

GCMS 法测定药物中硫酸烷基酯类遗传毒性杂质

GCMS-284

摘要：本文利用岛津公司的 GCMS-QP2020 NX 气相色谱 - 质谱联用仪，建立了一种药品中硫酸二甲酯、硫酸二乙酯和硫酸二异丙酯的测定方法。在 10~1000 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内各组分线性关系良好，相关系数均达到 0.998 以上，仪器检出限为 0.36~0.58 $\mu\text{g/L}$ 。10 $\mu\text{g/L}$ 标准品溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD 均小于 2.48%，精密度良好。3 mg/kg 加标浓度的加标回收率为 95.16%-100.42%。该方法简单方便，能够有效的检测药品中硫酸二甲酯、硫酸二乙酯和硫酸二异丙酯的含量。

关键词：气相色谱质谱联用仪 遗传毒性杂质 硫酸烷基酯

遗传毒性杂质是指能够引起 DNA 突变、染色体断裂或者 DNA 重组的物质。其主要来源于原料药合成过程中的起始物料、中间体、试剂和反应副产物。目前基因毒性列表中有 1574 种致癌物质，其中苯并芘、甲磺酸酯类、偶氮苯类、N-亚硝胺等物质属于高基因毒性物质。因遗传毒性杂质毒性较强，对用药的安全性产生了强烈的威胁。近年来，已上市药品中发现痕量的遗传毒性杂质残留而发生大范围的医疗事故，继而被召回的

案例时有发生，给药厂造成了巨大的经济损失。

硫酸二甲酯、硫酸二乙酯以及硫酸二异丙酯等硫酸烷基酯可与 DNA 发生烷基化反应，诱发癌症，所以在药品生产过程中也受到了监控。欧洲医药评价署 (EMA) 发布了遗传毒性杂质的最大摄取量为 1.5 $\mu\text{g/d}$ 。

本文利用岛津 GCMS-QP2020 NX 建立了一种药品中硫酸烷基酯类遗传毒性杂质的检测方法。

实验部分

1.1 仪器

GCMS-QP2020 NX 气相色谱质谱联用仪

1.2 分析条件

色谱柱：SH-Rxi-35MS (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm)

柱温程序：50 $^{\circ}\text{C}$ (2 min)_10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _130 $^{\circ}\text{C}$ _25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _280 $^{\circ}\text{C}$ (10 min)

进样口温度：180 $^{\circ}\text{C}$

流速控制方式：恒线速度方式

线速度：36.3 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：200 $^{\circ}\text{C}$

色谱质谱接口温度：280 $^{\circ}\text{C}$

检测器电压：调谐电压 +0.3 kV

采集模式：SIM，离子信息见表 1

1.3 样品前处理

称取可溶于有机溶液的药品 0.04 g 于离心管中，准确加入 2 mL 乙酸乙酯，充分震荡均匀，超声萃取 10 min，过 0.22 μm 有机滤膜后直接上 GCMS 分析。

结果与讨论

2.1 硫酸烷基酯类混合标准溶液色谱图

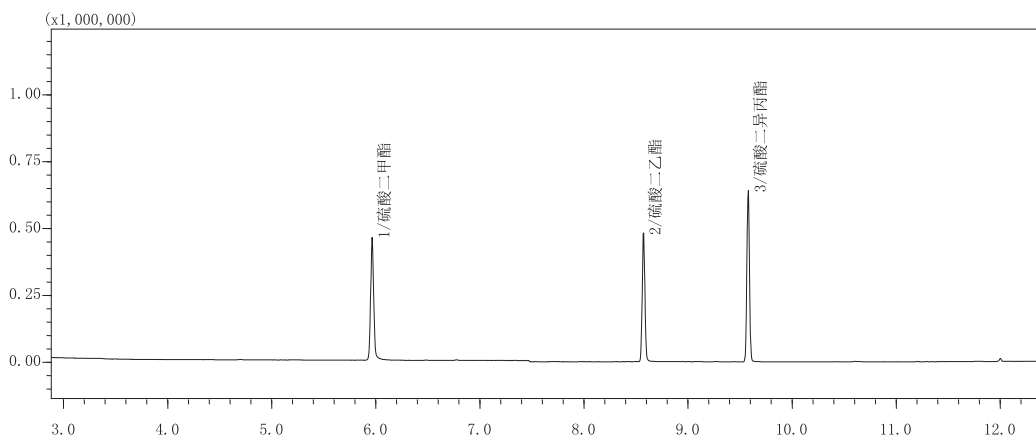


图1 硫酸烷基酯类混合标准溶液TIC图 (1000 µg/L)

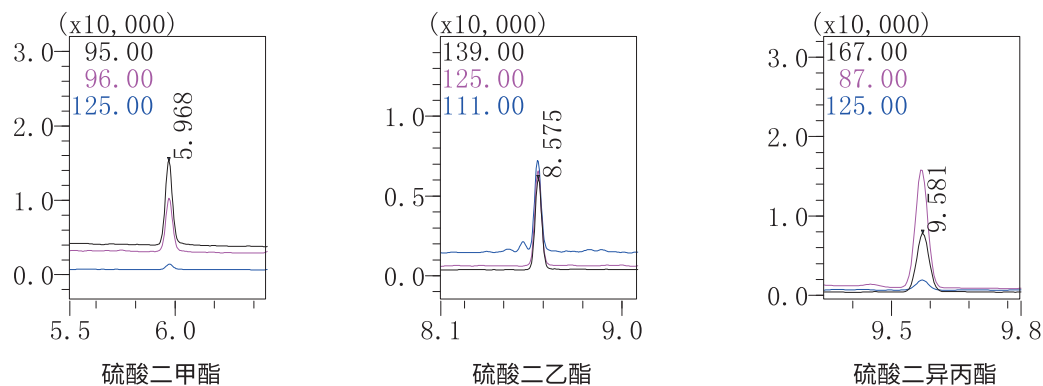


图2 硫酸烷基酯类混合标准品溶液质量色谱图 (50 µg/L)

表1 各组分信息

No.	中文名称	英文名称	CAS号	保留时间	定量离子	定性离子
1	硫酸二甲酯	dimethyl sulfate	77-78-1	5.968	95	96, 125
2	硫酸二乙酯	diethyl sulfate	64-67-5	8.575	139	125, 111
3	硫酸二异丙酯	di-iso-propyl sulfate	2973-10-6	9.581	167	87, 125

2.2 标准曲线和检出限

分别配制 10、50、100、250、500、800、1000 µg/L 的硫酸二甲酯、硫酸二乙酯以及硫酸二异丙酯的混合标准溶液，取 1 µL 进样，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标做标准曲线。根据 10 µg/L 标样数据，以 3 倍信噪比 (ASTM) 计算出三者的仪器检出限，各化合物检出限以及线性相关系数如表 2 所示。

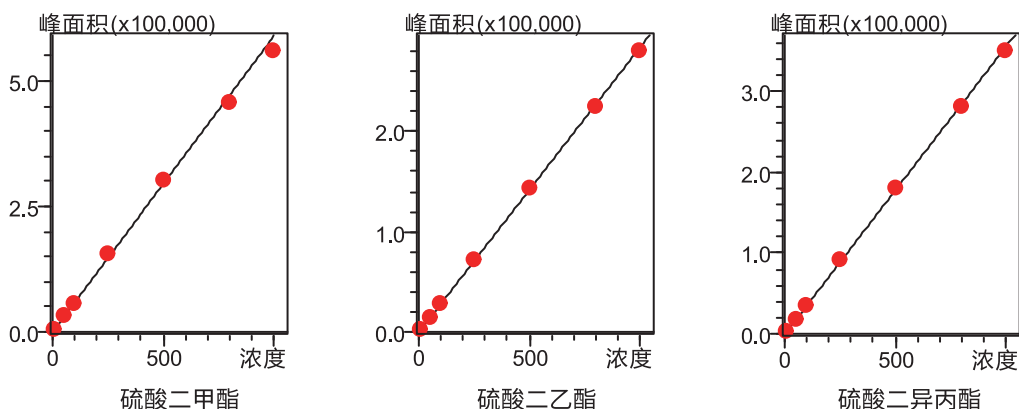


图3 硫酸烷基酯类化合物标准曲线

表2 各组线性方程、相关系数及检出限

ID	组分名称	斜率	截距	权重	相关系数 (R)	检出限 ($\mu\text{g/L}$)
1	硫酸二甲酯	589.9	-200.4	$1/C^2$	0.9989	0.53
2	硫酸二乙酯	284.4	-421.3	$1/C^2$	0.9999	0.36
3	硫酸二异丙酯	356.3	-610.1	$1/C^2$	0.9999	0.58

2.3 重复性实验

取 $50 \mu\text{g/L}$ 标准品溶液，连续进样 6 次，考察仪器的重复性，测定结果见表 3。

表3 硫酸烷基酯类化合物重复性结果

ID	组分名称	峰面积						平均	RSD(%)
		1	2	3	4	5	6		
1	硫酸二甲酯	31918	32662	32342	31656	31818	30608	31834	2.21
2	硫酸二乙酯	13973	14215	14169	14306	13690	13413	13961	2.48
3	硫酸二异丙酯	17421	17699	17538	17942	17183	17114	17483	1.79

2.4 加标回收率

称取可溶于有机溶液的药品 0.04 g 于离心管中，加入 $60 \mu\text{L}$ 浓度为 $20 \mu\text{g/mL}$ 的标准溶液，得到三种硫酸酯类浓度为 3.0 mg/kg 的加标样品，用乙酸乙酯定容至 2 mL ，充分震荡均匀，超声萃取 10 min ，过 $0.22 \mu\text{m}$ 有机滤膜后采用 GCMS 分析，平行 3 份样品考察回收率和 RSD。

表4 硫酸烷基酯类化合物添加回收率结果

ID	组分名称	浓度 (mg/kg)						平均	平均加标回收率	RSD(%)
		1-1	1-2	2-1	2-2	3-1	3-2			
1	硫酸二甲酯	3.045	2.705	2.805	2.885	2.895	2.935	2.88	95.93	4.01
2	硫酸二乙酯	2.71	2.74	2.86	2.91	2.93	2.975	2.855	95.16	3.74
3	硫酸二异丙酯	2.855	2.875	3.025	3.065	3.115	3.14	3.015	100.42	3.99

■ 结论

本方法采用岛津 GCMS-QP2020 检测药品中硫酸二甲酯、硫酸二乙酯和硫酸二异丙酯等硫酸烷基酯类遗传毒性杂质，在 10~1000 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内标准曲线线性良好，相关系数均在 0.998 以上，仪器检出限为 0.36~0.58 $\mu\text{g/L}$ 。10 $\mu\text{g/L}$ 标准品溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD 均小于 2.48%，精密度良好。3 mg/kg 加标浓度的加标回收率为 95.16%-100.42%。该方法简单方便，能够有效的检测药品中硫酸二甲酯、硫酸二乙酯和硫酸二异丙酯的含量。