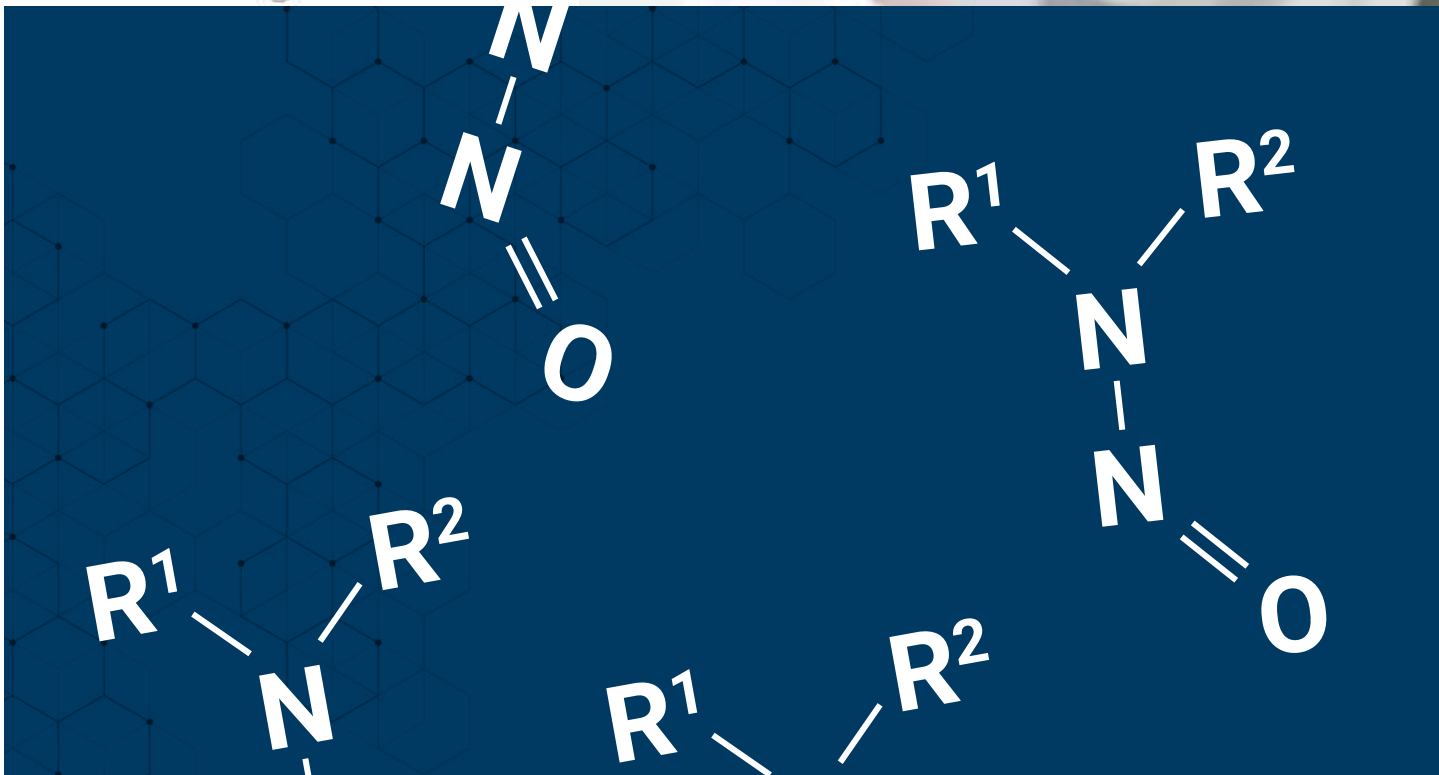


# Определение нитрозаминов в фармацевтических препаратах

Руководство по заказу расходных материалов для методик трехквadrупольной  
ВЭЖХ-МС-МС и квадрупольно-времяпролетной ВЭЖХ-МС



Мутагенные примеси в АФИ и лекарственных средствах представляют значительный риск для здоровья и безопасности даже в небольших количествах и поэтому вызывают серьезные опасения у производителей лекарственных средств. Мутагенные примеси могут вызывать повреждения ДНК, приводя к мутациям и, возможно, вызывая онкологические заболевания. Международные регулирующие органы уделяют особое внимание контролю присутствия следовых количеств мутагенных примесей. В результате Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США и другие регулирующие органы предприняли меры по решению проблемы мутагенных примесей в фармацевтических препаратах <sup>1</sup>. Детектирование и количественный анализ этих следовых количеств нитрозаминов в АФИ и лекарственных средствах могут вызывать затруднения, обуславливая необходимость применения передовых чувствительных инструментов для соответствия нормативным требованиям.

Список АФИ и лекарственных средств для определения нитрозаминов был расширен за пределы сартанов — блокаторов рецептора ангиотензина II (БРА) — и включает метформин, лекарственное средство перорального применения для лечения диабета, и антагонисты гистаминовых рецепторов 2 типа, например ранитидин. Это подтверждается недавними отзывами метформина различными регулирующими органами, например Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), Европейским директором по качеству лекарственных средств (EDQM) и Управлением медицинских наук (HSA), в связи с присутствием N-нитрозодиметиламина (NDMA). Эти примеси: N-нитрозодиметиламин (NDMA), N-нитрозодиэтиламин (NDEA), N-нитрозодиизопропиламин (NDIPA), N-нитрозозетилопропиламин (NEIPA) и N-нитрозодибутиламин (NDBA) — классифицируются как потенциально оказывающие канцерогенное воздействие на человека. Считается, что они могут быть занесены в готовый продукт вследствие химических реакций, происходящих в процессе производства АФИ.

Эти примеси могут быть детектированы с помощью одноквадрупольного ГХ-МС (ГХ-МСД), трехквадрупольного ГХ-МС-МС (ГХ-TQ) (1), трехквадрупольного ВЭЖХ-МС-МС (ВЭЖХ-TQ) или квадрупольно-времяпролетного ВЭЖХ-МС (ВЭЖХ-Q-TOF) (2–7). Методы на основе ВЭЖХ-МС-МС обычно являются очень специфичными и высокочувствительными. По этой причине они послужили основой для разработки методик для детектирования и количественного анализа примесей нитрозаминов в лекарственных веществах или лекарственных средствах, например метформине, валсартане, лозартане и ирбесартане.



Рис. 1. Слева направо: система ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity II, трехквадрупольный ВЭЖХ-МС 6470В, квадрупольно-времяпролетный ВЭЖХ-МС 6550 iFunnel и трехквадрупольный ВЭЖХ-МС Ultivo.

<sup>1</sup> FDA США: [www.fda.gov/media/131868/download](http://www.fda.gov/media/131868/download). Совет Европы: [www.edqm.eu/en/news/omcls-release-three-methods-determination-ndma-sartans](http://www.edqm.eu/en/news/omcls-release-three-methods-determination-ndma-sartans)

Министерство здравоохранения Канады: [healthycanadians.gc.ca/recall-alert-rappel-avis/hc-sc/2020/72963a-eng.php](http://healthycanadians.gc.ca/recall-alert-rappel-avis/hc-sc/2020/72963a-eng.php) FDA Тайвань: [www.fda.gov.tw/ENG/siteList.aspx?sid=10360](http://www.fda.gov.tw/ENG/siteList.aspx?sid=10360)

## Варианты колонок

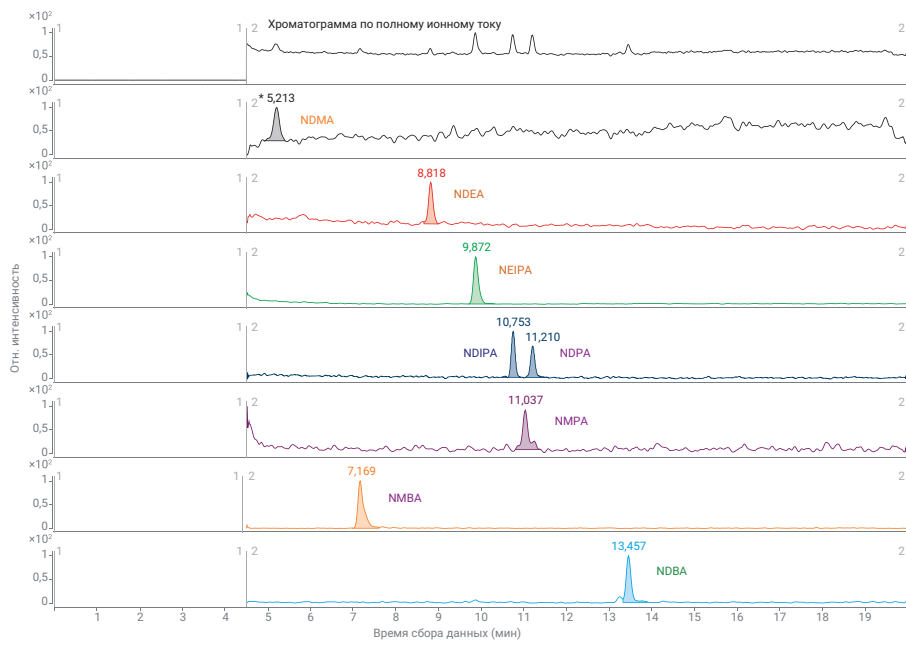
Пентафторфенильный (PFP) лиганд в колонке **InfinityLab Poroshell 120 PFP**, использованной в методе 2 (таблица 1) (8), обеспечивает ортогональный привитым фазам C18 механизм разделения. Пентафторфенильные фазы могут разделять аналиты на основе небольших различий в структуре, заместителях и стерической доступности полярных остатков. Получаемая селективность по отношению к позиционным изомерам, галогенсодержащим соединениям и полярным аналитам особенно полезна при анализе сложных смесей. Так как NDIPA и NDPA являются позиционными изомерами, колонка InfinityLab Poroshell 120 PFP идеально подходит для этого разделения благодаря простоте в использовании.

**Колонка InfinityLab Poroshell HPH-C18**, которая также была использована для этого анализа в методе 1 (таблица 1) (8), включает технологию гибридных частиц, которая повышает устойчивость частиц в широком диапазоне pH, увеличивая срок службы и сокращая необходимость в замене колонки. Однако при использовании этой колонки чрезвычайно важна надежность процесса разработки методик, гарантирующая получение долгосрочной, стабильной и надежной методики. Удерживание ионизируемых соединений и селективность по отношению к ним может значительно изменяться с изменением значения pH, поэтому проведение анализа в условиях низких, средних и высоких значений pH в процессе разработки методик становится обычной практикой. Помимо оптимизации условий градиента, для обеспечения разделения позиционных изомеров NDIPA и NDPA также необходимо оптимизировать параметры МС-МС, чтобы максимально повысить чувствительность.

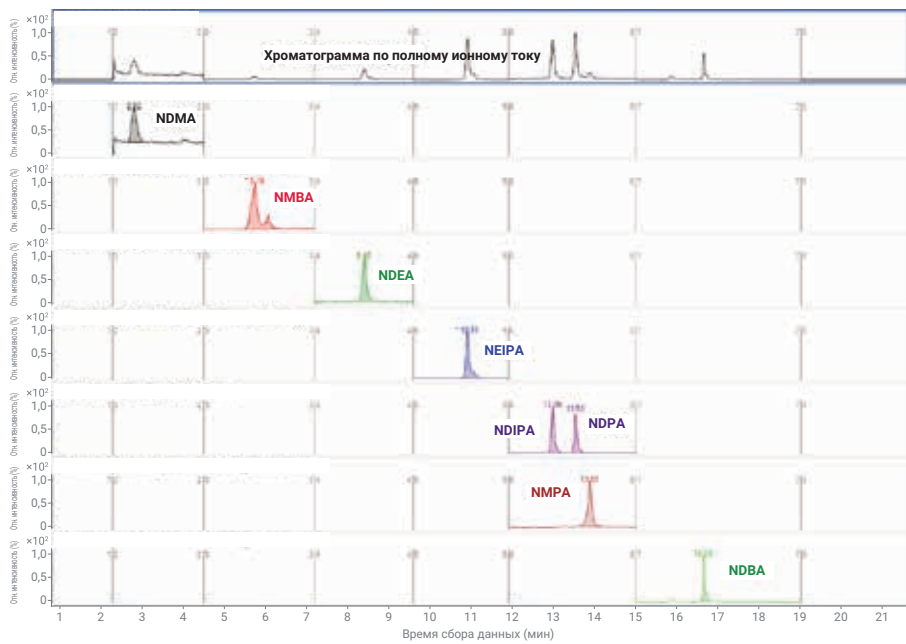
## Конфигурация и параметры ВЭЖХ

Таблица 1. Конфигурация и параметры УВЭЖХ. Подробнее см. источник литературы 8.

Параметр	Значение							
	Метод 1	Метод 2						
Приборы	Высокоскоростной насос Agilent 1290 Infinity II High-Speed Pump (G7120A) Мультисамплер Agilent 1290 Infinity II (G7167B) Многоколоночный термостат Agilent 1290 Infinity II (G7116B) Детектор на диодной матрице Agilent 1260 Infinity (G1315C)	Высокоскоростной насос Agilent 1290 Infinity II High-Speed Pump (G7120A) Мультисамплер Agilent 1290 Infinity II (G7167B) Многоколоночный термостат Agilent 1290 Infinity II (G7116B) Детектор на диодной матрице Agilent 1260 Infinity (G1315C)						
Промывка иглы	Метанол:вода = (80:20)	Метанол:вода = (80:20)						
Разбавитель пробы	Вода:метанол = (95:5)	Метанол						
Температура мультисамплера	10 °C	10 °C						
Объем ввода	20 мкл	5 мкл						
Аналитическая колонка	Agilent InfinityLab Poroshell HPH-C18, 4,6 × 150 мм, 2,7 мкм (кат. № 693975-702(T))	Agilent InfinityLab Poroshell 120 PFP, 3,0 × 150 мм, 2,7 мкм (кат. № 693975-308)						
Температура колонки	40 °C	40 °C						
Подвижная фаза А	0,1% водный раствор муравьиной кислоты	0,1% водный раствор муравьиной кислоты						
Подвижная фаза В	0,1% раствор муравьиной кислоты в метаноле	0,1% раствор муравьиной кислоты в метаноле						
Скорость потока	0,5 мл/мин	0,5 мл/мин						
Градиент	Время (мин)	% А	% В	Расход (мл/мин)	Время (мин)	% А	% В	Расход (мл/мин)
	0	95	5	0,5	0	95	5	0,5
	2	95	5	0,5	3	95	5	0,5
	7	40	60	0,5	14	40	60	0,5
	10	25	75	0,5	17	10	90	0,5
	11	10	90	0,5	19	10	90	0,5
	16,5	10	90	0,5	19,1	95	5	0,5
	16,6	95	5	0,5	22	95	5	0,5
	20,0	95	5	0,5				
	Время элюирования	20 мин				22 мин		
Длина УФ-волны	230 нм				230 нм			



**Рис. 2.** Характерная хроматограмма MRM всех примесей нитрозаминов с концентрацией 0,5 нг/мл с помощью методики 1 (подробнее см. источник литературы 8).



**Рис. 3.** Характерная хроматограмма MRM примесей всех восьми нитрозаминов с концентрацией 3 нг/мл с помощью методики 2 (подробнее см. источник литературы 8).

## Информация для упрощения подбора и заказа расходных материалов

Данное руководство представляет собой рекомендации по подбору продукции Agilent, использованной в данном анализе, которые позволяют быстро найти нужные вам расходные материалы. Нажмите на ссылки «Мой список» \* в заголовке ниже, чтобы добавить материалы в список «Избранные товары» интернет-магазина Agilent. Затем вводите количество необходимых продуктов. Ваш список будет сохранен в категории «Избранные товары» и может быть использован при составлении заказов в будущем.

Нажмите [Мой список](#), чтобы загрузить все материалы из этой таблицы в список избранных товаров.

Описание продукта	Каталожный номер
<b>Стандарты нитрозаминов и растворители</b>	
Стандарты нитрозаминов (в метилхлориде)	<a href="#">US-113N-1</a>
Сверхчистый метанол для ВЭЖХ-МС InfinityLab	<a href="#">5191-4497</a>
Сверхчистая вода для ВЭЖХ-МС InfinityLab	<a href="#">5191-4498</a>
Муравьиная кислота, 5 мл	<a href="#">G2453-85060</a>
<b>Нитрозамины – материалы для пробоподготовки</b>	
Центрифужные пробирки с крышками, 15 мл, 50 шт/уп.	<a href="#">5610-2039</a>
Фильтр Captiva Econofilter, мембрана из ПВДФ, диаметр 13 мм, размер пор 0,2 мкм, 1 000 шт/уп.	<a href="#">5190-5261</a>
Мембрана из ПЭС шприцевого фильтра Captiva Premium, диаметр 15 мм, размер пор 0,2 мкм, 100 шт/уп. (сертификация для ВЭЖХ-МС)	<a href="#">5190-5096</a> <sup>1</sup>
Шприцевой фильтр Captiva Premium, нейлон, диаметр 15 мм, размер пор 0,2 мкм, 100 шт/уп. (сертификация для ВЭЖХ)	<a href="#">5190-5088</a> <sup>2</sup>
Одноразовый шприц Captiva, 5 мл, 100 шт/уп.	<a href="#">9301-6476</a>
Одноразовый шприц Captiva, 10 мл, 100 шт/уп.	<a href="#">9301-6474</a>
<b>Нитрозамин – колонка для ВЭЖХ</b>	
InfinityLab Poroshell 120 PFP, 3,0 × 150 мм, 2,7 мкм (рекомендовано)	<a href="#">693975-308</a>
Предколонка InfinityLab Poroshell 120 PFP, 3,0 мм, 2,7 мкм (рекомендовано)	<a href="#">823750-915</a>
InfinityLab Poroshell HPH-C18, 4,6 × 150 мм, 2,7 мкм	<a href="#">693975-702</a>
InfinityLab Poroshell HPH-C18, 4,6 мм, 2,7 мкм, предколонка УВЭЖХ, 3 шт/уп.	<a href="#">820750-922</a>
<b>Нитрозамин – расходные материалы для ВЭЖХ</b>	
Комплект InfinityLab Quick Connect, 0,12 × 105 мм, для подключения входного фитинга колонки к системе УВЭЖХ	<a href="#">5067-5957</a>
Комплект InfinityLab Quick Connect, 0,17 × 105 мм, для подключения входного фитинга колонки к системе УВЭЖХ	<a href="#">5067-6166</a>
Фитинг InfinityLab Quick Turn, для выходного фитинга колонки	<a href="#">5067-5966</a>
Капилляр Quick Turn, 0,12 × 280 мм, для подключения колонки к детектору	<a href="#">5500-1191</a>
Набор крышек Stay Safe размера GL45 с 4 портами для слива и емкость для отходов объемом 6 л	<a href="#">5043-1221</a>
Угольный фильтр с таймерной полоской для емкости для отходов	<a href="#">5043-1193</a>
Набор крышек InfinityLab Stay Safe для начала работы	<a href="#">5043-1222</a>
Входной фильтр для растворителя, из нерж. стали, размер пор 10 мкм	<a href="#">01018-60025</a>
Система фильтрации растворителей InfinityLab, включает в себя стеклянную воронку объемом 250 мл, стеклянное основание для мембранного фильтра, стеклянную колбу объемом 1 л и алюминиевый зажим	<a href="#">5191-6776</a> <sup>3</sup>
Мембрана из регенерированной целлюлозы, диаметр 47 мм, размер пор 0,20 мкм, 100 шт/уп.	<a href="#">5191-4340</a> <sup>3</sup>



<b>Нитрозамины – виалы и крышки</b>	
Виала, винтовая пробка, янтарное стекло, с местом для надписей, сертифицированная, 2 мл, 100 шт/уп. Объем виал: 12 x 32 мм (крышка 12 мм).	<a href="#">5182-0716</a>
Крышка, навинчивающаяся, зеленая, септа с прорезью, ПТФЭ / силикон, 100 шт/уп. Размер крышки: 12 мм	<a href="#">5183-2077</a>
Вкладыш для флакона, 250 мкл, деактивированное стекло, с полимерным основанием, 100 шт/уп.	<a href="#">5181-8872</a>
<b>Нитрозамины – расходные материалы для МС</b>	
Запасной набор игл APCI	<a href="#">G1946-68704</a>
Игла APCI	<a href="#">G1960-20030</a>
Капилляр, быстро переключающийся, 0,6 мм	<a href="#">G1960-80060</a>



\* Используйте «Мой список» в первый раз? Система попросит вас ввести адрес электронной почты для проверки подлинности учетной записи. Если у вас уже есть учетная запись Agilent, вы сможете войти в систему. Если у вас нет учетной записи Agilent, вам придется [зарегистрироваться](#). Эта функция действует только в странах, в которых работает интернет-магазин Agilent. Вся продукция может быть также заказана по обычным каналам продажи и распространения.

1. Действуя аналогично ПВДФ, эта мембрана отличается низким связыванием белка и идеально подходит для анализа белков. Доступна в упаковках меньших размеров (100 шт/уп.) и сертифицирована для ВЭЖХ-МС.
2. Идеально подходит для фильтрации. Не должна использоваться для анализа белков. Доступна в упаковках меньших размеров (100 шт/уп.) и сертифицирована для ВЭЖХ.
3. Система фильтрации растворителей и соответствующие фильтрующие мембраны не рекомендуются для использования со сверхчистыми растворителями для ВЭЖХ-МС InfinityLab.

## Литература

1. Nitrosamines analysis in pharmaceuticals using single quadrupole GC/MS and triple quadrupole GC/MS/MS: Consumables workflow ordering guide, Agilent publication ([5994-2979EN](#))
2. Nitrosamine Impurities Application Guide – Confidently detect and quantify mutagenic impurities in APIs and Drug Products ([5994-2393EN](#))
3. Determination of a Genotoxic NDMA Impurity Using the High-Resolution Agilent 6546 LC/Q-TOF in Ranitidine Drug Substance and Drug Products ([5994-1626EN](#))
4. Simultaneous Determination of Eight Nitrosamine Impurities in Metformin Using the Agilent 6470 Triple Quadrupole LC/MS ([5994-2286EN](#))
5. Determination of Nitrosamine Impurities Using the Ultivo Triple Quadrupole LC/MS ([5994-1383EN](#))
6. Determination of NDMA Impurity in Ranitidine Using the Agilent 6470 Triple Quadrupole LC/MS ([5994-1668EN](#))
7. Determination of Nitrosamine Impurities Using the High-Resolution Agilent 6546 LC/Q-TOF ([5994-1372EN](#))
8. Simultaneous Determination of Eight Nitrosamine Impurities in Metformin Extended-Release Tablets Using the Agilent 6470 Triple Quadrupole LC/MS ([5994-2533EN](#))

## Химические стандарты Agilent

Ищете высококачественные стандарты для дополнительных методик? [Обратитесь к каталогу из 5 000 химических стандартов](#), чтобы найти оптимальный стандарт для своей методики или рабочего процесса. Не можете найти подходящий стандарт в каталоге? На нашем сайте также есть автоматизированный пользовательский инструмент для размещения заказа на стандарты, чтобы помочь вам разработать подходящий стандарт.

## Инструмент для подбора ВЭЖХ Agilent

Ищете колонку для ВЭЖХ, наиболее подходящую для используемых методик? Воспользуйтесь [инструментом для подбора колонок ВЭЖХ Agilent](#), чтобы выбрать оптимальную колонку для ВЭЖХ.

## Программа Agilent CrossLab: реальные идеи, реальные результаты



CrossLab — это не только оборудование, но и услуги, расходные компоненты и управление ресурсами в пределах лаборатории. Это позволяет повысить эффективность работы лаборатории, оптимизировать операции, увеличить время безотказной работы приборов, развить пользовательские навыки и многое другое.

Узнайте подробнее о программе Agilent CrossLab и ознакомьтесь с примерами того, как она помогла достичь отличных результатов, на странице [www.agilent.com/crosslab](http://www.agilent.com/crosslab).

Центры по работе с клиентами Agilent в вашей стране:  
[www.agilent.com/chem/contactus](http://www.agilent.com/chem/contactus)

Ответы на технические вопросы и доступ к ресурсам сообщества Agilent:  
[community.agilent.com](http://community.agilent.com)

Россия:  
**+7 495 664 73 00**  
**+7 800 500 92 27**  
[customercare\\_russia@agilent.com](mailto:customercare_russia@agilent.com)

Европа:  
[info\\_agilent@agilent.com](mailto:info_agilent@agilent.com)

Азиатско-Тихоокеанский регион:  
[inquiry\\_lsca@agilent.com](mailto:inquiry_lsca@agilent.com)

Информация в этом документе может быть изменена без уведомления.

RA44239.5764236111

© Agilent Technologies, Inc., 2021  
Напечатано США 10 марта 2021 г.  
5994-2977RU

