

药品中基因毒性杂质 检测解决方案



前言

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。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。因基因毒性杂质毒性较强，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基因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。

世界各国的法规机构都对基因毒性杂质做了明确的规定和要求。2006年欧洲药品管理局（EMA）颁布了《基因毒性杂质限度指南》，并自2007年1月1日起正式实施。该指南为限制新活性物质中的基因毒性杂质提供了解决问题的框架和具体做法。美国食品与药品监督管理局（FDA）于2008年12月也正式签发了类似指南：《原料药和成品药中遗传毒性和致癌性杂质：推荐方法》。该指南对原料药和制剂中的基因毒性杂质的分析方法等问题作了详细阐述和说明。人用药品注册技术要求国际协调会议（ICH）推出ICH M7指南《评估和控制药物中的DNA反应性（致突变性）杂质以限制潜在的致癌风险》。ICH M7指南比现行EMA和FDA指南覆盖更广的地理范围，解决EMA和FDA指南间不一致的问题。在药品生产过程中可能产生基因毒性杂质的环节包括新药合成、原料纯化、储存运输（与包装物接触）等，对基因毒性杂质的控制和检测是对药品生产商的巨大考验。

岛津公司作为全球著名的分析仪器厂商，自 1875 年创业以来，始终秉承创始人岛津源藏的创业宗旨“以科学技术向社会做贡献”，不断钻研领先时代、满足社会需求的科学技术。自进入中国 30 多年来，一直关注国内各行业的发展及相关标准法规的颁布与实施，积极应对并及时提供全面、快速有效的解决方案。为了应对制药行业相关用户的需求，岛津分析中心精心推出这本《药品中基因毒性杂质检测解决方案》，汇编了药品中残留溶剂、甲磺酸酯类、亚硝胺类等基因毒性物质检测的应用文集，希望我们的工作能够对您有所帮助。

岛津企业管理（中国）有限公司

目 录

1. 相关法规和标准	4
2. 检测解决方案	6
GC Smart 结合 HS-10 顶空进样器测定药品中溶剂残留	6
GCMS 结合 HS-20 顶空进样器测定药品中溶剂残留	10
顶空衍生+GCMS 测定药品中 3 种甲磺酸酯类基因毒性物质	14
GCMS 法直接测定药品中 8 种甲磺酸酯类基因毒性物质	18
GCMSMS 法同时测定药品中 8 种磺酸酯类基因毒性杂质	23
GC 结合 HS-20 顶空进样器测定药品中环氧氯丙烷残留含量	28
顶空 GCMS 法测定药物中水合肼含量	31
GCMSMS 法测定药品中 8 种挥发性亚硝胺	35
LCMSMS 法用于甲苯磺酸拉帕替尼的基因毒性杂质分析	40



SHIMADZU
Excellence in Science

相关法规和标准

1. 基因毒性杂质定义

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，常用的缩写为GTLs (genotoxic impurities, 基因毒性杂质)。基因毒性杂质对DNA的损害作用包括染色体断裂、DNA重组、DNA复制过程中共价键结合或插入等。基因毒性杂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。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。

因基因毒性杂质毒性较强，对用药的安全性产生了强烈的威胁。在药品生产过程中可能产生基因毒性杂质的环节包括新药合成、原料纯化、储存运输（与包装物接触）等。近年来，已上市药品中发现痕量的基因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。例如某知名国际制药巨头在欧洲市场推出的HIV蛋白酶抑制剂维拉赛特锭，因为在其产品中发现甲基磺酸乙酯超标，欧洲药品管理局暂停了其在欧洲的所有市场活动，直到解决超标问题才恢复市场授权。

2. 相关法规和标准

2.1 欧洲药品管理局 (EMA): 《基因毒性杂质限度指南》

2006年欧洲药品管理局 (EMA) 颁布了《基因毒性杂质限度指南》(Guideline of the limits of genotoxic impurities)，并自2007年1月1日起正式实施。该指南为限制新活性物质中的基因毒性杂质提供了解决问题的框架和具体做法。EMA之所以要发布这一指南，主要是因为现有指南中，对EMA批准上市的新药中所含基因毒性杂质的可接受水平缺乏相应的监管条款。该指南是第一个直接针对基因毒性杂质的监管规定，重点关注的是在新药合成、纯化和储存运输过程中，最有可能产生的实际潜在性的基因毒性杂质。但新指南并不适用于此前已经获批上市的产品，除非某些产品存在让人担忧的特殊原因。

在EMA的指南中，当一种化合物（杂质）的毒性物质限量 (Threshold of toxicological concern, TTC) 值达到1.5微克/人/天时，就被归类为基因毒性物质。TTC值最初由美国FDA提出，用来对食品接触性物质的含量制定一个“规定限值”。制定TTC值是为了对任何没有得到充分研究的化学物质通常应用的接触水平作出限定，从而最大程度的阻止它们产生较大的致癌风险或其它毒性作用。就大多数药品来说，当人们每天摄入的基因毒性物质的TTC值达到1.5微克时，即被认为将存在可能致癌的风险。通过利用这一限值，可根据患者每天预计的使用剂量，来计算出原料药中所允许的基因毒性杂质的含量。在某些情况下（比如短期接触时），较高的限值水平也许仍可被接受。

该指南指出，要识别这些杂质，应该对涉及合成过程的化学反应，与原材料有关的杂质（它们有可能会给新药带来杂质成分）等进行合理、科学的评价。这一点是针对原料药生产环节提出的，也正是对生产商们的一个考验。

2.2 美国食品与药品监督管理局（FDA）：《原料药和成品药中遗传毒性和致癌性杂质：推荐方法》

基于EMA《基因毒性杂质限度指南》和ICH相关指南，美国食品与药品监督管理局(FDA)于2008年12月也正式签发了类似指南：《原料药和成品药中遗传毒性和致癌性杂质：推荐方法》(Guidance for Industry—Genotoxic and Carcinogenic Impurities in Drug Substances and Products: Recommended Approaches)。该指南对指南的发布背景，原料药和制剂中的基因毒性杂质生成的预防办法，基因毒性杂质的分析方法、处理方法和减少方法，上市申请和临床研究申请的可接受限度作了详细阐述和说明。FDA也同时发布了草药原料药和制剂中基因毒性杂质的评估指南。

2.3 人用药品注册技术要求国际协调会议（ICH）：《评估和控制药物中的DNA反应性（致突变性）杂质以限制潜在的致癌风险》

人用药品注册技术要求国际协调会议（ICH）相继推出原料药杂质研究指导原则Q3A(R2)、制剂杂质研究指导原则Q3B(R2)。根据ICH指南，原料药相关的杂质可分为三个主要类别：有机杂质、无机（元素）杂质以及残留溶剂。在这三类中，基因毒性杂质是一种特例，有着重大的安全风险。指导原则中指出“对于能够产生强的药理活性或毒性的潜在杂质，即使其含量低于0.1%，仍然建议进行结构鉴定研究。

2015年5月，ICH出台ICH M7指南《评估和控制药物中的DNA反应性（致突变性）杂质以限制潜在的致癌风险》(Assessment and control of DNA Reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk)。ICH M7指南比现行EMA和FDA指南覆盖更广的地理范围，解决EMA和FDA指南间不一致的问题，详尽阐明了如何使用TTC值，如何设定质量标准等问题。

GC Smart 结合 HS-10 顶空进样器测定药品中溶剂残留

摘要：本文利用岛津公司 HS-10 顶空自动进样器，结合 GC Smart 气相色谱仪，建立了药品中 11 种溶剂残留的测定方法。在 0.1~5 μg 标准曲线浓度范围内各组分线性关系良好，相关系数 r 为 0.9991~0.9997；峰面积重现性良好，RSD 小于 8.23%。该方法可用于药品中溶剂残留的快速定性定量测定。

关键词：HS-10 GC Smart 药品 第一类溶剂残留 第二类溶剂残留

药品中溶剂残留是指在原料药、辅料及制剂生产中使用的，但在工艺过程中未能完全去除的有机溶剂。在原料药合成工艺中，有机溶剂必不可少，选择适当的溶剂可以提高产量或决定药物的性质，如晶型、纯度、溶解度等。但当药品中溶剂残留水平高于安全值时，就会对人体产生危害。因此溶剂残留的监测对药品质量控制具有重要意义。

2015 年 12 月 1 日起，《中国药典》2015 版（第十版）正式实施。相比 2010 版药典，其整体构架上有较大调整。就“残留溶剂测定法”而言，2010 版的二部化学药附录 VIII P 和三部生物制品附录 VI V 在 2015 版药典里合并成通则 0861，内容上未做修订。根据通则 0861，药品中常见的残留溶剂分为三类，第一类溶剂应该避免使用，共 5 种，其中 1,1,1-三氯乙烷限度为 0.15%，其余 4 种限度为 2~8 $\mu\text{g}/\text{g}$ ，第二类溶剂应该限制使用，共 27 种，限度为 50 $\mu\text{g}/\text{g}$ ~0.388%。第三类溶剂为药品 GMP 或其他质量要求限制使用。其中第一类和第二类对人体的危害性最大。

通则 0861 中提供的测定方法为顶空进样和溶液直接进样。顶空进样法采用气体进样，不需要使用有机溶剂进行提取，且分析速度快。本文建立了一种顶空进样测定药品中溶剂残留含量的应用方法，该方法操作简单，灵敏度高，检出限低，且适用性强。

1 实验部分

1.1 仪器

HS-10 顶空自动进样器（岛津公司）

GC Smart 气相色谱仪

1.2 分析条件

HS-10 条件：

平衡温度：80 $^{\circ}\text{C}$

定量环温度：110 $^{\circ}\text{C}$

传输线温度：120 $^{\circ}\text{C}$

平衡时间：30min

进样时间：1min

GC 条件：

色谱柱：Rtx-624, 60m \times 0.32mm \times 1.8 μm

柱温程序：40 $^{\circ}\text{C}$ (6min)_5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _200 $^{\circ}\text{C}$
(2min)

进样方式：分流，分流比：10:1

FID 检测器温度：250 $^{\circ}\text{C}$

1.3 样品前处理

精密称取 1g 左右样品，用 10mL 水充分溶解，加入 1g 氯化钠后密封，待测。

2 结果讨论

2.1 标准谱图

11 种溶剂混标色谱图如图 1 所示。

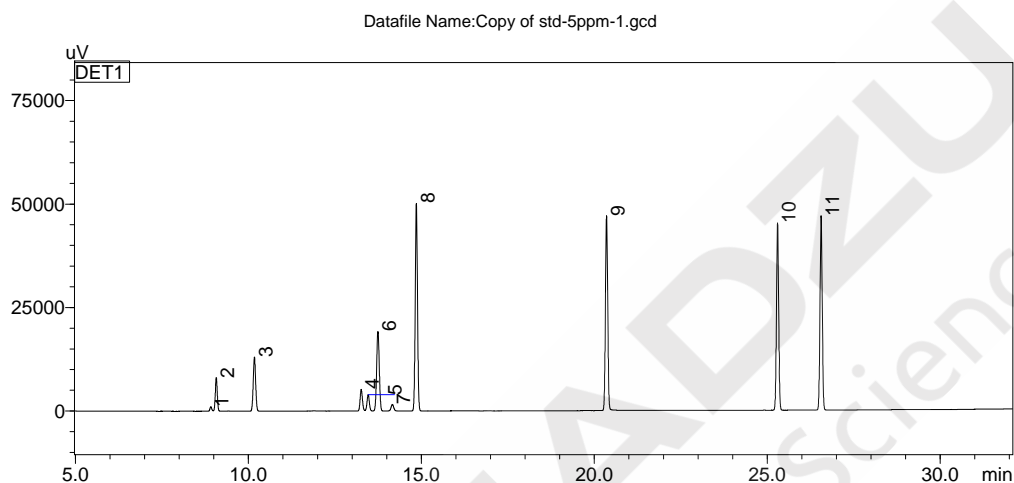


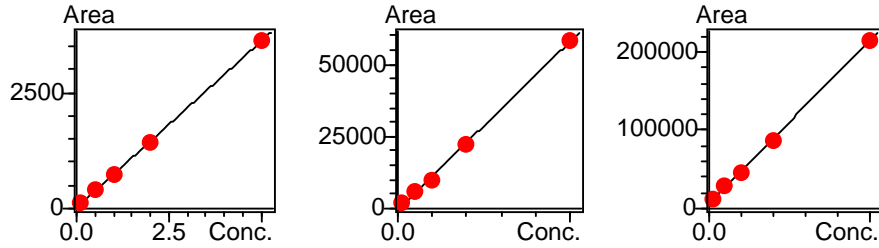
图 1.标准溶液色谱图 (5ppm)

表 1.组分保留时间、中英文名称和 CAS 号

No.	保留时间	化合物名称	英文名称	CAS 号
1	8.913	乙腈	Acetonitrile	75-05-8
2	9.072	二氯甲烷	Dichloromethane	75-09-2
3	10.176	正己烷	Hexane	110-54-3
4	13.262	四氢呋喃	Tetrahydrofuran	109-99-9
5	13.463	三氯甲烷	Chloroform	67-66-3
6	13.747	环己烷	Cyclohexane	110-82-7
7	14.163	四氯化碳	Tetrachloromethane	56-23-5
8	14.857	苯	Benzene	71-43-2
9	20.356	甲苯	Toluene	108-88-3
10	25.300	对二甲苯	p-Xylene	106-42-3
11	26.560	间二甲苯	o-Xylene	108-38-3

2.2 标准曲线

使用纯水配制溶剂残留混合标准系列，从 1 μ g/mL 溶液中分别吸取 0.1、0.5、1、2 和 5 mL，用纯水定容到 10mL，转移到 20mL 顶空瓶中，加入 1g 氯化钠，得到浓度绝对量分别为 0.1、0.5、1.0、2.0、5.0 μ g 的混标系列溶液，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，制作标准曲线。因篇幅所限，部分溶剂组分标准曲线如下所示，各组分标准曲线相关系数如表 2 所示。



乙腈

正己烷

甲苯

2.3 检出限及重现性

根据 0.1 μg 标准溶液数据，计算方法检出限（3 倍噪声计算）。各组分检出限见表 2，且峰面积重现性良好。

表 2. 各组分检出限及面积重现性 (n=5)

No.	化合物	相关系数	检出限 (μg)	%RSD	No.	化合物	相关系数	检出限 ($\mu\text{g/g}$)	%RSD
1	乙腈	0.9997	0.125	5.10	7	四氯化碳	0.9997	0.015	8.23
2	二氯甲烷	0.9992	0.003	3.91	8	苯	0.9991	0.001	5.98
3	正己烷	0.9992	0.022	3.81	9	甲苯	0.9996	0.002	4.13
4	四氢呋喃	0.9993	0.045	4.19	10	对二甲苯	0.9992	0.005	5.00
5	三氯甲烷	0.9994	0.007	6.23	11	间二甲苯	0.9994	0.005	4.22
6	环己烷	0.9996	0.007	4.83					

2.4 回收率

将溶剂残留混标溶液分别添加到样品中（市售板蓝根颗粒），按照样品前处理方法制备，样品中加标浓度分别为 0.5 μg 。回收率结果见表 3。

表 3. 样品测试结果及加标回收率

No.	化合物名称	板蓝根颗粒		
		检测结果 ($\mu\text{g/g}$)	回收率%	RSD% (n=3)
1	乙腈	N.D	95.80	2.26
2	二氯甲烷	0.275	73.60	6.68
3	正己烷	N.D	67.55	1.14
4	四氢呋喃	N.D	93.68	1.63
5	三氯甲烷	N.D	64.06	7.17
6	环己烷	0.207	78.98	8.33
7	四氯化碳	N.D	94.07	5.36
8	苯	N.D	117.08	3.98
9	甲苯	N.D	100.28	9.19
10	对二甲苯	N.D	70.45	8.84
11	间二甲苯	N.D	63.72	2.03

3 结论

岛津公司 HS-10 顶空进样器采用高精度流量控制技术和均一稳定的恒温室控温技术，确保了峰面积良好的重复性，GC Smart 气相色谱仪搭载了 AFM 技术，手动调节也可以精准设定流量和分流比。两者通过 LabSolutions LE 工作站软件实现全自动化分析。本方法操作简单，在 0.5 μ g 加标水平下样品加标回收率为 63.72~117.08%，适用于药品中的溶剂残留定性定量检测。



SHIMADZU
Excellence in Science

GCMS 结合 HS-20 顶空进样器测定药品中溶剂残留

摘要： 本文利用岛津公司顶空自动进样器 HS-20，结合 GCMS-QP2010 Ultra 气质联用仪，建立了药品中 19 种溶剂残留测定方法。在标准曲线浓度范围内各组分线性关系良好，相关系数 r 大于 0.997；峰面积重现性良好，RSD 小于 8.32%。该方法可用于药品中溶剂残留的快速定性定量测定。

关键词： 顶空自动进样器 气相色谱质谱联用仪 药品 第一类溶剂残留 第二类溶剂残留

药品中溶剂残留是指在原料药或者辅料的生产中，以及在制剂制备过程中使用或者生产的，但在工艺过程中未能完全去除的有机溶剂。

目前，对溶剂残留的控制已越受到人们的关注。根据2010版国家药典，药品中常见的残留溶剂分为三类，第一类为应该避免使用的溶剂，共5种，除1,1,1-三氯乙烷限定值为0.15%，其余4种限定值为2~8 $\mu\text{g/g}$ ，第二类为应该限制使用的溶剂，共27种，其限定值为50 $\mu\text{g/g}$ ~0.388%。第三类为药品GMP或其他质量要求限制使用的溶剂。其中第一类和第二类对人体的危害性最大。因此为了保障药物的用药安全，控制产品质量，需要进行有机溶剂残留量的检测和控制。

2010 版中国药典中提供的测定方法为顶空进样和溶液直接进样。本文建立了一种顶空进样测定药品中溶剂残留含量的应用方法，该方法操作简单，灵敏度高，检出限低，且适用性强。

1 实验部分

1.1 仪器

HS-20 顶空自动进样器（岛津公司）

GCMS-QP2010 Ultra 气相色谱-质谱联用仪

1.2 分析条件

HS-20条件：

顶空瓶平衡温度：80 $^{\circ}\text{C}$

定量环温度：110 $^{\circ}\text{C}$ ，传输线温度：120 $^{\circ}\text{C}$

平衡时间：30min，进样时间：1min

GCMS条件：

色谱柱：Rtx-624，60m \times 0.32mm \times 1.8 μm

柱温程序：40 $^{\circ}\text{C}$ （6min）_5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _200 $^{\circ}\text{C}$
（2min）

进样方式：分流，分流比：10:1

载气：氦气

载气控制方式：恒线速度，35.0 cm/sec

接口温度：230 $^{\circ}\text{C}$

离子源温度：200 $^{\circ}\text{C}$

离子化方式：EI

采集方式：SCAN

质量数范围：29~300

1.3 样品前处理

精密称取 1g 左右样品，用 10mL 水充分溶解，加入 1g 氯化钠后密封，待测。

2 结果讨论

2.1 标准谱图

19 种溶剂残留混标总离子流图如图 1 所示。

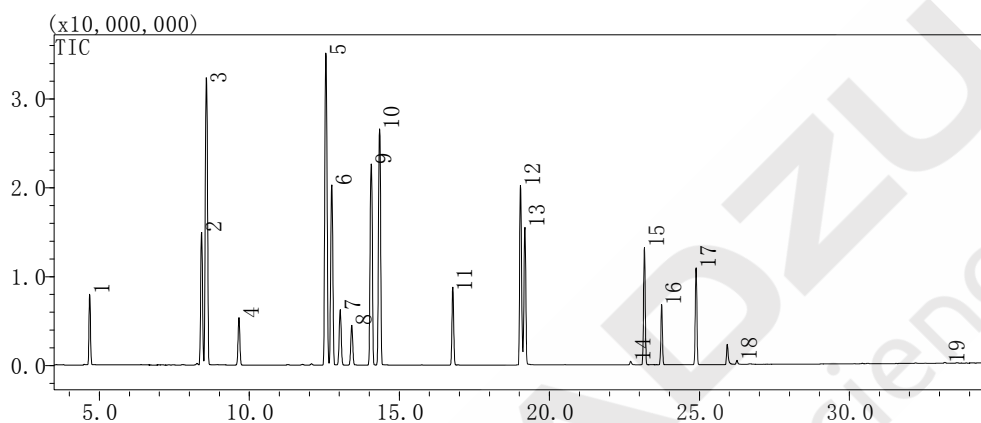


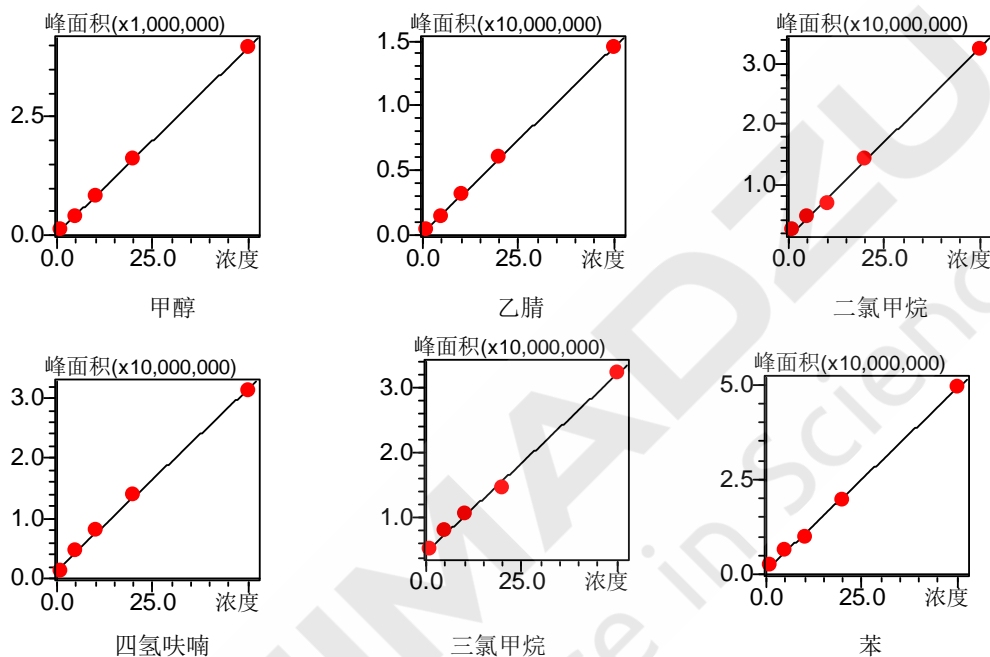
图 1.溶剂混标总离子流图

表 1.组分保留时间、中英文名称和 CAS 号

No.	保留时间 (min)	化合物名称	英文名称	CAS 号
1	4.675	甲醇	Metaanol	67-56-1
2	8.405	乙腈	Acetonitrile	75-05-8
3	8.560	二氯甲烷	Dichloromethane	75-09-2
4	9.655	正己烷	Hexane	110-54-3
5	12.545	四氢呋喃	Tetrahydrofuran	109-99-9
6	12.745	三氯甲烷	Chloroform	67-66-3
7	13.025	环己烷	Cyclohexane	110-82-7
8	13.410	四氯化碳	Tetrachloromethane	56-23-5
9	14.060	苯	Benzene	71-43-2
10	14.340	1,2-二氯乙烷	1,2-Dichloroethane	107-06-2
11	16.770	二氧六环	1,4-Dioxane	123-91-1
12	19.040	吡啶	Pyridine	110-86-1
13	19.180	甲苯	Toluene	108-88-3
14	22.710	N,N-二甲基甲酰胺	N,N-Dimethylformamide	68-12-2
15	23.165	氯苯	Chlorobenzene	108-90-7
16	23.740	对二甲苯	p-Xylene	106-42-3
17	24.890	间二甲苯	o-Xylene	108-38-3
18	26.255	N,N-二甲基乙酰胺	N,N-Dimethylacetamide	127-19-5
19	33.175	N-甲基吡咯烷酮	N-Methylpyrrolidone	872-50-4

2.2 标准曲线

使用纯水配制溶剂残留混合标准系列，从 $1\mu\text{g/mL}$ 溶液中分别吸取 0.1、0.5、1、2 和 5 mL，用纯水定容到 10mL，转移到 20mL 顶空瓶中，加入 1g 氯化钠，得到浓度分别为 0.1、0.5、1.0、2.0、 $5.0\mu\text{g}$ 的混标系列溶液，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，制作标准曲线。因篇幅所限，部分溶剂组分标准曲线如下所示，各组分标准曲线相关系数如表 2 所示。



2.3 检出限及重现性

根据 $0.1\mu\text{g}$ 标准溶液数据，计算方法检出限（3 倍噪声计算）。各组分检出限见表 2，且面积重现性良好。

表 2. 各组分检出限及面积重现性 (n=5)

No.	化合物	相关系数	检出限 (ng/g)	%RSD	No.	化合物	相关系数	检出限 (ng/g)	%RSD
1	甲醇	0.9999	0.7	3.4	11	二氧六环	0.9999	1.0	4.39
2	乙腈	0.9998	0.4	4.65	12	吡啶	0.9993	0.6	7.31
3	二氯甲烷	0.9994	0.2	4.13	13	甲苯	0.9968	0.2	5.55
4	正己烷	0.9973	0.5	8.00	14	N,N-二甲基 甲酰胺	0.9982	3.0	3.60
5	四氢呋喃	0.9986	0.6	4.20	15	氯苯	0.9976	0.3	7.11
6	三氯甲烷	0.9985	0.3	4.55	16	对二甲苯	0.9975	0.7	8.32
7	环己烷	0.9992	0.5	1.03	17	间二甲苯	0.9970	0.3	7.52
8	四氯化碳	0.9996	1.0	5.42	18	N,N-二甲基 乙酰胺	0.9982	3.0	1.51
9	苯	0.9994	0.3	4.52	19	N-甲基吡咯 烷酮	0.9999	5.0	1.78
10	1,2-二氯乙 烷	0.9997	0.5	3.60					

2.4 回收率

将溶剂残留混标溶液分别添加到三个样品中（市售小儿氨酚烷胺颗粒，感冒灵颗粒，急支糖浆），按照样品前处理方法制备，样品中加标浓度分别为 0.5 μg 。回收率结果见表 3。

表 3. 样品测试结果及加标回收率

No.	化合物名称	小儿氨酚烷胺颗粒		感冒灵颗粒		急支糖浆	
		检测结果 ($\mu\text{g/g}$)	回收率%	检测结果 ($\mu\text{g/g}$)	回收率%	检测结果 ($\mu\text{g/g}$)	回收率%
1	甲醇	N.D	93.76	N.D	95.08	N.D	99.89
2	乙腈	N.D	81.88	N.D	89.32	N.D	77.36
3	二氯甲烷	N.D	93.70	N.D	86.49	N.D	87.81
4	正己烷	N.D	92.90	N.D	83.76	N.D	82.46
5	四氢呋喃	N.D	96.40	N.D	92.46	N.D	99.94
6	三氯甲烷	N.D	95.79	N.D	87.03	N.D	85.14
7	环己烷	N.D	90.27	N.D	98.73	N.D	87.70
8	四氯化碳	N.D	83.17	N.D	91.31	N.D	91.51
9	苯	N.D	83.15	N.D	87.62	N.D	81.29
10	1,2-二氯乙烷	N.D	89.02	N.D	87.39	N.D	85.67
11	二氧六环	N.D	68.36	N.D	94.23	N.D	87.35
12	吡啶	2.19	92.51	N.D	104.97	N.D	83.65
13	甲苯	N.D	93.15	N.D	87.24	N.D	84.07
14	N,N-二甲基甲酰胺	N.D	97.75	N.D	92.73	N.D	91.14
15	氯苯	N.D	100.97	N.D	86.03	N.D	85.34
16	对二甲苯	N.D	89.96	N.D	86.82	N.D	88.88
17	间二甲苯	N.D	86.88	N.D	85.96	N.D	84.11
18	N,N-二甲基乙酰胺	N.D	85.16	N.D	82.49	N.D	88.58
19	N-甲基吡咯烷酮	N.D	87.89	N.D	73.04	N.D	81.88

3 结论

采用岛津公司 HS-20 结合气相色谱质谱联用仪（GCMS-QP2010 Ultra）分析药品中的溶剂残留，方法操作简单，在 0.1~5 μg 标准曲线范围内线性良好，样品加标回收率为 75~102%。本方法可以用于药品中的溶剂残留定性定量检测。

顶空衍生+GCMS 测定药品中 3 种甲磺酸酯类基因毒性物质

摘要: 本文利用岛津 GCMS-QP2020 气质联用仪结合 HS-20 顶空自动进样器, 通过衍生化反应, 建立了药品中 3 种甲磺酸酯类基因毒性物质的分析方法。结果表明, 在 1~100 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内各组分线性良好, 相关系数均在 0.999 以上。加标浓度为 0.15 $\mu\text{g/g}$ 时, 平行试验 6 次, 各组分的回收率在 90.84~109.23%之间, 且重现性好, 能满足日常检测的要求。

关键词: HS-GCMS 衍生反应 甲基磺酸酯

近年来基因毒性杂质成为研究的焦点, 甲基磺酸酯类物质与微量的低级醇在合成反应中生成烷基磺酸如甲基磺酸甲酯(MMS)、甲基磺酸乙酯(EMS)、甲基磺酸异丙酯(IMS), 这些物质可与DNA发生烷基化反应, 从而可能成为引发癌症的诱因, 因此控制药物中该类杂质的毒理学关注阈值(TIC)水平非常重要, 欧洲医药评价署(EMA)发布了关于基因毒性杂质的最大摄取量为 1.5 $\mu\text{g/d}$ 。《欧洲药典》增补版7.3明确指出采用衍生化法检测药物中MMS、EMS、IMS。本文利用岛津的HS-20顶空自动进样器, 结合GCMS-QP2020气质联用仪, 建立了药品中3种甲磺酸酯类基因毒性物质的分析方法。

1 实验部分

1.1 仪器

岛津GCMS-QP2020

HS-20自动进样器

1.2 分析条件

HS-20条件:

进样模式: Trap mode

平衡温度: 80 $^{\circ}\text{C}$

定量环温度: 120 $^{\circ}\text{C}$

传输线温度: 130 $^{\circ}\text{C}$

捕集阱冷却温度: -20 $^{\circ}\text{C}$

捕集阱加热温度: 300 $^{\circ}\text{C}$

捕集阱待机温度: 80 $^{\circ}\text{C}$

平衡时间: 20min

进样时间: 0.5min

进样体积: 1 mL

GCMS 条件:

色谱柱: SH-Rtx-wax(60m \times 0.32mm \times 0.50 μm)

柱温程序: 40 $^{\circ}\text{C}$ (5min) _20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _200 $^{\circ}\text{C}$ (3min)

载气控制方式: 线速度

线速度: 40.2 cm/sec

进样方式: 分流, 分流比: 15:1

离子源温度: 230 $^{\circ}\text{C}$ (EI)

接口温度: 250 $^{\circ}\text{C}$

采集模式: SIM模式

1.3 标准溶液配制:

分别取MMS、EMS及IMS各30 mg溶于10 mL甲苯溶液中，取50 μ L该溶液置于25 mL容量瓶中，加入80%乙腈水溶液至刻度，作为标准储备液A。

精确称取60 g碘化钠和30 mg硫代硫酸钠溶于50 mL水中，作为衍生化试剂B。

将储备液A用80%乙腈水溶液逐级稀释至200、100、50、20、10、5、2 μ g/L的甲基磺酸酯溶液，定容至1 mL待用。各取以上0.5 mL甲基磺酸酯待用液和0.5 mL衍生化试剂B于20 mL顶空瓶中，待分析。

表1. 3种甲基磺酸酯衍生化产物的选择离子

No.	化合物	衍生产物	定量离子	定性离子
1	甲基磺酸甲酯(MMS)	碘甲烷	142	127,141
2	甲基磺酸乙酯(EMS)	碘乙烷	156	127,128
3	甲基磺酸异丙酯(IMS)	碘异丙烷	170	43,127

1.4 样品前处理:

精确称取某药品 50 mg，溶于 0.5 mL80%乙腈水溶液，加入 0.5 mL 衍生化试剂 B 于 20 mL 顶空瓶中，待分析。

2 结果与讨论

2.1 标准溶液色谱图

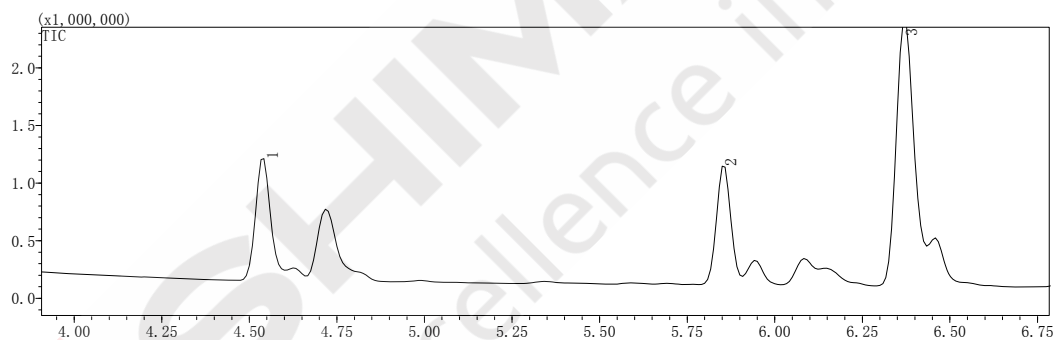


图 1. 3 种甲磺酸酯标准品衍生化产物的 TIC 图(5 mg/L)

表 2. 3 种衍生化产物的定性信息

No.	组分名称	CAS	保留时间(min)	峰面积	信噪比
1	碘甲烷	74-88-4	4.538	1932814	52255
2	碘乙烷	75-03-6	5.854	2090049	46470
3	碘异丙烷	75-30-9	6.372	3616325	33607

2.2 标准曲线

配制系列浓度为 1、2.5、5、10、25、50、100 μ g/L 的混合标准溶液，顶空进样，经 GCMS 分析，采用 SIM 方式采集数据。以浓度作为横坐标，峰面积作为纵坐标，绘制各组分的外标曲线如图 2 所示。

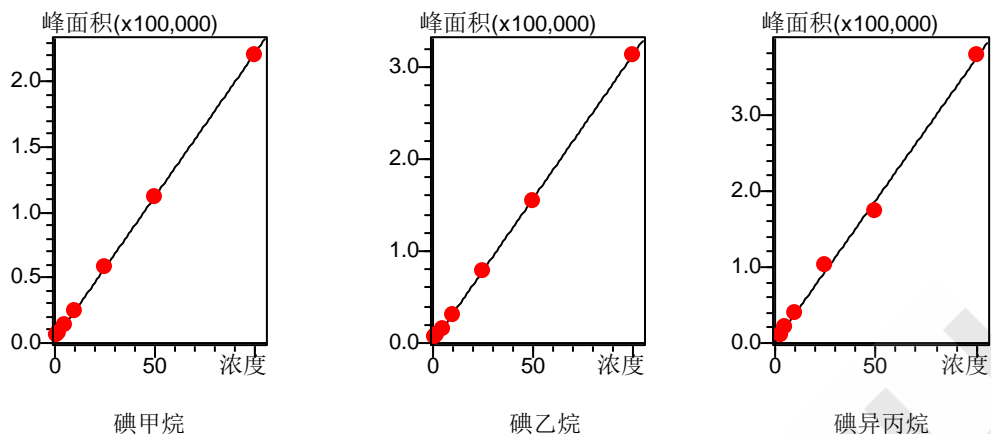


图 2. 目标组分标准曲线

根据 1 $\mu\text{g/L}$ 标准溶液数据, 计算方法检出限(3 倍信噪比计算), 检出限和标准曲线相关系数如下表 3 所示。

表 3. 3 种衍生产物相关系数及检出限

No.	组分名称	相关系数	S/N(1 $\mu\text{g/L}$)	检出限(ng/g)
1	碘甲烷	0.9999	357.71	0.16
2	碘乙烷	0.9998	315.00	0.20
3	碘异丙烷	0.9995	163.08	0.36

2.3 样品测试

选取某药品为测定对象, 按照 1.4 步骤进行样品前处理, 顶空进样, 经 GCMS 分析, 测定结果见表 4。

表 4. 样品测定结果

No.	组分名称	含量($\mu\text{g/g}$)
1	碘甲烷	N.D
2	碘乙烷	N.D
3	碘异丙烷	N.D

备注: N.D 为未检出。

2.4 回收率及 RSD

以上述药品为空白基质, 向其中添加 3 种甲基磺酸酯标准溶液进行回收率测试, 添加浓度为 0.15 $\mu\text{g/g}$, 按照 1.3 步骤进行处理, 平行试验 6 次, 加标回收率及 RSD 见表 5。

表 5. 样品加标回收率结果及 RSD

No.	组分名称	回收率(%)						平均值 (%)	RSD% (n=6)
		1	2	3	4	5	6		
1	碘甲烷	98.67	93.56	89.33	89.71	97.25	84.512	92.17	5.79
2	碘乙烷	103.94	110.37	106.99	109.79	114.42	109.88	109.23	3.22
3	碘异丙烷	93.00	89.55	86.58	91.70	92.22	91.97	90.84	2.63

3 结论

本文利用岛津 GCMS-QP2020 气质联用仪结合 HS-20 顶空自动进样器对药品中的 3 种甲基磺酸酯类基因毒性物质进行分析。在 1~100 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内标准曲线线性良好，方法检出限在 0.16~0.36 ng/g 范围(3 倍信噪比计算)，回收率在 90.84~109.23%之间。该方法准确、灵敏度高，满足检测需求。

GCMS法直接测定药品中8种甲磺酸酯类基因毒性物质

摘要：利用岛津 GCMS-QP2020 气质联用仪，建立了药品中八种磺酸酯类基因毒性物质的分析方法。结果表明，在 5~200 $\mu\text{g/L}$ 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 2.459 $\mu\text{g/L}$ 。对 20 $\mu\text{g/L}$ 的八种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 1.94%~4.44%。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 77.03~112.79%之间。该方法前处理简单、分析速度快、灵敏度高，满足气相色谱质谱法在基因毒物检测方面的需求。

关键词：气相色谱质谱法 磺酸酯 基因毒物

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，对于《欧洲药典》增补版7.3中采用顶空衍生化法检测药物中甲磺酸甲酯(MMS)、甲磺酸乙酯(EMS)、甲磺酸异丙酯(IMS)，甲磺酸酯基的存在可以使C-O键变得活泼，发生断裂后生成碳正离子而具有烷化作用。顶空衍生法操作简单，可以较好的排除复杂基质的干扰，但是如果药品中含有甲基、乙基、异丙基类物质，则该方法在衍生的过程中也可能有假阳性的衍生物产生，对测定造成干扰；本方法则提出了一种采用液体直接进样法分析药物中八种磺酸酯的气相色谱质谱法，该方法快速、有效，灵敏度能满足对微量基因毒物分析的需求。

1 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：Intercap 35(30m \times 0.25mm \times 0.25 μm)

进样方式：不分流

柱温程序：50 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)_15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _260 $^{\circ}\text{C}$ (5

进样时间：1min

min)

离子源温度：230 $^{\circ}\text{C}$ (EI)

载气控制方式：恒线速度

接口温度：280 $^{\circ}\text{C}$

线速度：47.2 cm/sec

采集模式：SIM 法(采集参数见表 1)

表 1. 八种磺酸酯类化合物的 SIM 参数

No.	组分	CAS 号	保留时间 (min)	定量离子	定性离子	定性离子
1	甲磺酸甲酯	66-27-3	5.050	80	79	65
2	甲磺酸乙酯	62-50-0	5.770	79	109	97
3	甲磺酸异丙酯	926-06-7	6.004	123	59	79
4	苯磺酸甲酯	80-18-2	10.494	77	141	172
5	苯磺酸乙酯	515-46-8	10.996	77	186	141
6	对甲苯磺酸甲	80-48-8	11.490	91	155	186
7	对甲苯磺酸乙	80-40-0	11.952	155	200	91
8	对甲苯磺酸异	2307-69-9	12.044	172	91	214

1.3 样品前处理:

称取可溶于有机溶液药品 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。

2 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。

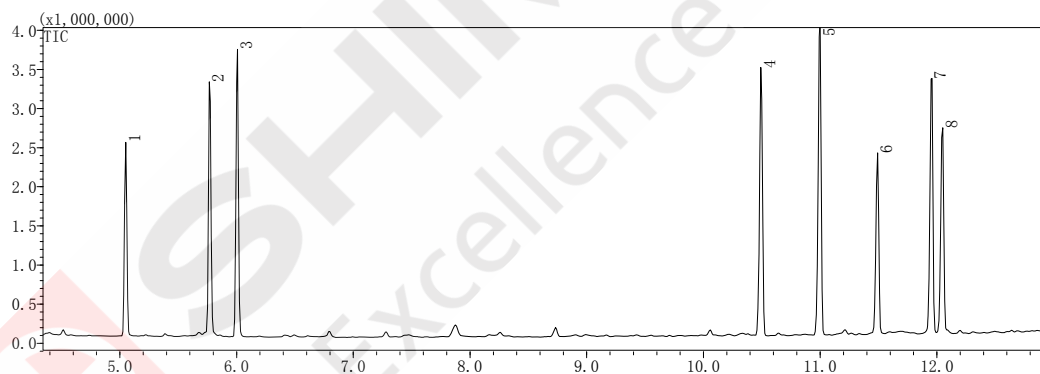
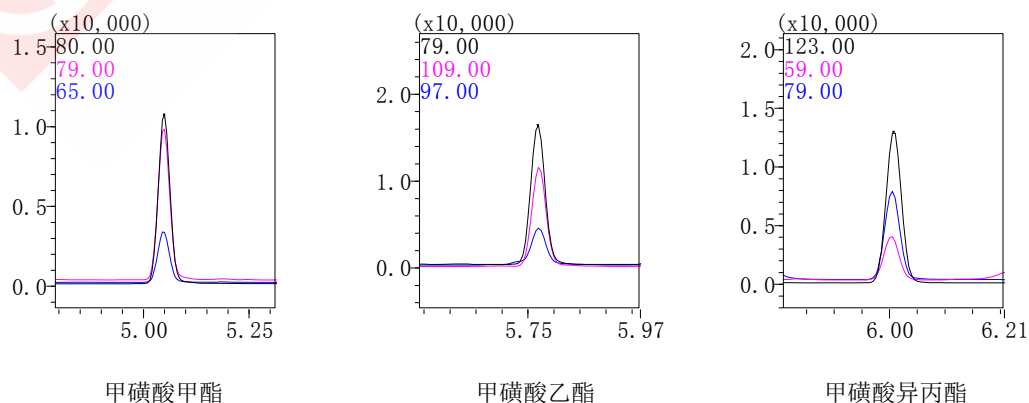


图 1. 八种磺酸酯标准品的 TIC 图(5 $\mu\text{g/mL}$)



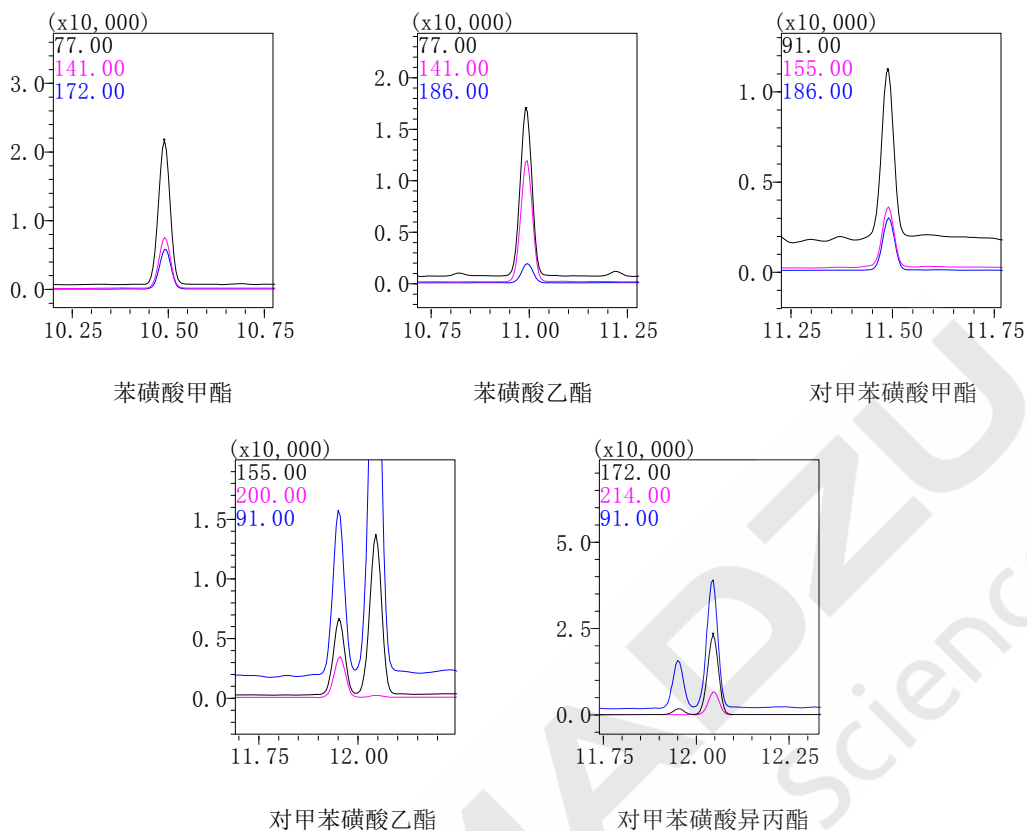
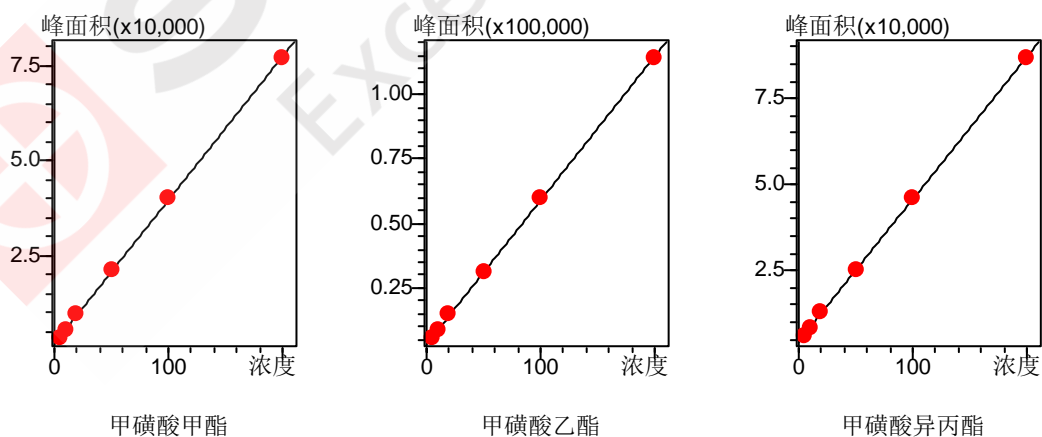


图 2. 八种磺酸酯标准品的 MC 图(50 µg/L)

2.2 标准曲线

各取0.05 g的八种磺酸酯单标加入到50 mL的容量瓶中，用乙酸乙酯定容得到1000 µg/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 µg/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，绘制八种磺酸酯的外标曲线如图 3 所示。



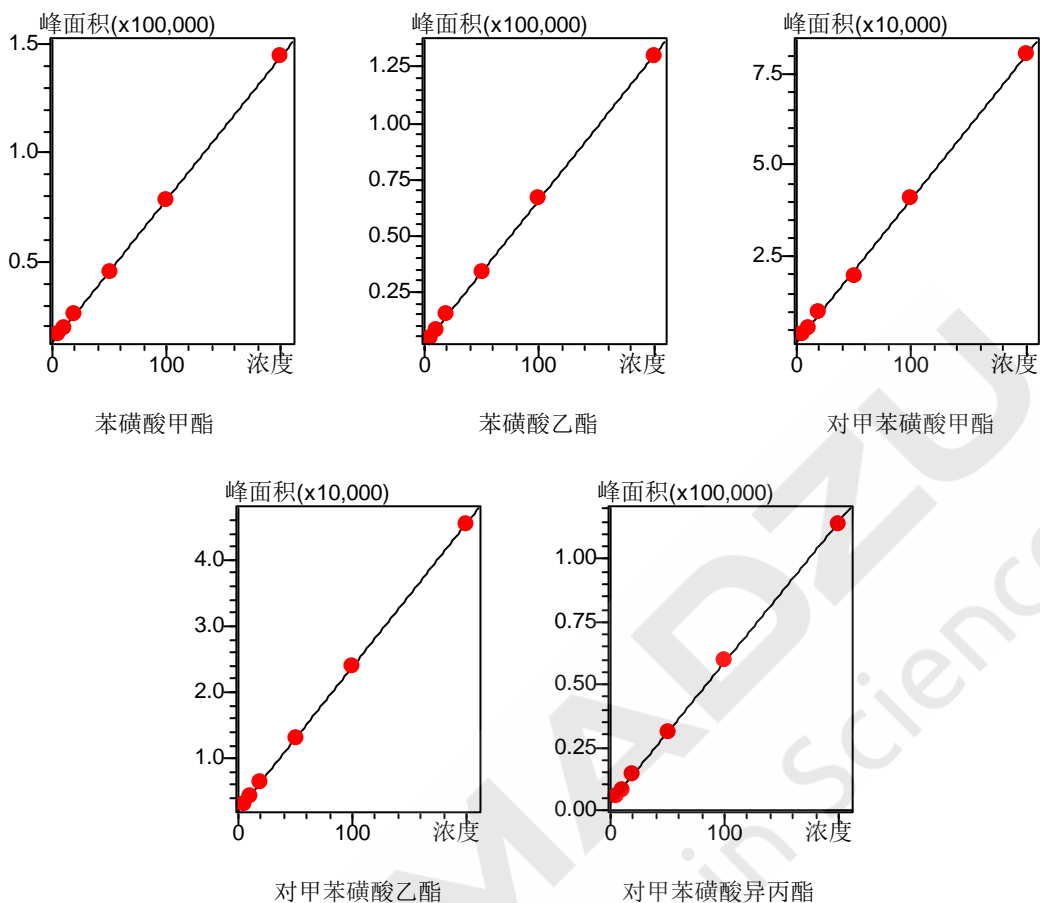


图 3. 八种磺酸酯的标准曲线

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. 八种磺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($\mu\text{g/L}$)	RSD%
1	甲磺酸甲酯	0.9999	0.135	3.04
2	甲磺酸乙酯	0.9999	0.142	1.94
3	甲磺酸异丙酯	0.9999	0.059	2.40
4	苯磺酸甲酯	0.9999	0.112	2.63
5	苯磺酸乙酯	0.9999	0.415	2.70
6	对甲苯磺酸甲酯	0.9997	2.459	2.75
7	对甲苯磺酸乙酯	0.9999	0.458	3.01
8	对甲苯磺酸异丙酯	0.9995	0.006	4.44

2.3 重复性结果

对 20 $\mu\text{g/L}$ 的标准样品，重复进样 6 次，各组分峰面积 RSD% 见上表 2。

2.4 样品测试结果及加标回收率

选取市售某种代表性药品，按 1.3 处理方法进行空白样品前处理。在进行加标回收试验时，称取该药品 0.05g，加入 50 μL 的 10 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液，制得含八种磷酸酯 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图 4 和表 3。

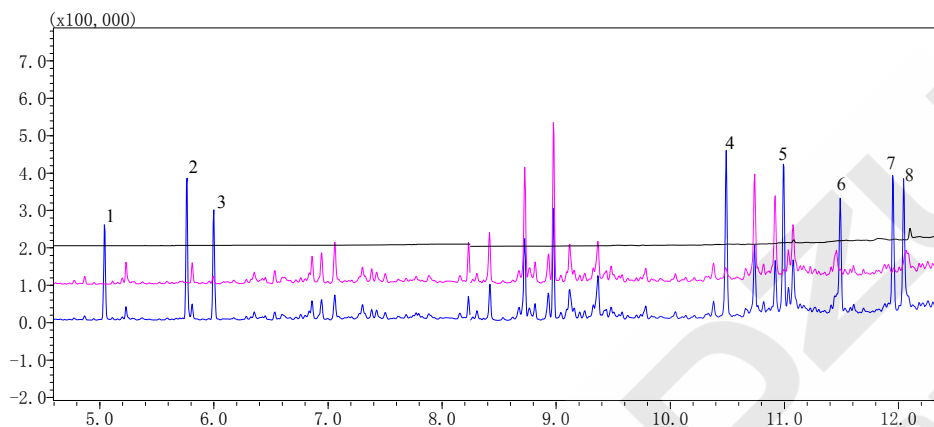


图 4. 空白、样品、样品加标浓度为 10.0 $\mu\text{g/g}$ 的对比图

(黑色：空白；粉色：样品；蓝色：样品加标)

表 3. 样品测试结果及加标回收率

No.	化合物名称	样品浓度 ($\mu\text{g/g}$)	加标浓度 10.0 $\mu\text{g/g}$	
			平均回收率 (%)	RSD%
1	甲磺酸甲酯	N.D	110.24	1.82
2	甲磺酸乙酯	N.D	112.79	0.86
3	甲磺酸异丙酯	N.D	98.59	2.69
4	苯磺酸甲酯	N.D	94.24	2.15
5	苯磺酸乙酯	N.D	77.03	0.80
6	对甲苯磺酸甲酯	N.D	98.55	1.36
7	对甲苯磺酸乙酯	N.D	86.82	1.15
8	对甲苯磺酸异丙酯	N.D	95.11	2.32

注：N.D 为未检出

3 结论

本文利用岛津 GCMS-QP2020 气质联用仪对药品中的八种磷酸酯类基因毒性进行分析。在 5~200 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内标准曲线线性良好，方法检出限均小于 2.459 $\mu\text{g/L}$ ，加标回收率在 77.03~112.79% 之间。该方法准确、稳定性好、灵敏度高，满足检测需求。

GC-MS/MS 法同时测定药品中八种磺酸酯类基因毒性杂质

摘要: 建立了气相色谱-串联质谱 (GC-MS/MS) 同时测定药品中八种磺酸酯类基因毒性物质的分析方法。结果表明: 在 1~200 $\mu\text{g/L}$ 的范围内, 各组分线性相关系数 r 均在 0.9993 以上。对 10 $\mu\text{g/L}$ 的磺酸酯类标准溶液进行重复性实验, 各组分峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 均在 5% 在以下, 在 1.0 和 10.0 $\mu\text{g/g}$ 的加标水平下, 各组分的加标回收率分别在 74.21%~81.72% 和 88.33%~101.60% 之间。此方法可为药品中磺酸酯类物质检测提供参考。

关键词: GC-MS/MS 磺酸酯 基因毒性杂质

近几年, 基因毒性杂质成为人们关注的焦点, 甲磺酸、苯甲磺酸等磺酸类物质与微量的低级醇在合成反应中生成烷基磺酸酯如甲磺酸甲酯 (MMS)、甲磺酸乙酯 (EMS)、以及一些芳基磺酸酯。这些物质可与 DNA 发生烷基化反应, 从而可能成为引发癌症的诱因, 因此控制药物中该类杂质的含量显得尤为重要。

传统的检测方法有顶空衍生法和直接进样法。顶空衍生法操作简单, 可以较好的排除复杂基质的干扰, 但是顶空衍生的过程中也可能有假阳性的衍生物产生, 对测定造成干扰; 传统的直接进样 (GC-FID) 方法不稳定, 容易引进污染物, 重现性较差, 干扰测定。相比而言, GCMS 联用技术应用较为普遍, 可以较好地应用于磺酸酯类杂质的检测, 但有些药品往往基质较为复杂, 对样品的测定也会有较大的干扰, 本文采用岛津 GCMS-TQ8040 三重四级杆气质联用仪, 建立了一种同时测定药品中八种磺酸酯类方法, 该方法处理简单, 化学干扰小, 灵敏度高。

1 实验部分

1.1 仪器

三重四极杆气质联用仪: GCMS-TQ8040

1.2 分析条件

色谱柱: Intercap 35, (30m \times 0.25mm \times 0.25 μm)

进样口温度: 260 $^{\circ}\text{C}$

柱温程序: 50 $^{\circ}\text{C}$ (1min) 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 260 $^{\circ}\text{C}$ (1min)

载气控制方式: 恒线速度 (47.2 cm/sec)

进样方式: 不分流进样 (1min)

离子源温度: 230 $^{\circ}\text{C}$

接口温度: 280 $^{\circ}\text{C}$

检测器电压: 调谐电压 +0.4kV

采集方式: MRM (采集参数见表 1)

表 1 八种磺酸酯类化合物的 MRM 参数

No	中文名称	CAS 号	定量 离子对	CE	定性 离子对 1	CE	定性 离子对 2	CE
1	甲磺酸甲酯	66-27-3	80.00>65.00	9	109.00>79.00	6	80.00>63.00	21
2	甲磺酸乙酯	62-50-0	109.00>79.00	6	109.00>79.00	3	97.00>79.000	12
3	甲磺酸异丙酯	926-06-7	123.00>79.00	9	123.00>59.00	3	97.00>79.00	9
4	苯磺酸甲酯	80-18-2	77.00>51.00	15	141.00>77.00	9	172.00>77.00	27
5	苯磺酸乙酯	515-46-8	141.00>77.00	9	77.00>51.00	15	141.00>95.00	6
6	对甲苯磺酸甲酯	80-48-8	91.00>65.00	12	155.00>91.00	15	186.00>91.00	18
7	对甲苯磺酸乙酯	80-40-0	155.00>91.00	15	91.00>65.00	12	200.00>91.00	27
8	对甲苯磺酸异丙酯	2307-69-9	91.00>65.00	15	155.00>91.00	155	172.00>107.00	15

1.3 样品前处理

可溶于有机溶液药品：称取药品粉末0.05g于试管中，准确加入2ml乙酸乙酯，充分振荡，超声提取20min。水溶性药品：称取药品粉末0.05g于试管中，准确加入2ml甲醇：水（体积比为5:1）充分振荡，超声提取10min，再以2ml乙酸乙酯充分超声提取，过无水硫酸钠，将以上处理液，过滤膜，上机分析。

2. 结果讨论

2.1 标准样品的 MRM 图谱

混标溶液（100 μg/L）MRM图谱见图1，MRM质量色谱图如图2所示。

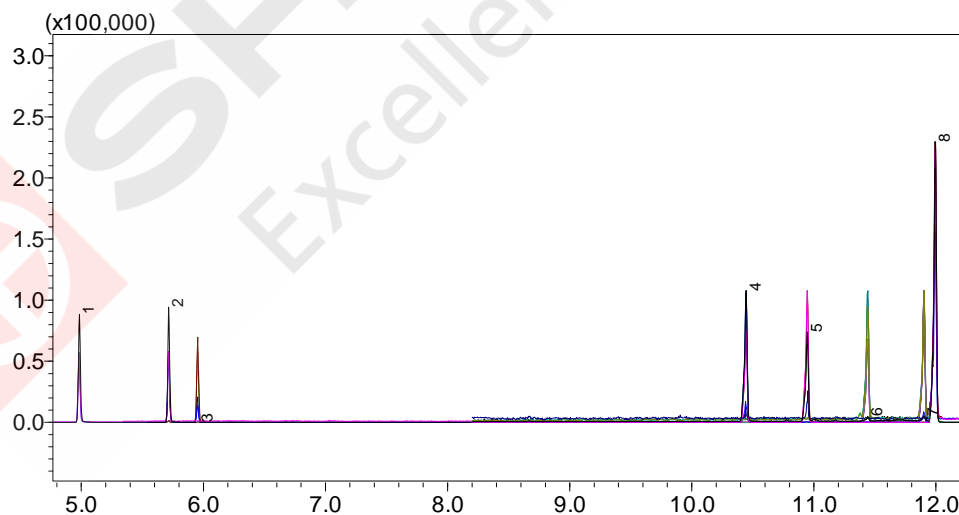


图1 混合标准溶液MRM图（100 μg/L）

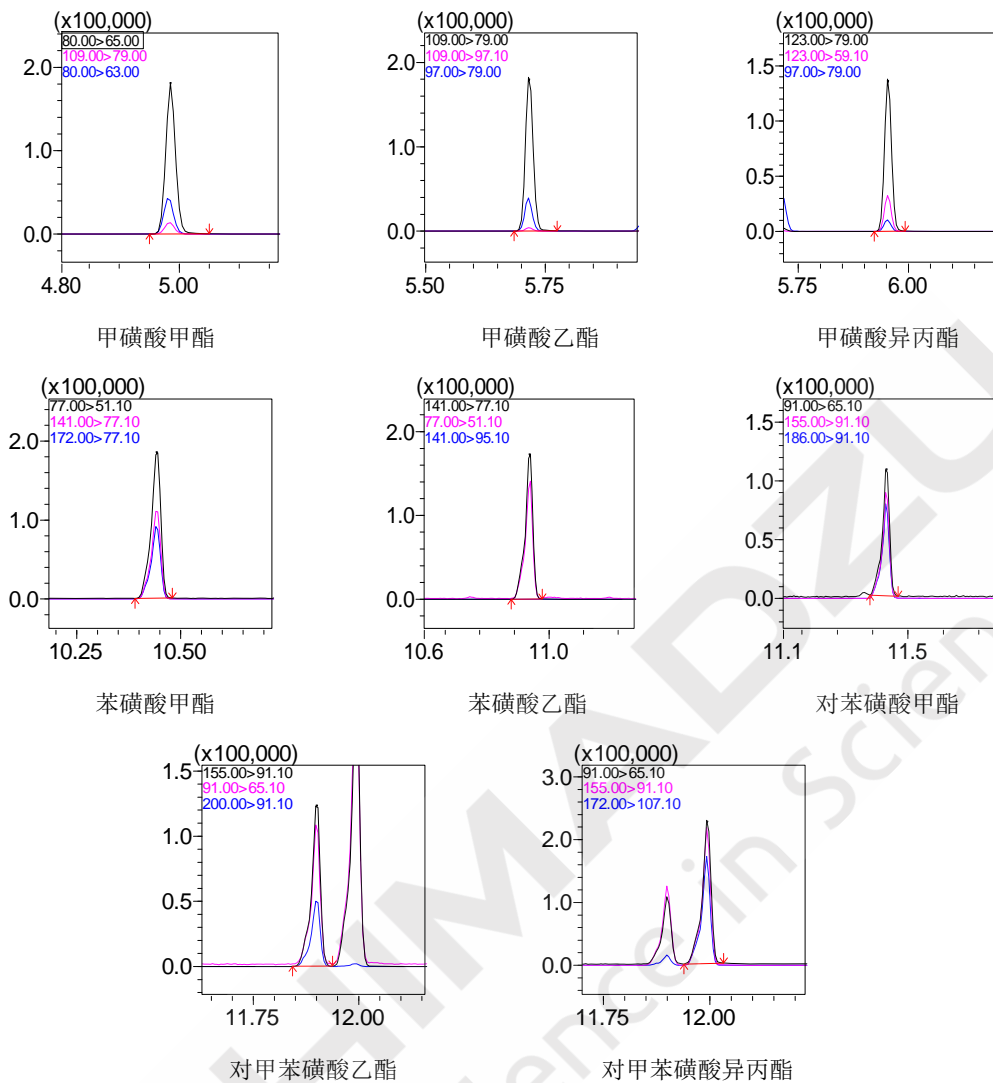
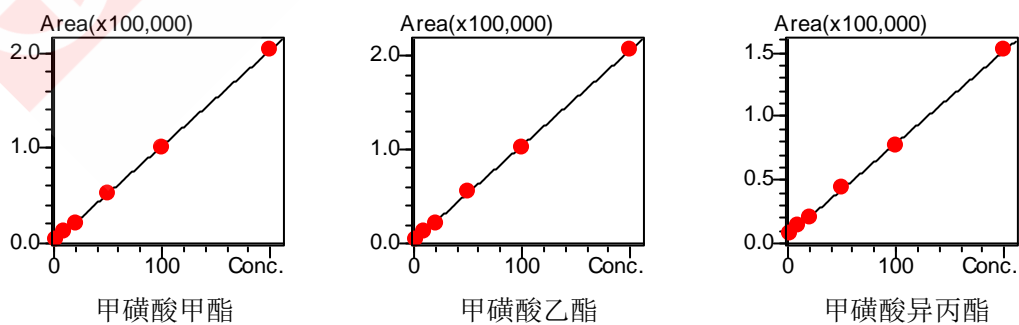


图2 混合标液MRM质量色谱图

2.2 标准曲线与检出限

配制八种磷酸酯类标准溶液混合标液，八种化合物目标组分浓度为1、10、20、50、100、200 $\mu\text{g/L}$ ，以目标组分浓度为横坐标，目标组分峰面积纵坐标，绘制标准曲线，线性相关系数和检出限见表2，由于篇幅有限，仅列出部分化合物标准曲线。



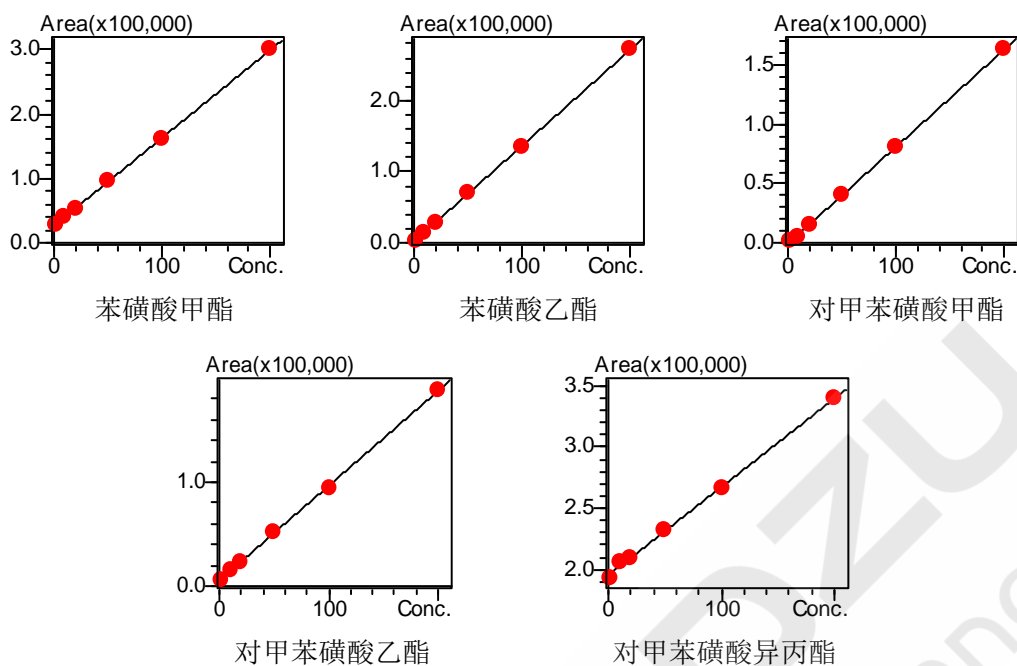


图2 八种磺酸酯化合物标准曲线

表2 八种磺酸酯化合物线性相关系数和检出限

No.	化合物名称	相关系数 R	检出限 (μg/L)
1	甲磺酸甲酯	0.9999	0.02
2	甲磺酸乙酯	0.9999	0.02
3	甲磺酸异丙酯	0.9998	0.04
4	苯磺酸甲酯	0.9998	0.51
5	苯磺酸乙酯	0.9999	0.05
6	对甲苯磺酸甲酯	0.9999	4.58
7	对甲苯磺酸乙酯	0.9998	0.05
8	对甲苯磺酸异丙酯	0.9993	0.13

2.3 重复性结果

对10μg/L的标准样品，重复进样6次，各组分峰面积及RSD%见表3。

表3 重复性实验结果 (n=6)

No.	化合物	峰面积						峰面积 RSD%
		1	2	3	4	5	6	
1	甲磺酸甲酯	10311	10905	10554	10739	10998	11149	2.85
2	甲磺酸乙酯	11051	11558	11443	11702	11887	11921	2.79
3	甲磺酸异丙酯	11648	11598	11141	11060	11661	12106	4.57
4	苯磺酸甲酯	32364	34419	31846	33204	32478	32706	2.72
5	苯磺酸乙酯	10475	10685	10996	10811	11308	11490	3.50
6	对甲苯磺酸甲酯	4768	4841	4967	4873	4644	4565	3.13
7	对甲苯磺酸乙酯	9903	10238	10972	10492	10879	10341	3.84
8	对甲苯磺酸异丙酯	101566	108335	102831	104506	108168	109131	2.35

2.4 样品测试结果及回收率

选取市售某品牌药品，按 1.3 处理方法进行样品前处理和上机测定，并在样品空白中添加混标，加标浓度为 1.0 $\mu\text{g/g}$ 和 10.0 $\mu\text{g/g}$ ，各自平行处理 3 份，样品测定结果以及加标回收率结果见表 4。

表 4 样品测试结果及加标回收率

No.	化合物名称	样品浓度 ($\mu\text{g/g}$)	加标浓度 1.0 $\mu\text{g/g}$		加标浓度 10.0 $\mu\text{g/g}$	
			平均回收率 (%)	RSD%	平均回收率 (%)	RSD%
1	甲磺酸甲酯	N.D	81.72	3.16	99.14	1.81
2	甲磺酸乙酯	N.D	80.05	3.02	101.60	1.63
3	甲磺酸异丙酯	N.D	74.21	1.47	99.25	1.32
4	苯磺酸甲酯	N.D	74.99	3.65	88.33	0.33
5	苯磺酸乙酯	N.D	74.78	3.53	93.58	1.73
6	对甲苯磺酸甲酯	N.D	78.93	3.30	93.00	2.39
7	对甲苯磺酸乙酯	N.D	74.09	1.64	96.24	0.90
8	对甲苯磺酸异丙酯	N.D	79.72	1.16	88.97	1.81

注：N.D 为未检出

3 结论

采用岛津公司三重四极杆气相色谱质谱联用仪 (GCMS-TQ8040) 分析药品中的磺酸酯类基因毒性杂质，在 1~200 $\mu\text{g/L}$ 标准曲线范围内，相关系数 R 均在 0.999 以上，连续进样 6 次各组分峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 均在 5% 在以下，在 1.0 $\mu\text{g/g}$ 和 10.0 $\mu\text{g/g}$ 的加标水平下，各组分的加标回收率分别在 74.21%~81.72% 和 88.33%~101.60% 之间，此方法操作简单，灵敏度高，可为药品中磺酸酯类物质检测提供参考。

GC 结合 HS-20 Trap 顶空进样器测定药品中微量环氧氯丙烷残留

摘要： 本文利用岛津公司 GC-2010 Plus 气相色谱仪结合 HS-20 Trap 型顶空自动进样器的捕集进样模式，建立了药品中微量环氧氯丙烷残留的测定方法。在标准曲线浓度范围内组分线性关系良好，相关系数 r 为 0.9999；峰面积重复性良好，RSD 为 1.30%。该方法可用于药品中环氧氯丙烷残留的快速定性定量测定。

关键词： 顶空自动进样器 气相色谱仪 药品 环氧氯丙烷

环氧氯丙烷（ECH）别名表氯醇，是一种易挥发的无色油状液体，有类似氯仿气味，主要用于生产环氧树脂等精细化工产品，也可用于药物合成中间溶剂、纸张湿强剂、电镀光亮剂等。其摄取、吸入及皮肤吸收均有毒，且刺激性强烈，动物实验证明有潜在致癌作用。

目前，对药品中溶剂残留的控制已受到越来越多的重视。根据某药业有限公司内部指标，其用顶空法的限量值为 $5\mu\text{g/mL}$ 。

2010版药典中提供的药品中溶剂残留的检测方法为顶空进样和溶液直接进样。本文建立了一种利用捕集顶空进样模式测定药品中微量溶剂残留含量的方法。岛津公司新推出的 HS-20 Trap 型顶空进样器具有两种不同的进样模式，即静态顶空模式（Loop mode）和捕集顶空模式（Trap mode）。捕集顶空模式是利用电子制冷的捕集阱，将经平衡后顶空瓶上部全部挥发性组分进行多次富集浓缩，然后捕集阱快速升温后实现瞬间进样，从而得到比静态顶空模式更高的灵敏度，实现更低含量组分测定。本方法操作简单，灵敏度更高，适合于药品中极微量溶剂残留的检测。

1 实验部分

1.1 仪器

HS-20 Trap 顶空自动进样器（岛津公司）

GC-2010 Plus 气相色谱仪

1.2 分析条件

HS-20 条件（Loop 模式）：

(2min)

顶空瓶平衡温度：105℃

载气控制方式：恒线速度（35.0 cm/sec）

定量环温度：115℃，传输线温度：120℃

进样方式：分流进样，分流比 5:1

平衡时间：30min，进样时间：1min

FID 温度：250℃

色谱条件：

HS-20 条件（Trap 模式）：

色谱柱：Rtx-624，60m×0.32mm×1.8 μm

顶空瓶平衡温度：105℃

柱温程序：40℃(10min)_15℃/min_200℃

定量环温度：115℃，传输线温度：120℃

平衡时间: 30min, 进样时间: 1min (10min)
 Trap 次数: 2 次 载气控制方式: 恒线速度 (35.0 cm/sec)
 色谱条件: 进样方式: 分流进样, 分流比 10:1
 色谱柱: Rtx-624, 60m×0.32mm×1.8μm FID 温度: 250℃
 柱温程序: 40℃(10min)_10℃/min_200℃

1.3 样品前处理

精密称取 0.2g 药品样品, 加入 5mL DMSO 后密封, 待测。

2 结果讨论

2.1 标准谱图

环氧氯丙烷标准谱图 (Loop mode) 如图 1 所示。

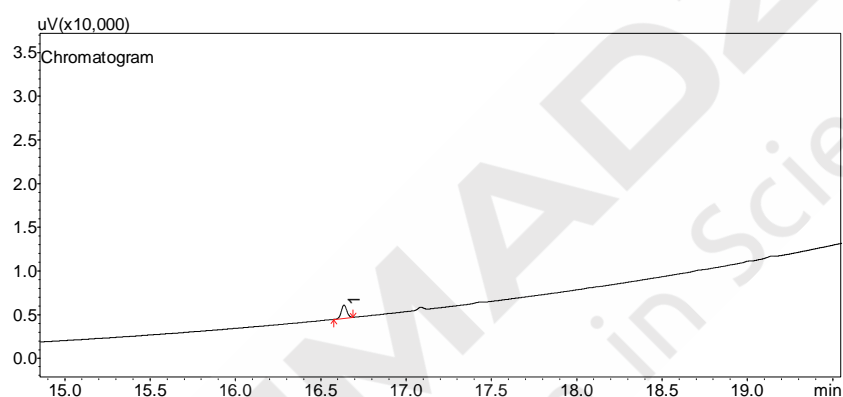


图 1. 环氧氯丙烷标准溶液色谱图 (0.2μg/mL)

表 1. 环氧氯丙烷组分保留时间

No.	保留时间 (min)	化合物	英文名称	CAS#	峰面积
1	16.636	环氧氯丙烷	ECH	106-89-8	3385

环氧氯丙烷标准谱图 (Trap mode) 如图 2 所示。

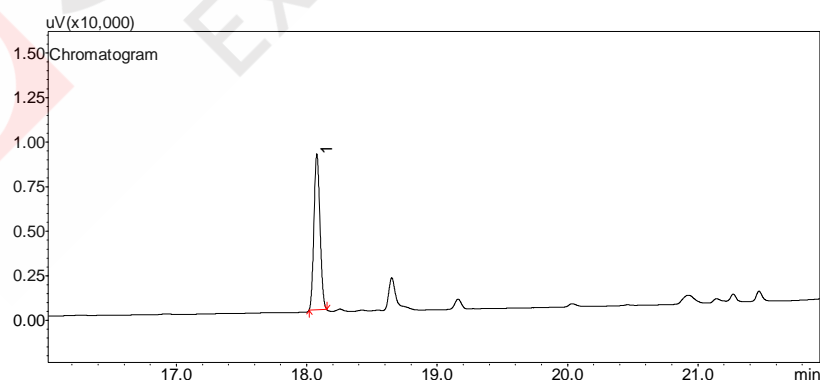


图 2. 环氧氯丙烷标准溶液色谱图 (0.2μg/mL)

表 2. 环氧氯丙烷组分保留时间

No.	保留时间 (min)	化合物	英文名称	CAS#	峰面积
1	18.077	环氧氯丙烷	ECH	106-89-8	28163

2.2 标准曲线 (Trap mode)

使用 DMSO 配制环氧氯丙烷标准系列，浓度分别为 0.2、1.0、2.0、10.0、20.0 $\mu\text{g/mL}$ ，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，制作标准曲线，如下图 3 所示。

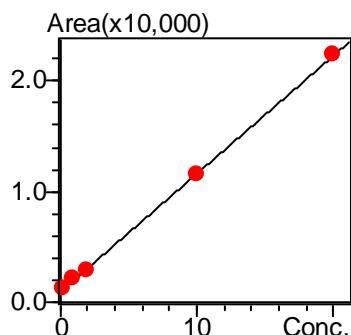


图 3. 标准曲线

表 3. 组分相关系数及检出限

No.	名称	相关系数	检出限 ($\mu\text{g/mL}$)
1	环氧氯丙烷	0.9999	0.097

2.3 重复性测试 (Trap mode)

0.2 $\mu\text{g/L}$ 环氧氯丙烷标准溶液连续进样 5 针，计算峰面积 RSD% 以考察仪器重复性，结果如表 4 所示。

表 4. 各组分检出限及面积重复性 (n=5)

No.	峰面积 1	峰面积 2	峰面积 3	峰面积 4	峰面积 5	RSD%
1	28163	28082	27580	28127	28612	1.30

2.4 样品测试结果

将环氧氯丙烷标准溶液添加到药品样品中，按照样品前处理方法制备，样品中加标浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 。样品加标回收率结果见表 5。

表 5. 样品测试结果及加标回收率

No.	化合物名称	药品		
		检测结果 ($\mu\text{g/g}$)	回收率%	RSD% (n=3)
1	环氧氯丙烷	1.3	99.57	1.87

3 结论

采用岛津公司气相色谱仪 (GC-2010 Plus) 结合 HS-20 Trap 顶空进样器分析药品中微量环氧氯丙烷，比较顶空进样器的两种进样模式下的灵敏度，采用捕集模式 (Trap mode) 进样具有比静态顶空模式 (Loop mode) 更高的灵敏度。方法操作简单，在 0.2~20.0 $\mu\text{g/mL}$ 标准曲线范围内线性良好，样品加标回收率为 99.57%。本方法可以用于药品中微量环氧氯丙烷的定性定量检测。

顶空-GCMS 法测定药物中水合肼含量

摘要：本文采用岛津的 HS-20 顶空自动进样器与 GCMS-QP2020 气质联用仪，建立了药物中水合肼的分析方法。在 0.01 $\mu\text{g/mL}$ ~0.2 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性良好，相关系数为 0.9991。0.02 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液连续测定 5 次，峰面积 RSD 为 1.97%。样品高低浓度加标回收率为 78.2%~118.3%，能满足日常检测的要求。

关键词：GCMS 顶空 水合肼

肼是一种无色发烟的、具有腐蚀性和强还原性的液体化合物。一般用作制药原料，如合成氨基脲、异烟肼、呋喃西林、百生肼等。肼的水合物称为水合肼($\text{N}_2\text{H}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$)，是塑料、橡胶发泡剂的原料，是异烟肼等药物的原料。肼在药物中一般以水合肼形式存在。

肼极毒。对眼睛有刺激作用，能引起延迟性发炎，对皮肤和粘膜也有强烈的腐蚀作用。欧洲药典和美国药典中列出了部分以肼作为原料的药物中肼的允许限值，肼的允许限值从 1 ppm 到 1000 ppm，对检测方法的灵敏度要求有一定差异。在药物溶剂残留检测研究中，建立一种快速、简便、高灵敏的检测方法来监测药物生产过程中肼的残留量显得愈加紧迫。

目前对水合肼的分析方法有高效液相色谱法、流动注射化学发光分析法、荧光法等。气相色谱对水合肼分析一般采用直接和衍生化法。本文用乙酸丙酮作为萃取剂和衍生化试剂，利用岛津 HS-20 顶空进样器与 GCMS-QP2020 气质联用仪，采用超声萃取的方法，对药物中残留的水合肼进行了分析，在萃取的同时完成了衍生，灵敏度高，选择性好，样品前处理简单。

1 实验部分

1.1 仪器

HS-20顶空自动进样器

岛津GCMS-QP2020气质联用仪

1.2 分析条件

HS-20条件：

顶空瓶平衡温度：80℃

平衡时间：15 min

进样时间：0.5 min

进样量：1.0 mL

GCMS条件：

色谱柱：SH-Rtx-wax (30 m \times 0.25mm \times 0.25 μm)

柱温程序：40℃(5 min)_15℃/min_220℃
(1 min)

载气线速度：36.1 cm/sec

进样方式：分流，分流比：10:1

离子源温度：230℃

色谱质谱接口温度：250℃

采集模式：SIM 模式，选择离子：56、97、112。

1.3 样品前处理

样品磨细，准确称取 0.01 g 样品于 20 mL 顶空瓶中，加入 100 μL 乙酸丙酮 (V: V=1: 10)，静置，待样品充分溶解，再加入 4.90 mL 饱和氯化钠水溶液，超声 15 min。样品冷却后加入 25 μL 50%NaOH 水溶液，混匀，顶空进样，经 GCMS 分析。

2. 结果讨论

2.1 标准色谱图

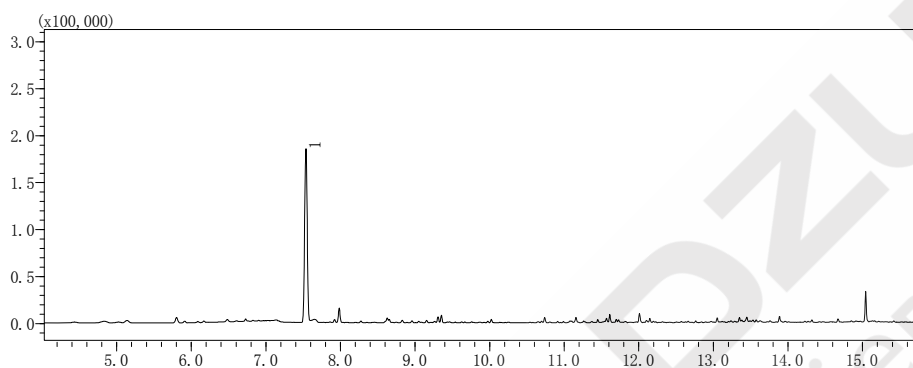


图 1 标准溶液色谱图 (0.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

表 1. 水合肼保留时间及选择离子

No.	中文名称	保留时间(min)	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)
1	水合肼	7.540	112	56、97

2.2 标准曲线

使用 (V: V/1: 10) 乙酸丙酮配制 10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 水合肼标准使用液，超声 15 min。分别取适量超声后的 10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 水合肼标准使用液，采用饱和氯化钠溶液定容至 5.0 mL，配制成浓度为 0.01、0.02、0.04、0.1 和 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准溶液系列，加入 25 μL 50%NaOH 水溶液，加盖密封，混匀，顶空进样，经 GCMS 分析。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线如图 2 所示。以 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准溶液数据，按照 3 倍的信噪比计算方法的检出限，检出限和标准曲线相关系数如表 2 所示。

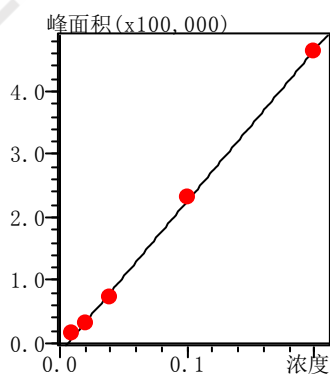


图 2 水合肼标准曲线

表2 水合肼标准曲线相关系数及检出限

No.	化合物名称	相关系数	检出限($\mu\text{g/g}$)
1	水合肼	0.9991	0.2

2.3 重复性结果

浓度为 $0.02 \mu\text{g/mL}$ 的标准溶液连续进样 5 次, 考察仪器重复性, 峰面积及 RSD % 见表 3。

表3. 峰面积重复性结果(n=5)

No.	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	RSD(%)
1	水合肼	30616	29822	30070	29126	29366	1.97

2.4 样品测试及回收率

按照 1.3 步骤进行样品处理, 顶空进样, 经 GCMS 分析 1 个脂溶性药品和 1 个水溶性药品。样品谱图见图 3、图 4, 测定结果见表 4、表 5。

在脂溶性药品和水溶性药品中分别添加标准溶液进行回收率测试, 添加浓度分别为 $5 \mu\text{g/g}$ 和 $50 \mu\text{g/g}$, 按照 1.3 步骤进行前处理, 每个添加浓度平行测试 3 次, 回收率见表 4、表 5。

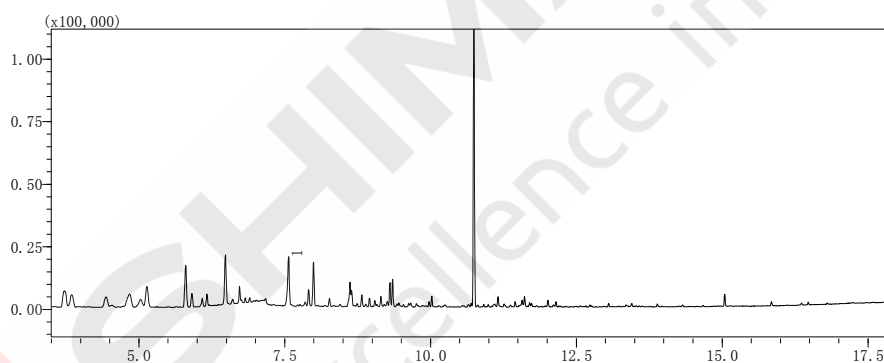


图3 脂溶性药品色谱图

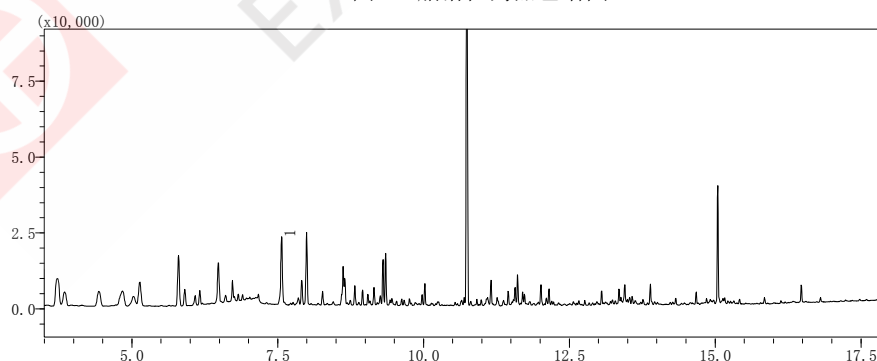


图4 水溶性药品色谱图

表4 脂溶性样品测定结果及回收率

化合物	检测结果		加标浓度 5.0 $\mu\text{g/g}$			加标浓度 50 $\mu\text{g/g}$			
	($\mu\text{g/g}$)	回收率 1	回收率 2	回收率 3	RSD% (n=3)	回收率 1	回收率 2	回收率 3	RSD% (n=3)
水合肼	3.22	79.6	78.2	87.4	6.07	96.6	99.3	99.6	1.68

表5 水溶性样品测定结果及回收率

化合物	检测结果		加标浓度 5.0 $\mu\text{g/g}$			加标浓度 50 $\mu\text{g/g}$			
	($\mu\text{g/g}$)	回收率 1	回收率 2	回收率 3	RSD% (n=3)	回收率 1	回收率 2	回收率 3	RSD% (n=3)
水合肼	3.15	88.6	90.1	88	1.22	117.6	118.3	117.8	0.29

3. 结论

本文利用岛津的 HS-20 顶空自动进样器与 GCMS-QP2020 气质联用仪对药品中水合肼进行分析。在 0.01~0.2 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内标准曲线线性良好，方法检出限为 0.2 $\mu\text{g/g}$ (3 倍信噪比计算)，回收率为 78.2~118.3%。方法适用于药物中水合肼含量的测定。

GC-MS/MS 法测定药品中 8 种挥发性亚硝胺

摘要：建立了三重四极杆气质联用仪 GC-MS/MS 同时检测药品中 8 种挥发性亚硝胺的分析方法。在 10~200 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内，8 种挥发性亚硝胺组分相关系数均在 0.999 以上，在药品中添加 2 $\mu\text{g/g}$ 亚硝胺混合标准溶液，各种分回收率在 67.0~99.7%之间。此方法可为药品中挥发性亚硝胺的检测提供参考。

关键词：GC-MS/MS 药品 挥发性亚硝胺

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。近年来，已上市药品中发现痕量的基因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。

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，其中苯并芘、黄曲霉毒素、偶氮苯类、N-亚硝胺等物质属于高基因毒性物质。

本实验采用岛津 GCMS-TQ8050 三重四级杆气质联用仪，建立了一种测定药品中 8 种挥发性亚硝胺的方法，该方法处理简单、灵敏度高。可以为药品中挥发性亚硝胺的检测提供参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

三重四极杆气质联用仪：GCMS-TQ8050（岛津公司）

1.2 分析条件

色谱柱：SH-Rtx-Wax 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm

柱温程序：50 $^{\circ}\text{C}$ (2 min) _6 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _130 $^{\circ}\text{C}$ _30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _220 $^{\circ}\text{C}$ _5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _230 $^{\circ}\text{C}$ (10 min)

进样口温度：240 $^{\circ}\text{C}$

柱流量：2 mL/min

进样方式：不分流进样（1 min）

高压进样：250 kPa（1 min）

进样量：1 μL

离子源：200 $^{\circ}\text{C}$

色谱质谱接口温度：240 $^{\circ}\text{C}$

检测器电压：调谐电压+0.6 kV

采集方式：多反应监测模式（MRM）

MRM 采集条件见表 1。

2. 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。

3. 结果与讨论

3.1 标准样品色谱图

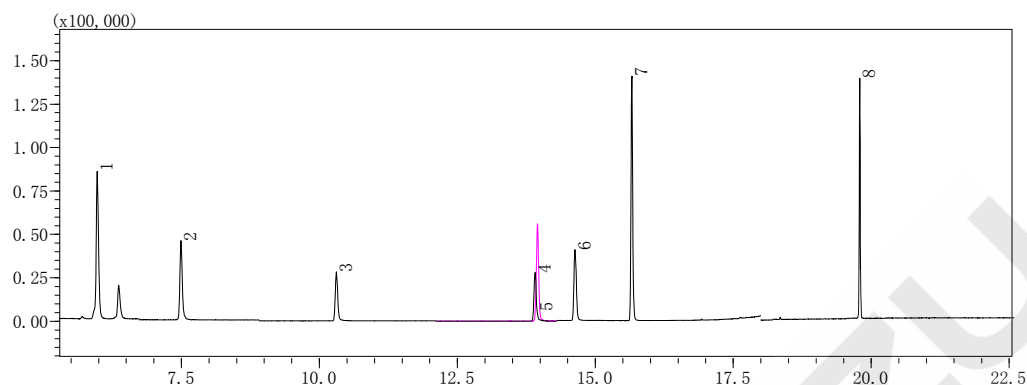


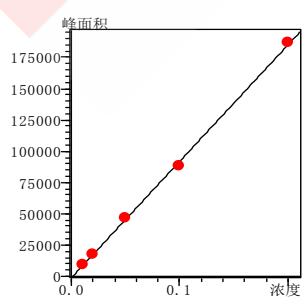
图1 标样 MRM 色谱图 (200 µg/L)

表 1 挥发性亚硝胺保留时间及 MRM 参数

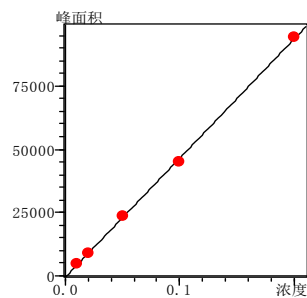
No.	中文名称	英文简称	CAS 号	保留时间 (min)	定量离子对	CE	定性离子对	CE
1	N-亚硝基二甲胺	NDMA	62-75-9	5.826	74>44	21	74>42	7
2	N-亚硝基二乙胺	NDEA	55-18-5	7.398	102>85	5	102>57	13
3	N-亚硝基二丙基胺	NDPA	621-64-7	10.276	130>113	5	130>88	5
4	N-亚硝基二丁基胺	NDBA	924-16-3	13.911	158>99	9	158>141	5
5	N-亚硝基哌啶	NPIP	100-75-4	13.952	114>84	9	114>55	20
6	N-亚硝基吡咯烷	NPIR	930-55-2	14.638	100>55	10	100>68	9
7	N-亚硝基吗啉	NMOR	59-89-2	15.669	116>86	5	116>56	12
8	N-亚硝基二苯基胺	NDPhA	86-30-6	19.797	169>66	23	169>115	30

3.2 标准曲线

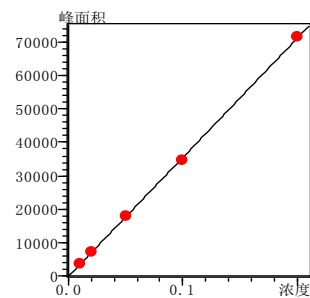
用甲醇/乙酸乙酯 (1:1) 溶液, 分别配制系列浓度为 10、20、50、100、200 µg/L 的亚硝胺混合标准溶液, 绘制标准曲线, 标准曲线和 MRM 质量色谱图 (10 µg/L) 如图 3 所示。检出限按照 3 倍的峰峰比计算。8 种挥发性亚硝胺组分标准曲线方程、相关系数、最低检出限 (LOD) 见表 2。



N-亚硝基二甲胺



N-亚硝基二乙胺



N-亚硝基二丙基胺

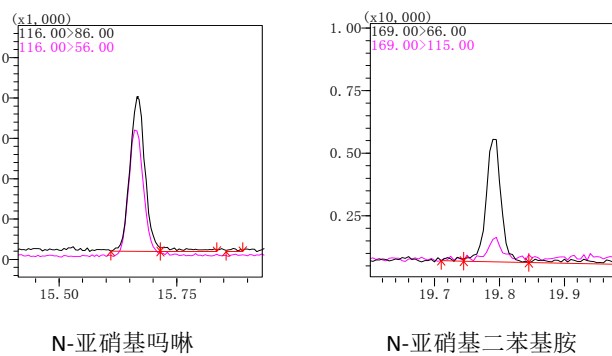
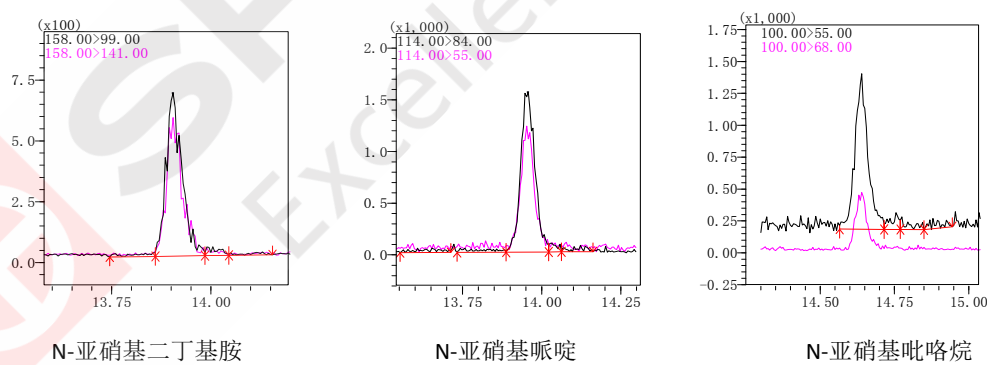
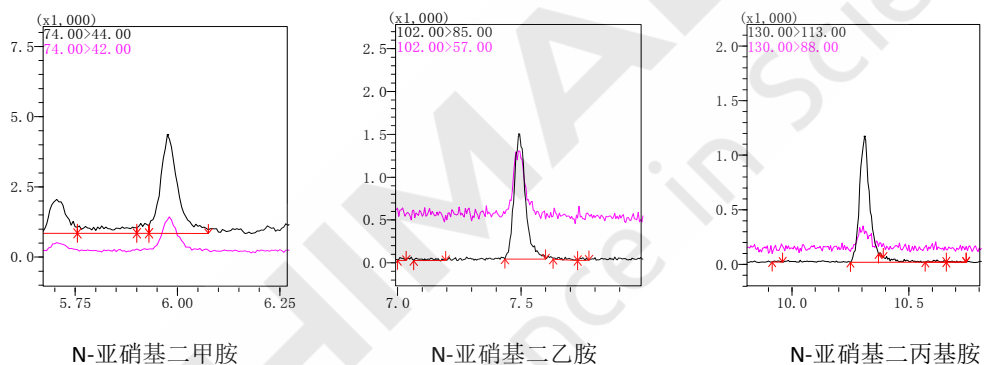
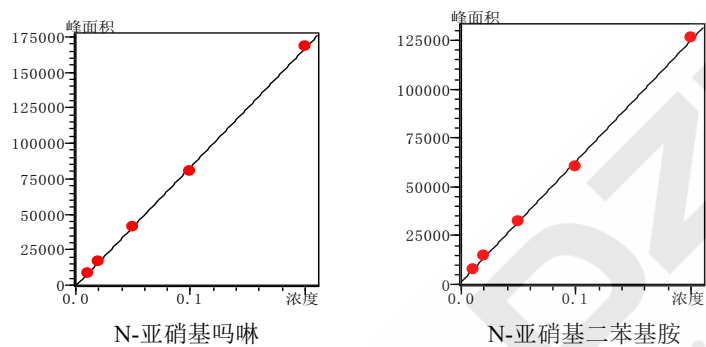
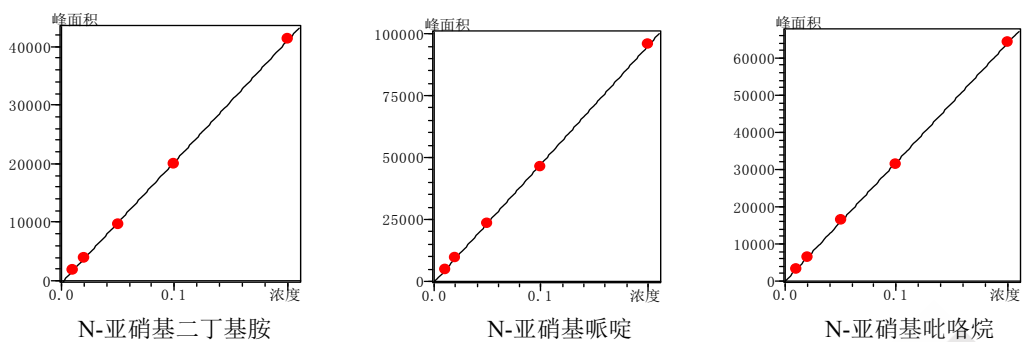


图 3 8 种挥发性亚硝胺标准曲线及质量色谱图 (10 μg/L)

表 2 8 种挥发性亚硝胺标准曲线相关系数、最低检出限 (LOD)、重复性结果(n=6)

No.	化合物名称	相关系数 R	LOD ($\mu\text{g/L}$)	RSD% (10 $\mu\text{g/L}$)	
				R.T.	Area
1	N-亚硝基二甲胺	0.9996	0.36	0.08	2.73
2	N-亚硝基二乙胺	0.9997	0.09	0.07	2.46
3	N-亚硝基二丙基胺	0.9998	0.07	0.06	2.97
4	N-亚硝基二丁基胺	0.9998	0.17	0.06	2.54
5	N-亚硝基哌啶	0.9998	0.12	0.03	3.12
6	N-亚硝基吡咯烷	0.9998	0.56	0.03	2.06
7	N-亚硝基吗啉	0.9997	0.07	0.02	1.30
8	N-亚硝基二苯基胺	0.9994	0.22	0.01	1.96

3.3 重复性测试

对浓度为 10 $\mu\text{g/L}$ 的 8 种亚硝胺标准混合溶液, 连续进样 6 次, 考察重复性, 测定结果见表 2。

3.4 回收率测试

在脂溶性药品和水溶性药品中分别加入 8 种挥发性亚硝胺混合标准溶液, 添加浓度为 2 $\mu\text{g/g}$, 各平行 6 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。

表 3 回收率结果 (n=6)

No.	化合物名称	脂溶性药品 (添加浓度 2 $\mu\text{g/g}$)		水溶性药品 (添加浓度 2 $\mu\text{g/g}$)	
		平均回收率(%)	RSD (%)	平均回收率(%)	RSD (%)
1	N-亚硝基二甲胺	74.0	5.53	67.0	9.86
2	N-亚硝基二乙胺	88.7	3.04	99.7	4.83
3	N-亚硝基二丙基胺	83.4	1.76	93.4	4.74
4	N-亚硝基二丁基胺	85.4	1.69	90.0	5.23
5	N-亚硝基哌啶	83.7	1.89	87.1	4.89
6	N-亚硝基吡咯烷	84.9	4.22	89.8	4.47
7	N-亚硝基吗啉	86.6	2.14	85.7	4.64
8	N-亚硝基二苯基胺	81.7	6.47	84.4	6.84

3.5 样品测试

分别对脂溶性药品和水溶性药品进行分析, 两样品均未检测出上述 8 种挥发性亚硝胺。该两样品色谱图如下。

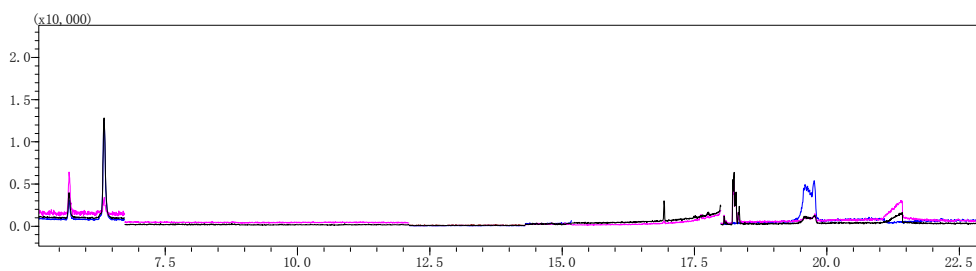


图 4 脂溶性药品 MRM 色谱图

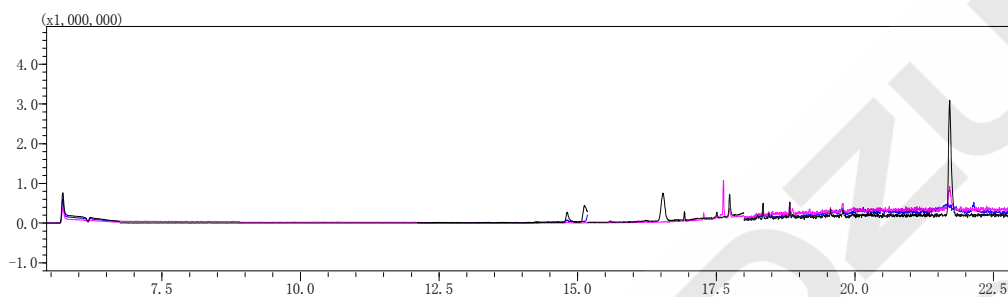


图 5 水溶性药品 MRM 色谱图

4. 结论

采用岛津公司 GCMS-TQ8050 三重四极杆气质联用仪，建立了药品中 8 种挥发性亚硝胺的检测方法。该方法前处理操作简单，重复性好。8 种挥发性亚硝胺的加标回收率在 67.0~99.7% 之间。此方法可为药品中挥发性亚硝胺的检测提供参考。

LCMSMS 法用于甲苯磺酸拉帕替尼的基因毒性杂质分析

摘要: 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱和三重四极杆质谱联用仪用于甲苯磺酸拉帕替尼的基因毒性杂质分析的方法。该方法以 0.1%甲酸水溶液和甲醇为流动相, 在 Shim-pack XR-ODS II 2.0 mm I.D.×75 mm L. 色谱柱上 6.5 min 内完成样品分析, 基因毒性杂质 4-(3-氟苯甲氧基)-3-氯苯胺在 0.5~1000 ng/mL 浓度范围内线性良好, 低中高三浓度重复性显示峰面积相对标准偏差在 0.84~1.25%之间、相对回收率在 94.2~97.3%之间, 可供甲苯磺酸拉帕替尼中 4-(3-氟苯甲氧基)-3-氯苯胺的检测及药物中相关基因毒性杂质定量研究参考使用。

关键词: 基因毒性杂质 甲苯磺酸拉帕替尼 三重四极杆质谱 4-(3-氟苯甲氧基)-3-氯苯胺

药物生产过程中残留或引入的具有人体 DNA 结构直接或间接损伤, 进而产生基因突变或体内诱变而具有致癌可能或者倾向的物质称为基因毒性杂质 (Genotoxic Impurity, GTI)。其特点是毒性较强, 在极低浓度便可造成人体遗传损伤, 对用药安全产生强烈威胁。因此近年来各国的法规机构如 ICH、FDA、EMA 等都对基因毒性杂质控制建立明确的要求, 越来越多的药企在新药开发过程中就着手重点关注基因毒性杂质的检测及控制。

基因毒性杂质常用分析方法根据所测杂质的限量而又有不同的选择, 如 HPLC-UV/FL、UHPLC、LCMS 及 LCMSMS。LCMSMS 由于选择性高、抗干扰能力强、同 UHPLC 联用后分析速度快、灵敏度高等特点, 对于痕量或超痕量的基因毒性杂质分析具有显著的优势而得到相关领域的广泛使用。

本文中使用的岛津超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8040, 建立了甲苯磺酸拉帕替尼的基因毒性杂质 4-(3-氟苯甲氧基)-3-氯苯胺的分析方法, 该方法具有灵敏、快速、高效等特点, 可为该类药物中基因毒性杂质的检测提供参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。

1.2 化合物信息

表 1 化合物信息

#	化合物名	英文名	CAS#	分子量	备注
1	甲苯磺酸拉帕替尼	Lapatinib	231277-92-2	581.1	主药
2	4-(3-氟苯甲氧基)-3-氯苯胺	4-(3-fluorobenzyloxy)-3-chlorobenzenamine	202197-26-0	251.5	基因毒性杂质

1.3 分析条件

液相色谱条件:

色 谱 柱 : Shim-pack XR-ODS II 2.0 mm I.D.×75 mm L., 2.2 μm
 流 动 相 : A 相-0.1%甲酸水溶液; B 相-甲醇
 流 速 : 0.4 mL/min
 柱 温 : 40°C
 进 样 量 : 5 μL
 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 45%, 洗脱程序见表 2

表 2 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
3.50	Pumps	Pump B Conc.	55
4.00	Pumps	Pump B Conc.	90
4.50	Pumps	Pump B Conc.	45
6.50	Controller	Stop	

质谱条件:

离 子 源 : ESI
 接 口 温 度 : 400°C
 D L 温 度 : 280°C
 M R M 参 数 : 见表 3

雾 化 气 流 速 : 3.0 L/min
 干 燥 气 流 速 : 15.0 L/min
 扫 描 模 式 : 多反应监测(MRM+)
 驻 留 时 间 : 100 ms

表 3 MRM 参数

名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE(V)	Q3 Pre Bias (V)
4-(3-氟苯甲氧基)-3-氯苯胺	252.0	143.0*	-13	-23	-26
		80.0	-13	-46	-27

*表示定量离子对

1.4 样品制备

标准溶液配制:

称取 4-(3-氟苯甲氧基)-3-氯苯胺适量, 以乙腈-水 (1/1, v/v) 溶解, 并逐级稀释使浓度依次为 1000、100、10、5、1 和 0.5 ng/mL 系列标准溶液。

2. 结果与讨论

2.1 色谱条件选择

基因毒性杂质在主药中含量微小, 多数在 ppm 级别甚至以下, LCMS 分析过程中为了确保具有足够的灵敏度, 不可对主药过份稀释。为避免一次进样分析中大量的主药对 LC-MS 系统造成污染, 可采用流路切换阀对主药的洗脱液进行切除, 只需将待测杂质切入质谱进行分析。

FCV-20AH2 是岛津 HPLC/ UHPLC 系统专用 2 位 6 通流路切换阀,

耐压 34.3MPa, 可安装于 CTO-20A/AC 柱温箱内, 也可独立使用;

该阀提供两种控释模式, Remote 模式时可通过 LC 时间程序或者

MS 时间程序进行控制, Local 模式下则可以手动一键轻触实现流路切换。



图 1 FCV-20AH2

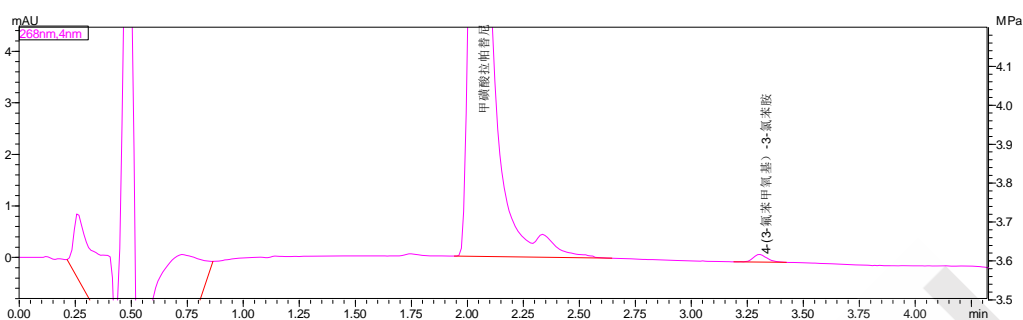


图2 甲苯磺酸拉帕替尼与基因毒性杂质 4-(3-氟苯甲氧基)-3-氯苯胺 HPLC 色谱图 (波长: 268 nm)

本例在样品分析时,使用流路切换阀在 2.9 min 后将 HPLC 洗脱组分导入后端质谱,进行 LC-MS/MS 分析。

另据相关文献报道,甲苯磺酸拉帕替尼溶液态不稳定,常温放置短时间内会发生明显降解,降解产物影响基因毒性杂质的测定结果。本例使用 UHPLC 进行超快速分析,减小样品溶液放置时间和控制样品降解发生的程度,以提供真实可靠的分析结果。

2.2 专属性考察

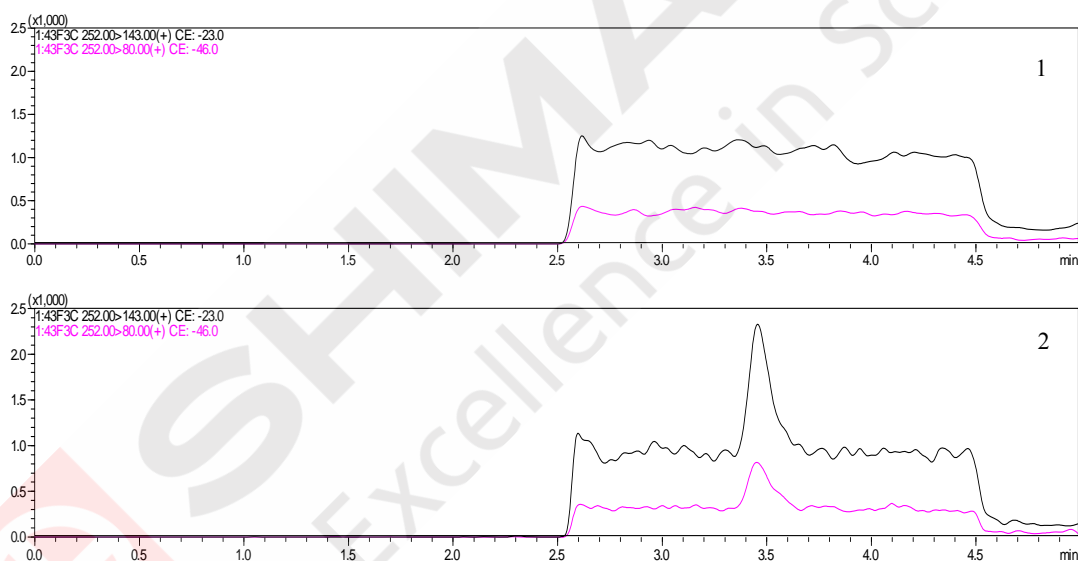


图3 基因毒性杂质 4-(3-氟苯甲氧基)-3-氯苯胺 MRM 色谱图

1. 空白溶剂 2. 浓度 0.5 µg/L 的杂质溶液

如上 MRM 色谱图结果显示基因毒性杂质 4-(3-氟苯甲氧基)-3-氯苯胺保留时间处,空白溶剂无干扰。

2.3 标准曲线

表4 基因毒性杂质 4-(3-氟苯甲氧基)-3-氯苯胺校准曲线结果

化合物	r	浓度范围 (ng/mL)	准确度	LOQ(ng/mL)	LOD(ng/mL)
4-(3-氟苯甲氧基)-3-氯苯胺	0.9997	0.5-1000	98.3-103.0%	0.44	0.15

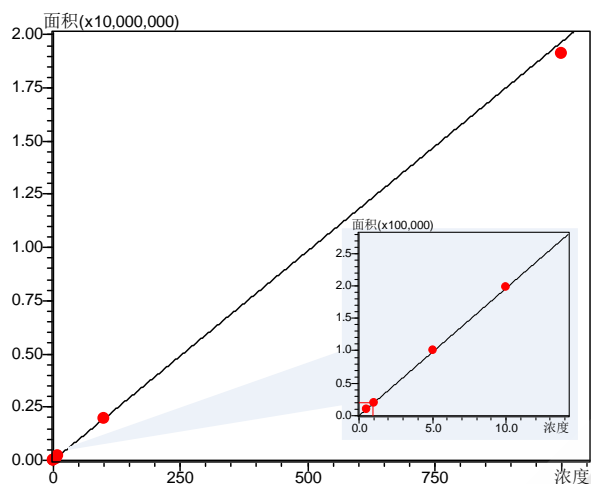


图4 基因毒性杂质 4-(3-氟苯甲氧基)-3-氯苯胺校准曲线

2.4 重复性分析结果

重复性分析结果表明，该方法快速可靠，可在甲苯磺酸拉帕替尼发生明显降解前完成样品分析而得到准确结果。

表5 低、中、高三浓度重复性分析结果 (n=6)

#	QC 浓度	保留时间(RSD%)	峰面积(RSD%)	回收率 (%)
1	1 ng/mL	0.08	1.24	97.3
2	10 ng/mL	0.15	0.84	96.0
3	100 ng/mL	0.06	1.25	94.2

2.5 实际样品分析结果

称取某甲苯磺酸拉帕替尼样品 10 mg，以乙腈-水 (1/1, v/v) 溶解并定容至 5 mL，分析结果表明该样品中 4-(3-氟苯甲氧基)-3-氯苯胺杂质的含量为 23.26 mg/Kg。

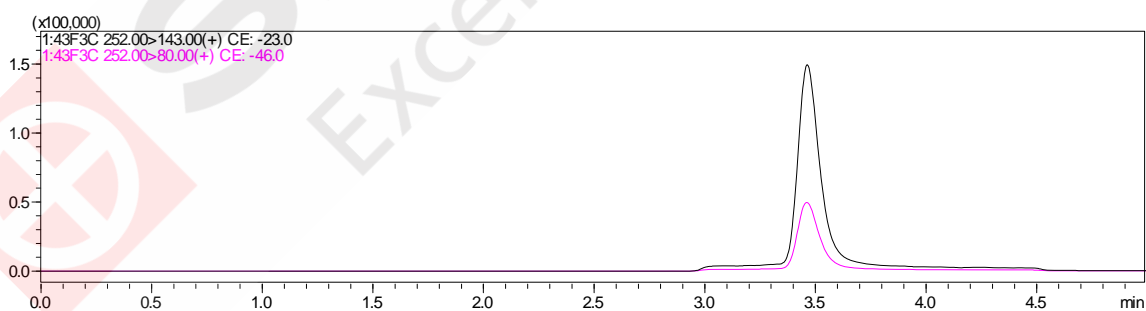


图5 甲苯磺酸拉帕替尼样品中4-(3-氟苯甲氧基)-3-氯苯胺的分析结果

3. 结论

本文使用岛津超高效液相色谱 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 建立了甲苯磺酸拉帕替尼中基因毒性杂质 4-(3-氟苯甲氧基)-3-氯苯胺的定量方法。该方法分析速度快，重复性、精密度及回收率良好，在 0.5~1000 ng/mL 浓度范围内线性良好。该方法可供甲苯磺酸拉帕替尼中 4-(3-氟苯甲氧基)-3-氯苯胺的检测及药物中相关基因杂质定量研究参考使用。



本公司三条工厂获得 ISO 认证

JQA-0376

⊕ 岛津企业管理 (中国) 有限公司 / 岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

北京

北京市朝阳区朝外大街 16 号中国人寿大厦 14F
 邮政编码: 100020
 电话: (010) 8525-2310/2312
 传真: (010) 8525-2326/2329

上海

上海市淮海西路 570 号红坊 E 楼
 邮政编码: 200052
 电话: (021) 2201-3888
 传真: (021) 2201-3555

沈阳

辽宁省沈阳市青年大街167号北方国际传媒中心11层
 邮政编码: 110001
 电话: (024) 2383-6735
 传真: (024) 2383-6378

四川

成都市锦江区创意产业商务区三色路38号博瑞创意成都B座12层
 邮政编码: 610015
 电话: (028) 8619-8421/8422
 传真: (028) 8619-8420

武汉

武汉市汉口建设大道568号新世界国贸大厦1座41层4116室
 邮政编码: 430022
 电话: (027) 8555-7910
 传真: (027) 8555-7920

广州

广州市流花路109号之9达宝广场7楼
 邮政编码: 510010
 电话: (020) 8710-8603
 传真: (020) 8710-8698

西安

西安市南二环西段88号老三届世纪星大厦24层G座
 邮政编码: 710065
 电话: (029) 8838-6016
 传真: (029) 8838-6497

乌鲁木齐

乌鲁木齐市中山路339号中泉广场14层H座
 邮政编码: 830000
 电话: (0991) 230-6271/6272
 传真: (0991) 230-6273

昆明

昆明市青年路 432 号天恒大酒店 908 室
 邮政编码: 650021
 电话: (0871) 315-2987
 传真: (0871) 315-2991

南京

南京市中山南路 49 号商茂世纪广场 23 层 A1 座
 邮政编码: 210005
 电话: (025) 8689-0278
 传真: (025) 8689-0237

重庆

重庆市渝中区青年路 38 号重庆国贸中心 1702 室
 邮政编码: 400010
 电话: (023) 6380-6057/6058
 传真: (023) 6380-6551

深圳

深圳市福田区福华一路98号卓越大厦15楼1号
 邮政编码: 518040
 电话: (0755) 8340-2852
 传真: (0755) 8389-3100

河南

郑州市郑东新区金水东路21号永和广场A区14层1405、1406室
 邮政编码: 450046
 电话: (0371) 8663-2981/2983
 传真: (0371) 8663-2982

香港

Suite 1028, Ocean Centre, Harbour City.
 Tsim Sha tsui, Kowloon, Hong-Kong
 电话: (00852) 2375-4979
 传真: (00852) 2199-7438

用户服务热线电话: 800-8100439
 400-6500439

本产品样本所宣传的内容, 以本版本为准
 样本中的试验数据除注明外为本公司的试验数据

日本总公司工厂已通过ISO质量·环境管理体系的认证

注: 此样本所有信息仅供参考, 如有变动恕不另行通知