA	26.5

Procedimiento

El análisis de las seis nitrosaminas (NDMA, NDEA, NEIPA, NDIPA, NMBA y NDBA) se lleva a cabo mediante cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas de triple cuadrupolo.

La alta selectividad y sensibilidad de estos sistemas es lograda por el monitoreo SRM (Selected Reaction Monitoring) de los iones protonados de las impurezas.

Instrumentación

Sistema U-HPLC Vanquish de Thermo Scientific acoplado al espectrómetro de masas **TSQ Plus** de Thermo Scientific.

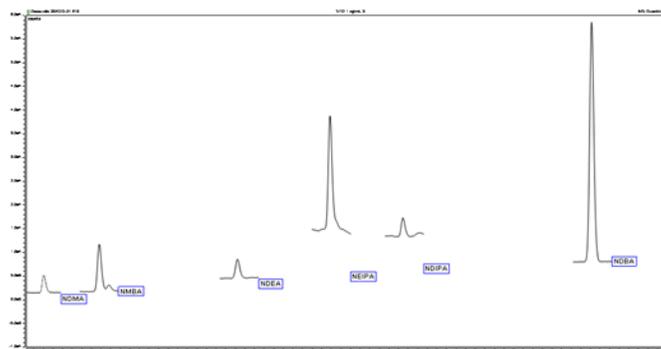
• **Condiciones cromatográficas para materia prima:**

Columna: L1 2.1 x 100 mm 1.7 µm
 Temperatura de columna: 30 °C ± 0.5 °C
 Velocidad de flujo: 0.3 mL/min
 Temperatura del automuestreador: 20 °C
 Tiempo de corrida: 14 min (Gradiente)
 Tipo de ionización: H-ESI, 3500 V

• **Condiciones cromatográficas para producto terminado:**

Columna: L1 4.6 x 150 mm
 Temperatura de columna: 25 °C ± 0.5 °C
 Velocidad de flujo: 0.5 mL/min
 Volumen de inyección: 15 µL
 Temperatura del automuestreador: 8 °C
 Tiempo de corrida: 35 min (Gradiente)
 Tipo de ionización: H-ESI, 3500 V

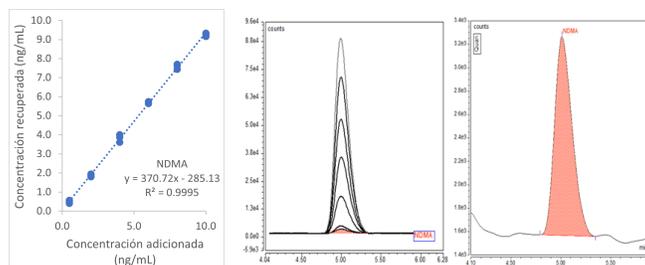
• Figura 2. Cromatograma tipo



Resultados

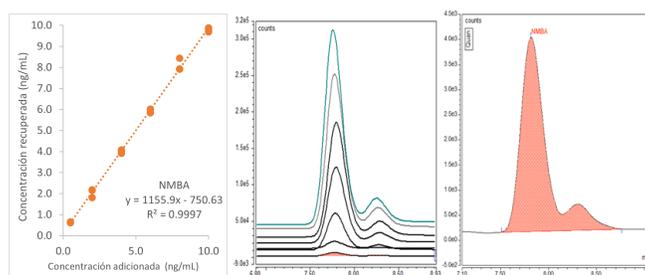
N-Nitrosodimetilamina

• Figura 3. Curva de calibración, cromatogramas de la curva y LOQ NDMA



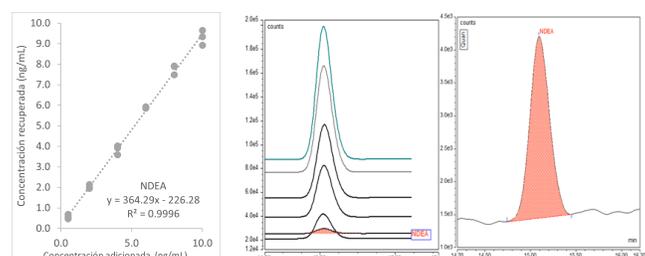
Ácido nitrosometilaminobutírico

• Figura 4. Curva de calibración, cromatogramas de la curva y LOQ NMBA



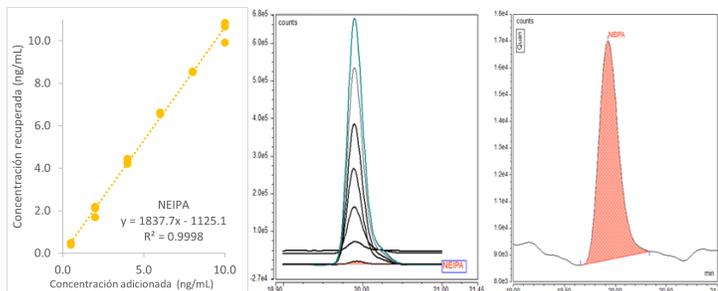
N-nitrosodietilamina

• Figura 5. Curva de calibración, cromatogramas de la curva y LOQ NDEA



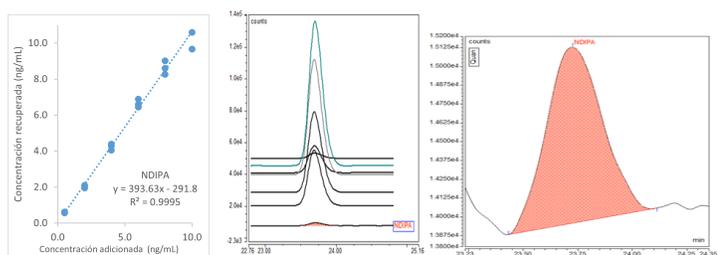
N-nitrosoetilisopropilamina

• Figura 6. Curva de calibración, cromatogramas de la curva y LOQ NEIPA



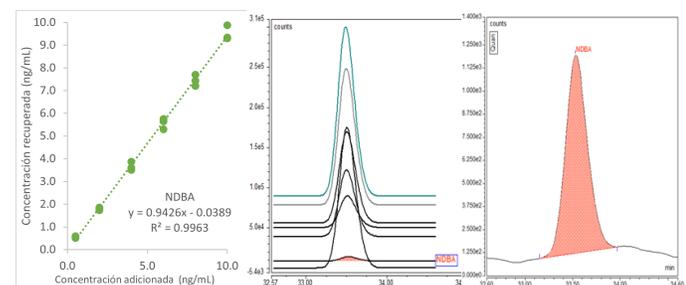
N-Nitrosodiisopropilamina

• Figura 7. Curva de calibración, cromatogramas de la curva y LOQ NDIPA



N-Nitrosodibutilamina

• Figura 8. Curva de calibración, cromatogramas de la curva y LOQ NDBA



• Tabla 2. Sensibilidad

Muestra	Nivel (ng/mL)	S/N					
		NDMA	NMBA	NDEA	NEIPA	NDIPA	NDBA
C1	0.3	6.8	6	5.2	13.7	11.8	27.2
C2	0.3	11.4	6.7	6.4	10.6	8.9	36.9
C3	0.3	5.4	10.5	4.2	24.8	15.1	27.8
C1	0.5	10.2	11	10.8	43.1	10.4	61.9
C2	0.5	17.8	10.2	10.4	32.5	14.3	72.3
C3	0.5	10.8	11.1	10	41.1	15.8	71.5

• Tabla 3. Alcances del método analítico

Atributo	NDMA	NMBA	NDEA	NEIPA	NDIPA	NDBA
LOD (ng/mL)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
LOQ (ng/mL)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Rango (ng/mL)	0.5 - 100	0.5 - 100	0.5 - 100	0.5 - 100	0.5 - 100	0.5-100
r ²	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99

Conclusiones

El sistema **TSQ Plus** es óptimo para el análisis de nitrosaminas en productos farmacéuticos debido a que cumple con las especificaciones para cada impureza a nivel LOD y LOQ siendo lineal en un rango desde 0.5 ng/mL a 100 ng/mL.

Este método es específico y exacto según los requerimientos de los productos evaluados.

Los sistemas Thermo Scientific U-HPLC Vanquish y **TSQ Plus** son el dúo perfecto para el análisis de trazas de impurezas de nitrosoaminas en diferentes matrices farmacéuticas; en conjunto con el software Chromeleon 7 CDS Enterprise que fue utilizado para la programación del hardware, el procesamiento y cuantificación de las impurezas con total cumplimiento regulatorio para trazabilidad e integridad de datos.

Este método puede ser utilizado por los laboratorios que realizan dictamen de cumplimiento para liberación de fármacos y productos farmacéuticos.



Modelos TSQ	TSQ Fortis · Plus	TSQ Quantis · Plus	TSQ Altis · Plus
Rango de Masa	2 a 3000 m/z	2 a 3000 m/z	2 a 2010 m/z
Velocidad de Escaneo	15,000 Da/s	15,000 Da/s	15,000 Da/s
Robustez (Estabilidad de masa)	± 0.1 Da durante 24 horas	± 0.1 Da durante 24 horas	± 0.1 Da durante 24 horas
Tiempo mínimo para cambio de polaridad	5 ms	5 ms	5 ms
Resolución de masa	0.4 Da	0.4 Da	0.2 Da
Sensibilidad ESI+	Con 5 µL de inyección de una solución de reserpina a 200 fg/µL produce una señal ruido mínima de 150,000:1	Con 5 µL de inyección de una solución de reserpina a 200 fg/µL produce una señal ruido mínima de 500,000:1	Con 5 µL de inyección de una solución de reserpina a 200 fg/µL produce una señal ruido mínima de 1,500,000:1
Sensibilidad ESI-	Con 5 µL de inyección de una solución de cloranfenicol a 200 fg/µL produce una señal ruido mínima de 150,000:1	Con 5 µL de inyección de una solución de cloranfenicol a 200 fg/µL produce una señal ruido mínima de 500,000:1	Con 5 µL de inyección de una solución de cloranfenicol a 200 fg/µL produce una señal ruido mínima de 1,500,000:1
Sensibilidad APCI+	Con 5 µL de inyección de una solución de reserpina a 200 fg/µL produce una señal ruido mínima de 20,000:1	Con 5 µL de inyección de una solución de reserpina a 200 fg/µL produce una señal ruido mínima de 40,000:1	Con 5 µL de inyección de una solución de reserpina a 200 fg/µL produce una señal ruido mínima de 100,000:1



Matriz CDMX
Andalucia No. 14,
Col. Álamos,
CP. 03400, CDMX
0155 55 30 05 86



Sucursal Guadalajara
Calle Allioth No.4018,
Col. Residencial Arboledas,
CP. 45070, Zapopan Jalisco
0133 31 21 13 29