

LC-MS/MS 法测定戒烟药酒石酸伐尼克兰中 N-亚硝基伐尼克兰基因毒性杂质含量

LCMSMS-817

摘要： 本文建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪测定戒烟药酒石酸伐尼克兰中基因毒性杂质 N-亚硝基伐尼克兰含量。方法学结果表明，N-亚硝基伐尼克兰在 0.5~50 ng/mL 浓度范围内线性关系良好，仪器检出限为 0.006 ng/mL。0.1 ng/mL 标准溶液重复进样 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别为 0.100% 和 3.64 %。1 ng/mL 和 10 ng/mL 2 个水平浓度的加标回收率测试，平均回收率为 108.13%-112.99%，相对标准偏差为 0.24%-0.58%。该方法满足法规对于灵敏度检测要求，能快速、有效的分析 N-亚硝基伐尼克兰基因毒性杂质的含量。

关键词： 酒石酸伐尼克兰 N-亚硝基伐尼克兰 戒烟药

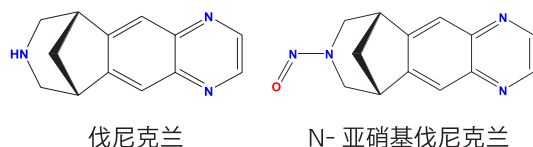
技术特点：

- ❖ 满足 FDA 关于 N-亚硝基伐尼克兰 18.5 ppm (2 mg 每天最大摄入量) 检出要求。
- ❖ 前处理方便简单，切阀后主成分干扰小。

酒石酸伐尼克兰是一种高选择性的 $\alpha 4\beta 2$ 尼古丁乙酰胆碱受体部分激动剂，可缓解对尼古丁的戒断症状，主要用于烟草的依赖性治疗，是一类新型的戒烟药。2021 年 7 月，美国食品药品监督管理局 (FDA) 发表声明召回部分批次规格的酒石酸伐尼克兰，此次召回因为这些批次样品中检出 N-亚硝基伐尼克兰基因毒性杂质超过每日最大允许摄入量。随后，FDA 发布原料药和制剂中伐尼克兰 N-亚硝基 LC-ESI-HRMS 检出方法。考虑到高分辨质谱的价格成本高和灵敏度相对较差等原因，开发 LCMSMS 的检测方法。

欧洲药品管理局在亚硝胺杂质检测中推荐 N-亚硝基伐尼克兰最大摄入量为 37 ng，在酒石酸伐尼克兰最大给药剂量 2 mg 情况下，N-亚硝基伐尼克兰的限度为 18.5 ppm。

本文建立了 LC-MS/MS 法测定酒石酸伐尼克兰中 N-亚硝基伐尼克兰胺基因毒性杂质的含量，为相关研究提供方法参考。



实验部分

1.1 仪器

岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8045，配置信息如下：

系统控制器：CBM-40

脱气机：DGU-405

输液泵：LC-40B X3×2

柱温箱：CTO-40S

自动进样器：SIL-40C X3

色谱工作站：Labsolutions Ver. 5.109

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack Velox C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.8 μ m 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N:227-32007-03)

流动相：A-0.1% 甲酸水溶液；B-0.1% 甲酸甲醇溶液

■ 结果与讨论

3.1 标准样品谱图

0.1 ng/mL N- 亚硝基伐尼克兰目标峰保留时间处，空白溶液未见明显干扰。

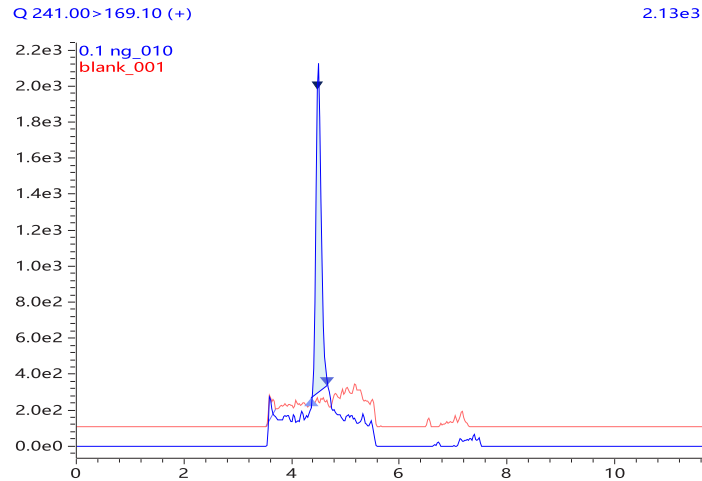


图 2 空白溶液和 0.1 ng/mL N- 亚硝基伐尼克兰溶液 MRM 色谱图

3.2 校准曲线和检出限

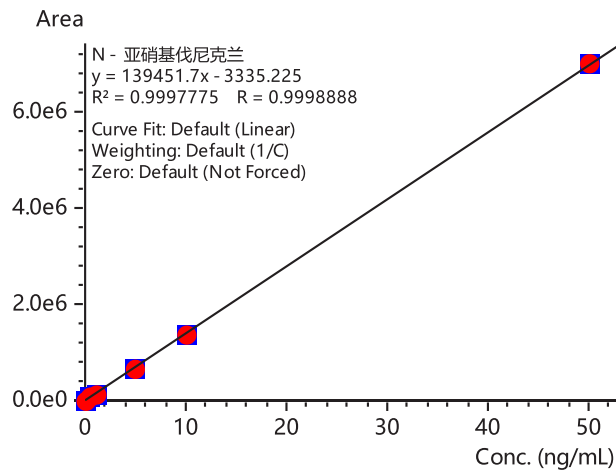


图 3 N- 亚硝基伐尼克兰校准曲线 (0.1-50 ng/mL)

分别配制 0.1、0.5、1、5、10、50 ng/mL 的 N- 亚硝基伐尼克兰标准溶液，取 10 μ L 进样，以化合物浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，进行线性回归分析，权重设置为 1/C，N- 亚硝基伐尼克在 0.1~50 ng/mL 浓度范围内线性良好，相关系数大于 0.999。LabSolutions 软件采用 ASTM 的计算方式，以信噪比 S/N=3.3 和 10.0，分别计算检出限为 0.006 ng/mL 和定量限 0.028 ng/mL。

3.3 重复性实验

取 0.1 ng/mL 标准溶液连续分析 6 次，考察仪器的重复性，测定结果见表 3。

表 3 N- 亚硝基伐尼克兰的重复性结果 (n=6)

No.	N- 亚硝基伐尼克兰	
	保留时间	峰面积
1	4.495	12452
2	4.484	13649
3	4.492	13594
4	4.488	12927
5	4.483	13509
6	4.487	13542
平均值	4.488	13279
RSD%	0.100	3.64

3.4 加标回收率

将基质样品进行 1、10 ng/mL 浓度加标后, 按照上述前处理方法处理后上机, 平行 3 份样品考察回收率和 RSD, 具体结果如下: N- 亚硝基伐尼克兰的平均加标回收率为 108.13%-112.99%, RSD 为 0.24%-0.58%。

表 4 N- 亚硝基伐尼克兰加标回收和精密度结果 (n=3)

化合物	样品浓度	加标浓度 (ng/mL)	实测浓度 (ng/mL)	平均回收率 (%)	相对标准偏差 RSD%
N- 亚硝基 伐尼克兰	N/A	1	1.127	112.99	0.24
			1.132		
			1.130		
		10	10.885	108.13	0.58
			10.769		
			10.784		

■ 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱串联质谱联用仪测基因毒性杂质 N- 亚硝基伐尼克兰的方法。该方法满足法规关于该基因毒性杂质检测灵敏度要求, 方法学考察中, 线性、灵敏度、重复性和加标回收率良好, 为戒烟药伐尼克兰的基因毒杂质含量检测研究提供参考。

岛津应用云

