

# LCMS-QTOF 用于测定依那普利中 N- 亚硝基依那普利

## LCMS-QTOF-092

**摘要:** 本文利用岛津超高效液相色谱-飞行时间质谱仪,建立了依那普利中杂质 N-亚硝基依那普利的检测方法。N-亚硝基依那普利在 0.5 ~ 20 ng/mL 浓度范围内,其相关系数大于 0.999,精确度在 96.3 ~ 103.5%;低中高三个浓度回收率为 92.27 ~ 107.78%;对不同浓度的标准溶液平行 6 次,其面积 RSD 为 1.17 ~ 1.99%,仪器精密良好。该方法可有效应对依那普利中的亚硝胺类基因毒性杂质 N-亚硝胺依那普利的检测。

**关键词:** 依那普利 N-亚硝基依那普利 飞行时间质谱

### 技术特点:

- ❖ 该方法分析目标物出现双峰,采用组校准(面积之和)进行定量分析。
- ❖ 将高浓度非目标物通过切阀不进入质谱,减少对仪器的污染。

基因毒性杂质是指在很低的浓度下即可诱导基因突变并导致染色体的断裂和重排的杂质,具有潜在的致癌性”。N-亚硝胺类化合物由于在细胞色素 P450 酶介导代谢活化后,生成不稳定的  $\alpha$ -羟甲基-N-亚硝胺,最终形成的高度亲电物质与 DNA 反应形成烷基化的 DNA 碱基对,从而具有很强的致癌性。ICH M7(R1) 指南已将 N-亚硝胺类化合物列入“关注队列”。近年来多个品种的药品中检测出了 N-亚硝胺类化合物,引起了各国药品监管机构的广泛关注,出台了一系列 N-亚硝胺杂质的控制方案。

马来酸依那普利(enalapril maleate)系第二代血管紧张素转换酶抑制剂,可强烈抑制血管紧张素转换酶,降低血管紧张素工的含量,使全身血管舒张,从而降低血压。临床用于治疗高血压,具有药理作用平稳,持续时间长的特点。然而,近期在依那普利中发现了新的亚硝胺类基因毒性杂质 N-亚硝胺依那普利,使得亚硝胺类基因毒性杂质又一次引起大家关注。因此,本文建立了使用岛津超高效液相色谱-飞行时间质谱仪检测依那普利中 N-亚硝基依那普利的方法,供相关检测人员参考。

## 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 LCMS-9050 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪,具体配置为:

系统控制器	: SCL-40	脱气机	: DGU-403
输液泵	: LC-40D XS × 2	柱温箱	: CTO-40C
自动进样器	: SIL-40C XS	质谱仪	: LCMS-9050
色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.118, Insight Ver. 4.0 SP2		

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

色谱柱	: Shim-pack Velox C18 2.1×100 mm; 1.8 $\mu$ m		
流动相	: A-10 mM 乙酸铵溶液(含 0.1% 甲酸); B-乙腈(含 0.1% 甲酸)		
流速	: 0.35 mL/min	柱温	: 40°C
进样体积	: 5 $\mu$ L		
洗脱方式	: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 20%, 时间程序见表 1。		



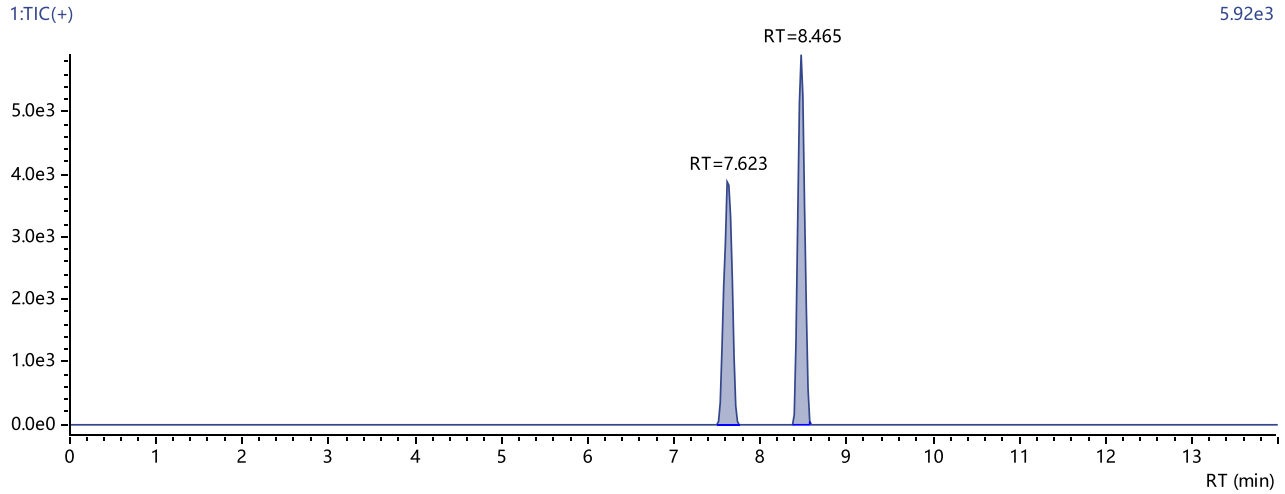


图 1 N-亚硝基依那普利定量限 (0.5 ng/mL) 点 MRM 色谱图

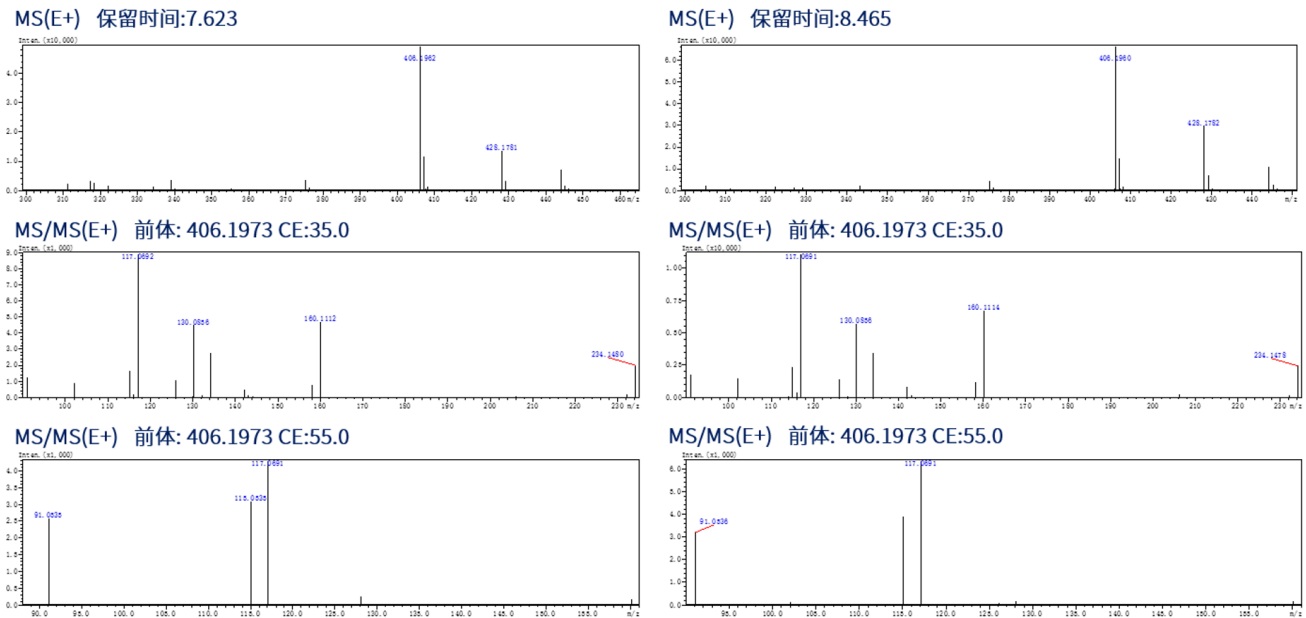


图 2 N-亚硝基依那普利质谱图

## 2.2 校准曲线

按照 1.3 项下配制方法，配制校准曲线浓度点对应的溶液。以化合物浓度为横坐标，两色谱峰面积之和为纵坐标，以组校准的方式进行分析，亚硝基依那普利在 0.5 ~ 20 ng/mL 浓度范围内相关系数大于 0.999，精确度在 96.3% ~ 103.5%，曲线结果如下图 3 所示。

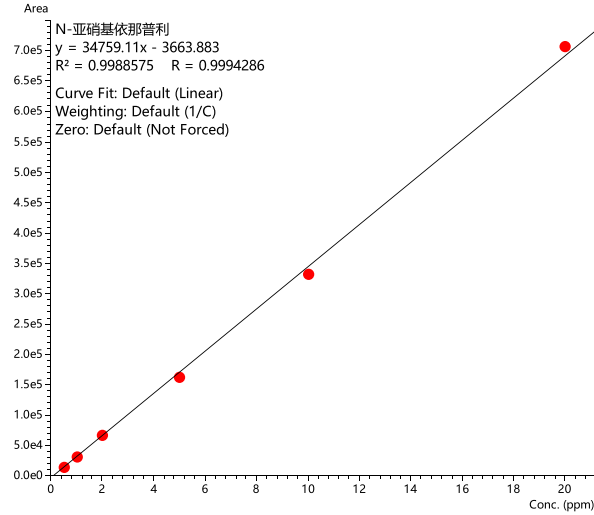


图3 校准曲线结果

### 2.3 精密度测定结果

分别取低中高浓度点样品，连续进样6针考察精密度，结果如表3所示。

表3 精密度测定结果 (Area)

浓度	1 ng/mL	5 ng/mL	20 ng/mL
1	67193	335819	1344942
2	64336	338401	1324151
3	68186	331150	1320018
4	65623	336901	1362972
5	66408	331143	1344184
6	66667	327417	1336343
平均值	66402	333472	1338768
RSD(%)	1.99	1.27	1.17

### 2.4 实际样品及准确度测定结果

按1.3项下配制供试品和回收率溶液，每个浓度加标样重复制备3份，按1.2中的分析条件对质控品进行分析。其中供试品测定浓度为0.786 ng/mL，色谱图如图4所示，加标样回收率如表4所示。

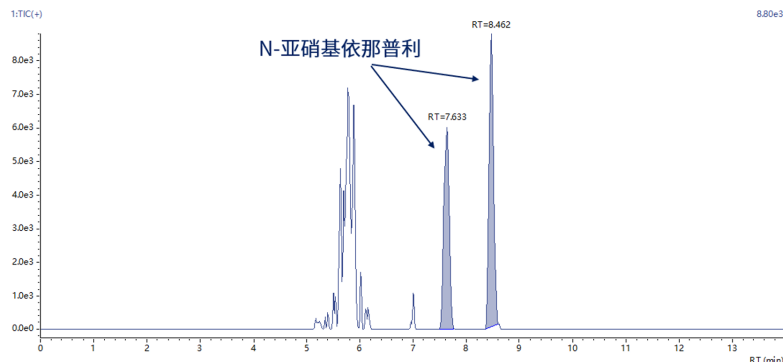


图4 供试品色谱图

表 4 质控品分析结果

	供试品 (ng/mL)	加标值 (ng/mL)	测定值 (ng/mL)	准确度 (%)
LQC	0.786	1	1.834	104.82
			1.864	107.78
			1.802	101.58
MQC	0.786	5	5.828	100.84
			6.026	104.80
			5.928	102.84
HQC	0.786	20	19.240	92.27
			19.779	94.97
			19.470	93.42

## ■ 结论

本文利用岛津超高效液相色谱 - 飞行时间质谱仪，建立了对依那普利中 N- 亚硝基依那普利的测定方法。使用外标法定量分析，由于该方法条件下 N- 亚硝基依那普利有两个色谱峰，故结合组校准进行分析。N- 亚硝基依那普利在 0.5 ~ 20 ng/mL 浓度范围内相关系数大于 0.999，精确度在 96.3 ~ 103.5%；加标回收实验中，分别考察了 3 个不同浓度的加标量，回收率为 92.27 ~ 107.78%；重复性实验中，对不同浓度的标准溶液重复进样 6 次，面积 RSD 为 1.17 ~ 1.99%，仪器精密度良好。该方法能满足依那普利中 N- 亚硝基依那普利的检测要求。

岛津应用云

