

# SCIEX Triple Quad™ 3500测定基因毒性杂质苯磺酸甲酯和苯磺酸乙酯

## Determination of Genotoxic Impurities Methyl benzenesulfonate and Ethyl benzenesulfonate on SCIEX Triple Quad™ 3500

雷敏 (Lei Min), 郭立海 (Guo Lihai)

SCIEX, 亚太应用支持中心 (广州), 中国

**关键词:** SCIEX Triple Quad™ 3500, 基因毒性杂质, 苯磺酸甲酯, 苯磺酸乙酯

**Key Words:** SCIEX Triple Quad™, Genotoxic Impurities, Methyl benzenesulfonate, Ethyl benzenesulfonate

### 引言

在制药行业中, 磺酸或磺酰卤类试剂常被用作烷基化试剂和催化剂, 还应用于药物化学合成的纯化或成盐步骤。合成反应或重结晶步骤中任何残留醇的存在都可能导致形成磺酸酯。临床研究发现磺酸酯能够直接与生物大分子 (DNAs、RNAs及蛋白质) 发生烷基化反应, 可能会导致DNA的突变。芳基磺酸酯, 包括苯磺酸甲酯 (MBS)、苯磺酸乙酯 (EBS) 等, 被视为潜在的基因毒性杂质。

按照美国FDA和EMA指南的要求, 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基因毒性杂质进行监测。对于基因毒性杂质来说, 限度则需控制到 $\mu\text{g/g}$ 级别, 所以基因毒性杂质的标准比普通杂质严格了近百倍乃至千倍, 因此基因毒性杂质的测试对于检测仪器的灵敏度有很高的要求。而且, 因苯磺酸甲酯和苯磺酸乙酯沸点在147-150度, 目前在GC上的测试方法不太理想; 而HPLC的灵敏度相对较低, 且需要分离原料药中多个干扰杂质才能准确定量, 测试时间长, 所以有必要使用LC-MS/MS建立高效和高灵敏度的方法, 用于该类化合物的定量分析, 以实现良好的控制原料药质量的目的。

### 本文实验方法特点

本文展示了使用SCIEX Triple Quad™ 3500对基因毒性杂质进行苯磺酸甲酯和苯磺酸乙酯定量测定, 方法具有以下特点:



1. 仪器的灵敏度高, 方法定量下限可低至2 ng/mL, 远满足基因毒性杂质限度低的要求。
2. 仪器和方法的特异性好, 仅4.5 min的方法即可准确定量, 检测效率高。
3. 最低定量下限 (LLOQ) 的RSD分别为5.5%和1.8%, 仪器和方法的重现性好。
4. 该方法对该类基因毒性杂质测试有很好的参考意义。

### 仪器设备

SCIEX ExionLC™液相系统 + Triple Quad™ 3500质谱系统

#### 液相方法

色谱柱: Phenomenex Kinetex F5(100 × 3.0 mm, 2.6  $\mu\text{m}$ )

流动相: A相: 水 (0.1%甲酸)

B相: 乙腈 (0.1%甲酸)

流速: 0.6 mL/min

柱温: 40 °C;

进样量: 20  $\mu\text{L}$

Time(min)	A (%)	B (%)
0.00	60	40
2.50	5	95
3.00	5	95
3.01	60	40
4.50	60	40

## 质谱方法

离子源: ESI源, 正离子模式

离子源参数:

IS电压: 5500V

气帘气 CUR: 35 psi

雾化气 GS1: 55 psi

辅助气 GS2: 50 psi

源温度 TEM: 300°C

碰撞气 CAD: 8

表1. 苯磺酸甲酯和苯磺酸乙酯的质谱参数。

Compound	Q1	Q3	DP	CE
苯磺酸甲酯	173.1	77.0	70	23
苯磺酸乙酯	187.0	159.1	60	13

## 实验结果

### 1. 特异性:

配制含0.1%甲酸的50%乙腈溶液, 作为空白溶液; 取苯磺酸甲酯和苯磺酸乙酯标准品, 加入一定量空白溶液溶解, 并稀释至浓度分别为2 ng/mL的标准工作溶液, 作为最低定量下限溶液(LLOQ溶液)。分别取20  $\mu$ L进样, 各杂质提取离子流图如下, 在各待测物保留时间出无干扰, 分别见图1和图2。

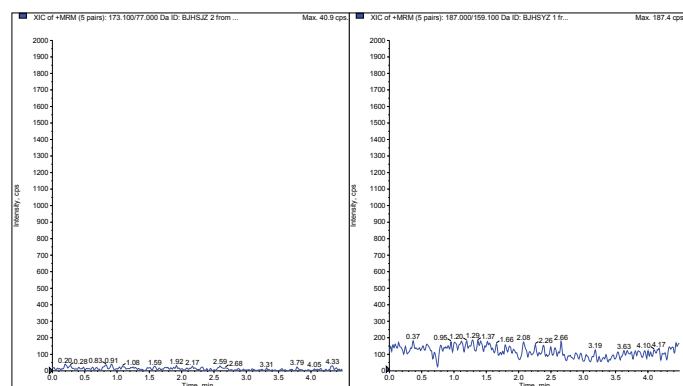


图1. 空白溶液中的提取离子流图, 分别为苯磺酸甲酯和苯磺酸乙酯。

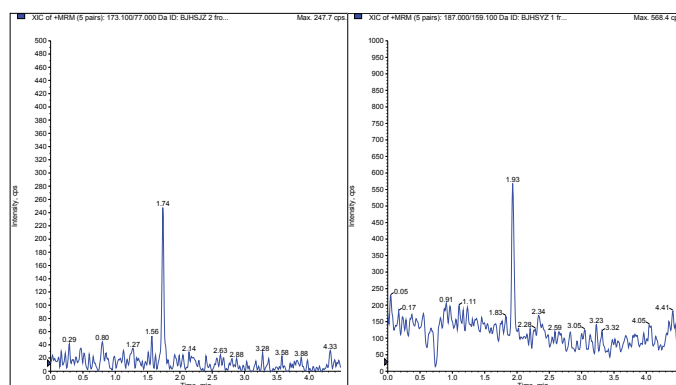


图2. LLOQ溶液的提取离子流图, 分别为苯磺酸甲酯和苯磺酸乙酯。

### 2. 线性范围:

用空白溶液逐级稀释苯磺酸甲酯和苯磺酸乙酯标准工作溶液至2 ng/mL, 4 ng/mL, 10 ng/mL, 50 ng/mL, 100 ng/mL, 500 ng/mL, 1000 ng/mL, 4000 ng/mL, 每个浓度分别进样3次, 以峰面积对浓度做标准曲线。图3, 图4分别为苯磺酸甲酯和苯磺酸乙酯的线性范围、线性方程和相关系数。

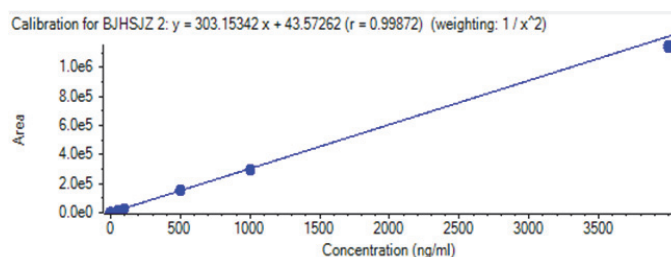


图3. 苯磺酸甲酯标准曲线, 线性回归系数 $r=0.99872$ 。

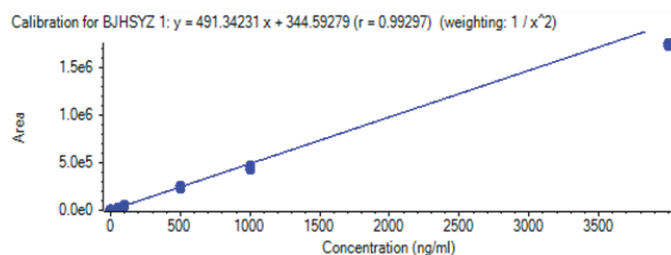


图4. 苯磺酸乙酯标准曲线, 线性回归系数 $r=0.99276$ 。

### 3. LLOQ的准确度和重现性：

平行制备六份LLOQ溶液，进样分析，测定结果如下表格。六份平行样品中，苯磺酸甲酯和苯磺酸乙酯的准确度分别为87.2%和92.3%，准确度良好；RSD%分别为5.5%和1.8%，RSD均满足测试要求，表明重现性良好。

表2. 重现性测试结果。

Compound	2ng/mL	
	Accuracy (Average, %)	RSD (%)
苯磺酸甲酯	87.2	5.5
苯磺酸乙酯	92.3	1.8

### 总结

本文使用SCIEX Triple Quad™ 3500建立了LC-MS/MS方法测定基因毒性杂质苯磺酸甲酯和苯磺酸乙酯的含量。方法的特异性好，无干扰；两个化合物的线性范围均为2 ng/mL-4000 ng/mL，线性范围宽，线性关系良好，且灵敏度高；最低定量下限LLOQ的RSD分别为5.5%和1.8%，表明方法和仪器的重现性良好。该方法为测试该类基因毒性杂质提供了参考。

For Research Use Only. Not for use in Diagnostics Procedures.

AB Sciex is operating as SCIEX.

© 2018. AB Sciex. The trademarks mentioned herein are the property of AB Sciex Pte.

Ltd. or their respective owners. AB SCIEX™ is being used under license.

RUO-MKT-02-8633-ZH-A



#### SCIEX中国公司

##### 北京分公司

地址：北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层

电话：010-5808 1388

传真：010-5808 1390

全国免费垂询电话：800 820 3488, 400 821 3897

##### 上海公司及亚太区应用支持中心

地址：上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室

电话：021-2419 7200

传真：021-2419 7333

网址：www.sciex.com.cn

##### 广州分公司

地址：广州市天河区珠江江西路15号  
珠江城1907室

电话：020-8510 0200

传真：020-3876 0835

微博：@SCIEX