

安全监测

盐酸头孢他美酯分散片有关物质的色谱-质谱结构鉴定

李丹凤¹, 颜其双, 邓鸣, 朱健萍*

(广西壮族自治区食品药品检验所, 南宁 530021)

摘要 目的: 采用液相色谱-飞行时间质谱法对盐酸头孢他美酯分散片中有关物质进行结构鉴定。方法: 采用 HPLC 梯度洗脱方法对有关物质进行测定, 色谱柱为 C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 A 为 0.005 mol · L⁻¹ 四丁基氢氧化铵溶液 (用磷酸调节 pH 至 4.5), 流动相 B 为乙腈, 梯度洗脱, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长为 232 nm; 采用液相色谱-飞行时间质谱技术对未知杂质进行鉴定, 色谱柱为 C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 2.7 μm), 流动相 A 为 10 mmol · L⁻¹ 醋酸铵溶液, 流动相 B 为甲醇-乙腈 (50:50), 梯度洗脱, 流速 0.2 mL · min⁻¹, 采用正离子扫描 (ESI⁺) 方式, 在 m/z 100~1 200 范围内进行质谱扫描。结果: 头孢他美酯与其有关物质能较好地分离, 检测出 10 个有关物质, I: (6R, 7R)-3- 苯乙烯基-7-[(Z)-2-(2-特戊酰氨基-4-噻唑基)-2-(甲氧亚氨基)乙酰氨基]-8-氧代-5-硫杂-1-氮杂双环[4, 2, 0]辛-2-稀-2-甲酸新戊酰氧甲酯; II: (6R, 7R)-3- 甲基-7-[(Z)-2-(2-氨基-4-噻唑基)-2-(甲氧亚氨基)乙酰氨基]-8-氧代-5-硫杂-1-氮杂双环[4, 2, 0]辛-2-稀-2-羧酸; III: (6R, 7R)-3- 甲基-7-[(Z)-2-(2-特戊酰氨基-4-噻唑基)-2-(甲氧亚氨基)乙酰氨基]-8-氧代-5-硫杂-1-氮杂双环[4, 2, 0]辛-2-稀-2-羧酸; IV: (6R, 7R)-3- 甲基-7-[(Z)-2-(2-羟甲基氨基-4-噻唑基)-2-(甲氧亚氨基)乙酰氨基]-8-氧代-5-硫杂-1-氮杂双环[4, 2, 0]辛-2-稀-2-甲酸新戊酰氧甲酯; V: (6R, 7S)-3- 甲基-7-[(Z)-2-(2-氨基-4-噻唑基)-2-(甲氧亚氨基)乙酰氨基]-8-氧代-5-硫杂-1-氮杂双环[4, 2, 0]辛-2-稀-2-甲酸新戊酰氧甲酯; VI: (6R, 7R)-3- 甲基-7-[(Z)-2-[2-(2-氨基-4-噻唑基)-2-(甲氧亚氨基)乙酰氨基]-2-(甲氧亚氨基)乙酰氨基]-8-氧代-5-硫杂-1-氮杂双环[4, 2, 0]辛-2-稀-2-甲酸新戊酰氧甲酯; VII: (6R, 7R)-3- 甲基-7-[(Z)-2-[2-(2-氨基-4-噻唑基)-2-(甲氧亚氨基)乙酰氨基]-2-(甲氧亚氨基)乙酰氨基]-8-氧代-5-硫杂-1-氮杂双环[4, 2, 0]辛-2-稀-2-甲酸新戊酰氧甲酯; VIII: (6R, 7R)-3- 甲基-7-[(Z)-2-(2-特戊酰氨基-4-噻唑基)-2-(甲氧亚氨基)乙酰氨基]-8-氧代-5-硫杂-1-氮杂双环[4, 2, 0]辛-2-稀-2-甲酸新戊酰氧甲酯; IX、X: ((6S, 7S)-3- 甲基-7-((Z)-2-(甲氧亚氨基)-2-(2-(((4-((Z)-1-(甲氧亚氨基)-2-(6R, 7R)-3- 甲基-8-氧代-2-((新戊酰氧基)甲氧基)羧基)-5-硫杂-1-氮杂双环[4.2.0]辛-2-烯-7-基)氨基)-2-氧代乙基)-2-噻唑基)氨基)甲基)氨基)-4-噻唑基)乙酰氨基)-8-氧代-5-硫杂-1-氮杂双环[4.2.0]辛-2-烯-2-羧酸, 它们都具有头孢菌素的基本母核 7-氨基去乙酰氧基头孢烷酸 (7-ADCA), 其中有关物质 I、III、VI 尚未见文献报道。结论: 色谱-质谱联用技术能有效地鉴定盐酸头孢他美酯分散片中有关物质, 为其生产工艺和质量控制提供参考依据。

关键词: 盐酸头孢他美酯; 头孢菌素; 分散片; 有关物质; 飞行时间质谱; 杂质裂解途径; 结构鉴定

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793 (2017) 03-0451-10

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.03.13

* 通信作者 Tel: (0771) 5828448; E-mail: 22701650@qq.com
第一作者 Tel: (0771) 5828448; E-mail: lidanfeng0771@126.com

Separation and identification of related substances in cefetamet pivoxil hydrochloride dispersible tablets by LC-MS method

LI Dan-feng, YAN Qi-shuang, DENG Ming, ZHU Jian-ping*

(Guangxi Zhuang Autonomous Region Institute for Food and Drug Control, Nanning 530021, China)

Abstract Objective: Separation and identification of the related substances in cefetamet pivoxil hydrochloride by high performance liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry (HPLC-TOF/MS). **Methods:** To establish an HPLC-gradient elution method for the determination of related substances in cefetamet pivoxil hydrochloride dispersible tablets, use a C_{18} (4.6 mm × 250 mm, 5 μ m) column, with the mobile phase A of 0.005 mol · L⁻¹ tetrabutyl ammonium hydroxide solution (adjusted with phosphoric acid to a pH of 4.5) and the mobile phase B of acetonitrile by gradient elution programme, and with a flow rate of 1.0 mL · min⁻¹, at the detection wavelength of 232 nm; An HPLC-TOF/MS system (C_{18} , 2.1 mm × 100 mm, 2.7 μ m) was performed by gradient elution programme with the mobile phase A of 10 mmol · L⁻¹ ammonium acetate and the mobile phase B of methanol-acetonitrile (50:50) at a flow rate of 0.2 mL · min⁻¹. The analysis was run with electric spray interface under the positive ion mode within the mass range of m/z 100–1 200. **Results:** Each pair of adjacent peaks due to cefetamet pivoxil and individual impurities can be well separated by using established HPLC-gradient elution method. Ten related substances of cefetamet pivoxil hydrochloride containing with cephalosporin mother nucleus (7-ADCA) were detected, three of them had been reported previously. I: (pivaloyloxy)methyl (6*R*, 7*R*)-7-((*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido)-8-oxo-3-methyl-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate; II: (6*R*, 7*R*)-7-((*Z*)-2-(methoxyimino)-2-(2-pivalamidothiazol-4-yl)acetamido)-8-oxo-3-((*Z*)-styryl)-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate; III: (6*R*, 7*R*)-7-((*Z*)-2-(methoxyimino)-2-(2-pivalamidothiazol-4-yl)acetamido)-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid; IV: (6*R*, 7*R*)-7-((*Z*)-2-(2-((hydroxymethyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido)-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate; V: (6*R*, 7*S*)-7-((*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido)-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate; VI: (6*R*, 7*R*)-7-((*Z*)-2-(methoxyimino)-2-(2-((*Z*)-2-(methoxyimino)-2-(2-(methylamino)thiazol-4-yl)acetamido)thiazol-4-yl)acetamido)-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate; VII: (6*R*, 7*R*)-7-((*Z*)-2-(2-((*E*)-2-(2-aminothiazol-5-yl)-2-(methoxyimino)acetamido)thiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido)-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate; VIII: (6*R*, 7*R*)-7-((*Z*)-2-(methoxyimino)-2-(2-pivalamidothiazol-4-yl)acetamido)-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate; IX and X: (6*S*, 7*S*)-7-((*Z*)-2-(methoxyimino)-2-(2-(((4-((*Z*)-1-(methoxyimino)-2-(((6*R*, 7*R*)-3-methyl-8-oxo-2-(((pivaloyloxy)methoxy)carbonyl)-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-yl)amino)-2-oxoethyl)thiazol-2-yl)amino)methyl)amino)thiazol-4-yl)acetamido)-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate; **Conclusion:** The hyphenated LC-MS method is useful for the identification of related substances in cefetamet pivoxil hydrochloride dispersible tablets. The results obtained are referential experiences for the optimization of manufacturing process and quality control.

Keywords: cefetamet pivoxil hydrochloride; cephalosporin; dispersible tablets; related substances; TOF/MS; fragmentation pathway of impurity; structural identification

盐酸头孢他美酯(图1)为第3代口服头孢菌素,对大多数革兰氏阳性和阴性菌均有较好的抗菌活性。该药为头孢他美酯化物,口服后经肠壁脂酶水解成有活性的头孢他美^[1-2]。头孢他美对链球菌、淋球菌、黏膜布兰球菌、流感嗜血杆菌、大肠杆菌、肺炎杆菌及变形杆菌均有较好抗菌作用,对多种 β -内酰胺酶稳定^[3]。盐酸头孢他美酯及片剂、胶囊剂、干混悬剂均收载于中国药典2015年版(ChP 2015)^[4],而盐酸头孢他美酯分散片现行标准为局颁标准(YBH05022010、YBH05552008)^[5-6]。其标准中有关物质检查方法均采用HPLC法,但在流动相组成、检测波长等方面均有较大的差异。盐酸头孢他美酯为2013年国家评价性抽验品种,试验中发现,盐酸头孢他美酯分散片不合格样品的不合格项目为有关物质检查,因此本文在已有标准的基础上建立了新的HPLC法,检测出了10个有关物质,并通过质谱联用技术对有关物质进行结构鉴定,可为盐酸头孢他美酯分散片的生产工艺和质量控制提供参考依据。

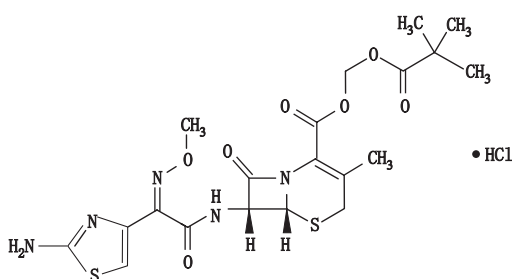


图1 盐酸头孢他美酯结构图

Fig. 1 The structure of cefetamet pivoxil hydrochloride

1 仪器与试剂

Waters 2695 高效液相色谱仪, 2998 二极管阵列检测器; Waters XEVO G2 Q-TOF 液相质谱联用仪; 资生堂 CAPCELL PAK C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱; 菲罗门 CAPCELL CORE C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 2.7 μm) 色谱柱; XD205DU 电子天平(梅特勒公司, 0.1 mg)。

头孢他美酯对照品(中国食品药品检定研究院; 批号: 130512-201202; 按头孢他美计含量为 70.2%); 头孢他美酸(自制: 将 AE 活性酯与 7-ADCA 反应缩合而成; 批号: 130827; 面积归一化法测定含量大于 97.0%); 盐酸头孢他美酯原料(浙江普洛康裕制药有限公司; 批

号: KY-CE-M20121105); 盐酸头孢他美酯分散片(山东罗欣药业股份有限公司, 样品①批号 6122022014、样品②批号 612122007、样品③批号 613052022, 规格以头孢他美计为 90.65 mg · 片⁻¹; 成都倍特药业有限公司, 样品④批号 150501、样品⑤批号 150706、样品⑥批号 150902, 规格以头孢他美计为 181.3 mg · 片⁻¹)。甲醇、乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 实验方法

2.1 HPLC-UV 测定

采用资生堂 CAPCELL PAK C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 以 0.005 mol · L⁻¹ 四丁基氢氧化铵溶液(用磷酸调节 pH 至 4.5) 为流动相 A, 乙腈为流动相 B, 梯度洗脱(0 min, 70%A; 10 min, 70%A; 40 min, 35%A; 50 min, 35%A; 51 min, 70%A; 60 min, 70%A), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 232 nm, 进样量 10 μL。

2.2 LC-TOF/MS 测定

采用资生堂 CAPCELL CORE C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 2.7 μm) 色谱柱, 以 10 mmol · L⁻¹ 醋酸铵溶液为流动相 A, 甲醇-乙腈(50:50) 为流动相 B, 梯度洗脱(0 min, 80%A; 3 min, 80%A; 22 min, 30%A; 45 min, 30%A; 46 min, 80%A; 60 min, 80%A), 流速 0.2 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C, 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* 100~1 200, 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。

2.3 溶液的制备

2.3.1 有关物质供试品溶液 取分散片 10 片, 精密称定, 研细, 精密取细粉适量(约相当于头孢他美 0.1 g), 置 100 mL 量瓶中, 加适量乙腈溶液(9 → 20) 溶解并稀释至刻度, 摇匀, 过滤, 取续滤液, 即得。

2.3.2 有关物质对照溶液 精密量取有关物质供试品溶液 1 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加乙腈溶液(9 → 20) 定容, 摇匀, 即得。

2.3.3 影响因素溶液 取盐酸头孢他美酯分散片分别在高温(60 °C)、高湿(75%, 25 °C) 和光照(4 500 lx) 等条件下放置 10 d 后, 按供试品溶液的配制方法配制相应的溶液即得。

2.3.4 强制降解溶液 取盐酸头孢他美酯分散片粉末适量(约相当于头孢他美 0.1 g)置 100 mL 量瓶中,分别进行强酸(0.1 mol·L⁻¹ 盐酸 1 mL, 60 min)、强碱(0.1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液 1 mL, 30 min)和强氧化(10% 过氧化氢溶液 1 mL, 30 min)破坏,分别进行酸碱中和后再加乙腈溶液(9→20)溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

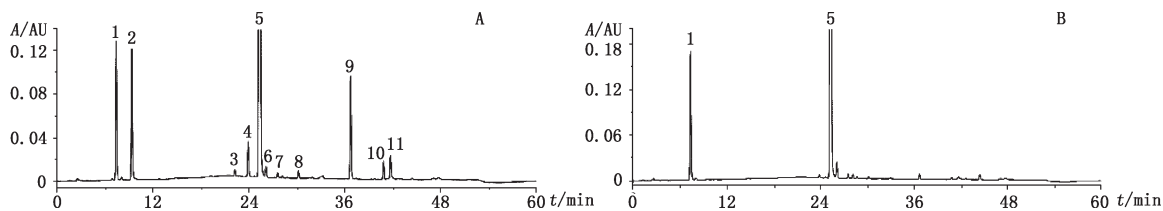
2.3.5 系统适用性溶液 取头孢他美酸和头孢他美酯的对照品适量,加乙腈溶液(9→20)溶解并稀释制成每 1 mL 中约含头孢他美酸 0.05 mg 和含头孢他

美 1.0 mg 的混合溶液,即得。

3 结果与讨论

3.1 HPLC 测定结果

取“2.3”项下的有关物质供试品溶液与系统适用性溶液按“2.1”项下的方法进行测定,得到盐酸头孢他美酯分散片的有关物质典型图谱,分别将各峰按时间顺序以峰 1~11 进行命名,见图 2-A。在系统适用性溶液色谱图(图 2-B)中,头孢他美酯与其相邻杂质峰的分度分别为 4.2、3.6,头孢他美酯与头孢他美酸的分度为 68.8。



1. 头孢他美酸(cefetamet acid) 5. 头孢他美酯(cefetamet pivoxil) 2~4、6~11. 未知杂质(unknown impurities)

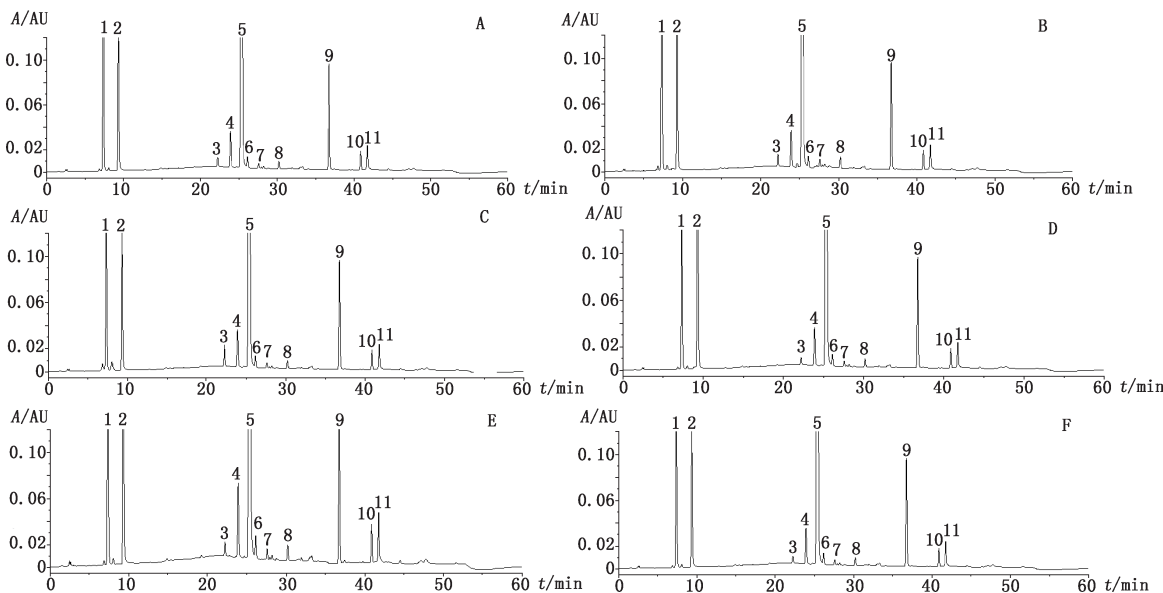
图 2 供试品溶液(A)与系统适用性溶液(B)HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of test solution and system suitability solution

3.2 盐酸头孢他美酯分散片中主要有关物质

在笔者前期研究中发现,头孢他美酯杂质中不仅有工艺杂质,而且也存在有降解杂质^[7]。再综合对比分散片在影响因素和强制降解条件下的 HPLC 图谱(图 3)可发现:在强酸及强碱的条件下,头孢他美

酸(图 2-A 中峰 1)含量明显增大;在光照条件下主要降解产物为峰 2(图 2-A 中峰 2);在强氧化条件下,主要降解产物为峰 3(图 2-A 中峰 3);在高湿条件下,每个杂质的含量均有明显的增大趋势;在高温条件下,杂质含量变化不明显。



1. 头孢他美酸(cefetamet acid) 5. 头孢他美酯(cefetamet pivoxil) 2~4、6~11. 未知杂质(unknown impurity)

A. 酸破坏(acid destruction) B. 碱破坏(base destruction) C. 光照破坏(light destruction) D. 氧化破坏(oxidation destruction) E. 高湿破坏(high humidity destruction) F. 高温破坏(heat destruction)

图 3 盐酸头孢他美酯分散片破坏性试验色谱图

Fig. 3 Chromatograms of cefetamet pivoxil hydrochloride dispersible tablets under stressed conditions

3.3 主要杂质结构的 LC-MS 分析

首先利用一级全扫描质谱得到各有关物质的精确相对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,结合头孢菌素类药物常见的质谱裂解方式^[8-10],参考 β-内酰胺抗生素杂质形成

的常见机理^[11],并参照文献[12]推测其可能的化学结构。在 LC-TOF/MS 条件下提取的样品总离子流图见图 3。通过比较 UV 特征图发现,图 4 中峰 1 为图 2 中的峰 2,图 4 中峰 2 为图 2 中的峰 1,其余峰号均相对应。

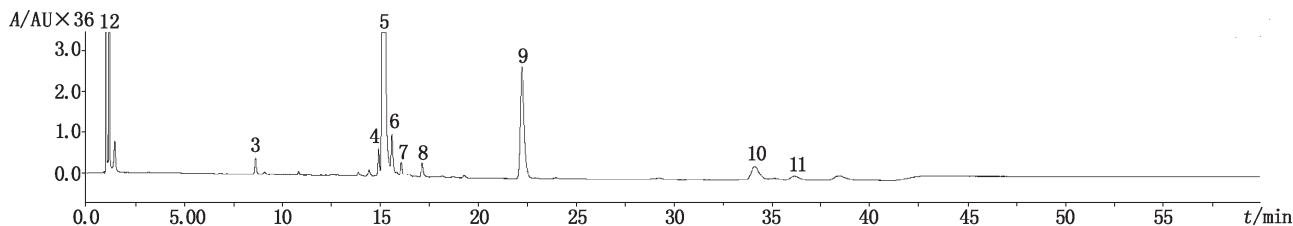


图 4 盐酸头孢他美酯分散片 LC-MS 总离子流图

Fig. 4 LC-MS TIC profile of cefetamet pivoxil hydrochloride dispersible tablets sample

峰 1 经正离子模式分析,其分子离子峰 m/z 702, 为 $[M+NH_4]^+$ 的峰,即为 $C_{32}H_{39}N_6O_8S_2$; m/z 685, 为 $[M+H]^+$ 的峰,即为 $C_{32}H_{39}N_5O_8S_2$,如图 5-A 所示。推

测其相对分子质量为 683,经二级全扫描获得碎片离子有 m/z 360、 m/z 343、 m/z 325,推测其结构式及质谱裂解途径见图 5-B。

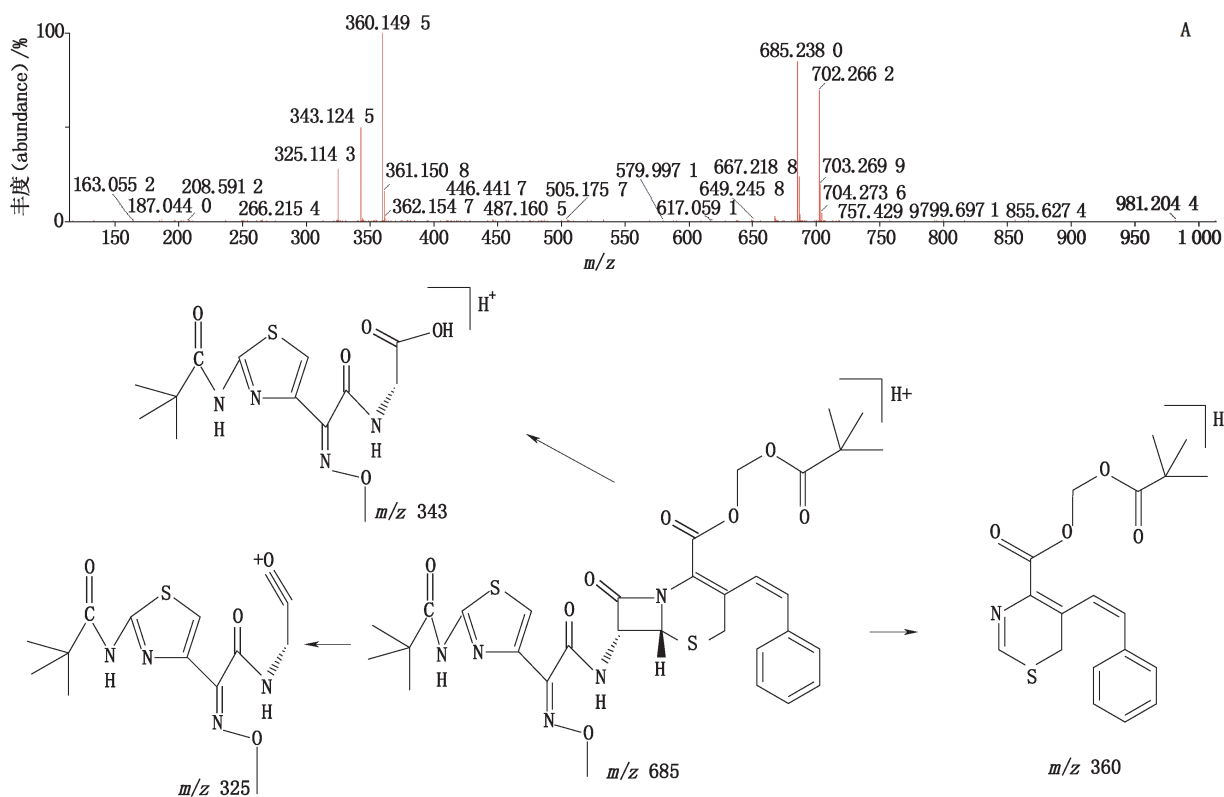


图 5 峰 1 $[M+H]^+$ 二级质谱图 (A) 及可能裂解途径 (B)

Fig. 5 $[M+H]^+$ MS² spectrum (A) and possible fragmentation pathway of peak 1 (B)

峰 2 经正离子模式分析,其分子离子峰 m/z 398, 为 $[M+H]^+$ 的峰,即为 $C_{14}H_{15}N_5O_5S_2$,如图 6-A 所示。推测其相对分子质量为 397,经二级全扫描获得碎片离子有 m/z 241、 m/z 227、 m/z 197,推测其结构式及质

谱裂解途径见图 6-B。取头孢他美酸对照品同法测定。结果显示,头孢他美酸对照品的 MS 一级、二级质谱信息与检出的位置与峰 2 一致,保留时间一致,因此峰 2 归属为头孢他美酸。

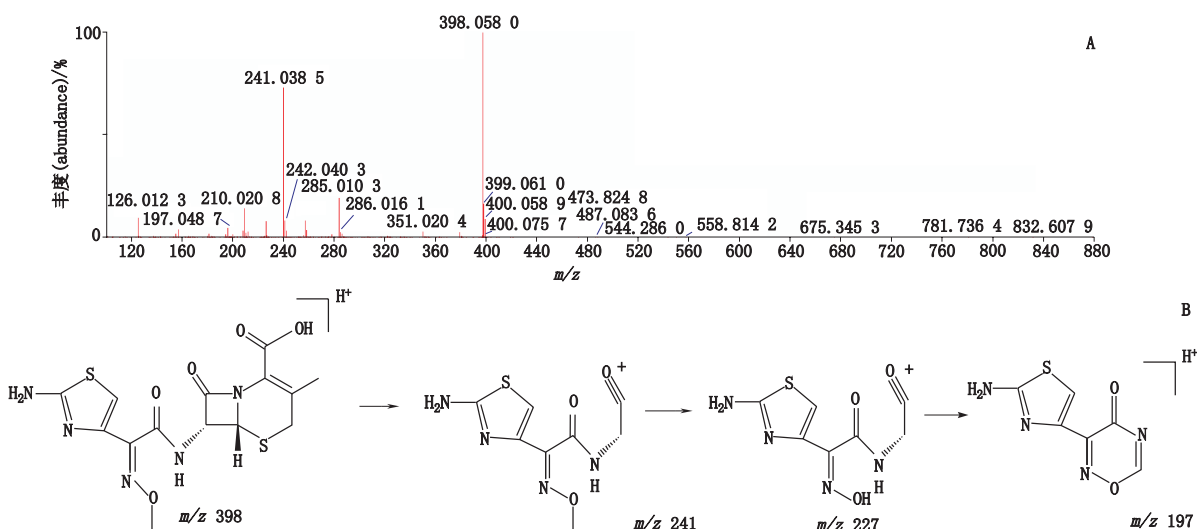


图6 峰2 [M+H]⁺ 二级质谱图 (A) 及可能裂解途径 (B)
 Fig.6 [M+H]⁺ MS² spectrum (A) and possible fragmentation pathway of peak 2 (B)

峰3经正离子模式分析,其分子离子峰 m/z 482, 为 [M+H]⁺ 的峰,即为 C₁₉H₂₄N₅O₆S₂,如图7-A所示。推测其相对分子质量为481,经二级全扫描获得碎片离子有 m/z 398、 m/z 380、 m/z 241,推测其结构式及质谱裂解途径见图7-B。

峰4经正离子模式分析,其分子离子峰 m/z 542, 为 [M+H]⁺ 的峰,即为 C₂₁H₂₈N₅O₈S₂,如图8-A所示。推测其相对分子质量为541,经二级全扫描获得碎片离子有 m/z 524、 m/z 272、 m/z 253,推测其结构式及质谱裂解途径见图8-B。

峰5、6的质谱图信息完全一致,应为同分异构体。经正离子模式分析,其分子离子峰 m/z 512,为 [M+H]⁺

的峰,即为 C₂₀H₂₆N₅O₇S₂,如图9-A所示。推测其相对分子质量为511,经二级全扫描获得碎片离子有 m/z 482、 m/z 398、 m/z 380、 m/z 241,推测其结构式及质谱裂解途径见图9-B。峰5和6的母离子及二级碎片离子均与头孢他美酯对照品相同,推测峰5为头孢他美酯,峰6为头孢他美酯的同分异构体。

峰7经正离子模式分析,其分子离子峰 m/z 708, 为 [M+H]⁺ 的峰,即为 C₂₇H₃₂N₈O₉S₃,如图10-A所示。推测其相对分子质量为707,经二级全扫描获得碎片离子有 m/z 680、 m/z 437、 m/z 241,推测其结构式及质谱裂解途径见图10-B。

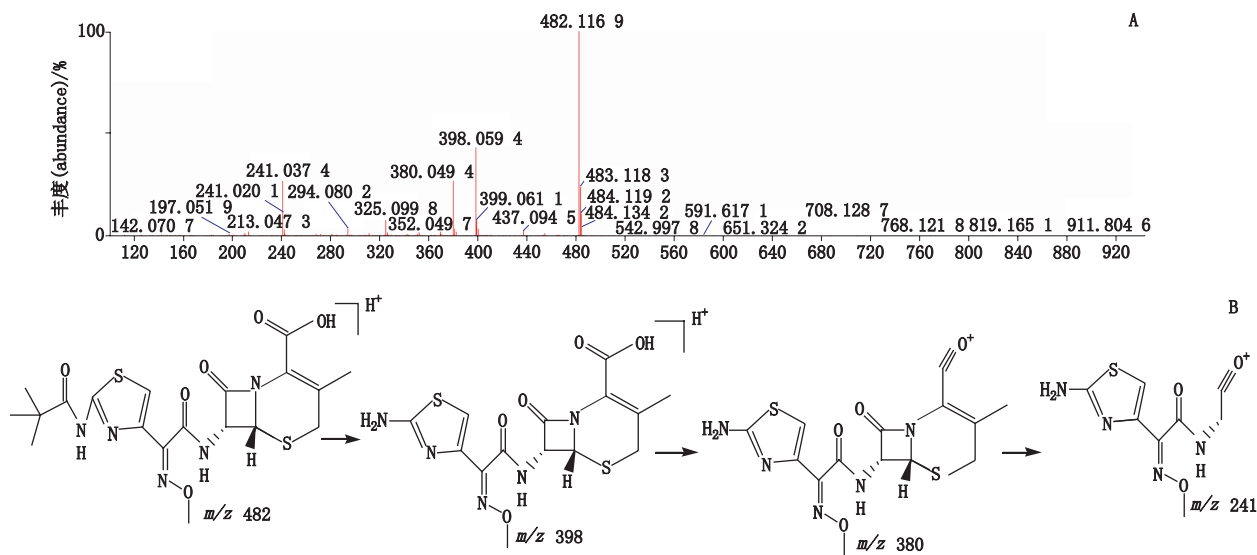


图7 峰3 [M+H]⁺ 二级质谱图 (A) 及可能裂解途径 (B)
 Fig.7 [M+H]⁺ MS² spectrum (A) and possible fragmentation pathway of peak 3 (B)

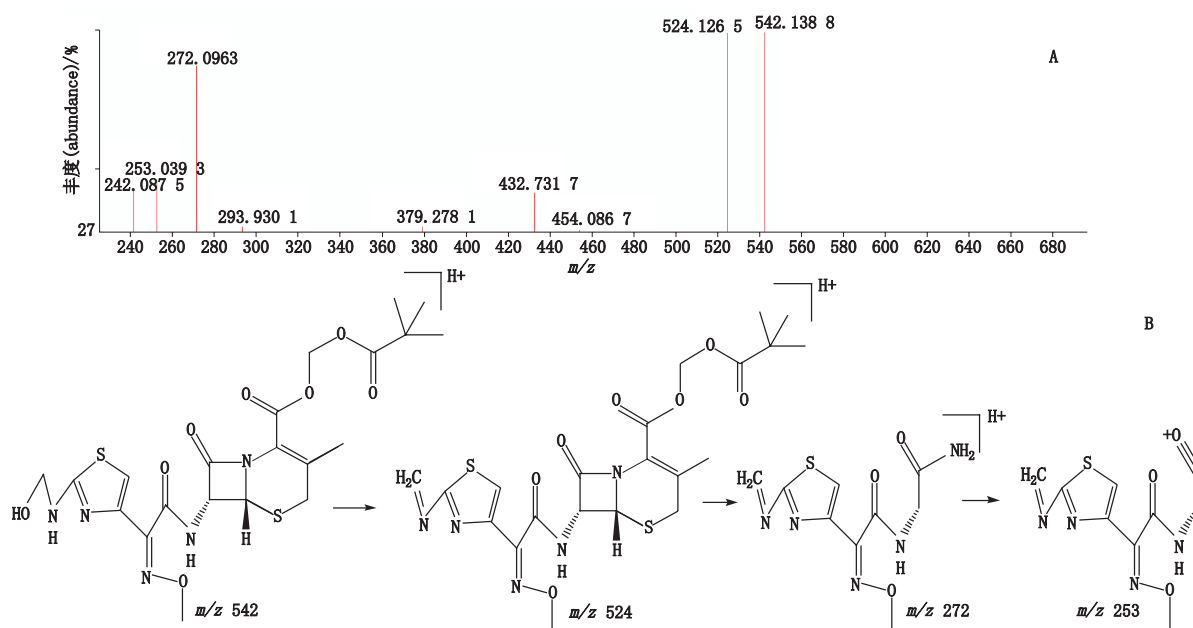


图 8 峰 4 [M+H]⁺ 二级质谱图 (A) 及可能裂解途径 (B)

Fig. 8 [M+H]⁺ MS² spectrum (A) and possible fragmentation pathway of peak 4 (B)

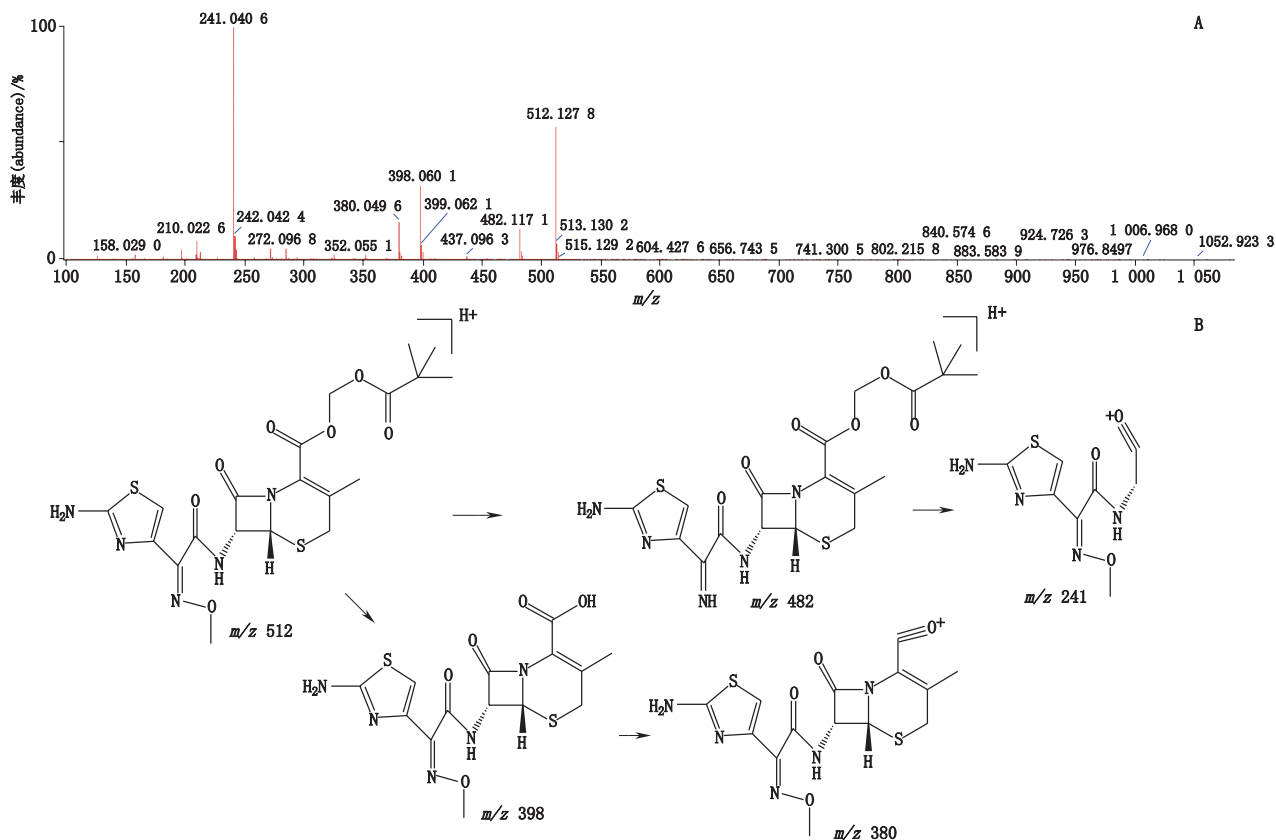


图 9 峰 5、6 [M+H]⁺ 二级质谱图 (A) 及可能裂解途径 (B)

Fig. 9 [M+H]⁺ MS² spectrum (A) and possible fragmentation pathway of peak 5, and peak 6 (B)

峰 8 经正离子模式分析,其分子离子峰 m/z 695, 为 [M+H]⁺ 的峰,即为 C₂₆H₃₁N₈O₉S₃, 如图 11-A 所示。推测其相对分子质量为 694,经二级全扫描获得

碎片离子有 m/z 581、 m/z 424,推测其结构式及质谱裂解途径见图 11-B。

峰 9 经正离子模式分析,其分子离子峰 m/z 596,

为 $[M+H]^+$ 的峰, 即为 $C_{25}H_{34}N_5O_8S_2$, 如图 12-A 所示。推测其相对分子质量为 595, 经二级全扫描获得

碎片离子有 m/z 482、 m/z 464、 m/z 325, 推测其结构式及质谱裂解途径见图 12-B。

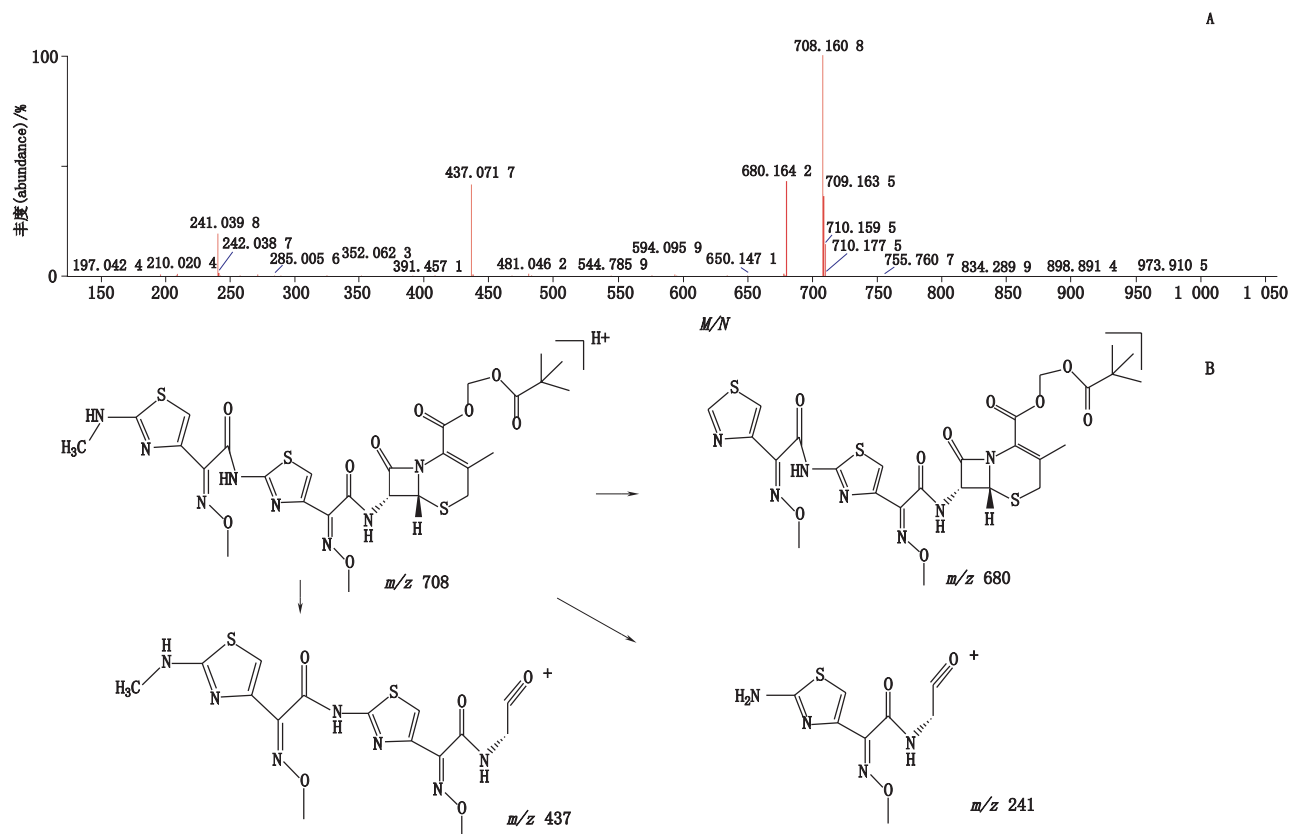


图 10 峰 7 $[M+H]^+$ 二级质谱图 (A) 及可能裂解途径 (B)

Fig. 10 $[M+H]^+$ MS² spectrum (A) and possible fragmentation pathway of peak 7 (B)

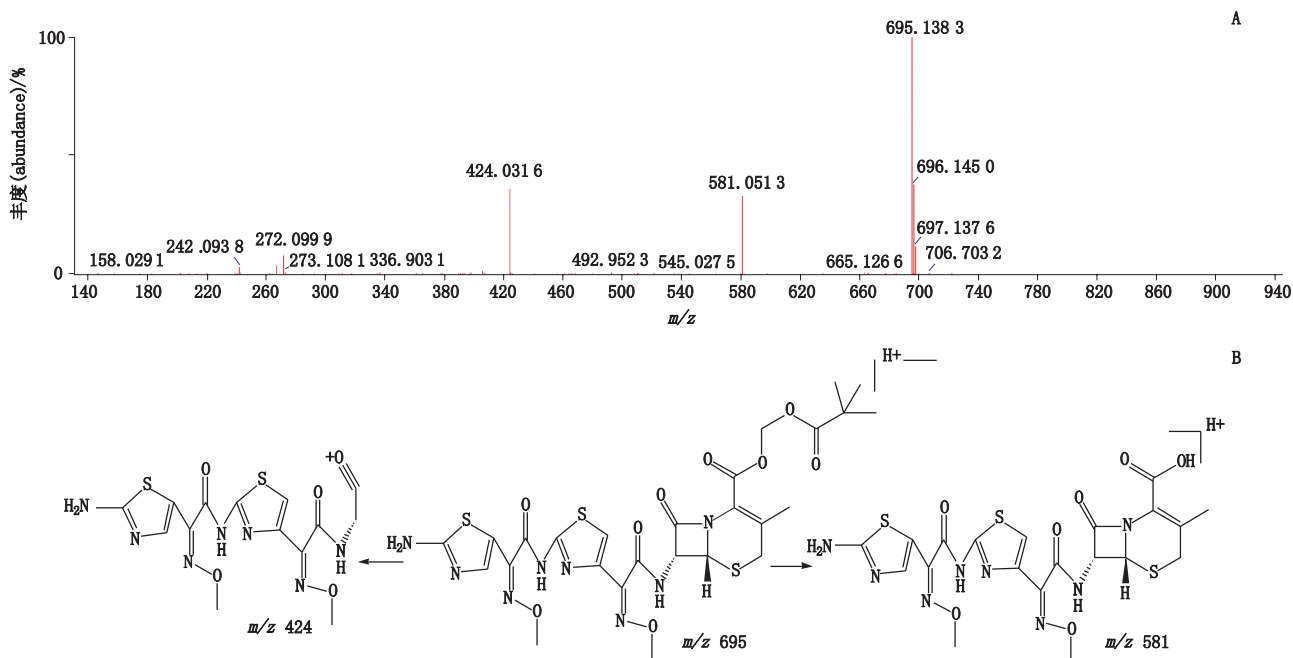


图 11 峰 8 $[M+H]^+$ 二级质谱图 (A) 及可能裂解途径 (B)

Fig. 11 $[M+H]^+$ MS² spectrum (A) and possible fragmentation pathway of peak 8 (B)

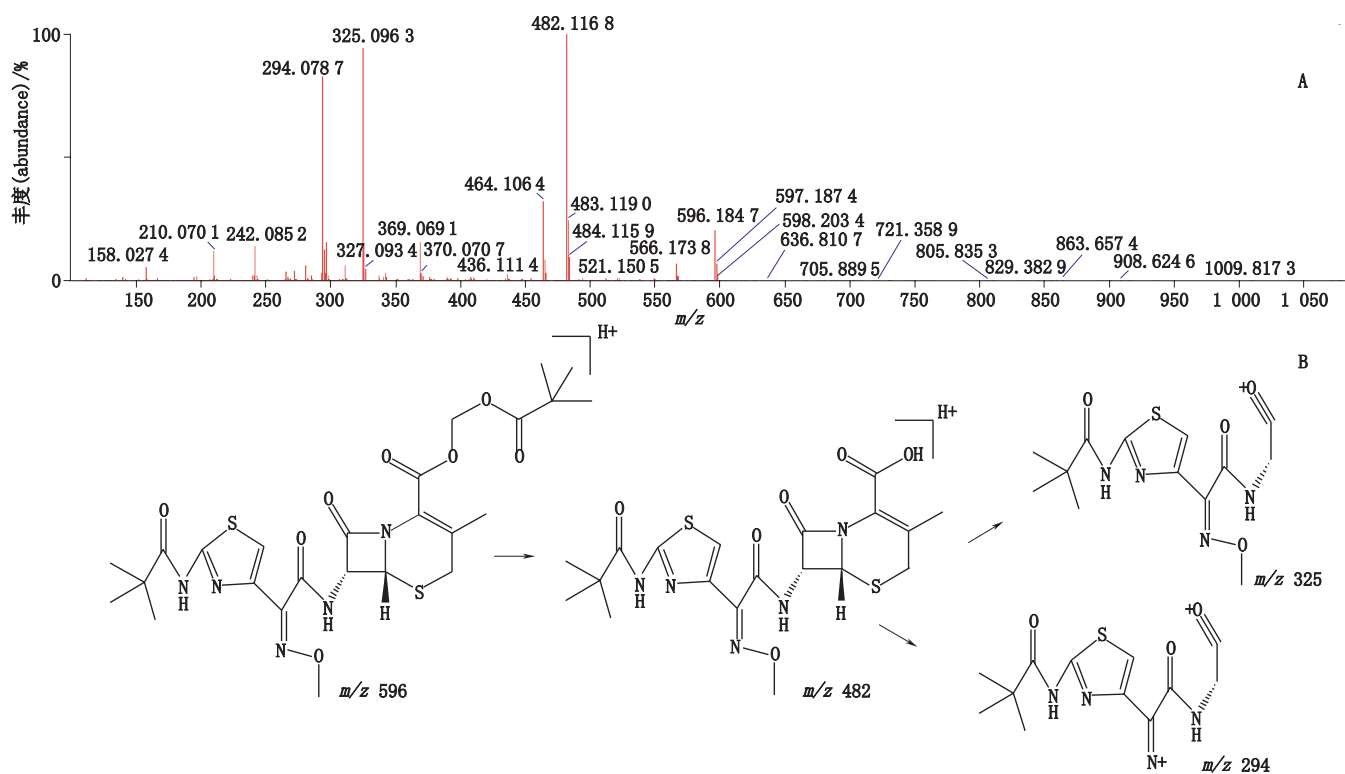


图 12 峰 9 $[M+H]^+$ 二级质谱图 (A) 及可能裂解途径 (B)

Fig. 12 $[M+H]^+ MS^2$ spectrum (A) and possible fragmentation pathway of peak 9 (B)

峰 10、11 的质谱图信息完全一致, 应为同分异构体。经正离子模式分析, 其分子离子峰 m/z 1 035, 为 $[M+H]^+$ 的峰, 即为 $C_{41}H_{51}N_{10}O_{14}S_4$, 如图 13-A 所

示。推测其相对分子质量为 1 034, 为头孢他美酯的二聚物, 经二级全扫描获得碎片离子有 m/z 512、 m/z 241, 推测其结构式及质谱裂解途径见图 13-B。

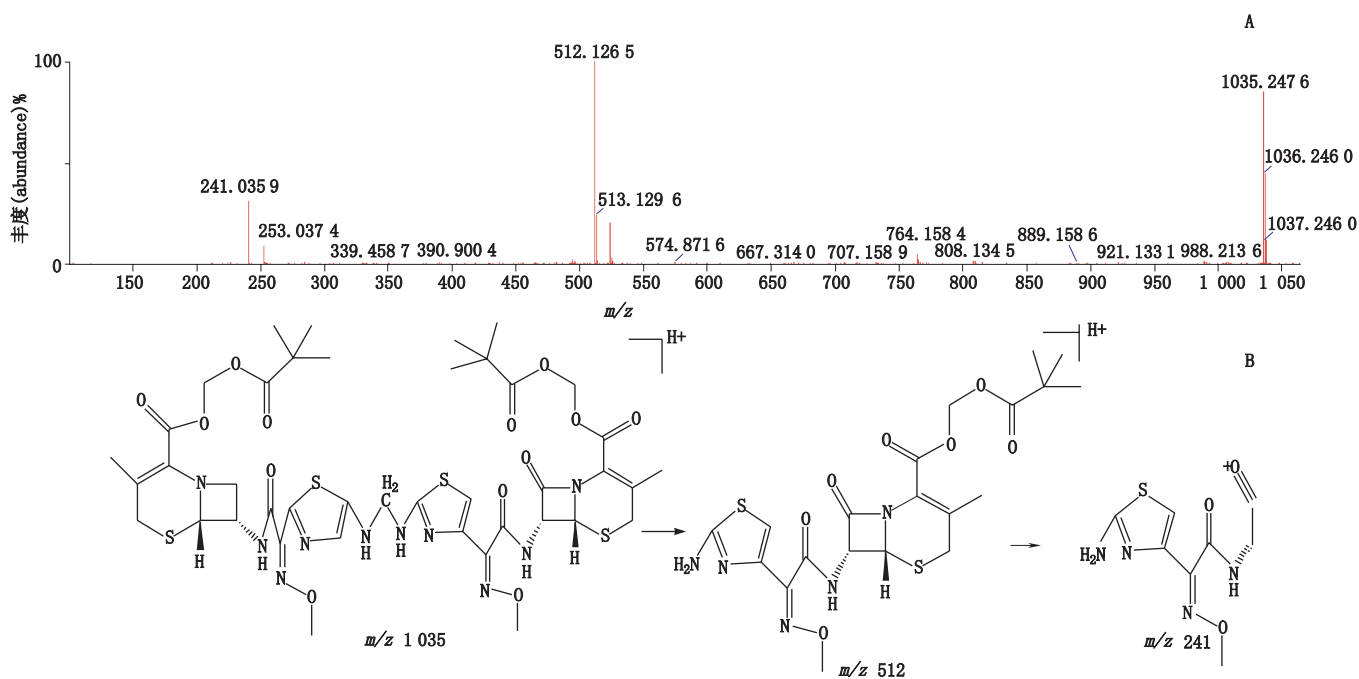


图 13 峰 10、11 $[M+H]^+$ 二级质谱图 (A) 及可能裂解途径 (B)

Fig. 13 $[M+H]^+ MS^2$ spectrum (A) and possible fragmentation pathway of peak 10 and peak 11 (B)

4 讨论

按原方法^[4-6]检测发现,标准中所要求记录的保留时间均未能检测出峰 9~11(图 2-A),而峰 9 在杂质含量中所占的比例较大,导致测定结果不能真实体现杂质的含量。控制 β -内酰胺抗生素中的聚合物类杂质是质量控制的关键^[13],因此需要对峰 10 与峰 11 的结构进行进一步确证,并通过葡聚糖凝胶 G-10 色谱柱对其进行质量控制。本文通过梯度洗脱法使盐酸头孢他美酯分散片中的主要有关物质检出并达到了有效分离,通过飞行时间质谱测定一级质谱和二级碎片离子的精确分子质量,从而推断出可能的分子式及分子结构,为杂质的结构鉴定提供科学依据。

参考文献

- [1] 马伟杭,陈亚岗,郑经川,等. 盐酸头孢他美酯治疗细菌感染的多中心临床研究[J]. 中国抗生素杂志, 2001, 26(2): 139
MA WH, CHEN YG, ZHENG JC, *et al.* A multiple centre randomized controlled clinical study of cefetamet pivoxil hydrochloride in the treatment of bacterial infectious diseases[J]. *Chin J Antibiot*, 2001, 26(2): 139
- [2] 张淑华,欧真蓉,陈蜀,等. 国产头孢他美酯、头孢他美体内外抗菌作用研究[J]. 中国抗生素杂志, 2001, 26(2): 144
ZHANG SH, OU ZR, CHEN S, *et al.* The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of cefetamet and cefetamet pivoxil[J]. *Chin J Antibiot*, 2001, 26(2): 144
- [3] 肖克岳,刘晓磊,孟琴. 盐酸头孢他美酯分散片人体药物动力学及生物等效性研究[J]. 中南药学, 2006, 4(3): 180
XIAO KY, LIU XL, MENG Q. Pharmacokinetics and bioequivalence of cefetamet pivoxil dispersible tablets in healthy volunteers[J]. *Cent South Pharm*, 2006, 4(3): 180
- [4] 中国药典 2015 年版. 二部[S]. 2015: 911
ChP 2015. Vol II [S]. 2015: 911
- [5] YBH05022010 国家食品药品监督管理局标准[S]. 2010
YBH05022010 Standard of State Food and Drug Administration [S]. 2010
- [6] YBH05552008 国家食品药品监督管理局标准[S]. 2008
YBH05552008 Standard of State Food and Drug Administration [S]. 2008
- [7] 李丹凤,黄丽丽,刘庄蔚,等. 盐酸头孢他美酯及其制剂中有关物质的 HPLC 法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2016, 47(7): 918
LI DF, HUANG LL, LIU ZW, *et al.* Determination of the related substances in cefetamet pivoxil hydrochloride and its preparations by HPLC[J]. *Chin J Pharm*, 2016, 47(7): 918
- [8] 胡敏,胡昌勤,刘文英. LC/MS 鉴定头孢菌素降解物结构[J]. 药物分析杂志, 2005, 25(3): 369
HU M, HU CQ, LIU WY. Identification of degradation compounds of cephalosporins by LC/MS[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2005, 25(3): 369
- [9] 王玲,王英武,陈刚,等. 用电喷雾四极杆飞行时间质谱研究头孢类药物的质谱裂解规律[J]. 吉林大学学报(理学版), 2003, 41(1): 117
WANG L, WANG YW, CHEN G, *et al.* Fragmentation regularities of cephalosporin drugs by means of electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *J Jilin Univ (Sci Ed)*, 2003, 41(1): 117
- [10] 陈兆坤,胡昌勤. 头孢菌素类抗生素的降解机制[J]. 国外医药抗生素分册, 2004, 25(6): 249
CHEN ZK, HU CQ. Mechanisms of cephalosporins degradation[J]. *World Notes Antibiot*, 2004, 25(6): 249
- [11] 胡昌勤,蒋煜,张靖溥,等. 对 β -内酰胺抗生素中微量不稳定杂质研究策略与方法的思考[J]. 中国新药杂志, 2013, 22(1): 4
HU CQ, JIANG Y, ZHANG JP, *et al.* Reflection on strategy and methods on trace unstable impurities of β -lactam antibiotics[J]. *Chin J New Drugs*, 2013, 22(1): 4
- [12] WANG DD, WANG F, WANG J. Characterization of the impurities and isomers in cefetamet pivoxil hydrochloride by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry and ion trap mass spectrometry[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 111: 71
- [13] 胡昌勤. 2015 年版《中国药典》有关抗生素的增修订及其质量控制方向[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(20): 1764
HU CQ. Revision of specifications of antibiotics in the Chinese pharmacopoeia 2015 and the trend of antibiotic quality control[J]. *Chin Pharm J*, 2015, 50(20): 1764

(本文于 2016 年 4 月 18 日收到)