

文章编号: 1001-8689(2019)02-0228-05

注射用头孢呋辛钠杂质谱研究

邓贵福^{1,2,3}

(1 重庆市食品药品检验检测研究院, 重庆 401121; 2 重庆市药物过程与质量控制工程技术研究中心, 重庆 401121;

3 重庆市化学药品质量控制与评价协同创新中心, 重庆 401121)

摘要: **目的** 对两个国内厂家生产的注射用头孢呋辛钠和原研品的杂质谱进行对比分析, 并对检出主要杂质的结构和来源进行分析。**方法** 采用中国药典有关物质方法对注射用头孢呋辛钠的杂质情况进行对比分析, 采用高分辨质谱对检出的主要杂质进行结构鉴定。**结果** 两个国内厂家产品的杂质谱与原研品相当, 检出的主要杂质的结构一致。**结论** 注射用头孢呋辛钠中检出的杂质主要为降解杂质, 为保证临床用药的安全性, 建议在中国药典中增加对已知降解杂质的控制。

关键词: 头孢呋辛钠; 杂质谱; 原研品; 高分辨质谱**中图分类号:** R917 **文献标志码:** A

Study on the impurity profile of cefuroxime sodium for injection

Deng Gui-fu^{1,2,3}

(1 Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing 401121; 2 Chongqing Engineering Research Center for Pharmaceutical Process and Quality Control 401121; 3 Collaborative Innovation Center for Chemical Medicine Quality Control and Evaluation, Chongqing 401121)

Abstract Objective To compare the impurity profiles of cefuroxime sodium for injection produced by two domestic pharmaceutical manufactures and the original drugs, and study the sources and structures of major impurities. **Methods** To detect and analyze the impurity profiles of cefuroxime sodium for injection by the related substances method in the Chinese Pharmacopoeia. To identify the structures of major impurities, high resolution mass spectrometry was used. **Results** The impurity profiles of cefuroxime sodium for injection produced by two domestic pharmaceutical manufactures are similar to that of the original drugs, and the structures of the major impurities were the same. **Conclusion** In order to ensure the safety of clinical medication, it is recommended that the control of known degradable impurities in Chinese Pharmacopoeia should be increased, because the major impurities detected in cefuroxime sodium for injection are mainly come from degradation.

Key words Cefuroxime sodium; The impurity profiles; The original drugs; High resolution mass spectrometry

头孢呋辛 (cefuroxime) 是英国葛兰素公司于 1974 年研究开发的第二代头孢菌素类抗生素, 抗菌活性强, 临床用于敏感的致病菌引起呼吸道感染、耳鼻喉感染、泌尿系统感染、败血症、脑膜炎、骨和关节感染、皮肤软组织感染、腹腔感染、生殖系统感染包括淋病, 也可用于术前预防感染^[1]。不良反应较少见, 多表现为轻度过敏反应和消化道症状等^[2]。上市剂型主要为粉针剂, 美国有粉液双室袋产品上市。

头孢菌素一般由微生物发酵、纯化、精制以及化学修饰等过程制得, 可能含有的杂质情况较常规化学合成药品更为复杂^[3]。此外, 头孢菌素结构不稳定, 在生产及储存过程中遇光、热、水等条件均会发生降解反应, 形成一系列的降解物及聚合物^[4], 使其失去抗菌活性, 甚至产生毒副反应。因此, 对药品的杂质谱进行研究, 明确杂质结构和产生机理, 对改进生产工艺, 优化储存条件, 提高产品质量具有重要意义。

收稿日期: 2018-03-08

作者简介: 邓贵福, 男, 生于 1984 年, 硕士, 研究方向为药品质量控制和药品审评, E-mail: dgfgood@163.com

中国药典 2015 年版已收载头孢呋辛钠原料及注射用头孢呋辛钠, 头孢呋辛钠原料药还收载于美国药典 40 版、英国药典 2017 版及欧洲药典 8.0 版。其中美国药典 40 版未对有关物质进行控制, 中国药典仅控制了单个杂质和总杂质^[5], 未对头孢呋辛钠的特定杂质(工艺或降解杂质)进行针对性的控制; 欧洲药典 8.0 版提供了 9 个杂质的结构, 并规定去氨甲酰头孢呋辛的含量不得过 1.0%, 还规定了单个杂质和总杂质的限度^[6]。

本研究对中国药典和欧洲药典收载的有关物质进行了对比研究, 结果显示, 中国药典方法检出的杂质个数更多, 杂质含量更高, 且由于采用的梯度洗脱方式, 各杂质的分布较均匀, 分离度更好。后续研究均采用中国药典方法对注射用头孢呋辛钠的有关物质进行研究, 并采用多个已知杂质进行了方法学验证。

本研究对国内两个厂家的注射用头孢呋辛钠和原研品“西力欣”的杂质谱进行了对比分析, 并对检出的主要杂质进行了结构解析和来源分析, 为完善药品质量标准, 保证临床用药的安全性提供了参考。

1 仪器和试剂

1.1 仪器

Waters 高效液相色谱仪 (Waters e2695, PDA 检测器)。色谱柱: Agilent Eclipse Plus C₈(5 μ m, 4.6mm \times 250mm)。布鲁克 Impact II 飞行时间质谱仪, 电喷雾电离源 (ESI)。AX205 分析天平 (瑞士万通)。

1.2 试剂

乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 醋酸钠和冰醋酸等其他试剂为分析纯。注射用头孢呋辛钠 A 厂家 (批号: 17011614) 和 B 厂家 (批号: 20170701) 均为 0.75g, 原研品“西力欣”(注射用头孢呋辛钠, 0.75g 规格, 批号: J853, 葛兰素制药公司生产)。杂质对照品 A (批号: 17-04-1901, 纯度 95.3%)、E (批号: 17-05-2005, 纯度 95.9%)、H (批号: 17-04-2003, 纯度 98.7%) 由 Sinco pharmachem 公司提供, B (批号: 3-NAV-50-1, 纯度 97.0%)、C (批号: 7-FLI-89-1, 纯度 96.0%)、D (批号: 17-04-2002, 纯度 95.5%)、F (批号: 21-MAY-17-12, 纯度 97.2%)、G (批号: 2464-065A10, 纯度 96.8%)、I (批号: 2-MSW-107-1, 纯度 97.0%) 杂质对照品由 LGC 公司提供, 头孢呋辛对照品 (批号: 130493-201105, 含量 92.1%) 由中国食品药品检定研究院提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

照《中国药典》2015 年版二部“注射用头孢呋辛钠”项下的有关物质检查方法进行测定。

2.2 有关物质方法学验证

2.2.1 专属性

分别称取头孢呋辛及各杂质对照品适量, 分别配制浓度约为 0.1mg/mL 的储备液, 再稀释为 0.025mg/mL 的溶液, 进样, 进行各组分的定位。同时配制各组分的混合溶液, 记录色谱图, 结果显示各相邻峰的分离度均大于 1.5, 说明本方法的专属性良好。

图中已积分的各峰依次分别为杂质 I 和 A、头孢呋辛、杂质 F、E、C、B、H、G 及杂质 D (图 1)。

2.2.2 强制降解试验

取供试品适量在水解 (60 $^{\circ}$ C, 30min)、碱降解 (1mol/L 的氢氧化钠溶液)、酸降解 (1mol/L 的盐酸溶液)、氧化降解 (1% 的 H₂O₂ 溶液)、高温 (105 $^{\circ}$ C, 16h)、光照 [(4500 \pm 500)Lx, 4d] 条件下破坏后进行测定, 结果显示各破坏条件下主峰与杂质能有效分离。各破坏条件下本品的降解杂质产生情况见表 1。

2.2.3 定量限和检测限

取头孢呋辛和各杂质对照品的储备液, 采用逐级稀释法制备稀释溶液, 进样 20 μ L, 取相当于基线噪声 10 倍时溶液浓度做为最低定量限, 取相当于基线噪声 3 倍时溶液浓度做为最低检测限, 记录色谱图。经计算, 杂质 I 的最低定量限约为主成分的 0.007%, 最低检测限约为主成分的 0.002%; 杂质 A 的最低定量限约为主成分的 0.04%, 最低检测限约为主成分的 0.01%; 其他组分的最低定量限约为主成分的 0.07%, 最低检测限约为主成分的 0.02%。

2.3.4 其他项目

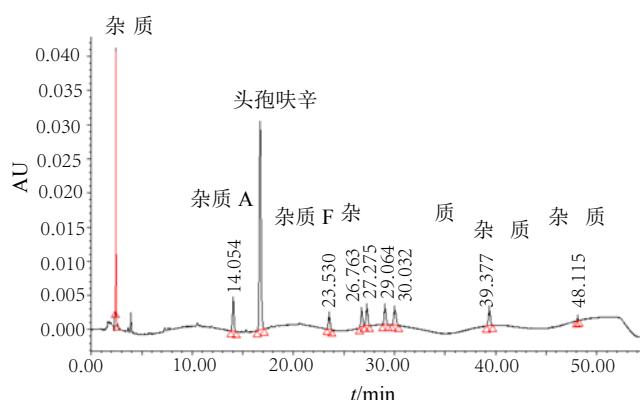


图 1 杂质混合溶液色谱图

Fig. 1 The chromatogram of impurity mixed solution

表 1 头孢呋辛各杂质降解途径分析

Tab. 1 The impurities degradation pathway of cefuroxime sodium

降解类型	高温	光照	水解	酸	碱	氧化
RRT ≈ 0.38	△	△				△
RRT ≈ 0.46	△				△	△
RRT ≈ 0.55						△
RRT ≈ 0.69	△	△	△			
RRT ≈ 0.75	△				△	
杂质 A	△	△	△	△	△	△
RRT ≈ 0.89	△		△		△	△
RRT ≈ 1.14	△			△	△	
RRT ≈ 1.25				△	△	
杂质 F	△					
RRT ≈ 1.46	△					
杂质 E	△	△				△
杂质 C						
杂质 B						
杂质 H		△				
RRT ≈ 2.72	△			△	△	
杂质 D						
RRT ≈ 2.91	△					

注：“△”代表主要降解杂质

系统适用性、线性与范围、准确度、重复性、中间精密密度等均满足《药品质量标准分析方法验证指导原则》的要求。

2.4 杂质测定结果

分别配制国内两个厂家产品和原研品的供试品溶液, 进样进行有关物质测定, 结果见表 2。

由表 2 可知, 同原研品相比, 国内两个厂家的杂质个数较原研品稍少, 但是杂质的总量稍大。不同来源样品中检出的主要杂质 (接近或超过 0.1%) 相同, 分别为相对保留时间为 0.86、1.68 和 1.84 的杂质。

表 2 头孢呋辛钠杂质谱比较

Tab. 2 Comparison of the impurity profiles of cefuroxime sodium

杂质相对保留时间	原研品 (西力欣) /%	A 厂家 /%	B 厂家 /%
0.60	0.034	0.074	0.072
0.83	0.040	0.063	0.057
0.86(杂质 A)	0.106	0.101	0.103
1.11	0.042	0.019	0.015
1.50	0.034	-	-
1.61	0.055	-	-
1.68(杂质 E)	0.042	0.140	0.108
1.84(杂质 H)	0.081	0.203	0.197
2.40	0.089	0.062	0.077
2.90	-	0.022	-
总杂质	0.523	0.684	0.629

“-”：表示未检出

2.5 杂质定性研究

为明确各样品中检出主要杂质的结构和来源, 本研究改进了液相色谱条件 (将有关物质方法中的流动相 A 改变为 5mmol/L 的乙酸铵溶液, 用甲酸调节 pH 至 3.4, 以与质谱体系兼容, 其他条件不变), 以使色谱流出物用于质谱分析。

质谱分析条件: 离子化方式: ESI(+); 数据采集范围 m/z 50~600; 雾化气压力: 0.4Bar, 干燥气温度: 180℃, 干燥气流速: 4L/min, 碰撞电压: 7eV; 毛细管电压: 4kV, 锥孔电压: 2kV。

3 个厂家的产品中均出现了 3 个较大的杂质 (相对于主峰的保留时间分别为 0.86、1.68 和 1.84), 其中国内两个厂家这 3 个杂质均超过了 0.1%, 分别与已知杂质 A、E、H 的相对保留时间基本一致, 为进一步确认杂质的结构, 本研究采用 LC-MS 对这 3 个杂质峰的截留物和已知杂质 A、E、H 进行了对比分析, 相对保留时间为 0.86 杂质的分子离子峰 $[M+H]^+$ 的质量数质荷比为 382.0666, 与杂质 A 的质量数相符; 相对保留时间为 1.68 杂质的分子离子峰 $[M+Na]^+$ 的质量数质荷比为 447.0562, 与杂质 E 的质量数相符; 相对保留时间为 1.84 杂质的分子离子峰 $[M+H]^+$ 的质量数质荷比为 364.0583, 与杂质 H 的质量数相符; 同时对各杂质进行了二级质谱分析, 相对于主峰的保留时间分别为 0.86、1.68 和 1.84 的 3 个杂质的一级、二级碎片峰分别与已知杂质 A、E、H 质谱图一致, 可以推定为对应的已知杂质。各杂质的一级、二级质谱图, 以及相应的裂解途径见图 2~4。

3 讨论

不同来源产品中检出的 3 个较大杂质分别为杂质 A (去氨甲酰头孢呋辛), 为头孢呋辛钠在酸性等条件下水解脱去甲酰胺基团而得; 杂质 E (头孢呋辛反式异构体) 为头孢呋辛钠原料药合成过程中的工艺杂质, 也可能由于头孢呋辛钠在存放过程中结构发生反转而得到的反式异构体; 杂质 H (头孢呋辛内酯), 为头孢呋辛或去氨甲酰头孢呋辛在存放过程中由于高温或光照等的影响而发生分子内酯化反应而得的内酯物; 上述 3 个杂质均可由头孢呋辛钠降解产生, 需要有针对性地制定科学的限度, 以更好控制产品质量。

目前中国药典中有关物质方法对杂质的分离能力和检出能力均较好, 适用于本品的有关物质检测, 但是其控制单个杂质的限度为 1.0, 总杂质的限度为 3.0%。尚不满足目前药品技术审评审批的技术要求,

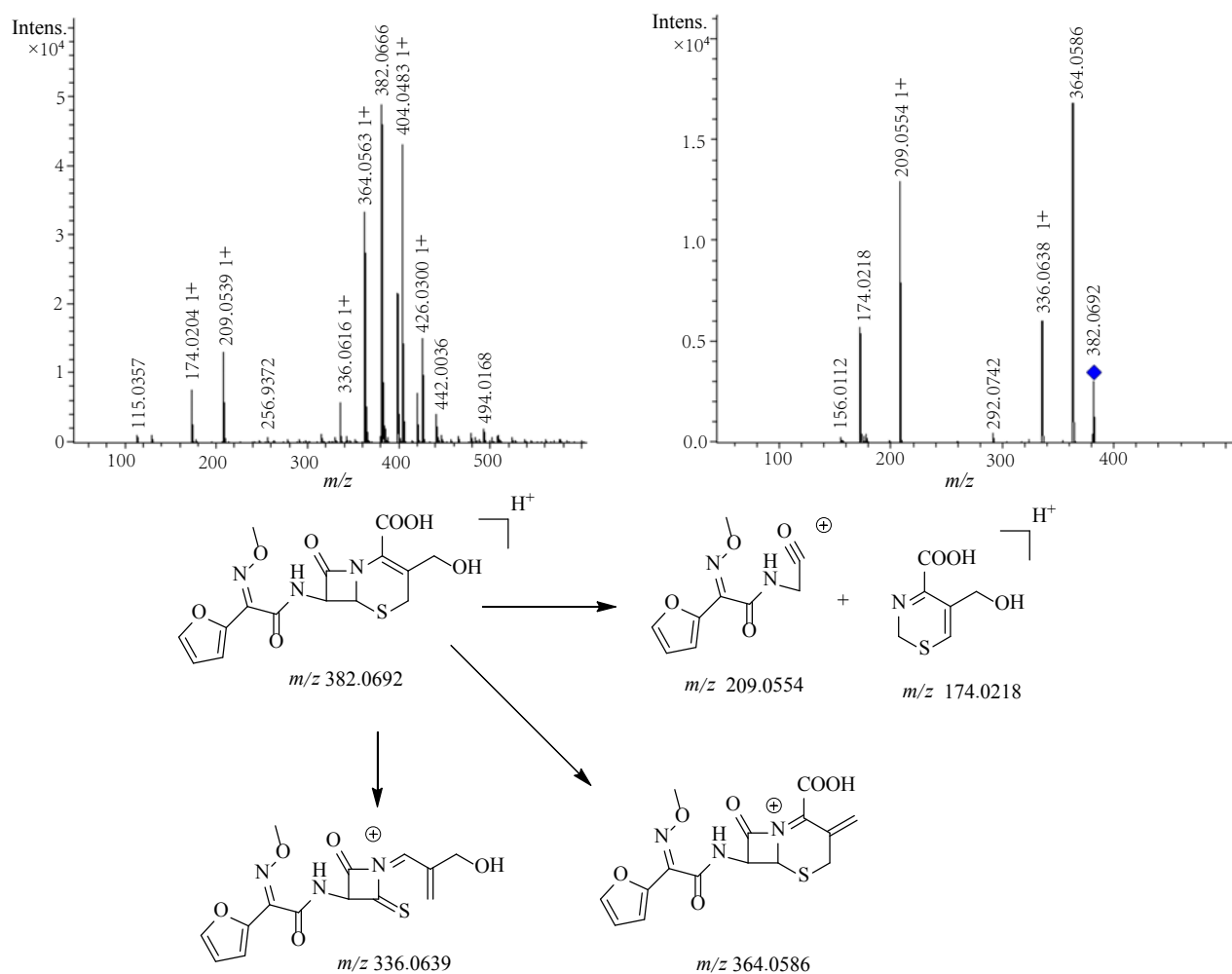


图2 杂质A的一级、二级质谱图及可能的裂解途径

Fig. 2 MS and MS² spectrum of impurity A and fragmentation pathway of impurity A

建议将杂质A、E、H作为已知杂质进行控制(本研究采用杂质对照品进行了校正因子测定,杂质A、E、H相对于主成分校正因子分别为0.91、1.09和1.00,可以采用不加校正因子的主成分自身对照法计算杂质含量),限度订为1.0%,同时增加对未知杂质的控制,限度参照EMA抗生素有关物质标准的指导原则^[7],订为0.2%,总杂质的限度仍为3.0%。

本文对中国药典2015年版注射用头孢呋辛钠有关物质方法对杂质的分离和检出能力进行了验证,结果表明适用于注射用头孢呋辛钠的有关物质检测;对比分析了两个国内厂家产品和原研产品的杂质谱情况,结果显示杂质个数和杂质含量没有显著性差别,并对样品中检出的较大杂质进行了定性分析;同时对《中国药典》2015年版注射用头孢呋辛钠的

有关物质限度控制给出了合理的建议,为更好地保证注射用头孢呋辛钠产品质量提供了参考。

参考文献

- [1] 曹卫凯. 头孢呋辛钠的合成研究[J]. 精细石油化工进展, 2016, 17(4): 55-58.
- [2] 刘跃建, 于云芝, 李小惠, 等. 注射用头孢呋辛钠临床研究[J]. 中国抗生素杂志, 2002, 27(12): 734-737.
- [3] 蒋煜, 张哲峰, 王虹. β -内酰胺类抗生素异构体杂质研究和质控进展[J]. 中国抗生素杂志, 2010, 8(35): 561-566.
- [4] 邓鸣, 陈宁周, 李浩, 等. 国产头孢克肟口服固体制剂有关物质研究[J]. 中国抗生素杂志, 2016, 7(41): 541-546.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. (2015年版二部). 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 261-262.
- [6] EDQM. European Pharmacopoeia[S]. 8.0. Monographs: 1818-1819.
- [7] EMA. Guideline on setting specifications for related impurities in antibiotics[S]. 2012.

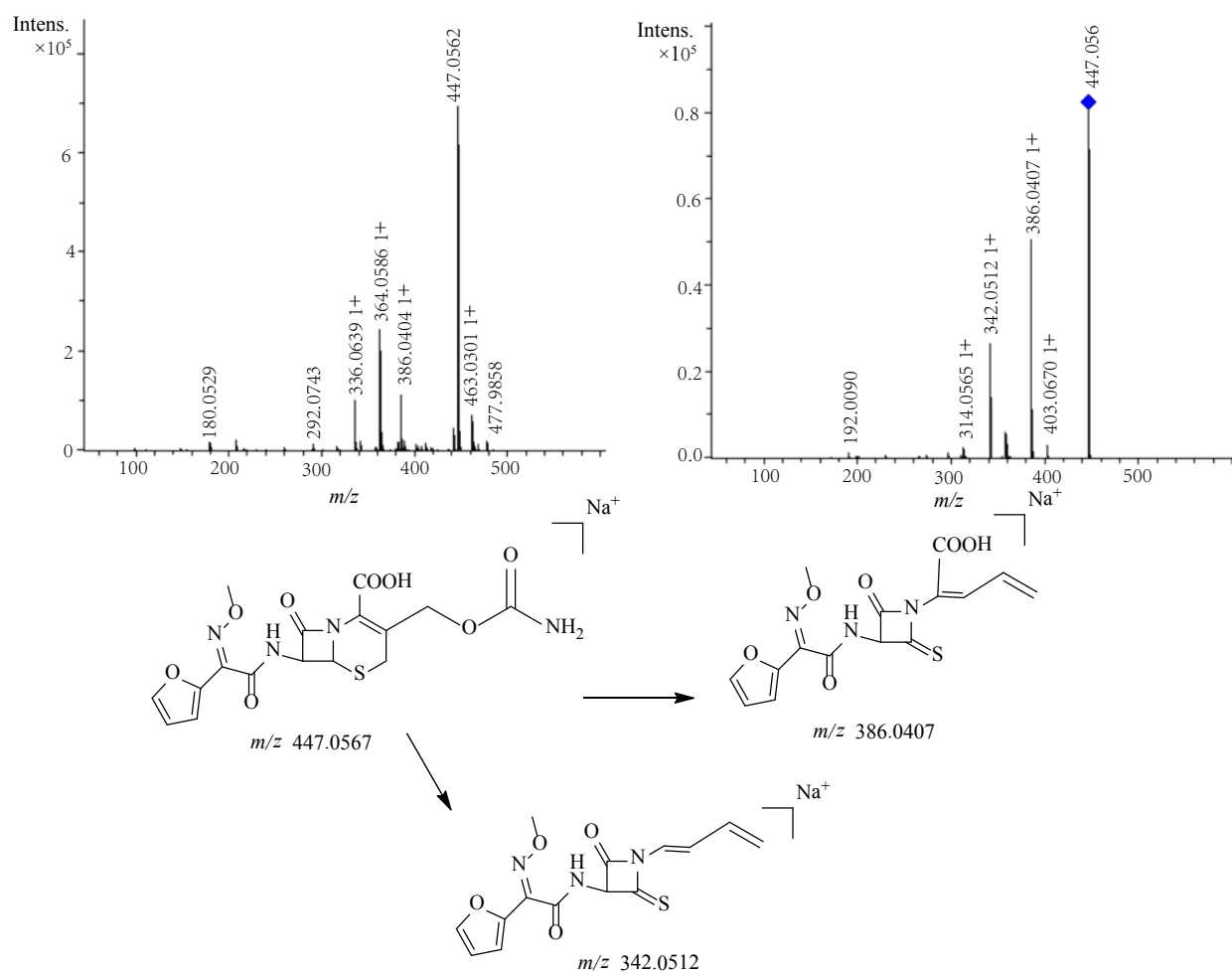


图 3 杂质 E 的一级、二级质谱图及可能的裂解途径

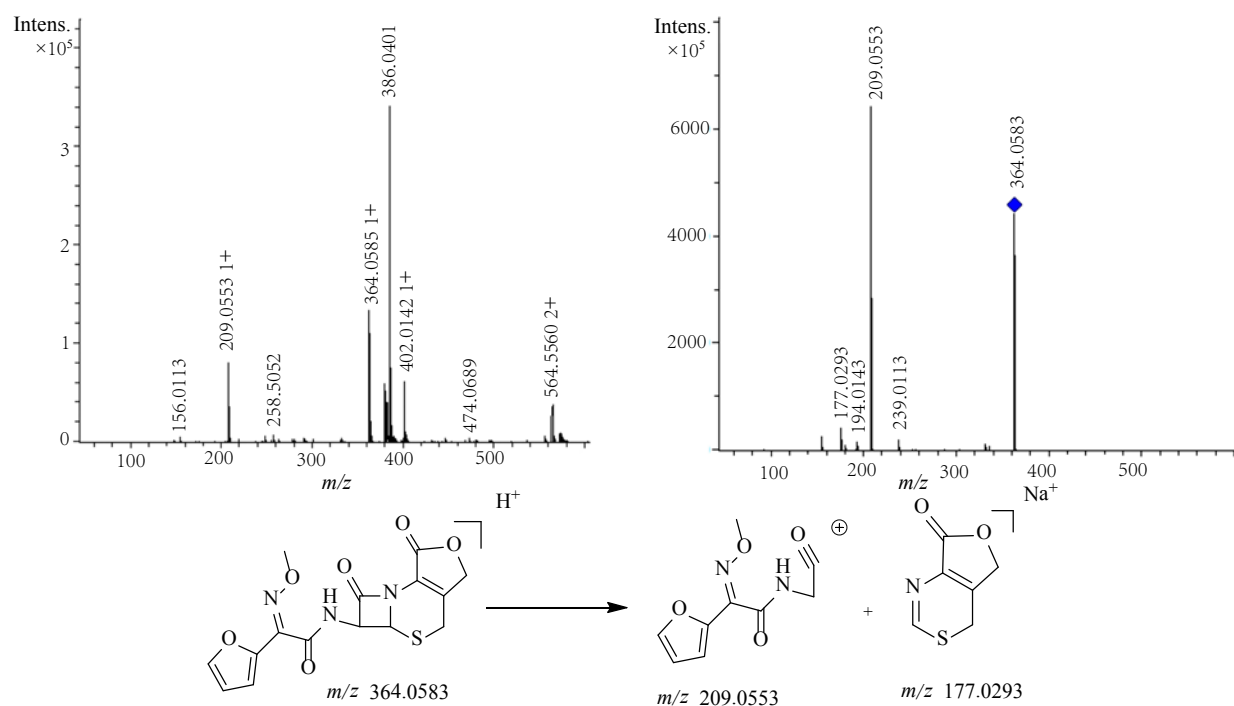
Fig. 3 MS and MS² spectrum of impurity E and fragmentation pathway of impurity E

图 4 杂质 H 的一级、二级质谱图及可能的裂解途径

Fig. 4 MS and MS² spectrum of impurity H and fragmentation pathway of impurity H