

# 使用安捷伦 GC/MS/MS 仪器分析成品药和原料药中的五种亚硝胺杂质

## 作者

Soma Dasgupta,  
Lalith Hansoge,  
Vivek Dhyani, Samir Vyas,  
Melissa Churley  
安捷伦科技有限公司

## 摘要

本应用简报重点介绍了一种将 Agilent 7890B 或 8890 GC 与 Agilent 7010B 三重四极杆 GC/MS 系统联用，测定并估算沙坦类成品药和原料药中 5 种痕量亚硝胺杂质 (NDMA、NDEA、NEIPA、NDIPA 和 NDBA) 的全面解决方案。7010B 三重四极杆 GC/MS 配备高效离子源 (HES)，可提供出色的灵敏度、重现性和精密度，性能远超法规限值的要求。该方法可达到的定量限 (LOQs) 仅为当前法规要求的 1/20–1/2。

## 前言

从 2018 年 7 月开始，FDA 宣布召回缬沙坦，因为这种药物中含有 N-亚硝基二甲胺 (NDMA)。对所有制造商的血管紧张素受体阻滞剂 (ARB) 类活性药物成分 (API) 和成品药的后续调查也导致了缬沙坦、厄贝沙坦和氯沙坦被额外召回。已发现这些药品中含有 NDMA 和 N-亚硝基二乙胺 (NDEA)，两者均为已知动物致癌物和疑似人类致癌物。

随后，N-亚硝基异丙胺 (NEIPA)、N-亚硝基二异丙胺 (NDIPA)、N-亚硝基二丁胺 (NDBA) 和 N-亚硝基甲基-4-氨基丁酸 (NMBA) 等其他杂质均被标记为潜在的亚硝胺杂质。迄今为止，1100 多个不同批次的沙坦类药物（缬沙坦、氯沙坦和厄贝沙坦）已被召回，因为其中所含的这些杂质已超过了临时限值。

FDA 检测与研究办公室 (OTR) 发布了这几种杂质的几种分析方法，其中最新方法使用单四极杆 GC/MS 与顶空进样分析 4 种杂质，以及使用三重四极杆 GC/MS/MS 与液体进样分析 5 种杂质。单四极杆 MS 的检测结果常常不准确，且灵敏度较低。相比之下，GC/MS/MS 更容易在这类情形下获得特异性，比 GC/MS 方法更合适。

我们将 7890B 或 8890 GC 与 7010B GC/MS/MS 联用，使用 OTR 方法进行分析，发现两种系统对 5 种杂质均表现出出色的性能。HES 具有更高的电离效率，产生的离子数量增加了 20 倍，可实现可靠的痕量分析。8890 GC 由触摸屏界面而非键盘来控制，可实现诊断测试、系统监测预警和远程访问。

## 实验部分

### 样品前处理

本次分析测试的 APIs 和成品药包括缬沙坦、奥美沙坦、厄贝沙坦和氯沙坦。准确称量 500 mg API，加入 15 mL 一次性玻璃离心管中，并用移液管加入 5 mL 内标溶液（约 50 ng/mL NDMA:C13-d<sub>6</sub> 的二氯甲烷溶液）。某些沙坦类药物（如缬沙坦和奥美沙坦）完全溶于二氯甲烷，而另一些（例如厄贝沙坦）则形成浑浊溶液或不可溶。将这些样品涡旋振荡 1 分钟，然后放入离心机中，以 4000 rpm 的转速离心 2.5 分钟。使用一次性移液器，将约 2 mL 二氯甲烷层通过 0.45 μm 尼龙过滤器过滤，然后转移至 GC 样品瓶中待分析。

### 标样前处理

适当稀释标样储备液，获得以下浓度的校准溶液：100、80、40、20、10、5、2.5 ng/mL，每份溶液均用二氯甲烷配制，其中含 NDMA:C13-d<sub>6</sub> 作为内标。

### 仪器

使用配备 Agilent 7693A 自动液体进样器的 Agilent 7890B 或 8890 GC 与 Agilent 7010B 三重四极杆 GC/MS 的联用系统进行分析。气相色谱仪配置 7697A 顶空进样器，连接到多模式进样口 (MMI)。从进样口端，将一根尺寸为 30 m × 0.25 mm，1.0 μm 的 Agilent J&W VF-WAXms 毛细管气相色谱柱连接到 MS。

表 1 和表 2 显示了 GC 和 MS 参数。

表 1. 气相色谱参数

参数	值
MMI 进样模式	脉冲不分流：12.285 psi 持续 0.5 min
进样口温度	250 °C
柱温箱升温程序	40 °C (0.5 min) 以 20 °C/min 升至 200 °C (0 min) 以 60 °C/min 升至 250 °C (3 min)
总运行时间	12.33 min
MS 传输线温度	250 °C
进样量	2 μL
载气	氦气，1 mL/min

## MS 采集方法

使用 OTR 方法中的 MRM 采集数据。

## 结果与讨论

化合物间达到了足够的分离度，目标峰与溶剂和基质峰也充分分离。所有 5 种化合物的保留时间均与 FDA 法规中所提供的数据保持一致（图 1 和图 2）。

使用线性拟合绘制校准曲线。FDA 要求相关系数 ( $R^2$ )  $\geq 0.998$ 。本研究的所有 5 种杂质均获得了出色的线性， $R^2 > 0.999$ ，如图 3A (7890B GC) 和图 3B (8890 GC) 所示。

表 2. 质谱参数

参数	值	
模式	电子电离, 40 eV	
离子源温度	250 °C	
四极杆温度	Q1 和 Q2 = 150 °C	
<b>MRM 模式条件</b>		
MS1 分辨率	所有化合物 Unit	
MS2 分辨率	所有化合物 Unit	
碰撞气体流速	氮气, 1.5 mL/min	
淬灭气体流速	氮气, 4 mL/min	
检测器增益	1	
定量/定性离子对 (FDA 方法)	开始时间: 6.5 min	NDMA 74 → 44, CE 15 V, 驻留 150 ms 74 → 42, CE 20 V, 驻留 50 ms NDMA:C13-d <sub>6</sub> 82 → 48, CE 20 V, 驻留 100 ms
	开始时间: 7.60 min	NDEA 102 → 85, CE 10 V, 驻留 150 ms 102 → 56, CE 18 V, 驻留 150 ms
	开始时间: 8.03 min	NEIPA 116 → 99, CE 10 V, 驻留 150 ms 71 → 56, CE 10 V, 驻留 150 ms
	开始时间: 8.25 min	NDIPA 130 → 88, CE 10 V, 驻留 150 ms 130 → 42, CE 10 V, 驻留 150 ms
	开始时间: 8.70 min	NDBA 158 → 99, CE 10 V, 驻留 150 ms 84 → 56, CE 22 V, 驻留 150 ms

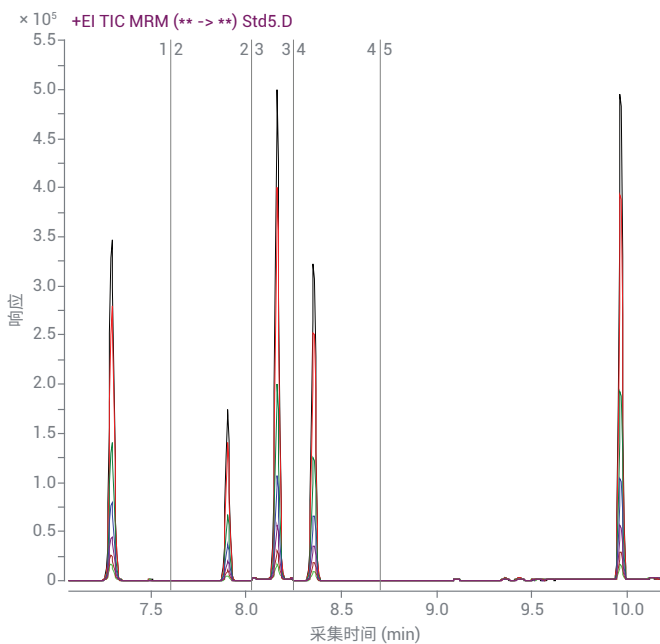


图 1. 二氯甲烷中 5 种杂质在 7 个校准浓度下的 MRM TIC 叠加色谱图 (Agilent 8890 GC)

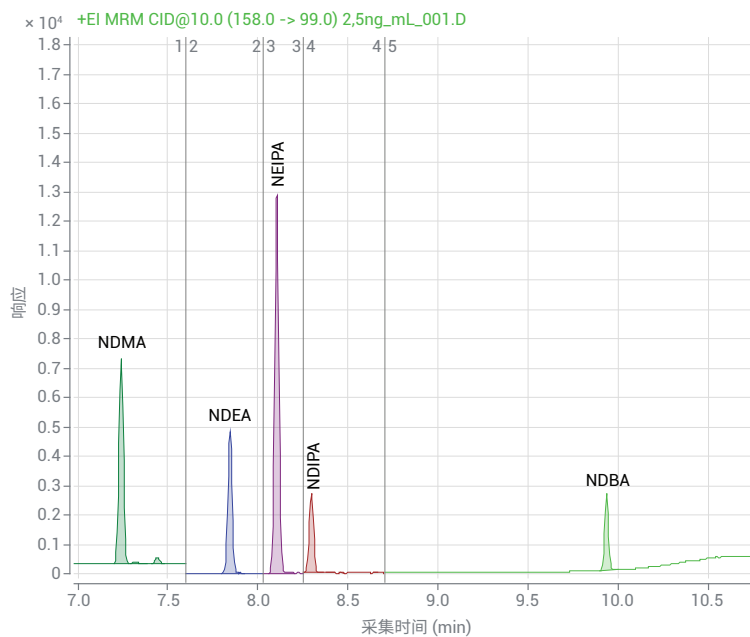


图 2. 5 种杂质的二氯甲烷混合溶液中最低浓度校准标样 (2.5 ng/mL) 的提取 MRM 色谱图 (定量离子对) (Agilent 7890B GC)

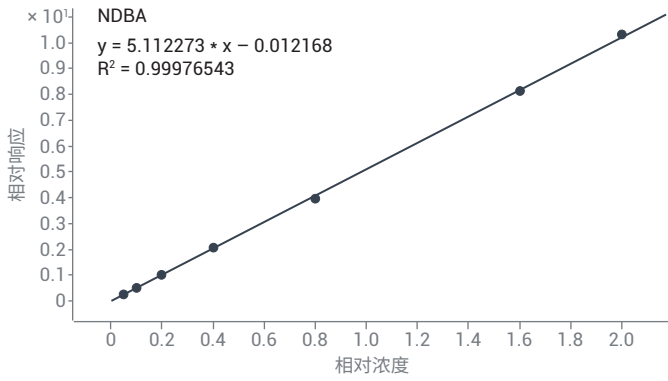
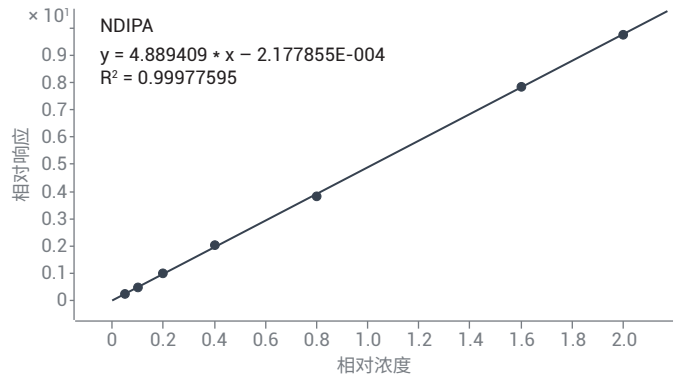
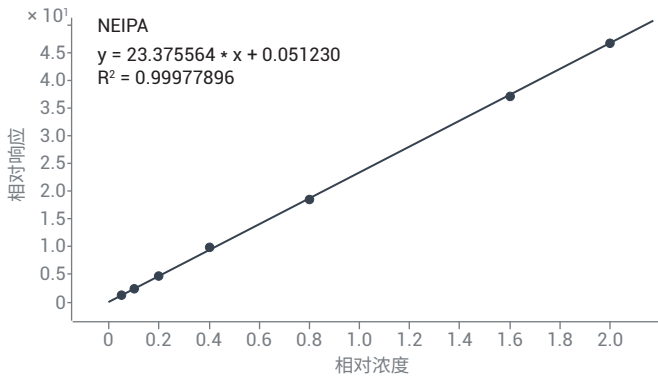
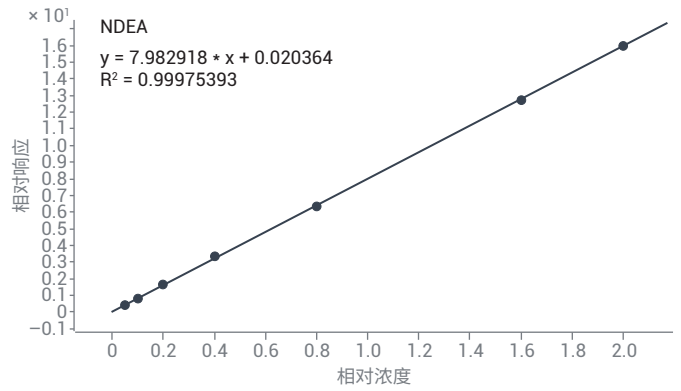
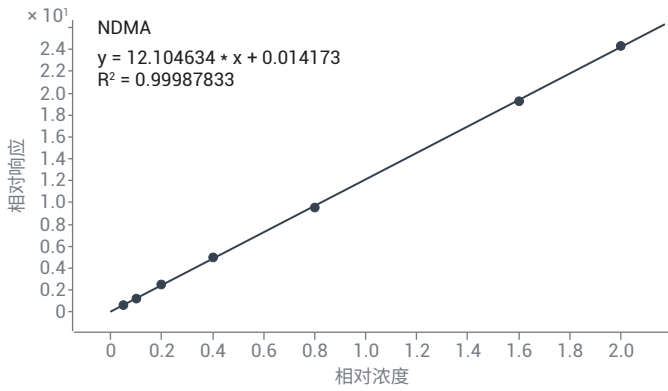


图 3A. 使用 Agilent 7890B GC 获得的 5 种亚硝酸杂质的校准曲线

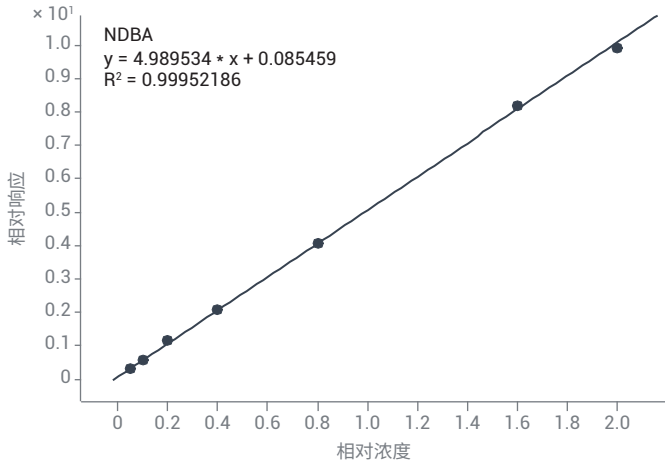
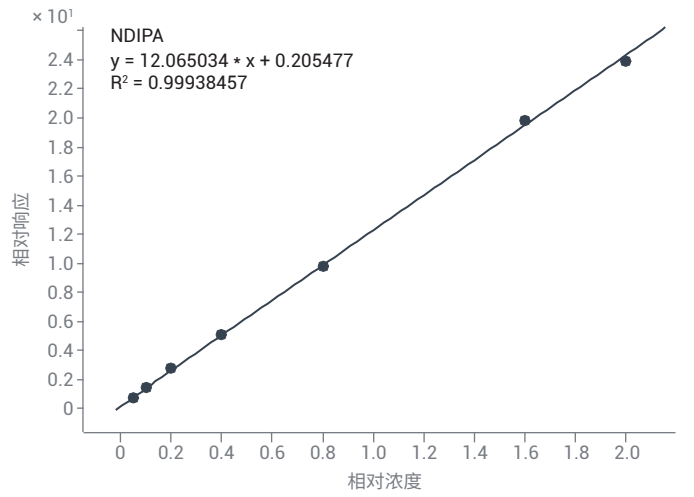
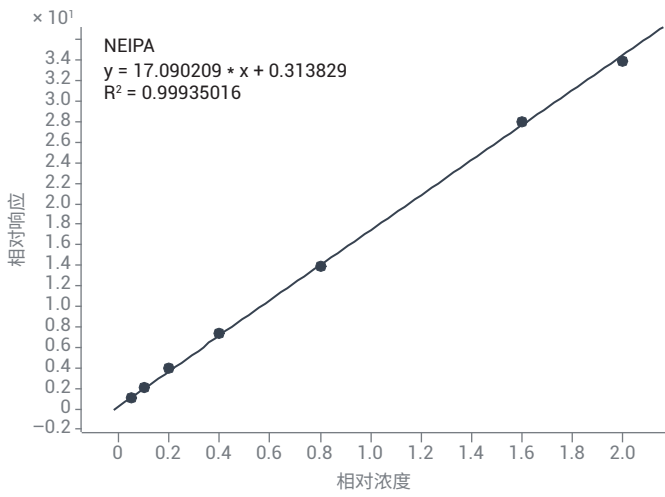
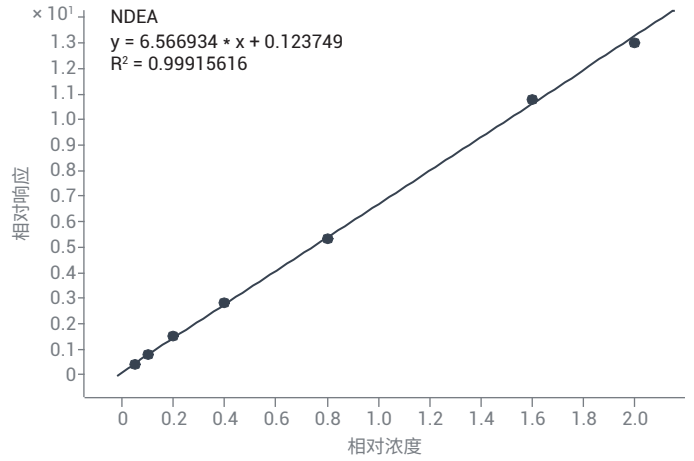
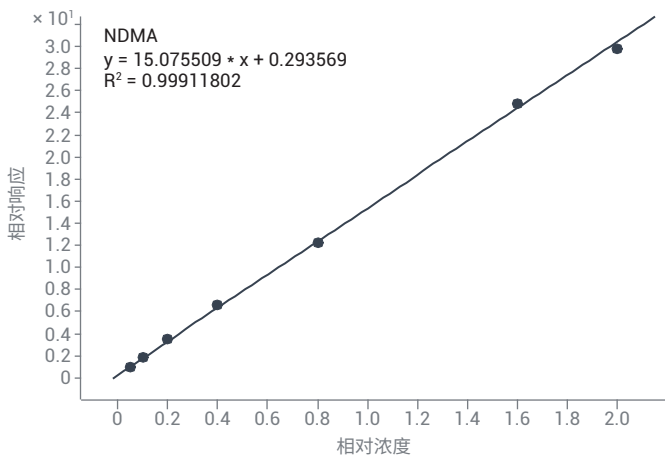


图 3B. 使用 Agilent 8890 GC 获得的 5 种亚硝酸杂质的校准曲线

经过验证的 FDA-OTR 方法要求 40 ng/mL 标样 6 次重复进样的 %RSD ≤ 5。我们在研究中检验了 40 ng/mL 标样的重现性，所有 5 种杂质获得的 %RSDs 均 < 2（6 次重复进样），如表 3 所示。

OTR 方法将 10 的信噪比 (S/N) 作为 LOQ 的测定基准。在本研究中，以 FDA LOQs 建议浓度加标的样品，其 S/N 值远高于方法要求，表明仪器能轻松满足灵敏度要求并达到更低的 LOQs，从而实现超痕量检测。FDA 规定的成品 LOQs 以及本研究获得的 LOQs 如表 4 所示。LOQ 水平下样品中杂质的色谱图示例以及 S/N 计算值如图 4 所示。

表 3. 40 ng/mL 亚硝酸杂质的峰面积和 %RSD 值 (Agilent 8890 GC)

类型	名称	NDMA 峰面积	NDEA 峰面积	NEIPA 峰面积	NDIPA 峰面积	NDBA 峰面积
标样	STD3_001.D	134044.10	57894.56	151634.00	106545.00	43152.93
标样	STD3_002.D	130975.10	57019.84	147810.80	104067.40	42709.92
标样	STD3_003.D	131357.00	56826.24	149615.50	104264.10	42613.02
标样	STD3_004.D	134631.90	57973.19	152279.80	106116.10	43753.81
标样	STD3_005.D	132140.20	57361.97	149922.00	105469.30	43118.18
标样	STD3_006.D	131370.50	57048.14	149667.10	103762.50	42816.16
	RSD (%)	1.17	0.84	1.07	1.11	0.97

表 4. FDA 方法规定的成品药 LOQs 及本研究获得的 LOQs (Agilent 7890B GC)

杂质	FDA LOQ (ppm)	LOQ (获得, ppm)	改善因子
NDMA	0.008	0.0025	> 3
NDEA	0.005	0.0005	10
NEIPA	0.005	0.00025	20
NDIPA	0.005	0.0025	2
NDBA	0.025	0.008	> 3

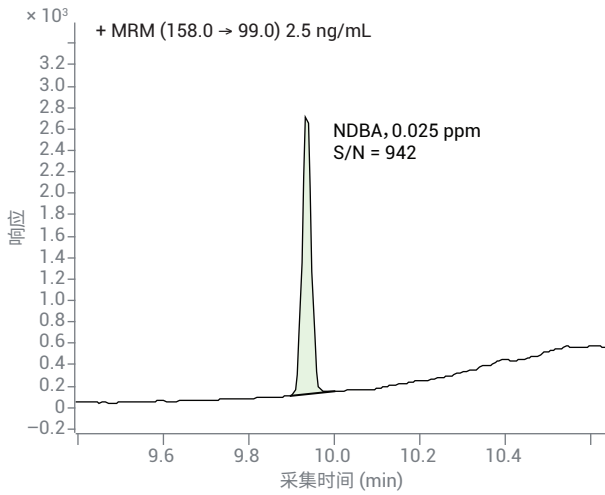
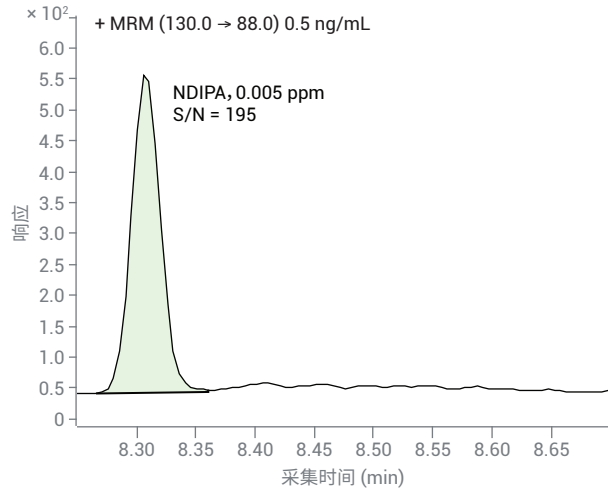
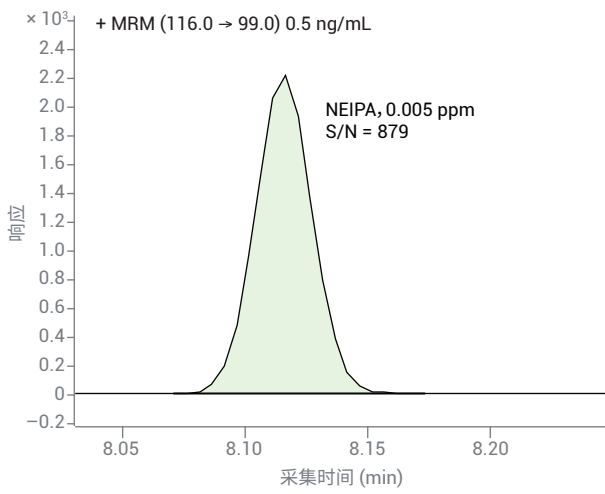
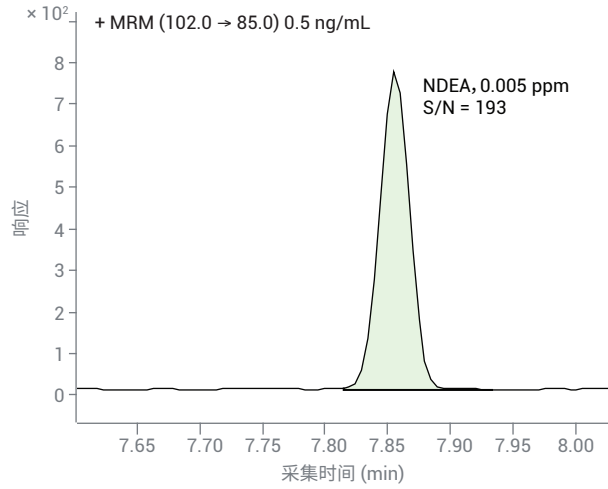
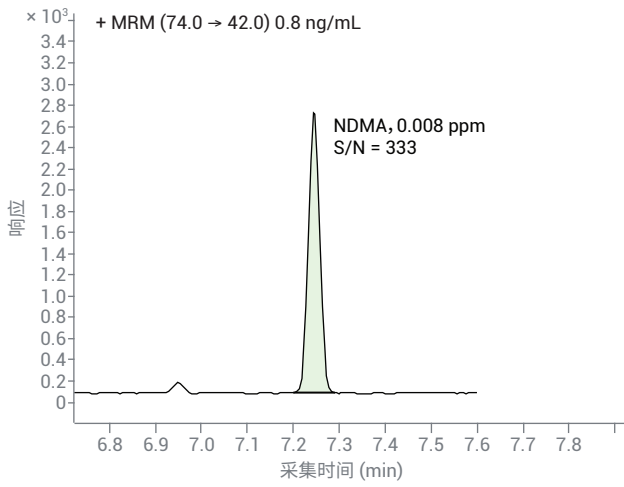


图 4. 以 FDA LOQs 建议浓度加标的样品 S/N 值 (Agilent 7890B GC)

## 结论

7890B-7010B 和 8890-7010B GC/MS/MS 联用系统对所有 5 种亚硝酸药物杂质均表现出相似的出色性能。8890 GC 可实现诊断测试、系统监测预警以及触摸屏控制和远程访问。7010B 三重四极杆 GC/MS 的设计包含 HES，与 7890B 和 8890 GC 提供的惰性样品流路结合后，可降低痕量杂质的检测限。这些特性使系统对所有 5 种残留实现了可靠定量。改进的 LOQs 仅为建议水平的 1/20-1/2，可在不更改方法参数的前提下进行高灵敏度分析。

## 参考文献

1. <https://www.fda.gov/media/123409/download>
2. <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/search-list-recalled-angiotensin-ii-receptor-blockers-arbs-including-valsartan-losartan-and>

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

DE.6920601852

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2020  
2020 年 4 月 22 日，中国出版  
5994-1821ZHCN