

亚硝胺类

自从亚硝胺首次在原料药和药物产品中被发现以来，在过去几年里受到了极大的审查。亚硝胺被广泛怀疑是人类致癌物，由于美国 FDA 在雷尼替丁和二甲双胍等药物产品中发现，现在必须监测亚硝胺的存在和可能引入生产。

虽然存在数百种亚硝胺，但它们的化学性质是亲水性或疏水性的，但差异很大。因此，提出了一个挑战。

亚硝胺已经成为一个热门话题，因为它有致癌特性的风险，而且具有潜在的预防性。

开发一种适合这些群体的方法。另一个关键标准是开发一种简单的筛选 HPLC 方法，即使在低浓度水平下也可以快速有效地使用，而不需要 LC-MS 检测。

实验分析：

在这个应用说明中，我们展示了 Evosphere® AQUA 色谱柱与一个简单的移动相位相结合的能力，以产生全分辨率和提供良好的灵敏度。演化圈是围绕一种新的单分散全多孔粒子（MFPP）建立的，它旨在提供比传统的多分散粒子更高的效率。因此，在本应用注释中，3 μ m Evosphere 粒子提供了如果使用亚 2 μ m UHPLC 粒子所预期的效率和灵敏度。如果您使用一个 UHPLC 粒子运行，那么你会得到一个很高的背压，以及潜在的阻塞问题，这可能会导致对该方法缺乏信心。

与 HPLC 中的其他等效硅颗粒相比，MFPP 将提供更好的填充柱，更少的带展宽和 40-50%的效率，因此具有更高的分辨率和灵敏度。与此 MFPP 结合的是一种新的固定相选择，提供了提高密切相关的化合物的关键对的分辨率的能力，非常适合具有非常相似结构的亚硝胺。

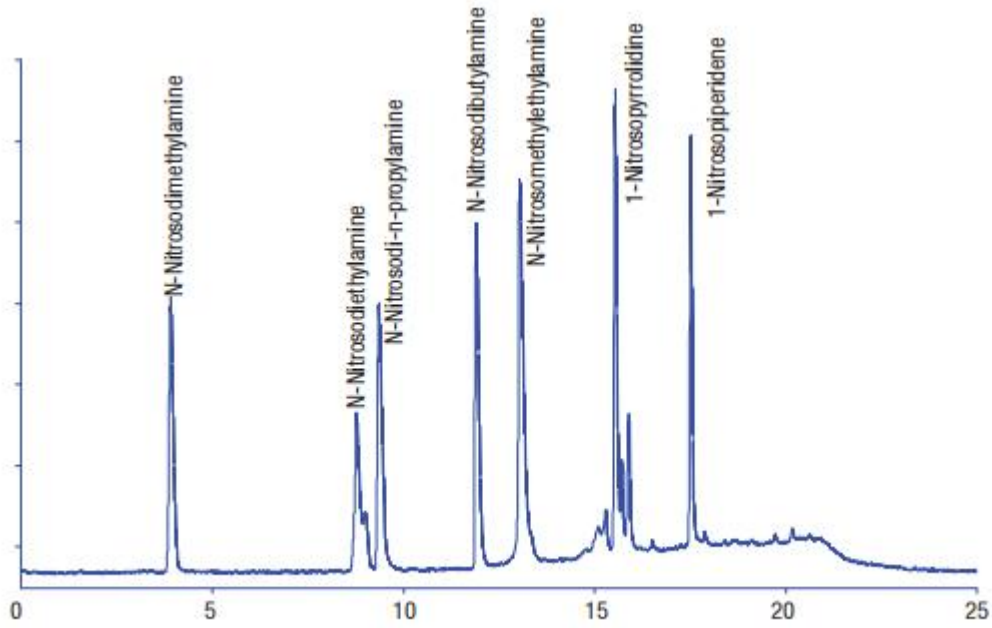


Figure 1. Separation of Nitrosamines

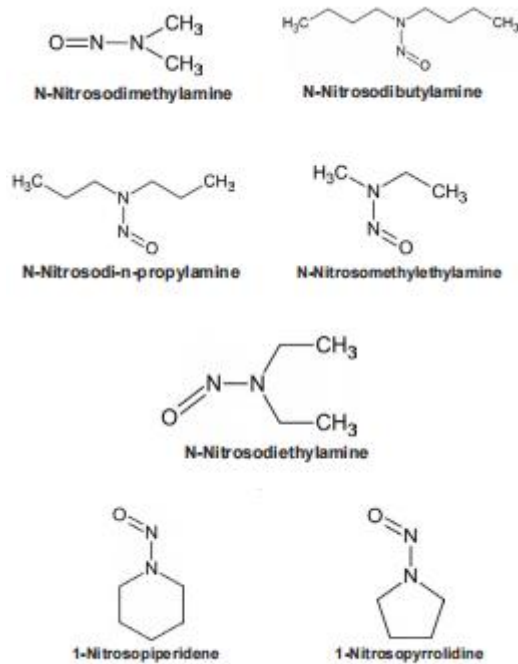


Figure 2. Nitrosamines structures

实验条件:

色谱柱: 3 μ m Evosphere®AQUA 100x2.1mm p/n EVOAQUA-020503

(色谱分析的) 流动相:

A: 0.1% formic acid in water

B: 0.1% formic acid in MeOH

Time	%B
0.5	5
14	95
15	95

流速：0.4ml/min

温度：40℃

检测：254nm

该方法开发工作的第二部分是用亚硝胺和雷尼替丁的样本来运行亚硝胺，看看是否可以检测到这两种物种。为此，该梯度已被更改为：

色谱柱：3µm Evosphere® AQUA 100x2.1mm p/n EVOAQUA-020503

（色谱分析的）流动相：

A: 0.1% formic acid in water

B: 0.1% formic acid in MeOH

Time	%B
0	5
5	5
15	45
30	95

流速：0.4ml/min

温度：40℃

检测：254nm

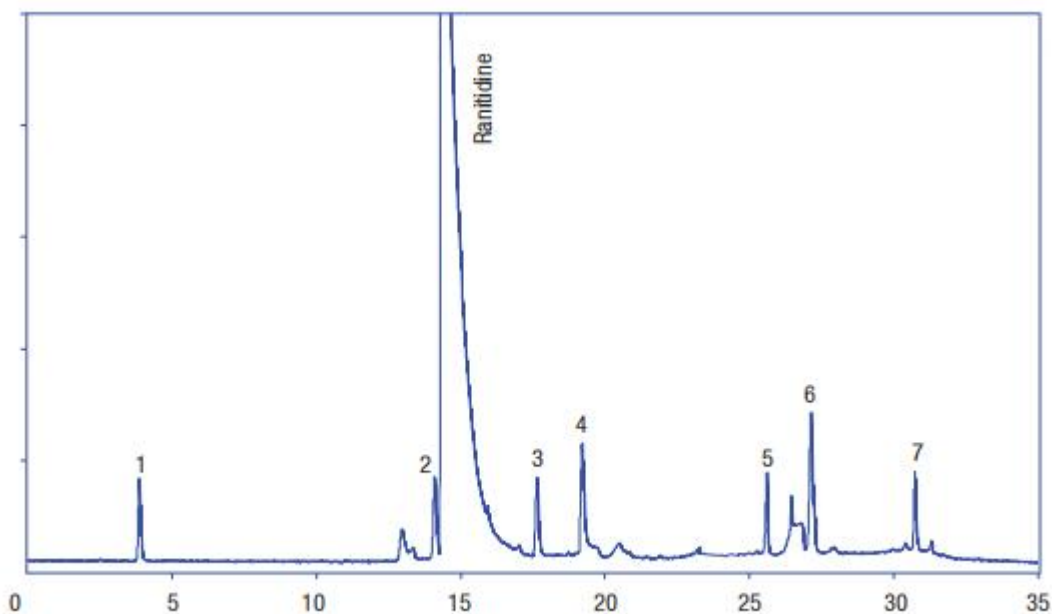


Figure 3. Separation of Nitrosamines and Ranitidine

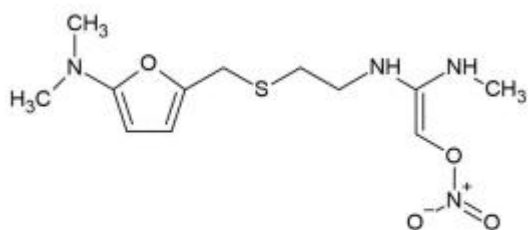


Figure 4. Ranitidine

结论：在这个应用说明中，我们展示了一种稳健的 LC-紫外方法来分离一些亚硝胺。分析完成得很快，并且在分析物之间具有良好的整体分辨率，但如果需要进一步提高速度，就有空间减小柱的大小，或增加流动相的有机比例，或提高温度，以获得更快的运行时间。如果存在其他代谢物，那么也有很大的范围来浅层梯度，以获得增加的分辨率。当在药物样品中寻找亚硝胺时，在这种情况下，雷那替丁，良好的母药负载和亚硝胺的高效峰形允许开发高灵敏度、高分辨率的方法。使用单分散粒子在这些化合物的分辨率和灵敏度方面提供了显著的性能提高。利用了简单的移动相，如果需要，也很容易将其转移到 LC-MS。