

SCIEX LC-MS/MS系统检测厄贝沙坦药物中4'-(叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2-氰基杂质 (AZBC)

Rapid Determination of (4'-(azidomethyl)-[1,1'-biphenyl]-2-cyanoyl Impurity (AZBC) in irbesartan by SCIEX LC-MS/MS System

周超, 史晓媛, 龙志敏

Chao Zhou, Xiaoyuan Shi, Zhimin Long

SCIEX 应用支持中心, 中国

Keywords: Sciex LC-MS/MS; 4'-(azidomethyl)-[1,1'-biphenyl]-2-cyanoyl Impurity; Sartan drugs

引言

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; 抗癌药卡莫氟的制备中需要以叠氮化钠和庚酰氯合成中间体异氰酸乙酯。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会直接引起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。本文以某品牌厄贝沙坦氢氯噻嗪片为测试原料, 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毒理学关注阈值 (TTC) 水平, 即 $1.5 \mu\text{g}/\text{day}/0.300 \text{ g}=5.0 \mu\text{g}/\text{g}$ (0.000500%)。本文使用LC-MS/MS测试4'-(叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2-氰基杂质的含量, 方法定量下限可低至 $0.0125 \text{ ng}/\text{mL}$ (相当于 $0.5 \text{ mg}/\text{mL}$ 样品中叠氮杂质的含量为 $0.025 \mu\text{g}/\text{g}$, 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 MS/MS系统



图1. ExionLC™ AD系统和SCIEX MS/MS系统

液相条件

液相系统: SCIEX ExionLC™ AD系统

色谱柱: ACE 3 C18 (150×4.6 mm, 3 μm)

流动相: A: 0.01mol/L乙酸铵水溶液-乙腈 (90:10); B: 乙腈

流速: 0.5 mL/min

柱温: 40 °C

液相梯度:

时间(min)	A(%)	B(%)
0	80	20
6.0	10	90
11.0	10	95
11.01	80	20
16.0	80	20

质谱条件

离子源：APCI，正离子模式

扫描方式：MRM多反应监测

气帘气CUR：30 psi

电晕针电流NC：4.0 μ A

源温度 Tem：550 $^{\circ}$ C

雾化气Gas1：40 psi

碰撞气 CAD：Medium

MRM参数：如表1

表1. 4'- (叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2-氨基杂质的质谱参数

化合物名称 (Name)	Q1	Q3	DP	CE
4'- (叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2-氨基 (AZBC 1)	207.1	180.0	50	31
4'- (叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2-氨基 (AZBC 2)	207.1	77.0	50	46

实验结果

1. 特异性

取4'- (叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2-氨基对照品适量配制250 ng/mL溶液，加入标准工作溶液至厄贝沙坦样品溶液中，配制成浓度为2.5 ng/mL的加标样品；称量一定量的某品牌厄贝沙坦氢氯噻嗪片药品，溶解并稀释至相当于厄贝沙坦浓度为0.5 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4'- (叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2-氨基杂质均未检出；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图见图2。

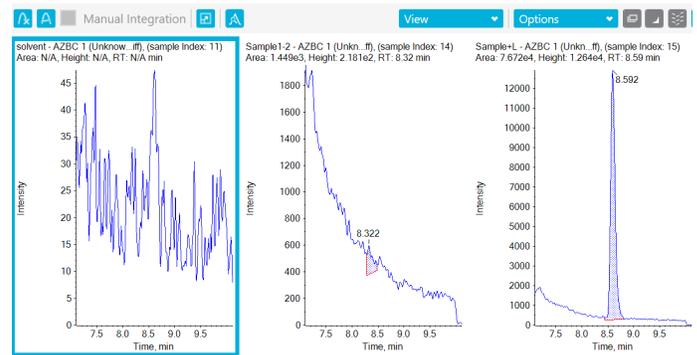


图2. 空白溶剂、实际样品和2.5 ng/ml加标样品中叠氮杂质的提取离子流图

2. 线性范围

用80%乙腈水逐级稀释4'- (叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2-氨基标准工作溶液至0.0125 ng/mL, 0.025 ng/mL, 0.125 ng/mL, 0.25 ng/mL, 1.25 ng/mL, 2.5 ng/mL, 5 ng/mL, 12.5 ng/mL, 25 ng/mL以峰面积对浓度做标准曲线。图3为4'- (叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2-氨基线性范围、线性方程和相关系数。

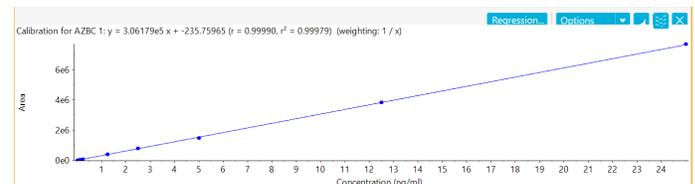


图3. 4'- (叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2-氨基标准曲线，线性回归系数 $r=0.99990$

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0.25 ng/mL和2.5 ng/mL），进样分析。测定结果如表2。4'- (叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2-氨基的两个不同浓度样品的回收率在94.45-106.69%，平行样品的RSD%在1.21-2.04%，回收率和RSD%均满足测试要求。4'- (叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2-氨基最低定量限为0.0125 ng/mL，色谱图见图4；最低定量限样品连续进样6针，RSD为3.92%，重现性良好。

表2. 回收率测试结果

	0.25 ng/mL	2.5 ng/mL
Recovery(%)	102.66	97.31
RSD(%)	2.04	1.21

总结

本文使用SCIEX LC-MS/MS系统建立了测定厄贝沙坦药物中4'-(叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2-氰基杂质的含量的方法。结果表明,该方法的特异性好,无干扰;4'-(叠氮甲基)-[1,1'-联苯]-2-氰基杂质的线性范围为0.0125 ng/mL-25 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(0.5mg/mL)的含量为0.025 μg/g,均低于TTC水平,说明灵敏度较高;低、高浓度加标回收率以及定量下限重现性良好。

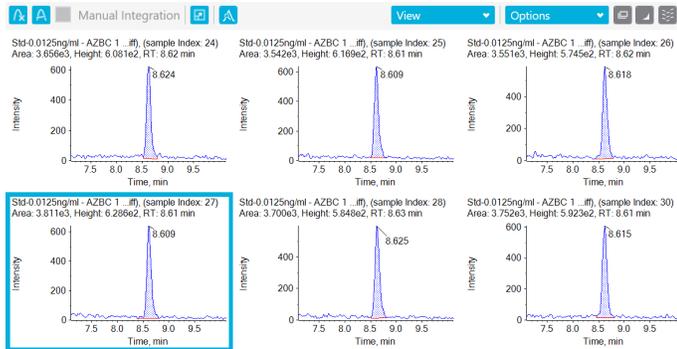


图4. LLOQ浓度下重现性色谱图展示

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。

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-14658-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

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](https://www.sciex.com.cn)