

GC-MS 测定坎地沙坦酯中微量的 *N*-亚硝基二甲胺和 *N*-亚硝基二乙胺

李俊¹, 陈红波², 王英璞¹, 朱文泉³ (1.台州市药品检验研究院, 浙江 台州 318000; 2.台州市食品检验检测中心, 浙江 台州 318000, 3.浙江华海药业股份有限公司, 浙江 临海 317024)

摘要: 目的 采用 GC-MS 直接进样法测定坎地沙坦酯中微量的基因毒性杂质 *N*-亚硝基二甲胺(*N*-nitrosodimethylamine, NDMA)和 *N*-亚硝基二乙胺(*N*-nitrosodiethylamine, NDEA)的含量。方法 采用单四极杆 GC-MS, Agilent VF-WAX ms 色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 程序升温, 进样口温度 200 °C, 流速 1.0 mL·min⁻¹; 质谱采用电子轰击电离源(EI), 电压为 70 eV, 离子源温度 230 °C、四极杆温度 150 °C, 5~7 min 检测离子为 74(*m/z*) (NDMA), 7~10 min 检测离子为 102(*m/z*) (NDEA); 以 0.2 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液溶解样品, 以乙酸乙酯进行萃取。结果 NDMA、NDEA 及相邻色谱峰之间分离效果良好, NDMA 和 NDEA 分别在 2.97~148.5 ng·mL⁻¹ 和 3.00~150.20 ng·mL⁻¹ 线性关系良好, 定量限分别为 0.06, 0.03 μg·g⁻¹, 检测限分别为 0.018, 0.009 μg·g⁻¹; NDMA 低、中、高浓度平均回收率(*n*=3)分别为 86.3%, 88.3%, 91.4%, RSD(*n*=3)分别为 0.9%, 0.7%, 0.4%; NDEA 低、中、高浓度平均回收率(*n*=3)分别为 88.1%, 87.9%, 91.7%, RSD(*n*=3)分别为 0.9%, 1.1%, 0.2%。结论 建立的 GC-MS 测定坎地沙坦酯中 NDMA 和 NDEA 的方法准确度高, 灵敏度高, 简便可靠, 对仪器污染小, 可用于坎地沙坦酯中这 2 个基因毒性杂质的质量控制。

关键词: 坎地沙坦酯; 气相色谱-质谱联用法; *N*-亚硝基二甲胺(NDMA); *N*-亚硝基二乙胺(NDEA)

中图分类号: R917 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2020)13-1615-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.13.015

引用本文: 李俊, 陈红波, 王英璞, 等. GC-MS 测定坎地沙坦酯中微量的 *N*-亚硝基二甲胺和 *N*-亚硝基二乙胺[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(13): 1615-1620.

Microdetermination of *N*-nitrosodimethylamine and *N*-nitrosodiethylamine in Candesartan Cilexetil by GC-MS

LI Jun¹, CHEN Hongbo², WANG Yingying¹, ZHU Wenquan³ (1. Taizhou Institute for Drug Control, Taizhou 318000, China; 2. Taizhou Institute for Food Control, Taizhou 318000, China; 3. Zhejiang Huahai Pharmaceutical Co., Ltd., Linhai 317024, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a GC-MS direct injection method for the microdetermination of *N*-nitrosodimethylamine(NDMA) and *N*-nitrosodiethylamine(NDEA) in candesartan cilexetil. **METHODS** The GC-MS was used, and the separation was performed on a Agilent VF-WAX ms column(30 m×0.25 mm, 0.25 μm) with temperature programmed. The inlet temperature was 200 °C and the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. Mass spectrometry was used with EI source, the voltage was 70 eV, ion source temperature was 230 °C and quadrupole temperature was 150 °C. The ion of 74(*m/z*) was detected for NDMA from 5 to 7 min, and the ion of 102(*m/z*) was detected for NDEA from 7 to 10 min. The samples were dissolved in 0.2 mol·L⁻¹ sodium hydroxide solution and extracted with ethyl acetate. **RESULTS** The separation between NDMA, NDEA and adjacent chromatographic peaks was effective. NDMA and NDEA revealed good linearities within the range of 2.97–148.5 ng·mL⁻¹ and 3.00–150.20 ng·mL⁻¹, respectively. The limit of quantitation of NDMA and NDEA were 0.06, 0.03 μg·g⁻¹ and the limit of detection were 0.018, 0.009 μg·g⁻¹, respectively. The average recoveries of NDMA were 86.3%, 88.3%, 91.4% at low, middle and high concentration, with the RSDs(*n*=3) of 0.9%, 0.7%, 0.4%, respectively. The average recoveries of NDEA were 88.1%, 87.9%, 91.7% at low, middle and high concentration, with the RSDs(*n*=3) of 0.9%, 1.1%, 0.2%. **CONCLUSION** The established GC-MS method for determination of NDMA and NDEA is accurate, highly sensitive, simple and reliable with less pollution to the instrument, and it can be used for the quality control of these two genotoxic impurities in candesartan cilexetil.

KEYWORDS: candesartan cilexetil; GC-MS; *N*-nitrosodimethylamine(NDMA); *N*-nitroso diethylamine(NDEA)

坎地沙坦酯是一种血管紧张素 II 受体拮抗剂, 1997 年首次在瑞典上市^[1], 其为坎地沙坦的前体药物, 口服吸收过程中完全水解为活性代谢

物坎地沙坦^[2]。坎地沙坦酯通过选择性、特异性阻断 AT₁ 受体, 不仅能降低血压, 而且对原发性高血压、心力衰竭、心肌梗死、代谢综合征等具有

作者简介: 李俊, 男, 硕士, 副主任药师 Tel: 13857690933 E-mail: 82206955@qq.com

独特的治疗作用和保护肾脏作用^[3]。

近年来, 药物中的基因毒性杂质因其重大的安全风险, 逐渐引起了广泛关注, 欧洲药物管理局(EMA)与美国食品药品监督管理局(FDA)等机构陆续发布针对基因毒性杂质的指南, 对该类杂质的控制与评估提出要求^[4-5]。自2018年我国“缬沙坦事件”以来, 沙坦类药物中 *N*-亚硝胺类基因毒性杂质越来越受到重视, 国内外药品监管部门均对沙坦类药物中基因毒性杂质的状况比较关注。国家药典委员会在2019年初发布了缬沙坦质量标准修订稿的公示(第二次)^[6], 修订稿中是关于缬沙坦中 *N*-亚硝基二甲胺(*N*-nitrosodimethylamine, NDMA)和 *N*-亚硝基二乙胺(*N*-nitrosodiethylamine, NDEA)检测方法的征求意见稿, 该方法采用甲醇溶解缬沙坦样品后直接进样检测, NDMA 和 NDEA 的限量分别为 $<0.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $0.08 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。但经过试验证明, 由于坎地沙坦酯与缬沙坦的理化性质不同, 在甲醇中无法溶解, 该方法不适用于坎地沙坦酯, 无法检测出坎地沙坦酯中这2种杂质。为了考察坎地沙坦酯是否含有 *N*-亚硝胺类基因毒性杂质, 本实验拟采用适宜溶剂溶解样品后再萃取的方式建立 GC-MS 测定坎地沙坦酯中微量的 NDMA 和 NDEA 这2种毒性杂质的方法, 与直接进样法相比, 该方法对仪器污染少, 干扰小, 结果准确可靠, 可用于保障坎地沙坦酯的质量安全。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 7890A-5975C 四极杆气质联用仪(配备液体自动进样器, 美国 Agilent 公司); CPA2250 型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; Vortex-3 型涡旋混合器(德国 IKA 公司); HH-2 型恒温水浴锅(常州朗越仪器制造有限公司)。

1.2 试剂

NDMA 对照品(日本 TCI, 批号: PLSBI; 纯度: 99.9%), NDEA 对照品(美国 Sigma 公司, 批号: 049K1613; 纯度: 100%); 甲醇为色谱纯, 氢氧化钠、乙酸乙酯均为分析纯。坎地沙坦酯原料药(浙江华海药业股份有限公司, 批号: 5668-18-315, 5668-18-316, 5668-18-317)

2 方法与结果

2.1 色谱和质谱条件

2.1.1 GC 条件 Agilent VF-WAX ms 色谱柱

($30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm}$, $0.25 \mu\text{m}$); 进样口温度: 200°C , 不分流进样; 程序升温条件: 初始温度为 45°C , 保持 1 min, 以 $15^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 100°C , 保持 2 min, 再 $5^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 120°C , 后运行 230°C , 保持 4 min; 流速 $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

2.1.2 MS 条件 采用 EI 源, 电压为 70 eV, 接口温度 280°C , 离子源温度 230°C 、四极杆温度 150°C , 溶剂延迟 5 min, 5~7 min 检测离子为 74(m/z) (NDMA), 7~10 min 检测离子为 102(m/z) (NDEA), 驻留时间为 200 ms。

2.2 溶液配制

2.2.1 对照品储备液 精密称取 NDMA 和 NDEA 对照品各适量, 分别加甲醇溶解并稀释制成浓度分别为 0.990 , $1.001 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液。

混合对照品储备液: 精密量取 NDMA 和 NDEA 对照品储备液各 2.5 mL 置同一 100 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度摇匀, 精密量取 3 mL, 置 50 mL 加 $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液稀释至刻度摇匀, 浓度分别为 1.485 , $1.502 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.2.2 对照品溶液 精密量取混合对照品储备液 10, 25, 50, 100, 250, 500 μL , 分别置 15 mL 刻度离心管中, 分别加 $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液稀释, 定容至 5 mL, 混匀, 得到溶液的浓度分别约为 3, 7.5, 15, 30, 75, 150 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。于这些离心管分别精密加入 2 mL 乙酸乙酯, 涡旋混合 2 min, 静置分层, 取上清液作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液 精密称取坎地沙坦酯样品约 0.25 g 置 15 mL 离心管中, 加入 $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液, 定容至 5 mL, 置 50°C 水浴中稍稍加热, 涡旋使样品完全分散到溶液中, 再置 50°C 水浴中加热 3~5 min, 涡旋使样品完全溶解, 置冷水浴中冷却, 精密加入 2 mL 乙酸乙酯, 涡旋混合 2 min, 静置分层(必要时可离心), 取上层溶液作为供试品溶液。

2.3 测定方法学验证

2.3.1 专属性试验 精密量取混合对照品储备液 50 μL , 按“2.2.2”项下方法得到 $15 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液; 精密称取 0.25 g 样品, 置于离心管中, 精密加入混合储备对照品溶液 50 μL , 按“2.2.3”项下方法溶解萃取制备得到样品加标溶液; 取 $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液 5 mL, 同法制备得到空白溶液。

取空白溶液、对照品溶液、供试品溶液和样

品加标溶液分别在上述条件下进行测定, 色谱图见图 1。结果空白溶液无干扰, 对照品溶液中 NDMA 和 NDEA 的保留时间分别为 7.023, 8.240 min, 样品加标溶液中 NDEA 和相邻的杂质峰的分度为 2.5, 满足系统适用性的要求。

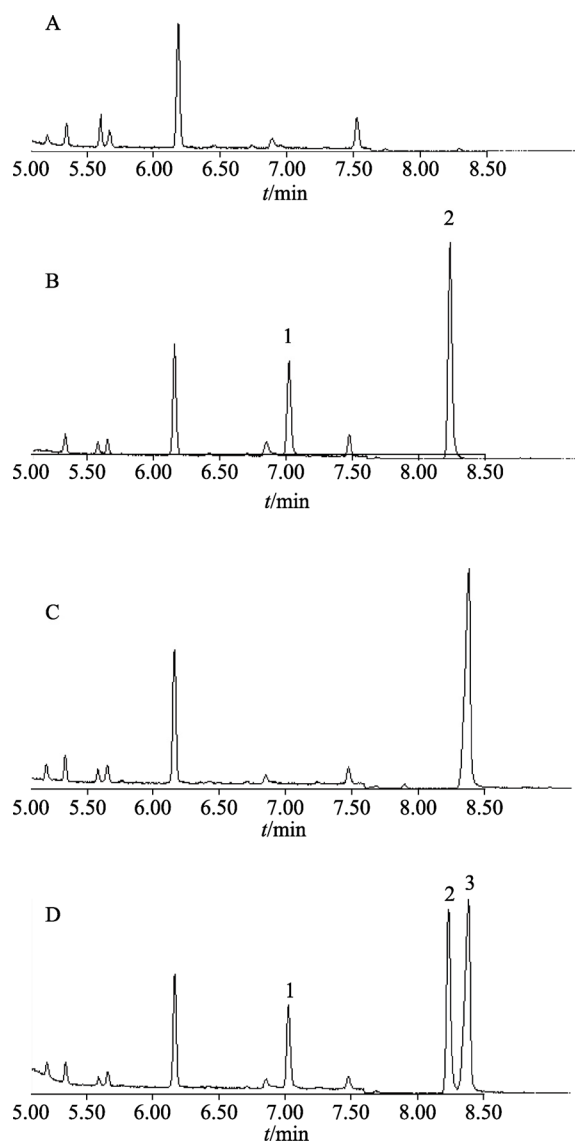


图 1 专属性试验的 GC-MS 色谱图

1-NDMA; 2-NDEA; 3-环己醇; A-空白溶液; B-对照品溶液; C-供试品溶液; D-供试品加标溶液。

Fig. 1 GC-MS chromatograms of specificity test

1-NDMA; 2-NDEA; 3-cyclohexanol; A-blank solution; B-reference solution; C-sample solution; D-spiked sample solution.

2.3.2 仪器精密度试验 取“2.3.1”项下对照品溶液连续进样 6 针, 记录 NDMA 和 NDEA 的峰面积, 计算 RSD 分别为 0.8%, 0.9%, 表明仪器精密度良好。

2.3.3 线性关系考察 取“2.2.2”项下线性对照品溶液分别进样测定, 记录 NDMA 峰和 NDEA 峰

的峰面积, 分别以峰面积 A 为纵坐标, 以浓度 C 为横坐标, 得到回归方程和相关系数:

$$\text{NDMA } A=10\,558.9C-3\,761.6, R^2=0.999\,9;$$

$$\text{NDEA } A=24\,455.3C-289.9, R^2=1.000\,0.$$

由此可知, NDMA 和 NDEA 分别在 2.97~148.5 ng·mL⁻¹ 和 3.00~150.20 ng·mL⁻¹ 范围内线性关系良好。

2.3.4 定量限和检出限 取混合对照品储备液, 采用 0.2 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液稀释, 再精密量取 5 mL 分别加入到约 0.25 g 样品中, 按“2.2.3”项下方法制备得到的供试品溶液分别进样测定, 当被测峰的 S/N 达到 10 左右时测得 NDMA 和 NDEA 的最低定量浓度为 3, 1.5 ng·mL⁻¹ ($n=5$, RSD 分别为 1.8%, 1.4%), 即定量限为 0.06, 0.03 μg·g⁻¹, 当被测峰的 S/N 达到 2~3 左右时测得 NDMA 和 NDEA 的最低检出浓度为 0.9, 0.45 ng·mL⁻¹, 即检出限为 0.018, 0.009 μg·g⁻¹。

2.3.5 仪器精密度试验 精密称取坎地沙坦酯样品(批号: 5668-18-315)6 份, 各约 0.25 g, 按“2.2.3”项下方法制备得到供试品溶液, 分别进样测定, 结果 NDMA 和 NDEA 均未检出。

另精密称取坎地沙坦酯样品(批号: 5668-18-315)6 份, 各约 0.25 g, 分别精密加入混合对照品储备液 50 μL, 按“2.2.3”项下方法制备得到供试品溶液分别进样测定, 结果测得 NDMA 和 NDEA 含量的 RSD 分别为 1.1%和 1.3%。

2.3.6 回收率试验 精密称取坎地沙坦酯样品(批号: 5668-18-315)9 份, 各约 0.25 g, 分别精密加入混合对照品储备液 10, 50, 250 μL 各 3 份, 按“2.2.3”项下方法制备得到低、中、高回收率测试溶液(分别相当于 0.06, 0.3, 1.5 μg·g⁻¹ 浓度水平), 分别进样测定, 记录色谱图与峰面积, 计算 NDMA 和 NDEA 的回收率, 结果见表 1。

2.3.7 稳定性 称取坎地沙坦酯样品(批号为 5668-18-315)约 0.25 g, 精密加入混合对照品储备液 50 μL, 按“2.2.3”项下方法制备得到的供试品溶液分别放置 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12 h 后进样测定, 记录色谱图, 计算 NDMA 和 NDEA 峰面积的 RSD 分别为 2.1%和 1.4%, 表明溶液的稳定性良好。

2.4 样品测定

取批号为 5668-18-315, 5668-18-316, 5668-18-

表 1 回收率试验结果(n=9)

Tab. 1 The results of recovery tests(n=9)

项目	样品量/ g	样品含 量/ng	加入量/ ng	测得量/ ng	回收 率/%	平均回 收率/%	RSD/ %
NDMA	0.251 7	未检出	14.85	12.78	86.06	86.3	0.9
	0.250 3	未检出	14.85	12.94	87.14		
	0.251 1	未检出	14.85	12.72	85.66		
	0.254 3	未检出	74.25	65.06	87.62	88.3	0.7
	0.251 5	未检出	74.25	65.91	88.77		
	0.250 7	未检出	74.25	65.78	88.59		
	0.251 9	未检出	371.25	339.22	91.37	91.4	0.4
	0.251 6	未检出	371.25	340.95	91.84		
NDEA	0.250 5	未检出	371.25	338.27	91.12		
	0.251 7	未检出	15.02	13.34	88.82	88.1	0.9
	0.250 3	未检出	15.02	13.24	88.13		
	0.251 1	未检出	15.02	13.11	87.31		
	0.254 3	未检出	75.10	65.57	87.31	87.9	1.1
	0.251 5	未检出	75.10	66.86	89.03		
	0.250 7	未检出	75.10	65.70	87.48		
	0.251 9	未检出	375.50	344.08	91.63	91.7	0.2
	0.251 6	未检出	375.50	345.30	91.96		
	0.250 5	未检出	375.50	343.80	91.56		

317 的 3 批坎地沙坦酯样品按“2.2.3”项下的方法制备供试品溶液分别进样测定,按标准曲线法以峰面积计算,结果 3 批样品均未检出 NDMA 和 NDEA。

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法的确定

实验发现,采用有机溶剂溶解样品后直接进样,结果色谱图中干扰大,无法准确测定,而且对仪器的污染也大,因此选择采用水溶液溶解样品再采用有机溶剂提取。

3.1.1 溶剂的选择 根据文献^[7],NDMA 在碱性水溶液中采用有机溶剂的提取率较高,因此采用氢氧化钠溶液进行溶解。经过试验发现,1 mol·L⁻¹氢氧化钠溶液室温下仍然不能溶解样品,微微加热后能够使样品溶解,但溶液很快变成黄色,进而变成深黄色,考虑到降解产生的低分子物质可能会干扰测定,因此有必要对氢氧化钠溶液的浓度进行考察。取 0.25 g 样品分别采用 1.0, 0.5, 0.2, 0.1, 0.05, 0.02 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液 5 mL 在 50 ℃

水浴中进行溶解性试验,结果表明,当氢氧化钠溶液的浓度降低到 0.1 mol·L⁻¹ 时仍然能够溶解样品,冷却后也不会析出沉淀,但当氢氧化钠溶液的浓度降低到 0.05 mol·L⁻¹ 时,即使加热也无法使样品溶解,为了使样品的溶解效果好,本实验选择 0.2 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液作为溶剂来溶解样品,此时溶解后的样品溶液澄清无色,没有发生溶液变色的现象,最大程度地减少了样品的降解。

3.1.2 萃取剂的选择 本实验选择了二氯甲烷、正丁醇、苯、乙酸乙酯、乙酸丁酯、正己烷、正庚烷等有机溶剂作为萃取剂进行了考察,二氯甲烷因极易溶解坎地沙坦酯,不能作为萃取剂。溶解度试验发现坎地沙坦酯在苯中也有一定的溶解度,萃取时乳化严重,分层效果不好,提取率也低,其他几种溶剂也效果不好,而经过试验表明乙酸乙酯是最理想的萃取剂,既能有效地提取氢氧化钠溶液中的 NDMA 和 NDEA,又能达到去除杂质干扰的目的。

最终选择的条件是,取 0.25 g 样品,加入 0.2 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液至 5 mL,在 50 ℃ 水浴中 3~5 min 涡旋使完全溶解,立即冷却至室温,精密加入 2 mL 乙酸乙酯,涡旋混合 2 min,静置分层(必要时可离心),取上层溶液即得。

3.2 样品处理方法的选择

国家药典委员会在 2019 年初发布的关于缬沙坦中 NDMA 和 NDEA 检测方法的征求意见稿中的方法是采用甲醇溶解样品,然后直接进样测定,因此最初参照缬沙坦的方法,发现坎地沙坦酯在甲醇中的溶解性不好,无法采用甲醇溶解后直接进样测定。文献显示坎地沙坦酯易溶于三氯甲烷和二氯甲烷,冰醋酸,不溶于水,表明坎地沙坦酯与缬沙坦、厄贝沙坦等其他沙坦类药物的理化性质不同,不能直接采用其他沙坦类药物的测定方法。笔者再次选择二氯甲烷直接溶解后再进样,结果发现供试品溶液进样之后会导致色谱图中出现杂质峰干扰 NDEA 的测定,实验显示,空白溶剂没有干扰,而样品溶液进样几次之后衬管容易变脏,因此推测干扰的杂质峰为坎地沙坦酯在进样口高温状态下降解产生,故无法准确测定 NDEA 的含量,其次样品溶解后直接进样后,高浓度的样品容易污染进样口的衬管和色谱柱,缩

短色谱柱的寿命,也会导致一些偶然误差的出现,因此笔者没有采用直接溶解进样的方法,而是尝试采用萃取方法。

经过试验研究及文献显示,采用从水溶液萃取测定 NDMA 和 NDEA 时,二氯甲烷是最理想的萃取剂^[7],但坎地沙坦酯本身极易溶解于二氯甲烷,如果含 NDMA 和 NDEA 的氢氧化钠水溶液采用二氯甲烷进行萃取,则大量坎地沙坦酯样品会进入二氯甲烷层中,达不到去除干扰的目的,实际试验也显示,采用二氯甲烷萃取后无法分层,溶液浑浊。

虽然根据乙酸乙酯的理化性质分析,乙酸乙酯在碱溶液中不够稳定,容易水解,但经过查询文献^[8]显示,乙酸乙酯的水解反应是需要加热的条件下才会进行,本实验中样品溶液在 50℃ 水浴中溶解后立即冷却后才进行萃取,整个萃取操作是在室温中进行,因此乙酸乙酯的水解微乎其微,同时溶液稳定性试验也表明 12 h 稳定,因此对测定几乎没有影响。

NDEA 相邻的杂质峰经过全扫描测试及谱库检索,确定为环己醇,经过分析,该杂质产生的原因为坎地沙坦酯分子结构中羧酸酯基团水解产生的杂质,推测可能是坎地沙坦酯中存在的降解杂质,也可能是坎地沙坦酯样品在氢氧化钠溶液中加热水解产生的,因此氢氧化钠的浓度过高可能会导致杂质增多,故本方法中的氢氧化钠溶液的浓度不宜过高。同时实验显示,随着氢氧化钠溶液浓度增加,呈现溶液颜色逐渐加深的现象,说明降解加剧,而在本实验确定的 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液溶解的实验条件下,样品溶液澄清无色,产生的环己醇杂质峰含量也不高,说明样品只是产生少量水解,色谱图中环己醇杂质峰与 NDEA 峰能够完全分离,也说明在本实验条件下样品发生的水解对测定无干扰,不影响测定结果。

3.3 测定方法的选择

NDMA 和 NDEA 的沸点较高,如采用顶空进样法需要较高的加热温度才能够达到需要的灵敏度,例如 FDA 发布的一个测定缬沙坦中 NDMA 的测定方法中规定加热温度甚至达到 120℃,这样对仪器的性能要求较高,顶空瓶内的压力大,气密性也会有一定的影响,同时也存在一定的风

险,而且还需要昂贵的顶空进样器。本实验采用 GC-MS 直接进样法测定 NDMA 和 NDEA 的残留量,与顶空进样法相比,方法简便,不需要增加昂贵的顶空进样器,成本低,灵敏度更高,同时回收率符合要求,说明方法准确可靠,适合对坎地沙坦酯的进行杂质筛查和质量控制。

3.4 限度要求

根据坎地沙坦酯的每日最大摄入量,EMA 暂定坎地沙坦酯中 NDMA 和 NDEA 的限量要求为 $3.0, 0.82 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,而 FDA 暂定的 NDMA 和 NDEA 限量要求为 $3.0, 0.83 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,本方法 NDMA 和 NDEA 的检出限分别为 $0.018, 0.009 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,灵敏度完全能满足上述限量控制要求,回收率 >85%,方面简便可靠,能够控制坎地沙坦酯中 NDMA 和 NDEA 的限量。

关于 NDMA 和 NDEA 杂质的来源,“缬沙坦事件”之前国内外均没有对药品中 NDMA 和 NDEA 进行控制的标准和法规方法,也没有药物中检出 NDMA 和 NDEA 相关的报道,因此,也未见有关于药物中 NDMA 和 NDEA 来源的相关报道。结合药品生产企业的相关研究和文献^[9]显示,NDMA 的来源可能是生产过程中原料、中间体或有机溶剂(例如生产缬沙坦使用的 DMF)中含有的微量二甲胺和亚硝酸盐在酸性条件下反应产生,NDMA 的产生则是原料、中间体或有机溶剂中微量的二乙胺和亚硝酸盐在酸性条件下反应产生。目前国内外已有缬沙坦、厄贝沙坦等药品中检出 NDMA 或 NDEA,而坎地沙坦酯属于沙坦类药物,拥有相似的结构,部分合成工艺均采用类似的工艺,使用相同的原料、中间体或有机溶剂^[10],其也可能存在微量的二甲胺或二乙胺均可能与亚硝酸盐在酸性条件下发生反应,从而产生 NDMA 或 NDEA,因此有必要对坎地沙坦酯中 NDMA 和 NDEA 进行筛查和控制。

本方法的回收率在 86%~92%,没有全部达到 90%以上,原因可能是提取方法还存在一定的基质效应。如果样品中检出 NDMA 或 NDEA,可以采用将标准储备液加入到不含 NDMA 和 NDEA 的空白样品中再进行溶解、萃取的方法来配制标准溶液以减少基质效应,或采用标准加入法提高回收率,得到更准确的结果。

在本方法的基础上,采用三重四极杆 GC-MS 对一级质谱的母离子打碎,再检测子离子,还可以大大提高方法的灵敏度和定性的准确性。

REFERENCES

- [1] 夏希虹. 抗高血压药坎地沙坦(Candesartan)[J]. 国外医药(合成药 生化药 制剂分册), 1999, 20(6): 3-5.
- [2] XU R, SI L Q, GU S F, et al. Studies on bioequivalence of candesartan cilexetil tablets in healthy volunteers [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2008, 43(6): 455-458.
- [3] LIU G Q. Clinical application and research progress of candesartan esters [J]. Mod J Integrated Tradit Chin West Med (现代中西医结合杂志), 2009, 18(36): 4592-4594.
- [4] WANG P, XU C H, CHEN X, et al. Development of genotoxic impurities control in active pharmaceutical ingredient [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2015, 32(1): 119-126.
- [5] ZHANG H M, LIN J Q, FENG K B, et al. Evaluation and control of genotoxic impurities in active pharmaceutical ingredients [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(9): 1160-1166.
- [6] 国家药典委员会. 关于缬沙坦质量标准修订稿的公示(第二次)[S]. 2019.
- [7] ZHAO L, SHI Z, HONG X H, et al. GC-MS/MRM determination of *N*-nitrosodimethylamine(NDMA) in drinking water [J]. Hubei Agric Sci(湖北农业科学), 2018, 57(7): 108-110, 113.
- [8] 刘瑞华. 乙酸乙酯水解实验研究[J]. 内蒙古石油化工, 2009, 35(8): 134-136.
- [9] LÜ C L, LIU Y D, WANG Y H, et al. Theoretical studies on the *n*-nitrosodimethylamine formation from dimethylamine and nitrous acid [J]. Acta Chimica Sinica(化学学报), 2007, 65(16): 1568-1572.
- [10] PENG Y S. A Scalable process to the key intermediate of sartans [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2014, 45(8): 714-716.

收稿日期: 2019-07-20

(本文责编: 曹粤锋)