

SCIEX Triple Quad™ 4500系统快速检测利奈唑胺中3种基因毒性杂质

Rapid Determination of Three Genotoxic Impurities in Linezolid by SCIEX Triple Quad™ 4500 System

陈俊苗, 司丹丹, 龙志敏

Junmiao Chen, Dandan Si, Zhimin Long

SCIEX 应用支持中心, 中国

Key Words: SCIEX Triple Quad™ 4500 System, Genotoxic Impurities, Linezolid

引言

基因毒杂质在药物生产过程中有多种产生原因, 包括药物合成工艺、降解途径及污染引入等, 其能直接或间接损伤细胞DNA, 甚至产生致突变和致癌作用。利奈唑胺是一种人工合成的恶唑烷酮类抗生素, 对甲氧西林敏感或耐药葡萄球菌、万古霉素敏感或耐药肠球菌、青霉素敏感或耐肺炎链球菌均有良好的抗菌作用, 对厌氧菌亦具抗菌活性。利奈唑胺制剂中已知的杂质种类较多, 多数为利奈唑胺降解产物或反应中间体, 目前大部分杂质分析方法采用高效液相方法, 灵敏度较低无法满足基因毒性杂质风险评估限度要求。

本文开发并验证了一种LC-MS/MS定量方法可同时检测利奈唑胺注射液中三种基因毒性杂质, 方法的检出限和定量限低, 重现性好, 加标回收率合格, 完全满足基因毒性杂质检测限度需求^[1]。

仪器设备:

SCIEX ExionLC™ AD系统和SCIEX Triple Quad™ 4500系统



图1. SCIEX ExionLC™ AD系统和SCIEX Triple Quad™ 4500系统

对照品溶液制备

分别精密量取三种杂质对照品各适量用水配成储备液, 用空白辅料溶液定量稀释制成每1mL中分别约含0.5ng、1ng、2ng、5ng、10ng、20ng、50ng和100ng、200ng的混合对照品溶液。三种杂质分别为N-[2-乙酰氧基-3-氯丙基]乙酰胺 (LNZA-01), 3-氟-4-(4-吗啉基)-硝基苯 (LNZA-02), 3-氟-4-(4-吗啉基)苯胺 (LNZA-03), 杂质结构式如图2:

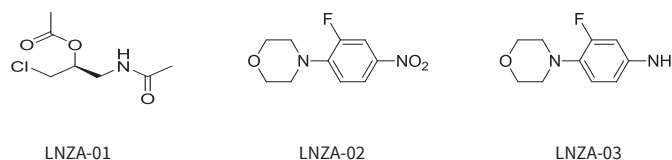


图2. 利奈唑胺中三种杂质结构式

供试品溶液制备

利奈唑胺注射液含利奈唑胺原药2 mg/mL直接进样分析, 本方法仅验证了利奈唑胺注射液基质的回收率, 其他剂型可直接水溶进样单独考察回收率。

液相条件

液相系统: SCIEX ExionLC™ AD系统

色谱柱: ACE EXCEL 3 C18-AR, 100 × 4.6mm

流动相: A: 含0.1%甲酸的水; B: 含0.1%甲酸的甲醇

流速: 0.8 mL/min

柱温: 40 °C

进样体积: 1 μ L

液相梯度:

时间(min)	流速 (mL/min)	A(%)	B(%)
0	0.8	50	50
2	0.8	50	50
8	0.8	0	70
10	0.8	0	100
13	0.8	0	100
13.1	0.8	50	50
16	0.5	50	50

质谱条件

离子源: ESI, 正离子模式

扫描方式: MRM多反应监测

气帘气CUR: 30psi

IS电压: 5500v

源温度 Tem: 650 $^{\circ}$ C

雾化气Gas1: 60psi

辅助气Gas2: 60psi

MRM参数: 如表1

表1. 3种杂质的质谱参数

化合物名称 (Name)	Q1	Q3	DP	CE	RT (min)
杂质01 (LNZA-01)	194.0	100.0	50	25	2.2
杂质01 (LNZA-01)	194.0	152.1	50	14	2.2
杂质02 (LNZA-02)	227.1	210.1	70	23	9.2
杂质02 (LNZA-02)	227.1	109.1	70	40	9.2
杂质03 (LNZA-03)	197.1	131.0	70	31	1.9
杂质03 (LNZA-03)	197.1	151.0	70	24	1.9

实验结果

灵敏度和线性结果: 3个杂质的标准曲线信息如图3, 杂质1和3在0.5ng/mL-200ng/mL线性范围内线性关系良好, 两个化合物的线性关系R值均大于0.999。杂质2在5ng/mL-200ng/mL线性范围内线性关系良好, 线性关系R值大于0.999。LLOQ定量下限峰图如图4, 6针连续进样测得标准偏差分别为RSD=5.23% (LNZA-01), RSD=2.96% (LNZA-02), RSD=4.5% (LNZA-03)。

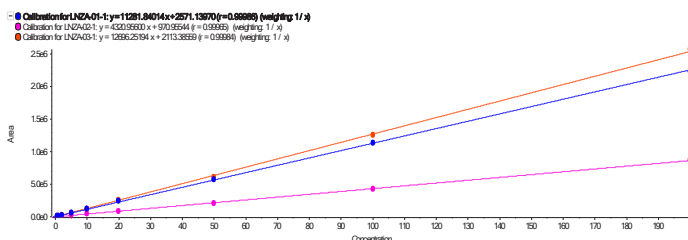


图3. 3个杂质的标曲信息

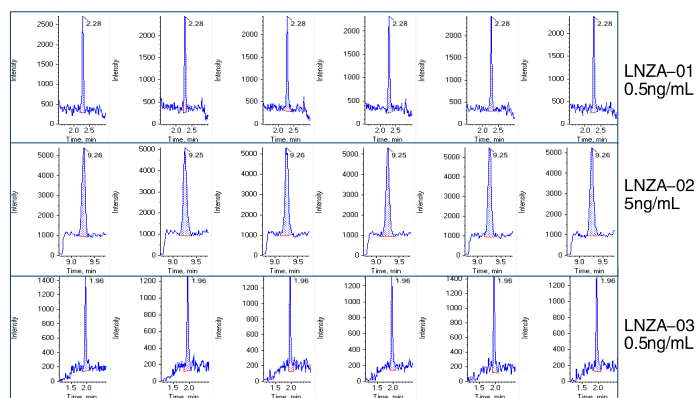


图4. 3个杂质LLOQ峰图

回收率及重现性: 向利奈唑胺注射液样品中加入10 ng/mL 样品, 计算3个平行配制的回收率样品的平均回收率及RSD分别为: LNZA-01回收率91%, 重现性RSD=1.31%; LNZA-02回收率90%, 重现性RSD=4.5%; LNZA-03回收率102%, 重现性RSD=1.33%。结果表明三个杂质的回收率及重现性良好。

总结

本文使用SCIEX Triple Quad™ 4500 系统建立了LC-MS/MS方法测定利奈唑胺注射液中3种基因毒杂质的含量。3个杂质在线性范围内线性关系良好，相关系数R大于0.999。加标回收率验证得3个杂质回收率在90%以上。结果表明该方法灵敏度、重现性及回收率完全满足法规对3个杂质检测的需求^[1]。

参考文献

1. 利奈唑胺葡萄糖注射液中3-氟-4-(4-吗啉基)苯胺检验方法，NIFDC.

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-13107-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
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
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
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
官网：sciex.com.cn

广州分公司
广州市天河区珠江西路15号
珠江城1907室
电话：020-8510-0200
传真：020-3876-0835
官方微信：SCIEX-China