

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ АПРОБАЦИЯ МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРИМЕСЕЙ НИТРОЗАМИНОВ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЯХ ВАЛСАРТАНА, ЛОЗАРТАНА И ИРБЕСАРТАНА

Хорольский Михаил Дмитриевич

студент, Первый Государственный Медицинский Университет им. И.М. Сеченова
(Сеченовский Университет), РФ, г. Москва

Введение

В 2018 году в лекарственных препаратах валсартана было обнаружено содержание неидентифицируемого компонента. Проведенные исследования установили принадлежность обнаруженных соединений к классу потенциально генотоксичных примесей нитрозаминов [1].

Обнаружение примесей нитрозаминов в лекарственных препаратах валсартана повлекло за собой ряд исследований, направленных на изучение и разработку методик определения этих соединений при проведении рутинного контроля качества. Было установлено, что методики, часто применяемые в рутинном контроле качества лекарственных средств (ЛС) не обладают достаточной чувствительностью и селективностью для определения примесей нитрозаминов [2].

Решением проблемы недостаточной чувствительности методик определения нитрозаминов является использование методов масс-спектрометрического детектирования. На официальном сайте FDA были опубликованы методики ГХ-МС, основанные на использовании масс-спектрометрического детектирования [3].

Целью данной работы являлась экспериментальная апробация основных существующих методик определения примесей нитрозаминов в лекарственных средствах валсартана, лозартана и ирбесартана.

Материалы и методы

Методика ГХ-МС (прямой ввод)

Определение примесей НДМА, НДЕА методом ГХ-МС (прямой ввод) проводили на приборе Agilent 7890A (детектор MSD 5975C). Колонка - Agilent HP-InnoWAX 30m, 0.32 mm, 0.5 мкм.

Условия хроматографического разделения и приготовления растворов описаны на официальном сайте FDA [4].

Методика ГХ-МС (Headspace)

Определение примесей НДМА, НДЕА методом ГХ-МС (Headspace) проводили на приборе Agilent 7890A (детектор MSD 5975C), с использованием парофазного пробоотборника Agilent HS7694E. Колонка - Agilent DB-1701, 30m, 0.25mm, 1мкм.

Условия хроматографического разделения и приготовления растворов описаны на официальном сайте FDA [5].

Результаты и обсуждение

Методика ГХ-МС прямой ввод отличается простотой выполнения, а также отсутствием необходимости использования парофазного пробоотборника.

Первым этапом оценки методики ГХ-МС (прямой ввод) являлось подтверждение условий хроматографического разделения и отработка параметров масс-спектрометрического детектирования. Исследования проводились на стандартном растворе нитрозаминов (НДМА, НДЕА) с концентрацией 1 мкг/мл. Характеристичные ионы указанных соединений соответствовали заявленным.

Следующим этапом оценки являлось определение специфичности и предела количественного определения апробируемой методики. Специфичность методики оценивалась анализом модельной смеси с концентрацией нитрозаминов на уровне LOQ (предел количественного определения). Основными критериями приемлемости методики по показателю специфичность являлось отсутствие посторонних пиков в месте выхода нитрозаминов. Хроматограмма модельной смеси нитрозаминов с концентрацией нитрозаминов 0,03 мкг/мл представлены на рис.1.

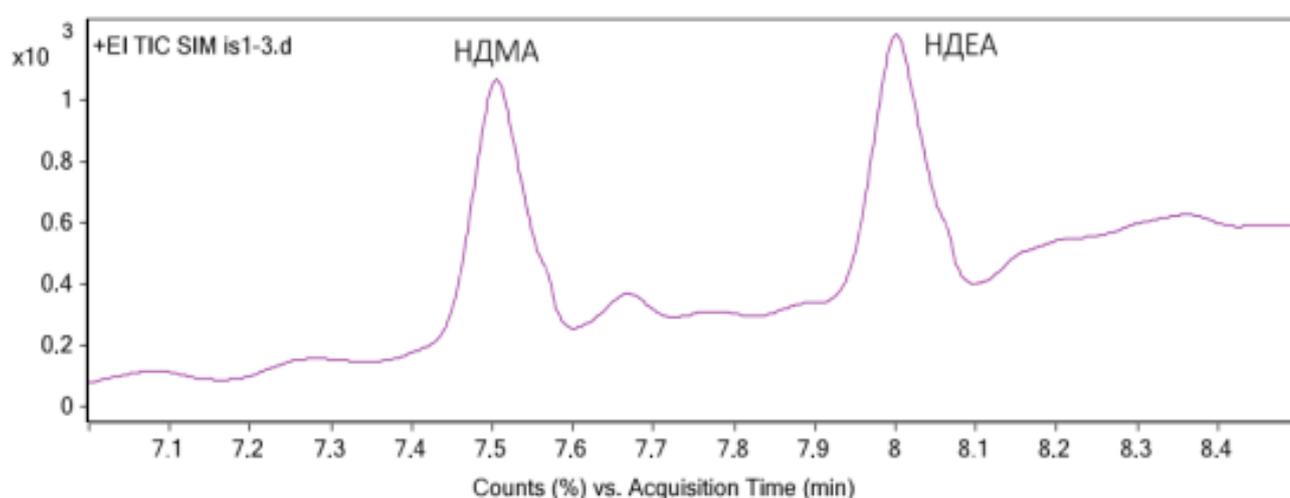


Рисунок 1. Хроматограмма модельной смеси с концентрацией нитрозаминов 0,03 мкг/мл.

Высокая концентрация фармацевтической субстанции не влияет на показатель специфичности методики, однако приводит к приостановке анализа из-за необходимости промывки шприца инжектора, а также замены септы и лайнера. Помимо этого, даже после длительных процедур очистки хроматографической колонки, на хроматограммах оставались пики фармацевтических субстанций.

Апробация методики ГХ-МС (headspace) также состояла из нескольких этапов. На первом этапе проводилась отработка условий хроматографического разделения, а также проверка параметров масс-спектрометрического детектирования.

Следующим этапом оценки методики являлось определение специфичности и предела количественного определения. Специфичность методики соответствовала всем критериям приемлемости, в то время как предел количественного определения был значительно ниже требуемого. На рис.2 изображена хроматограмма модельной смеси с концентрацией нитрозаминов 1 мкг/мл.

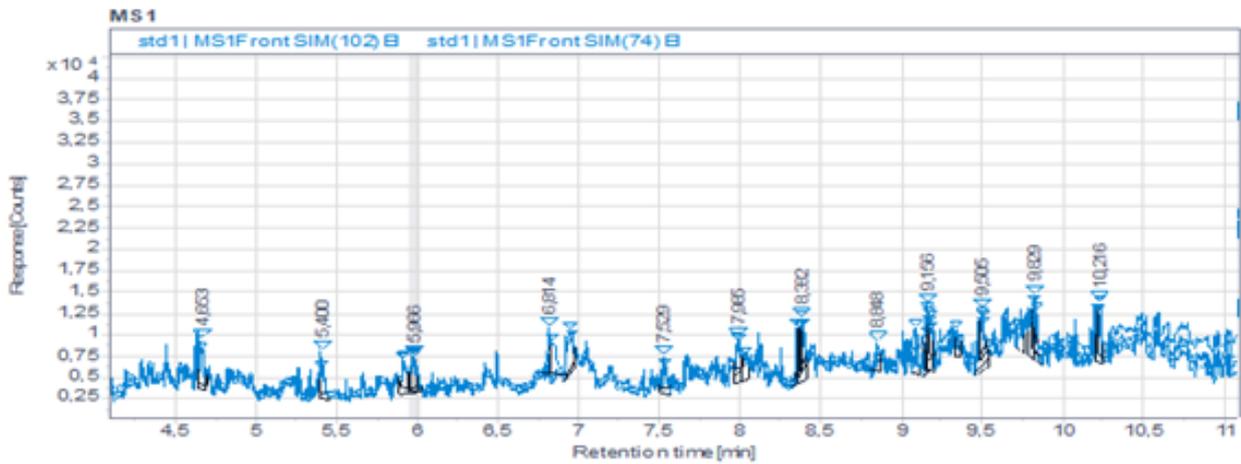


Рисунок 2. Хроматограмма модельной смеси с концентрацией нитрозаминов 1 мкг/мл.

На рис.2. видно, что методика ГХ-МС (headspace) не обладает требуемой чувствительностью. Нами была проведена доработка методики с использованием временных интервалов. На рис 3. Изображена хроматограмма модельной смеси фармацевтической субстанции с концентрацией нитрозаминов 0,15 мкг/мл.

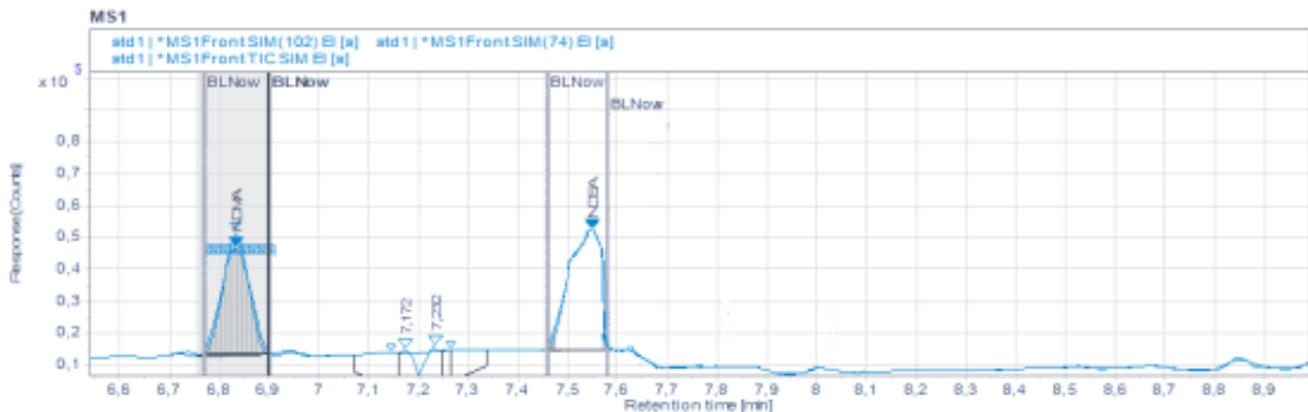


Рисунок 3. Хроматограмма модельной смеси с концентрацией нитрозаминов 0,15 мкг/мл.

Доработанная методика ГХ-МС (headspace) обладает достаточной чувствительностью и соответствует всем критериям приемлемости по показателю специфичность.

Выводы

Проведенная экспериментальная апробация методик определения примесей нитрозаминов с использованием метода ГХ-МС продемонстрировала возможность использования данной методики в рутинном контроле качества лекарственных средств.

Тем не менее, следует отметить, что использованием методики ГХ-МС требует постоянной замены расходных компонентов, методика ГХ-МС (headspace) соответствует критериям

приемлемости только при использовании временных переходов.

Список литературы

1. Brown JL. N-Nitrosamines. *Occup Med.* 1999 Oct-Dec;14(4):839-48. PMID: 10495488.
2. Tsutsumi T, Akiyama H, Demizu Y, Uchiyama N, Masada S, Tsuji G, Arai R, Abe Y, Hakamatsuka T, Izutsu KI, Goda Y, Okuda H. Analysis of an Impurity, N-Nitrosodimethylamine, in Valsartan Drug Substances and Associated Products Using GC-MS. *Biol Pharm Bull.* 2019 Apr 1;42(4):547-551. doi: 10.1248/bpb.b19-00006. Epub 2019 Feb 7. PMID: 30726781.
3. Information about Nitrosamine Impurities in Medications <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/information-about-nitrosamine-impurities-medications> (дата обращения: 13.12.2020)
4. GC/MS Headspace Method for Detection of NDMA in Valsartan Drug Substance and Drug Products <https://www.fda.gov/media/115965/download> (дата обращения: 13.12.2020)
5. Combined Direct Injection N-Nitrosodimethylamine (NDMA) and N-Nitrosodiethylamine (NDEA) Impurity Assay by <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/DrugSafety/UCM623578.pdf> (дата обращения: 13.12.2020)