

HPLC 梯度洗脱法测定头孢匹胺钠中有关物质^{*}

马春华¹, 杨晨², 任凤英², 陈林², 杨红², 杨庆云^{1**}

(1. 中国医学科学院药物研究所, 北京 100050; 2. 抗生素研究与再评价四川省重点实验室, 成都大学四川抗菌素工业研究所, 成都 610052)

摘要 目的: 建立用于检测头孢匹胺钠有关物质的高效液相色谱梯度洗脱法, 并对其中关键的有关物质 I 进行结构鉴定。**方法:** 采用 ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相 A 为 0.03 mol · L⁻¹ 磷酸二氢钾 (2 mol · L⁻¹ NaOH 调至 pH7.5), 流动相 B 为乙腈; 柱温为 35 °C; 检测波长为 254 nm; 流速为 1.0 mL · min⁻¹; 液质联用方法采用 XDB-C₁₈ 柱 (4.6 mm × 50 mm, 1.8 μm) 色谱柱, 以 0.01 mol · L⁻¹ 甲酸铵缓冲溶液 (pH6.5 未调) - 乙腈 (90:10) 为流动相, 检测波长为 254 nm, 流速为 0.4 mL · min⁻¹, 柱温为 30 °C。采用电喷雾 ESI 离子源, 检测模式为 ESI(+), 干燥气流速为 10 L · min⁻¹; 干燥气温度为 340 °C, 喷雾器为 275.8 kPa。**结果:** 头孢匹胺钠主峰与其相关物质之间分离良好, 在 1.31~41.98 mg · mL⁻¹ 范围内头孢匹胺钠呈良好的线性关系 ($R^2=1.000$), 方法的定量限为 2.6 ng, 检测限为 0.8 ng。采用 LC-MS 方法鉴定其中有关物质 I 的结构为头孢匹胺钠的异构体, 并用合成方法确证了结构的正确性, 其 7 位侧链手性原子由 R 型改变为 S 型。**结论:** 本方法快速准确, 起始原料、中间体与主峰, 起始原料和中间体之间分离良好, 优于现行标准方法, 可用于头孢匹胺钠的有关物质检测, 为现行方法的有力补充。

关键词: 头孢菌素类抗生素; 头孢匹胺钠; 杂质; 异构体; 液相色谱 - 质谱; 结构鉴定;

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2017)11-2013-06

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.11.14

HPLC gradient elution method for the determination of the related substances in cefpiramide sodium^{*}

MA Chun-hua¹, YANG Chen², REN Feng-ying², CHEN Lin², YANG Hong², YANG Qing-yun^{1**}

(1 Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China; 2 Antibiotics Research and Reevaluation Key Laboratory of Sichuan Province, Sichuan Industrial Institute of Antibiotics, Chengdu University, Chengdu 610052, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC gradient elution method for the determination of the related substances of cefpiramide sodium, and to identify the key related substance I. **Method:** The HPLC method was carried out using a ZORBAX SB-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); Mobile phase A was 0.03 mol · L⁻¹ Potassiumdihydrogen phosphate solution (adjust pH to 7.5 with Sodium hydroxide), mobile phase B was acetonitrile; The column temperature was 35 °C and the detection wavelength was 254 nm; the flow rate was

* 中国医学科学院医学与健康科技创新工程经费资助 (2016-12M-3-010)

** 通信作者 Tel: 13683270346; E-mail: yqy@imm.ac.cn

第一作者 Tel: 13116007038; E-mail: mxiaohua2009@163.com

1.0 mL · min⁻¹. The LC-MS method was carried out using an XDB-C₁₈ column (4.6 mm × 50 mm, 1.8 μm); Mobile phase was 0.03 mol · L⁻¹ ammonium formate solution (pH6.5 not adjusted)–acetonitrile (90:10); The column temperature was 30 °C and the detection wavelength was 254 nm; the flow rate was 0.4 mL · min⁻¹. An electrospray ESI ion source was used to detect ESI(+), the drying airflow rate was 10 L · min⁻¹, the drying gas temperature was 340 °C, and the sprayer was 275.8 kPa. **Results:** Between cefpiramide sodium peak and its related substances could be isolated. The good linear range of cefpiramide was 1.31–41.98 mg · mL⁻¹ ($R^2=1.000$), LOQ and LOD were 2.6 ng and 0.8 ng respectively. LC-MS was used to identify that the related substance I was isomer of cefpiramide sodium, and the structure was confirmed by synthetic method. The 7-side chain chiral atoms changed from R type to S type. **Conclusion:** The method is rapid and accurate. The separation of the starting materials, intermediates and main peaks, starting materials and intermediates is better than the existing standard method. It can be used for the detection of related substances of cefpiramide sodium, which is a powerful supplement to the present method. **Keywords:** cephalosporin antibiotics; cefpiramide sodium; impurity; isomer; LC-MS; structure identification

头孢匹胺钠为半合成第三代头孢菌素类抗生素,对葡萄球菌、链球菌、消化链球菌等革兰阳性菌具有显著的抗菌作用^[1-3],对铜绿假单胞菌等不酵解葡萄糖的革兰阴性杆菌也有一定的抗菌效果^[4-5]。头孢匹胺钠抗菌作用强,抗菌谱广,疗效显著,优于第三代、第四代头孢菌素。日本药典(JP16)收载头孢匹胺钠的质量控制标准^[6],美国药典(USP36-NF31)^[7]收载的是头孢匹胺的质量控制标准,中国国家食品药品监督管理局颁布了头孢匹胺钠的试行标准^[8-9]。以上标准的有关物质方法均为等度洗脱法。

头孢匹胺钠有关物质的种类数量与含量均与其生产制备工艺和起始原料的品质密切相关,由于国内外生产制备头孢匹胺钠的生产工艺路线以及起始原料的差别^[10-14],因此目前国外的现行标准未必适用于国内头孢匹胺钠原料药产品的有关物质检查。而且,国外现行的头孢匹胺钠标准^[6]:日本药典0.03 mol · L⁻¹ 磷酸二氢钾(pH7.5)–甲醇(75:25),也有一定的缺陷:中间体和起始原料的极性较大,出峰快,各峰之间及各峰与主峰之间的分离较差,并且主峰与有关物质I的分离较差等方面,调整有机相与缓冲液的比例虽可改善有关物质I与主峰之间的分离度但仍未能改善中间体、起始原料峰之间分离度差的情况,如图1所示。因此本研究建立了HPLC梯度洗脱方法,有效克服了分离度差的难题,并对方法进行了系统的验证。

同时,采用LC-MS技术,结合其生产制备工艺,对头孢匹胺钠中的关键有关物质进行了结构鉴定,并采用合成方法确证了有关物质I结构的正确性。以上研究结果不仅有利于杂质对照品的准确定性和定

量,并有利于其生产制备工艺的改进,进一步提高国产品种的质量。

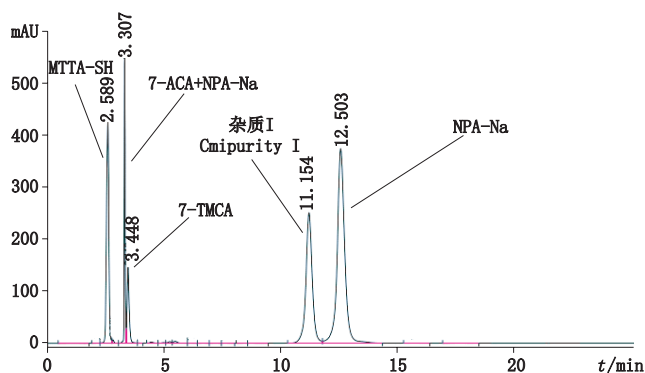


图1 头孢匹胺钠与原料、中间体、有关物质I混合溶液的HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed solution of cefpiramide with raw materials, intermediates and the related substances

1 仪器与试剂

岛津LC-20AT型高效液相色谱仪, Agilent6410B三重四极杆串联质谱仪, BrukerAvance 400MHZ核磁共振仪。头孢匹胺钠样品及头孢匹胺(四川抗菌素工业研究所化学事业部提供,批号分别为:20131127、120320及120131),乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。色谱柱Agilent C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm; 填料:十八烷基硅烷键合硅胶;安捷伦仪器公司);色谱柱Agilent XDB-C₁₈(4.6 mm × 50 mm, 1.8 μm; 安捷伦仪器公司)。

2 方法和结果

2.1 HPLC方法的建立 色谱条件:以Agilent C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm; 填料:十八烷基硅烷键合

硅胶)为色谱柱;流动相:A:磷酸盐缓冲液(4.08g磷酸二氢钾溶于800 mL水中,用 $2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氢氧化钠溶液调至 $\text{pH}7.5\pm 0.1$,用水稀释至1 000 mL)B:乙腈,梯度洗脱见表1。检测波长:254 nm;柱温:35 ℃。供试品溶液浓度: $0.5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$;进样体积:10 μL 。

表1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution program

时间 (time) /min	A	B
0.01	93	7
5	93	7
8	88	12
20	88	12
30	70	30
40	70	30
40.01	93	7
55	93	7

2.2 专属性考察 根据生产工艺^[15-16],头孢匹胺钠产品中可能含有起始原料7-氨基头孢烷酸(7-ACA)、1-甲基-5-巯基四氮唑(MTTA-SH);3个中间体3-((1-甲基-1*H*-四唑-5-硫代甲基)-8-氧代-5-硫杂-1-氮杂双环[4.2.0]辛-2-烯-2-羧酸(7-TMCA)、2-[(6-甲基-4-羟基吡啶-3-羰基)-氨基]-2-(4-羟基苯基)乙酸钠(NPA-Na)、(6*R*,7*R*)7-[(*R*)2-[(6-甲基-4-羟基吡啶-3-羰基)-氨基]-2-(4-羟基苯基)-乙酰氨基]-3-(1-甲基-1*H*-四唑-5-硫代甲基)-8-氧代-5-硫杂-1-氮杂双环[4.2.0]辛-2-烯-2-羧酸(CPM-H);有关物质I为头孢匹胺异构体。分别取中间体7-TMCA、NPA-Na和起始原料7-ACA、MTTA-SH,以及有关物质I头孢匹胺异构体,分别用流动相A溶解并稀释制成单一成分供试液,按“2.1”项下色谱条件分别进样,定位色谱峰;另外取头孢匹胺钠、上述原料、中间体及有关物质I适量,用流动相A溶解并稀释制成混合溶液,按照“2.1”项下的色谱条件进样,记录色谱图如图2,在建立的色谱条件下,头孢匹胺钠与各原料、中间体、有关物质I及有关物质之间能完全分离。

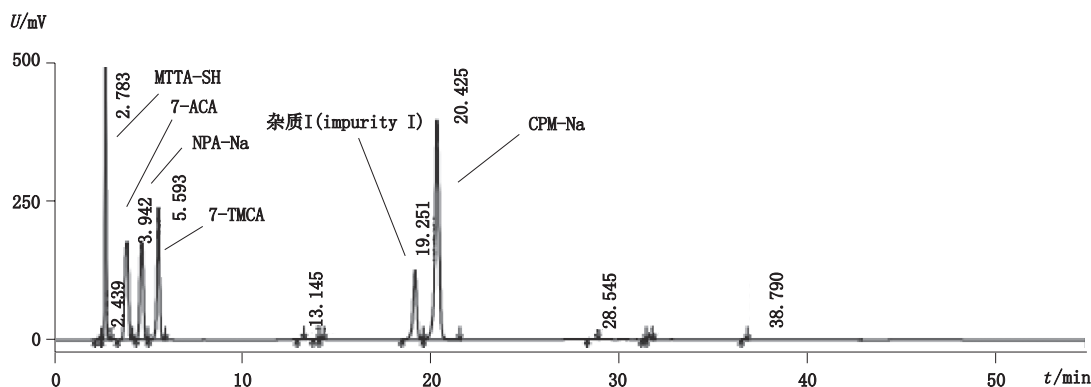
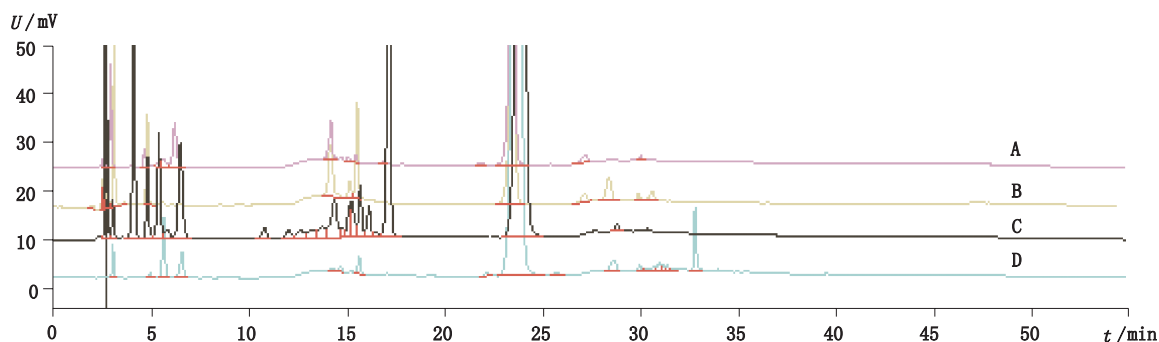


图2 头孢匹胺钠与原料、中间体、有关物质I混合溶液的HPLC色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of mixed solution of cefpiramide with raw materials, intermediates and the related substances

酸降解试验:称取头孢匹胺钠样品(批号:20131127)约5 mg,置10 mL量瓶中,加 $2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸2 mL,室温放置15 min,加 $2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液中和,加流动相A稀释制成每1 mL含有0.5 mg的溶液;碱降解试验:称取头孢匹胺钠样品约5 mg,置10 mL容量瓶中,加 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氢氧化钠溶液2 mL,在95 ℃水浴加热10 min,加 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液中和,加流动相A稀释制成每1 mL含有0.5 mg的溶液;高温降解试验:称取头孢匹胺钠样品,置120 ℃恒温干燥箱中放置1 h,取出,

放冷,称取5 mg置10 mL量瓶中,加流动相A稀释制成每1 mL含有0.5 mg的溶液。氧化降解试验:称取头孢匹胺钠约5 mg,置10 mL量瓶中,加10%双氧水2 mL,放置30 min,加流动相A稀释制成每1 mL含有0.5 mg的溶液。分别取上述降解后得到的各溶液按照“2.1”项下的色谱条件进行测定,结果见图3,图谱显示,在所建色谱条件下,主成分头孢匹胺与相邻杂质峰,各中间体及降解产物峰均能达到良好的分离,物料基本平衡,说明所建方法的专属性强。



A. 强碱降解 (alkali degradation) B. 强酸降解 (acid degradation) C. 氧化降解 (oxidative degradation) D. 高温降解 (high temperature degradation)

图3 HPLC方法专属性考察图谱

Fig. 3 Chromatograms of sample specificity

2.3 线性关系考察 分别称取头孢匹胺对照品和有关物质 I 各适量,精密称定,用流动相 A 溶解并稀释分别制成每 1 mL 含有头孢匹胺 41.98 mg 和有关物质 I 43.89 mg 溶液,依次稀释,按“2.1”项下的色谱条件进行测定,记录峰面积。以峰面积 (Y) 对头孢匹胺和有关物质 I 浓度 (X) 分别进行线性回归,头孢匹胺和有关物质 I 回归方程分别为:

$$Y = 3.510 \times 10^4 X + 668.4 \quad R^2 = 1.000$$

$$Y = 3.230 \times 10^4 X - 143.8 \quad R^2 = 0.9998$$

结果表明,头孢匹胺和有关物质 I 分别在 1.31~41.98 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 0.03~43.89 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度范围内呈良好的线性关系。

2.4 检测限与定量限研究 通过逐级降低浓度进样测定,按信噪比 10:1 计算,有关物质 I 的定量限为 0.14 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,约为有关物质检查量的 0.03%;按信噪比 3:1 计算,有关物质 I 检测限为 0.07 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,约为有关物质检查量的 0.01%。表明本法具有较高的灵敏度。

2.5 精密度试验 精密称取本品适量,用流动相 A 溶解并稀释制成每 1 mL 含头孢匹胺 0.5 mg 的溶液,在上述色谱条件下,连续进样 6 次,主峰头孢匹胺峰面积 $\text{RSD} = 0.11\%$,结果表明精密度良好。

3 杂质结构解析

3.1 杂质结构的初步推断 从头孢匹胺钠的 HPLC 色谱图 5-A、5-C 中可以看出,在头孢匹胺主峰前存在多个杂质,其中有关物质 I 与主峰相邻较近(相对保留时间为 0.89),对分析方法的专属性有显著影响,而且其含量较高 ($>0.1\%$),是本品的关键性杂质。因此,采用 LC-MS 的方法对头孢匹胺钠及有关物质 I 进行 LC-MS 分析,对有关物质 I 的结构进行

鉴定,并采用合成方法确证了有关物质 I 结构的正确性。

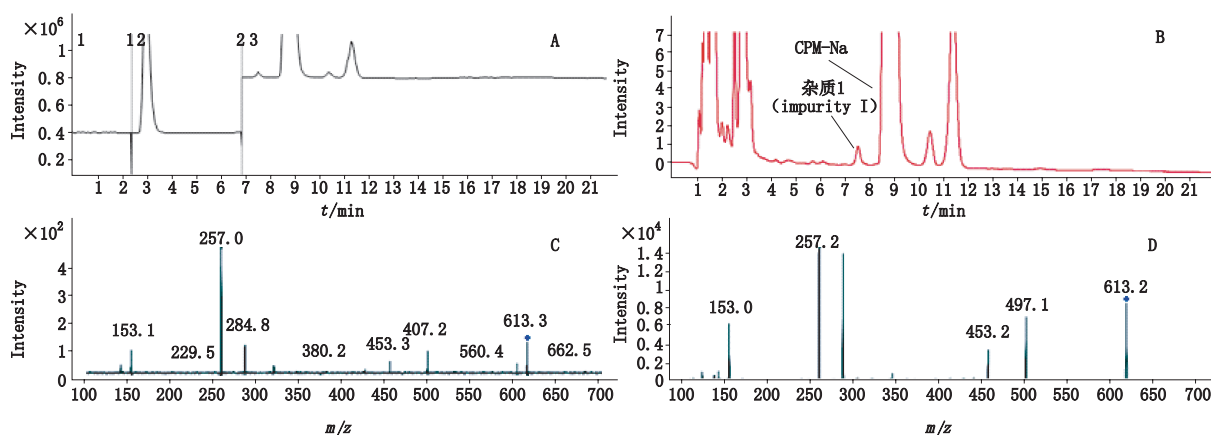
色谱条件:色谱柱:Agilent XDB- C_{18} 柱 (4.6 mm $\times$ 50 mm, 1.8 μm),流动相:0.01 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸铵缓冲溶液 (pH6.5 未调)-乙腈 (90:10),检测波长:254 nm,流速:0.4 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温:30 $^{\circ}\text{C}$ 。

质谱条件:Agilent6410B 三重四极杆串联质谱仪;电喷雾 ESI 离子源;检测模式:ESI(+);干燥气流速:10 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$;干燥气温度:340 $^{\circ}\text{C}$,喷雾器:275.8 kPa。

结果如图 4:有关物质 I 与主峰分离良好,有关物质 I 的分子离子峰 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 的质荷比为 613.3,头孢匹胺钠分子离子峰 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 的质荷比为 613.1,有关物质 I 与头孢匹胺钠的分子量一致;且有关物质 I 与头孢匹胺钠的二级质谱碎片峰相吻合,提示其质谱裂解途径相同^[17]。因此推断有关物质 I 为头孢匹胺钠异构体。

采用定向合成方法确证了有关物质 I 结构的正确性。参考头孢匹胺钠的合成路线和方法^[15],用 L - (+) 对羟基苯甘氨酸代替 D - (-) 对羟基苯甘氨酸,合成 7 位侧链上手性碳为 S 型的头孢匹胺异构体 (纯度 96.17%)。

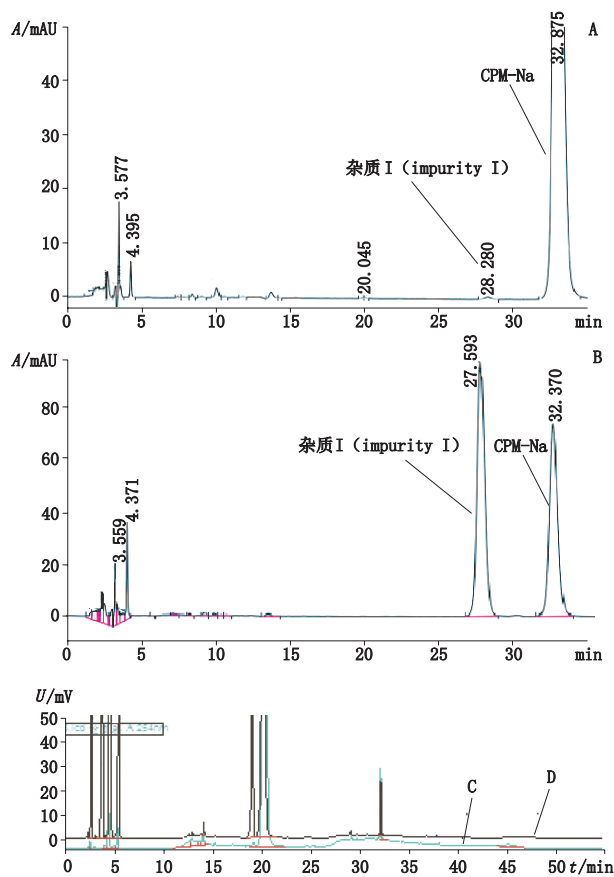
采用加样回收法进一步验证了有关物质 I 为头孢匹胺钠异构体。将该异构体样品定量地添加到头孢匹胺钠样品溶液中,分别在等度洗脱和梯度洗脱 2 种色谱条件下进行进样分析,结果表明该异构体色谱峰与头孢匹胺钠供试品溶液中有关物质 I 的色谱峰保留时间一致,色谱峰完全重叠,峰面积等量增大,见图 5。因此确定合成获得的异构体杂质为头孢匹胺钠样品中存在的有关物质 I。



A. 头孢匹胺钠溶液离子流图 (ion flow of cepipamide sodium) B 头孢匹胺钠溶液色谱图 (RT7.689min: 有关物质 I, RT9.067min: 头孢匹胺钠) [HPLC spectra of cepipamide sodium (RT7.689min; impurity I, RT9.067min; cepipamide sodium)] C. 有关物质 I 二级质谱图 (secondary mass spectrum of the related substance I) D. 头孢匹胺钠二级质谱图 (secondary mass spectrum of cepipamide sodium)

图 4 质谱图

Fig. 4 LC/MS spectra



A. 头孢匹胺钠 (等度洗脱方法) (CPM-Na (the method of Isocratic elution))

B. 头孢匹胺钠 + 有关物质 I (等度洗脱方法) (CPM-Na+impurity I (the method of Isocratic elution))

C. 头孢匹胺钠 (梯度洗脱方法) (CPM-Na (the method of Gradient elution))

D. 头孢匹胺钠 + 有关物质 I (梯度洗脱方法) (CPM-Na+impurity I (the method of Gradient elution))

图 5 高效液相色谱图

Fig. 5 HPLC chromatograms

3.2 有关物质 I 结构鉴定数据 有关物质 I 与头孢匹胺的 $^1\text{H-NMR}$ 对比如下, 可看出有关物质 I 氢原子的化学位移及分裂情况与头孢匹胺基本一致, 18 位、10 位碳上氢和 7 位碳上氢峰裂分略有不同, 推测有关物质 I 为头孢匹胺异构体。结构式见图 6。

表 2 有关物质 I 与头孢匹胺的 $^1\text{H-NMR}$ 谱 (DMSO- d_6) 数据对比

Tab. 2 The result of $^1\text{H-NMR}$ of the related substance I and cepipamide

质子位置 (proton position)	有关物质 I (related substance I)	头孢匹胺 (cephipamide)
	氢的裂分及数目 (hydrogen split and number)	氢的裂分及数目 (hydrogen split and number)
22-CH ₃	2.25, s, 3H	2.26, s, 3H
4-H	3.60~3.78, dd, 2H	3.53~3.70, dd, 2H
-NCH ₃	3.94, s, 3H	3.93, s, 3H
3-CH ₂	4.21~4.38, dd, 2H	4.20~4.35, dd, 2H
6-H	5.06, d, 1H	5.00, d, 1H
10-H	5.59, s, 1H	5.69, d, 1H
7-H	5.60, d, 1H	5.74, dd, 1H
21-H	6.25, s, 1H	6.28, s, 1H
12-H, 13-H	6.72, d, 2H	6.74, d, 2H
14-H, 15-H	7.23, d, 2H	7.25, d, 2H
18-H	8.26, d, 1H	8.29, s, 1H
7-NH	9.29, d, 1H	9.34, d, 1H
19-COH	11.08, d, 1H	11.11, d, 1H
-COOH	12.14, brs, 1H	12.19, brs, 1H

注 (note): 2.50 ppm 的峰为氘代 DMSO 的残留质子信号, d3.36、9.45 为羟基质子峰 (2.50 ppm peak for the residual proton signal of deuterium DMSO, d3.36、9.45 were hydroxyl proton peak)

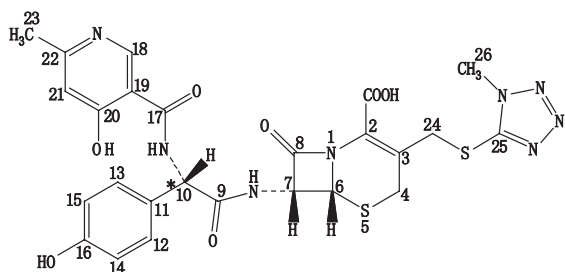


图6 有关物质I(头孢匹胺异构体)分子结构式

Fig. 6 Structure of the related substance I

4 讨论

4.1 梯度洗脱方法 按照日本药典方法^[6]对工艺生产的样品进行分析,发现头孢匹胺钠的起始原料(7-ACA)及中间体7-TMCA、NPA-Na未达到基线分离,难以为生产控制提供准确的依据,本建立的梯度方法能将主峰与杂质,杂质与杂质之间有效分离。鉴于梯度洗脱法已广泛用于抗生素药物的有关物质控制,且建立的梯度洗脱方法优于等度方法,能更好的控制药品的质量,故在进一步研究的基础上本法可作为头孢匹胺钠质量标准提升的参考方法。

4.2 推测杂质I结构 杂质I与主峰相邻较近(相对保留时间为0.89),对分析方法的专属性有显著影响,而且其含量较高(>0.1%),是本品的关键性杂质。通过对有关物质I与头孢匹胺的LC-MS分析对比研究,可知有关物质I的分子量与头孢匹胺钠相同,且具有相同的碎片离子峰,提示两者具有相同的裂解途径,推测有关物质I为头孢匹胺钠的异构体。进一步采用定向合成的方法得到有关物质I的样品,确证其结构推测的正确性。

4.3 确证杂质I结构 对有关物质I和头孢匹胺的核磁共振氢谱比较研究。有关物质I化学位移及分裂情况与头孢匹胺基本一致,可能受到10位手性碳的影响,仅18、10位碳上氢和7位碳上氢峰裂分略有不同,进一步证实了有关物质I为头孢匹胺异构体。

致谢:感谢四川抗菌素工业研究所陈林副研究员在杂质合成过程中的指导和帮助。

参考文献

- [1] WANG H, YU Y, XIE X, *et al.* In-vitro antibacterial activities of cefpiramide and other broad-spectrum antibiotics against 440 clinical isolates in China[J]. J Infect Chemother, 2000, 6(2): 81
- [2] PFALLER MA, BALE M, PRESTON T, *et al.* In vitro inhibitory and bactericidal activity of cefpiramide and seven antipseudomonal agents against *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 1986, 5(1): 17

- [3] 陈远宏,刘有常. 头孢匹胺的药理和临床应用[J]. 新药与临床, 1990, 9(4): 207
CHEN YH, LIU YC. Pharmacological and clinical application of cefpiramide[J]. Chinese Journal of New Drugs and Clinical Remedies, 1990, 9(4): 207
- [4] 周乐,王明贵,张婴元,等. 头孢匹胺的体外抗菌作用[J]. 中国抗生素杂志, 1997, 22(4): 275
ZHOU L, WANG MG, ZHANG Y Y, *et al.* In vitro antibacterial effect of cefpiramide[J]. Chin J Antibiot, 1997, 22(4): 275
- [5] NEW HC, CHIN NX. The *in vitro* activity and beta-lactamase stability of cefpiramide compared with other beta-lactam antibiotics[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 1985, 3: 479
- [6] JP16, XVI[S]. 2011: 578
- [7] USP36-NF31[S]. 2013: 2878
- [8] 国家药品标准: 中检所进口药品复核标准[S]. 2001: 176
National Drug Standards: CFDA import drug review criteria[S]. 2001: 176
- [9] 国家药品标准, 国产注册标准[S]. 2005: YBH13132005
National Drug Standards: Domestic registration standards[S]. 2005: YBH13132005
- [10] ISAKA I, KODA K, MURAKAMI Y. D-7-[(4-hydroxy-6-methylpyridin-2-yl)-4-hydroxyphenylacetamido]-3-[(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylic acid, JP, 54030197[P]. 1979-03-06
- [11] YAMADA H, TOBIKI H, JIMPO K, *et al.* New broad-spectrum cephalosporins with Antipseudomonal activity. II. Synthesis and antibacterial activity of 7b-[2-acylamino-2-(4-hydroxyphenyl)acetamido]-3-[(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl]ceph-3-em-4-carboxylic acids[J]. J Antibiot, 1983, 36(5): 532
- [12] TSKEUCHI Y, YANAGIDA T, JINBO S, *et al.* Preparation of cephalosporin compound: JP, 59065094[P]. 1984-04-13
- [13] YAMADA H, TOBIKI H, JIMPO K, *et al.* New broad-spectrum cephalosporins with antipseudomonal activity. III. Synthesis and antibacterial activity of 7b-[D-2-(4-hydroxy-6-methylpyridine-3-carboxylamino)-2-(4-hydroxyphenyl)acetamido]-3-(methyl or substituted methyl)ceph-3-em-4-carboxylic acids[J]. J Antibiot, 1983, 36(5): 543
- [14] KAMIYA T, TERAJI T, HEMMI K, *et al.* 7-(N-Substituted-2-phenylglycinamido)-3-substituted-3-cephem-4-carboxylic acid derivatives, DE, 2737066[P]. 1978-2-23
- [15] 陈林,游莉,石克金,等. 头孢匹胺的合成[J]. 中国抗生素杂志, 2010, 35(4): 277
CHEN L, YOU L, SHI KJ, *et al.* Synthesis of cefpiramide[J]. Chin J Antibiot, 2010, 35(4): 277
- [16] 梁建军. 头孢匹胺的合成工艺研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2004
LIANG JJ. Study on the Synthetic Technology of Cefpiramide[D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University, 2004
- [17] 马春华,杨晨,任凤英,等. 头孢匹胺钠氧化降解杂质结构鉴定[J]. 中国抗生素杂志, 2015, 40(3): 186
MA CH, YANG C, RENG FY, *et al.* Identification of oxidative degradation impurity in cefpiramide sodium[J]. Chin J Antibiot, 2015, 40(3): 186

(本文于2016年12月12日收到)