

2D LC/MS 杂质鉴定系统定性检测磺胺类药物中的杂质

摘要： 本文建立了使用2D LC/MS杂质鉴定系统定性检测磺胺间二甲氧嘧啶中4个杂质（磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲基嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶和磺胺喹噁啉）的方法。该方法使用非挥发性的磷酸缓冲盐对药物主成分和杂质进行了分离，并通过二维LCMS系统对目标杂质进行质谱定性分析。该系统由于无需将非挥发性缓冲盐转换为挥发性缓冲盐，大大节省了方法开发人员的时间，并且保证了定性的准确度。

关键词： 磺胺间二甲氧嘧啶 杂质 2D LC/MS 杂质鉴定系统

有关物质检查是药品质量控制的重要内容。合成药物中的有关物质通常来源于合成原料，中间体和副反应产物。对于药物中的这些杂质（含量>0.1%）通常应进行鉴定。目前这些检查也是新药报批的必须项目。液质联用技术是药物杂质检测的不可或缺的手段。

世界各地药典的方法多是 LC 的方法，常常使用到磷酸盐、草酸盐等无机盐及这些盐类的缓冲溶液，甚至使用离子对试剂，以调节药物及杂质的保留时间。然而，非挥发性的缓冲盐作为流动相是无法应用到质谱中，因此，如果使用质谱对杂质进行定性，通常需要将非挥发性的缓冲盐换成挥发性的来进行。但是，更换过流动相后，杂质的保留时间往往会发生变化，这使得目标杂质的定位产生困难。

岛津公司为了应对该领域面临的问题，特推出了 2D LC/MS 杂质鉴定系统。使用该系统无需更换非挥发性缓冲盐的流动相，即可使用质谱仪（LCMS-IT-TOF）对目标杂质进行质谱分析。即保证了杂质定性的准确性又大大节省了方法开发人员的时间。

本文使用 2D LC/MS 杂质鉴定系统定性检测了磺胺间二甲氧嘧啶中的 4 个杂质。供相关人员参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

分析仪器： 2D LC/MS 杂质鉴定系统，包括 LC-20AD×4（输液泵），SIL-20AC（自动进样器），CTO-20AC（柱温箱），CBM-20A（系统控制器），DGU-20A₅（在线脱气机），SPD-M20A（二极管阵列检测器），SPD-20A（UV 检测器），FCV-12AH×3（高压流路选择阀），FCV-14AH×2（色谱柱切换阀），LCMS-IT-TOF（离子阱-飞行时间质谱仪）和 LCMSsolution Ver.3.60(工作站)。

1.2 分析条件

1.2.1 液相色谱条件

<LC 1stD>

色 谱 柱： Shim-pack VP-ODS,
4.6 mm I.D. × 150 mm, 5 μm
流 速： 1 mL/min

流 动 相： 0.01 mol/L 磷酸缓冲盐 (pH 2.6)
/MeOH (7/3, V/V)
柱 温： 40 °C

进样体积: 10 μ L

检测波长: 200 ~ 350 nm (检测: 270 nm)

<LC 2ndD>

色 谱 柱: Shim-pack XR-ODS

10%B (10.01 ~ 20 min)

2.0 mm I.D. \times 75 mm, 2.2 μ m

流 速: 0.3 mL/min

流动相 A: 0.1%甲酸水溶液

柱 温: 40 $^{\circ}$ C

流动相 B: 甲醇

进样体积: 10 μ L (Loop 环体积)

时间程序: 10%B (0 min) ~ 50%B (10 min) ~

检测波长: 270 nm

1.2.2 质谱条件

分析仪器: LCMS-IT-TOF

干燥气: 氮气 10 L/min

离子源: ESI(+), ESI(-)

碰撞气: 氦气

离子源接口电压: 4.5 kV, -3.5 kV

脱溶剂管温度: 200 $^{\circ}$ C

采集范围: m/z 100-1000

加热模块温度: 200 $^{\circ}$ C

雾化气: 氮气 1.5 L/min

1.3 样品制备

使用流动相配制主成分浓度为 500 μ g/mL, 杂质浓度为 0.5 μ g/mL。

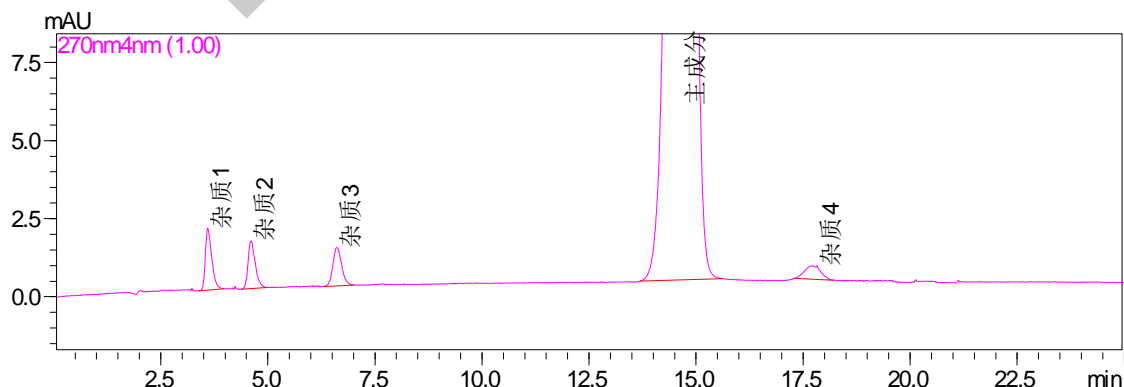
本次实验涉及的标准品信息如下:

成分	中文名称	英文名称	分子式	分子量	CAS No.
主成分	磺胺间二甲氧嘧啶	Sulfadimethoxine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S	311.0809	122-11-2
杂质	磺胺甲基嘧啶	Sulfamerazine	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	265.0754	127-79-7
杂质	磺胺二甲基嘧啶	sulfamethazine/Sulfadimidine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	279.0910	57-68-1
杂质	磺胺间甲氧嘧啶	Sulfamonomethoxine	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	281.0703	1220-83-3
杂质	磺胺喹噁啉	Sulfachinoxalin/Sulfaquinoxaline	C ₁₄ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	301.0754	59-40-5

2. 结果讨论

2.1 LC 1stD 分析结果

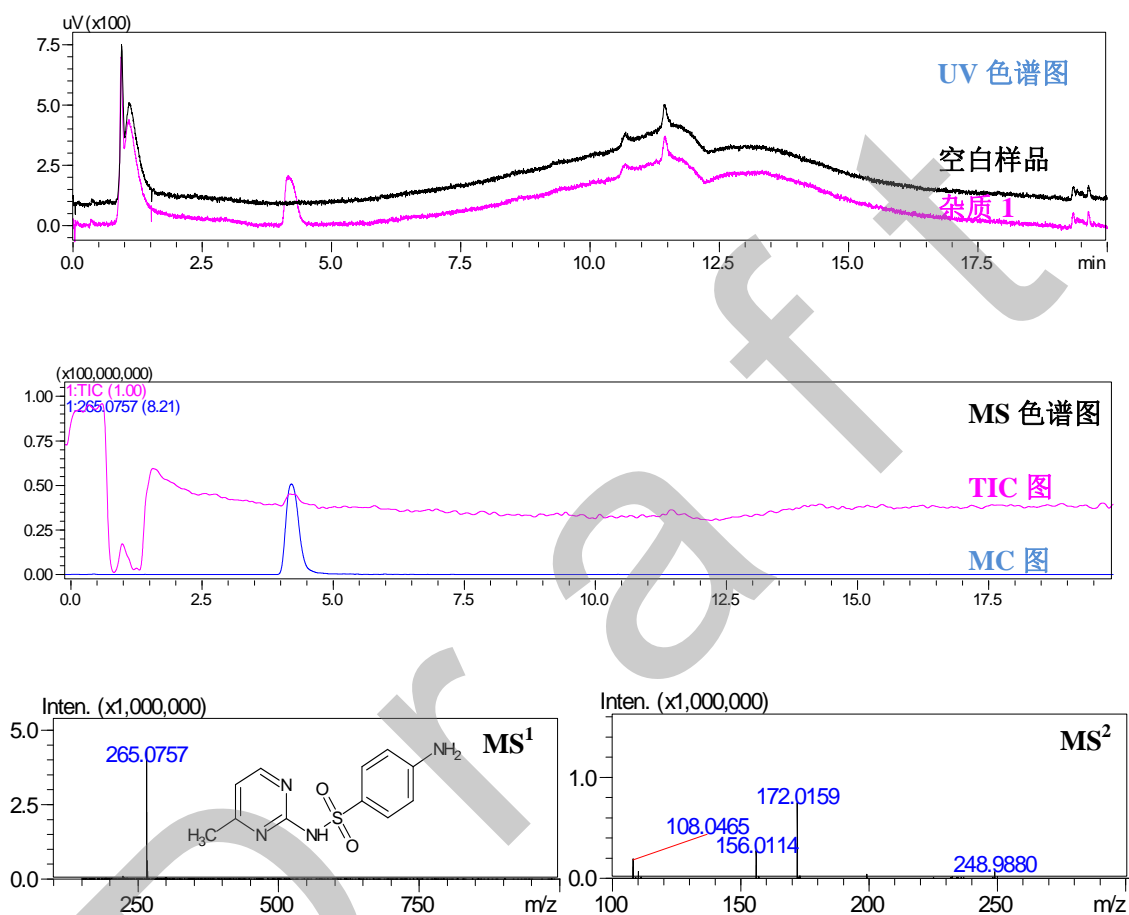
1stD 分析的主要目的为确定目标杂质的保留时间, 以便于捕集到 LOOP 环中, 用于二维脱盐分析。本次实验 1stD 色谱图如下, 主成分和 4 个杂质的出峰时间分别为: 3.59 min, 4.60 min, 6.61 min, 17.82 min 和 14.65 min。



2.2 LC 2ndD 分析结果

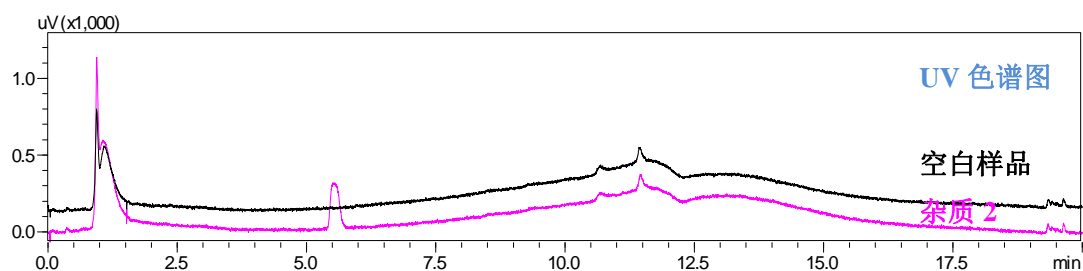
2.2.1 杂质 1 的分析结果

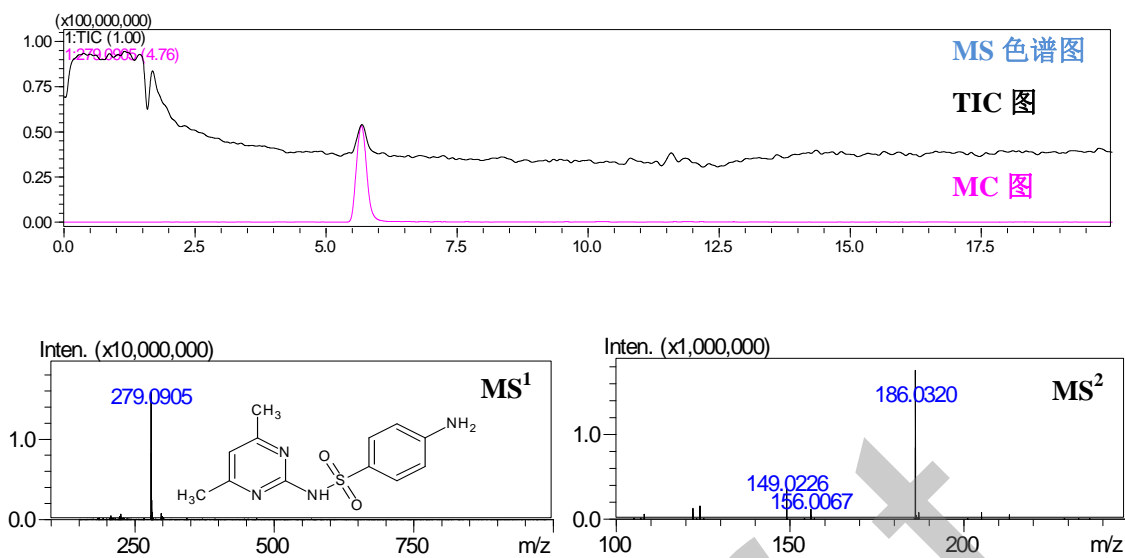
杂质 1 切换到 LOOP 环 1 中，经过 2D LC 分析，得到 UV 色谱图、MS 色谱图和质谱图如下。从 MS 质谱图可以看出杂质 1 正离子模式 m/z 265.0757，为磺胺甲基嘧啶，分子式 $C_{11}H_{12}N_4O_2S$ ，理论值 $[M+H]^+$ 265.0754，测试值与理论值偏差为 1.13 ppm。使用自动二级功能得到磺胺甲基嘧啶的二级质谱图，质谱图如下所示。



2.2.2 杂质 2 的分析结果

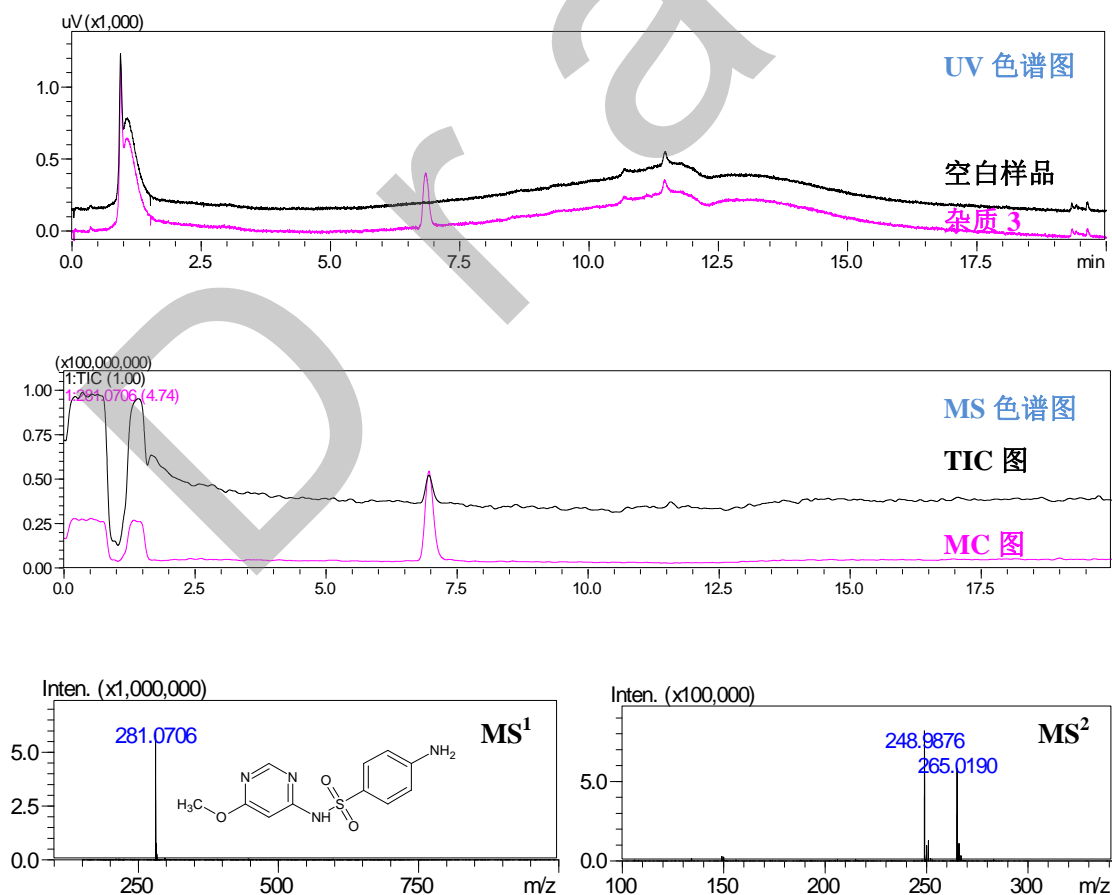
杂质 2 切换到 LOOP 环 2 中，经过 2D LC 分析，得到 UV 色谱图、MS 色谱图和质谱图如下。从 MS 质谱图可以看出杂质 2 正离子模式 m/z 279.0905，为磺胺二甲基嘧啶，分子式 $C_{12}H_{14}N_4O_2S$ ，理论值 $[M+H]^+$ 279.0910，测试值与理论值偏差为 -1.79 ppm。使用自动二级功能得到磺胺二甲基嘧啶的二级质谱图，质谱图如下所示。





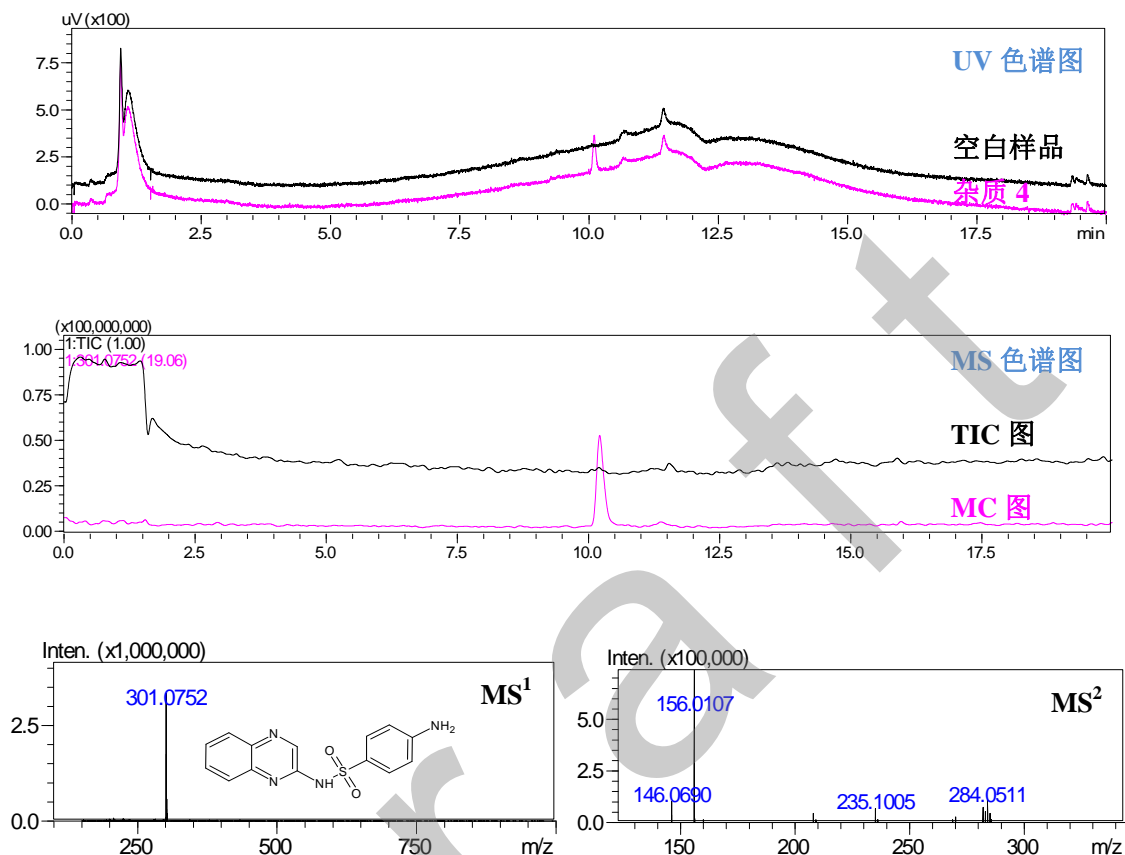
2.2.3 杂质 3 的分析结果

杂质 3 切换到 LOOP 环 3 中，经过 2D LC 分析，得到 UV 色谱图、MS 色谱图和质谱图如下。从 MS 质谱图可以看出杂质 3 正离子模式 m/z 281.0706，为磺胺间甲氧嘧啶，分子式 $C_{11}H_{12}N_4O_3S$ ，理论值 $[M+H]^+$ 281.0703，测试值与理论值偏差为 1.07 ppm。使用自动二级功能得到磺胺间甲氧嘧啶的二级质谱图，质谱图如下所示。



2.2.4 杂质 4 的分析结果

杂质 4 切换到 LOOP 环 4 中, 经过 2D LC 分析, 得到 UV 色谱图、MS 色谱图和质谱图如下。从 MS 质谱图可以看出杂质 4 正离子模式 m/z 301.0752, 为磺胺喹噁啉, 分子式 $C_{14}H_{12}N_4O_2S$, 理论值 $[M+H]^+$ 301.0754, 测试值与理论值偏差为 -0.66 ppm。使用自动二级功能得到磺胺喹噁啉的二级质谱图, 质谱图如下所示。



3. 结论

本文建立了使用 2D LC/MS 杂质鉴定系统定性检测磺胺间二甲氧嘧啶中的 4 个杂质的方法。该方法使用磷酸缓冲盐作为流动相对药物主成分和杂质的分离, 并使用 LCMS-IT-TOF 对目标杂质进行质谱分析。由于使用该系统保留了药典分析的方法, 即保证了杂质定性的准确性, 又大大节省了方法开发人员的时间。

