

Approche *in silico* flexible pour le développement de méthodes quantitatives des nitrosamines dans un médicament

Yue Zhang

Sabah Houari, Thomas Van Laethem, Eric Ziemons, Philippe Hubert, Cédric Hubert

Université de Liège, CIRM, Laboratoire de Chimie Analytique Pharmaceutique, Avenue Hippocrate 15, 4000 Liège, Belgique

Contact : yue.zhang@uliege.be

Les nitrosamines sont des composés organiques présents à l'état de trace dans l'environnement, les aliments et les cosmétiques. Elles sont classées parmi les substances « *Cohort of concern* » selon les lignes directrices ICH M7(R2) en raison de leur potentiel mutagène. Ces dernières années, la détection de quantités de nitrosamines dépassant les limites autorisées dans des médicaments à usage humain a soulevé d'importantes préoccupations sanitaires et réglementaires, entraînant de nombreux rappels, suspensions et retraits de médicaments.

Pour répondre à ces enjeux, l'Agence Européenne des Médicaments (EMA) impose aux détenteurs d'autorisations de mise sur le marché d'investiguer la présence de nitrosamines dans leurs produits, que les substances actives soient issues de la synthèse chimique ou de la biotechnologie.

Face à ces exigences, ce travail présente le développement d'une approche *in silico* flexible pour proposer des méthodes de chromatographie liquide en phase inverse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (RP-LC-MS/MS, ciblant spécifiquement les nitrosamines non liées aux substances actives. Une méthodologie de screening *in silico* novatrice, basée sur le concept de Quantitative Structure Retention Relationship (QSRR) a été appliquée durant le développement. Cette stratégie permet de traiter de manière précoce des aspects liés à la sélectivité et à l'effet de matrice dus aux principes actifs ou aux excipients.

Cette approche *in silico* permet le développement de méthodes LC-MS/MS offrant une sélectivité optimale, une sensibilité élevée, et une grande flexibilité d'utilisation. Conçues pour analyser simultanément 17 nitrosamines dans une seule séquence, elles ne nécessitent ni modifications des étapes de préparation d'échantillons ni reconfiguration des équipements. Dans ce travail, nous avons démontré leur applicabilité pour le contrôle qualité d'un produit fini.

La validation des méthodes a été effectuée conformément aux lignes directrices de l'ICH Q2(R2). Une fois validées, elles peuvent être appliquées dans le cadre de tests confirmatoires (étape 2 de la procédure d'investigation, appelée « *Call for review* ») requis par l'EMA pour évaluer la présence de nitrosamines dans les produits pharmaceutiques.

La méthodologie présentée se distingue par sa flexibilité, permettant son extension à l'investigation de nouvelles nitrosamines et à diverses formulations pharmaceutiques, répondant ainsi aux besoins évolutifs des agences réglementaires.