

# pMRM-IDA-EPI快速筛查基因毒性杂质芳基磺酸酯类化合物

## Rapid Screening of Phenyl-sulfonate Ester Genotoxic Impurities by pMRM-IDA-EPI

钟晨春<sup>1</sup>, 刘婷<sup>2</sup>, 朱怀恩<sup>1</sup>

Zhong Chenchun<sup>1</sup>, Liu Ting<sup>2</sup>, Zhu Huaien<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SCIEX, JAPAC Solution Innovation Center; <sup>2</sup> SCIEX, Technical Marketing Shanghai, China

**Keywords :** genotoxic impurities, phenyl-sulfonate esters, pMRM-IDA-EPI, QTRAP® 4500, rapid screening, methyl

### 引言

基因毒性杂质 (GTIs, Genotoxic impurities) 是药物合成、配置或者储存过程中可能形成的中间体, 反应产物或降解物。基因毒性化合物可能与DNA发生反应, 从而导致致癌反应和肿瘤发展。因此, 监管机构 (包括欧洲药品管理局 (EMA)、美国FDA和国际协调会议 (ICH M7)) 发布了关于药物成分中基因毒性杂质允许限值的指导原则, 以确保药品的安全。指导原则要求药物或药品中的所有潜在基因毒性杂质 (PGI) 均必须低于每日1.5 µg的毒理学关注阈值 (TTC, Threshold of Toxicological Concern), 即相当于每天摄入1.5 µg的基因毒性杂质, 被认为对于大多数药品来说是可以接受的剂量。

近期, 缙沙坦原料药事件爆发, 且持续发酵, 原料药生产工艺改变也需要对急需开发新颖而先进的测试方法专门用于一类杂质的检测。磺酸酯类基因毒性杂质通常来源于药物合成中磺酸或者衍生物, 如磺酰氯、磺酸酐和低级醇溶剂 (如甲醇、乙醇、异丙醇等) 之间发生的副反应。由于磺酸盐药物应用非常广泛且在合成中不可避免地会用到低级醇, 使得磺酸酯在药物中的残留风险较为常见, 因而备受关注。

某X药物每日最大剂量为100 mg, 那么原料药中所含有的芳基磺酸类基因毒性杂质的分析结果都必须小于TTC水平, 即1.5 µg/day/0.1g=15 µg/g(0.0015%)。本文首次展示使用SCIEX QTRAP®仪器特有分析技术pMRM-IDA-EPI同时对X原料药中是否含有芳基磺酸酯 (对甲基苯磺酸甲酯、对甲基苯磺酸乙酯、对甲基苯磺酸丙酯、对甲基苯磺酸异丙酯、苯磺酸甲酯、苯磺酸乙酯、苯磺酸丙酯、苯磺酸异丙酯) 进行快速筛查 (图1), 仅6 min的方法完全

满足EMA和FDA灵敏度要求。方法检测限可低至0.2 ng/mL, 仪器的灵敏度高, 拓宽了磺酸酯类基因毒性杂质测试范围。



图1. pMRM-IDA-EPI方法建立流程。

### 仪器设备

SCIEX ExionLC™液相系统 + QTRAP® 4500质谱系统



### 液相方法

色谱柱: Phenomenex Kinetex C18 (50 × 2.1mm, 2.6µm)

流动相: A相: 水 (0.1%甲酸+1 mmol/L甲酸胺)

B相: 甲醇

流速: 0.25 mL/min

柱温: 40°C;

进样量: 20  $\mu$ L

Time(min)	A (%)	B (%)
0.00	60	40
0.50	60	40
3.00	15	85
4.00	10	90
4.10	60	40
6.00	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: 60 psi

辅助气 GS2: 50 psi

源温度 TEM: 500°C

碰撞气 CAD: High

IDA-EPI设置:

扫描速度: 10000 Da/s 扫描范围: 50-250 Da

去簇电压: 40 V

碰撞能量: 30  $\pm$  15 eV

### pMRM-IDA-EPI分析方法建立

以对甲基苯磺酸甲酯为示例化合物, 对其产生的离子化形式和碎片进行解析发现 (图2), 对甲基苯磺酸甲酯主要的离子化形式为加氢峰和加铵峰, 产生的二级碎片中m/z 173、155、91这三个离子为对甲基苯磺酸酯类化合物共有结构, 可作为对其他同系物筛查时使用的离子。通过对对甲基苯磺酸甲酯质谱检测条件优化, 获得其检测MRM离子对分析参数 (表1)。

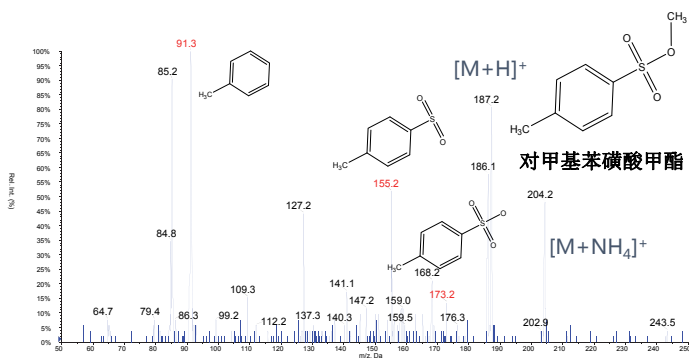


图2. 对甲基苯磺酸甲酯主要离子化形式以及二级质谱碎片图。

表1. 对甲基苯磺酸甲酯的MRM离子对。

化合物	Q1	Q3	Q1	Q3
对甲基	187.2	173.2	204.2	173.2
苯磺酸	187.2	155.2	204.2	155.2
甲酯	187.2	91.3	204.2	91.3

根据其他芳基磺酸酯类化合物结构 (图3), 按照和对甲基苯磺酸甲酯相同的二级碎片规律, 对其可能产生的MRM离子对进行预测 (表2), 并建立pMRM-IDA-EPI的方法。

表2. 芳基磺酸酯类化合物pMRM离子对。

化合物	Q1	Q3	Q1	Q3	化合物	Q1	Q3	Q1	Q3
						Q1	Q3	Q1	Q3
对甲基 苯磺酸 甲酯	187.2	91.3	204.2	173.2	苯磺 酸甲 酯	173.2	159.2	190.2	159.2
						173.2	141.2	190.2	141.2
						173.2	77.3	190.2	77.3
对甲基 苯磺酸 乙酯	201.2	91.3	218.2	173.2	苯磺 酸乙 酯	187.2	159.2	204.2	159.2
						187.2	141.2	204.2	141.2
						187.2	77.3	204.2	77.3
对甲基 苯磺酸 丙酯	215.2	91.3	232.2	173.2	苯磺 酸丙 酯	201.2	159.2	218.2	159.2
						201.2	141.2	218.2	141.2
						201.2	77.3	218.2	77.3
对甲基 苯磺酸 异丙酯	215.2	91.3	232.2	173.2	苯磺 酸异 丙酯	201.2	159.2	218.2	159.2
						201.2	141.2	218.2	141.2
						201.2	77.3	218.2	77.3

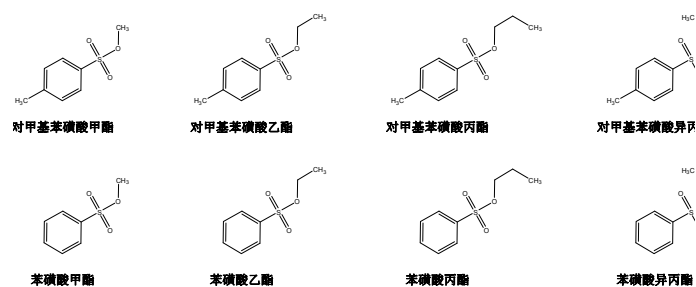


图3. 芳基磺酸酯类化合物结构。

## 实验结果

### pMRM-IDA-EPI检测结果

称量一定量的X原料药，溶解并稀释至200 µg/mL，做为样品空白溶液；另取一份200 µg/mL样品空白溶液，加入对甲基苯磺酸乙酯和对甲基苯磺酸异丙酯混合标准工作溶液至原料药空白溶液中，浓度分别为0.2 ng/mL和0.5 ng/mL，做为样品加标溶液，此溶液相当于样品中含对甲基苯磺酸乙酯和对甲基苯磺酸异丙酯的含量分别为1 µg/g 和2.5 µg/g。分别取20 µL进样进行pMRM-IDA-EPI分析，结果见图4。

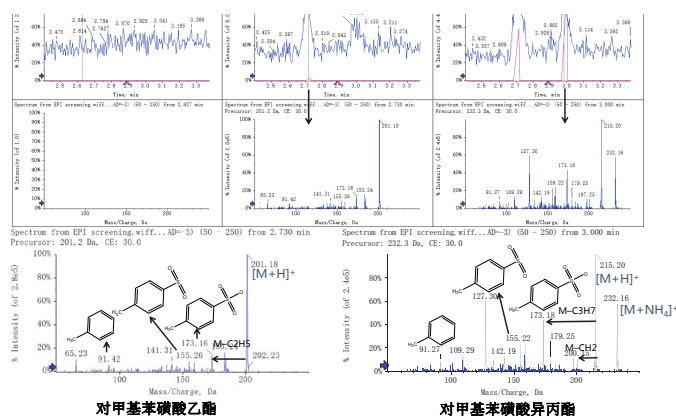


图4. 样品总离子流和IDA图，空白样品溶液中为检测到芳基磺酸酯类化合物，样品加标溶液中检测到保留时间分别为2.70 min以及3.00 min的两个化合物，根据特征碎片解析推测为对甲基苯磺酸乙酯和对甲基苯磺酸异丙酯，检出限分别为1 µg/g 和2.5 µg/g。

### 筛查结果验证

上述pMRM-IDA-EPI检测获得的二级碎片图与标准谱库图进行对比，验证结果表明，检测到保留时间分别为2.70 min以及3.00 min的两个化合物的确分别为对甲基苯磺酸乙酯和对甲基苯磺酸异丙酯。

### 总结

本文使用SCIEX QTRAP® 4500以对甲基苯磺酸甲酯为示例化合物，建立了pMRM-IDA-EPI方法对X药中基因毒性杂质中芳基磺酸酯类化合物进行筛查。结果表明，该方法的特异性好，无干扰；对甲基苯磺酸乙酯和对甲基苯磺酸异丙酯检出限分别相当于原料药中（200 µg/mL）的含量为1 µg/g 和2.5 µg/g，均低于TTC水平，满足对基因毒性杂质筛查的需求；方法实用性强，能够对多种潜在的同类化合物进行检测，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.

© 2019. 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-02-10045-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