

Développement assisté *in silico* d'une méthode LC-MS/MS pour la détermination de 17 nitrosamines dans une matrice médicamenteuse

Yue Zhang¹

Thibault Ziémons¹, Amandine Dispas^{1,2}, Thomas Van Laethem¹, Philippe Hubert¹ et Cédric Hubert¹

1 – Laboratoire de chimie analytique pharmaceutique, CIRM, Université de Liège, Avenue Hippocrate 15, 4000 Liège, Belgique

2 – Laboratoire d'analyse des médicaments, CIRM, Université de Liège, Avenue Hippocrate 15, 4000 Liège, Belgique

Contact : yue.zhang@uliege.be

La présence d'impuretés de type nitrosamine dans des produits pharmaceutiques à usage humain présente un risque significatif pour la santé publique. En effet, ces composés sont reconnus par les agences réglementaires de la santé comme des composés potentiellement ou possiblement cancérigènes pour l'Homme. Suite à des multiples détections successives de nitrosamines dans de nombreuses classes de médicaments telles que des sartans, des antidiabétiques, des antiacides et des antibiotiques, cette problématique est désormais devenue mondiale et a attiré une attention particulière des autorités compétentes. Dès lors, l'Agence européenne des médicaments (EMA) et la Food and Drug Administration (FDA) recommandent vivement d'étendre l'expérience acquise à tous les médicaments à usage humain. Toutes les mesures implémentées visent à rassurer les patients sur le fait que les médicaments remplissent les exigences de sécurité, d'efficacité et de qualité.

Les nitrosamines sont généralement générées via une réaction de nitrosation entre des nitrites et des amines secondaires ou tertiaires, préférablement à un pH acide. Le plus souvent, leur formation est due à l'emploi d'un agent de nitrosation dans la synthèse ou à l'utilisation des matières premières contaminées. Cependant, les nitrosamines peuvent également se former durant le stockage, à cause d'une dégradation des substances actives, voire une réaction de celles-ci avec les matériaux d'emballage. Tenant compte du risque potentiel de génotoxicité, l'EMA a établi des limites de l'apport journalier acceptable pour certaines nitrosamines et des principes actifs nitrosés en fonction de leur profil toxicologique. La limite de spécification d'une impureté de nitrosamine donnée exprimée en ppm pour un produit particulier est calculée en divisant la limite acceptable journalière de celle-ci par la dose journalière maximale du médicament.

Ces impuretés sont typiquement présentes à l'état de trace dans des produits pharmaceutiques. Un des défis analytiques majeurs consiste donc à développer des méthodes d'analyse qui sont capables d'atteindre des limites de détection et de quantification extrêmement basses. En général, des techniques chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse sont utilisées. Comparée à la chromatographie gazeuse, la chromatographie liquide (LC) offre un spectre d'analytes plus large, elle permet d'analyser des nitrosamines volatiles et non volatiles.

Ce travail met en évidence le développement d'une méthode à haute sensibilité et spécificité couplant la LC à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS). Dans le présent travail, un système ACQUITY™ Premier couplé à un système Xevo™ TQ- Absolute est utilisé pour la détection et la quantification des nitrosamines sous investigation de l'EMA, jusqu'à l'ordre de 50 ppb dans une matrice médicamenteuse choisie, telles que notamment la N-nitrosodiisopropylamine (NDIPA), la N-nitrosodi-n-propylamine (NDPA), la N-nitrosoethylisopropylamine (NEIPA), la N-nitrosomorpholine (NMOR) et la N-nitroso-N-methylaniline (NMPA). Cette méthode est développée au moyen d'une approche de screening *in silico* novatrice basée sur le concept de Quantitative Structure Retention Relationship (QSRR), permettant de traiter de manière précoce des aspects liés à la sélectivité et à l'effet de matrice dus aux principes actifs et/ou aux matrices médicamenteuses.