

GC-MS/MS 法同时测定药品中八种磺酸酯类基因毒性杂质

GCMSMS-099

摘要: 建立了气相色谱 – 串联质谱 (GC-MS/MS) 同时测定药品中八种磺酸酯类基因毒性物质的分析方法。结果表明: 在 1~200 $\mu\text{g/L}$ 的范围内, 各组分线性相关系数 r 均在 0.9993 以上。对 10 $\mu\text{g/L}$ 的磺酸酯类标准溶液进行重复性实验, 各组分峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 均在 5% 在以下, 在 1.0 和 10.0 $\mu\text{g/g}$ 的加标水平下, 各组分的加标回收率分别在 74.21~81.72% 和 88.33~101.60% 之间。此方法可为药品中磺酸酯类物质检测提供参考。

关键词: GC-MS/MS 磺酸酯 基因毒性杂质

近几年, 基因毒性杂质成为人们关注的焦点, 甲磺酸、苯甲磺酸等磺酸类物质与微量的低级醇在合成反应中生成烷基磺酸酯如甲磺酸甲酯 (MMS)、甲磺酸乙酯 (EMS)、以及一些芳基磺酸酯。这些物质可与 DNA 发生烷基化反应, 从而可能成为引发癌症的诱因, 因此控制药物中该类杂质的含量显得尤为重要传统的检测方法有顶空衍生法和直接进样法。顶空衍生法操作简单, 可以较好的排除复杂基质的干扰, 但是顶空衍生的过程中

也可能有假阳性的衍生物产生, 对测定造成干扰; 传统的直接进样 (GC-FID) 方法不稳定, 容易引进污染物, 重现性较差, 干扰测定。相比而言, GCMS 联用技术应用较为普遍, 可以较好地应用于磺酸酯类杂质的检测, 但有些药品往往基质较为复杂, 对样品的测定也会有较大的干扰, 本文采用岛津 GCMS-TQ8040 三重四级杆气质联用仪, 建立了一种同时测定药品中八种磺酸酯类方法, 该方法处理简单, 化学干扰小, 灵敏度高。

实验部分

1.1 仪器

三重四极杆气质联用仪: GCMS-TQ8040

1.2 分析条件

色谱柱: Intercap 35, 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm

进样口温度: 260 $^{\circ}\text{C}$

柱温程序: 50 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)_15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _260 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)

载气控制方式: 恒线速度 (47.2 cm/sec)

进样方式: 不分流进样 (1 min)

离子源温度: 230 $^{\circ}\text{C}$

接口温度: 280 $^{\circ}\text{C}$

检测器电压: 调谐电压 +0.4 kV

采集方式: MRM(采集参数见表 1)

表1 八种磺酸酯类化合物的MRM参数

No.	中文名称	CAS 号	定量 离子对	CE	定性 离子对 1	CE	定性 离子对 2	CE
1	甲磺酸甲酯	66-27-3	80.00>65.00	9	109.00>79.00	6	80.00>63.00	21
2	甲磺酸乙酯	62-50-0	109.00>79.00	6	109.00>79.00	3	97.00>79.00	12
3	甲磺酸异丙酯	926-06-7	123.00>79.00	9	123.00>59.00	3	97.00>79.00	9
4	苯磺酸甲酯	80-18-2	77.00>51.00	15	141.00>77.00	9	172.00>77.00	27
5	苯磺酸乙酯	515-46-8	141.00>77.00	9	77.00>51.00	15	141.00>95.00	6
6	对甲苯磺酸甲酯	80-48-8	91.00>65.00	12	155.00>91.00	15	186.00>91.00	18
7	对甲苯磺酸乙酯	80-40-0	155.00>91.00	15	91.00>65.00	12	200.00>91.00	27
8	对甲苯磺酸异丙酯	2307-69-9	91.00>65.00	15	155.00>91.00	155	172.00>107.00	15

1.3 样品前处理

可溶于有机溶液药品：称取药品粉末 0.05 g 于试管中，准确加入 2 ml 乙酸乙酯，充分振荡，超声提取 20 min。
水溶性药品：称取药品粉末 0.05 g 于试管中，准确加入 2 ml 甲醇：水（体积比为 5:1）充分振荡，超声提取 10 min，再以 2 ml 乙酸乙酯充分超声提取，过无水硫酸钠，将以上处理液，过滤膜，上机分析。

结果讨论

2.1 标准样品的 MRM 图谱

混标溶液 (100 μg/L) MRM 图谱见图 1，MRM 质量色谱图如图 2 所示。

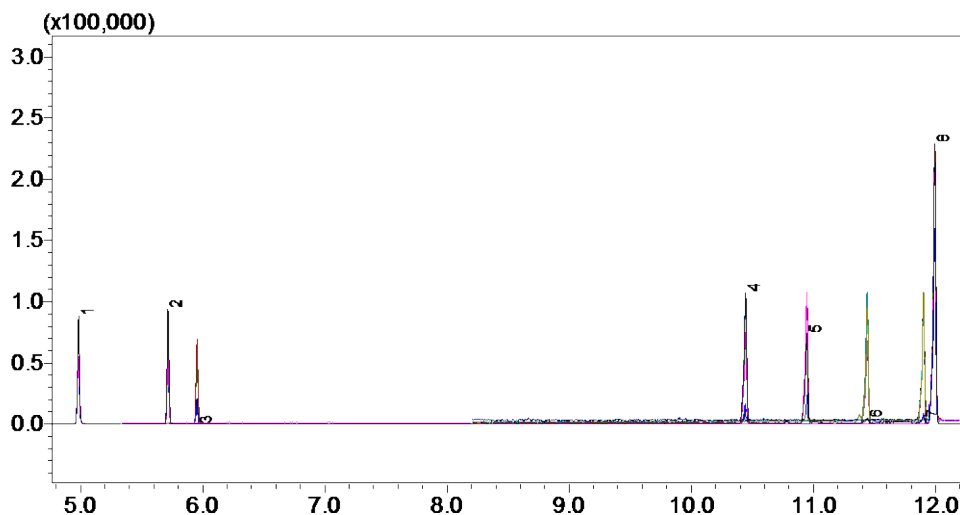
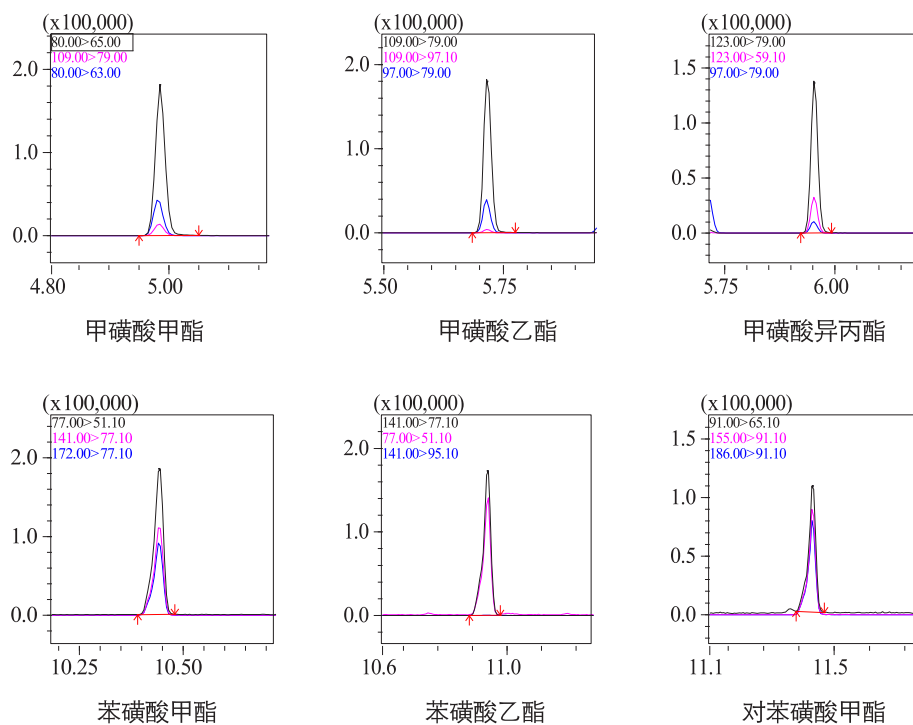


图1 混合标准溶液MRM图 (100 μg/L)



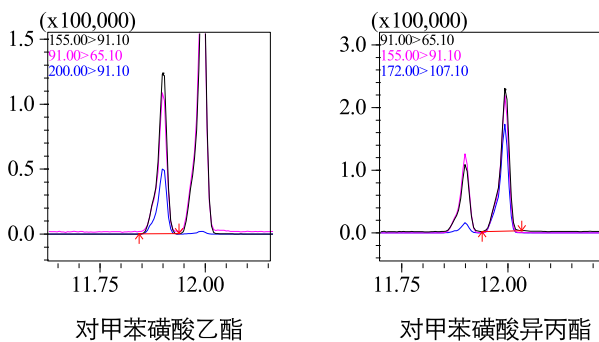


图2 混合标液MRM质量色谱图

2.2 标准曲线与检出限

配制八种磺酸酯类标准溶液混合标液，八种化合物目标组分浓度为 1、10、20、50、100、200 $\mu\text{g/L}$ ，以目标组分浓度为横坐标，目标组分峰面积纵坐标，绘制标准曲线，线性相关系数和检出限见表 2，由于篇幅有限，仅列出部分化合物标准曲线。

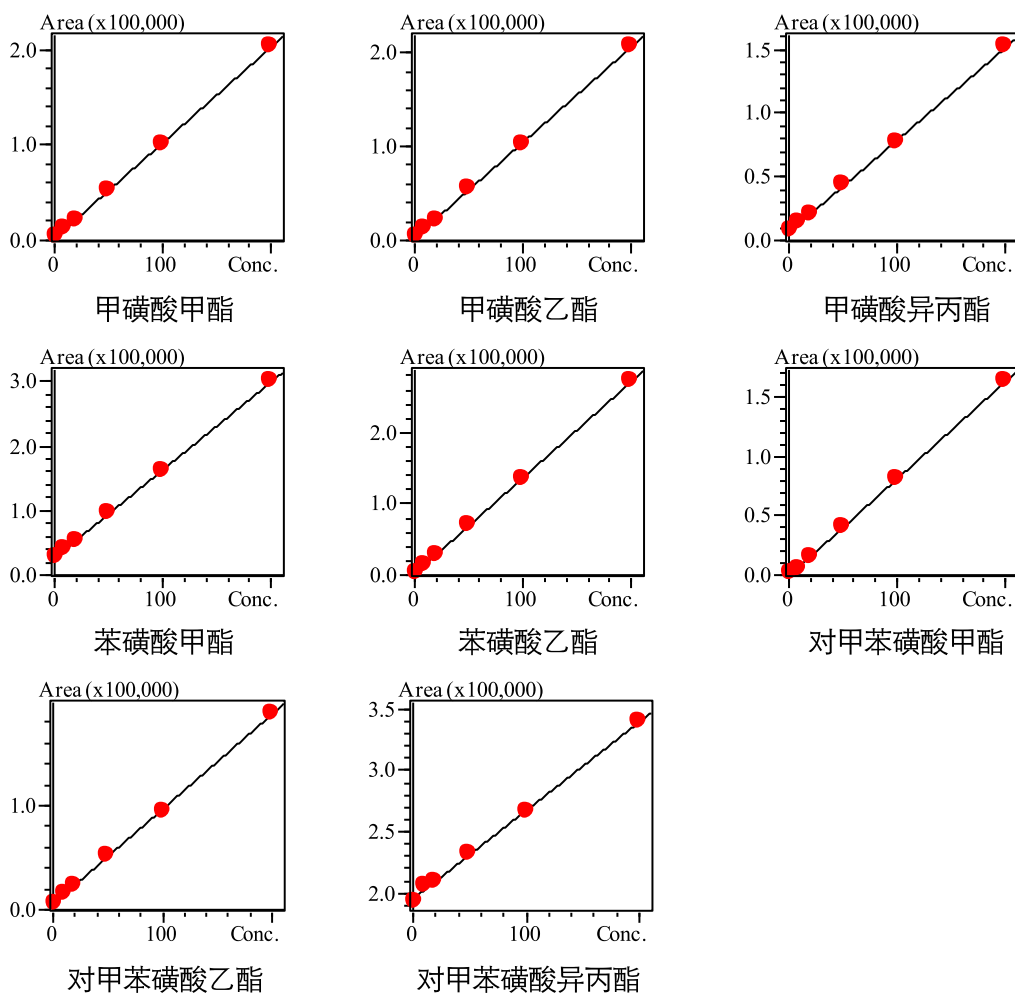


图2 八种磺酸酯化合物标准曲线

表2 八种磺酸酯化合物线性相关系数和检出限

No.	化合物名称	相关系数 R	检出限 ($\mu\text{g/L}$)
1	甲磺酸甲酯	0.9999	0.02
2	甲磺酸乙酯	0.9999	0.02
3	甲磺酸异丙酯	0.9998	0.04
4	苯磺酸甲酯	0.9998	0.51
5	苯磺酸乙酯	0.9999	0.05
6	对甲苯磺酸甲酯	0.9999	4.58
7	对甲苯磺酸乙酯	0.9998	0.05
8	对甲苯磺酸异丙酯	0.9993	0.13

2.3 重复性结果

对 $10 \mu\text{g/L}$ 的标准样品, 重复进样 6 次, 各组分峰面积及 RSD% 见表 3。

表3 重复性实验结果 (n=6)

No.	化合物	峰面积						峰面积 RSD%
		1	2	3	4	5	6	
1	甲磺酸甲酯	10311	10905	10554	10739	10998	11149	2.85
2	甲磺酸乙酯	11051	11558	11443	11702	11887	11921	2.79
3	甲磺酸异丙酯	11648	11598	11141	11060	11661	12106	4.57
4	苯磺酸甲酯	32364	34419	31846	33204	32478	32706	2.72
5	苯磺酸乙酯	10475	10685	10996	10811	11308	11490	3.50
6	对甲苯磺酸甲酯	4768	4841	4967	4873	4644	4565	3.13
7	对甲苯磺酸乙酯	9903	10238	10972	10492	10879	10341	3.84
8	对甲苯磺酸异丙酯	101566	108335	102831	104506	108168	109131	2.35

2.4 样品测试结果及回收率

选取市售某品牌药品, 按 1.3 处理方法进行样品前处理和上机测定, 并在样品空白中添加混标, 加标浓度为 $1.0 \mu\text{g/g}$ 和 $10.0 \mu\text{g/g}$, 各自平行处理 3 份, 样品测定结果以及加标回收率结果见表 4。

表4 样品测试结果及加标回收率

No.	化合物名称	样品浓度 ($\mu\text{g/g}$)	加标浓度 $1.0 \mu\text{g/g}$		加标浓度 $10.0 \mu\text{g/g}$	
			平均回收率 (%)	RSD%	平均回收率 (%)	RSD%
1	甲磺酸甲酯	N.D.	81.72	3.16	99.14	1.81
2	甲磺酸乙酯	N.D.	80.05	3.02	101.60	1.63
3	甲磺酸异丙酯	N.D.	74.21	1.47	99.25	1.32
4	苯磺酸甲酯	N.D.	74.99	3.65	88.33	0.33
5	苯磺酸乙酯	N.D.	74.78	3.53	93.58	1.73
6	对甲苯磺酸甲酯	N.D.	78.93	3.30	93.00	2.39
7	对甲苯磺酸乙酯	N.D.	74.09	1.64	96.24	0.90
8	对甲苯磺酸异丙酯	N.D.	79.72	1.16	88.97	1.81

注: N.D. 为未检出

■ 结论

采用岛津公司三重四极杆气相色谱质谱联用仪 (GCMS-TQ8040) 分析药品中的磺酸酯类基因毒性杂质, 在 1~200 $\mu\text{g/L}$ 标准曲线范围内, 相关系数 R 均在 0.999 以上, 连续进样 6 次各组分峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 均在 5% 在以下, 在 1.0 $\mu\text{g/g}$ 和 10.0 $\mu\text{g/g}$ 的加标水平下, 各组分的加标回收率分别在 74.21~81.72% 和 88.33~101.60% 之间, 此方法操作简单, 灵敏度高, 可为药品中磺酸酯类物质检测提供参考。