GC-MS法同时测定盐酸苯海索片中3种杂质

史康[1]，陈学艳[2]，段军良[3]，潘峰云[3]，魏文芝[2*]［1.青海民族大学药学院，青海 西宁 810016；2.青海省药品检验检测院/国家药品监督管理局中药（藏药）质量控制重点实验室/青海省中藏药现代化研究重点实验室，青海 西宁 810016；3.中科谱研（北京）科技有限公司，北京 100096］

摘要：目的 建立了气相色谱-质谱法（GC-MS）测定盐酸苯海索片中环己烷和潜在基因毒性杂质氯代环己烷、1-环己基-1-苯乙醇。**方法** 采用VF-WAXms毛细管柱（30 m×0.25 mm，1.00 μm），载气为高纯氦气，流速为2.0 mL·min^{-1}，分流比5∶1，进样量2 μL；质谱检测器的离子源采用电子轰击（EI）离子源，选择离子检测（SIM）模式进行测定。**结果** 氯代环己烷、环己醇和1-环己基-1-苯乙醇在25～250 ng·mL^{-1}范围内线性关系良好，检测限分别为10.2、10.0、9.8 ng·mL^{-1}，定量限分别为25.4、25.0、24.5 ng·mL^{-1}，平均回收率分别为98.93%、102.93%、99.97%。**结论** 所建立的方法专属性好，灵敏度高，可以为盐酸苯海索片的质量控制提供参考。

关键词：气相色谱-质谱；盐酸苯海索；氯代环己烷；环己醇；1-环己基-1-苯乙醇

中图分类号：R917　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1674-229X（2026）04-0282-04

Doi：10.12048/j.issn.1674-229X.2026.04.006

Simultaneous Determination of Three Impurities in Trihexyphenidyl Hydrochloride Tablets by GC-MS

SHI Kang[1], CHEN Xueyan[2], DUAN Junliang[3], PAN Fengyun[3], WEI Wenzhi[2*] [1. *School of Pharmacy, Qinghai Minzu University, Xining, Qinghai* 810016, *China*; 2. *Qinghai Provincial Drug Inspection and Testing Institute/ NMPA Key Laboratory for Quality Control of Traditional Chinese Medicine (Tibetan Medicine)/ Qinghai Provincial Key Laboratory of Modernization of Traditional Chinese and Tibetan Medicine, Xining, Qinghai* 810016, *China*; 3. *Zhongke Puyan (Beijing) Technology, Beijing* 100096, *China*]

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method for the determination of cyclohexane and potential genotoxic impurities (chlorocyclohexane and 1-cyclohexyl-1-phenylethanol) in trihexyphenidyl hydrochloride tablets. **METHODS** The VF-WAXms capillary column (30 m×0.25 mm, 1.00 μm) was used. High-purity helium was used as the carrier gas at a flow rate of 2.0 mL·min^{-1}, with a split ratio of 5∶1 and an injection volume of 2 μL. The mass spectrometer was equipped with an electron ionization (EI) source and operated in the selected ion monitoring (SIM) mode for detection. **RESULTS** The results showed that chlorocyclohexane, cyclohexanol, and 1-cyclohexyl-1-phenylethanol exhibited good linear relationships in the range of 25–250 ng·mL^{-1}, with detection limits (LOD) of 10.2, 10.0 and 9.8 ng·mL^{-1}, and quantification limits (LOQ) of 25.4, 25.0 and 24.5 ng·mL^{-1}, respectively. The average recovery rates (n=6) were 98.93%, 102.93% and 99.97%, respectively. **CONCLUSION** The established method has good specificity and high sensitivity, and can serve as a reference for the quality control of trihexyphenidyl hydrochloride tablets.

KEYWORDS: GC-MS; trihexyphenidyl hydrochloride; chlorocyclohexane; cyclohexanol; 1-cyclohexyl-1-phenylethanol

盐酸苯海索（benzhexol hydrochloride）作为一种常用的抗帕金森病药物，具有中枢性抗胆碱作用，能够有效改善患者的肌肉强直和震颤症状[1-3]。其化学名称为1-环己基-1-苯基-3-（1-哌啶基）-丙醇盐酸盐，分子式为$C_{20}H_{31}NO\cdot HCl$。在其化学合成工艺中，氯代环己烷（chlorocyclohexane）、环己醇（cyclohexanol）与1-环己基-1-苯乙醇（1-cyclohexyl-1-phenylethanol）可能作为起始物料、反应中间体或降解产物存在[4]。这些杂质经评估，环己醇具有中等毒性，易残留在盐酸苯海索原料药中；氯代环己烷和1-环己基-1-苯乙醇具有潜在的基因毒性，即能够直接或间接损伤DNA，即使在微量水平也可

基金项目：2023年国家药品抽检计划

作者简介：史康，硕士研究生，研究方向：药物分析与药品质量标准制订　　*通信作者：魏文芝，硕士，主任药师，研究方向：药品质量分析、药品质量标准研究，E-mail：304436784@qq.com

能构成长期的致癌风险，因此对患者的用药安全构成严重威胁[5,6]。

近年来，国内外药品监管机构依据ICH M7等指导原则，对药物中基因毒性杂质的控制提出日益严格的要求，明确规定此类杂质需控制在毒理学关注阈值（TTC，1.5 μg·d^{-1}）以下[7]。盐酸苯海索片作为临床常用药物，其制剂基质复杂，潜在基因毒性杂质含量低（通常为10^{-6}~10^{-9}级别），常规气相色谱法难以实现有效检测[8,9]。目前，该制剂的质量标准尚未建立针对此类杂质的系统控制方法，存在安全隐患。已有研究多集中于原料药中单一杂质的检测，缺乏针对制剂中多种基因毒性杂质的同步分析方案，尤其对关键杂质1-环己基-1-苯乙醇的关注不足，尚未见相关检测方法报道[10-12]。

为此，本研究建立了一种可同步测定盐酸苯海索片中3种基因毒性杂质的GC-MS分析方法。本方法在保证高灵敏度与高选择性的基础上，实现“一法多用”，显著简化了检测流程，提高了分析效率，为该药品的质量控制与安全评估提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

7820A-5977B型气相色谱-质谱联用仪（美国Agilent公司）；BCA224I-1OCN型电子分析天平（德国Sartorius公司）。

1.2 试剂与试药

盐酸苯海索片样品（企业Ⅰ，批号：230301、230401、230402；企业Ⅱ，批号：230304、230305、221203；企业Ⅲ，批号：2212017、2212023、2212016；企业Ⅳ，批号：2302004、2303006、2210009；企业Ⅴ，批号：202301103、202301101、202212142；企业Ⅵ，批号：34221101、34221102、34221103）；氯代环己烷对照品（含量：99.9%，批号：0213-RE-0074，广州佳途科技股份有限公司）；环己醇对照品（含量：99.1%，批号：22010688，坛墨质检标准物质中心）；1-环己基-1-苯乙醇对照品（含量：95.4%，批号：AJT-019-09-A，BenPharmas公司）；乙醇（分析纯，批号：20200707，GHTECH公司）；水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱及质谱条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱：VF-WAXms毛细管柱（30 m×0.25 mm，1.00 μm）；柱温/程序升温：60 ℃保持4 min，以10 ℃·min^{-1}升温至240 ℃保持18 min；进样口温度：240 ℃；载气：高纯氦气；流速：2.0 mL·min^{-1}；分流比：5∶1；进样量：2 μL。

2.1.2 质谱条件 离子源：电子轰击（electron impact，EI）离子源；离子源温度：230 ℃；溶剂延迟时间：4 min；接口温度：240 ℃；采集模式：选择离子检测（selected ion monitoring，SIM）模式；检测离子：氯代环己烷 *m/z* 67（定量）、*m/z* 82（定性），环己醇 *m/z* 82（定量）、*m/z* 57（定性），1-环己基-1-苯乙醇 *m/z* 121（定量）、*m/z* 122（定性）。

2.2 溶液制备

空白溶剂：乙醇。混合对照品储备液：分别精密称取氯代环己烷、环己醇和1-环己基-1-苯乙醇对照品适量，各用乙醇溶解并定量稀释，制成每1 mL中含杂质氯代环己烷、环己醇和1-环己基-1-苯乙醇1.25 μg的溶液，作为混合对照品储备液。混合对照品溶液：精密量取上述混合对照品储备液适量，用乙醇稀释制成1 mL含0.125 μg的溶液，作为混合对照品溶液。供试品溶液：称取研细后供试品适量（相当于盐酸苯海索1 mg）置离心管中，加入1 mL乙醇，涡旋1 min，过滤，即得。

2.3 专属性试验

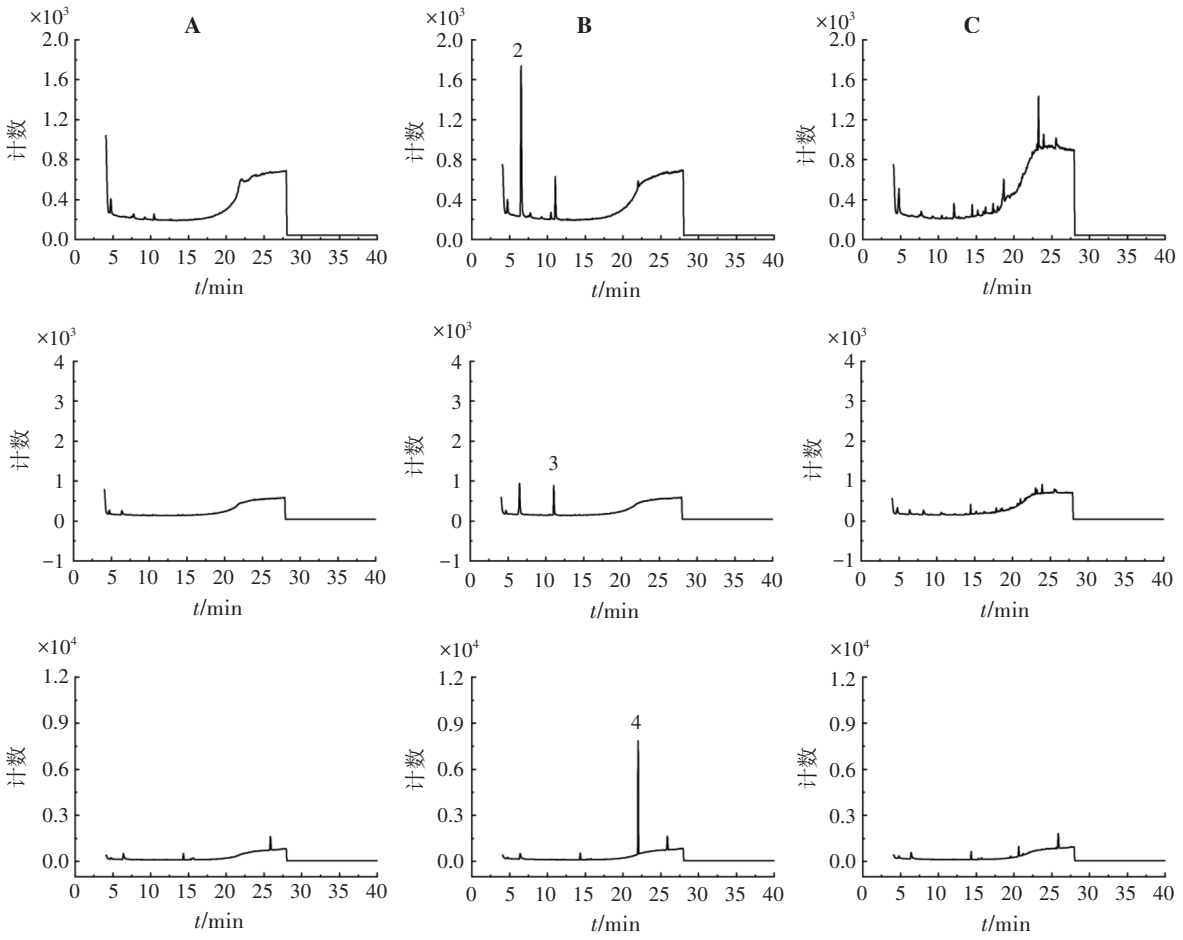
取“2.2”项下空白溶液、混合对照品溶液及供试品溶液，依照“2.1”项下设定的色谱条件进行进样检测分析，对应的典型色谱图详见图1。结果显示，空白溶剂在目标组分出峰处未观察到明显干扰，表明该方法专属性良好。

2.4 线性试验

精密量取“2.2”项下混合对照品储备液0.2、0.5、1.0、1.5和2.0 mL，分别置10 mL量瓶中，加乙醇定容至刻度，制成相当于限度20%、50%、100%、150%、200%的系列浓度标准工作溶液。依据“2.1”项下色谱条件，对上述系列浓度标准工作溶液进行分析。以各组分的质量浓度（*c*）对响应峰面积（*A*）进行线性回归，拟合得到标准曲线。所得氯代环己烷回归方程为 $A=76\,022.47c+18.10$，$r=0.999\,9$；环己醇回归方程为 $A=31\,824.60c-8.68$，$r=1.000\,0$；1-环己基-1-苯乙醇回归方程为 $A=231\,618.74c+86.51$，$r=1.000\,0$。结果显示上述3种杂质在质量浓度25~250 ng·mL^{-1}时线性关系良好。

2.5 回收试验

称取研细后供试品适量（相当于盐酸苯海索1 mg）置离心管中，分别加入“2.4”项下20%线性溶液1 mL、“2.2”项下混合对照品溶液1 mL、“2.4”项下150%线性溶液1 mL，涡旋1 min，过滤，分别作为



注：A.空白溶剂；B.对照品溶液；C.供试品溶液。上排为氯代环己烷的采集离子通道；中间排为环己醇的采集离子通道；下排为1-环己基-1-苯乙醇的采集离子通道。

图1　典型色谱图

20%、100%、150%回收率溶液，每个浓度制备3份。按“2.1”项下条件对上述回收率溶液与“2.2”项下供试品溶液进行分析，计算回收率。回收率结果见表1，结果显示，组分氯代环己烷、环己醇和1-环己基-1-苯乙醇的回收率均在80.0~120.0%之间，*RSD*均小于5%，所有结果均符合规定，验证了本方法的准确性良好。

2.6　检测限与定量限

选取“2.4”项下系列浓度标准工作溶液，经逐级稀释处理后，按照“2.1”项下规定的色谱条件进行进样分析。以信噪比（*S/N*）分别为3和10为判定依据，对应计算3种杂质的检测限（LOD）与定量限（LOQ）。结果显示，在定量限水平连续进样6次，组分氯代环己烷、环己醇和1-环己基-1-苯乙醇的峰面积*RSD*（n=6）分别为3.5%、2.3%和1.0%；各组分检测限分别为10.2、10.0、9.8 ng·mL^{-1}，定量限分别为25.4、25.0、24.5 ng·mL^{-1}，表明该方法灵敏度符合检测要求。

表1　3种杂质回收率结果汇总表

成分	低浓度回收率/%	中浓度回收率/%	高浓度回收率/%	RSD/%
氯代环己烷	99.0	98.5	97.8	1.8
	103.1	99.6	97.9	
	97.4	99.7	97.4	
环己醇	107.6	102.6	101.8	2.6
	107.5	101.9	101.2	
	101.7	101.8	100.3	
1-环己基-1-苯乙醇	103.5	98.5	97.3	3.3
	104.6	98.5	97.0	
	104.7	98.1	97.5	

2.7　重复性试验

取“2.5”项下100%加标水平的供试品溶液，依照“2.1”项下设定的色谱条件，进行6次平行测定。结果显示，组分氯代环己烷、环己醇和1-环己基-1-苯乙醇含量的*RSD*（n=6）分别为0.9%、0.6%与0.7%，均符合方法学要求，表明本方法重复性良好。

2.8 中间精密度试验

按“2.5”项下100%加标供试品溶液配制方法，100%限度加标供试品溶液平行配制6份，按“2.1”项下条件更换操作人员，在不同日期进样，记录色谱图。结果显示氯代环己烷、环己醇和1-环己基-1-苯乙醇回收率的*RSD*分别为1.4%、1.0%、0.6%，表明本方法中间精密度良好。

2.9 稳定性试验

取“2.5”项下的100%加标供试品溶液与“2.2”项下混合对照品溶液进行稳定性考察。对照品溶液分别于室温下放置0、3、10、19、26、33 h后取样；100%加标供试品溶液则分别于0、5、13、20、28 h取样。所有样品均遵循“2.1”项下既定的色谱条件开展检测分析。试验结果表明，对照品溶液在33 h内氯代环己烷、环己醇和1-环己基-1-苯乙醇峰面积的*RSD*（n=6）分别为2.2%、1.3%和2.5%，100%限度加标供试品溶液在28 h内氯代环己烷、环己醇和1-环己基-1-苯乙醇测得浓度的*RSD*（n=5）分别为1.5%、1.4%和1.1%，表明对照品溶液在室温条件下33 h内稳定性良好，100%限度加标供试品溶液在室温条件下28 h内稳定性良好。

2.10 样品检测

取6个厂家共18批样品，按“2.2”项下方法分别制备供试品与对照品溶液，再依“2.1”项下色谱条件进样测定。按外标法以峰面积计算各杂质含量，结果18批样品中均未检出组分氯代环己烷、环己醇和1-环己基-1-苯乙醇。

3 讨论

本研究前期开展方法开发工作时，曾采用气相色谱法对盐酸苯海索片中的氯代环己烷、环己醇和1-环己基-1-苯乙醇进行测定，但灵敏度较低，不能有效检出。采用气相色谱-质谱联用仪则灵敏度良好，可以满足检测要求。还分别对比了VF-WAXms、SH-Rtx-624等不同色谱柱的出峰情况，VF-WAXms效果最优，最终选择VF-WAXms色谱柱作为本研究的色谱柱。专属性、线性、精密度、准确度、稳定性及耐用性等所有验证指标，均满足分析方法的要求。该方法成功用于18批样品的检测，所有批次中中等毒性杂质环己醇和基因毒性杂质氯代环己烷和1-环己基-1-苯乙醇均未检出，此结果证实了生产工艺能稳定、较彻底地去除上述组分。综上，本研究建立的GC-MS法检测盐酸苯海索片中的氯代环己烷、环己醇和1-环己基-1-苯乙醇可为盐酸苯海索片的安全性研究和质量控制提供参考。

参考文献

[1] 程韦豪，李佩珊，季静，等. 平颤舒筋汤联合盐酸苯海索对帕金森病患者认知功能及多巴胺功能的影响[J]. 中国药业，2023，32(23)：118-122.

[2] 闫荟如. 盐酸苯海索联合吡贝地尔治疗帕金森病的疗效及对其肢体感觉和神经功能的影响[J]. 中国实用医药，2022，17(9)：141-143.

[3] 李简书. 盐酸苯海索联合司来吉兰治疗帕金森病患者的效果[J]. 福建医药杂志，2024，46(3)：49-52.

[4] 王云，朱建伟. 化学合成原料药起始物料的选择原则[J]. 中国医药工业杂志，2022，53(5)：728-734.

[5] 李九龙，吴威，李倩倩，等. 氯代环己烷合成反应安全风险评估[J]. 山东化工，2025，54(16)：147-149.

[6] 汪生，杭太俊. 药物中基因毒性杂质检测策略的研究[J]. 中国新药杂志，2019，28(23)：2840-2846.

[7] International Conference on Harmonization. Assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk[EB/OL]. (2020-03-23)[2024-06-01]. https://www.Ema.Europa.eu/en/documents/scientific-guideline/internationalconference-harmonisation-technical-requirements-registration pharmaceuticals-human-use_en-0.pdf.

[8] 张霁，张英俊，聂飚. 药物研发中基因毒性杂质的控制策略与方法探索进展[J]. 中国医药工业杂志，2018，49(9)：1203-1220.

[9] 谢含仪，林云良，张瑞凌，等. 基因毒性杂质分析方法和前处理技术的研究进展[J]. 药物分析杂志，2018，38(10)：1668-1676.

[10] 贝红霞，梁中卫，孔凯丽，等. 气相色谱法测定盐酸苯海索中潜在基因毒性杂质[J]. 广东化工，2020，47(18)：160-161.

[11] 黄巧燕，孔凯丽，张静平. 气相色谱法测定盐酸苯海索中环己醇杂质[J]. 山东化工，2022，51(2)：109-111.

[12] 殷丽宁，张煜，胡一桥，等. GC-MS法测定盐酸苯海索原料药中遗传毒性杂质氯代环己烷[J]. 中国药科大学学报，2022，53(1)：79-85.

（收稿日期：2026-01-08；在线出版日期：2026-03-10）