

GC-MS/MS 法检测原料药中对甲苯磺酸酯基因毒性杂质

GCMSMS-154

摘要：本文利用岛津公司的 GCMS-TQ8050 三重四级杆气相色谱 - 质谱联用仪，建立了一种原料药中三种对甲苯磺酸酯基因毒性杂质的检测方法。对甲苯磺酸甲酯与乙酯在 0.1~10 ng/mL，对甲苯磺酸丙酯在 0.03~3 ng/mL 浓度范围内各组分线性关系良好，各组分相关系数均达到 0.994 以上，仪器检出限为 0.010~0.023 ng/mL，定量限为 0.034~0.075 ng/mL。对甲苯磺酸甲酯及乙酯 1 ng/mL，丙酯 0.3 ng/mL 混合标液连续进样 6 针，峰面积 RSD 不超过 3.98%。0.8 ng/mL（丙酯为 0.24 ng/mL）加标浓度的回收率为 95.9~106.0%。该方法不需要对样品进行衍生，简便快捷，能够很好的应用于原料药中三种对甲苯磺酸酯基因毒性杂质含量的检测。

关键词：三重四级杆气质联用仪 基因毒性杂质 对甲苯磺酸酯

基因毒性杂质是指化合物本身直接或间接损伤 DNA，具有致癌可能或倾向的物质。近年来各国的法规机构 ICH、FDA、EMA 等都对基因毒性杂质有了越来越明确的要求。我国加入 ICH 以后，药品研发技术势必与国际接轨，对基因毒性杂质的评估要求也必然与 ICH 成员国的要求统一甚至趋于更加严格。目前，对于注射剂再评价、口服固体制剂一致性评价、新药和仿制药申报的研究中，基因毒性杂质的研究也越来越受到重视。

基因毒性杂质的种类很多，磺酸酯类物质是其中一类。该类物质为甲磺酸、苯磺酸类物质与微量的低级醇在合成反应中生成的。该类物质传统的检测方法采用的是顶空衍生，检测仪器有 GC 也有 GCMS。顶空衍生是

将碘原子取代该物质中的磺酸基基团生成碘代烃，但该反应的特异性不强，容易产生假阳性。采用 GC 检测，检测灵敏度不高，定性能力与抗干扰能力差，GCMS 可以克服气相检测器灵敏度不高的问题，可以较好的应用于该类物质的检测。但有一些药物的的基质比较复杂，采用 GCMS 仍然不能避免基质的干扰。要解决这个问题可以采用抗干扰能力更强的 GC-MS/MS。

本文选取三种对甲苯磺酸酯为检测对象，采用 GCMS-TQ8050 三重四级杆气质联用仪，建立了原料药环扁桃酯中这三种物质的同时检测方法。该方法操作简单，化学干扰小，灵敏度高。

■ 实验部分

1.1 仪器

GCMS-TQ8050 三重四级杆气相色谱 - 质谱联用仪

1.2 分析条件

色谱柱：InertCAP-35 (30 m×0.25 mm
×0.25 μm)

柱温程序：50°C (1 min)_15 °C /min_260°C
(5 min)

进样口温度：260°C

流速控制方式：恒线速度方式

线速度：47.2 cm/sec

进样方式：不分流进样

高压进样：250 kPa (1.5 min)

离子化方式：EI

离子源温度：230°C

色谱质谱接口温度：280°C

检测器电压：调谐电压 +0.6 kV

采集模式：MRM，离子信息见表 1

1.3 样品前处理

准确称取 0.05 g 样品加丙酮溶解定容至 5 mL，振摇均匀，超声 10 min，上机待测。

结果与讨论

2.1 三种对甲苯磺酸酯标准溶液谱图

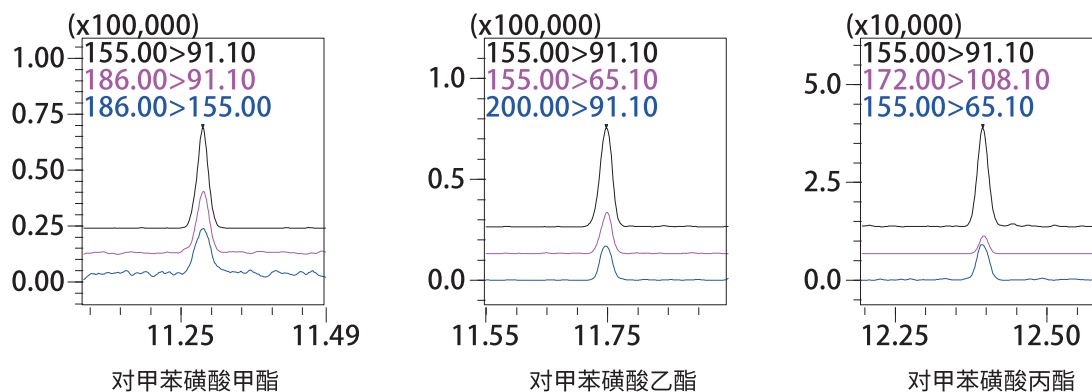


图1 三种对甲苯磺酸酯标准品溶液质量色谱图 (1 ng/mL)

表1 三种对甲苯磺酸酯组分信息

No.	名称	CAS号	保留时间	定量离子对	定性离子对 1	定性离子对 2
1	对甲苯磺酸甲酯	80-48-8	11.289	155.00>91.10	186.00>91.10-	186.00>155.00
2	对甲苯磺酸乙酯	80-40-0	11.749	155.00>91.10	155.00>65.10	200.00>91.10
3	对甲苯磺酸丙酯	599-91-7	12.395	155.00>91.10	172.00>108.10	155.00>65.10

2.2 标准曲线和检出限

分别配制 0.1、0.2、0.5、1、2、5、10 ng/mL 的对甲苯磺酸酯混合标准溶液（其中对甲苯磺酸丙酯为 0.03、0.06、0.15、0.3、0.6、1.5、3 ng/mL），取 1 μ L 进样，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标做标准曲线，各化合物标准曲线如图 2 所示。根据 0.1 ng/mL 标样数据（对甲苯磺酸丙酯为 0.03 ng/mL），以 3 倍信噪比（ASTM）计算检出限，以 10 倍信噪比（ASTM）计算定量限，以上结果以及线性相关系数如表 2 所示。

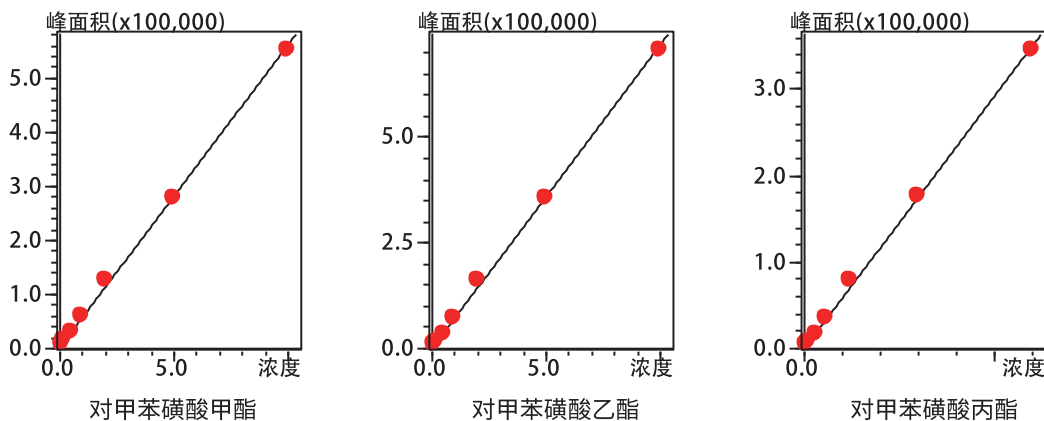


图2 三种对甲苯磺酸酯标准曲线

表2 三种对甲苯磺酸酯相关系数及检出限

ID	组分名称	相关系数 (R ²)	定量限(ng/mL)	检出限(ng/mL)
1	对甲苯磺酸甲酯	0.9958	0.075	0.023
2	对甲苯磺酸乙酯	0.9954	0.037	0.011
3	对甲苯磺酸丙酯	0.9941	0.034	0.010

2.3 重复性实验

取 1 ng/mL 标准品溶液 (对甲苯磺酸丙酯为 0.3 ng/mL), 连续进样 6 次, 考察仪器的重复性, 测定结果见表 3。

表3 三种对甲苯磺酸酯重复性结果

ID	组分名称	峰面积 1	峰面积 2	峰面积 3	峰面积 4	峰面积 5	峰面积 6	峰面积 RSD(%)
1	对甲苯磺酸甲酯	55645	57461	54166	55172	53735	53106	2.86
2	对甲苯磺酸乙酯	77538	73983	72367	70091	70480	70761	3.92
3	对甲苯磺酸丙酯	34301	31708	32474	31722	34833	32921	3.98

表4 各组分添加回收率结果

ID	组分名称	浓度 (ng/mL)	加标浓度 (ng/mL)	加标后检测浓度 (ng/mL)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	对甲苯磺酸甲酯	0.081	0.8	0.896	101.9	3.67
2	对甲苯磺酸乙酯	0.1385	0.8	0.905	95.9	3.61
3	对甲苯磺酸丙酯	0.018	0.24	0.272	106.0	5.86

结论

本方法采用岛津 GCMS-TQ8050 检测原料药中三种对甲苯磺酸酯基因毒性杂质, 对甲苯磺酸甲酯与乙酯在 0.1~10 ng/mL, 对甲苯磺酸丙酯在 0.03~3 ng/mL 范围内各组分线性关系良好, 各组分相关系数均达到 0.994 以上, 仪器检出限 0.010~0.023 ng/mL, 定量限 0.034~0.075 ng/mL。对甲苯磺酸甲酯及乙酯 1 ng/mL, 丙酯 0.3 ng/mL 混合标液连续进样 6 针, 峰面积 RSD 不超过 3.98%。0.8 ng/mL (丙酯为 0.24 ng/mL) 加标浓度的回收率为 95.9~106.0%。该方法简便快捷, 能够实现原料药中对甲苯磺酸酯的高灵敏度检测, 同时也很大程度上可以减少假阳性结果出现。