

LC-MS QQQ alkalmazása a hatósági gyógyszer-ellenőrzésben

Jankovics Péter

*Országos Gyógyszerészeti Intézet
Gyógyszerminőségi Főosztály*

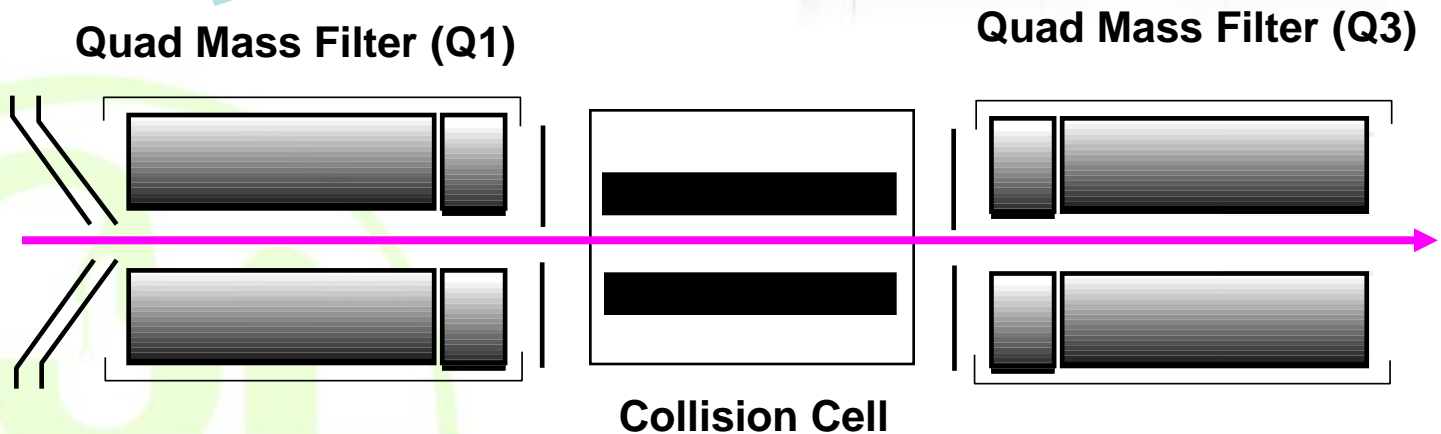
2010. január 14.



ORSZÁGOS
GYÓGYSZERÉSZETI
INTÉZET
National Institute of Pharmacy

A QQQ analizátor felépítése

Forrás: *Introducing the Agilent G6410AA Triple Quadrupole Mass Spectrometer* (M. Zumwalt; Agilent Technologies)



QQQ üzemmódok

- Scan
 - SIM
- } Egyszeres kvadrupól is tudja
- Product ion scan (SIM-scan)
 - Precursor ion scan (scan-SIM)
 - MRM (SIM-SIM)
 - Neutral loss (scan-scan)
 - Neutral gain (scan-scan)



Gyógyszerellenőrzési feladatok a hatósági laboratóriumban

- Törzskönyvezett gyógyszerek azonosítási, tisztasági és tartalmi vizsgálata (törzskönyv szerint, többnyire HPLC)
- Magisztrális készítmények vizsgálata (többnyire házi módszer: klasszikus analitika, UV-spektroszkópia stb.)
- Hamisítás vagy illegális forgalmazás gyanújával beküldött termékek azonosítása (és egyéb vizsgálatai) – szakvélemény



A hamisítással kapcsolatos laboratóriumi vizsgálatok célja

- A termék hatóanyagának/hatóanyagainak azonosítása (a HPLC-MS/MS ehhez nélkülözhetetlen)
- Ha a hamisítvány eredetije rendelkezésre áll: összetétel, csomagolás, küllem összehasonlítása
- Tisztaság, tartalom (hamisítványoknál)



Az azonosítás problémái

- Hatósági szakvélemény → szigorú minőségbiztosítás (azonossági kritériumok)
- Gyakran nincs használható információ a mintáról
- Nem mindig szerezhető be referenciaanyag



Gyakorlati példák



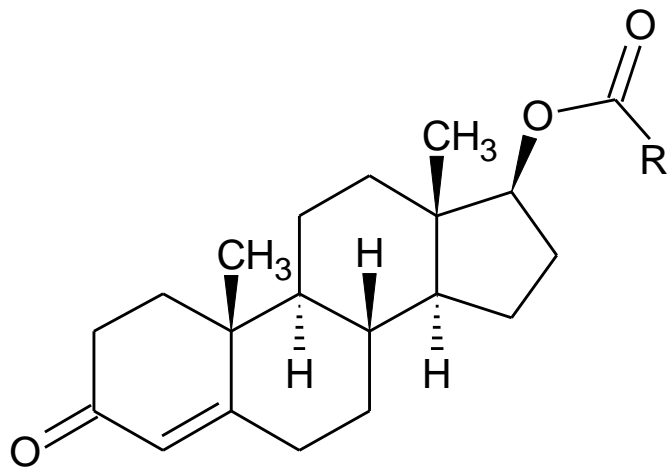
ORSZÁGOS
GYÓGYSZERÉSZETI
INTÉZET

National Institute of Pharmacy

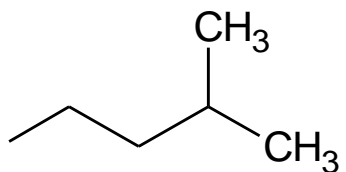
1. példa

- Minta: különféle szteroidokat tartalmazó olajos injekció (1,0 ml; 250 mg ampullánként)
- Feltüntetett származási ország: Pakisztán
- Feltüntetett gyártó: Organon
- Feltüntetett hatóanyagok:
 - Tesztoszteron-propionát (Ph. Eur.)
 - Tesztoszteron-fenilpropionát (BP)
 - Tesztoszteron-izokaproát (Ph. Eur.)
 - Tesztoszteron-dekanoát (Ph. Eur.)

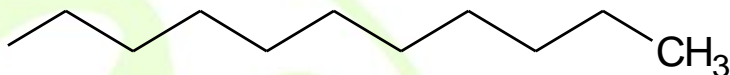




R =  CH₃ Tesztoszteron-propionát

R =  CH₃ CH₃ Tesztoszteron-izokaproát

R =  Tesztoszteron-fenilpropionát

R =  CH₃ Tesztoszteron-dekanoát



ORSZÁGOS
GYÓGYSZERÉSZETI
INTÉZET

National Institute of Pharmacy

1. példa

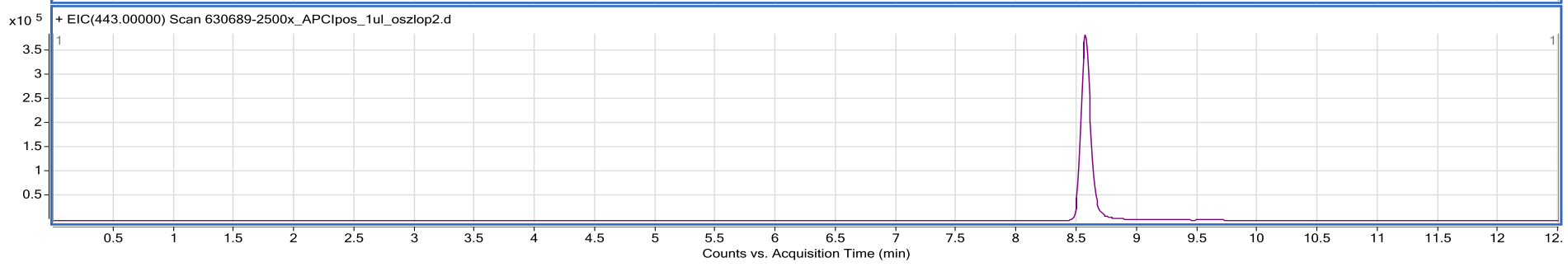
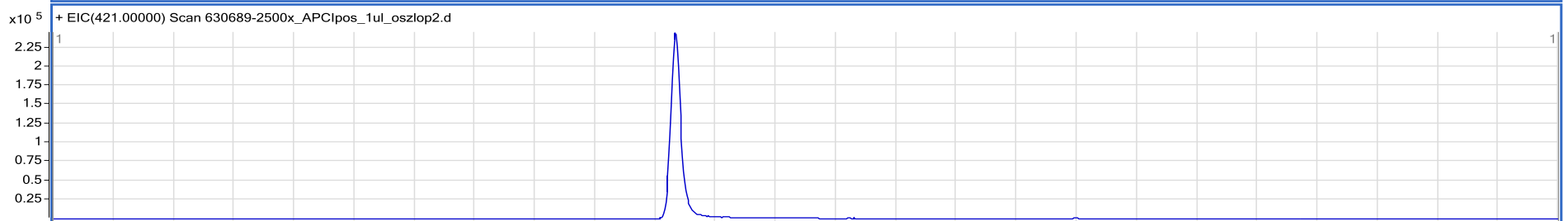
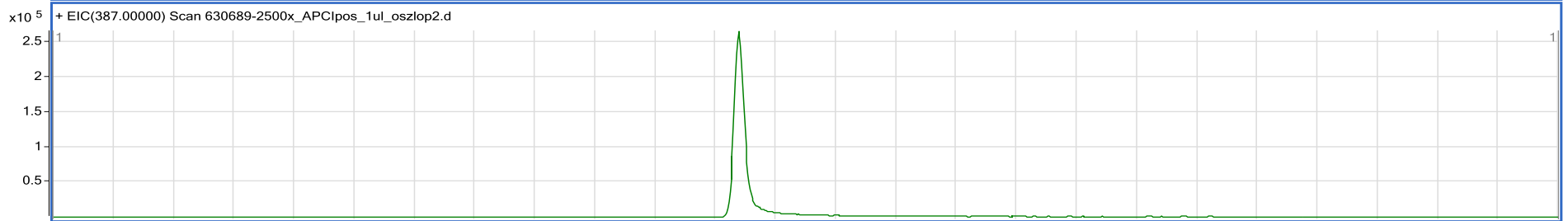
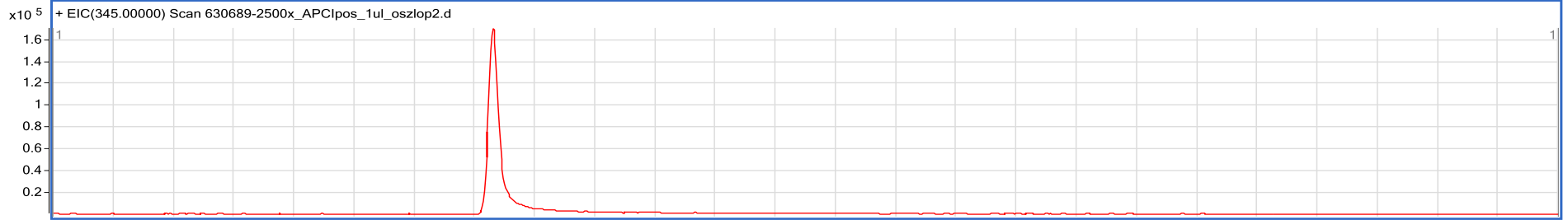
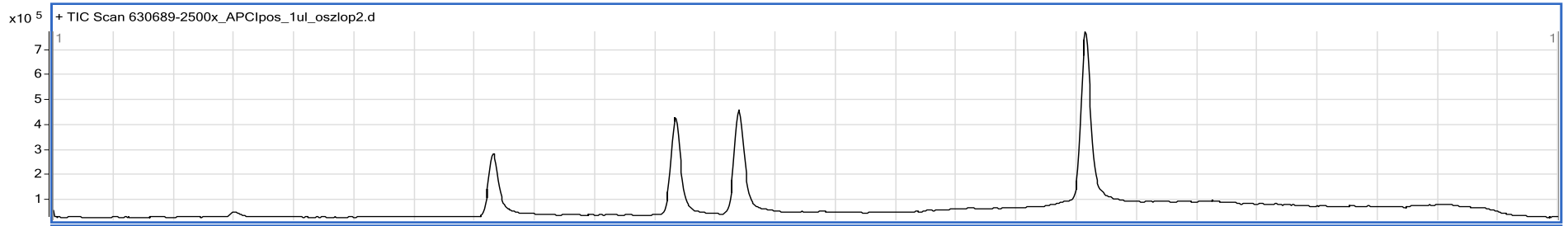
- Mintaelőkészítés: 100 μ l minta \rightarrow 5,0 ml-re (CH_2Cl_2), majd 20 μ l \rightarrow 1,0 ml-re (MeOH)
- Oszlop: Zorbax Eclipse XDB C-18 3,5 μ m; 75 \times 4,6 mm
- Eluensek: metanol-víz 5:95 v/v (A); metanol (B)
- Áramlási sebesség: 700 μ l/perc
- Gradiens program:
 - B: 85 \rightarrow 100% (0-6 perc);
 - B: 100% (6-9,5 perc)
- Vak: CH_2Cl_2 + MeOH (1:50 v/v)
- Injektált térfogat: 1 μ l



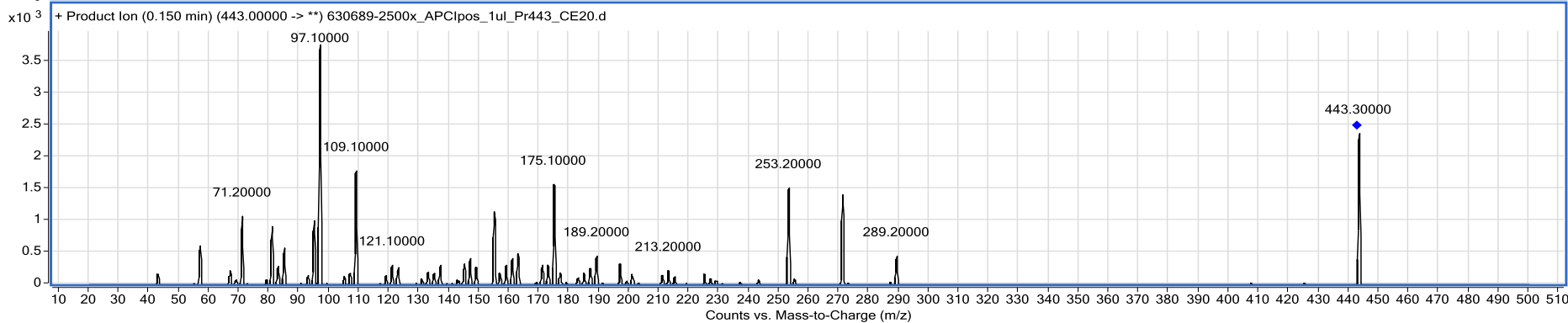
1. példa

- Ionforrás: MMI
- Ionizációs üzemmód: APCI (pozitív)
- Kapilláris feszültség: 2500 V
- Koronaáram: 4 μ A
- Porlasztás: 60 psi
- Gázsebesség: 5 l/perc
- Gázhőmérséklet: 325 C
- Vaporizer hőmérséklet: 200 C
- Fragmentor: 135 V





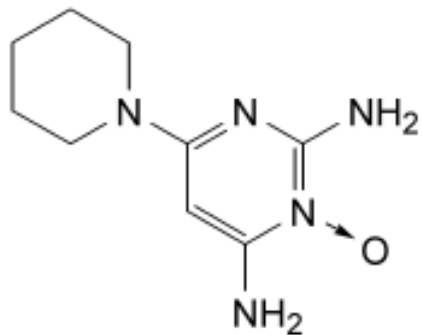
Counts vs. Acquisition Time (min)



2. példa

- Kétféle por (vámhatósági minta)
- 1. számú: „Minoxidil” felirat
- 2. számú: „5-aminosulphonyl-2-methoxy benzoic acid”
- Egyéb információk:
 - „Minoxidil”-hez tartozó számlán: „spironolactone”
 - 2. minta: „Te, ennek *speed*-szaga van!”

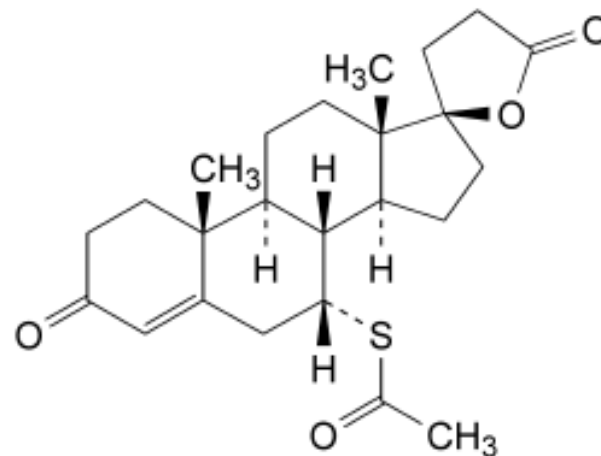




Minoxidil

(kálium-csatorna serkentő értágító;
lokálisan hajnövesztő hatású)

M = 209



Spironolacton

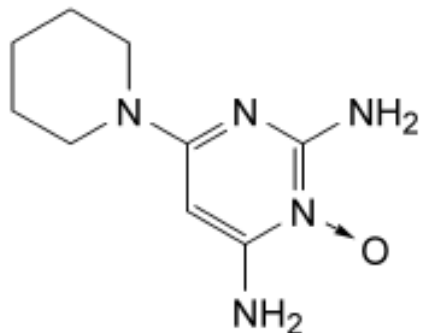
(„kálium-spóroló” diuretikum,
lokálisan hajnövesztő hatású)

M = 416



ORSZÁGOS
GYÓGYSZERÉSZETI
INTÉZET

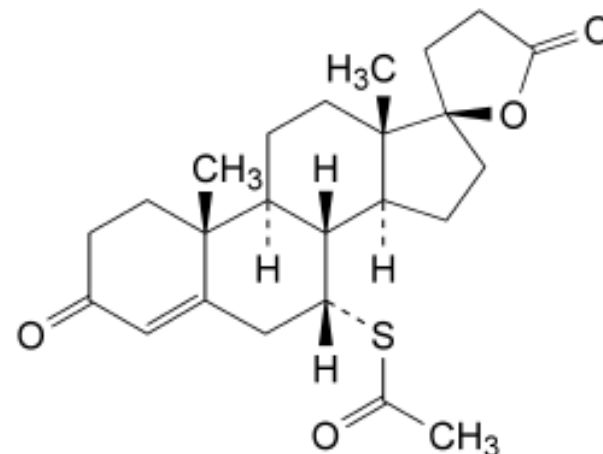
National Institute of Pharmacy



Minoxidil

(kálium-csatorna serkentő értágító;
lokálisan hajnövesztő hatású)

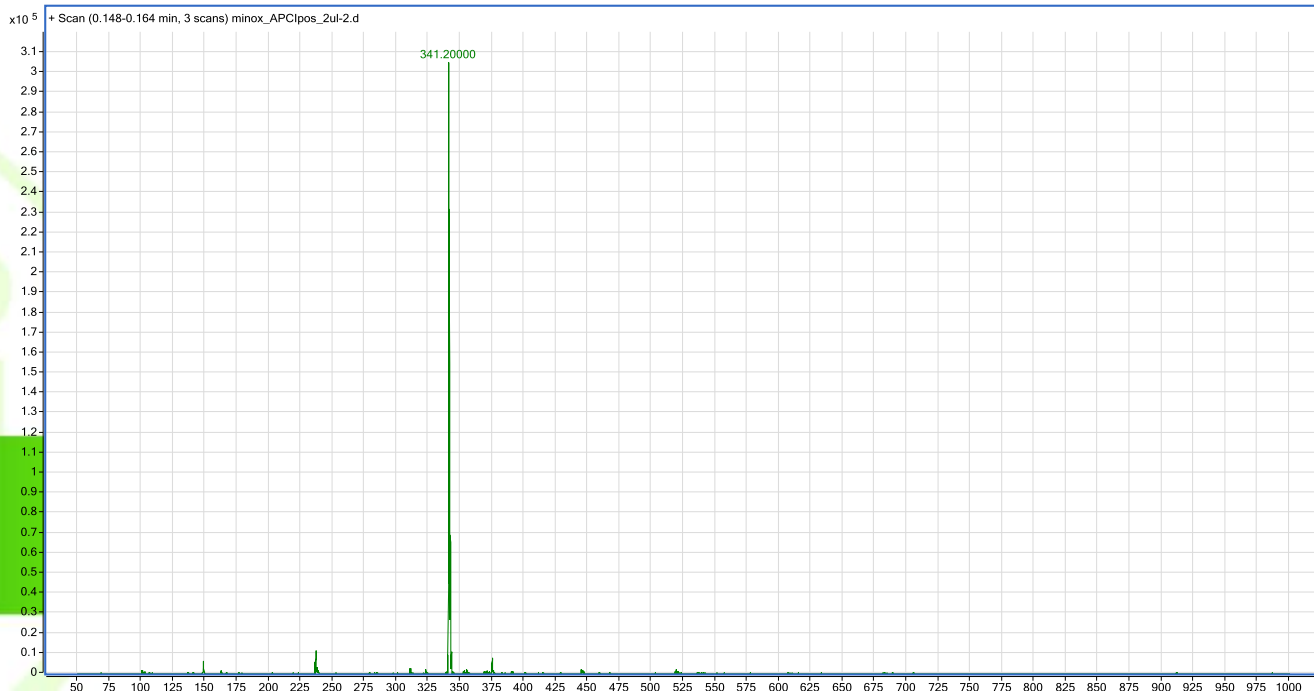
M = 209

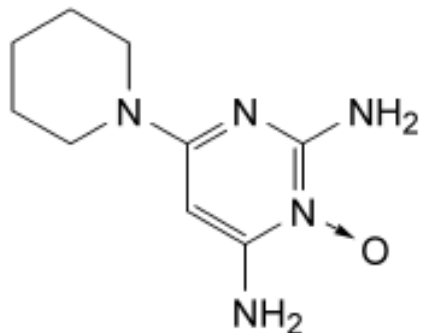


Spironolakton

(„kálium-spóroló” diuretikum,
lokálisan hajnövesztő hatású)

M = 416

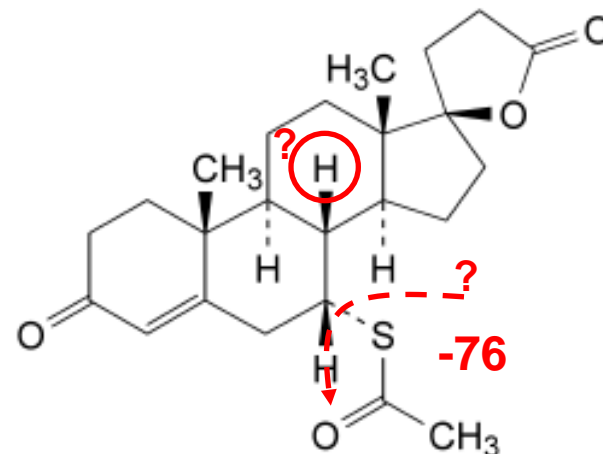




Minoxidil

(kálium-csatorna serkentő értágító;
lokálisan hajnövesztő hatású)

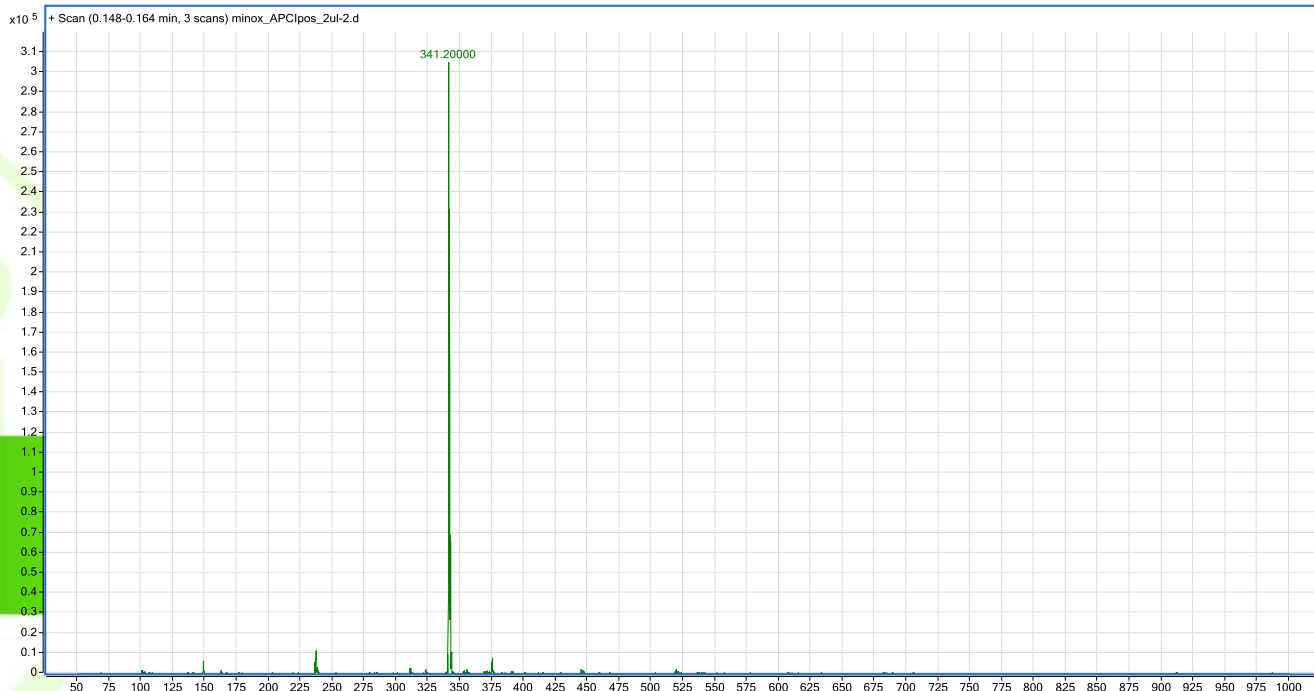
M = 209

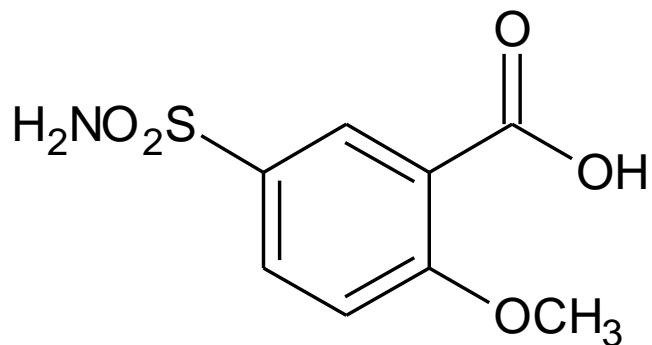


Spironolacton

(„kálium-spóroló” diuretikum,
lokálisan hajnövesztő hatású)

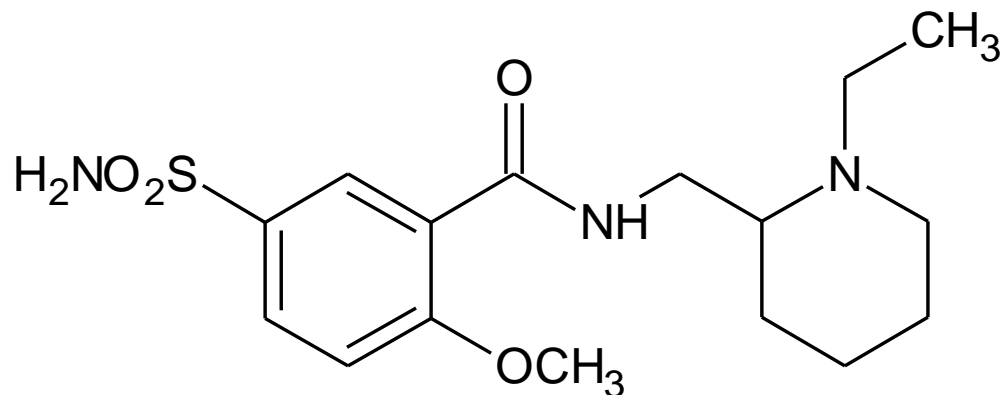
M = 416





2-metoxi-5-szulfamoilbenzoesav

M = 231



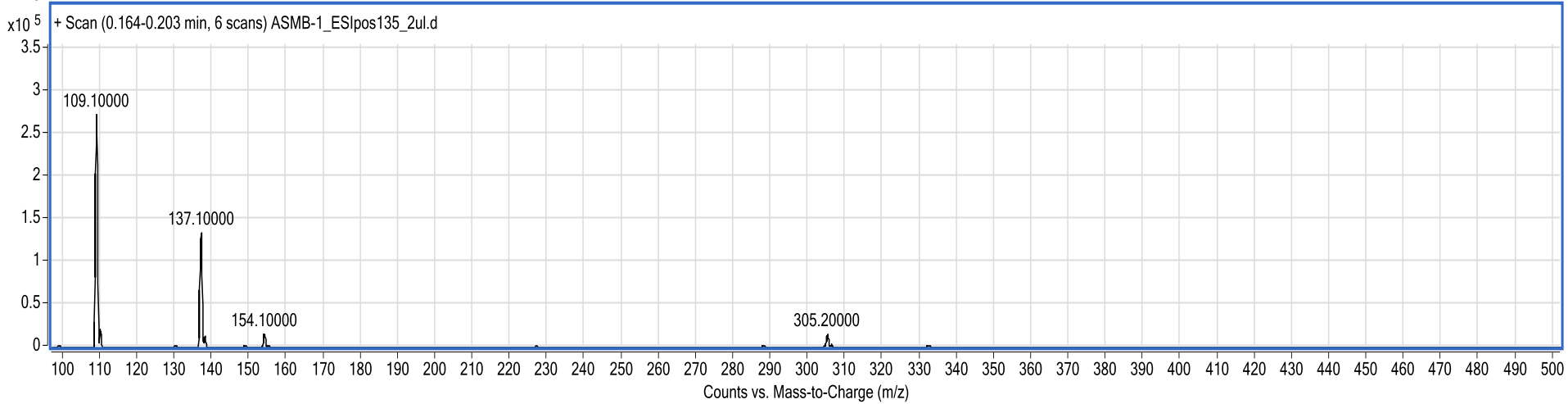
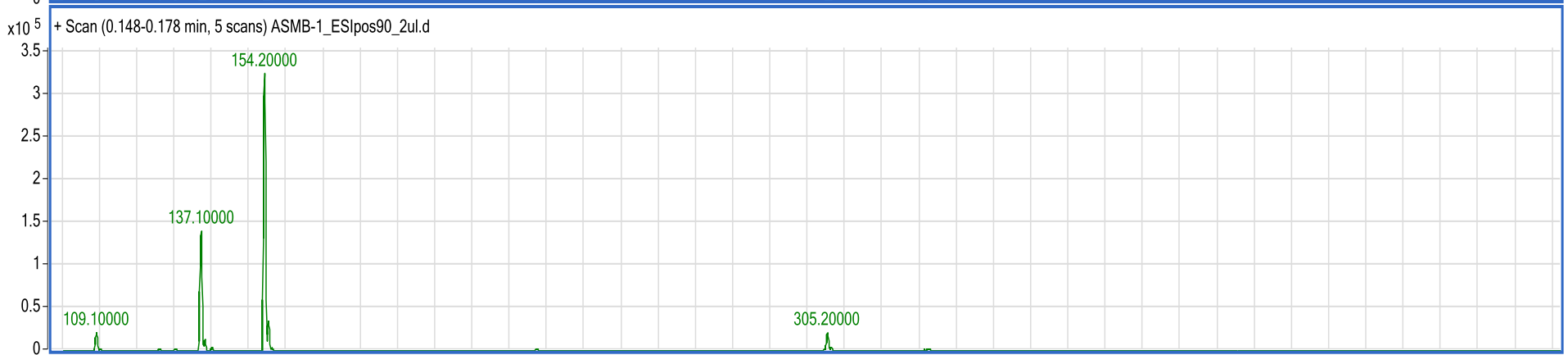
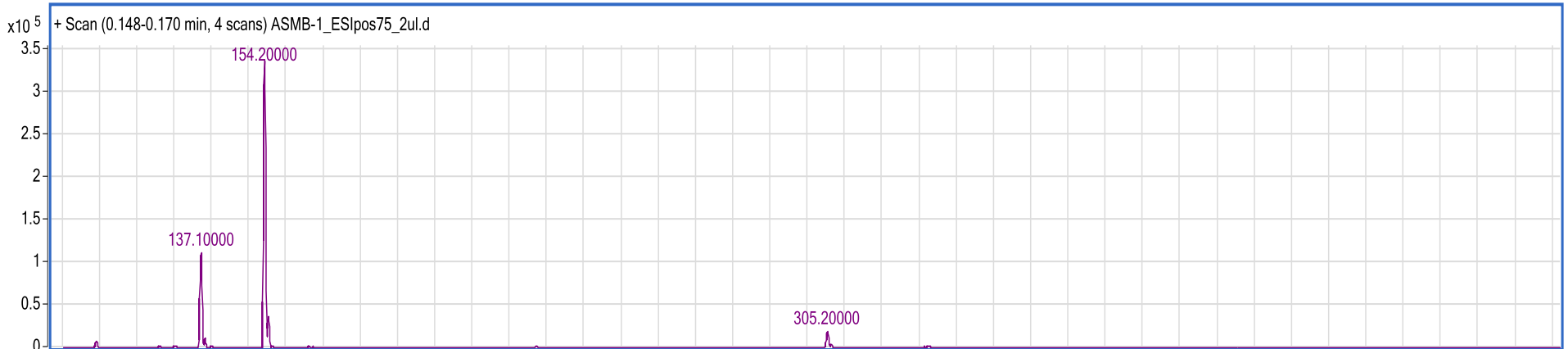
szulpirid

(D1 és D3 receptorokon ható
„atípusos” antipszichotikum)



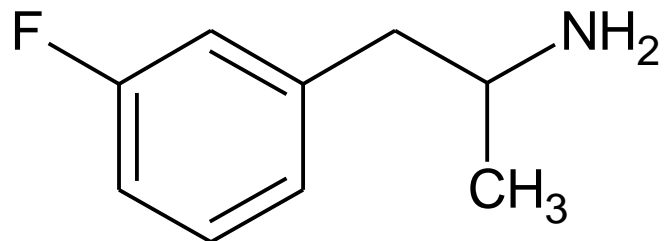
ORSZÁGOS
GYÓGYSZERÉSZETI
INTÉZET

National Institute of Pharmacy

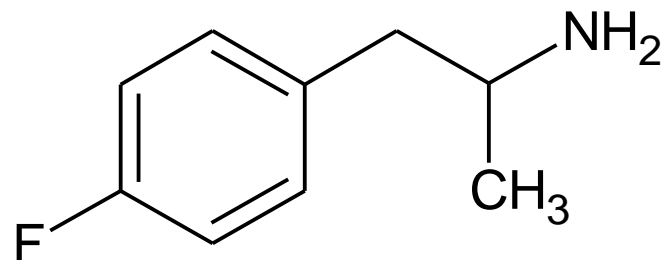


Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

2. példa



3-fluor-amfetamin



4-fluor-amfetamin

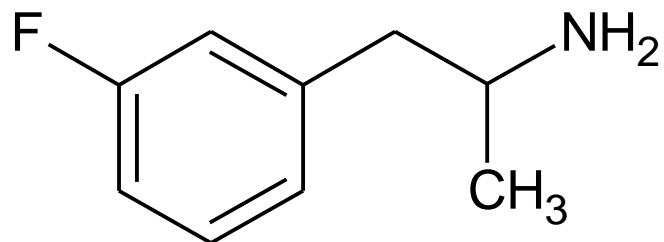
$M = 153$

Amfetamin-származékok, amelyek a mérés időpontjában még nem voltak kábítószerlistán!

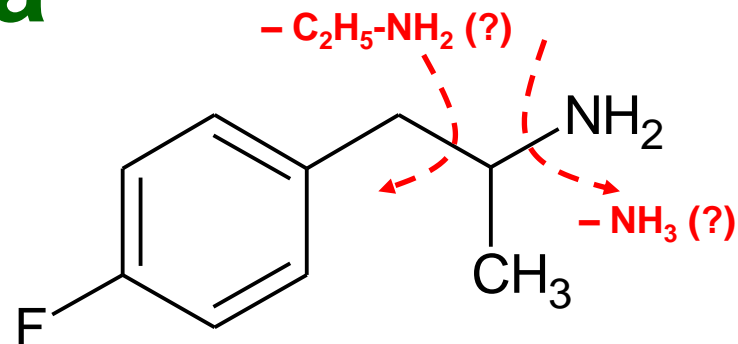


ORSZÁGOS
GYÓGYSZERÉSZETI
INTÉZET
National Institute of Pharmacy

2. példa



3-fluor-amfetamin



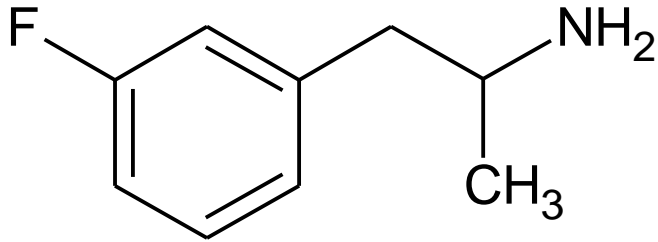
4-fluor-amfetamin

M = 153

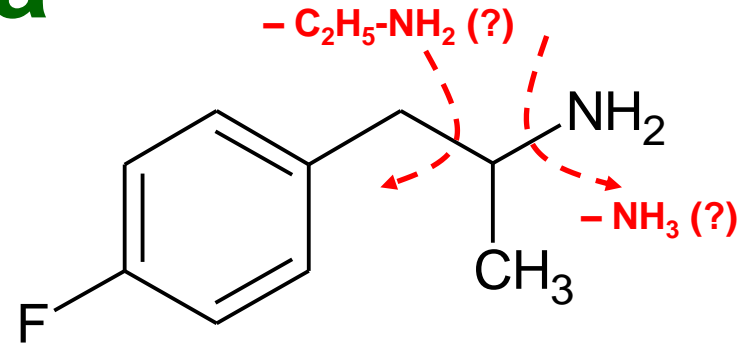
Amfetamin-származékok, amelyek a mérés időpontjában még nem voltak kábítószerlistán!



2. példa



3-fluor-amfetamin



4-fluor-amfetamin

M = 153

Amfetamin-származékok, amelyek a mérés időpontjában még nem voltak kábítószerlistán!

**DE NINCS
REFERENCIAANYAG!!**



2. példa

Az eredmény megerősítése:

- Klasszikus analitikai vizsgálatok (pl. aromás csoport, kloridion, fenolos OH, aromás amin kimutatása, stb.)
- UV-VIS spektrum felvétele
- FT-IR spektrum felvétele: összehasonlítás a 3-F-amfetamin, illetve a 4-F-amfetamin szakirodalmi forrásban talált spektrumával*
- LC-MS-TOF mérés (pontos tömeg)



3. példa

- „Full Contact” tableta
- Internetes honlap szerint: 100%-ban természetes eredetű potencianövelő

Ha tehát a termék tartalmaz mesterségesen hozzáadott anyagot, az valószínűleg valamilyen potencianövelő gyógyszer hatóanyaga vagy annak származéka.



3. példa

Mintaelőkészítés:

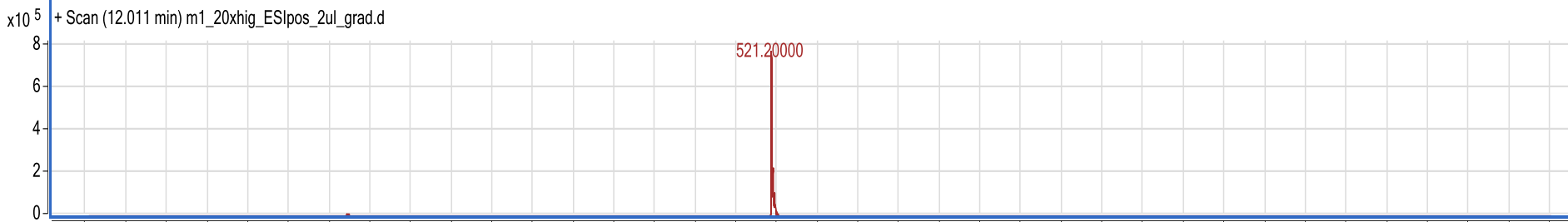
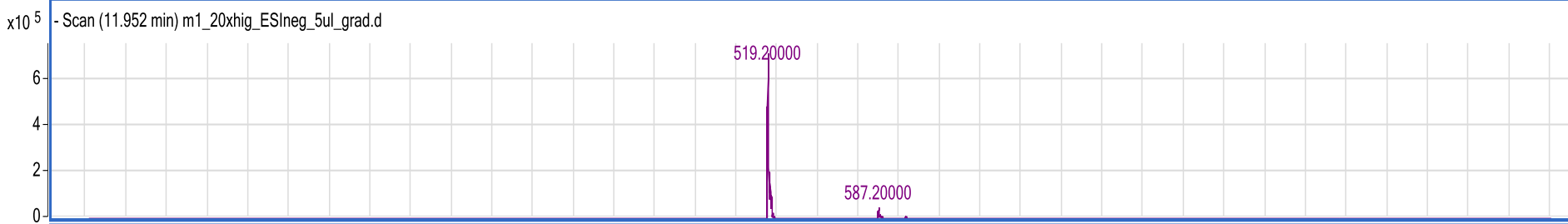
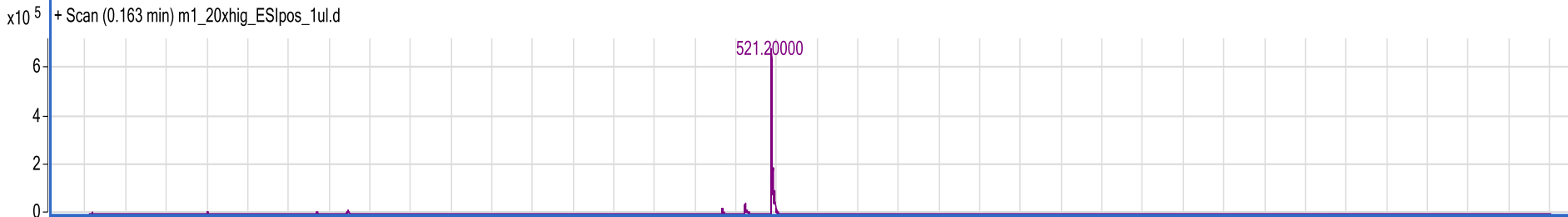
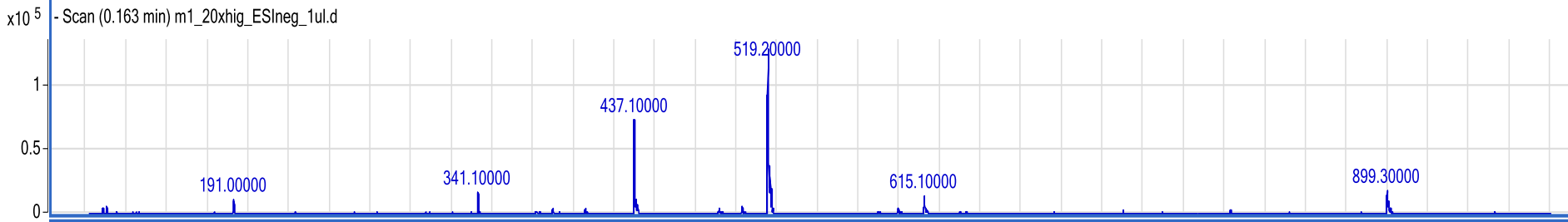
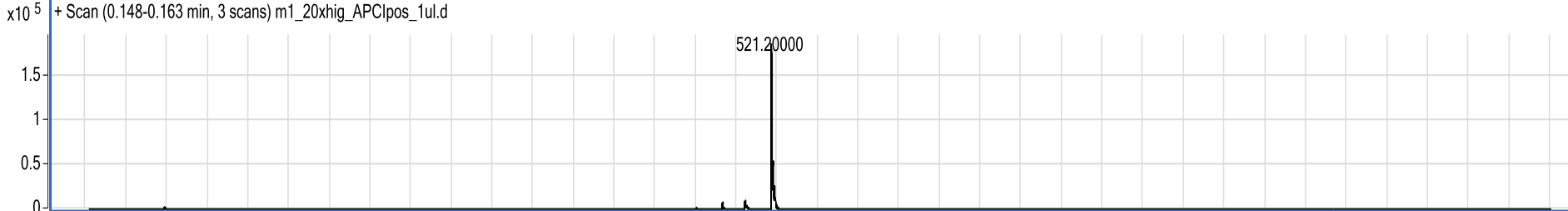
- 1 tableta + 25 ml ACN-víz-hangyasav (50:50:0,1 v/v)
- 1 tableta + 25 ml MeOH
- 15 perc rázógép, 5 perc ultrahang, centrifuga
- 20-szoros hígítás az oldószerrel



3. példa

- Direkt injektálás: ESI+APCI, pozitív és negatív üzemmód, mindkét kivonatra
- Gradiens futtatás (ESI):
- Zorbax Eclipse XDB C18 3,5 μm ; 75 4,6 mm
- A-eluens: ACN-víz-hangyasav (5:95:0,1 v/v)
- B-eluens: ACN-víz-hangyasav (95:5:0,1 v/v)
- 600 $\mu\text{l}/\text{perc}$
- B%: 0-3 perc: 5; 3-15 p.: 5 \rightarrow 80; 15-18 p.: 80





Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

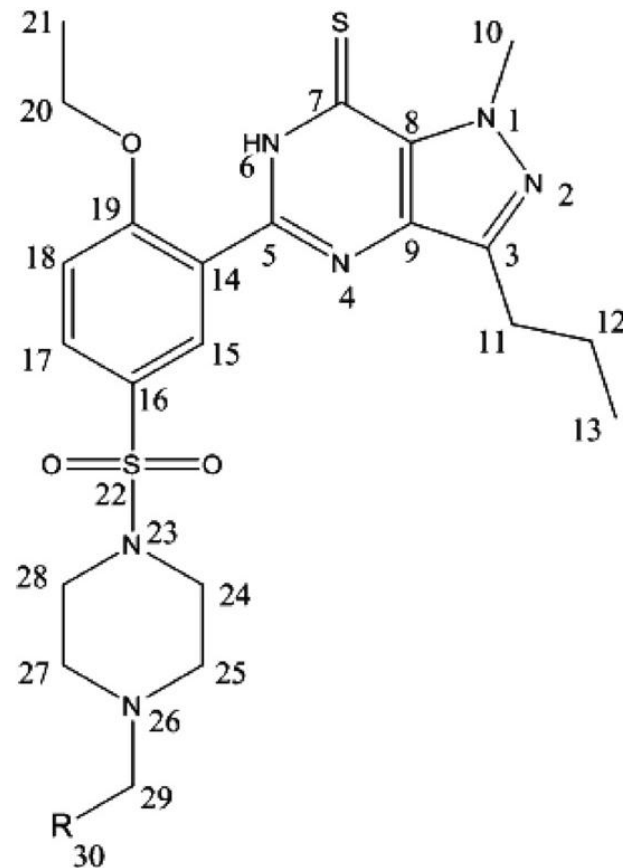
MS Formula Results: + Scan (15.000 min) (FC2_20xhig_ESI_POS_Scan_1.d)

m/z	Ion	Formula	Abundance
521.1999	(M+H) ⁺	C ₂₃ H ₃₃ N ₆ O ₄ S ₂	194597.4

Best	Formula (M)	Ion Formula	Score	Cross Score	Calc m/z	Diff (ppm)	Mass Match	Abund Match	Spacing Match
<input checked="" type="checkbox"/>	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S ₂	C ₂₃ H ₃₃ N ₆ O ₄ S ₂	98.94		521.1999	0.02	100	96.87	99.31

Isotope	Abund Sum%	Calc Abund Sum%	m/z	Calc m/z	Diff (ppm)
1	70	68.07	521.1999	521.1999	0.03
2	19.6	19.86	522.2027	522.2026	-0.13
3	8.18	9.45	523.1997	523.1991	-1.25
4	1.81	2.15	524.2018	524.2003	-3
5	0.41	0.48	525.202	525.1989	-5.9

Elem	Minimum	Maximum
C	3	60
H	0	120
O	0	35
N	0	15
S	0	5



R = CH₃ Thiohomosildenafil
 R = CH₂OH Hydroxythiohomosildenafil



Összefoglalás

- Előnyök:
 - Sokoldalúság (minőség ÉS mennyiség)
 - Érzékenység (alacsony kimutatási határ)
 - Szelektivitás (MRM)
- Korlátok:
 - Viszonylag kis felbontás (egységnyi)
 - Ütközési folyamatok interpretálásának problémái (önmagában nem alkalmas a kémiai szerkezet meghatározására)



Köszönöm a figyelmet!



ORSZÁGOS
GYÓGYSZERÉSZETI
INTÉZET

National Institute of Pharmacy