

Рекламная статья / Sponsored article

Определение N-нитрозаминов с применением газового хромато-масс-спектрометра с тройным квадруполем EXPEC G-Chrom MS марки Экспес



Авторы подготовили статью при финансовой поддержке ООО «Лабконцепт»

Фармацевтические препараты и лекарственные средства играют важную роль в поддержании здоровья человека. Однако, как и любые другие продукты, они могут содержать потенциально опасные вещества, так называемые генотоксичные примеси, которые могут нанести вред здоровью человека при их употреблении, поэтому контроль качества фармацевтической продукции имеет особое значение. Генотоксичность — это способность вещества оказывать необратимое действие на структуру и функции ДНК в клетках, тем самым вызывая гибель ДНК и ошибки в ее репликации, мутации и хромосомные aberrации. Одними из таких веществ являются N-нитрозамины, которые образуются в результате взаимодействия вторичных аминов с нитритами или нитратами. Группа компаний Лабконцепт – официальный дистрибьютор ведущих производителей аналитического и общелабораторного оборудования. Лабконцепт предлагает комплексные решения для оснащения лабораторий разных направленностей, в том числе и для фармацевтической отрасли. В данной статье мы рассмотрим возможность определения таких примесей с использованием газового хромато-масс-спектрометра с тройным квадруполем EXPEC G-Chrom MS марки Экспес на примере N-нитрозаминов.

Determination of N-nitrosamines by using triple quadrupole gas chromatography mass spectrometer EXPEC G-Chrom MS

The authors prepared the article with the financial support of LLC "Labconcept"

Pharmaceuticals and medicines play an important role in maintaining human health. However, like any other products, they may contain potentially dangerous substances the so-called genotoxic impurities which can harm human health when consumed, so quality control of pharmaceutical products is of particular importance. Genotoxicity is the ability of a substance to have an irreversible effect on the structure and functions of DNA in cells thereby causing DNA death and errors in its replication, mutations and chromosomal aberrations. One of these substances is N-nitrosamines, which are formed as a result of the interaction of secondary amines with nitrites or nitrates. The Labconcept Group is the official distributor of leading manufacturers of analytical and general laboratory equipment. The Labconcept offers comprehensive solutions for equipping laboratories of various fields, including for the pharmaceutical industry. In this article, we will consider the possibility of determining such impurities using the EXPEC G-Chrom MS triple quadrupole gas mass spectrometer using N-nitrosamines as an example.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время безопасность и качество выпускаемой продукции являются ключевыми факторами для потребителей и производителей, особое внимание уделяется контролю содержания вредных веществ в различных продуктах, включая фармацевтические препараты. Одним из таких опасных соединений являются N-нитрозамины – группа химических веществ, которые могут образовываться в результате взаимодействия нитритов или нитратов с аминами. N-нитрозамины представляют серьезную угрозу для здоровья человека, так как они обладают канцерогенными свойствами и могут вы-

зывать различные виды рака, поэтому определение N-нитрозаминов является важным этапом контроля качества фармацевтической субстанции и готовых лекарственных форм, который позволяет предотвратить поступление на рынок потенциально опасных продуктов.

Для определения N-нитрозаминов ГК Лабконцепт предлагает газовый хромато-масс-спектрометр с тройным квадруполем EXPEC G-Chrom MS марки Экспес, который обладает высокой чувствительностью и селективностью, что позволяет качественно и количественно определять наличие N-нитрозаминов на уровне следовых количеств.

МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

- ✓ Газовый хромато-масс-спектрометр с тройным квадруполом EXPEC G-Chrom MS фирмы Экспес (рисунок 1).
- ✓ Автодозатор жидких проб AS-2000B фирмы Экспес.
- ✓ Колонка капиллярная SH-Stabilwax длиной 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина фазы 0,25 мкм.
- ✓ Лайнер без сброса потока, ультра инертный, с сужением с одной стороны, с кварцевой ватой.
- ✓ Аналитические весы ВЛА-225МА фирмы Госметр.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оптимизация условий

Определение содержания N-нитрозаминов проводилось на примере NDMA (нитрозодиметиламин), NDEA (нитрозодиэтиламин), NDIPA (нитрозодиизопропиламин), NEIPA (нитрозоэтилизопропиламин) и NDBA (нитрозодибутиламин), которым уделяется особое значение (согласно ОФС.1.2.2.2.0031).

В качестве стартовых условий для проведения эксперимента были выбраны параметры из ОФС.1.2.2.2.0031 (методика 4), приведенные в таблице 1.

По итогам проведения анализа модельного раствора нитрозаминов (NDEA, NDMA и NDBA) с концентрацией 7,5 нг/мл (рисунок 2) был сделан вывод о неудовлетворительной чувствительности системы для определения следовых количеств нитро-



Рисунок 1. Газовый хромато-масс-спектрометр с тройным квадруполом EXPEC G-Chrom MS

Figure 1. Triple Quadrupole Gas Chromatography Mass Spectrometer EXPEC G-Chrom MS

заминов и необходимости подбора оптимальных условий.

Оптимальные условия проведения хроматографического анализа нитрозаминов, определенные в ходе эксперимента, представлены в таблице 2.

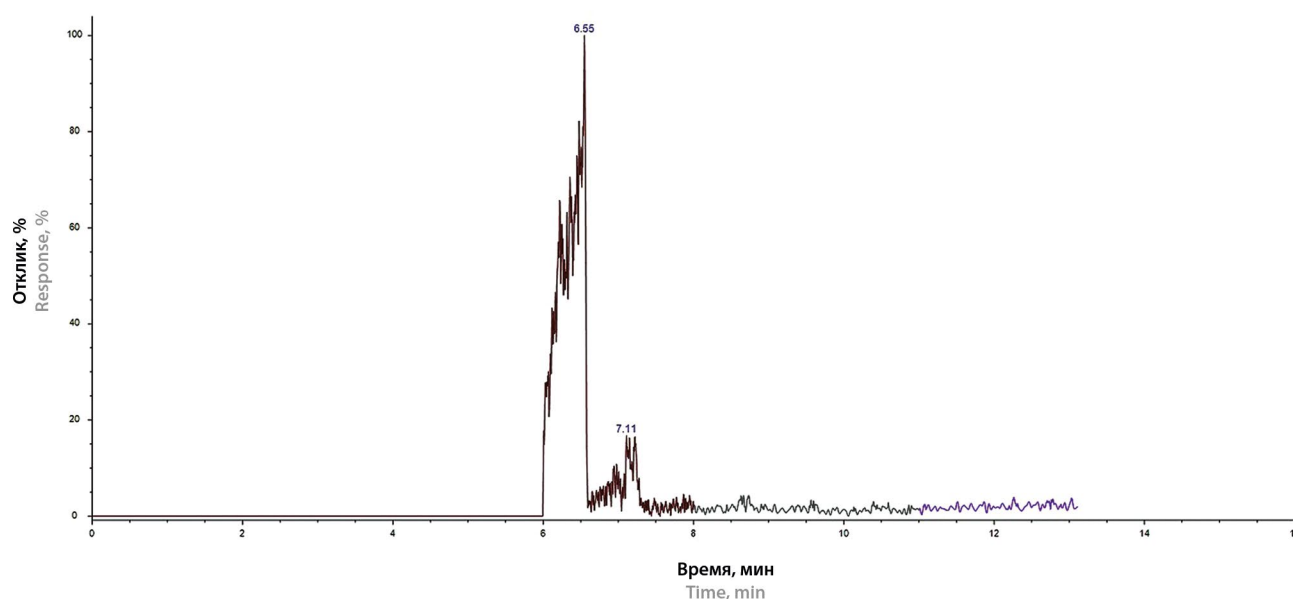


Рисунок 2. Хроматограмма модельного раствора N-нитрозаминов (NDEA, NDMA и NDBA) с концентрацией 7,5 нг/мл, полученная в условиях, приведенных в таблице 1

Figure 2. Chromatogram of a model mixture of N-nitrosamines (NDEA, NDMA и NDBA) with concentration 7.5 ng/ml according to table 1

Таблица 1. Условия проведения анализа N-нитрозаминов методом газовой хромато-масс-спектрометрии согласно ОФС.1.2.2.2.0031 (методика 4)

Table 1. The Triple Quadrupole Gas Chromatograph Mass Spectrometer Operating Conditions for the analysis of N-nitrosamines according to GPA.1.2.2.2.0031 (method 4)

Условие Condition	Значение Meaning	
Колонка Column	Кварцевая капиллярная 30 м × 0,25 мм, покрытая слоем поли(цианопропилфенил)(6)(метил)(94)силоксана, 1,4 мкм Quartz capillary 30 m × 0.25 mm, coated with a layer of poly(cyanopropylphenyl)(6)(methyl)(94)siloxane, 1.4 μm	
Температура инжектора, °C Inlet temperature, °C	250	
Поток газа-носителя через колонку, мл/мин Column flow, ml/min	1,3	
Начальная температура термостата колонки, °C Initial column temperature, °C	40	
Продолжительность выдержки при 40 °C, мин Holding time at 40 °C, min	0.5	
Подъем со скоростью 60 °C до температуры, °C Rate 60 °C/min up to temperature, °C	140	
Продолжительность выдержки при 140 °C, мин Holding time at 140 °C, min	2	
Подъем со скоростью 20 °C до температуры, °C Rate 20 °C/min up to temperature, °C	180	
Продолжительность выдержки при 180 °C, мин Holding time at 180 °C, min	0,5	
Подъем со скоростью 30 °C до температуры, °C Rate 30 °C/min up to temperature, °C	240	
Продолжительность выдержки при 240 °C, мин Holding time at 240 °C, min	1,7	
Подъем со скоростью 40 °C до температуры, °C Rate 40 °C/min up to temperature, °C	280	
Продолжительность выдержки при 280 °C, мин Holding time at 280 °C, min	2,5	
Температура интерфейса, °C Interface temperature, °C	240	
Температура ионного источника, °C Ion source temperature, °C	230	
Энергия ионизации, эВ Electron energy, eV	40	
Поток газа соударения, мл/мин Collision gas flow, ml/min	1,5	
Дозируемый объем, мкл Sample volume, mkl	3	
MRM-переходы и энергии соударений MRM transitions and collision energies		
N-нитрозамин N-nitrosamine	MRM-переход MRM transition	Энергия соударения, эВ Collision energy, eV
NDMA (нитрозодиметиламин) NDMA	74–44 74–42	5 22
NDEA (нитрозодиэтиламин) NDEA	102–85 102–56	3 19
NDIPA (нитрозодиизопропиламин) NDIPA	130–88 130–71	5 14
NEIPA (нитрозоэтилизопропиламин) NEIPA	116–99 116–44	5 14
NDBA (нитрозодибутиламин) NDBA	158–141 158–99	1 7

Таблица 2. Условия проведения анализа нитрозаминов на газовом хромато-масс-спектрометре EXPEC G-Chrom MS

Table 2. The triple Quadrupole Gas Chromatograph Mass Spectrometer EXPEC G-Chrom MS Operating Conditions for nitrosamines determination

Условие Condition	Значение Meaning
Колонка Column	Колонка капиллярная SH-Stabilwax длиной 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина фазы 0,25 мкм SH-Stabilwax, 30 m × 0,25 mm × 0,25µm
Температура инжектора, °C Inlet temperature, °C	250
Режим инжектора Injection mode	Без деления потока Splitless
Поток газа-носителя через колонку, мл/мин Column flow, ml/min	1,0
Начальная температура термостата колонки, °C Initial column temperature, °C	40
Продолжительность выдержки при 40 °C, мин Holding time at 40 °C, min	0,5
Подъем со скоростью 20 °C до температуры, °C Rate 20 °C/min up to temperature, °C	160
Продолжительность выдержки при 160 °C, мин Holding time at 160 °C, min	0
Подъем со скоростью 60 °C до температуры, °C Rate 60 °C/min up to temperature, °C	250
Продолжительность выдержки при 250 °C, мин Holding time at 250 °C, min	2
Температура интерфейса, °C Interface temperature, °C	250
Температура ионного источника, °C Ion source temperature, °C	250
Энергия ионизации, эВ Electron energy, eV	70
Поток газа соударения, мл/мин Collision gas flow, ml/min	0,4
Дозируемый объем, мкл Sample volume, mkl	2,5

Перед построением калибровочных графиков осуществлялась оптимизация MRM-переходов с целью определения наиболее эффективных энергий соударения для улучшения чувствительности системы.

Оптимальные энергии соударения (CE) для определявшихся N-нитрозаминов представлены в таблице 3.

Таблица 3. Оптимизированные MRM-переходы для N-нитрозаминов

Table 3. Optimized MRM transitions for N-nitrosamines

N-нитрозамин N-nitrosamine	MRM-переход MRM transition	CE
NDMA (нитрозодиметиламин) NDMA (nitrosodimethylamine)	74–44	6
	74–42	22
NDEA (нитрозодиэтиламин) NDEA (nitrosodiethylamine)	102–85	5
	102–56	16
NDIPA (нитрозодиизопропиламин) NDIPA (nitrosodiisopropylamine)	130–88	6
	130–42	11
NEIPA (нитрозоэтилизопропиламин) NEIPA (nitrosoethylisopropylamine)	71–56	3
	116–99	5
NDBA (нитрозодибутиламин) NDBA (nitrosodibutylamine)	158–99,1	7
	116,1–99,1	2

После подбора оптимальных условий проведения анализа был осуществлен анализ модельных растворов N-нитрозаминов в метаноле в диапазоне концентраций 0,8 – 15 нг/мл. В соответствии с ОФС.1.2.2.2.0031 нормы содержания примесей N-нитрозаминов должны быть приведены в фармакопейной статье. В случае их отсутствия нормы содержания должны быть рассчитаны с использованием значений максимально допустимой суточной дозы. Хроматограммы модельных растворов с концентрацией 0,8 и 15 нг/мл представлены на рисунках 3 и 4 соответственно.

Построение калибровочных кривых

По итогам проведенных анализов были построены калибровочные кривые в диапазоне 0,8 – 15 нг/мл. Квадрат коэффициента линейной корреляции для всех N-нитрозаминов составил более 0,998. Калибровочные кривые для N-нитрозаминов представлены на рисунке 5.

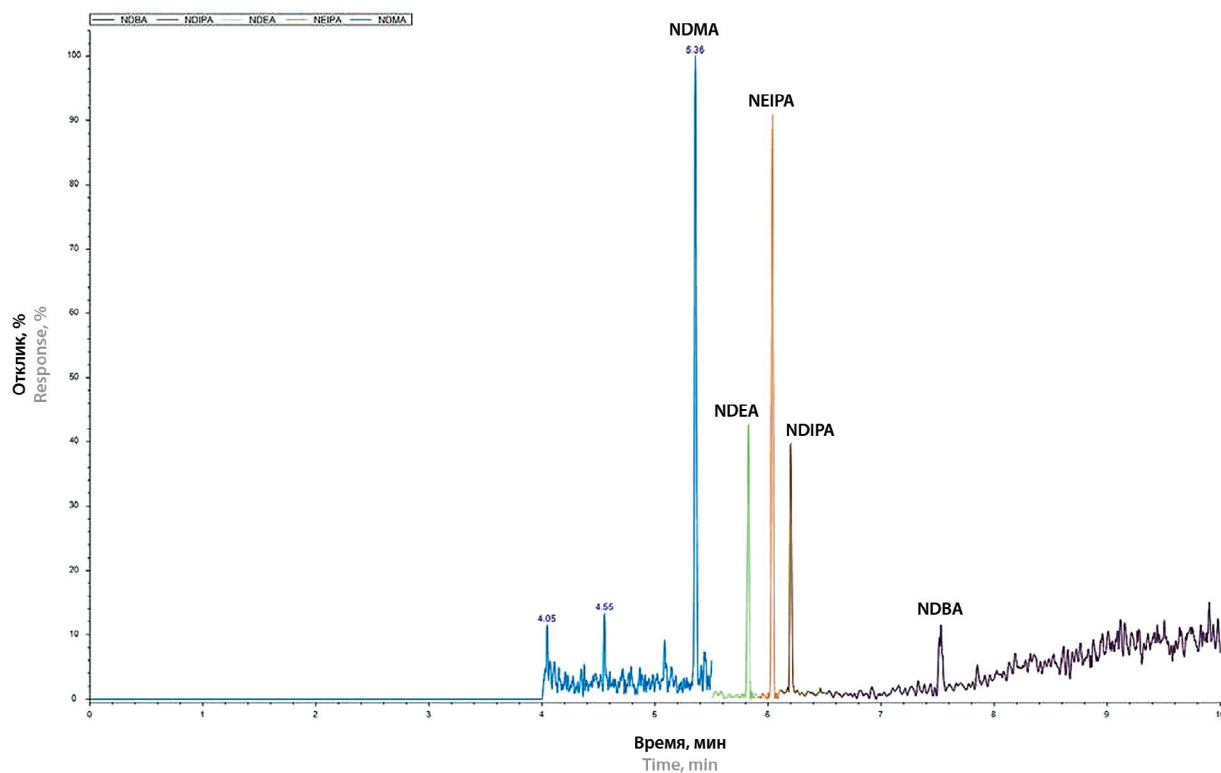


Рисунок 3. Хроматограмма модельного раствора N-нитрозаминов с концентрацией 0,8 нг/мл

Figure 3. Chromatogram of a model mixture of N-nitrosamines with concentration 0.8 ng/ml

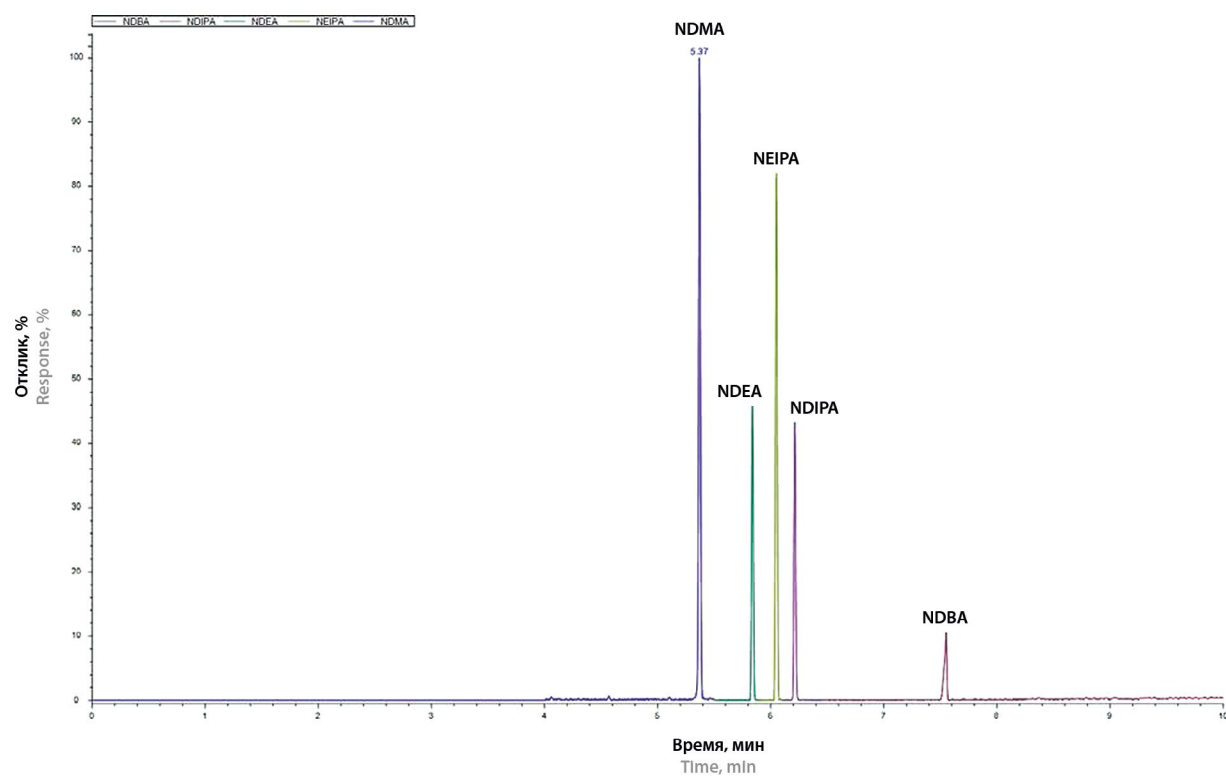


Рисунок 4. Хроматограмма модельного раствора N-нитрозаминов с концентрацией 15 нг/мл

Figure 4. Chromatogram of a model mixture of N-nitrosamines with concentration 15 ng/ml

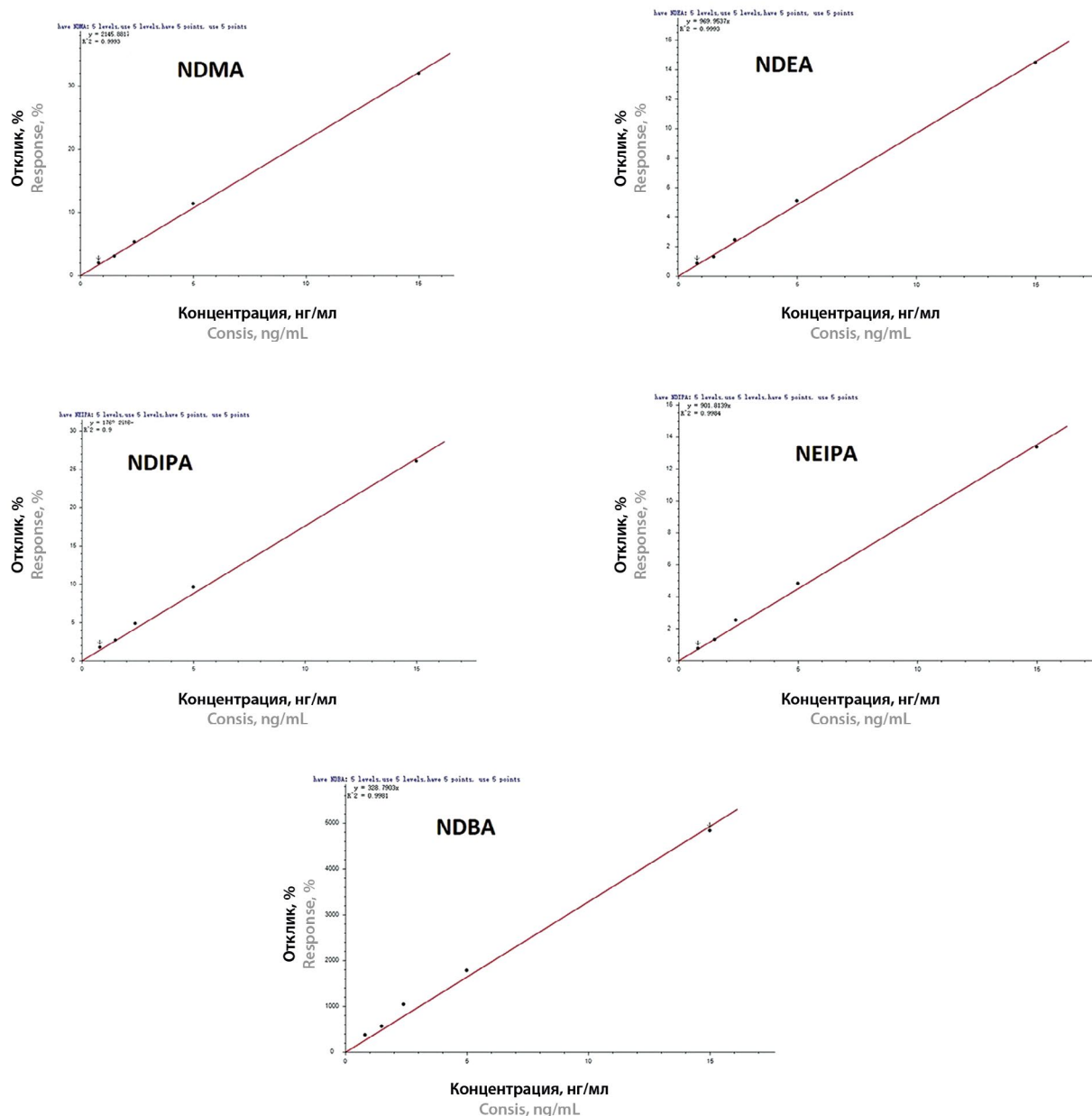


Рисунок 5. Калибровочные кривые N-нитрозаминов в диапазоне концентраций 0,5 – 15 нг/мл

Figure 5. Calibration curves of N-nitrosamines in the concentration range of 0.5 – 15 ng/mL

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что газовый хромато-масс-спектрометр EXPEC G-Chrom MS с тройным квадруполем марки Ехрес является подходящим решением в области качественного и количественного определения N-нитрозаминов в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах на следовом уровне, обеспечивая безопасность и качество выпускаемой продукции. Это делает газовый хромато-масс-спектрометр EXPEC G-Chrom MS незаменимым инструментом для контроля качества фармацевтической продукции в соответствии с требованиями Европейской и Российской Фармакопей. В конструкции газового

хромато-масс-спектрометра EXPEC G-Chrom MS используются технологии быстрой и эффективной доставки ионов в масс-анализатор без потерь, а также быстрое удаление ионов из соударительной ячейки, которые обеспечивают высокую чувствительность анализа и отсутствие «эффекта памяти», что гарантирует воспроизводимые результаты анализа даже при дозировании «грязных» проб со сложной матрицей. Программное обеспечение прибора русифицировано и имеет стандартную библиотеку методов, функцию интеллектуальной серийной обработки данных и настраиваемые пользовательские отчеты, что существенно упрощает работу оператора.