气相色谱 - 质谱法测定氟维司群注射液中的氯化苄和二氯化苄

郑　华，卢红华*，何艳琴，郝贵周，张贵民*
（鲁南制药集团股份有限公司，国家手性制药工程技术研究中心，山东临沂 273400）

摘要：建立了气相色谱 - 质谱（GC-MS）法测定氟维司群注射液（**1**）中的遗传毒性杂质氯化苄（**2**）、二氯化苄（**3**）。采用 VF-1ms 毛细管柱（0.25 mm×30 m×0.25 μm），采用 2 种监测模式，分别对 **2**（MRM）与 **3**（SIM）进行测定。结果显示，**2** 和 **3** 分别在 5.427 ～ 54.272、4.775 ～ 47.748 ng/mL 内线性关系良好，定量限分别为 2.714、2.387 ng/mL，检测限分别为 0.54、0.48 ng/mL，平均回收率（*n*=9）分别为 99.43%、99.09%，RSD 分别为 2.43%、2.66%。建立的 GC-MS 法可为 **1** 中的杂质研究提供参考。

关键词：气相色谱 - 质谱；氟维司群注射液；氯化苄；二氯化苄
中图分类号：R917　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1001-8255(2024)02-0283-04
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.02.016

Determination of Benzyl Chloride and Benzyl Dichloride in Fulvestrant Injection by GC-MS

ZHENG Hua, LU Honghua*, HE Yanqin, HAO Guizhou, ZHANG Guimin*
(*National Chiral Pharmaceuticals Engineering and Technology Research Center, Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Linyi 273400*)

ABSTRACT: A gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method was established to determine the genotoxic impurities of benzyl chloride (**2**) and benzyl dichloride (**3**) in fulvestrant injection (**1**). The VF-1ms capillary column (0.25 mm×30 m×0.25 μm) was used, and two monitoring modes were respectively adopted to measure **2** (MRM) and **3** (SIM). The results showed that it was linear for **2** and **3** in the ranges of 5.427 - 54.272 ng/mL, 4.775 - 47.748 ng/mL, respectively. The LOQs of **2** and **3** were 2.714 and 2.387 ng/mL, and the LODs were 0.54 and 0.48 ng/mL, respectively. The average recoveries (*n*=9) of **2** and **3** were 99.43% and 99.09% , with the RSDs of 2.43% and 2.66% , respectively. The established GC-MS method can provide references for impurity research in **1**.

Key Words: GC-MS; fulvestrant injection; benzyl chloride; benzyl dichloride

氟维司群注射液（fulvestrant injection，**1**）由英国阿斯利康公司研发，用于治疗在抗雌激素辅助治疗后或治疗过程中复发的，或是在抗雌激素治疗中进展的绝经后（包括自然绝经和人工绝经）雌激素受体阳性的局部晚期或转移性乳腺癌[1]。**1** 中的辅料苯甲醇（含量约为 10%）可由氯化苄（benzyl chloride，**2**）或二氯化苄（benzyl dichloride，**3**）为起始原料合成[2—3]，此二者均为具有警示结构的卤代烷烃类化合物[4]。

目前，**1** 注射液中 **2**、**3** 的研究尚未见文献报道。根据人用药品技术要求国际协调理事会（ICH）M7[5]，**2** 的每日允许暴露量（PDE）为每天 41 μg，根据 **1** 的最大日服用量为每月 250 mg 计算，得到

收稿日期：2023-04-17
作者简介：郑　华（1987—），女，工程师，主要从事药物研发工作。
通信作者：卢红华（1986—），女，工程师，主要从事药物质量分析工作。
E-mail：landourlhh@163.com
张贵民（1969—），男，研究员，主要从事药物研发及工程化的研究。
E-mail：lunanzhangguimin@163.com

2 的限度为 0.000 27%。另据 ICH M7，单官能团烷基氯化物的半数中毒剂量（TD_{50}）为每天 36 ～ 108 mg/kg，按照较为严格的每天 36 mg/kg 计算，**3** 的限度应为 0.000 24%。

因此，本研究建立了 GC-MS 法，通过测定 **2**、**3**，旨在为 **1** 中的杂质研究提供参考。

1 仪器与试药

7890B-7000D 型气相色谱质谱仪（美国 Agilent 公司）；MS205DU 型电子分析天平（瑞士 Mettler Toledo 公司）。

1 注射液（山东新时代药业有限公司，含量 >98.0%，批号 220701、220702、220703）；**2** 对照品［安耐吉（上海）医药化学有限公司，含量 99.82%，批号 0SRUVEOA］；3 对照品（东京化成工业株式会社，含量 97.0%，批号 WJWTF）；甲醇（德国 Merck 公司，含量 99.9%，批号 I1148507118），水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱及质谱条件

色谱条件：色谱柱 以 100%二甲基聚硅氧烷为固定液的 VF-1ms 毛细管柱（0.25 mm×30 m×0.25 μm）；柱温 初始柱温 70 ℃，以 20 ℃ /min 升温至 300 ℃，保持 5 min；进样口温度 200 ℃；载气 氦气；柱流速 1.0 mL/min；分流比 2 ∶ 1；进样量 1 μL。

质谱条件：离子源 电子轰击离子化（EI）模式电离；离子源电压 －70 eV；离子源温度 250 ℃；接口温度 250 ℃；采集模式 **2** 多反应离子监测（MRM）模式，**3** 选择性离子监测（SIM）模式；采集离子对 **2** *m*/*z* 126→91，**3** *m*/*z* 125（定量），*m*/*z* 127（定性）。

2.2 溶液配制

空白溶剂：甲醇。

混合对照品贮备液：取 **2** 对照品 27 mg、**3** 对照品 24 mg，用甲醇稀释并制成每 1 mL 中含 **2** 0.27 μg、3 0.24 μg 的混合对照品贮备液。

混合对照品溶液：取上述混合对照品贮备液适量，用甲醇稀释制成每 1 mL 含 2 27 ng、3 24 ng 的混合对照品溶液。

供试品溶液：称取 **1** 注射液 10 mg，置 10 mL 量瓶中，加甲醇定容，摇匀即得。

线性系列标准溶液：取上述混合对照品贮备液 0.2、0.5、1.0、1.2、1.5、2.0 mL，分别置 10 mL 量瓶中，用甲醇定容，摇匀，作为线性系列标准溶液。

回收率试验溶液：称取 **1**（批号 220701）10 mg，置 10 mL 量瓶中，分别加入上述混合对照品贮备液 0.8、1.0、1.2 mL，用甲醇溶解并定容，摇匀，分别作为 80%、100%、120%回收率试验溶液，每个浓度制备 3 份。

定量限与检测限溶液：取上述混合对照品溶液逐级稀释，分别以信噪比 *S*/*N* 为 10 和 3 时的溶液作为定量限溶液与检测限溶液。

2.3 方法学验证

2.3.1 专属性试验

取“**2.2**”项下空白溶剂和混合对照品溶液；另取 **1** 注射液（批号 220701），按“**2.2**”项下的方法制备供试品溶液；上述溶液按“**2.1**”项下的色谱质谱条件进样测定，记录色谱图。结果（图 1）显示，空白溶剂对待测组分无干扰。

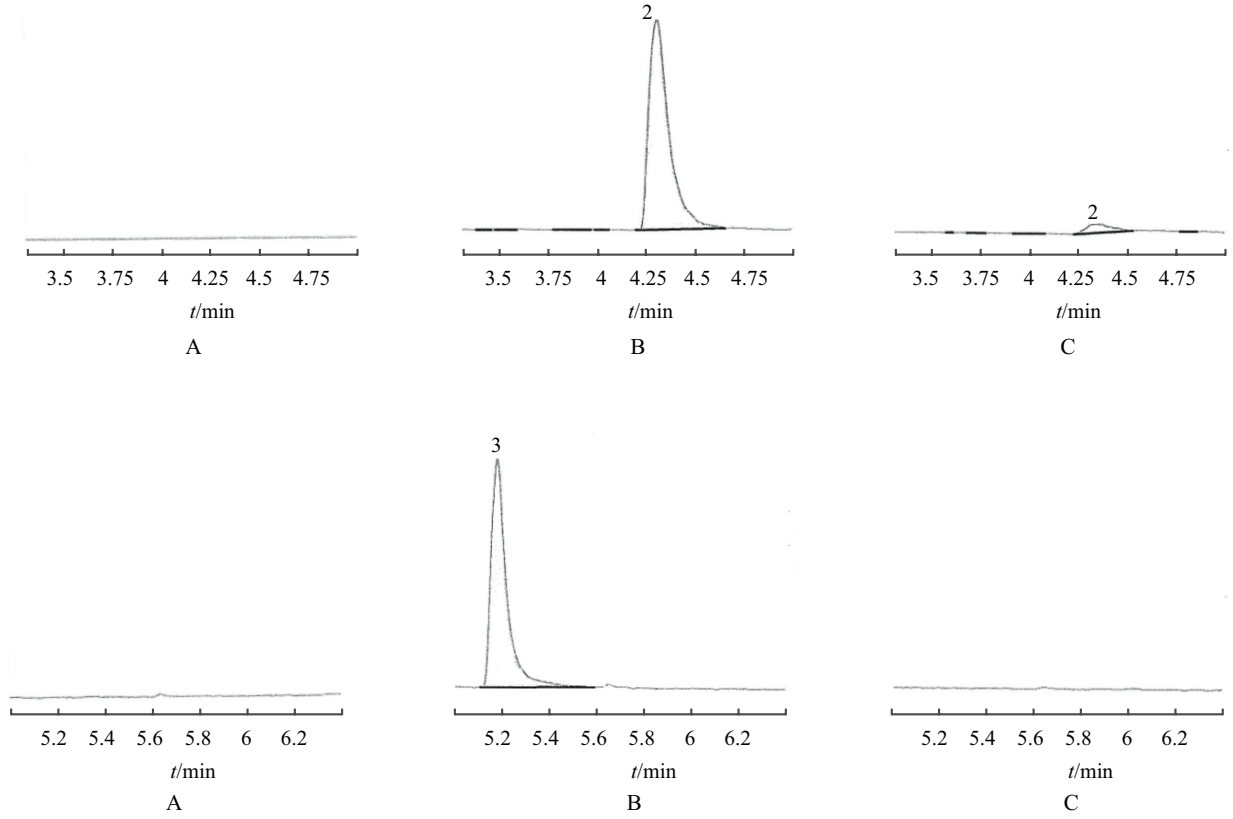
2.3.2 精密度与重复性试验

取“**2.2**”项下的混合对照品溶液，按“**2.1**”项下的色谱质谱条件连续测定 6 次，记录色谱图。结果显示，**2**、**3** 保留时间的 RSD（*n*=6）分别为 0.19%、0.08%；峰面积的 RSD（*n*=6）分别为 2.08%、2.55%，说明精密度良好。

按“**2.2**”项下 100%回收率试验溶液的配制方法，平行配制 6 份回收率试验溶液，按“**2.1**”项下色谱质谱条件进样测定，记录色谱图。结果表明，**2**、**3** 测得含量的 RSD（*n*=6）分别为 1.88%、1.27%，说明重复性良好。

2.3.3 线性试验

取“**2.2**”项下的线性系列标准溶液，按“**2.1**”项下的色谱质谱条件进样测定，记录色谱图。以各组分的质量浓度 *c*（ng/mL）为横坐标、峰面积 *A* 为纵坐标进行线性回归。结果显示，**2** 和 **3** 的回归方程分别为 *A*=90.324*c* －105.49，*R*=0.999 8；*A*=378.72*c*–289.11，*R*=0.999 9。说明 2 和 3 分别在 5.427 ～ 54.272 ng/mL、4.775 ～ 47.748 ng/mL 内线性关系良好。



A—空白溶剂；B—对照品溶液；C—供试品溶液。

2—**2**；3—**3**。

图 1 典型色谱图

Fig.1 Typical Chromatograms

2.3.4 回收率试验

取“**2.2**”项下的回收率试验溶液、混合对照品溶液与供试品溶液（**1** 注射液的批号为 220701），按“**2.1**”项下的色谱质谱条件进样测定，记录各组分的峰面积。结果显示，**2** 和 **3** 的平均回收率（n=9）分别为 99.43 %、99.09 %，RSD 分别为 2.43 %、2.66%，说明方法准确度高。

2.3.5 定量限与检测限

取“**2.2**”项下的定量限溶液，按“**2.1**”项下的色谱质谱条件进样测定，重复测定 6 次，结果显示，**2**、**3** 峰面积的 RSD（n=6）分别为 4.01%、2.71%。测得定量限分别为 2.714、2.387 ng/mL；检测限分别为 0.54、0.48 ng/mL；表明本法灵敏度高。

2.3.6 稳定性试验

取“**2.2**”项下的混合对照品溶液与供试品溶液（**1** 注射液的批号为 220701），分别于室温放置 0、2、4、6、8、10、12 h 时取样，按“**2.1**”项下的色谱质谱条件进样测定。结果显示，12 h 内 **2**、**3** 峰面积的 RSD（n=7）均小于 10%，保留时间的 RSD（n=7）均小于 2%，表明对照品溶液与供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.3.7 耐用性试验

取“**2.2**”项下的空白溶剂、混合对照品溶液与供试品溶液（**1** 注射液的批号为 220701），分别改变初始柱温（65、75 ℃）、柱流速（0.9、1.1 mL/min）、升温速率（18、22 ℃/min），其他条件与“**2.1**”项下的色谱质谱条件相同，分别进样测定，考察样品

中待测成分的检出情况。结果表明，不同的耐用性考察条件下，待测成分检出结果与标准条件无明显差异，说明本法耐用性好。

2.4 样品测定

取 3 批 **1** 注射液，按“**2.2**”项下的方法配制混合对照品溶液与供试品溶液，按“**2.1**”项下的色谱质谱条件进样测定，按外标法以峰面积计算，结果如表 1 所示，本品中 **2**、**3** 的检测结果均符合要求。

表 1　样品测定结果

Tab.1　Sample Determination Results

1注射液批号	**2**/%	**3**/%
220701	0.000 011	未检出
220702	0.000 014	未检出
220703	0.000 016	未检出

3　讨论

本研究采用气相色谱法，分别以氢火焰离子化检测器（FID）、电子捕获检测器（ECD）对 **2**、**3** 进行监测，限度浓度的对照品溶液色谱图中均未监测到响应信号；采用气相色谱 - 质谱联用法，以 SIM 模式采集时，**2** 的响应值较小，不能满足检测要求，在同一方法中，对不同采集时间范围内的待测组分，分别采用 MRM（**2**）、SIM（**3**）模式检查，待测组分均可获得较为理想的响应值。3 批 **1** 注射液测定结果中均检出 **2**，表明有必要对 **1** 中的 **2** 进行控制；**3** 作为 **2** 中可能引入的杂质和合成苯甲醇的原料之一，应根据实际工艺和 **1** 注射液中的检出情况制定合理的控制策略。

参考文献：

[1] 佚名．氟维司群注射液[J]．中国癌症杂志, 2015.

[2] 栾天平．混合氯化苄合成苯甲醇[J]．安徽化工, 1998, **24**(3): 2.

[3] 滕俊江，乔艳辉．相转移催化合成苯甲醇的工艺研究[J]．化工文摘, 2006, (3): 35-36.

[4] BENIGNI R, BOSSA C．Structure alerts for carcinogenicity and the *Salmonella assay* system:anovel insight through the chemical relational databases technology [J]．*Mutat Res*, 2008, **659**(3): 248-261.

[5] International Conference on Harmonization．Assessment and control of DNA reactive（mutagenic）impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk [EB/OL]．(2017-03-31)[2023-03-01]．https://www．cde．org．cn/ichWeb/guideIch/toGuideIch/4/0.