

GC-MS/MS 测定药品中基因毒性杂质 3,4-二氯苯胺

GCMSMS-128

摘要：利用岛津 GCMS-TQ8050 三重四极杆气质联用仪，建立了药品中基因毒性杂质 3,4-二氯苯胺的分析方法。结果表明，在 5~100 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内 3,4-二氯苯胺线性良好，相关系数为 0.9995。对 10 $\mu\text{g/L}$ 的标准溶液连续 6 针进样，峰面积的相对标准偏差为 1.52%。加标浓度 2 $\mu\text{g/g}$ 时，平行试验 5 次，平均回收率为 86.8%。该方法前处理简单、重复性好，可为药品中 3,4-二氯苯胺的检测提供参考。

关键词：三重四极杆气质联用仪 药品 3,4-二氯苯胺

基因毒性杂质是指化合物本身直接或间接损伤细胞 DNA，产生致突变和致癌的物质。基因毒性物质的特点是在很低的浓度时即可造成人体遗传物质的损伤，进而导致基因突变并可能促使肿瘤发生。因其毒性较强，对用药的安全性产生了强烈的威胁。

世界各国的法规机构如 EMA、ICH、FDA 等都对基因毒性杂质做了明确的规定和要求。目前基因毒性列

表中有 1574 种致癌物质。药品制备工艺中往往会存在溶剂残留问题。而这些残留的溶剂中有许多是基因毒性杂质，如 3,4-二氯苯胺、1,1,1-三氯乙烷等。

本实验采用岛津 GCMS-TQ8050 三重四极杆气质联用仪，建立了测定药品基因毒性杂质 3,4-二氯苯胺的分析方法。该方法处理简单、灵敏度高。可以为药品中 3,4-二氯苯胺的检测提供参考。

实验部分

1.1 仪器

气相色谱质谱联用仪：GCMS-TQ8050

1.2 分析条件

色谱柱：SH-Rxi-5Sil MS, 30 m \times 0.25 mm
 \times 0.25 μm

柱温程序：80 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)_25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _150 $^{\circ}\text{C}$
_10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _200 $^{\circ}\text{C}$ _25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$
_290 $^{\circ}\text{C}$ (5 min)

进样口温度：220 $^{\circ}\text{C}$

进样方式：不分流 (1 min)

进样量：1 μL

载气：氦气

载气控制方式：恒线速度 (36.8 cm/sec)

离子源温度：230 $^{\circ}\text{C}$

色谱质谱接口温度：300 $^{\circ}\text{C}$

检测器电压：调谐电压 +0.4 K v

采集模式：MRM(采集参数见表 1)

1.3 样品制备

将药品研磨制成粉末。准确称取 0.02 g 置于试管中，准确加入 2 mL 甲醇 / 乙酸乙酯 (1:1) 溶液，旋涡混合 2 min，超声萃取 15 min。将该处理液过 0.22 μm 有机滤膜，上机分析。

结果与讨论

2.1 标准样品色谱图

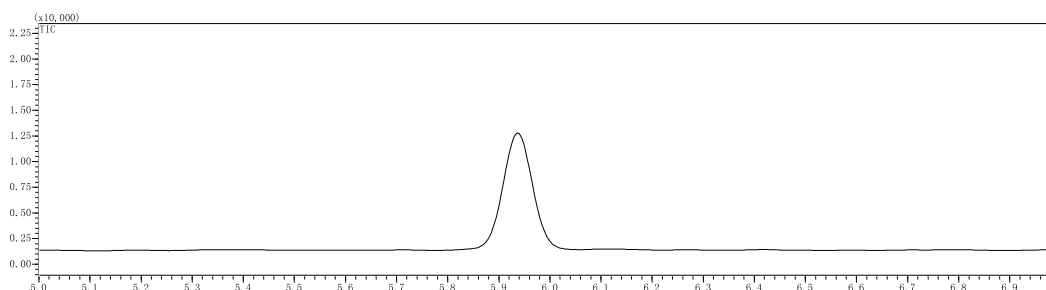


图1 3,4-二氯苯胺标品的MRM色谱图 (浓度10 $\mu\text{g/L}$)

表1 3,4-二氯苯胺MRM参数

峰号	组分名称	英文名称	CAS 号	定量离子	定性离子	定性离子
1	3,4-二氯苯胺	3,4-Dichloroaniline	95-76-1	161.00>99.00 (21)	161.00>90.10 (18)	161.00>126.00 (12)

2.2 标准曲线

用甲醇/乙酸乙酯(1:1)溶液,分别配制系列浓度为5、10、20、50、100 μg/L的3,4-二氯苯胺标准溶液,绘制标准曲线,检出限以3倍的峰峰比计算。峰面积重复性以10 μg/L的标准样品连续进样6次,计算其相对标准偏差(RSD)。3,4-二氯苯胺标准曲线和浓度为10 μg/L的3,4-二氯苯胺MRM质量色谱图如图2所示。3,4-二氯苯胺标准曲线相关系数、最低检出限(LOD)及峰面积的RSD值见表2。

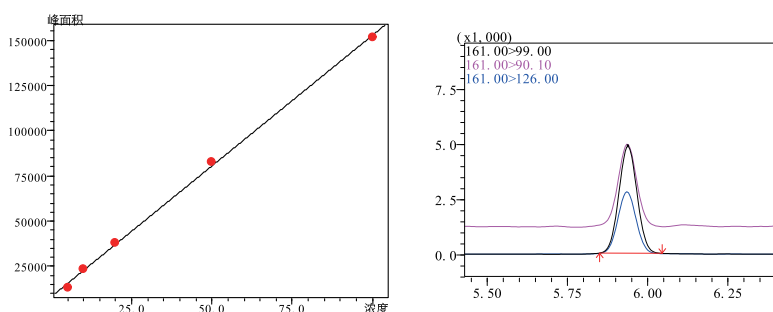


图2 3,4-二氯苯胺的标准曲线及质量色谱图

表2 3,4-二氯苯胺标准曲线相关系数、最低检出限及峰面积的RSD (%)

No.	组分名称	相关系数	检出限 (μg/L)	RSD (%)
1	3,4-二氯苯胺	0.9995	0.01	1.52

2.3 回收率及样品测试

在药品中分别加入3,4-二氯苯胺标准溶液,添加浓度为2 μg/g,各平行5份。按上述前处理进行加标回收率试验。样品加标回收率结果见表3。

分别对市售的药品进行分析,均未检测出3,4-二氯苯胺。

表3 加标回收率结果

No.	组分名称	加标浓度 2 μg/g	
		平均回收率 (%)	RSD (%)
1	3,4-二氯苯胺	86.8	2.84

结论

利用岛津公司GCMS-TQ8050三重四极杆气质联用仪建立了药品中基因毒性杂质3,4-二氯苯胺的分析方法。在5~100 μg/L浓度范围内,3,4-二氯苯胺线性良好,相关系数为0.9995。对浓度为10 μg/L的3,4-二氯苯胺标准溶液,连续6针进样,峰面积相对标准偏差为1.52%。在空白样品中添加3,4-二氯苯胺标准溶液,浓度为2 μg/g,平行试验5次,平均回收率为86.8%。实验表明,串联质谱的检测方法能够有效地消除基质干扰,减少假阳性的检出率,同时能提高分析的选择性和检测灵敏度。该方法可为药品中3,4-二氯苯胺的检测提供参考。