

离子阱飞行时间质谱定性检测氯噻酮及其杂质

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

前言

氯噻酮 (Chlorthalidone)，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。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Shimadzu LCMS-IT-TOF 液质联用系统，包括 LC-20AD×2 (输液泵)，SIL-20ACHT(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。

1.2 分析条件

色谱条件

色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS，2.0 mm I.D.×75 mm L.，2.2 μm；流动相：10 mM 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/z 50-400；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。

1.3 样品前处理

称量氯噻酮样品 10 mg，流动相定容到 100 mL，终浓度为 0.1 mg/mL，经 0.22 μm 滤膜过滤后进样测试。

2 结果与讨论

2.1 氯噻酮的分析结果

1) 氯噻酮样品的 TIC 图

从氯噻酮样品的 TIC 图中可以看出, 样品中除了主要成分氯噻酮外, 还含有一种杂质。

2) 氯噻酮的 1 级质谱图

样品的 1 级质谱 (图 2) 得到样品的 m/z 为 337.0057, 使用分子式预测软件进行分子式预测 (如图 3) 得样品的分子式为 $C_{14}H_{11}N_2O_4S_2Cl$, 分子式结果与样品实际情况吻合, 质量数偏差仅为 0.59 ppm。

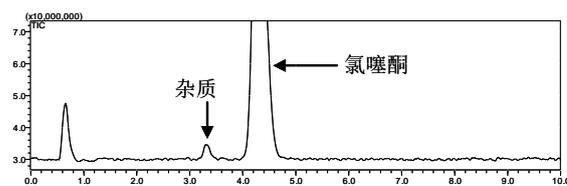


图 1. 氯噻酮样品的 TIC 图

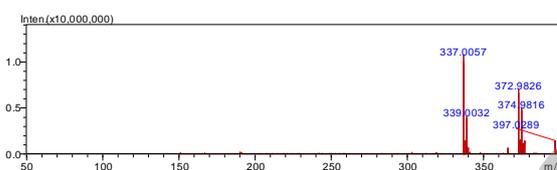


图 2. 氯噻酮的 1 级质谱图

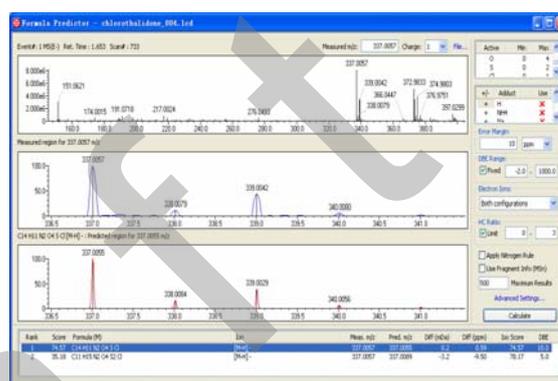


图 3. 氯噻酮样品的 1 级质谱分子式预测结果

2) 氯噻酮的 2 级质谱图

对 m/z 337.0057 进行 2 级质谱测试, 得到了 m/z 为 146.0242, 189.9742 和 318.9951 的裂解碎片。其中 m/z 146.0242 和 189.9742 分别是组成主成分的两个基本单元。

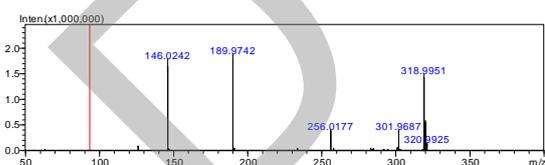


图 4. 氯噻酮的 2 级质谱图

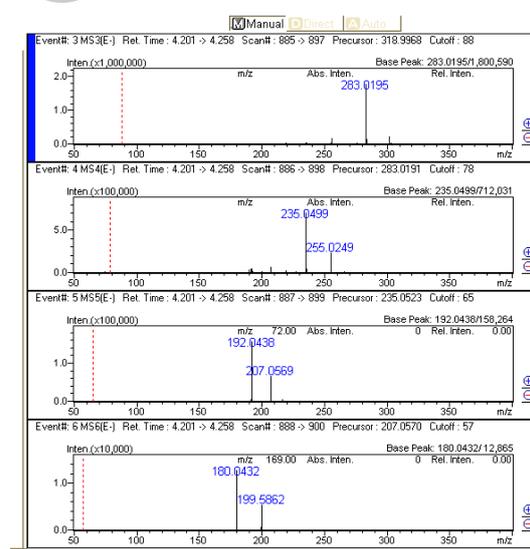


图 5. 氯噻酮样品的 3-6 级质谱图

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。

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。

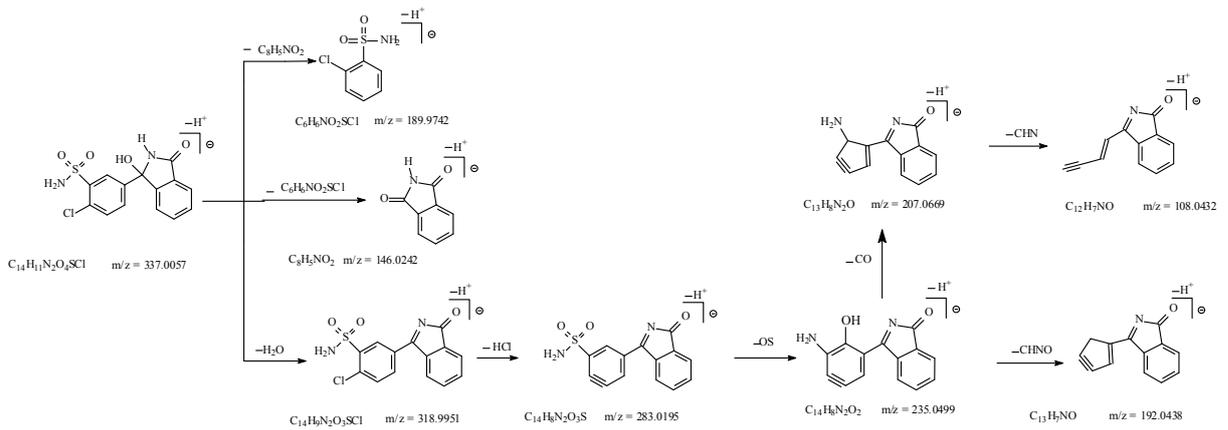


图 6. 氯噻酮的裂解机理

2.2 杂质的分析结果

1) 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)。

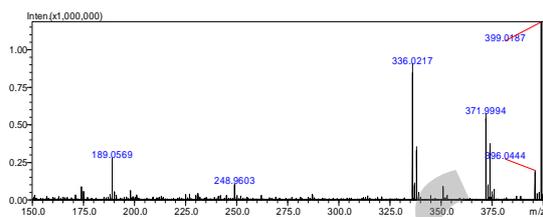


图 7. 杂质的 1 级质谱图

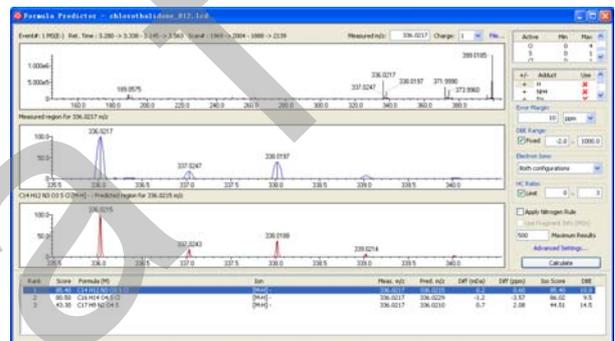


图 8. m/z 336.0217 分子式预测结果

2) 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)。

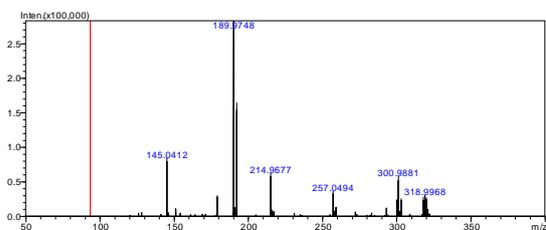


图 9. 杂质的 2 级质谱图

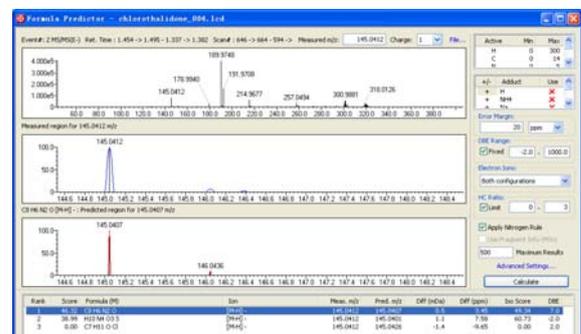


图 10. 碎片 m/z 145.0412 的分子式预测结果

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。

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。

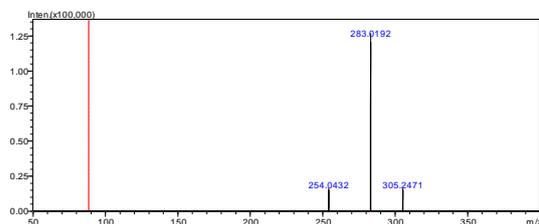


图 11. 杂质的 3 级质谱图

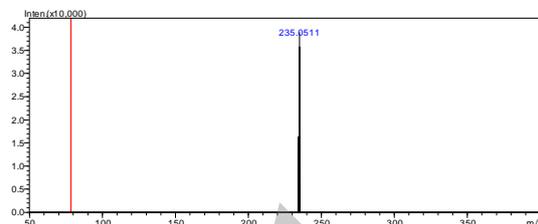


图 12. 杂质的 4 级质谱图

5) 杂质可能裂解机理

根据预测分子式 $C_{14}H_{12}N_3O_3S$, 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 $C_{14}H_9N_2O_3S$ 和 $C_6H_6NO_2S$ 。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:

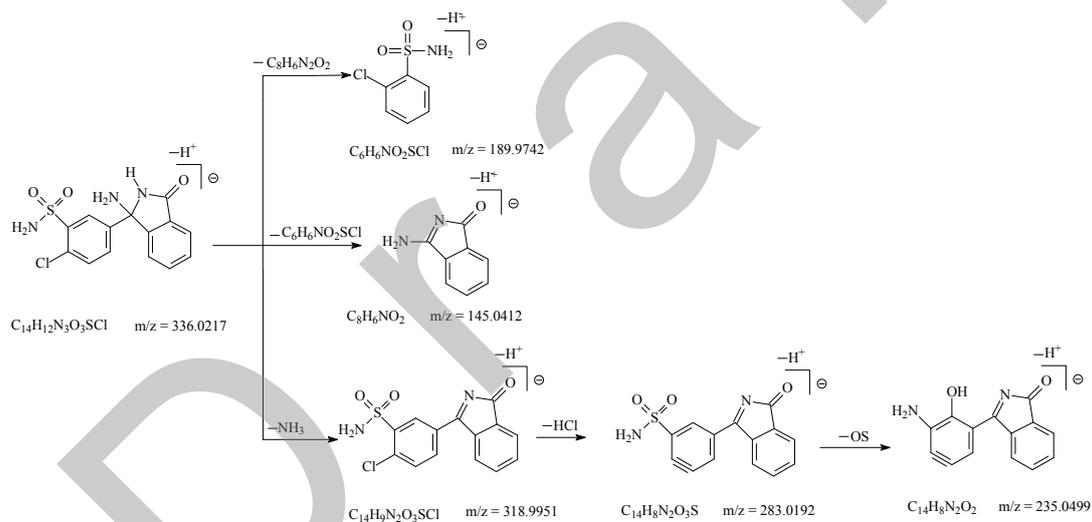


图 13. 杂质的裂解机理

3 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质谱仪是药物有效成分及杂质定性检测的强有力工具。

