

多烯磷脂酰胆碱样品结构鉴定

LCMS-IT-TOF-029

摘要：多烯磷脂酰胆碱药品商品名为易善复，多为针剂或胶囊制剂，是辅助治疗肝损伤的特效药物。天然多烯磷脂酰胆碱成分复杂，含有大量的不饱和脂肪脂，主要为亚油酸、亚麻酸和油酸磷脂甘油酯。多烯磷脂酰胆碱主成分的结构鉴定对药物生产工艺监控有着重要的意义。本文分离了两个主要的目标组分，通过 LCMS-IT-TOF 获得目标杂质的多级质谱数据，根据碎片信息对目标杂质结构进行推测，为药品质量控制及工艺优化提供可靠的依据。

关键词：多烯磷脂酰胆碱；LCMS-IT-TOF；结构鉴定；裂解规律

实验部分

1.1 仪器与试剂

岛津 LCMS-IT-TOF 离子阱 - 飞行时间质谱仪，包括 LC-20AD_{XR} × 2 (输液泵)，SIL-20AC_{XR} (自动进样器)，CTO-20AC (柱温箱)，CBM-20A (系统控制器)，DGU-20A₃ (在线脱气机)，SPD-M20A (PDA 检测器)，LCMSsolution Ver.3.60 (色谱工作站)。

多烯磷脂酰胆碱 (某药厂提供)，甲醇、乙腈 (Merck 公司) 均为色谱纯试剂，水为超纯水，其他试剂均为分析纯。

1.2 分析条件

1.2.1 样品处理

取适量样品用流动相溶解后经 0.22 μm 滤膜过滤后进样测定。

1.2.2 液相色谱条件

流动相：甲醇 / 正己烷 / 50 mM 乙酸铵 / 甘油 (84/6/8/0.6, V/V/V/V)。

洗脱方式：等度洗脱

进样体积：1 μL

流速：0.4 mL/min

色谱柱：Shim-pack XR-ODS, (2.0 mm I.D. × 50 mm L., 2.2 μm)

柱温：40°C

检测波长：206 nm

分析时间：15 min

1.2.2 质谱条件

分析仪器：LCMS-IT-TOF

离子源：ESI(+)

扫描范围：MS⁴ 自动多级，采集范围 m/z 300-900

加热模块温度：220°C

CDL 温度：250°C

雾化气流速：1.5 L/min

干燥气流速：10 L/min

离子源电压：正离子 +4.5 kV，负离子 -3.5 kV

检测器电压：1.65 kV

离子累积时间：30 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。

结果与讨论

2.1 样品的紫外色谱图

多烯磷脂酰胆碱样品在 206 nm 下紫外色谱图见图 1。从图 1 中可以看出主成分出峰时间在 2.98 min，纯度视图显示没有检测到不纯物。

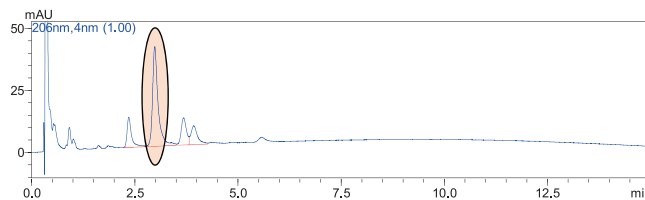


图 1 多烯磷脂酰胆碱的 206 nm 下紫外色谱图

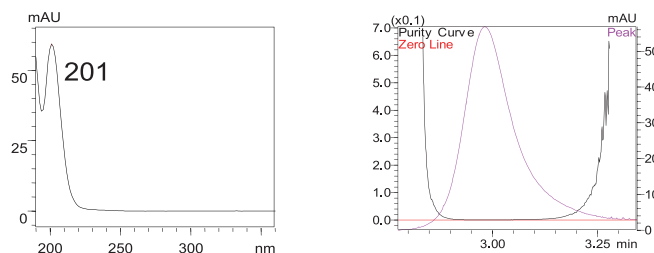


图 2 多烯磷脂酰胆碱的紫外光谱图 图 3 多烯磷脂酰胆碱的纯度视图

2.2 样品的质谱图

样品主成分在紫外图上的出峰时间是 2.98 min，对应的质谱图见图 4。图 4 中 m/z 782.5700 是主成分 [M+H]⁺ 峰，m/z 804.5514 是主成分 [M+Na]⁺ 峰，使用精确分子量预测软件 Formula Predictor 对 m/z 782.5666 进行预测，在分子式预测软件中设定元素组成为 C、H、O、N、P，原子最大个数分别是 80、100、1、10、1。设定质量数偏差范围 10 ppm，并使用不饱和度、碳氢比和氮规则，预测结果显示主成分的分子式为 C₄₄H₈₀NO₈P。在多级

质谱图 7 中有一个关键的碎片是 m/z 502.3297 (分子式预测结果为 $C_{26}H_{48}NO_6P$)，这个碎片恰好是主成分水解脱去一分子的单亚油酸 ($C_{18}H_{32}O_2$) 生成的。多烯磷脂酰胆碱的骨架是已知的，不难推测出主成分为双单亚油酸酰磷脂酰胆碱。类似地我们在两份样品中还检测到另一个成分——单亚油酸—亚油酸酰磷脂酰胆碱，分子式 $C_{44}H_{78}NO_8P$ ， m/z 780.5543。样品的提取离子流色谱图见图 6，检出的两个化合物峰形良好。

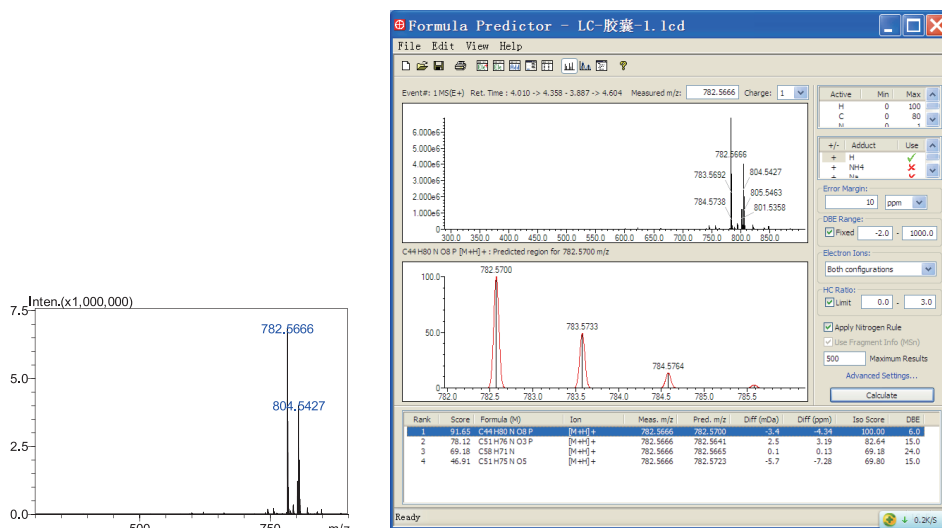


图 4 主成分的质谱图及分子式预测结果

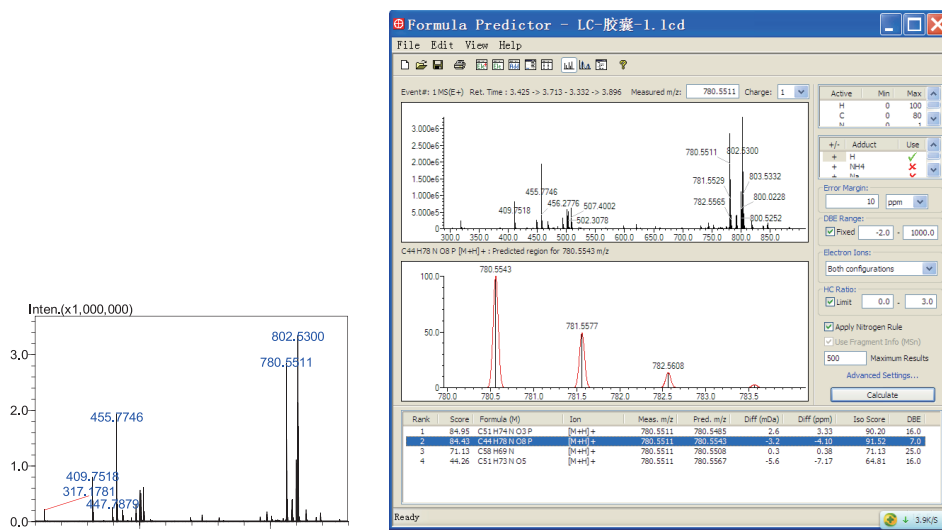


图 5 m/z 780.5543 质谱图及分子式预测结果

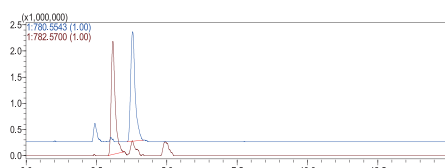
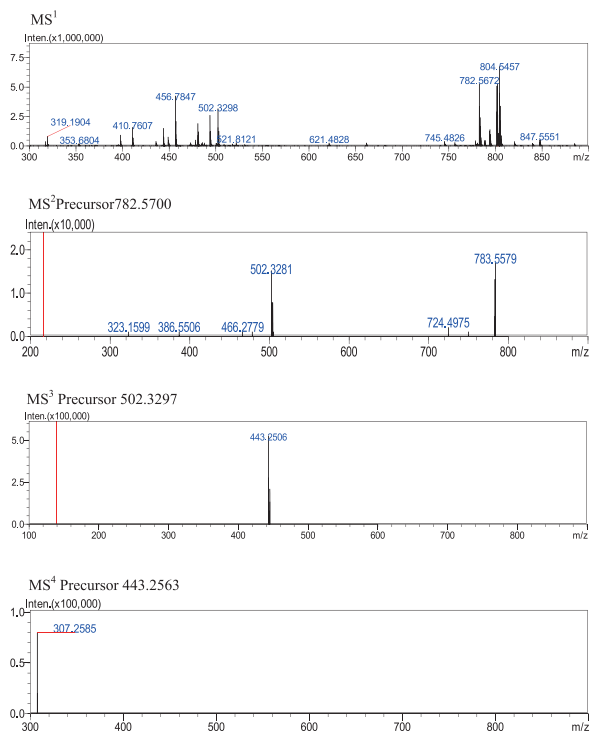


图 6 多烯磷脂酰胆碱样品的提取离子流色谱图

2.3 样品的多级裂解规律

(1) 双单亚油酸酰磷脂酰胆碱的多级质谱图



(2) 单亚油酸一亚油酸酰磷脂酰胆碱的多级质谱图

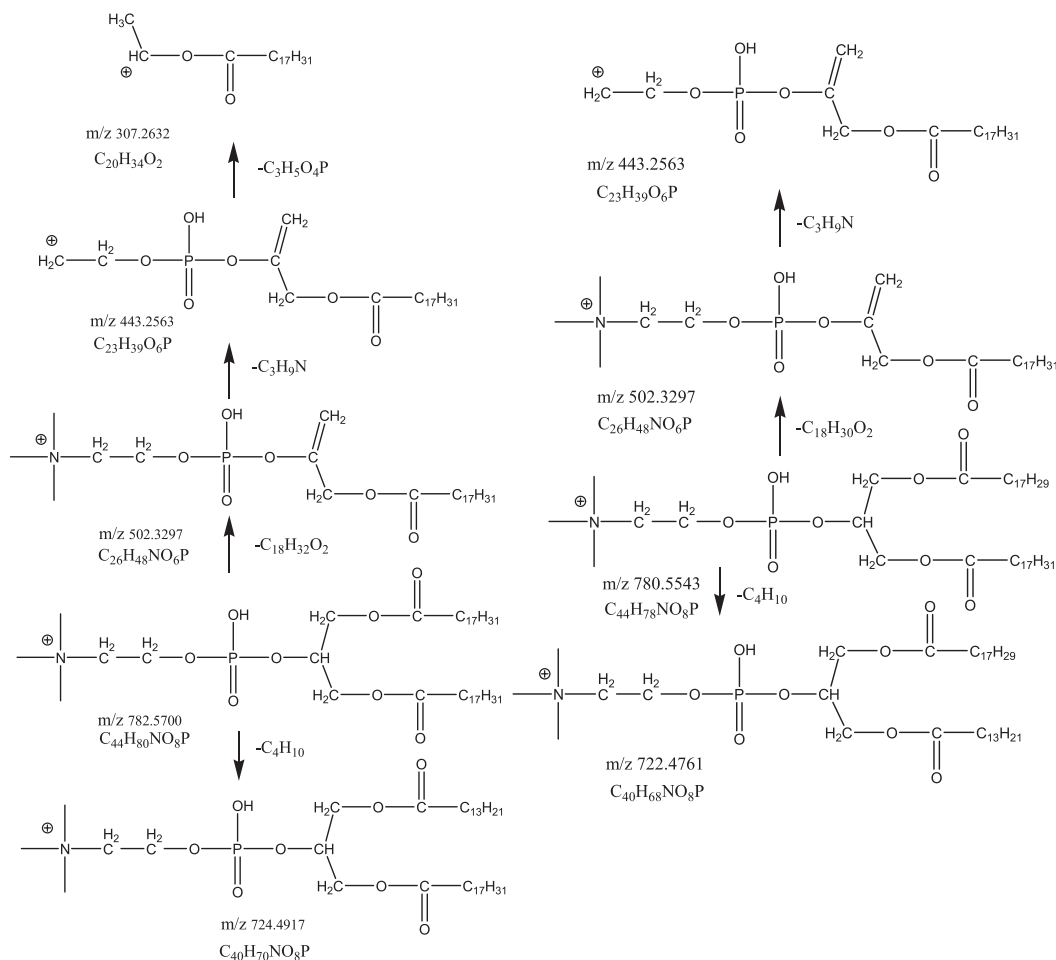
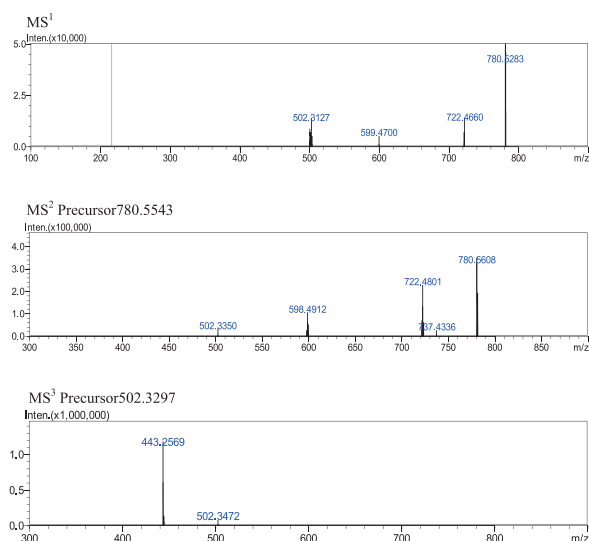


图 7 m/z 782.5700 与 m/z 780.5543 的多级裂解规律

主要成分分子式预测结果

| | 分子式 | 绝对误差 (mDa) | 相对误差 (ppm) |
|--------------|---|--------------|--------------|
| m/z 782.5700 | C ₄₄ H ₈₀ NO ₈ P | -3.4 | -4.34 |
| m/z 780.5543 | C ₄₄ H ₇₈ NO ₈ P | -3.2 | -4.10 |

■ 结论

LCMS-IT-TOF 液质联用仪可对未知化合物进行系统的研究, 获得丰富的结构信息(精确质量数、多级质谱碎片)。根据 LCMS-IT-TOF 获得结构信息, 对化合物进行初步的分析及结构推测, 对未知物的研究提供参考依据。在本实验中, 对多烯磷脂酰胆碱样品进行定性检测, 得到多主成分的多级质谱图, 并使用岛津 Formula Predictor 精确分子式预测软件预测出主要质谱碎片可能的分子式, 最终推导出可能的裂解规律。最终鉴定出主成分的结果为双单亚油酸酰磷脂酰胆碱和单亚油酸-亚油酸酰磷脂酰胆碱。