

Analyse de la N-nitrosodiméthylamine et de la N-nitrosodiéthylamine à l'aide de l'échantillonneur d'espace de tête Agilent 7697A et du GC/MSD 8890/5977

Analyse d'impuretés dans les médicaments de la
classe des sartans selon les directives de la FDA

Auteur

Abbey Fausett
Agilent Technologies, Inc.

Résumé

Cette note d'application décrit l'utilisation du GC Agilent 8890 pour analyser les impuretés dans les médicaments de la classe des sartans conformément à une méthode de la FDA. La procédure comprend également un échantillonneur d'espace de tête (headspace) Agilent 7697A et un GC/MSD 5977. Les résultats correspondent aux valeurs de détection prévues.

Introduction

Selon l'Organisation mondiale de la santé, l'hypertension artérielle affecte entre 35 et 46 % des adultes de plus de 25 ans¹. Cette maladie touche plus d'un milliard de personnes dans le monde². Le valsartan, le losartan et les autres antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (ARA) sont des médicaments couramment prescrits pour traiter l'hypertension, du fait de leur disponibilité à l'échelle mondiale et de leur prix relativement avantageux. Les ARA inhibent le processus de fixation de l'angiotensine II sur son récepteur, ce qui empêche la vasoconstriction et abaisse efficacement la tension artérielle³.

En juillet 2018, un rappel des médicaments à base de valsartan a été annoncé à l'échelle mondiale en raison d'un risque de contamination. Le contaminant d'origine a été identifié comme étant la N-nitrosodiméthylamine (NDMA). La FDA a publié une procédure pour guider les unités de production dans la détection de ces impuretés, qui sont classées comme cancérigènes probables, dans les médicaments à base de valsartan avant leur distribution⁴. Un second contaminant a été identifié peu de temps après le rappel et confirmé par l'Agence européenne des médicaments⁵. Il s'agit de la N-nitrosodiéthylamine (NDEA) qui, à l'instar de la NDMA, est classée comme cancérigène probable et serait un produit secondaire de la synthèse du noyau tétrazole commun aux produits pharmaceutiques de la classe des sartans. Suite à la confirmation de cette nouvelle impureté et du fait de son lien avec le noyau tétrazole, le rappel initial a été étendu à la production de tous les sartans. Après les rapports de l'Agence européenne des médicaments, la FDA a mis au point une nouvelle analyse réglementaire visant à rechercher les deux contaminants avec une seule et même méthode. Les modifications apportées incluent le changement du solvant de préparation et de la phase de la colonne GC⁶. Ce document a été publié en janvier 2019 et a permis de fixer

la limite de quantification (LOQ) de la NDMA et de la NDEA à 0,10 et 0,05 ppm, respectivement, à l'aide d'un GC/MS équipé d'un échantillonnage d'espace de tête pour analyser à la fois la substance active et le produit fini. Bien que la procédure de la FDA ait été réalisée sur un GC Agilent 7890A, cette note d'application montre que le GC Agilent 8890 offre les mêmes performances que le 7890.

Données expérimentales

Les étalons de NDMA et de NDEA ont été achetés purs auprès de MilliporeSigma (Burlington, MA, États-Unis). Les directives de la FDA⁶ requièrent l'utilisation de 1-méthyl-2-pyrrolidinone (NMP) d'une pureté d'au moins 99,0 %. Cependant, l'emploi d'un solvant de pureté supérieure (99,7 %, MilliporeSigma) a permis d'améliorer la résolution des composés cibles par rapport aux impuretés du solvant dans les conditions indiquées. Comme cette analyse est applicable à d'autres organismes de réglementation à l'échelle mondiale, il est parfois possible d'adapter les paramètres chromatographiques afin d'améliorer les séparations lorsque des solvants de pureté inférieure sont utilisés pour la préparation des échantillons. Les données présentées dans cette évaluation ont été obtenues en suivant strictement le protocole de la FDA.

Les conditions de la méthode sont résumées dans les tableaux suivants. Même si cette étude a été réalisée avec un four de GC rapide (240 V), les mêmes résultats peuvent être obtenus avec un autre type de four. Une autre option utilisée pour le développement de méthodes d'espace de tête est l'accessoire de ligne de transfert d'espace de tête qui permet d'utiliser à la fois l'injection liquide et espace de tête sur un même injecteur, sans avoir à modifier la configuration. Les consommables utilisés au cours de cette analyse sont répertoriés dans le tableau 1. Les solutions d'étalonnage ont été préparées conformément aux directives de la FDA ; un point supplémentaire a été préparé à 1 µg/mL.

Conditions de la méthode

Conditions de l'échantillonneur d'espace de tête Agilent 7697A	
Température du four	130 °C
Température de la boucle	180 °C
Température de la ligne de transfert	185 °C
Stabilisation des flacons	15 minutes
Durée d'injection	1 minute
Taille des flacons (mL)	20 mL
Agitation des flacons	Niveau 5
Mode de remplissage	Mode par défaut
Pression de remplissage	15 psi
Mode de remplissage de la boucle	Mode par défaut

Paramètres du GC Agilent 8890	
Injecteur (split/splitless)	Hélium
Température	220 °C
Mode	Split
Rapport de division	5:1
Pression de l'injecteur (initiale)	7,33 psi
Type de four	240 V ; four rapide
Temps de stabilisation	1 minute
Programme du four	40 °C pendant 0,5 minute, 20 °C/min jusqu'à 160 °C, 10 °C/min jusqu'à 240 °C, palier de 2 minutes Temps de cycle total : 16,5 minutes
Colonne	Agilent J&W DB-1701, 30 m × 250 µm, 1,0 µm
Mode	Méthode à débit constant
Débit	1 mL/min

Conditions du GC/MSD Agilent 5977	
Type de source	Extracteur
Température de la source	230 °C
Mode de filtre de masse	Mode sélection d'ion (SIM)
m/z de la NDMA	74,00
m/z de la NDEA	102
Diamètre de lentille	6 mm
Température du quad.	150 °C
Temps de mesure de la NDMA	150
Temps de mesure de la NDEA	150

Tableau 1. Consommables utilisés lors de l'analyse.

Description	Référence
Flacons d'échantillonnage d'espace de tête (20 mL)	5182-0837
Capsules pour flacons	5183-4477
Insert GC	5190-2295
Septa GC	5183-4759
Colonne DB-1701	122-0733
Lentille d'extracteur (6 mm)	G3870-20448

Résultats et discussion

Les séparations se sont avérées suffisantes et les pics des analytes ont été bien résolus du solvant et composés matriciels. Un exemple de chromatogramme est présenté dans la figure 1.

Les temps de rétention étaient conformes à ceux de la réglementation de la FDA. Les figures 2A et 2B montrent les superpositions des trois niveaux d'étalonnage les plus faibles (0,025, 0,05 et 0,1 μg) pour la NDMA et la NDEA.

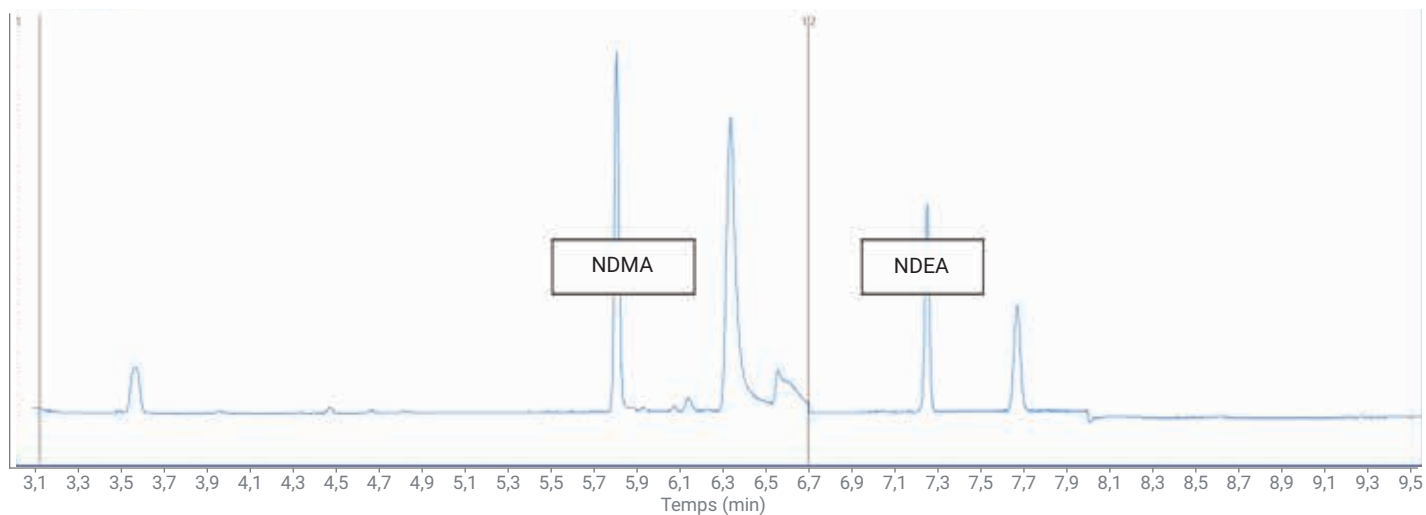


Figure 1. Chromatogramme obtenu en mode sélection d'ion pour un mélange étalon de 1 μg de NDMA et de NDEA dans de la NMP. Le temps de rétention est de 5,80 minutes pour la NDMA et de 7,25 minutes pour la NDEA.

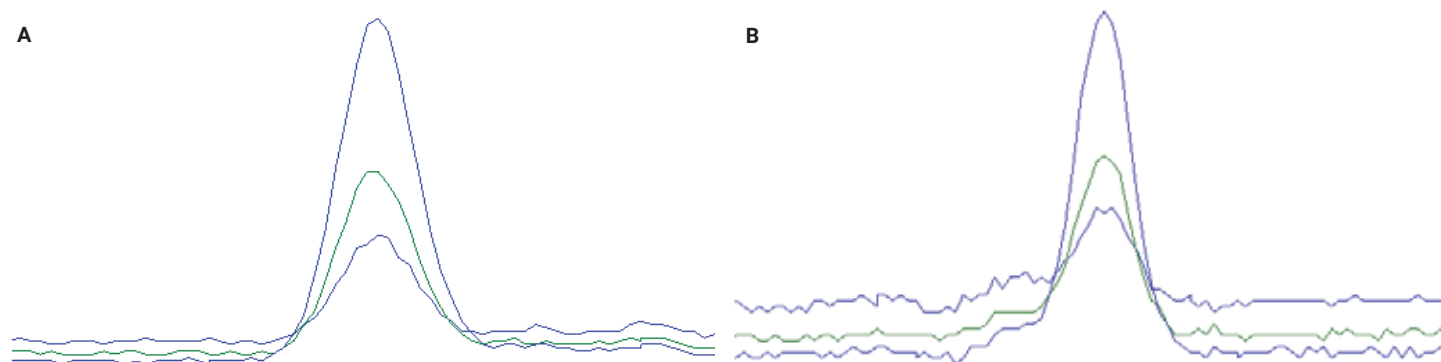


Figure 2. Superpositions de la NDMA (A) et de la NDEA (B) aux trois niveaux d'étalonnage les plus faibles.

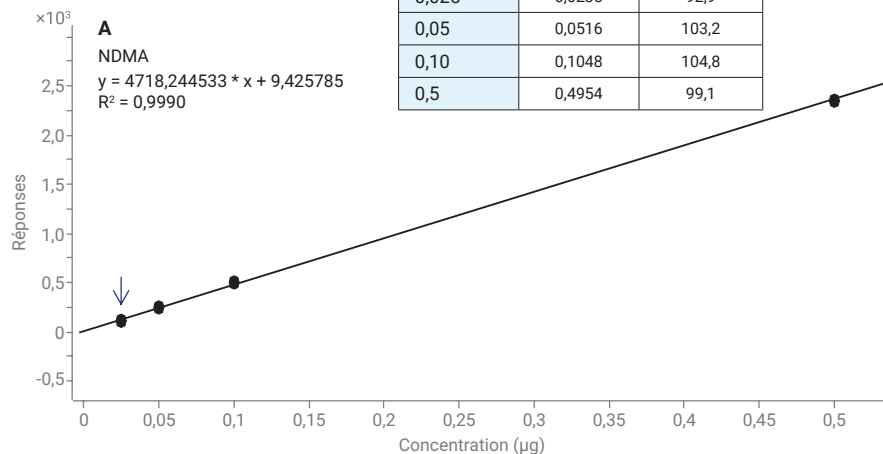
Deux courbes d'étalonnage ont été obtenues à l'aide du logiciel Agilent MassHunter Quantitative Analysis. Comme les études portant sur la LOQ et la limite de détection (LOD) ont été effectuées avec les points bas de la courbe, les résultats quantitatifs ont été traités par rapport à une courbe d'étalonnage située entre les étalons de 0,025 et 0,5 µg. La plage complète de la courbe s'étendait de 0,025 à 100 µg, avec une régression linéaire avec pondération inverse dont le coefficient de corrélation était supérieur à 0,995. Les figures 3A et 3B représentent la partie inférieure de la courbe d'étalonnage obtenue sur cet instrument. La LOD est définie comme la plus faible quantité injectée dans la colonne donnant un rapport signal sur bruit d'au moins 3:1. Dans les étalonnages de la NDMA et de la NDEA, le niveau le plus faible, correspondant à 0,025 µg, dépassait ce critère.

Après avoir obtenu des courbes d'étalonnage pour chaque composé, cinq répliques d'étalons ont été analysées à trois niveaux de la courbe. Le tableau 2 récapitule les résultats de cette évaluation de la reproductibilité.

L'évaluation finale des performances de la méthode consistait en un test de dopage et de recouvrement dans la matrice. Dans le cadre du dopage, les deux mélanges étalon de plus faible niveau ont été introduits dans des flacons en triple exemplaire contenant chacun 500 mg de comprimés dissous de médicament à base de valsartan, en ciblant les LOQ précitées. Un échantillon du lot a été analysé pour montrer l'absence de détection de NDMA et de NDEA avant le test de dopage et de recouvrement. Les résultats sont présentés dans le tableau 3.

Statistiques concernant l'étalonnage de la NDMA

Quantité d'étalon (µg)	Quantité obtenue (µg)	% de recouvrement
0,025	0,0235	92,9
0,05	0,0516	103,2
0,10	0,1048	104,8
0,5	0,4954	99,1



Statistiques concernant l'étalonnage de la NDEA

Quantité d'étalon (µg)	Quantité obtenue (µg)	% de recouvrement
0,025	0,0240	96,0
0,05	0,0499	99,8
0,10	0,1050	105,0
0,5	0,4961	99,2

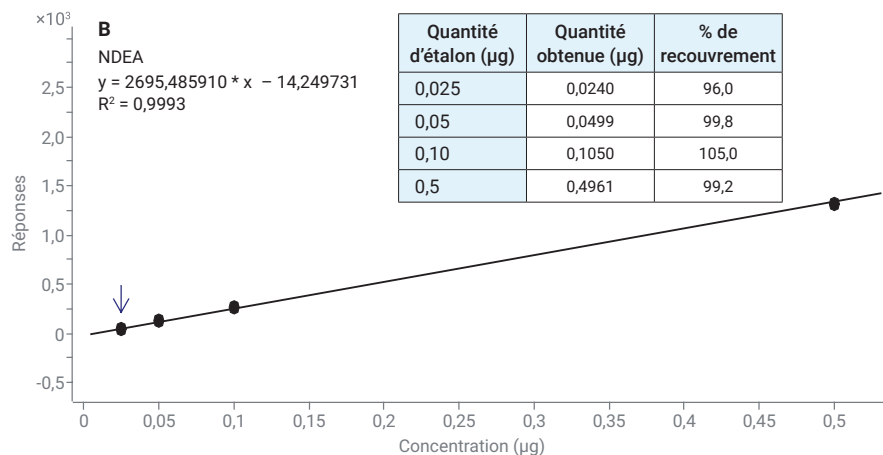


Figure 3. Régression linéaire déterminée pour la plage d'étalonnage inférieure et exactitude des mélanges étalon après traitement par rapport à la courbe d'étalonnage.

Tableau 2. Statistiques concernant la reproductibilité des étalons (n = 5).

	Étalon de 0,025 µg		Étalon de 0,05 µg		Étalon de 0,1 µg	
	NDMA	NDEA	NDMA	NDEA	NDMA	NDEA
Quantité moyenne obtenue	0,0249	0,0248	0,0518	0,0506	0,1012	0,0988
RSD en %	4,95	2,89	6,24	0,7	2,65	4,07

Tableau 3. Détermination des LOQ des composés cibles NDMA et NDEA à partir de trois réplicats.

	LOQ cible	Recouvrement moyen	Recouvrement moyen
	1 ppm	0,05 ppm	0,10 ppm
NDMA	0,10	0,056	0,11
NDEA	0,05	0,057	0,11

Conclusion

Le GC Agilent 8890 élargit la gamme des instruments offrant la robustesse et la reproductibilité des performances nécessaires pour la détection fiable des impuretés dans les médicaments. Le GC 8890 couplé à l'échantillonneur d'espace de tête Agilent 7697A et à un GC/MSD Agilent 5977 est conforme aux directives de la FDA et aux valeurs de détection prévues pour l'analyse cruciale des impuretés dans les médicaments de la classe des sartans.

Références

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

Ces informations peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2019
Imprimé aux États-Unis, le 11 septembre 2019
5994-1132FR

