

UPLC-MS 法测定注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸中高丝氨酸内酯

张水红, 孙 琰, 吴 琦, 季秀美*

连云港市食品药品检验检测中心, 江苏 连云港 222006

摘要: 目的 建立超高效液相色谱-质谱联用(UPLC-MS)法测定注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸中高丝氨酸内酯。方法 采用 Waters ACQUITY XSelect HSS T3 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流动相为 5 mmol/L 甲酸铵水溶液-乙腈(98:2); 柱温: 30 ℃; 体积流量: 0.3 mL/min; 样品室温度: 10 ℃; 进样量: 2 μL。质谱检测器采用电喷雾离子源(ESI)正离子模式; 采集离子: 102.0; 毛细管电压: 0.8 kV; 孔电压: 15 V。结果 高丝氨酸内酯在 0.102 3~20.460 0 ng 与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 8$)。平均回收率为 100.91%, RSD 值为 3.39% ($n=9$)。结论 方法专属性强、灵敏度高、准确度高, 为注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸的质量控制提供参考。

关键词: 注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸; 高丝氨酸内酯; 超高效液相色谱-质谱联用

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2025)10-2494-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.10.010

Determination of homoserine lactone in Ademetionine 1,4-Butanedisulfonate for injection by UPLC-MS

ZHANG Shuihong, SUN Yan, WU Qi, JI Xiumei

Food and Drug Control Center of Lianyungang City, Lianyungang 222006, China

Abstract: Objective To establish a method for determining homoserine lactone in Ademetionine 1,4-Butanedisulfonate for injection by ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-MS) method. **Methods** The chromatography was performed on Waters ACQUITY XSelect HSS T3 column (100 mm × 2.1mm, 1.8 μm) with a mobile phase of 5 mmol/L ammonium formate aqueous solution - acetonitrile (98 : 2). The flow rate was 0.3 mL/min, the column temperature was 30 ℃, the sample chamber temperature was 10 ℃, and the injection volume was 2 μL. Mass spectrometry detection employed an electrospray ionization (ESI) source in positive ion mode, with selected ion monitoring at m/z 102.0, capillary voltage: 0.8 kV, and pore voltage: 15 V. **Results** The concentration of homoserine lactone showed good linearity within the range of 0.102 3 — 20.460 0 ng ($r = 0.999\ 8$). The average recovery rate was 100.91% with an RSD value of 3.39% ($n = 9$). **Conclusion** This method is specific, accurate, and sensitive, providing a reference for the quality control of Ademetionine 1,4-Butanedisulfonate for injection.

Key words: 1,4-Butanedisulfonate for injection; homoserine lactone; UPLC-MS

注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸作为重要的甲基供体, 在肝胆疾病治疗、抑郁症缓解、骨关节炎改善方面具有显著临床价值, 其药理作用机制涉及转甲基化、转硫化和氨基丙基转移等关键代谢通路。丁二磺酸腺苷蛋氨酸中活性成分为 *S*-腺苷蛋氨酸, 其最主要的失活反应是通过氨基酸链上的羧基氧对 γ -碳原子进行分子内亲核攻击, 从而裂解形成 5'-甲硫腺苷和高丝氨酸内酯, 随后内酯水解^[1-3]。目前《中国药典》2025 年版未收载丁二磺酸腺苷蛋氨酸

及其制剂, 已有的相关文献仅报道了 HPLC 法测定丁二磺酸腺苷蛋氨酸中 *S*-腺苷-*L*-高半胱氨酸、腺嘌呤、甲硫腺苷 3 种杂质^[4-6]和亲水作用色谱质谱联用测定杂质脱羧腺苷蛋氨酸和甘氨酸腺苷蛋氨酸^[7], 对于紫外吸收较弱或无紫外吸收的杂质研究较少。高丝氨酸内酯因分子结构中缺乏紫外吸收基团, 传统的高效液相色谱-紫外检测法(HPLC-UV)难以对其定量分析, 而现有研究多针对微生物菌群中高丝氨酸内酯信号分子的检测^[8-10]。因此本研究基于

收稿日期: 2025-04-09

作者简介: 张水红, 女, 主管药师, 硕士, 主要从事药品质量研究。E-mail: shuihongzhang@yeah.net

*通信作者: 季秀美, 女, 主管药师, 硕士, 主要从事药品质量研究。E-mail: jixiumeixn@163.com

液相色谱-质谱联用技术(LC-MS/MS),建立了注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸中高丝氨酸内酯的痕量检测方法,并进行方法学验证评估其可靠性,以期注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸的质量控制、稳定性评价和降解机制研究提供可靠分析工具,同时为同类非紫外吸收杂质分析方法的开发提供参考。

1 仪器与试剂

Waters H-CLASS 超高效液相色谱仪(美国沃特世公司),BP211D 型电子分析天平(十万分之一,德国赛多利斯公司)。

L-高丝氨酸内酯盐酸盐[(*S*)- α -氨基- γ -丁内酯盐酸盐]对照品,批号 I1812029,质量分数 99.64%,阿拉丁公司。乙酸铵,色谱纯,阿拉丁公司;乙腈,色谱纯,赛默飞世尔科技公司;注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸,规格 0.5 g,正大天晴药业股份有限公司,批号分别为 220629148、230408148、240507148。水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Waters ACQUITY XSelect HSS T3 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m);流动相为 5 mmol/L 甲酸铵水溶液-乙腈(98:2);柱温:30 $^{\circ}$ C;体积流量:

0.3 mL/min;样品室温度:10 $^{\circ}$ C;进样量:2 μ L。

2.2 质谱条件

电喷雾离子源(ESI)正离子模式,SIR 模式;采集时间:0~10 min;采集离子:102.0;毛细管电压:0.8 kV;孔电压:15 V。

2.3 溶液的制备

空白溶剂:水。对照品贮备液:取 *L*-高丝氨酸内酯盐酸盐对照品约 7.5 mg,置 100 mL 量瓶中,加水适量使溶解,用水稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液。对照品溶液:精密量取 1 mL *L*-高丝氨酸内酯盐酸盐对照品贮备液,置 10 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。供试品溶液:取注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸 1 瓶,加水适量使溶解,并全量转移至 50 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀;精密量取 1 mL,置 10 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.4 专属性考察

精密量取空白溶剂、*L*-高丝氨酸内酯盐酸盐对照品溶液和注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸供试品溶液各 2 μ L,分别注入超高效液相色谱-质谱联用仪,记录图谱,见图 1。结果表明空白溶剂和主成分峰均不干扰高丝氨酸内酯的测定。

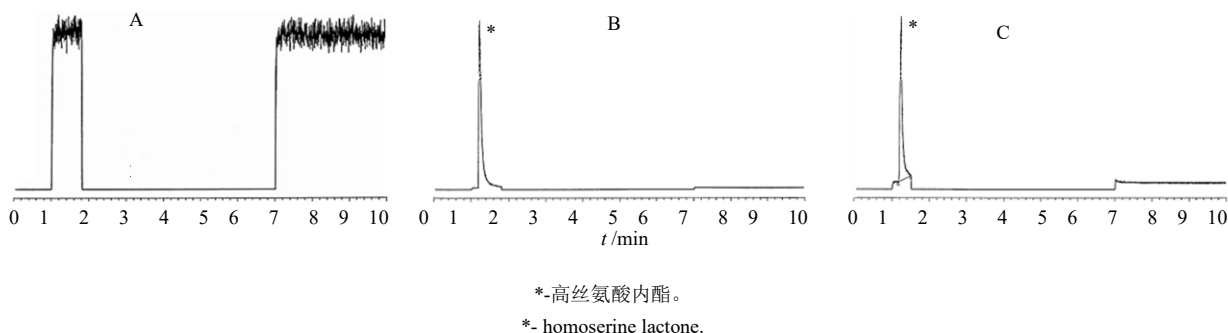


图 1 空白溶剂(A)、*L*-高丝氨酸内酯盐酸盐对照品溶液(B)和注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸供试品溶液(C)图谱

Fig. 1 Chromatograms of blank solution (A), *L*-homoserine lactone hydrochloride reference substance solution (B), and Ademetionine 1,4-Butanedisulfonate for injection (C)

2.5 线性关系考察

精密量取 *L*-高丝氨酸内酯盐酸盐对照品贮备液 1、1、0.8、1.0、1.5、2.0 mL,分别置 100、50、10、10、10、10 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,分别作为线性溶液①~⑥。线性溶液⑦(LOQ 浓度):精密量取线性溶液① 1 mL,置 10 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,作为线性溶液⑦。精密量取线性溶液①~⑦各 2 μ L,分别注入超高效液

相色谱-质谱联用仪,各重复进样 2 次,记录质谱图。以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,进行线性回归。结果表明高丝氨酸内酯在 0.102 3~20.460 0 ng 与峰面积呈良好的线性关系, $Y=408\ 130.976\ 8\ X+23\ 973.257\ 5$, $r=0.999\ 8$ 。

2.6 定量限与检测限

精密量取对照品贮备液适量,用水逐级稀释,分别注入超高效液相色谱-质谱联用仪,进样测

定, 分别以信噪比 (S/N) 为 3:1 和 10:1 计算检测限和定量限。结果表明高丝氨酸内酯检测限为 0.033 76 ng, 定量限为 0.102 3 ng。

2.7 稳定性试验

取批号 240507148 注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸样品适量, 制备供试品溶液, 精密量取 10 ℃ 下放置 0、2、4、6、8、12、16、24 h 的供试品溶液各 2 μL, 进样测定, 记录峰面积。结果显示供试品溶液 10 ℃ 下放置 24 h 内, 高丝氨酸内酯峰面积的 RSD 值为 2.82%, 结果表明供试品溶液在 10 ℃ 下放置 24 h 内稳定。

2.8 重复性试验

取批号 240507148 注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸样品适量, 平行制备供试品溶液 6 份, 进样测定, 记录峰面积, 并计算高丝氨酸内酯的质量分数, 结果显示高丝氨酸内酯的质量分数为 0.19%, RSD 值为 2.33%。

2.9 回收率试验

取批号 240507148 注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸 1 瓶, 加水适量使溶解, 并全量转移至 50 mL 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品贮备液。分别精密量取各供试品贮备液 1 mL (平行 9 份), 置不同 10 mL 量瓶中, 分为 3 组, 分别加入对照品贮备液 0.3、1.0、1.5 mL, 加水适量使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 进样测定, 记录峰面积, 并计算回收率。结果高丝氨酸内酯的平均回收率为 100.91%, RSD 值为 3.39%。

2.10 耐用性试验

分别调整柱温、体积流量、盐浓度、流动相比例和更换色谱柱后精密量取对照品和供试品溶液各 2 μL, 分别注入超高效液相色谱-质谱联用仪, 记录质谱图, 按外标法计算高丝氨酸内酯质量分数。具体调整参数如下: 柱温从 30 ℃ 分别调整为 25、35 ℃; 体积流量从 0.3 mL/min 分别调整为 0.28、0.32 mL/min; 甲酸铵浓度从 5 mmol/L 分别调整为 4、6 mmol/L; 流动相比例从 5 mmol/L 甲酸铵水溶液-乙腈 (98:2) 分别调整为 5 mmol/L 甲酸铵水溶液-乙腈 (99:1、97:3); 色谱柱调整为同一厂家同一型号不同 SN 号的色谱柱。结果显示高丝氨酸内酯检出量的 RSD 值均小于 10.0%, 即本方法的耐用性良好。

2.11 样品测定

取注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸 (批号分别为

220629148、230408148、240507148), 制备供试品溶液, 进样测定, 记录色谱峰面积, 按外标法计算高丝氨酸内酯的质量分数。结果 3 批注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸样品中高丝氨酸内酯平均质量分数分别为 0.20%、0.22%、0.21% ($n=2$)。

3 讨论

S-腺苷蛋氨酸降解产生 5'-甲硫腺苷和高丝氨酸内酯, 且高丝氨酸内酯分子结构中缺乏紫外吸收基团, 传统 HPLC-UV 法难以定量分析, 因此采用 ESI-MS 方法对其进行分析。高丝氨酸内酯极性较大, 在常规反相色谱柱中保留较弱, 因此选用了 Waters ACQUITY XSelect HSS T3 色谱柱进行分离考察, 显著提升对极性物质的保留能力。在流动相体系中添加质谱兼容的 5 mmol/L 甲酸铵缓冲液以优化高丝氨酸内酯的峰型。通过调整柱温 (30 ℃)、体积流量 (0.3 mL/min) 以及有机相 (乙腈) 的比例, 最终实现高丝氨酸内酯在 T3 柱上的分离。

根据国家药典委员会发布的关于《注射用丁二磺酸腺苷甲硫氨酸国家药品标准草案的公示》和文献报道^[6], 有关物质项下甲硫腺苷的限度为 2.0%。S-腺苷蛋氨酸降解产生等物质的量比的甲硫腺苷和高丝氨酸内酯, 根据其物质的量的差异, 计算得到高丝氨酸内酯的限度约为 0.93%, 适当收窄其限度至 0.5%。经检测 3 批注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸中高丝氨酸内酯的质量分数分别为 0.20%、0.22%、0.21%, 检测结果均明显低于限度值 0.5%。

杂质控制作为确保药品安全性和有效性的关键环节, 仅关注紫外吸收杂质已无法满足药物质量控制需求。弱紫外或无紫外吸收的片段同样可能对药物的安全性、稳定性和疗效产生重要影响, 需加以系统研究和严格控制。本方法专属性强、灵敏度高、准确度好, 为注射用丁二磺酸腺苷蛋氨酸的质量控制提供了进一步的参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 申丽, 李东阳, 姜涌明, 等. S-腺苷甲硫氨酸的稳定性及其稳定性盐 [J]. 药物生物技术, 2003, 10(2): 125-128.
- [2] Wu S E, Huskey W P, Borchardt R T, *et al.* Chiral instability at sulfur of S-adenosylmethionine [J]. *Biochemistry*, 1983, 22(12): 2828-2832.
- [3] Morana A, Lernia I D, Carteni M, *et al.* Synthesis and characterisation of a new class of stable S-adenosyl-L-

- methionine salts [J]. *Int J Pharm*, 2000, 194(1): 61-68.
- [4] 林秋婕, 陈赞民. HPLC 法测定 1,4-丁二磺酸腺苷蛋氨酸中的有关物质 [J]. 中国热带医学, 2007, 7(8): 1413.
- [5] 宋汉敏, 王志远, 杨东菁, 等. 丁二磺酸腺苷蛋氨酸中有关物质的测定 [J]. 华西药学杂志, 2014, 29(4): 440-443.
- [6] 刘晓敏, 刘广洲, 姚欣欣, 等. HPLC 法测定丁二磺酸腺苷蛋氨酸肠溶片中 3 种有关物质 [J]. 沈阳药科大学学报, 2021, 38(9): 910-915.
- [7] 吴勇, 李玉函. 亲水作用色谱质谱联用法鉴定丁二磺酸腺苷蛋氨酸中杂质的结构 [J]. 中国医药工业杂志, 2018, 49(3): 370-374.
- [8] 綦国红, 董明盛, 吴胜明, 等. HPLC-MS 法检测 N-酰基-高丝氨酸内酯类信号分子 [J]. 分析测试学报, 2007, 26(3): 417-419.
- [9] 郭沐晗, 廖建萌, 孙力军, 等. 高效液相色谱-串联质谱法检测副溶血弧菌生物被膜形成过程中的 N-酰基高丝氨酸内酯信号分子 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(12): 261-266.
- [10] 罗梦, 易皓, 陈静, 等. 高效液相串联质谱法检定活性污泥中 N-高丝氨酸内酯 [J]. 环境化学, 2019, 38(2): 281-286.

【责任编辑 解学星】