

# 离子阱-飞行时间串联质谱定性检测地巴唑中的未知杂质

## LCMS-IT-TOF-022

**摘要：**本文使用LCMS-IT-TOF飞行时间串联质谱仪定性研究了地巴唑原料药中的未知微量杂质，并根据多级质谱信息推导出地巴唑及杂质的裂解规律，对地巴唑生产工艺优化具有实际意义。

**关键词：**UFLC LCMS-IT-TOF 液质联用 地巴唑 杂质

地巴唑(Dibazolium)，有舒张血管、降低血压及解除平滑肌痉挛和兴奋脊髓作用。用于高血压、心绞痛、妊娠毒血症、胃肠道痉挛、脊髓灰质炎后遗症及外周性面神经麻痹等。出于对用药安全的考虑，原料药中超过0.1%含量的杂质都要进行定性。液质联用技术是药物杂质检测的不可或缺的手段。在各种质谱仪中，离子阱飞行时间串联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，因此特别适合于同时对多种微量成分进行准确的定性和定量分析。本文使用离子阱飞行时间串联质谱(LCMS-IT-TOF)定性检测了地巴唑中的四种杂质。

### 实验部分

#### 1.1 仪器

岛津超快速液相色谱仪(UFLCX)与离子阱飞行时间串联质谱仪(LCMS-IT-TOF)联用系统。具体配置为：LC-20AD×2(输液泵)，DGL-20A3(在线脱气机)，SIL-20AC(自动进样器)，CTO-20AC(柱温箱)，SPD-M20A(二极管阵列检测器)，CBM-20A(系统控制器)，LCMS-IT-TOF(离子阱飞行时间串联质谱仪)，LCMSsolution Ver. 3.6(色谱工作站)。

#### 1.2 分析条件

##### 1.2.1 液相条件

分析仪器：UFLC系统

流动相：A – 10 mM醋酸铵水溶液，醋酸调pH值至4.0；B – 乙腈；A/B=70/30(v/v)

流速：0.4 mL/min

色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS II 2.0 mm×100 mm，2.2 μm

进样体积：2 μL

柱温：40°C

洗脱方式：等度洗脱

##### 1.2.2 质谱条件

分析仪器：LCMS-IT-TOF

离子源：ESI，正离子扫描

扫描范围：MS<sup>1</sup>：m/z 150-1000；MS<sup>n</sup>：m/z 50-600

加热模块温度：200°C

脱溶剂管温度：200°C

雾化气流速：1.5 L/min

干燥气流速：10 L/min

离子源电压：+4.5 kV

检测器电压：1.70 kV

离子累积时间：10 ms

CID参数：碰撞能量50%，碰撞气50%

校准方法：自动调谐优化电压，外标法校准质量数。

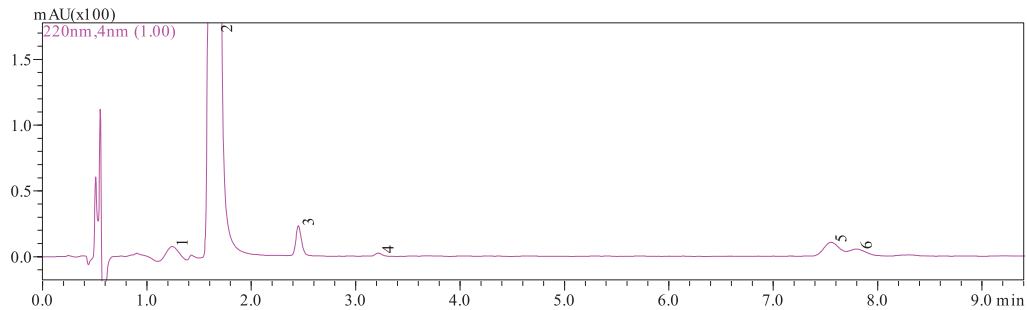
### 1.3 样品制备

称量20.0 mg的地巴唑，乙腈-水(1:1)溶解并定容至10 mL，得浓度为2 mg/mL的溶液，样品经0.22 μm滤膜过滤后进样检测。

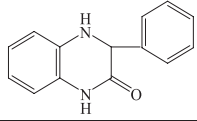
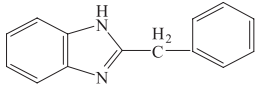
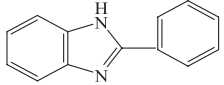
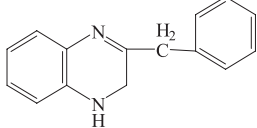
## 结果讨论

### 2.1 样品的紫外光谱图

样品的紫外光谱图如下图所示，2号峰为主成分峰，1、3、4、5和6号峰为杂质峰。

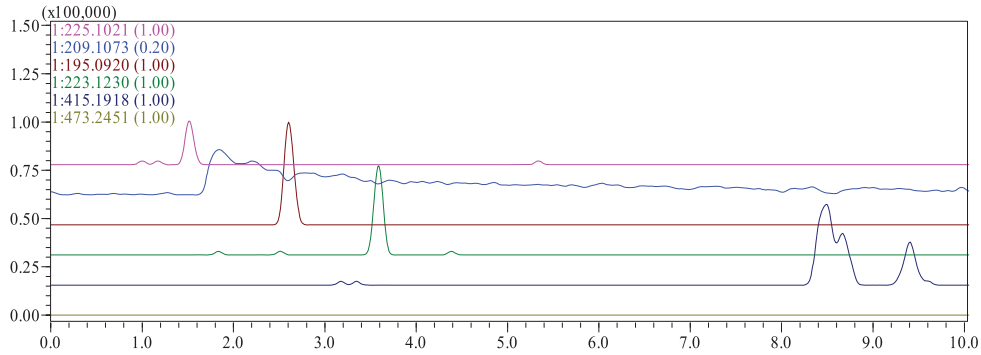


地巴唑主成分及杂质可能的结构如下：

序号	组分	保留时间 (min)	m/z	分子式	可能结构式
1	杂质 1	1.241	225.1021	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	
2	主成分	1.669	209.1073	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub>	
3	杂质 2	2.450	195.0920	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub>	
4	杂质 3	3.214	223.1230	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub>	
5	杂质 4	7.553	415.1918	C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> N <sub>4</sub>	二聚体
6	杂质 5	7.796	473.2451	C <sub>30</sub> H <sub>28</sub> N <sub>6</sub>	二聚体衍生物

## 2.2 样品的EIC色谱图

样品的提取离子流图如下图所示。从图中可以看出，除杂质5外，主成分及其他杂质均有很好的响应。

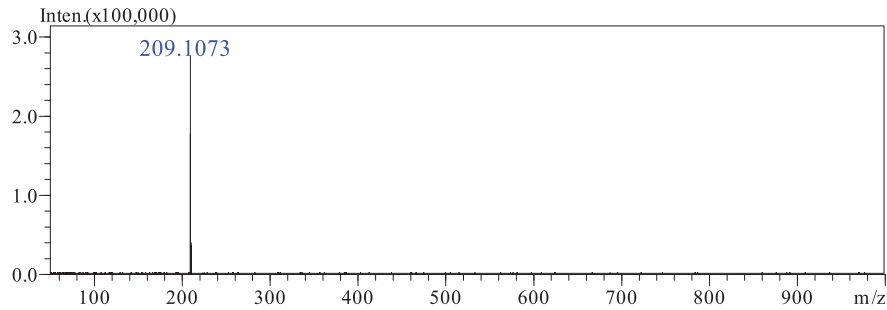


## 2.3 主成分(2#峰)的分析结果

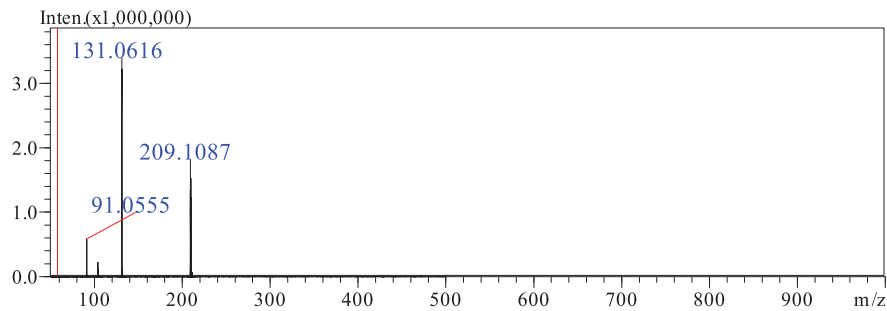
### 2.3.1 质谱图

主成分地巴唑的分子式 $C_{14}H_{12}N_2$ ，分子量208.1，精确质量数208.1000， $[M+H]^+$ =209.1073。其质谱图如下所示。

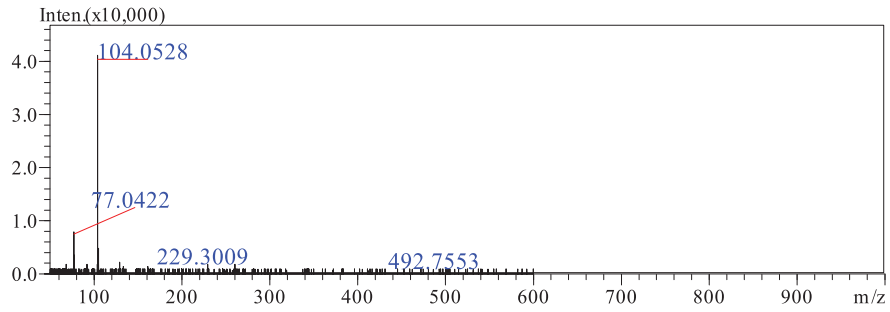
MS<sup>1</sup>



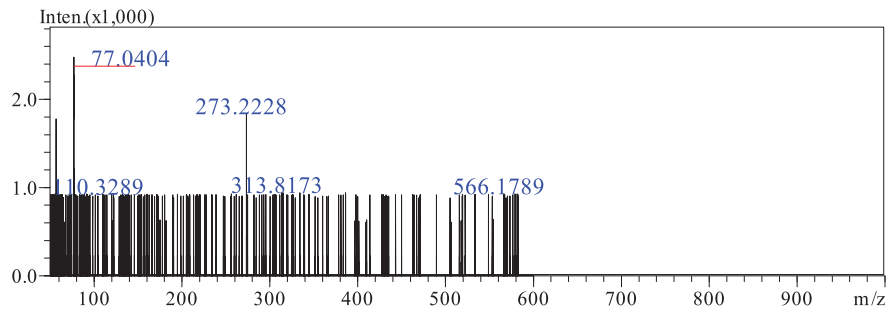
MS<sup>2</sup>, precursor: 209.1073



MS<sup>3</sup>, precursor: 131.0608

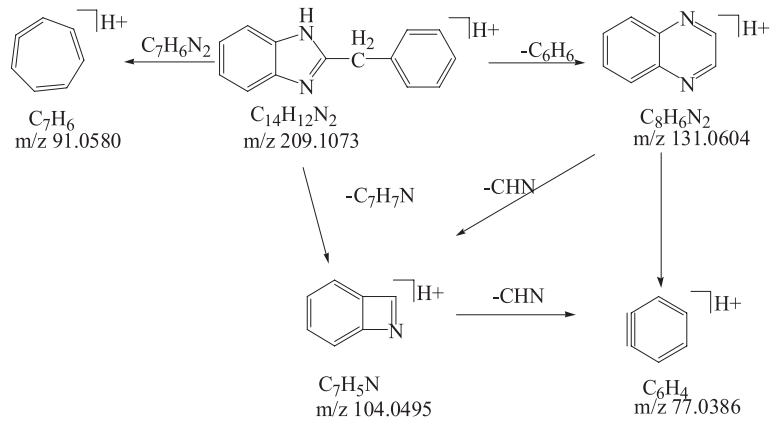


MS<sup>4</sup>, precursor: 104.0495



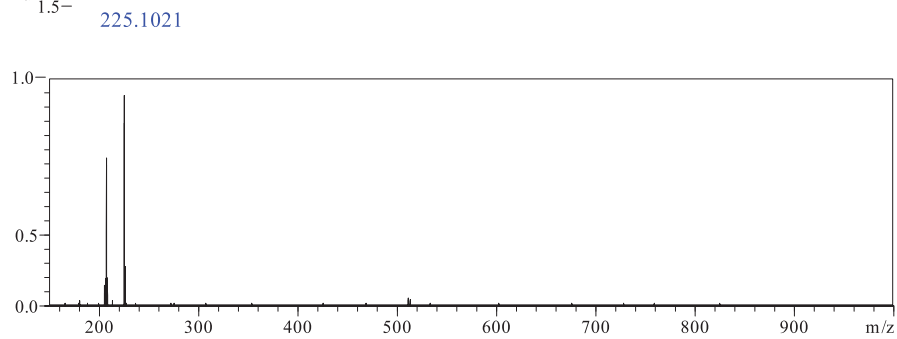
### 2.3.2 裂解规律

根据主成分的多级质谱图，推测其可能的裂解规律如下：

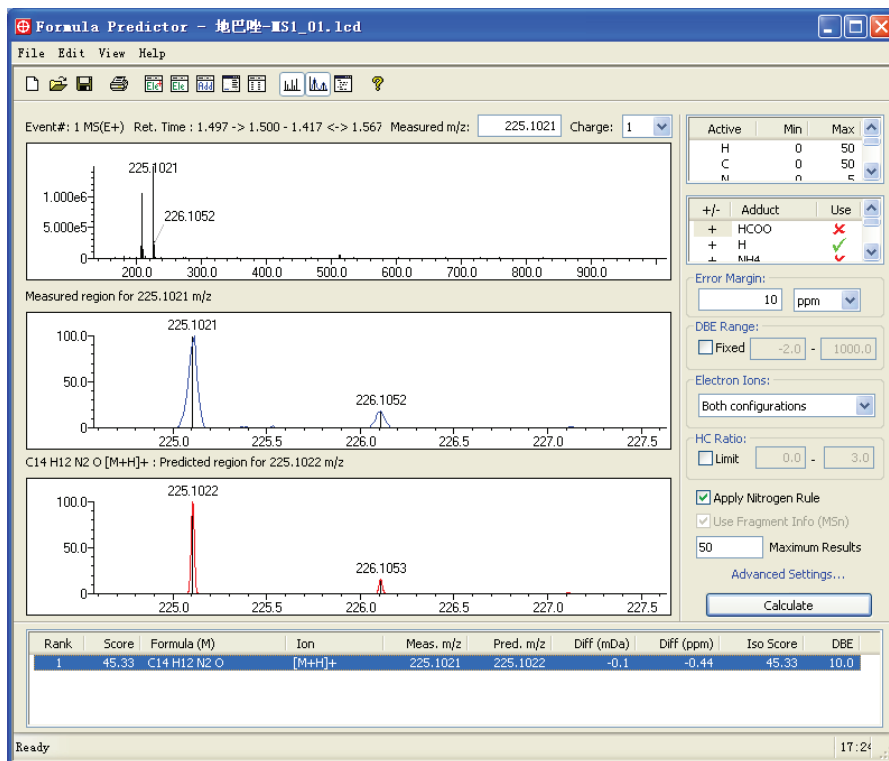
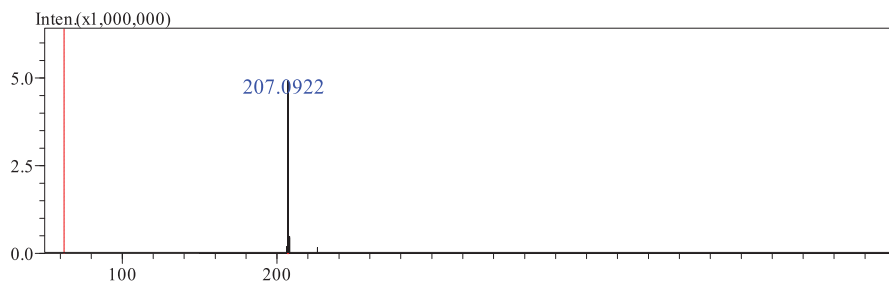


## 2.4 杂质1(1#峰)的分析结果(x1,000,000)

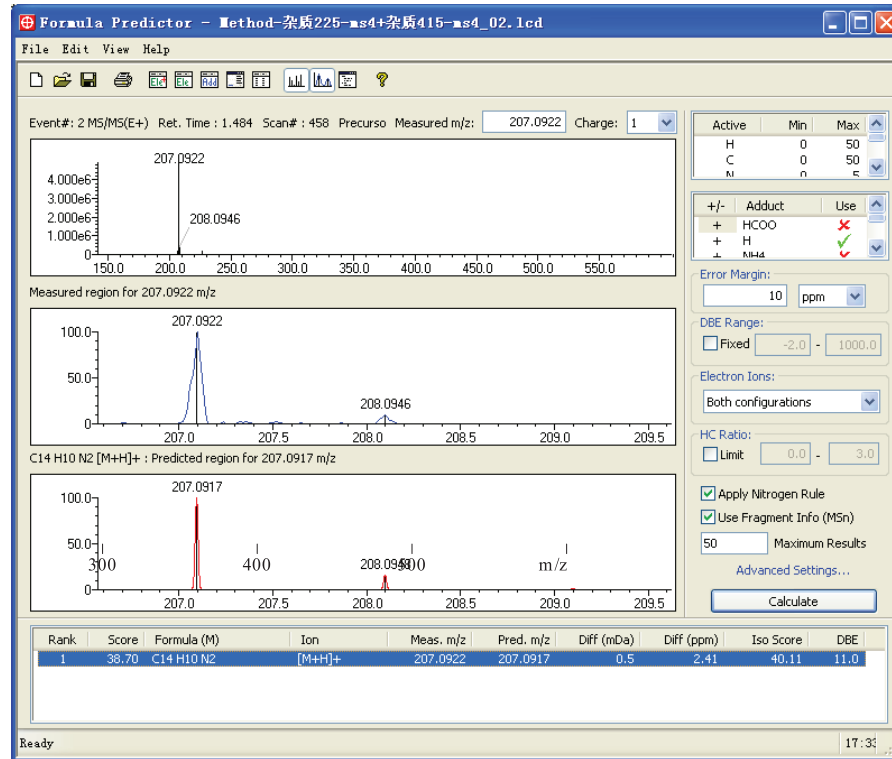
## 2.4.1 质谱图

 MS<sup>1</sup>


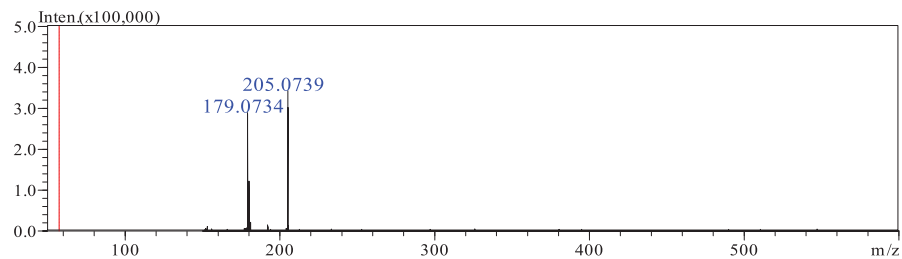
使用分子式预测软件预测，设置元素为C、H、N和O，误差范围为10 mg/L，使用同位素规则，不饱和度及氮率，同时预测，得到预测结果为C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O，与理论值的相对偏差为-0.44 ppm。


 MS<sup>2</sup>, precursor: 225.1021


使用分子式预测软件预测，得到预测结果为 $C_{14}H_{10}N_2$ ，为脱羟基产物。预测结果如下所示。

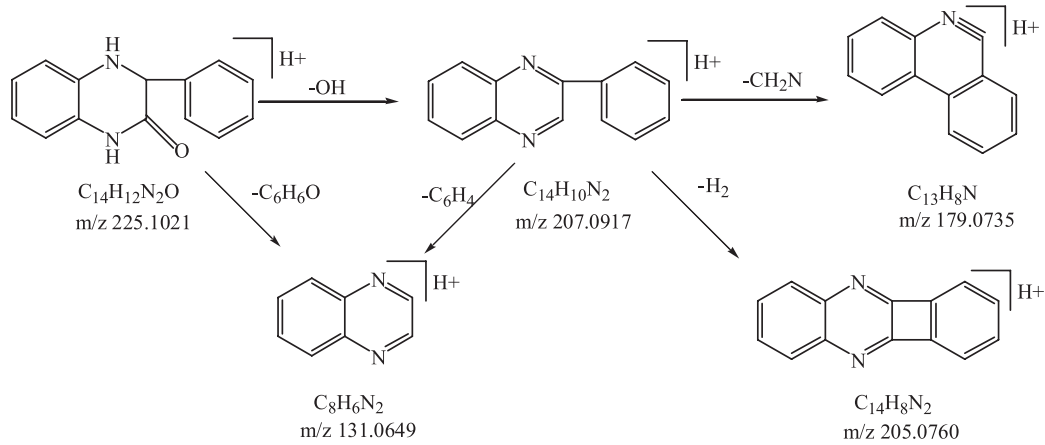


MS<sup>3</sup>, precursor: 207.0917



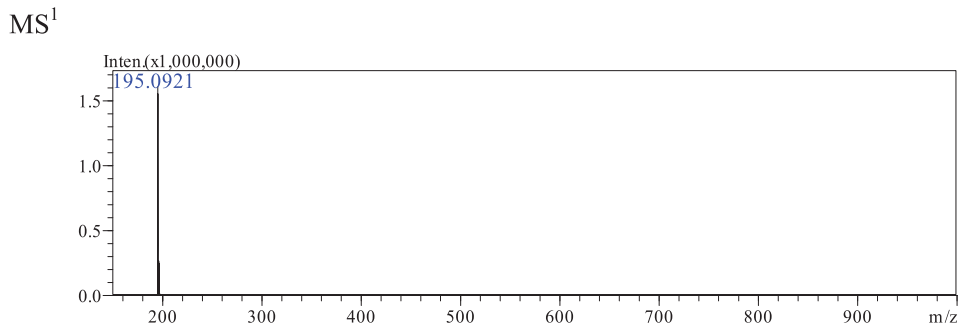
### 2.4.2 裂解规律

根据多级质谱图推测其可能的裂解规律如下：



### 2.5 杂质2(3#峰)的分析结果

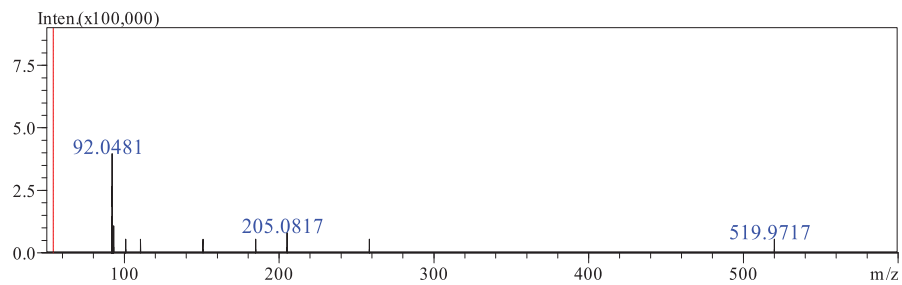
#### 2.5.1 质谱图



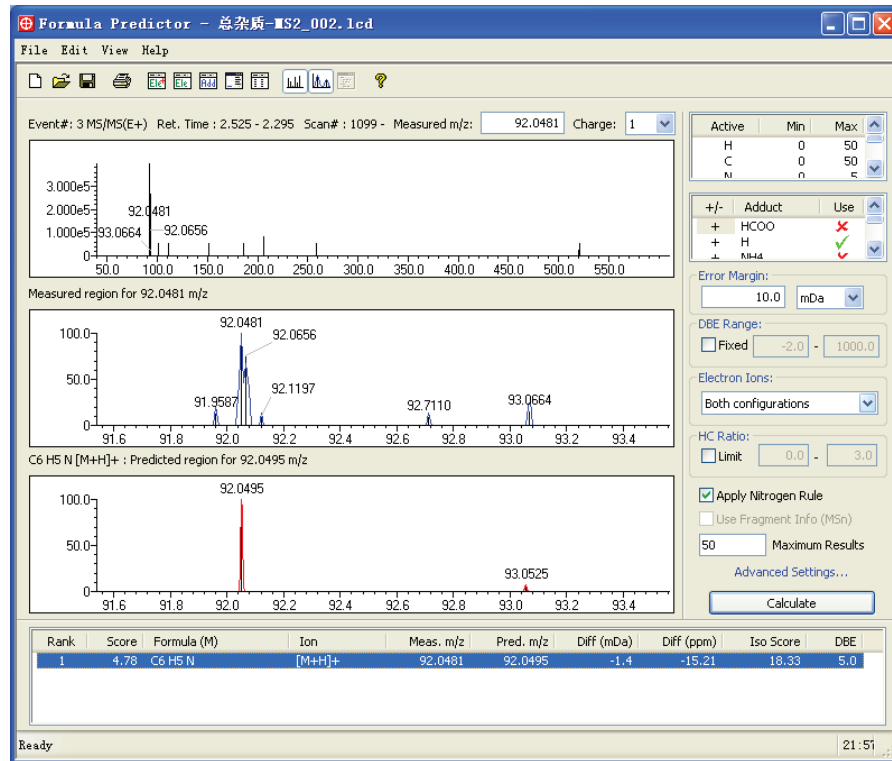
使用分子式预测软件预测，得到预测结果为 $C_{13}H_{10}N_2$ ，与理论值的相对偏差为2.05 ppm。该杂质相比主成分地巴唑，结构中少一个 $CH_2$ 。



MS<sup>2</sup>, precursor: 195.0920

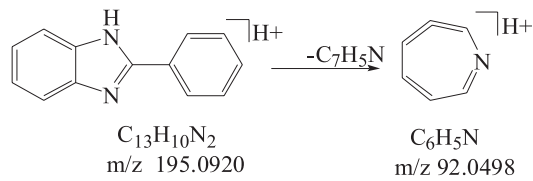


使用分子式预测软件预测，得到预测结果为C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N，为丢失C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>N碎片的结果，该碎片在主成分地巴唑碎裂过程中也存在。



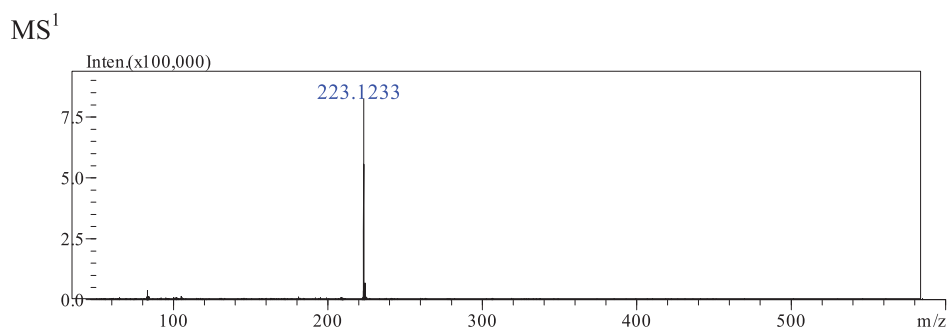
### 2.5.2 裂解规律

根据多级质谱图推测其可能的裂解规律如下：

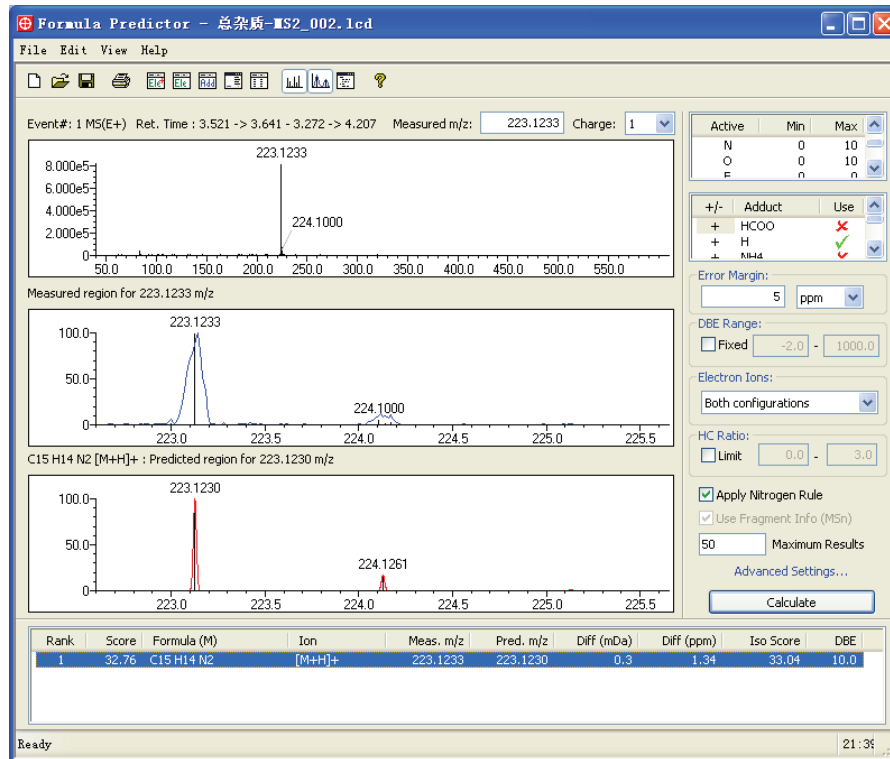


### 2.6 杂质3(4#峰)的分析结果

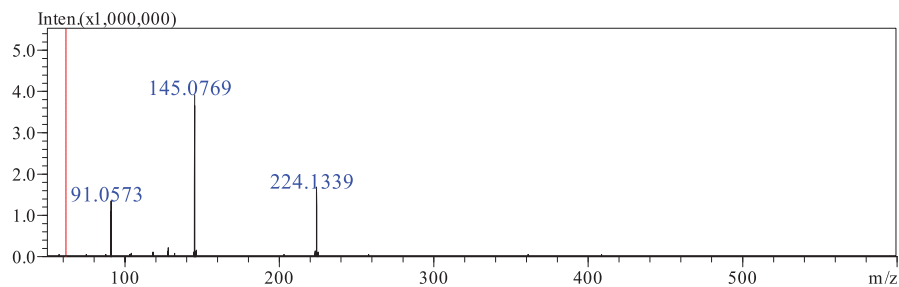
#### 2.6.1 质谱图



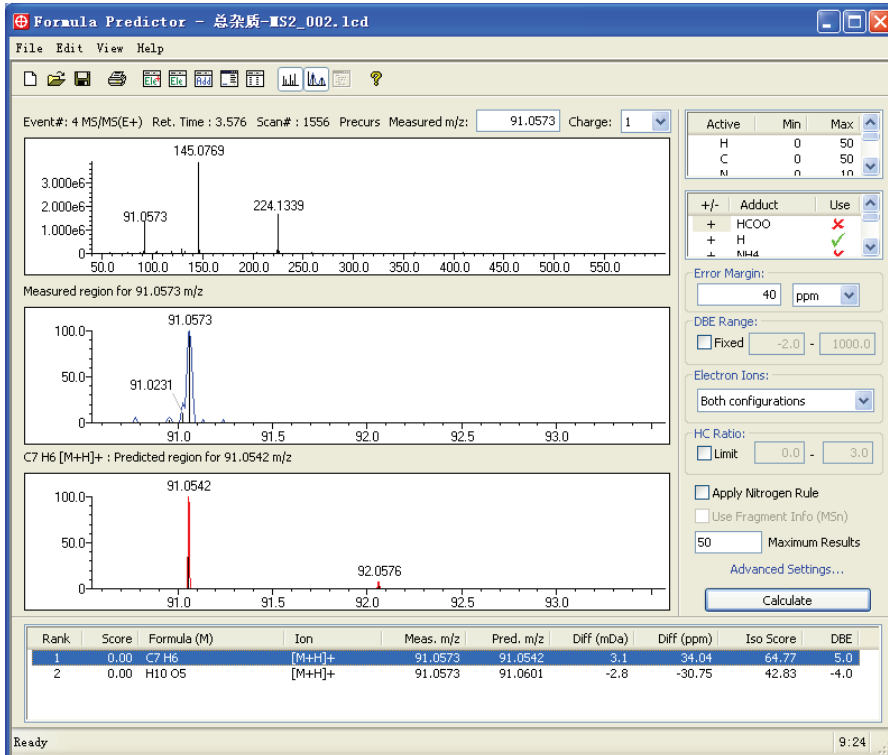
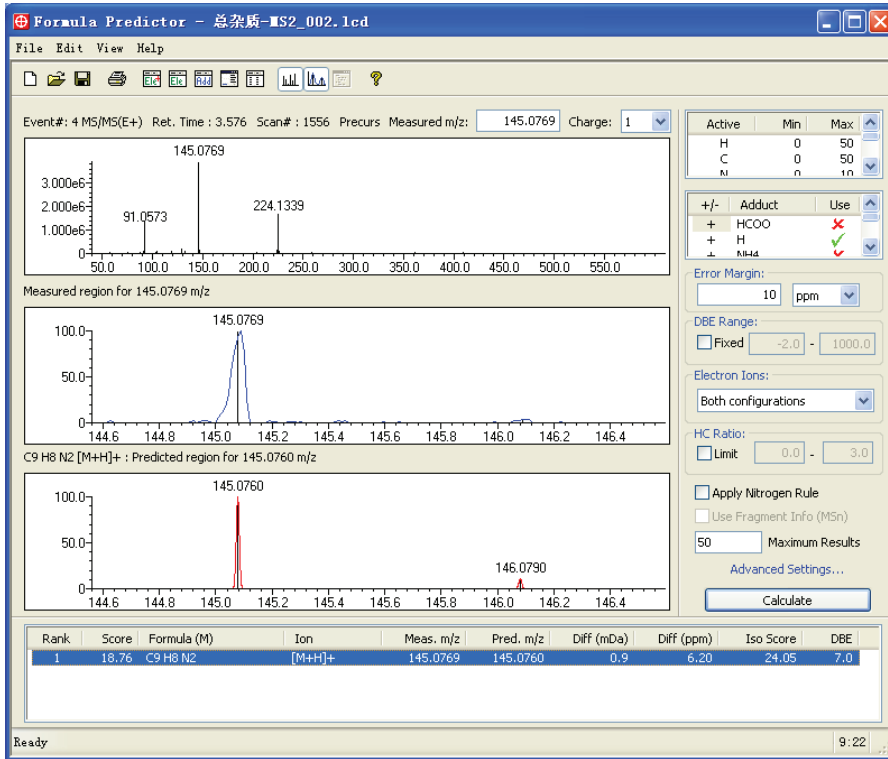
使用分子式预测软件预测，设置误差范围为5 ppm，使用同位素规则，碎片信息，不饱和度及氮率，同时预测，得到预测结果为 $C_{15}H_{14}N_2$ ，与理论值的相对偏差为1.34 ppm。



MS<sup>2</sup>, precursor: 223.1230

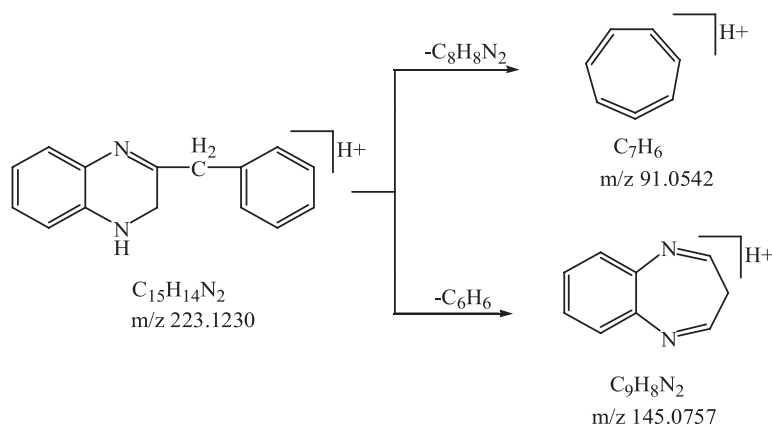


杂质3(4#峰)的二级质谱图中可以看出，样品碎裂后得到m/z 145.0768和m/z 91.0573两个碎片。使用分子式预测软件预测 m/z 145.0768，得到预测结果为 $C_9H_8N_2$ ，丢失 $C_6H_6$ ，即丢失苯环；预测m/z 91.0573，得到预测结果为 $C_7H_6$ ，该碎片在主成分地巴唑碎裂过程中也存在，为苄基重排的结果，所以可以推断该杂质结构中含有苄基。



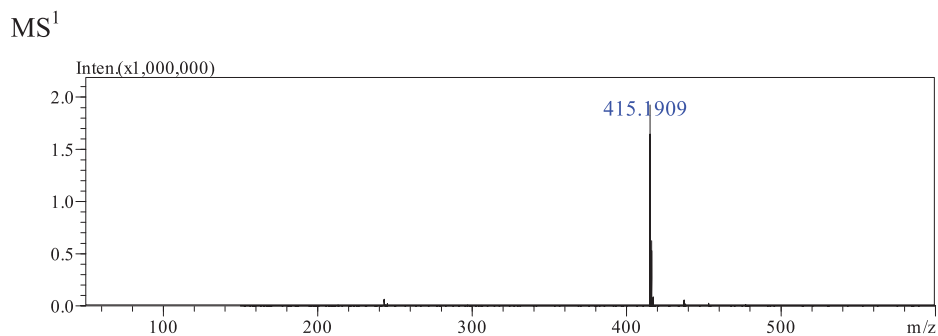
## 2.6.2 裂解规律

根据多级质谱图推测其可能的裂解规律如下：

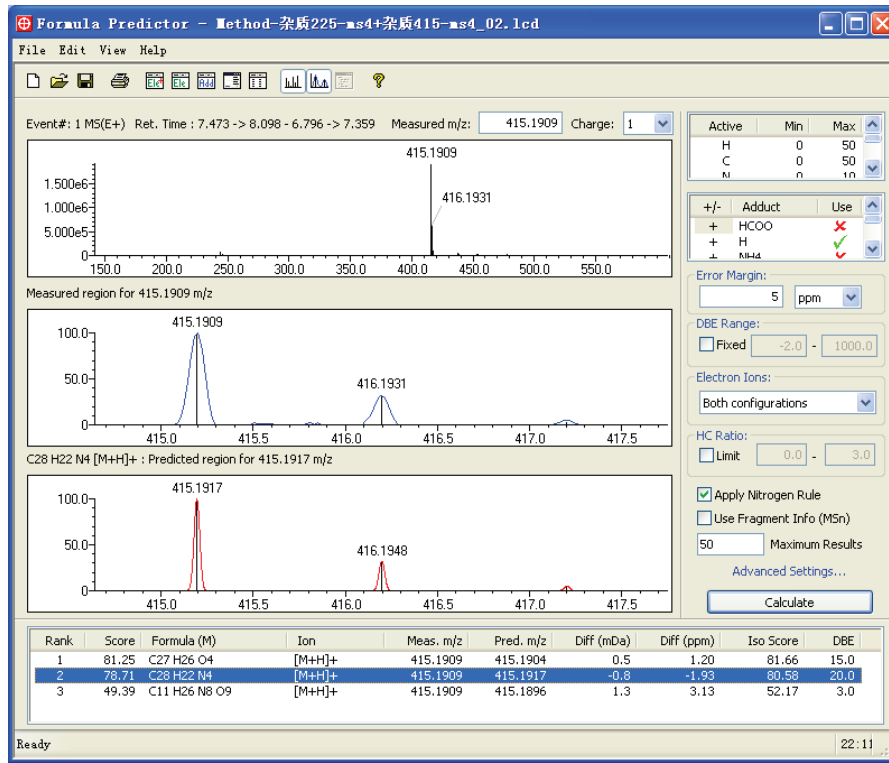


## 2.7 杂质4(5#峰)的分析结果

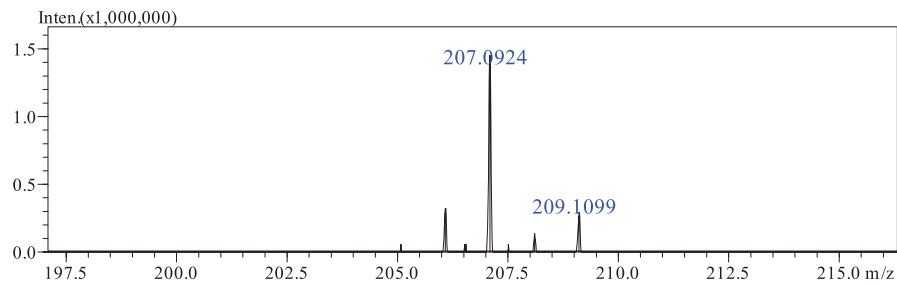
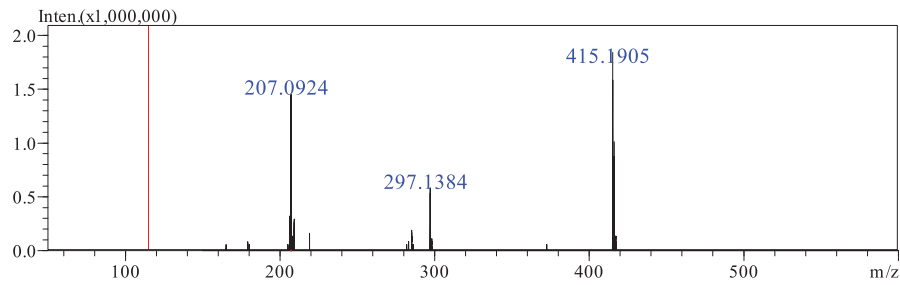
### 2.7.1 质谱图



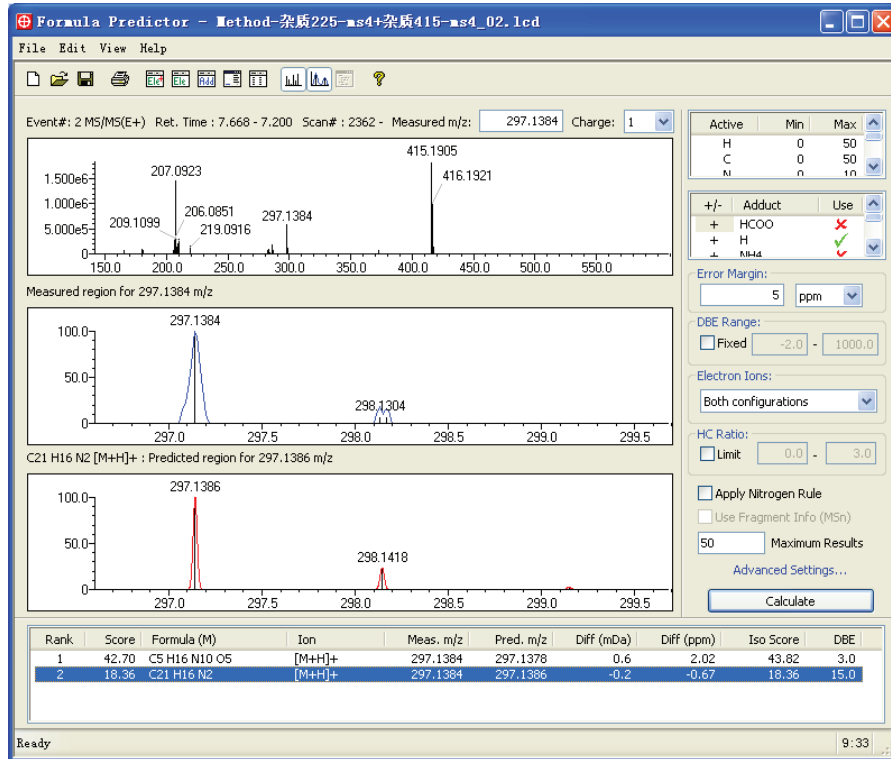
使用分子式预测软件预测，设置误差范围为5 ppm，使用同位素规则，碎片信息，不饱和度及氮率，同时预测，得到预测结果为 $\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{N}_4$ ，与理论值的相对偏差为-1.93 ppm。

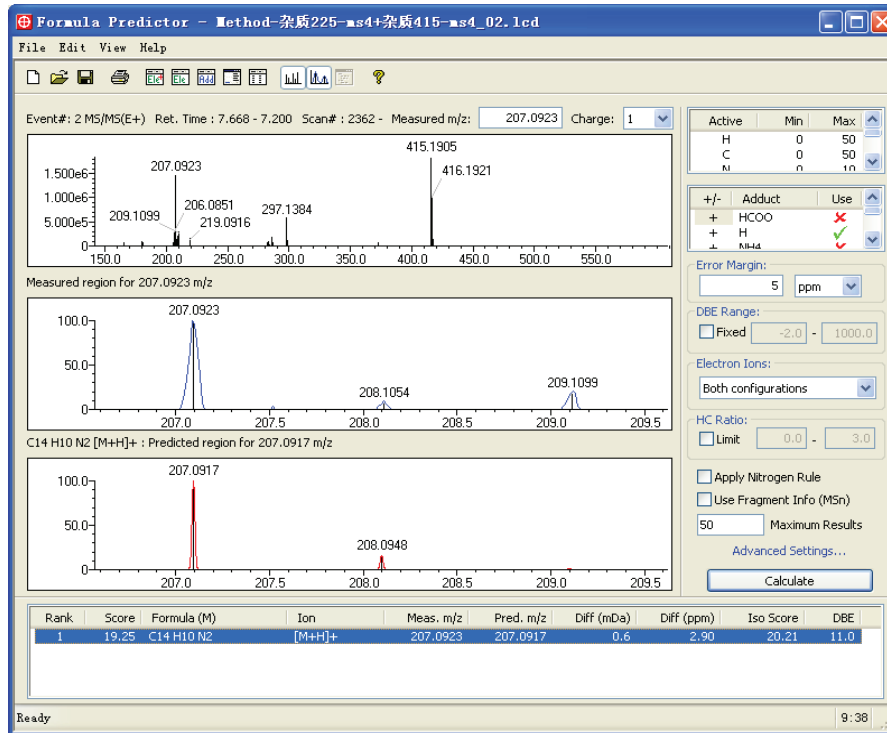


MS<sup>2</sup>, precursor:

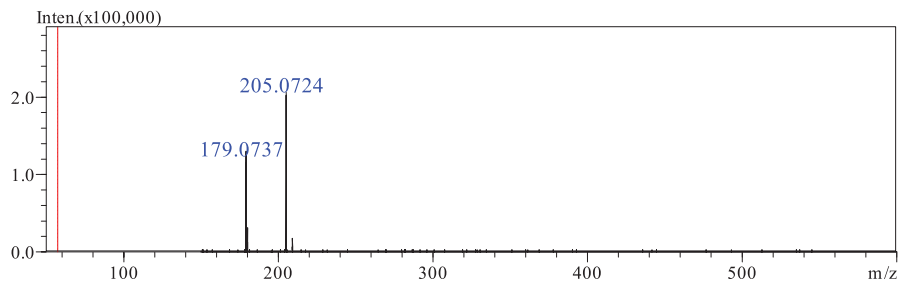


杂质4(5#峰)的二级质谱图中可以看出，样品碎裂后得到m/z 297.1384和m/z 207.0924两个碎片。使用分子式预测软件预测m/z 297.1384，得到预测结果为C<sub>21</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>；预测m/z 207.0924，得到预测结果为C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>，该碎片杂质1(2#峰)碎裂过程中也存在；局部放大，可以看到主成分地巴唑的碎片峰。



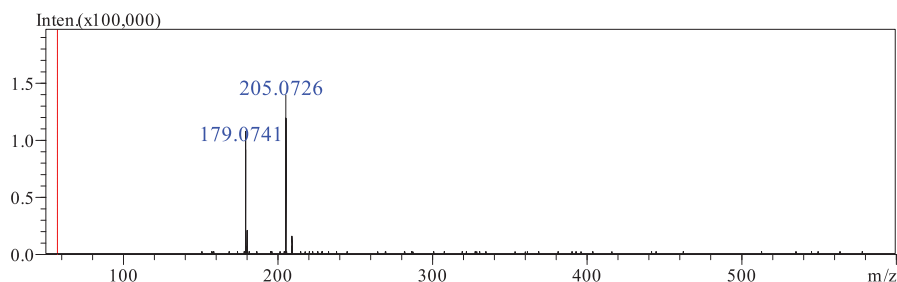


MS<sup>3</sup>, precursor:



杂质4(5#峰)的三级质谱图与杂质1(1#峰)的一致，可以推测，该杂质为主成分和杂质1一级碎片的结合体。其可能的结构及裂解规律如下图所示：



MS<sup>3</sup>, precursor: 207.0940

杂质5(6#峰)的三级质谱图与杂质4(5#峰)的几乎一致，推测杂质5(6#峰)为杂质4(5#峰)的同分异构体。

## 讨论

使用LCMS-IT-TOF测试了地巴唑及其5个杂质，使用多级质谱功能推测了地巴唑及杂质的多级裂解规律。岛津离子阱飞行时间串联质谱具有多级质谱功能，每一级都具备高质量数准确度，是未知物质筛查、结构定性的强有力工具。