

UPLC-QTOF-MS 鉴定磺胺嘧啶原料药的有关物质

李璐¹, 廖乃英^{2*}

(1. 广西-东盟食品药品安全检验检测中心, 南宁 530021; 2. 广西卫生职业技术学院, 南宁 530029)

摘要 **目的:** 对磺胺嘧啶原料药中 12 个有关物质进行结构鉴定。**方法:** 采用高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱技术推测各有关物质的结构。色谱条件: 采用 Waters BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm), 以乙腈-10 mmol · L⁻¹ 醋酸铵溶液 (30:70) 为流动相, 流速 0.2 mL · min⁻¹; 质谱条件: 采用正离子扫描 (ESI⁺) 方式, 在 *m/z* 50~1 000 范围内进行质谱扫描; 结合磺胺嘧啶与各有关物质的多级质谱裂解规律, 鉴定各有关物质的结构。**结果:** 获得了磺胺嘧啶原料药中 12 个有关物质的相对分子质量及结构式。**结论:** 色谱-质谱联用技术能有效地鉴定磺胺嘧啶原料药中的有关物质, 为其生产工艺和质量控制提供有意义的实验数据和参考依据。

关键词: 磺胺嘧啶; 有关物质; 飞行时间质谱; 质谱裂解规律; 结构鉴定

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793 (2019) 12-2148-09

doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.12.05

Identification of related substances in sulfadiazine by UPLC-QTOF-MS

LI Lu¹, LIAO Nai-ying^{2*}

(1. Guangxi-ASEAN Test Center for Food and Drug Safety, Nanning 530021, China;

2. Guangxi Medical Collage, Nanning 530023, China)

Abstract **Objective:** To elucidate the structure of 12 related substances in sulfadiazine by UPLC-QTOF-MS. **Methods:** UPLC-QTOF-MS was adopted to analyze the structure of the impurity based on the fragmentation behavior of sulfadiazine and its impurity. The separation was performed on a Waters BEH C₁₈ column (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm) with the mobile phase of a mixture of 30% acetonitrile and 70% 10 mmol · L⁻¹ ammonium acetate solution. Flow rate was 0.2 mL · min⁻¹. MS was performed under positive mode with the mass range of *m/z* 50-1 000. **Results:** The structures and molecular weights of the related substances in sulfadiazine were identified. **Conclusion:** The hyphenated LC-MS method is useful for the identification of related substances in sulfadiazine. The results obtained are valuable for its manufacturing process and quality control.

Keywords: sulfadiazine; related substances; TOF; MS spectrum of impurity and fragmentation pathway; structural identification

* 通信作者 Tel:(0771) 5616035; E-mail: 147789539@qq.com

第一作者 Tel:(0771) 5578900; E-mail: 476062357@qq.com

磺胺嘧啶(sulfadiazine)为 *N*-2-嘧啶基-4-氨基苯磺酰胺,属中效磺胺,是一种使用广泛的抗菌药^[1],其作为二氢叶酸合成酶的竞争抑制剂,达到阻碍叶酸合成的效果。磺胺嘧啶对革兰阳性及阴性菌均有抑制作用,可用于脑膜炎双球菌、肺炎球菌、淋球菌、溶加链球菌感染的治疗^[2]。磺胺嘧啶原料药收载于《中华人民共和国药典》2015年版(ChP 2015)、英国药典(BP 2017)、美国药典(USP 40)、欧洲药典(EP 9.0),除ChP 2015外均有有关物质检查项,并且明确了5个有关物质(杂质A、杂质B、杂质C、杂质D、杂质E)。前期参照BP 2017对磺胺嘧啶原料药进行有关物质检查试验中发现,国内的磺胺嘧啶原料药除检出杂质A、杂质C、杂质D外,还检测出其他未知的有关物质。为了有效地控制药物的质量,完善药物的有关物质检查,确保其安全性和有效性,特对12个有关物质进行UPLC-QTOF-MS结构鉴定。首先利用一级全扫描质谱得到各有关物质的精确分子质量和元素信息,再根据二级全扫描质谱获得碎片离子信息,并结合磺胺类药物生产工艺^[3]及其常见的质谱裂解方式,推测其可能的化学结构。该方法快速有效,可为磺胺嘧啶原料药的生产工艺和质量控制提供参考依据。

1 仪器与试剂

Waters XEVO G2 Q-TOF液相质谱联用仪; Waters BEH C₁₈(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm)色谱柱; 梅特勒XD205DU电子天平(0.1 mg)。

磺胺嘧啶原料(厂家A,批号170206、170511、170708);对照品磺胺嘧啶(中国食品药品检定研究院,批号100026-201404,含量99.7%)、杂质A(2-氨基嘧啶)(Stanford Analytical Chemicals Inc,批号AL170221-13,含量98.9%)、杂质B(对氨基苯磺酸)(中国食品药品检定研究院,批号101180-201001,含量95.1%)、杂质C(磺胺脒)(中国食品药品检定研究院,批号100412-201302,含量92.0%)、杂质D(磺胺)(中国食品药品检定研究院,批号100024-201103,含量99.8%);水为超纯水(电导率小于0.1 us · cm⁻¹),乙腈为色谱纯(默克股份两合公司,批号JA046630),其他试剂均为分析纯。

2 实验方法

2.1 UPLC-QTOF/MS测定

采用Waters BEH C₁₈色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm),以乙腈-10 mmol · L⁻¹醋酸铵溶液(30:70)

为流动相,流速0.2 mL · min⁻¹,进样量2 μL;质谱参数:采用ESI⁺离子源,正离子全扫描方式,扫描范围 *m/z* 50~1 000,扫描时间0.3 s,喷雾电压2.5 kV,锥孔电压25 V,去溶剂温度500 °C,去溶剂气体(N₂)流速800 L · h⁻¹。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液 取磺胺嘧啶原料约10 mg,精密称定,置100 mL量瓶中,加氢氧化钠试液1 mL使溶解,并用流动相稀释至刻度,摇匀,配制成质量浓度约为0.1 mg · mL⁻¹供试品溶液。

2.2.2 杂质对照品溶液 分别取磺胺嘧啶杂质A、杂质B、杂质C、杂质D适量,分别加氢氧化钠试液1 mL使溶解,用流动相稀释成质量浓度约为15 μg · mL⁻¹的杂质对照品溶液。

2.2.3 降解试验 取磺胺嘧啶原料分别进行强酸(1 mol · L⁻¹盐酸溶液1 mL, 60 min)、强碱(1 mol · L⁻¹氢氧化钠溶液1 mL, 30 min)、强氧化(10%过氧化氢溶液1 mL, 30 min)、高温(105 °C, 1 d)和光照(4 500 lx, 1 d)等破坏降解试验,再按“2.2.1”项下方法配制降解溶液。

3 结果与讨论

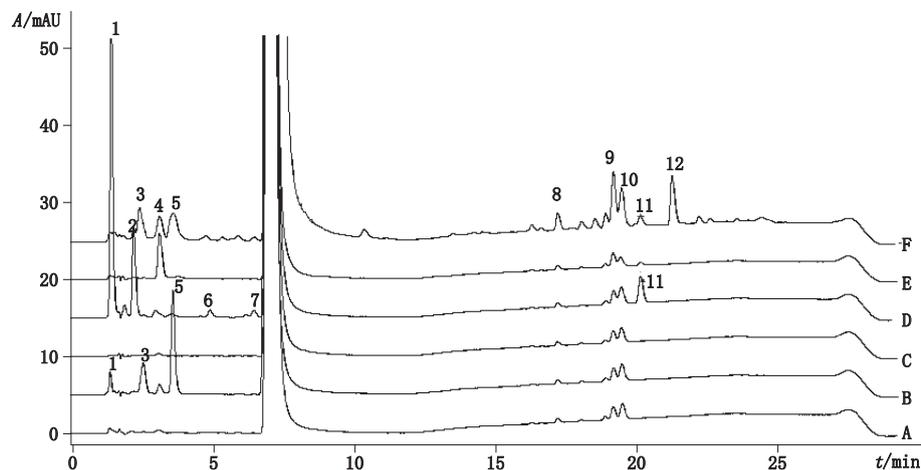
3.1 有关物质检测

分别取供试品溶液和降解溶液,按“2.1”项下方法进行测定,得到典型色谱图(见图1),分别将各色谱各峰按保留时间的顺序编号为1~12。试验结果表明,在强酸条件下主要降解为有关物质1、3、5;在氧化条件下主要降解为有关物质1、2、6、7、11;在高温条件下主要降解为有关物质4;在光照条件下主要降解为有关物质3、4、5、8、9、10、11、12。各有关物质与主峰均得到有效分离,各杂质峰的分度均能符合要求。

3.2 有关物质结构分析

UPLC-QTOF-MS正离子模式下测得各有关物质母离子的准确质量与离子组成,三重四极杆质谱获得二级质谱碎片信息,通过与磺胺嘧啶及其有关物质对照品二级质谱碎片离子的比对分析,鉴定各有关物质结构。磺胺嘧啶与各有关物质的MS²子离子特征碎片列表分析见表1。

磺胺嘧啶属于磺酰胺类药物,具有苯磺酰胺的基本母核。近年来有不少文献对磺酰胺类化合物的质谱碎裂机理进行了详细报道^[4-7],为此类化合物的结构解析提供理论依据。在串联质谱中,苯磺酰胺类



1~12. 同表 1 (same as Tab. 1)

A. 供试品溶液 (test solution) B. 酸破坏 (acid destruction) C. 碱破坏 (base destruction) D. 氧化破坏 (oxidation destruction) E. 高温破坏 (heat destruction) F. 光照破坏 (light destruction)

图 1 有关物质 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of related substances

表 1 磺胺嘧啶及其有关物质的高分辨质谱数据

Tab. 1 Accurate mass measurements for impurities in sulfadiazine

有关物质编号 (No. of related substance)	t_R /min	离子公式 (proposed ion formula)	测定质量 (measured mass) m/z	计算质量 (calculated mass) m/z	误差 (error) / $\times 10^{-6}$	二级质谱碎片离子 (MS ² fragment ions) m/z
1	1.4	$C_{11}H_{12}N_3O_3S^+$	294.066 7	294.065 5	-4.0	230, 199, 185, 151, 135, 108, 96, 92, 80, 65
2	2.3	$C_7H_{11}N_4O_2S^+$	215.059 9	215.059 7	-0.7	156, 108, 92, 80, 65
3	2.6	$C_6H_9N_2O_2S^+$	173.036 6	173.037 9	2.5	156, 108, 92, 80, 65
4	3.2	$C_{17}H_{17}N_8O_3S^+$	413.115 2	413.113 9	-3.9	318, 293, 254, 198, 156, 134, 108, 96, 92, 80, 65
5	3.7	$C_{12}H_{18}N_5O_3S^+$	295.086 8	295.086 5	-0.5	265, 201, 200, 172, 124, 96
6	4.9	$C_4H_6N_3^+$	96.055 4	96.055 6	1.1	79
7	6.5	$C_{10}H_{11}N_4O_3S^+$	267.054 5	267.054 6	-0.1	201, 156, 112, 108, 92, 80, 65
磺胺嘧啶 (sulfadiazine)	7.1	$C_{10}H_{11}N_4O_2S^+$	251.059 4	251.059 7	1.1	185, 156, 108, 96, 92, 80, 65
8	17.2	$C_{19}H_{18}N_9O_4S_2^+$	500.093 2	500.091 8	-2.9	405, 357, 341, 266, 250, 186, 156, 108, 92, 80, 65
9	19.2	$C_{10}H_{10}ClN_4O_2S^+$	285.022 3	285.020 8	-5.4	189, 158, 142, 126, 114, 98
10	19.4	$C_{10}H_{11}N_4O_2S^+$	251.059 4	251.061 5	-7.0	185, 156, 108, 96, 92, 80, 65
11	20.1	$C_{10}H_9N_4O_3S^+$	281.037 4	281.033 9	-5.0	235, 217, 185, 169, 150, 140, 122
12	21.2	$C_{21}H_{20}N_7O_4S_2^+$	484.086 8	484.085 6	-2.8	389, 341, 325, 261, 246, 182, 168

质子化或去质子化离子都会发生丢失 SO_2 中性碎片的碎裂反应,这被认为是苯磺酰胺类化合物的特征质谱丢失。另外,对氨基苯磺酰胺质子化离子容易发生 S-N 键断裂形成对氨基苯磺酰阳离子;同时,由于苯环对位氨基的共轭作用,促使氧原子发生亲核进攻引发 C-S 键的断裂,最终导致特征的 SO 中性碎片丢失。因此大多数磺胺类药物的共有 5 个特征碎片

离子峰为 $[C_6H_6NSO_2]^+ m/z$ 156、 $[C_6H_6NO]^+ m/z$ 108、 $[C_6H_6N]^+ m/z$ 92、 $[C_5H_6N]^- m/z$ 80 和 $[C_5H_5]^+ m/z$ 65。

在正离子模式下,磺胺嘧啶的 $[M+H]^+$ 准分子离子峰为 m/z 251;碎片离子 m/z 156 是由母离子发生 S-N 键断裂后,正电荷保留在含 S 端而形成的 $[C_6H_6NSO_2]^+$,即对氨基苯磺酰阳离子;碎片离子 m/z 108 是由离子 $[C_6H_6NO_2S]^+$ 进一步发生 C-S 键

断裂后丢失 1 个 SO 中性碎片后产生的 $[C_6H_6NO]^+$, 该离子再进一步裂解而产生了 $[C_5H_5]^+$; 碎片离子 m/z 92 是磺胺嘧啶母离子发生 S-N 键断裂后, 正电荷保留在含 N 端产生的 $[C_4H_6N_3]^+$; 碎片离子 m/z 185

是由母离子发生 S-N 键和 C-S 键同时断裂后, 失去 HSO_2 , 发生偶氮反应形成的 $[C_{10}H_9N_4]^+$ 。推测裂解途径如下(图 2)。

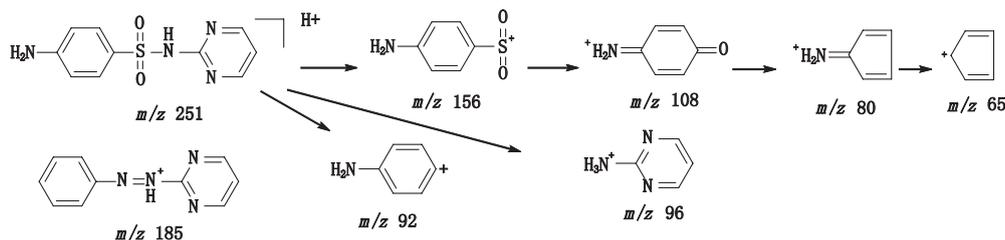


图 2 磺胺嘧啶可能裂解途径

Fig. 2 Possible fragmentation pathway of sulfadiazine

有关物质 1 的 $[M+H]^+$ 准分子离子峰为 m/z 294, 碎片离子中有与磺胺嘧啶一样的 m/z 185、 m/z 108、 m/z 96、 m/z 92、 m/z 80、 m/z 65, 说明其基本母核与磺胺嘧啶一致。有关物质 1 的质量比磺胺嘧啶多 43, 推测其结构中引入了 CH_2NO 。碎片离子中有 m/z 96 但是没有 m/z 156, 说明取代基不在嘧啶环上而是在苯环上; 同时碎片离子 m/z 199 比 m/z 156 多出了 43,

也可以说明了取代基在苯环上。碎片离子 m/z 199 是由母离子发生 S-N 键断裂后, 正电荷保留在含 S 端而形成的 $[C_7H_7N_2SO_3]^+$; 碎片离子 m/z 151 是由离子 $[C_7H_7N_2SO_3]^+$ 进一步发生 C-S 键断裂后丢失 1 个 SO 中性碎片后产生的 $[C_7H_7N_2O_2]^+$, 该离子又进一步发生 C-N 键断裂得到 m/z 108。因此, 推测其质谱裂解途径见图 3。

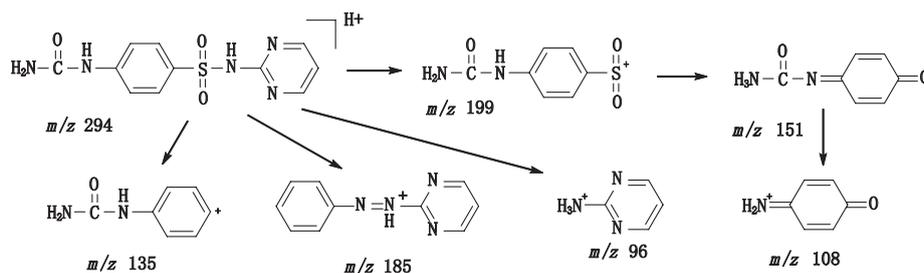


图 3 有关物质 1 可能裂解途径

Fig. 3 Possible fragmentation pathway of related substance 1

有关物质 2 的 $[M+H]^+$ 准分子离子峰为 m/z 215, 即为 $C_7H_{11}N_4O_2S^+$, 推测其分子质量为 214, 经二级全扫描获得碎片离子仅有上述的 5 个共有特征离子: m/z 156、 m/z 108、 m/z 92、 m/z 80、 m/z 65, 没有碎片离子 m/z 96, 说明该物质结构中没有 2-氨基嘧啶。

通过与杂质对照比较发现, 有关物质 2 的碎片离子、保留时间和 DAD 紫外光谱图均与杂质 C 一致, 因此可确证有关物质 2 为杂质 C (磺胺脒)。推测其结构式及可能的质谱裂解途径见图 4。

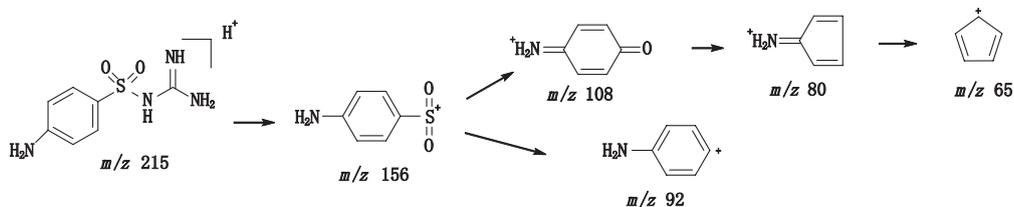


图 4 有关物质 2 可能裂解途径

Fig. 4 Possible fragmentation pathway of related substance 2

有关物质 3 的 $[M+H]^+$ 准分子离子峰为 m/z 173, 即为 $C_6H_9N_2O_2S^+$, 推测其分子质量为 172。其分子式比磺胺嘧啶少 $C_4H_2N_2$, 说明其结构可能少了 1 个嘧啶基, 而二级质谱的碎片离子中没有 m/z 96, 也说明其结构中没有 2-氨基嘧啶。碎片离子中发现有

m/z 156, 说明其结构含有对氨基苯磺酸的基本结构, 因此推测其结构式及可能的质谱裂解途径见图 5。通过与杂质对照比较发现, 有关物质 3 的碎片离子、保留时间和 DAD 紫外光谱图均与杂质 D 一致, 因此可确证有关物质 3 为杂质 D (4-氨基-苯磺酰胺)。

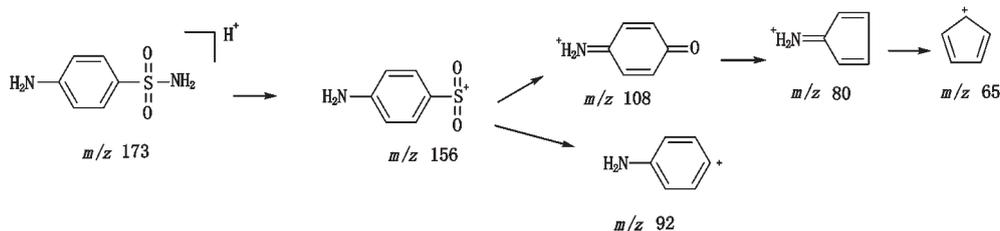


图 5 有关物质 3 可能裂解途径

Fig. 5 Possible fragmentation pathway of related substance 3

有关物质 4 的 $[M+H]^+$ 准分子离子峰为 m/z 413, m/z 435 为有关物质 4 的 $[M+Na]^+$ 峰, 推测其分子质量为 412。碎片离子中有 m/z 156 和 m/z 96, 说明其结构中均含有对氨基苯磺酸和 2-氨基嘧啶的结构。碎片离子 m/z 198 和 m/z 134 反应了取代基的信息, 推测其苯氨基上连有乙酰基; 碎片离子 m/z 318

是由母离子丢失一分子的氨基嘧啶产生, 该离子又同时发生 S-N 键和 C-S 键断裂后, 失去 SO_2 , 发生偶氮反应形成 m/z 254; 碎片离子 m/z 318 分子式比磺胺嘧啶多了 C_3H_2NO , 表明有关物质 4 不仅比磺胺嘧啶多了 1 个氨基嘧啶, 还多了 C_3H_2NO , 其中还包含有乙酰基。推测其结构式及质谱裂解途径见图 6。

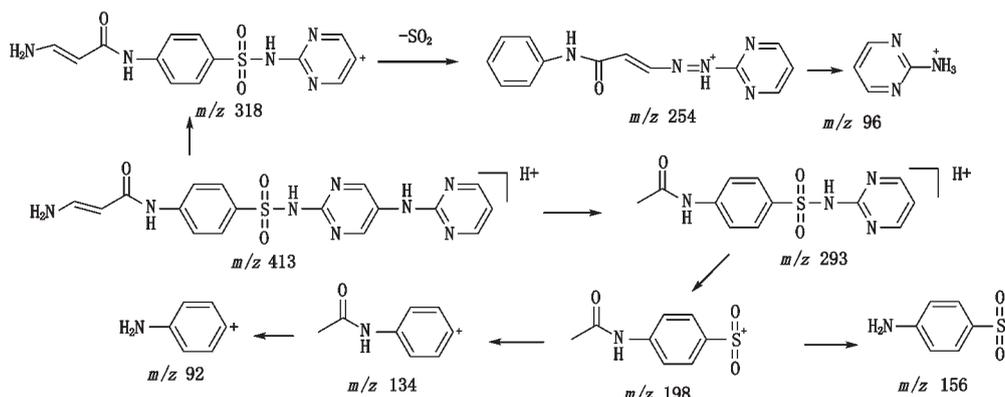


图 6 有关物质 4 可能裂解途径

Fig. 6 Possible fragmentation pathway of related substance 4

有关物质 5 的准分子离子峰为 m/z 295, 推测为 $[M+H]^+$ 峰, 而 m/z 312 推测为 $[M+NH_4]^+$ 峰, 推测其分子质量为 294。有关物质 5 的质量比磺胺嘧啶多 44, 推测其结构中可能引入了 C_2H_4O 。碎片离子中有 m/z 96, 说明含有 2-氨基嘧啶结构, 但是没有 m/z 156 碎片离子, 说明结构中可能没有对氨基苯磺酸的基本结构, 或者是对氨基苯磺酸的结构上可能有其他取代基; 碎片离子 m/z 172 和 m/z 124, 证明对氨基苯磺酸的结构上有羟基取代。 m/z 265 是由母离子失去 1 分子乙基得到, 再进一

步发生 S-N 键和 C-S 键断裂后, 失去 SO_2 , 发生偶氮反应形成 m/z 201, 因此推测其质谱裂解途径见图 7。

有关物质 6 的 $[M+H]^+$ 准分子离子峰为 m/z 96, 即为 $C_4H_6N_3^+$, 推测其相对分子质量为 95。经二级全扫描获得碎片离子有 m/z 79、 m/z 69、 m/z 53, 推测其结构式及质谱裂解途径见图 8。通过与杂质对照比较发现, 有关物质 6 的碎片离子、保留时间和 DAD 紫外光谱图均与杂质 A 一致, 可确证有关物质 6 为杂质 A (2-氨基嘧啶)。

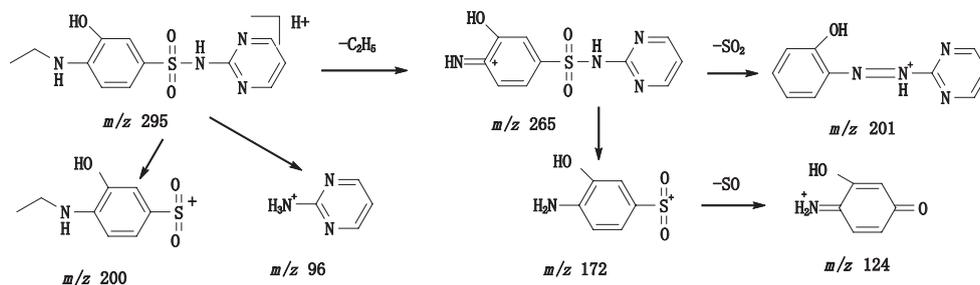


图7 有关物质5可能裂解途径

Fig. 7 Possible fragmentation pathway of related substance 5

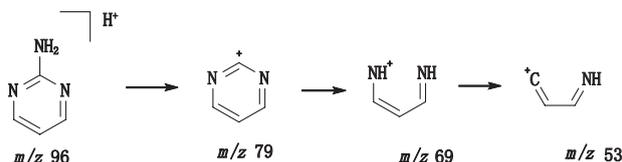


图8 有关物质6可能裂解途径

Fig. 8 Possible fragmentation pathway of peak related substance 6

有关物质7的[M+H]⁺准分子离子为m/z 267, 即为C₁₀H₁₁N₄O₃S⁺, 其质量比磺胺嘧啶多了16, 说

明该结构比磺胺嘧啶多了1个OH的取代基。碎片离子有m/z 156, 说明母离子有对氨基苯磺酰的结构, 没有m/z 96, 说明母离子没有2-氨基嘧啶的结构或者是嘧啶基上有其他取代基, 而碎片离子m/z 112可推测为2-氨基嘧啶基增加了1个OH。推测有关物质7的结构式及质谱裂解途径见图9。

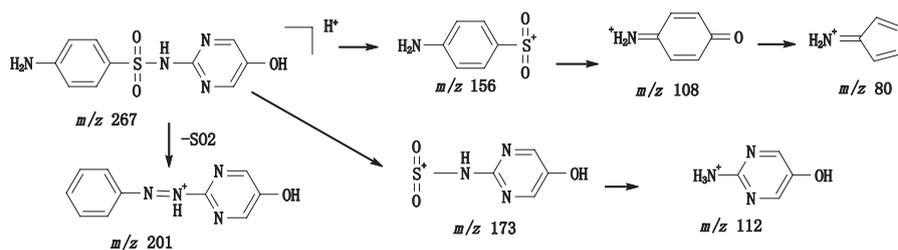


图9 有关物质7可能裂解途径

Fig. 9 Possible fragmentation pathway of related substance 7

有关物质8的[M+H]⁺准分子离子峰为m/z 500, m/z 522为[M+Na]⁺峰, 推测其分子质量为499, 即为C₁₉H₁₈N₉O₄S₂⁺。由碎片离子m/z 266和m/z 186推测可知, 有关物质8的结构由2个嘧啶基和1个甲基构成, 且通过碎片离子m/z 94可推测其含有苯胺基。碎片离子中没有磺胺嘧啶的特征碎片m/z 185, 说明其结构中没有与

磺胺嘧啶完全一致的结构。母离子失去1个2-氨基嘧啶得到碎片离子m/z 405, 或是发生S-N断裂后再丢失1个SO中性碎片得到m/z 357; 碎片离子m/z 341是由母离子丢失1个氨基嘧啶和1个SO₂中性碎片得到; 碎片离子m/z 186是由m/z 250失去1个SO₂中性碎片得到。推测其结构式及质谱裂解途径见图10。

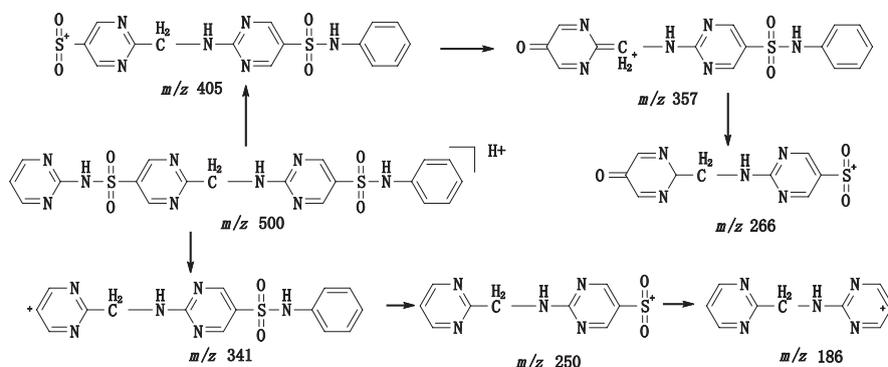


图10 有关物质8可能裂解途径

Fig. 10 Possible fragmentation pathway of related substance 8

有关物质 9 的 $[M+H]^+$ 准分子离子峰为 m/z 285, m/z 307 为 $[M+Na]^+$ 峰, 推测其分子质量为 284, 其质量比磺胺嘧啶多了 34, 说明该结构可能比磺胺嘧啶多了 1 个 Cl 的取代基。碎片离子中没有发现 m/z 156、 m/z 108 和 m/z 80, 说明 4-氨基苯磺酸的苯环上可能有取代基。碎片离子 m/z 189 比

m/z 156 正好也多出 34, 因此可推断出 Cl 取代在苯环上。母离子发生 S-N 断裂, 得到子离子 m/z 189 和 m/z 95; m/z 189 发生 S-N 断裂后丢失 1 个 SO 中性碎片得到 m/z 142, 或是丢失 1 个 SO₂ 中性碎片得到 m/z 126。推测其结构式及质谱裂解途径见图 11。

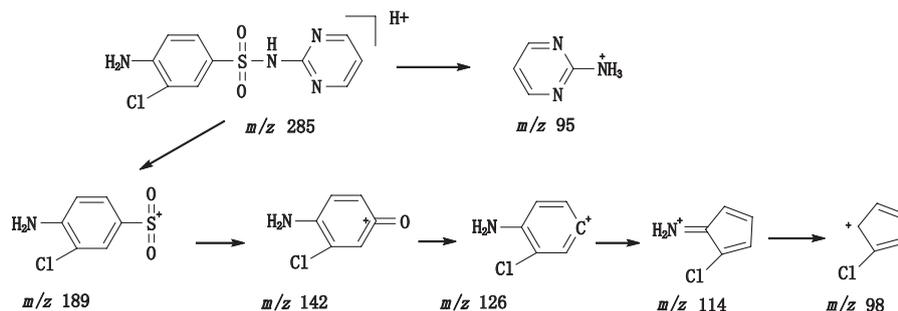


图 11 有关物质 9 可能裂解途径

Fig. 11 Possible fragmentation pathway of related substance 9

有关物质 10 的 $[M+H]^+$ 准分子离子峰为 m/z 251, 其 6 个碎片离子均与磺胺嘧啶相同, 推测有关物质 10 为磺胺嘧啶的同分异构体。

有关物质 11 的 $[M+H]^+$ 准分子离子峰为 m/z 281, 即为 C₁₀H₉N₄O₄S⁺, 其分子式比磺胺嘧啶多了 2

个 O, 说明在苯环的 4 位上可能是硝基取代基而不是氨基, 而碎片离子中没有 m/z 156、 m/z 108、 m/z 80, 也正好说明了苯环上有其他取代基。母离子丢失 1 个 SO₂ 中性碎片得到 m/z 217, 丢失 1 个硝基得到 m/z 234, 推测其结构式及质谱裂解途径见图 12。

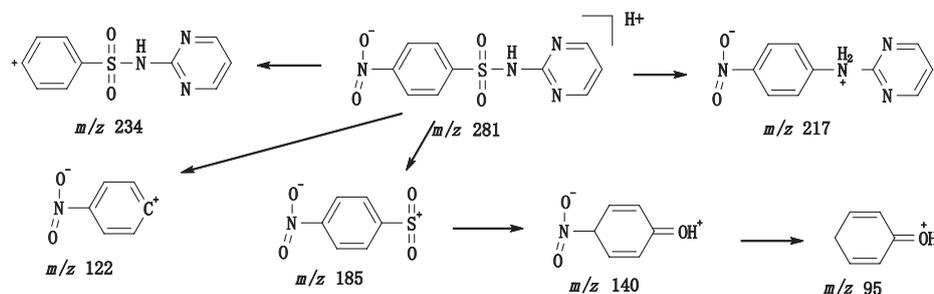


图 12 有关物质 11 可能裂解途径

Fig. 12 Possible fragmentation pathway of related substance 11

有关物质 12 的 $[M+H]^+$ 准分子离子峰为 m/z 484, m/z 506 为 $[M+Na]^+$ 峰, 推测其分子质量为 483。母离子失去 1 个氨基嘧啶 (m/z 95) 得到碎片离子 m/z 389, 再失去 1 个 SO₂ 中性碎片得到 m/z 325。离子 m/z 325 为 C₁₆H₁₃N₄O₄S⁺, 可推测其结构比磺胺嘧啶多了一个苯环。碎片离子中没有离子 m/z 156, 说明其苯环上有其他取代基或者是氨基有

取代基。碎片离子 m/z 261 是由离子 m/z 325 失去 1 个 SO₂ 中性碎片产生, 再发生 C-N 键断裂, 丢失 1 个氨基嘧啶得到 m/z 168。碎片离子 m/z 389 丢失 1 个 SO 中型碎片得到 m/z 341, 再发生 S-N 键断裂, 正电荷保留在含 S 端而产生 m/z 246。推测其结构式及质谱裂解途径见图 13。

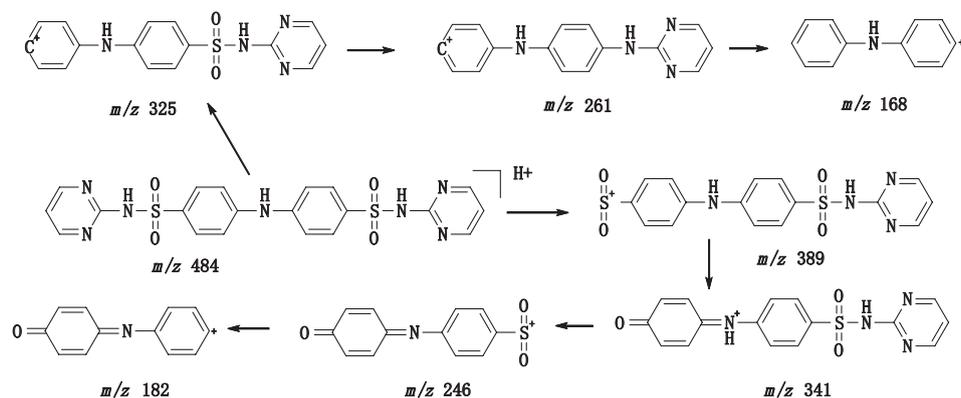


图 13 有关物质 12 可能裂解途径

Fig. 13 Possible fragmentation pathway of related substance 12

4 讨论

传统药物中的杂质结构鉴定,需要通过制备色谱分离纯化得到杂质单体,当杂质含量低时,制备就变得很困难^[8]。近年来,通过液相色谱-四极杆飞行时间质谱联用法鉴定药物中杂质的研究也越来越多^[9-15],由于能获得分子离子和碎片离子的准确质量数,使得杂质的结构解析相对比较容易。通过分析碎片离子可知, m/z 156、 m/z 108、 m/z 92、 m/z 80、 m/z 65 这 5 个碎片离子均为磺胺类药物裂解途径中最常见的碎片,有关物质 2、3、4、7、8、10 和磺胺嘧啶均检测出以上 5 个特征的碎片离子。

本试验采用 UPLC-QTOF-MS 技术对磺胺嘧啶原料中 12 个有关物质进行了结构解析,其中 3 个(有关物质 2、3、6)为已知杂质,另外 9 个为未知杂质,均未曾有文献报道。

在上述实验条件下,对 3 个批次的磺胺嘧啶供试品进行杂质检测,均未检出 BP2017 中提出的杂质 A、B、C、D、E,均检出有关物质 8、9、10;以自身对照法计算杂质含量,结果见表 2。样品经氧化破坏后检出杂质 A 与 C,经酸破坏与光破坏后检出杂质 D。因此杂质 A、C、D 可归属于降解杂质。实验表明磺胺嘧啶在碱性条件下较为稳定,在光照条件下容易降解,提示样品应避免光保存。

本方法快速简便,获得了 12 个杂质的结构信息,为今后的磺胺嘧啶原料药有关物质检查和定向合成杂质对照品奠定基础,并为磺胺嘧啶的有关物质研究及杂质控制提供了有意义的实验数据和参考依据。

表 2 磺胺嘧啶原料中杂质含量测定结果 (%)

Tab. 2 The content results of the related substances in sulfadiazine

有关物质编号 (No. of related substance)	归属 (impurity assignment)	批号 (lot No.)		
		170206	170511	170708
1	未知杂质 (unknown impurity)	0	0	0
2	杂质 C (impurity C)	0	0	0
3	杂质 D (impurity D)	0	0	0
4	未知杂质 (unknown impurity)	0	0	0
5	未知杂质 (unknown impurity)	0	0	0
6	杂质 A (impurity A)	0	0	0
7	未知杂质 (unknown impurity)	0	0	0
8	未知杂质 (unknown impurity)	0.011	0.015	0.014
9	未知杂质 (unknown impurity)	0.035	0.042	0.041
10	未知杂质 (unknown impurity)	0.055	0.051	0.067
11	未知杂质 (unknown impurity)	0	0	0
12	未知杂质 (unknown impurity)	0	0	0

参考文献

- [1] 杨红艳,周中流,周晓平,等. 磺胺嘧啶固体分散体的制备及性能研究[J]. 中国药理学杂志, 2017, 52(9): 750
YANG HY, ZHOU ZL, ZHOU X P, *et al.* Preparation and properties of sulfadiazine solid dispersion[J]. *Chin Pharm J*, 2017, 52(9): 750
- [2] 王镜岩,朱圣庚,徐长法. 生物化学(第三版上册)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002: 6
WANG JY, ZHU SG, XU CF. *Biochemistry*(third edition, volume I)[M]. Beijing: Higher Education Press, 2002: 6
- [3] 高峰莲,汪颖,曾瑜,等. 氯苯法合成磺胺新工艺研究[J]. 化工生产与技术, 2002, 9(2): 4
GAO FL, WANG Y, ZENG Y, *et al.* New process study on sulfanilamide synthesis by chlorobenzene[J]. *Chem Prod Technol*, 2002, 9(2): 4
- [4] ZHANG X. Mechanism of SO₂ elimination from the aromatic sulfonamide anions: A theoretical study[J]. *Comput Theor Chem*, 2012, 991: 74
- [5] HIBBS IA, JARIWALA FB, WEISBECKER CS, *et al.* Gas-phase fragmentation of anions derived from *N*-phenyl benzenesulfonamides[J]. *J AM Soc Mass Spectrom*, 2013, 24: 1280
- [6] 王敏,张海燕,杨金良,等. 磺胺类药物电喷雾质谱高能裂解规律[J]. 温州医学院学报, 2013, 43(10): 642
WANG M, ZHANG HY, YANG JL, *et al.* Research on fragmentation pathways of sulfonamide by ESI high energy collision induced dissociation technique[J]. *J Wenzhou Med Coll*, 2013, 43(10): 642
- [7] 刘鑫,李小林,王琳,等. 磺胺类药物 HCD 高能裂解与 CID 裂解的差异性研究[J]. 分析仪器, 2018(2): 95
LIU X, LI XL, WANG L, *et al.* Study on the differences between HCD and CID of sulfonamide[J]. *Anal Instrum*, 2018(2): 95
- [8] 杨伟峰,潘芳芳,朱培曦,等. 液相色谱-四极杆飞行时间质谱联用法鉴定注射用盐酸吉西他滨中的未知杂质[J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(9): 739
YANG WF, PAN FF, ZHU PX, *et al.* Identification of major impurity in gemcitabine hydrochloride for injection by HPLC-QTOF[J]. *Chin Pharm J*, 2013, 48(9): 739
- [9] 黄朝瑜,陈民辉,蔡梅,等. 二维液相-离子阱-飞行时间质谱法对咪达唑仑注射液中有关注物质的初探与结构解析[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(4): 688
HUANG CY, CHEN MH, CAI M, *et al.* Preliminary exploration and structure identification of related substances of midazolam injection by 2D-LC-IT-TOF/MS[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2017, 37(4): 688
- [10] 李丹凤,颜其双,邓鸣,等. 盐酸头孢他美酯分散片有关物质的色谱-质谱结构鉴定[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(3): 451
LI DF, YAN QS, DENG M, *et al.* Separation and identification of related substances in cefetametpivoxilhydrochloride dispersible tablets by LC-MS method[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2017, 37(3): 451
- [11] 马晓宁,梁晟,蒋涛,等. 酒石酸唑吡坦片中杂质的色谱-质谱结构鉴定[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(6): 1087
MA XN, LIANG S, JIANG T, *et al.* Separation and identification of unknown impurities in zolpidem tartrate tablets by LC-MS method[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2017, 37(6): 1087
- [12] 缪文玲,侯玉荣,孙晶,等. 阿莫西林克拉维酸钾片的杂质谱研究[J]. 中国药理学杂志, 2017, 52(24): 2202
LIAO WL, HOU YR, SUN J, *et al.* Analysis of impurity profile of amoxicillin and clavulanate potassium tablets[J]. *Chin Pharm J*, 2017, 52(24): 2202
- [13] 李秀琴,符惠,张庆合,等. 超高效液相色谱-高分辨飞行时间质谱鉴定四环素杂质及纯度标准物质的研制[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(11): 1982
LI XQ, FU H, ZHANG QH, *et al.* Development of purity reference material of tetracycline and identification of impurities by high resolution time of flight mass spectrometry[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2015, 35(11): 1982
- [14] 徐明明,尹红锐,邵泓,等. 在线二维液相色谱-四极杆飞行时间质谱法检测二丁酰环磷腺苷钙的杂质谱[J]. 中国医药工业杂志, 2018, 49(7): 981
XU MM, YIN HR, SHAO H, *et al.* Impurity profile of calcium dibutyryl adenosine cyclophosphate by 2D-LC-Q-TOF MS[J]. *Chin J Pharm*, 2018, 49(7): 981
- [15] 潘芳芳,朱培曦,黄巧巧,等. 液相色谱-四极杆飞行时间质谱法分析头孢拉定中的主要杂质[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(1): 133, 145
PAN FF, ZHU PX, HUANG QQ, *et al.* HPLC-Q-TOF-MS identification of major impurities in cefradine[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2013, 33(1): 133, 145

(本文于 2019 年 9 月 18 日修改回)