Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

利用Xevo TQD定量测定基因毒性杂质

Joanne Mather, Dominic Moore, Robert S. Plumb 和 Paul Rainville
沃特世公司(美国马萨诸塞州米尔福德)

应用优势

本研究展示了通过简便的仪器设置及方法开发的工具，在快速正负切换的模式下，提高Xevo TQD的灵敏度，来加快基因毒性杂质的分析。

沃特世解决方案

Xevo® TQD

关键词

RADAR, IntelliStart™,
基因毒素，杂质

简介

烷基磺酸，尤其是甲磺酸、苯磺酸和对甲苯磺酸，作为一类常用的烷化剂，在制药行业中常被用作烷基化试剂和催化剂，并在API的化学合成中用于纯化步骤。此外，为了改善化学性质或提高生物利用度，这些磺酸也常用作药物的最终成盐。

合成反应或再结晶步骤中任何残留醇的存在都可能导致形成磺酸的烷基酯。许多此类甲磺酸酯、苯磺酸酯或甲苯磺酸酯都被认为具有基因毒性，而其它酯类也可能存在基因毒性，因此需要在药物和药品中进行监测。

过去用于分析此类烷基磺酸酯的典型方法均建立在GC/MS或HPLC/UV/MS的基础之上，其中的衍生化步骤通常需要大约20到30分钟的运行时间。之前，我们已经展示了如何通过使用UPLC®/MS在不到5分钟的运行时间内获得良好的结果。

在这篇应用纪要中，我们将会介绍仪器设备的最新进展如何针对这些基因毒性杂质提供更强的分析能力和易用性。我们还将展示如何利用具有正负离子切换功能的Xevo TQD所拥有的高灵敏度缩短此类杂质的分析时间。此外，利用RADAR™降低基质干扰有助于加快方法开发过程。

实验

液相色谱条件

LC系统:	ACQUITY UPLC
色谱柱:	ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱, 2.1 x 50 mm, 1.8 µm
柱温:	45 °C
进样体积:	15 µL (20 µL定量环，部分定量环模式)
流动相A:	98 H_2O 2% MeOH 0.1%甲酸
流动相B:	98 MeOH 2% H_2O 0.1%甲酸

梯度表

时间(min)	流速	%A	%B	曲线
初始	0.600	95.0	5.0	
2.50	0.600	2.0	98.0	6
3.00	0.600	2.0	98.0	6
4.00	0.600	95.0	5.0	1
4.50	0.600	95.0	5.0	1

负离子模式

毛细管电压: 0.8 kV

功能类型: 3通道的MRM

通道反应	锥孔电压	碰撞能量	化合物
95.00 > 79.90	40.0	15.0	甲磺酸
157.00 > 79.90	45.0	24.0	苯磺酸
171.00 > 79.90	48.0	26.0	甲苯磺酸

正离子模式

毛细管电压: 0.5 kV

通道反应	锥孔电压	碰撞能量	化合物
173.10 > 77.00	25.0	16.0	甲苯磺酸酯
187.00 > 77.00	25.0	22.0	苯磺酸乙酯
187.00 > 155.00	30.0	10.0	对甲苯磺酸甲酯
201.00 > 173.00	25.0	10.0	对甲苯磺酸乙酯
229.10 > 91.00	40.0	20.0	2S缩水甘油基对甲苯磺酸酯

结果与讨论

使用乙腈为多种已知基因毒性杂质配制1 mg/mL标准溶液，然后用5%乙腈将浓度稀释为0.1至500 ng/mL。此外，还制备了一种样品溶液：将10 mg苯磺酸氨氯地平片磨碎并溶解，然后标准添加1.5 µg基因毒性杂质。

借助于IntelliStart，使用各个标准溶液帮助调谐MS。即便在最佳的色谱性能下，也可能发生共流出。在采集多重反应监测(MRM)定量质谱数据的同时，采集来自于基质的定性质谱扫描数据有助于监测可能的干扰化合物，从而确保检测的耐用性和重现性。

在RADAR模式下，采集MRM数据的同时可以采集正离子和负离子模式下整个范围的MS全扫描谱图。该过程对MRM数据质量基本无影响。因此，您可以在准确定量目标化合物的同时，追踪其它样品基质的组分，从而让您对样品有更加深入的理解。

RADAR功能之所以可以实现，是建立在Xevo TQD在MS、MS/MS、正离子与负离子模式超快的切换速度且不会影响性能的基础之上的。使用RADAR辅助LC/MS/MS方法开发，以对加标药片溶液中的杂质进行分析。利用最终所开发的方法来验证这套液质系统对基因毒性杂质检测的线性和灵敏度。

图1显示了在对药片制剂溶液的杂质分析中，如何使用RADAR辅助LC/MS/MS方法开发。

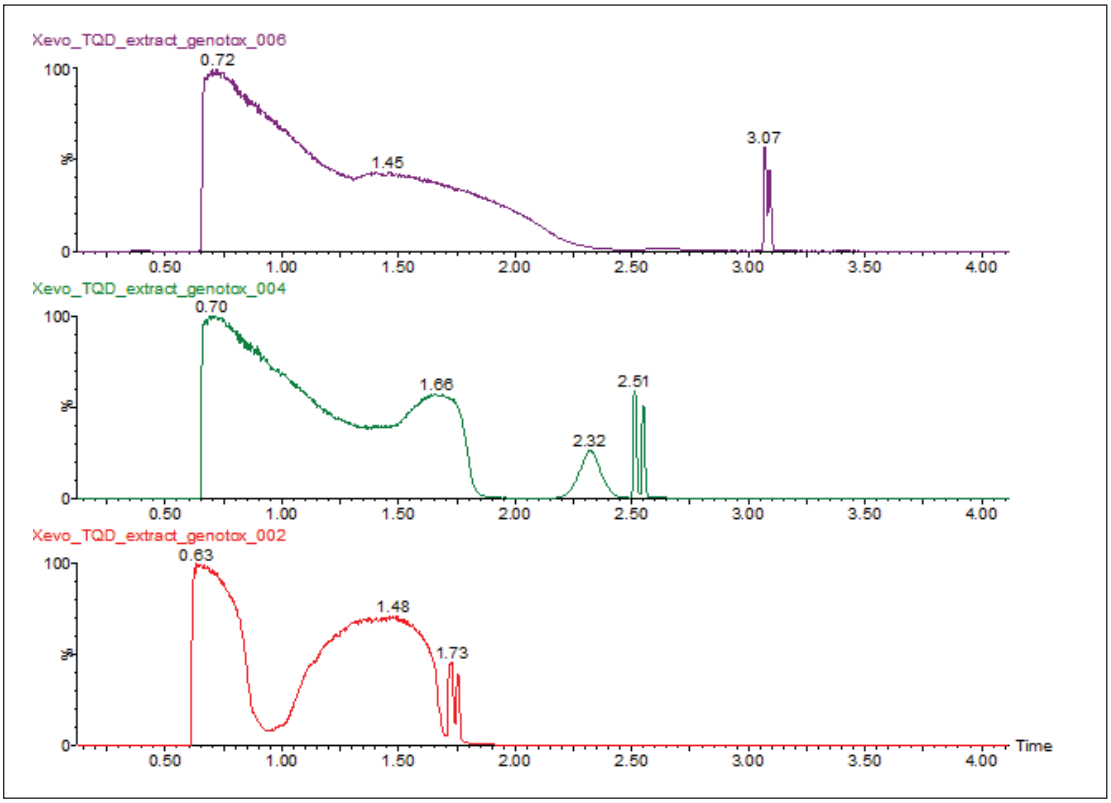

图1. 采用Xevo TQD在RADAR模式下进行方法开发。

图2显示了0.1至500 ng/mL范围内甲苯磺酸的线性图。

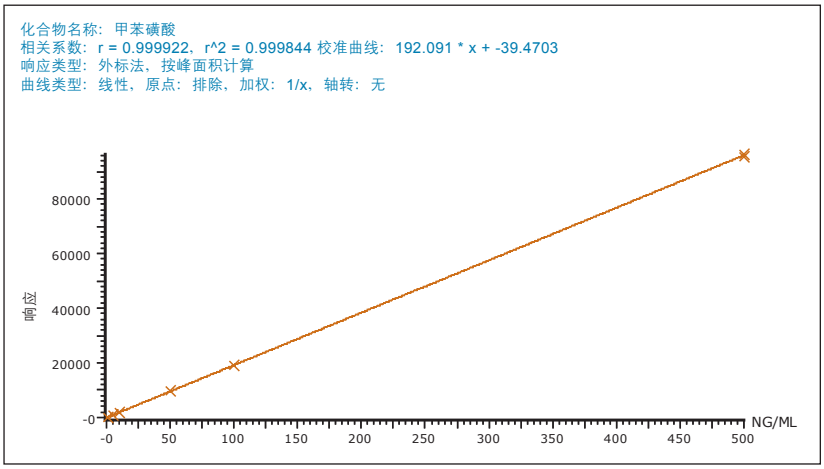

图2. 线性图。

图3显示了0.1 mg/mL甲磺酸的示例色谱图，图4为缩水甘油基对甲苯磺酸酯。

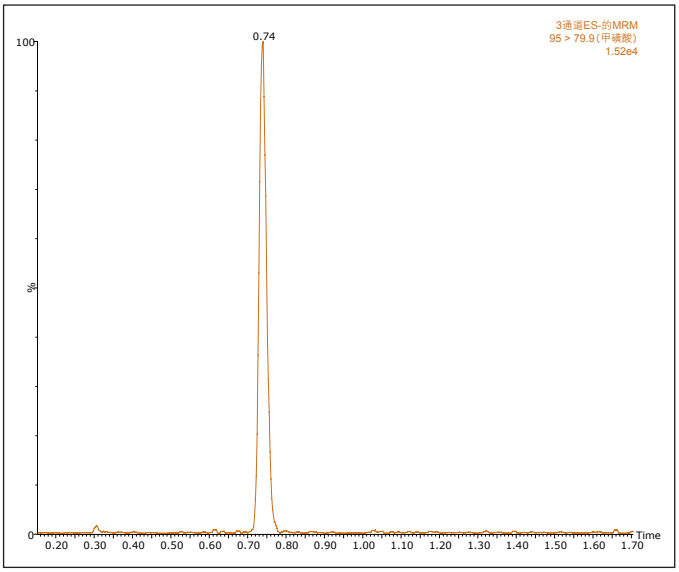

图3. 0.1 ng/mL甲磺酸。

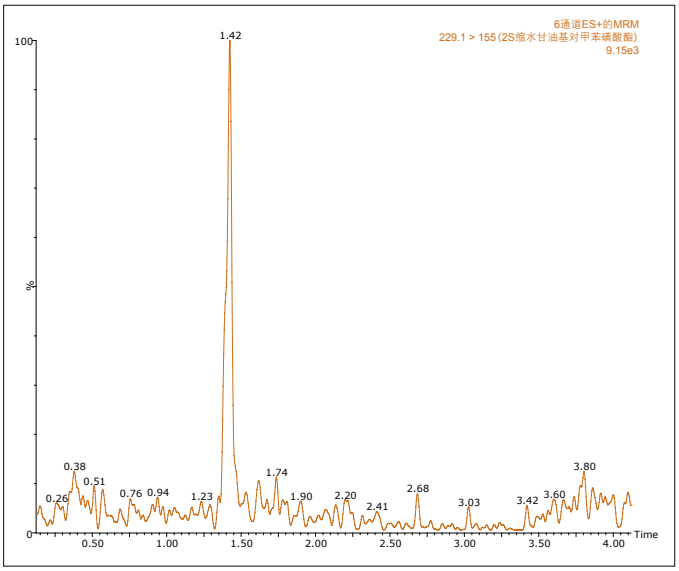

图4. 缩水甘油基对甲苯磺酸酯。

结论

与UPLC联用，串联四极杆检测器Xevo TQD是基因毒性杂质分析的最佳工具。UPLC/Xevo TQD可以提供很好的灵敏度及快速的分析方法。利用其多种特点，如IntelliStart和RADAR、正负离子切换以及“所有时间内所有数据”的生成，可快速轻松地开发出检测的分析方法。这将显著提高了实验室效率，以应对不断增长的科研和监管需求。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters, UPLC, Xevo和The Science of What's Possible是沃特世公司的注册商标。
IntelliStart和RADAR是沃特世公司的商标。其它所有商标均归各自的拥有者所有。

©2011 沃特世公司。印制于中国
2011年6月 720004012ZH AG-PDF

沃特斯中国有限公司
沃特世科技(上海)有限公司

北京：010 - 5209 3866
上海：021 - 6156 2666
广州：020 - 2829 5999
成都：028 - 6578 4990
香港：852 - 2964 1800

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676
www.waters.com