

# 顶空 +GCMS 法检测甲磺酸盐类原料药中甲磺酸烷基酯类杂质

GCMS-330

**摘要：** 本文使用岛津公司 GCMS-QP2020 NX 气质联用仪结合顶空 HS-20 进样建立了一种检测甲磺酸盐类原料药中甲磺酸甲酯、甲磺酸乙酯、甲磺酸异丙酯与甲磺酸丙酯四种甲磺酸烷基酯杂质的方法。在浓度范围 1.0~125 ng 线性关系良好，相关系数  $R^2$  均在 0.9999 以上，方法检出限 (LOD) 在 0.01~0.10 ng 之间。平行检测六份 5.0 ng 标液，峰面积 RSD% 在 2.52~3.39% 之间。样品甲磺酸倍他司汀检测出甲磺酸甲酯、甲磺酸乙酯与甲磺酸异丙酯。5.0 ng 与 12.5 ng 的加标平均回收率在 92.8%~105.4% 之间。该方法简单方便，可以很好的满足甲磺酸盐类原料药中甲磺酸烷基酯类杂质的检测。

**关键词：** 气相色谱 - 质谱联用仪 顶空进样 基因毒性杂质 甲磺酸烷基酯

磺酸盐药品是化学合成药品中的一大类，由于药物与磺酸成盐后具有溶解度增加、溶解速率加快、稳定性增强、引湿性降低以及晶型更稳定等优点，因此通过与磺酸成盐是一种提高有机弱碱性药物成药性的重要手段。然而，磺酸盐药物的合成原料磺酸可能与合成过程中用到的低级醇类溶剂（甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇等）发生副反应产生磺酸酯杂质。

磺酸烷基酯杂质是遗传毒性杂质的一类，能够造成或可能造成对 DNA 的危害。2007 年 EMA 下属的人用药品委员会 (CHMP) 宣布暂停罗氏制药公司在欧盟国家销售一种抗 HIV 的药物——甲磺酸奈非那韦，原因是某些批次检出了甲磺酸乙酯。经调查发现，原

料药储存罐中残留的乙醇与甲磺酸反应形成了甲磺酸乙酯。随后罗氏修正了工艺并增加对甲磺酸乙酯的控制，低于 0.5 ppm。EMA 重新评估检查后，2007 年 10 月恢复其上市销售。在该事件后，各国的法规机构 EMA、FDA、ICH 等都对遗传毒性杂质有了更明确的要求。

目前 EP 与《中国药典》提供的磺酸烷基酯的检测方法均是柱前衍生+顶空+GCMS 方法。按照《中国药典》公示稿《磺酸盐类药物中磺酸烷基酯类杂质检测方法》，本文建立了甲磺酸盐类原料药中甲磺酸烷基酯的检测方法。本方法灵敏度高，重复性好，可以很好满足该公示稿的检测要求。

## 实验部分

### 1.1 仪器

GCMS-QP2020 NX 气质谱联用仪  
HS-20 顶空进样系统

### 1.2 分析条件

顶空条件

平衡温度：60°C

平衡时间：30 min

样品流路温度：100°C

GCMS 条件

色谱柱：GsBP-INOWAX, 30 m×0.25 mm×1.0 μm

柱温程序：40°C (1 min)\_10°C /min\_ 130°C  
\_40°C /min\_ 230°C (8 min)

传输线温度：120°C

样品瓶加压气压：100 kPa

GC 循环时间：29 min

分流比：20:1

离子化方式：EI

离子源温度：220°C

色谱质谱接口温度：220°C

流速控制方式：恒流模式

检测器电压：调谐电压 +0.2 kV

流速：0.8 mL/min 10 min 后变为 2 mL/min

采集模式：SIM，离子信息见表 1

## ■ 样品前处理

2.1 配制衍生化溶液：取维生素 C 10 mg，置 10 mL 量瓶中，加水使溶解并稀释至刻度；精密量取 1 mL，置 50 mL 量瓶中；取碘化钠 60.0 g，置同一量瓶中，加水适量，超声使溶解并稀释至刻度。

2.2 配制内标溶液：精密量取甲磺酸正丁酯对照品 10  $\mu$ L，置 10 mL 量瓶中，加甲苯稀释至刻度；再精密量取 20  $\mu$ L，置 100 mL 量瓶中，用混合溶剂稀释至刻度。

2.3 配制样品溶液：精密称取甲磺酸倍他司汀原料药 25 mg 于 20 mL 顶空瓶中，加入衍生试剂与甲磺酸丁酯内标溶液各 0.5 mL，迅速密封，待测。

## ■ 结果讨论

### 3.1 甲磺酸烷基酯谱图

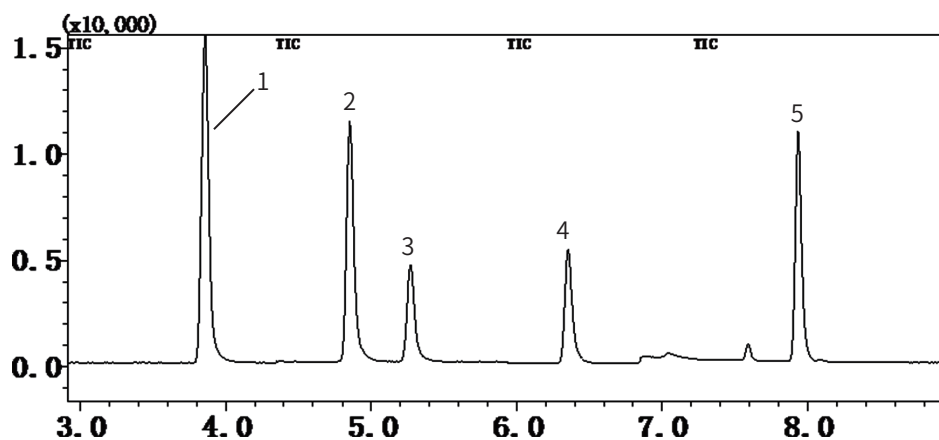
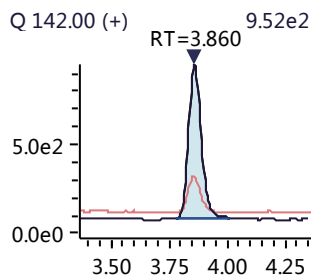
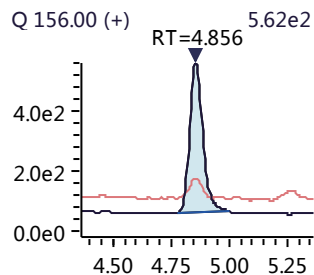


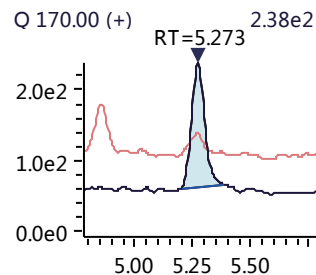
图 1. 甲磺酸烷基酯 TIC 图



甲磺酸甲酯



甲磺酸乙酯



甲磺酸异丙酯

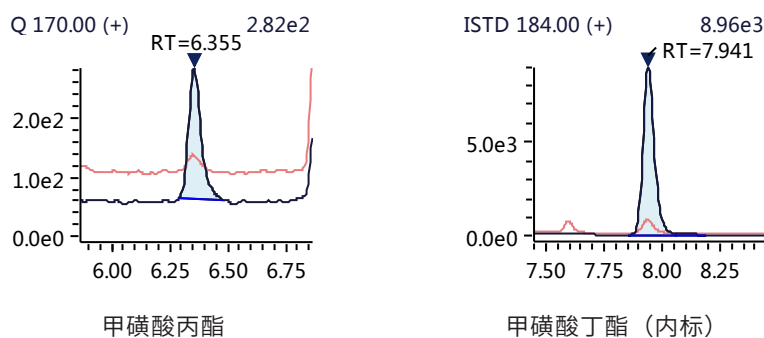


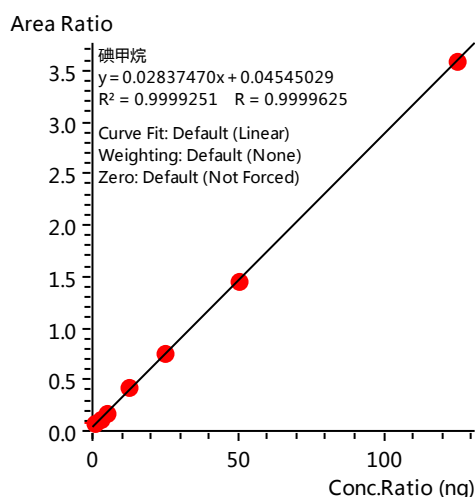
图 2. 甲磺酸烷基酯质量色谱图 (2.5 ng)

表 1. 甲磺酸烷基酯组分信息

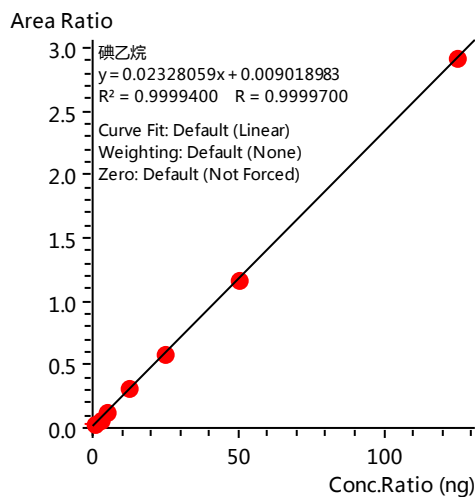
No.	中文名称	CAS 号	衍生物保留时间 (min)	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)
1	甲磺酸甲酯	66-27-3	3.866	142	127
2	甲磺酸乙酯	62-50-0	4.863	156	127
3	甲磺酸异丙酯	926-06-7	5.281	170	127
4	甲磺酸丙酯	1912-31-8	6.365	170	127
5	甲磺酸丁酯 (内标)	1912-32-9	7.948	184	127

### 3.2 标准曲线和检出限

配制 7 个梯度浓度的混标，使各顶空瓶内的目标物含量分别为 1.0、2.5、5.0、12.5、25、50、125 ng，立即压盖密封，顶空进样。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标做标准曲线，标准曲线如图 3 所示。根据 1.0 ng 标液数据，以 3 倍信噪比（峰至峰）计算检出限，以 10 倍信噪比（峰至峰）计算定量限，以上结果及线性相关系数如表 2 所示。



甲磺酸甲酯



甲磺酸乙酯

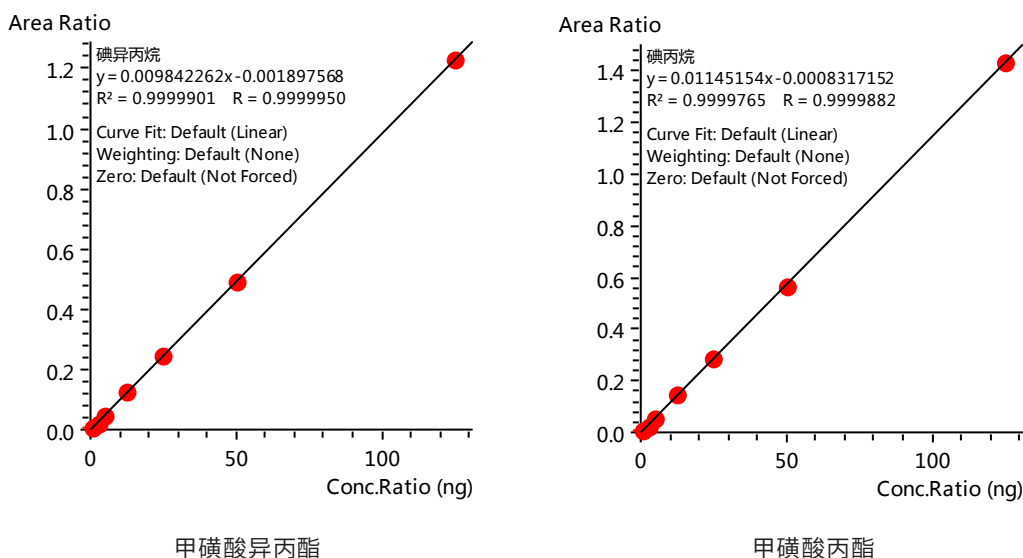


图 3. 甲磺酸烷基酯标准曲线 (1.0~125ng)

表 2. 甲磺酸烷基酯线性相关系数及检出限定量限

No.	组分名称	相关系数 (R <sup>2</sup> )	定量限 (ng)	检出限 (ng)
1	甲磺酸甲酯	0.9999	0.04	0.01
2	甲磺酸乙酯	0.9999	0.12	0.04
3	甲磺酸异丙酯	0.9999	0.14	0.04
4	甲磺酸丙酯	0.9999	0.34	0.10

### 3.3 重复性实验

平行配制六份 5.0 ng 标液，依次检测，考察仪器的重复性，测定结果见表 3。

表 3. 甲磺酸烷基酯重复性结果

	甲磺酸甲酯	甲磺酸乙酯	甲磺酸异丙酯	甲磺酸丙酯
峰面积 1	5811	3757	1387	1746
峰面积 2	6003	3904	1469	1690
峰面积 3	5897	3754	1396	1756
峰面积 4	6149	3975	1502	1863
峰面积 5	6106	3811	1423	1769
峰面积 6	6322	3949	1489	1813
RSD%	3.05	2.52	3.39	3.35

### 3.4 加标回收率

检测甲磺酸倍他司汀原料药检出甲磺酸甲酯、甲磺酸乙酯、甲磺酸异丙酯三种物质，检测结果如表 4 所示。平行精密称取 25 mg 甲磺酸倍他司汀原料药 6 份置于 6 个 20 mL 顶空瓶中，分别加入含目标物 5.0 ng 与 12.5 ng 的标液 0.5 mL，每个浓度各 3 份，再加入 0.5 mL 碘化钠衍生试剂，密封，检测。添加回收率结果如表 5 和表 6 所示。

表 4. 甲磺酸倍他司汀原料药检测结果

	样品检测值 1 (ng)	样品检测值 2 (ng)	平均值 (ng)
甲磺酸甲酯	0.54	0.56	0.55
甲磺酸乙酯	0.23	0.23	0.23
甲磺酸异丙酯	0.97	1.06	1.02
甲磺酸丙酯	未检出	未检出	未检出

表 5. 回收率结果 (5.0 ng 添加量)

	甲磺酸甲酯	甲磺酸乙酯	甲磺酸异丙酯	甲磺酸丙酯
本底值 (ng)	0.55	0.23	1.02	未检出
加标检测值 1 (ng)	5.73	4.82	5.93	5.06
加标检测值 2 (ng)	5.62	4.83	5.84	5.02
加标检测值 3 (ng)	5.80	4.97	6.04	4.94
平均值 (ng)	5.72	4.87	5.94	5.01
RSD (%)	1.59	1.72	1.69	1.22
平均回收率 (%)	103.4	92.8	98.4	100.2

表 6. 回收率结果 (12.5 ng 添加量)

	甲磺酸甲酯	甲磺酸乙酯	甲磺酸异丙酯	甲磺酸丙酯
本底值 (ng)	0.55	0.23	1.02	未检出
加标检测值 1 (ng)	13.56	12.46	13.23	12.56
加标检测值 2 (ng)	14.17	12.73	13.72	12.79
加标检测值 3 (ng)	13.45	12.38	13.50	12.56
平均值 (ng)	13.73	12.52	13.48	12.64
RSD (%)	2.83	1.46	1.82	1.05
平均回收率 (%)	105.4	98.3	99.7	101.1

## 结论

本方法采用岛津 GCMS-QP2020 NX 气质联用仪结合 HS-20 顶空进样器建立了甲磺酸盐类原料药中四种甲磺酸烷基酯的检测方法。该方法在 1.0~125 ng 范围内线性关系良好, 相关系数  $R^2$  均在 0.9999 以上, 方法检出限 (LOD) 在 0.01~0.10 ng 之间。平行检测六份 5.0 ng 标液, 峰面积 RSD% 在 2.52~3.39% 之间。样品甲磺酸倍他司汀检测出甲磺酸甲酯、甲磺酸乙酯与甲磺酸异丙酯, 两次检测平均值分别为 0.55、0.23 和 1.02 ng。5.0 ng 与 12.5 ng 的加标平均回收率在 92.8%~105.4% 之间。该方法简单方便, 可以很好的满足甲磺酸盐类原料药中甲磺酸烷基酯类杂质的检测。

岛津应用云

