

沙坦類原料及其製劑中*N*-亞硝基二甲胺及*N*-亞硝基二乙胺之檢驗方法  
Determination of *N*-Nitrosodimethylamine and *N*-Nitrosodiethylamine in Sartan  
Drug Substance and Drug Products

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於Irbesartan、Losartan及Valsartan等沙坦類原料及其製劑中*N*-亞硝基二甲胺(*N*-nitrosodimethylamine, *N*-NDMA)及*N*-亞硝基二乙胺(*N*-Nitrosodiethylamine, *N*-NDEA)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取後，以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC/MS/MS)分析之方法。
  - 2.1. 裝置：
    - 2.1.1. 液相層析串聯質譜儀：
      - 2.1.1.1. 離子源：正離子大氣壓力化學游離(positive ion atmospheric pressure chemical ionization, APCI<sup>+</sup>)。
      - 2.1.1.2. 層析管：XSelect HSS T3，3.5 μm，內徑3 mm × 15 cm，或同級品。
    - 2.1.2. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。
    - 2.1.3. 離心機(Centrifuge)：可達2500 ×g以上者。
  - 2.2. 試藥：甲醇及甲酸均採用液相層析級；去離子水(比電阻於25°C可達18 MΩ·cm以上)；*N*-亞硝基二甲胺(*N*-NDMA，200 μg/mL in methanol)及*N*-亞硝基二乙胺(*N*-NDEA，5000 μg/mL in methanol)對照用標準品；*N*-亞硝基二甲胺-d<sub>6</sub>內部標準品(*N*-NDMA-d<sub>6</sub>，1000 μg/mL in dichloromethane)。
  - 2.3. 器具及材料：
    - 2.3.1. 容量瓶：10 mL及50 mL。
    - 2.3.2. 離心管：15 mL，PP材質。
    - 2.3.3. 濾膜：孔徑0.22 μm，PVDF材質。
  - 2.4. 50%甲醇溶液之調製：

取甲醇及去離子水以1：1 (v/v)比例混勻。
  - 2.5. 移動相溶液之調製：
    - 2.5.1. 移動相溶液A：

取甲酸1 mL，加去離子水使成1000 mL，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液A。
    - 2.5.2. 移動相溶液B：

取甲酸1 mL，加甲醇使成1000 mL，經濾膜過濾，取濾液供作移動相

溶液B。

2.6. 內部標準溶液之配製：

取*N*-亞硝基二甲胺- $d_6$ 內部標準品1 mL，以甲醇稀釋並定容至10 mL，作為內部標準原液，於-18°C避光貯存。臨用時取適量內部標準原液，以50%甲醇溶液稀釋至500 ng/mL，供作內部標準溶液。

2.7. 標準溶液之配製：

取*N*-亞硝基二甲胺對照用標準品50  $\mu$ L，以甲醇稀釋並定容至10 mL；取*N*-亞硝基二乙胺對照用標準品10  $\mu$ L，以甲醇稀釋並定容至50 mL，作為標準原液，於-18°C避光貯存。臨用時取適量各標準原液與內部標準溶液混合，以50%甲醇溶液稀釋至*N*-亞硝基二甲胺10~100 ng/mL及*N*-亞硝基二乙胺5~100 ng/mL (含內部標準品濃度50 ng/mL)，供作標準溶液。

2.8. 標準曲線之製作：

精確量取標準溶液各3  $\mu$ L，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依下列條件進行分析，就*N*-亞硝基二甲胺、*N*-亞硝基二乙胺與內部標準品之波峰面積比，與對應之*N*-亞硝基二甲胺及*N*-亞硝基二乙胺濃度，分別製作標準曲線。

液相層析串聯質譜分析條件<sup>(註)</sup>：

層析管：XSelect HSS T3，3.5  $\mu$ m，內徑3 mm × 15 cm。

層析管溫度：40°C。

移動相溶液：A液與B液以下列條件，進行梯度分析

| 時間(min)   | A (%)   | B (%)     |
|-----------|---------|-----------|
| 0.0 → 1.0 | 95 → 95 | 5 → 5     |
| 1.0 → 5.0 | 95 → 0  | 5 → 100   |
| 5.0 → 6.5 | 0 → 0   | 100 → 100 |
| 6.5 → 6.6 | 0 → 95  | 100 → 5   |
| 6.6 → 9.0 | 95 → 95 | 5 → 5     |

移動相流速：0.6 mL/min。

注入量：3  $\mu$ L。

質譜測定條件1：

離子源：APCI<sup>+</sup>。

放電電流(Nebulizer Current)：5  $\mu$ A。

氣簾氣體(Curtain gas)：25 psi。

霧化氣體(Gas 1)：50 psi。

碰撞氣體(Collision gas)：medium。

加熱溫度(Temperature)：400°C。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。偵測離子對、去集簇電壓(declustering potential)及碰撞能量(collision energy)如下表：

| 分析物                          | 離子對                   | 去簇電壓(V) | 碰撞能量(eV) |
|------------------------------|-----------------------|---------|----------|
|                              | 前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z) |         |          |
| N-NDMA                       | 75 > 43*              | 28      | 21       |
|                              | 75 > 58               |         | 15       |
| N-NDEA                       | 103 > 75*             | 25      | 13       |
|                              | 103 > 47              |         | 29       |
| N-NDMA-d <sub>6</sub> (I.S.) | 81 > 46               | 106     | 25       |

\*定量離子對

質譜測定條件2：

離子源：APCI<sup>+</sup>。

毛細管電壓(Capillary voltage)：4.0 kV。

毛細管溫度(Probe temperature)：400°C。

離子源溫度(Ion source temperature)：130°C。

進樣錐氣體(Cone gas flow)：150 L/hr。

溶媒揮散氣體(Desolvation gas flow)：950 L/hr。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。偵測離子對、進樣錐電壓(cone voltage)及碰撞能量(collision energy)如下表：

| 分析物                          | 離子對                   | 進樣錐電壓(V) | 碰撞能量(eV) |
|------------------------------|-----------------------|----------|----------|
|                              | 前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z) |          |          |
| N-NDMA                       | 75 > 43*              | 28       | 12       |
|                              | 75 > 58               |          | 8        |
| N-NDEA                       | 103 > 75*             | 18       | 10       |
|                              | 103 > 47              |          | 10       |
| N-NDMA-d <sub>6</sub> (I.S.) | 81 > 46               | 28       | 10       |

\*定量離子對

註：1. 上述測定條件分析不適時，可依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

2. 如有轉向閥，可設定以下參數：

| 時間(min)   | 移動相流向 |
|-----------|-------|
| 0.0 → 5.0 | 偵測器   |
| 5.0 → 9.0 | 廢液    |

## 2.9. 檢液之調製：

### 2.9.1. 原料：

取檢體約1 g，精確稱定，加入內部標準溶液1 mL及50%甲醇溶液7 mL，超音波振盪30分鐘，以50%甲醇溶液定容至10 mL，置於離心管中，以2500 ×g離心10分鐘，取上清液，經濾膜過濾，供作檢液。

### 2.9.2. 製劑：

取檢體至少10粒，研成粉末，取約1 g，精確稱定，加入內部標準溶液1 mL及50%甲醇溶液7 mL，超音波振盪30分鐘，以50%甲醇溶液定容至10 mL，置於離心管中，以2500 ×g離心10分鐘，取上清液，經濾膜過濾，供作檢液。

## 2.10. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各3 μL，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依2.8.節條件進行分析。就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及多重反應偵測相對離子強度<sup>(註)</sup>鑑別之，並依下列計算式求出檢體中N-亞硝基二甲胺或N-亞硝基二乙胺之含量(μg/g)：

檢體中N-亞硝基二甲胺或N-亞硝基二乙胺之含量(μg/g)

$$= \frac{C \times V}{M} \times 10^{-3}$$

C：由標準曲線求得檢液中N-亞硝基二甲胺或N-亞硝基二乙胺之濃度 (ng/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

註：相對離子強度由定性離子對與定量離子對之波峰面積相除而得(≤ 100%)，容許範圍如下：

| 相對離子強度(%) | 容許範圍(%) |
|-----------|---------|
| > 50      | ± 20    |
| > 20~50   | ± 25    |
| > 10~20   | ± 30    |
| ≤ 10      | ± 50    |

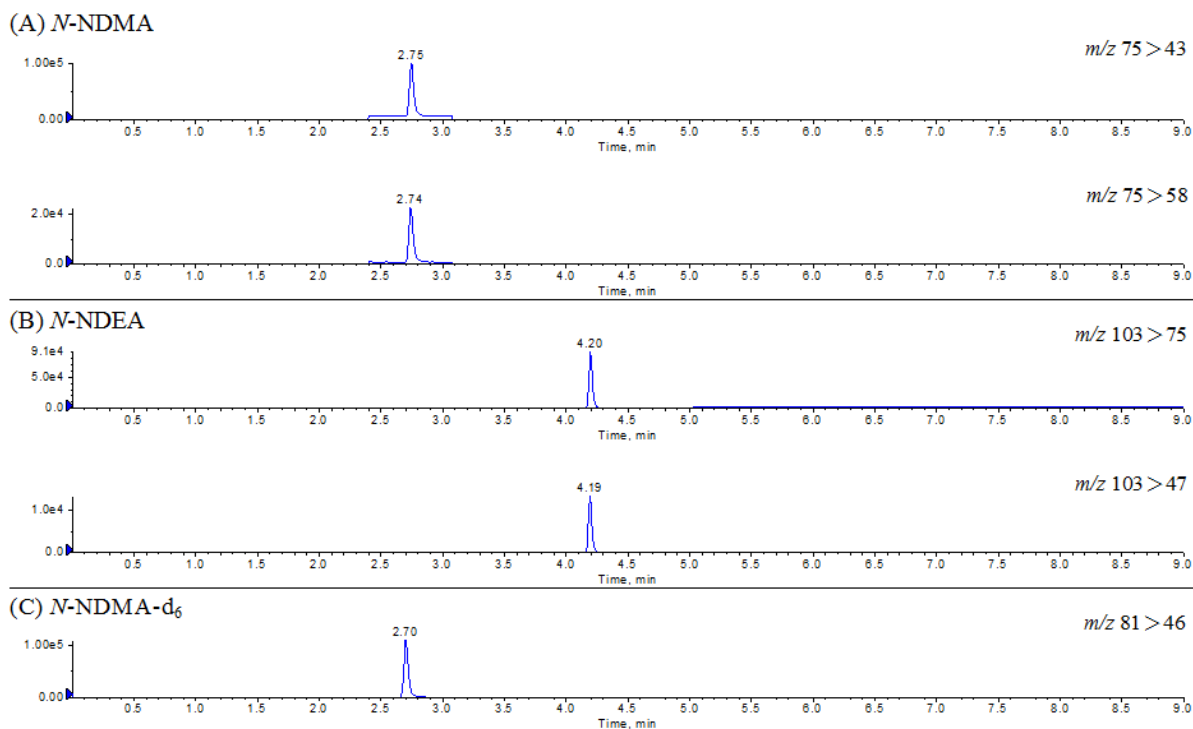
附註：1. 本檢驗方法之定量極限，*N*-亞硝基二甲胺為0.1 µg/g，*N*-亞硝基二乙胺為0.05 µg/g。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

#### 參考文獻：

Ripollés, C., Pitarch, E., Sancho, J. V., López, F. J. and Hernández, F. 2011. Determination of eight nitrosamines in water at the ng L<sup>-1</sup> levels by liquid chromatography coupled to atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 702: 62-71.

#### 參考層析圖譜



圖、以LC/MS/MS分析*N*-亞硝基二甲胺標準品(A)、*N*-亞硝基二乙胺標準品(B)及*N*-亞硝基二甲胺- $d_6$ 內部標準品(C)之MRM圖譜