

气相色谱-电子捕获检测器法测定奥美沙坦酯原料药中基因毒性杂质碘甲烷

朱 静, 吴 璐

泰州市药品检验院, 江苏 泰州 225300

摘 要: 目的 采用气相色谱-电子捕获检测器(GC-ECD)法测定奥美沙坦酯原料药中基因毒性杂质碘甲烷。方法 采用 Agilent DB-624 毛细管色谱柱(30 m×0.32 mm×1.8 μm), 初始柱温 40 ℃, 保持 5 min, 以 20 ℃/min 升至 200 ℃, 保持 2 min, 进样口温度 160 ℃, 检测器温度 300 ℃, 载气为 N₂, 体积流量为 1.5 mL/min, 分流比 10:1, 进样量 1 μL。结果 碘甲烷在 0.03~0.60 μg/mL 线性关系良好; 检测限为 2.0 ng/mL, 定量限为 6.0 ng/mL; 平均回收率为 98.0%, RSD 值为 1.8%。结论 该方法专属性强、准确性高、灵敏度高、耐用性好, 可用于奥美沙坦酯中基因毒性杂质碘甲烷的测定。

关键词: 奥美沙坦酯; 碘甲烷; 气相色谱-电子捕获检测器法

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2021)09-1817-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.09.007

Determination of genotoxic impurity methyl iodide in olmesartan medoxomil by gas chromatography- electron capture detector

ZHU Jing, WU Jun

Taizhou Institute for Drug Control, Taizhou 225300, China

Abstract: Objective To determine the genotoxic impurity methyl iodide in olmesartan medoxomil API by GC-ECD method.

Methods The genotoxic impurity was detected on a Agilent DB-624 capillary column (30 m × 0.32 mm × 1.8 μm). The column temperature was programmed: the initial temperature was 40 ℃ and was maintained for 5 min. Then the temperature was raised to 200 ℃ at a rate of 20 ℃/min and maintained for 2 min. The inlet temperature was 160 ℃, and electron capture detector temperature was 300 ℃. N₂ was used as the carrier gas, and the flow rate was 1.5 mL/min, the split ratio was 10:1, the injection volume was 1 μL. **Results** At the range of 0.03—0.60 μg/mL, the regression equation of methyl iodide was good. The LOD concentration was 2.0 ng/mL, and the LOQ concentration was 6.0 ng/mL. The average recovery rate was 98.0% with the RSD value was 1.8%. **Conclusion** This method is high specificity, accuracy, sensitivity, and well durability, which can be used for the detection of the genotoxic impurity methyl iodide in olmesartan medoxomil API.

Key words: olmesartan medoxomil; methyl iodide; GC-ECD

基因毒性杂质(或遗传毒性杂质)是指化合物在极低浓度时即可直接或间接损伤细胞 DNA, 产生基因突变或体内诱变, 具有致癌可能或倾向, 如黄曲霉素类、甲基磺酸酯等化合物。潜在基因毒性的杂质从结构上看类似基因毒性杂质, 有警示性, 但未经实验证明, 如 *N*-亚硝基二甲胺、*N*-亚硝基二乙胺、卤代烷烃类等化合物。基因毒性杂质研究是近年来药物质量研究和控制的热点和难点, 各国官方机构对此愈加重视, 并相继出台指导原则^[1-3]。

奥美沙坦酯是第一三共株式会社开发的一种

血管紧张素 II 受体拮抗剂, 适应症为高血压^[4]。奥美沙坦酯片于 2002 年 4 月 26 日首次在美国上市(规格为 5、20、40 mg), 2006 年, 第一三共株式会社的中国子公司第一三共(上海)制药有限公司生产的奥美沙坦酯片在中国获得批准上市。碘甲烷为奥美沙坦酯原料合成过程中使用的甲基化试剂, 具有警示结构, 部分合成路线见图 1。参考 ICH M7《评估和控制药物中 DNA 反应的(诱变的)杂质以限度潜在的致癌风险》, 对于无足够证据证明其基因毒性阈值的化合物, 根据毒理学关注阈值(TTC)

收稿日期: 2021-04-16

作者简介: 朱 静, 女, 硕士, 从事药物分析工作。E-mail: 422345452@qq.com

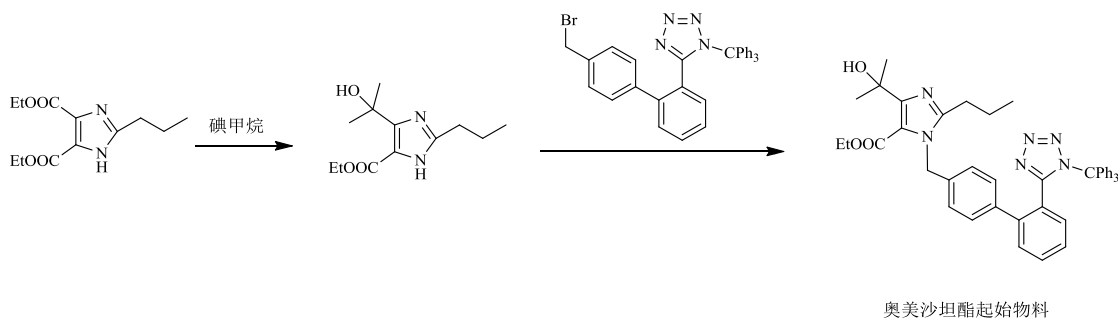


图 1 碘甲烷相关合成路线

Fig. 1 Synthetic route of methyl iodide

来设定限度。由奥美沙坦酯片使用说明书可知,最大摄入剂量为 40 mg/d,碘甲烷按总摄入量为 1.5 μ g/d 计算,所以奥美沙坦酯中碘甲烷的限度不得超过 0.003 75%。已有文献对奥美沙坦酯中有关物质研究进行报道^[5-7]。为了完善碘甲烷质量标准,便于更有效地控制奥美沙坦酯的质量,保障用药安全,本研究采用气相色谱-电子捕获检测器(ECD)法测定奥美沙坦酯原料药中碘甲烷。

1 材料

7890B 气相色谱仪, ECD 检测器 (安捷伦); XP205DR 型电子天平 (梅特勒); 碘甲烷对照品 (TCI, 质量分数 99.5%); 甲醇 (TEDIA, 色谱级, 批号 190416)。奥美沙坦酯原料药分别来自连云港润众制药有限公司, 批号 04415002、04417001; 安徽悦康凯悦制药有限公司, 批号 190510; 赤峰万泽制药有限责任公司, 批号 20181011。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent DB-624 毛细管色谱柱 (30 m×0.32 mm×1.8 μm), 初始柱温 40 ℃, 保持 5 min, 以 20 ℃/min 升至 200 ℃, 保持 2 min, 进样口温度 160 ℃, 检测器温度 300 ℃, 载气为 N₂, 体积流量为 1.5 mL/min, 分流比 10:1, 进样量 1 μL。

2.2 专属性试验

取碘甲烷适量，用甲醇稀释制成质量浓度约为 0.3 μg/mL 的溶液，作为对照品溶液；取奥美沙坦酯样品适量，用甲醇溶解并稀释制成质量浓度约为 8 mg/mL 的溶液，作为供试品溶液；取奥美沙坦酯样品适量，用对照品溶液溶解并稀释制成质量浓度约为 8 mg/mL 的溶液，作为加标供试品溶液。分别精密量取空白溶剂（甲醇）和上述各溶液 1 μL，注入气相色谱仪，记录色谱图，见图 2。结果表明空白溶剂在碘甲烷出峰处未出峰，对照品溶液与加标供

试品溶液中碘甲烷与其前后化合物峰的分度良好,符合系统适用性的要求,方法的专属性良好。

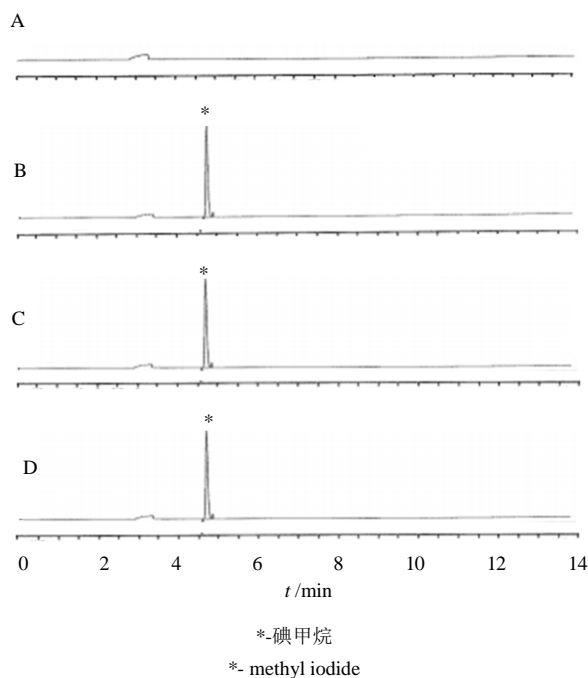


图 2 空白溶剂 (A)、对照品溶液 (B)、供试品溶液 (C) 和加标供试品溶液 (D) 的 GC 图谱

Fig. 2 GC Chromatograms of blank solvent (A), reference solution (B), test solution (C), and spiked test solution (D)

2.3 线性关系考察

取碘甲烷适量,用甲醇稀释制成质量浓度约为 3 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,作为贮备液。分别精密量取贮备液适量,用甲醇稀释制成质量浓度分别为 0.03、0.06、0.15、0.24、0.30、0.60 $\mu\text{g/mL}$ 的线性溶液,精密量取上述溶液各 1 μL ,注入气相色谱仪,记录色谱图。以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标进行线性回归,得线性回归方程: $Y=14\ 994.977 X+4.372$, $r=1.000\ 0$,结果表明在 0.03~0.60 $\mu\text{g/mL}$ 线

性关系良好。

2.4 定量限、检测限测定

取线性溶液适量，逐级稀释，按信噪比 $S/N \geq 10:1$ 作为定量限溶液；按信噪比 $S/N \geq 3:1$ ，作为检测限溶液，结果检测限为 2.0 ng/mL ，定量限为 6.0 ng/mL 。

2.5 准确度试验

取碘甲烷适量，用甲醇稀释制成质量浓度为 $0.3 \text{ } \mu\text{g/mL}$ 的溶液，作为对照品溶液；取奥美沙坦酯适量，用甲醇溶解并稀释制成质量浓度为 8 mg/mL 的溶液，作为本底溶液；取碘甲烷适量，用甲醇稀释制成 $1.503 \text{ } \mu\text{g/mL}$ 的溶液，作为贮备液。取本品约 80 mg ，精密称定，置 10 mL 量瓶中，制备 9 份，其中 3 份精密加入 1 mL 贮备液，用甲醇稀释至刻度，摇匀，作为 50% 准确度溶液；3 份精密加入 2 mL 贮备液，用甲醇稀释至刻度，摇匀，作为 100% 准确度溶液；3 份精密加入 3 mL 贮备液，用甲醇稀释至刻度，摇匀，作为 150% 准确度溶液，摇匀。精密量取上述溶液各 $1 \text{ } \mu\text{L}$ ，注入气相色谱仪，记录色谱图，结果碘甲烷的平均回收率为 98.0%，RSD 值为 1.8%。

2.6 精密度试验

取质量浓度为 $0.3 \text{ } \mu\text{g/mL}$ 的碘甲烷对照品溶液，连续进样 6 针，记录峰面积和保留时间，结果 RSD 值分别为 0.3%、0.01%。

2.7 重复性试验

取碘甲烷适量，用甲醇稀释制成 $0.3 \text{ } \mu\text{g/mL}$ 的溶液，作为对照品溶液；取碘甲烷适量，用甲醇稀释制成 $1.503 \text{ } \mu\text{g/mL}$ 的溶液，作为贮备液；取奥美沙坦酯原料药（批号 04415002）约 80 mg ，平行制备 6 份，精密称定，置 10 mL 量瓶中，精密加入 2 mL 贮备液，用甲醇稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液。精密量取供试品溶液和对照溶液各 $1 \text{ } \mu\text{L}$ ，进样测定，记录色谱图。结果碘甲烷的平均质量分数为 0.003 80%，RSD 值为 1.9%。

2.8 中间精密度试验

按照 2.7 项下对照品溶液和供试品溶液的制备方法，由不同的分析人员隔天制备，测定碘甲烷的质量分数。将 6 份结果与重复性 6 份结果共同统计，12 份样品中碘甲烷的平均质量分数为 0.003 73%，RSD 值为 2.7%。

2.9 稳定性试验

将供试品溶液、对照品溶液和加标供试品溶液

（2.7 项下供试品溶液）在室温下分别放置 0、2、4、6、12、18、24 h 进样测定，记录色谱图。24 h 内供试品溶液在室温条件下各考察点均未检出碘甲烷，说明至少 24 h 内稳定；24 h 内碘甲烷峰对照品溶液在室温条件下，碘甲烷峰面积的 RSD 值为 0.5%，说明至少 24 h 内稳定；18 h 内加标供试品溶液在室温条件下，碘甲烷峰面积的 RSD 值为 1.6%，说明至少 18 h 内稳定。

2.10 耐用性试验

按照 2.7 项下方法配制对照溶液和供试品溶液，为考察方法本身对于可变试验因素的干扰能力，需要考察了方法的耐用性。考察的因素主要包括体积流量（ $\pm 0.4 \text{ mL/min}$ ）、初柱温（ $\pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ ）、进样口温度（ $\pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ ）、更换相同型号色谱柱，进样测定，记录色谱图，标准条件碘甲烷的质量分数为 0.003 78%，其他各条件为 0.003 77%~0.003 78%，与标准条件比值为 99.7%~100.0%，说明该法耐用性良好，更改上述参数对碘甲烷的测定无影响。

2.11 样品测定

取不同批次的奥美沙坦酯原料药，制备对照品溶液和供试品溶液，进样测定，以外标法按碘甲烷峰面积计算，结果均为未检出，结果见表 1。

表 1 奥美沙坦酯原料药中碘甲烷的测定结果

Table 1 Determination of methyl iodide in olmesartan medoxomil

批号	碘甲烷/%
04415002	未检出
04417001	未检出
190510	未检出
20181011	未检出

3 讨论

采用 FID 检测器进行预实验发现，碘甲烷响应较低，无法满足检测要求，且基线噪音大，灵敏度低。由于碘甲烷的结构中含有碘，使用带有电子捕获检测器检测时，碘甲烷峰具有很高的灵敏度，且电子捕获检测器对不含卤素的化合物响应有很强的衰减作用，故采用电子捕获检测器能够满足检测要求。

实验比较了不同溶剂对方法的影响。实验采用 DMSO 作为溶剂，碘甲烷与 DMSO 发生反应，碘甲烷在 4~5 min 出现了 2 个峰。实验用甲醇作为溶剂，碘甲烷为单个峰，且峰形良好，故选择甲醇作

为溶剂。

碘甲烷见光易分解,实验过程中应注意避光操作,如关闭实验室灯、使用棕色量瓶、使用棕色进样小瓶;实验采用甲醇为溶剂,实验过程中应小心操作,如及时盖紧量瓶与进样小瓶瓶盖,使用密封性良好的进样小瓶瓶盖,防止溶剂挥发,影响对结果的测定。

本研究以气相色谱-电子捕获检测器法测定奥美沙坦酯原料中基因毒杂质碘甲烷,方法操作简便,精密度、准确度、稳定性、耐用性均较好,可作为奥美沙坦酯原料质量控制的有效方法,保证产品质量安全。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human use. ICH Harmonised Tripartite Guideline: Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk M7 (R1) [S/OL]. (2017-05-04) [2019-

01-02]. https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Multidisciplinary/M7/M7_R1/Addendum_Step_420170331.pdf.

- [2] Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Genotoxic and Carcinogenic Impurities in Drug Substances and Products: Recommended Approaches (Draft Guideline) [S]. 2008.
- [3] EMA (European Medicines Agency). Guidelines on the Limits of Genotoxic Impurities [S/OL]. (2006-06-28) [2019-01-02]. http://www.EMA.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002903.pdf.
- [4] 郭冬华, 韩常宝. 奥美沙坦酯的临床研究进展 [J]. 中国临床医生, 2012, 40(11): 26-28.
- [5] 栾保磊, 徐新军, 梁桂挺, 等. HPLC-MS 测定奥美沙坦酯中有关基因毒性杂质 [J]. 中国药科大学学报, 2019, 50(3): 325-329.
- [6] 袁抢云, 陈程, 李继超, 等. HPLC 测定奥美沙坦酯中的基因毒性杂质 [J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(3): 407-409.
- [7] 王多娇, 宋敏, 杭太俊, 等. 液相色谱-质谱联用技术鉴定奥美沙坦酯有关物质 [J]. 药物分析杂志, 2012, 32(1): 82-87.

[责任编辑 解学星]