Análisis de nitrosaminas en fármacos

Las impurezas mutagénicas de fármacos e ingredientes farmacéuticos activos suponen un riesgo significativo para la salud y la seguridad (incluso en pequeñas cantidades), por lo que son una importante fuente de preocupación para los laboratorios farmacéuticos. Estas impurezas mutagénicas pueden dañar el ADN, produciendo mutaciones y, potencialmente, cáncer.

Los esfuerzos para tratar y controlar la presencia de niveles de trazas de impurezas mutagénicas son de especial preocupación para los organismos de regulación internacionales. Debido a ello, la FDA estadounidense y otros organismos de regulación han adoptado medidas para tratar el problema de las impurezas mutagénicas en los fármacos. La detección y cuantificación de estas trazas de nitrosaminas en fármacos e ingredientes farmacéuticos activos puede resultar difícil, necesitándose el uso de herramientas avanzadas y sensibles para cumplir los requisitos reglamentarios.

La lista de fármacos e ingredientes farmacéuticos activos para la determinación de nitrosaminas se ha ampliado más allá de los fármacos de sartán bloqueadores de los receptores de angiotensina II (BRA) e incluyen la metformina, un fármaco oral para la diabetes, y los agonistas de los receptores de histamina-2, como la ranitidina. Prueba de ello son las recientes retiradas de metformina por distintos organismos reguladores, como la FDA (Food & Drug Administration) estadounidense, el Directorio Europeo para la Calidad de los Medicamentos (EDQM) y la Health Sciences Authority (HSA) de Singapur, debido a la presencia de N-nitroso-dimetilamina (NDMA). Estas impurezas: N-nitrosodimetilamina (NDMA), N-nitrosodietilamina (NDEA), N-nitrosodiisopropilamina (NDIPA), N-nitrosoetilisopropilamina (NEIPA) y N-nitrosodibutilamina (NDBA) están clasificadas como probables carcinógenos humanos y se considera que se han introducido en los productos finales debido a reacciones químicas que tienen lugar durante el proceso de fabricación de ingredientes farmacéuticos activos.

Estas impurezas se pueden detectar utilizando un sistema GC/MS de cuadrupolo simple (GC/MSD) o GC/MS/MS de triple cuadrupolo (GC/TQ), LC/MS/MS de triple cuadrupolo (LC/TQ) o LC/MS de cuadrupolo tiempo de vuelo (LC/Q-TOF). Los métodos basados en LC/MS/MS son generalmente muy específicos y muy sensibles. Por este motivo, han servido como base para el desarrollo de métodos para detectar y cuantificar impurezas de nitrosaminas en ingredientes farmacéuticos activos y en fármacos tales como metformina, valsartán, losartán e irbesartán.

Opciones para las columnas- ¿Qué nos ofrece Agilent?

El ligando pentafluorofenil (PFP) de la columna InfinityLab Poroshell 120 PFP usada en el aporta un mecanismo de separación ortogonal con las fases C18. Las fases PFP permiten separar analitos en función de pequeñas diferencias de estructura, sustitución y acceso estérico de las fracciones polares. La selectividad resultante para isómeros posicionales, compuestos halogenados y analitos polares resulta especialmente útil a la hora de analizar mezclas complejas. Dado que NDIPA y NDPA son isómeros posicionales, InfinityLab Poroshell 120 PFP es la columna recomendada ideal para esta separación por su facilidad de uso. La columna InfinityLab Poroshell HPH-C18, incorpora una tecnología híbrida de partícula que mejora la robustez general de la partícula a un pH ampliado, lo que permite vidas útiles prolongadas y menos cambios de columna. Sin embargo, cuando se use esta columna, resulta crucial disponer de un proceso de desarrollo de métodos robusto para garantizar que los métodos sean duraderos, estables y fiables. Dado que la retención y la selectividad de los compuestos ionizables pueden variar notablemente en función del pH, la realización de análisis con valores de pH bajos, medios y altos se está convirtiendo en una práctica habitual durante el desarrollo de métodos. Además de la optimización de las condiciones del gradiente, y con el fin de conseguir la separación entre los isómeros posicionales NDIPA y NDPA, también es necesario optimizar los parámetros de MS/MS del instrumento para conseguir la máxima sensibilidad.

Configuración y parámetros de LC- ¿Cómo se recomienda trabajar?

Parámetro	Valor	
	Método 1	**Método 2**
Instrumentos	Bomba de alta velocidad Agilent 1290 Infinity II (G7120A) Muestreador múltiple Agilent 1290 Infinity II (G7167B) Termostato multicolumna Agilent 1290 Infinity II (G7116B) Detector de diodo array Agilent 1260 Infinity (G1315C)	Bomba de alta velocidad Agilent 1290 Infinity II (G7120A) Muestreador múltiple Agilent 1290 Infinity II (G7167B) Termostato multicolumna Agilent 1290 Infinity II (G7116B) Detector de diodo array Agilent 1260 Infinity (G1315C)
Lavado de la aguja	Metanol: agua (80:20)	Metanol: agua (80:20)
Diluyente de la muestra	Agua: metanol (95:5)	Metanol
Temp. del muestreador múltiple	10 °C	10 °C
Volumen de inyección	20 µl	5 µl
Columna analítica	Agilent InfinityLab Poroshell HPH-C18, 4,6 × 150 mm, 2,7 µm (ref. 693975-702(T))	Agilent InfinityLab Poroshell 120 PFP 3,0 × 150 mm, 2,7 µm (ref. 693975-308)
Temp. columna	40 °C	40 °C
Fase móvil A	Ácido fórmico al 0,1 % en agua	Ácido fórmico al 0,1 % en agua
Fase móvil B	Ácido fórmico al 0,1 % en metanol	Ácido fórmico al 0,1 % en metanol
Flujo	0,5 ml/min	0,5 ml/min
Gradiente	**Tiempo (min) / % A / % B / Flujo (ml/min)** 0 / 95 / 5 / 0,5 2 / 95 / 5 / 0,5 7 / 40 / 60 / 0,5 10 / 25 / 75 / 0,5 11 / 10 / 90 / 0,5 16,5 / 10 / 90 / 0,5 16,6 / 95 / 5 / 0,5 20,0 / 95 / 5 / 0,5	**Tiempo (min) / % A / % B / Flujo (ml/min)** 0 / 95 / 5 / 0,5 3 / 95 / 5 / 0,5 14 / 40 / 60 / 0,5 17 / 10 / 90 / 0,5 19 / 10 / 90 / 0,5 19,1 / 95 / 5 / 0,5 22 / 95 / 5 / 0,5
Tiempo de parada	20 minutos	22 minutos
Longitud de onda UV	230 nm	230 nm

Sencilla selección e información para pedidos

En esta guía se ofrecen recomendaciones para productos de Agilent usados en el análisis de nitrosaminas, de modo que pueda encontrar rápidamente lo que busca.

Descripción del producto	Referencia
Patrones de nitrosaminas y disolventes	
Patrones de nitrosaminas (en cloruro de metileno)	US-113N-1
Metanol ultrapuro para LC/MS InfinityLab	5191-4497
Agua ultrapura para LC/MS InfinityLab	5191-4498
Ácido fórmico, 5 ml	G2453-85060
Nitrosamina - Preparación de muestras	
Tubos de centrífuga de 15 ml y tapas, 50/paq.	5610-2039
Econofiltro Captiva, membrana de PVDF, 13 mm de diámetro, 0,2 µm de tamaño de poro, 1.000/paq.	5190-5261
Filtro de jeringa Captiva Premium, membrana de PES, 15 mm de diámetro, 0,2 µm de tamaño de poro, 100/paq. (certificado para LC/MS)	5190-5096[1]
Filtro de jeringa Captiva Premium, membrana de nylon, 15 mm de diámetro, 0,2 µm de tamaño de poro, 100/paq. (certificado para HPLC)	5190-5088[2]
Jeringa desechable Captiva, 5 ml, 100/paq.	9301-6476
Jeringa desechable Captiva, 10 ml, 100/paq.	9301-6474
Nitrosamina - Columna para LC	
InfinityLab Poroshell 120 PFP, 3,0 × 150 mm, 2,7 µm (recomendada)	693975-308
Precolumna InfinityLab Poroshell 120 PFP, 3,0 mm, 2,7 µm (recomendada)	823750-915
InfinityLab Poroshell HPH-C18, 4,6 × 150 mm, 2,7 µm	693975-702
InfinityLab Poroshell HPH-C18, 4,6 mm, 2,7 µm, precolumna para UHPLC, 3/paq.	820750-922
Nitrosamina - Consumibles para LC	
Conjunto de conexión rápida InfinityLab, 0,12 x 105 mm, para conexión de inyector de la columna en UHPLC	5067-5957
Conjunto de conexión rápida InfinityLab, 0,17 x 105 mm, para conexión de inyector de la columna en UHPLC	5067-6166
Conector de giro rápido InfinityLab, para salida de la columna	5067-5966
Capilar de giro rápido, 0,12 x 280 mm, para la conexión de la columna al detector	5500-1191
Kit de tapa de residuos Stay Safe GL45 con 4 puertos y depósito de residuos de 6 l	5043-1221
Filtro de carbón con lector de tiempo para el depósito de residuos	5043-1193
Kit de iniciación de tapas de disolvente InfinityLab Stay Safe	5043-1222
Filtro de entrada de disolvente de acero inoxidable, tamaño de poro de 10 µm	01018-60025
El dispositivo de filtrado de disolvente InfinityLab incluye embudo de vidrio, 250 ml, base de vidrio de soporte de membrana, matraz de vidrio, 1 l y abrazadera de aluminio	5191-6776[3]
Membrana de celulosa regenerada de 47 mm, 0,20 µm, 100/paq.	5191-4340[3]

Nitrosaminas - Viales y tapones	
Vial, tapón de rosca, ámbar, zona de escritura, certificado, 2 ml, 100/paq. Tamaño del vial: 12 × 32 mm (tapón de 12 mm)	5182-0716
Tapón, de rosca, verde, de PTFE/silicona prerranurado, 100/paq. Tamaño del tapón: 12 mm	5183-2077
Inserto de vial, 250 µl, vidrio desactivado con pies de polímero, 100/paq 5	5181-8872
Nitrosaminas - Consumibles para MS	
Kit de repuesto de agujas APCI	G1946-68704
Aguja APCI	G1960-20030
Capilar, intercambio rápido, 0,6 mm	G1960-80060