

# SCIEX Triple Quad™ 4500系统检测沙坦类药物中5-(4'-叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2yl-1H-四唑杂质

## Rapid Determination of 5-(4'-(azidomethyl)-[1,1'-biphenyl]-2yl)-1H-tetrazole Impurity in Sartan 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;  
5-(4'-(azidomethyl)-[1,1'-biphenyl]-2yl)-1H-tetrazole; Sartan drugs

### 引言

基因毒性杂质 (GTIs, Genotoxic Impurities) 是指化合物本身直接或间接损伤细胞DNA, 产生基因突变或体内诱变, 具有致癌可能或者倾向。此前关注最多的基因毒杂质是亚硝胺类 (N-亚硝基二甲胺以及N-亚硝基二乙胺等), 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。2021年6月, 加拿大卫生当局发布消息, 赛诺菲-安万特加拿大公司因叠氮杂质而召回 12 批厄贝沙坦药物。叠氮类化合物是医药行业中常用的化工原料, 例如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, 叠氮化物应根据人用药物注册技术要求国际协调会 (ICH)-M7指导原则作为致遗传突变杂质进行控制, 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。某品牌缙沙坦胶囊每日最大剂量为80 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/0.08 g=18.75 µg/g (0.001875%)。本文使用LC-MS/MS 测试5-(4'-叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2yl-1H-四唑杂质的含量, 方法完全满足EMA和FDA灵敏度要求。本方法定量下限可低至0.05 ng/mL (相当于2.0 mg/mL 样品中叠氮杂质的含量为0.025 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™ AD系统和SCIEX Triple Quad™ 4500系统



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

## 液相条件

液相系统：SCIEX ExionLC™ AD系统

色谱柱：Phenomenex Kinetex F5 (100 × 2.1 mm, 2.6 μm)

流动相：A: 含0.1%甲酸的水; B: 甲醇

流速：0.3 mL/min

柱温：40 °C

液相梯度：

时间(min)	A(%)	B(%)
0	60	40
6.5	5	95
8.0	5	95
8.1	60	40
10.0	60	40

## 质谱条件

离子源：ESI，正离子模式

扫描方式：MRM多反应监测

气帘气CUR：30psi 喷雾电压IS：5000V

源温度 Tem：450°C 雾化气Gas1：55psi

辅助气GAS2：45psi 碰撞气CAD：8

MRM参数：如表1

表1. 5-(4'-(叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2yl-1H-四唑)杂质的质谱参数

化合物名称 (Name)	Q1	Q3	DP	CE
5-(4'-(叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2yl-1H-四唑 (Azide 1))	278.1	235.0	60	12
5-(4'-(叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2yl-1H-四唑 (Azide 2))	278.1	207.1	60	21

## 实验结果

### 1. 特异性

取缙沙坦标品配制成2.0 mg/mL溶液，加入标准工作溶液至缙沙坦样品溶液中，配制成浓度为0.5 ng/mL的加标样品；称量一定量的某品牌缙沙坦药品，溶解并稀释至2.0 mg/mL，做为实际样

品溶液。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]-2yl-1H-四唑)杂质均未检出；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见图2。

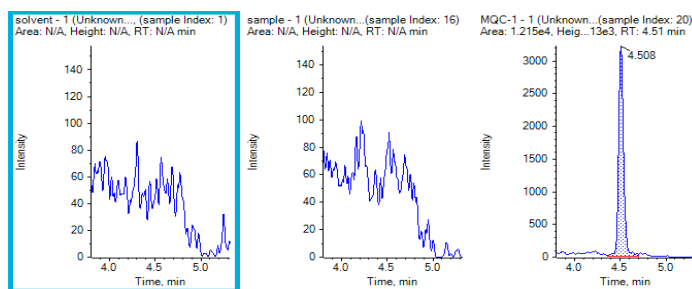


图2. 空白溶剂、实际样品和0.5 ng/ml加标样品中叠氮杂质的提取离子流图

### 2. 线性范围

用甲醇逐级稀释5-(4'-(叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2yl-1H-四唑)标准工作溶液至0.05 ng/mL, 0.1 ng/mL, 0.5 ng/mL, 1 ng/mL, 5 ng/mL, 10ng/mL, 50ng/mL, 100 ng/mL以峰面积对浓度做标准曲线。图3为5-(4'-(叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2yl-1H-四唑)线性范围、线性方程和相关系数。

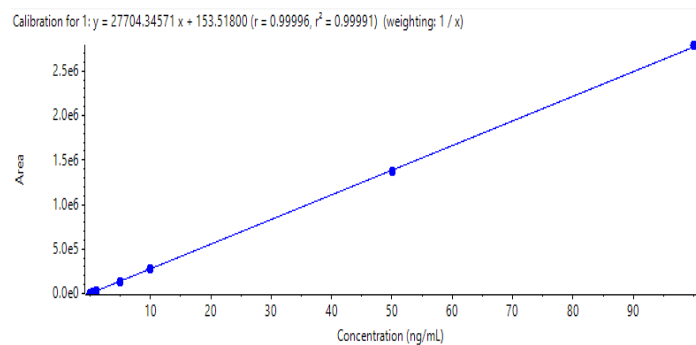


图3. 5-(4'-(叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2yl-1H-四唑)标准曲线，线性回归系数 r=0.99996

### 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0.2 ng/mL, 0.5 ng/mL 和2.5ng/mL），进样分析。测定结果如表2。5-(4'-(叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2yl-1H-四唑)的三个不同浓度样品的回收率在85.72-89.06%，平行样品的RSD%在0.88-4.95%，回收率和RSD%均满足测试要求。5-(4'-(叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2yl-1H-四唑)最低定量限为0.05ng/mL，色谱图见图4；最低定量限样品连续进样6针，RSD为2.11%，重现性良好。

表2. 回收率测试结果

	0.02ng/mL	0.05ng/mL	2.5ng/mL
Recovery(%)	88.58	85.72	89.06
RSD(%)	4.95	0.88	2.05

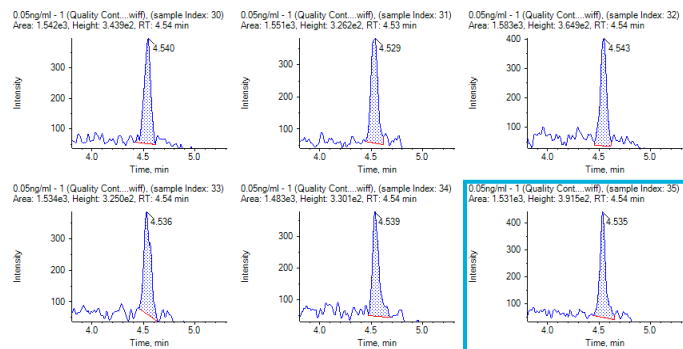


图4. LLOQ浓度下重现性色谱图展示

## 总结

本文使用SCIEX Triple Quad™ 4500 建立了LC-MS/MS 方法测定药物中沙坦类药物中5-(4'-(叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2yl)-1H-四唑杂质的含量。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]-2yl)-1H-四唑杂质的线性范围为0.05 ng/mL-100 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(2.0 mg/mL)的含量为0.025 μg/g, 均低于TTC水平, 说明灵敏度较高; 低、中、高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. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-14037-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