

# 厄贝沙坦原料中叠氮基遗传毒性杂质 MB-X 的分析

## LCMSMS-600

**摘要：** 本文建立了使用岛津超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪测定厄贝沙坦原料中叠氮基遗传毒性杂质 MB-X 的方法。MB-X 在 1 ng/mL~75 ng/mL 浓度范围内线性良好，校准曲线线性相关系数  $r$  在 0.999 以上；对照品连续进样 6 次，保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.14% 和 1.78%；低、中、高不同浓度的加标回收率在 103.53%~111.82% 之间。该方法专属性强、灵敏度高、稳定性好、结果准确，可用于厄贝沙坦原料中的 MB-X 检测。

**关键词：** 三重四极杆质谱 厄贝沙坦 遗传毒性杂质 叠氮基 MB-X

厄贝沙坦是一种血管紧张素 II 受体拮抗剂 (ARB)，主要用于治疗成人原发性高血压，属于一线降压药，临床应用广泛。

2021 年 6 月，加拿大卫生部发布消息，加拿大一家制药公司因测试发现叠氮杂质超出可接受的限度而召回了 12 批厄贝沙坦药物。除此之外，8 月份韩国和英国也发布公告撤下或召回含有厄贝沙坦的药物制剂，如厄贝沙坦片 (Aprovel)、厄贝沙坦氢氯噻嗪片 (CoAprovel) 等。

2021 年 4 月 29 日，EDQM 宣布叠氮杂质是一种

新的致突变物质，即遗传毒性杂质。叠氮化合物是医药行业中常见的化工原料，通常作为起始物料、反应试剂或中间体存在于药物合成过程中，如在厄贝沙坦的合成中，通常需要使用三丁基叠氮化锡或叠氮化钠以形成药物结构中的四唑环。遗传毒性杂质叠氮化合物需依据 ICH M7 开展研究，并确保叠氮杂质水平低于毒理学关注阈值 (TTC) 的控制限度，确保药品质量安全。本文采用岛津 LCMS-8050 建立了厄贝沙坦原料中叠氮杂质 5-[4'-(叠氮甲基)[1,1-联苯]-2-基]-2H-四氮唑 (MB-X) 的方法，该方法灵敏、准确，供相关研究人员参考。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera-XR 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。具体配置为：

系统控制器：CBM-20A	自动进样器：SIL-20AC XR
输液泵：LC-20ADXR x2	质谱仪：LCMS-8050
柱温箱：CTO-20AC	色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.99
在线脱气机：DGU-20A <sub>5R</sub>	

### 1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：五氟苯基色谱柱 (100 mm x 3.0 mm I.D., 2.7  $\mu$ m 或其他性能相当的色谱柱)

流动相：A 相 -0.1% 甲酸水溶液，B 相 - 乙腈

流速：0.4 mL/min

柱温：20°C

进样体积：3  $\mu$ L

自动进样器温度：20°C

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 40%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
4.00	Oven	CTO RVR	1
5.50	Pumps	Pump B Conc.	40
6.00	Pumps	Pump B Conc.	95
7.00	Oven	CTO RVR	0
11.00	Pumps	Pump B Conc.	95
11.01	Pumps	Pump B Conc.	40
15.00	Controller	Stop	

注：“0”表示流路切换至废液；“1”表示流路切换至质谱

### 质谱条件

离子源：ESI，负离子模式	接口温度：450°C
离子源接口电压：-3.0 kV	扫描模式：多反应监测 (MRM)
雾化气：氮气 3.0 L/min	加热气：空气 15.0 L/min
干燥气：氮气 5.0 L/min	DL 管温度：150°C
碰撞气：氩气	加热模块温度：450°C
MRM 参数：见表 2	

表 2 MRM 参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
5-[4'-(叠氮甲基)[1,1'-联苯]-2-基]-2H-四氮唑 (MB-X)		192.20*	15	12	15
	275.90	248.30	15	11	15
		165.40	15	16	15

\* 表示定量离子

## ■ 标准品溶液的配制及样品前处理

标准工作溶液配制：取 MB-X 对照品适量，精密称定，加 80% 乙腈溶解并定量稀释制成每 1 mL 中约含 MB-X 为 1、3、7.5、15、30、45、75 ng 的溶液。

供试品溶液：取厄贝沙坦原料约 60 mg，精密称定，置 20 mL 量瓶中，加 80% 乙腈溶解并稀释至刻度，摇匀。

## ■ 结果与讨论

### 3.1 厄贝沙坦 UV 图及 MB-X 对照品溶液谱图

为避免厄贝沙坦污染离子源的风险，实验中建议配制紫外检测器进行色谱图的监控。根据色谱图中厄贝沙坦与 MB-X 保留时间的差异，将供试品中高浓度的厄贝沙坦切入废液。本实验中，厄贝沙坦与 MB-X 保留时间分别为 1.818 min 和 5.942 min，二者之间的分离度良好。

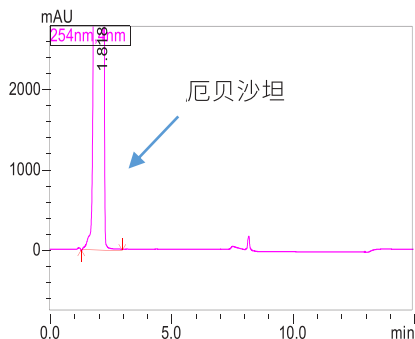


图 1 厄贝沙坦原料 UV 色谱图

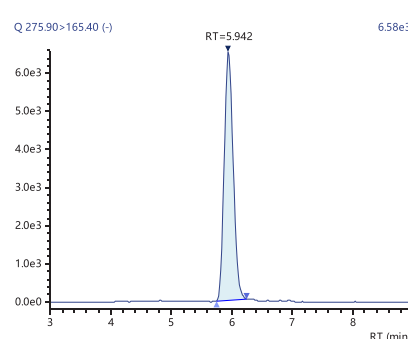


图 2 15 ng/mL MB-X 标准品溶液质量色谱图

### 3.2 线性关系

将上述 MB-X 系列标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 3 所示；所得校准曲线线性关系良好，线性方程为  $Y = (4642.994)X + (-485.3603)$ ，相关系数  $R = 0.9996$ ，准确度在 98.2~102.2% 之间。

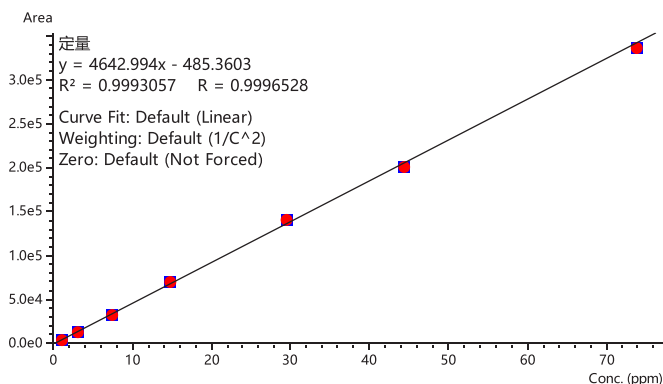


图 3 MB-X 校准曲线

### 3.3 精密度

对 15 ng/mL 的对照品溶液连续测定 6 次，考察仪器精密度。结果显示：MB-X 色谱峰保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.14% 和 1.78%，仪器精密度良好。

表 3 AZBC 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

序号	保留时间	峰面积
1	5.927	66195
2	5.928	64858
3	5.934	68095
4	5.925	67536
5	5.945	66672
6	5.942	67651
RSD(%)	0.14	1.78

### 3.4 专属性

图 4-6 分别为空白溶液、供试品及供试品加标溶液的 MRM 色谱图，可见空白无干扰。供试品中 MB-X 的含量为 1.75 ppm，按厄贝沙坦最大日剂量 300 mg 计算，该产品中 MB-X 的含量小于 TTC。

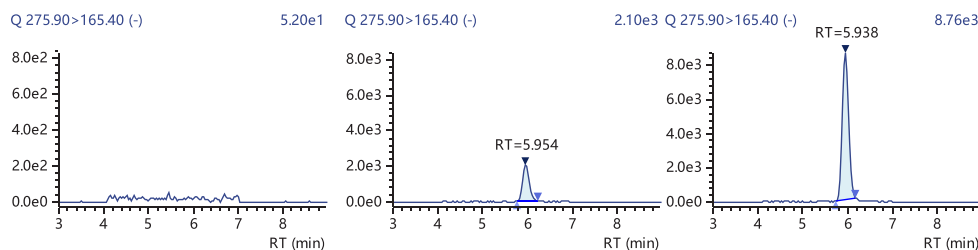


图 4 空白 MRM 色谱图 图 5 供试品 MRM 色谱图 图 6 供试品加标 MRM 色谱图

### 3.5 灵敏度

根据检出限  $MDL = 3 S/N$ ，定量限  $LOQ = 10 S/N$  计算检出限和定量限，分别为 0.19 和 0.64 ng/mL。

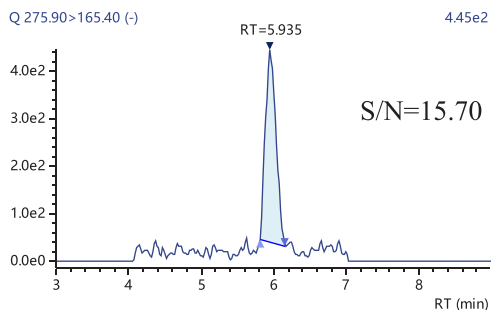


图7 1 ng/mL MRM 色谱图

### 3.6 回收率

取厄贝沙坦样品 9 份，按照 2 步骤进行前处理，分别加入低、中、高三种不同浓度的 MB-X 标准溶液，按照 1.2 中的分析条件测定加标回收率，每种浓度平行测定 3 次。MB-X 的回收率在 103.53%~111.82% 之间，具体结果见表 4。

表 4 MB-X 回收率测试结果 (n=9)

加标浓度 (ng/mL)	序号	回收率 (%)	RSD(%)
15	1	108.18	1.85
	2	108.46	
	3	111.82	
30	1	103.67	1.36
	2	104.36	
	3	106.41	
45	1	105.34	0.89
	2	104.06	
	3	103.53	

## ■ 结论

本文建立了使用岛津超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8050 测定厄贝沙坦原料中叠氮基遗传毒性杂质 MB-X 的方法。MB-X 在 1 ng/mL~75 ng/mL 浓度范围内线性关系良好，且专属性、精密度及不同浓度的加标回收率实验结果良好。该方法专属性强、灵敏度高、稳定性好结果准确，可用于厄贝沙坦原料中的 MB-X 检测。

岛津应用云

