

LC-MS 测定罗库溴铵缩合物中环氧化物的含量

吴水仙, 王咏, 龚伟青(浙江仙琚制药股份有限公司, 浙江 台州 317300)

摘要: 目的 采用液相色谱-四级杆质谱法(LC-MS)建立罗库溴铵缩合物中环氧化物的检测方法。方法 色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C₁₈(150 mm×2.1 mm, 3 μm), 以甲醇-0.1%甲酸溶液为流动相进行梯度洗脱, 流速: 0.25 mL·min⁻¹, 柱温: 30 ℃, SIM 离子采集方式, 采集离子分子量: 347.2, APCI 离子源, 进样量: 5 μL。结果 环氧化物的定量限为 0.000 3%, 检测限为 0.000 09%, 柱温、流速的微小变化不影响检测结果, 定量限浓度平均回收率为 98.9%(n=3)。结论 本方法灵敏度高, 准确度高, 可用于罗库溴铵缩合物中环氧化物限量检测。

关键词: 罗库溴铵; 环氧化物; 液质联用; 检测

中图分类号: R917.103

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)06-0539-03

Determination of Epoxy Compound in Rocuronium Bromide Condensation Compound by LC-MS

WU Shuixian, WANG Yong, GONG Weiqin(Zhejiang Xianju Pharmaceutical Co. Ltd., Taizhou 317300, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a LC-MS method for the determination of epoxy compound in rocuronium bromide

作者简介: 吴水仙, 女, 硕士, 高级工程师

Tel: 18857636302

E-mail: wsx@xjpharma.com

中国现代应用药学 2012 年 6 月第 29 卷第 6 期

Chin JMAP, 2012 June, Vol.29 No.6

• 539 •

condensation compound. **METHODS** The analysis was carried out on an Agilent Eclipse XDB-C₁₈ column(150 mm×2.1 mm, 3 μm), using a gradient elution of methanol and 0.1% formic acid as the mobile phase at a flow rate of 0.25 mL·min⁻¹ at 30 °C, ion source was APCI, acquisition mode was SIM positive ionization, and selected ion was *m/z* 347.2 ([M+H]⁺). **RESULTS** The LOQ was 0.000 3%, the LOD was 0.000 09%; there was no influence on sample testing when small changes were made in the chromatographic conditions; the average recovery was 98.9% with RSD of 8.41%(*n*=3). **CONCLUSION** The method was sensitive, accurate, and suitable for the limit determination of epoxy compound in rocuronium bromide condensation compound.

KEY WORDS: rocuronium bromide; epoxy compound; LC-MS; determination

罗库溴铵是一个非去极化神经肌肉阻滞剂,并且比其它非去极化药物更快起效^[1-2]。罗库溴铵缩合物是罗库溴铵的中间体,罗库溴铵缩合物的前一个中间体为环氧物。因环氧物结构具有潜在的基因毒性,所以笔者通过罗库溴铵缩合物中的环氧物的含量来控制原料药罗库溴铵中环氧物的含量;根据 ICH 指导原则规定^[3],笔者依据罗库溴铵制剂中日最大摄入量计算得出罗库溴铵原料药中环氧物限量为 0.001%。由于环氧物结构中只有一个双键结构,紫外吸收很差,故考察了采用 ELSD 检测器时环氧物的检测限,结果检测限浓度为 0.027 39 mg·mL⁻¹,相对浓度(样品浓度 10 mg·mL⁻¹)0.27%,远远高于 0.001%的限度要求。与 HPLC-UV、HPLC-ELSD 相比,LC-MS 具有灵敏度高、选择性强等优点。本文建立 LC-MS 方法来检测罗库溴铵缩合物中环氧物的含量,经过方法验证证明该方法灵敏度高、专属性好、准确度高。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪;Agilent 6120 四级杆质谱仪(Agilent 化学工作站,美国 Agilent 公司);CP225D 天平(德国赛多利斯公司)。

罗库溴铵缩合物(批号:090904)和罗库溴铵环氧物(批号:100302,纯度:91.7%)由浙江仙琚制

药股份有限公司提供。甲醇为色谱纯(TEDIA 公司);甲酸为色谱纯(阿拉丁公司);水为注射用水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Eclipse XDB-C₁₈(150mm×2.1 mm, 3 μm);流动相 A:甲醇;流动相 B:0.1% 甲酸溶液,梯度洗脱:先用 60%流动相 A 和 40% 流动相 B 运行 1 min,在 1~2 min 流动相 A 由 60% 增至 90%,流动相 B 由 40%减至 10%,之后维持等度洗脱 6 min,在接下来 4 min 流动相 B 由 10% 增加至 40%,流动相 A 由 90%减至 60%,返回下一个。流速:0.25 mL·min⁻¹;柱温:30 °C;离子采集模式:SIM;采集离子 *m/z*:347.2;离子源:APCI 源;进样量:5 μL。

2.2 对照品溶液制备

取罗库溴铵环氧物适量,精密称定,加甲醇稀释至 3×10⁻⁷ mg·mL⁻¹,即得。

2.3 供试品溶液制备

取罗库溴铵缩合物适量,精密称定,加甲醇稀释至 10 mg·mL⁻¹,即得。

2.4 专属性试验

取供试品溶液,对照品溶液照及罗库溴铵缩合物加 0.001%环氧物的混合溶液,按“2.1”色谱条件分别进样,结果见图 1。

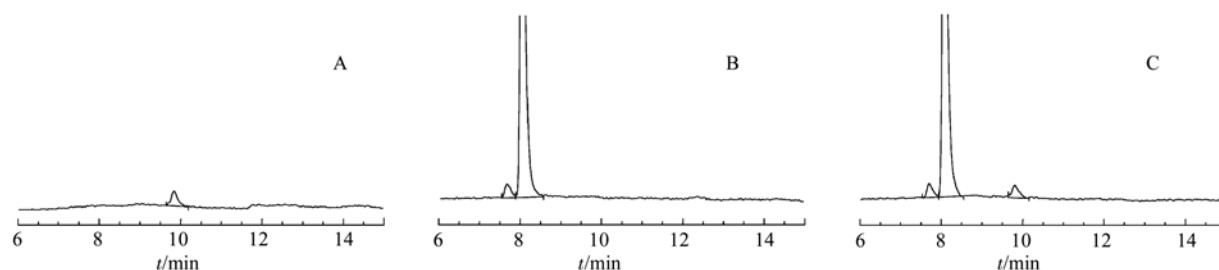


图 1 LC-MS 离子流图

A-罗库溴铵环氧物;B-罗库溴铵缩合物;C-罗库溴铵缩合物加 0.001%环氧物

Fig 1 LC-MS ion chromatograms

A-rocuronium bromide epoxy compound; B-rocuronium bromide condensation compound; C-rocuronium bromide condensation compound and 0.001% rocuronium bromide epoxy compound

2.5 定量限、检测限试验

取对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样两针,计算 S/N 值,平均信噪比为 10 左右,即为定量限浓度(相对浓度 0.000 3%)。

取对照品溶液 3 mL,加甲醇稀释至 10 mL,按“2.1”项下色谱条件进样两针,计算 S/N 值,平均信噪比为 3 左右,即为检测限浓度(相对浓度 0.000 09%)。

2.6 仪器精密度试验

取对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 针,计算环氧物峰面积,相对标准偏差(RSD)为 8.45%。

2.7 方法耐用性试验

取对照品溶液,分别按变化后条件进行系统适用性试验,计算柱效,环氧物 S/N 值,及峰面积的 RSD 值。结果见表 1。

2.8 方法准确度试验

取罗库溴铵缩合物约 100 mg 3 份,加入对照品适量,按“2.3”项下方法操作,制得 3 份供试品溶液,按“2.1”项下的色谱条件,测定含量,计算回收率。结果见表 2。

表 1 方法耐用性试验结果

Tab 1 Results of robustness test

改变条件		环氧物峰 面积 RSD/%	柱效	S/N 值
流速	0.22 mL·min ⁻¹	9.53	20190	10.5
	0.28 mL·min ⁻¹	9.18	21271	10.1
柱温	25 ℃	5.45	20841	10.2
	30 ℃	8.45	20639	10.3

表 2 方法准确度试验结果

Tab 2 Results of accuracy test

样品中环 氧物含量/ ng·mL ⁻¹	加入量/ ng	测得量/ ng	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
/		0.158	106.8		
/	0.148	0.147	99.7	98.9	8.41
/		0.134	90.3		

2.9 样品检测

取罗库溴铵缩合物适量,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件,分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL,注入 LC-MS 进行测定,采用外标一点法计算罗库溴铵缩合物中环氧物含量,结果批号为 090802, 090803, 090804 的 3 批样品均未检出环氧物。

3 讨论

APCI 为大气压力化学电离源,样品先形成雾,然后电晕放电针对其放电,在高压电弧中,样品被电离,然后去溶剂化形成离子,最后检测,对极性小的样品效果较好。APCI 主要产生的是单电荷离子,所以分析的化合物分子量一般<1 000。用这种电离源得到的质谱很少有碎片离子,主要是准分子离子。因而相对于 ESI,APCI 更适合于弱极性、小分子化合物。环氧物为弱极性化合物,分子量为 346,APCI 适用于环氧物的检测。

虽然罗库溴铵缩合物分子量与环氧物分子量相差比较大,但是进样后仍然发现有样品峰出现,可能由于罗库溴铵缩合物分子被打碎后碎片离子与方法中设定选择离子质核比相同导致,本方法采用梯度洗脱方式可以使环氧物与罗库溴铵缩合物完全分离,检测方法具有很好的专属性,无杂峰干扰。

罗库溴铵缩合物为罗库溴铵合成中的一个中间体,本实验依据罗库溴铵中环氧物限量要求考察中间体缩合物中环氧物含量,样品检测所得结果均<检测限(相对浓度 0.000 09%),根据合成过程中等比消除的原则,成品罗库溴铵中环氧物含量应更低于 0.000 09%,即符合要求。

REFERENCES

- [1] MAGORIAN T, FLANNERY K B, MILLER R D. Comparison of rocuronium, succinylcholine and vecuronium for rapid-sequence induction of anesthesia in adult patients [J]. Anesthesiology, 1993, 79(5): 913-918.
- [2] BAO Y, ZHANG L F, SHI D P, et al. Risk factors for the residual block of nondepolarizing muscle relaxants [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2010, 27(7): 604-607.
- [3] ICH guideline Q3A(R2) [S]. 2008: 8-11.

收稿日期: 2011-05-31