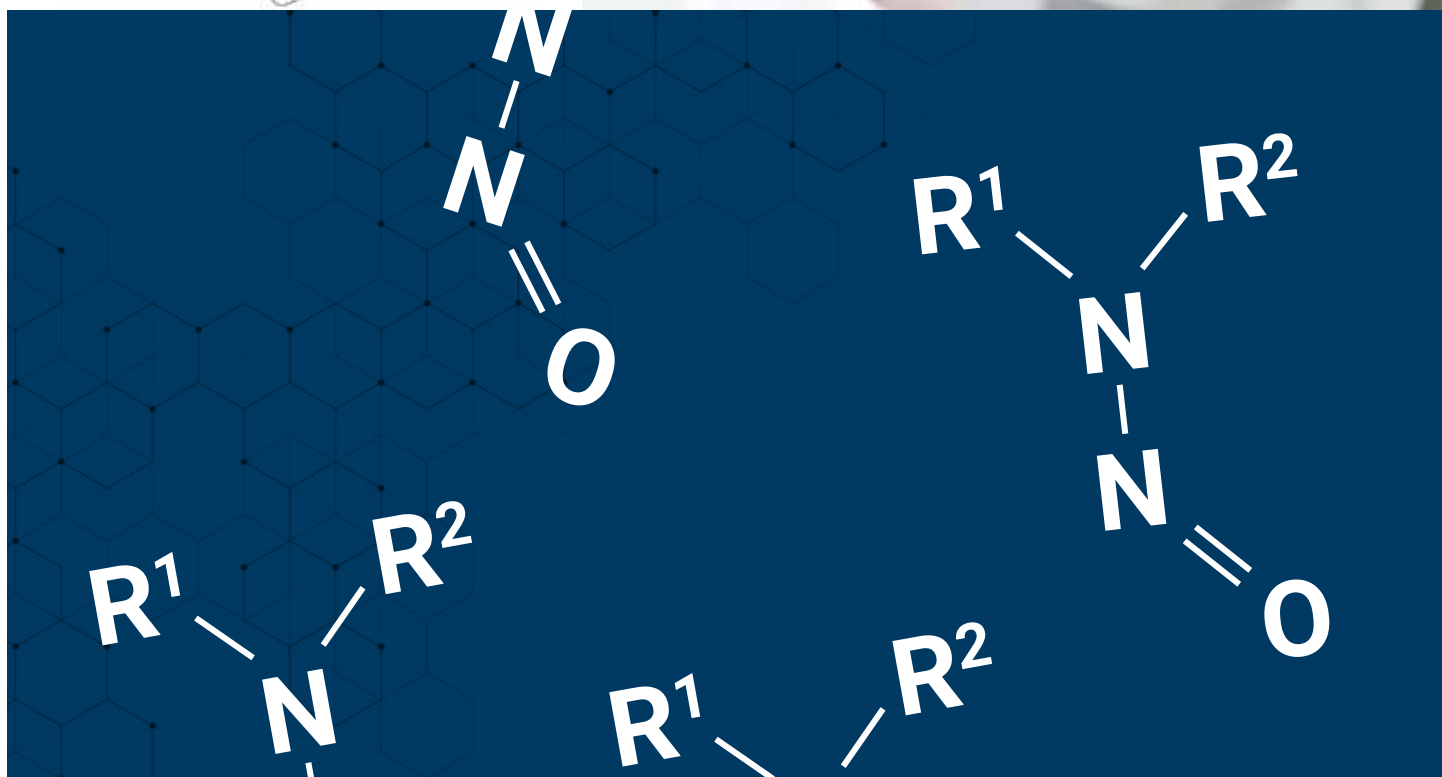


Analyse von Nitrosaminen in Pharmazeutika

Mittels Triple Quadrupol-LC/MS/MS und Quadrupol Time-of-Flight-LC/MS
Bestellinformation für Verbrauchsmaterialien



Mutogene Verunreinigungen in Wirkstoffen und Arzneimitteln – auch in kleinen Mengen – stellen eine erhebliche Gefahr für Gesundheit und Sicherheit dar und sind für Arzneimittelhersteller von großer Bedeutung. Mutogene Verunreinigungen können die DNA schädigen und zu Mutationen und gegebenenfalls zu Krebs führen. Den Aufsichtsbehörden weltweit ist es ein besonderes Anliegen, sich mit mutagenen Verunreinigungen im Spurenbereich zu befassen und diese zu regulieren. In diesem Rahmen haben sich die US-amerikanische FDA und andere Aufsichtsbehörden mit dem Problem der mutagenen Verunreinigungen in Pharmazeutika befasst.¹ Der Nachweis und die Quantifizierung von Nitrosaminen im Spurenbereich in Wirkstoffen und Arzneimitteln kann schwierig sein, da ein modernes und empfindliches Instrumentarium erforderlich ist, um die gesetzlichen Bestimmungen einzuhalten.

Die Liste der Wirkstoffe und Arzneimittel, in denen Nitrosamine bestimmt werden müssen, hat sich über die Angiotensin-II-Rezeptorblocker (ARB) oder Sartane hinaus erweitert und umfasst auch Metformin, ein orales Diabetesmedikament, und Histamin-2-Rezeptorantagonisten wie Ranitidin. Dies beweisen jüngst erfolgte Rückrufe für Metformin durch verschiedene Aufsichtsbehörden wie der US-amerikanischen Food and Drug Administration (FDA), dem Europäischen Direktorat für Arzneimittelqualität (EDQM) und der Health Sciences Authority (HSA) in Singapur aufgrund der Anwesenheit von *N*-Nitrosodimethylamin (NDMA). Die Verunreinigungen *N*-Nitrosodimethylamin (NDMA), *N*-Nitrosodiethylamin (NDEA), *N*-Nitrosodiisopropylamin (NDIPA), *N*-Nitrosoethylisopropylamin (NEIPA) und *N*-Nitrosodibutylamin (NDBA) sind als wahrscheinlich karzinogen eingestuft und man geht davon aus, dass sie aufgrund von chemischen Reaktionen, die während des Herstellungsprozesses des pharmazeutischen Wirkstoffs auftreten, in die Endprodukte gelangen.

Diese Verunreinigungen können entweder mit einem Single Quadrupol-GC/MS (GC/MSD), einem Triple Quadrupol-GC/MS/MS (GC/TQ) (1), einem Triple Quadrupol-LC/MS/MS (LC/TQ) oder einem Quadrupol Time-of-Flight-LC/MS (LC/Q-TOF) (2-7) nachgewiesen werden. LC/MS/MS-Methoden sind im Allgemeinen sehr spezifisch und äußerst empfindlich. Aus diesem Grund dienen sie als Ausgangspunkt für die Methodenentwicklung zum Nachweis und zur Quantifizierung von Verunreinigungen mit Nitrosaminen in Arzneimittelsubstanzen und Arzneimitteln wie Metformin, Valsartan, Losartan und Irbesartan.



Abbildung 1: Von links nach rechts: 1260 Infinity II LC-System, 6470B Triple Quadrupol-LC/MS, 6550 iFunnel Q-TOF-LC/MS und Ultivo Triple Quadrupol-LC/MS.

¹US FDA: www.fda.gov/media/131868/download Europarat: www.edqm.eu/en/news/omcls-release-three-methods-determination-ndma-sartans
Health Canada: healthycanadians.gc.ca/recall-alert-rappel-avis/hc-sc/2020/72963a-eng.php Taiwan FDA: www.fda.gov.tw/ENG/siteList.aspx?sid=10360

Säulenauswahl

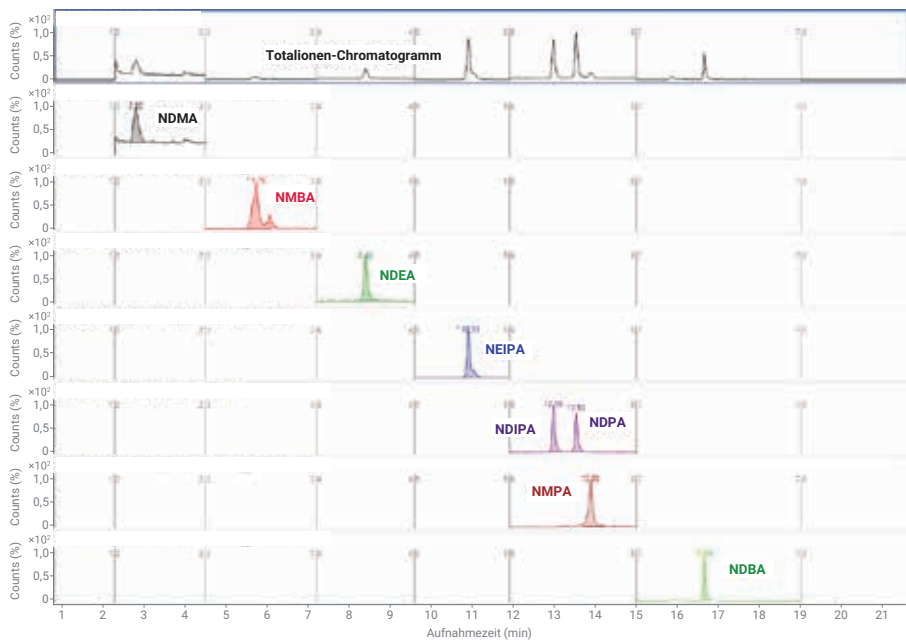
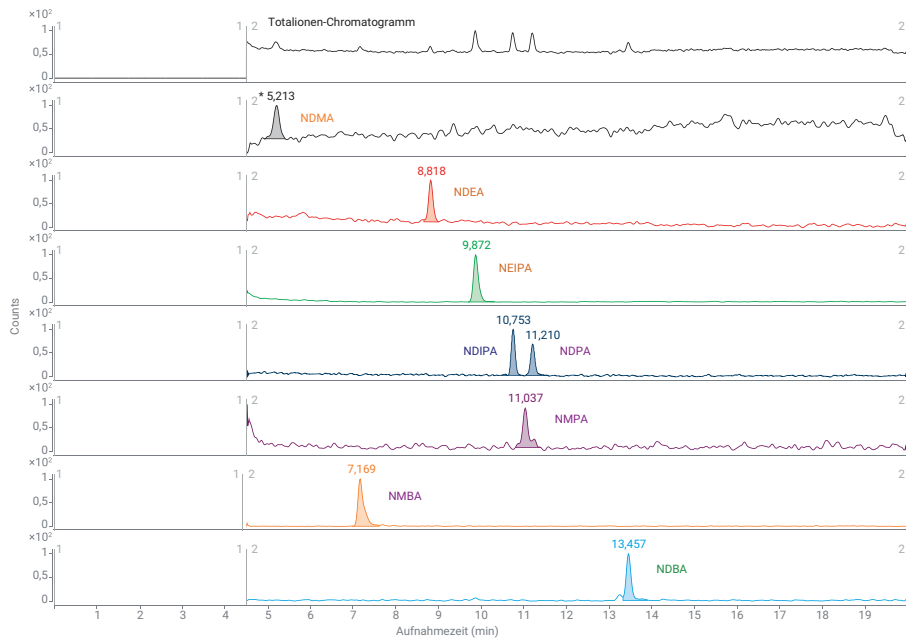
Der Pentafluorphenyl(PFP)-Ligand der **InfinityLab Poroshell 120 PFP-Säule**, die in Methode 2 verwendet wird (Tabelle 1) (8), bietet einen zu C18-Phasen orthogonalen Trennmechanismus. PFP-Phasen können Analyten auf der Grundlage geringfügiger Unterschiede in Struktur, Substitution und sterischem Zugang zu polaren Einheiten trennen. Die resultierende Selektivität für Positionsisomere, halogenierte Substanzen und polare Analyten ist bei der Analyse komplexer Gemische von besonderem Nutzen. Da es sich bei NDIPA und NDPA um Positionsisomere handelt, ist die InfinityLab Poroshell 120 PFP-Säule ideal geeignet und wird für diese Trennung aufgrund ihrer *Benutzerfreundlichkeit* empfohlen.

Die **InfinityLab Poroshell HPH-C18-Säule**, die in Methode 1 auch für diese Analyse verwendet wurde (Tabelle 1) (8), basiert auf der Hybridpartikeltechnologie, die die *Robustheit der Partikel in einem erweiterten pH-Bereich* verbessert, die Lebensdauer verlängert und weniger Säulenwechsel erforderlich macht. Bei der Verwendung dieser Säule hängen Langlebigkeit, Stabilität und Zuverlässigkeit Ihrer Methode jedoch von einer robusten Methodenentwicklung ab. Weil sich Retention und Selektivität ionisierbarer Verbindungen bei verschiedenen pH-Werten erheblich verändern können, ist es inzwischen mehr und mehr Standard, bei der Methodenentwicklung Analysen im unteren, mittleren und oberen pH-Bereich durchzuführen. Neben der Optimierung der Gradientenbedingungen zur erfolgreichen Trennung der Positionsisomere NDIPA und NDPA ist auch eine Optimierung der MS/MS-Parameter am Gerät erforderlich, um die Empfindlichkeit zu maximieren.

LC-Konfiguration und -Parameter

Tabelle 1: UHPLC-Konfiguration und Einstellungen. Weitere Einzelheiten finden Sie in der Application Note unter Nr. 8 in der Literaturliste.

Parameter	Wert							
	Methode 1	Methode 2						
Geräte	Agilent 1290 Infinity II Hochgeschwindigkeitspumpe (G7120A) Agilent 1290 Infinity II Mehrfachprobengeber (G7167B) Agilent 1290 Infinity II Thermostat für mehrere Säulen (G7116B) Agilent 1260 Infinity Diodenarray-Detektor (G1315C)	Agilent 1290 Infinity II Hochgeschwindigkeitspumpe (G7120A) Agilent 1290 Infinity II Mehrfachprobengeber (G7167B) Agilent 1290 Infinity II Thermostat für mehrere Säulen (G7116B) Agilent 1260 Infinity Diodenarray-Detektor (G1315C)						
Nadelspülung	Methanol:Wasser (80:20)	Methanol:Wasser (80:20)						
Probenverdünnung	Wasser:Methanol (95:5)	Methanol						
Temperatur des Mehrfachprobengebers	10 °C	10 °C						
Injektionsvolumen	20 µl	5 µl						
Analysesäule	Agilent InfinityLab Poroshell HPH-C18, 4,6 x 150 mm, 2,7 µm (Best-Nr. 693975-702(T))	Agilent InfinityLab Poroshell 120 PFP, 3,0 x 150 mm, 2,7 µm (Best-Nr. 693975-308)						
Säulentemp.	40 °C	40 °C						
Mobile Phase A	0,1 % Ameisensäure in Wasser	0,1 % Ameisensäure in Wasser						
Mobile Phase B	0,1 % Ameisensäure in Methanol	0,1 % Ameisensäure in Methanol						
Flussrate	0,5 ml/min	0,5 ml/min						
Gradient	Zeit (min)	% A	% B	Fluss (ml/min)	Zeit (min)	% A	% B	Fluss (ml/min)
	0	95	5	0,5	0	95	5	0,5
	2	95	5	0,5	3	95	5	0,5
	7	40	60	0,5	14	40	60	0,5
	10	25	75	0,5	17	10	90	0,5
	11	10	90	0,5	19	10	90	0,5
	16,5	10	90	0,5	19,1	95	5	0,5
	16,6	95	5	0,5	22	95	5	0,5
	20,0	95	5	0,5				
	Stoppszeit	20 Minuten			22 Minuten			
UV-Wellenlänge	230 nm			230 nm				



Einfache Auswahl und Bestellinformation

Diese Anleitung enthält Empfehlungen für Agilent-Produkte, die in dieser Analyse verwendet wurden, sodass Sie schnell finden, wonach Sie suchen. Klicken Sie auf die Links **MeineListe*** im folgenden Tabellenkopf, um Artikel der Tabelle Ihrer Liste „Produktfavoriten“ im Agilent Online Store hinzuzufügen. Geben Sie dann die Menge der benötigten Produkte ein. Ihre Liste bleibt unter „Produktfavoriten“ für Sie zur Verwendung bei künftigen Bestellungen erhalten.

Klicken Sie auf [MeineListe](#), um alle Artikel in dieser Tabelle zu Ihrer Liste der Produktfavoriten hinzuzufügen

Produktbeschreibung	Bestellnummer
Nitrosaminstandards und Lösemittel für die Nitrosaminanalytik	
Nitrosamin Standards (in Methylenchlorid)	US-113N-1
InfinityLab Methanol, reinst, für die LC/MS	5191-4497
InfinityLab Wasser, reinst, für die LC/MS	5191-4498
Ameisensäure, 5 ml	G2453-85060
Probenvorbereitung für die Nitrosaminanalytik	
Zentrifugenröhrchen mit Deckel, 15 ml, 50 St.	5610-2039
Captiva Econofilter, PVDF-Membran, Durchmesser 13 mm, Porengröße 0,2 µm, 1000 St.	5190-5261
Captiva Premium-Spritzenfilter, PES-Membran, Durchmesser 15 mm, Porengröße 0,2 µm, 100 St. (LC/MS-zertifiziert)	5190-5096¹
Captiva Premium-Spritzenfilter, Nylon-Membran, Durchmesser 15 mm, Porengröße 0,2 µm, 100 St. (HPLC-zertifiziert)	5190-5088²
Captiva Einwegspritze, 5 ml, 100 St.	9301-6476
Captiva Einwegspritze, 10 ml, 100 St.	9301-6474
LC-Säulen für die Nitrosaminanalytik	
InfinityLab Poroshell 120 PFP, 3,0 x 150 mm, 2,7 µm (empfohlen)	693975-308
InfinityLab Poroshell 120 PFP, Vorsäule, 3,0 mm, 2,7 µm (empfohlen)	823750-915
InfinityLab Poroshell HPH-C18, 4,6 x 150 mm, 2,7 µm	693975-702
InfinityLab Poroshell HPH-C18, 4,6 mm, 2,7 µm, UHPLC-Vorsäule, 3 St.	820750-922
LC-Zubehör für die Nitrosaminanalytik	
InfinityLab Quick Connect-Einheit, 0,12 x 105 mm, für Säuleneinlassverbindung für UHPLC	5067-5957
InfinityLab Quick Connect-Einheit, 0,17 x 105 mm, für Säuleneinlassverbindung für UHPLC	5067-6166
InfinityLab Quick Turn Fitting, für Säulenauslass	5067-5966
Quick Turn Kapillare, 0,12 x 280 mm, zur Verbindung von Säule zum Detektor	5500-1191
Kit aus Stay Safe Verschlusskappe GL45, mit 4 Anschlüssen und Abfallbehälter, 6 l	5043-1221
Aktivkohlefilter mit Zeitstreifen für den Abfallbehälter	5043-1193
InfinityLab Stay Safe Verschlusskappe, Starterkit	5043-1222
Lösemiteleinlassfilter, Edelstahl, Porengröße 10 µm	01018-60025
InfinityLab Lösemittelfiltrationseinheit enthält Glasrichter (250 ml), Glas-Membranhalter, Glaskolben (1 l) und Aluminiumklammer	5191-6776³
Membran aus regenerierter Zellulose, 47 mm, 0,20 µm, 100 St.	5191-4340³



Probenflaschen und -verschlüsse für die Nitrosaminanalytik	
Probenflasche, Schraubverschluss, braun, mit Beschriftungsfeld, zertifiziert, 2 ml, 100 St. Probenflaschengröße: 12 x 32 mm (12mm-Deckel)	5182-0716
Schraubverschlusskappe, grün, vorgeschlitzt, PTFE/Silikon, 100 St. Deckelgröße: 12 mm	5183-2077
Probenflascheneinsatz, 250 µl, deaktiviertes Glas mit Polymerfüßen, 100 St.	5181-8872
MS-Zubehör für die Nitrosaminanalytik	
APCI-Nadel-Ersatzkit	G1946-68704
APCI-Nadel	G1960-20030
Fast Switch-Kapillare, 0,6 mm	G1960-80060



* Verwenden Sie „MeineListe“ zum ersten Mal? Sie werden gebeten, zur Verifizierung des Kontos Ihre E-Mail-Adresse einzugeben. Wenn Sie bereits über ein Agilent Konto verfügen, können Sie sich einfach anmelden. Wenn Sie noch kein Agilent Konto eingerichtet haben, müssen Sie sich [für eines registrieren](#). Diese Funktion ist nur in Ländern aktiv, in denen E-Commerce möglich ist. Alle Artikel können auch über die üblichen Verkaufs- und Vertriebskanäle bestellt werden.

¹ Bei ähnlicher Leistung wie die der PVDF-Membran hat diese Membran eine geringere Proteinbindung und eignet sich damit optimal für die Proteinanalyse. Erhältlich in einer kleineren Packungsgröße (100 St.) und LC/MS-zertifiziert.

² Ideal für allgemeine Filtrationszwecke. Sollte nicht zur Proteinanalyse verwendet werden. Erhältlich in einer kleineren Packungsgröße (100 St.) und HPLC-zertifiziert.

³ Lösemittelfiltrationseinheit und dazugehörige Filtermembranen werden nicht für den Gebrauch mit reinsten InfinityLab LC/MS-Lösemitteln empfohlen.

Literatur

1. Nitrosamines analysis in pharmaceuticals using single quadrupole GC/MS and triple quadrupole GC/MS/MS, Bestellinformation für Verbrauchsmaterialien, Agilent Publikation ([5994-2979EN](#))
2. Nitrosamine Impurities Application Guide – Confidently detect and quantify mutagenic impurities in APIs and Drug Products ([5994-2393EN](#))
3. Determination of a Genotoxic NDMA Impurity Using the High-Resolution Agilent 6546 LC/Q-TOF in Ranitidine Drug Substance and Drug Products ([5994-1626EN](#))
4. Simultaneous Determination of Eight Nitrosamine Impurities in Metformin Using the Agilent 6470 Triple Quadrupole LC/MS ([5994-2286EN](#))
5. Determination of Nitrosamine Impurities Using the Ultivo Triple Quadrupole LC/MS ([5994-1383EN](#))
6. Determination of NDMA Impurity in Ranitidine Using the Agilent 6470 Triple Quadrupole LC/MS ([5994-1668EN](#))
7. Determination of Nitrosamine Impurities Using the High-Resolution Agilent 6546 LC/Q-TOF ([5994-1372EN](#))
8. Simultaneous Determination of Eight Nitrosamine Impurities in Metformin Extended-Release Tablets Using the Agilent 6470 Triple Quadrupole LC/MS ([5994-2533EN](#))

Agilent Chemical Standards

Suchen Sie qualitativ hochwertige Standards für andere Applikationen? [In unserem Katalog mit 5000 chemischen Standards](#) finden Sie die besten Standards für Ihre Methode, Ihre Applikation oder Ihren Arbeitsablauf. Sie können den richtigen Katalogstandard nicht finden? Auf unserer Website gibt es eine automatisierte Angebotsfunktion für kundenspezifische Standards, die Ihnen hilft, den Standard zu entwickeln, der Ihren Anforderungen entspricht.

Agilent LC-Auswahlhilfe

Sie suchen nach einer LC-Säule, die sich für Ihre Applikation am besten eignet? Verwenden Sie die [LC-Säulen-Auswahlhilfe](#) von Agilent, um die optimale LC-Säule auszuwählen.

Agilent CrossLab: Echte Erkenntnisse, echte Ergebnisse

CrossLab geht über die Geräte hinaus und bietet Ihnen Services, Verbrauchsmaterialien und laborweites Ressourcenmanagement. Auf diese Weise kann Ihr Labor die Effizienz steigern, den Betrieb optimieren, die Betriebszeit der Geräte verlängern, die Anwenderfertigkeiten weiterentwickeln und vieles mehr.

Erfahren Sie mehr über Agilent CrossLab und sehen Sie sich an, wie Erkenntnisse zu optimalen Ergebnissen führen:

www.agilent.com/crosslab

Hier finden Sie Ihr Agilent Kundeninformationszentrum in Ihrem Land:

www.agilent.com/chem/contactus

Hier erhalten Sie Antworten auf Ihre technischen Fragen und Zugang zu den Ressourcen der Agilent Community:

community.agilent.com

Deutschland

0800-603 1000

CustomerCare_Germany@agilent.com

Europa

info_agilent@agilent.com

Asien/Pazifik

inquiry_Isca@agilent.com

Änderungen vorbehalten.

RA44239.5764236111

© Agilent Technologies, Inc. 2021
Veröffentlicht in den USA, 10. März 2021
5994-2977DEE

Agilent
CrossLab
From Insight to Outcome

 **Agilent**
Trusted Answers