

GCMS 法测定奥拉西坦原料药中的酰卤类遗传毒性杂质

GCMS-540

摘要： 本文利用气相色谱质谱联用仪，建立了奥拉西坦原料药中两种酰卤类遗传毒性杂质氯乙酸甲酯与 4-氯-3-羟基丁酸乙酯的检测方法。在 20~1000 ng/mL 浓度范围内，氯乙酸甲酯与 4-氯-3-羟基丁酸乙酯线性关系良好，相关系数均在 0.9997 以上。取浓度为 20 ng/mL 的标准溶液连续进样 7 针，两种化合物峰面积重复性均在 4% 以下。加标实验中，以 80 ng/g 与 160 ng/g 为加标浓度，两种化合物平均回收率在 91.4%~104.4% 之间。该方法灵敏度高、重复性好，可以为监控奥拉西坦原料药中的这两种酰卤类遗传毒性杂质提供可靠的检测方法。

关键词： 气相色谱质谱联用仪 奥拉西坦 酰卤类遗传毒性杂质

技术特点：

- ❖ 前处理采用液液萃取，可同时提取奥拉西坦原料药中两种酰卤类遗传毒性杂质。
- ❖ 采用 SIM 方式采集，有效地去除干扰。

奥拉西坦是一种促智药，适用于轻中度血管性痴呆、阿尔茨海默病以及脑外伤等症引起的记忆与智能障碍。

该药物在合成工艺中使用了原料氯乙酸甲酯，中间体为 4-氯-3-羟基丁酸乙酯，这两种物质均属于酰卤类遗传毒性杂质。根据人用药品注册技术要求国际协调理事会 (ICH) M7 及欧洲药物管理局 (EMA) 发布的《遗传毒性杂质限度指导原则》相关规定，其毒理学阈值 TTC 为 30 $\mu\text{g}/\text{d}$ (治疗期为

1~10 年)。奥拉西坦治疗时每日最大用量为 6 g，按此计算这两种遗传毒性杂质的限量为 5 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。

本文使用岛津 GCMS-QP2020 NX 气质联用仪，建立了奥拉西坦原料药中两种酰卤类遗传毒性杂质氯乙酸甲酯与 4-氯-3-羟基丁酸乙酯的检测方法。该方法灵敏度高、重复性好，可以为监控奥拉西坦原料药中的这两种酰卤类遗传毒性杂质提供可靠的检测方法。

■ 实验部分

1.1 仪器

GCMS-QP2020 NX 气质联用仪

1.2 分析条件

色谱柱：SH-Rtx-Wax, 30 m \times 0.25 mm \times 0.50 μm

柱温程序：60 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)_15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _230 $^{\circ}\text{C}$ (5 min)

进样口温度：250 $^{\circ}\text{C}$

流速控制方式：恒线速度

线速度：40 cm/s

进样方式：不分流进样

进样量：1 μL

离子化方式：EI

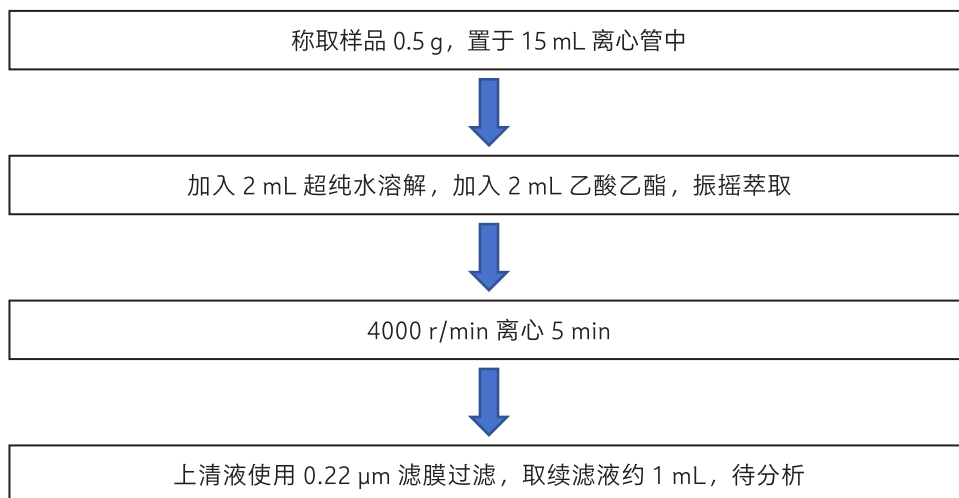
离子源温度：230 $^{\circ}\text{C}$

接口温度：230 $^{\circ}\text{C}$

检测器电压：调谐电压 +0.3 kV

采集模式：SIM，离子信息见表 1

1.3 样品前处理



■ 结果与讨论

2.1 氯乙酸甲酯与 4-氯-3-羟基丁酸乙酯质量色谱图

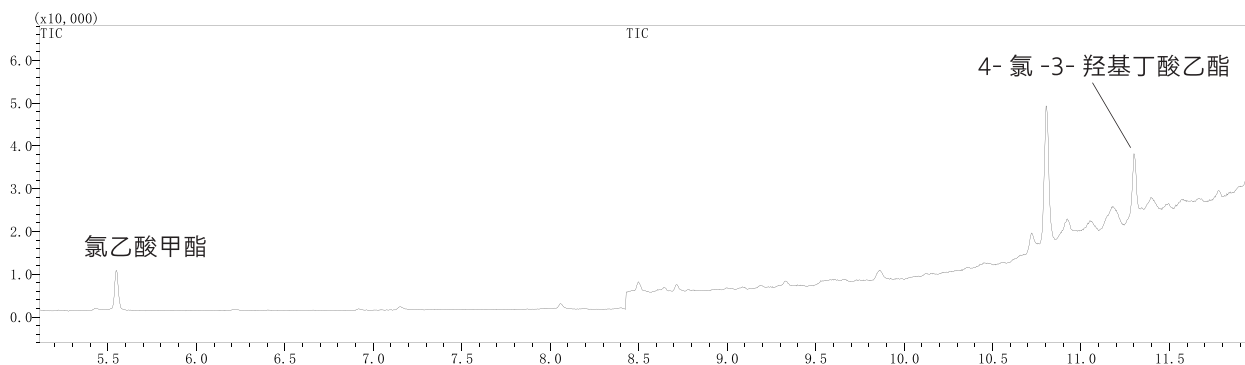


图 1 氯乙酸甲酯与 4-氯-3-羟基丁酸乙酯 TIC 谱图 (20 ng/mL)

表 1 化合物信息

No.	化合物名称	英文名称	CAS 号	保留时间 (min)	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)
1	氯乙酸甲酯	Methyl chloroacetate	96-34-4	5.547	49	108
2	4-氯-3-羟基丁酸乙酯	Ethyl 4-chloro-3-hydroxybutanoate	10488-69-4	11.300	117	121

2.2 校准曲线和检出限

分别配制 20、50、100、200、500、1000 ng/mL 的混合标准溶液，进样 1 μ L，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标拟合标准曲线，标准曲线如图 2 所示。根据曲线最低浓度点，以 3 倍信噪比计算两种化合物的仪器检出限，两种物质的线性相关系数、检出限如表 2 所示。

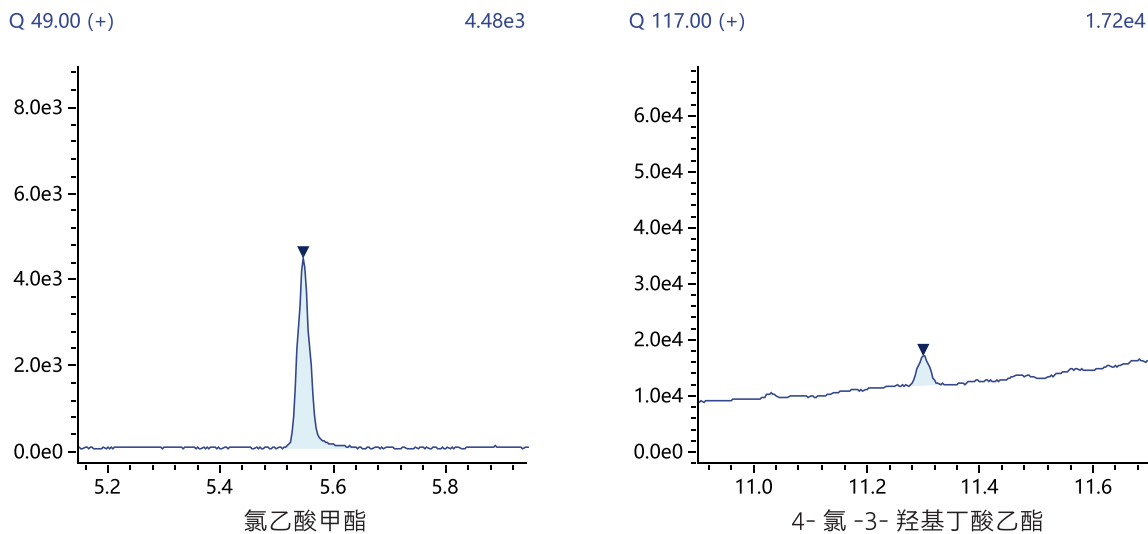


图2 氯乙酸甲酯与4-氯-3-羟基丁酸乙酯质量色谱图 (20 ng/mL)

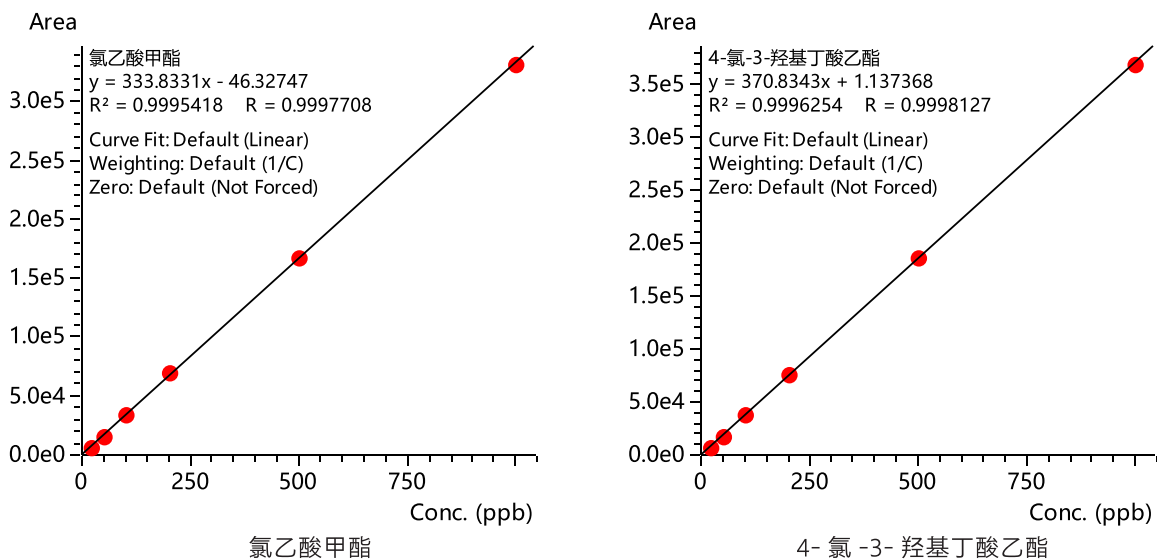


图3 氯乙酸甲酯与4-氯-3-羟基丁酸乙酯校准曲线

表2 标准曲线相关系数及检出限

No.	化合物名称	相关系数 (R)	检出限 (ng/mL)
1	氯乙酸甲酯	0.9997	0.40
2	4-氯-3-羟基丁酸乙酯	0.9998	5.70

2.3 重复性实验

取浓度为 20 ng/mL 标准溶液，连续进样 7 次，考察仪器的重复性，测定结果见表 3。

表3 重复性结果

No.	化合物名称	峰面积 1	峰面积 2	峰面积 3	峰面积 4	峰面积 5	峰面积 6	峰面积 7	RSD (%)
1	氯乙酸甲酯	6671	6808	6674	6766	6760	6576	6721	1.16
2	4-氯-3-羟基丁酸乙酯	7052	7492	7112	7660	7656	7748	7432	3.68

2.4 实际样品测定及加标回收率

取奥拉西坦原料药按上述方法进行测定，原料药中未检出这两种遗传毒性杂质。该样品色谱图如下。以此样品进行两个浓度水平的加标实验，回收率结果如表 4 所示。

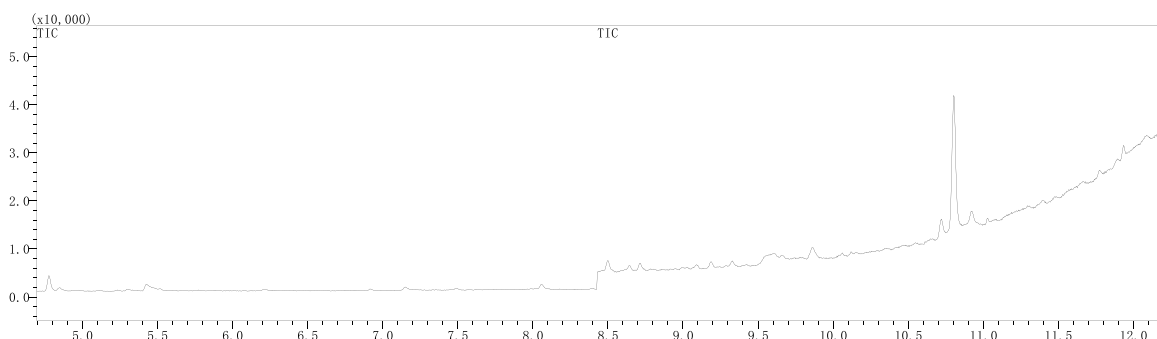


图4 奥拉西坦原料药 TIC 谱图

表4 奥拉西坦原料药样品加标实验结果

No.	化合物名称	加标 (80 ng/g)		加标 (160 ng/g)	
		平均测试值 (ng/g)	平均回收率 (%)	平均测试值 (ng/g)	平均回收率 (%)
1	氯乙酸甲酯	73.13	91.4	161.75	101.1
2	4-氯-3-羟基丁酸乙酯	78.98	98.7	167.07	104.4

■ 结论

本文利用岛津 GCMS-QP2020 NX 气质联用仪，建立了奥拉西坦原料药中两种酰卤类遗传毒性杂质氯乙酸甲酯与 4-氯-3-羟基丁酸乙酯的检测方法。在 20~1000 ng/mL 浓度范围内，两种遗传毒性杂质线性关系良好，相关系数 R 值均在 0.9997 以上。取浓度为 20 ng/mL 的标准溶液连续进样 7 针，两种化合物峰面积重复性均在 4% 以下。加标实验中，以 80 ng/g 与 160 ng/g 为加标浓度，两种遗传毒性杂质平均回收率在 91.4%~104.4% 之间。该方法灵敏度高、重复性好，可以为监控奥拉西坦原料药中的这两种酰卤类遗传毒性杂质提供可靠的检测方法。

岛津应用云

