

# LC-MS/MS 法检测和定量厄贝沙坦原料药中的叠氮杂质

 Jihyun Lee  
Shimadzu Scientific Korea

### 特点描述

- ◆ 使用 LCMS-8050，建立了基于高灵敏度 MRM 定量测定厄贝沙坦原料药中叠氮杂质的方法。
- ◆ 从线性、LOD、LOQ、回收率等方面对建立的方法进行评价，得到了可靠的结果。

### 简介

在沙坦类抗高血压药物中检测到叠氮杂质——叠氮甲基联苯四唑 (AZBT)，它是一种致突变杂质。因此，欧洲药品管理局 (EMA)、英国药品与保健品管理局 (MHRA) 和加拿大卫生部等监管机构要求进行了药品召回。韩国食品和药品安全部 (MFDS) 相应发布了测定沙坦原料药中 AZBT 的 LC-MS/MS 方法作为测定指南<sup>[1]</sup>，努力确保药品安全。

叠氮杂质可以在含有四唑环的沙坦原料药 (API) 的合成过程中形成。在沙坦中，四唑环通过适当的腈和叠氮基之间的反应形成，这可能同时产生作为副产物的痕量叠氮杂质。除了国内管制成分 AZBT 之外，还有各种类型的叠氮杂质。因此，本应用报告旨在介绍对厄贝沙坦原料药中 4 种叠氮杂质的 LC-MS/MS 分析方法的评价 (图 1)。

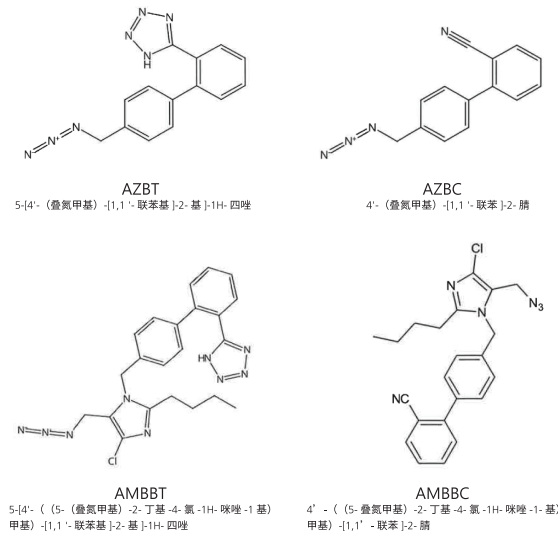


图 1 目标化合物叠氮杂质的化学结构

### 测定条件

参照 OMCL (官方药品控制实验室) 方法条件<sup>[2]</sup> 执行分析。每种化合物的仪器条件和 MRM 条件如表 1 和表 2 所示。

表 1 仪器条件

液相色谱仪	Nexera™ X3
色谱柱	Shim-pack™ GIST C18 (3.0 mm I.D. × 100 mm L., 3 μm)
流速	0.4 mL/min
流动相	(A) 0.1% 甲酸水溶液 (B) 0.1% 甲酸的 95% 乙腈溶液
梯度	B 35% (0 min) -B 40% (5.5 min) -100% (12-14 min) -B 35% (14.01-18 min)
分流阀	0-7.6 min (废液), 7.6-18 min (MS)
柱温	40°C
进样量	5 μL
检测器	UV 254 nm
质谱仪	LCMS-8050
离子源	ESI
MS 模式	正离子模式
接口温度	300°C
DL 温度	250°C
加热模块温度	400°C
雾化气流量	氮气, 3.0 L/min
干燥气流量	氮气, 10.0 L/min
加热气流量	零级空气, 10.0 L/min

表 2 多反应监测 (MRM) 条件

名称	前体离子 m/z	产物离子 m/z (1)	产物离子 m/z (2)
AZBT	278	235	207
AZBC	207	179	151
AMBBT	448	405	207
AMBBC	405	192	165

### 样品前处理

样品前处理程序参照 MFDS 方法<sup>[1]</sup> 进行。厄贝沙坦原料药经过简单的溶解和离心预处理，如图 2 所示。

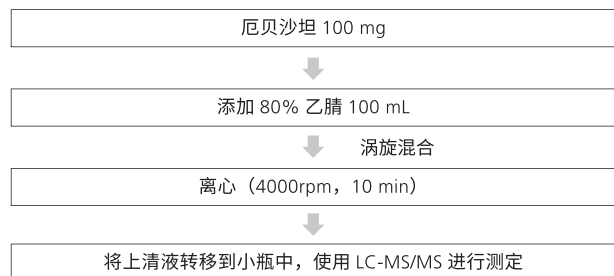


表 2 样品制备方案

## ■ 结果和讨论

### 厄贝沙坦原料药和叠氮杂质的分离

对厄贝沙坦原料药和四种叠氮杂质的分离进行了优化，如图3所示。

为了消除基质的干扰和高浓度原料药可能造成的质谱仪污染，使用了合适的液相色谱法和分流阀功能。

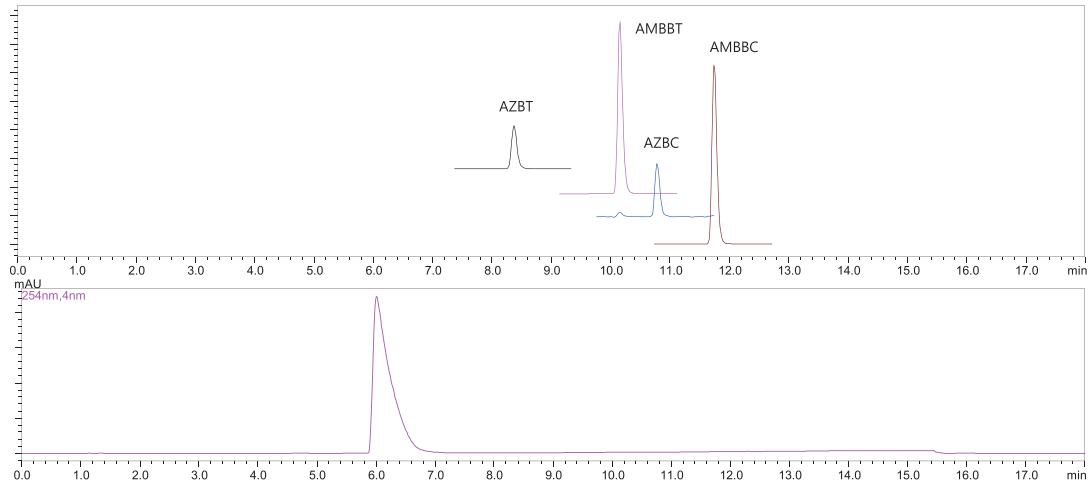


图3 四种叠氮杂质的质谱图（上图）和厄贝沙坦的紫外色谱图（下图）

### 标准曲线、LOD 和 LOQ

通过溶解在 80% 乙腈中制备用于标准曲线的含四种叠氮杂质的标准溶液。在 0.5 ng/mL 至 50 ng/mL 的标准曲线范围内获得了良好的线性，每种化合物的相关系数 ( $r^2$ ) 为 0.99 或更高，如图 4 所示。

使用 LabSolutions™ 软件将检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ) 计算为  $S/N=3$  和  $S/N=10$ 。获得的检测限范围为 0.03 ng/mL 至 0.2 ng/mL，具体取决于化合物 (表 3)。

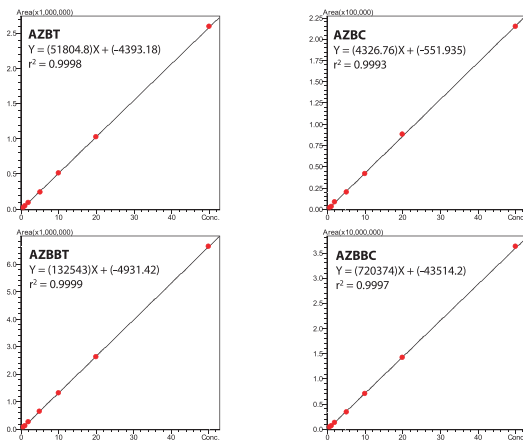


图 4 四种叠氮杂质的标准曲线

表 3 叠氮杂质的 LOD 和 LOQ

浓度 (ng/mL)	AZBT	AZBC	AMBBT	AMBBC
LOD	0.03	0.2	0.03	0.01
LOQ	0.1	0.5	0.1	0.03

### 加标和回收试验

使用厄贝沙坦原料药样品进行加标和回收试验。每个样品中的加标浓度分为三个水平；1  $\mu\text{g/g}$  (低水平) 和 20  $\mu\text{g/g}$  (中水平) 和 40  $\mu\text{g/g}$  (高水平)。表 4 显示，不同浓度加标回收率范围为 95% 至 111%。结果为每种浓度的 3 个样品的计算的平均浓度。

表 4 加标叠氮杂质的厄贝沙坦原料药的回收率 (%),  $n=3$

回收试验样品	AZBT	AZBC	AMBBT	AMBBC
低水平 (1 $\mu\text{g/g}$ )	103	111	102	101
中水平 (20 $\mu\text{g/g}$ )	105	104	100	97
高水平 (40 $\mu\text{g/g}$ )	108	105	101	95
平均值	105	107	101	98

## ■ 结论

在本应用报告中，使用 Nexera X3 和 LCMS-8050 系统对厄贝沙坦原料药中的四种叠氮杂质 (AZBT、AZBC、AMBBT、AMBBC) 进行了同时分析。在线性和回收试验中，系统性能优异。四种叠氮杂质的标准曲线线性良好，在 0.5 至 50 ng/mL 范围内  $r^2$  均在 0.99 以上。根据化合物的不同，检测限在 0.03 ng/mL 至 0.2 ng/mL 之间。回收试验结果显示：在三个浓度水平下，回收率的范围为 95% 至 111%。

### < 参考文献 >

- [1] MFDS 方法 (2021 年), [https://www.mfds.go.kr/brd/m\\_218/view.do?seq=33406](https://www.mfds.go.kr/brd/m_218/view.do?seq=33406)
- [2] Genotoxic substances in sartans, OMCL Swissmedic (2021)

Shim-pack、Nexera 和 LabSolution 是岛津制作所或其附属公司在日本和其他国家的商标。

岛津应用云

