



Визначення нітрозамінів у фармацевтичній продукції та сировині

Нітрозаміни – молекули, які містять нітрузофункціональну групу.

Вони добре відомі завдяки високомутагенним забруднювачам, що формуються внаслідок реакції вторинних амінів з нітритом у кислотних умовах.

[Настанова ICH M7 \(R1\)](#)



Вчені роками вивчали негативний вплив понад 300 видів нітрозамінів, більше ніж 90% з яких виявляють канцерогенність щодо різних тварин. Вміст нітрозамінів контролюють у харчових продуктах, косметичних і тютюнових виробах, розчинниках та алкогольних напоях. Відповідно до Настанови ICH M7 (R1) нітрозаміни належать до 1-го класу забруднювачів. Крім того, разом із афлатоксиподібними речовинами, азоксисполуками та діоксинами вони є частиною сумнозвісної «когорти, що викликає занепокоєння».

[Висновок щодо «Використання програму токсикологічного занепокоєння \(ПТЗ\). Підхід до оцінки безпеки хімічних речовин для людини. Речовини для використання в косметичних засобах та споживчих товарах»](#)



Контроль нітрозамінів











Нітрозаміни дуже легко формуються в результаті взаємодії вторинних або третинних амінів з анітрозуючим агентом. Нітрити або аміни можуть бути виявлені як ненавмисні забруднюючі речовини в си-

ровині, реагентах та розчинниках, що використовують під час виробничих процесів, і здатні призвести до утворення нітрозамінів у кінцевих лікарських та косметичних продуктах. З цієї причини введено обов'язковий контроль залишкових кількостей нітрозамінів у лікарських та косметичних продуктах. Загалом рівень залишкового вмісту нітрозамінів не має перевищувати 30 ppb, але це вираховують індивідуально для кожного препарату, виходячи з його максимальної добової дози.

FDA опублікувала низку рекомендованих методик для визначення нітрозамінів у фармацевтичних препаратах (таблиця).

Для аналізу найбільшої кількості нітрозамінів (8 шт.) найчутливішим є метод 138617, в якому використовують мас-спектрометрію високої роздільної здатності – прилад типу «орбітальна іонна пастка» (Orbitrap).

Таблиця. Методики контролю нітрозамінів, опубліковані FDA

FDA-метод	Назва методики	Метод	Компонент	LOQ	QR-код
117843	Combined headspace method	GC-MS	NDMA, NDEA	NDMA – 100 ppb NDEA – 50 ppb	
117807	Combined direct injection method	GC-MS/MS	NDMA, NDEA	NDMA – 50-80 ppb NDEA – 30-40 ppb	
123409	Combined direct injection method	GC-MS/MS	NDMA, NDEA, NDIPA, NEIPA, NDBA	1-40 ppb (5-13 для NDMA і NDEA)	
124025	Headspace GC-MS/MS method	GC-MS/MS	NDMA, NDEA, NDIPA, NEIPA	50 ppb	
125478	LC-HRMS method	LC-HRMS	NDMA, NDEA, NEIPA, NDIPA, NDBA, NMBA	50 ppb	
142092	LC-ESI-HRMS	LC-HRMS	MNP, CPNP	17 ppb	
134914	LC-HRMS method	LC-HRMS	NDMA	30 ppb	
138617	LC-ESI-HRMS method	LC-HRMS	NDMA, NDEA, NEIPA, NDIPA, NDPA, NMPA, NDBA, NMBA	5-20 ppb	
130801	LC-HRMS method	LC-HRMS	NDMA	33 ppb	
131868	LC-MS/MS method	LC-MS/MS	NDMA	33 ppb	

[Мас-спектрометри ВЕРХ/МС Orbitrap](#)



Аналіз нітрозамінів

Опублікована нова загальна стаття Європейської фармакопеї про аналіз нітрозамінів – 2.5.42. N-Nitrosamines in active substances. Основні домішки, що контролюються відповідно до неї (7 шт.): **NDMA, NDEA, NDBA, NMBA, NDiPA, NEiPA** та **NDPA**. Чутливість аналізу за статтю також має бути нижче 30 ppb.

Використовують методи ГХ/МС, ГХ/МС/МС та ВЕРХ/МС/МС, причому жоден із них не призначений для визначення всіх видів нітрозамінів:

- найбільшу кількість (6) компонентів за цією статтю визначають за допомогою методу ГХ/МС/МС;
- далі йде метод ВЕРХ/МС/МС, який застосовують відповідно до 5 видів домішок;
- метод ГХ/МС призначений лише для аналізу NDMA та NDEA.

Метод газової хроматографії-мас-спектрометрії (ГХ/МС)

Найпростішим методом визначення двох основних нітрозамінів – **NDMA** та **NDEA** – є ГХ/МС з парофазним інжектуванням. Обидва вказані нітрозаміни є леткими сполуками, що легко переходять у парову фазу.

Межа кількісного визначення методу, що розроблений на обладнанні виробництва компанії **Thermo Scientific**, є набагато кращою, ніж така європейських методик та методик FDA, розроблених на аналогічному обладнанні інших виробників.

Якщо перед вами стоїть задача визначити лише два зазначених основних нітрозаміни – рішення на базі ГХ/МС [ISQ™ 7610](#) буде ідеальним за співвідношенням ціна/якість та забезпечить чутли-

вість з урахуванням сучасних регуляторних вимог.

[Газовий хромато-мас-спектрометр ISQ 7610](#)



Метод газової хроматографії та тандемної мас-спектрометрії (ГХ/МС/МС)

Методи з використанням тандемної мас-спектрометрії надають дві можливості: парофазне інжектування для найбільш летких нітрозамінів та пряме рідинне інжектування з попередньою підготовкою проби для більш широкого переліку компонентів в одному аналізі.

Компанія Thermo Scientific опублікувала метод визначення чотирьох нітрозамінів (**NDMA, NDEA, NDIPA, NEIPA**) за допомогою мас-детектора **TSQ™ 9000** з парофазним пробовідбірником **TriPlus™ 500 HS**. Він є аналогічним методу 124025 від FDA, але має ліміт кількісного визначення (від 2 до 10 ppb) та ліміт детектування 2 ppb, що від 5 до 20 раз чутливіший за метод FDA, розроблений на аналогічному обладнанні інших виробників.

Метод, опублікований компанією Thermo Scientific для мас-детектора **TSQ™ 9000** з рідинним інжектуванням для п'ятьох нітрозамінів, має ліміт кількісного визначення (від 0,5 до 1 ppb) та ліміт детектування (від 0,2 до 0,5 ppb), що значно



перевищує вимоги, які висуваються до максимального вмісту нітрозамінів та ліміту кількісного визначення методу.

Метод рідинної хроматографії з тандемним мас-спектрометричним детектуванням

На мас-спектрометричних детекторах виробництва компанії Thermo Scientific розроблено метод, що включає лише чотири етапи підготовки проби: подрібнення таблетки, екстрагування, стряхування у водному розчині, центрифугування та фільтрування зразка. LOQ методу **NDMA** (легкого та складного для визначення за допомогою рідинної хроматографії компонента) на найменш чутливому з сучасної лінійки тандемних квадрупольних мас-детекторів становить 0,3 мкг/кг. Користувачі обладнання Thermo Scientific з Індії та Кореї опублікували методики визначення шести та одинадцяти нітрозамінів в одному аналізі. При цьому чутливість методик становила від 0,25 до 1 ppb абсолютної концентрації, що також значно перевищує дані опублікованих методів, розроблених на аналогічному обладнанні інших виробників.

Метод рідинної хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням високої роздільної здатності приладом типу «орбітальна іонна пастка»

Готові лікарські препарати є досить складною матрицею, що містить велику кількість компонентів, які заважають проведенню аналізу. Іноді нітрозаміни виходять майже одночасно з піком АФІ, інколи піки інтерференцій спотворюють кількісні результати визначення нітрозамінів. Наприклад, ^{15}N ізотоп диметилформаміду має m/z 75,0570, а моноізотопний пік NDMA – m/z 75,0553, і розділити їх за допомогою звичайних триква-

друпольних детекторів неможливо. Використання детектора типу Orbitrap дозволяє ефективно відділяти нітрозаміни від АФІ або інтерференцій навіть для складних зразків, у той час як унікальний дизайн орбітальної пастки забезпечує чутливість на рівні триквадрупольних детекторів. Це робить Orbitrap ідеальним вибором для типів аналізу, що вимагають одночасно й ефективного розділення й чутливості на рівні нанограмів.

Використання мас-детекторів високої роздільної здатності типу Orbitrap є єдиною можливістю отримати результати щодо всіх нітрозамінів на одному приладі і є ідеальним вибором для мультикомпонентного аналізу з високою чутливістю для найскладніших матриць.

Кожна фармацевтична лабораторія може обрати свій метод визначення нітрозамінів: *ГХ/МС, ГХ/МС/МС, ВЕРХ/МС/МС* відповідно до власних потреб та в межах виділеного бюджету. Компанія Thermo Fisher Scientific пропонує різноманітні прилади, що допоможуть

ефективно виявити забруднювачі різних типів та забезпечать якість кінцевого продукту. **■**



У разі виникнення запитань або для отримання детальної інформації звертайтеся за адресою: chromatography@alt.ua



«АЛТ Україна ЛТД»
бізнес-частина будівлі
ТРЦ «КОМОД»
Київ, вул. Митрополита
Андрія Шептицького
(колишня Луначарського), 4
Тел.: +38 044 492-72-70
(багатоканальний)
<https://alt.ua/>

