

HPTLC/MS联用技术对药物合成过程中未知有关物质的快速鉴别



从左至右: G. Goncalves, A. Carminati 和 M. Nimod

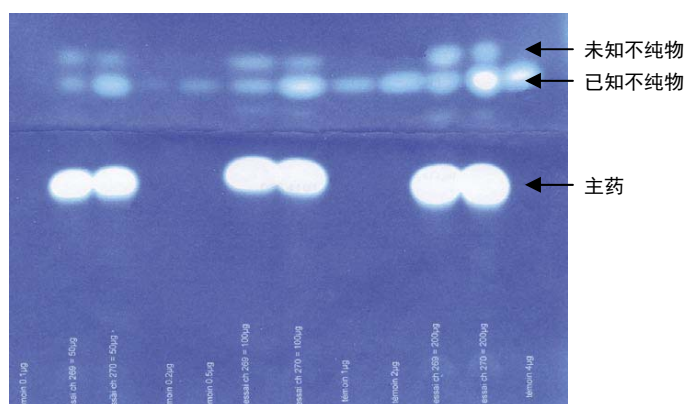
在位于法国南部城市锡斯特龙的赛诺菲-安万特制药工业事务部的分析研发机构（SRDA），分析化学家Muriel Nimod, Gilbert Goncalves和Alain Carminati负责对新药中的药物活性成分的分析方法进行开发和验证。除了其他方法外，他们采用HPTLC串联质谱用作对药物合成过程中产生的相关物质的快速鉴别。

介绍

在过程控制中，如果HPTLC检测出一个新的不纯物质，那么整个生产过程将为了鉴别未知物而进行中断。

通常鉴别不纯物质使用的是HPLC/MS设备。但在这种情况下，将HPLC测得的色谱峰与HPTLC的结果进行准确比对或者将相关物质的斑点从薄层板上刮下再洗脱注入HPLC/MS系统进行分析都是非常耗时的。

因此及时解决这一问题的惟一办法就是直接在薄层板上鉴别不纯物质。于是一个名为ChromExtractor的即插即用的萃取装置被用来串联在任何HPLC/MS系统中，从而可对任何未知成分在1分钟之内进行萃取和MS检测。



过程控制中的HPTLC方法提示一个未知的不纯物质

供试品溶液的制备

将合成的样品溶解于甲醇中，浓度为5 mg/mL。

薄层板

HPTLC 硅胶60 F₂₅₄ 铝箔板（Merck），20 x 10 cm，使用前用展开剂预洗一遍。

点样

CAMAG ATS4全自动点样仪进行点样，条带宽度6 mm，轨道间距8 mm，距离底边10 mm。

色谱条件

在20 x 10 cm双槽展开缸中以正丁醇-水-乙酸（3:1:1）进行展开。

色谱后衍生化

以10%硫酸甲醇溶液，用TLC显色喷瓶对薄层板进行喷雾，然后于TLC薄层加热装置上以120 °C加热15 min。

HPTLC-MS联用

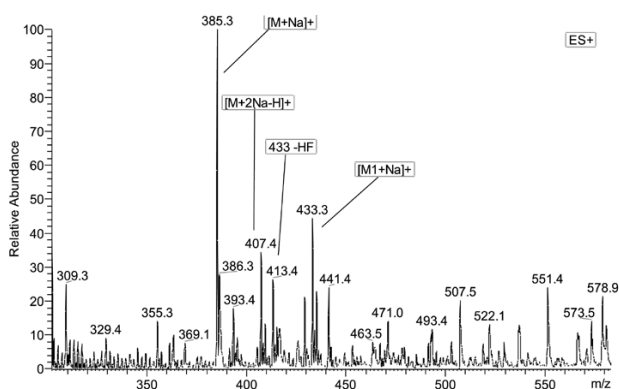
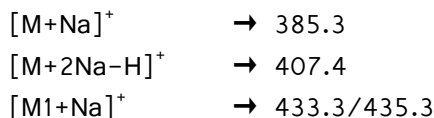
在UV 366nm下数个显荧光的未知物斑点被标定出来。为了将未知物从硅胶固定相中萃取出来，将薄层板置于ChromExtractor (ChromAn, Holzhausen, 德国)萃取头下并定位和压紧,然后通过HPLC泵用甲醇-0.1甲酸(9:1)做溶剂以0.3 mL/min的流速对未知物进行萃取。

编者注: 该接口的升级的正式版本自2009年起由CAMAG公司推出。

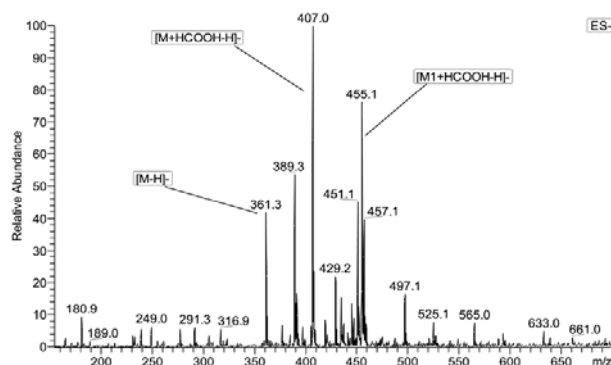
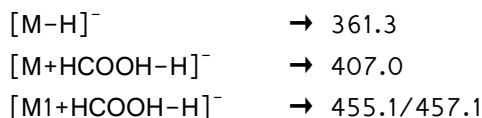
打开萃取装置的阀门后, 斑点被直接洗脱并注入质谱仪。采用配备有ESI离子源接口的Finnigan LTQ LC-MS (赛默飞世尔) 分别以正/负离子模式在线性离子阱中进行了2级质谱和3级质谱分析。MS参数为: 电离电压 4.0 kV, 毛细管电压 27 V, 毛细管温度 300 °C, 干燥气流 5 AU, 雾化气流10 AU。

结果和讨论

下列离子簇被ESI正离子模式所记录:

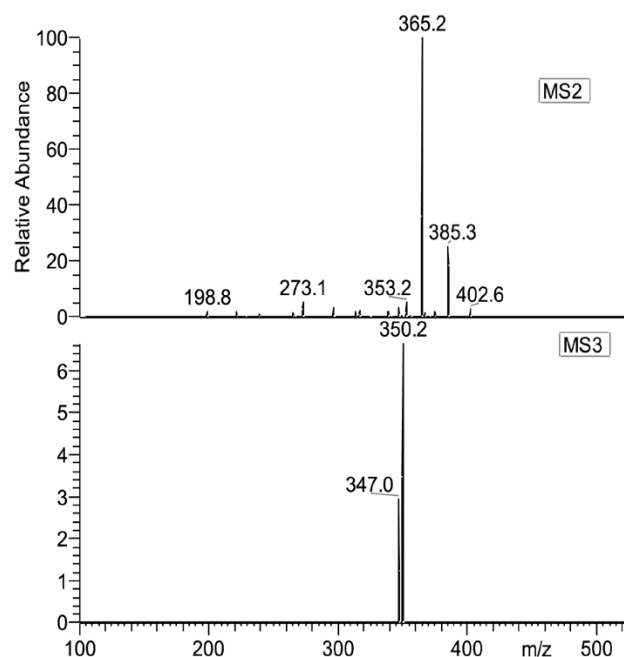


在ESI负离子模式下记录的离子簇信号较强:

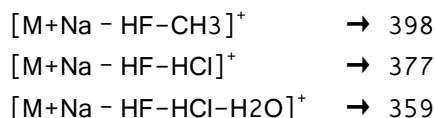


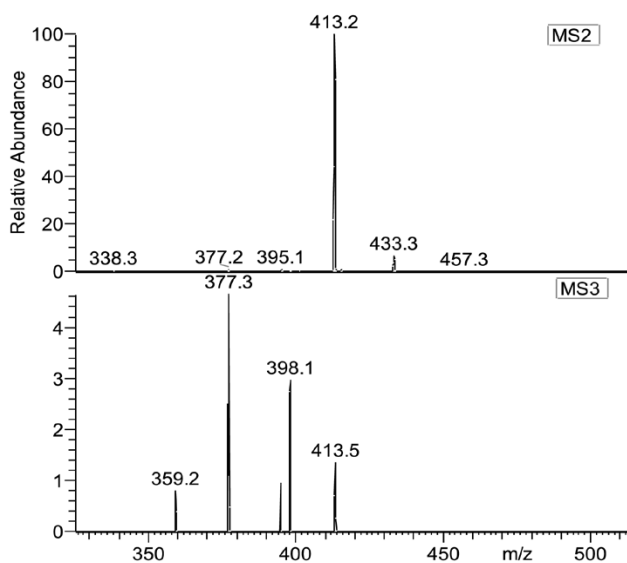
目前由ESI正/负离子模式下检测到的 m/z 385和 433的2个未知物在色谱中是一起流出的。采用 MS^n 进一步鉴别未知物,

2级质谱显示 m/z 385的第1个成分的离子产生 $[M+Na-HF]^+ \rightarrow 365$ 碎片峰, 并在 MS^3 中生成 $[M+Na-HF-CH3]^+ \rightarrow 350$ 碎片峰。



2级质谱显示 m/z 433的第2个成分的离子产生 $[M+Na-HF]^+ \rightarrow 413$ 碎片峰, 并在 MS^3 中产生下列碎片峰:





通过HPTLC检测到的未知物斑点最终被证实为2个不纯物质,其中一个为主药的醛基衍生物($R-CHO$, $M = 362 \text{ g/mol}$), 另一个为氯化酮基衍生物($R-CO-CH_2Cl$, $M = 410 \text{ g/mol}$)。

HPTLC-MS串联技术的方法非常有价值,因为鉴别合成过程中的新出现的相关不纯物质必须在相当短的时间内完成。在HPTLC-MS中,从化合物的斑点洗脱到质谱结果分析仅需不到1分钟的时间。现在终于不再需要针对HPTLC鉴别中发现的不纯物质来繁琐地开发HPLC/MS鉴别方法了。

该方法被证明适用于日常的药物合成的过程质量控制中。

更详细的资料可向作者索取:

*Alain Carminati, Analytical Research and Development
Department, Sanofi-Aventis, Chemin de Meteline, 04200
Sisteron, France, Tel. ++33-492333955
alain.carminati@sanofi-aventis.com



CAMAG TLC-MS 薄层质谱接口

--化合物快速提取并在线传输到各种质谱仪
如 APCI-MS, APPI-MS 或 ESI-MS

为什么需要薄层质谱接口?

调查显示不是所有的样品都可以在 HPLC-MS 或 HPLC-DAD 得到检测,这是因为化合物或相关不纯物质在紫外区没有吸收或灵敏度很低,又或者样品基质污染严重以及缺乏合适的 MS 溶剂。另一方面,高效薄层色谱 HPTLC 是一种分离样品的快速和简便的方法。在过去未知成分从薄层板上刮去下来,洗脱到试管中再注入质谱仪。现在在一个便利的和通用的薄层质谱接口问世了,其能够半自动地提取感兴趣的斑点区域,并且直接在线输送到任何品牌的液-质系统中。

接口可快速和方便地连接到现有的液相色谱-质谱系统中且不需要任何调整和配件添加。感兴趣的物质直接从薄层板上提取下来,每个成分在一分钟内可获得足够灵敏的质谱信号。接口依靠较宽的提取头,使得成分条带可完全提取以获得检测限为 pg 水平的检测结果。该接口已经被证实是最可靠的通用型薄层质谱接口。

详细信息请访问:

www.camag.com/TLC-MS