

# GCMS法测定左乙拉西坦中4-氯丁酸甲酯与4-氯丁酸乙酯两种遗传毒性杂质含量

## GCMS-569

**摘要：** 本文利用岛津 GCMS-QP2050 气质联用仪，建立了左乙拉西坦原料药中 4-氯丁酸甲酯与 4-氯丁酸乙酯两种遗传毒性杂质的检测方法。在 1.0~100 ng/mL 浓度范围内两种物质线性关系良好，相关系数分别为 0.9997 与 0.9999。取浓度为 1.0 ng/mL 的标准溶液连续进样 6 针，两种化合物峰面积重复性均在 4% 以下。加标实验中，以 20、40、100 ng/g 为三个加标浓度，两种物质的平均回收率分别在 94.90~108.12% 之间。该方法灵敏度高、重复性好，可以为监控左乙拉西坦原料药中 4-氯丁酸甲酯与 4-氯丁酸乙酯两种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 左乙拉西坦 4-氯丁酸甲酯 4-氯丁酸乙酯

### 技术特点：

- ❖ 使用新发布 GCMS-QP2050 测定两种目标物，灵敏度高，仪器检出限小于 0.5 ng/mL。
- ❖ 采用 Peakintelligence 智能积分软件对数据进行积分，有效提高低浓度样品中目标物积分效果。

左乙拉西坦为吡咯烷酮类抗癫痫药物，可有效控制癫痫发作，用于 4 岁以上儿童及成人癫痫患者的治疗。

该药物的合成工艺中重要的起始物料 4-氯丁酰氯可能与残留的甲醇、乙醇反应生成 4-氯丁酸甲酯与 4-氯丁酸乙酯。虽然后续会使用乙酸乙酯重结晶，但由于左乙拉西坦的合成路线较短，这两种物质仍有残留的风险。

4-氯丁酸甲酯与 4-氯丁酸乙酯具有遗传毒性杂质的警示结构，为潜在遗传毒性杂质。左乙拉西坦服药周期较长，根据欧洲药物管理局（EMA）发布

的《遗传毒性杂质限度指导原则》，用药周期大于 12 个月，摄入量为 1.5  $\mu\text{g}/\text{d}$  的致癌风险小于十万分之一，该风险被认为是可接受的。按照这个阈值，根据左乙拉西坦的最大日剂量为 3 g，4-氯丁酸甲酯与 4-氯丁酸乙酯的限量应为 0.5  $\mu\text{g}/\text{g}$ 。

本文使用岛津 GCMS-QP2050 气质联用仪，建立了左乙拉西坦原料药中 4-氯丁酸甲酯与 4-氯丁酸乙酯两种遗传毒性杂质的检测方法。该方法灵敏度高、重复性好，可以有效检测左乙拉西坦原料药中 4-氯丁酸甲酯与 4-氯丁酸乙酯两种遗传毒性杂质的含量。

## 实验部分

### 1.1 仪器

GCMS-QP2050 气质联用仪

### 1.2 分析条件

色谱柱：	SH-StabilWax, 30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 $\mu\text{m}$		
柱温程序：	60 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)_5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _140 $^{\circ}\text{C}$ _25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _230 $^{\circ}\text{C}$ (5 min)		
进样口温度：	250 $^{\circ}\text{C}$	离子化方式：	EI
流速控制方式：	恒线速度	离子源温度：	230 $^{\circ}\text{C}$
线速度：	40 cm/s	接口温度：	230 $^{\circ}\text{C}$
进样方式：	不分流进样	检测器电压：	调谐电压 +0.3 kV
进样量：	1 $\mu\text{L}$	采集模式：	SIM, 离子信息见表 1

### 1.3 样品前处理

准确称取 0.10 g 样品，加入 2 mL 二氯甲烷，振摇溶解，过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜，收集滤液约 1 mL，上机检测。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 标准溶液色谱图

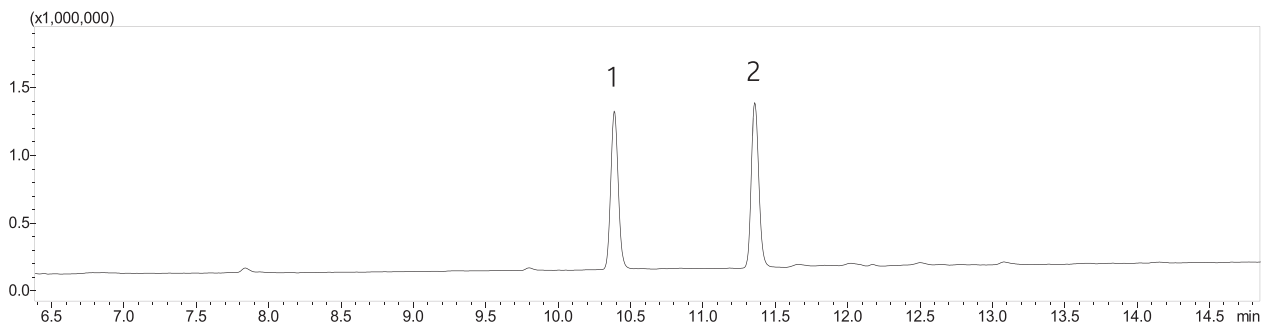


图 1 目标组分标准溶液色谱图

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	4- 氯丁酸甲酯	Methyl 4-chlorobutyrate	3153-37-5	10.408	74.05	105.05
2	4- 氯丁酸乙酯	Ethyl 4-chlorobutanoate	3153-36-4	11.380	88.05	105.00

### 2.2 标准曲线和检出限

分别配制 1.0、2.0、5.0、10、20、50、100 ng/mL 的混合标准溶液，进样 1  $\mu$ 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。

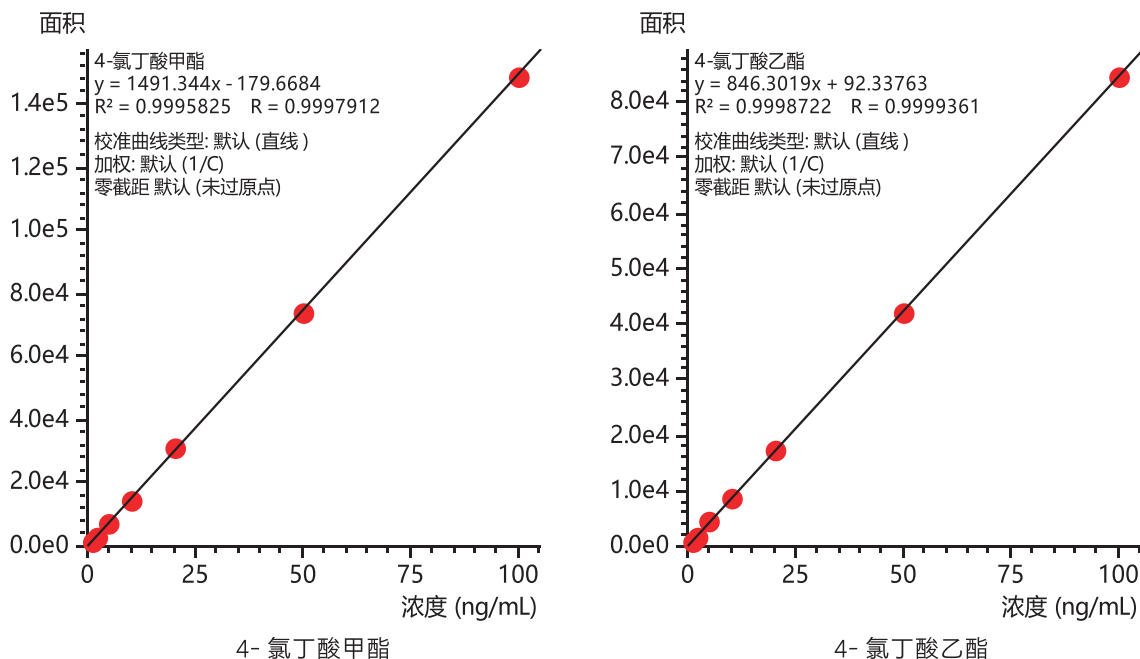


图 2 目标组分校准曲线

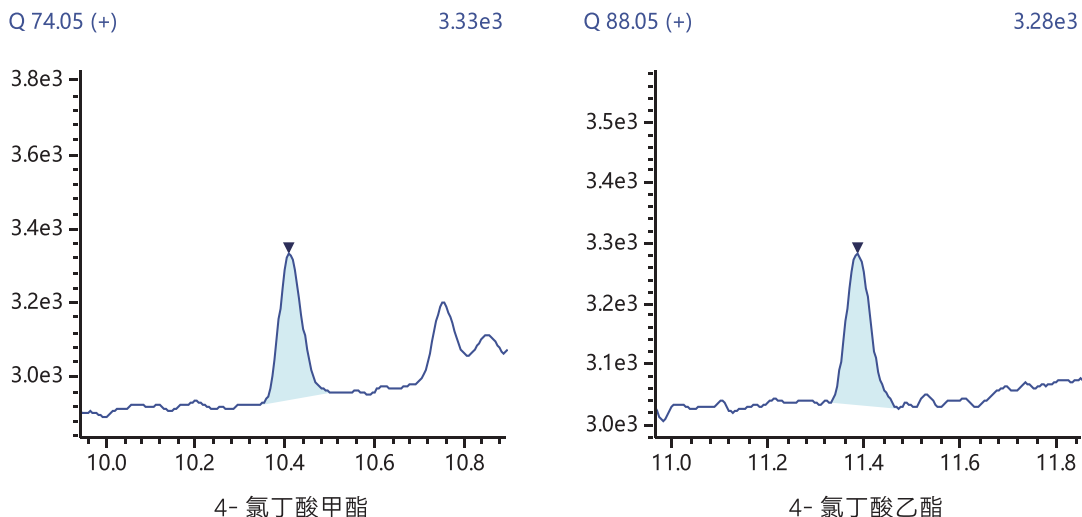


图3 目标组分质量色谱图 (1.0 ng/mL)

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)	定量限 (ng/mL)	检出限 (ng/mL)
1	4-氯丁酸甲酯	0.9997	0.74	0.22
2	4-氯丁酸乙酯	0.9999	0.55	0.17

### 2.3 重复性实验

取浓度为 1.0 ng/mL 标准溶液，连续进样 6 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	RSD (%)
1	4-氯丁酸甲酯	1285	1354	1292	1229	1299	1304	3.10
2	4-氯丁酸乙酯	907	850	919	927	872	875	3.43

### 2.4 实际样品测定及加标回收率

取左乙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。以此样品进行三个浓度水平的加标实验，回收率结果如表 4 所示。

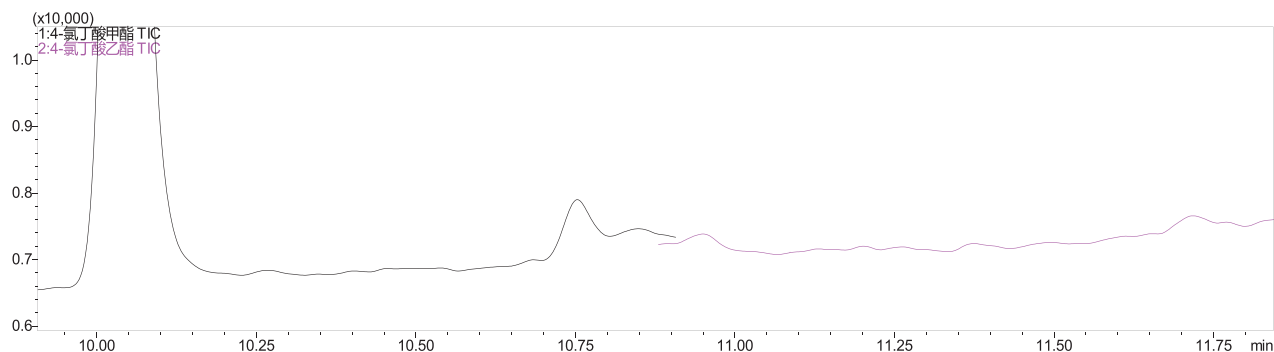


图4 左乙拉西坦原料药色谱图

表 4 左乙拉西坦原料药样品加标实验结果 (n=3)

No.	化合物	加标量 (ng/g)	检测值 (ng/g)	回收率 (%)	RSD (%)
1	4- 氯丁酸甲酯	20	20.66	103.30	2.63
		40	41.24	103.10	1.35
		100	108.12	108.12	1.43
2	4- 氯丁酸乙酯	20	18.98	94.90	4.06
		40	40.56	101.40	2.80
		100	106.96	106.96	2.39

## 2.5 Peakintelligence™ 色谱峰智能算法积分

本实验色谱图积分处理使用的是 Peakintelligence™ for GCMS 智能积分软件, 在进行数据过程中, 仅需要在质谱处理软件 Labsolutions Insight 打开 GCMS 采集的数据, 在积分功能选择 “Peakintelligence\_GCMS\_Ver2” 及模型 “GCMS\_Model\_V1”, 无需设置任何积分参数, 即可自动、快速、准确完成目标物色谱峰的积分。

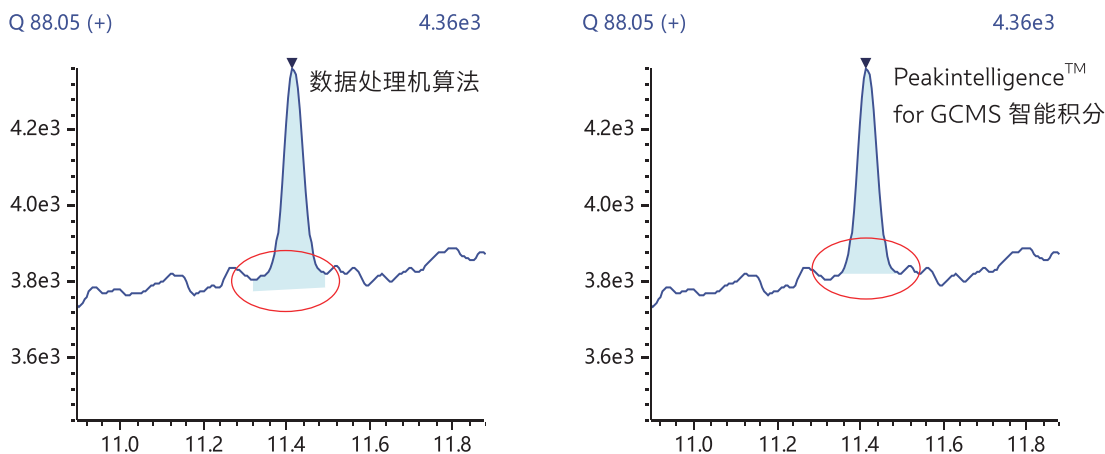


图 5 不同积分算法的 4- 氯丁酸乙酯色谱图对比

本实验中当检测物质浓度较低时其色谱峰积分容易受到干扰。图 5 对比了样品中添加浓度为 40 ng/g 时 4-氯丁酸乙酯的色谱图使用两种积分方法的结果, 采用 Peakintelligence™ for GCMS 色谱峰智能算法进行积分时, 积分结果更为合理。

## ■ 结论

本文利用 GCMS-QP2050 气相色谱质谱联用仪, 建立了左乙拉西坦原料药中 4- 氯丁酸甲酯与 4- 氯丁酸乙酯两种遗传毒性杂质的检测方法。在 1.0~100 ng/mL 浓度范围内两种物质线性关系良好, 相关系数分别为 0.9997 与 0.9999。取浓度为 1.0 ng/mL 的标准溶液连续进样 6 针, 两种化合物峰面积重复性均在 4% 以下。加标实验中, 以 20、40、100 ng/g 为三个加标浓度, 两种物质的平均回收率分别在 94.90~108.12% 之间。该方法灵敏度高、重复性好, 可以为监控左乙拉西坦原料药中 4- 氯丁酸甲酯与 4- 氯丁酸乙酯两种遗传毒性杂质提供可靠的检测方法。

岛津应用云

