

采用SCIEX Triple Quad™ 3500质谱系统检测氯沙坦钾药物中的叠氮类杂质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

Determination of 5-[4'-[(5-(azidomethyl)-2-butyl-4chloro-1H-imidazol-1-yl)methyl]-[1,1'-biphenyl]2-yl) -1H-Tetrazole Genotoxic Impurities in Losartan Potassium drugs on SCIEX Triple Quad™ 3500

满卓, 司丹丹, 龙志敏, 郭立海

Zhuo Man, Dandan Si, Zhimin Long, Lihai Guo

SCIEX 应用支持中心, 中国

Keywords: SCIEX Triple Quad™ 3500; Losartan Potassium; Genotoxic Impurities

前言

基因毒性杂质是指能直接或间接损伤细胞DNA, 产生致突变和致癌作用的物质。具有警示结构但尚未经实验证实具有遗传毒性的杂质也包含其中。叠氮类化合物是医药行业中常用的化工原料, 例如沙坦类药物在合成中, 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。由于该类化合物会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, 为了保证药品的安全和质量可控, 有必要对化学药品中叠氮类杂质进行严格的检测和控制。

氯沙坦钾是全球第一个上市的非肽类血管紧张素 II 受体抑制剂, 已广泛用于临床治疗原发性高血压。叠氮化物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, 结构式请见图1) 是氯沙坦钾药物中具有警示结构的基因毒杂质, 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。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。某品牌氯沙坦钾每日最大剂量

为100 mg, 那么药物中所含有的基因毒性杂质的含量都必须小于TTC水平, 即1.5 µg/day/0.1 g=15 µg/g。

本文使用SCIEX Triple Quad™ 3500建立了氯沙坦钾药物中的基因毒性杂质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) 的定量方法。为改进氯沙坦钾生产工艺, 有效控制或避免产品中存在基因毒性杂质的严重风险, 提高产品质量, 实现产品安全可控。该方法具有以下特点:

1. 仪器的灵敏度高, 方法定量下限可低至0.2 ng/mL (相当于7.0 mg/mL 样品中叠氮杂质的含量为0.028 µg/g, 远低于TTC水平), 完全满足基因毒性杂质限度低的要求。
2. 仪器和方法的重现性好, 最低定量下限 (LLOQ) 的RSD为2.56%。
3. 仪器和方法的特异性好, 加标回收率合格, 定量准确度高。

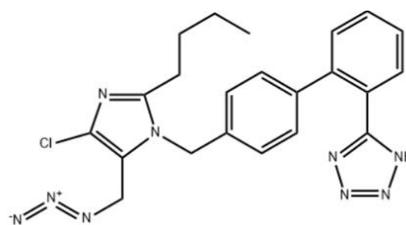


图1. AZLS杂质结构式

仪器设备

SCIEX ExionLC™ 2.0超高效液相系统联用SCIEX Triple Quad™ 3500三重四极杆复合质谱系统



图2. ExionLC™ 2.0系统和SCIEX Triple Quad™ 3500系统

色谱方法:

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

流动相: A: 水+0.1%甲酸;

B: 乙腈

流速: 0.4 mL/min;

柱温: 40°C;

表1. 洗脱梯度

Time [min]	Flow [mL/min]	B[%]
0.00	0.4	40
3.00	0.4	40
6.00	0.4	95
11.00	0.4	95
11.01	0.4	40
15.00	0.4	40

质谱方法:

离子源: ESI电喷雾电离源

扫描方式: NEG负模式

气帘气CUR: 25psi

喷雾电压IS: -4000v

源温度 Temp: 550°C

雾化气Gas1: 60psi

辅助气GAS2: 35psi

碰撞气 CAD: 7psi

定量分析采集方式设置: MRM多反应监测模式

用于定量的标准品离子对信息请见表2。

表2. MRM质谱离子对参数

Compounds	Q1	Q3	DP	CE
AZLS 1	446.1	183.9	-90	-27
AZLS 2	446.1	334.9	-90	-19

定量结果

1. 线性范围

用80%乙腈逐级稀释AZLS标准工作溶液至0.2 ng/mL, 0.5 ng/mL, 1 ng/mL, 2 ng/mL, 5 ng/mL, 10ng/mL, 20ng/mL, 50ng/mL, 100 ng/mL, 200ng/mL, 以峰面积对浓度做标准曲线。图3为AZLS的线性范围、线性方程和相关系数。

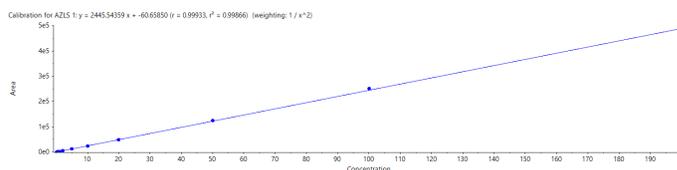


图3. AZLS标准曲线, 线性回归系数 $r^2=0.99866$

2. 特异性

称量一定量的某品牌氯沙坦钾药品, 溶解并稀释至7.0 mg/mL, 作为实际样品溶液; 另取氯沙坦钾药品配制成7.0 mg/mL溶液, 加入标准工作溶液至氯沙坦钾样品溶液中, 配制成浓度为0.5 ng/mL的加标样品。空白溶剂中在待测物保留时间处无干扰; 实际样品中AZLS杂质含量有0.71 ng/mL(相当于7 mg/mL氯沙坦钾药品中AZLS叠氮杂质的含量为0.101 μg/g), 低于TTC水平; 加标回收合格; 空白溶剂、实际样品和加标样品提取离子流图请见图4。

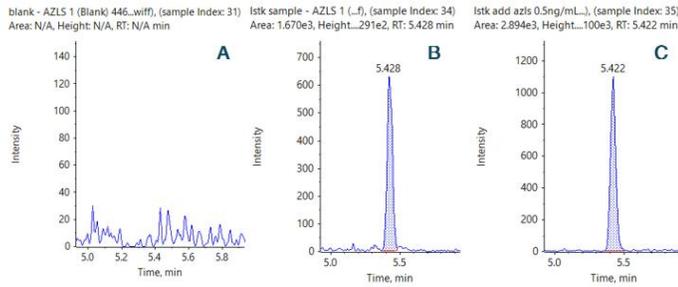


图4. XIC提取离子流图: A.空白溶剂; B.实际样品; C. 0.5 ng/ml加标样品中叠氮杂质

3. LOQ的准确度和重现性:

取样品加标溶液(加标溶液平行制备三份,浓度分别0.5 ng/mL, 5.0 ng/mL和100.0 ng/mL),进样分析。测定结果如表3。AZLS的低、中、高三个不同浓度加标样品的回收率在101.73-115.23%,平行样品的RSD%在0.73-1.70%,回收率和RSD%均满足测试要求。图5为AZLS的LLOQ最低定量限0.2 ng/mL的连续六针进样XIC谱图, RSD为2.56%,重现性良好。

表3. 加标回收率测试结果

	0.5ng/mL	5.0ng/mL	100.0ng/mL
Recovery(%)	101.73	110.15	115.23
RSD(%)	1.70	0.73	1.41

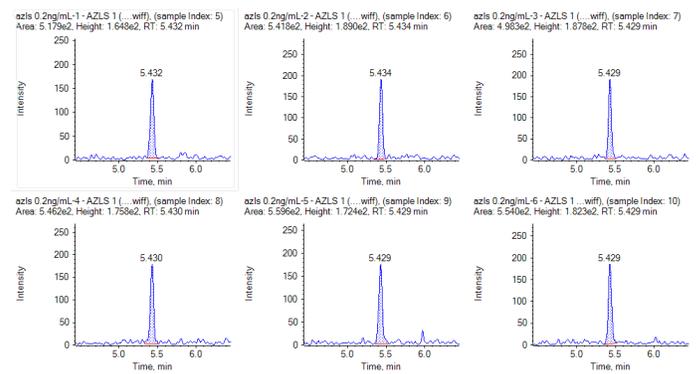


图5. LLOQ浓度的6个XIC提取离子流图

总结

本文使用SCIEX Triple Quad™ 3500建立了LC-MS/MS方法测定氯沙坦钾药物中叠氮杂质AZLS的含量。结果表明,该方法的特异性好,无干扰;AZLS的线性范围为0.2 ng/mL-200 ng/mL,在线性范围内线性关系良好,相关系数大于0.998。其最低点浓度LLOQ分别相当于原料药中(7.0 mg/mL)的含量为0.028 μg/g,远低于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. 或在英国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-14798-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