

顶空 -GCMSMS 法测定原料药中环氧氯丙烷含量

GCMSMS-275

摘要： 本文利用岛津公司三重四极杆气质联用仪 GCMS-TQ8050 NX 结合顶空进样方式，建立了原料药中遗传毒性杂质环氧氯丙烷残留量的测定方法。在 2~200 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内，环氧氯丙烷线性相关系数为 0.9996，线性关系良好，2 $\mu\text{g/L}$ 环氧氯丙烷对照品溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD 为 4.29%。加标回收率实验中，加标浓度 0.1 $\mu\text{g/g}$ ，平均加标回收率为 95.1%。实验结果表明：该方法样品前处理简单，灵敏度高，结果准确，能够有效地监测原料药中环氧氯丙烷残留量。

关键词： 三重四极杆气质联用仪 原料药 遗传毒性杂质 环氧氯丙烷

技术特点：

- ❖ 采用顶空进样，结合 GC-MS/MS MRM 采集模式，有效地抑制了样品的化学干扰。
- ❖ 灵敏度高，2 $\mu\text{g/L}$ 浓度下，环氧氯丙烷信噪比为 30。

环氧氯丙烷 (Epichlorohydrin, ECH) 作为药物合成的重要原料和中间体应用非常广泛，主要用于合成降血脂类药物， β - 肾上腺素受体阻断剂，减肥药，麻醉剂，抗肿瘤药物等。环氧氯丙烷的环氧结构为警示结构，是潜在基因毒性杂质，动物实验也证明其有潜在致癌作用，会增加罹患癌症的风险，应当避免长期接触，国际癌症研究机构 (IARC) 将环氧氯丙烷归为 2A 类致癌物 (很可能的人类致癌因素)。

根据人用药品技术要求国际协调理事会 (ICH) 发布的 ICH M7 《评估和控制药物中 DNA 反应性 (致突

变) 杂质以限制潜在的致癌风险》，结合药物的最大日剂量以及环氧氯丙烷的可接受限度以毒理学关注阈值 (threshold of toxicological concern, TTC) 1.5 $\mu\text{g/day}$ 计算，该药物中环氧氯丙烷的控制限度为 0.2 $\mu\text{g/g}$ 。

本文利用三重四极杆气质联用仪 GCMS-TQ8050 NX 结合 AOC-6000 顶空进样方式，建立了原料药中环氧氯丙烷残留量的定量分析方法，测定原料药中痕量环氧氯丙烷含量。该方法操作简单，灵敏度高，结果准确，适合于原料药中环氧氯丙烷残留量的检测，并满足该物质的限量要求。

■ 实验部分

1.1 仪器

AOC-6000 自动进样器

GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气相色谱质谱联用仪

1.2 顶空分析条件

恒温炉温度：90°C

样品瓶恒温时间：30 min

进样针温度：120°C

进样量：1 mL

1.3 GCMS 分析条件

色谱柱：SH-I-624Sil MS, 30 m \times 0.25 mmID \times 1.4 μm

柱温程序：80°C (0 min)_{20°C /min} 240°C (3 min)

进样口温度：220°C

离子化方式：EI

流速控制方式：恒线速度方式

离子源温度：200°C

柱流量：1.2 mL/min

色谱质谱接口温度：250°C

进样方式：分流进样

检测器电压：调谐电压 +0.7 kV

分流比：5:1

采集模式：MRM，离子对信息见表 1

■ 样品前处理

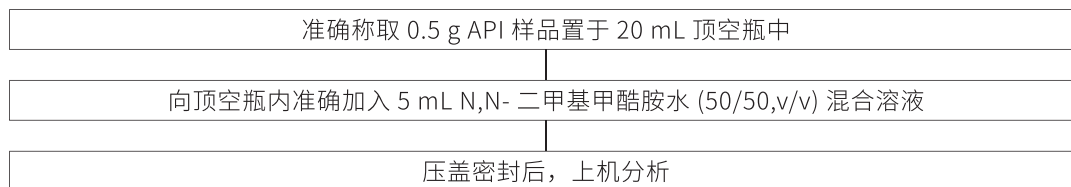


图 1 样品制备流程

■ 结果与讨论

3.1 环氧氯丙烷标准溶液谱图

环氧氯丙烷对照品谱图和化合物信息分别见图 2 和表 1。

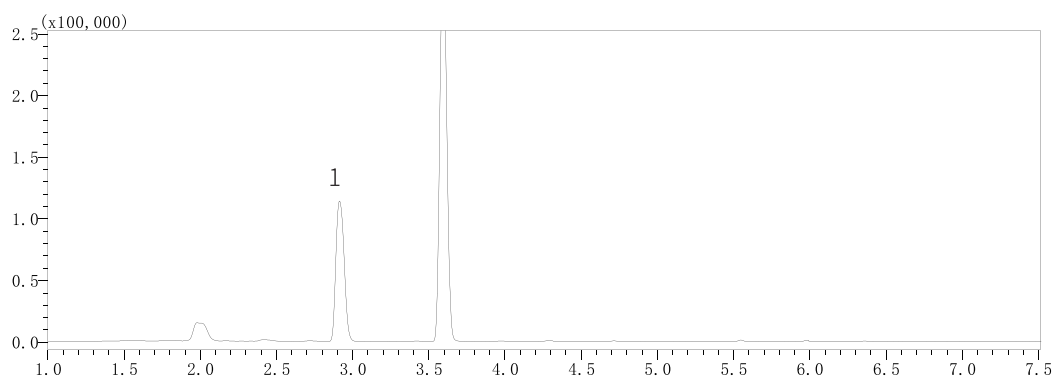


图 2 环氧氯丙烷标准溶液谱图 (0.2 µg/mL)

表 1 环氧氯丙烷化合物信息

No.	中文名称	英文名称	CAS 号	保留时间 (min)	定量离子对 (m/z)	CE (V)	参考离子对 (m/z)	CE (V)
1	环氧氯丙烷	Epichlorohydrin	106-89-8	2.913	57.0>31.0	8	62.0>27.0	8

3.2 标准曲线和质量色谱图

以 N,N- 二甲基甲酰胺 - 水 (50:50,v/v) 混合溶液为溶剂, 配置浓度为 2、5、20、50、100、200 µg/L 环氧氯丙烷系列对照品溶液, 准确量取 5 mL 各浓度对照品溶液移至已添加 0.5 g 空白原料药样品的顶空瓶中, 并压盖密封, 上机分析。以环氧氯丙烷浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 目标物标准曲线见图 3。根据 2 µg/L 对照品溶液数据, 以 3 倍信噪比 (peak to peak) 计算环氧氯丙烷的检出限, 环氧氯丙烷 (2 µg/L) 质量色谱图见图 4, 标准曲线线性相关系数以及检出限见表 2。

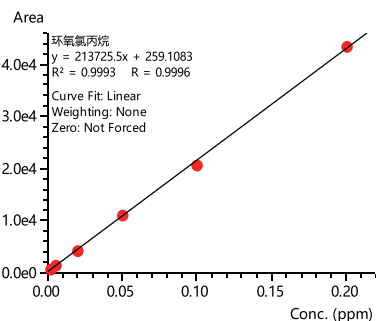


图 3 环氧氯丙烷标准曲线

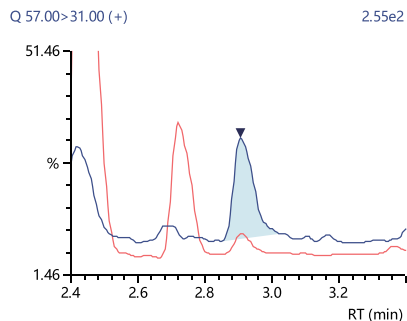


图 4 环氧氯丙烷质量色谱图 (2 µg/L)

表 2 环氧氯丙烷线性相关系数及检出限

序号	名称	相关系数 (R)	检出限 ($\mu\text{g/L}$)
1	环氧氯丙烷	0.9996	0.32

3.3 重复性实验及检出限

制备 6 份浓度为 $2 \mu\text{g/L}$ 环氧氯丙烷对照品溶液并连续进样，考察环氧氯丙烷峰面积重复性，环氧氯丙烷谱图叠加见图 5，峰面积结果见表 3。

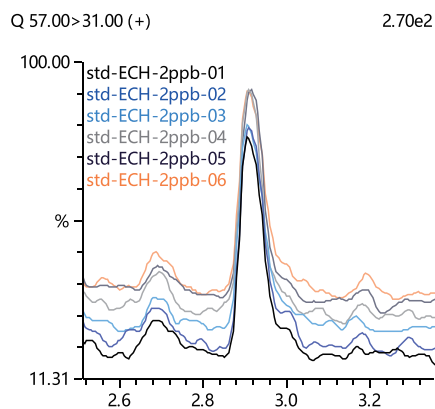
图 5 环氧氯丙烷谱图叠加图 ($2 \mu\text{g/L}$)

表 3 环氧氯丙烷重复性结果

序号	化合物名称	峰面积 1	峰面积 2	峰面积 3	峰面积 4	峰面积 5	峰面积 6	RSD (%)
1	环氧氯丙烷	876	893	807	822	852	809	4.29

3.4 加标回收率

取目标物空白的原料药样品添加环氧氯丙烷标准溶液，加标浓度为 $0.1 \mu\text{g/g}$ ，按前述样品处理流程平行处理 3 份，上机分析。环氧氯丙烷平均回收率为 95.1%，加标回收率详细结果见表 4，加标环氧氯丙烷原料药样品谱图见图 6。

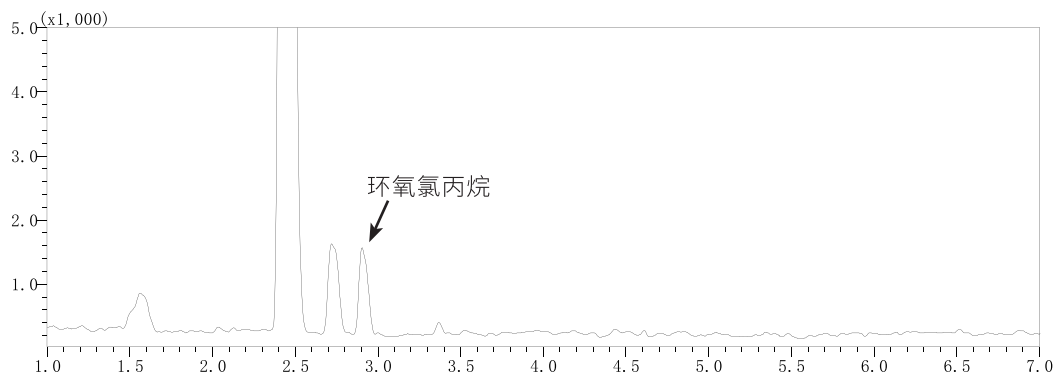
图 6 加标环氧氯丙烷的样品谱图 (加标浓度 $0.1 \mu\text{g/g}$)

表 4 环氧氯丙烷加标回收率结果

序号	名称	加标浓度 ($\mu\text{g/g}$)	回收率 (%)			平均回收率 (%)
			1	2	3	
1	环氧氯丙烷	0.1	99.6	94.7	91.0	95.1

3.5 实际样品测试结果

取某批次原料药样品，按照上述处理过程进行样品制备后上机分析。样品中未检出环氧氯丙烷，样品谱图见图 7。

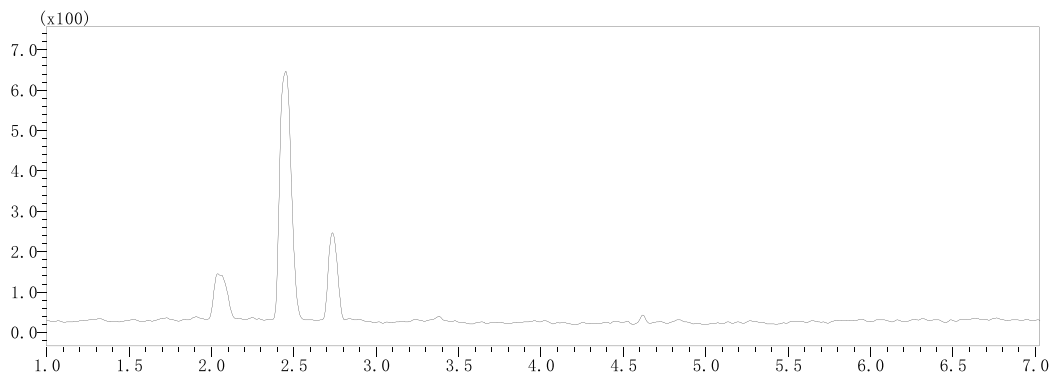


图 7 某原料药样品谱图

■ 结论

本文使用岛津三重四极杆气质联用仪 GCMS-TQ8050 NX 结合 AOC-6000 顶空进样方式，建立了原料药中环氧氯丙烷残留量的定量分析方法。实验结果表明，在 2~200 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内，环氧氯丙烷线性相关系数 R 为 0.9996，线性关系良好。制备浓度为 2 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的环氧氯丙烷对照品溶液 6 瓶，连续进样 6 次，目标物峰面积 RSD 为 4.29%，精密度良好。加标回收实验中，加标浓度 0.1 $\mu\text{g}/\text{g}$ ，环氧氯丙烷平均回收率为 95.1%。实验结果表明：该方法采用顶空进样，质谱采集模式为 MRM，能够有效去除样品中化学干扰，样品前处理操作简单，方法灵敏度高、结果准确，可用于测定原料药中环氧氯丙烷残留量。

岛津应用云

