

Validation of Analysis Method of 3-Sulfonic Acid Methyl Ester and 3-Sulfonic Acid Ethyl Ester in Landiolol Hydrochloride

Fansheng Ning, Shanshan Wang, Lei Li, Yunliang Lin, Xiaoli Wang, Xiangfeng Chen*

Shandong Analysis and Test Centre, Jinan Shandong
Email: nh1228@163.com, xiangfchensdas@163.com

Received: Mar. 26th, 2017; accepted: Apr. 13th, 2017; published: Apr. 17th, 2017

Abstract

Analysis method of 3-sulfonic acid methyl ester and 3-sulfonic acid ethyl ester in Landiolol Hydrochloride were established in this work. Multiple reaction monitoring was used to reduce the interference of the matrix and increase the sensitivity of the method. The linear correlation coefficients of two target compounds were all above 0.99 in the concentration range of 0.05 µg/ml to 1 µg/ml. The recoveries of samples with two standard additions ranged from 95.0% to 110.0%. The precision (RSD%, n = 6) of the method was between 1.5% and 3.0%. The method was able to analyze 3-sulfonic acid methyl ester and 3-sulfonic acid ethyl ester in Landiolol Hydrochloride.

Keywords

Gas Chromatography Tandem Mass Spectrometry, Multiple Reaction Monitoring (MRM), Precision, Accuracy, Applicability

盐酸兰地洛尔原料药中基因毒性杂质的定量分析方法研究

宁凡盛, 王珊珊, 李磊, 林云良, 王晓利, 陈相峰*

山东省分析测试中心, 山东 济南
Email: nh1228@163.com, xiangfchensdas@163.com

收稿日期: 2017年3月26日; 录用日期: 2017年4月13日; 发布日期: 2017年4月17日

*通讯作者。

文章引用: 宁凡盛, 王珊珊, 李磊, 林云良, 王晓利, 陈相峰. 盐酸兰地洛尔原料药中基因毒性杂质的定量分析方法研究[J]. 分析化学进展, 2017, 7(2): 60-66. <https://doi.org/10.12677/aac.2017.72008>

摘要

文章建立了气相色谱-串联四级杆质谱法测定3-硝基苯磺酸甲酯、3-硝基苯磺酸乙酯的方法,采用多反应监测(MRM)模式,有效地降低基质干扰,在0.05~1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的范围内,两种目标物的线性相关系数都在0.99以上,通过方法精密度及准确度实验,样品在两个加标浓度水平下准确度均在95.0%~110.0%之间、方法精密度在1.5%~3.0%之间,准确度及精密度良好,该方法能完全满足盐酸兰地洛尔杂质中的3-硝基苯磺酸甲酯、3-硝基苯磺酸乙酯的检测。

关键词

气相色谱-串联四级杆质谱,多反应监测,精密度,准确度,适用性

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肾上腺素 β_1 受体阻断药主要用于处理高血压冠心病以及心律失常等[1] [2] [3]。目前,上市的超短效 β_1 受体阻断剂仅有 2 个,第一个超短 β_1 受体阻断剂由 American Critical Care 研制开发的艾司洛尔(Esmolol),除了可以降低心率外,大剂量艾司洛尔还可降低血压,但是艾司洛尔活性较低[4] [5] [6]。第二种是 2002 年在美国上市盐酸兰地洛尔(Landiolo Hydrochloride)是由日本小野制药工业株式会社研制开发的新型超短效 β_1 受体阻断药[7] [8] [9]。该药具有更高的心脏选择性,主要用于手术时心动过速、心房纤维性颤动、心房扑动的治疗[10] [11] [12] [13]。盐酸兰地洛尔基因毒性杂质是指在原料药或辅料的生产中,以及在制剂制备过程中使用的,但在工艺过程中未能完全去除的有机物[14] [15] [16]。建立科学的分析方法有助于保证药品生产环境的质量控制。目前关于盐酸兰地洛尔中的 3-硝基苯磺酸甲酯和 3-硝基苯磺酸乙酯杂质的分析方法未见报到。本文采用气相色谱-串联四级杆质谱法建立了盐酸兰地洛尔中的 3-硝基苯磺酸甲酯和 3-硝基苯磺酸乙酯杂质的分析方法。

2. 实验部分

检测条件及样品处理

本实验运用 Agilent 7890A-7000B (GC-QQQ)气相色谱-串联四级杆质谱仪;气相色谱条件:色谱柱为 HP-5ms (30 m \times 250 μm \times 0.25 μm),柱温箱升温程序为:50 $^{\circ}\text{C}$ 以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 220 $^{\circ}\text{C}$ 保持 1 min,再以每分钟 30 $^{\circ}\text{C}$ 升至 280 $^{\circ}\text{C}$ 保持 5 min。进样口温度 300 $^{\circ}\text{C}$ 。采用脉冲不分流进样模式。载气使用高纯氦气,流速为 1.0 mL/min。进样体积为 1.0 μL 。

质谱条件:采集模式用多反应监测(MRM)模式;离子源温度为 230 $^{\circ}\text{C}$ 。各杂质组分质谱定量/定性离子见表 1。

配制储备溶液:稀释溶剂使用色谱级 N,N-二甲基甲酰胺。

对照品溶液:精密称定 3-硝基苯磺酸甲酯标样(辰欣药业股份有限公司提供,批号:20140914) 10.2 mg,置 10 mL 棕色容量瓶中, N,N-二甲基甲酰胺稀释定容,得 1.02 mg/mL 标准溶液;精密称定 3-硝基苯磺酸

Table 1. Mass parameters of 3-sulfonic acid methyl ester and 3-sulfonic acid ethyl ester**表 1.** 3-硝基苯磺酸甲酯、3-硝基苯磺酸乙酯的质谱参数

化合物	结构式	保留时间(min)	定性离子(m/z)	碰撞能(eV)	定量离子(m/z)	碰撞能(eV)
3-硝基苯磺酸甲酯		14.687	217/217	0	217/123	2
3-硝基苯磺酸乙酯		15.285	186/122	5	186/92	5

乙酯标样(辰欣药业股份有限公司提供,批号:20140915) 10.1 mg,置 10 mL 棕色容量瓶中, N,N-二甲基甲酰胺稀释定容,得 1.01 mg/mL 标准溶液。各精密量取上述储备液标准溶液各 1.0 mL 置于 10 mL 容量瓶中, N,N-二甲基甲酰胺稀释至刻度,摇匀后得 100 μ g/mL 混合标准储备溶液 A。

供试品溶液:取盐酸兰地洛尔试样约 300 mg,精密称定,置于 10 mL 棕色容量瓶中, N,N-二甲基甲酰胺稀释定容,摇匀后超声 5 分钟,作为供试品溶液待测。

3. 结果与讨论

3.1. 专属性实验

1) 空白溶剂: N,N-二甲基甲酰胺,待测。

2) 空白样品溶液:精密称定空白样品 300.1 mg,置 10 mL 量瓶中, N,N-二甲基甲酰胺稀释定容,作为空白样品溶液,待测。

3) 3-硝基苯磺酸甲酯定位溶液:直接取浓度为 1 mg/mL 的 3-硝基苯磺酸甲酯标准溶液 1.0 mL 于 1.5 mL 安捷伦进样瓶中,待测。

4) 3-硝基苯磺酸乙酯定位溶液:直接取浓度为 1 mg/mL 的 3-硝基苯磺酸乙酯标准溶液 1.0 mL 于 1.5 mL 安捷伦进样瓶中,待测。

5) 空白样品加混标溶液:准确称取盐酸兰地洛尔样品 300 mg,置于 10 mL 容量瓶中,准确加入浓度为 100 μ g/mL 的标准溶液 1.0 mL,稀释定容。摇匀后超声 5 分钟,作为空白样品加标溶液,待测。

分别精密量取上述溶液各 1.0 μ L 注入气相色谱串联质谱联用仪,记录总离子流图,结果见表 2。

3.2. 线性范围、定量限及检出限

取 3-硝基苯磺酸甲酯、3-硝基苯磺酸乙酯对照品溶液 A 适量,逐级稀释配置成浓度分别为 1.0 μ g/mL (对照品溶液 B)、0.5 μ g/mL (对照品溶液 C)、0.2 μ g/mL (对照品溶液 D)、0.1 μ g/mL (对照品溶液 E)、0.05 μ g/mL (对照品溶液 F)的 3-硝基苯磺酸甲酯、3-硝基苯磺酸乙酯混合标准曲线溶液。相同方法,分别配制三条线性混合标准曲线溶液。

精密量取上述溶液各 1.0 μ L 注入气相色谱-串联四级杆质谱仪,记录峰面积。以目标物杂质浓度为横坐标,以相应目标物峰面积为纵坐标做回归曲线,三条线性平均值计算回归方程及相应的线性回归系数。线性关系良好,相关系数均大于 0.99。分别精密量取浓度为 1.0 mg/mL 的对照品储备液,逐级稀释各对

Table 2. Result of specific test
表 2. 专属性试验结果

样品名称	硫酸二甲酯	硫酸二丁酯
空白溶剂	/	/
空白样品	/	/
定位溶液出峰时间(min)	14.70	15.29
加标溶液出峰时间(min)	14.71	15.30

照品储备液, 逐级精密量取稀释后溶液 1.0 μL , 上机分析, 当对照品浓度稀释至其信噪比(S/N)约在 10~15 左右时即为仪器定量限, 其信噪比(S/N)约在 3~5 左右即为仪器检出限。以称取 0.3 g 样品计定容至 10 mL 计方法检出限、定量限。结果见表 3。

3.3. 方法精密度及准确度试验

由于样品中未检出各杂质, 取盐酸兰地洛尔样品 300.0 mg, 置 10 mL 量瓶中, 精确加入对照品溶液 A, 稀释配制浓度为 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 试品溶液, 平行测定 6 次, 计算 RSD%, 结果见表 4。方法精密度相对标准偏差在 1.5%~3.0% 之间, 精密度良好。

空白样品溶液: 精密称定盐酸兰地洛尔样品 300.0 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加稀释溶剂至刻度, 摇匀后超声 5 分钟, 作为空白样品溶液。平行制备 3 份。

加样回收率试验溶液: 精密称定盐酸兰地洛尔样品 300.0 mg, 分别置于 10 mL 量瓶中, 分别加入混标对照品溶液 A, 稀释配制浓度为 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 及 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 的加样回收率试验溶液。每个浓度平行制备 3 份。

精密量取上述供试品溶液 1.0 μL 注入气相色谱-串联四级杆质谱仪, 记录离子流图。结果见表 5。可以看出样品在两个加标浓度水平下准确度均在 95.0%~110.0% 之间, 准确度良好。

3.4. 溶液稳定性实验

1) 对照品溶液稳定性

制备浓度为 200 ng/mL 的对照品溶液, 分别于室温放置 0 小时、2 小时、4 小时、8 小时和 12 小时、24 小时, 精密量取 1.0 μL 注入气相色谱-串联四级杆质谱仪, 记录各杂质的峰面积。结果见表 6。

2) 供试品溶液稳定性

由于样品溶液中无目标物检出, 两种化合物存在不同程度的不稳定性, 所以设定考察 5 个小时内 3-硝基苯磺酸甲酯、3-硝基苯磺酸乙酯的稳定性。参照样品加标溶液的制备方法制备一份 200 ng/mL 的加标溶液, 分别于室温放置 0 小时、1 小时、2 小时、3 小时和 4 小时、5 小时, 精密量取 1.0 μL 注入气相色谱-串联四级杆质谱仪, 记录各杂质的离子流图, 结果见表 6。由表可以看出, 对照品溶液在室温放置下 3-硝基苯磺酸甲酯 8 个小时内衰减不明显, 24 小时后衰减 25.9%; 3-硝基苯磺酸乙酯衰减较慢, 24 小时后衰减 7.29%。两种化合物均存在不同程度的不稳定性, 实验过程中应现用现配。

3.5. 实际样品测定

取待测盐酸兰地洛尔试样 3 批, 按上述方法检测, 每批样品平行测定 3 次, 测定结果见表 7。标准样品总离子流色谱图见图 1 所示。

4. 结论

采用气相色谱-串联四级杆质谱法多反应监测模式测定盐酸兰地洛尔杂质 3-硝基苯磺酸甲酯、3-硝基

Table 3. Linear range, regression equation, limit of detection and limit of quantitation**表 3.** 线性范围、回归方程、检出限及定量限

化合物	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	回归方程	仪器检出限 (ng/mL)	仪器定量限 (ng/mL)	方法检出限 ($\mu\text{g/mL}$)	方法定量限 ($\mu\text{g/mL}$)
3-硝基苯磺酸甲酯	0.1~1	$y = 2938x - 167.94;$ $R^2 = 0.9958$	30	65	1	2.2
3-硝基苯磺酸乙酯	0.1~1	$y = 13017x - 832.54;$ $R^2 = 0.9921$	25	50	0.8	1.8

Table 4. Precision of the method**表 4.** 方法精密度试验

编号	1	2	3	4	5	6	平均值	RSD%
3-硝基苯磺酸甲酯 (200 ng/mL)	206.60	206.55	207.26	203.60	199.22	201.66	204.15	1.58
3-硝基苯磺酸乙酯 (200 ng/mL)	223.73	217.01	226.92	230.02	216.37	216.36	221.57	2.79

Table 5. Accuracy of the method**表 5.** 方法准确度试验

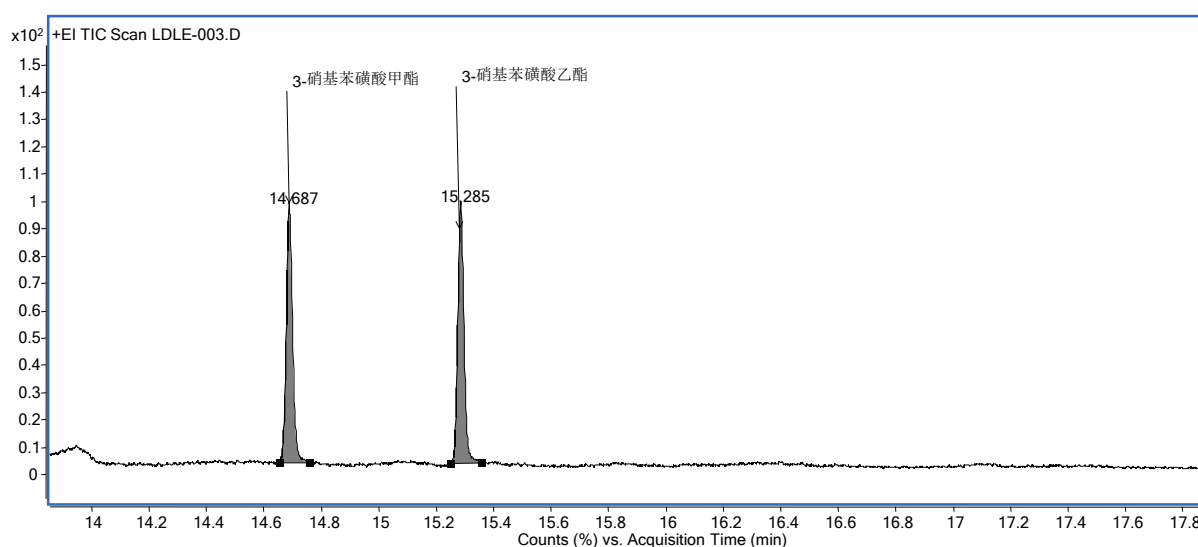
相对浓度	样品 序号	3-硝基苯磺酸甲 酯加入量(ng/mL)	3-硝基苯磺酸甲 酯测得量(ng/mL)	准确度%	3-硝基苯磺酸乙酯 加入量(ng/mL)	3-硝基苯磺酸乙 酯测得量(ng/mL)	准确度%
空白	1	/	N. D.	/	/	N. D.	/
	2	/	N. D.	/	/	N. D.	/
	3	/	N. D.	/	/	N. D.	/
200 ng/mL	1	200	200.42	100.21	200	218.83	109.41
	2	200	193.18	96.59	200	204.83	102.41
	3	200	205.23	102.62	200	215.30	107.65
500 ng/mL	1	500	506.43	101.29	500	491.46	98.29
	2	500	496.75	99.35	500	501.38	100.28
	3	500	501.02	100.20	500	494.43	98.89

Table 6. Stability of the solution**表 6.** 溶液稳定性试验

溶液	化合物	0 (h)	2 (h)	4 (h)	8 (h)	12 (h)	24 (h)	平均值	RSD%
对照品 溶液	3-硝基苯磺酸甲酯 (200 ng/mL)	193.23	187.18	188.07	176.42	188.90	148.09	180.93	9.28
	3-硝基苯磺酸乙酯 (200 ng/mL)	200.92	194.75	196.45	197.17	197.60	184.08	195.16	2.97
供试品 溶液	3-硝基苯磺酸甲酯 (200 ng/mL)	212.04	200.55	199.70	209.54	203.81	209.94	205.93	2.56
	3-硝基苯磺酸乙酯 (200 ng/mL)	216.71	204.53	219.01	199.20	199.81	213.20	208.74	4.16

Table 7. Detection of real samples**表 7.** 实际样品检测

样品编号	取样量(g)	3-硝基苯磺酸甲酯($\mu\text{g/mL}$)	3-硝基苯磺酸乙酯($\mu\text{g/mL}$)
1	301.3	<1.0 (未检出)	<0.8 (未检出)
2	302.1	<1.0 (未检出)	<0.8 (未检出)
3	299.8	<1.0 (未检出)	<0.8 (未检出)
4	298.6	<1.0 (未检出)	<0.8 (未检出)
5	301.2	<1.0 (未检出)	<0.8 (未检出)
6	304.3	<1.0 (未检出)	<0.8 (未检出)
7	298.9	<1.0 (未检出)	<0.8 (未检出)
8	303.7	<1.0 (未检出)	<0.8 (未检出)
9	302.3	<1.0 (未检出)	<0.8 (未检出)

**Figure 1.** Chromatogram of 3-sulfonic acid methyl ester and 3-sulfonic acid ethyl ester**图 1.** 3-硝基苯磺酸甲酯、3-硝基苯磺酸乙酯的色谱图

苯磺酸乙酯, 方法检出限分别为 $1 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.8 \mu\text{g/mL}$, 仪器检出限分别为 30 ng/mL 、 25 ng/mL 在 $0.05\sim 1 \mu\text{g/mL}$ 的线性范围内, 线性关系良好, 该方法精密度在 $1.5\%\sim 3.0\%$ 之间, 溶液稳定性良好, 该方法可以用于盐酸兰地洛尔杂质 3-硝基苯磺酸甲酯、3-硝基苯磺酸乙酯的检测。

基金项目

山东省自然科学基金(批准号: ZR2012BQ009)。

参考文献 (References)

- [1] Zaugg, M., Schaub, M.C., Pasch, T., *et al.* (2002) Modulation of β -Adrenergic Receptor Subtype Activities in Peri-operative Medicine: Mechanisms and Sites of Action. *British Journal of Anaesthesia*, **88**, 101-123. <https://doi.org/10.1093/bja/88.1.101>
- [2] 李京秀, 查理, 李阳, 等. β 受体阻断药在心力衰竭合并房颤治疗中的再评价[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(12): 2390-2392.

- [3] 朱凌云. 4 种 β_2 肾上腺素受体激动药对大鼠体外心脏功能影响比较[J]. 医药导报, 2012, 31(2): 142-147.
- [4] Sasao, J., Tarver, S.D., Kindscher, J.D., *et al.* (2001) In Rabbits, Landiolol, a New Ultra-Short-Acting Beta-Blocker, Exerts a More Potent Negative Chronotropic Effect and Less Effect on Blood Pressure than Esmolol. *Canadian Journal of Anaesthesia*, **48**, 985-989. <https://doi.org/10.1007/BF03016588>
- [5] 张倩, 冯明声, 曹于平, 等. 超短效 β_1 -肾上腺素受体阻断剂——盐酸兰地洛尔的研发和临床应用[J]. 中国医药指南, 2012, 10(9): 7-9.
- [6] Goto, K., Shingu, C., Miyamoto, S., *et al.* (2007) The Effect of Landiolol on Hemodynamics and Left Ventricular Function in Patients with Coronary Artery Disease. *Journal of Clinical Anesthesia*, **19**, 523-529. <https://doi.org/10.1016/j.jclinane.2007.05.003>
- [7] 俞蕴莉, 张全英, 华雯妍, 等. 液相色谱-串联质谱法测定人全血兰地洛尔浓度[J]. 医药导报, 2014, 33(8): 1009-1012.
- [8] 赫冠男, 吕黄伟, 王俊科. 兰地洛尔的药理作用及其围手术期的应用[J]. 中国新药与临床杂质, 2007, 26(12): 942-945.
- [9] 武媚然, 姜亮萍, 邵珠民, 等. 注射用盐酸兰地洛尔与 4 种溶液的配伍稳定性考察[J]. 临床合理用药杂志, 2014, 7(2): 29-30.
- [10] Murakami, M., Furuie, H., Matsuguma, K., *et al.* (2005) Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Landiolol Hydrochloride, an Ultra Short-Acting Beta1-Selective Blocker, in a Dose Escalation Regimen in Healthy Male Volunteers. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, **20**, 337-344.
- [11] Mizuno, J., Yoshiya, I., Yokoyama, T., *et al.* (2007) Age and Sex-Related Differences in Dose-Dependent Hemodynamic Response to Landiolol Hydrochloride during General Anesthesia. *European Journal of Clinical Pharmacology*, **63**, 243-252. <https://doi.org/10.1007/s00228-006-0249-1>
- [12] He, Q., Shi, M., Liu, X., *et al.* (2012) Determination of Landiolol, an Ultra-Short-Acting β -Receptor Antagonist, in Human Plasma by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography B*, **891-892**, 7-11.
- [13] 李清涛, 李明丽, 史雪莲. 盐酸兰地洛尔中残留溶剂测定方法研究[J]. 齐鲁药事, 2010, 29(2): 92-94.
- [14] 陈国华, 王丽, 姚秀梅, 等. 新型二氢吡啶类钙拮抗剂化合物的合成与生物活性[J]. 有机化学, 2010, 30(7): 997-1004.
- [15] 汪程远, 王元忠, 谭月晗, 等. 藁本内酯二聚体的合成工艺研究[J]. 中国药房, 2015(13): 1773-1775.
- [16] 曹振渝, 曾雪, 陈竹, 等. HPLC 法测定盐酸兰地洛尔起始物料 B 中有关物质的含量[J]. 中国药房, 2013, 12(45): 4294-4295.

期刊投稿者将享受如下服务:

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: aac@hanspub.org