

## การวิเคราะห์สารกลุ่ม Nitrosamine ด้วย LC-HRMS ในผลิตภัณฑ์ยา

ผู้จัดทำ: ฤทธิชัย เจริญทรัพย์นันต์, จิตนภา วรนิติกุล, นิรมล จิตต์สมหมาย, ทศพล อนุกุลวิทยา

ไนโตรซามีน (Nitrosamine) เป็นสารที่เกิดจากองค์ประกอบสารไนไตรท์ (Nitrite) และสารที่มีหมู่เอมีน (Amines) สารโมเลกุลเหล่านี้ ถูกพบว่าเป็นสารก่อมะเร็งหลากหลายชนิด โดยสามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม เช่น น้ำ อากาศ รวมไปถึงมีการปนเปื้อนในอาหาร และผลิตภัณฑ์ยา โดยจากการศึกษาการรักษาโรคบางชนิดที่เป็นอนุพันธ์ของเอมีน พบว่าสามารถรวมตัวกับไนไตรท์ ทำให้เกิดเป็นไนโตรซามีนในปริมาณสูงจนเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ดังนั้นในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ยา จึงจำเป็นต้องมีการตรวจวิเคราะห์สารดังกล่าว เพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพของยาและเป็นการป้องกันอันตรายแก่ผู้บริโภค โดยทั่วไปแล้ว สารกลุ่มไนโตรซามีน ที่ต้องมีการตรวจวิเคราะห์ในการตรวจสอบคุณภาพยา ได้แก่

- N-nitrosodimethylamine (NDMA)
- N-nitrosodiethylamine (NDEA)
- N-nitrosoethylisopropylamine (NEiPA)
- N-nitrosodiisopropylamine (NDiPA)
- N-nitrosodibutylamine (NDBA)
- N-nitroso-N-methyl-4-aminobutyric acid (NMBA)

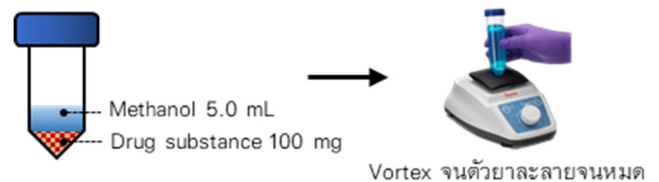
ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณของสาร กลุ่มไนโตรซามีนนั้น วิธีหนึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลายคือการใช้เทคนิค LC-HRMS โดยอาศัยความสามารถของเทคโนโลยี Orbitrap™ ในการตรวจวัด  $m/z$  ของสารกลุ่มไนโตรซามีนที่สนใจได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ โดยเทคโนโลยีนี้สามารถอ่านค่า  $m/z$  ได้ละเอียดถึง

Compound	Acquisition Mode	Polarity	$m/z$
NDMA	SIM	Positive	75.05530
NDEA	SIM	Positive	103.08659
NEiPA	PRM	Positive	117.10000 75.05530
NDiPA	SIM	Positive	131.11790
NDBA	SIM	Positive	159.14920
NMBA	SIM	Negative	145.06187

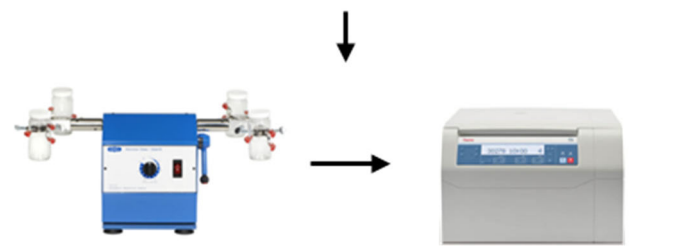
ทศนิยมตำแหน่งที่ห้า โดยมีความผิดพลาดในการอ่านแต่ละการสแกนไม่เกิน 5 ppm

### การเตรียมตัวอย่าง

- Drug substance sample preparation



- Drug product sample preparation



เขย่าด้วย Wrist Action Shaker  
40 นาที

Centrifuge 15000 rpm 15 นาที

กรองส่วนใสด้วย  
Syringe Filter PVDF  
0.2  $\mu$ m

ทิ้งส่วนที่กรองได้ 1 mL แรกทิ้ง  
และนำไปวิเคราะห์ด้วย  
LC-MS/MS

## เครื่องมือวิเคราะห์ LC-MS/MS

- Thermo Scientific™ Ultimate 3000™ UHPLC
- Gemini Column C18™ (3 µm, 4.6 x 100 mm)
- Thermo Scientific™ Q Exactive Focus MS
- LC Conditions แสดงในตาราง

### LC Conditions

Column Temp.	40°C		
Injection Vol.	7 µL (Pos) and 5 µL (Neg)		
Flow Rate	500 µL/min (Pos) and 400 µL/min (Neg)		
Mobile Phases	A: 0.1% Formic Acid in Water B: 0.1% Formic Acid in MeOH		
Gradient (Positive)	Time(min)	%A	%B
	0.0	70	30
	6.0	70	30
	7.0	45	55
	10.0	45	55
	11.0	25	75
	17.0	25	75
	17.1	70	30
	20.0	70	30
Gradient (Negative)	0.0	90	10
	0.5	90	10
	5.0	5	95
	9.0	5	95
	9.5	90	10
	13.0	90	10

### ผลการตรวจวิเคราะห์

จากตารางที่ 1 แสดงความเป็นกราฟเชิงเส้น (Linearity) ที่ได้จากกราฟมาตรฐานของสารไนโตรซามีน ที่ความเข้มข้น 0.5 ถึง 30 µg/L ให้ค่า R<sup>2</sup> มากกว่า 0.9994 และจากค่า Signal to Noise Ratio (S/N) พบว่าการตรวจวิเคราะห์สารไนโตรซามีนมีคุณภาพของสัญญาณ (Signal Quality) ที่ดีและมีค่า S/N Ratio ต่ำสุดที่ 19.9 (NDiPA) และสูงสุดที่ 143.2 (NDBA) ที่ความเข้มข้น 1 µg/L นอกจากนี้พบว่าการวิเคราะห์ด้วยวิธี LC-HRMS นี้สามารถวิเคราะห์ระบุชนิดและปริมาณของไนโตรซามีน ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด (LOQ) ได้ถึง 0.5 µg/L (ตารางที่ 1) แสดงให้เห็นว่าวิธีดังกล่าวเป็นวิธีการวิเคราะห์ระบุชนิด และปริมาณ

### เอกสารอ้างอิง

[1] U.S. Food & Drug Administration., Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry (LC-HRMS) Method for the Determination of Six Nitrosamine Impurities in ARB Drugs, <https://www.fda.gov/media/125478/download>

ติดตามแอปพลิเคชันอื่น ๆ ได้ที่ <https://www.scispec.co.th>



บริษัท ชายน์ สเปค จำกัด  
10 กาญจนภิเษก ซอย 0010 แยกสอง  
เขตบางแค กทม. 10160  
โทร 02-454-8533



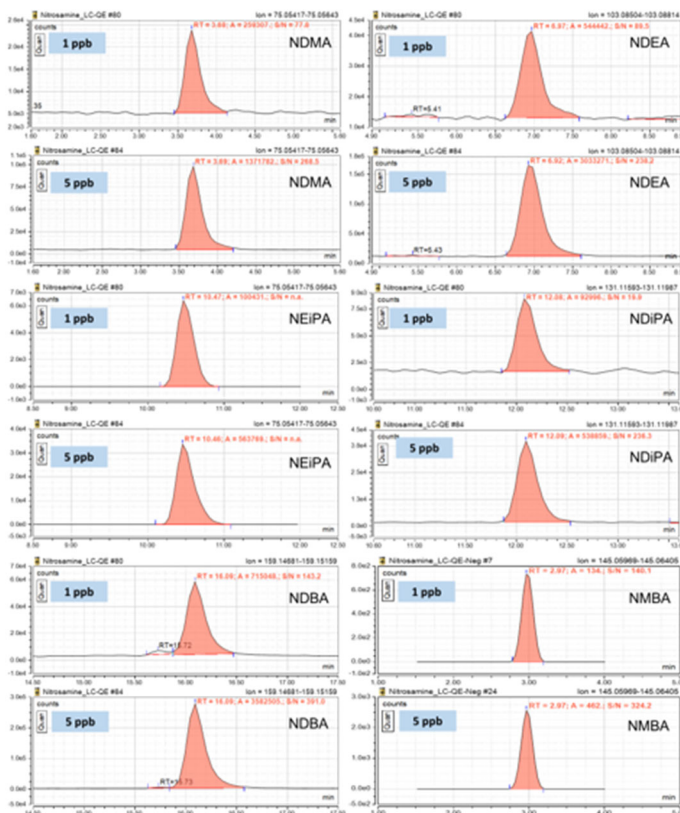
/scispec



@scispec

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

ของไนโตรซามีนที่มีความน่าเชื่อถือสูง สามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ



รูปที่ 1 Chromatogram แสดงค่า Signal to Noise Ratio ของสารไนโตรซามีนที่ความเข้มข้น 1 และ 5 µg/L

Compound	Calibration Range (µg/L)	R <sup>2</sup>	LOQ Conc. (µg/L)
NDMA	0.5 – 30	0.9997	0.5
NDEA	0.5 – 30	0.9995	0.5
NEiPA	0.5 – 30	0.9994	0.5
NDiPA	0.5 – 30	0.9994	0.5
NDBA	0.5 – 30	0.9994	0.5
NMBA	1.0 – 60	0.9978	1.0

ตารางที่ 1 ค่า R<sup>2</sup> จากกราฟมาตรฐานและค่า Limit of Quantitation (LOQ)