



Application Note AN-S-401

Nitrito in duloxetina cloridrato API

Metodo di cromatografia ionica con preconcentrazione automatizzata del campione, eliminazione della matrice e rilevamento UV/VIS

Recentemente, la FDA ha pubblicato un documento guida per i produttori farmaceutici riguardante il controllo delle impurità nitrosammine nei farmaci [1]. La presenza di nitrosammine nei farmaci può essere rischiosa per i pazienti poiché questi composti sono cancerogeni, anche a livello di tracce. Tuttavia, la formazione di nitrosammine può essere evitata controllando e monitorando la concentrazione di nitriti nei prodotti farmaceutici e nelle materie prime. Lo sviluppo di processi per ridurre o eliminare la formazione di nitrosammine richiede metodi analitici sensibili per la determinazione dei nitriti in matrici complesse.

La dimetilammina viene utilizzata durante la sintesi di molti prodotti farmaceutici. A pH acido, la dimetilammina reagisce con il nitrito per formare nitrosammine [2]. La duloxetina cloridrato è un principio farmaceutico attivo (API) contro la depressione e altre malattie del sistema nervoso. Questa Application Note descrive l'analisi del nitrito in duloxetina cloridrato con cromatografia ionica (IC) utilizzando una colonna Metrosep A Supp 10 con rilevamento UV/VIS diretto a 215 nm. Per la preparazione del campione viene utilizzata la tecnica di preconcentrazione intelligente Metrohm con eliminazione della matrice (MiPCT-ME).

CAMPIONI E STANDARDS

La duloxetina cloridrato è stata ricevuta sotto forma di polvere da un'azienda farmaceutica. Circa 0,05 g di campione sono stati pesati accuratamente e trasferiti in un matraccio volumetrico pulito da 10 ml contenente 5,0 ml di acqua ultrapura (UPW). Il contenuto è stato sciolto utilizzando un miscelatore vortex (circa 5 minuti) e riempito fino alla linea con UPW. È stata aggiunta un'aliquota da 0,1 mL di idrossido di sodio 1,0 mol/L e il contenuto è stato miscelato. La soluzione campione preparata è stata filtrata utilizzando un filtro per siringa da 0,2 µm e

quindi fatta passare attraverso una cartuccia per la preparazione del campione IC-Ag per rimuovere eventuali ioni cloruro. Con la preparazione automatizzata del campione (MiPCT-ME), 2 mL della soluzione campione sono stati preconcentrati e la matrice è stata eliminata utilizzando 3 mL di UPW.

È stata effettuata una calibrazione a punto singolo con 4 µg/L di NO₂ preparato da uno standard certificato NIST da 1000 mg/L (Sigma TraceCERT n. 67276).

ANALISI

La soluzione campione preparata è stata iniettata direttamente utilizzando MiPCT-ME (Figura 1) e analizzata utilizzando i parametri del metodo forniti nella **Tabella 1**.

I componenti anionici sono stati separati isocraticamente su una colonna Metrosep A Supp 10 - 250/4.0 e il fondo è stato ridotto al minimo con soppressione sequenziale. TÈ stato registrato il segnale del rilevatore UV/VIS a 215 nm. Il tempo di esecuzione totale è stato di 40 minuti. L'accuratezza del metodo è stata confermata da uno studio in cui i campioni sono stati arricchiti con 4 µg/L di NO₂⁻ e sono stati valutati i valori di recupero.



Figure 1. Configurazione strumentale comprendente un 940 Professional IC Vario (al centro), 947 Professional UV/VIS Detector Vario SW (in alto al centro), 858 Professional Sample Processor (a destra) e MiPCT-ME, eseguita con Metrosep A PCC 2 HC/4.0 e un Dosino (a sinistra).

Tabella 1. Parametri del metodo IC per la determinazione delle impurità dei nitriti nell'API duloxetina cloridrato.

Column	Metrosep A Supp 10 - 250/4.0
Eluent	5.0 mmol/L sodium carbonate 5.0 mmol/L sodium hydroxide
Flow rate	1.0 mL/min
Column temp.	45 °C
Injection volume	2 mL (preconcentration volume)
Detection	UV detection at 215 nm

RISULTATI

Nitrite was quantified in duloxetine hydrochloride with a chromatographic separation method as described in USP <621> (Figure 2) [3].

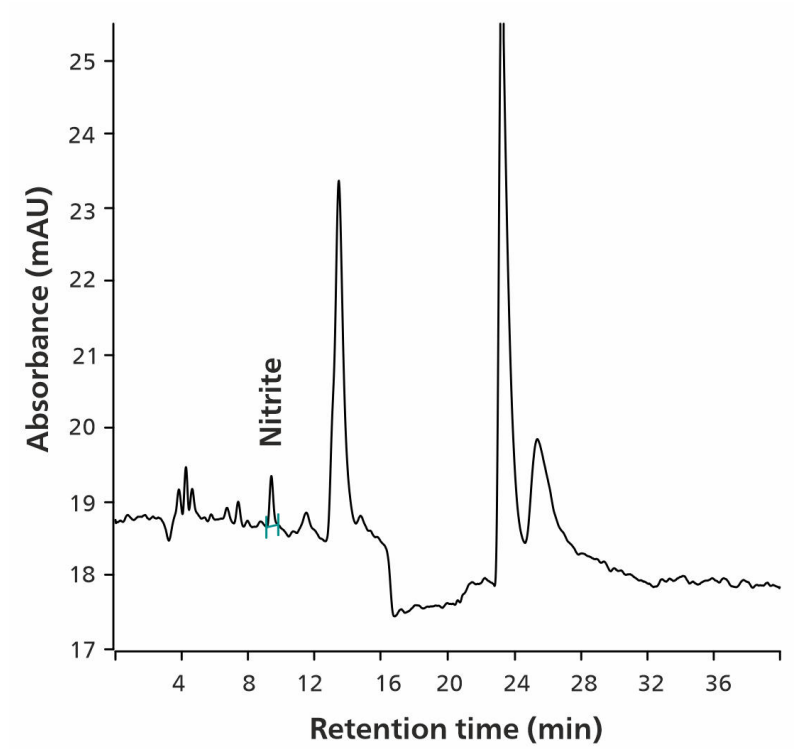


Figure 2. Cromatogramma di 177 µg/kg di nitrito in duloxetina cloridrato.

Utilizzando l'impostazione MiPCT-ME, il metodo si è rivelato altamente sensibile, in grado di quantificare i livelli in tracce di nitrito presenti nella matrice del campione. L'accuratezza del metodo, confermata dallo studio di spiking, ha raggiunto valori di recupero compresi tra l'80 e il 120%.

CONCLUSIONE

Il metodo IC presentato con la colonna Metrosep A Supp 10 può essere utilizzato per quantificare livelli in tracce di nitrito in duloxetine cloridrato secondo USP <621>. L'elevata sensibilità è stata ottenuta utilizzando la preconcentrazione e la matrice del campione interferente è stata eliminata con una

tecnica di eliminazione della matrice in linea. Questa procedura è accurata e robusta e, a differenza delle tecniche di preconcentrazione manuale, non è necessario alcun lavoro aggiuntivo per questo processo in linea automatizzato.

RIFERIMENTI

1. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration; Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Control of Nitrosamine Impurities in Human Drugs - Guidance for Industry. *Pharmaceutical Quality/Manufacturing Standards/ Current Good Manufacturing Practice (CGMP)* 2021.
2. U.S. Pharmacopeia. USP-NF Nitrosamine Impurities. *General chapter*. https://doi.org/10.31003/USPNF_M15715_02_01.
3. 621 Chromatography. https://doi.org/10.31003/USPNF_M99380_01_01.

CONTACT

Metrohm Italiana Srl
Via G. Di Vittorio, 5
21040 Origgio (VA)

info@metrohm.it

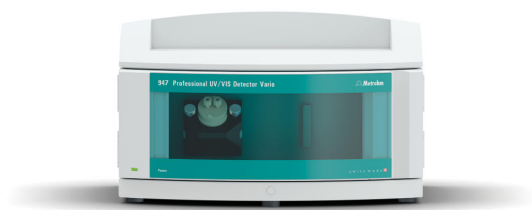
CONFIGURAZIONE



940 Professional IC Vario ONE/SeS/PP

Il 940 Professional IC Vario ONE/SeS/PP è l'intelligente strumento IC con **soppressione sequenziale e pompa peristaltica** per la rigenerazione del soppressore. Lo strumento può essere impiegato con qualsiasi metodo di separazione e di rilevamento. Campi d'impiego tipici:

- Determinazione di anioni o cationi con soppressione sequenziale e rilevamento della conduttività
- Analisi delle tracce per anioni o cationi
- Monitoraggio in linea per anioni o cationi



947 Professional UV/VIS Detector Vario SW

Il rilevatore intelligente di lunghezza d'onda singola 947 Professional UV/VIS Detector Vario SW consente di quantificare in modo sicuro e affidabile le sostanze attive nel campo ultravioletto o visibile. È possibile selezionare una lunghezza d'onda.



858 Professional Sample Processor – Pump

L'858 Professional Sample Processor – Pump per il trattamento di campioni con volumi compresi tra 500 µL e 500 mL. Il trasferimento del campione avviene attraverso la pompa peristaltica bidirezionale a doppio canale integrata o tramite un 800 Dosino.



Metrosep A Supp 10 - 250/4,0

La colonna di separazione Metrosep A Supp 10 - 250/4,0 è basata su un copolimero di polistirene/divinilbenzene ad alta capacità con una grandezza delle particelle di soli 4,6 µm. La più lunga colonna della famiglia A-Supp-10 offre la massima selettività e flessibilità. Soprattutto nei casi di maggiore durata del cromatogramma è consigliabile l'impiego dell'MSM-HC. Anche in questa colonna di separazione, le modifiche di temperatura, portata e composizione dell'eluente consentono le più svariate separazioni di anioni.

La Metrosep A Supp 10 - 250/4,0 ha una capacità estremamente elevata. È ideale per campioni con elevata forza ionica, per separazioni complesse e per analisi di campioni i cui componenti sono presenti a concentrazioni molto diverse tra loro.



Metrosep A PCC 2 HC/4.0

Per l'arricchimento anionico e l'eliminazione della matrice. L'ampliamento del letto denso aumenta la capacità delle due colonne di arricchimento, interamente realizzate in PEEK. L'elevata capacità viene richiesta soprattutto quando gli effetti matrice possono causare un sovraccarico della colonna di arricchimento oppure quando devono essere analizzati campioni con elevata forza ionica.