

# 离子阱飞行时间质谱定性分析文拉法辛中间体及杂质

**摘要：** 本文使用离子阱飞行时间质谱(LCMS-IT-TOF)对文拉法辛中间体及杂质进行定性分析。样品主成分是文拉法辛中间体，分子式是  $C_{14}H_{21}NO_2$ ，化学名为 1-[2-氨基-1-(4-羟基苯基)乙基]环己醇。根据主成分和相应杂质峰的多级质谱裂解规律，推导出 5 号杂质峰的分子式为  $C_{15}H_{23}NO_2$ ，化学名为 1-[2-氨基-1-(4-甲氧基苯基)乙基]环己醇。

**关键词：** 离子阱飞行时间质谱 LCMS-IT-TOF 液质联用 文拉法辛 Venlafaxine

FDA 在 2008 年 12 月公布关于药物中有遗传毒性的和致癌的不纯物的草案指导。在这份草案中限制这些不纯物的剂量应不超过  $1.5 \mu\text{g}/\text{天}$ 。这就需要对药物及药物最终产品含量较多的杂质进行定性并通过实验证明它们的每日摄入量在安全剂量以下。常用的定性手段是液质联用、光谱分析和核磁共振。其中，质谱的定性检测是制药行业杂质定性中必不可少的手段。为了准确的预测杂质的分子式和结构式，需要多级质谱图信息来帮助推导。如果是使用 Q-TOF 来进行杂质定性检测的话，由于只能做二级质谱，为了减少分子式预测时候选化合物的数量，就需要仪器具备很高的质量数准确度。当元素组成较复杂时，对分子式的预测就会比较困难。另一方面，二级质谱所得到的碎片离子信息量虽然很多，对于碎片离子碎裂机理的推导需要非常丰富的经验才能进行，就会对杂质的结构预测造成困难。而岛津的离子阱飞行时间质谱即可以做多级质谱分析(最高 10 级)，又具备高分辨率和高质量数准确度，因此就不存在上述问题，是制药行业杂质定性检测的理想工具。本文采用岛津超快速液相色谱仪(UFLC)和电喷雾电离—离子阱—飞行时间质谱仪(LCMS-IT-TOF)联用对文拉法辛中间体及杂质进行定性分析，推导出杂质的结构式。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

试剂：乙腈和纯水，HPLC 级；甲酸和甲酸铵，LCMS Grade。样品：文拉法辛中间体。

仪器：Shimadzu UFLC 和 LCMS-IT-TOF，包括 LC-20AD×2(输液泵)，SIL-20ACHT(自动进样器)，CTO-20AC(柱温箱)，SPD-M20A(二极管阵列检测器)，DGU-20A3(在线脱气机)，CBM-20A(控制器)，LCMS-IT-TOF(电喷雾电离—离子阱—飞行时间质谱仪)，LCMSsolution(色谱工作站)。

### 1.2 色谱条件

色谱柱：

Shimadzu Shim-pack XR-ODS 2.0 mm I.D.×75 mm L., 2.2  $\mu\text{m}$ ;

流动相：A: pH 4.4 的 10 mM 甲酸—甲酸铵缓冲液；B: 乙腈；

梯度程序：15-50%B (0-5.25 min) —70%B (5.26-6.25min)  
—15%B (6.27-10.00 min)

质谱：

离子化模式：ESI+

流速：0.4 mL/min;

柱温：40℃;

进样量：10  $\mu\text{L}$ ;

波长：225 nm;

检测器电压：1.70 kV

雾化气流速: 1.5 L/min

(注射进样模式时 1.0 L/min)

干燥气流速: 18 L/min

CDL 温度: 200℃

Heater Block 温度: 200℃

注射进样模式流速: 10  $\mu$ L/min

样品浓度: 1 mg/L

液质联用进样模式样品浓度: 1 mg/mL

自动调谐优化电压, 外标法校正质量数。

## 2 结果与讨论

图 1 为使用甲酸-甲酸铵缓冲液流动相进行液质联用分析得到的 PDA 色谱图。

为避免过高浓度的主成分进质谱导致饱和, 采用高压流路切换阀, 2.5 min 后切换到进质谱。

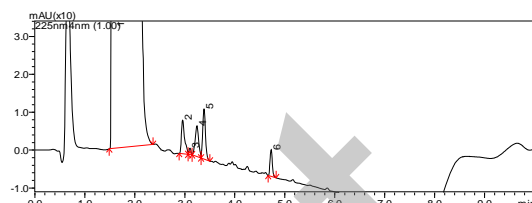


图 1 样品的 PDA 色谱图

采用注射进样模式研究主成分裂解规律, 液质联用进样模式研究 5 号杂质峰裂解规律。得到多级质谱图如下:

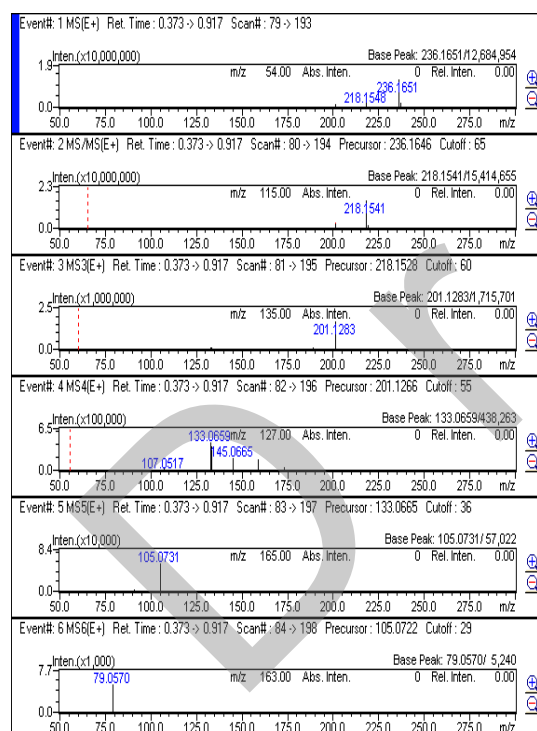


图 2 主成分注射进样多级质谱图

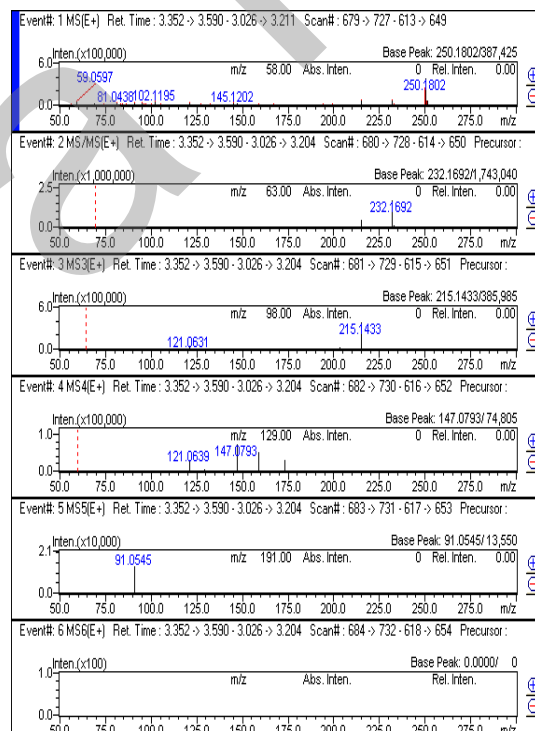


图 3 5 号杂质峰多级质谱图

主成分分子式预测结果是  $C_{14}H_{21}NO_2$ , 与理论值吻合。由于主成分的结构已知, 根据注射进样多级质谱图, 推导出主成分的裂解规律见图 4。杂质峰的分子式预测结果是  $C_{15}H_{23}NO_2$ , 比文拉法辛中间体的分子式多一个甲基。杂质峰与主成分峰的前 4 级质谱图类似, 都是丢失相同质量数的片段, 可以推断出多出的甲基连在苯环上或者是以甲氧基连接于苯环。而杂质峰第 5 级质谱未产生类似主成分的 CO 丢失, 而是苯环断裂, 丢掉  $C_3H_4O$ , 结合离子阱质谱裂解规律, 说明杂质峰苯环上连接的只能是甲氧基。杂质峰的裂解规律见图 5。

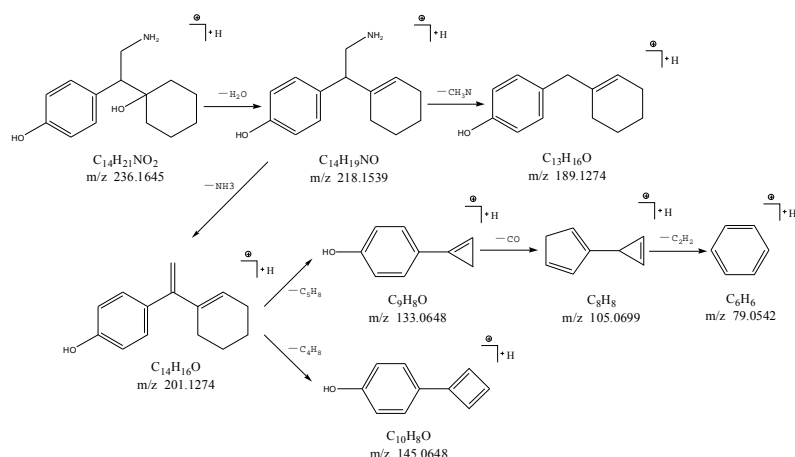


图4 文拉法辛中间体的 MS<sup>6</sup> 裂解规律

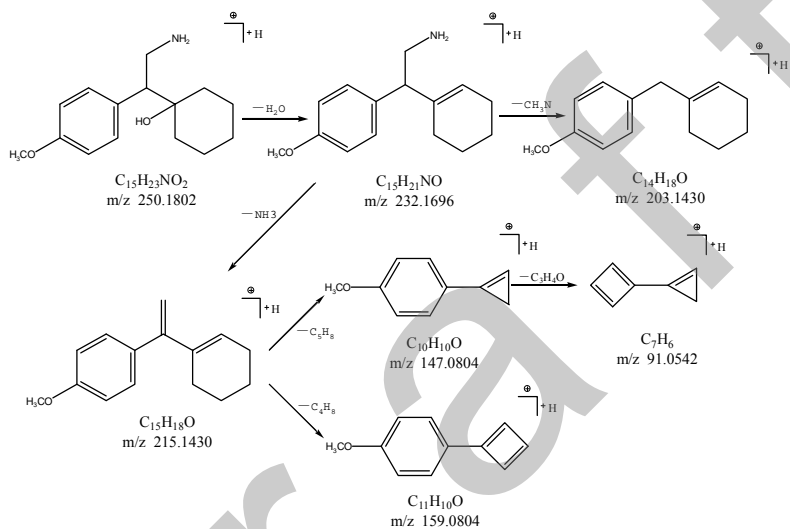


图5 5号杂质峰的 MS<sup>5</sup> 裂解规律

分子式预测结果列表如下：

化合物代号	Formula	Ion	Meas.m/z	Pred.m/z	Diff(mDa)	Diff(ppm)
主成分	C <sub>14</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	236.1651	236.1645	+0.6	+2.54
5号杂质峰	C <sub>15</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	250.1802	250.1802	+0.0	+0.00

### 3 结论

用离子阱飞行时间质谱检测了文拉法辛中间体，根据主成分和杂质的多级质谱图，预测出了杂质的分子式并推导出结构式。样品主成分为1-[2-氨基-1-(4-羟基苯基)乙基]环己醇，5号杂质峰为1-[2-氨基-1-(4-甲氧基苯基)乙基]环己醇。5号杂质峰经过制备和核磁共振检测确证，结果与质谱解析得到的结果吻合。用 LCMS-IT-TOF 可以准确预测化合物的分子式，描述裂解规律并推导出结构式，因而是制药行业杂质定性检测的强有力工具。

