Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

使用Xevo TQ质谱仪快速简单地实现杂质鉴定

Robert S. 作者：Plumb, Michael D. Jones, 和 Marian Twohig
沃特世公司，美国马萨诸塞州米尔福德

引言

对活性药物成分(原料药 API)的杂质及降解产物进行检测和鉴定是法规注册的要求。杂质的检测和鉴定不仅可确保药物的安全性，还可采用指纹谱的方法对专利进行保护以及对伪药进行分析。

杂质鉴定和识别通常采用信息富集型分析技术(如：NMR和LC/MS)进行。采用LC/MS分析可通过全扫描MS获取母离子的质量信息，并从MS/MS实验中产生的碎片中取得结构信息。利用传统的串联四级杆仪器，则需要经过多次实验获取MS和MS/MS信息方可生成以上数据。

线性离子阱(LIT) 质谱仪可在同一次分析中采集MS、多反应监测(MRM)及MS/MS数据，从而同时获取定性和定量数据。然而，当在MS和MS/MS模式间切换时，此类仪器的占空比通常为2~3秒。如今有了现代化高分辨亚-2微米色谱柱颗粒色谱仪(如UPLC®)，2~3秒的峰宽已再平常不过。使用这些LIT MS系统，整个色谱峰将仅出现1~2个点，峰或者不明显，或者完全丢失；因此必须使用更慢且分辨率更低的LC系统，而这样导致的结果是，通量减少且数据质量亦降低。

沃特世Xevo® TQ 质谱仪配备有持续填充碰撞气体的新型碰撞室，可实现MS和MS/MS模式间的快速切换。Xevo TQ MS 可以高达10,000 Da/秒的速度运行，即使在多扫描实验中，亦能正确定义UPLC产生的非常尖锐的色谱峰，且2秒宽的峰可以采集10多个点。

新型碰撞室可在MS/MS模式下加强高灵敏度运行。在该运行模式下，利用DC和RF屏障，将离子抑制在碰撞室最后第三个截面。然后，在扫描最终分辨四级杆的同时，以受控的方式将这些离子按M/Z由高到低的顺序从碰撞室中排出。

这样可增加仪器的占空比，从而使灵敏度提高以实现可能导致毒性作用的低浓度杂质的检测和鉴定。

试验

为评价本系统的性能，使用UPLC/MS/MS对用作治疗躁郁症的普通药物喹硫平的杂质进行了研究。

LC/MS条件

液相色谱系统：	沃特世ACQUITY UPLC®系统
色谱柱：	ACQUITY UPLC BEH C_{18}色谱柱 2.1 x 50 mm，1.7 µm
柱温：	65 °C
流速：	800 µL/分钟
流动相A：	20 mM 碳酸氢铵，pH10
流动相B：	乙腈
梯度：	15% ~ 95% B/18 分钟
质谱系统：	沃特世Xevo TQ MS
电离模式：	ESI正离子
毛细管电压：	30 V
碰撞能量：	15 eV

结果

独特的碰撞室设计使Xevo TQ MS可在数个不同的工作模式下运行：全扫描MS、MRM及MS/MS模式。由于碰撞室持续有碰撞气体填充，因而仪器可在同一分析运行中快速实现MS和MS/MS间的切换。这样，MRM和MS扫描即可在同一次分析中进行。结合高扫描速率的特点，这样就可在切换至MS/MS之前进行快速探测扫描(Rapid Survey Scan)，如MS中性丢失或母离子扫描。

借此高数据捕获率，还可准确定义色谱峰，即便是UPLC产生的极窄的色谱峰。图2 所示为1 μg/mL浓度的一批喹硫平原料药分析中所产生的UPLC/MS色谱图。在这里我们可以看到基线处杂质峰宽为2~4秒。图3所示数据表明MS和MS/MS模式下所达到的扫描次数。

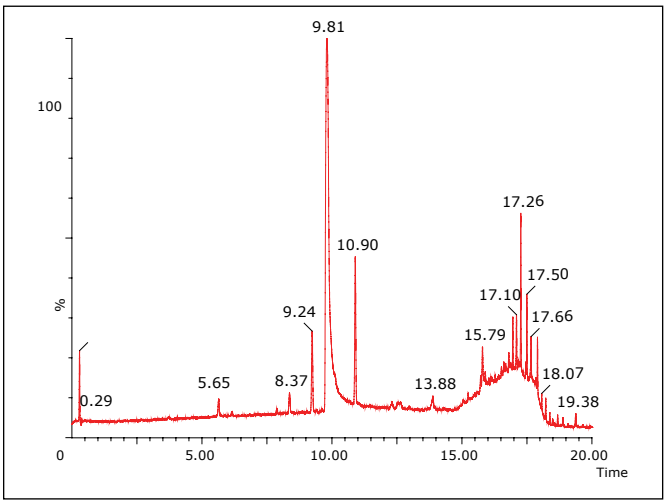

图2. 1 μg/mL浓度下喹硫平的UPLC/MS分析。

LC色谱峰清晰度最大化

本示例中，Xevo TQ MS在ScanWave™ MS模式下运行，当在用户自定义的阈值之上检测到色谱峰时，则切换至ScanWave DS（子代离子扫描）模式。在该运行模式下，仪器选择MS光谱中信号最强的峰，并在回到MS模式之前在此峰上获取MS/MS数据。由于碰撞室持续有碰撞气体填充，则MS和MS/MS模式间的切换丝毫不会耽搁。

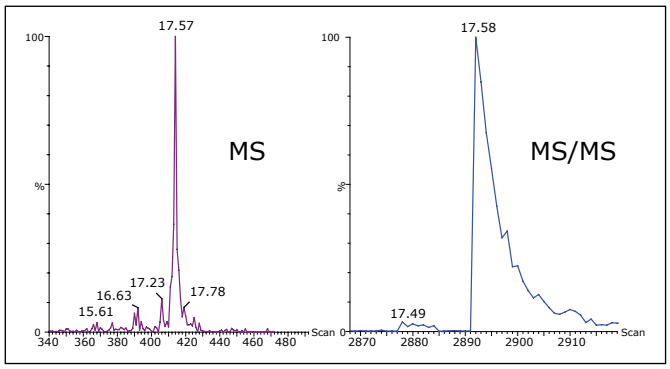

图3. 同时在MS 和MS/MS模式下快速进行数据采集 。

从该数据我们可以看到，仪器在MS模式下整个峰捕获到9个点，而在MS/MS模式下则捕获到15个点 – 尽管基线处峰宽仅为2秒。由于具有高数据捕获率，Xevo TQ MS可在UPLC时间内进行高品质、数据依赖型MS到MS/MS的实验，且可捕获足够的数据点以对色谱峰进行准确定义。这种双重运行模式还可用于同时捕获全扫描MS数据和MRM数据，或在切换至MS/MS模式前通过母离子扫描检测到色谱峰。

母离子扫描

新杂质、降解产物的检测，或在药代动力学(DMPK)研究中进行的药物代谢物的检测，通常受到基质信号的干扰。分析化学家可利用质谱仪的专一性以检测并显现这些分析物。

由于化合物可因降解或代谢过程经过裂解，对于一般的降解/代谢途径而言，利用单纯的预测MRM离子对可能致使具有潜在毒性的杂质、降解产物或代谢物无法检测出来。为检测这些化合物，更加完善的方法是监测所关注分子的常见碎片离子。Xevo TQ MS的探测扫描功能利用仪器的快速数据捕获率以帮助母离子数据及检测峰MS/MS光谱的采集。

使用该功能对市面上采购的喹硫平原料药样品进行评价。喹硫平的MS/MS光谱显示，它主要产生了3种产物离子，M/Z值分别为221, 253和279。通过对以上每种离子进行探测扫描分析，使用这个数据检测出原料药批次中药物相关的杂质。

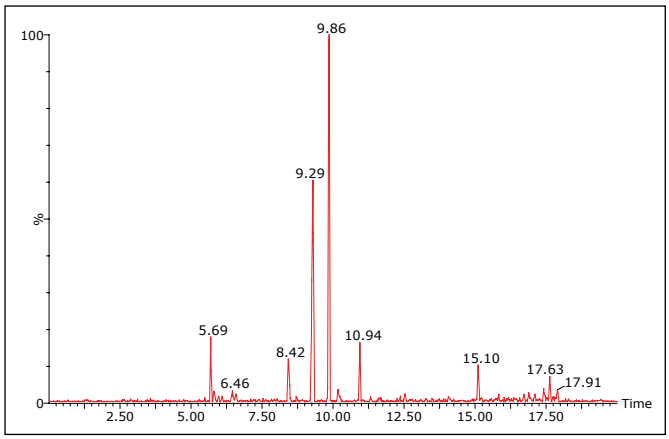

图4. 在阳离子模式下对喹硫平的M/Z279离子进行探测扫描UPLC/MS 分析。

为m/z 279 的母离子色谱所采集的数据如图4中所示。在这里我们看到有7个主峰、6个杂质峰和喹硫平的活性色谱峰，喹硫平在9.86分钟的保留时间被洗脱。使用常见碎片离子m/z 221进行类似分析，以触发如图5所示色谱图中产生的数据采集。利用该碎片离子，总共可检测到12个色谱峰并捕获到MS/MS数据。

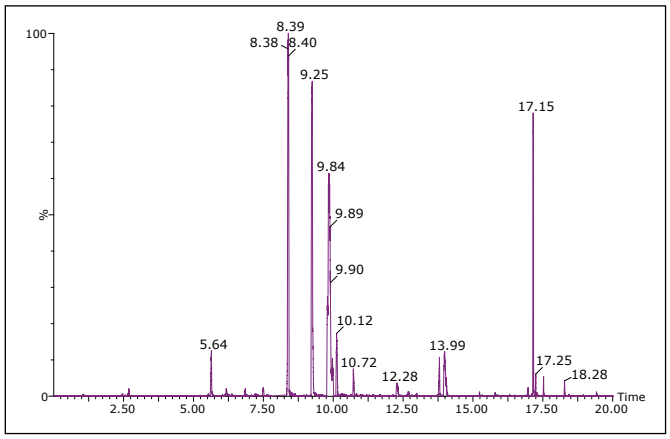

图5. 在阳离子模式下对喹硫平的M/Z 221离子进行探测扫描UPLC/MS分析。

从保留时间为5.6分钟时洗脱的色谱峰中获取的MS/MS光谱如图6所示。该杂质的m/z值为400 amu，并已被确定为喹硫平的S氧化物杂质。

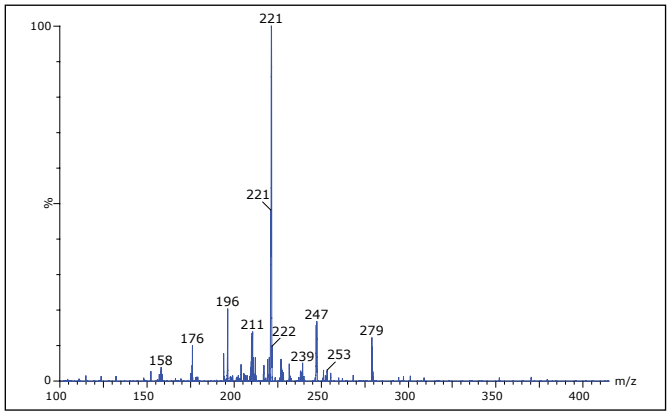

图6. 5.6分钟时洗脱的喹硫平S氧化物的AutoScanWave MS/MS光谱。

ScanWave技术

尤其在监测潜在的遗传毒性物质时，低水平杂质的检测已显得愈发重要。MS/MS光谱可在以下两种模式下从探测扫描试验中(母离子扫描或一般中性丢失扫描)采集：标准MS/MS 或 ScanWave MS/MS模式。

如前所述，ScanWave技术在MS/MS数据的采集中可提高灵敏度。灵敏度的增加如喹硫平二乙醇杂质的MS光谱图所示(图7)。在标准MS/MS模式下获得最强光谱，而在ScanWave MS/MS模式下则取得较弱光谱。

本示例中，我们可以看到，ScanWave MS/MS数据的灵敏度比标准MS/MS模式下的数据增加13倍。此增加对于低水平杂质的确认或鉴定至关重要。

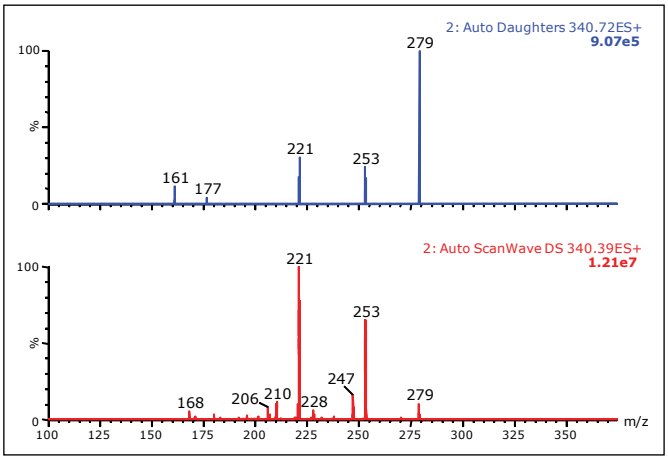

图7. 标准和ScanWave MS/MS灵敏度之比较。

结论

- Xevo TQ MS 具有无与伦比的灵敏度和功能水平。
- 本仪器具有的高数据捕获率，及其独特的碰撞室设计和ScanWave技术，使其在一次分析中即可采集最多数据。
- 它可减少作出决策时所需的试验次数，更快检测并鉴定出杂质组分并使仪器得以最大限度的利用。
- 使用Xevo TQ MS可能进行的MS 和MS/MS模式间的快速切换，促使同一分析中定性和定量数据的采集得以同时实现。
- 本仪器的高数据捕获率可确保，即使是由目前现代化亚-2微米颗粒LC系统产生的2~3秒的窄峰，亦可为整个峰采集到足够的数据点以进行准确定量。
- ScanWave技术的使用可确保，即便是最低水平的色谱峰亦可检测到，并可获取MS/MS光谱，从而确保实现全面杂质检测。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters、ACQUITY UPLC、Xevo、UPLC 和 The Science of What's Possible 是沃特世公司的注册商标。ScanWave是沃特世公司的商标。其他所有商标均归各自的拥有者所有。

©2008年 沃特世公司 中国印刷
2008年10月 720002831ZH LB-CP

沃特斯中国有限公司
沃特世科技(上海)有限公司

北京：010 - 5209 3866
上海：021 - 6156 2666
广州：020 - 2829 6555
成都：028 - 6554 5999
香港：852 - 2964 1800

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676
www.waters.com

001