Fachhochschule Nordwestschweiz
Hochschule für Life Sciences

Installation eines DESI-MS zur Charakterisierung von Feststoffen

Melanie Waldvogel
Bachelor-Thesis, Molecular Life Sciences, Chemie

Auftraggeber: Dr. Christian Guenat, Novartis
Expert: Dr. Markus Ehrat, Novartis
Begleitdozent: Prof. Dr. Götz Schlotterbeck, FHNW

ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Bachelorarbeit ist eine DESI-Quelle (Desorption Elektrospray Ionisation) an einem hochauflösenden Massenspektrometer installiert worden. Ziel dieser Arbeit war die Leistungsfähigkeit des DESI-MS zur effizienten Analyse von gefälschten Medikamenten zu testen. Für diesen Zweck sind fünf Wirkstoffe (Artemether, Lumefantrin, Ibuprofen, Paracetamol and Diclofenac) ausgesucht worden.

Nach den Messungen im positiv und negativ Modus konnten die Isotopenmuster und die exakten Massen der Wirkstoffe bestimmt werden. Durch zusätzliche MS^n-Experimente sind die Wirkstoffe eindeutig identifiziert worden. Allerdings zeigten weitere Versuche unstabile Signale und tiefe Sensitivität auf. Aus diesem Grund wurde befunden, dass die erhaltenen Ergebnisse für einen weiteren Einzatz der DESI nicht ausreichen.

Zusammenfassend zeigt diese Bachelorarbeit, dass die DESI-Quelle als neues Tool ihre Versprechungen zur schnellen und robusten Analyse von Feststoffen nicht einhält.

EINLEITUNG

Der Hintergrund für diese Bachelorarbeit ist das, dass zunehmende Wachstum der Pharmaindustrie mit jährlichem Umsatz von 300 Mrd. US Dollar. Dies bietet einen grossen Anreiz für Fälscher gefälschte Medikamente auf den Markt zubringen. Von diesem Betrug sind hauptsächlich Entwicklungsländer betroffen, weil die Staatlichen Kontrollen niedrig sind.

Um nun Tablettenfälschungen möglichst schnell zu analysieren bietet DESI eine gute Möglichkeit. So ist der Auftrag für diese Bachelorarbeit entstanden. Es soll eine DESI-Quelle an einem hochauflösendem Massenspektrometer zur Analyse von Tabletten installiert werden.

Funktionsprinzip

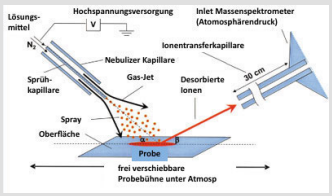

Abb. 1 Schematischer Aufbau einer DESI-Quelle. [1]

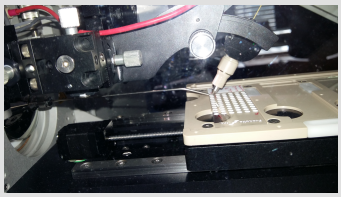

Abb. 2 DESI-Quelle mit Glasprobenträger.

Bei der DESI werden geladene Lösungsmitteltropfen auf die Oberfläche von Proben aufgesprüht. In diesen Tropfen lösen sich die Oberflächenmoleküle auf und werden von der Probenoberfläche Richtung Ionentransferkapillare abgelenkt. Währenddessen verdampft das Lösungsmittel und die Ladung wird auf das Analyt-Molekül übertragen. Das entstandene Ion wird durch ein Vakuum ins MS gezogen und dort analysiert.[2]

Installation

Abb. 3 DESI-Bauteile von Prosolia.

Abb. 4 Fertig Installierte DESI-Quelle.

Die DESI-Quelle wurde mittels Anleitung von Prosolia zusammengebaut und am Massenspektrometer installiert

RESULTATE

In einem ersten Schritt sind die Isotopenmuster der Wirkstoffe Artemether, Lumefantrin, Ibuprofen, Paracetamol und Diclofenac mit DESI bestimmt worden.

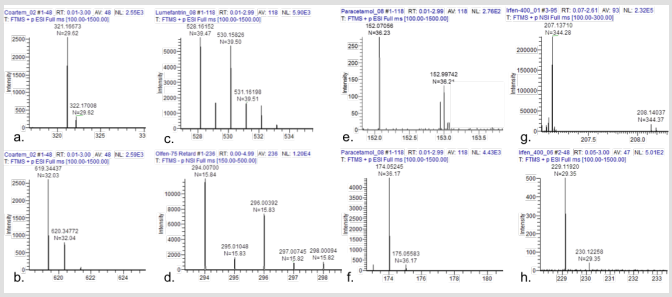

Abb. 5 Isotopenmuster von Artemether a: $[M+Na]^+$ 321.16725, b: m/z $[2M+Na]^+$ 619.34527. Lumefantrin c: m/z 528.16 ($^{12}C_{30}$ $^{35}Cl_3$), m/z 529.16 ($^{12}C_{29}$ ^{13}C $^{35}Cl_3$), m/z 530.16 ($^{12}C_{30}$ $^{35}Cl_2$ ^{37}Cl), m/z 531.16 ($^{12}C_{29}$ ^{13}C $^{35}Cl_2$ ^{37}Cl), m/z 532.16 ($^{12}C_{30}$ $^{35}Cl_2$ ^{37}Cl). Diclofenac d. m/z 294.01 ($^{12}C_{14}$ $^{35}Cl_2$), m/z 295.01 ($^{12}C_{13}$ ^{13}C $^{35}Cl_2$), m/z 296.01 ($^{12}C_{14}$ ^{35}Cl ^{37}Cl), m/z 297.01 ($^{12}C_{13}$ ^{13}C ^{35}Cl ^{37}Cl), m/z 298.01 ($^{12}C_{14}$ $^{35}Cl_2$). Paracetamol e: m/z $[M+H]^+$ 152.07061. f: m/z $[M+Na]^+$ 174.05255. Ibuprofen g: m/z $[M+H]^+$ 207.13796. h: m/z $[M+Na]^+$ 229.11990.

Um die Wiederholbarkeit und das s/n zu ermitteln sind 6 Messungen pro Lösung durchgeführt worden. Für das Aufzeigen des lineare Verhalten von Artemether und Ibuprofen 5 Messungen.

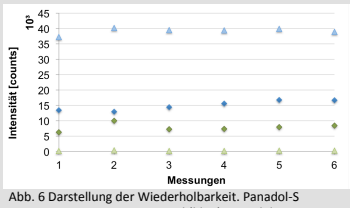

Abb. 6 Darstellung der Wiederholbarkeit. Panadol-S Lösung mit 100 ng Paracetamol (blau), Panadol-S Lösung mit 25 ng Paracetamol (grün). Beide Messreihen sind bezüglich der Ionen m/z 152.0706 und 174.0526 hin untersucht worden. Resultat von 174.05, s/n bei 100 ng: 725.2, 25 ng: 113.9, $_{rel}$STD $_{abs}$I bei 100 ng: 2.5, 25 ng: 14.6

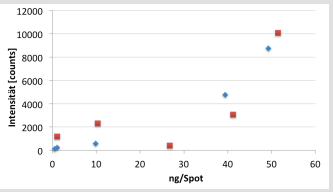

Abb. 7 Darstellung der Linearität von Artemether (blau) und Ibuprofen (rot) in einem Bereich von 0.5 - 50 ng/ Spot. Artemether R^2 0.93733 und Ibuprofen R^2 0.52718.

DESI vs. TLC

Im Vergleich mit dem TLC-Interface konnte aufgezeigt werden, dass die Empfindlichkeit des TLC-Interface, um mehr als das 25-fache höher ist als bei DESI. Dies liegt an der höheren Desorptions- resp. Extraktionsausbeute. Weil das Stanzeisen sich in das Kieselgel eingräbt und den gesamten Probenpunkt abdeckt und extrahiert. Über die Stabilität der Messung ist zu sagen, dass auch beim TLC die $_{rel}$STD mit mehr als 50 % sehr hoch ist.

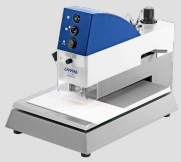

Abb. 8 TLC-Interface [3]

SCHLUSSFOLGERUNG

Es konnten alle Wirkstoffe mittels DESI ionisiert und identifiziert werden. Weiter ist das Signal zu Rausch-Verhältnis, die Wiederfindung und die Linearität der Wirkstoffe ermittelt worden, diesbezüglich ist jedoch zu sagen, dass sich diese Werte nicht reproduzierbar sind. Denn durch Kontaminationen sind ständig Unterbrüche im Messablauf verursacht worden. So konnten keine direkt vergleichbaren Messungen generiert werden.

REFERENZEN

[1] E. Russo, DESI-Ionenquelle, 2005

[2] Z. Takáts, J. M. Wiseman, and R. G. Cooks, “Ambient mass spectrometry using desorption electrospray ionization (DESI): Instrumentation, mechanisms and applications in forensics, chemistry, and biology,” J. Mass Spectrom., vol. 40, no. 10, pp. 1261–1275, 2005.

[3] Camag

NOVARTIS