

LCMS-QTOF 用于布美他尼中 N- 亚硝基布美他尼的测定

LCMS-QTOF-088

摘要： 本文利用岛津超高效液相色谱 - 飞行时间质谱仪，建立了布美他尼中杂质 N- 亚硝基布美他尼的检测方法。亚硝基布美他尼在 1.0~20 ng/mL 浓度范围内，其相关系数大于 0.999，精确度在 94.2%~105.2%；回收率为 91.59~104.71%；对不同浓度的标准溶液平行分析 6 次，其保留时间 RSD 为 0.08~0.16%，面积 RSD 为 0.89~2.94%，仪器精密度良好。该方法满足检测要求，同时采用了切阀的方式减少质谱的污染，可有效应对 FDA 发布的对于布美他尼药物产品中的亚硝胺类杂质 N- 亚硝基布美他尼的检测。

关键词： LCMS-Q-TOF N- 亚硝基布美他尼 定量检测

技术特点：

- ❖ 使用离子累积技术，可提高目标物灵敏度约 20 倍。
- ❖ 采用自动进样器的 Co-injection 功能（共进样模式）消除溶剂效应对峰形的影响。

布美他尼 (bumetanide) 是一强效利尿剂。化学名为 3- 丁氨基 -4- 苯氧基 -5- 磺酰基苯甲酸。分子式： $C_{17}H_{20}N_2O_6S$ ，分子量 364.42。临床上布美他尼主要用于治疗水肿疾病，包括充血性心力衰竭、肝硬化、肾脏疾病，高血压尤其伴有肾功能不全或高血压危象等。

在一些布美他尼药物产品中发现可能存在或形成 N- 亚硝基布美他尼。为帮助确保布美他尼药物产品和药物物质的安全 and 质量，本文建立了使用岛津四极杆飞行时间质谱联用仪检测布美他尼中 N- 亚硝基布美他尼的方法，用于确定是否存在布美他尼亚硝胺药物相关杂质 (NDSRI)。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-9050 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，具体配置为：

系统控制器：	SCL-40	脱气机：	DGU-403
输液泵：	LC-40D XS × 2	柱温箱：	CTO-40C
自动进样器：	SIL-40C XS	质谱仪：	LCMS-9050
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.118, Insight Ver. 4.0 SP2		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：	Shim-pack Velox C18 (100 mm×2.1 mm I.D, 2.7 μm) 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-32009-03		
流动相：	A: 0.1% 甲酸水溶液; B: 乙腈		
进样体积：	10 μL	柱温：	40°C
流速：	0.4 mL/min	进样模式：	同时注入 (15 μL 水)
洗脱方式：	梯度洗脱，初始浓度为 B 相 20%，时间程序见表 1。		

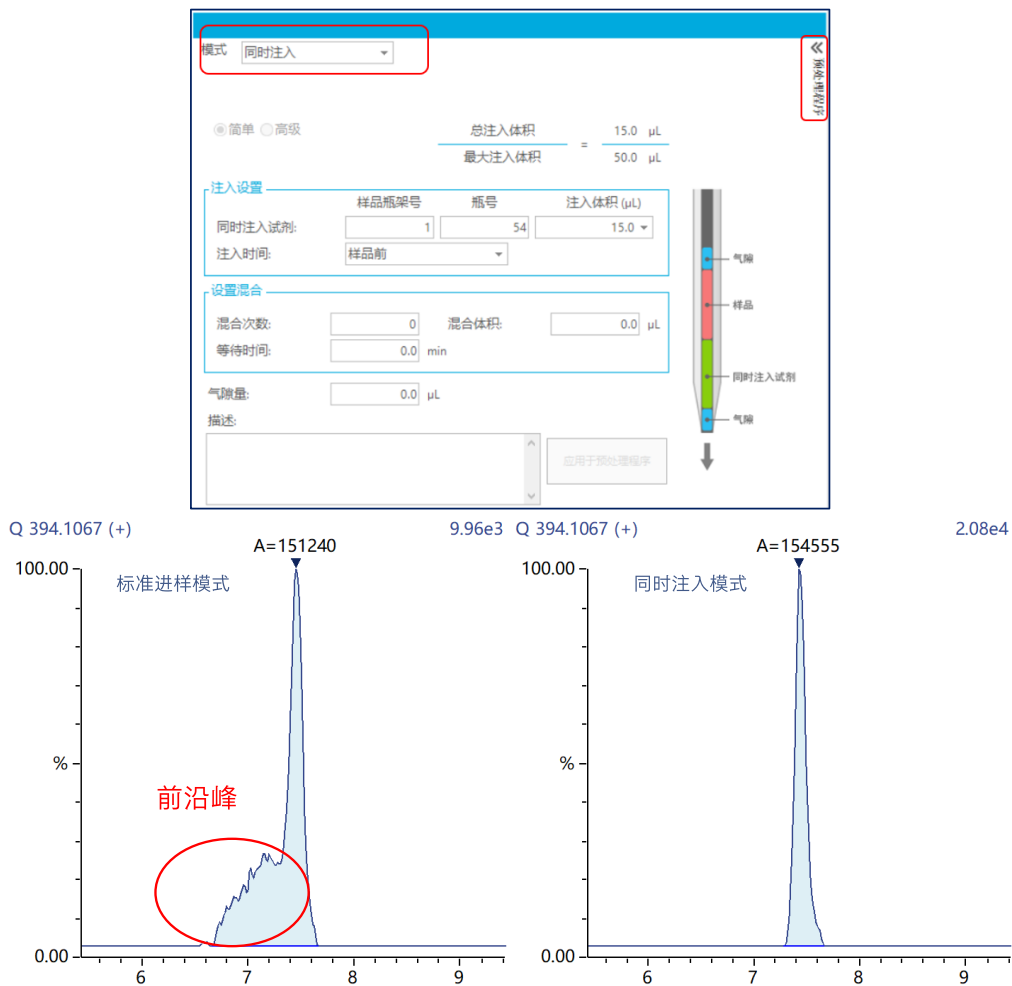


图1 不同进样模式的设置方式（上）以及标准溶液色谱图（下）

2.2 离子累积技术 (UF-Accumulation)

不使用离子累积功能时，将进行连续离子流测定。使用此功能时，可以通过在 Q2 碰撞池内积累离子，使离子释放与正交加速单元的离子射出同步，从而提高离子的使用效率。如图 2 所示，使用离子累积技术时（即 ID 选项框不勾选），可以大幅度提高目标物的响应（提升约 20 倍），有利于定量分析。

仪器参数

MS 接口 数据采集时间 时间程序 泵 PDA 柱温箱 控制器 自动进样器 自动排气 基线检查 描述

添加事件

正 负

MS MS/MS SIM Ch.1 MEM Ch.1

MS/MS (DDA) MS/MS (DIA) SIM Ch.2 MEM Ch.2

循环时间

数据采集结束时间: 11.000 min

MS程序结束时间: 10.500 min

MS程序... 事件详细设置...

检测器电压... CID气...

显示高级参数

事件号	+/-	类型	开始 (min)	结束 (min)	前体离子 m/z	产物离子 m/z	TOF开始 m/z	TOF结束 m/z	化合物名称	CE	CE变化范围 (±)	ID	事件时间(s)
1	+	SIM(Ch1)	0.000	11.000	394.1067		394.1008	394.1126	N-亚硝基布美他尼			<input type="checkbox"/>	0.150

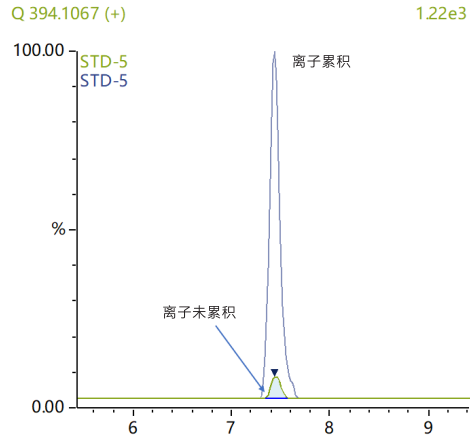


图 2 离子累积模式的设置方式（上）以及两种模式对比图（下）

2.3 色谱图

N-亚硝基布美他尼 MS 色谱图及布美他尼 PDA 色谱图如下所示,在 7.8 ~ 10.5 min 内将布美他尼切入废液中,防止过高的浓度污染质谱。

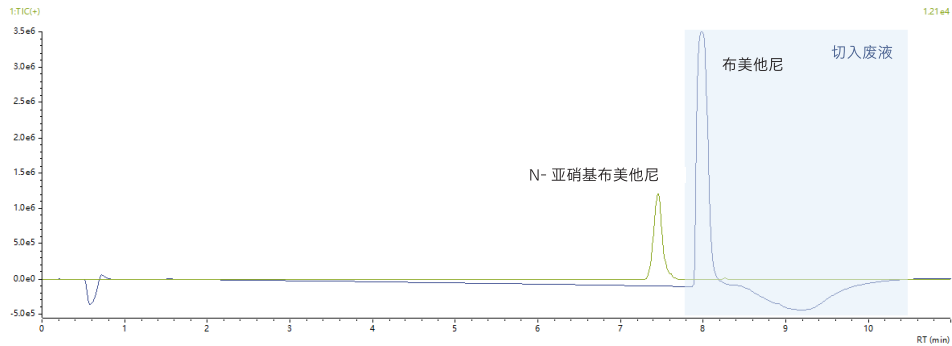


图 3 N-亚硝基布美他尼及原料药布美他尼色谱图

2.4 校准曲线

按照 1.3 项下配制方法,配制校准曲线浓度点对应的溶液。以化合物浓度为横坐标,色谱峰面积为纵坐标进行分析。N-亚硝基布美他尼在 1.0~20.0 ng/mL 浓度范围内相关系数大于 0.999,精确度在 94.2%~105.2%,曲线结果如图 4 所示。

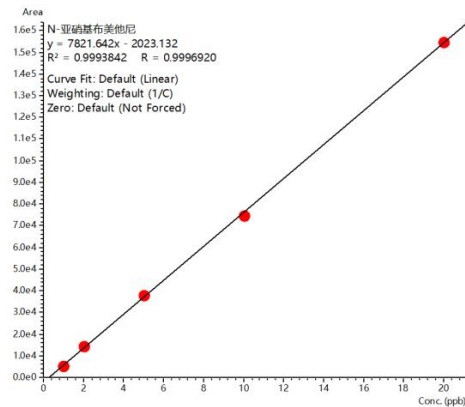


图 4 校准曲线结果

2.5 精密度测定结果

分别取低浓度和高浓度点样品，连续进样 6 针考察精密度，结果如表 3 所示。

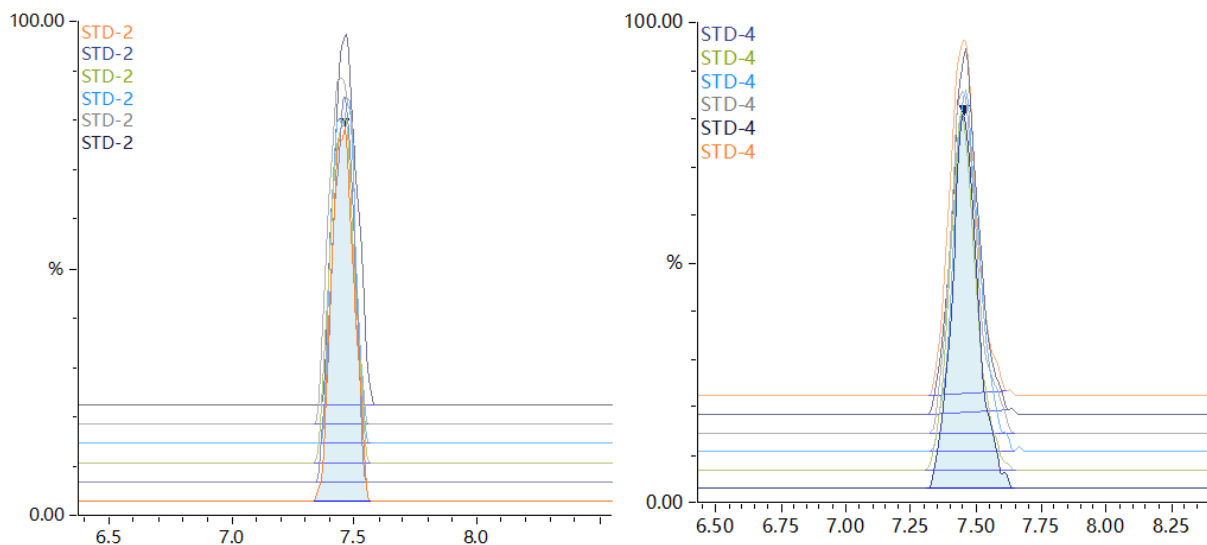


图 5 不同浓度水平下连续 6 针叠加图 (左: 2 ng/mL; 右: 10 ng/mL)

表 3 精密度测定结果 (n=6)

浓度	2 ng/mL		10 ng/mL	
	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	7.46	14488	7.45	75717
2	7.46	14340	7.45	73903
3	7.47	13868	7.46	75132
4	7.44	14875	7.45	73842
5	7.46	15083	7.46	74955
6	7.46	14427	7.46	74481
平均值	7.46	14514	7.45	74672
RSD(%)	0.16	2.94	0.08	0.98

2.6 加标回收率及实际样品测试

按照 1.3 项下配制方法，分别配制供试品溶液以及加标溶液，其中每个浓度水平加标溶液平行配置 3 份，按 1.2 中的分析条件对供试品及加标样进行分析，测试供试品中 N-亚硝基布美他含量为 1.84 ng/mL，色谱图如图 6 所示；加标回收率在 91.59~104.71% 之间；如表 4 所示。

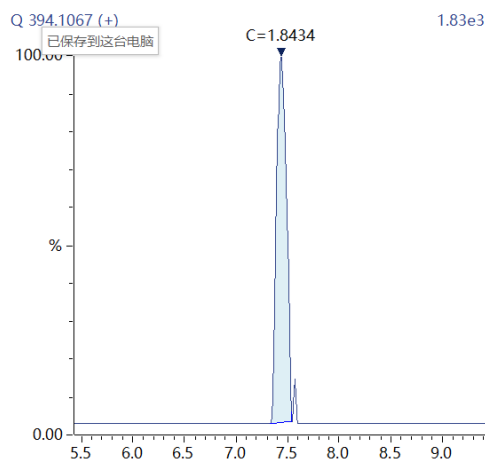


图 6 供试品溶液色谱图

表 4 加标样品分析结果

	供试品浓度 (ng/mL)	加标浓度 (ng/mL)	测定浓度 (μg/mL)	回收率 (%)
LQC	1.84	2	3.88	101.63
			3.86	101.07
			3.94	104.71
HQC	1.84	10	11.00	91.59
			11.40	95.60
			11.47	96.29

■ 结论

本文利用岛津公司的 LCMS-9050 四极杆飞行时间液质联用仪，建立了对布美他尼中 N-亚硝基布美他尼的测定方法。使用 SIM 模式采集，外标法定量分析。N-亚硝基布美他尼在 1.0~20.0 ng/mL 浓度范围内相关系数大于 0.999，精确度在 94.2%~105.2%；加标回收实验中，考察了 2 个不同浓度水平，回收率为 91.59~104.71%；重复性实验中，对不同浓度的标准溶液重复进样 6 次，其保留时间 RSD 为 0.08~0.16%，面积 RSD 为 0.89~2.94%，仪器精密度良好。该方法能满足 FDA 发布的对于布美他尼药物产品中的亚硝胺类杂质 N-亚硝基布美他尼的检测。

岛津应用云

