

液相色谱-离子阱飞行时间串联质谱定性分析呋喃妥因及杂质

LCMS-IT-TOF-018

摘要： 本文使用液相色谱-离子阱飞行时间串联质谱(LCMS-IT-TOF)对抗菌药物呋喃妥因及杂质进行定性分析。样品主成分是呋喃妥因，分子式是 $C_8H_6N_4O_5$ ，化学名1-[[[(5-硝基-2-呋喃基)亚甲基]氨基]-2,4-咪唑烷二酮。根据主成分和相应杂质峰的多级质谱裂解规律及合成反应步骤推导出目标杂质峰分子式为 $C_{10}H_8N_4O_7$ ，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 呋喃妥因 Nitrofurantoin

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杂质的鉴定，可以准确的预测杂质的分子式和结构式。本文采用LCMS-IT-TOF对呋喃妥因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，三乙胺。样品：呋喃妥因原料药。

仪器：Shimadzu 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(液相色谱-离子阱飞行时间串联质谱仪)。

1.2 色谱条件

色谱柱：Inertsil ODS-SP，150×2.0 mm I.D.，5 μm；流动相：pH 4.5缓冲液(水1000 mL，加三乙胺1 mL，用冰醋酸调pH至4.5)-乙腈(90/10，v/v)；流速：0.2 mL/min；柱温：40℃；波长检测范围：200-700 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℃，Heater Block温度250℃，检测器电压1.750 kV；液质联用进样模式，自动调谐优化电压，外标法校正质量数。

结果与讨论

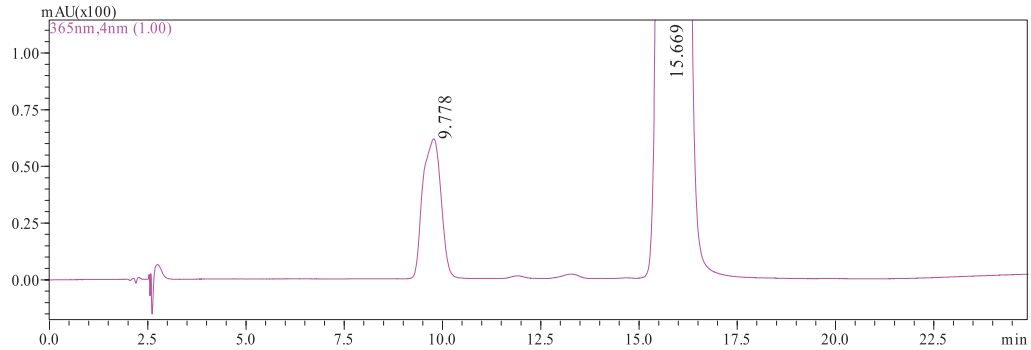
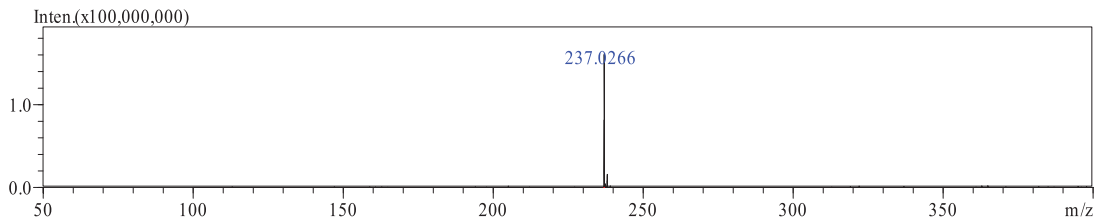


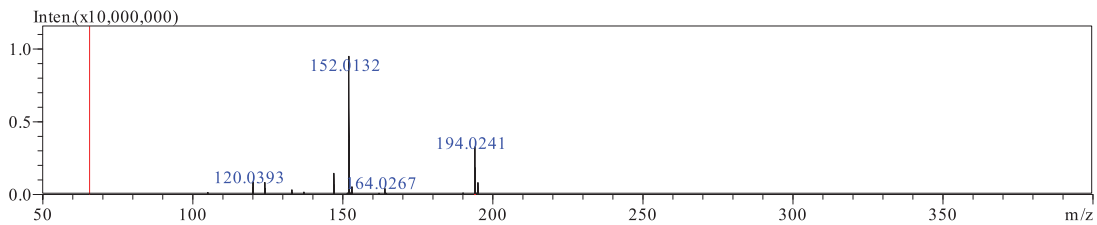
图1 365nm 色谱图

图1为分析得到的PDA色谱图(365 nm)。其中15.67min为呋喃妥因主组分色谱峰，9.78 min色谱峰为未知的目标杂质。得到负离子检测多级质谱图如下：

主组分MS1



MS² Precursor 237.0275



MS³ Precursor 194.0241

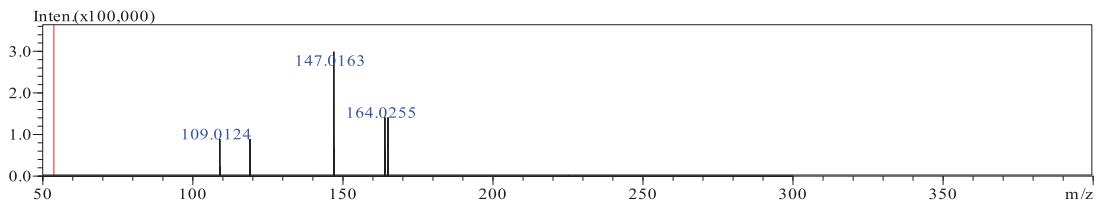


图2 主组分负离子检测多级质谱图

Shimadzu Formula Predictor对m/z 237.0275进行分子式预测，预测化合物分子式可能为 $C_8H_6N_4O_5$ ，与所给主组分呋喃妥因分子式一致。可能的裂解方式分子式为

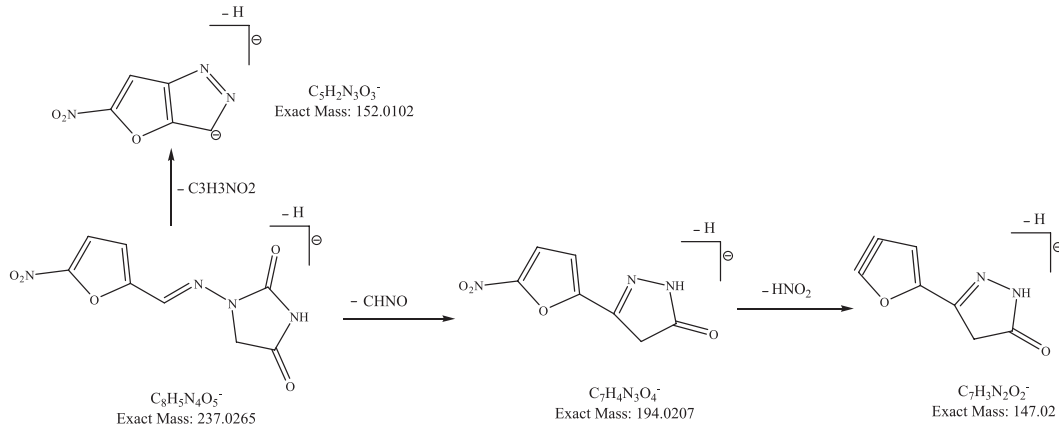


图 3 主组分多级质谱裂解规律

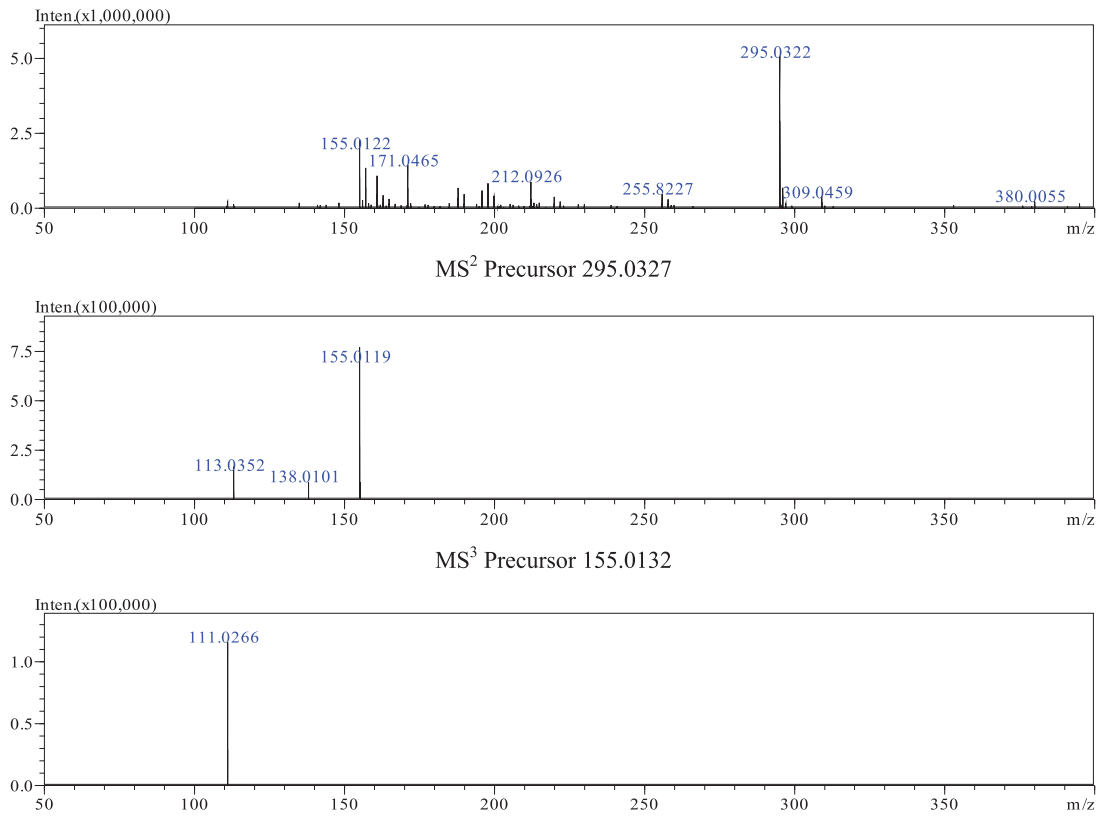


图 4 杂质负离子检测多级质谱图

Shimadzu Formula Predictor对m/z 295.0322进行分子式预测，预测化合物分子式可能为C₁₀H₈N₄O₇，结合其多级质谱裂解规律及合成反应最后一步，推断杂质的结构及可能裂解规律如下：

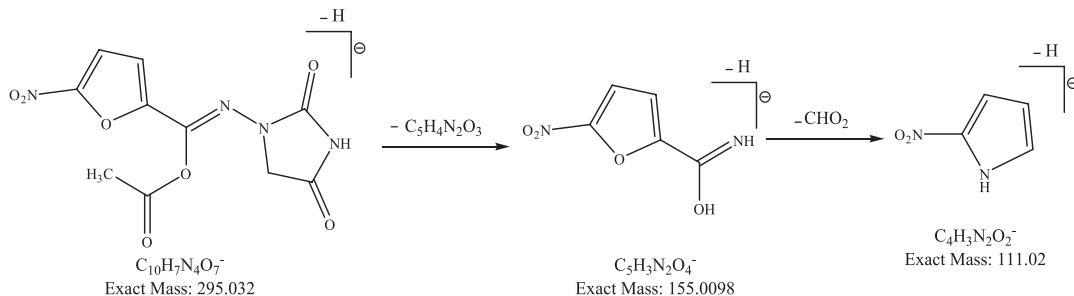


图 5 杂质多级质谱裂解规律

杂质结构和呋喃妥因相比，多了一个酯基。

正负离子一级质谱检测的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)
主成分	C ₈ H ₆ N ₄ O ₅	[M-H] ⁻	237.0266	237.0260	+0.6
目标杂质峰	C ₁₀ H ₈ N ₄ O ₇	[M-H] ⁻	295.0322	295.0315	+0.7
主成分	C ₈ H ₆ N ₄ O ₅	[M+Na] ⁺	261.0227	261.0236	-0.9
目标杂质峰	C ₁₀ H ₈ N ₄ O ₇	[M+Na] ⁺	319.0282	319.0291	-0.9

结论

用LCMS-IT-TOF检测了呋喃妥因和目标杂质，获得其多级质谱图，预测了杂质的分子式并推导出结构式。结合主组分结构及原料药的合成反应，推测杂质的分子式为C₁₀H₈N₄O₇，与主组分结构相比，多了一个酯基。并且对主组分和杂质推导了其质谱裂解规律。