



Application Note AN-S-402

Nitrito in hydroxypropyl methylcellulose

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

La FDA ha recentemente pubblicato alcune linee guida per la gestione delle impurità nitrosammine nei prodotti farmaceutici [1]. Anche in tracce, la presenza di nitrosammine cancerogene nei farmaci mette a rischio la sicurezza dei pazienti. Il controllo della concentrazione di nitriti nei prodotti e nei processi farmaceutici può aiutare a prevenire la formazione di nitrosammine. Per questo motivo è essenziale la determinazione dei nitriti nei prodotti farmaceutici e nelle loro materie prime con metodi analitici sensibili. Spesso la dimetilammina viene utilizzata per sintetizzare diversi farmaci. In condizioni acide

reagisce con il nitrito formando nitrosammine [2]. Questo è anche il caso della produzione di idrossipropilmetilcellulosa (ipromellosa), un eccipiente comune. Questa Application Note riguarda la determinazione del nitrito nell'idrossipropilmetilcellulosa mediante cromatografia ionica (IC) utilizzando una colonna Metrosep A Supp 10 e rilevamento UV/VIS diretto a 215 nm. La preparazione del campione viene eseguita con la tecnica di preconcentrazione intelligente Metrohm con eliminazione della matrice (MiPCT-ME).

CAMPIONE E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

L'Hydroxypropyl methylcellulose (Hypromellose) è stata ricevuta sotto forma di polvere da un'azienda farmaceutica. Una porzione di campione da 0,1 g è stata pesata accuratamente e trasferita in un matraccio tarato pulito da 10 ml contenente 5,0 ml di acqua ultrapura (UPW). Il contenuto è stato sciolto utilizzando un miscelatore vortex per circa 20 minuti e il pallone è stato riempito fino al segno con UPW. La

soluzione campione preparata è stata filtrata attraverso un filtro per siringa da 0,2 µm e conservata in un processore di campioni in condizioni chiuse prima dell'analisi.

È stata utilizzata 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

Il campione è stato analizzato con una tecnica di separazione cromatografica come descritto nella USP <621> [3] (Figura 1). È stata utilizzata una configurazione MiPCT-ME insieme ai parametri del metodo nella **Tabella 1**. Un campione da 2 mL è stato preconcentrato su un Metrosep A PCC 2 HC/4.0 e la matrice è stata eliminata con 3 mL di acqua ultrapura. Dopo l'iniezione, i componenti anionici sono stati separati isocraticamente entro 45 minuti su una colonna Metrosep A Supp 10 - 250/4.0. Il segnale del rilevatore UV/VIS è stato registrato a 215 nm. La conferma dell'accuratezza del metodo è stata effettuata con uno studio di arricchimento. Al campione è stato aggiunto uno standard di nitrito a due livelli di concentrazione (1,0 µg/L e 4 µg/L) 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 impurezze di nitriti nel hydroxypropyl methylcellulose (Hypromellose).

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/VIS detection at 215 nm

RISULTATI

Il nitrito è stato quantificato in hydroxypropyl methylcellulose (**Figura 2**). Il metodo era sufficientemente sensibile da quantificare i livelli di tracce di nitrito presenti nella matrice del campione.

Uno studio di stimolazione a due livelli ha confermato l'accuratezza del metodo, ottenendo recuperi compresi tra l'80 e il 120%.

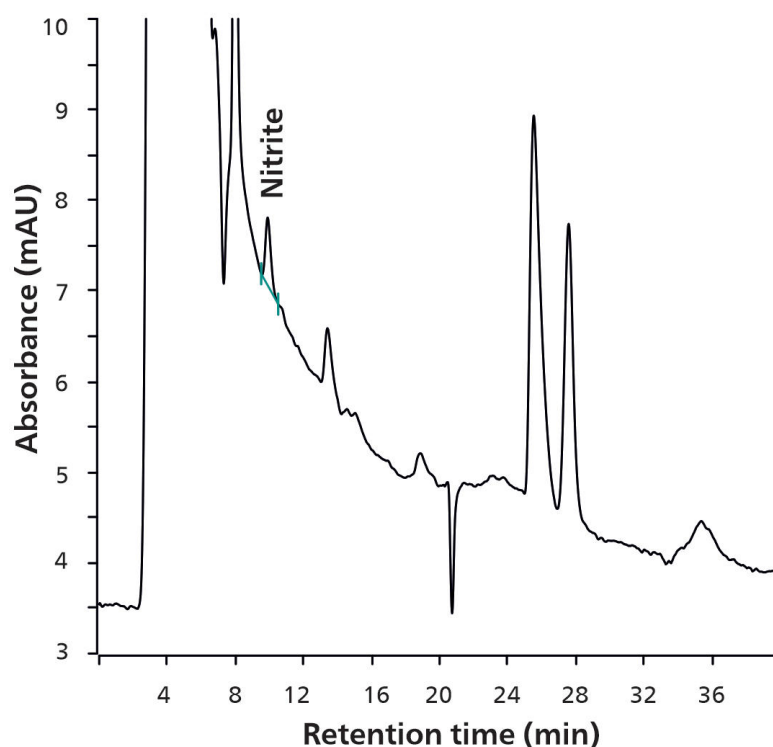


Figure 2. Cromatogramma per 288 µg/kg di nitrito in un campione di hydroxypropyl methylcellulose.

CONCLUSIONE

La quantificazione del nitrito nel hydroxypropyl methylcellulose secondo USP <621> è possibile con il metodo IC presentato. La preconcentrazione del campione offre una maggiore sensibilità per la determinazione accurata di tracce di nitrito. L'eliminazione della matrice in linea rimuove la matrice del campione interferente prima dell'iniezione, migliorando ulteriormente i risultati. La

separazione del nitrito dagli altri componenti della matrice è stata ottenuta sulla colonna Metrosep A Supp 10. L'accuratezza del metodo è stata confermata da studi di arricchimento.

Questo metodo IC è adatto per il controllo di qualità dell'impurità nitrito nei processi di produzione farmaceutica che coinvolgono l'eccipiente hydroxypropyl methylcellulose.

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

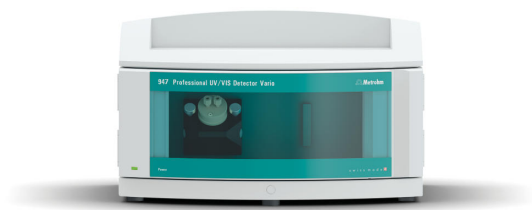
CONFIGURAZIONE



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 rivelatore 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.