**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Определение примесей *N*-нитрозаминов ОФС**

 **Вводится впервые**

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на определение содержания примесей *N*-нитрозаминов в фармацевтических субстанциях синтетического происхождения, прежде всего антагонистах рецепторов ангиотензина II (валсартан, лозартан калия, ирбесартан и т.д.), антагонистах H2-гистаминовых рецепторов (ранитидин), синтетических гипогликемических средств (метформин). Необходимость количественной оценки данных примесей в иных субстанциях определяется исходя из их технологической схемы получения, химического строения, путей деструкции.

Целесообразность определения примесей N-нитрозаминов в лекарственных препаратах устанавливается на этапе фармацевтической разработки.

*N*-нитрозамины – это класс органических веществ, молекулы которых содержат алкилнитрозаминогруппу:



 Вещества такой структуры относят к группе вероятных канцерогенов для человека, поэтому их наличие выше предельно допустимых количеств в лекарственных средствах должно считаться недопустимым.

К числу установленных возможных канцерогенов для человека, имеющих нитрозаминоструктуру относят прежде всего:

* *N*-нитрозодиметиламин (НДМА);
* *N*-нитрозодиэтиламин (НДЭА);
* *N*-нитрозо-N-метил-4-аминобутановая кислота (НМАК);
* *N*-нитрозодиизопропиламин (НДИПА);
* *N*-нитрозоэтилизопропиламин (НЭИПА).

Нормы содержания примесей *N*-нитрозаминов должны быть приведены в частной фармакопейной статье. В случае их отсутствия должны быть рассчитаны значения с использованием значений максимально допустимой суточной дозы примесей указанных веществ (таблица 1).

Таблица 1 – Максимально допустимая суточная доза примесей *N*-нитрозаминов

|  |  |
| --- | --- |
| Наименование примеси | Допустимая суточная доза, нг/сут |
| НДМА |  не более 96,0 |
| НДЭА | не более 26,5 |
| НМАК | не более 96,0 |
| НДИПА | не более 26,5 |
| НЭИПА | не более 26,5 |

Для расчета допустимости дозы примесей нитрозаминов, не указанных в таблице 1, необходимо с использованием утвержденных соответствующих методик доказать отсутствие генотоксической угрозы.

К наиболее вероятным причинам образования примесей *N*-нитрозаминов в лекарственных средствах относятся:

* использование нитрита натрия (NaNO2) или других нитрозативных соединений в синтезе фармацевтической субстанции.

Например:

HNO2 + NaN3 → N2 + NO + NaOH;

H3C–NH–CH3 + HNO2 →  + NaCl + H2O;

* использование контаминированных сырьевых материалов (растворителей, реагентов и катализаторов) в синтезе фармацевтической субстанции;
* регенерация растворителей, реагентов и катализаторов в процессе синтеза;
* контаминация от перекрестно протекающих процессов синтеза;
* деградация исходных материалов, промежуточных продуктов или лекарственных веществ, в том числе при хранении;
* использование определенных видов упаковки (например, возможна контаминация готового препарата, упакованного в блистер, так как покрывающая фольга, содержащая нитроцеллюлозный праймер, способна реагировать с аминами в чернилах с образованием нитрозаминов, которые могут быть перенесены в препарат при определенных условиях упаковки).

Определение *N*-нитрозаминов проводят приведенными ниже методами или иными валидированными методами, указанными в частной фармакопейной статье или нормативной документации.

***Метод 1.*** Метод распространяется на определение двух примесей *N*-нитрозаминов: *N*-нитрозодиметиламина (НДМА) и *N*-нитрозодиэтиламина (НДЭА) в лекарственных средствах валсартана, лозартана, ирбесартана, кандесартана и олмесартана. При условии проведения процедуры валидации, методика может быть также применена для определения этих примесей в других лекарственных средствах – антагонистах рецепторов ангиотензина II.

Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Все растворы готовят в посуде из темного стекла.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Метанол—вода 350:650.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Вода—метанол 250:750.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску, при необходимости, измельченного лекарственного средства, соответствующую около 0,32 г действующего вещества, помещают в центрифужную пробирку вместимостью 15 мл, прибавляют 1,0 мл метанола, встряхивают в течение 5 мин, обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин и охлаждают до комнатной температуры, прибавляют 4,0 мл воды и встряхивают в течение 5 мин. Полученный раствор центрифугируют при 4000 об/мин в течение 5 мин, надосадочную жидкость переносят в центрифужную пробирку вместимостью 2 мл и центрифугируют при 12000 об/мин в течение 5 мин. Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр с размером пор около 0,45 мкм.

*Раствор стандартного образца N-нитрозодиметиламина.* Готовят раствор стандартного образца *N*-нитрозодиметиламина в метаноле с ожидаемой концентрацией основного вещества около 2,5 мкг/мл.

Раствор хранят при температуре 2-8 оС.

*Раствор стандартного образца N-нитрозодиэтиламина.* Готовят раствор стандартного образца *N*-нитрозодиэтиламина в метаноле с ожидаемой концентрацией основного вещества около 2,5 мкг/мл.

Раствор хранят при температуре 2-8 оС.

*Стандартный раствор А*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,4 мл раствора стандартного образца *N*-нитрозодиметиламина и 0,4 мл раствора стандартного образца *N*-нитрозодиэтиламина и доводят объем раствора ПФА до метки.

*Стандартный раствор Б*. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 0,25 мл раствора стандартного образца *N*-нитрозодиметиламина и 0,25 мл раствора стандартного образца *N*-нитрозодиэтиламина и доводят объем раствора ПФА до метки.

*Раствор для идентификации пиков примесей*. Готовят аналогично методике приготовления испытуемого раствора, прибавляя вместо метанола эквиобъемное количество стандартного раствора Б.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,2 мл раствора стандартного образца *N*-нитрозодиметиламина и 0,2 мл раствора стандартного образца *N*-нитрозодиэтиламина и доводят объем раствора ПФА до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 228 нм; |
| Объём пробы | 50 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0-5 | 100 | 0 |
| 5-10 | 100→0 | 0→100 |
| 10-25 | 0 | 100 |
| 25-27 | 0→100 | 100→0 |
| 27-35 | 100 | 0 |

Хроматографируют раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор для идентификации пиков примесей, стандартный раствора А и испытуемый раствор.

*Идентификация примесей.* Раствор для идентификации пиков примесей используется для идентификации пиков *N*-нитрозодиметиламина и *N*-нитрозодиэтиламина.

*Время удерживания соединений. N*-нитрозодиметиламин – около 3,8 мин; *N*-нитрозодиэтиламин – около 8,0 мин.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

*– разрешение* (*RS*) между пиками *N*-нитрозодиметиламина и *N*-нитрозодиэтиламина должно быть не менее 2,0;

*– отношение сигнал/шум (S/N)* для пика *N*-нитрозодиметиламина должно быть не менее 10;

*– отношение сигнал/шум (S/N)* для пика *N*-нитрозодиэтиламина должно быть не менее 10.

Содержание каждой из примесей *N*-нитрозодиметиламина и *N*-нитрозодиэтиламина в субстанции в ppm (*Х*) вычисляют по формуле*:*

$$X=\frac{S\_{1}⋅ C\_{0}⋅P⋅10000}{S\_{0}⋅a\_{1}⋅1000}=\frac{S\_{1}⋅ C\_{0}⋅P⋅10}{S\_{0}⋅a\_{1}},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | − | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика каждой соответствующей примеси на хроматограмме стандартного раствора А; |
|  | *a1* | − | навеска порошка растертых таблеток, мг; |
|  | *C*0 | − | концентрация каждой из примесей в стандартном растворе А, мкг/мл*;* |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в стандартном образце примеси, %. |

Количество каждой из примесей *N*-нитрозодиметиламина и *N*-нитрозодиэтиламина в препарате в ppm (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙С\_{0}∙P∙G∙10000}{S\_{0}∙a\_{1}∙L∙1000}=\frac{S\_{1}∙5∙С\_{0}∙P∙G∙10}{S\_{0}∙a\_{1}∙L} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика каждой соответствующей примеси на хроматограмме стандартного раствора А; |
|  | *a*1 | – | навеска порошка растёртых таблеток, мг; |
|  | *С*0 | – | концентрация каждой из примесей в стандартном растворе А, мкг/мл; |
|  | *P* | – | содержание основного вещества в соответствующем образце примеси, %; |
|  | *G* | – | средняя масса одной таблетки, мг; |
|  | *L* | – | заявленное количество действующего вещества в одной таблетке, мг. |

***Метод 2.***

Метод распространяется на определение шести примесей *N*-нитрозаминов (*N*-нитрозодиметиламин (НДМА), *N*-нитрозодиэтиламин (НДЭА), *N*-нитрозоэтилизопропиламин (НЭИПА), *N*-нитрозодиизопропиламин (НДИПА), *N*-нитрозодибутиламин (НДБА), *N*-нитрозо-*N*-метил-4-аминобутановая кислота (НМАК)) в лекарственных средствах лозартана. При условии проведения процедуры валидации, методика может быть также применена для определения этих примесей в других лекарственных средствах – антагонистах рецепторов ангиотензина II.

Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Все растворы готовят в посуде из темного стекла.

*Муравьиной кислоты раствор 0,1 %.* Муравьиная кислота безводная—вода 1:1000.

*Раствор для промывки иглы хроматографа.* Муравьиной кислоты раствор 0,1 %—метанол 20:80.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Муравьиной кислоты раствор 0,1 %.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Муравьиная кислота безводная—метанол 1:1000.

*Испытуемый раствор (для фармацевтической субстанции).* В стеклянную центрифужную пробирку вместимостью 15 мл помещают около 100 мг (точная навеска) субстанции, прибавляют 5,0 мл метанола и перемешивают на вортексе до растворения, центрифугируют при 4500 об/мин в течение 15 мин и фильтруют через шприцевой поливинилиденфторидный мембранный фильтр с диаметром пор 0,22 мкм, отбрасывая 1 мл фильтрата.

*Испытуемый раствор (для лекарственного препарата).* В стеклянную центрифужную пробирку вместимостью 15 мл помещают точную навеску порошка растёртых таблеток, соответствующую около 100 мг (точная навеска) лозартана, прибавляют 5,0 мл метанола, перемешивают на вортексе в течение 1 мин, встряхивают в течение 40 мин, центрифугируют при 4500 об/мин в течение 15 мин и фильтруют через шприцевой поливинилиденфторидный мембранный фильтр с диаметром пор 0,22 мкм, отбрасывая 1 мл фильтрата.

*Стандартный раствор А.* Готовят раствор в метаноле с концентрацией НДМА, НДЭА, НЭИПА, НДИПА, НДБА по 100 нг/мл и НМАК – 200 нг/мл.

Растворы хранят при температуре 2-8 оС.

*Стандартный раствор Б.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл стандартный раствор А и доводят объём раствора метанолом до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Хроматографические условия*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Колонка |  | 100 × 4,6 мм, силикагель пентафторфенилпропильный, эндкепированный для хроматографии, 2,6 мкм, размер пор 10 нм; |
| Температура колонки |  | 40 °С; |
| Температура образца |  | 6±2 °С; |
| Скорость потока |  | 0,6 мл/мин; |
| Объём пробы |  | 3 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0-1,5 | 90 | 10 |
| 1,5-7,0 | 90→45 | 10→55 |
| 7,0-17,0 | 45 | 55 |
| 17,0-17,1 | 45→10 | 55→90 |
| 17,1-21,0 | 10 | 90 |
| 21,0-21,1 | 10→90 | 90→10 |
| 21,1-25,0 | 90 | 10 |

*Условия детектирования*

Параметры источника ионов (применяются как к отрицательному, так и к положительному режимам). Допускается регулировать параметры источника ионов для достижения желаемой чувствительности.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Источник атмосферной ионизации |  | электроспрей (ESI), химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI)); |
| Газ распылитель |  | 55; |
| Вспомогательный газ |  | 15; |
| Очищающий газ |  | 0; |
| Напряжение на капилляре |  | 3,5 кВ; |
| Температура на капилляре |  | 400 °C; |
| Напряжение на объективе (S-lens/Funnel RF Level) |  | 55/25 (в зависимости от оборудования); |
| Температура вспомогательного газа |  | 350 °С; |

*Условия сканирования*

Время начала сканирования должно быть отрегулировано, поскольку время удерживания примесей может различаться для разных ВЭЖХ-систем.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Примесь | НДМА | НДЭА | НЭИПА | НДИПА | НДБА | НМАК |
| Режим сканирования | PRM | PRM | PRM | SIM | PRM | SIM |
| Полярность ионизации и детектирования ионов | + | + | + | + | + | – |
| Начало-окончание сканирования, мин | 0 – 3,5 | 5.5 – 7,3 | 7.3 – 8,5 | 8,5 – 9,5 | 14 – 16 | 3.5 – 5,5 |
| Величина m/z (PRM) иона прекурсора, Да/е | 75,0553 | 103,0866 | 117,1022 | – | 159,1492 | – |
| Нормализованная энергия столкновения | 80 | 30 | 10 | – | 30 | – |
| Ширина окна изоляции иона прекурсора, Да/е | 1,5 m/z | 1,5 m/z | 1,5 m/z | – | 1,5 m/z | – |
| Диапазон сканирования, Да/е | – | – | – | m/z 130,4 – 131,9 | – | m/z 144,3 – 145,8 |
| Количество микросканов входящих в один скан | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Разрешение | 35000 или 45000 | 35000 или 45000 | 35000 или 45000 | 70000 или 60000 | 35000 или 45000 | 70000 или 60000 |
| Автоматический контроль усиления | 2∙105 | 2∙105 | 2∙105 | 1∙106 | 2∙105 | 1∙106 |
| Максимальное время накопления сигнала | 100 ms | 100 ms | 100 ms | 100 ms | 100 ms | 100 ms |

Хроматографируют метанол, стандартный раствор Б и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме стандартного раствора Б *относительное стандартное отклонение* площади каждого из пиков примесей *N*-нитрозаминов должно быть не более 10,0 % (6 определений).

*Обработка данных*

Для количественного определения используются площади пиков на хроматограммах по извлеченному ионному току выделенных ионов, рассчитанных с допуском 15 ppm по m/z. Ниже перечислены значения m/z ионов для построения хроматограмм по извлеченному ионному току:

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Примесь | НДМА | НДЭА | НЭИПА | НДИПА | НДБА | НМАК |
| Величина m/z, которая должна быть извлечена, Да/е | 75,0553 | 75,0553,103,0866 | 75,0553 | 131,1179 | 57,0704,103,0872,159,1492 | 145,0619 |

НМАК и НЭИПА существуют как *син-* и *анти-*конформеры из-за ограниченного вращения *N-N* связи, и эти конформеры могут быть частично разделены в условиях методики.

* Пик НМАК наблюдается в виде дублета в соотношении примерно 3: 1. Интегрируют оба пика и для расчётов используют суммарную площадь пиков.
* В зависимости от марки хроматографической колонки и концентрации, пик НЭИПА может наблюдаться как в виде дублета, так и виде одиночного пика с хвостовым плечом. Интегрируют оба пика или хвост основного пика и для расчётов используют суммарную площадь пиков.

Отклонение во времени удерживания любой примеси в испытуемом растворе не должно превышать 2 % от времени удержания соответствующей примеси в стандартном растворе Б.

Количество каждой из примесей N-нитрозоаминов в субстанции в ppm (Х) вычисляют по формуле

$$X=\frac{S\_{1}∙5∙С\_{0}∙P∙10000}{S\_{0}∙a\_{1}∙10^{6}}=\frac{S\_{1}∙5∙С\_{0}∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙10} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика каждой из примесей *N*-нитрозоаминов на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика соответствующей примеси *N*-нитрозоаминов на хроматограмме стандартного раствора Б; |
|  | *a*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *С*0 | – | концентрация соответствующей примеси *N*-нитрозоаминов в стандартном растворе Б, нг/мл; |
|  | *P* | – | содержание основного вещества в соответствующем образце примеси, %. |

Количество каждой из примесей *N*-нитрозоаминов в препарате в ppm (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙5∙С\_{0}∙P∙G∙10000}{S\_{0}∙a\_{1}∙10^{6}∙L}=\frac{S\_{1}∙5∙С\_{0}∙P∙G}{S\_{0}∙a\_{1}∙L∙10} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика каждой из примесей *N*-нитрозоаминов на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика соответствующей примеси *N*-нитрозоаминов на хроматограмме стандартного раствора Б; |
|  | *a*1 | – | навеска порошка растёртых таблеток, мг; |
|  | *С*0 | – | концентрация соответствующей примеси *N*-нитрозоаминов в стандартном растворе Б, нг/мл; |
|  | *P* | – | содержание основного вещества в соответствующем образце примеси, %; |
|  | *G* | – | средняя масса одной таблетки, мг; |
|  | *L* | – | заявленное количество лозартана в одной таблетке, мг. |

***Метод 3***.

Метод распространяется на определение семи примесей *N*-нитрозаминов (*N*-нитрозодиметиламин (НДМА), *N*-нитрозодиэтиламин (НДЭА), нитрозоэтилизопропиламин (НЭИПА), *N*-нитрозодиизопропиламин (НДИПА), *N*-нитрозодибутиламин (НДБА), *N*-нитрозометилэтиламин (НМЭА), N-нитрозо-ди-n-пропиламин (НДПА)) в лекарственных средствах – антагонистах рецепторов ангиотензина II (валсартан, лозартан, ирбесартан, олмесартан, кандесартан). При условии проведения процедуры валидации, методика может быть также применена для определения этих примесей в других лекарственных средствах.

Определение проводят методом ГХ (ОФС «Газовая хроматография»).

*Натрия гидроксида раствор 50 %.* В воде растворяют 50 г натрия гидроксида и после охлаждения доводят объем раствора тем же растворителем до 100,0 мл. Раствору дают отстояться и прозрачную жидкость сливают с осадка.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску, при необходимости, измельченного лекарственного средства, соответствующую около 0,25 г действующего вещества, помещают в стеклянную центрифужную пробирку вместимостью 15 мл, прибавляют 10 мл натрия гидроксида раствора 50 % и энергично встряхивают в течение 5 мин. К полученному раствору прибавляют 2,0 мл дихлорметана, энергично встряхивают в течение 5 мин и центрифугируют при 10000 об/мин в течение 5 мин. Верхнюю (водную фазу) удаляют, для анализа используют нижнюю (дихлорметановую) фазу.

*Стандартный раствор А.* Готовят раствор в метаноле с концентрацией НДМА, НДЭА, НЭИПА, НДИПА, НДБА, НМЭА и НДПА по 0,5 мг/мл.

Растворы хранят при температуре 2-8 оС.

*Стандартный раствор Б*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,2 мл стандартного раствора А и доводят объем раствора водой до метки.

*Стандартный раствор В*. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 0,3 мл стандартного раствора Б и доводят объем раствора водой до метки.

*Стандартный раствор Г*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,3 мл стандартного раствора Б и доводят объем раствора водой до метки.

*Стандартный раствор Д*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5,0 мг НМЭА, растворяют в метаноле и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Стандартный раствор Е.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,5 мл стандартного раствора Д и доводят объем раствора водой до метки.

*Стандартный раствор Ж*. В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 52,6 мл натрия гидроксида раствора 50 %, прибавляют 800 мл воды, 0,1 мл стандартного раствора Е, 50 мл ацетонитрила и доводят объем раствора водой до метки.

*Раствор для идентификации пиков примесей.* Готовят аналогично методике приготовления испытуемого раствора, прибавляя необходимое количество стандартного раствора Г до ожидаемой концентрации *N*-нитрозаминов около 30 ppb и 10 мл натрия гидроксида раствора 50 %, суспендируют и экстрагируют дихлорметаном.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка А (ввод → ЭПУ) | кварцевая капиллярная 30 м × 0,25 мм, покрытая слоем поли(цианопропил)(3)(фенил)(3)(метил)(94)силоксана,1,4 мкм; |
| Колонка Б (ЭПУ → МС) | кварцевая капиллярная деактивированная 1,35 м × 0,15 мм; |
| Детектор | масс-спектрометрический; |
| Газ-носитель | гелий для хроматографии; |
| Скорость потока | Колонка А – 1,3 мл/мин (после запуска 1,57 мл/мин);Колонка Б – 1,45 мл/мин (после запуска 5,34 мл/мин); |
| Объём пробы | 3 мкл; |
| Температура | колонка | 0-0,5 мин | 40 °С |
|  |  | 0,5-2 мин | 40→140 °С |
|  |  | 2-2,5 мин | 140→180 °С |
|  |  | 2,5-4,3 мин | 180→240 °С |
|  | инжектор |  | 250 °С. |
| Инжекция или тип лайнера | без деления потока. |

*Условия детектирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Источник ионизации |  | электронная ионизация (EI); |
| Режим детектирования |  | мониторинг реакций заданных ионов (MRM). |
| Температура источников ионов |  | 230 °С; |
| Температура квадруполя |  | 150 °С; |
| Энергия электронов |  | 40 эВ; |
| Задержка растворителя |  | 4,5 мин; |
| Коэффициент усиления |  | 15 |
| Газ для соударений |  | азот; |
| Скорость потока газа для соударений |  | 1,5 мл/мин; |
| Газ для охлаждения |  | гелий; |
| Скорость потока газа для охлаждения |  | 2,25 мл/мин; |
| Температура линии переноса газа из колонки в камеру ионизации |  | 240 °С. |

*Переходы сканирования масс и энергии столкновений*

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Компонент | Время удерживания, мин | Переходы сканирования масс, Да | Энергия столкновений,эВ | Минимальное время измерения |
| НДМА | 4,77±0,25 | 74→44,174→42,1 | 522 | 199 |
| НМЭА | 5,51±0,40 | 87,9→7187,9→42,1 | 522 | 199 |
| НДЭА | 6,20±0,25 | 102→85,1102→56 | 319 | 199 |
| НЭИПА | 6,88±0,25 | 115,9→99,1115,9→44,1 | 514 | 199 |
| НДИПА | 7,47±0,25 | 129,9→88,1129,9→71 | 514 | 199 |
| НДПА | 7,80±0,25 | 129,9→113,1129,9→88 | 11 | 199 |
| НДБА | 9,67±0,25 | 157,9→141157,9→99,1 | 17 | 199 |

Примечание

Оптимальная величина энергии столкновения для каждой пары ион-прекурсор и ион-продукт могут отличаться от указанных в таблице и уточняться экспериментально для каждой модели используемого масс-спектрометра. При использовании детекторов конструкционно отличных от тройных квадрупольных масс-селективного детекторов, условия детектирования должны быть отрегулированы в соответствии с их техническими особенностями с последующей валидацией изменённого метода для анализа примесей нитрозоаминов в соответствующих лекарственных препаратах.

Хроматографируют все стандартные растворы, раствор для идентификации пиков примесей и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме стандартного раствора В относительное стандартное отклонение каждого из пиков примесей N-нитрозаминов должно быть не более 5,0 % (6 определений).

Строят калибровочные кривые зависимости площади пиков от концентрации примесей *N*-нитрозаминов.

Содержание каждой из примесей *N*-нитрозаминов в препарате в ppm (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{C∙V\_{1}∙10^{6}}{a\_{1}}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | C | **–** | содержание примеси *N*-нитрозаминов, определенное по калибровочному графику, мг/мл; |
|  | a1 | **–** | навеска порошка растертых таблеток, мг; |
|  | V1 | **–** | объем испытуемого раствора, мл. |

Содержание каждой из примесей *N*-нитрозаминов в субстанции в ppm (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{C∙V\_{1}∙10^{6}}{a\_{1}}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | C | **–** | содержание каждой из примесей *N*-нитрозаминов, определенное по калибровочному графику, мг/мл; |
|  | a1 | **–** | навеска субстанции, мг; |
|  | V1 | **–** | объем испытуемого раствора, мл. |