

离子阱飞行时间串级质谱定性 检测氯噻酮及其杂质

No.LCMS-IT-TOF-004

摘要： 本文采用岛津超快速液相色谱仪（UFLC）和电喷雾电离-离子阱-飞行时间串级质谱仪（LCMS-IT-TOF）联用定性检测出氯噻酮样品中的杂质。对氯噻酮和杂质进行多级质谱分析，根据多级质谱裂解规律推导出了杂质的结构式。

关键词： UFLC LCMS-IT-TOF 液质联用 氯噻酮 杂质检测

氯噻酮（Chlortalidon），一种利尿类药物，主要治疗以下几种病症：1.水肿性疾病，排泄体内过多的钠和水，减少细胞外液容量，消除水肿。2.高血压，可单独与其他降压药联合应用，主要用于治疗原发性高血压。3.中枢性或肾性尿崩症。4.肾石症，主要用于预防含钙盐成分形成的结石。对氯噻酮药物中含量高的杂质按规定需要定性。

岛津离子阱飞行时间串级质谱由于既具备多级质谱功能（最多到10级），又具备高分辨率和高质量数准确度，从而在对未知化合物进行定性分析方面具有独特的优势。本文采用岛津超快速液相色谱和离子阱飞行时间串级质谱联用，定性检测出了氯噻酮样品中含有的杂质组分，并根据多级质谱裂解规律推导出了杂质的结构式。

■ 实验部分

1、仪器与试剂

Shimadzu LCMS-IT-TOF液质联用系统，包括LC-20AD×2（输液泵），SIL-20A（自动进样器），CTO-20AC（柱温箱），CBM-20A（控制器），DGU-20A₃（在线脱气机），LCMS-IT-TOF（离子阱-飞行时间串级质谱仪）。

试剂：甲醇，HPLC级；纯水，Milli-Q超纯水仪制备得到；醋酸铵，醋酸，LCMS级；所有试剂和样品需用0.22 μm滤膜过滤。

2、分析条件

色谱条件

色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS，2.0mm I.D. × 75 mm L.，2.2 μm；

流动相：10mM醋酸铵溶液（用醋酸调节pH到5.5）/甲醇 = 70/30 (v/v)；

流速：0.4 mL/min；

柱温：40℃；

进样量：5 μL。

质谱条件

离子源：ESI，负离子模式；

扫描范围：m/z50-400；

加热模块温度：250℃；

CDL温度：300℃；

雾化气流速：1.5 L/min；

干燥气流速：10 L/min；离子源电压：-3.5 kV；

检测器电压：1.70 kV；

质量数校准方法：自动调谐优化电压，外标法校准质量数。

3) 氯噻酮的3-6级质谱图

选择m/z 318.9951进行多级质谱测试, 得到氯噻酮的3-6级质谱图, 如图5所示。

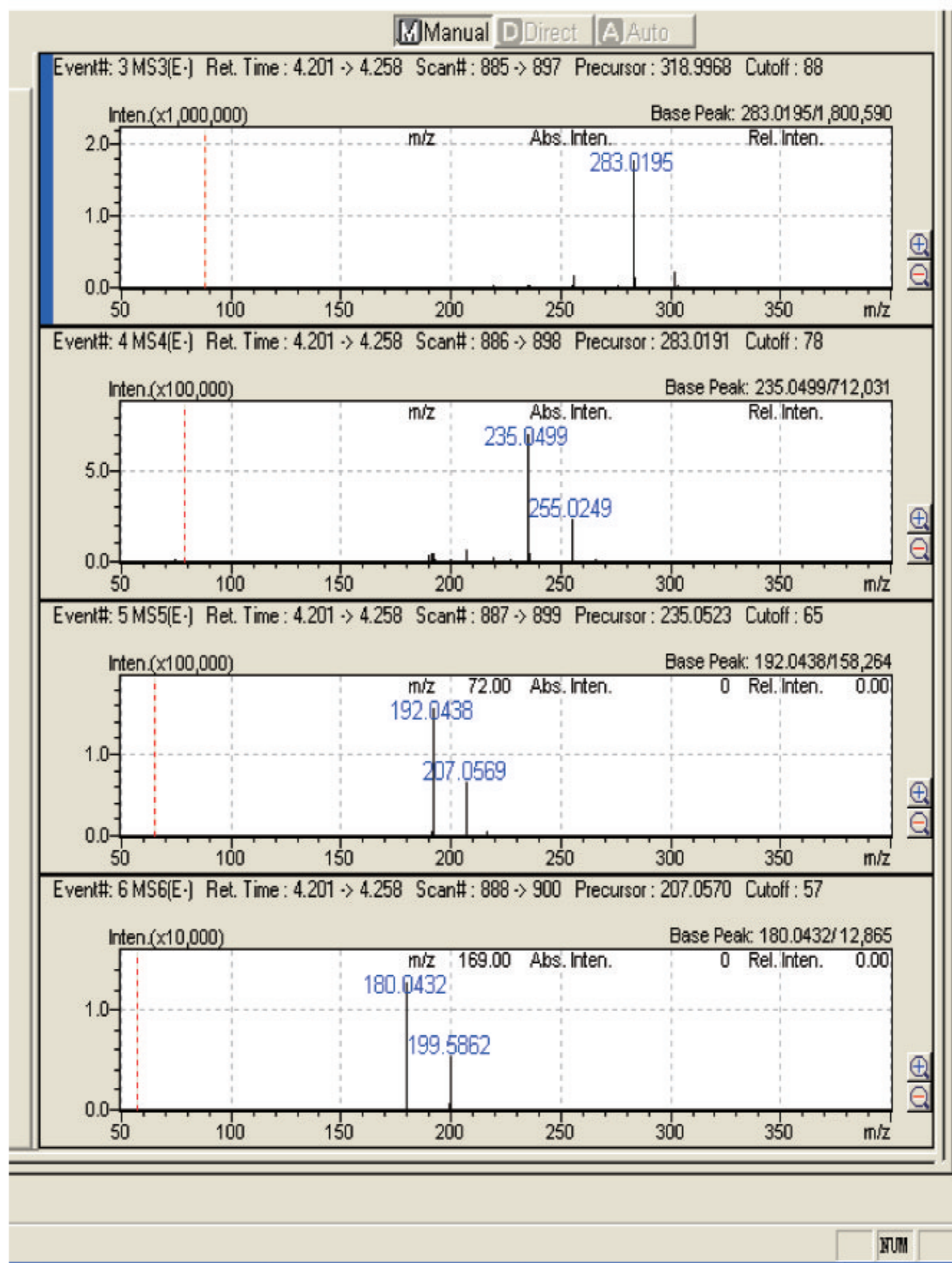


图5 氯噻酮样品的3-6级质谱图

4) 氯噻酮的裂解机理

根据氯噻酮的多级质谱信息, 推测其可能的裂解机理, 如图6所示。

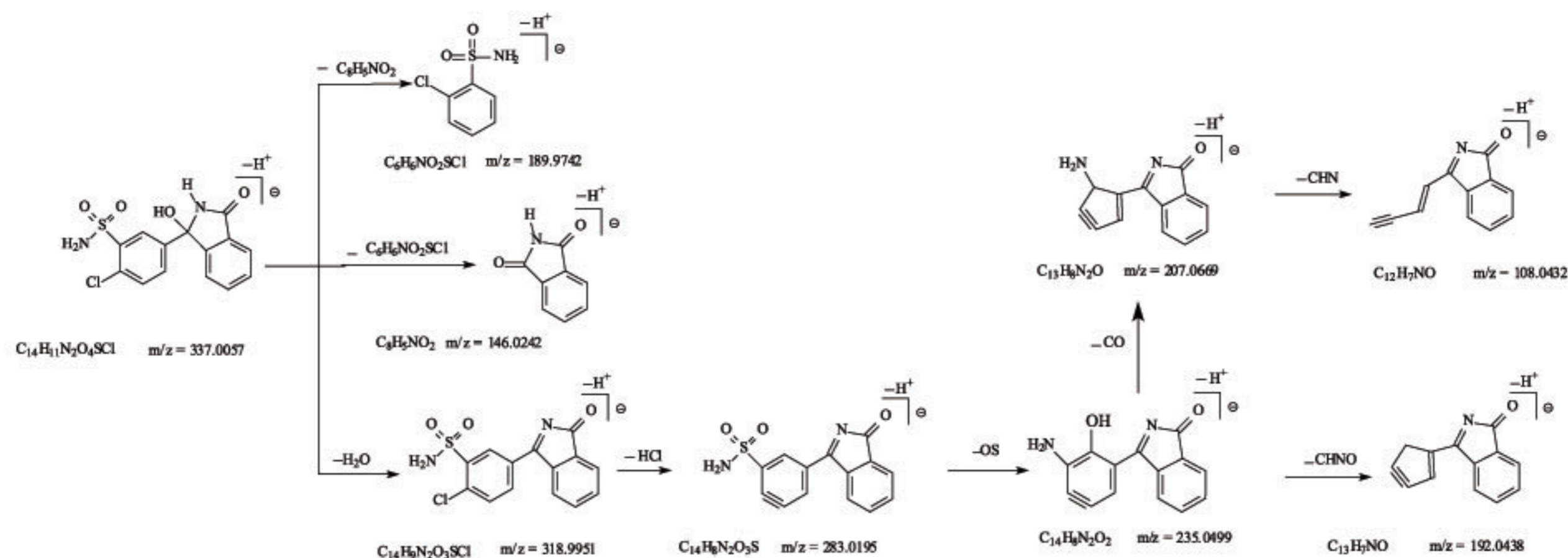


图6 氯噻酮的裂解机理

2、杂质的分析结果

1) 杂质的1级质谱图

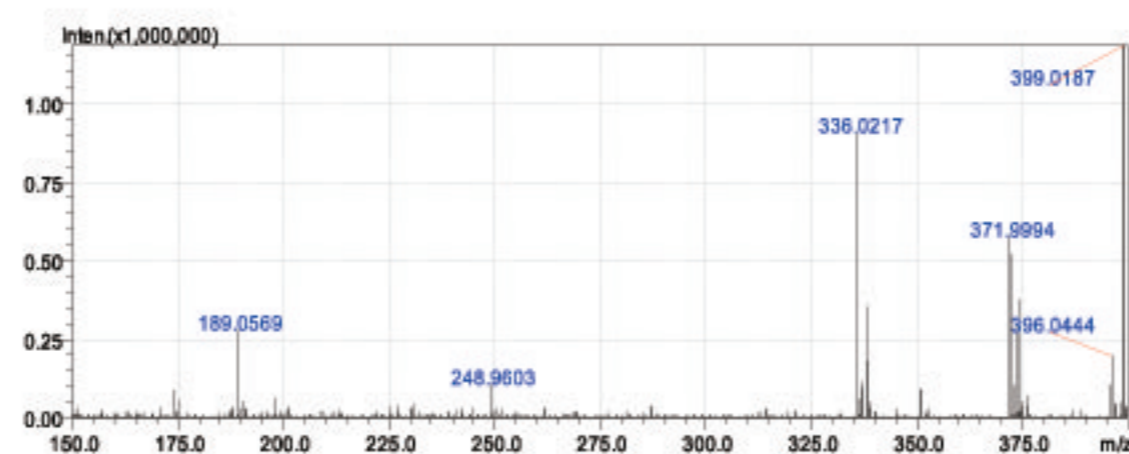
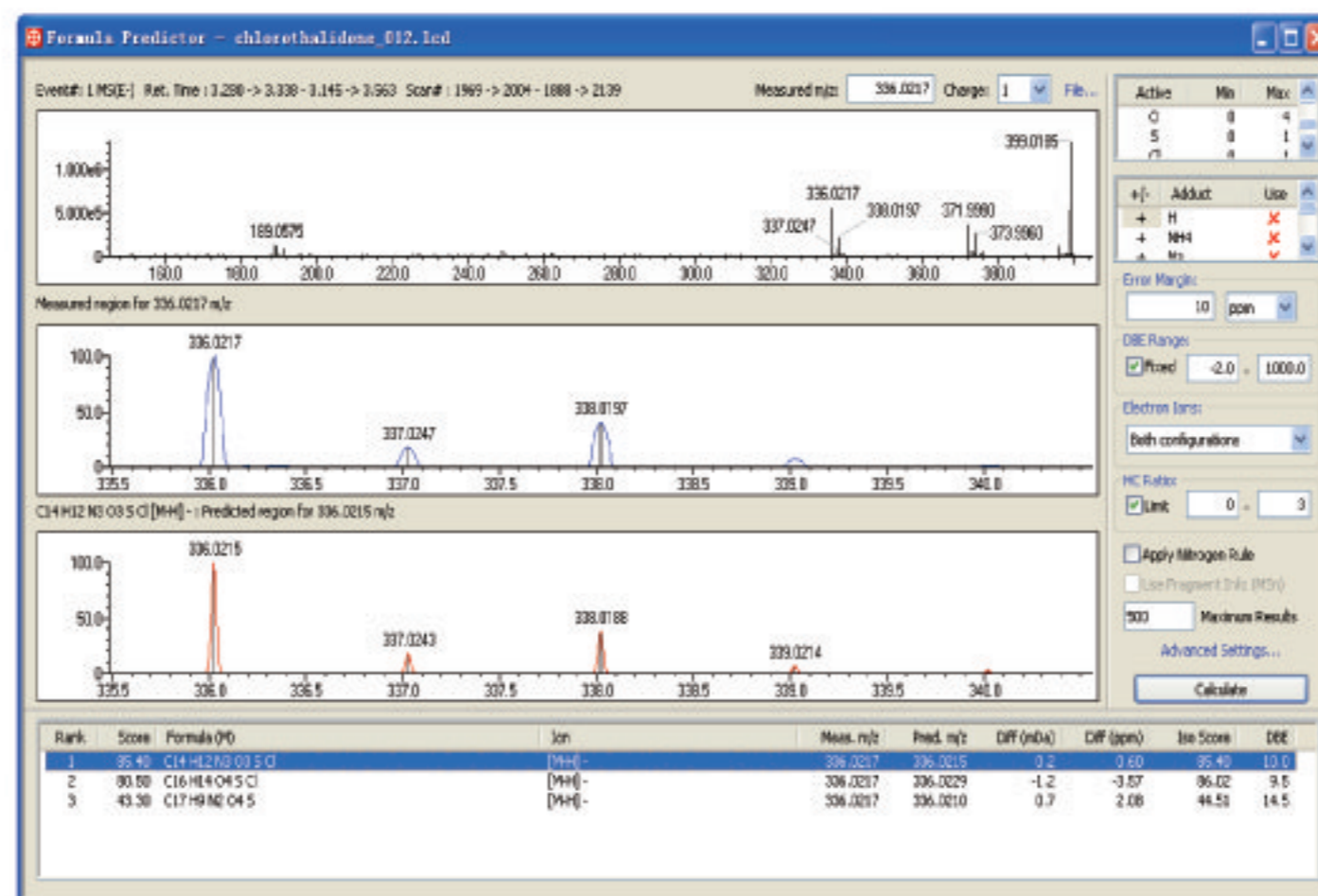


图7 杂质的1级质谱图

样品中检测到1个杂质， m/z 336.0217。分子式预测结果如图7所示，最有可能的分子式为 $C_{14}H_{12}N_3O_3SCl$ ，质量数偏差仅为0.66 ppm（见图8）。

图8 m/z 336.0217分子式预测结果

2) 杂质的2级质谱图

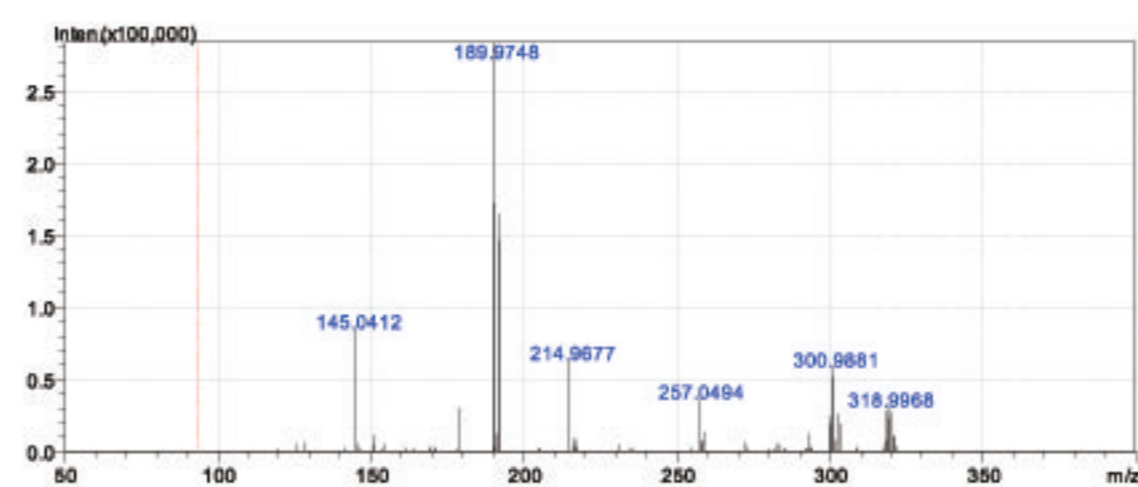
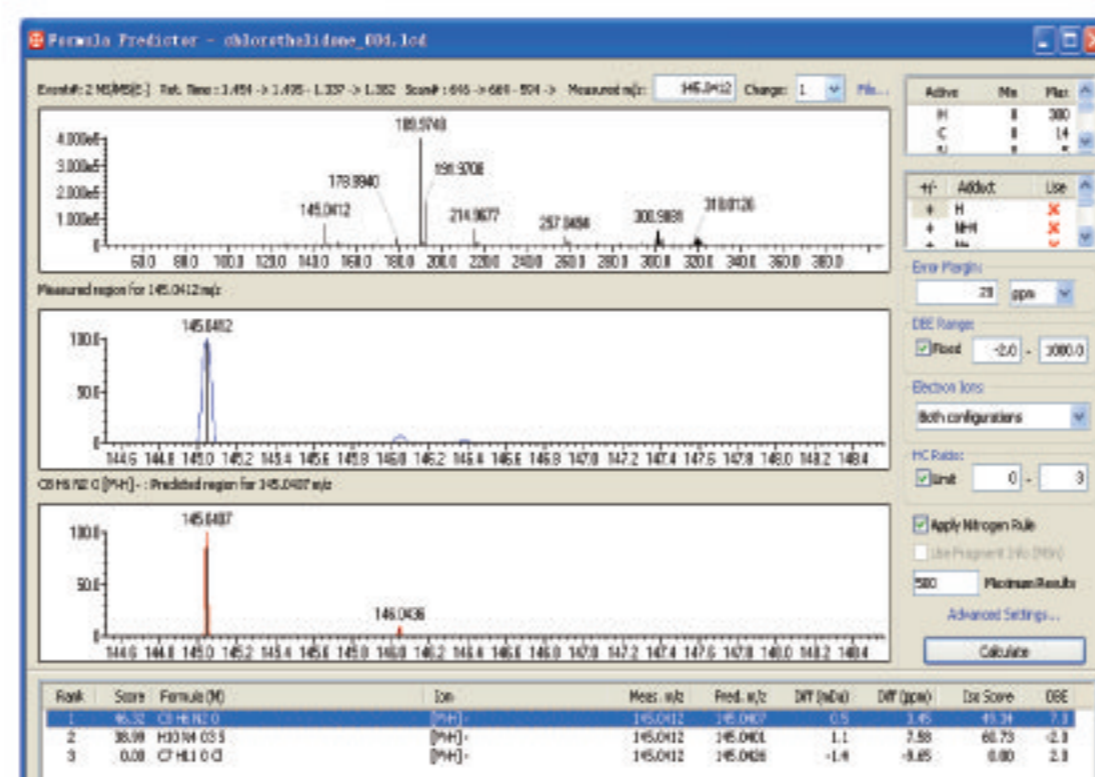


图9 杂质的2级质谱图

杂质的2级质谱图中（图9）存在与主成分氯噻酮相同的分子离子峰 m/z 318.9968和 m/z 189.9742，可以推测杂质分子中存在和主成分相似的结构 $C_{14}H_9N_2O_3SCl$ 和 $C_6H_6NO_2SCl$ 。同时检测到碎片 m/z 145.0412，推测该碎片为构成杂质的另外一主要部分，分子式预测软件预测其分子式为 $C_8H_6N_2O$ （图10）。

图10 碎片 m/z 145.0412的分子式预测结果

3) 杂质的3级质谱图

将m/z 318.9968的碎片继续碎裂，得到m/z 283.0192的分子离子峰，与主成分3级质谱相同。

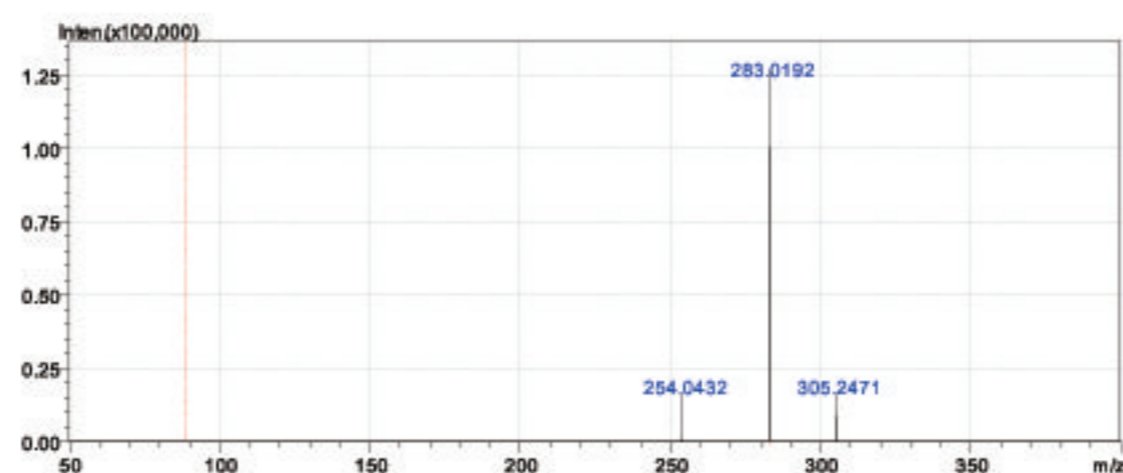


图11 杂质的3级质谱图

4) 杂质的4级质谱图

将m/z 283.0192的碎片继续碎裂，得到m/z 235.0511的碎片峰，与主成分4级质谱相同。

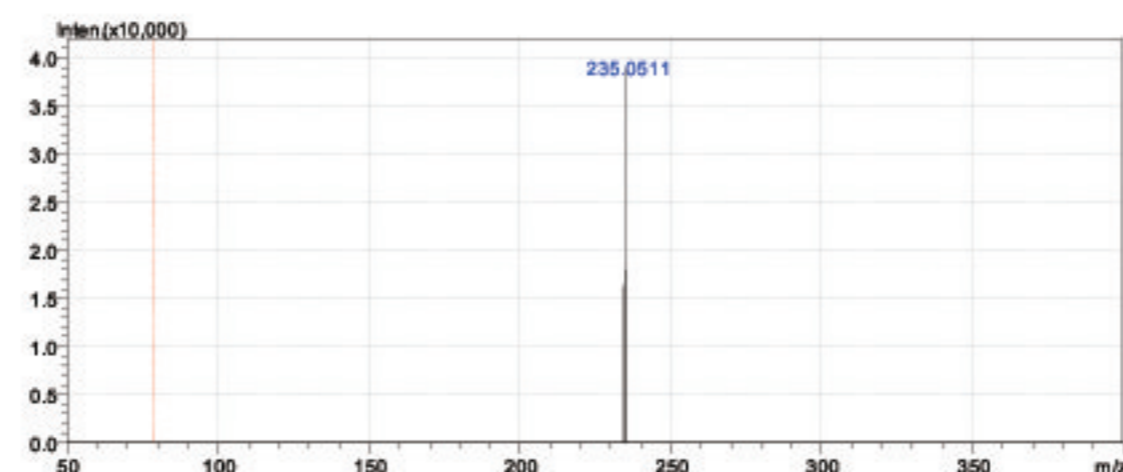


图12 杂质的4级质谱图

5) 杂质可能裂解机理

根据预测分子式 $C_{14}H_{12}N_3O_3S$ Cl，以及杂质的二级质谱图中存在与主成分氯噻酮相同的碎片组分 $C_{14}H_9N_2O_3S$ Cl和 $C_6H_6NO_2S$ Cl。由m/z 145.0412推测另一主要碎片分子式为 $C_8H_6N_2O$ 。因此，推断杂质的结构式和裂解途径如下：

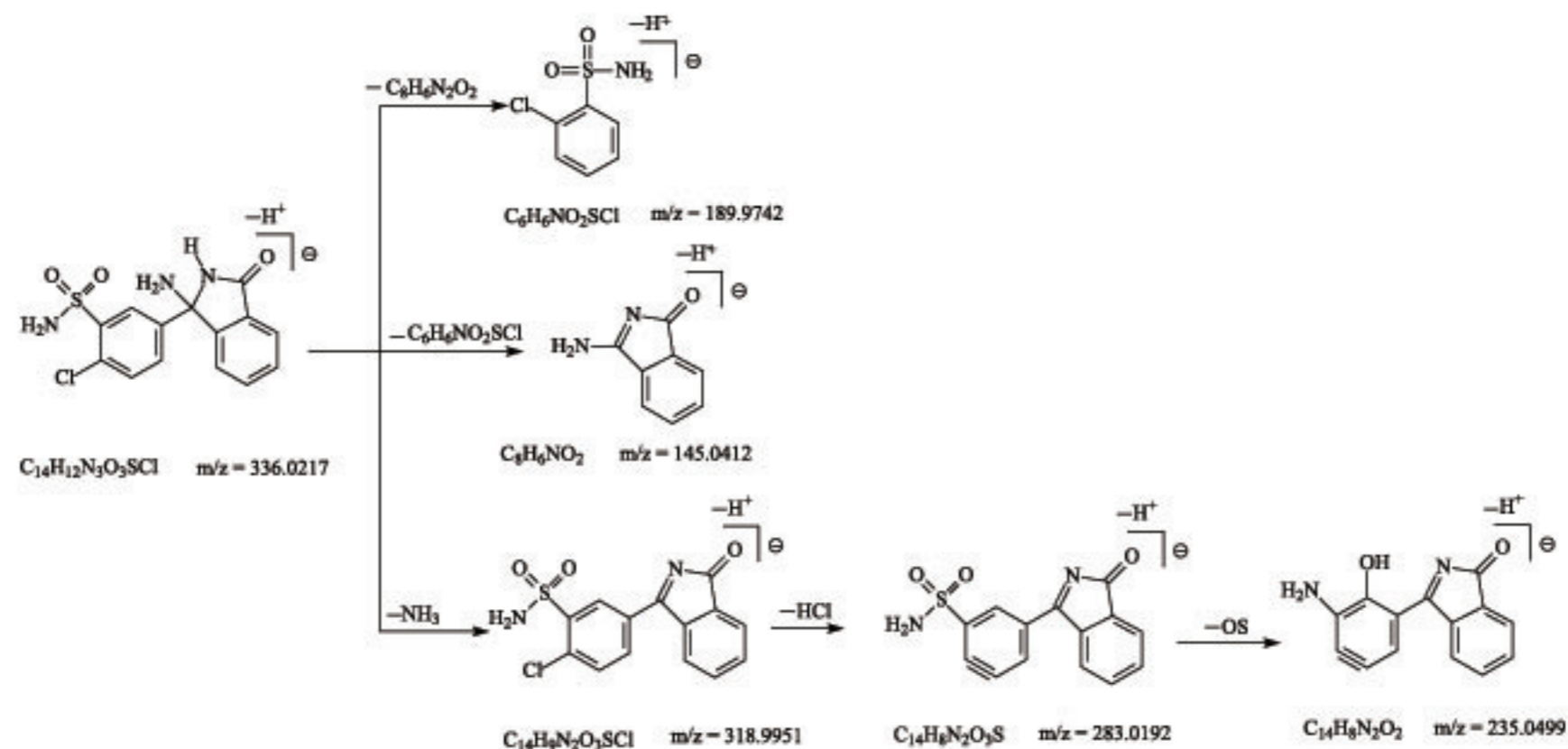


图13 杂质的裂解机理

■ 结果与讨论

本文使用岛津超快速液相色谱仪 (UFLC) 和电喷雾电离-离子阱-飞行时间串级质谱仪 (LCMS-IT-TOF) 联用对氯噻酮样品中的杂质成分进行定性分析。通过多级质谱裂解规律推导出了杂质的结构式。岛津离子阱飞行时间串级质谱仪是药物有效成分及杂质定性检测的强有力工具。