

# 衍生化-顶空气相色谱法测定甲硫酸新斯的明原料药中基因毒性杂质硫酸二甲酯

吴频平<sup>1</sup>, 夏小菊<sup>2</sup>, 王小青<sup>2</sup>, 赵昕钰<sup>3</sup>, 刘淇<sup>4</sup>, 郑金琪<sup>1\*</sup> (1. 浙江省食品药品检验研究院, 浙江省药品接触材料质量控制研究重点实验室, 国家药品监督管理局仿制药评价关键技术重点实验室, 杭州 310052; 2. 浙江海昇药业股份有限公司, 浙江 衢州 324004; 3. 浙江工业大学, 杭州 310014; 4. 杭州医学院, 杭州 310053)

**摘要:**目的 建立一种新的衍生化顶空-气相色谱-FID法测定甲硫酸新斯的明原料药中硫酸二甲酯的残留量。方法 筛选多种衍生化方法并进行优化,采用正丁醇作为衍生剂,50℃条件下与硫酸二甲酯进行甲基化反应,生成1-甲基正丁醚;选用DB-624(0.32 mm×30 m,1.8 μm)为色谱柱,程序升温,起始温度为40℃,维持8 min,以30℃·min<sup>-1</sup>的升温速率升温至220℃,保持2 min;以氮气为载气;流速为2.0 mL·min<sup>-1</sup>;采用FID检测器,进样口温度为200℃;检测器温度为230℃。**结果** 甲硫酸新斯的明对硫酸二甲酯的检测无假阳性干扰,硫酸二甲酯在6.066~151.7 μg·mL<sup>-1</sup>内线性关系良好( $r^2=0.9999$ ),硫酸二甲酯的平均回收率为99.9%,相对标准偏差(RSD)为2.6%( $n=9$ )。经检测,3批原料药中均未检出硫酸二甲酯。**结论** 本方法专属性好、操作简便、准确度高,适用于甲硫酸新斯的明原料药中硫酸二甲酯基因毒性杂质的检测。

**关键词:**甲硫酸新斯的明;硫酸二甲酯;甲基化;气相色谱

doi:10.11669/cpj.2024.19.011 中图分类号:R917 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2024)19-1868-06

## Determination of Genotoxic Impurity Dimethyl Sulfate in Neostigmine Methylsulfate Bulk Drug by Derivatization HS-GC-FID

WU Pinping<sup>1</sup>, XIA Xiaoju<sup>2</sup>, WANG Xiaoqing<sup>2</sup>, ZHAO Xinyu<sup>3</sup>, LIU Qi<sup>4</sup>, ZHENG Jinqi<sup>1\*</sup> (1. NMPA Key Laboratory for Core Technology of Generic Drug Evaluation, Key Laboratory of Drug Contacting Material Quality Control of Zhejiang Province, Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310052, China; 2. Zhejiang Haisheng Pharmaceutical Co., Ltd., Quzhou 321004, China; 3. Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 4. Hangzhou Medical College, Hangzhou 310053, China)

**ABSTRACT OBJECTIVE** To establish a new derivatization headspace gas chromatography-flame ionization detection (HS-GC-FID) method to detect the residual amount of dimethyl sulfate in neostigmine methylsulfate bulk drug. **METHODS** Various derivatization methods were screened and then optimized. *n*-Butanol was used as the derivatization agent and methylated with dimethyl sulfate at the temperature of 50 °C, producing the derivatization product methyl *n*-butyl ether. The analytical column was DB-624 (0.32 mm×30 m, 1.8 μm). The column temperature was maintained at 40 °C, holding for 8 min, then was raised to 220 °C at the rate of 30 °C·min<sup>-1</sup>, holding for 2 min. The flow rate of carrier gas nitrogen was 2.0 mL·min<sup>-1</sup>. The detection was achieved in FID with the injection port temperature of 200 °C and the detector temperature of 230 °C. **RESULTS** Neostigmine methylsulfate showed no false positive interference with the detection of dimethyl sulfate. The calibration curve of dimethyl sulfate had good linearity over the range of 6.066 to 151.7 μg·mL<sup>-1</sup> ( $r^2=0.9999$ ). The average recovery of dimethyl sulfate was 99.9%, and the RSD was 2.6% ( $n=9$ ). **CONCLUSION** This method exhibits good specificity, simplicity, and high accuracy, and it can be used for the determination of genotoxic impurity dimethyl sulfate in neostigmine methylsulfate bulk drug.

**KEY WORDS:** neostigmine methylsulfate; dimethyl sulfate; methylation; gas chromatography

甲硫酸新斯的明为白色结晶性粉末,是一种可逆性胆碱酯酶抑制剂,常以注射给药,临床上主要用于重症肌无力<sup>[1-2]</sup>、急性结肠假性梗阻<sup>[3-4]</sup>与

尿潴留<sup>[5]</sup>等。硫酸二甲酯(DMS)是药物合成中常用的甲基化试剂<sup>[6]</sup>,会作为起始原料参与原料药的合成反应。硫酸二甲酯作为甲基化试剂能与

作者简介:吴频平,女,硕士,主管药师 研究方向:药物质量标准研究  
Tel:(0571)86459422

\* 通讯作者:郑金琪,男,博士,研究员 研究方向:药物质量标准研究

DNA 碱基对上具有氮位点核酸结合,进行碱基对的替代,从而引起碱基对中断或重排,具有潜在的遗传毒性和致癌性<sup>[7-10]</sup>。根据现有合成工艺,甲硫酸新斯的明原料药中可能残留有基因毒性杂质硫酸二甲酯。目前甲硫酸新斯的明收载在《美国药典》《中国药典》和《日本药局方》,但是现行标准对于硫酸二甲酯的控制和检测均未有报道,根据欧洲药事管理局和美国食品药品监督管理局的法规要求,基因毒性杂质的毒理学关注阈值(threshold of toxicological concern, TTC)限度为 $1.5 \mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$ <sup>[11-12]</sup>,甲硫酸新斯的明每日最大摄入量为5 mg,因此,推算出甲硫酸新斯的明中硫酸二甲酯的最大可接受限度约为0.03%。为了确保甲硫酸新斯的明原料药中硫酸二甲酯浓度降低至可接受水平,对其进行有效监控至关重要。

由于硫酸二甲酯具有挥发性,常用气相色谱(GC)法进行测定<sup>[13-16]</sup>。硫酸二甲酯理化性质比较活泼,其原型在溶液状态下不稳定,在加热条件下易分解生成甲醇<sup>[17]</sup>,直接测定会导致结果不准确,由于硫酸二甲酯是甲基化试剂,因此可以采用衍生化方法进行测定。Petha 等<sup>[18]</sup>,采用碱性条件下硫酸二甲酯与丁醇发生烷基化反应,通过顶空气相色谱-质谱联用法测定己唑醇中的硫酸二甲酯残留量。Anerao 等<sup>[19]</sup>将硫酸二甲酯与苯酚钠进行衍生化反应生成茴香醚,建立并验证了一种灵敏的柱前衍生顶空气相色谱法(HS-GC)测定甲氧沙林活性药物成分中硫酸二甲酯杂质的方法。Grinberg 等<sup>[20]</sup>将硫酸二甲酯与二苯并氮杂进行衍生化反应生成 *N*-甲基衍生物,通过液相色谱质谱联用(LC-MS)法检测原料药美托洛尔中痕量的硫酸二甲酯。参考 Petha 等<sup>[18]</sup>衍生化方法,对衍生化方法进行探索过程中发现,甲硫酸新斯的明在碱性条件下加热,甲硫酸基团会发生电离释放出来,同时参与甲基化反应生成目标衍生化产物,干扰目标物检测,出现假阳性结果。因此,为了解决以上问题,需要建立专属性更好的检测方法来实现甲硫酸新斯的明原料药中硫酸二甲酯的检测。本实验建立了一种新的衍生化-气相色谱法对甲硫酸新斯的明原料药中基因毒性杂质硫酸二甲酯进行检测并完成了方法学验证。硫酸二甲酯在中性条件下加热与正丁醇发生甲基化反应,生成衍生化产物 1-甲基正丁醚,而甲硫酸新斯的明中的甲硫酸基团在中性条件下不干扰衍生化反应的进行,生成的衍生化产物性质稳定,在气相色谱上具有较

好的响应,通过间接测定衍生化产物能够准确测定残留的硫酸二甲酯,本方法具有专属性强、稳定性好、准确性高的优点,为相关企业监测原料药中硫酸二甲酯提供了参考方法。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Agilent 7890 气相色谱仪、DB-624 毛细管柱(0.32 mm × 30 m, 1.8 μm)(美国安捷伦公司)、METTLER TOLEDO XPE205 电子天平(瑞士梅特勒公司)。

### 1.2 试剂

硫酸二甲酯[批号:MOURR6KA,纯度:99%,萨恩化学技术(上海)有限公司];1-甲基正丁醚(批号:K2222260,纯度:99%,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);*N,N*-二甲基甲酰胺、正丁醇、甲醇、甲苯、异丙醇、丙酮均为色谱纯;乙酸乙酯为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 顶空平衡条件及衍生化条件

顶空瓶平衡温度:70 °C;定量环温度:80 °C;传输线温度:90 °C;平衡时间:20 min,GC 循环时间:26 min;顶空瓶辅助加压:103.42 kPa;进样量:1.0 mL。

衍生化条件:烘箱温度 50 °C,时间 3 h。

### 2.2 气相色谱-FID 条件

GC 采用氮气(纯度 ≥ 99.99%)为载气,流速为 $2.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,分流比为 5:1。柱温箱升温程序:起始温度为 40 °C,维持 8 min,以 $30 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的升温速率升温至 220 °C,保持 2 min。采用 FID 检测器,进样口温度为 200 °C;检测器温度为 230 °C。

### 2.3 溶液的配制

对照品溶液:取硫酸二甲酯对照品适量,用正丁醇制成每 1 mL 中约含 30 μg 的溶液,取 1.0 mL,加 *N,N*-二甲基甲酰胺 1.0 mL、正丁醇 3.0 mL,置同一 20 mL 顶空瓶中,轧盖密封。

供试品溶液:精密称取本品约 1.0 g,置 10 mL 量瓶中,加 *N,N*-二甲基甲酰胺溶解并稀释至刻度,摇匀,取 1.0 mL,加正丁醇 4.0 mL,置同一 20 mL 顶空瓶中,轧盖密封。

空白溶液:量取 *N,N*-二甲基甲酰胺 1.0 mL 和正丁醇 4 mL,置同一 20 mL 顶空瓶中,轧盖密封。

## 2.4 专属性实验

取“2.3”项下对照品溶液、供试品溶液、空白溶液,另配制一定浓度1-甲基丁醚定位溶液,按“2.1”“2.2”项下衍生化处理条件及顶空 GC-FID 条件进行分析,气相色谱图见图1。实验结果表明空白溶剂无干扰。硫酸二甲酯与正丁醇发生 SN2 反应生成1-甲基丁醚,反应机制见图2,参考的文献衍生化方法中,通过质谱解析已对硫酸二甲酯衍生化产物作结构确证,为1-甲基丁醚,通过气相色谱图可以看出,硫酸二甲酯衍生物峰与1-甲基丁醚定位溶液峰在气相色谱图上出峰位置一致,因此,此衍生化反应生成的硫酸二甲酯衍生化产物为1-甲基丁醚。甲硫酸新斯的明原药中可能残留有其他有机溶剂,为考察方法的专属性,对可能残留的甲醇、丙酮、异丙醇、乙酸乙酯、甲苯与硫酸二甲酯配成一定浓度的定位溶液,在选定的色谱条件下测定,结果见图3,硫酸二甲酯衍生化产物1-甲基丁醚与甲醇、丙酮、异丙醇、乙酸乙酯、甲苯等保留时间不同,各组分分离良好,这些有机溶剂的存在不会干扰硫酸二甲酯的检出,此方法专属性良好。

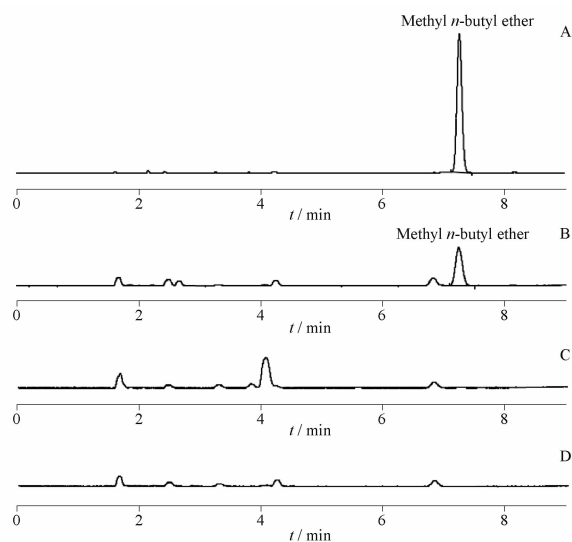


图1 1-甲基丁醚定位溶液(A)、对照品溶液(B)、供试品溶液(C)和空白溶液(D)典型气相色谱图

Fig. 1 Typical GC chromatograms of methyl *n*-butyl ether solution (A), reference solution (B), sample solution (C) and blank solution (D)

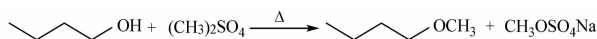


图2 硫酸二甲酯衍生化反应机制图

Fig. 2 Mechanism diagram of dimethyl sulfate derivatization reaction

## 2.5 检测限与定量限

取“2.3”项下对照品溶液加正丁醇适当稀释,按“2.1”“2.2”项下衍生化处理条件及顶空 GC-FID 条件进行分析,当信噪比(S/N)  $\geq 3$  时的浓度作为检测限溶液,当 S/N  $\geq 10$  时的浓度作为定量限溶液,测得硫酸二甲酯检测限浓度为  $3.033 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  (S/N = 6.9),相当于供试品溶液浓度的 0.003%,定量限浓度为  $6.066 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  (S/N = 11.4),相当于供试品溶液浓度的 0.006%,灵敏度可以满足硫酸二甲酯限度为 0.03% 的检测要求。

## 2.6 线性与范围

取硫酸二甲酯对照品适量,按“2.3”项下方法制成系列浓度对照品溶液,得到待测物质量浓度分别为  $6.066, 15.17, 24.26, 30.33, 36.40, 45.50, 60.66, 151.17 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液。按“2.1”“2.2”项下条件衍生化后用顶空 GC-FID 进行分析。以峰面积为纵坐标(y),浓度为横坐标(x)绘制标准曲线,计算线性方程和相关系数,得到  $y = 0.6561x + 0.4287$  ( $r^2 = 0.9998$ ),表明硫酸二甲酯在  $6.066 \sim 151.7 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  内线性关系良好。

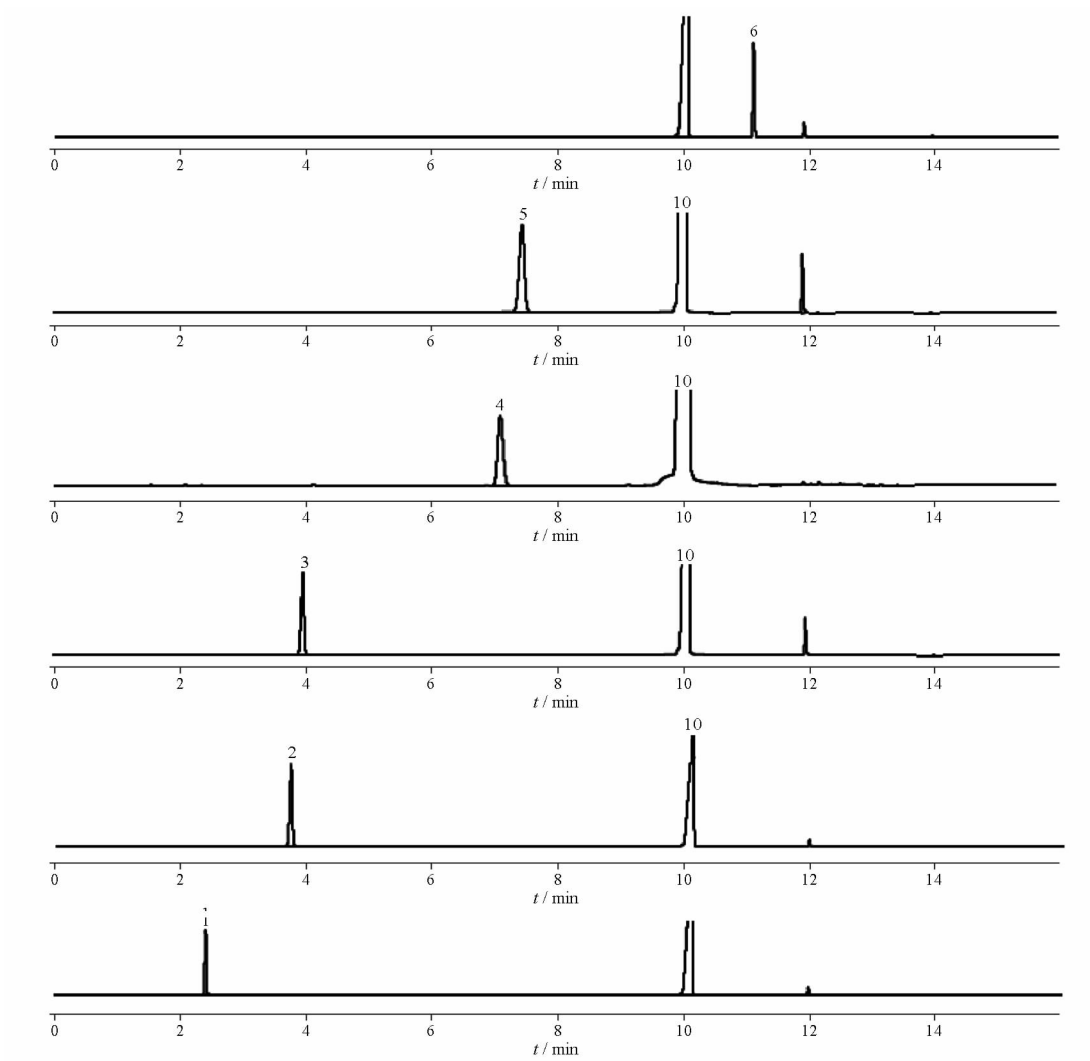
## 2.7 回收率

取硫酸二甲酯对照品适量,用正丁醇配制成质量浓度约为  $150, 300, 450 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  对照品加标溶液。取甲硫酸新斯的明样品(批号:J210602)1.0 g,置10 mL量瓶中,加入硫酸二甲酯  $150, 300, 450 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  对照品加标溶液 1.0 mL,加 *N,N*-二甲基甲酰胺溶解并稀释至刻度,摇匀。3个浓度水平分别平行制备3份。按“2.1”“2.2”项下分析条件衍生化后进行 GC-FID 分析,按“2.6”项下线性方程计算。甲硫酸新斯的明样品中硫酸二甲酯回收率结果见表1,平均回收率为 99.9% (RSD = 2.6%,  $n = 9$ ),表明该方法回收率较好。

## 2.8 重复性与稳定性实验

取甲硫酸新斯的明样品(批号:J210602),按“2.7”项下方法配制供试品 100% 限度加标溶液,平行制备6份,按“2.1”“2.2”项下条件衍生化后用 GC-FID 分析,平行测定6次,6份甲硫酸新斯的明样品中硫酸二甲酯的加标回收率平均值为 97.7% (RSD = 0.74%,  $n = 6$ ),表明重复性较好。

同法,另外同法制备5份100%限度加标溶液,供试品溶液于室温下放置 0、4、9、12、17 h,再按“2.1”“2.2”项下的分析条件进行 GC-FID 分析,结果硫酸二甲酯的测定结果峰面积变化均



1 - 甲醇; 2 - 丙酮; 3 - 异丙醇; 4 - 1-甲基丁醚; 5 - 乙酸乙酯; 6 - 甲苯。

1 - methanol (1); 2 - acetone; 3 - isopropanol; 4 - Methyl *n*-butyl ether; 5 - ethyl acetate; 6 - toluene.

图3 硫酸二甲酯衍生物及其他有机溶剂色谱图

Fig. 3 Dimethyl sulfate derivative and other organic solvent chromatograms

表1 甲硫酸新斯的明中硫酸二甲酯的回收率 ( $n=9$ )

Tab. 1 Recovery of dimethyl sulfate in neostigmine methylsulfate ( $n=9$ )

Number	Limit /%	$\rho$ (Added) / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	$\rho$ (Found) / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Recovery /%	Average recovery /%	Total average recovery /%	RSD /%
1	50	15.17	15.62	103.0	102.0	99.9	2.6
2	50	15.17	15.20	100.2			
3	50	15.17	15.59	102.8			
4	100	30.33	29.30	96.6	97.8		
5	100	30.33	29.81	98.3			
6	100	30.33	29.89	98.5			
7	150	45.50	44.01	96.7	96.6		
8	150	45.50	43.88	96.5			
9	150	45.50	43.89	96.5			

不大于 1.3%, 与 0 h 的测定结果无明显差异, 表明供试品溶液在 17 h 内稳定较好。

## 2.9 耐用性实验

取甲硫酸新斯的明样品(批号: J210602), 按

“2.7”项下方法配制供试品 100% 限度加标溶液,分别考察进样口温度(200 ± 10) °C、流速(2.0 ± 0.2) mL · min<sup>-1</sup>,计算加标样品溶液中各硫酸二甲酯的回收率。试验结果表明在上述检测条件下,硫酸二甲酯加标回收率均在 90% ~ 110% 范围内,证明了该方法的耐用性良好。

### 2.10 样品测定

按“2.3”项下方法配制供试品溶液,取供试品溶液按“2.1”“2.2”项下的条件衍生化后用 GC-FID 分析,对 3 批样品中基因毒性杂质硫酸二甲酯进行测定,均未检出,结果均符合要求,表明甲硫酸新斯的明原料药生产企业在生产工艺对基因毒性杂质硫酸二甲酯控制良好。

## 3 讨论

本方法参考 Petha 等<sup>[18]</sup> 衍生化方法,改为采用 GC-FID 法进行检测,灵敏度也可以达到测定要求(限度要求 0.03%)。结果发现,采用氢氧化钠-正丁醇作为衍生化试剂,甲硫酸新斯的明在碱性条件下加热,甲硫酸基团会电离出来与正丁醇同样发生甲基化反应,也生成 1-甲基正丁醚,出现假阳性结果,干扰目标物检测。因此,为了避免甲硫酸新斯的明对硫酸二甲酯检测的干扰,本实验分别考察了氢氧化钠溶液-正丁醇、碳酸钠水溶液-正丁醇、无水碳酸钠的正丁醇饱和溶液、正丁醇等作为衍生化试剂对衍生化反应的影响,结果表明,在强碱和弱碱条件下衍生化反应,甲硫酸新斯的明均有干扰,最终选择采用以正丁醇作为衍生化试剂,中性条件下直接加热进行衍生化反应,实验结果表明,甲硫酸新斯的明对硫酸二甲酯的检测无干扰,具有较好的选择性,且灵敏度可满足测定要求。

因衍生化反应受衍生化的条件影响,因此,对衍生化条件中的温度、时间和衍生化试剂加入量分别进行了考察。在其他条件相同的情况下,试验分别考察了不同衍生化温度 40、50、60、70 °C 对衍生化效率的影响,结果表明,由于硫酸二甲酯自身稳定性差,温度过高会分解,影响衍生化效率;温度低,转换速率慢,反应需要的时间长,最后选择 50 °C 作为衍生化的温度。在其他条件相同的情况下,进一步考察不同衍生化时间的影响,分别考察了 0、0.5、1、2、3、4 h,实验结果显示,衍生化反应在 3 h 已经达到平衡,继续增加衍生化时间,生成的衍生化产物面积基本不变,最终选择 3 h 为衍生化的时间。以加入

300 μg · mL<sup>-1</sup> 硫酸二甲酯对照品溶液 1 mL 为研究对象,考察了衍生化试剂正丁醇加入量为(1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL)对硫酸二甲酯衍生化效果的影响,试验结果表明,随着正丁醇加入量(1.0、2.0 mL)变大,衍生化产物转换产率变高,而继续增加衍生化试剂的加入量,衍生化产率基本不变,考虑到硫酸二甲酯不稳定,为保证衍生化反应进行完全,最终选择加入稍过量的正丁醇(3.0 mL)进行衍生化反应。

硫酸二甲酯是合成甲硫酸新斯的明原料药过程中产生的潜在杂质,对于硫酸二甲酯检测的研究在相关文献中已有报道,但是这些方法不适用于在甲硫酸新斯的明原料药中检测硫酸二甲酯。本研究建立了一种衍生化 HS-GC-FID 法测定甲硫酸新斯的明中硫酸二甲酯并进行了方法学验证,满足基因毒性杂质硫酸二甲酯在甲硫酸新斯的明原料药中的毒理学检测浓度的要求(根据 ICH 指导原则,硫酸二甲酯的 TTC 为 1.5 μg · d<sup>-1</sup>)。该方法在硫酸二甲酯质量浓度为 6.066 ~ 151.7 μg · mL<sup>-1</sup> 时线性关系良好( $r^2 = 0.9999$ ),检测限为 3.03 μg · mL<sup>-1</sup>,相当于样品浓度 0.003%,杂质硫酸二甲酯低、中、高浓度的样品加标回收率分别为 102.0%、97.8%、96.6%,总平均回收率为 99.9%,RSD = 2.6%( $n = 9$ )。对 3 批次原料药进行测定,结果均未检出硫酸二甲酯,表明甲硫酸新斯的明原料药生产企业在生产工艺环节对硫酸二甲酯杂质控制良好。本方法操作简单,稳定性高,专属性强,准确性好,可应用于甲硫酸新斯的明原料药中残留的硫酸二甲酯的测定,为原料药中基因毒性杂质的控制提供了有利的控制方法。

## REFERENCES

- [1] LUO J, CHEN S, MIN S, *et al.* Reevaluation and update on efficacy and safety of neostigmine for reversal of neuromuscular blockade [J]. *Ther Clin Risk Manag*, 2018, 14: 2397-2406.
- [2] KHETERPAL S, VAUGHN M T, DUBOVOY T Z, *et al.* Sugammadex versus neostigmine for reversal of neuromuscular blockade and postoperative pulmonary complications (Stronger) a multicenter matched cohort analysis [J]. *Anesthesiology*, 2020, 132(6): 1371-1381.
- [3] İLBAN Ö, ÇİÇEKÇİ F, ÇELİK J B, *et al.* Neostigmine treatment protocols applied in acute colonic pseudo-obstruction disease: a retrospective comparative study [J]. *Turk J Gastroenterol*, 2019, 30(3): 228-233.
- [4] SMEDLEY L W, FOSTER D B, BARTHOL C A, *et al.* Safety and efficacy of intermittent bolus and continuous infusion neostigmine for acute colonic pseudo-obstruction [J]. *J Intensive Care*

- Med, 2020, 35(10): 1039-1043.
- [ 5 ] TAN Z, ZHU X, LI B, *et al.* Meta-analysis of effectiveness of moxibustion in treatment of postoperative urinary retention [J]. *World J Acupunct Moxib*, 2016, 26(1): 64-70.
- [ 6 ] SELVA M, PEROSA A. Green chemistry metrics: a comparative evaluation of dimethyl carbonate, methyl iodide, dimethyl sulfate and methanol as methylating agents [J]. *Green Chem*, 2008, 10(4): 457-464.
- [ 7 ] HOFFMANN G R. Genetic effects of dimethyl sulfate, diethyl sulfate, and related compounds [J]. *Mutat Res*, 1980, 75(1): 63-129.
- [ 8 ] MCGHEE J D, FELSENFELD G. Reaction of nucleosome DNA with dimethyl sulfate [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76(5): 2133-2137.
- [ 9 ] EICHLER D R, PAPADANTONAKIS G A. Activation barriers for methylation of DNA bases by dimethyl sulfate [J]. *Chem Phys Lett*, 2017, 689: 8-14.
- [10] ZHANG X, WANG Z, TANG X, *et al.* An accidental exposure to dimethyl sulfate[J]. *Clin Toxicol*, 2019, 57(8): 748-749.
- [11] IARC. Dimethyl sulfate, IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, World Health Organization International Agency for Research on Cancer[EB/OL]. (1999-09-07) [2024-4-11]. 1999: 575-588. <https://publications.iarc.fr/publications/media/download/2304/b19fb249b578f7df1541ca3565b874c1088773ab.pdf>.
- [12] ICH. M7(R1). Assessment and control of DNA reactive (Mutagenic) impurities in pharmaceuticals of limit potential carcinogenic risk [EB/OL]. 2017:84-87 (2017-03-31) [2024-4-11]. [https://database.ich.org/sites/default/files/M7\\_R1\\_Guideline.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/M7_R1_Guideline.pdf).
- [13] SCHÄFER C, ZÖLLNER P. Determination of trace levels of dimethyl sulfate in the presence of monomethyl sulfate by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1289: 139-144.
- [14] RAHMAN M H A, GULLICK D R, HOERNER J, *et al.* Determination of genotoxic impurities monomethyl sulfate and dimethyl sulfate in active pharmaceutical ingredients [J]. *Anal Methods*, 2017, 9(7): 1112-1118.
- [15] PERLA G, GANDHI H M, JAGADEESH N, *et al.* Method development and validation of dimethyl sulphate content in esomeprazole magnesium drug substance by GC-MS [J]. *J Appl Pharm Sci Res*, 2023, 6(2): 8-15.
- [16] LI C X, CHEN Y, XIA X H. Trace determination of dimethyl sulfate in clopidogrel bisulfate by GC-MS [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2022, 39(7): 942-945.
- [17] DENG G F, YAO T W. Determination of dimethyl sulphateresidual in granisetron hydrochloride by headspace gas chromatography [J]. *J Zhejiang Univ Med Sci* (浙江大学学报 医学版), 2008, 37(2): 156-158.
- [18] PETHA N H, LOKHANDE R S, SESHADRI D T, *et al.* Determination of residual dimethyl sulfate in hexaconazole technical (fungicide) by head space gas chromatography mass spectrometry [J]. *Microchem J*, 2017, 133: 506-509.
- [19] ANERAO A, PATIL B, PRADHAN N. Determination of residual dimethyl sulfate in methoxsalen drug substance by pre-column derivatization with static headspace gas chromatography [J]. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2018, 10(8): 84-89.
- [20] GRINBERG N, ALBU F, FANDRICK K, *et al.* Assay at low ppm level of dimethyl sulfate in starting materials for API synthesis using derivatization in ionic liquid media and LC-MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2013, 75: 1-6.

(收稿日期:2024-04-02)