

根据拟定的 USP 通则 <1469>, 通过 HS-GC-MS/MS 对原料药中的 7 种亚硝胺进行定量测定

Nitish Suryawanshi, Dheeraj Handique, Prashant Hase, Sanket Chiplunkar, Durvesh Sawant, Aseem Wagle, Rahul Dwivedi, Jitendra Kelkar 和 Pratap Rasam
Shimadzu Analytical (India) Pvt. Ltd.,

06-SAIP-079-GC-024-CN

对用户的好处

- ◆ 一种根据拟定的 USP 通则 <1469> 测定氯沙坦原料药中的 7 种亚硝胺的 HS-GC-MS/MS 方法
- ◆ GCMS-TQ8050 NX 系统可轻松符合拟定的 USP 通则 <1469> 程序 -2 中的标准。

引言

概述: 2018 年 7 月, 药品监管部门首次注意到含有缬沙坦的产品中存在亚硝胺杂质 (NSA) —— N-亚硝基二甲胺 (NDMA)。缬沙坦是一种血管紧张素 II 受体拮抗剂 (ARB), 属于一类通常被称为沙坦家族的类似化合物。此外, 随后人们在沙坦家族的其他原料药和其他活性药物成分 (API) 以及成品药 (FPP) 中检测到少量其他亚硝胺, 包括: N-亚硝基二乙胺 (NDEA)、亚硝基二异丙胺 (NDIPA)、亚硝基乙基异丙胺 (NEIPA)、N-亚硝基二丁胺 (NDBA)、N-亚硝基二正丙胺 (NDPA) 和 N-亚硝基-N'-甲基哌嗪 (NMPz)。

什么是亚硝胺? 亚硝胺是指含有亚硝基官能团的分子。尽管它们也存在于一些食品和饮用水供应链中, 但它们存在于药物中是不可接受的。

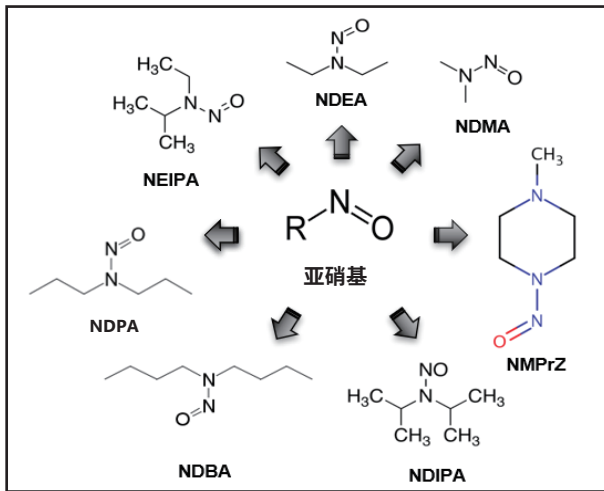


图 1 亚硝基结构, NDMA、NDEA、NEIPA、NDIPA、NDPA、NDBA 以及 NMPz

存在情况: 在酸性反应条件下, 在存在仲胺、叔胺或季胺盐和亚硝酸盐时, 可能形成亚硝胺。在这些条件下, 亚硝酸盐可形成亚硝酸, 亚硝酸可与胺反应形成亚硝胺。除此之外, 还有其他途径, 如供应商采购的起始材料和原材料、回收的溶剂、催化剂和试剂、来自通用生产设施的交叉污染、使用亚硝酸的淬火工艺和包装 / 储存可能导致亚硝胺的形成或污染。

毒性 / 规定 / 方法: NDMA 和 NDEA 属于所谓的“关注队列”, 这是一组被归类为潜在人类致癌物 (P1) 的高效致突变致癌物。因此, 美国食品和药物管理局 (USFDA) 给出了 NDMA、NDEA、NMBA、NMPA、NEIPA 和 NDIPA 的建议可接受摄入量 (AI) 限值, 见表 1。这些限值仅适用于药品中含有一种亚硝胺的情况, 对于最大日剂量 (MDD) 为 880 mg/ 天的原料药 (DS), 最低限值为 0.03 ppm。如果在同一原料药中鉴定出一种以上的亚硝胺杂质, 则表 1 中列出的亚硝胺总量限值仍不超过 26.5 ng/ 天或 0.03 ppm。因此, 必须用尽可能低的定量限 (LOQ) 检测上述 NSA, 以确保不仅单个亚硝胺杂质低于 0.03 ppm, 而且总亚硝胺杂质也低于 0.03 ppm。

表 1 亚硝胺的 AI 限值

亚硝胺	AI 限值 (ng/ 天)	MDD 的限值 (以 ppm 为单位) 880 mg/ 天
NDMA	96.0	0.109
NMBA	96.0	0.109
NDEA	26.5	0.030
NEIPA	26.5	0.030
NMPA	26.5	0.030
NDIPA	26.5	0.030

亚硝胺杂质含量较低, 这给药品中的检测带来了挑战。对此, 美国食品和药物管理局 (USFDA) 发布了几种检测方法, 在测定药品中的亚硝胺时可以考虑这些方法。此外, 美国药典 (USP) 最近也发布了关于沙坦中亚硝胺的拟定通则 <1469>。

该拟定通则与现行科学和管理办法相一致, 该办法是为确保合理控制原料药和药品中的亚硝胺杂质而制定的。该标准的目的是提供一种基于科学的方法, 用以控制亚硝胺杂质, 消除或减少其在药品中的存在。本应用说明基于通则 <1469> 的程序 2。



图 2 配备 HS-20 系统的 GCMS-TQ8050 NX

方法

表 2 给出了 7 种亚硝胺标准品和 1 种内标品的 MRM 参数, 表 3 给出了对应的分析条件。

表 2 亚硝胺的 MRM 参数

亚硝胺				
亚硝胺杂质	MRM-1	CE-1	MRM-2	CE-2
NDMA	74.00>44.10	6	74.00>42.10	21
NDMA d6	80.00>50.00	5	不适用	
NDEA	102.00>85.10	6	102.00>56.10	15
NEIPA	116.00>99.10	5	71.00>56.10	5
NDIPA	130.00>88.00	6	130.10>42.20	12
NDPA	130.10>113.10	6	130.10>43.20	18
NDBA	116.00>99.10	5	158.00>99.00	10
NMPrZ	99.00>56.10	12	99.00>72.10	9

表 3 分析条件

GCMS 系统	: 带 HS-20 的 GCMS-TQ8050 NX		
色谱柱	: SH-Stabilwax 30-meter, 内径 0.32 mm, 1.0 μm 膜厚		
进样模式	: 分流		
流量控制模式	: 柱流量		
载气	: 氮气		
柱流量	: 1.8 mL/min		
稀释剂	: 甲醇 - 乙腈		
温度程序	爬坡速度	温度	保持时间
	(°C/min)	(°C)	(min)
	-	45.00	3.00
	10	130.00	3.00
	15	190.00	0.00
	40	240.00	15.25
MS 参数			
离子化模式	: 电子轰击电离 (EI)		
离子源温度	: 250 °C		
CID 气	: 氦气		
HS 参数			
柱温箱温度	: 110 °C		
加压压力	: 20 Psi		
压力			
摇动水平	: 关		
平衡时间	: 10.0 Min		
上样时间	: 2.0 Min		
导入时间	: 1.0 Min		
循环时间	: 45.00 Min		

样品分析:

称取 200±10 mg 氯沙坦原料药和 100 mg 咪唑, 置于顶空小瓶中。加入 1.0 mL 在乙腈中制备的 16.0 μg/L 内标溶液和 1.0 mL 甲醇, 压盖密封。

加标回收试验:

称取 200±10 mg 氯沙坦原料药和 100 mg 咪唑, 置于顶空小瓶中。加入 1.0 ml 在乙腈中制备的 16.0 μg/L 内标溶液和 1.0 ml 定量限溶液, 压盖密封。

N- 亚硝二甲胺

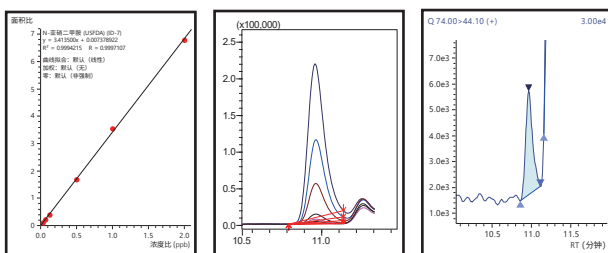


图 3 NDMA 的校准曲线、线性标准品叠加及定量限溶液

N- 亚硝二乙胺

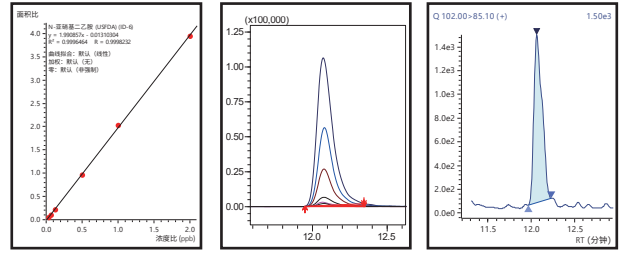


图 4 NDEA 的校准曲线、标准溶液叠加谱图及定量限溶液

N- 亚硝基乙基异丙胺

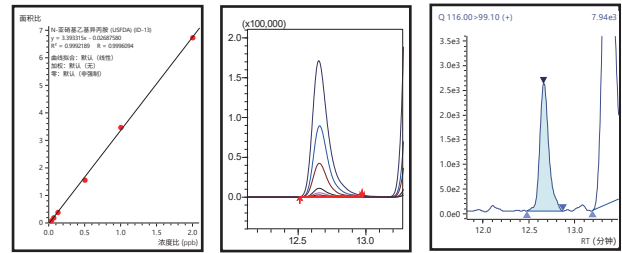


图 5 NEIPA 的校准曲线、标准溶液叠加谱图及定量限溶液

N- 亚硝基二异丙胺

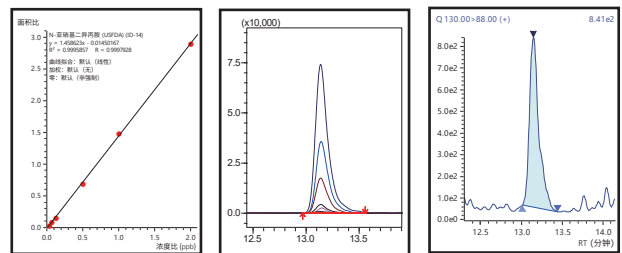


图 6 NDIPA 的校准曲线、标准溶液叠加谱图及定量限溶液

N- 亚硝基二正丙胺

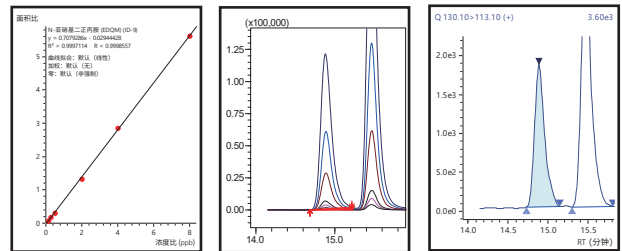


图 7 NDPA 的校准曲线、标准溶液叠加谱图及定量限溶液

N- 亚硝二甲胺

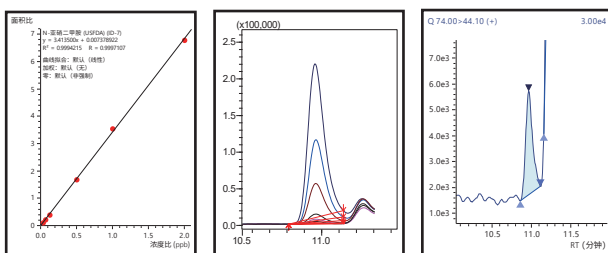


图 8 NDBA 的校准曲线、标准溶液叠加谱图及定量限溶液

N- 亚硝基甲基哌嗪

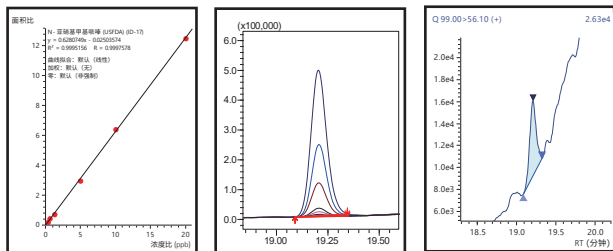


图 9 NMPrZ 的校准曲线、标准溶液叠加谱图及定量限溶液

表 4 校准曲线汇总

化合物	浓度范围 (ppb)	r ²	LOQ		
			浓度 (ppb)	%RSD (n=6)	S/N*
NDMA	2.5 - 160	0.999	2.5	8.5	50
NDEA		0.999		12.6	472
NEIPA		0.999		6.6	651
NDIPA		0.999		9.5	399
NDPA	10 - 640	0.999	10	7.5	612
NDBA	5 - 320	0.999	5	9.2	58
NMPrZ	25 - 1600	0.999	25	14.6	28

* = 峰至峰

校准曲线的范围、由 S/N 建立的定量限和定量限下的 %RSD 如表 4 所示。(所示浓度与样品相关)

表 5 氯沙坦原料药 LOQ 水平的样品加标研究 (所示结果与样品相关)

氯沙坦原料药				
名称	样品量 (ppb)	加标量 (ppb)	检测量 (ppb)	% 回收率
NDMA	低于定量限	2.5	2.63	105
NDEA	低于定量限	2.5	2.24	90
NEIPA	低于定量限	2.5	2.44	97
NDIPA	低于定量限	2.5	3.19	127
NDPA	低于定量限	10.0	10.56	106
NDBA	低于定量限	5.0	5.54	111
NMPrZ	低于定量限	25.0	27.75	111

表 6 显示 USP<1469> 与岛津应用说明的定量限比较。

名称	USP <1469>	岛津应用说明
	LOQ (ppb)	LOQ (ppb)
NDMA	20.0	2.5
NDEA		
NEIPA		
NDIPA		
NDPA	不适用	10.0
NDBA		5.0
NMPrZ		25.0

结果

- USP 通则 仅适用于 4 种 NSA (NDMA、NDEA、NEIPA 和 NDIPA)，而岛津方法可用于另外 3 种 NSA (NDPA、NDBA 和 NMPrZ) 的定量
- 7 种亚硝胺的相关系数 (r²) 均大于 0.999。(表 4)
- 定量限水平下的重复性 (n=6) 均小于 15% RSD。(表 4)
- 在定量限水平下进行回收率分析，其结果符合 70%-130% 的可接受标准。(表 5)

结论

岛津 GCMS-TQ8050 NX 配备高灵敏度检测器，噪声消除性能优异，且具有优越的灵敏度、重现性和精密度，灵敏度可达当前监管限值要求的 8 倍以上。

GCMS-TQ 是岛津制作所在日本和 / 或其他国家的商标。

岛津应用云



岛津企业管理 (中国) 有限公司
岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439
400-650-0439

免责声明:

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;
* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2021 年 4 月