

GCMS法同时测定福多司坦原料药中四种遗传毒性杂质

GCMS-572

摘要： 本文利用岛津 GCMS-QP2050 气相色谱质谱联用仪，建立了福多司坦原料药中 4 种遗传毒性杂质含量测定方法。在 0.02 ~0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内，各组标准曲线相关系数均大于 0.999，线性关系良好，0.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准品溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD 小于 6%。对样品基质进行了低、中、高三水平的加标回收实验，回收率在 82.67-102.68% 之间。该方法操作简单，可用于福多司坦原料药中四种遗传毒性杂质质量控制方法。

关键词： 气相色谱质谱联用仪 福多司坦原料药 遗传毒性杂质

技术特点：

- ❖ 使用新发布 GCMS-QP2050 测定四种目标物，灵敏度高，仪器检出限小于 1.49 ng/mL 。
- ❖ 采用 Peakintelligence™智能积分软件对数据进行积分，有效提高低浓度样品中目标物积分效果。

福多司坦原料药，(-)-(R)-2-氨基-3-(3-羟丙基硫代)丙酸，化学式为 $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_3\text{S}$ ，是一种新型半胱氨酸衍生物。以 3-氯-1-丙醇 (CHP) 为主要原料合成，反应中产生 1,3-二氯丙烷 (DCP)，3-氯丙酸乙酯 (CPA) 和氯丙基羟丙基醚 (CHE) 等副产物。卤代烷烃、磺酸酯和环氧化物等为近年来常见的遗传毒性杂质，此类化合物能引起 DNA 突变、染色体断裂或者 DNA 重组，甚至导致肿瘤生成。欧洲药物管理局 (EMA) 发布的指南草案、美国食品药品监督管理局 (USFDA) 的指南以及人用药物注册技术要求国际协调会 (ICH) 发布的 M7 (R1) 指南均采

用毒理学关注阈值 (TTC) 来控制基因毒性杂质的引入。按照毒理学关注的阈值方法规定，遗传毒性杂质摄入不能超过 1.5 $\mu\text{g}/\text{d}$ ，四种遗传毒性杂质之和不超过 1.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

本实验使用岛津公司新发布的 GCMS-QP2050 气质联用仪建立福多司坦原料药中四种遗传毒性杂质的检测方法，通过定量离子筛选，提高了方法专属性。该方法 CHP、DCP、CAP 和 CHE 的定量限在 0.82~4.96 ng/mL 之间，提高了检测的灵敏度，为福多司坦原料药制备工艺过程和质量控制提供参考依据。

■ 实验部分

1.1 仪器

GCMS-QP2050 气质联用仪

1.2 分析条件

色谱柱：	SH-PolarWax, 30 m × 0.25 mm × 0.5 μm
柱温程序：	40°C (5 min) _10°C /min_140°C _4°C /min_160°C (5 min)
进样口温度：	220°C
流速控制方式：	恒线速度 (40 cm/s)
进样方式：	分流
分流比：	10:1
进样量：	1 μL
离子化方式：	EI
离子源温度：	230°C
接口温度：	220°C
检测器电压：	调谐电压 +0.2 kV
采集模式：	SIM, 离子信息见表 1

■ 样品前处理

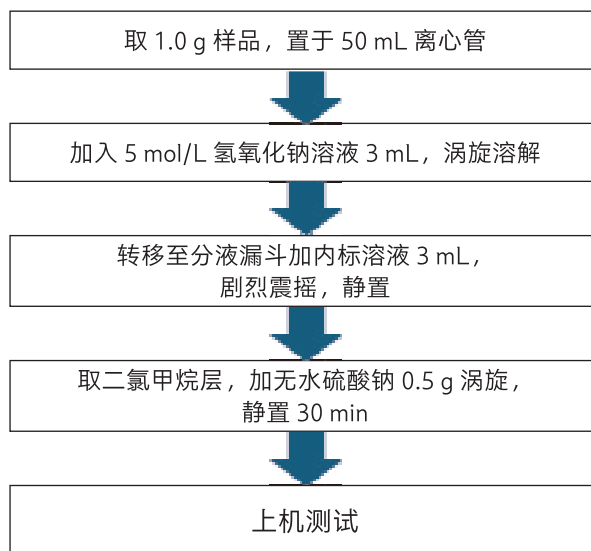


图 1 前处理流程图

■ 结果与讨论

3.1 标准溶液色谱图

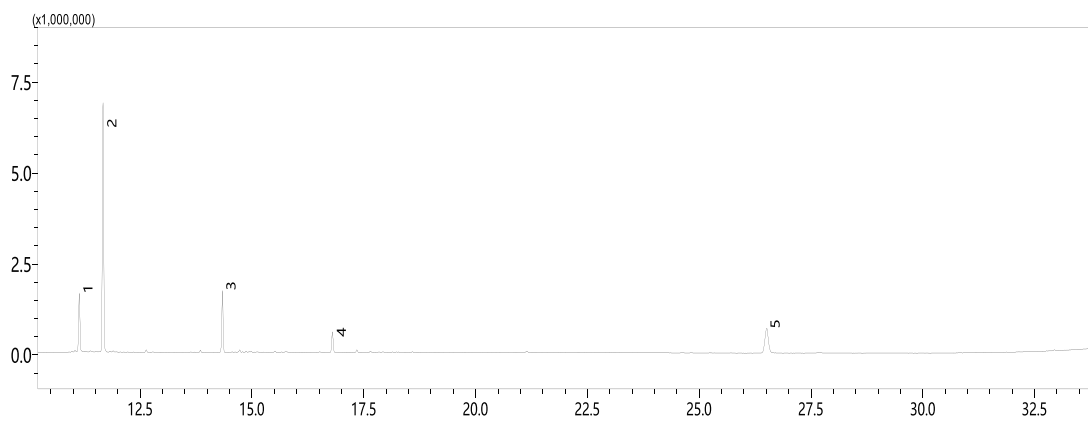


图 2 目标组分标准溶液色谱图

表 1 化合物信息

No.	化合物名称	英文名称	CAS 号	保留时间 (min)	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)
1	1,3- 二氯丙烷	1,3-Dichloropropane	142-28-9	11.072	76	41、78
2	氯苯 (内标)	Chlorobenzene	108-90-7	11.601	112	77、114
3	3- 氯丙酸乙酯	Ethyl 3-chloropropionate	623-71-2	14.279	91	109、63
4	3- 氯 -1- 丙醇	3-Chloro-1-propanol	627-30-5	16.725	58	57、41
5	氯丙基羟丙基醚	3-(3-chloropropoxy)propan-1-ol	1026602-92-5	26.374	59	107

3.2 标准曲线和检出限

分别配制 0.02、0.04、0.1、0.2、0.4、0.67、0.8 $\mu\text{g/mL}$ 混合标准溶液，进样 1 μL ，以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标拟合标准曲线，标准曲线如图 3 所示。根据曲线最低浓度点，以 3 倍信噪比计算两种化合物的仪器检出限，两种物质的线性相关系数、检出限如表 2 所示。

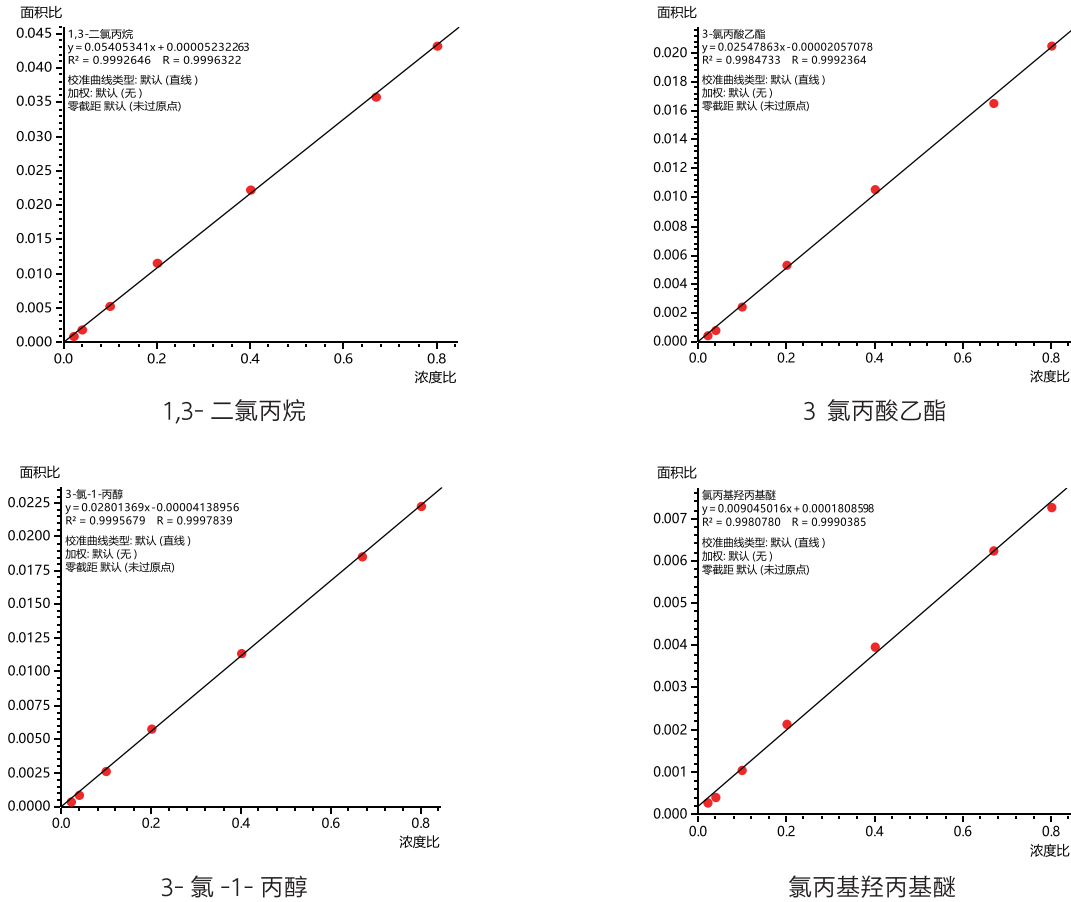
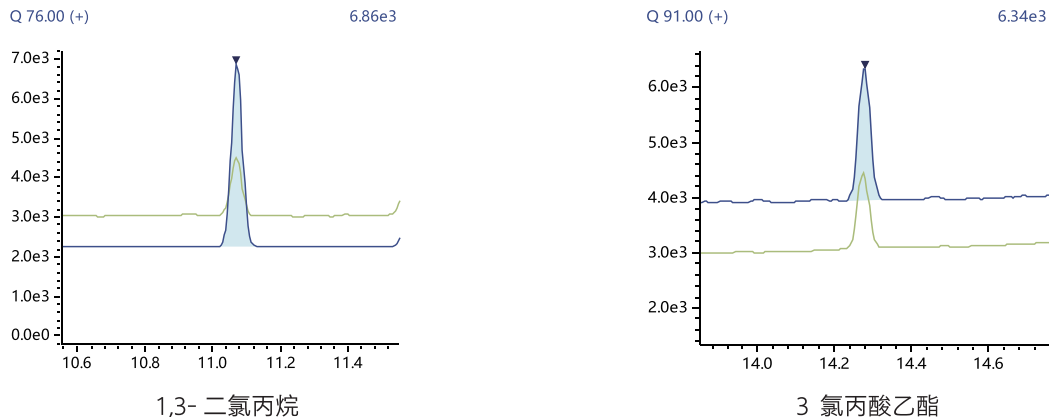


图 3 标准曲线



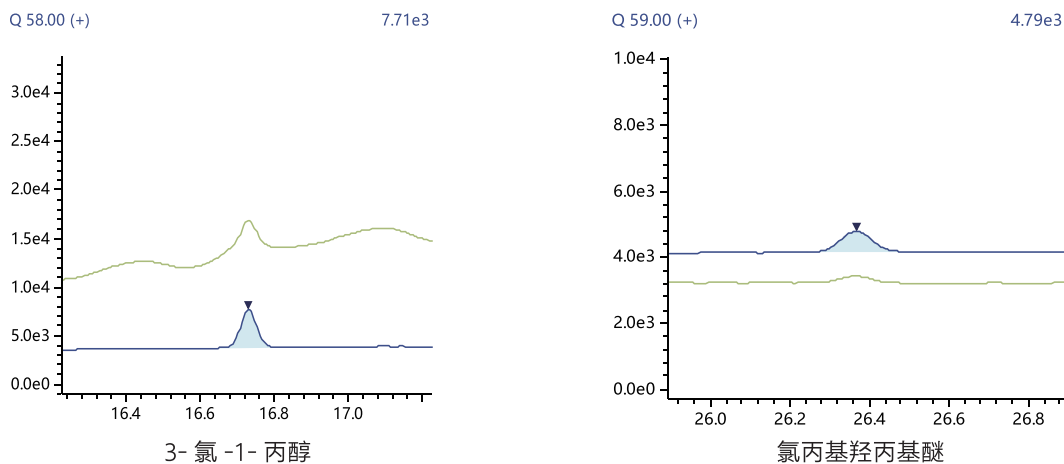


图 4 质量色谱图 (0.02 $\mu\text{g/mL}$)

表 2 标准曲线相关系数及检出限息

No.	化合物名称	相关系数 (R)	检出限 (ng/mL)
1	3-氯-1-丙醇	0.9996	0.24
2	1,3-二氯丙烷	0.9992	0.98
3	3-氯丙酸乙酯	0.9997	1.28
4	氯丙基羟丙基醚	0.9990	1.49

3.3 重复性实验

取浓度为 0.02 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液，连续进样 6 次，考察仪器的重复性，测定结果见表 3。

表 3 重复性结果

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	峰面积 6	RSD (%)
1	3-氯-1-丙醇	4899	4916	4880	4744	4642	4911	2.34
2	1,3-二氯丙烷	9060	8916	8881	8513	8809	8766	2.07
3	3-氯丙酸乙酯	4694	4563	4502	4180	4147	4284	5.07
4	氯丙基羟丙基醚	2753	2704	2574	2457	2576	2459	4.72

3.4 实际样品测定及加标回收率

取福多司坦原料药按上述方法进行测定，原料药中检出 3-氯-1-丙醇，以此样品进行三个浓度水平的加标实验，详细结果见图 5 和表 4。

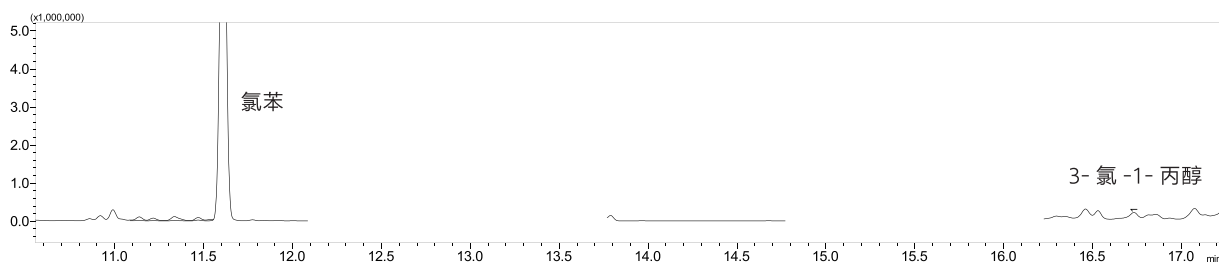


图 5 实际样品色谱图

表 4 福多司坦原料药样品加标实验结果 (n=3)

No.	化合物名称	0.04 $\mu\text{g/g}$		0.2 $\mu\text{g/g}$		0.8 $\mu\text{g/g}$	
		平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	1,3- 二氯丙烷	100.41	0.38	87.30	0.54	89.42	0.21
2	3- 氯丙酸乙酯	96.41	0.83	82.67	1.90	86.15	0.46
3	3- 氯 -1- 丙醇	98.58	4.70	82.70	0.41	82.73	1.90
4	氯丙基羟丙基醚	99.83	1.46	100.35	0.95	102.68	2.94

3.5 Peakintelligence™ 色谱峰智能算法积分

本实验色谱图积分处理使用的是 Peakintelligence™ for GCMS 智能积分软件，在数据处理过程中，仅需要使用质谱处理软件 Labsolutions Insight 打开 GCMS 采集的数据，在积分功能选择“Peakintelligence_GCMS_Ver2”及模型“GCMS_Model_V1”，无需设置任何积分参数，即可自动、快速、准确完成目标物色谱峰的积分。

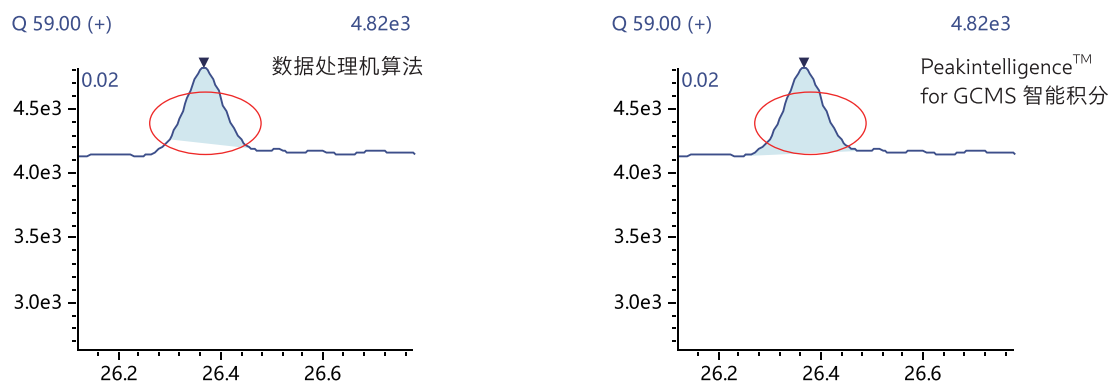


图 6 不同积分算法的氯丙基羟丙基醚色谱图对比

本实验中当检测物质浓度较低时其色谱峰积分容易受到干扰。图 6 对比了样品中添加浓度为 0.02 $\mu\text{g/g}$ 时氯丙基羟丙基醚的色谱图使用两种积分方法的结果，传统的积分方式难以应对复杂多变的色谱图变化，易导致积分偏移、多积分或少积分的错误积分结果出现。切换至 Peakintelligence™ 模块处理后积峰得以改善。Peakintelligence™ 基于“AI”积分处理算法数据解析模块，搭载了人工智能 (AI) 和机器学习模型，利用大量数据开展学习训练，数据处理时可达到与经验丰富用户同等技术水平，无需调整参数，对于受基线噪音干扰较大的峰有良好校正作用。

■ 结论

本文利用 GCMS-QP2050 气相色谱质谱联用仪，建立了福多司坦原料药中四种遗传毒性杂质的检测方法。在 0.02 ~ 0.8 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内，各组分标准曲线相关系数均大于 0.999，线性关系良好；0.02 $\mu\text{g/mL}$ 标准品溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD 小于 6%。对样品基质进行了低、中、高 (0.04 $\mu\text{g/g}$ 、0.2 $\mu\text{g/g}$ 、0.8 $\mu\text{g/g}$) 三水平的加标回收实验，回收率在 82.67~102.68% 之间。方法专属性强，重复性好，可为福多司坦原料药质量控制提供参考依据。

岛津应用云

