

综述

文章编号: 1001-8689(2018)04-0373-07

中国药典2015年版大环内酯类抗生素的拟增修订重点

姚尚辰 胡昌勤

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要: 中国药典2020年版的增修订工作已经启动。本文针对大环内酯类抗生素的特点, 在进一步解读中国药典2015年版变化的基础上, 提出对其进一步进行修订的重点。鉴于大环内酯类抗生素具有组分/杂质谱复杂之特点, 增修订中应关注对大环内酯类抗生素中组分/有关物质, 特别是与工艺相关的特定杂质的控制; 而开发具有高专属性的HPLC方法, 保证分析方法具有理想的重复性和粗放性, 方便地实现对样本中各组分/杂质的快速定位, 仍是方法学研究的重点。

关键词: 大环内酯类抗生素; 质量控制; 药典修订; 质量标准

中图分类号: R917 **文献标志码:** A

The keypoints of proposed supplement and revision to macrolide antibiotics in the Chinese Pharmacopoeia 2015 Edition

Yao Shang-chen and Hu Chang-qin

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050)

Abstract The supplement and revision of Chinese Pharmacopoeia 2020 Edition has been started. In this paper, the future keypoints of revising macrolide antibiotics are introduced, on the basis of summarizing the characteristics of macrolides and further interpretation of changes in Chinese Pharmacopoeia 2015 Edition. In view of the complex components/impurity profile of macrolides, the supplement and revision work should be focused on the control of components/related substances, especially those which are process-related. Therefore, the development of HPLC methods with high specificity, desired repeatability robustness, and the capacity of identifying various components/impurities rapidly is still the key point of future methodology research.

Key words Macrolide antibiotics; Quality control; Specification; Pharmacopoeial revision

大环内酯类抗生素(macrolide antibiotics)是临床常用的经典抗生素, 其分子中具有大环内酯结构, 多为碱性亲脂性化合物。大环内酯类抗生素通过与细菌50S亚基结合, 抑制细菌蛋白质的合成而发挥抑菌作用^[1]。中国药典2015年版中共收载了493个抗生素品种的标准, 其中大环内酯类抗生素13个, 涉及46个质量标准。与中国药典2010年版相比, 此版药典新增品种1个(地红霉素)。前期, 本研究曾撰文解读了中国药典2015年版抗生素的质量标准, 并对未来国内抗生

素质量控制的总体发展方向进行了较全面的阐述^[2]。中国药典2020年版的增修订工作已经启动。本文拟针对大环内酯类抗生素的特点, 在进一步解读中国药典2015年版变化的基础上, 为中国药典的进一步修订提供思路与方法。鉴于国内仿制药品的一致性评价工作已经启动, 对大环内酯类抗生素制剂标准的增修订工作将围绕着一致性评价开展, 故本文重点围绕其原料标准的增修订展开讨论。

1 抗生素质控理念的变化

收稿日期: 2017-04-07

作者简介: 姚尚辰, 女, 生于1976年, 副主任药师, 主要从事药物质量分析与研究, E-mail: yw_sc@sina.com

大环内酯类抗生素按其母核结构，主要可分为十四元环和十六元环两大类：前者主要为红霉素及其衍生物(阿奇霉素虽然为十五元环，但由于其是红霉素的衍生物，故通常仍归于十四元环)；后者主要为螺旋霉素和吉他霉素的衍生物。十四元环大环内酯类抗生素除红霉素外，均以红霉素为起始原料，进一步通过化学修饰反应得到；而十六元大环内酯类抗生素主要由微生物的发酵产物经分离纯化或简单的衍生化反应得到。中国药典2015年版抗生素的质控理念已经由传统的“以生物学控制为主，化学分析为辅”转变为“以化学分析为主，生物学分析为辅”的理念；对多组分抗生素，2015版药典中首次接受了“绝对含量”替代“相对比例”的理念，并将发酵来源的多组分抗生素中的组分进一步分为活性组分和无效组分/杂质分别进行控制^[2]；这些理念将对大环内酯类抗生素的进一步增修订起到指导作用。

2 十四元环大环内酯类抗生素的增修订

中国药典2015年版收载有红霉素、琥乙红霉素、依托红霉素、硬脂酸红霉素、罗红霉素、克拉霉素、阿奇霉素和地红霉素共8种，其中第一代红霉素衍生物有琥乙红霉素、依托红霉素和硬脂酸红霉素，第二代红霉素衍生物有罗红霉素、克拉霉素、阿奇霉素和地红霉素。目前中国药典尚未收录第三代大环内

酯类抗生素，如：泰利霉素(telithromycin)；此外，中国药典尚未收载但国内市场有一定销售量的品种有环酯红霉素。泰利霉素是半合成大环内酯-林可酰胺-链阳霉素(B MLSB)家族中的第一个药物，属酮内酯类(ketolides)抗生素。系在14元环大环内酯类分子结构中，用3-酮基取代L-红霉糖(L-cladinose)，并在6位代入甲氧基。此外，在泰利霉素的C11和C12位之间还有一个伸展性的氨基甲酸。现均为进口的泰利霉素制剂^[3]。本品执行进口注册质量标准，环酯红霉素是红霉素环11,12-碳酸酯，是由波兰华沙制药工业研究所首先合成的一种红霉素衍生物，它对革兰阳性菌及支原体有较好的抗菌活性^[4]。本品在局标准有收载。

2.1 中国药典2015版的增修订情况

相对于中国药典2010年版，中国药典2015年版对十四元环大环内酯类抗生素品种红霉素和阿奇霉素进行了较大幅度的修订。

2.1.1 红霉素

红霉素的主要活性组分有红霉素A、红霉素B和红霉素C。中国药典2010年版，采用HPLC等度洗脱方式，控制红霉素A组分，同时控制红霉素B、C组分及有关物质，但与欧洲药典8.0及美国药典38版相比质控水平略低(表1)^[5-7]，该HPLC系统对红霉素组分及杂质的分离与检测均不理想。

表1 各国药典中红霉素组分/有关物质检查方法的对比
Tab. 1 Comparison of erythromycin components/related substances checking methods in Pharmacopoeias

项目	方法	中国药典2010版	欧洲药典8.0	美国药典38	中国药典2015版
有关物质	色谱柱	十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂	苯乙烯-二乙烯苯共聚物柱	苯乙烯-二乙烯苯共聚物柱	十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(XTerra RP C ₁₈ 柱)
	流动相	磷酸盐溶液(取磷酸氢二钾8.7g，加水1000mL，用20%磷酸调节pH值至8.2)-乙腈(40:60)	取50mL磷酸盐溶液(35g/L磷酸氢二钾溶液，用稀磷酸调pH9.0)，400mL水，165mL 2-甲基-2-丙醇溶液，30mL乙腈，加水至1000mL	溶液A[取50mL磷酸盐溶液(35g/L磷酸氢二钾溶液，用稀磷酸调pH9.0)，400mL水，165mL叔丁醇，30mL乙腈，加水至1000mL]-乙腈-水(5:2:1)	流动相A：乙腈-0.2mol/L磷酸氢二钾溶液(用磷酸调节pH7.0)-水(35:5:60)； 流动相B：乙腈-0.2mol/L磷酸氢二钾溶液(用磷酸调节pH7.0)-水(50:5:45)； 梯度洗脱
	波长/nm	215	215	215	210
	柱温/℃	35	70	65	65
	定量方式	主成分自身对照法	外标法	外标法	主成分自身对照法
	限度	单个杂质不得大于3.0%，各杂质和不得大于5.0%	单个杂质不得过3.0%，总杂质不得过7.0%	单个杂质不得大于3.0%	杂质C不得过3.0%，杂质A、B、E、F、D及其他单个杂质均不得过2.0%，各杂质总量不得过7.0%
红霉素B和C	方法	同有关物质	同有关物质	同有关物质	同有关物质
	定量方式	主成分自身对照法	外标法	外标法	外标法
	限度	均不得大于5.0%	均不得大于5.0%	红霉素B不得过12.0%，红霉素C不得过5.0%	按无水物计，均不得过3.0%
红霉素A组分	定量方式	外标法	外标法	外标法	外标法
	限度	按无水物计算，不得少于88.0%	按无水物计算，红霉素A~C之和应为93.0%~102.0%	按无水物计算，红霉素A~C之和应为85.0%~100.5%	按无水物计算，不得少于93.0%

在对文献方法^[8]进行充分验证的基础上,中国药典2015年版对红霉素色谱系统进行了全面修订,对红霉素组分及杂质分析的典型色谱图见图1。其中红霉素A的保留时间约为23min,杂质A~F的相对保留时间分别约为0.4、0.5、0.9、1.6、2.3和1.8,红霉素B和C的相对保留时间约为1.7和0.55。标准中除分别控制已知杂质(杂质A~F)的量外,还控制未知单个杂质和杂质总量;并紧密结合国内主要红霉素出口企业的实际产品情况,确定红霉素组分和有关物质的限度。红霉素A的含量规定为“以无水物计,不得少于93.0%”,红霉素B和C的含量规定为“以无水物计,均不得过3.0%”,此限度均超过国外标准的水平。

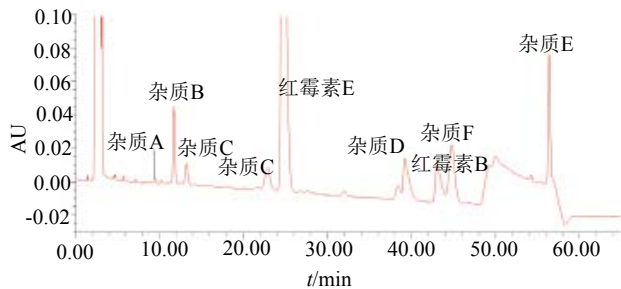


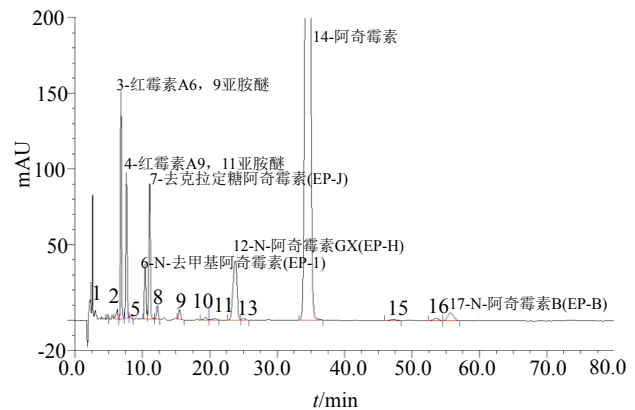
图1 中国药典2015年版红霉素色谱系统典型色谱图
Fig. 1 HPLC of erythromycin in Chinese Pharmacopoeia 2015 Edition

对红霉素标准的修订给出了明确信息:通过加强对发酵来源的抗生素组分与有关物质的控制,在与国际标准接轨的同时,体现出我国抗生素制造工业的水平和地位,使得国内企业在国际市场中具有重要话语权。此外,在标准中增加了色谱柱、参考图谱和杂质的信息,保证了分析方法的粗放性和实用性,体现了中国药典2015年版标准的先进性。

2.1.2 阿奇霉素

阿奇霉素是由红霉素半合成得到的十五元大环内酯类抗生素,其生产工艺主要以红霉素A为起始物,经过肟化、Beckman重排扩环和还原甲基化等多个步骤合成^[9-11]。阿奇霉素生产中涉及的工艺杂质、副产物和中间体等可达30多种^[12]。通过对国内阿奇霉素生产工艺的考察,发现国内阿奇霉素产品还含有红霉素肟(杂质S),红霉素A6, 9-亚胺醚(杂质Q)和红霉素A9, 11-亚胺醚(杂质R)3个特有的杂质。

中国药典2015年版根据国产阿奇霉素有关物质的特点,对阿奇霉素有关物质色谱系统进行了全面修订,在其有关物质项下,控制了产品中常见的已知杂质(杂质R、Q、J、I、S、A和H)的量(图2);其中对与国外药典共有的已知杂质限度与国外药典相



注:色谱柱为Shiseido Capcell Pak C₁₈ MG II (4.6mm×250mm,5μm)

图2 阿奇霉素有关物质分析系统适用性试验色谱图
Fig. 2 HPLC system suitability chromatogram of related substances analysis of azithromycin

当;对国内产品中特有杂质的限度,根据欧洲药物管理局(EMA)对抗生素有关物质制订的指导原则^[5]确定(表2);以便全面的控制本品质量。此外,中国药典2015年版还将各类成盐剂生产的注射剂用阿奇霉素统一成一个标准,通过制订严格的杂质限度,使得不合理成盐剂如各类强酸成盐的产品退出市场,进一步保证了制剂的安全性。

对阿奇霉素标准的修订给出了明确的信息:对半合成红霉素衍生物,应在对国内工艺充分了解的基础上,通过强化对有关物质的控制,分别控制由原料引入的杂质(如阿奇霉素B)和工艺中产生的杂质(如阿奇霉素杂质J);对国内工艺中的特有杂质,应参照EMA的指导原则确定杂质限度。同样,通过在标准中增加色谱柱、参考图谱和杂质等信息,可保证分析方法的粗放性和实用性。

2.2 十四元环大环内酯类抗生素的拟增修订重点

2.2.1 第一代红霉素衍生物

对该类抗生素的质控要点包括对起始原料红霉素的控制,对合成工艺及产品贮存期稳定性的控制。国外药典通过对产品中红霉素A~C比例的控制,控制红霉素原料来源;通过对来源于红霉素的杂质的控制,控制起始原料的质量;通过对合成工艺中引入的特定杂质的控制,如对琥乙红霉素中的红霉素N-乙基琥珀酸酯(erythromycin N-ethylsuccinate)的控制,实现对生产过程的控制;通过对游离红霉素含量的控制,控制合成工艺及产品贮存期的稳定性。与国外药典相比,中国药典2015年版的最大差距在于没有对第一代红霉素衍生物中的组分及有关物质进行控制。由于第一代红霉素衍生物极易水解^[13],在对其组分与杂质进

表2 阿奇霉素有关物质检查各国方法对比
Tab. 2 Comparison of azithromycin related substances checking methods in Pharmacopoeias

项目	方法	中国药典2010版	欧洲药典8.0	美国药典38	中国药典2015版
有关物质	色谱柱	十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂	十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂	方法1: L29预柱与L29或L49柱; 方法2: 十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂	十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂
	流动相	磷酸盐缓冲液(pH8.2)-乙腈(45:55)	流动相A: 磷酸盐缓冲液(pH8.9); 流动相B: 甲醇-乙腈(25:75); 梯度洗脱	方法1: 磷酸二氢钾(pH11)-乙腈系统; 方法2: 同欧洲药典	流动相A: 磷酸盐缓冲液(pH8.2)-乙腈(45:55); 流动相B: 甲醇; 梯度洗脱
	波长/nm	210	210	方法1: 电化学检测器; 方法2: 210nm	210
	柱温/℃	30	60	60	30
	限度	阿奇霉素Gx、红霉素A 偕亚胺醚不得过0.5%(注射用)1.0%(口服); 单个杂质不得过0.5%(注射用)1.0%(口服), 各杂质和不得过2.0%(注射用)4.0%(口服)	杂质B不得过2.0%, 杂质A、C、E、F、G、H、I、L、M、N、O和P不得过0.5%, 其他单个杂质不得过0.2%, 总杂质不得过3.0%	方法1: 杂质I不得过0.7%, 杂质J不得过0.3%; 方法2: 杂质B不得过1.0%, I不得过0.7%, J不得过0.3%, P不得过0.2%, 杂质ACEFGLMNO不得过0.3%; 其他单个杂质不得过0.2%, 总杂质不得过3.0%	杂质B不得过1.0%(注射用)2.0%(口服), 杂质R、Q、J、I、S、A和H不得过0.5%(注射用)1.0%(口服); 单个杂质不得过0.5%(注射用)1.0%(口服), 各杂质和不得过2.0%(注射用)4.0%(口服)

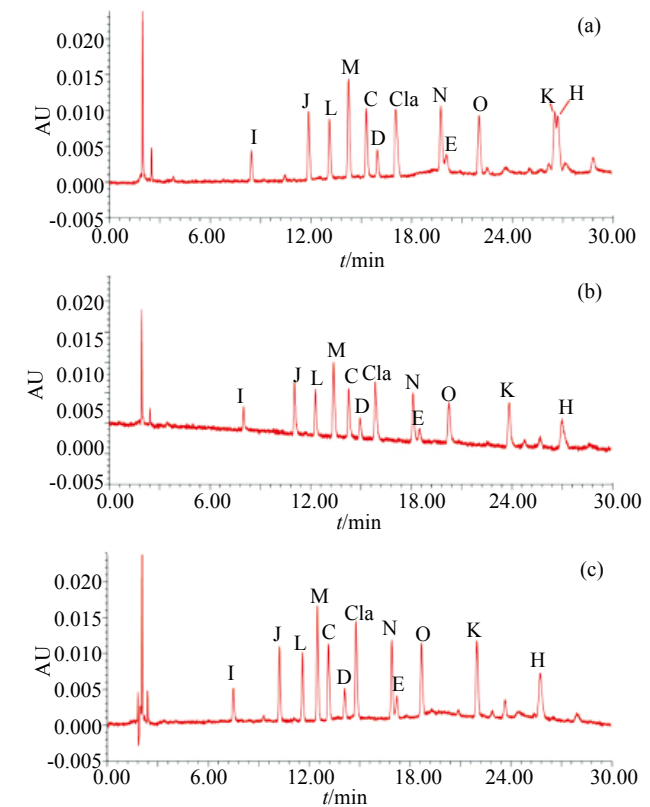
行控制时，通常采用水解的方法，使其完全水解成红霉素后再进行测定，所采用的方法也多与红霉素组分/有关物质方法相似。鉴于中国药典2015年版对红霉素组分/有关物质方法已经进行了全面修订，在此基础上增订第一代红霉素衍生物的组分/有关物质控制方法条件已经具备，在2016年中国食品药品检定研究院组织的国家评价性抽检中，也已经设立了课题组对其进行专项研究，结合国内产品的实际数据将有利于制定出合理的质量标准。

2.2.2 第二代红霉素衍生物

中国药典2015年版该类抗生素与国外药典的主要差距在于有关物质控制中没有较好的控制与工艺相关的特定杂质。如对克拉霉素有关物质的控制，欧洲药典将其10余种杂质作为特定杂质进行控制(图3)，而中国药典仅对最大杂质和总杂质的含量进行控制。从质控方法角度，经比较，认为EP收载的克拉霉素和罗红霉素等有关物质控制方法是较理想的质控方法，但如何实现对其中特定杂质的控制是难点。中国药典2015年版在阿奇霉素有关物质分析方法中，采用混合杂质对照品结合标准图谱对特定杂质进行定位，以主成分对照法对阿奇霉素的诸杂质分别进行定量，较好的解决了上述难题，这也是其他第二代红霉素衍生物有关物质质控的方向。目前中国食品药品检定研究院已经启动了对克拉霉素和罗红霉素混合杂质对照品的研制。

对复杂的HPLC杂质分析系统，如何选择适宜的色谱柱是应用中另一需解决的难题。图3示克拉霉素

诸杂质在不同色谱柱的保留情况，可见利用标准图谱在色谱柱选择和对杂质定位的重要性。基于疏水消除模型提出了通过溶质分离参数-溶质参数-色谱柱



注: Cla: 克拉霉素; I,J,L,M,C,D,N,E,O,K,H: 克拉霉素杂质 I,J,L,M,C,D,N,E,O,K,H; 色谱柱: (a): Zorbax SB-C₁₈; (b): J'Sphere H80; (c): Symmetry C₁₈

图3 欧洲药典色谱系统分析克拉霉素杂质的典型色谱图
Fig. 3 HPLC of related substances analysis of carithromycin in European Pharmacopoeia

参数定量关系选择最佳色谱柱的新模式，以克拉霉素及其11个已知杂质为分析对象，选择15支性质差异较大的建模色谱柱，建立了表征溶质分离的参数(α)、溶质参数与色谱柱参数之间的定量关系。应用该模型可准确预测药物难分离杂质对在色谱柱中的分离情况，从而筛选出最佳色谱柱^[14]。该方法也可以用于色谱系统中对特定杂质的定位。

3 十六元环大环内酯类抗生素的增修订

中国药典2015年版收载有麦迪霉素、麦白霉素、交沙霉素、吉他霉素和乙酰螺旋霉素共5种，中国药典尚未收载但国内市场有一定销售量的品种还有乙酰麦迪霉素(醋酸麦迪霉素)、丙酸交沙霉素和螺旋霉素等。

3.1 中国药典2015版的增修订情况

该类抗生素由于源于发酵，小组分/杂质的组成比较复杂，其有效成分包括多种结构相似的成分^[15]。如吉他霉素是以吉他霉素A₅、A₄、A₁和A₁₃等组分为主，并含有吉他霉素A₉、A₈、A₇、A₆和A₃等小组分的抗生素^[16]。另外，该类抗生素的杂质谱十分复杂，其杂质不仅主要源于生物合成中所产生的小组分或杂质，且在半合成过程如酰化中，由于每一个组分/杂质均有多个酰化位点，使得组分/杂质的组成更为复杂^[17-19]。中国药典2015年版将交沙霉素作为该类抗生素的代表，进行了全面的修订。

交沙霉素是以吉他霉素A₃为主的多组分抗生素^[20]。在中国药典2010年版中，仅采用效价控制其有效性，未对组分进行控制。本品在欧洲药典8.0和日本药典16均有收载，其有关物质/组分方法及限度见表1^[5-6,21]。各国药典均将除交沙霉素A₃外的组分作为有关物质进行控制(表3)。中国药典2015年版对交沙霉素HPLC方法进行修订：首先建立了三元流动相梯度洗脱系统，首先了对交沙霉素有关物质及组分的良好分离，分别对交沙霉素中的活性组分(麦迪霉素A₁、吉他霉素A₁、A₃、A₄、A₆、A₇)和无效组分/杂质(杂质B、C、D、E和J)进行了定位，典型色谱图见图4；再根据多组分抗生素中活性成分与杂质的判定原则^[2,22]，规定各A组分(吉他霉素A1、A3、A4、A6、A7与麦迪霉素A1)的总和不得低于90.0%，吉他霉素A3组分不得低于87.0%，其他均作为有关物质控制，其总量不得超过8.0%。

通过对该典型品种的修订，对如何确认该类抗生素中的某一组分是活性成分还是杂质给出了明确的信息：(1)仿制类抗生素的组分及组成比例应与原研产品一致，原研产品中没有被定义为活性成分的组分被认为是杂质；(2)对与母体化合物结构相关的小组分，如其在其他品种中已经被认为是有效组分，如交沙霉素中的麦迪霉素A1，则可作为有效组分；(3)对其他新组分，如果没有足够的临床前/临床

表3 交沙霉素有关物质/组分检查各国方法对比
Tab. 3 Comparison of josamycin related substances/components checking methods in Pharmacopoeias

		中国药典2010版	欧洲药典8.0	日本药典16	中国药典2015版
有关物质	色谱柱	十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂	十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂	十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(粒径3 μ m)	十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂
	流动相	高氯酸溶液(取高氯酸钠-水合物119g，加水至1000mL，用1mol/L盐酸溶液调节pH值至2.5)-乙腈(60:40)	流动相A：[67.9g/L四丁基氢氧化铵溶液-27.6g/L磷酸二氢钠溶液(3:5)用稀磷酸调pH3.0]-乙腈-水(8:21:71)；流动相B：[27.6g/L磷酸二氢钠溶液用稀磷酸调pH3.0]-乙腈-水(5:50:45)；梯度洗脱	高氯酸溶液(取高氯酸钠-水合物119g，加水至1000mL，用1mol/L盐酸溶液调节pH值至2.5)-乙腈(60:40)	流动相A：高氯酸溶液(取高氯酸钠-水合物119g，加水至1000mL，用1mol/L盐酸溶液调节pH值至2.5)-乙腈-四氢呋喃(152:94:4)；流动相B：乙腈；梯度洗脱
	波长/nm	231	232	231	231
	柱温/℃	40	45	40	25~30
	定量方式	主成分自身对照法	外标法	峰面积归一化法	主成分自身对照法
	限度	单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积(3.0%)，各杂质峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积的4倍(12.0%)	杂质A~E不得过5.0%，其他单个杂质不得过3.0%，总杂质不得过20.0%	单个杂质峰面积之比不得过6%，总杂质峰面积之比不得过20%。	杂质B~D不得过2.0%，杂质E不得过5.0%，其他单个杂质不得过2.0%，杂质总量不得过8.0%
组分	定量方式	无	无	无	外标法
	限度	无	无	无	按干燥品计，吉他霉素A ₃ 应不低于87.0%；吉他霉素A ₁ 、A ₃ 、A ₄ 、A ₆ 、A ₇ 与麦迪霉素A ₁ 之和应不低于90.0%

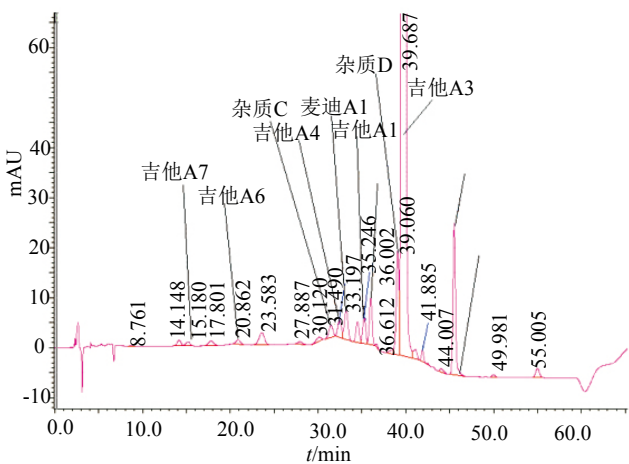


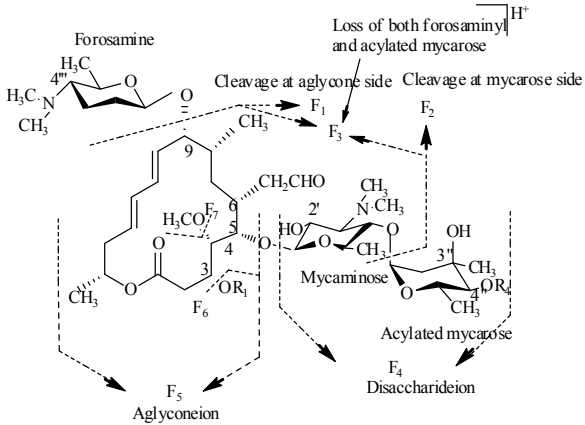
图4 中国药典2015年版交沙霉素色谱系统典型色谱图
Fig. 4 HPLC chromatogram of josamycin in Chinese pharmacopoeia 2015 edition

研究数据的支持，一般应作为杂质控制。

3.2 十六元环大环内酯类抗生素的拟增修订重点

中国药典2015年版虽然对多数十六元环大环内酯类抗生素均进行了组分控制，但多数均控制组分的相对比例如乙酰螺旋霉素等，而未控制其绝对含量；此外，对产品中的诸多组分尚未按活性组分和无效组分/杂质进行区分与控制。这将是新版药典增修订的重点。

为实现上述目标，对样品中诸多小组分的结构确证是其难点。本文对十六元环大环内酯类抗生素的质谱裂解规律进行了系统的总结^[19]，图5乙酰螺旋霉素主组分糖苷键断裂产生的特征碎片离子(F1~F5)，而利用特征离子F5~F7组合可以判定化合物的内酯环结构，据此可以快速推断出小组分的结



化合物	组分	[M+H] ⁺	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7
乙酰螺旋霉素	4"-单乙酰螺旋霉素III(4"-mono ASPM III)*	941	782	755	596	360	405	331	299
(acetylspiramycin,	4"-单乙酰螺旋霉素II(4"-mono ASPM II)*	927	768	741	582	360	391	331	299
ASPM)	3",4"-双乙酰螺旋霉素III(3",4"-di ASPM III)	983	824	755	596	402	405	331	299
	3",4"-双乙酰螺旋霉素II(3",4"-di ASPM II)	969	810	741	582	402	391	331	299

注： 4"-单乙酰螺旋霉素III(4"-mono ASPM III)*=4"-乙酰螺旋霉素III(4"-acetyl SPM III)

图5 十六元环大环内酯类抗生素的质谱裂解规律示例

Fig. 5 The example of Acetylspiramycin to illustrate the fragmentation rules of 16-membered ring macrolide antibiotics

构。此外，建立三元流动相梯度洗脱系统，对含有诸多小组分/杂质的十六元环大环内酯类抗生素进行有效分离是进行组分控制的另一关键。中国食品药品检定研究院近年来对多个十六元环大环内酯类抗生素的组分分析进行了探讨，这些研究成果将直接用于中国药典2020版的修订。

4 总结

鉴于大环内酯类抗生素具有组分/杂质谱复杂之特点，对诸品种中组分/有关物质，特别是与工艺相

关的特定杂质的控制，是中国药典2020版增修订的重点；而开发具有高专属性的HPLC方法，保证分析方法具有理想的重复性和粗放性，方便地实现对样本中诸组分/杂质的快速定位，仍是增修订中方法学研究的关键。

参考文献

[1] Omura S. Macrolide antibiotics: Chemistry, biology, and practice[M]. Academic Press, 2002.

- [2] 胡昌勤. 中国药典2015年版的增修订与抗生素质量控制方向[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(20): 1764-1769.
- [3] 孙忠实, 朱珠. 新型抗生素泰利霉素[J]. 中国新药杂志, 2002, 11(7): 528-530.
- [4] 林菲菲, 陈笑艳, 戴晓健, 等. 液相色谱-串联质谱法测定人血浆中环酯红霉素[J]. 中国药学杂志, 2010, 45(13): 1020-1023.
- [5] The China Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (in Chinese)[S]. 2015ed. Beijing: China Medical Science Press, 2015.
- [6] The European Pharmacopoeia Commission. The European Pharmacopoeia 8th Ed[S]. Strasbourg: Council of Europe, 2013.
- [7] The United States Pharmacopoeial Convention. The United States Pharmacopoeia-National Formulary (USP38-NF)[S]. The United States Pharmacopoeial Convention, 2015.
- [8] Bossche L, Lodi A, Schaar J, *et al.* An interlaboratory study on the suitability of a gradient LC-UV method as a compendial method for the determination of erythromycin and its related substances[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 53(1): 109-112.
- [9] Morimoto S, Takahashi Y, Watanabe Y, *et al.* Chemical modification of erythromycins. I. Synthesis and antibacterial activity of 6-*O*-methylerythromycins A[J]. *J Antibiot*, 1984, 37(2): 187-189.
- [10] Moellering R C Jr. Introduction: Revolutionary changes in the macrolide and azalide antibiotics[J]. *Am J Med*, 1991, 91(3A): 1S-4S.
- [11] 马敏, 姚国伟, 史颖, 等. 阿奇霉素合成工艺的改进[J]. 精细化工, 2006, 23(8): 781-783.
- [12] Chang Y, Wang L X, Li Y P, *et al.* Factors influencing the HPLC determination for related substances of azithromycin[J]. *J Chromatogr Sci*, 2016, 54(2): 187-194.
- [13] Chepkwony H K, Dehouck P, Roets E, *et al.* Isocratic separation of erythromycin, related substances and degradation products by liquid chromatography on XTerra RP18[J]. *Chromatographia*, 2000, 53(3-4): 159-165.
- [14] Zhang X, Hu C Q. Selecting optimal columns for clarithromycin impurity analysis according to the quantitative relationship of hydrophobic subtraction model[J]. *J Pharma Biomed Anal*, 2017, 136(3): 162-169.
- [15] Hu M, Hu C Q. Identification of the components of 16-membered macrolide antibiotics by LC/MS[J]. *Analyt Chim Acta*, 2005, 535(1-2): 89-99.
- [16] Vézina C, Bolduc C, Kudelsk A, *et al.* Biosynthesis of kitasamycin (leucomycin) by leucine analog-resistant mutants of *Streptomyces kitasatoensis*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1979, 15(5): 738-746.
- [17] Kirst H A. Semi-synthetic derivatives of 16-membered macrolide antibiotics[M]. *Progress in Medicinal Chemistry*, 1994, 31: 265-296.
- [18] 胡敏, 胡昌勤. LC-MS分析乙酰吉他霉素组分及水解产物[J]. 药学报, 2006, 41(5): 476-480.
- [19] Wang M J, Pendela M, Hu C Q, *et al.* Impurity profiling of acetylspiramycin by liquid chromatography-ion trap mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(42): 6531-6544.
- [20] Omura S, Hironaka Y, Hata T. Chemistry of leucomycin. IX identification of leucomycin A3 with josamycin[J]. *J Antibiot*, 1970, 23(10): 511-513.
- [21] Pharmacopoeia of Japan 16th Ed. 日本厚生省出版社, 2010.
- [22] Omura S. Macrolide antibiotics: Chemistry, biology and practice[M]. Academic Press, 2002.