



Application Note AN-S-402

Nitrit in Hydroxypropylmethylcellulose

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

Die FDA hat kürzlich einige Leitlinien zum Umgang mit Nitrosaminverunreinigungen in pharmazeutischen Produkten veröffentlicht [1]. Selbst in Spuren Mengen gefährdet die Anwesenheit krebserregender Nitrosamine in Medikamenten die Sicherheit der Patienten. Die Kontrolle der Nitritkonzentration in pharmazeutischen Produkten und Prozessen kann dazu beitragen, die Bildung von Nitrosaminen zu verhindern. Aus diesem Grund ist die Bestimmung von Nitrit in pharmazeutischen Produkten und deren Rohstoffen mit empfindlichen Analysemethoden unerlässlich.

Dimethylamin wird häufig zur Synthese verschiedener

Medikamente verwendet. Unter sauren Bedingungen reagiert es mit Nitrit und bildet Nitrosamine [2]. Dies gilt auch für die Herstellung von Hydroxypropylmethylcellulose (Hypromellose), einem häufigen Hilfsstoff. Diese Application Note behandelt die Bestimmung von Nitrit in Hydroxypropylmethylcellulose mittels Ionenchromatographie (IC) unter Verwendung einer Metrosep A Supp 10-Säule und direkter UV/VIS-Detektion bei 215 nm. Die Probenvorbereitung erfolgt mit der intelligenten Anreicherungstechnik von Metrohm mit Matrixeliminierung (MiPCT-ME).

PROBEN UND STANDARDS

Hydroxypropylmethylcellulose (Hypromellose) wurde als Pulver von einem Pharmaunternehmen bezogen. Es wurden ungefähr 0,1 g des Pulvers genau abgewogen und in einen sauberen 10-ml-Messkolben mit 5,0 ml hochreinem Wasser (UPW) überführt. Der Inhalt wurde mit einem Vortex-Mischer etwa 20 Minuten lang aufgelöst und der Kolben bis zur Marke mit UPW aufgefüllt. Die vorbereitete

Probenlösung wurde durch einen 0,2-µm-Spritzenfilter filtriert und vor der Analyse einem geschlossenen Probengefäß auf einen Autosampler gestellt. Es wurde eine Einpunktkalibrierung mit 4 µg/L NO₂⁻ durchgeführt. Dieser Standard wurde aus einem 1000 mg/L NIST-zertifizierten Standard (Sigma TraceCERT Nr. 67276) hergestellt.

EXPERIMENTELL

Die Probe wurde gemäß der USP <621> mit einer chromatographischen Trenntechnik analysiert [3] (Abbildung 1). Es wurde ein MiPCT-ME Aufbau in Verbindung mit den Methodenparametern in Tabelle 1 eingesetzt. 2-ml der Probe wurden auf einer Metrosep A PCC 2 HC/4.0 angereichert und die Matrix mit 3 ml hochreinem Wasser entfernt. Nach der Injektion wurden die Anionen innerhalb von 45 Minuten isokratisch auf einer Metrosep A Supp 10 - 250/4,0 Säule getrennt. Das UV/VIS-Detektorsignal wurde bei 215 nm aufgezeichnet. Die Bestätigung der Methodengenauigkeit erfolgte durch Aufstockungsversuche. Die Probe wurde mit einem Nitritstandard in zwei Konzentrationsstufen (1,0 µg/L und 4 µg/L) versetzt und die Wiederfindungswerte ausgewertet.



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 Hydroxypropylmethylcellulose (Hypromellose).

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 (Anreicherungs-volumen)
Detektion	UV/VIS-Detektion bei 215 nm

ERGEBNISSE

Nitrit wurde in Hydroxypropylmethylcellulose quantifiziert (**Abbildung 2**). Die Methode war empfindlich genug, um Spuren von Nitrit in der Probenmatrix zu quantifizieren. Die zweistufigen

Aufstockungsversuche bestätigten die Genauigkeit der Methode und erzielten Wiederfindungen zwischen 80 und 120 %.

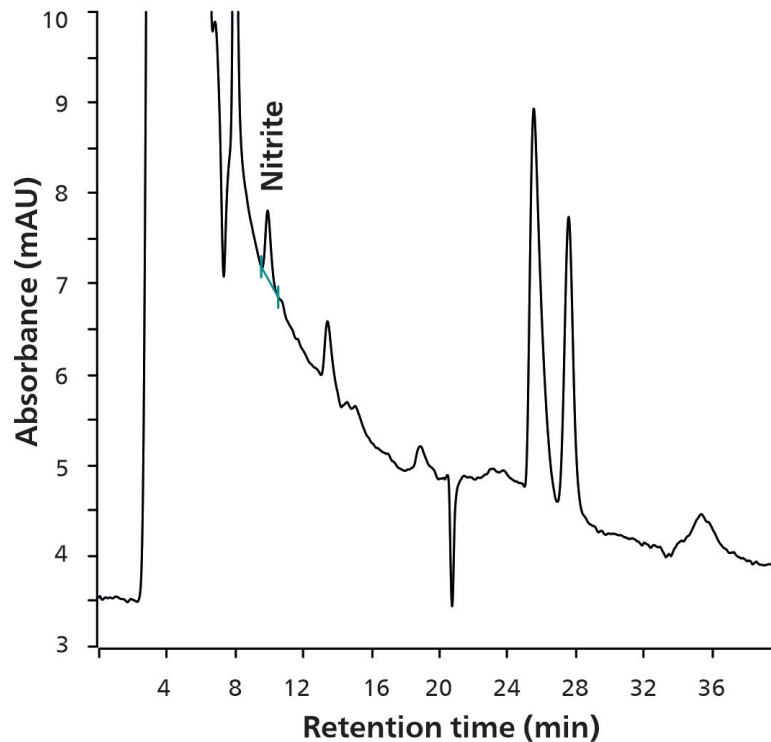


Abbildung 2. Chromatogramm für 288 µg/kg Nitrit in einer Hydroxypropylmethylcelluloseprobe.

FAZIT

Mit der vorgestellten IC-Methode ist eine Quantifizierung von Nitrit in Hydroxypropylmethylcellulose gemäß USP <621> möglich. Die Anreicherung der Probe bietet eine höhere Empfindlichkeit für die genaue Bestimmung von Spuren Mengen an Nitrit. Durch die Inline-Matrixeliminierung wird die störende Probenmatrix vor der Injektion entfernt, wodurch die Ergebnisse weiter verbessert werden. Die Trennung von Nitrit von

anderen Matrixkomponenten wurde mit der Metrosep A Supp 10-Säule erreicht. Die Genauigkeit der Methode wurde durch Aufstockungsversuche bestätigt.

Diese IC-Methode eignet sich zur Qualitätskontrolle von Nitritverunreinigungen in pharmazeutischen Herstellungsprozessen mit dem Hilfsstoff Hydroxypropylmethylcellulose.

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.
3. *621 Chromatographie*. https://doi.org/10.31003/USPNF_M99380_01_01.

CONTACT

Metrohm Schweiz AG
Industriestrasse 13
4800 Zofingen

info@metrohm.ch

KONFIGURATION

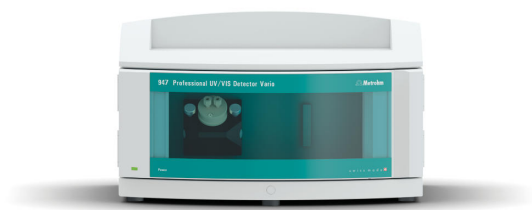


940 Professional IC Vario ONE/SeS/PP

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 Anionen-anreicherung 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.