

GC-MS/MS 法测定丁酸氯维地平中基因毒性杂质丁酸氯甲酯和 2,3- 二氯苯甲醛含量

GCMSMS-159

摘要：本文建立了三重四极杆气相色谱 - 质谱联用仪 (GCMS-TQ8050 NX) 测定丁酸氯维地平中两种基因毒性杂质丁酸氯甲酯和 2,3- 二氯苯甲醛含量的方法。结果表明：丁酸氯甲酯标液浓度在 2~200 $\mu\text{g/L}$ ，2,3- 二氯苯甲醛标液浓度在 1~100 $\mu\text{g/L}$ 范围内，两目标组分校准曲线线性相关系数 r 均在 0.9999 以上。对浓度 2 $\mu\text{g/L}$ 丁酸氯甲酯和 1 $\mu\text{g/L}$ 2,3- 二氯苯甲醛标准溶液进行重复性实验，两组分峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别为 2.28% 和 3.13% ($n=6$)，丁酸氯甲酯和 2,3- 二氯苯甲醛仪器检出限 (LOD) 为 0.022 $\mu\text{g/L}$ 和 0.067 $\mu\text{g/L}$ ，在对应的加标浓度下 (丁酸氯甲酯：10 $\mu\text{g/g}$ ，2,3- 二氯苯甲醛：5 $\mu\text{g/g}$)，两组分的回收率为 117.4% 和 81.5%。本文可为丁酸氯维地平中丁酸氯甲酯和 2,3- 二氯苯甲醛的准确测定提供一种参考。

关键词：GC-MS/MS 基因毒性杂质 丁酸氯甲酯 2,3- 二氯苯甲醛

丁酸氯维地平 (Clevidipine butyrate, CLE)，是一种新型的静脉注射用抗高血压药物，于 2008 年作为处方药首次在美国上市。丁酸氯维地平是一种超短效二氢吡啶类钙离子通道拮抗剂，可选择性抑制动脉血管平滑肌细胞外的钙离子内流，其起效迅速，剂量响应呈线性，半衰期短，作用结束也迅速，因此可以通过对剂量的精细调节起到降压效果，有助于医生在临床使用中根据患者的具体血压监测值采取个体化用药。与硝酸甘油、硝普钠相比，丁酸氯维地平维持血压更为有效且更加安全。

目前，在合成丁酸氯维地平原料药的过程中，会使

用到中间体 2,3- 二氯苯甲醛以及丁酸氯甲酯，并在药物合成后对药物进行精制，得到高纯度的丁酸氯维地平。在此过程中，需要对基因毒性杂质 2,3- 二氯苯甲醛和丁酸氯甲酯进行监控，获得满足质量要求的原料药。

本文基于岛津公司三重四极杆气相色谱 - 质谱联用仪 GCMS-TQ8050 NX，建立了测定丁酸氯维地平中基因毒性杂质丁酸氯甲酯和 2,3- 二氯苯甲醛方法。此方法灵敏度高，结果准确，可为丁酸氯维地平中丁酸氯甲酯和 2,3- 二氯苯甲醛准确定量提供参考。

实验部分

1.1 仪器

GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气质联用仪

1.2 分析条件

色谱柱：SH-Rxi-5Sil MS, 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm

柱温程序：50 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)_10 $^{\circ}\text{C}$ /min_150 $^{\circ}\text{C}$ _30 $^{\circ}\text{C}$ /min _300 $^{\circ}\text{C}$ (5 min)

柱流量：1.2 mL/min

溶剂切割时间：2.5 min

检测器电压：调谐电压 +0.5 kV

离子源温度：230 $^{\circ}\text{C}$

接口温度：280 $^{\circ}\text{C}$

采集方式：MRM，见表 1

1.3 样品前处理

准确称取 0.1 g 精制的丁酸氯维地平样品于 15 mL 离心管中，加入 10 mL 乙酸乙酯，旋涡震荡直至溶解完全后，在 3000 r/min 的转速下离心 5 min，取上清液 1 mL 至 1.5 mL 的样品瓶中，待分析。

结果与讨论

2.1 丁酸氯甲酯和 2,3- 二氯苯甲醛标准溶液谱图

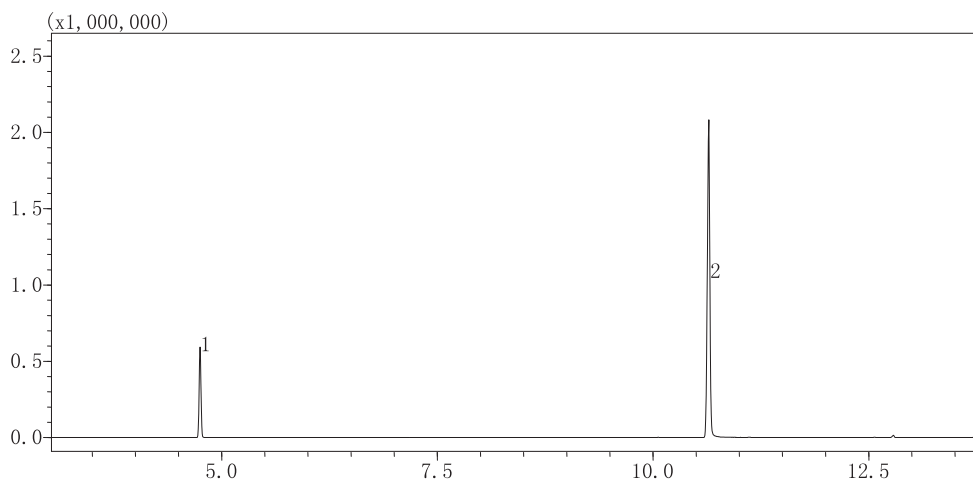


图1 丁酸氯甲酯和2,3-二氯苯甲醛TIC图 (丁酸氯甲酯: 500 $\mu\text{g/L}$; 2,3-二氯苯甲醛: 250 $\mu\text{g/L}$)

表1 丁酸氯甲酯和2,3-二氯苯甲醛保留时间及MRM参数

ID	化合物名称	CAS号	保留时间	定量离子对	CE	定性离子对	CE
1	丁酸氯甲酯	33657-49-7	4.740	108.00>72.00	4	108.00>60.00	20
2	2,3-二氯苯甲醛	6334-18-5	10.630	173.00>145.00	14	173.00>109.00	24

2.2 标准曲线和检出限

用乙酸乙酯配制丁酸氯甲酯和 2,3- 二氯苯甲醛混合标准溶液 (丁酸氯甲酯浓度为 2、10、40、100、200 $\mu\text{g/L}$, 2,3-二氯苯甲醛浓度为 1、5、20、50、100 $\mu\text{g/L}$), 取 1 μL 混合标准溶液进样, 以目标组分的浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 丁酸氯甲酯和 2,3- 二氯苯甲醛标准曲线及质量色谱图如图 2 和图 3 所示; 标准曲线方程、线性相关系数、检出限见表 2。

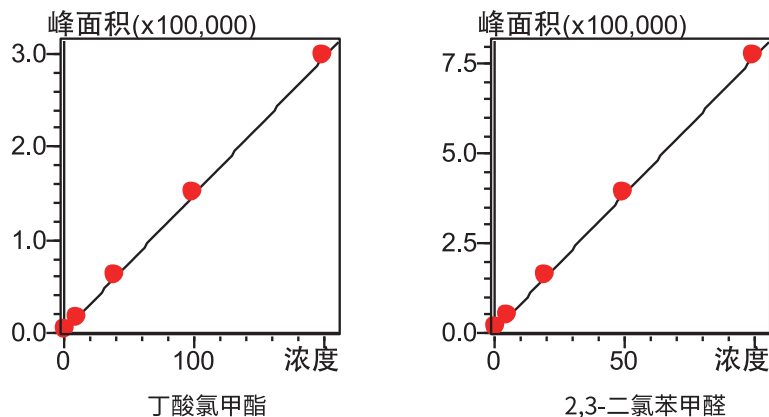


图2 丁酸氯甲酯和2,3-二氯苯甲醛标准曲线图

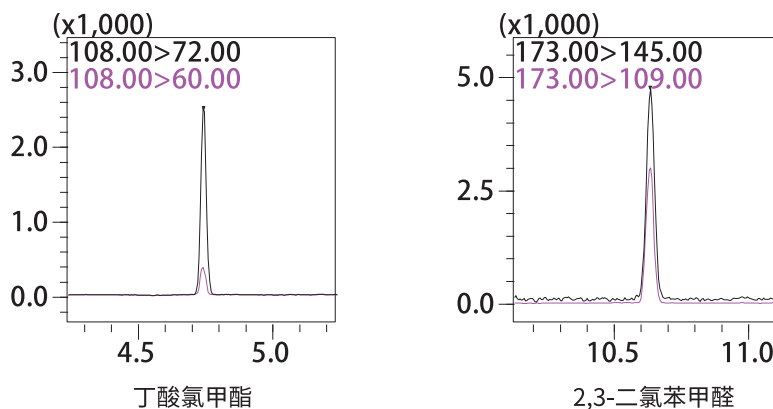


图3 丁酸氯甲酯和2,3-二氯苯甲醛质量色谱图（丁酸氯甲酯：2 μg/L；2,3-二氯苯甲醛：1 μg/L）

表2 丁酸氯甲酯和2,3-二氯苯甲醛标准曲线方程、线性相关系数、检出限及重复性

ID	组分名称	标准曲线方程	相关系数 (R)	检出限 (μg/L)	峰面积 RSD% (n=6)
1	丁酸氯甲酯	Y=1477.113X+1473.526	0.9999	0.022	2.28
2	2,3-二氯苯甲醛	Y=7654.62X+4619.979	0.9999	0.067	3.13

2.3 重复性实验

取丁酸氯甲酯浓度为 2 μg/L，2,3-二氯苯甲醛浓度为 1 μg/L 的混合标液连续进样 6 针，计算组分峰面积的 RSD%，考察重复性，测定结果见表 2 中峰面积 RSD%。

2.4 加标回收率

在待测样品中添加丁酸氯甲酯和 2,3-二氯苯甲醛标准混合溶液，添加水平为丁酸氯甲酯为 10 μg/g 和 2,3-二氯苯甲醛 5 μg/g，加标样品平行处理 3 份，样品的加标回收率结果见表 3。

表3 各组分添加回收率结果

ID	化合物名称	加标浓度 (μg/g)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	丁酸氯甲酯	10	117.4	1.41
2	2,3-二氯苯甲醛	5	81.5	2.98

2.5 样品分析结果

取精制的丁酸氯维地平待测样品 0.1 g，按 1.2 样品前处理流程进行样品前处理，GCMS-TQ8050 NX 测定，样品定量结果如图 4 和表 4 所示。

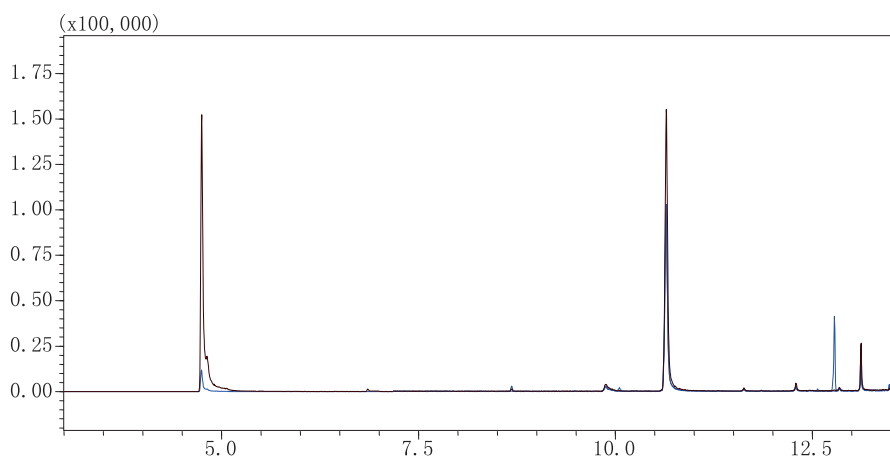


图4 精制丁酸氯维地平样品MRM图

表4 精制丁酸氯维地平样品定量结果

ID	化合物名称	含量 (µg/g)
1	丁酸氯甲酯	20.54
2	2,3-二氯苯甲醛	5.05

■ 结论

采用岛津公司三重四极杆气相色谱 - 质谱联用仪 (GCMS-TQ8050 NX) 对丁酸氯维地平中两种基因毒性杂质丁酸氯甲酯和 2,3- 二氯苯甲醛进行测定。两目标物的标准曲线线性相关系数均大于 0.9999, 丁酸氯甲酯和 2,3- 二氯苯甲醛的检测限分别为 0.022 µg/L 和 0.067 µg/L, 丁酸氯甲酯和 2,3- 二氯苯甲醛的加标浓度为 10 µg/g 和 5 µg/g 的条件下, 两组分加标回收率为 117.4% 和 81.5%。实验结果表明: 此方法定量准确、灵敏度高, 可为丁酸氯维地平中丁酸氯甲酯和 2,3- 二氯苯甲醛的准确测定提供一种参考。