



Application Note AN-S-401

Nitrit in Duloxetinhydrochlorid API

Ionenchromatographische Methode mit automatischer Probenanreicherung, Matrixeliminierung und UV/VIS-Detektion

Kürzlich veröffentlichte die FDA einen Leitfaden für Arzneimittelhersteller zur Kontrolle von Nitrosaminverunreinigungen in Medikamenten [1]. Die Anwesenheit von Nitrosamin in Arzneimitteln kann für Patienten riskant sein, da diese Verbindungen bereits in Spuren krebserregend sind. Durch die Kontrolle und Überwachung der Nitritkonzentration in pharmazeutischen Produkten und Rohstoffen kann die Bildung von Nitrosaminen jedoch vermieden werden. Die Entwicklung von Verfahren zur Reduzierung oder Eliminierung der Nitrosaminbildung erfordert empfindliche Analysemethoden zur Bestimmung von Nitrit in komplexen Matrices.

Dimethylamin wird bei der Synthese vieler Arzneimittel verwendet. Bei saurem pH-Wert reagiert Dimethylamin mit Nitrit unter Bildung von Nitrosaminen [2]. Duloxetinhydrochlorid ist ein pharmazeutischer Wirkstoff (API) gegen Depressionen und andere Erkrankungen des Nervensystems. Diese Application Note beschreibt die Analyse von Nitrit in Duloxetinhydrochlorid mittels Ionenchromatographie (IC) unter Verwendung einer Metrosep A Supp 10-Säule mit direkter UV/VIS-Detektion bei 215 nm. Für die Probenvorbereitung wird die intelligente Anreicherungstechnik mit Matrixeliminierung (MiPCT-ME) von Metrohm verwendet.

PROBEN UND STANDARDS

Duloxetinhydrochlorid wurde als Pulver von einem Pharmaunternehmen bezogen. Ungefähr 0,05 g Probe wurden genau abgewogen und in einen sauberen 10-ml-Messkolben mit 5,0 ml hochreinem Wasser (UPW) überführt. Der Inhalt wurde mit einem Vortex-Mischer gelöst (ca. 5 min) und mit UPW bis zur Marke aufgefüllt. Ein 0,1-ml-Aliquot von 1,0 mol/l Natriumhydroxid wurde zugegeben und der Inhalt gemischt. Die vorbereitete Probenlösung wurde mit einem 0,2-µm-Spritzenfilter filtriert und anschließend

durch eine IC-Ag-Probenvorbereitungskartusche geleitet, um Chloridionen zu entfernen. Bei der automatisierten Probenvorbereitung (MiPCT-ME) wurden 2 ml der Probenlösung angereichert und die Matrix mit 3 ml UPW entfernt.

Es wurde eine Einpunktkalibrierung mit 4 µg/L NO₂⁻ erstellt. Der Nitritstandard wurde aus einem 1000 mg/L NIST-zertifizierten Standard (Sigma TraceCERT Nr. 67276) hergestellt.

EXPERIMENTELL

Die vorbereitete Probenlösung wurde direkt mit **MiPCT-ME** (**Abbildung 1**) injiziert und mit den in **Tabelle 1** angegebenen Methodenparametern analysiert.

Die Anionen wurden auf einer Metrosep A Supp 10 - 250/4.0 Säule getrennt und der Hintergrund wurde durch sequentielle Suppression auf ein Minimum reduziert. Das UV/VIS-Detektorsignal bei 215 nm wurde aufgezeichnet. Die Gesamtaufzeit betrug 40 Minuten. Die Genauigkeit der Methode wurde überprüft, indem die Proben mit 4 µg/L NO₂⁻ aufgestockt und anschließend die Wiederfindung ausgewertet wurde.



Abbildung 1. Systemaufbau mit einem 940 Professional IC Vario (Mitte), 947 Professional UV/VIS Detector Vario SW (oben Mitte), 858 Professional Sample Processor (rechts) und MiPCT-ME, durchgeführt mit einer Metrosep A PCC 2 HC/4.0 und einem Dosino (links).

Tabelle 1. IC-Methodenparameter zur Bestimmung von Nitritverunreinigungen in Duloxetinhydrochlorid-API.

| Säule | Metrosep A Supp 10 - 250/4,0 |
|-------------------|---|
| Eluent | 5,0 mmol/L Natriumcarbonat 5,0 mmol/L Natriumhydroxid |
| Flussrate | 1,0 ml/min |
| Säulentemp. | 45 °C |
| Injektionsvolumen | 2 ml (Anreicherungsvolumen) |
| Detektion | UV-Detektion bei 215 nm |

Nitrit wurde in Duloxetinhydrochlorid gemäß der USP <621> mit einer chromatographischen Trennmethode

quantifiziert (Abbildung 2) [3].

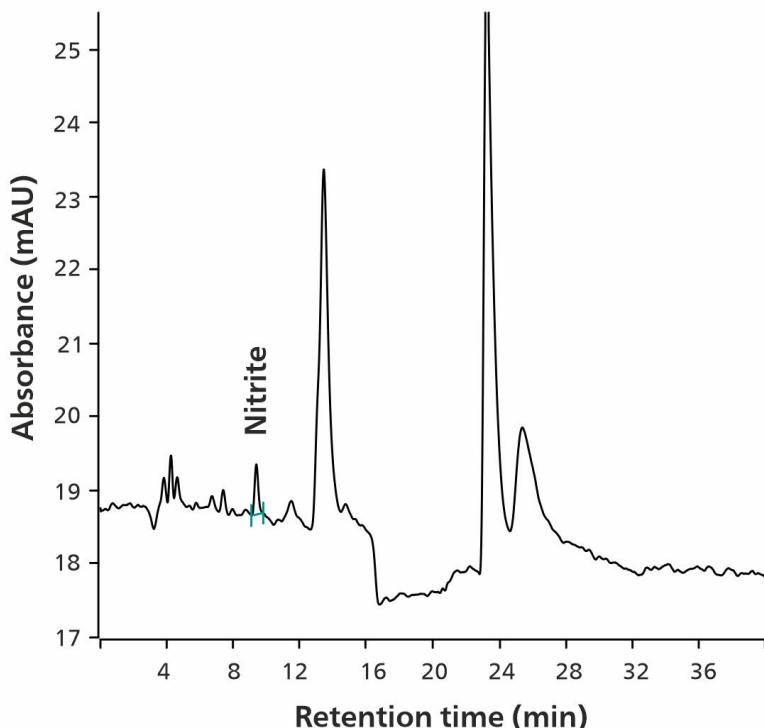


Abbildung 2. Chromatogramm von 177 µg/kg Nitrit in Duloxetinhydrochlorid.

Unter Verwendung des MiPCT-ME-Setups erwies sich die Methode als hochempfindlich und war in der Lage, Spuren von Nitrit in der Probenmatrix zu quantifizieren. Die Methodengenauigkeit, die mit

Hilfe der Aufstockungsversuche untersucht wurde, erreichte Wiederfindungsraten zwischen 80 und 120 %

FAZIT

Die vorgestellte IC-Methode mit der Metrosep A Supp 10-Säule kann zur Quantifizierung von Spuren von Nitrit in Duloxetinhydrochlorid gemäß USP <621> verwendet werden. Die hohe Empfindlichkeit wurde durch die Anreicherung der Probe erreicht und die störende Probenmatrix wurde mit einer Inline-

Matrixeliminierungstechnik entfernt. Dieses Verfahren ist präzise und robust, und im Gegensatz zu manuellen Anreicherungstechniken ist für diesen automatisierten Inline-Prozess kein zusätzlicher Arbeitsaufwand erforderlich.

REFERENZEN

1. UNS Ministerium für Gesundheit und menschliche Dienste, Lebensmittel- und Arzneimittelbehörde; Zentrum für Arzneimittelbewertung und -forschung (CDER). Kontrolle von Nitrosamin-Verunreinigungen in Humanarzneimitteln – Leitfaden für die Industrie. *Pharmazeutische Qualität/Herstellungsstandards/Aktuelle Gute Herstellungspraxis (CGMP) 2021.*
2. UNS Pharmakopöe. USP-NF Nitrosamin-Verunreinigungen. *Allgemeines Kapitel.* [https://doi.org/10.31003/USPNF_M15715_02_01.](https://doi.org/10.31003/USPNF_M15715_02_01)
3. 621 Chromatographie. [https://doi.org/10.31003/USPNF_M99380_01_01.](https://doi.org/10.31003/USPNF_M99380_01_01)

CONTACT

Metrohm Deutschland
In den Birken 3
70794 Filderstadt

info@metrohm.de

KONFIGURATION



940 Professional IC Vario ONE/SeS/PP

Der 940 Professional IC Vario ONE/SeS/PP ist das intelligente IC-Gerät mit **sequenzieller Suppression** und **Peristaltikpumpe** zur Suppressorregeneration. Das Gerät kann mit beliebigen Trenn- und Detektionsmethoden eingesetzt werden.

Typische Anwendungsgebiete:

- Anionen- oder Kationenbestimmungen mit sequenzieller Suppression und Leitfähigkeitsdetektion
- Spurenanalytik für Anionen oder Kationen
- Online-Monitoring für Anionen oder Kationen



947 Professional UV/VIS Detector Vario SW

Der intelligente Ein-Wellenlängen-Detektor, 947 Professional UV/VIS Detector Vario SW, ermöglicht die sichere und zuverlässige Quantifizierung von Substanzen, die im ultravioletten oder sichtbaren Bereich aktiv sind. Es kann eine Wellenlänge ausgewählt werden.



858 Professional Sample Processor – Pump

Der 858 Professional Sample Processor – Pump verarbeitet Proben von 500 µL bis 500 mL. Der Probentransfer erfolgt entweder mit der eingebauten bidirektionalen Zweikanal-Peristaltikpumpe oder mittels eines 800 Dosino.



Metrosep A Supp 10 - 250/4.0

Die Trennsäule Metrosep A Supp 10 - 250/4.0 basiert auf einem hochkapazitiven Polystyrol/Divinylbenzol-Copolymer mit einer Partikelgrösse von nur 4.6 µm. Die längste Säule der A-Supp-10-Familie bietet die grösste Selektivität und Flexibilität. Speziell bei längerer Chromatogrammdauer empfiehlt sich der Einsatz des MSM-HC. Auch auf dieser Trennsäule ermöglichen Änderungen in Temperatur, Fluss und Zusammensetzung des Eluenten verschiedenste Trennungen von Anionen.

Die Metrosep A Supp 10 - 250/4.0 besitzt eine sehr hohe Kapazität. Sie eignet sich für Proben hoher Ionenstärke, für komplexe Trennaufgaben und für Analysen von Proben, in denen sehr grosse Konzentrationsunterschiede zwischen den Einzelkomponenten bestehen.



Metrosep A PCC 2 HC/4.0

Für Anionenanreicherung und Matrixeliminierung. Die Vergrösserung des Packungsbetts erhöht die Kapazität der beiden vollständig aus PEEK gefertigten Anreicherungssäulen. Die hohe Kapazität wird vor allem dann benötigt, wenn Matrixeffekte eine Überladung der Anreicherungssäule verursachen könnten oder Proben mit hoher Ionenstärke analysiert werden sollen.