

# GCMS 法测定硝苯地平药品中 6 种硝基苯化合物遗传毒性杂质

## GCMS-589

**摘要:** 本文利用岛津 GCMS-QP2050 气质联用仪,建立了硝苯地平药物中 6 种遗传毒性杂质含量测定方法。在 0.02~0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度范围内, 各组分标准曲线相关系数均大于 0.999, 线性关系良好, 0.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$  标准品溶液连续进样 6 针, 各组分峰面积 RSD 均小于 4%。对样品基质进行了低、中、高三水平的加标回收实验, 回收率在 95.85-117.64% 之间。该方法操作简单, 可用于硝苯地平中六种遗传毒性杂质质量控制。

**关键词:** 气质联用仪 硝苯地平 遗传毒性杂质

### 技术特点:

- ❖ 无需前处理, 直接溶解定容进样, 提高分析效率。
- ❖ 使用 SIM 模式监测硝基苯化合物的特征离子, 抗干扰力强, 确保方法专属性。

硝苯地平是一类具有血管舒张活性的二氢吡啶类钙通道拮抗剂, 临床上主要用于治疗高血压、心绞痛等疾病。硝苯地平是以 2-硝基苯甲醛为原料反应生成, 中间体 2-硝基苯甲醇、2-硝基苄基溴、反应产物 2-硝基苯甲醛以及可能的副产物 3-硝基苯甲醛、4-硝基苯甲醛均含有硝基苯结构, 应作为潜在的遗传毒性杂质进行监控。研究表明, 2-硝基苯甲醛和 4-硝基苯甲醛在 Ames 试验中都被证实具有致突变性, 而 2-硝基甲苯在动物试验中被证明具有致癌作用。欧洲药物管理局 (EMA) 发布的指南草案、美国食品药品监督管理局 (USFDA) 的指南以及人

用药物注册技术要求国际协调会 (ICH) 发布的 M7 (R1) 指南均采用毒理学关注阈值 (TTC) 来控制基因毒性杂质的引入。按照毒理学关注的阈值方法规定, 遗传毒性杂质摄入不能超过 1.5  $\mu\text{g}/\text{d}$ , 六种遗传毒性杂质之和不超过 1.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

本实验使用岛津公司 GCMS-QP2050 气质联用仪, 建立硝苯地平中六种遗传毒性杂质的检测方法, 通过定量离子筛选, 提高了方法专属性, 方法检测灵敏度高, 六种遗传毒性杂质的检出限在 0.263~0.496  $\text{ng}/\text{mL}$  之间, 可为硝苯地平制备工艺过程和质量控制提供参考依据。

## 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-I-5Si1 MS, 30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 $\mu\text{m}$
柱温程序 :	100°C (1 min) _8°C /min_180°C (2 min) _20°C /min_250°C (2 min)
进样口温度 :	250°C
流速控制方式 :	恒线速度 (36.5 cm/s)
进样方式 :	分流
分流比 :	10:1
进样量 :	1 $\mu\text{L}$
离子化方式 :	EI
离子源温度 :	230°C
接口温度 :	250°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

## ■ 样品前处理

称取硝苯地平样品 50 mg 放入 10 mL 棕色容量瓶，乙酸乙酯溶解并定容。上机待测。

## ■ 结果与讨论

### 3.1 标准溶液色谱图

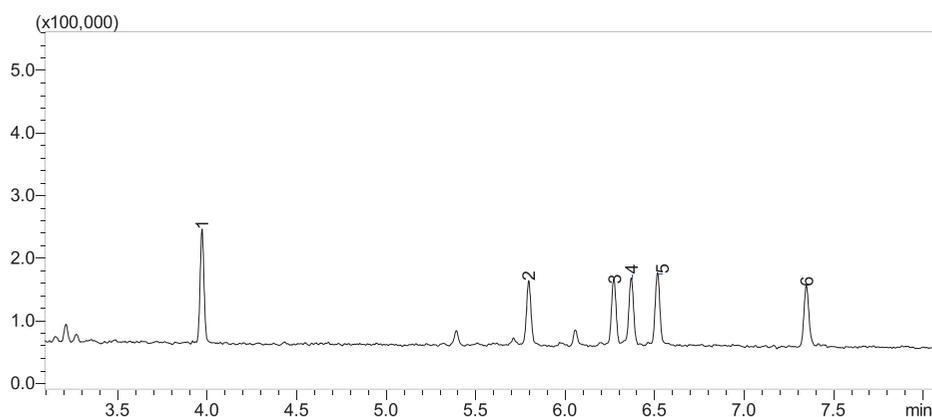


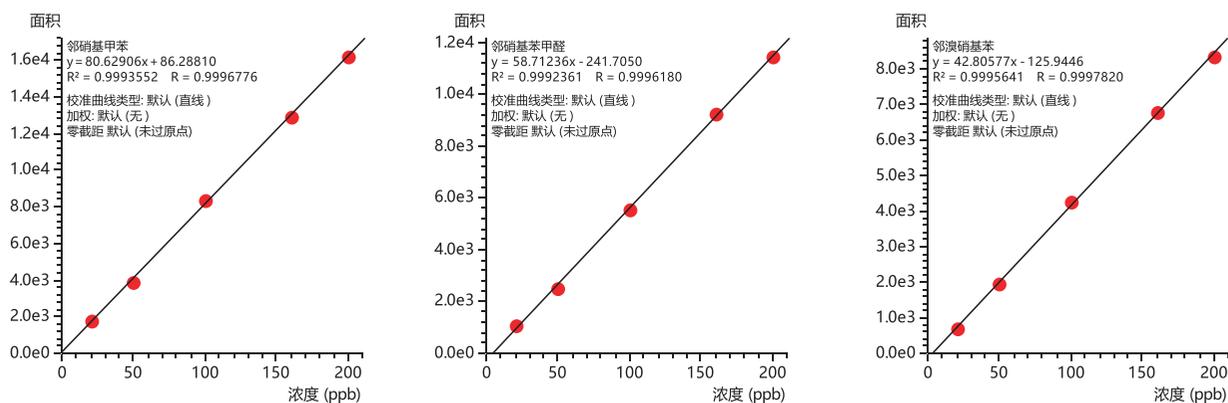
图 1 6 种化合物标准溶液色谱图

表 1 6 种化合物信息

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	2- 硝基甲苯	2-Methyl-1-nitrobenzene	88-72-2	3.968	91	120、65
2	2- 硝基苯甲醛	2-Nitrobenzaldehyde	552-89-6	5.795	121	93、104
3	2- 溴硝基苯	1-Bromo-2-nitrobenzene	577-19-5	6.267	201	155、173
4	4- 硝基苯甲醛	4-Nitrobenzaldehyde	555-16-8	6.375	151	105、77
5	3- 硝基苯甲醛	3-Nitrobenzaldehyde	99-61-6	6.522	151	105、77
6	2- 硝基苯甲醇	2-Nitrobenzyl alcohol	612-25-9	7.348	77	79

### 3.2 标准曲线和检出限

分别配制 0.02、0.05、0.10、0.16、0.20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  混合标准溶液，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 倍信噪比计算各化合物的仪器检出限。各化合物的线性相关系数、检出限如表 2 所示。



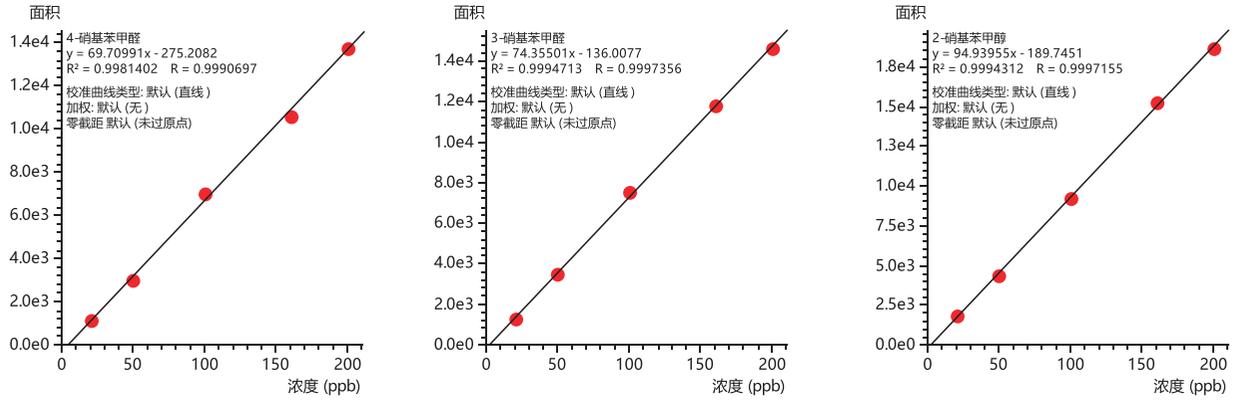


图 2 各化合物标准曲线

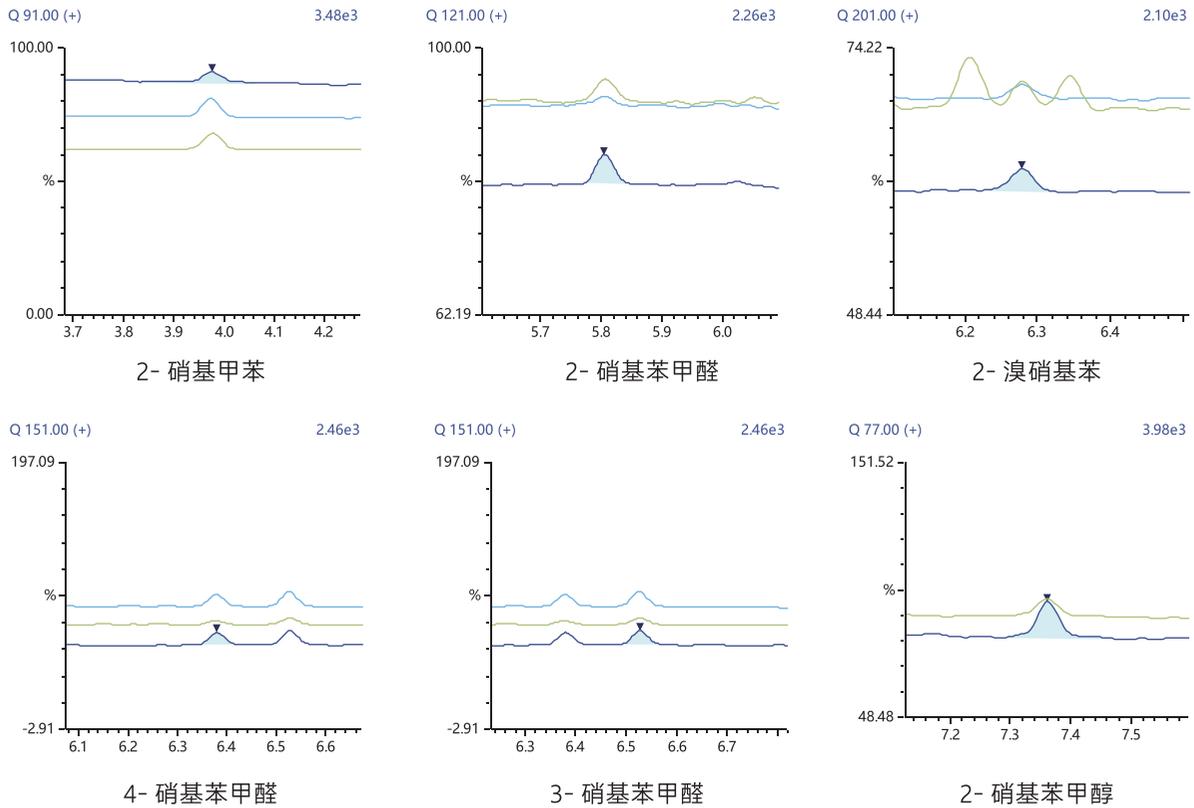


图 3 质量色谱图 (0.02 µg/mL)

表 2 标准曲线相关系数及仪器检出限

No.	化合物名称	相关系数 (R)	检出限 (ng/mL)
1	2-硝基甲苯	0.9996	0.326
2	2-硝基苯甲醛	0.9996	0.357
3	2-溴硝基苯	0.9997	0.496
4	4-硝基苯甲醛	0.9990	0.377
5	3-硝基苯甲醛	0.9997	0.263
6	2-硝基苯甲醇	0.9997	0.270

### 3.3 重复性实验

取浓度为 0.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$  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	2- 硝基甲苯	3958	3917	4098	4218	3953	4034	2.80
2	2- 硝基苯甲醛	2564	2725	2696	2592	2669	2741	2.70
3	2- 溴硝基苯	1985	2022	2045	1991	1898	2078	3.10
4	4- 硝基苯甲醛	3046	3265	3202	3025	3079	3257	3.45
5	3- 硝基苯甲醛	3426	3470	3453	3417	3476	3623	2.16
6	2- 硝基苯甲醇	4474	4244	4427	4321	4429	4433	1.98

### 3.4 实际样品测定及加标回收率

取硝苯地平按上述方法进行测定，药品中未检出遗传毒性杂质，以此样品进行三个浓度水平的加标实验，详细结果见图 4 和表 4。

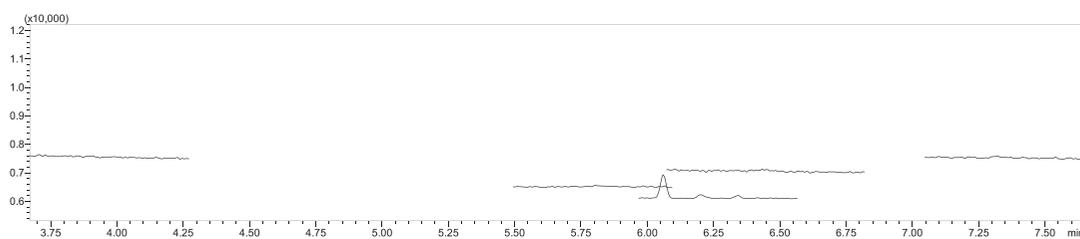


图 4 实际样品色谱图

表 4 硝苯地平样品加标实验结果 (n=3)

No.	化合物名称	0.005 $\mu\text{g}/\text{g}$		0.01 $\mu\text{g}/\text{g}$		0.032 $\mu\text{g}/\text{g}$	
		平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	2- 硝基甲苯	95.85	3.93	104.59	1.95	106.01	4.08
2	2- 硝基苯甲醛	111.14	2.44	117.64	0.26	111.95	1.34
3	2- 溴硝基苯	100.61	3.82	116.74	4.27	108.69	3.34
4	4- 硝基苯甲醛	103.54	0.77	113.21	0.94	113.32	2.16
5	3- 硝基苯甲醛	106.00	5.24	114.92	3.07	113.96	2.78
6	2- 硝基苯甲醇	107.61	4.92	113.06	4.13	105.13	0.83

## ■ 结论

本文利用 GCMS-QP2050 气质联用仪，建立了硝苯地平中 6 种遗传毒性杂质的检测方法。在 0.02 ~ 0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度范围内，各组分标准曲线相关系数均大于 0.999，线性关系良好；0.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$  标准品溶液连续进样 6 针，各组分峰面积 RSD 小于 4%。对样品基质进行了低、中、高 (0.005  $\mu\text{g}/\text{g}$ 、0.01  $\mu\text{g}/\text{g}$ 、0.032  $\mu\text{g}/\text{g}$ ) 三水平的加标回收实验，回收率在 95.85-117.64% 之间。方法专属性强，重复性好，可为硝苯地平质量控制提供参考依据。

岛津应用云

