Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

应用ACQUITY UPLC XEVO QTOF系统检测药物有关物质

谭晓杰
沃特世科技(上海)有限公司

简介

有关物质可能是在原料药生产过程中带入的起始原料、试剂、中间体、副产物和异构体等物质，也可能是制剂在生产、贮藏和运输过程中产生的降解产物、聚合物或晶型转变等特殊杂质。药物中的有关物质大多具有潜在的生物活性，有的甚至会与药物发生相互作用从而影响药物的安全性和有效性，严重时甚至会产生毒性作用，因此有关物质研究是药物质量研究中最重要的一个方面，同时也是药品开发过程中的一个重要内容。根据人用药品注册技术规范国际协调会(简称ICH)准则的要求，药物中杂质的限度仅为0.1 % (毒性药物限度则更低)，高于此水平的所有未知杂质均应被鉴别。

本文采用沃特世超高效液相色谱飞行时间质谱联用(ACQUITY UPLC® Xevo™ QTof)技术定性分析6- 氨基青霉烷酸(6-APA)中的有关物质，可以实现对6-APA有关物质结构的快速准确鉴别。

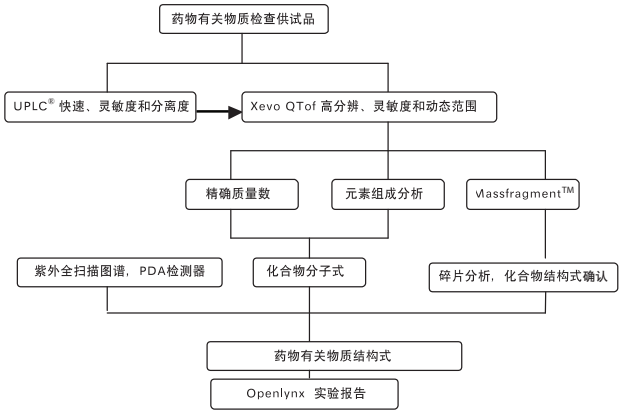

图1. 采用UPLC，Xevo QTof进行药物有关物质结构鉴定分析工作流程。

实验条件

样品制备

取6-氨基青霉烷酸原料药适量，精密称定，加Mobile Phase A溶解，制成浓度为2mg/mL的溶液。

LC / UPLC 条件

LC系统:	ACQUITY UPLC H-Class /PDA system
柱温:	35 °C
样品室温度:	20 °C
进样体积:	4 µL
Mobile Phase A:	20mM醋酸铵
Mobile Phase B:	乙腈
流速:	0.50mL/min
检测波长:	224nm
色谱柱:	ACQUITY UPLC HSS T3 1.7 µm x 2.1 100mm; P/N:186003539

梯度表:

Time	Flow	%A	%B	Curve
0	0.500	100.0	0	Initial
0.70	0.500	100.0	0	6
2.50	0.500	70.0	30.0	7
3.50	0.500	20.0	80.0	6
5.00	0.500	100.0	0	1

B. MS 条件

MS系统:	Xevo QTOF
离子化模式:	ESI+
毛细管电压:	3.0 KV
源温度:	120°C
雾化气温度:	400°C
雾化气流速:	700L/h
锥孔气流速:	20L/h

软件

Masslynx 4.1

结果和讨论

采用UPLC和二极管阵列检测器PDA、飞行时间质谱Xevo QTof联用，对6-APA中的有关物质进行分离分析。图1是6-APA有关物质检查色谱图，224nm下检测到8个主要的有关物质。

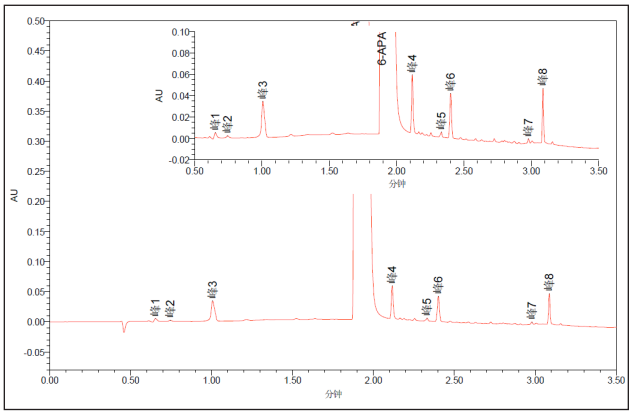

图2. 有关物质检查色谱图。

选择8个有关物质中编号为峰8的化合物为例，来说明结构鉴定的过程。采用Xevo QTof，得到峰8的精确质量数和质谱图(图3)。

10mg/L浓度两种方案分析结果色谱图如下图所示，使用UPLC方法灵敏度提升了9倍，分析时间缩短到原来的1/6。样品通量提高了6倍，节省了90%的溶剂消耗。

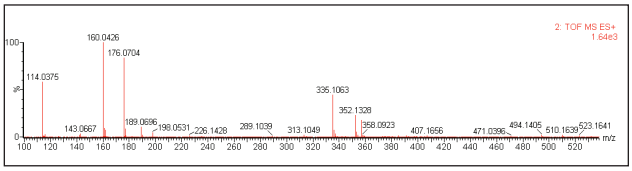

图3. 单一有关物质质谱扫描图(峰8)。

对峰8质谱图中m/z=335.1063的质谱信号进行元素组成分析(图4)，通过计算同位素的位置和丰度比，确定该离子的元素组成为$C_{16}H_{19}N_2O_4S^+$，即为$C_{16}H_{18}N_2O_4S$的$[M+H]^+$信号，$C_{16}H_{18}N_2O_4S$分子式和青霉素G的分子式一致，初步确定峰8为化合物青霉素G。

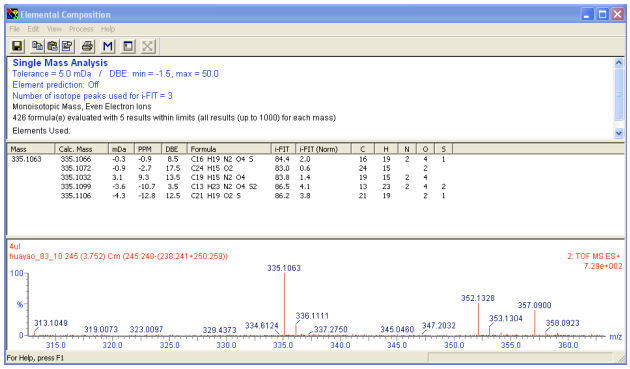

图4. 元素组成分析结果(峰8)。

采用Massfragment进一步确认峰8的化学结构。对峰8质谱图中的碎片离子进行分析，结果如图5所示。峰8的碎片离子，和青霉素G碎裂时可能产生的碎片相符，因此，Massfragment的分析结果进一步确证了峰8为青霉素G。

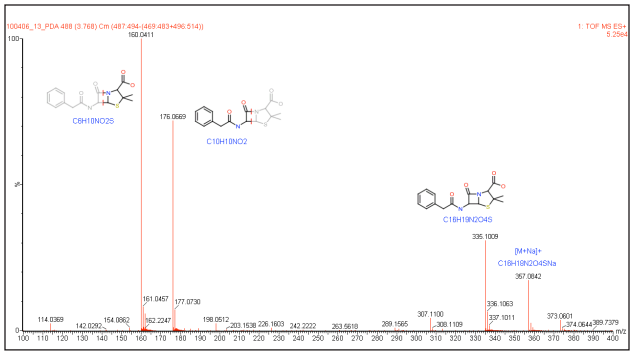

图5. Massfrgament碎片分析，结构确认(峰8)。

采用Openlynx给出检测报告，如下所示。

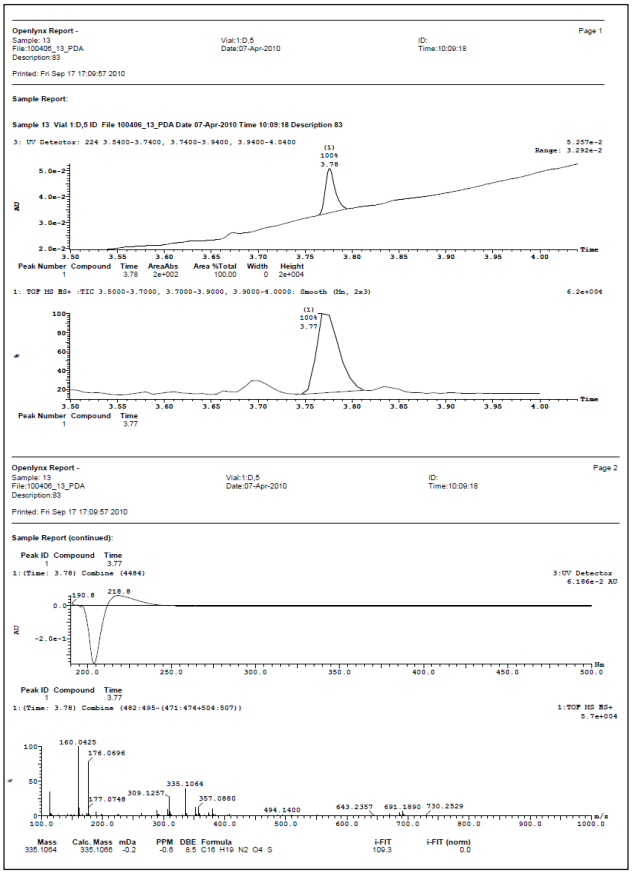

图6. 有关物质峰8测试报告(Openlynx)。

结论

随着药物质量标准的要求提高，需要对药物中的有关物质进行定性分析，得到有关物质的可靠的结构信息对药物质量控制和质量保证都起着重要的作用。本文采用沃特世ACQUITY UPLC Xevo QTOF系统，可以用于药物有关物质的结构鉴定，精确分子质量测定准确，化学结构确定过程科学严谨，报告清晰，对于药物的有关物质研究工作可以起到积极地推动作用。

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

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
香港：852 - 2964 1800

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

©2010沃特世公司
2010年10月

LLOYD'S REGISTER QUALITY ASSURANCE ISO9001
UKAS QUALITY MANAGEMENT 001
VIT