

应用本土化质谱SCIEX Triple Quad™ 系统定量分析检测厄贝沙坦制剂中叠氮类基因毒性杂质5-[(4'-叠氮甲基)[1,1'-联苯]-2-基]-2H-四氮唑(MB-X)

Determination of Azide Genotoxic Impurity MB-X in Irbesartan Drugs by Localized SCIEX Triple Quad™ System

毕莹莹; 钟晨春; 龙志敏; 郭立海

Bi Yingying; Zhong Chenchun; Long Zhimin; Guo Lihai

SCIEX应用支持中心, 中国

SCIEX Application and Support Center, China

Key Words: Localized SCIEX Triple Quad™ System, MB-X, Irbesartan, MRM, genotoxic impurities

引言

厄贝沙坦是一种治疗高血压的药物, 在生产过程中通常需要使用叠氮化钠合成药物结构中四氮唑部分, 而叠氮化钠可能与中间体反应生成5-[(4'-叠氮甲基)[1,1'-联苯]-2-基]-2H-四氮唑(MB-X)。而MB-X被国际人用药品注册技术协调会(ICH)规定为2类杂质, 即潜在的致突变化合物, 在较低浓度水平时也可能直接引起DNA损伤, 诱发癌症¹。因此为保证用药安全, 必须严格控制药物和医药中间体中基因毒性杂质MB-X的含量。

监管机构(包括欧洲药品管理局(EMA)、美国食品药品监督管理局(FDA)和国际人用药品注册技术协调会(ICH))发布了关于药物成分中基因毒性杂质允许限值的指导原则, 要求药物或药品中的所有潜在基因毒性杂质都必须低于每日1.5 µg的毒理学关注阈值(Threshold of Toxicological Concern, TTC), 即相当于每天摄入1.5 µg的基因毒性杂质。某品牌厄贝沙坦片每日最大剂量为300 mg, 那么药物中所含有的基因毒性杂质的分析结果都必须小于TTC水平, 即1.5 µg/day/0.3 g=5 µg/g。本文使用本土化质谱SCIEX Triple Quad™系统测试MB-X的含量, 方法完全满足EMA和FDA灵敏度要求。本方法定量下限可低至0.05 ng/mL(相当于样品中MB-X杂质的含量为0.017 µg/g, 远低于TTC水平), 仪器的灵敏度高, 重现性好。

仪器设备

SCIEX ExionLC™ AD系统和本土化SCIEX Triple Quad™系统

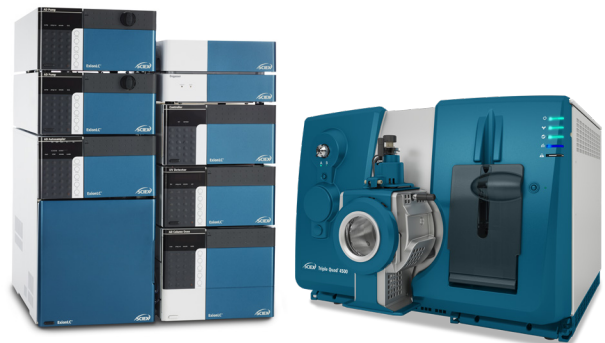


图1. ExionLC™ AD系统+本土化SCIEX Triple Quad™ LC-MS/MS系统

1. 液相条件

色谱柱: Phenomenex Kinetex F5 (100 mm × 3.0 mm, 2.6 µm)

流动相: A: 水, B: 乙腈

流速: 0.4 mL/min

柱温：40 °C

进样体积：5 μL

液相采用梯度洗脱，如表1所示：

表1. 液相梯度

时间 (min)	%A	%B
0.0	80	20
1.0	80	20
3.0	5	95
4.0	5	95
4.1	80	20
5.0	80	20

2. 质谱条件

离子源：ESI源，负离子模式；

扫描方式：MRM多反应检测；

喷雾电压：-4500 V；

气帘气CUR：30 psi；

雾化气Gas1：60 psi；

辅助气Gas2：55 psi；

源温度Tem：600 °C；

碰撞气CAD：Medium

MRM参数如表2所示：

表2. MB-X的MRM参数

化合物名称	Q1	Q3	DP	CE
MB-X 1*	276.0	192.0	-56	-16.5
MB-X 2	276.0	248.0	-56	-16.0
MB-X 3	276.0	165.2	-56	-25.1

注：*为定量离子对

实验结果

1. 线性范围

用20%乙腈水溶液逐级稀释MB-X标准工作溶液至0.05、0.1、1、5、10、20、50 ng/mL，以峰面积对浓度做标准曲线。图2为

MB-X线性范围、线性方程和相关系数，0.05-50 ng/mL范围内MB-X均线性良好，相关系数R大于0.999。

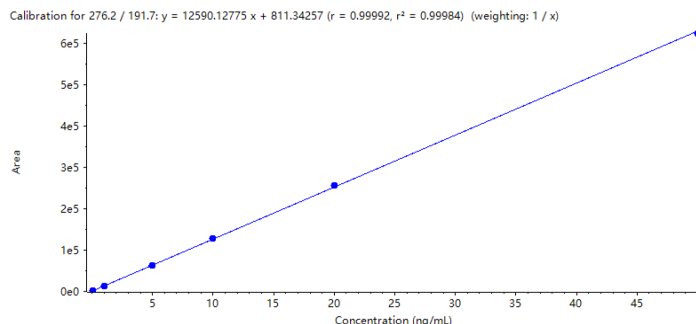


图2. MB-X的标准曲线，线性回归系数 $r=0.99992$

2. 灵敏度和重复性

MB-X的最低定量下限为0.05 ng/mL，提取离子流色谱图见图3；最低定量下限样品连续进样6针，RSD为5.36%。

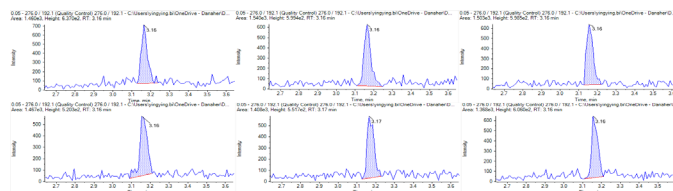


图3. MB-X在LLQ浓度下重现性色谱图展示

3. 样品检测和加标回收率

称取适量的某品牌厄贝沙坦氢氯噻嗪片（约相当于厄贝沙坦150 mg），溶解并稀释至50 mL，过滤做为实际样品溶液，样品溶液制备三份平行，样品溶液中MB-X的含量为8.98 ng/mL，折算后样品中实际MB-X的含量为2.99 μg/g，低于TTC水平即5 μg/g。

表3. MB-X的加标回收率结果 (n=3)

浓度 (ng/mL)	回收率 (%)	RSD (%)
11.98	106.35	5.81
15.98	105.14	3.27

加入标准工作溶液至样品溶液中，配制浓度为11.98和15.98 ng/mL的加标样品，加标溶液制备三份平行。进样分析后，空白溶剂、加标样品和实际样品的典型色谱图见图4。结果如表3所示，空白溶剂中未检出，MB-X的两个不同浓度样品的平均回收率分别为106.35%和105.14%，平行样品的RSD分别为5.81%和3.27%，均满足测试要求。

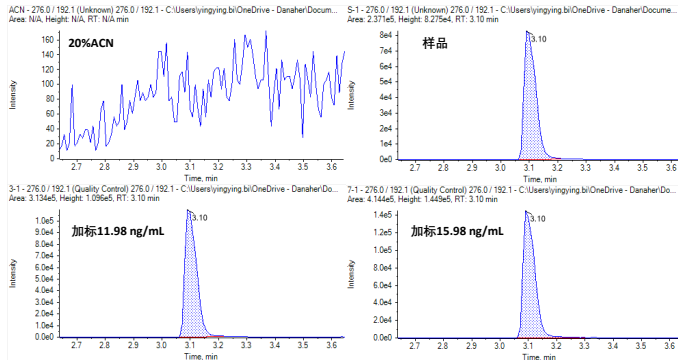


图4. MB-X在空白溶剂、实际样品、加标样品的色谱图

4. 本土化与进口SCIEX Triple Quad™系统的检测结果对比

使用同型号的进口组装SCIEX Triple Quad™系统检测MB-X，与本土化质谱系统检测结果相似，在0.05-50 ng/mL范围内MB-X均线性良好，相关系数R大于0.999。MB-X的最低定量下限为0.05 ng/mL，最低定量下限样品连续进样6针，RSD为6.24%。

结论

本文使用本土化SCIEX Triple Quad™系统建立了基于LC-MS/MS系统检测厄贝沙坦药物中5-[(4'-(叠氮甲基)[1,1'-联苯]-2-基)-2H-四氮唑杂质 (MB-X) 的方法。结果表明，该方法的特异性好，无干扰，MB-X的线性范围为0.05-50 ng/mL，在此范围内线性关系良好，相关系数大于0.999。其最低点浓度分别相当于原料药中的含量为0.017 μg/g，远低于TTC水平，灵敏度较高；不同浓度加标回收率以及定量下限重现性良好，且本土化与进口组装的SCIEX Triple Quad™系统的检测结果相似、性能表现相当。

参考文献

1. ICH. Assessment and control of DNA reactive (Mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk- Step 4 version. 2017.

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2023 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15773-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话: 010-5808-1388
传真: 010-5808-1390
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话: 021-2419-7201
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话: 020-8842-4017

官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)