

Análise de N-nitrosodimetilamina e N-nitrosodietilamina usando o amostrador de Headspace Agilent 7697A, com sistema GC/MSD 8890/5977

Análise de impureza de medicamentos sartan seguindo as orientações da US FDA

Autor

Abbey Fausett
Agilent Technologies, Inc.

Resumo

Esta nota de aplicação descreve o uso do GC Agilent 8890 para a análise de impurezas em produtos sartan de acordo com o método da US FDA (United States Food and Drug Administration). O fluxo de trabalho também possui um amostrador de headspace Agilent 7697A e um GC/MSD 5977. Os resultados corresponderam aos valores esperados de detecção.

Introdução

A hipertensão, ou pressão alta, afeta entre 35 e 46% dos adultos acima de 25 anos, de acordo com a Organização Mundial da Saúde.¹ A condição afeta mais de um bilhão de pessoas em todo o mundo.² Valsartan, losartan e outros bloqueadores dos receptores da angiotensina II (BRAs) são um tipo de farmacêutico comumente prescrito para tratar a hipertensão, pois estão disponíveis globalmente e são relativamente acessíveis. O mecanismo do BRA é inibir o processo de ligação entre a angiotensina II e o seu receptor, impedindo a constrição dos vasos sanguíneos e reduzindo efetivamente a pressão sanguínea.³

Em julho de 2018, foi anunciada uma recolha mundial dos produtos valsartan devido ao risco de contaminação. O contaminante inicial foi identificado como N-nitrosodimetilamina (NDMA). A US FDA lançou um procedimento para orientar as instalações de produção durante a verificação de produtos valsartan para essas prováveis impurezas cancerígenas antes da distribuição.⁴ Um segundo contaminante foi identificado logo após a recolha e confirmado pela Agência Europeia de Medicamentos.⁵ A N-nitrosodietilamina (NDEA), como a NDMA, é classificada como um provável agente cancerígeno e acredita-se que seja gerada como um produto secundário durante a síntese do anel de tetrazol comum em produtos farmacêuticos da classe sartan. Com essa nova confirmação de impureza e ligação ao anel de tetrazol, a recolha inicial se expandiu para afetar todos os sartans em produção. Após os relatórios da Agência Europeia de Medicamentos, a US FDA criou um procedimento regulatório de acompanhamento para tratar de ambos os contaminantes em um único método. As modificações incluem uma alteração no solvente de preparação, juntamente com uma química de coluna diferente para GC.⁶ Este documento foi lançado

em janeiro de 2019 e estabeleceu os valores de limite de quantificação (LOQ) para NDMA e NDEA em 0,10 e 0,05 ppm, respectivamente, usando GC/MS com amostragem por headspace para analisar tanto a substância do medicamento quanto o produto acabado. Embora o procedimento da FDA tenha sido executado em um GC Agilent 7890A, esta Nota de aplicação mostra que o sistema de GC Agilent 8890 é capaz de alcançar o mesmo desempenho excelente que o sistema 7890.

Parte experimental

Os padrões NDMA e NDEA foram adquiridos por meio da MilliporeSigma (Burlington, MA, EUA) em forma pura. A orientação da FDA⁶ exige o uso de 1-metil-2-pirrolidinona (NMP) com uma pureza mínima de 99,0%. No entanto, o uso de um solvente de maior pureza (99,7%, MilliporeSigma) resultou em uma melhor resolução entre os compostos alvo e as impurezas do solvente ao seguir as condições fornecidas. Como essa análise é aplicável a agências regulatórias globais adicionais, pode ou não haver flexibilidade nos parâmetros cromatográficos para obter separações aprimoradas quando solventes de menor pureza são implementados no preparo da amostra. Para os dados contidos nesta avaliação, o protocolo da FDA foi seguido sem desvio.

As condições do método estão resumidas nas tabelas a seguir. Embora este trabalho tenha sido realizado em um forno rápido de GC (240 V), essa opção não é necessária para obter esses resultados. Outra opção útil para o desenvolvimento de métodos de headspace é o acessório da linha de transferência do headspace, que proporciona a capacidade de injeção por headspace e líquida no mesmo injetor sem alterar a configuração. A Tabela 1 contém consumíveis relevantes usados na análise. As soluções de calibração foram preparadas de acordo com o guia da FDA, com um ponto adicional preparado a 1 µg/mL.

Condições do método

| Condições do amostrador de headspace Agilent 7697A | |
|--|------------|
| Temperatura do forno | 130 °C |
| Temperatura do loop | 180 °C |
| Temperatura da linha de transferência | 185 °C |
| Equilíbrio do vial | 15 minutos |
| Duração da injeção | 1 minuto |
| Tamanho do vial (mL) | 20 mL |
| Agitação do vial | Nível 5 |
| Modo de enchimento | Padrão |
| Pressão de enchimento | 15 psi |
| Modo de enchimento do loop | Padrão |

| Parâmetros do GC Agilent 8890 | |
|-------------------------------|--|
| Injetor (split/splitless) | Hélio |
| Temperatura | 220 °C |
| Modo | Divisão |
| Razão de split | 5:1 |
| Pressão de entrada (inicial) | 7,33 psi |
| Tipo do forno | Forno rápido 240V |
| Tempo de equilíbrio | 1 minuto |
| Programa do forno | 40 °C durante 0,5 minutos, 20 °C/min até 160 °C, 10 °C/min até 240 °C, manter por 2 minutos Tempo de ciclo do total: 16,5 minutos |
| Coluna | Agilent J&W DB-1701, 30 m × 250 µm, 1,0 µm |
| Modo | Fluxo constante |
| Fluxo | 1 mL/min |

| Condições do GC/MSD Agilent 5977 | |
|----------------------------------|--------------------------------------|
| Tipo de fonte | Extrator |
| Temperatura da fonte | 230 °C |
| Modo de filtros de massa | Monitoramento seletivo de íons (SIM) |
| NDMA <i>m/z</i> | 74,00 |
| NDEA <i>m/z</i> | 102 |
| Diâmetro das lentes | 6 mm |
| Temperatura quad | 150 °C |
| Espera do NDMA | 150 |
| Espera do NDEA | 150 |

Tabela 1. Consumíveis usados na análise.

| Descrição | Part Number |
|----------------------------|-------------|
| Vials do headspace (20 mL) | 5182-0837 |
| Tampas de vial | 5183-4477 |
| Liner do GC | 5190-2295 |
| Septo do GC | 5183-4759 |
| Coluna DB-1701 | 122-0733 |
| Lentes extratoras (6 mm) | G3870-20448 |

Resultados e discussão

As separações foram suficientes e os picos alvo são bem resolvidos a partir de espécies de solventes e matrizes. A Figura 1 mostra um exemplo de cromatograma.

Os tempos de retenção estão de acordo com os previstos nas normas da FDA. As Figuras 2A e 2B mostram sobreposições dos três pontos de calibração mais baixos (0,025, 0,05 e 0,1 μg) para NDMA e NDEA.

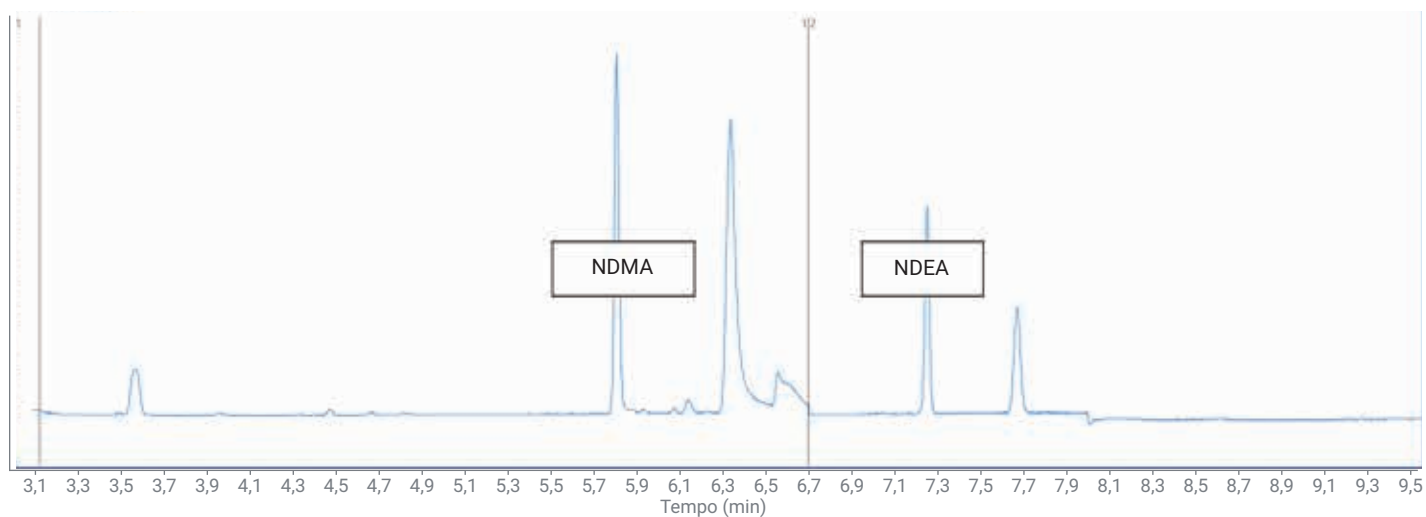


Figura 1. Cromatograma gerado no modo de íon selecionado de uma mistura padrão de 1 μg de NDMA e NDEA em NMP. O tempo de retenção de NDMA é de 5,80 minutos e o de NDEA é de 7,25 minutos.

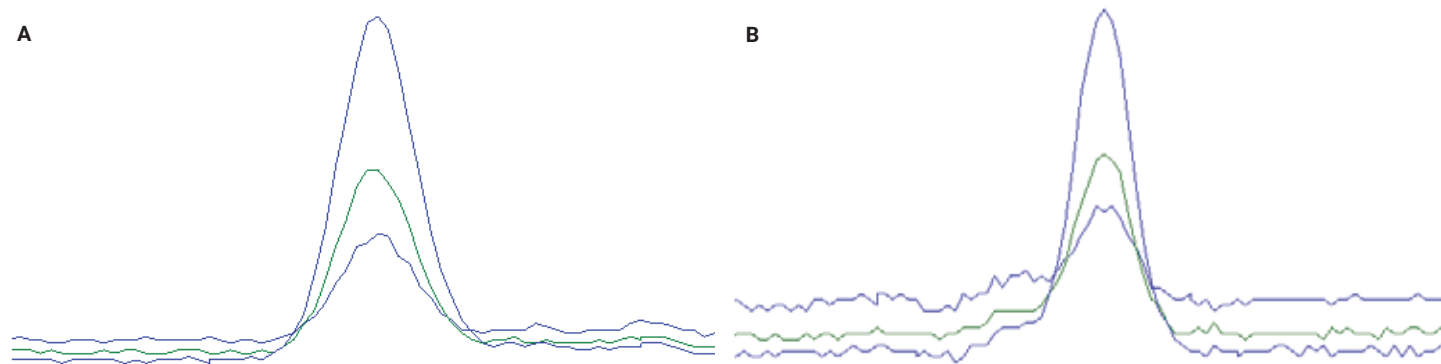


Figura 2. Sobreposições de NDMA (A) e NDEA (B) nos três pontos de calibração mais baixos.

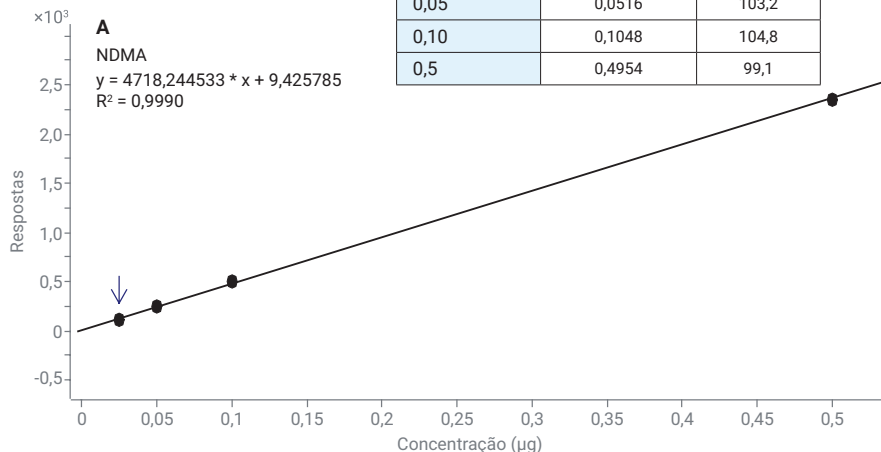
Duas curvas de calibração foram geradas usando o software de análise quantitativa Agilent MassHunter. Como os estudos de LOQ e de limite de detecção (LOD) foram realizados na extremidade inferior da curva, os resultados quantitativos foram processados contra uma curva de calibração entre os padrões de 0,025 e 0,5 µg. A curva de faixa completa se estende de 0,025 a 100 µg com uma correlação de linearidade superior a 0,995 com ponderação inversa. As Figuras 3A e 3B exibem as informações da curva de calibração de baixo nível obtidas neste instrumento. LOD é definido registrando a menor quantidade injetada na coluna que possui pelo menos uma relação sinal-ruído de 3:1. Nas calibrações de NDMA e NDEA, o ponto mais baixo de 0,025 µg excedeu essa configuração.

Após gerar curvas de calibração para cada composto, cinco padrões replicados foram analisados em três níveis dentro da curva. A tabela 2 resume os resultados dessa avaliação de reprodutibilidade.

A avaliação final do desempenho do método foi um teste de adição e recuperação na matriz. Os dois padrões mais baixos de calibração foram adicionados em vials triplicados, cada um contendo 500 mg de comprimidos de valsartan dissolvidos, visando as LOQs citadas. Uma amostra de lote foi analisada para mostrar não detectáveis para os compostos NDMA e NDEA antes do teste de adição e recuperação. A Tabela 3 mostra os resultados.

Estadísticas de calibração de NDMA

| Quantidade de padrão (µg) | Quantidade encontrada (µg) | % recuperada |
|---------------------------|----------------------------|--------------|
| 0,025 | 0,0235 | 92,9 |
| 0,05 | 0,0516 | 103,2 |
| 0,10 | 0,1048 | 104,8 |
| 0,5 | 0,4954 | 99,1 |



Estadísticas de calibração de NDEA

| Quantidade de padrão (µg) | Quantidade encontrada (µg) | % recuperada |
|---------------------------|----------------------------|--------------|
| 0,025 | 0,0240 | 96,0 |
| 0,05 | 0,0499 | 99,8 |
| 0,10 | 0,1050 | 105,0 |
| 0,5 | 0,4961 | 99,2 |

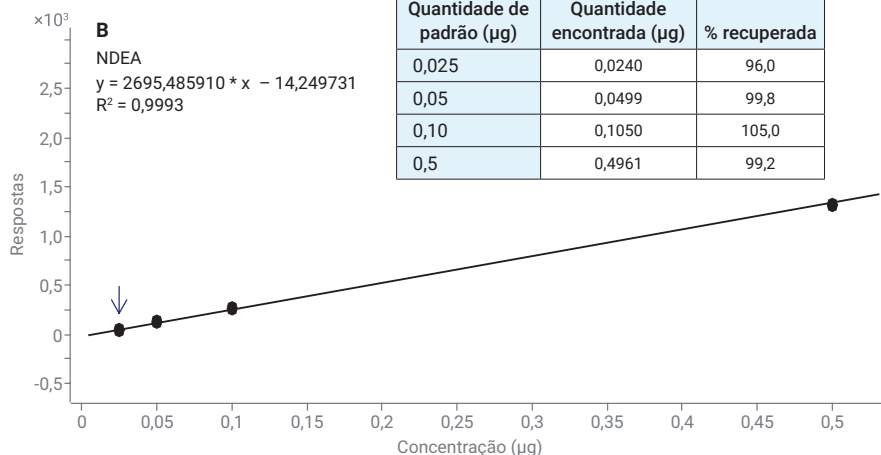


Figura 3. Regressão linear determinada para a faixa de calibração de baixo nível e a precisão dos padrões de calibração após o processamento contra a curva de calibração.

Tabela 2. Estatísticas para reprodutibilidade de padrões (n = 5).

| | 0,025 µg padrão | | 0,05 µg padrão | | 0,1 µg padrão | |
|-----------------------------|-----------------|--------|----------------|--------|---------------|--------|
| | NDMA | NDEA | NDMA | NDEA | NDMA | NDEA |
| Quantidade média encontrada | 0,0249 | 0,0248 | 0,0518 | 0,0506 | 0,1012 | 0,0988 |
| % de RSD | 4,95 | 2,89 | 6,24 | 0,7 | 2,65 | 4,07 |

Tabela 3. Determinações de LOQ de três amostras replicadas para os compostos alvo NDMA e NDEA.

| | LOQ alvo | Recuperação média | Recuperação média |
|------|----------|-------------------|-------------------|
| | 1 ppm | 0,05 ppm | 0,10 ppm |
| NDMA | 0,10 | 0,056 | 0,11 |
| NDEA | 0,05 | 0,057 | 0,11 |

Conclusão

O GC Agilent 8890 amplia o legado de desempenho robusto e reproduzível necessário para a verificação segura de medicamentos. O GC 8890 unido com o amostrador de headspace Agilent 7697A e um GC/MSD Agilent 5977 estão em conformidade com as diretrizes da FDA e com os valores de detecção esperados para a análise crítica de impurezas em produtos sartan.

Referências

1. Dados da Global Health Observatory (GHO). https://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/blood_pressure_prevalence_text/en/ – Acessado em 17 de junho de 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

Estas informações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.

© Agilent Technologies, Inc. 2019
Impresso nos EUA, 11 de setembro de 2019
5994-1132PTBR

