

# SCIEX Triple Quad™ 3500测定基因毒性杂质对硝基苯酚

## Determination of Genotoxic Impurities 4-nitrophenol on SCIEX Triple Quad™ 3500

雷敏 (Lei Min), 郭立海 (Guo Lihai)

SCIEX, 亚太应用支持中心 (广州), 中国

**关键词:** SCIEX Triple Quad™ 3500, 基因毒性杂质, 对硝基苯酚

**Key Words:** SCIEX Triple Quad™ 3500, Genotoxic Impurities, 4-nitrophenol

### 引言

在制药行业中, 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。潜在基因毒性杂质包括如磺酸酯类, 氯代烷烃类, 苯胺类, 硝基苯类等。

按照美国FDA和EMA指南的要求, 必须对原料药或药品中任何可能存在、未在早期合成步骤中清除的所有基因毒性杂质进行监测。对于基因毒性杂质来说, 限度则需控制到ug/g级别, 所以基因毒性杂质的标准比普通杂质严格了近百倍乃至千倍, 因此基因毒性杂质的测试对于仪器的灵敏度有很高的要求。

目前已有HPLC方法测定对硝基苯酚的含量, 但是由于原料药中杂质较多, HPLC方法需要分离原料药中多个干扰杂质才能准确定量, 测试时间长, 所以有必要使用LC-MS/MS建立高效和高灵敏度的方法, 用于该类化合物的定量分析, 以实现良好的控制原料药质量的目的。

### 本文实验方法特点

本文展示了使用SCIEX Triple Quad™ 3500对基因毒性杂质进行对硝基苯酚测定, 方法具有以下特点:

1. 仪器的灵敏度高, 方法定量下限可低至0.2ng/mL, 远满足基因毒性杂质限度低的要求。



2. 仪器和方法的特异性好, 仅5 min的方法即可准确定量, 检测效率高。
3. 最低定量下限 (LLOQ) 的RSD为4.8%, 仪器和方法的重现性好。
4. 该方法对该类基因毒性杂质测试有很好的参考意义。

### 仪器设备

SCIEX ExionLC™液相系统 + Triple Quad™ 3500质谱系统

#### 液相方法

色谱柱: Phenomenex Kinetex F5(100 × 3.0 mm, 2.6 μm)

流动相: A相: 水  
B相: 乙腈

流速: 0.6 mL/min

柱温: 40°C;

进样量: 5 μL

Time(min)	A (%)	B (%)
0.00	70	30
2.20	5	95
2.80	5	95
2.81	70	30
5.00	70	30

### 质谱方法

离子源: ESI源, 负离子模式

离子源参数:

IS电压: - 4500V                      气帘气 CUR: 30 psi  
 雾化气 GS1: 55 psi                  辅助气 GS2: 55 psi  
 源温度 TEM: 550°C                  碰撞气 CAD: 6

表1. 对硝基苯酚的质谱参数。

Compound	Q1	Q3	DP	CE
对硝基苯酚	137.9	107.9	-65	-25
	137.9	92.0	-65	-32

### 实验结果

#### 1. 特异性:

配制50%乙腈溶液, 作为空白溶液; 取对硝基苯酚标准品, 加入一定量空白溶液溶解, 并稀释至浓度为0.2 ng/mL的标准工作溶液, 作为最低定量下限溶液 (LLOQ溶液)。分别取5 μL进样, 提取离子流图如下, 在待测物保留时间出无干扰, 分别见图1和图2。

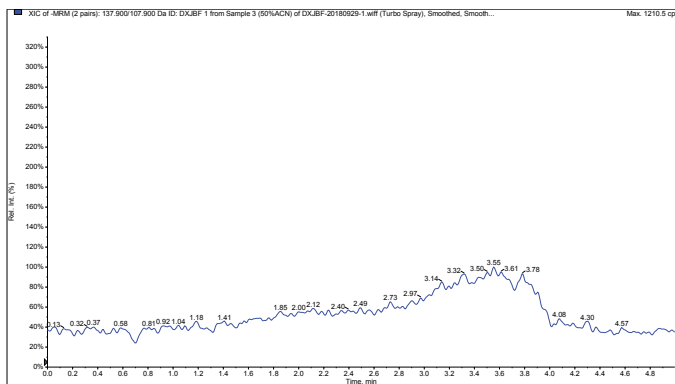


图1. 空白溶液中的提取离子流图。

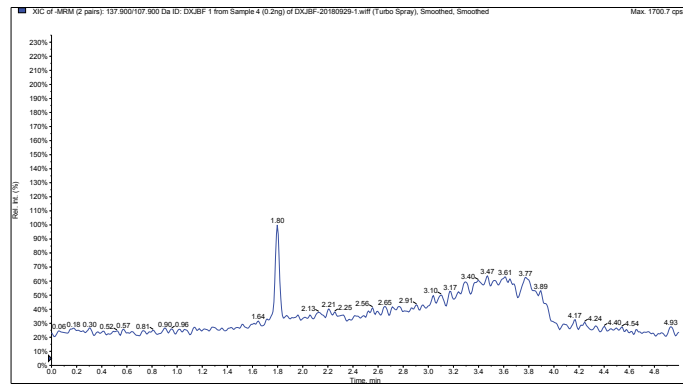


图2. LLOQ溶液的提取离子流图。

#### 2. 线性范围:

用空白溶液逐级稀释对硝基苯酚的标准工作溶液至0.2ng/mL, 0.5ng/mL, 2ng/mL, 10ng/mL, 20ng/mL, 50ng/mL, 100ng/mL, 每个浓度分别进样3次, 以峰面积对浓度做标准曲线。图3为对硝基苯酚的线性范围、线性方程和相关系数。

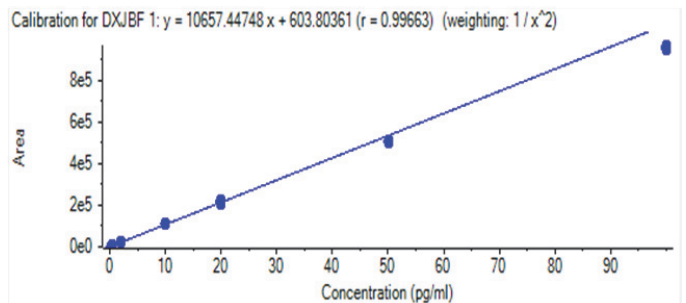


图3. 标准曲线, 线性回归系数r=0.99663。

#### 3. LLOQ的准确度和重现性:

平行制备六份LLOQ溶液, 进样分析, 测定结果如下表格。六份平行样品中, 对硝基苯酚的准确度为96.0%, 准确度良好; RSD%为4.8%, RSD均满足测试要求, 表明重现性良好。

表2. 重现性测试结果。

Compound	0.2 ng/mL	
	Accuracy(Average, %)	RSD (%)
苯磺酸甲酯	96.0	4.8

## 总结

本文使用SCIEX Triple Quad™ 3500建立了LC-MS/MS方法测定基因毒性杂质对硝基苯酚的含量。方法的特异性好，无干扰；线性范围为0.2 ng/mL-100 ng/mL，线性范围宽，线性关系良好，且灵敏度高；最低定量下限LLOQ的RSD为4.8%，表明方法和仪器的重现性良好。该方法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.

© 2018. 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-02-8634-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：021-24197200

传真：021-24197333

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：020-85100200

传真：020-38760835

微博：@SCIEX