

ZHONGGUO YIYAO GONGYE ZAZHI

ISSN 1001-8255

CN 31-1243/R

ZYGZEA

中国医药工业杂志

Chinese Journal of Pharmaceuticals

- 中国中文核心期刊
- 中国生物医学核心期刊
- 中国期刊方阵入选期刊
- 中国科技核心期刊
- 中国科学引文数据库来源期刊
- 中国药学会系列期刊

本期导读：

治疗新型冠状病毒肺炎的国内临床试验化学药物简介

张庆伟，郭政，黄雷，张子学，张怡，李建其

混悬型滴眼剂的研究进展

易婷，赵雁，陶涛



微信号：cjph-cjph



主办
上海医药工业研究院
中国药学会
中国化学制药工业协会

2020年6月

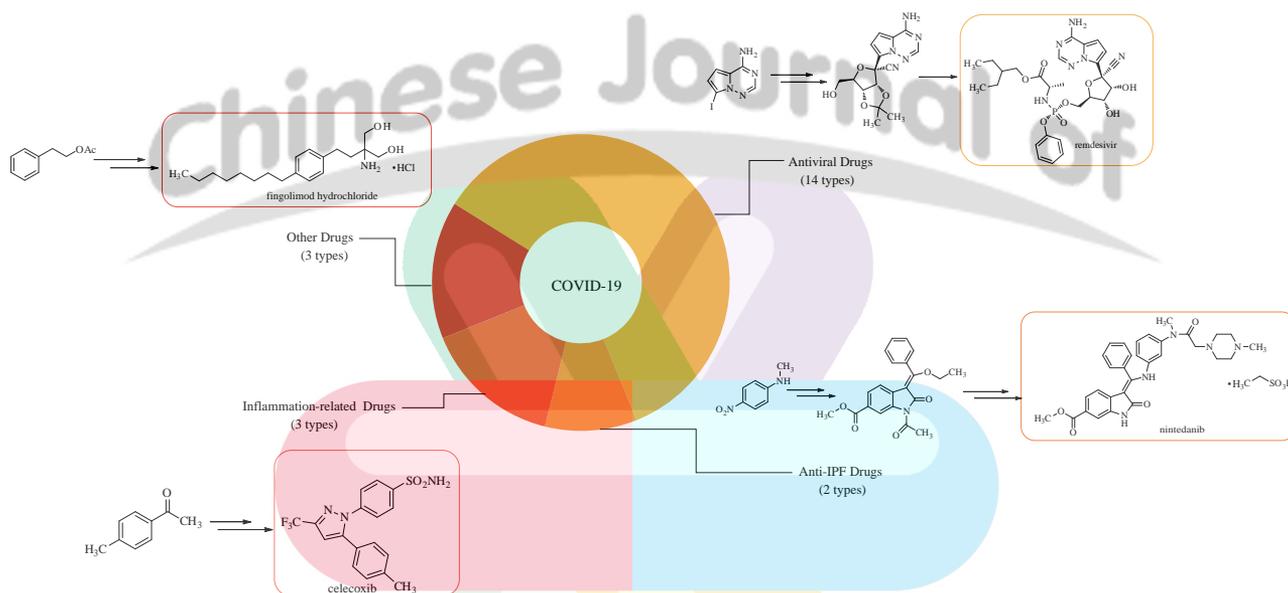
第51卷

Vol.51 No.6

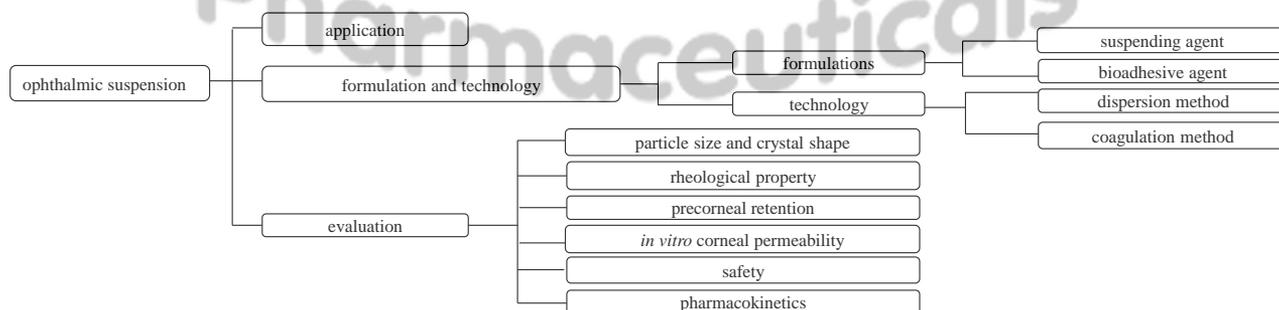
中国医药工业杂志 二〇二〇年 第五十一卷 第六期 第659-800页

· 专论与综述 (Perspectives & Review) ·

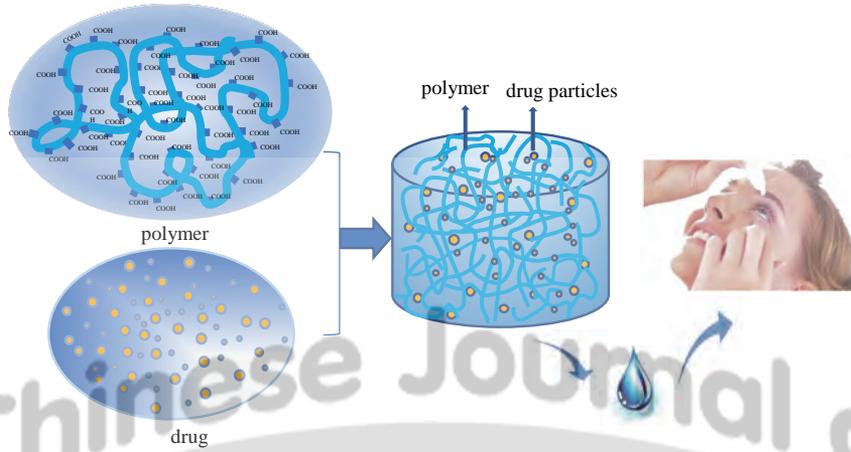
659 治疗新型冠状病毒肺炎的国内临床试验化学药物简介.....张庆伟, 郭政, 黄雷, 张子学, 张怡, 李建其*
 Review of Chemical Drugs Applied for Clinical Trials for the Treatment of COVID-19 in China
ZHANG Q W, GUO Z, HUANG L, ZHANG Z X, ZHANG Y, LI J Q*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.001



679 混悬型滴眼剂的研究进展.....易婷, 赵雁*, 陶涛
 Research Progress of Ophthalmic Suspension.....YI T, ZHAO Y*, TAO T
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.002

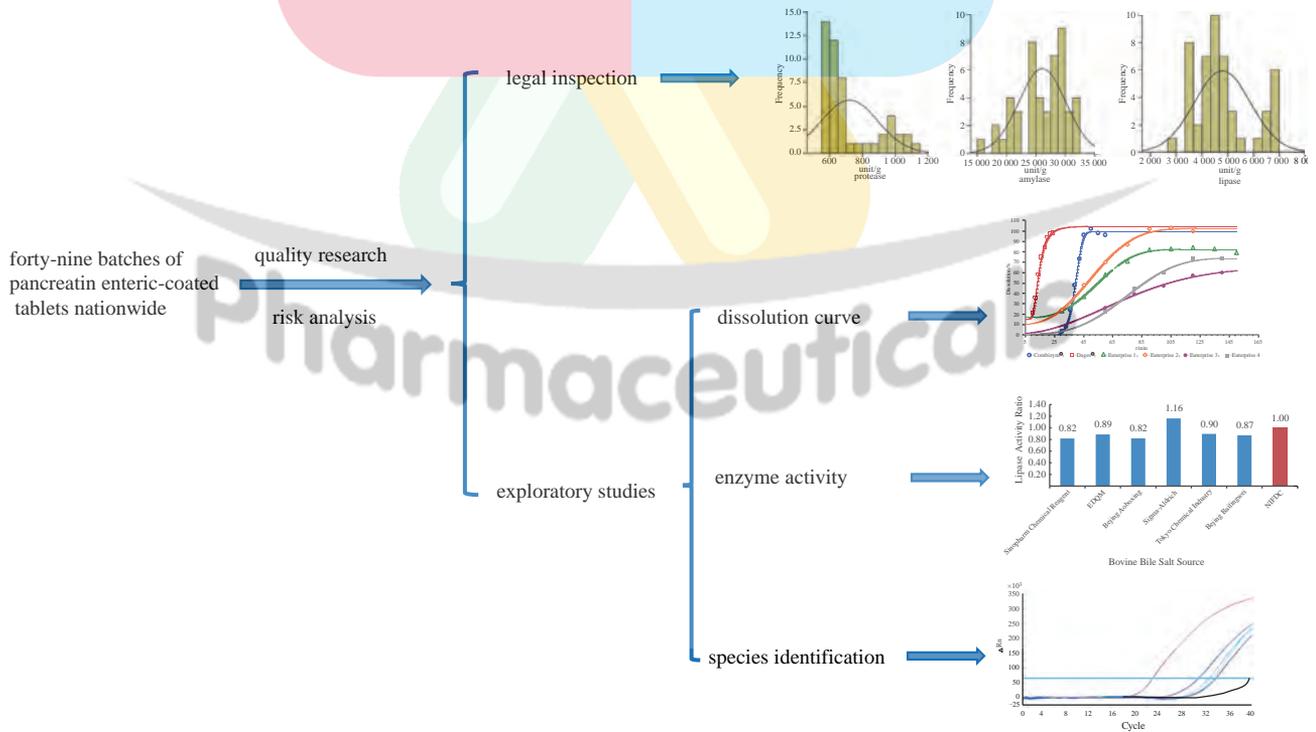


687 丙烯酸交联聚合物用于眼部给药系统的研究进展.....王淑娟, 张建华, 庄鹏飞, 葛育红, 陈再新*
 Research Progress of Acrylate Crosspolymer for Ophthalmic Drug Delivery.....
WANG S J, ZHANG J H, ZHUANG P F, GE Y H, CHEN Z X*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.003

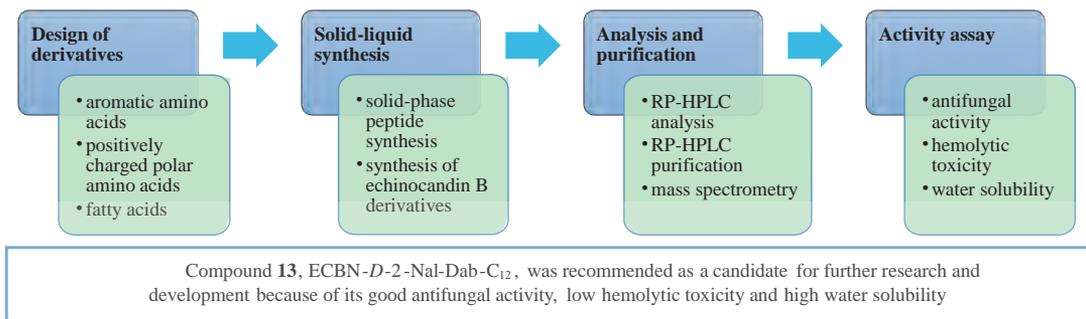


· 研究论文 (Paper) ·

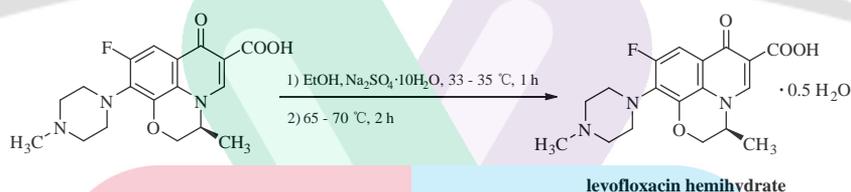
696 国产胰酶肠溶片的质量研究与风险分析.....郑璐侠, 张颖, 邵泓, 陈钢, 陈桂良*
 Quality Research and Risk Analysis of Domestic Pancreatin Enteric-coated Tablets.....
ZHENG L X, ZHANG Y, SHAO H, CHEN G, CHEN G L*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.004



704 棘白菌素 B 新型衍生物的设计合成及体外抗真菌活性……朱冰, 东圆珍, 张喜全, 马洁*
 Design, Synthesis and *in vitro* Antifungal Activities of Novel Echinocandin B Derivatives……
 ……………ZHU B, DONG YZ, ZHANG XQ, MA J*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.005

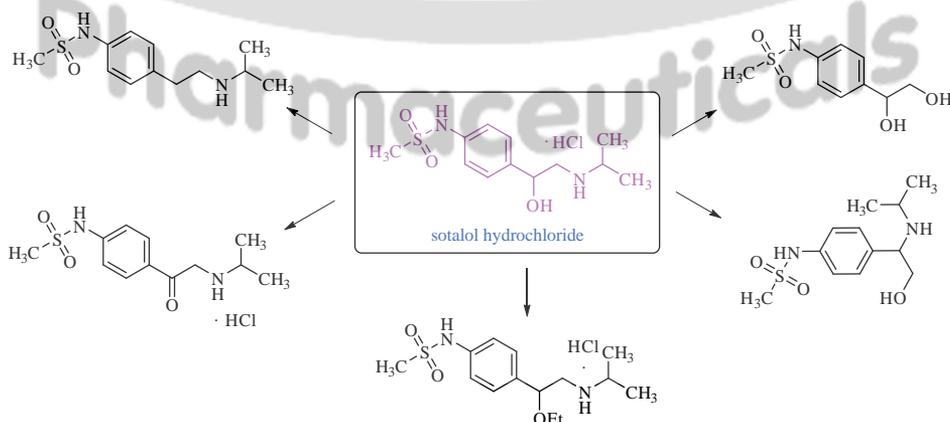


713 左氧氟沙星半水合物的制备工艺……舒理建, 沈晓峰, 杨平爱, 杜超, 王哲清
 Preparation Process of Levofloxacin Hemihydrate……
 ……………SHU L J, SHEN X F, YANG P A, DU C, WANG Z Q
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.006



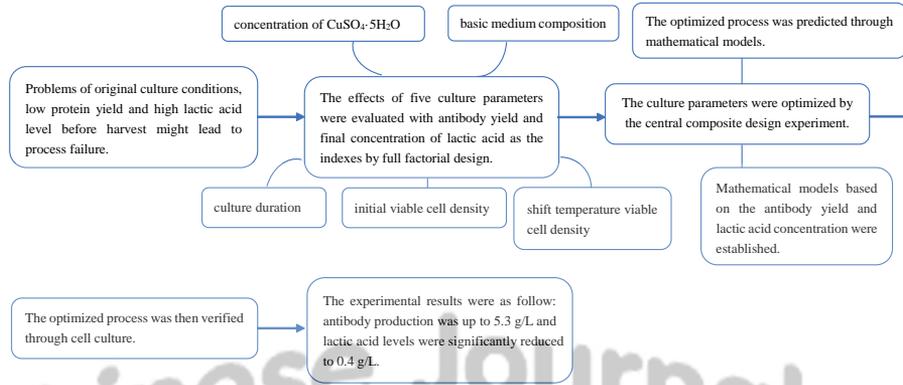
An improved synthetic process of levofloxacin hemihydrate was reported. This process solved the problems of large residual amounts of high-boiling solvents in target product and large amounts of low-boiling solvents used in levofloxacin hemihydrate preparation.

716 盐酸索他洛尔有关物质的合成……叶欣, 孙忠华, 陈益林, 胡小丽, 朱怡君*
 Synthesis of the Related Substances of Sotalol Hydrochloride……
 ……………YE X, SUN Z H, CHEN Y L, HU X L, ZHU Y J*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.007

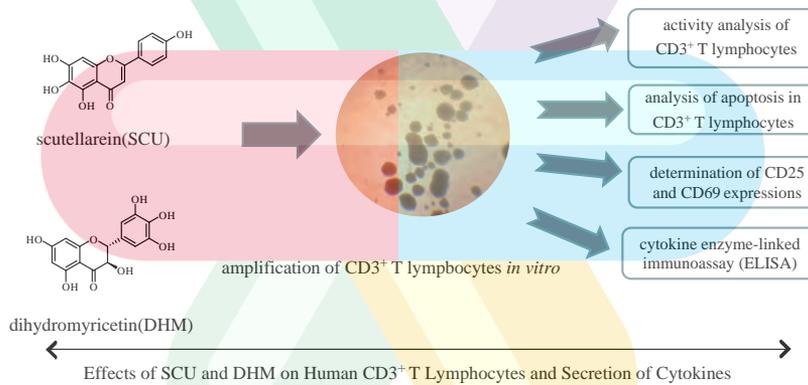


In order to control the quality of the bulk drug and preparation of sotalol hydrochloride, five related substances including one novel impurity of sotalol hydrochloride were prepared and their structures were confirmed.

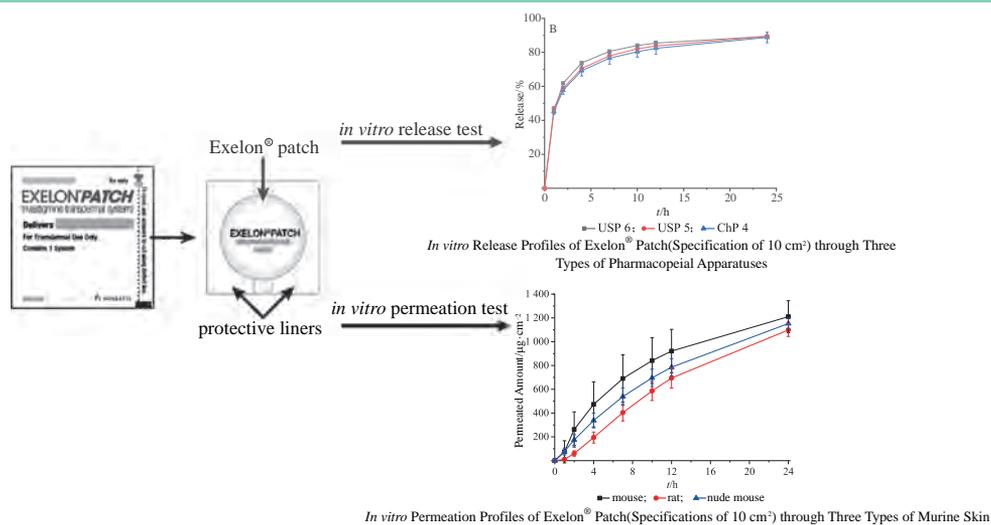
721 基于试验设计与响应面分析法的重组贝伐珠单抗细胞培养工艺优化.....
丁 钰, 杨倩倩, 沈智勇, 赵 瑾, 邱树毅*
 Cell Culture Process Optimization of Recombinant Bevacizumab Based on Experimental Design and Response Surface Analysis.....
DING Y, YANG Q Q, SHEN Z Y, ZHAO J, QIU S Y*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.008



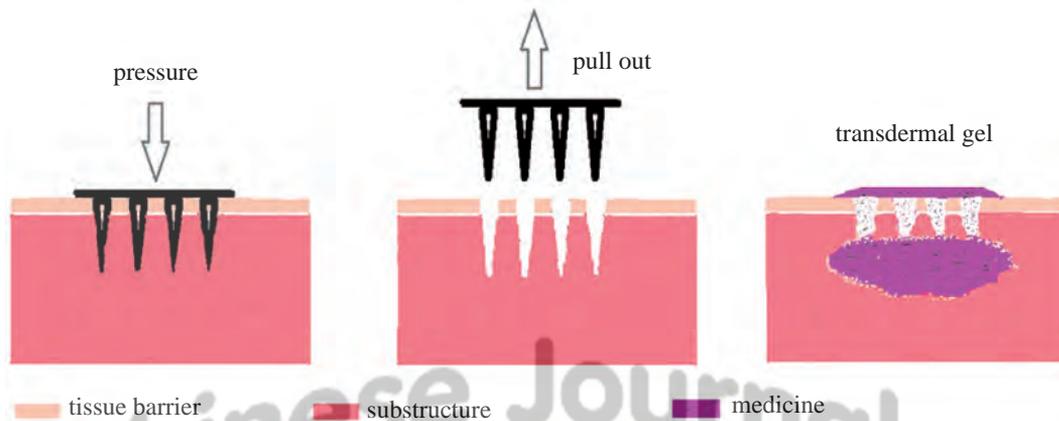
729 灯盏乙素昔元和二氢杨梅素对人 CD3⁺ T 淋巴细胞的影响.....
严伟杰, 杨兆祥, 魏晓慧, 徐宇虹*
 Effects of Scutellarein and Dihydromyricetin on Human CD3⁺ T Lymphocytes.....
YAN W J, YANG Z X, WEI X H, XU Y H*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.009



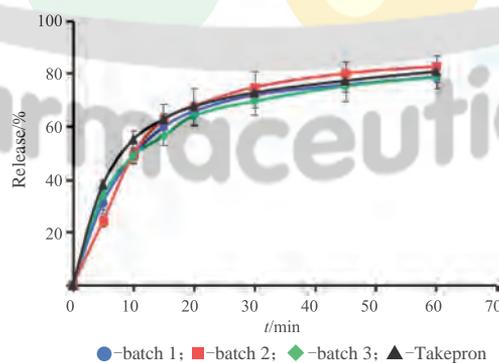
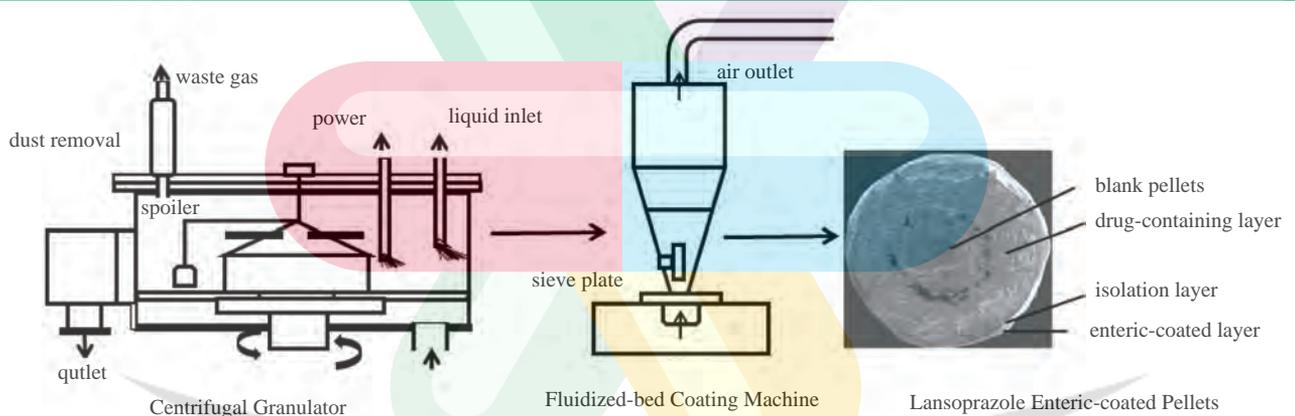
735 检测方法对利斯的明透皮贴剂体外释放的影响及体外渗透与体内相关性的评价.....
陈亚楠, 汪 晴*
 Effect of Determination Method on *in vitro* Release Profiles of Rivastigmine Transdermal Patches and Correlation between Penetration *in vitro* and Absorption *in vivo*.....
CHEN Y N, WANG Q*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.010



741 微针技术联合微乳型凝胶对黄芪多糖经皮渗透率影响的考察.....巫传玲, 邓晶晶*
 Investigation on Transdermal Permeability of *Astragalus* Polysaccharide Microemulsion-based Gel
 Combined with Microneedle Technique.....WU C L, DENG J J*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.011

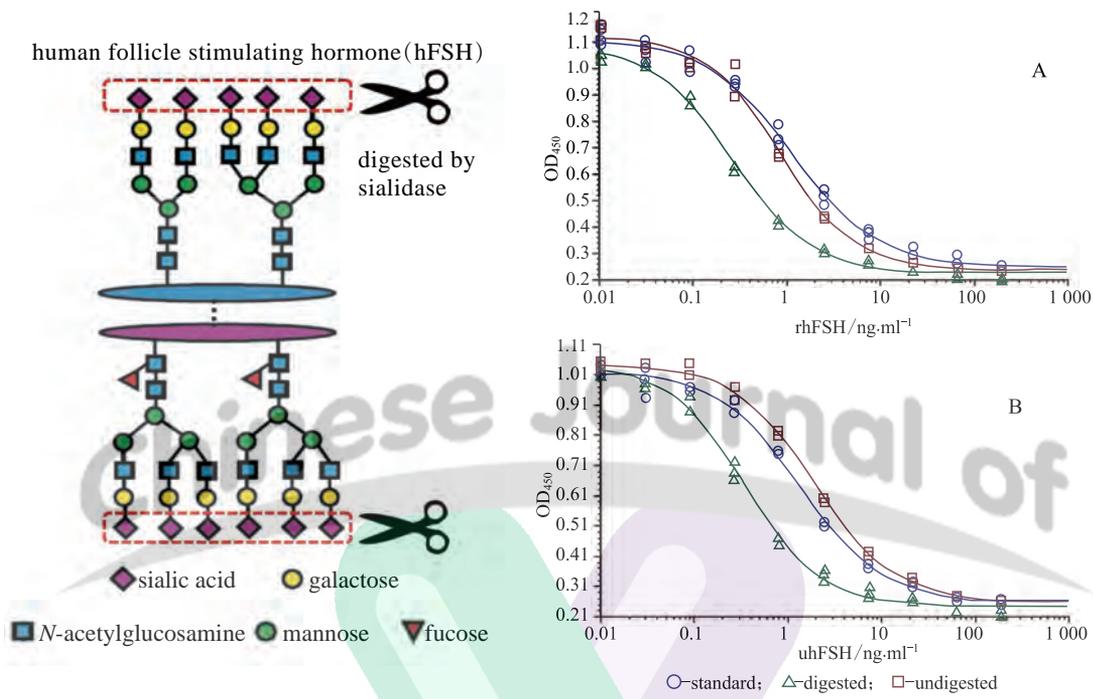


746 兰索拉唑肠溶微丸的研制和体外评价.....曹爱晨, 于双雨, 刘璐, 刘艳华*
 Preparation and *in vitro* Evaluation of Lansoprazole Enteric-coated Pellets.....
CAO A C, YU S Y, LIU L, LIU Y H*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.012

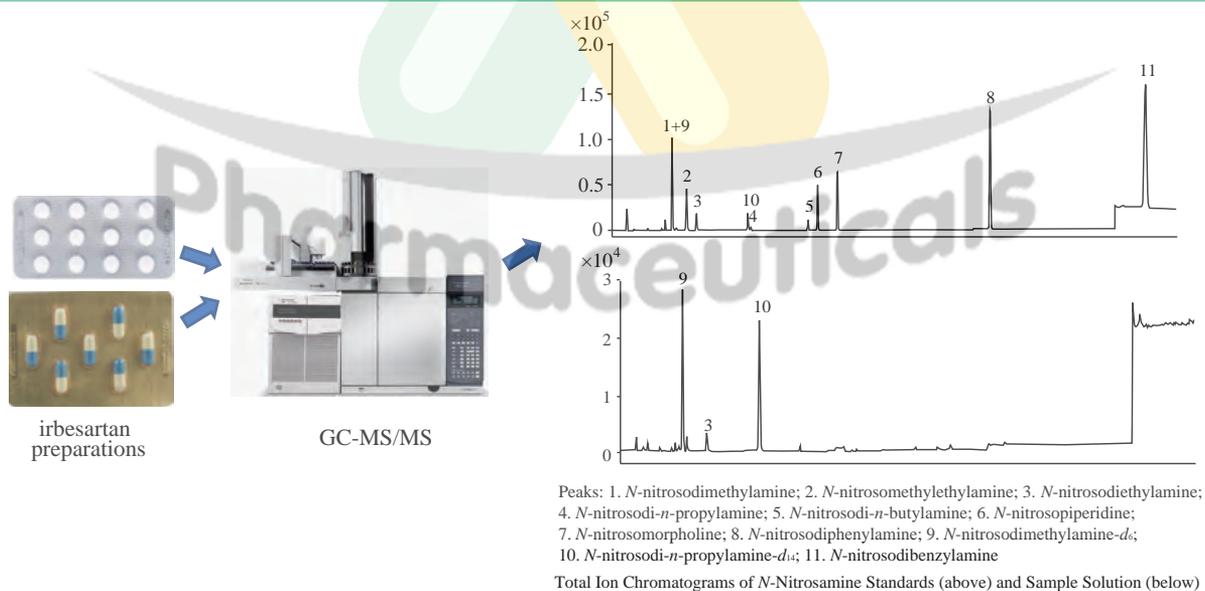


Release Curves of Three Batches of the Optimal Pellets in pH 6.8 PBS

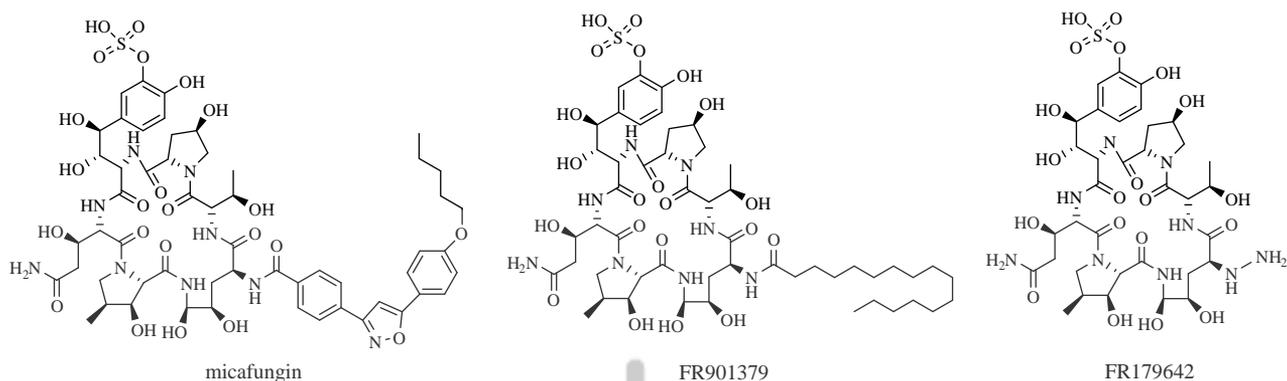
753 唾液酸对人卵泡刺激素生物活性评价的影响……汪泓, 王灿, 王自强, 陈钢, 邵泓*
 Effect of Sialic Acid on Human Follicle Stimulating Hormone Bioactivity Assessment……
 ……………WANG H, WANG C, WANG Z Q, CHEN G, SHAO H*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.013



759 厄贝沙坦制剂中 N-亚硝胺类基因毒性杂质的 GC-MS/MS 测定……葛雨琦, 叶晓霞, 乐健, 杨永健, 王彦*
 Simultaneous Determination of Genotoxic N-Nitrosamine Impurities in Irbesartan Preparations by GC-MS/MS……
 ……………GE Y Q, YE X X, LE J, YANG Y J, WANG Y*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.014



- 784** 米卡芬净中间体 FR901379 的分离纯化.....李 敏, 谢新宇, 王晶珂, 郑学丽, 张雪霞*
 Separation and Purification of Micafungin Intermediate FR901379.....
LI M, XIE X Y, WANG J K, ZHENG X L, ZHANG X X*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.018



· 药学管理与信息 (Pharmaceutical Management & Information) ·

- 789** 小容量注射剂共线生产的质量风险控制研究.....田文淼, 梁 毅*
 Quality Risk Control Study on Co-line Production of Small Volume Injections.....
TIAN W M, LIANG Y*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.019

- 795** 基于风险评估的技术转移及其管理.....李 力, 丁满生, 路慧丽, 朱建伟*
 A Risk-based Approach in Technology Transfer and Management.....
LI L, DING M S, LU H L, ZHU J W*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.020

· 其他 ·

广告索引 (695)

Pharmaceuticals

中国医药工业杂志

ZHONGGUO YIYAO GONGYE ZAZHI

(月刊, 1970年11月创刊)

2020年第51卷 第6期 6月10日出版

版权所有



Monthly (Founded in 1970)

Vol.51 No.6 June 10, 2020

©All Rights Reserved

主管	上海医药工业研究院	Director	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry
主办	上海医药工业研究院 中国药学会 中国化学制药工业协会	Sponsor	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Chinese Pharmaceutical Association China Pharmaceutical Industry Association
协办	浙江海正集团有限公司 上海数图健康医药科技有限公司 山东罗欣药业集团股份有限公司 楚天科技股份有限公司 鲁南制药集团股份有限公司 广东东阳光药业有限公司	Assist Sponsor	Zhejiang Hisun Group Co., Ltd. China Pharmadl (Shanghai) Co., Ltd. Shandong Luoxin Pharmaceutical Group Stock Co., Ltd. Truking Technology Limited Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd. Sunshine Lake Pharma Co., Ltd., HEC Pharma Group
总编辑	周伟澄	Managing Editor	ZHOU Weicheng
副总编辑	黄志红, 刘玲玲	Associate Managing Editor	HUANG Zhihong, LIU Lingling
责任编辑	王盈, 许文倩	Executive Editor	WANG Ying, XU Wenqian
编辑出版	《中国医药工业杂志》编辑部	Edited by	Editorial Board of <i>Chinese Journal of Pharmaceuticals</i>
编辑部地址	上海市北京西路1320号(200040)	Address for Foreign Subscriber	1320 Beijing Road (W), Shanghai 200040, China
电话	021-62793151	Tel	0 086-21-62793151
传真	021-62473200	Fax	0 086-21-62473200
电子邮件	cjph@pharmadl.com	E-mail	cjph@pharmadl.com
网址	www.cjph.com.cn www.pharmadl.com	Web Site	http://www.cjph.com.cn http://www.pharmadl.com
广告发行联系			
电话	021-62126987, 62473200	Tel	021-62126987, 62473200
传真	021-62473200	Fax	021-62473200
电子邮件	ouyy@pharmadl.com	E-mail	ouyy@pharmadl.com
印刷	上海欧阳印刷厂有限公司	Printed by	Shanghai Ouyang Printing Co., Ltd.
发行范围	公开发行		
国内发行	上海市邮政公司报刊发行局	Domestic Distributed by	Shanghai Post Company Newspaper Issuance Bureau
国外发行	中国国际图书贸易集团有限公司 (北京399信箱, 100044)	Abroad Distributed by	China International Book Trading Corporation (P.O.Box 399, Beijing 100044, China)
国内订阅	全国各地邮政局		

* 通信联系人; 如为第一作者则不加“*”号。征稿简则刊登于当年第1期 *To whom correspondence should be addressed

[期刊基本参数] CN 31-1243/R *1970*m*A4*142*zh*P*20.00* *20*2020-06

版权归《中国医药工业杂志》编辑部所有, 除非特别声明, 本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会的观点。

ISSN 1001-8255

CN 31-1243/R

国内邮发代号 4-205

国外邮发代号 M6070

CODEN: ZYGZEA

国内定价: 每册 20.00 元



微信号: cjph-cjph



微博: weibo.com/cjph

《中国医药工业杂志》第十六届编辑委员会

EDITORIAL BOARD OF 《CHINESE JOURNAL OF PHARMACEUTICALS》

(以姓名拼音为序)

名誉主编 (HONORARY EDITOR-IN-CHIEF)

桑国卫* (SANG Guowei)

主任编委 (EDITOR-IN-CHIEF)

陈芬儿* (CHEN Fener)

顾问 (CONSULTANT)

白 骅 (BAI Hua)

孔德云 (KONG Deyun)

吴晓明 (WU Xiaoming)

陈凯先* (CHEN Kaixian)

李绍顺 (LI Shaoshun)

杨胜利* (YANG Shengli)

丁 健* (DING Jian)

沈竞康 (SHEN Jingkang)

朱宝泉 (ZHU Baoquan)

侯惠民* (HOU Huimin)

王广基* (WANG Guangji)

副主任编委 (ASSOCIATE EDITOR-IN-CHIEF) (△常务副主任编委)

陈代杰[△] (CHEN Daijie)

林剑秋 (LIN Jianqiu)

王军志* (WANG Junzhi)

张 霁 (ZHANG Ji)

周伟澄[△] (ZHOU Weicheng)

陈桂良 (CHEN Guiliang)

潘广成 (PAN Guangcheng)

魏树源 (WEI Shuyuan)

张万斌 (ZHANG Wanbin)

朱建伟 (ZHU Jianwei)

胡文浩 (HU Wenhao)

唐 岳 (TANG Yue)

杨 超 (YANG Chao)

张绪穆 (ZHANG Xumu)

李明华 (LI Minghua)

王 浩[△] (WANG Hao)

张贵民 (ZHANG Guimin)

周 斌 (ZHOU Bin)

编委 (MEMBER OF THE EDITORIAL BOARD)

蔡正艳 (CAI Zhengyan)

程卯生 (CHENG Maosheng)

范代娣 (FAN Daidi)

甘 勇 (GAN Yong)

何 军 (HE Jun)

胡又佳 (HU Youjia)

李范珠 (LI Fanzhu)

刘玲玲 (LIU Lingling)

龙亚秋 (LONG Yaqiu)

罗国强 (LUO Guoqiang)

潘红娟 (PAN Hongjuan)

沈 琦 (SHEN Qi)

孙小强 (SUN Xiaoqiang)

涂家生 (TU Jiasheng)

王 健 (WANG Jian)

王玉成 (WANG Yucheng)

吴 勇 (WU Yong)

杨苏蓓 (YANG Subei)

张福利 (ZHANG Fuli)

张卫东 (ZHANG Weidong)

赵文杰 (ZHAO Wenjie)

钟为慧 (ZHONG Weihui)

朱建英 (ZHU Jianying)

常 艳 (CHANG Yan)

邓卫平 (DENG Weiping)

方 浩 (FANG Hao)

干荣富 (GAN Rongfu)

何 菱 (HE Ling)

黄则度 (HUANG Zedu)

李建其 (LI Jianqi)

刘新泳 (LIU Xinyong)

卢 懿 (LU Yi)

罗一斌 (LUO Yibin)

潘卫三 (PAN Weisan)

宋秋玲 (SONG Qiuling)

孙 逊 (SUN Xun)

涂 涛 (TU Tao)

王 旻 (WANG Min)

吴传斌 (WU Chuanbin)

吴勇琪 (WU Yongqi)

杨玉社 (YANG Yushu)

张启明 (ZHANG Qiming)

张英俊 (ZHANG Yingjun)

郑高伟 (ZHENG Gaowei)

周虎臣 (ZHOU Huchen)

朱雪焱 (ZHU Xueyan)

陈少欣 (CHEN Shaoxin)

丁锦希 (DING Jinxi)

冯 军 (FENG Jun)

古双喜 (GU Shuangxi)

何严萍 (HE Yanping)

黄志红 (HUANG Zhihong)

李三鸣 (LI Sanming)

刘 忠 (LIU Zhong)

陆伟根 (LU Weigen)

吕 扬 (LÜ Yang)

朴虎日 (PIAO Huri)

苏为科 (SU Weike)

汤 磊 (TANG Lei)

屠永锐 (TU Yongrui)

王全瑞 (WANG Quanrui)

吴 彤 (WU Tong)

杨立荣 (YANG Lirong)

殷 明 (YIN Ming)

张庆伟 (ZHANG Qingwei)

张志荣 (ZHANG Zhirong)

郑起平 (ZHENG Qiping)

周建平 (ZHOU Jianping)

庄春林 (ZHUANG Chunlin)

陈笑艳 (CHEN Xiaoyan)

董 琳 (DONG Lin)

傅 磊 (FU Lei)

郭 文 (GUO Wen)

胡海峰 (HU Haifeng)

金 拓 (JIN Tuo)

刘东飞 (LIU Dongfei)

柳 红 (LIU Hong)

陆伟跃 (LU Weiyue)

马 璟 (MA Jing)

邵 蓉 (SHAO Rong)

孙会敏 (SUN Huimin)

陶 涛 (TAO Tao)

王建新 (WANG Jianxin)

王 彦 (WANG Yan)

吴 伟 (WU Wei)

杨 明 (YANG Ming)

尤启冬 (YOU Qidong)

张庆文 (ZHANG Qingwen)

赵临襄 (ZHAO Linxiang)

钟大放 (ZHONG Dafang)

周一萌 (ZHOU Yimeng)

*院士

《中国医药工业杂志》编辑部成员 (EDITORIAL STAFF)

总编辑 (Managing Editor): 周伟澄 (ZHOU Weicheng)

副总编辑 (Associate Managing Editor): 黄志红 (HUANG Zhihong), 刘玲玲 (LIU Lingling)

责任编辑 (Editor): 刘玲玲 (LIU Lingling) (兼), 王 盈 (WANG Ying), 许文倩 (XU Wenqian), 刘艺楠 (LIU Yinan)

美术编辑 (Art Editor): 沈建成 (SHEN Jiancheng), 陆燕玲 (LU Yanling), 钱苗苗 (QIAN Miaomiaomiao)

编辑助理 (Editorial Assistant): 韦旭华 (WEI Xuhua)

广告、发行负责 (Advertisement Manager): 李朝凤 (LI Chaofeng), 刘敬岩 (LIU Jingyan), 金 雷 (JIN Lei), 欧阳怡 (OUYANG Yi)

厄贝沙坦制剂中 *N*-亚硝胺类基因毒性杂质的 GC-MS/MS 测定

葛雨琦^{1,2,3}, 叶晓霞^{2,3}, 乐健^{2,3}, 杨永健^{2,3}, 王彦^{2*}

(1. 复旦大学药学院, 上海 201203; 2. 上海市食品药品检验所, 上海 201203;

3. 国家药品监督管理局化学药品制剂质量分析重点实验室, 上海 201203)

摘要: 建立了厄贝沙坦制剂中 9 种 *N*-亚硝胺类基因毒性杂质的气相色谱串联三重四极杆质谱 (GC-MS/MS) 检测方法。采用 VF-WAXms 毛细管色谱柱 (0.25 mm×30 m×0.5 μm) 对系列 *N*-亚硝胺化合物进行分离。结果显示 9 种 *N*-亚硝胺化合物在所测浓度范围内线性关系良好, 定量限为 0.3 ~ 78.3 ng/ml, 检测限为 0.1 ~ 20.6 ng/ml。平均加样回收率为 81.43% ~ 123.2%, RSD ≤ 7.80% (*n*=3)。将所建方法应用于检测厄贝沙坦制剂, 检出 *N*-亚硝基二乙胺、*N*-亚硝基吗啉和 *N*-亚硝基二苯胺。*N*-亚硝基二乙胺检出范围为 0.11 ~ 0.54 μg/g, *N*-亚硝基吗啉检出范围为 0.16 ~ 0.17 μg/g, *N*-亚硝基二苯胺检出范围为 0.11 ~ 1.95 μg/g。所建方法灵敏度高、准确度高, 可同时测定厄贝沙坦制剂中 9 种 *N*-亚硝胺杂质, 为其质量控制提供参考。

关键词: *N*-亚硝胺; 厄贝沙坦制剂; 基因毒性杂质; 气相色谱串联质谱法

中图分类号: TQ460.72; O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1001-8255(2020)06-0759-06

DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2020.06.014

Simultaneous Determination of Genotoxic *N*-Nitrosamine Impurities in Irbesartan Preparations by GC-MS/MS

GE Yuqi^{1,2,3}, YE Xiaoxia^{2,3}, LE Jian^{2,3}, YANG Yongjian^{2,3}, WANG Yan^{2*}

(1. School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203; 2. Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203;

3. Key Lab. for Quality Analysis of Chemical Drug Preparations, National Medical Products Administration, Shanghai 201203)

ABSTRACT: A GC-MS/MS method was established for the determination of nine genotoxic *N*-nitrosamine impurities in irbesartan preparations. The separation of a series of *N*-nitrosamines was performed on a VF-WAXms capillary column (0.25 mm×30 m×0.5 μm). The results showed that nine *N*-nitrosamines were linear in the test concentration ranges. The quantification limits of nine *N*-nitrosamines were 0.3 - 78.3 ng/ml and the detection limits were 0.1 - 20.6 ng/ml. The average recoveries of nine *N*-nitrosamines were between 81.43% and 123.2%, with RSDs (*n*=3) no more than 7.80%. The proposed method was applied to investigate different irbesartan preparations, and *N*-nitrosodiethylamine was detected in the range of 0.11 - 0.54 μg/g, *N*-nitrosomorpholine was detected in the range of 0.16 - 0.17 μg/g, *N*-nitrosodiphenylamine was detected in the range of 0.11 - 1.95 μg/g. This method has good sensitivity and high accuracy, and it is suitable for the simultaneous determination of nine *N*-nitrosamines in irbesartan preparations, which provides a reliable method for the quality control of the drug.

Key Words: *N*-nitrosamine; irbesartan preparation; genotoxic impurity; GC-MS/MS

收稿日期: 2020-04-15

基金项目: 国家药典委员会综改课题——基因毒性杂质通用检测方法的建立 (ZG2018-4-03)、上海市市场监督管理局 2020 年度科技项目计划——药品中基因毒性杂质质量控制研究 (2019-53)

作者简介: 葛雨琦 (1994—), 女, 硕士研究生, 专业方向: 药物分析及质量控制。

Tel: 18101828661

E-mail: 17211030028@fudan.edu.cn

通信联系人: 王彦 (1966—), 女, 主任药师, 从事药物分析及质量控制研究。

Tel: 13611646889

E-mail: wangyan_yjs@smda.sh.cn

N-亚硝胺类化合物是一类具有高致突变性和强致癌性的基因毒性杂质, 痕量水平即可造成 DNA 和染色体损伤^[1-4]。此类化合物一旦进入人体便可迅速通过细胞色素 P450 酶代谢活化, 生成活性烷基和小分子醛, 进而与 DNA 和蛋白质结合, 产生破坏 DNA 的复制及损伤蛋白质结构等作用。世界卫生组织癌症研究机构发布的致癌物清单中, 包括 *N*-亚硝基二甲胺 (*N*-nitrosodimethylamine, **1**)、*N*-

亚硝基甲基乙基胺 (*N*-nitrosomethylethylamine, **2**)、*N*-亚硝基二乙胺 (*N*-nitrosodiethylamine, **3**)、*N*-亚硝基二丙胺 (*N*-nitrosodi-*n*-propylamine, **4**)、*N*-亚硝基二丁胺 (*N*-nitrosodi-*n*-butylamine, **5**)、*N*-亚硝基哌啶 (*N*-nitrosopiperidine, **6**)、*N*-亚硝基吗啉 (*N*-nitrosomorpholine, **7**)、*N*-亚硝基二苯胺 (*N*-nitrosodiphenylamine, **8**) 等多种 *N*-亚硝胺类化合物^[5]。

高血压是一种临床常见的慢性病,目前高血压的治疗主要依靠长期服用降压药物以降低血压,减轻对心、脑、肾等器官的损伤,防止动脉粥样硬化等并发症的出现,缬沙坦、厄贝沙坦、氯沙坦钾、替米沙坦等均为临床常用的降压药物^[3]。2018年7月,浙江华海药业股份有限公司宣布在其生产的缬沙坦原料药中检出了基因毒性杂质**1**,随后欧盟也宣布在印度制药企业生产的厄贝沙坦原料药、氯沙坦钾原料药中分别检出了**3**和*N*-亚硝基-*N*-甲基-4-氨基丁酸。此外,药物制剂中的*N*-亚硝胺类基因毒性杂质除了来自原辅料外,还可能来自于生产过程和药品包装材料。由于涉及全球十亿高血压患者,并且患者需要长期、较大剂量的服用此类药物,各国药品监管部门高度关注沙坦类药物的安全性。中国药典委员会、美国FDA、欧洲药品监督管理局(EDQM)纷纷发布GC-MS/MS、LC-MS/MS等多种检测方法以测定沙坦类药物中**1**、**3**等*N*-亚硝胺类基因毒性杂质^[6-8]。EDQM于近日对外发布了*N*-亚硝胺分析通则的征求意见稿^[9],并提供了3种测定*N*-亚硝胺类基因毒性杂质的方法。我国的药学研究人员也积极开展相关研究,如姜俊等开发了一种顶空气相色谱质谱联用法检测厄贝沙坦原料药中的**1**和**3**^[10],但检测的杂质种类均较少。

为全面检测厄贝沙坦制剂中可能存在的*N*-亚硝胺类基因毒性杂质,本试验以*N*-亚硝基二甲胺-*d*₆ (*N*-nitrosodimethylamine-*d*₆, **9**)和*N*-亚硝基二丙胺-*d*₁₄ (*N*-nitrosodi-*n*-propylamine-*d*₁₄, **10**)为内标,建立了厄贝沙坦制剂中**1**、**2**、**3**、**4**、**5**、**6**、**7**、**8**、*N*-亚硝基二苯胺 (*N*-nitrosodibenzylamine, **11**) 9种常见*N*-亚硝胺类基因毒性杂质的GC-MS/MS检

测方法,并将其应用于检测厄贝沙坦制剂中的*N*-亚硝胺类基因毒性杂质。

1 仪器与试剂

7890型气相色谱仪、7000A型三重四极杆质谱检测器(美国Agilent公司);BP211D型精密天平(德国Sartorius公司)。

1对照品(纯度100%,批号218061274)、**2**对照品(纯度100%,批号218071088)均购于美国AccuStandard公司;**3**对照品(纯度99.0%,批号L190S26)、**4**对照品(纯度99.0%,批号G133155)、**5**对照品(纯度99.4%,批号G135577)、**6**对照品(纯度100%,批号171236ME)、**7**对照品(纯度99.9%,批号107501)、**8**对照品(纯度98.1%,批号132388)均购于德国Dr. Ehrenstorfer公司;**9**对照品(纯度100%,批号CDGG-116935-01)、**10**对照品(纯度100%,批号CDGG-116940-01)均购于美国o2si公司;**11**对照品(北京百灵威科技有限公司,纯度98.0%,批号LVA0R51);供试品包括厄贝沙坦片(规格150 mg)、厄贝沙坦分散片(规格150 mg、75 mg)、厄贝沙坦氢氯噻嗪片(规格150 mg)、厄贝沙坦氢氯噻嗪分散片(规格150 mg)、厄贝沙坦胶囊(规格150 mg)、厄贝沙坦氢氯噻嗪胶囊(规格150 mg),其中3种复方制剂中氢氯噻嗪含量均为12.5 mg。

2 方法与结果

2.1 色谱及质谱条件

2.1.1 色谱条件

色谱柱 VF-WAXms 毛细管柱 (0.25 mm×30 m×0.5 μm);载气 高纯氮,恒压 127.55 kPa;温度程序升温,50℃保持1 min,以15℃/min升至130℃,保持2 min,再以20℃/min升至250℃,保持10 min;进样口温度230℃;进样量1 μl;传输线温度280℃。

2.1.2 质谱条件

离子源 电子轰击离子源 (electron impact ion source, EI);溶剂延迟4 min;EI电压70 eV;离子源温度230℃;采集方式 多反应监测 (multiple reaction monitor, MRM) 模式,参数见表1。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的配制

内标储备液:精密量取**9**和**10**对照品适量,

表1 GC-MS/MS 的MRM 模式参数
Tab.1 MRM Parameters of GC-MS/MS

化合物	保留时间/min	定量离子对 (碰撞能量/eV)	定性离子对 (碰撞能量/eV)
1	6.5	m/z 74→m/z 44 (10)	m/z 74→m/z 42 (30)
9	6.5	m/z 80→m/z 50 (5)	m/z 80→m/z 46 (20)
2	7.0	m/z 88→m/z 71 (5)	m/z 88→m/z 42 (20)
3	7.2	m/z 102→m/z 85 (5)	m/z 102→m/z 29 (5)
10	9.1	m/z 144→m/z 126 (0)	m/z 144→m/z 50 (10)
4	9.2	m/z 70→m/z 43 (5)	m/z 130→m/z 113 (0)
5	11.2	m/z 116→m/z 99 (5)	m/z 116→m/z 74 (15)
6	11.6	m/z 114→m/z 84 (10)	m/z 114→m/z 41 (15)
7	12.3	m/z 116→m/z 86 (0)	m/z 116→m/z 56 (10)
8	17.8	m/z 168→m/z 167 (5)	m/z 168→m/z 166 (30)
11	23.4	m/z 91→m/z 65 (15)	m/z 91→m/z 39 (30)

置同一 10 ml 量瓶中, 用甲醇定容, 摇匀, 作为 9、10 内标贮备液 (2 μg/ml)。

内标溶液: 精密量取 9 内标贮备液、10 内标贮备液适量, 置同一 100 ml 量瓶中, 用甲醇定容, 摇匀, 作为内标溶液 (9 40 ng/ml, 10 60 ng/ml)。

系列浓度线性溶液: 精密称取 1、2、3、4、5、6、7、8、11 对照品适量, 精密加入 9 内标贮备液 (2 μg/ml)、10 内标贮备液 (2 μg/ml) 适量, 加甲醇溶解并定量稀释至浓度均为 5、10、20、50、100、150、200 ng/ml 的系列浓度线性溶液, 且每 1 ml 中均含 9 40 ng, 10 60 ng, 低温避光保存。

1、2、3 以 9 为内标进行计算; 其他化合物以 10 为内标进行计算。

2.2.2 供试品溶液的配制

取厄贝沙坦片 10 片, 精密称定, 研细。精密称取细粉适量 (约相当于厄贝沙坦原料药 200 mg), 精密加入内标溶液 2 ml。超声 5 min 后, 离心 (16 162×g) 5 min, 取上清液作为供试品溶液。平行制备 2 份测定。厄贝沙坦分散片、厄贝沙坦氢氯噻嗪片、厄贝沙坦氢氯噻嗪分散片同法处理。

取厄贝沙坦胶囊内容物 10 粒, 精密称定。精密称取胶囊内容物适量 (约相当于厄贝沙坦原料药 200 mg), 同上操作, 平行制备 2 份供试品溶液待测。厄贝沙坦氢氯噻嗪胶囊同法处理。

2.3 线性和灵敏度试验

取“2.2.1”项下系列浓度线性溶液分别进样, 记录色谱图 (100 ng/ml 线性溶液的色谱图见图 1A)。以各 N-亚硝胺化合物对照品与内标浓度比值

(x) 为横坐标, 各 N-亚硝胺化合物对照品与内标峰面积比值 (y) 为纵坐标进行线性回归, 所得线性方程见表 2, 在测定范围内, 各 N-亚硝胺化合物线性关系良好。

取“2.2.1”项下线性溶液 (100 ng/ml) 逐步稀释, 进样测定, 分别在信噪比 (S/N) 为 10、3 时检测定量限和检测限。结果显示 1、2、3、4、5、6、7、8、11 的定量限分别为 2.7、0.3、6.3、78.3、6.0、0.5、6.8、2.2、6.0 ng/ml, 检测限分别为 1.1、0.1、2.7、20.6、1.7、0.1、2.3、0.6、2.5 ng/ml。

表2 N-亚硝胺类化合物的线性试验结果¹⁾

Tab.2 Linearities of N-Nitrosamines

化合物	线性范围/ng·ml ⁻¹	线性方程
1	5.00~200.00	y=0.595 0x-0.014 6
2	5.00~200.00	y=0.471 4x-0.015 5
3	7.08~283.10	y=0.024 0x-5.926 9
4	78.30~247.50	y=0.061 8x+0.013 4
5	9.84~196.81	y=0.085 5x-0.002 0
6	5.00~200.00	y=2.209 1x-0.059 3
7	11.19~225.77	y=0.233 8x-0.009 5
8	13.15~262.91	y=3.279 6x-0.060 7
11	5.24~209.72	y=8.305 5x-0.083 8

注: ¹⁾ 由于除 1、2、6 对照品纯度为 100%, 其余杂质对照品的纯度均 <100%, 表中线性范围为实际称样质量与对照品纯度经过折算后得到的实际浓度范围

2.4 精密度试验

取“2.2.1”项下线性溶液 (50 ng/ml), 按“2.1”项下色谱与质谱条件分析, 连续进样 6 次, 计算峰面积的 RSD。结果显示 1、2、3、4、5、6、7、8、11 峰面积的 RSD 分别为 0.29%、0.39%、0.62%、2.01%、0.37%、1.70%、1.21%、1.33%、2.05%, 说明仪器精密度良好。

2.5 回收率试验

精密称取厄贝沙坦片供试品适量 (每份相当于厄贝沙坦原料药约 200 mg), 共 12 份, 分别精密加入 4 个浓度 (10、50、100、150 ng/ml) 的线性溶液 2 ml, 各 3 份, 按“2.2.2”项下方法操作, 制备加样回收率供试品溶液。分别进样测定, 结果如表 3 所示。平均加样回收率为 81.43%~123.2%, RSD ≤ 7.80%。

表 3 9 种 *N*-亚硝胺化合物的加样回收率/% ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)Tab.3 Recoveries in the Spiked Sample of Nine *N*-nitrosamines/% ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

化合物	10 ng/ml	50 ng/ml	100 ng/ml	150 ng/ml
1	108.5±3.48	97.93±0.82	96.32±0.17	98.12±0.68
2	103.3±1.76	97.95±0.34	97.47±0.86	100.6±1.02
3	105.8±1.44	99.02±2.10	98.91±2.72	101.8±0.90
4 ^b	-	121.2±1.23	119.7±4.15	114.0±8.03
5	122.1±3.27	112.8±1.10	112.1±3.71	109.1±2.74
6	109.0±6.23	97.66±1.90	98.81±1.23	99.38±2.00
7	110.0±2.10	98.70±2.82	97.57±1.76	100.2±2.10
8	123.2±0.87	113.5±6.30	117.6±2.58	114.5±8.74
11	111.6±4.02	99.17±4.70	91.71±2.12	81.43±6.35

注：^b10 ng/ml 水平远低于 4 的定量下限，因此未测定其加样回收率

2.6 样品含量测定

运用所建方法分别对厄贝沙坦片、厄贝沙坦胶囊、厄贝沙坦分散片、厄贝沙坦氢氯噻嗪片、厄贝沙坦氢氯噻嗪胶囊、厄贝沙坦氢氯噻嗪分散片进行检测。结果显示，在厄贝沙坦片中检出了 3、7，在厄贝沙坦胶囊、厄贝沙坦分散片、厄贝沙坦氢氯噻嗪片、厄贝沙坦氢氯噻嗪胶囊、厄贝沙坦氢氯噻嗪分散片中检出了 3，在厄贝沙坦氢氯噻嗪片中检出了 8。3 的检出范围为 0.11 ~ 0.54 $\mu\text{g/g}$ (见图 1C)，7 的检出范围为 0.16 ~ 0.17 $\mu\text{g/g}$ ，8 的检出范围为 0.11 ~ 1.95 $\mu\text{g/g}$ 。其他 *N*-亚硝胺类化合物未检出。

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

配制浓度为 100 ng/ml 的线性溶液，参考中国药典委员会发布的 1、3 检测法^[6]，选择 VF-WAXms 毛细管色谱柱 (0.25 mm×30 m×0.5 μm) 对升温程序进行优化，使各化合物在较短的时间内实现良好分离。

N-亚硝胺类为极性化合物，DB-WAX 毛细管色谱柱 (0.25 mm×30 m×0.25 μm) 和 VF-WAXms 毛细管色谱柱 (0.25 mm×30 m×0.5 μm) 均适用。因此配制浓度为 100 ng/ml 的线性溶液，比较 *N*-亚硝胺类化合物在 2 种色谱柱上的保留情况。结果显示 2 种色谱柱上各化合物均具有较好的分离度，但 DB-WAX 色谱柱的色谱峰略有拖尾。VF-WAXms 色谱柱的色谱峰尖锐对称，并且是质谱专用柱，柱流失低，具有较低的背景噪声，因此用其开展后续研究。

3.2 质谱条件的选择

配制浓度为 30 $\mu\text{g/ml}$ 的单一对照品溶液，通过产物离子扫描模式 (product scan)，考察 *N*-亚硝胺类化合物对照品及同位素内标的质谱定量参数，包括定性离子对、定量离子对和碰撞能量的选择。优化后的 MRM 参数见表 1。

配制浓度为 100 ng/ml 的线性溶液，参考 FDA 发布的检测方法^[8]，比较 30、70 eV 电子轰击离子源电压，没有发现明显差异，因此仍采用 70 eV 作为电子轰击离子源电压。

3.3 检测结果的分析

化合物的每日摄入量限值与化合物的毒理学数据相关，测定结果中 8 的含量大于 1 $\mu\text{g/g}$ ，Carcinogenic Potency Database (CPDB 数据库) 中的毒理学数据显示 8 的 TD_{50} 值为 167 $\text{mg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ ^[11]，采用线性外推法计算体质量 50 kg 患者十万分之一患癌风险的每日摄入量限值 ($\text{AI}=\text{TD}_{50}\times 2\times 50\times 10^{-6}$) 为 167 μg 。在厄贝沙坦每日最大给药剂量 300 mg 的情况下，厄贝沙坦制剂中的杂质 8 不影响用药安全。3、7 的含量虽然较低，但 CPDB 数据库中的毒理学数据显示 3、7 的 TD_{50} 值分别为 0.027、0.109 $\text{mg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ ^[11]，同法计算可知体质量 50 kg 患者十万分之一患癌风险的每日摄入量限值分别为 0.027 和 0.109 μg 。与杂质 8 相比，厄贝沙坦中杂质 3、7 的安全风险更大。此外，厄贝沙坦生产过程中以叠氮化钠环合四唑环^[12]，该步反应需要使用淬灭剂 (如亚硝酸钠)，生产过程中的微量胺类杂质可能与亚硝酸钠发生反应导致 3、7、8 杂质的产生。因此在生产过程中应加强监控，控制杂质含量，保障药物安全。

4 结论

本研究建立了 GC-MS/MS 法测定 9 种 *N*-亚硝胺化合物，并完成相关方法学验证，再将所建方法应用于检测厄贝沙坦制剂，结果显示检出 3 种 *N*-亚硝胺杂质，分别为 3、7、8。厄贝沙坦中已经证实可能存在 3，但 7 和 8 均为首次检出。所建立的厄贝沙坦制剂中系列 *N*-亚硝胺杂质的检测方法操作简便，结果准确，具有良好的应用前景，有助于



A: 100 ng/ml 的线性溶液, B: 空白溶剂, C: 厄贝沙坦胶囊供试品溶液,
D: 厄贝沙坦片供试品溶液, E: 厄贝沙坦氢氯噻嗪片供试品溶液
1-1; 2-2; 3-3; 4-4; 5-5; 6-6; 7-7; 8-8; 9-9; 10-10; 11-11

图 1 GC-MS/MS 色谱图

Fig.1 GC-MS/MS Chromatograms

加强厄贝沙坦制剂中 *N*-亚硝胺类基因毒性杂质的市场监管, 保障药品质量安全。

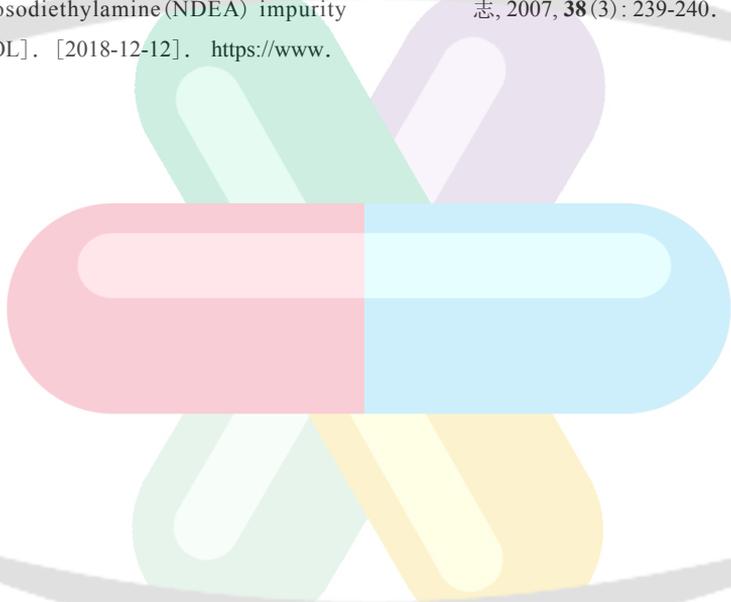
参考文献:

[1] MILLS A L, ALEXANDER M. *N*-Nitrosamine formation by cultures of several microorganisms [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1976, 31(6): 892-895.
[2] ROUX J L, GALLARD H, CROUE J, *et al.* NDMA formation by chloramination of ranitidine: kinetics and

mechanism [J]. *Environ Sci Technol*, 2012, 46(20): 11095-11103.

[3] BUNKAN A, HETZLER J, MIKOVINY T, *et al.* The reactions of *N*-methylformamide and *N,N*-dimethylformamide with OH and their photo-oxidation under atmospheric conditions: experimental and theoretical studies [J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2015, 17(10): 7046-7059.
[4] SENTHONG P, BORIBOON U. Evaluation of occupational exposure to nitrosamine, carbon black and dust in rubber

- processing industry [J]. *Int J Occup Environ Med*, 2017, **8**(3): 181-183.
- [5] 国家食品药品监督管理局. 世界卫生组织国际癌症研究机构致癌物清单[EB/OL]. [2017-10-30]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2068/329742.html>.
- [6] 国家药典委员会. 关于缬沙坦国家标准修订稿的公示(第二次)[EB/OL]. [2019-01-20]. <http://www.chp.org.cn/view/ff80808167f36c8401680c3d64812849?a=bzhxyp>.
- [7] FDA. GC/MS headspace method for detection of NDMA in valsartan drug substance and drug products [EB/OL]. [2019-01-25]. <https://www.fda.gov/media/115965/download>.
- [8] FDA. Combine direct injection *N*-nitrosodimethylamine (NDMA) and *N*-nitrosodiethylamine(NDEA) impurity assay by GC/MS [EB/OL]. [2018-12-12]. <https://www.fda.gov/media/117807/download>.
- [9] EDQM. Launches a public consultation on a new general chapter for the analysis of *N*-nitrosamines [EB/OL]. [2020-04-07]. <https://www.edqm.eu/en/news/ph-eur-launches-public-consultation-new-general-chapter-analysis-n-nitrosamines>.
- [10] 姜俊, 邹韵, 孙丽鹏, 等. 顶空气相色谱质谱联用测定厄贝沙坦中遗传毒性杂质*N*-亚硝基二甲胺和*N*-亚硝基二乙胺[J]. *分析实验室*, 2019, **39**(2): 245-248.
- [11] LOIS S G, BRUCE N A, LESLIE B, *et al.* The carcinogenic potency database [EB/OL]. [2011-09-01]. <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>.
- [12] 岑均达, 马霞. 厄贝沙坦的合成[J]. *中国医药工业杂志*, 2007, **38**(3): 239-240.



Pharmaceuticals