

ПРИМЕНЕНИЕ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ АНТИБИОТИКОВ И ВИТАМИНОВ

**И.М.Жарский, В.Н.Леонтьев, В.Г.Лугин, И.В.Лайковская,
И.М.Бурак**

*Белорусский государственный технологический университет, Минск,
Республика Беларусь*

Целью работы явилась разработка методик хромато-масс-спектрометрической идентификации антибиотиков и витаминов, входящих в состав фармацевтических препаратов, пищевых добавок и косметических средств. Актуальность данной тематики для Республики Беларусь не вызывает сомнения в связи с резко увеличившимся потоком и ассортиментом лекарственных препаратов, витаминных комплексов, пищевых добавок и косметической продукции на отечественном рынке. По этой причине возникает проблема их идентификации и контроля качества. Поскольку основные компоненты данной продукции представляют собой сложные химические соединения, присутствующие в широком диапазоне концентраций, необходимо применение высокоинформативных и чувствительных методов их определения. Одним из наиболее эффективных методов решения подобных задач является жидкостная хромато-масс-спектрометрия, сочетающая в себе широкие возможности хроматографии по разделению сложных смесей, высокую информативность и чувствительность масс-спектрометрии при идентификации и определении малых количеств широкого круга соединений [1,2]. Для эффективного использования хромато-масс-спектрометрии с целью идентификации веществ необходимо наличие баз данных масс-спектров эталонных соединений. Предлагаемые на мировом рынке библиотеки являются узкоспециализированными, дорогостоящими и не всегда удовлетворяют требованиям потенциальных пользователей. В настоящее время не существует адаптированных специализированных библиотек масс-спектров, совместимых с программным обеспечением оборудования различных фирм-производителей [3].

Анализ перечня разрешенных к использованию в РБ антибиотиков и витаминов позволил определить круг препаратов, идентификация и контроль которых является наиболее необходимыми. Были разработаны методики проведения масс-спектрометрического определения ряда антибиотиков и витаминов в составе фармацевтических препаратов, пищевых добавок и косметических средств. На основе полученных масс-спектрометрических данных была создана база данных по следующим антибиотикам: азитромицин, амикацин, амоксициллин, ампициллина,

ванкомицин, гентамицин, доксициклин, канамицин, карбенициллин, кларитромицин, клиндамицин, линкомицин, пиперациллин, рокситромицин, симвастатин, имипенем, тобрамицин, цефазолин, цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин. В качестве стандартов использовали коммерческие препараты фирмы «Fluka».

Исследования по масс-спектрометрическому анализу витаминов позволили создать библиотеку эталонных масс-спектров следующих витаминов: тиамин (B_1), рибофлавин (B_2), никотинамид (B_3), пиридоксин (B_6), фолиевая кислота (B_9), цианкобаламин (B_{12}), аскорбиновая кислота (C), биотин (H), токоферол (E), эргокальциферол (D), ретинол (A). Использовали стандарты фирмы «Fluka», витамины A и D - в виде водорастворимых композиций с метил- β -циклодекстрином фирмы «Sigma».

Масс-спектры регистрировали с применением масс-спектрометра «Waters Micromass ZQ 2000» с электроспреей ионизацией (ESI). Экспериментально подобраны оптимальные параметры работы масс-спектрометра: напряжение на капилляре – 3,0 кV, напряжение на конусе – 60 V, напряжение на экстракторе – 5 V, температура испарения – 200 °C, температура источника – 70 °C, расход азота при испарении – 150 л/ч, расход азота на конусе – 50 л/ч.

Регистрацию масс-спектров производили в двух режимах ионизации, позволяющих получать масс-спектры положительных и отрицательных ионов. Это необходимо в связи с различной способностью к ионизации сложных органических соединений, вследствие чего информативность спектра зависит от заряда регистрируемых ионов, кроме того, сопоставление масс-спектров положительно и отрицательно заряженных ионов дает больше возможностей для идентификации.

На рисунках 1 и 2 представлены масс-спектры положительных ионов антибиотика кларитромицина и витамина B_6 .

Как видно из рис. 1 в масс-спектре кларитромицина наблюдаются три интенсивных линии, с m/z равными 748,48; 590,35; 158,13. Данные масс-спектральные линии соответствуют положительно заряженным молекулярному и осколочным ионам кларитромицина. Явление фрагментации наблюдается для ряда антибиотиков и витаминов, имеющих объемные заместители с гликозидными или другими низкоэнергетичными связями. В случае анализа веществ с небольшими стабильными молекулами, масс-спектр характеризуется наличием интенсивной полосы, соответствующей молекулярному иону. Это наблюдается, например, для витамина B_6 , масс-спектр которого представлен на рис. 2.

Полученные библиотеки масс-спектров антибиотиков и витаминов в сочетании со специализированным программным обеспечением «MassLynx 3.5 Global» позволяют производить идентификацию

вышеуказанных соединений в масс-спектрах сложных смесей, даже в тех случаях, когда не удастся достигнуть эффективного хроматографического разделения, либо при прямом масс-спектрометрическом анализе. Разработанные методики и созданные базы данных будут полезны работникам фармацевтической и микробиологической промышленности для входного и выходного контроля, а также для выполнения экспертиз по идентификации антибиотиков и витаминов в различных объектах.

CLARITROMYCIN1C2+ 9 (0.315) Cm (1:23)

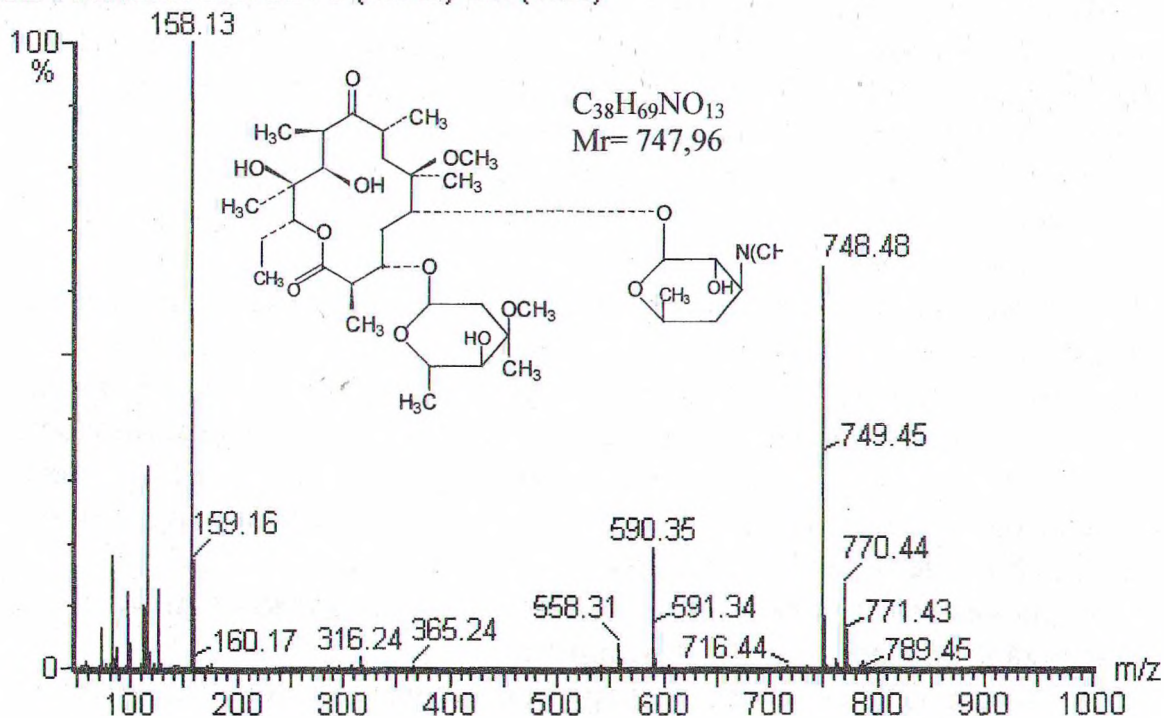
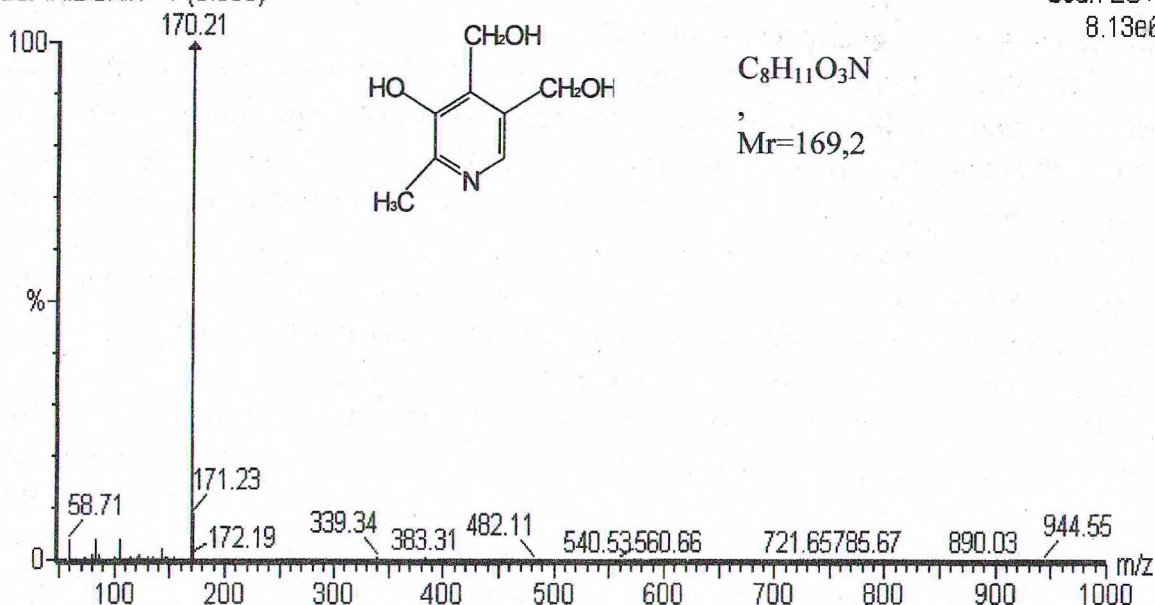


Рисунок 1. Масс-спектр кларитромицина.

Рисунок 2. Масс-спектр витамина В₆ (тиамина).

Литература

1. W. M. F. Niessen. Analysis of antibiotics by liquid chromatography-mass spectrometry. /Journal of Chromatography A (1998) 812: 182-189.
2. M. Careri, M. T. Lugari, A. Mangia, P. Manini, S. Spagnoli. Identification of vitamins A, D and E by particle beam liquid chromatography-mass spectrometry. /Fresenius Journal of Analytical Chemistry (1995) 351: 768-776.
3. Julian Jr., Randall K. Mass spectrometry data interchange. / Scientific Computing & Instrumentation (2001) 18 (7).

ОСОБЕННОСТИ ПРОБОПОДГОТОВКИ ДЛЯ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРАЛЬНОГО МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ КОНЬЯКОВ И КОНЬЯЧНЫХ СПИРТОВ

М.Ф.Заяц, Т.С.Лабус, В.А.Винарский, Р.А.Юрченко

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

В рамках совместного проекта Белорусского государственного университета и ГТК РБ проводится разработка методики для экспертного анализа коньяков и коньячных спиртов для обнаружения фальсифицированной продукции и наиболее полного установления качественного и количественного состава данных алкогольных напитков.

Хромато-масс-спектральный метод анализа алкогольной продукции является одним из наиболее распространенных и достоверных методов.