

# 厄贝沙坦制剂中叠氮类基因毒性杂质5-[(4'-叠氮甲基)[1,1'-联苯]-2-基]-2H-四氮唑(MB-X)的定量分析检测

## The Quantitation of Azide Genotoxic Impurity MB-X in Irbesartan Drugs by SCIEX Triple Quad™ 4500 System

史晓媛, 龙志敏, 郭立海

Xiaoyuan Shi, Zhimin Long, Lihai Guo

SCIEX 应用支持中心, 中国

**Key Words:** SCIEX Triple Quad™ 4500 System; MB-X; Irbesartan

### 引言

2021年4月29日, EDQM (欧洲药品质量管理局) 宣布叠氮杂质是一种新的致突变物质。叠氮类化合物是医药行业中常用的化工原料, 在抗高血压药物厄贝沙坦的合成中, 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。由于该类化合物能够抑制细胞色素氧化酶以及多种酶的活性, 并导致磷酸化及细胞呼吸的异常, 引起血管张力极度降低; 损害生物细胞, 阻碍生物的新陈代谢; 在较低浓度水平时也可能直接引起DNA损伤, 导致DNA的诱变, 从而引发癌症, 因此在药物生产过程中, 必须严格控制药物和医药中间体中叠氮化物的含量。

监管机构 (包括欧洲药品管理局 (EMA)、美国FDA 和国际协调会议 (ICH M7) 发布了关于药物成分中基因毒性杂质允许限值的指导原则, 以确保药品的安全。指导原则要求药物或药品中的所有潜在基因毒性杂质 (GTIs) 均必须低于每日1.5 µg 的毒理学关注阈值 (TTC, Threshold of Toxicological Concern), 即相当于每天摄入1.5 µg的基因毒性杂质。某品牌厄贝沙坦片每日最大剂量为300 mg, 那么药物中所含有的基因毒性杂质的分析结果都必须小于TTC水平, 即1.5 µg/day/0.3 g=5 µg/g。本文使用LC-MS/MS 测试5-[(4'-叠氮甲基)[1,1'-联苯]-2-基]-2H-四氮唑杂质 (MB-X) 的含量, 方法完全满足EMA和FDA灵敏度要求。本方法定量下限可低至0.1 ng/mL (相当于3.0 mg/mL 样品中MB-X杂质的含量为0.03 µg/g, 远低于TTC水平), 仪器的灵敏度高, 重现性好。

### 仪器设备:

SCIEX ExionLC™ AC系统和SCIEX Triple Quad™ 4500系统



图1. ExionLC™ AC系统和SCIEX Triple Quad™ 4500系统

### 液相条件

液相系统: SCIEX ExionLC™ AC系统

色谱柱: Phenomenex Kinetex F5 (100×3.0 mm, 2.6 µm)

流动相: A: 含0.1%甲酸的水; B: 乙腈

流速: 0.4 mL/min

柱温: 40 °C

液相梯度:

时间(min)	A(%)	B(%)
0	60	40
5.5	60	40
6	5	95
11	5	95
11.01	60	40
15	60	40

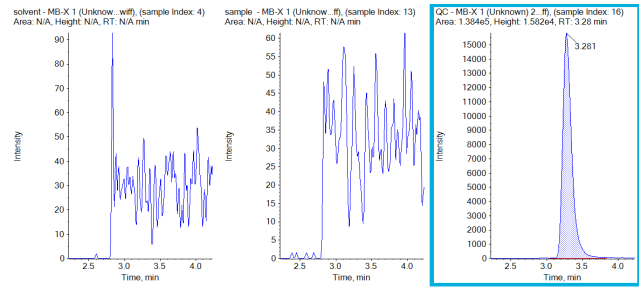


图2. 空白溶剂、实际样品和5 ng/ml加标样品中叠氮杂质的提取离子流图

### 质谱条件

离子源: ESI, 负离子模式

扫描方式: MRM多反应监测

气帘气CUR: 30psi      喷雾电压IS: -4500V

源温度 Tem: 600°C      雾化气Gas1: 60psi

辅助气GAS2: 55psi      碰撞气 CAD: Medium

MRM参数: 如表1

表1. 5-[(4'-(叠氮甲基)[1,1'-联苯]-2-基]-2H-四氮唑的质谱参数

化合物名称 (Name)	Q1	Q3	DP	CE
MB-X 1*	276.1	192.0	-57	-15
MB-X 2	276.1	248.0	-57	-23
MB-X 3	276.1	165.0	-57	-15

## 实验结果

### 1. 特异性

称取适量的某品牌厄贝沙坦氢氯噻嗪片 (约相当于厄贝沙坦 150 mg), 溶解并稀释至50 mL, 过滤做为实际样品溶液; 加入标准工作溶液至样品溶液中, 配制成浓度为5.0 ng/mL的加标样品。进样分析后, 在待测物保留时间处无干扰。实际样品中5-[(4'-(叠氮甲基)[1,1'-联苯]-2-基]-2H-四氮唑杂质未检出; 空白溶剂中未检出。空白溶剂、加标样品和实际样品提取离子流图见图2。

### 2. 线性范围

用80%乙腈溶液逐级稀释MB-X标准工作溶液至0.1 ng/mL, 0.3 ng/mL, 1 ng/mL, 3 ng/mL, 7.5ng/mL, 15ng/mL, 30 ng/mL以峰面积对浓度做标准曲线。图3为MB-X线性范围、线性方程和相关系数。

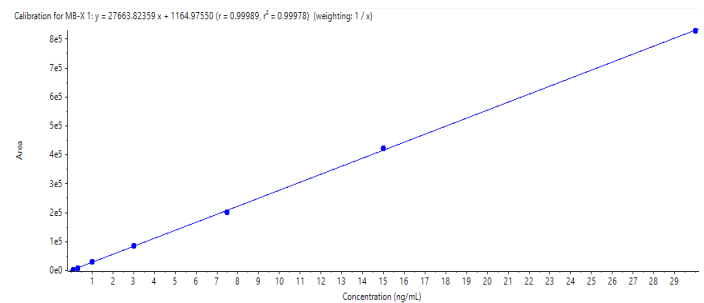


图3. MB-X标准曲线, 线性回归系数  $r = 0.9998$

### 3. 加标回收率和重现性

取样品加标溶液 (加标溶液平行制备六份, 浓度分别1 ng/mL和5ng/mL), 进样分析。测定结果如表2。MB-X的两个不同浓度样品的回收率在97.00%-98.75%, 平行样品的RSD%在0.94%-1.28%, 回收率和RSD%均满足测试要求。MB-X最低定量限为0.1ng/mL, 色谱图见图4; 最低定量限样品连续进样6针, RSD为2.46%, 重现性良好。

表2. 回收率测试结果

	1ng/mL	5ng/mL
Recovery(%)	97.00	98.75
RSD(%)	0.94	1.28

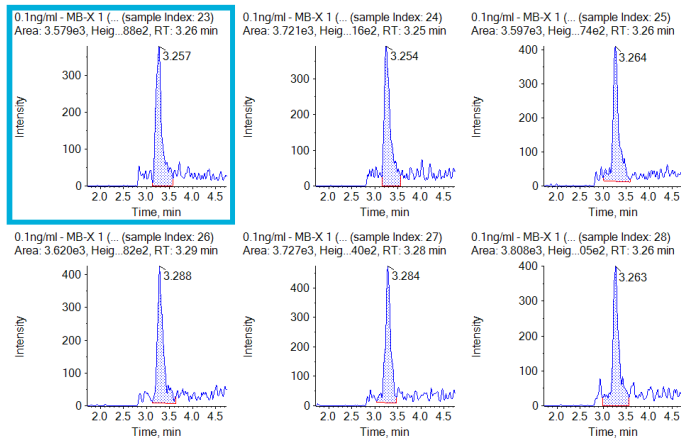


图4. LLOQ浓度下重现性色谱图展示

## 总结

本文使用SCIEX Triple Quad™ 4500 建立了LC-MS/MS 方法测定厄贝沙坦药物中5-[(4'-(叠氮甲基)[1,1'-联苯]-2-基)-2H-四氮唑杂质的含量。结果表明, 该方法的特异性好, 无干扰; 5-[(4'-(叠氮甲基)[1,1'-联苯]-2-基)-2H-四氮唑杂质的线性范围为0.1 ng/mL-30 ng/mL, 在线性范围内线性关系良好, 相关系数大于0.999。其最低点浓度分别相当于原料药中(3.0 mg/mL)的含量为0.03 µg/g, 远低于TTC水平, 说明灵敏度较高; 不同浓度加标回收率以及定量下限重现性良好

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息, 请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标, 也包括相关的标识、标志的所有权, 归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-14613-ZH-A



### SCIEX中国

北京分公司  
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话: 010-5808-1388  
传真: 010-5808-1390  
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心  
上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话: 021-2419-7200  
传真: 021-2419-7333  
官网: [sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州分公司  
广州市天河区珠江江西路15号  
珠江城1907室  
电话: 020-8510-0200  
传真: 020-3876-0835  
官方微信: SCIEX-China