

采用SCIEX Triple Quad™ 4500质谱系统检测美罗培南药物中的三种基因毒性杂质

Determination of Three Genotoxic Impurities in Meropenem drugs on SCIEX Triple Quad™ 4500

满卓, 司丹丹, 龙志敏

Zhuo Man, Dandan Si, Zhimin Long

SCIEX 应用支持中心, 中国

Keywords: SCIEX Triple Quad™ 4500; Meropenem; Genotoxic Impurities

前言

美罗培南为人工合成的广谱碳青霉烯类抗生素, 主要通过抑制细菌细胞壁的合成而产生抗菌作用, 是目前治疗重症及多重耐药菌感染的重要药物之一。通过对美罗培南生产过程中所使用的原辅料、生产工艺进行分析, 存在美罗培南侧链 (Side chain for meropenem, S5)、保护美罗培南 (Protected meropenem, 318-BP) 和杂氮双环磷酸酯 (β -Methyl vinyl phosphate, M9) 三种潜在基因毒性杂质 (具体结构式请见图1), 这些基因毒性杂质带有基因毒性杂质警示结构, 能直接或间接损伤细胞DNA, 长期服用可能会致癌, 因此需对产品中的基因杂质进行严格的检测和控制。

这三个杂质成份应根据人用药物注册技术要求国际协调会 (ICH)-M7指导原则作为致遗传突变杂质进行控制。指导原则要求药物或药品中的所有潜在基因毒性杂质 (GTIs) 均必须低于每日1.5 μg 的毒理学关注阈值 (TTC, Threshold of Toxicological Concern), 即相当于每天摄入1.5 μg 的基因毒性杂质。某品牌注射剂美罗培南每日最大剂量为6g, 那么药物中所含有的基因毒性杂质的含量都必须小于TTC水平, 即1.5 $\mu\text{g}/\text{day}/6\text{ g}=0.25\text{ }\mu\text{g}/\text{g}$ 。美罗培南的最大日用量较大, 基因毒性杂质的限度低, 一般HPLC分析方法中美罗培南的背景干扰较大, 影响基因毒性杂质的检测。

因此, 本文使用SCIEX Triple Quad™ 4500建立了美罗培南药物中的三种基因毒性杂质318-BP, S5和M9的定量方法。该方法具有以下特点:

1. 仪器的灵敏度高, 方法定量下限可低至0.5 ng/mL (相当于

10.0 mg/mL 样品中三种杂质的含量分别为0.05 $\mu\text{g}/\text{g}$, 低于TTC水平), 完全满足基因毒性杂质限度低的要求。

2. 仪器和方法的重现性好, 最低定量下限 (LLOQ) 的RSD%小于5%。
3. 仪器和方法的特异性好, 加标回收率合格, 定量准确度高。

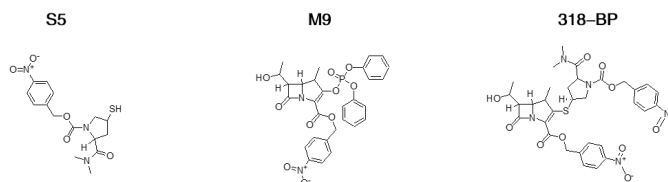


图1. 三种杂质结构式

仪器设备

SCIEX ExionLC™ 2.0超高效液相系统联用SCIEX Triple Quad™ 4500三重四极杆复合质谱系统



图2. ExionLC™ 2.0系统和SCIEX Triple Quad™ 4500系统

色谱方法:

色谱柱: Poroshell HPH-C18 150 × 4.6 mm, 2.7 μm

流动相: A: 水+0.1%甲酸;
B: 乙腈

柱温: 40°C;

表1. 洗脱梯度

Time [min]	Flow [mL/min]	B[%]
0.00	0.45	30
1.00	0.45	30
8.00	0.45	80
10.00	0.45	80
10.05	0.45	100
14.00	0.45	100
14.10	0.45	30
17.00	0.45	30

质谱方法:

离子源: ESI电喷雾电离源

扫描方式: POS正离子模式

气帘气CUR: 25psi 喷雾电压IS: 5500v

源温度Temp: 500°C 雾化气Gas1: 40psi

辅助气GAS2: 60psi 碰撞气CAD: 7psi

定量分析采集方式设置: MRM多反应监测模式

用于定量的标准品离子对信息请见表2。

表2. MRM质谱离子对参数

Compounds	Q1	Q3	DP	CE
S5-1*	354.2	281	90	19
S5-2	354.2	237	90	25
M9-1*	595.2	508.9	150	20
M9-2	595.2	251	150	40
318-BP-1*	698.3	612.2	170	21
318-BP-2	698.3	78	170	115

备注: * 星号代表每个化合物的定量离子对通道。

定量结果

1. 线性范围

用50%乙腈逐级稀释三个杂质的标准工作溶液至0.5ng/mL, 1 ng/mL, 2 ng/mL, 5 ng/mL, 10ng/mL, 20ng/mL, 50ng/mL, 100 ng/mL, 以峰面积对浓度做标准曲线。图3为三个杂质成份的线性范围、线性方程和相关系数。其中, 线性回归系数R²均大于0.995, 满足检测要求。

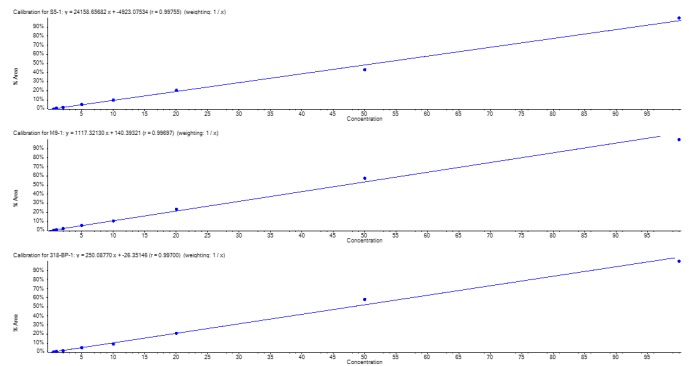


图3. 三个杂质成份的标准曲线

2. 特异性

称量一定量的某品牌注射用美罗培南药品, 溶解并稀释至10.0 mg/mL, 作为实际样品溶液; 另取注射用美罗培南药品配制成10.0 mg/mL溶液, 加入标准工作溶液至美罗培南样品溶液中, 配制成浓度为1.0 ng/mL的加标样品。空白溶剂中在待测物保留时间处无干扰; 实际样品中未检测到三种杂质; 加标回收合格; 空白溶剂、实际样品和加标样品提取离子流图请见图4。

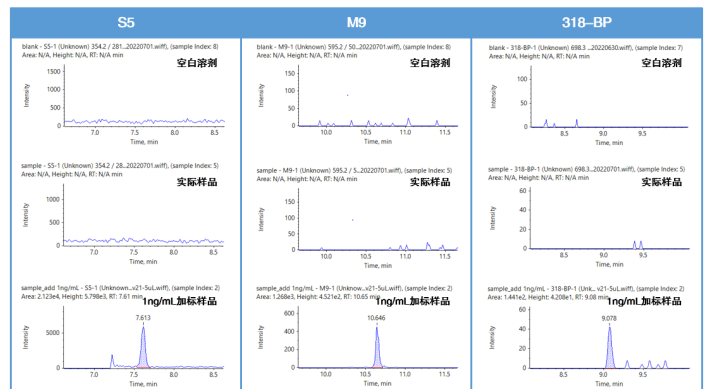


图4. 分别是三个杂质成份的空白溶剂, 实际样品和1.0 ng/ml加标样品的XIC提取离子流图

3. 准确度和重现性:

取样品加标溶液（加标溶液平行制备三份，浓度分别1.0 ng/mL, 10.0 ng/mL 和100.0 ng/mL），进样分析。测定结果如表3。三个杂质的低、中、高三个不同浓度加标样品的回收率在90.03-105.42%，平行样品的RSD%在0.76-4.01%，回收率和RSD%均满足测试要求。三个杂质的LLOQ最低定量限0.5ng/mL的连续六针的RSD均小于5%，重现性良好。

表3. 加标回收率测试结果

名称	1.0 ng/mL		10.0ng/mL		100.0ng/mL	
	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)
S5	95.52	0.97	91.56	0.76	90.03	4.01
M9	100.59	1.80	93.04	3.35	92.99	2.96
318-BP	100.51	3.10	91.23	1.23	105.42	1.04

总结

本文使用SCIEX Triple Quad™ 4500 建立了LC-MS/MS 方法测定美罗培南药物中三种基因毒性杂质的含量。结果表明，该方法的特异性好，无干扰；三种杂质成份的线性范围分别为0.5 ng/mL-100 ng/mL，在线性范围内线性关系良好，相关系数大于0.995。其最低点浓度LLOQ分别相当于注射剂美罗培南药物中（10.0 mg/mL）的含量为0.05 µg/g，远低于TTC 水平，说明灵敏度较高；低、中、高浓度加标回收率以及定量下限重现性良好。

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。

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15189-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: 021-2419-7201
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话: 020-8842-4017

官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)