

液相色谱-离子阱飞行时间串联质谱定性分析头孢米诺钠及杂质

LCMS-IT-TOF-011

摘要： 本文使用液相色谱-离子阱飞行时间串联质谱(LCMS-IT-TOF)对抗生素药物头孢米诺钠及杂质进行定性分析。样品主成分是头孢米诺钠，分子式是 $C_{16}H_{20}N_7NaO_7S_3 \cdot 7H_2O$ ，化学名(6R,7S)-7 β -[(S)-2-[(2-氨基-2-羧乙基)硫]乙酰氨基]-7 α -甲氧基-3-[[[(1-甲基-1H-四唑-5-基)硫]甲基]-8-氧代-5-硫杂-1-氮杂双环[4.2.0]辛-2-烯-2-羧酸钠七水合物。根据主成分和相应杂质峰的多级质谱裂解规律，推导出目标杂质峰在流动相中的分子式为 $C_{16}H_{21}N_7O_6S_4$ ，并进一步推测了其结构。

关键词： 液相色谱-离子阱飞行时间串联质谱 LCMS-IT-TOF 液质联用 头孢米诺钠 Cefminox

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%)应进行鉴定。目前这些检查也是新药报批中必须项目。液质联用是常用的定性手段，岛津LCMS-IT-TOF(液相色谱-离子阱飞行时间串联质谱仪)可以做多级质谱分析(最高10级)，并且每一级质谱都具备高分辨率和高质量数准确度，适合进行未知物如药物中不纯物的鉴定，可以准确的预测杂质的分子式和结构式。本文采用LCMS-IT-TOF对头孢米诺钠原料药主组分及杂质进行定性分析，推导出杂质的分子式及结构式。

材料与方法

1.1 试剂与仪器

试剂：乙腈和纯水，HPLC级；冰醋酸，LCMS Grade。样品：头孢米诺钠原料药。

仪器：Shimadzu LCMS-IT-TOF，包括LC-20AD \times 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(液相色谱-离子阱飞行时间串联质谱仪)，LCMSsolution Ver. 3.6(色谱工作站)。

1.2 色谱条件

色谱柱：YMC-Pack ODS-A 150 \times 6.0 mm I.D, 5 μ m；流动相：醋酸溶液(10 mL冰醋酸，加水稀释至1000 mL)-甲醇-四氢呋喃(990/5/5, V/V/V)；流速：1.0 mL/min；柱温：40 $^{\circ}$ C；波长检测范围：190-370 nm；质谱：离子化模式ESI(+)，雾化气流速1.5 L/min，干燥气流速14 L/min，CDL温度250 $^{\circ}$ C，Heater Block温度250 $^{\circ}$ C，检测器电压1.70 kV；液质联用进样模式，样品浓度1 mg/mL，研究主组分裂解规律时进样体积5 μ L。研究杂质裂解规律时进样体积100 μ L，采用高压流路切换阀，20分钟后流路进入质谱。自动调谐优化电压，外标法校正质量数。

结果与讨论

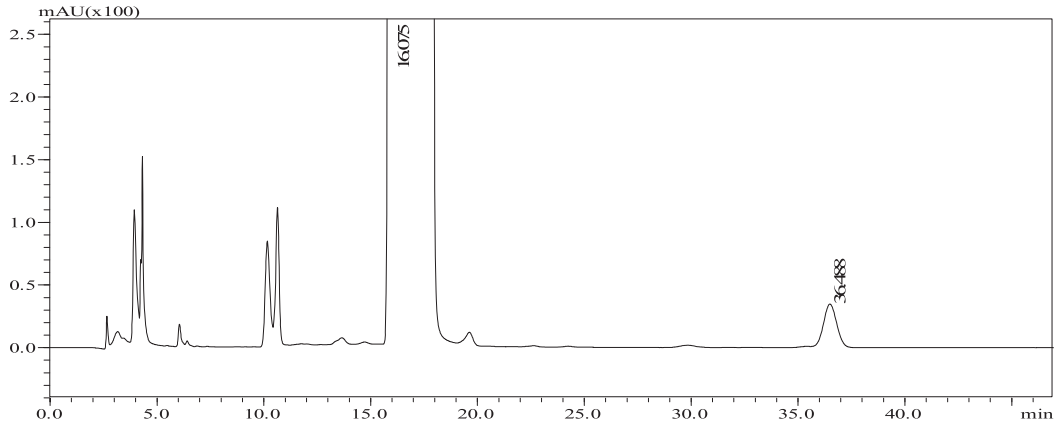


图1 254 nm 色谱图

图1为分析得到的PDA色谱图(254 nm)。其中16.075 min为头孢米诺钠主组分色谱峰，36.488 min色谱峰为未知的目标杂质。得到多级质谱图如下：

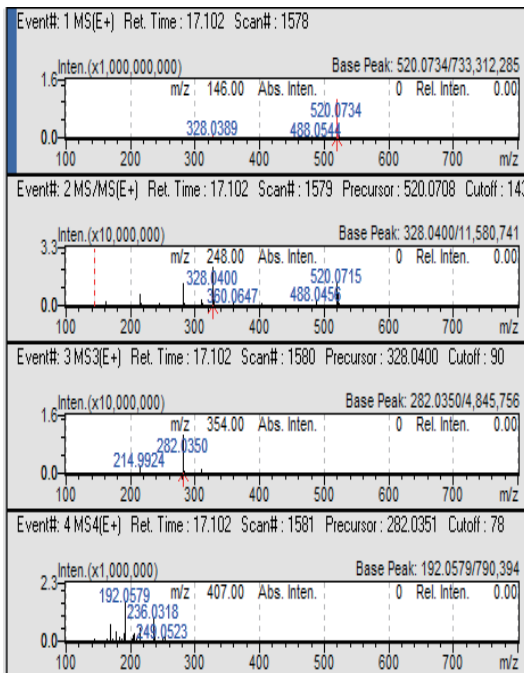


图2 主组分多级质谱图

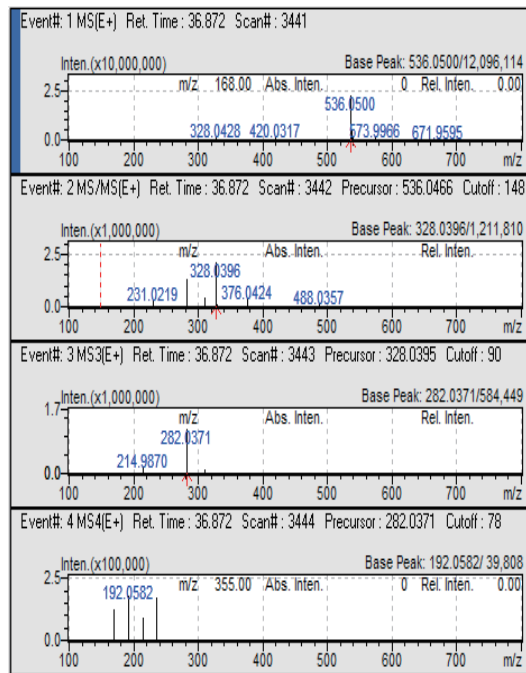


图3 目标杂质峰多级质谱图

主成分分子式预测结果是 $C_{16}H_{21}N_7O_7S_3$ 。头孢米诺钠分子式 $C_{16}H_{20}N_7NaO_7S_3 \cdot 7H_2O$ ，结构式如图4。

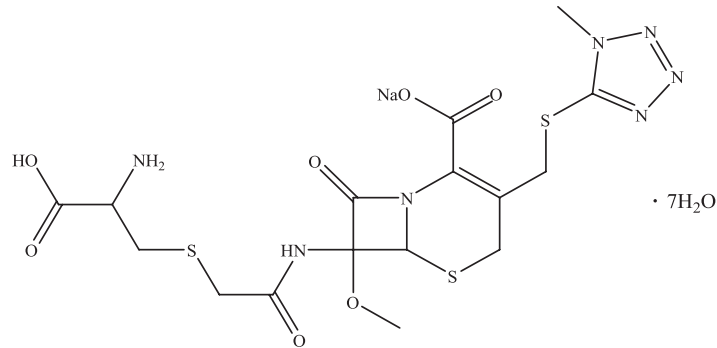


图4 头孢米诺钠结构式

预测结果与主组分在流动相中的分子式 $C_{16}H_{21}N_7O_7S_3$ 一致。推导出主成分的裂解规律图 5:

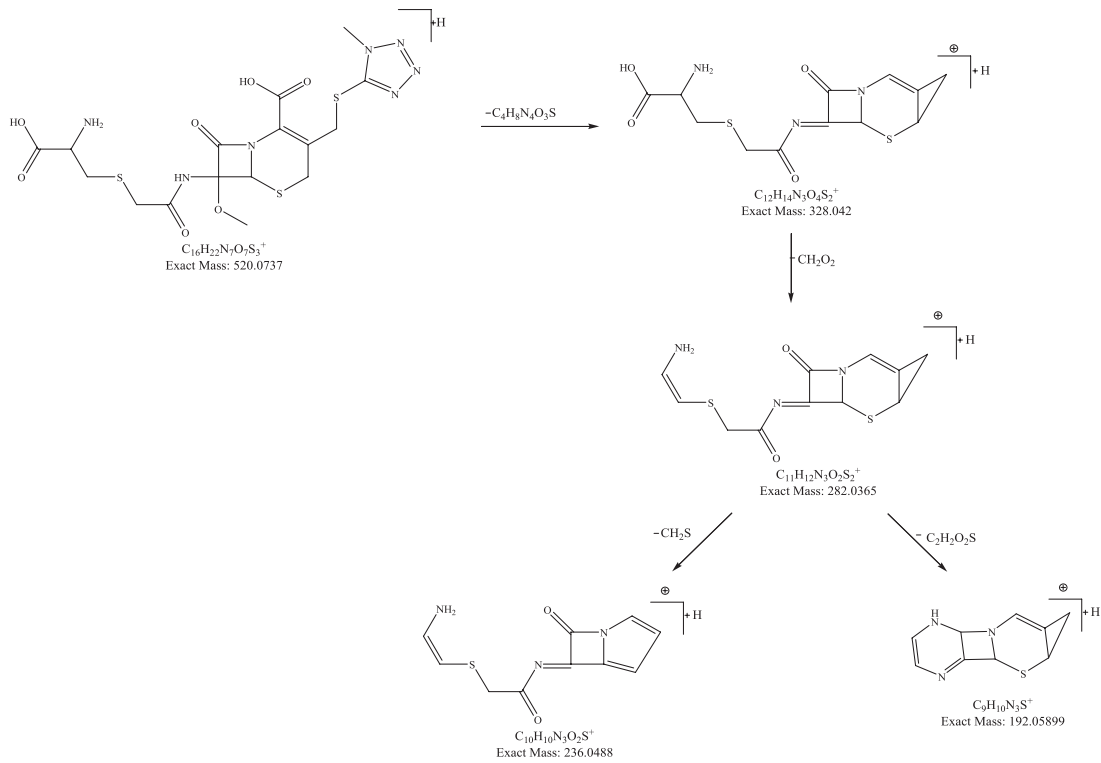


图5 主组分的裂解规律

杂质峰在流动相中分子式预测结果是 $C_{16}H_{21}N_7O_6S_4$ ，比较头孢米诺钠在流动相中的分子式，一个氧被硫替代。并且杂质峰与主成分峰的后面三级质谱图相似，都是相同的碎片离子，可以推断出甲氧基上的氧被硫替代，并且在二级质谱生成过程中被取代的基团已丢失。杂质峰的裂解规律如下图6：

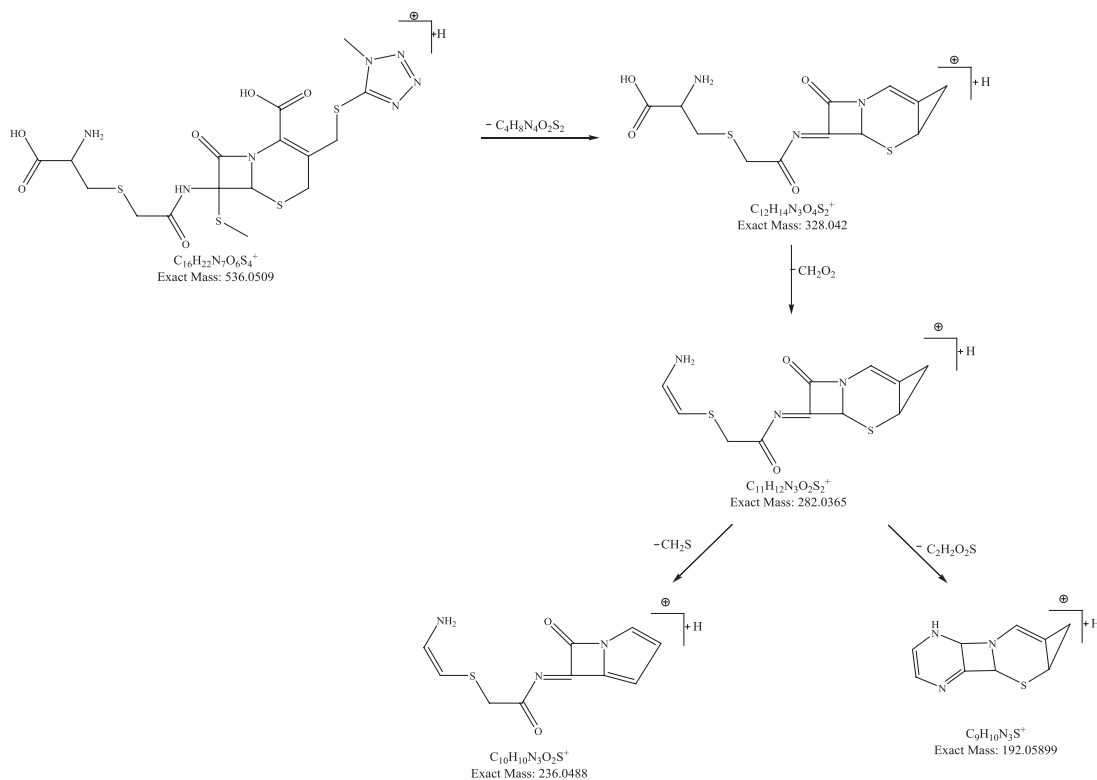


图 6 杂质的裂解规律

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	$C_{16}H_{21}N_7O_7S_3$	$[M+H]^+$	520.0734	520.0737	-0.3	-0.58
目标杂质峰	$C_{16}H_{21}N_7O_6S_4$	$[M+H]^+$	536.0500	536.0509	-0.9	-1.68

结论

用LCMS-IT-TOF检测了头孢米诺钠和目标杂质，获得其多级质谱图，预测了杂质的分子式并推导出结构式。结合主组分结构，推测杂质的分子式为 $C_{16}H_{21}N_7O_6S_4$ 或者 $C_{16}H_{20}N_7NaO_6S_4$ ，化学名为(6R,7S)-7β-[(S)-2-[(2-氨基-2-羧乙基)硫]乙酰氨基]-7α-甲硫基-3-[[[(1-甲基-1H-四唑-5-基)硫]甲基]-8-氧代-5-硫杂-1-氮杂双环[4.2.0]辛-2-烯-2-羧酸(钠)]。