



药物基因毒性杂质分析检测解决方案

雷尼替丁中的 N- 亚硝基化合物

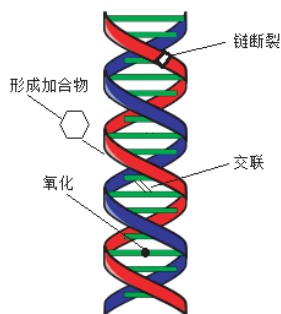
ThermoFisher
SCIENTIFIC

药物中的杂质是指药物中存在的无治疗作用、或影响药物的稳定性和疗效、甚至对人体健康有害的物质。近期，基因毒性杂质风波再起，这一次的主角是雷尼替丁，FDA 已在某些企业 Zantac（雷尼替丁）等药物中发现 N-nitrosodimethylamine（NDMA）N-二甲亚胺可疑杂质，并正在研究确定受污染成分的来源及其在这些药物中的风险，为此多家药企启动了雷尼替丁类药物的全球召回。雷尼替丁中发现的基因毒性杂质为 N-亚硝基二甲胺（NDMA），此类杂质并不是第一次出现，2018 沸沸扬扬的沙坦类药物也涉及到该基因毒性杂质。

近日，EMA 发布了《EMA 建议药企采取步骤避免人用药物中的亚胺（EMA/511347/2019）》文件，要求药企对所有化学合成药物的药品质量、安全性和有效性进行最终监督，以对亚胺的潜在污染进行风险评估。

什么是基因毒性杂质？

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。可能产生基因毒性杂质的环节包括新药合成，原料纯化，存储运输（与包装物接触）等。



DNA 的损伤

人类基因组是由大约 3×10^9 个碱基组成的序列，只有四种碱基，即腺嘌呤（A）、胞嘧啶（C）、鸟嘌呤（G）和胸腺嘧啶（T）

基因毒性杂质 N-亚硝基化合物包括哪些

N-二甲亚胺（NDMA）是一种致癌物，其产生是由多个因素的组合导致的，通过生产工艺中特定的步骤顺序产生。世界卫生组织国际癌症研究机构在 2017 年公布的致癌物清单，NDMA 在 2A 类致癌物清单中，具刺激作用。长期接触对肝、肾有损害。N-亚硝基化合物包括：

- N-nitrosodimethylamine（NDMA）
- N-nitrosodiethylamine（NDEA）
- N-nitrosoethylisopropylamine（NEIPA）
- N-nitrosodiisopropylamine（NDIPA）
- N-nitrosodibutylamine（NDBA）
- N-nitroso-N-methyl-4-aminobutyric acid（NMBA）

现有法规指南

- 欧洲药品评审组织指南（EMA）
- 美国药典（USP）
- 食品药品监督管理局（FDA）
- 人用药物注册技术要求国际协调会议指南（ICH）

药物中基因毒性杂质的分析

由于待分析物的特殊性，分析方法面临多重挑战：

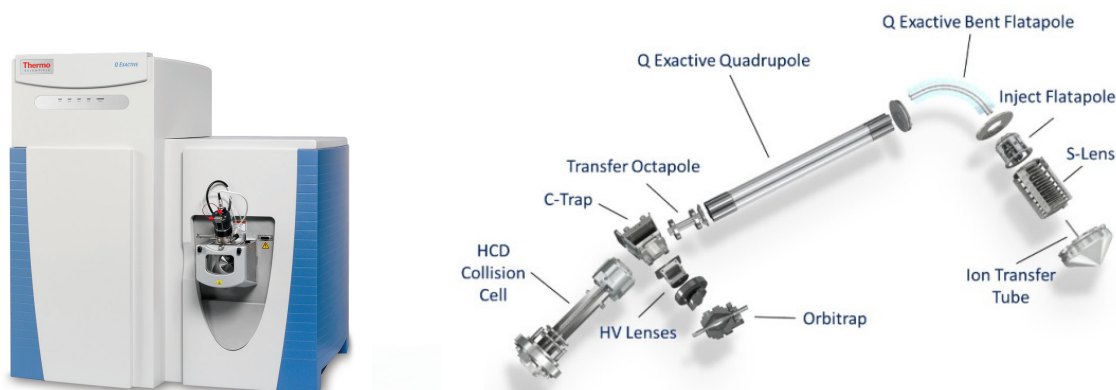
- 许多基因毒性杂质的化学性质很不稳定。
- 检测方法缺乏灵敏度，传统分析方法的定量限在主成分的 0.05% 和 0.03% 之间
- 干扰大，极高浓度的原料药里同时存在的基因毒性杂质

2019年9月24日，FDA 紧急更新了雷尼替丁中 NDMA 的检测方法

方法一：

以 Orbitrap 高分辨质谱平台检测 NDMA(FY19-177-DPA-S), 并可拓展同时检测六种 N- 亚硝基化合物 (FY19-107-DPA-S)

Thermo Scientific™ Q Exactive™ 系列四极杆 - 静电场轨道阱高分辨串联质谱是一款组合型 Quadrupole Exactive (QE) 静电场轨道阱高分辨质谱, 该类质谱系统地将四极杆母离子选择性与高分辨率和准确质量数 (HRAM) Orbitrap 检测相结合, 提供出色性能和多功能性。

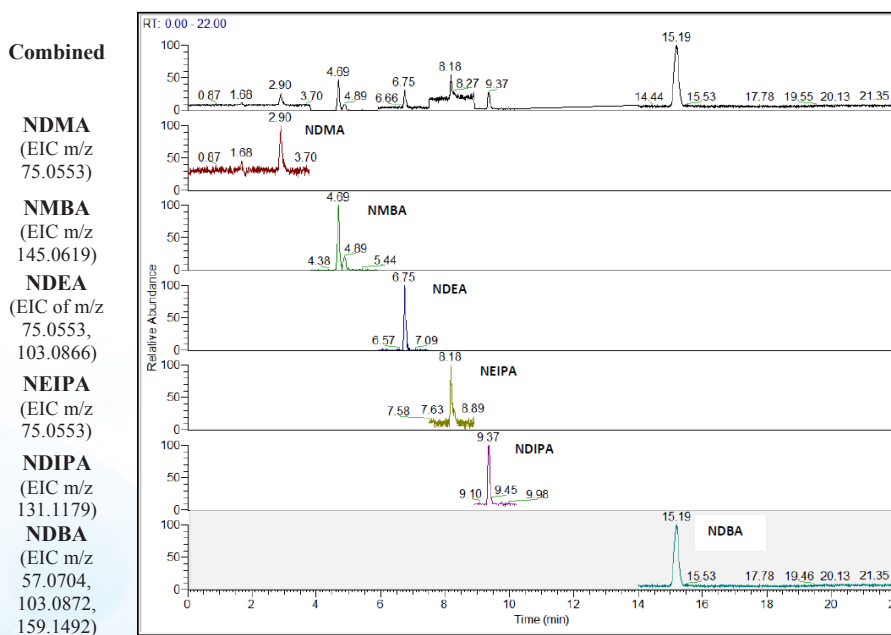


本方案充分利用 Q Exactive 静电场轨道阱高分辨质谱保持高分辨的情况下不损失定量灵敏度的特点, 运用 PRM(平行反应监测) 及 SIM (选择离子监测) 同时扫描来实现基因毒的定量; 再根据 Q Exactive 系列质谱能够实现快速正负切换的特点, 方法采用正负切换进行扫描, 从而达到一针同时分析 6 个基因毒性杂质。定量时分辨率均在 35000 以上, 从而使方法的专属性极强, 能够有效排除基质或背景的干扰。

方法灵敏度如下所示:

	NDMA	NDEA	NEIPA	NDIPA	NDMA	NMBA
LOD (ng/mL) (ppm)	0.10	0.32	0.05	0.15	0.10	0.20
	0.005	0.016	0.003	0.008	0.005	0.010
LOQ (ng/mL) (ppm)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Range (ng/mL) (ppm)	1.0-100	1.0-100	1.0-100	1.0-100	1.0-100	1.0-200
	0.05-5.0	0.05-5.0	0.05-5.0	0.05-5.0	0.05-5.0	0.05-10.0

混标样品特征图谱如下图所示：



方法二：

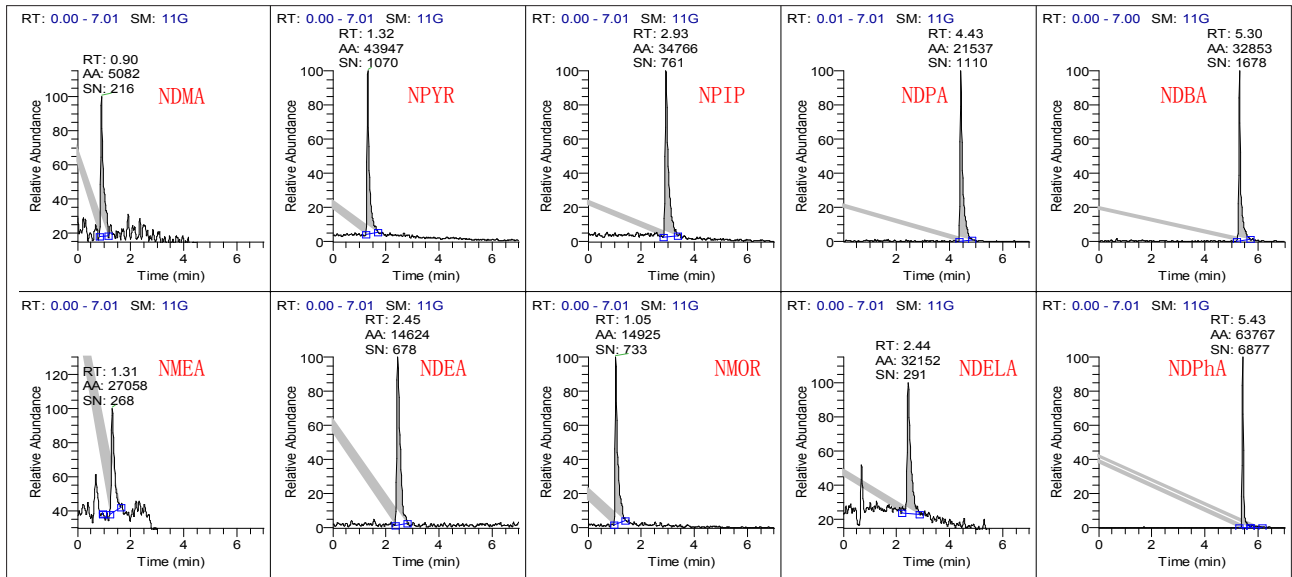
三重四极杆质谱 TSQ Fortis 针对基因毒性物质 10 个 N-亚硝基化合物建立稳定灵敏的分析方法。该方法在电喷雾离子化（ESI）条件下即可进行有效检测分析，试验结果优异，该方法稳定、快速、满足日常微量基因毒性物质 N-亚硝胺类化合物的分析要求。

方法灵敏度如下所示：



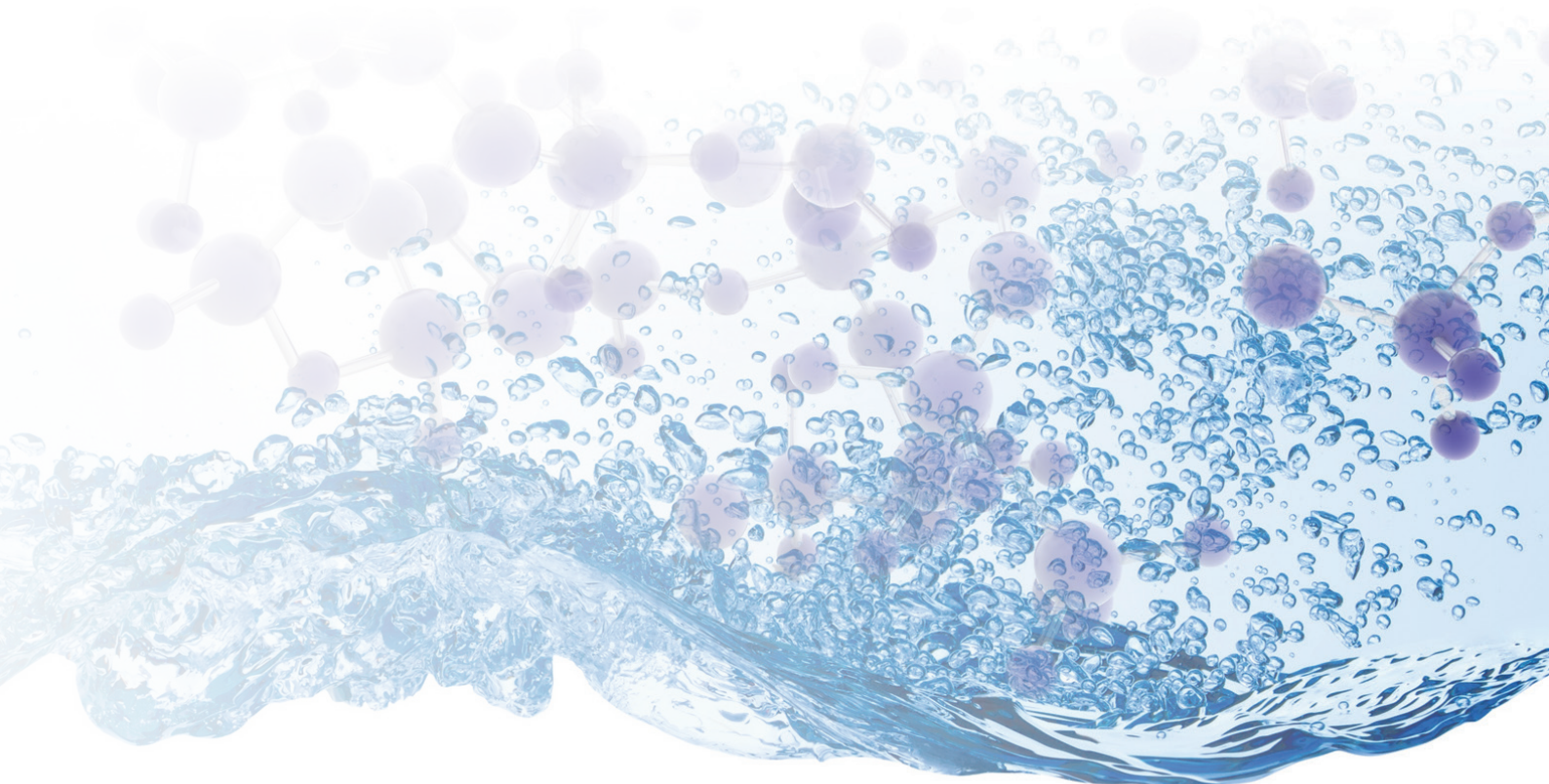
化合物	简称	检测限 (PPB)	线性范围	5ppb RSD%	50ppb RSD%	500ppb RSD%
N-二甲基亚硝胺	NDMA	1	2-1000 ng/mL	3.77	1.76	1.28
N-亚硝基甲乙胺	NMEA	1	2-1000 ng/mL	3.58	1.06	1.15
1-亚硝基吡咯烷	NPYR	0.2	0.5-1000 ng/mL	2.87	2.33	1.69
N-亚硝基二甲胺	NDEA	0.5	1-1000 ng/mL	4.9	1.61	0.73
N-亚硝基哌啶	NPIP	0.5	1-1000 ng/mL	4.5	2.46	0.4
N-亚硝基吗啉	NMOR	0.2	0.5-1000 ng/mL	4.23	2.22	2.81
N-亚硝基二丙胺	NDPA	0.1	0.5-1000 ng/mL	4	2.07	1.39
N-亚硝基二正丁胺	NDBA	<0.1	0.1-1000 ng/mL	2.91	1.09	0.84
N-亚硝基二苯胺	NDPhA	<0.1	0.1-1000 ng/mL	4.35	1.1	1.71
二乙醇亚硝胺	NDELA	1	2-1000 ng/mL	4.91	2.8	3.73

混标样品特征图谱如下图所示:



如何应对 FDA 新政

赛默飞分别基于高分辨质谱 Orbitrap 平台和三重四极杆质谱平台，开发并重现了基于 FDA FA19-177-DPA-S 的检测 NDMA 类 N-亚硝基化合物的方法，该方法灵敏、快速和稳定，具备优异的重现性，灵敏度远低于 FDA 定量限要求 0.3ppm，完全满足药品日常分析中基因毒性杂质的检测要求。



赛默飞世尔科技

上海

上海市浦东新区新金桥路27号3,6,7号楼
邮编 201206
电话 021-68654588*2570

生命科学产品和服务业务

上海市长宁区仙霞路99号21-22楼
邮编 200051
电话 021-61453628 / 021-61453637

北京

北京市东城区北三环东路36号环球贸易
中心C座7层/8层
邮编 100013
电话 +86 10 8794 6888

广州

广州国际生物岛寰宇三路36、38号合景
星辉广场北塔204-206 单元
邮编 510000
电话 020-82401600

成都

成都市临江西路1号锦江国际大厦1406 室
邮编 610041
电话 028-65545388*5300

沈阳

沈阳市沈河区惠工街10号卓越大厦3109 室
邮编 110013
电话 024-31096388*3901

武汉

武汉市东湖高新技术开发区高新大道生物园路
生物医药园C8栋5楼
邮编 430075
电话 027-59744988*5401

南京

南京市中央路201号南京国际广场南楼1103室
邮编 210000
电话 021-68654588*2901

西安

西安市高新区科技路38号林凯国际大厦
1006-08单元
邮编 710075
电话 029-84500588*3801

昆明

云南省昆明市五华区三市街6号柏联广场写字
楼908单元
邮编 650021
电话 0871-63118338*7001

欲了解更多信息，请扫描二维码关注我们的微信公众账号

赛默飞世尔科技在全国有共21个办事处。本资料中的信息，说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。



赛默飞
官方微信



赛默飞色谱
与质谱中国

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC