

GCMS 法测定药品中 3 种痕量丁基磺酸酯类基因毒性物质

GCMS-268

摘要：利用岛津 GCMS-QP2020 气质联用仪，建立了药品中 3 种痕量丁基磺酸酯类基因毒性物质的分析方法。结果表明，在 5~1000 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内各组分线性良好，线性相关系数 R 均在 0.9995 以上，方法检出限均小于 0.5 $\mu\text{g/L}$ 。对 10、50、100 $\mu\text{g/L}$ 的 3 种丁基磺酸酯类混合标准溶液进行重复实验，6 次平行进样，峰面积的相对标准偏差在 0.37~2.53%。加标浓度为 10 $\mu\text{g/g}$ 时，平行试验 3 次，各组分的回收率在 93.7~96.5% 之间。该方法前处理简单、分析速度快、灵敏度高，完全满足药品中痕量基因毒物检测方面的需求。

关键词：气相色谱质谱法 丁基磺酸酯 基因毒性

随着人们对健康的高度关注，用药安全成为大家的共识，其中药品中的基因毒物成为近年来研究的热点。磺酸酯类物质可与 DNA 发生烷基化反应，从而可能引发癌症，因此控制药物中该类基因毒性杂质的含量非常重要，欧洲医药评价署 (EMA) 发布了关于基因毒性杂质的最大摄入量为 1.5 $\mu\text{g/d}$ 。

目前因基因毒性物质的概念广泛，所含种类繁多，为了防止药品中潜在基因毒性物质的风险，EMA 首先实施详细指南控制杂质限量，美国食品和药物管理局

(FDA) 随后也颁布指南草案，国际药品注册协会会议 (ICH) 也对基因毒性杂质做出限量规定。

丁基磺酸酯类物质属于基因毒性物质的一类，在某些药品的生产过程中会成为副产物。如何有效测定并控制在成品中的含量，是药企质量控制的关键。本文建立了液体直接进样法分析药物中三种丁基磺酸酯的气相色谱质谱法，该方法快速、有效，灵敏度能满足对痕量基因毒物分析的需求。

实验部分

1.1 仪器

气相色谱质谱联用仪：GCMS-QP2020

1.2 分析条件

色谱柱：Intercap1701 MS(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm)

柱温程序：50 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)_15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _200 $^{\circ}\text{C}$ _30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _3000 $^{\circ}\text{C}$ (5 min)

载气控制方式：恒线速度

线速度：39.7 cm/sec

进样方式：不分流

进样时间：1 min

离子源温度：230 $^{\circ}\text{C}$ (EI)

接口温度：250 $^{\circ}\text{C}$

采集模式：SIM 法 (采集参数见表 1)

表1 3种丁基磺酸酯类化合物的SIM参数

No.	组分	保留时间(min)	定量离子	定性离子
1	丁基磺酸甲酯	8.383	56	97、123
2	丁基磺酸乙酯	8.976	57	83、111
3	丁基磺酸异丙酯	9.100	57	165、139

1.3 样品前处理

称取药品 0.05 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 标准溶液色谱图

混标溶液的 TIC 图谱见图 1，SIM 模式 MC 图 (50 $\mu\text{g/L}$) 如图 2 所示。

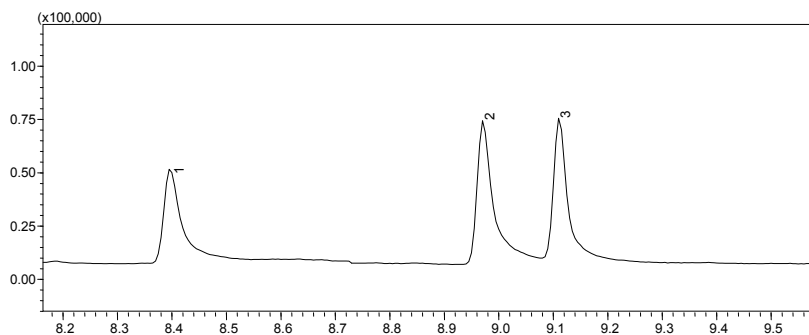


图1 三种丁基磺酸酯的TIC图 (100 $\mu\text{g/L}$)

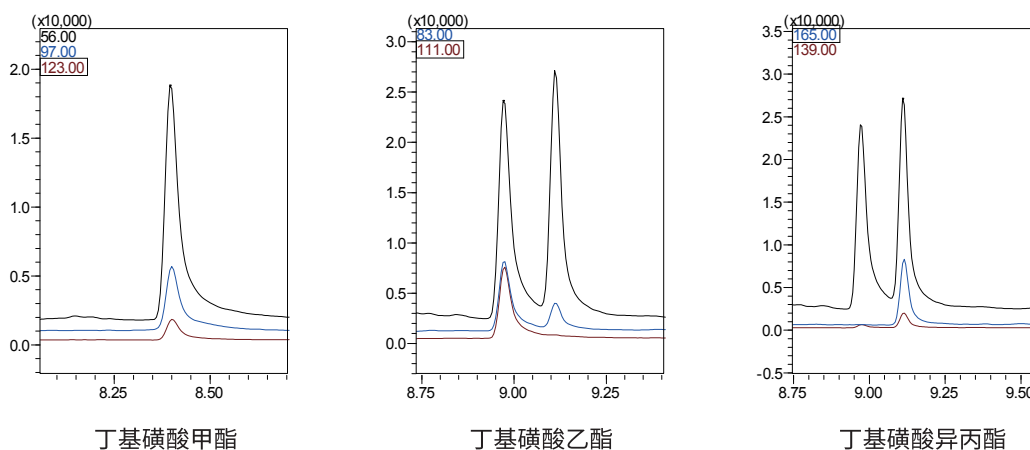


图2 3种磺酸酯标准品的MC图(50 $\mu\text{g/L}$)

2.2 标准曲线

各取 0.05 g 的 3 种丁基磺酸酯单标加入到 50 mL 的容量瓶中，用乙酸乙酯定容得到 1000 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液。取以上标准储备液逐级稀释至 5、10、20、50、100、200、500、1000 $\mu\text{g/L}$ 。

利用 SIM 模式采集上述标准溶液。以浓度作为横坐标，峰面积作为纵坐标，绘制 3 种丁基磺酸酯的外标曲线如图 3 所示。

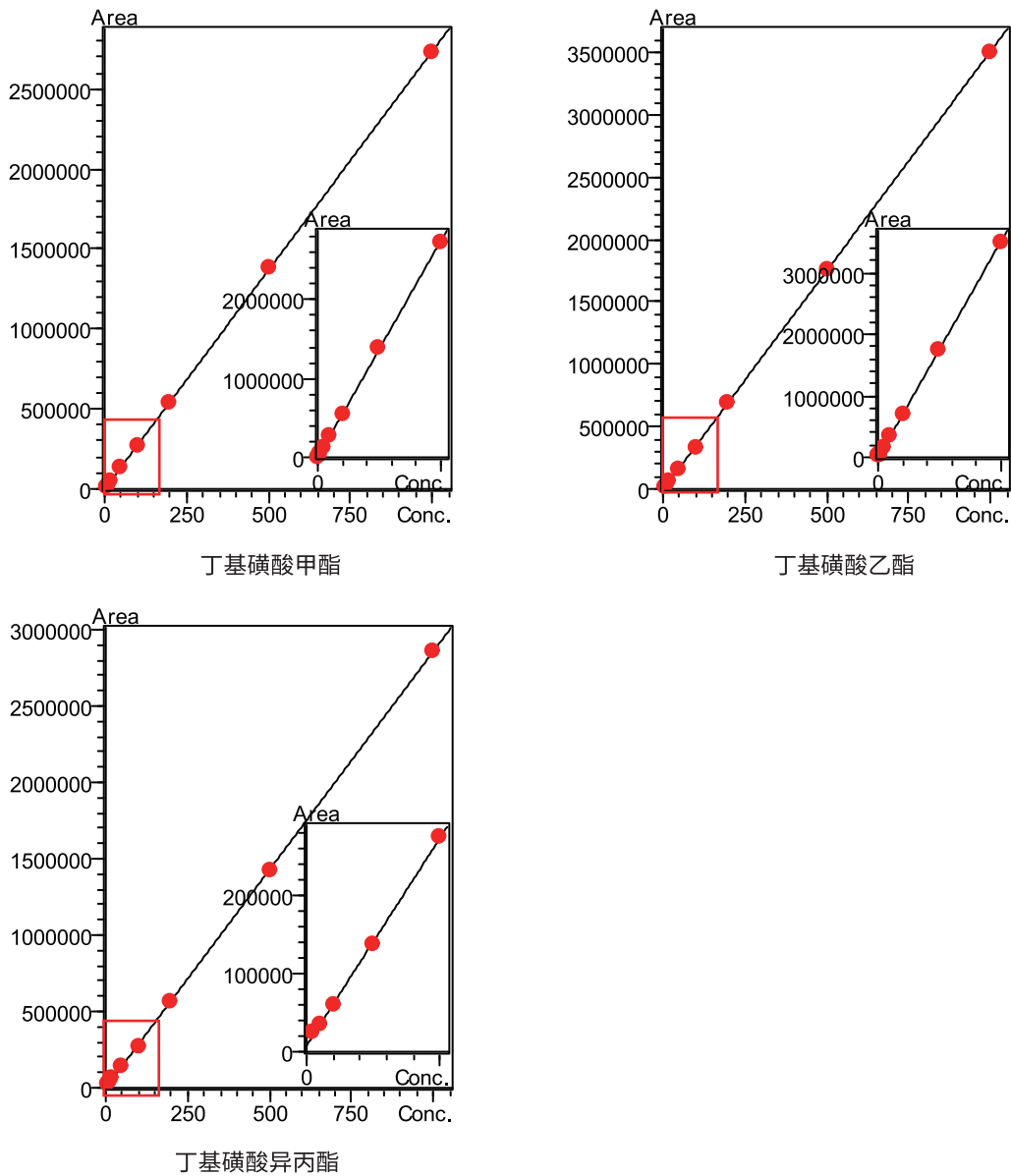


图3 3种磷酸酯的标准曲线

根据 5 $\mu\text{g/L}$ 标准溶液数据, 计算仪器检出限 (3 倍信噪比计算), 相关信息如表 2 所示。

表2 3种丁基磷酸酯的标准曲线相关系数、检出限

No.	组分名称	相关系数	检出限($\mu\text{g/L}$)
1	丁基磷酸甲酯	0.9999	0.50
2	丁基磷酸乙酯	0.9998	0.34
8	丁基磷酸异丙酯	0.9997	0.27

2.3 重复性结果

对 10、50、200 $\mu\text{g/L}$ 的标准样品，重复进样 6 次，各组分峰面积 RSD% 见上表 3。

表3 3种磺酸酯的重复性结果

No.	组分名称	RSD%(10 $\mu\text{g/L}$)	RSD%(50 $\mu\text{g/L}$)	RSD%(200 $\mu\text{g/L}$)
1	丁基磺酸甲酯	1.71	0.37	0.54
2	丁基磺酸乙酯	0.74	0.60	0.74
8	丁基磺酸异丙酯	2.63	0.94	0.53

2.4 回收率测定

选取市售空白药品，称取该药品 0.05 g，加入 50 μL 的 10 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液，制得含 3 种丁基磺酸酯 10.0 $\mu\text{g/g}$ 的加标样品，平行处理 3 份，样品测定结果以及加标回收率结果见表 3。

表4 样品测试结果及加标回收率

No.	化合物名称	加标浓度10.0 $\mu\text{g/g}$	
		平均回收率(%)	RSD%
1	丁基磺酸甲酯	93.7	2.36
2	丁基磺酸乙酯	94.8	3.14
8	丁基磺酸异丙酯	96.5	3.33

2.5 实际样品测定

取市售代表性药品称取 0.05 g，按照 1.3 的前处理方式进行处理，其样品色谱图见图 4 所示，测定结果见表 4 所示。

表5 样品测定结果

化合物	丁基磺酸甲酯	丁基磺酸乙酯	丁基磺酸异丙酯
含量 (mg/kg)	8.12	N.D.	N.D.

注：N.D.表示未检出

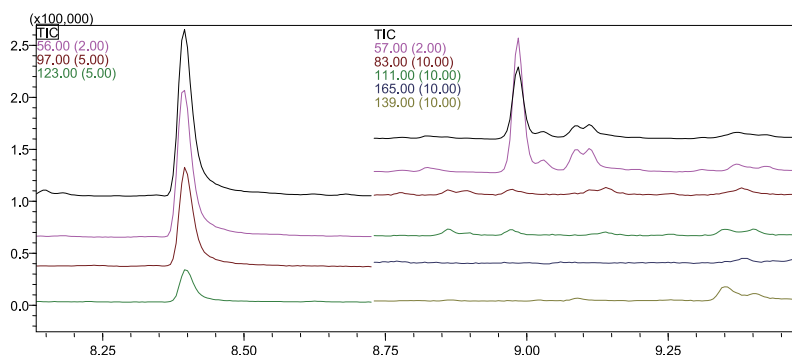


图4 实际样品测定TIC图

■ 结论

本文利用岛津 GCMS-QP2020 气质联用仪对药品中的 3 种丁基磺酸酯类基因毒性进行分析。在 5~1000 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内标准曲线线性良好，方法检出限均小于 0.50 $\mu\text{g/L}$ ，加标回收率在 93.7~96.5% 之间。该方法准确、稳定性好、灵敏度高，满足检测需求。