

使用SmartMS赋能的ACQUITY RDa检测器进行常规精确质量数测定以鉴定富马酸喹硫平API中的杂质

Tirupateswara Rao. B, Dilshad Pullancheri, Bheeshmacharyulu S, Padmakar Wagh博士

Waters Corporation

摘要

本应用纪要介绍了一种使用ACQUITY RDa检测器进行常规精确质量数测定以鉴定喹硫平及其有关杂质的精简工作流程。碎裂模式下的全扫描功能可同时采集低能量和高能量数据，大幅增加单次进样获得的信息量。UNIFI应用工作流程简化了碎片离子分析和结构表征过程，并且有效提升了最终结果的可信度。这种基于工作流程的方法可快速提供综合结果，为富马酸喹硫平API（活性药物成分）的杂质鉴定和确证提供必要信息。使用waters_connect软件平台内的UNIFI应用程序鉴定并报告API及相关杂质。利用ACQUITY RDa检测器在碎裂模式下的全扫描功能生成碎片离子信息。通过提高碎裂锥孔电压获取更多结构信息。

药物活性成分的化学降解通常会导致药性丧失，影响药物有效性和安全性，因此必须了解其杂质分布；需要使用适当的分析工具来研究药物稳定性，例如高分辨率质谱仪(HRMS)。ACQUITY RDa检测器具有自动设置和校准功能，使拥有不同程度专业知识的科学家都可以实现精确质量数测定。因此，非专家水平的用户也可以使用HRMS，让科学家能够获得更深入的分析信息。



图1.

ACQUITY RDa检测器

优势

- 在杂质分析中完成常规精确质量数测定

- 采用SmartMS技术的紧凑型台式系统
- 直观的“系统健康状态检查”和专用的“客户智能工作流程”
- 保证数据完整性的合规系统

简介

富马酸喹硫平(QUE)是一种非典型或第二代抗精神病药物，还可用于治疗与躁郁症相关的抑郁发作(McEvoy, 2016)。QUE最初是为治疗精神疾病而开发，但由于其导致镇静的附加作用，现在广泛用于在标示外治疗失眠症 (Anderson和Vande, 2014)。QUE具有易于降解的化学结构(图2)；因此，利用合适的分析技术(例如HRMS)评估杂质的存在情况非常重要。杂质的分析检测工作既耗时又耗力。分析人员需要应用一系列质谱分析技术和先进的软件来对这些复杂的杂质数据集进行数据处理。本研究介绍了一种系统性工作流程，能够以高特异性和高灵敏度检测富马酸喹硫平(API)原料药中存在的杂质。这种基于工作流程的方法提高了杂质鉴定的可信度，同时借助用户友好的智能软件进行快速结构表征。该软件可执行碎片离子分析，将低能量数据所提供的母离子信息与高能量数据所提供的碎片离子信息相关联。HPLC联合UV检测是一种广泛使用的杂质分析技术。但是，由于该技术灵敏度和特异性有限，通常需要HRMS来克服这些问题。

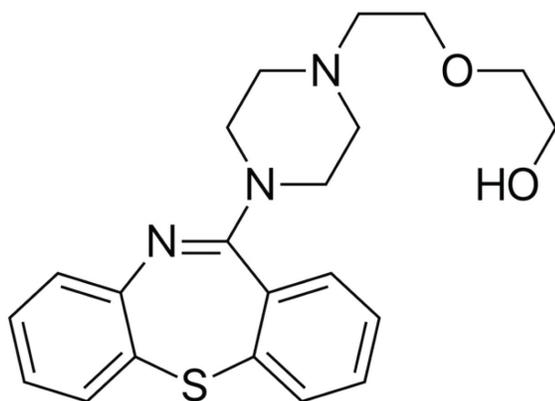


图2.喹硫平

具有SmartMS功能的ACQUITY RDa检测器使非HRMS专家级用户的科学家能够完成精确质量数测定，获得深度分析信息。此外，waters_connect软件平台在合规框架内使用专用的端对端工作流程采集、处理数据并报告结果。碎裂模式下的全扫描功能可同时采集低能量谱图和高能量谱图，获取碎片离子信息，从而提高化合物鉴定的可信度。

实验

将ACQUITY RDa检测器与ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统联用，使用XBridge C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 3.5 μm)作为固定相，对富马酸喹硫平进行杂质分析。ACQUITY RDa检测器是一款紧凑的台式ToF质谱仪，质量分辨率>10,000 FWHM，适用于常规的精确质量数测定。该系统可同时采集全扫描数据和碎裂模式下的全扫描数据（非数据依赖型采集）。UNIFI应用程序利用精确质量数、保留时间和化合物碎片离子数据搜索可定制的特定应用数据库以鉴定化合物。图1展示了ACQUITY RDa检测器。

样品描述

使用溶液A（缓冲液:乙腈 = 3:1）作为稀释剂，制备5 mg/mL富马酸喹硫平样品溶液。

液相色谱条件

液相色谱系统:	ACQUITY UPLC I-Class PLUS
检测条件:	TUV, 250 nm
样品瓶:	全回收样品瓶
色谱柱:	XBridge C ₁₈ , 4.6 × 150 mm, 3.5 μm
柱温:	45 °C
样品温度:	10 °C
进样体积:	20 μL
流速:	1.5 mL/min
缓冲液:	将6.2 g乙酸铵溶于2 L水中，用氢氧化铵将pH调节至9.2
流动相A:	1500 mL缓冲液+ 500 mL乙腈

流动相B:

乙腈

梯度表

时间 (min)	流速 (mL/min)	%A	%B	曲线
初始	1.5	100	0	6
25.00	1.5	100	0	6
60.00	1.5	29.3	70.7	6
60.01	1.5	74	26	6
70.00	1.5	60	40	6

质谱条件

质谱系统:

ACQUITY RDa检测器

电离模式:

碎裂模式下的全扫描 (伪MS^E采集)

采集范围:

50–2000 *m/z*

毛细管电压:

1.5 kV

碎裂锥孔电压:

50–90 V

锥孔电压:

30 V

极性:

正电离模式

扫描速率:

5 Hz

脱溶剂气温度:

550 °C

数据管理

结果与讨论

ACQUITY RDa检测器利用精确质量数工作流程测量精确质量数，以实施鉴定并制定明智决策。本研究展示了用于杂质分析的UNIFI软件应用工作流程，该工作流程也可以扩展至降解研究，如图3所示。

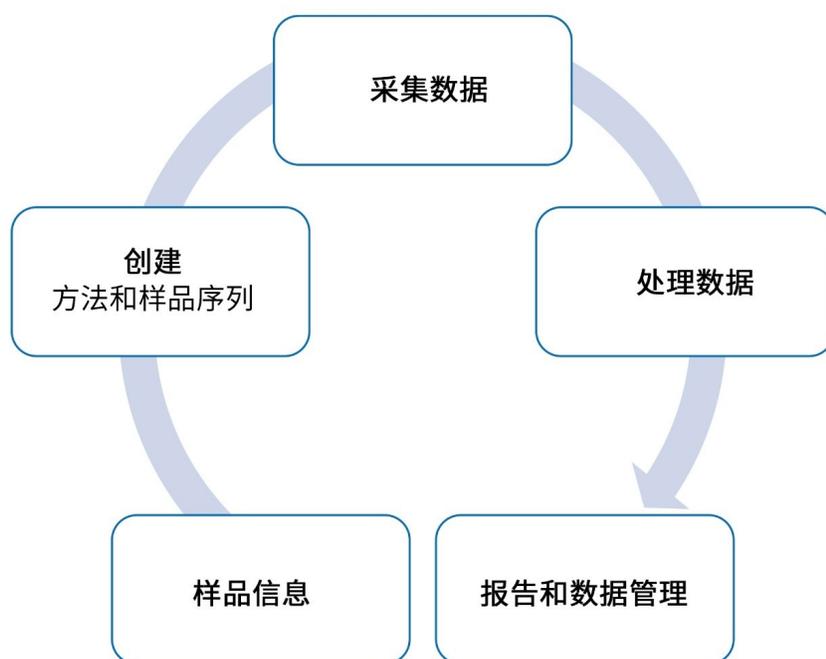


图3.UNIFI应用分析工作流程

图4显示了UV色谱图与ESI正离子模式下的MS BPI色谱图比较。

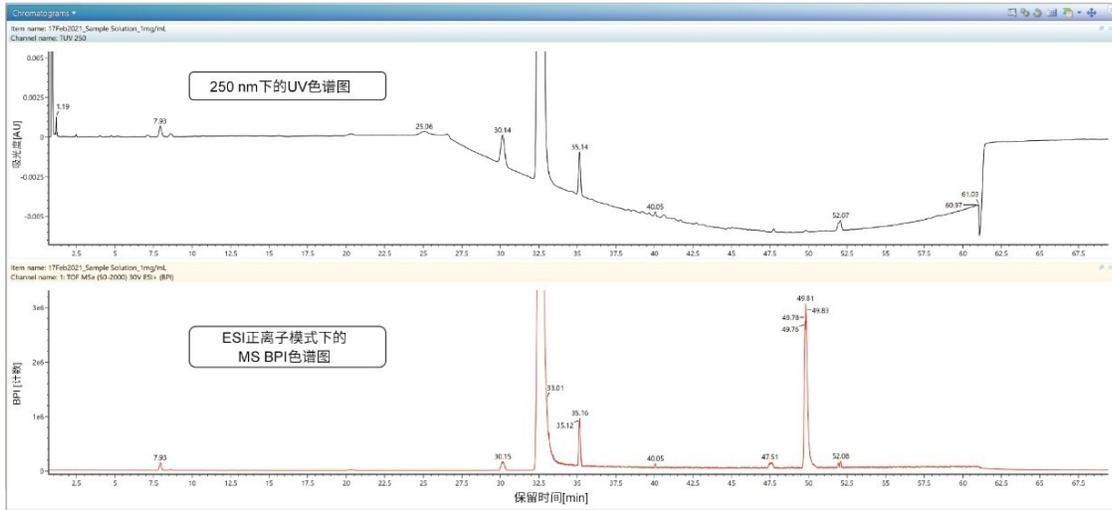


图4.富马酸喹硫平制剂样品在250 nm下的UV色谱图与ESI正离子模式下的MS BPI（基峰强度）色谱图

利用ACQUITY RDa检测器在碎裂模式下的全扫描功能采集富马酸喹硫平API样品(1 mg/mL)的数据，其中低能量通道包含母离子信息，高能量通道包含碎片离子信息（图5）。

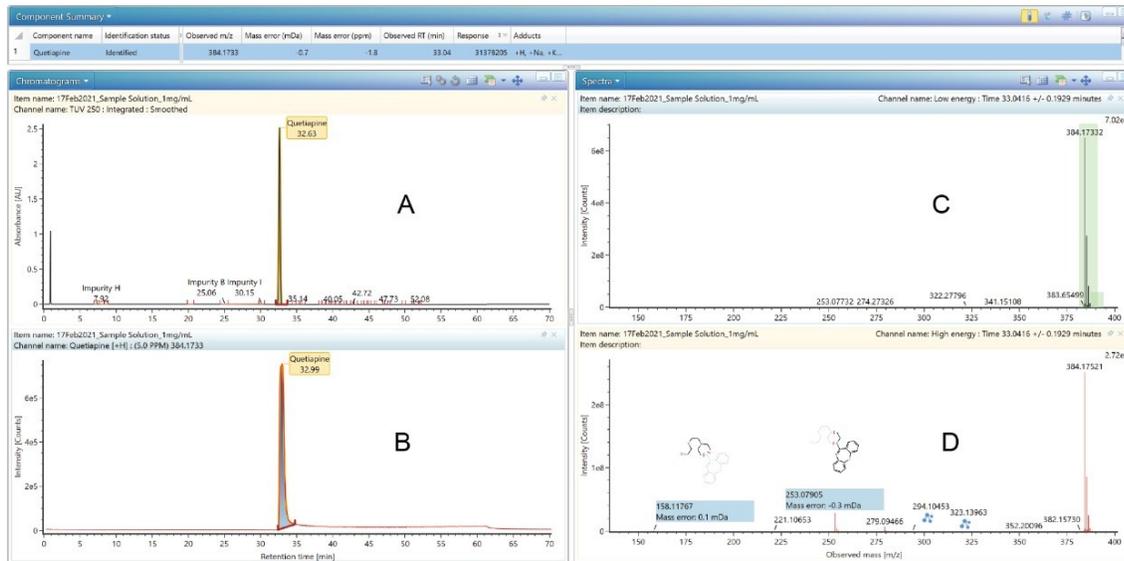


图5.A - 喹硫平的UV色谱图，B - 喹硫平的MS XIC（提取离子色谱图），C - 低能通道包含母离子信息，D - 高能通道包含碎片离子信息。

为获得色谱图中每个峰的元素组成，分析人员通常必须结合MS扫描数据，对每个目标峰执行背景扣除，然后生成单独的元素组成报告。UNIFI软件使用i-FIT对ToF-MS ES+谱图中积分得到的所有杂质峰分配相关联的元素组成、质量精度和同位素模型进行评分，然后在单个窗口中显示结果。使用UNIFI软件，根据精确质量数和元素组成评估

未知杂质峰，结果表明API喹硫平的质量精度处于亚2 ppm级。本实验观察到9种已知杂质，平均质量精度为2 ppm。软件可以匹配伪MS^E采集的高碰撞能量（即碎片离子）和低碰撞能量（即母离子信息）。所得结果显示在同一窗口中，对母离子和碎片离子质谱图进行评估，并以色谱图方式显示出来。

本应用纪要介绍了两种不同的方法；这两种方法分别使用“发现工具”和“转化工具”来鉴定未知杂质，如图6所示。

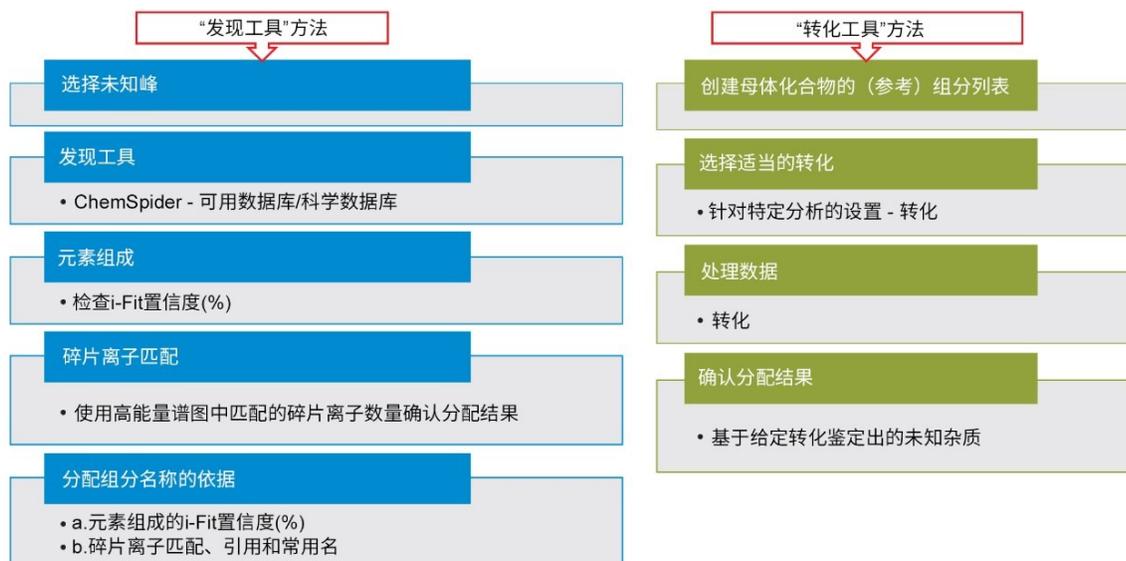


图6.用于鉴定未知杂质的“发现工具”方法和“转化工具”方法

集成的“发现工具”使用户能够解析未鉴定出的峰，并快速搜索结构数据库ChemSpider，推测性鉴定未知化合物。

如图7所示，使用“发现工具”可以在32.9 min的RT处鉴定出喹硫平峰。

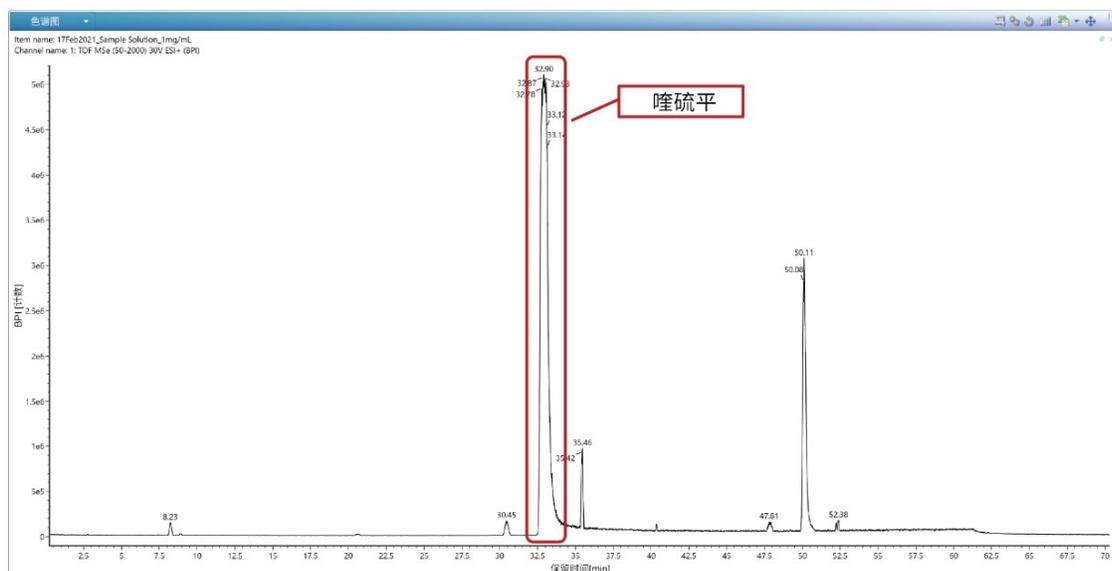


图7.32.70 min处的喹硫平峰

“发现工具”会获取32.9 min处测得的精确质量数，提出元素化学式，并在选定的ChemSpider库中搜索可能的化合物。本例中发现了六个可能的数据库匹配结果。“发现工具”还执行模拟碎裂，产生理论碎片离子用于数据库匹配，并将该谱图与采集的碎片离子谱图比较。找到的第一种候选物是喹硫平，它与图8所示未知峰的谱图组成相匹配。

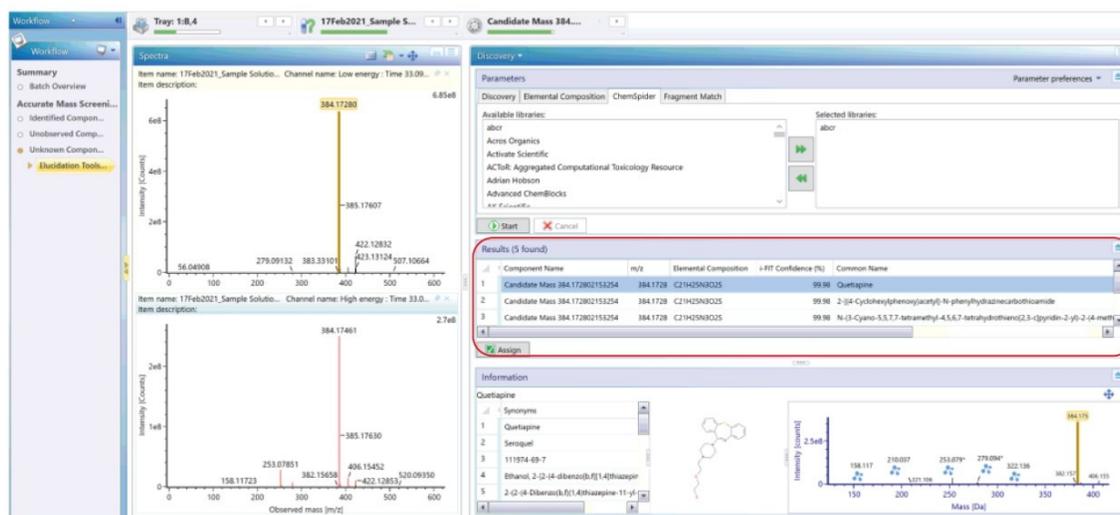


图8.使用“发现工具”并借助ChemSpider数据库鉴定喹硫平

“发现工具”可在杂质分析中用于API鉴定，并用鉴定出的化合物创建科学数据库以备常规分析使用。使用现有文献创建了喹硫平及其相关杂质的科学数据库，如图9所示。

Search results (22 items found)					
	Name	Library name	Formula	Monoisotopic mass (g/mol)	
1	Impurity A	Quetiapine	C23H27N3O3S	425.1773	
2	Impurity B	Quetiapine	C17H17N3S	295.1143	
3	Impurity C	Quetiapine	C40H42N6O3S2	718.2760	
4	Impurity D	Quetiapine	C30H24N4S2	504.1442	
5	Impurity E	Quetiapine	C40H44N6O2S2	704.2967	
6	Impurity F	Quetiapine	C21H27N3O3S	401.1773	
7	Impurity G	Quetiapine	C13H9NOS	227.0405	
8	Impurity H	Quetiapine	C21H25N3O3S	399.1617	
9	Impurity I	Quetiapine	C19H21N3OS	339.1405	
10	Impurity J	Quetiapine	C25H33N3O4S	471.2192	
11	Impurity K	Quetiapine	C23H29N3O4S	443.1879	
12	Impurity L	Quetiapine	C21H24ClN3O2S	417.1278	
13	Impurity N	Quetiapine	C29H41N5O3S	539.2930	
14	Impurity O	Quetiapine	C40H39N3O2S	625.2763	
15	Impurity P	Quetiapine	C19H21N3S	323.1456	
16	Impurity Q	Quetiapine	C25H34IN3O4S	599.1315	
17	Impurity T	Quetiapine	C17H16N2OS	296.0983	
18	Impurity U	Quetiapine	C13H10N2S	226.0565	
19	Impurity V	Quetiapine	C21H25N3O2	351.1947	
20	Impurity W	Quetiapine	C34H32N4O2S2	592.1967	
21	Quetiapine	Quetiapine	C21H25N3O2S	383.1667	
22	Quetiapine fumarate	Quetiapine	C46H54N6O8S2	882.3445	

图9.喹硫平及其相关杂质的科学数据库

如图10所示，使用“发现工具”可以在30.45 min的RT处鉴定出喹硫平相关杂质峰。

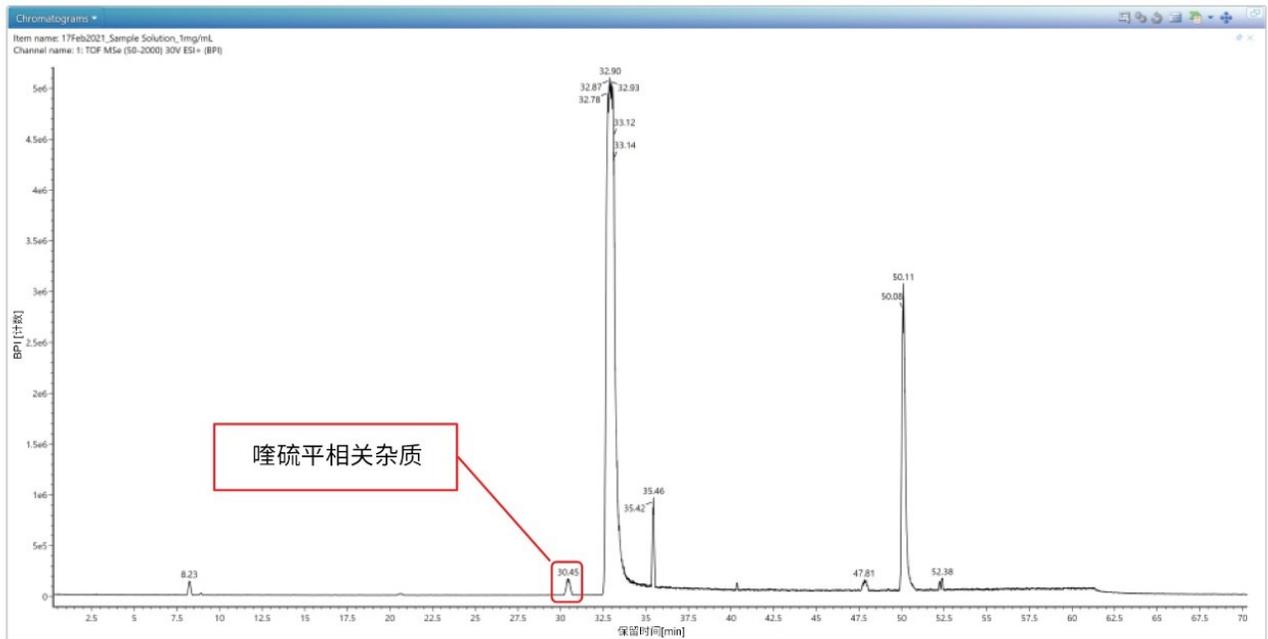


图10.30.45 min处的喹硫平相关杂质峰

“发现工具”会获取30.45 min处测得的精确质量数，提出元素化学式，并在选定的科学数据库中搜索可能的化合物。“发现工具”还执行模拟碎裂，产生理论碎片离子用于数据库匹配，并将该谱图与采集的碎片离子谱图比较。找到的候选物是杂质I，它与图11所示未知峰的谱图组成相匹配。

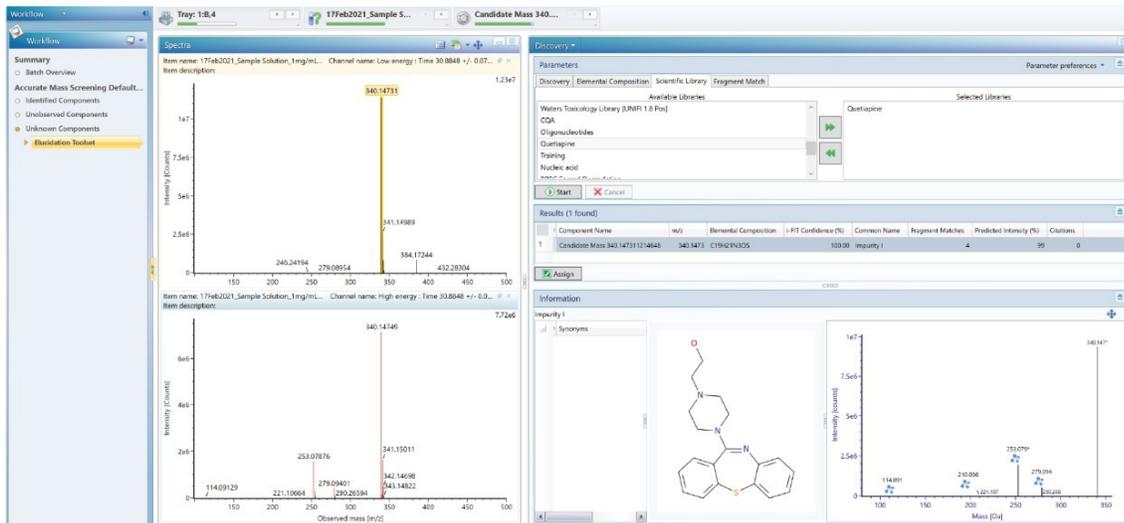


图11.使用“发现工具”并借助科学数据库鉴定喹硫平相关杂质

图12展示了使用科学数据库对喹硫平及其相关杂质的鉴定。

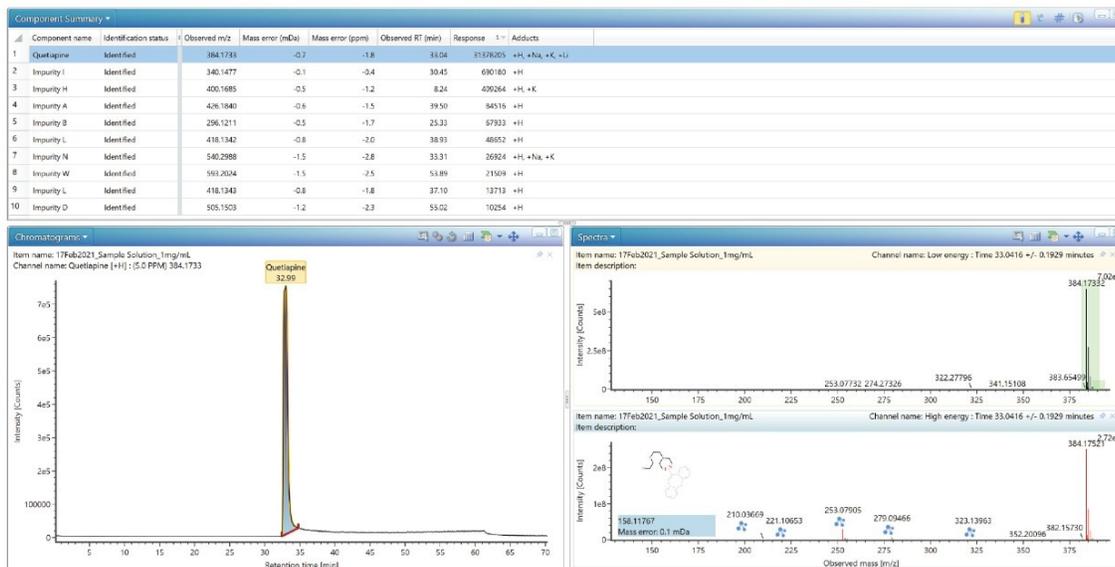


图12.使用科学数据库对喹硫平及其相关杂质的鉴定

在初始阶段,可使用UNIFI“发现工具”来鉴定API和杂质。另外,使用UNIFI应用程序中内置的转化工具成功鉴定出作为潜在转化(氧化、还原、脱烷基化等)产物的API相关杂质。疑似杂质显示在组分概要中,其中列出了与预测杂质的 m/z 相匹配的所有峰(图13)。还显示了色谱图和质谱图,高能谱图中的自动碎片离子分配结果带有蓝色图标(图13)。如图13左侧所示,该工具结合杂质分析工作流程来鉴定与API相关的未知杂质是一种高效的方法。

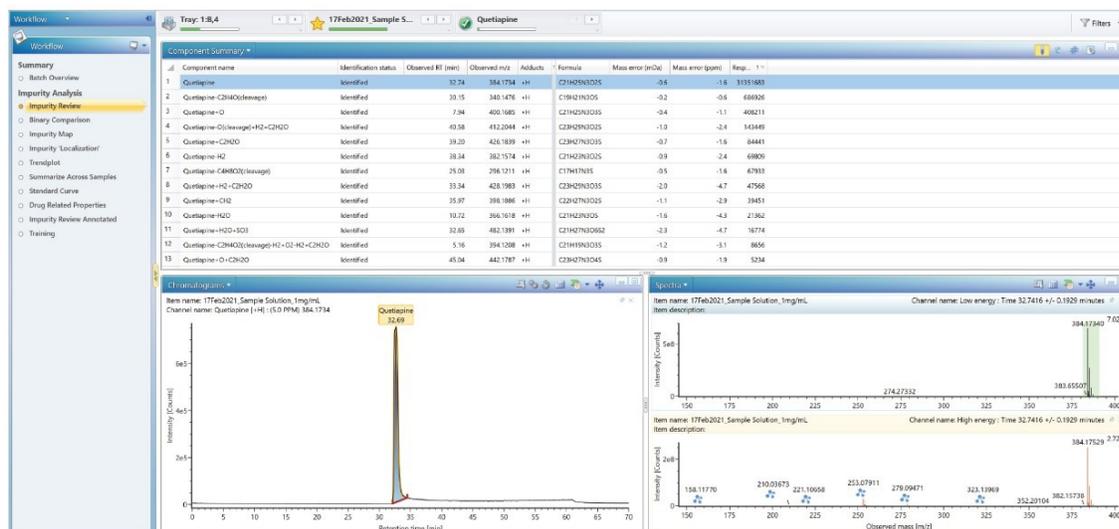


图13.转化工具结合杂质分析UNIFI工作流程对富马酸喹硫平API相关杂质的鉴定

使用ACQUITY RDa检测器与waters_connect平台鉴定出富马酸喹硫平的所有相关杂质。

结论

将ACQUITY RDa检测器与ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统和TUV联用来采集数据，可实现足够的灵敏度和优异的质量精度，有助于鉴定富马酸喹硫平原料药中的多种杂质。伪MS^E可同时采集高能量和低能量数据，大幅增加单次进样获得的信息量。在此之后执行数据处理工作流程，简化了碎片离子的分析和结构表征过程，并且有效提升了最终结果的可信度。

快速确证了喹硫平及其9种杂质的鉴定结果。软件工具与杂质分析的优化仪器配置以及高效的伪MS^E采集功能相结合，提供了一套系统的工作流程，应用该流程可以在杂质分析中轻松鉴定和确证已知及未知的峰。这种基于工作流程的方法可快速提供系统的全面结果，为API杂质分析研究中的杂质鉴定和确证提供必要信息。

参考资料

1. Anderson, S., and Vande, J. (2014). Quetiapine for Insomnia: A Review of the Literature. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 71, 394–402. <https://doi.org/10.2146/ajhp130221> <<https://doi.org/10.2146/ajhp130221>>.
2. Bharathi, C., Prabahar, K., Prasad, C., Srinivasa, R., Trinadhachary, G., Handa, V., Naidu, A. (2008). Identification, Isolation, Synthesis and Characterization of Impurities of Quetiapine Fumarate. *Pharmazie*, 63, 14–19.
3. Fisher, D., Handley, S., Flanagan, R., and Taylor, D. (2012). Plasma Concentrations of Quetiapine, N-desalkylquetiapine, O-desalkylquetiapine, 7-hydroxyquetiapine, and Quetiapine Sulfoxide in Relation to Quetiapine Dose, Formulation, and other factors. *Therapeutic Drug Monitoring*, 34, 415–421. <https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e3182603f62> <<https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e3182603f62>>.
4. Jones, MD, *et al.* Identification and Characterization of an Isolated Impurity Fraction: Analysis of an Unknown Degradant Found in Quetiapine Fumarate. Waters Corporation. 2009; [720003079EN](https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e3182603f62).
5. 使用UPLC方法进行杂质分离和方法放大：分析富马酸喹硫平中的未知降解产物. 沃特世公司. 2009; [720003078ZH](https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e3182603f62).

特色产品

- [ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <https://www.waters.com/134613317>](https://www.waters.com/134613317)
- [ACQUITY UPLC可变波长紫外检测器 <https://www.waters.com/514228>](https://www.waters.com/514228)
- [UNIFI科学信息系统 <https://www.waters.com/134801648>](https://www.waters.com/134801648)
- [waters connect <https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135040165>](https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135040165)
- [ACQUITY RDa检测器 <https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135077027>](https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135077027)

720007354ZH, 2021年9月



© 2021 Waters Corporation. All Rights Reserved.