

高分辨液质联用仪 LCMS-9030 鉴定沙丁胺醇标准品杂质

LCMS-QTOF-024

摘要： 本文利用岛津超高效液相色谱 - 四极杆飞行时间质谱 (LCMS-9030) 建立了一种快速、准确鉴别鉴定沙丁胺醇标准品中杂质的方法。建立了沙丁胺醇标准品的液相色谱分离条件及质谱检测条件，对标准品进行分析，总结其二级碎片信息；结合使用 LabSolutions Insight Explore 软件，根据获得的各组分一级和二级高分辨质谱信息，对比标准品碎裂特征并参考文献，对主要色谱峰进行指认，共鉴别了三个杂质。研究表明，使用岛津高分辨率、高质量准确度的液相色谱 - 四极杆飞行时间质谱，可快速实现标准品中杂质的定性分析，为沙丁胺醇标准品质量控制提供可靠的依据。

关键词： 液相色谱 - 四极杆飞行时间质谱 沙丁胺醇标准品 杂质

沙丁胺醇 (Salbutamol) 是一种短效 β_2 肾上腺素受体激动剂，添加微量沙丁胺醇于牲畜饲料内可增加牲畜的瘦肉量。人在食用沙丁胺醇含量较高的动物组织后将产生不良反应对身体健康造成重大危害。为实现肉制品中沙丁胺醇含量有效监测，药物标准物质尤为重要，且检测结果的准确性直接取决于分析时所用沙丁胺醇标准物质纯度的高低。此外，标准物质还广泛用于校准仪器、评价测试方法及为材料赋值等方面。杂质种类、杂质含量和标准品纯度不够将严重影响分析结果的准确性，数据的溯源性。目前沙丁胺醇在生产和贮存过程中会产生多种结构类似物，直接影响产品质量。

为了加强对沙丁胺醇标准品的质量控制，本文使用岛津高分辨液质联用仪 LCMS-9030，利用其高质量准确度，同时结合使用 LabSolutions Insight Explore 软件，高效、准确地鉴别沙丁胺醇标准品中的杂质，并总结相关化合物质谱裂解规律，为今后沙丁胺醇纯品标准物质的质量控制提供了参考。

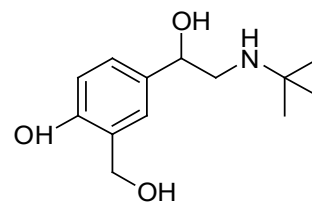


图 1 沙丁胺醇化学结构式

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪 (配在线流路切换阀)。具体配置包括 LC-30AD×2 (输液泵)，DGU-20A_{5R} (在线脱气机)，SIL-30AC (自动进样器)，CTO-20AC (柱温箱)，SPD-M20A (二极管阵列检测器)，CBM-20Alite (系统控制器)，LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱仪，LabSolutions Ver. 5.97 色谱工作站，LabSolutions Insight Explore Ver. 3.7 数据处理软件。

1.2 试剂

沙丁胺醇标准品 (中国计量院化学所提供)，MS 级乙腈、甲酸和甲酸铵为色谱级，水为超纯水机制备所得。

1.3 样品制备

取标准品 10.0 mg，置于 10 mL 容量瓶中，加入水稀释至刻度并超声溶解，摇匀，即得 1 mg/mL 储备液。

1.4 分析条件

液相条件

流动相：A 相 - 水 +10 mM 甲酸铵水溶液 +0.1% 甲酸；B 相 - 乙腈

柱温：40°C

检测波长：220 nm

流速：0.3 mL/min

进样体积：25 μ L

色谱柱：Shim-pack XR-ODS III 150 mm \times
2.0 mm I.D., 2.2 μ m

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 3%，
洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

| Time (min) | Module | Command | Value |
|------------|--------|---------|-------|
| 1 | 泵 | B.Conc | 3 |
| 6 | 泵 | B.Conc | 15 |
| 8.5 | 泵 | B.Conc | 30 |
| 9.5 | 泵 | B.Conc | 30 |
| 9.51 | 泵 | B.Conc | 90 |
| 10.5 | 泵 | B.Conc | 90 |

质谱条件

离子源模式：ESI(+)

DL 管温度：250 $^{\circ}$ C

雾化气：3.0 L/min

加热块温度：400 $^{\circ}$ C

加热气流量：10.0 L/min

一级质谱质量范围：m/z 100-500

干燥气流量：10.0 L/min

二级质谱质量范围：m/z 80-500

接口温度：300 $^{\circ}$ C

CE : 38 \pm 17 V

FCV 阀：4.500-5.600 min 切入废液

■ 结果与讨论

沙丁胺醇标准品的 LC-UV 图中 (图 2)，1 号峰为沙丁胺醇标准品主峰，保留时间为 4.523 min，2、3、4 号峰为杂质，对应的保留时间分别为 6.069、7.976、8.254 min。这 4 个峰均具有较好的 ESI+ 响应，可获得一级和二级质谱图。首先对沙丁胺醇主峰进行分析，用 LabSolutions Insight Explore 软件，对二级高分辨质谱图中高丰度碎片进行结构解析并总结其二级裂解规律；其次结合使用 LabSolutions Insight Explore 软件，根据获得的各组分一级和二级高分辨质谱信息，对比沙丁胺醇标准品的碎裂特征，并参考欧洲药典，鉴别了另外 3 个化合物，给出了可能的结构式和化学式以及二级碎片信息。

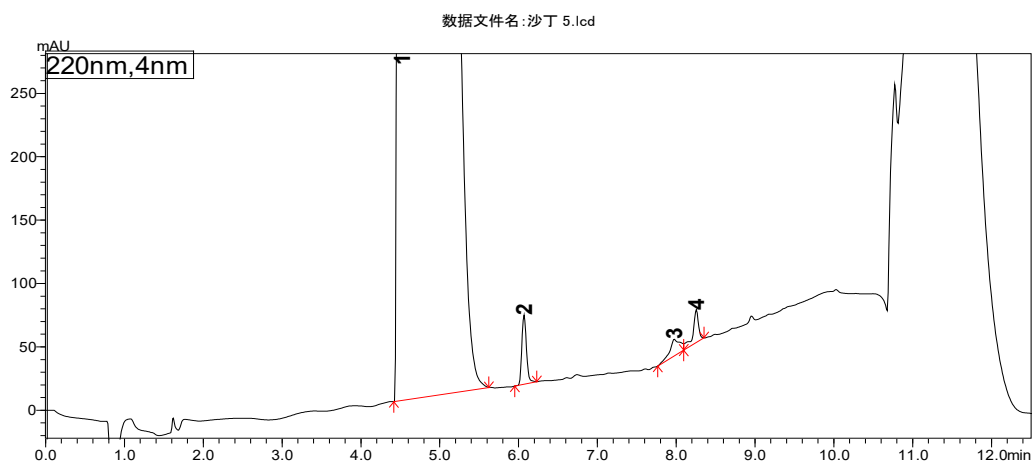


图 2 沙丁胺醇标准品的 LC-UV 图

2.1 沙丁胺醇主峰质谱规律研究

由沙丁胺醇的一级质谱图获得 $[M+H]^+$ 峰信息为 240.1598，与理论质核比误差为 1.67 ppm，如表 2 所示。图 3 为其提取离子流图。使用 LabSolutions Insight Explore 对二级高分辨质谱图中高丰度碎片进行结构解析，示例如图 4，沙丁胺醇的二级质谱碎片结构归属如图 5 所示。

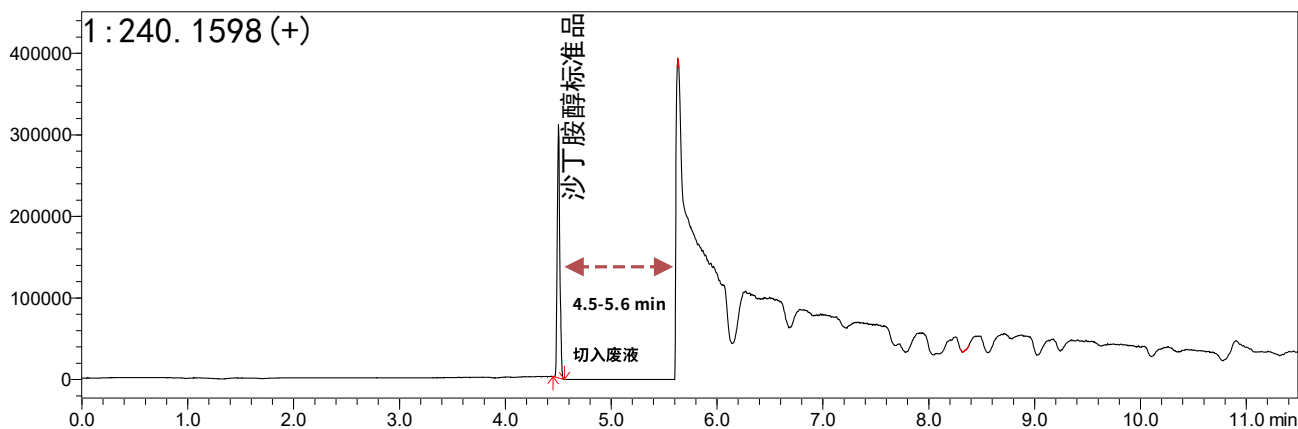


图 3 沙丁胺醇标准品提取离子流图

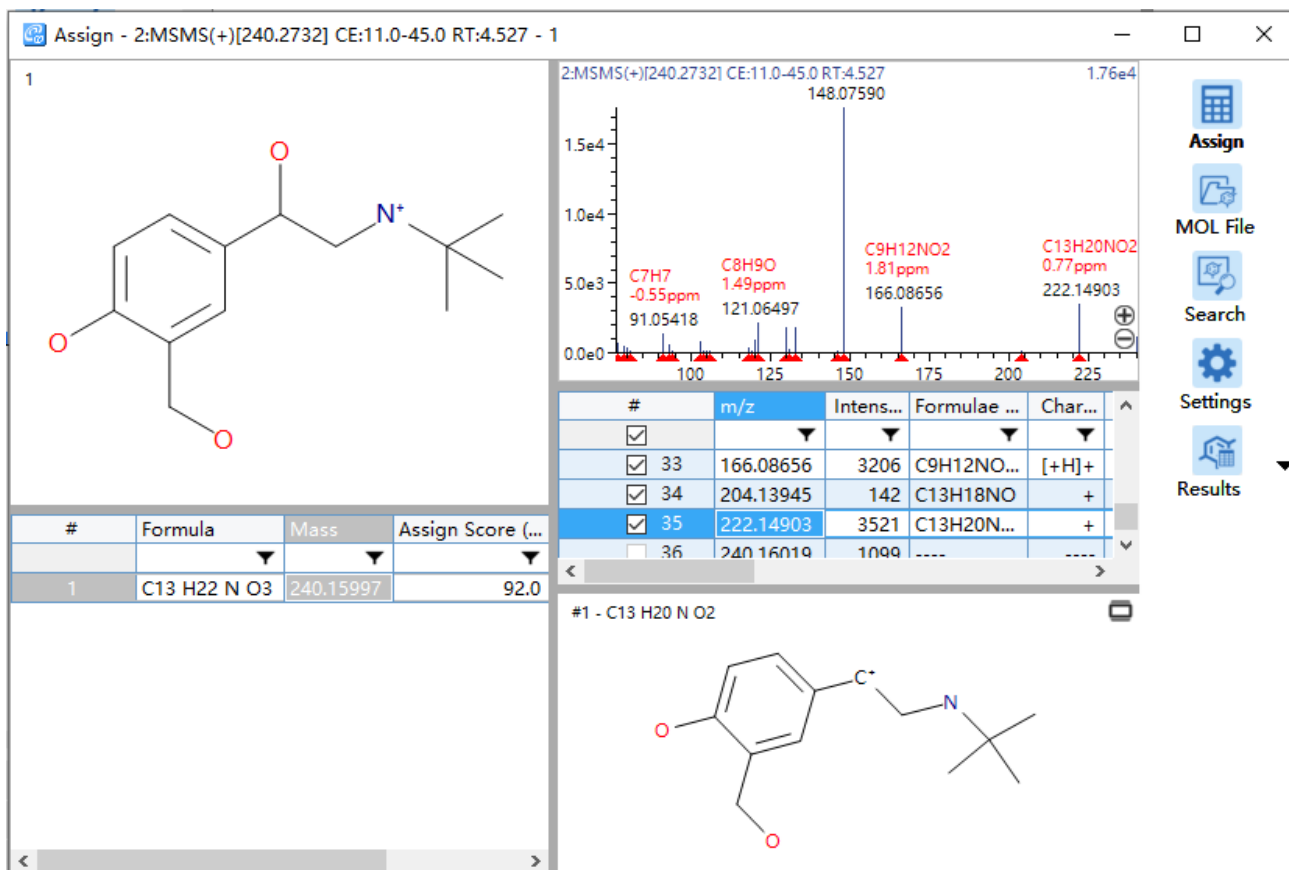


图 4 LabSolutions Insight Explore 归属二级高分辨质谱图高丰度碎片

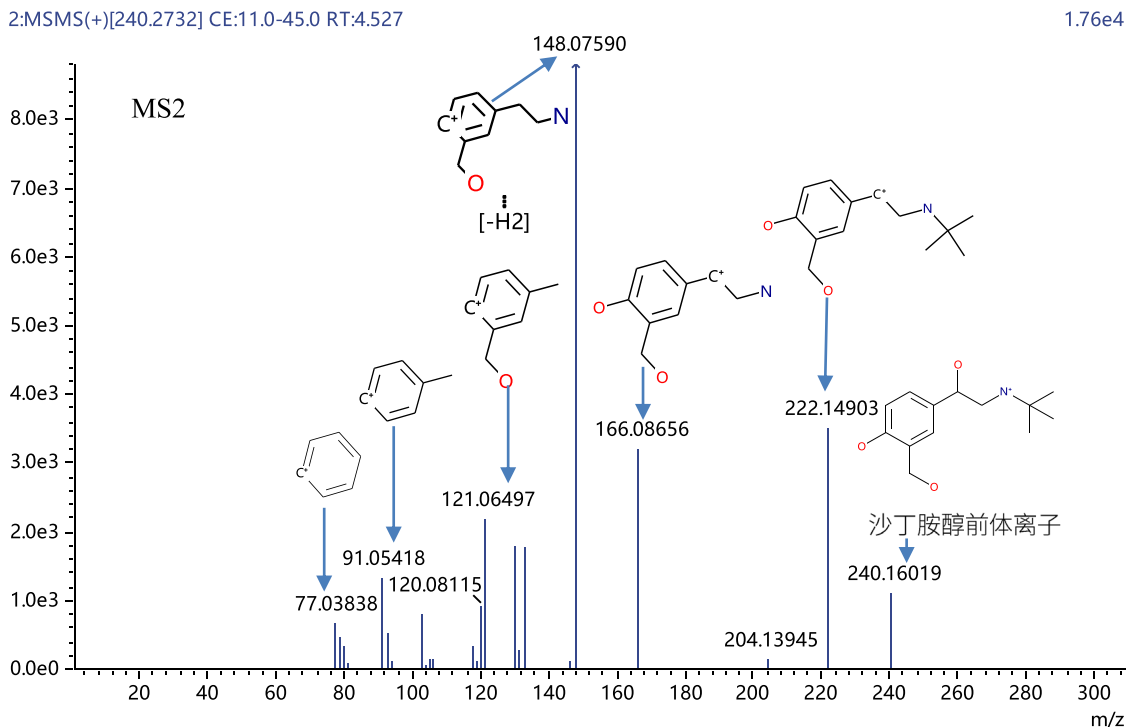


图 5 沙丁胺醇二级质谱碎片信息

表 2 沙丁胺醇色谱质谱信息汇总表

| No. | 化合物名称 | 保留时间 /min | 分子式 | 理论 m/z | 实际 m/z | 质量偏差 /ppm | 碎片 m/z |
|-----|-------|-----------|---|----------|----------|-----------|----------------------------------|
| 1 | 沙丁胺醇 | 4.523 | C ₁₃ H ₂₁ NO ₃ | 240.1594 | 240.1598 | 1.67 | 222.1489 166.0863 148.0757 |

2.2 杂质 1 结构鉴定

杂质 1 的一级质谱图如图 6 所示。MS1 质谱图经 Formula predictor 预测，得到分子式为 C₁₃H₁₉NO₄，[M+H]⁺ 峰为 254.1391，见图 7。与沙丁胺醇相比多了一个 O，少了两个 H，推测沙丁胺醇的烷基被氧化为羰基。MS2 质谱图中可见由 236 到 180 的特征碎片，推测其丢失了 C₄H₈，表明其结构中可能含有异丙基取代基，其氧化可能不会发生在异丙基官能团。由 162 和 134 的特征碎片推测其丢失了 CO，且结构中仍含有 N 元素，表明其氧化是发生在与苯环相连接的烷基上。杂质 1 可能的结构式见图 8。查阅文献，此结构未见报道，为新发现杂质。

使用 LabSolutions Insight Explore 软件，对二级高分辨质谱图中高丰度碎片进行结构解析，见图 9。

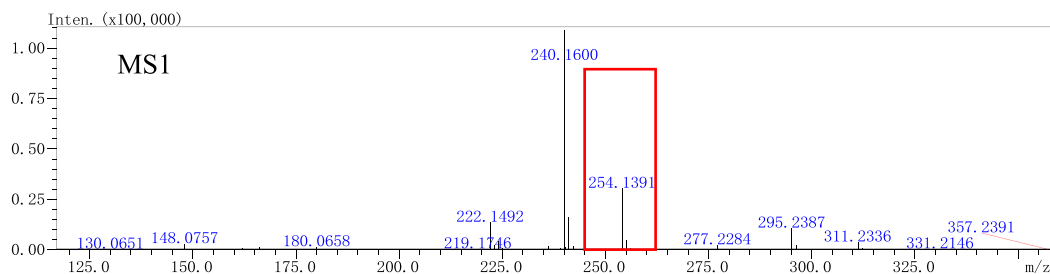


图 6 杂质 1 一级高分辨质谱图

Charge: 1

| # | Score | Pred. (M) | Pred. m/z | Meas. m/z | Diff. (mDa) | Formula (M) | Ion | Diff. (ppm) | Iso Score | DBE |
|---|-------|------------|------------|------------|-------------|--------------|--------------------|-------------|-----------|------|
| 1 | 96.59 | 253.131408 | 254.138685 | 254.139129 | 0.444 | C13 H19 N O4 | [M+H] ⁺ | 1.7485 | 97.21 | 5.0 |
| 2 | 88.11 | 253.132746 | 254.140022 | 254.139129 | -0.893 | C14 H15 N5 | [M+H] ⁺ | -3.5138 | 89.66 | 10.0 |

图7 Formula predictor 预测杂质1分子式

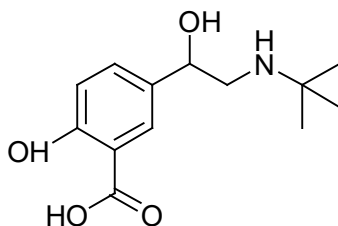


图8 杂质1可能的化学结构式

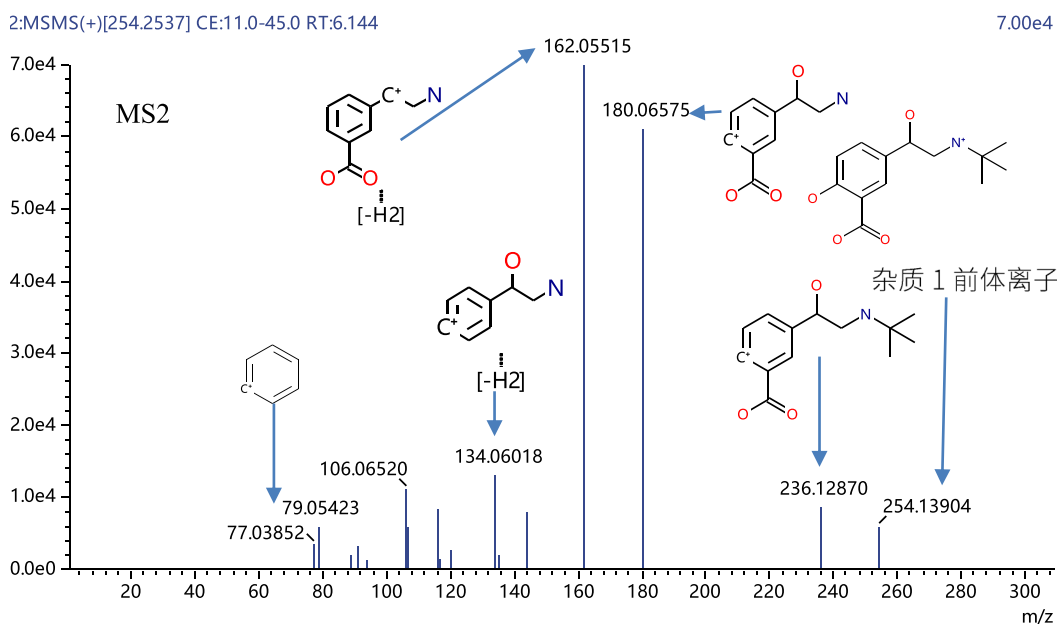


图9 杂质1 二级质谱碎片信息

2.3 杂质2 结构鉴定

杂质2 的一级质谱图如图10所示。MS1 质谱图经 Formula predictor 预测，得到分子式为 $C_{26}H_{40}N_2O_5$ ， $[M+H]^+$ 峰为 461.3016，见图11。与沙丁胺醇分子式 $C_{13}H_{21}NO_3$ 相比，推断可能为沙丁胺醇二聚体脱水后形成，可能的结构式见图12。推断其为《欧洲药典》杂质F。

使用 LabSolutions Insight Explore 软件，对二级高分辨质谱图中高丰度碎片进行结构解析，见图13。

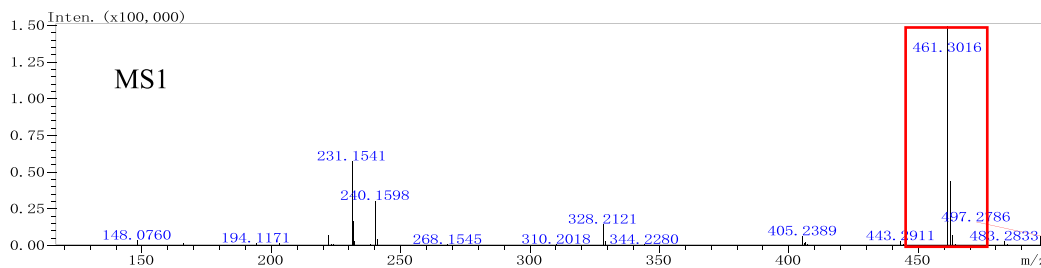


图10 杂质2 的一级高分辨质谱图

Charge: 1

| # | Score | Pred. (M) | Pred. m/z | Meas. m/z | Diff. (mDa) | Formula (M) | Ion | Diff. (ppm) | Iso Score | DBE |
|---|-------|------------|------------|------------|-------------|---|--------------------|-------------|-----------|-----|
| 1 | 86.70 | 460.293723 | 461.300999 | 461.301559 | 0.560 | C ₂₆ H ₄₀ N ₂ O ₅ | [M+H] ⁺ | 1.2139 | 85.87 | 8.0 |
| 2 | 31.39 | 460.289700 | 461.296976 | 461.301559 | 4.583 | C ₂₁ H ₄₀ N ₄ O ₇ | [M+H] ⁺ | 9.9344 | 34.88 | 4.0 |

图 11 Formula predictor 预测杂质 2 分子式

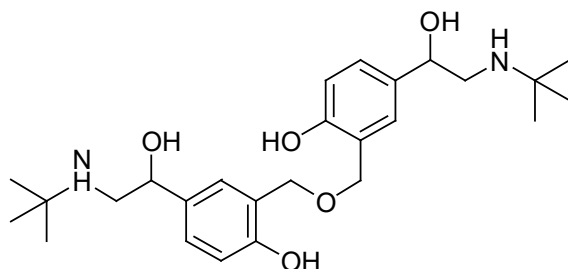


图 12 杂质 2 可能的化学结构式

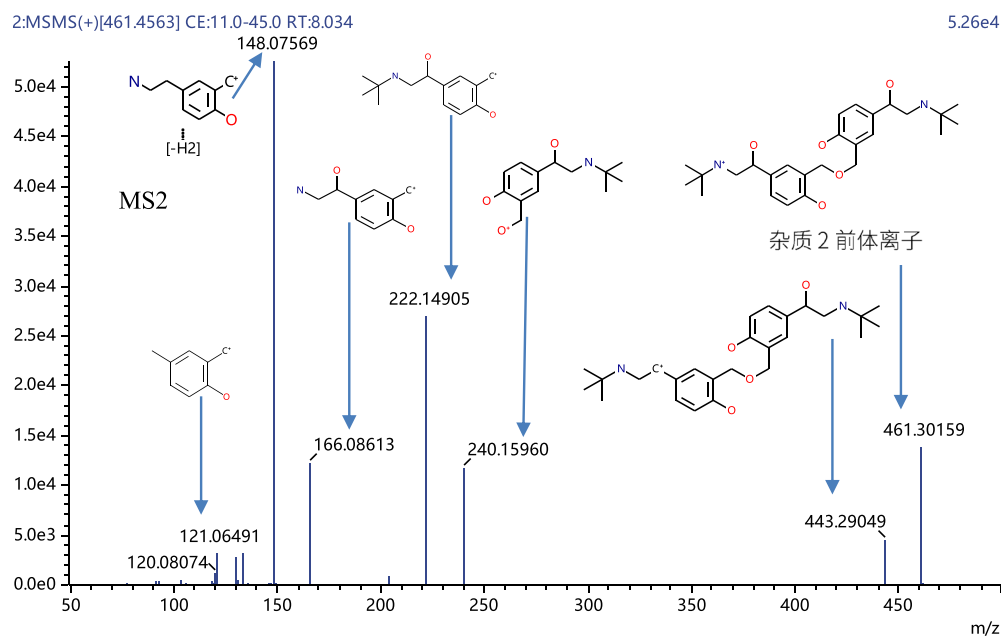


图 13 杂质 2 二级质谱碎片信息

2.4 杂质 3 结构鉴定

杂质 3 的一级质谱图如图 14 所示。杂质 3 的 MS1 质谱图中 m/z 238.1441，经 Formula Predictor 精确分子式预测软件推测其分子式为 C₁₃H₁₉NO₃，见图 15，比主峰少了两个氢。由 164 和 136 的特征碎片推测其丢失了 CO，且结构中含有 N 元素，表明其氧化可能发生在与苯环相连接的烷基上，可能的结构式见图 16。推断其为《欧洲药典》杂质 D。

使用 LabSolutions Insight Explore 软件，对二级高分辨质谱图中高丰度碎片进行结构解析，见图 17。

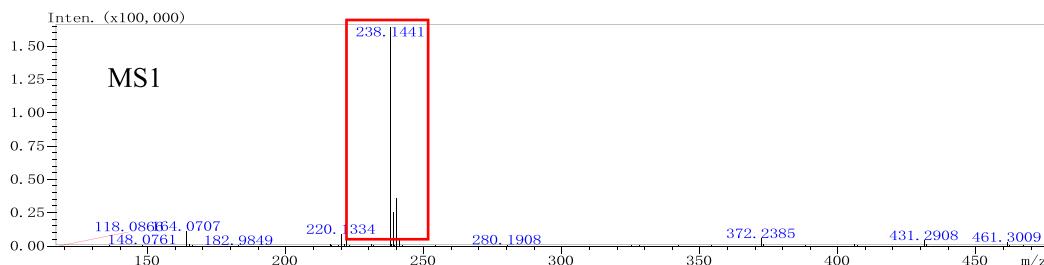


图 14 杂质 3 的一级高分辨质谱图

| # | Score | Pred. (M) | Pred. m/z | Meas. m/z | Diff. (mDa) | Formula (M) | Ion | Diff. (ppm) | Iso Score | DBE |
|---|-------|------------|------------|------------|-------------|--|--------------------|-------------|-----------|-----|
| 1 | 96.38 | 237.136494 | 238.143770 | 238.144118 | 0.348 | C ₁₃ H ₁₉ N O ₃ | [M+H] ⁺ | 1.4613 | 96.78 | 5.0 |

图 15 Formula predictor 预测杂质 3 分子式

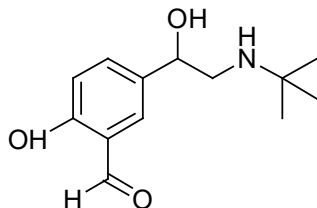


图 16 杂质 3 可能的化学结构式

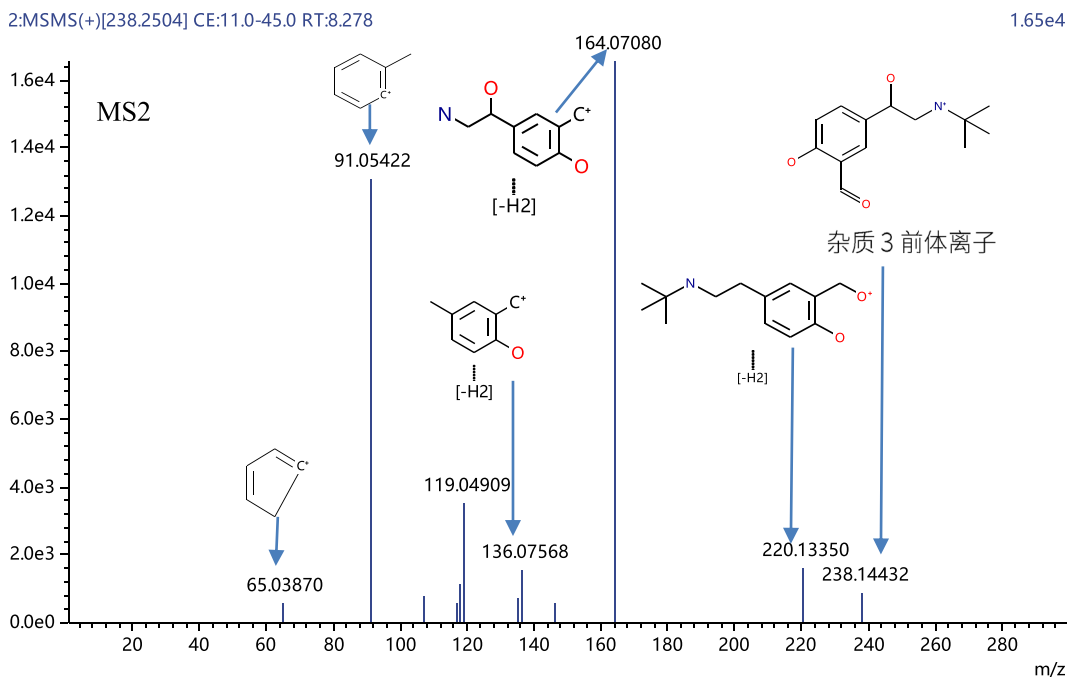


图 17 杂质 3 二级质谱碎片信息

■ 结论

使用岛津超高效液相色谱 - 四极杆飞行时间质谱 LCMS-9030 分析, 对沙丁胺醇标准品进行一级质谱和二级质谱信息采集, 使用 LabSolutions Insight Explore 软件, 综合相关参考文献, 共鉴定出 3 个杂质, 为沙丁胺醇标准品进行质量控制提供了依据。同时, 结果显示 LCMS-9030 具有亚 ppm 的质量数准确度, 是未知物分子式预测和结构推导的利器。

岛津应用云

