

# 使用 LCMS-8045 定量氯沙坦钾原料药中的四种叠氮杂质

Devika Tupe<sup>1</sup>, Pratap Rasam<sup>1</sup>, Jitendra Kelkar<sup>1</sup>, T. Karunakaran Raja<sup>2</sup>, B. Karthikeyan<sup>2</sup>  
<sup>1</sup> Shimadzu Analytical (India) Pvt.Ltd., <sup>2</sup> Spinco Biotech Pvt.Ltd.

## 特点描述

- ◆ 一种用于测定氯沙坦原料药中四种叠氮杂质的简便、可靠的 LCMS 方法。
- ◆ 无需复杂的样品前处理。

## 简介

氯沙坦属于一类称为血管紧张素受体阻滞剂 (ARBs) 的药物。它可以放松血管, 使血液更易流动。氯沙坦具有降压和血管舒张作用, 用于治疗高血压并帮助保护肾脏免受糖尿病损伤。此外, 它还用于降低高血压和心脏肥大患者的中风风险。

叠氮杂质来源于叠氮化钠, 它是氯沙坦合成的前体, 属于一级毒物。叠氮杂质被认为是一种诱变剂。即一种可以引起细胞 DNA 变化的化学物质。这些突变可能会增加癌症的风险, 但这些叠氮杂质导致人类癌症的具体风险尚不清楚。

迄今为止, 在沙坦类药物中能检测到的叠氮杂质的含量, 能引发的风险非常低。然而, 对于药物来说, 这种风险被认为是不可接受的。这些杂质对健康的实际风险取决于药物的剂量, 并且因人而异。因此, 有必要开发一种高灵敏度和可靠的分析方法检测氯沙坦原料药中的叠氮杂质。考虑到癌症的风险以及这些杂质与氯沙坦原料药结构相似性等挑战, 必须建立一种灵敏、可靠和准确的方法来测定氯沙坦药物中的叠氮杂质。

本应用说明描述了一种直接定量氯沙坦原料药中叠氮杂质的 LC-MS/MS 方法。

## 实验

四种叠氮杂质, 即 5-[4'-(叠氮甲基)[1,1'-联苯]-2-基]2H-四唑 (AZBT), 5-(4'-(5-(叠氮甲基)-2-丁基-4-氯-1H-咪唑-1-基)甲基)-[1,1'-联苯]-2-基)-1H-四唑 (AZLS), 4'-(叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2-基-甲腈 (AZBC) 和 5-(叠氮基甲基)-2-丁基-4-氯-1H-咪唑 (AZIM), 其结构如图 1 所示, 分别进行了前体离子选择和 MRM 优化等步骤。使用超高效液相色谱 (UHPLC) Nexera™ XS 与 LCMS-8045 (日本岛津制作所的重重四极杆质谱仪) 获得最佳 MRM 及其 CE 的 LC-MS/MS 方法 (图 2)。表 1 显示了用于进一步分析的优化的 MRM 参数。

LCMS-8045 为三重四极杆技术树立了新标杆, 它具有出色的灵敏度 (UFsensitivity™)、30,000 u/秒的超快扫描速度 (UFscanning™) 和 5 毫秒的极性切换速度 (UFswitching™)。该系统可确保最高质量的数据, 具有非常高的可靠性。



图 2 带 LCMS-8045 系统的 Nexera™ XS

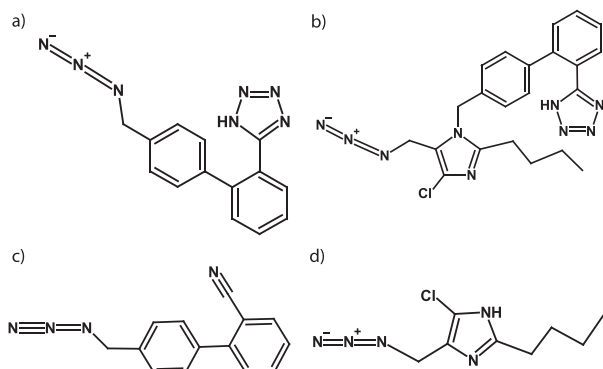


图 1 a) AZBT、b) AZLS、c) AZBC 以及 d) AZIM 的结构

## 叠氮化合物杂质的校准曲线

使用水: 甲醇 = 10:90 (v/v) 配制叠氮杂质的五点校正曲线点, 并使用表 2 中的分析条件进行分析。采用切换阀将氯沙坦峰切至废液中, 保护 LCMS 免受污染。氯沙坦原料药的代表性 UV 色谱图以及与之重叠的叠氮杂质的 LCMS 色谱图, 如图 3 所示。

表 1 叠氮杂质的 MRM 参数

叠氮杂质	MRM
AZBT	278>235
AZLS	448>405
AZBC	252>207
AZIM	214>171

表 2 分析条件

HPLC 系统:	Nexera™ XS
色谱柱:	Shim-pack™ Scepter Phenyl-120 (150 mm × 4.6 mm, 3μ) (P/N: 227-31067-05)
柱温箱:	45°C
流动相:	A - 10 mM 甲酸铵水溶液; B - 甲醇
流速:	0.4 mL/min
梯度程序 (%B 浓度):	0-8 min: 60% B; 8-9 min: 60% B 到 95% B; 9-17 min: 95% B; 17-17.1 min: 95% B 到 60% B; 18 min: 结束。
进样量:	5 μL
检测器:	LCMS-8045
离子源:	ESI
接口电压:	4.5 kV
柱温:	接口: 350°C 去溶剂化线: 250°C 加热模块: 300°C
气流量:	雾化气: 3 L/min 干燥气: 5 L/min 加热气体 10 L/min

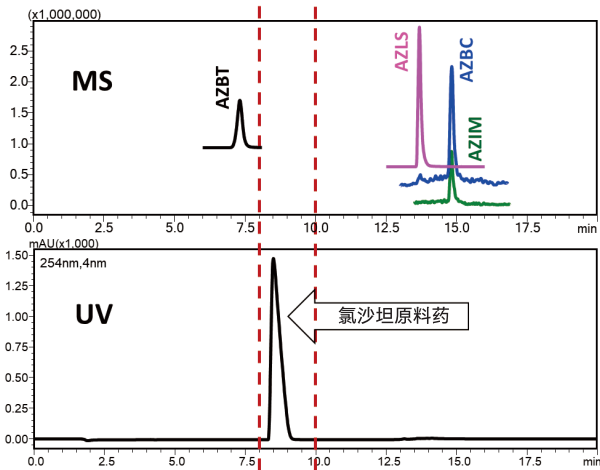


图 3 氯沙坦原料药的 UV 色谱图以及叠氮杂质的 MRM 色谱图的叠加图

图 4、5、6 和 7 分别展示了 AZBT、AZLS、AZBC 和 AZIM 杂质的校正曲线、线性标准品和 LOQ 溶液的叠加色谱图。叠氮杂质的校正曲线范围为 1 至 16.0 ppb，即相对于 1.5 mg/mL 的样品浓度，为 0.667 ppm 至 10.667 ppm。

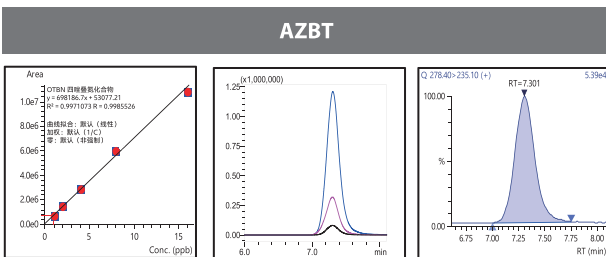


图 4 AZBT 的校正曲线、线性标准品和 LOQ 溶液的叠加色谱图

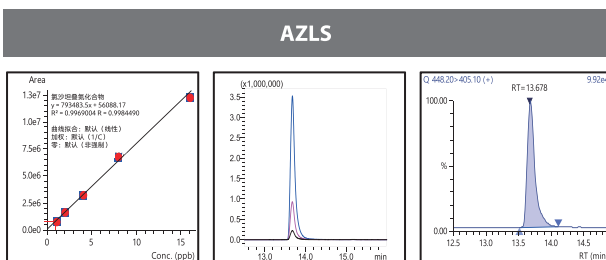


图 5 AZLS 的校正曲线、线性标准品以及 LOQ 溶液的叠加色谱图

AZBC

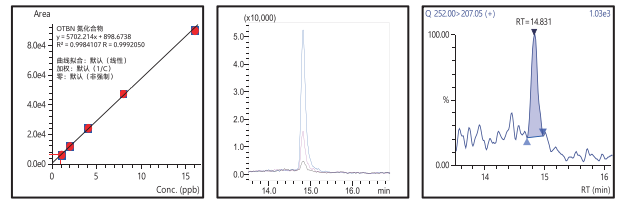


图 6 AZBC 的校正曲线、线性标准品和 LOQ 溶液的叠加色谱图

AZIM

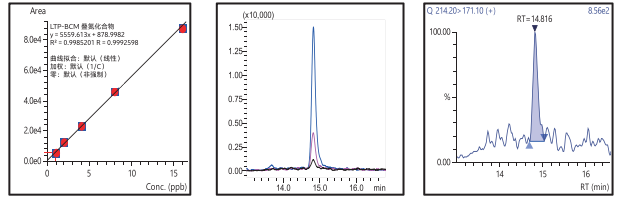


图 7 AZIM 的校正曲线、线性标准品和 LOQ 溶液的叠加色谱图

以浓度为 0.667 ppm (即样品浓度为 1.5 mg/mL) 叠氮杂质标准样品以及对应的 S/N，来计算叠氮杂质的 LOQ。LOQ 的信噪比、回归系数 RSD% 如表 3 所示。

表 3 线性和 LOQ 结果汇总

叠氮杂质	R <sup>2</sup>	LOQ		
		浓度 * (ppm)	%RSD (n=6)	S/N
AZBT	0.997	0.667	0.50	1098
AZLS	0.996	0.667	0.79	516
AZBC	0.998	0.667	9.29	10
AZIM	0.998	0.667	5.01	10

\* 相对于 1.5 mg/mL 的样品浓度。

■ 样品分析

1. 称量 7.5 mg 氯沙坦钾原料药至两个不同的 5 mL 标准容量瓶中。
2. 向一个容量瓶中加入 2.5 mL 稀释液 (空白样品)，向另一个容量瓶中加入 2.5 mL 稀释液，并加入叠氮杂质标准品 (回收率样品)。
3. 超声处理样品直至溶解，并定容至 5 mL。
4. 使用 0.45 μm 尼龙注射器过滤器过滤溶液，并使用 LC-MS/MS 分析样品。

■ 结果

样品分析结果见表 4。氯沙坦钾原料药中 AZLS 的含量超过 400 ppm，因此未考虑 AZLS 杂质的回收率研究。回收率分析结果见表 5。

表 4 样品分析汇总

叠氮杂质	原料药中的杂质量 (ppm) *
AZBT	3.55
AZLS	409.69
AZBC	BLOQ
AZIM	BLOQ

\* 相对于 1.5 mg/mL 的样品浓度。

表 5 LOQ 下的回收率 (%)

叠氮杂质	样品中的 杂质质量 (ppm)	加标杂质质量 (ppm)	加标样品中 的杂质质量 (ppm)	回收率 %
AZBT	3.55	0.667	4.32	115
AZBC	BLOQ	0.667	0.85	127
AZIM	BLOQ	0.667	0.54	81

## ■ 结论

- 使用岛津 LCMS-8045 三重四级杆液质联用系统，成功开发了氯沙坦原料药中四种叠氮杂质的 LC-MS/MS 定量方法。
- 对四种叠氮杂质进行了五个水平的线性分析，回归系数大于 0.99。
- 发现 LOQ 水平下的重复性 (n=6) 小于 10%RSD。
- 氯沙坦钾原料药中 AZBT 的含量为 3.55 ppm，AZLS 的含量为 409.69 ppm。
- 进行了回收率分析，其结果符合 70% 到 130% 的可接受标准。

岛津应用云



Nexera、Shim-pack、UFsensitivity、UFscanning 和 UFswitching 是岛津制作所在日本和 / 或其他国家 / 地区的商标。  
BLOQ = 低于定量下限



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：2023 年 09 月