

# LCMS-2050 同时测定药品中 5 种芳基磺酸酯类遗传毒性杂质

LCMS-053

**摘要：** 本文建立了一种使用岛津高效液相色谱质谱联用仪 LCMS-2050 检测药品中 5 种芳基磺酸酯遗传毒性杂质含量的新方法。在 5~500  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内，5 种芳基磺酸酯遗传毒性杂质相关系数均大于 0.994。在药品中添加三个浓度的混合标准溶液，各组分回收率在 110.5~115.3% 之间。此方法前处理简单、特异性好、灵敏度高，可为药品中 5 种芳基磺酸酯遗传毒性杂质含量测定提供参考。

**关键词：** 单四极杆质谱 药品 芳基磺酸酯遗传毒性杂质

## 技术特点：

- ❖ 使用 LCMS-2050 建立了一种检测药品中 5 种芳基磺酸酯遗传毒性杂质含量的新方法。
- ❖ 方法前处理简单，线性范围宽，准确率高。

遗传毒性杂质 (Genotoxic Impurity, GTI) 是指化合物本身直接或间接损伤细胞 DNA，产生基因突变或体内诱变，具有致癌可能或者倾向的物质。遗传毒性杂质特点是在很低浓度即可造成人体遗传物质的损伤，进而导致基因突变并促使肿瘤的发生。由于遗传毒性杂质的潜在危害，则必须对原料药或药品中任何可能存在、未在早期合成步骤中清除的所有遗传毒性杂质进行监测。

在制药行业，药物活性成分如以烷基磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐及羟乙基磺酸盐形式存在或药

物合成过程中使用到了磺酸类试剂，磺酸酯就会被视为潜在的遗传毒性杂质而存在。磺酸酯遗传毒性杂质根据取代基不同可分为烷基磺酸酯和芳基磺酸酯。

此前已有相关文献报道了部分磺酸酯遗传毒性杂质的定量检测方法，主要采用 GC-MS、GC-FID、LC-MS/MS 等，同时可能需要对样品采用复杂的衍生化处理。而本研究主要采用 LC-MS 对 5 种芳基磺酸酯遗传毒性杂质进行定量分析，该方法前处理简单、准确度高，可以为药品中芳基磺酸酯遗传毒性杂质的检测提供参考。

## 实验部分

### 1.1 仪器

本实验采用岛津高效液相色谱质谱联用仪 LCMS-2050。

具体配置为：

系统控制器：SCL-40

脱气机：DGU-405

输液泵：LC-40B XR

自动进样器：SIL-40 XR

柱温箱：CTO-40C

二极管阵列检测器：SPD-M40

质谱仪：LCMS-2050

色谱工作站：LabSolutions Ver.5.114

### 1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GISS C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9  $\mu\text{m}$ )  
P/N: 227-30048-02; 岛津 (上海) 实验器材有限公司

流动相：A- 5 mmol/L 甲酸铵水溶液；B- 甲醇  
流速：0.3 mL/min 柱温：40°C  
进样体积：2  $\mu$ L 检测波长：280 nm  
洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 35%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.80	Oven	CTO.RVR	1*
3.50	Pumps	Pump B Conc.	50
4.50	Pumps	Pump B Conc.	90
7.00	Pumps	Pump B Conc.	90
7.00	Oven	CTO.RVR	0*
7.01	Pumps	Pump B Conc.	35
9.00	Controller	Stop	

注：\*“1”表示流路切换至质谱，“0”表示流路切换至废液。

#### 质谱条件

离子化模式：DUIS，正离子模式 脱溶剂温度：150°C  
雾化气流速：3 L/min D L 温度：100°C  
加热气流速：5 L/min 接口电压：2.0 kV  
干燥气流速：7 L/min 扫描模式：SIM  
采样周期：0.5 sec

表 2 化合物信息

序号	化合物名称	CAS	分子量	m/z	保留时间
1	苯磺酸甲酯	80-18-2	172.01	190.04	3.714
2	苯磺酸乙酯	515-46-8	186.03	204.06	4.975
3	对甲苯磺酸甲酯	80-48-8	186.03	204.06	5.324
4	对甲苯磺酸乙酯	80-40-0	200.05	218.08	6.179
5	对甲苯磺酸异丙酯	2307-69-9	214.06	232.09	6.471

#### 1.3 标准溶液配制

取混合标准储备液（100 mg/L），以甲醇逐级稀释为 5、10、20、50、100、200、500  $\mu$ g/L 的标准系列工作溶液，待测。

#### 1.4 样品前处理

准确称取某药品粉末 45 mg 至 1 mL 容量瓶中，用甲醇定容至刻度，摇匀超声 10 min，取出容量瓶冷却至室温，用甲醇补足至刻度，混匀过 0.22  $\mu$ m 尼龙滤膜后，上机分析。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 色谱条件选择

本实验通过优化质谱条件，对比了不同流动相，发现在 5 mmol/L 甲酸铵水溶液和甲醇的梯度洗脱下，目标物有相对较高的响应。同时由于遗传毒性杂质在主药中的含量极少，为了分析遗传杂质含量且保证灵敏度，避免高浓度的主药和辅料进入质谱，造成污染，需要通过流路切换阀将主药和辅料切至废液，只让待测杂质进入质谱检测。

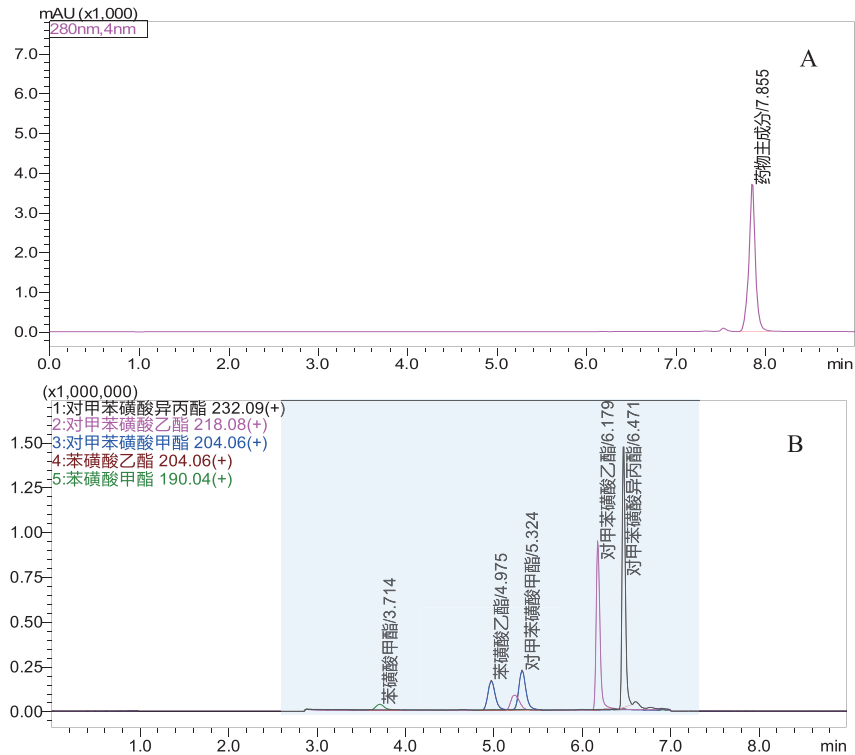
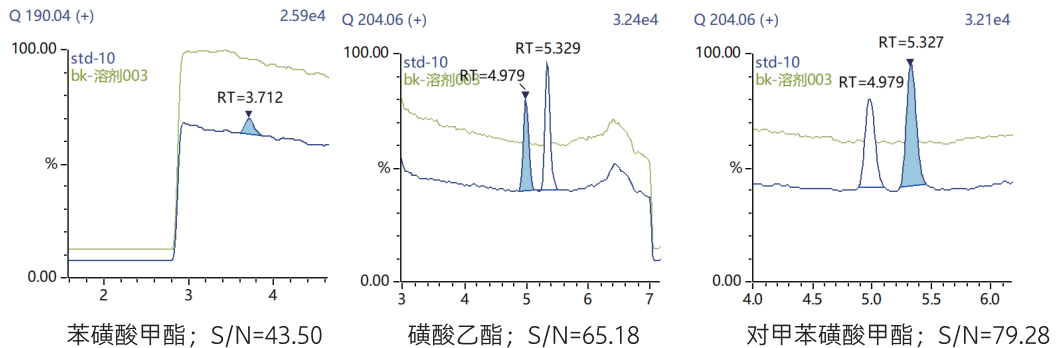


图 1 样品 PDA 色谱图 (A, 主药浓度 0.8 mg/mL) 和混合标准溶液 SIM 色谱图 (B, 浓度 100  $\mu$ g/L)

本方法中通过设置阀切换程序将 2.8~7 min 内的切入 LC-MS 进行分析，其余时间切入废液。

### 2.2 方法专属性

溶剂空白样品与混合标准溶液 (10  $\mu$ g/L) SIM 色谱图显示，目标峰保留时间处，未见明显干扰，方法专属性好。



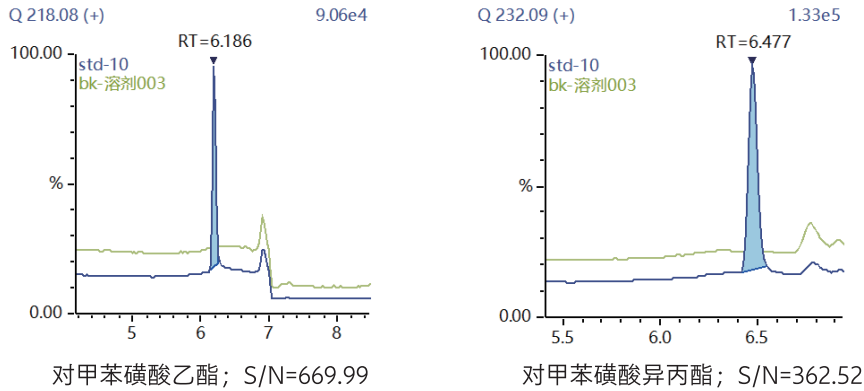


图2 溶剂空白和混合标准溶液 (10 µg/L) 的 SIM 色谱图

### 2.3 线性关系考察

以峰面积为纵坐标，以浓度为横坐标，外标法绘制校准曲线。线性方程、相关系数、检出限和定量限见表 3。

表 3 5 种芳基磺酸酯遗传毒性杂质的校准曲线结果 (加权 1/C)

#	名称	浓度范围 (µg/L)	准确度 (%)	相关系数 r	LOQ(µg/L)	LOD(µg/L)
1	苯磺酸甲酯	5~500	87.3~114.1	0.9994	2.42	0.80
2	苯磺酸乙酯	5~500	96.9~102.4	0.9998	1.56	0.51
3	对甲苯磺酸甲酯	5~500	96.7~102.2	0.9997	1.27	0.42
4	对甲苯磺酸乙酯	5~500	89.3~103.1	0.9999	0.14	0.04
5	对甲苯磺酸异丙酯	5~500	90.4~106.9	0.9995	0.27	0.09

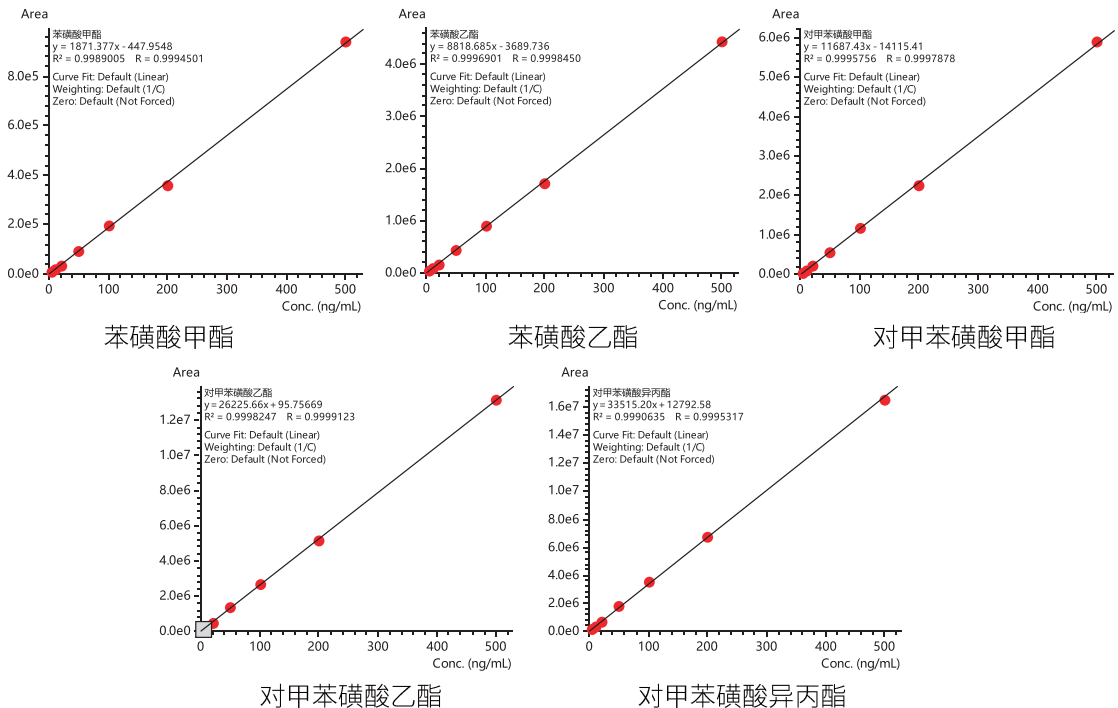


图 3 5 种芳基磺酸酯遗传毒性杂质校准曲线

## 2.4 精密度实验

对三个浓度的混合标准溶液连续 6 次进样, 考察仪器的精密度, 保留时间和峰面积的精密度结果如表 4 所示。三个浓度标准品的保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.03~0.12% 和 0.67~5.26% 之间, 仪器精密度良好。

表 4 精密度结果 (n=6)

#	名称	RSD% (10 µg/L)		RSD% (50 µg/L)		RSD% (500 µg/L)	
		R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	苯磺酸甲酯	0.10	5.26	0.12	2.74	0.12	0.75
2	苯磺酸乙酯	0.08	1.53	0.10	1.34	0.10	2.19
3	对甲苯磺酸甲酯	0.08	1.66	0.09	0.73	0.10	1.80
4	对甲苯磺酸乙酯	0.03	0.67	0.05	1.07	0.06	1.19
5	对甲苯磺酸异丙酯	1.22	4.29	0.06	0.61	0.06	2.38

## 2.5 样品测试和回收率实验

按照 1.4 步骤进行样品处理, 经上机分析, 所测样品中 5 种芳基磺酸酯遗传毒性杂质均未检测出, 色谱图见图 4。向该药品中添加不同浓度的标准溶液进行回收率实验, 每个添加量平行测定 3 次, 回收率见表 5, 结果显示回收率满足药典要求。

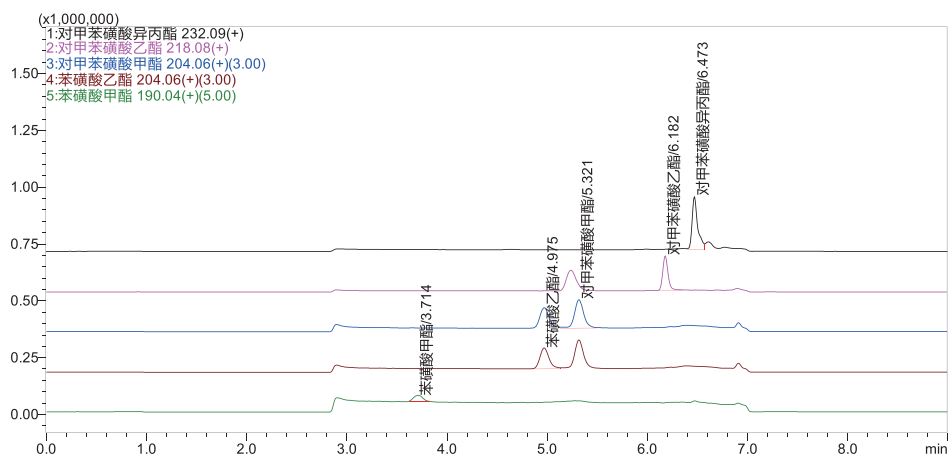


图 4 药品样品色谱图 (混合标准品添加量为 0.44 µg/g)

表 5 样品加标回收率结果 (n=3)

#	名称	检测结果 (µg/g)	添加量 (0.22 µg/g)		添加量 (0.44 µg/g)		添加量 (2.2 µg/g)	
			平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	苯磺酸甲酯	N.D	111.1	5.51	105.7	0.91	106.6	1.64
2	苯磺酸乙酯	N.D	112.6	1.63	108.4	0.40	110.5	0.38
3	对甲苯磺酸甲酯	N.D	115.3	1.03	112.6	2.41	108.2	0.59
4	对甲苯磺酸乙酯	N.D	104.1	2.33	100.5	0.84	106.3	0.81
5	对甲苯磺酸异丙酯	N.D	110.9	2.16	115.0	1.39	108.7	0.58

注: N.D 表示未检出

## ■ 结论

本文建立了一种使用高效液相色谱质谱联用仪 LCMS-2050 定量测定药品中 5 种芳基磺酸酯遗传毒性杂质的新方法。该方法前处理简单, 线性范围宽、重复性好、准确度高, 可为药品中芳基磺酸酯遗传毒性杂质的检测提供参考。

岛津应用云

