文章编号：1001-8689(2019)03-0362-08

质量分析方法

头孢拉定原料及制剂的聚合物杂质分析

李进　张培培　姚尚辰　胡昌勤*
(中国食品药品检定研究院，北京 102629)

摘要：目的　建立头孢拉定原料及制剂中聚合物杂质的分析方法。**方法**　采用碱降解法制备头孢拉定强制降解溶液；采用高效凝胶色谱法 (TSK G2000 SWxl) 和柱切换 -LC/MS 法对头孢拉定强制降解溶液中的聚合物杂质进行分离和结构鉴定；采用 Agilent ZORBAX SB-C_{18} 型色谱柱，以磷酸盐缓冲液 - 甲醇为流动相，进行梯度洗脱，建立头孢拉定聚合物的 RP-HPLC 分析方法，采用二维液相色谱法和柱切换 -LC/MSn 法对该方法的专属性进行分析；进行方法学验证。**结果**　在头孢拉定强制降解物中鉴定出头孢拉定二聚体、三聚体、四聚体；高效凝胶色谱法分离头孢拉定聚合物杂质时，易受到小分子杂质的干扰，同时分离的聚合物杂质色谱峰拖尾严重，存在肩峰，定量准确性差；RP-HPLC 法分析头孢拉定聚合物杂质时，在 20~22min 范围内检出头孢拉定二聚体、三聚体、四聚体；方法定量限为 500μg，最低检测限为 150μg。**结论**　高效凝胶色谱法不能对头孢拉定中的聚合物杂质进行有效质控，建立的反相色谱法分析头孢拉定聚合物杂质时专属性良好、灵敏度高、方法耐用性好，可用于头孢拉定原料及制剂的聚合物杂质质控；头孢拉定强制降解溶液可作为头孢拉定聚合物分析的系统适用性溶液。

关键词：头孢拉定；聚合物；杂质；柱切换 -LC/MS；高效凝胶色谱；二维色谱；β- 内酰胺抗生素
中图分类号：R978.1　　**文献标志码：**A

Analysis of polymer impurities in cefradine raw materials and preparations

Li Jin, Zhang Pei-pei, Yao Shang-chen and Hu Chang-qin
(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629)

Abstract　Objective　To establish a method for the determination of polymer impurities in cefradine raw materials and preparations. **Methods**　Using the base degradation method to prepare cefradine stress degradation solution, the high performance size exclusion chromatography method (HPSEC, using TSK-gel G2000SWxl column) and the Column Switching-LC/MSn method were applied to separate and identify the polymer impurities in cefradine stress degradation solution. A new RP-HPLC method for cefradine polymer analysis was established with an agilent

收稿日期：2018-11-28
作者简介：李进，男，生于 1976 年，副主任药师，主要研究方向为抗生素药物分析，E-mail: medjinli@126.com
* 通讯作者，E-mail: bjhcq@263.net

第一作者：李进，2007 年获北京协和医学院医学博士学位，2008 年至今，在中检院抗生素室从事抗生素药品检验工作，发表论文 10 余篇，在国内首次采用二维色谱 - 质谱联用技术，建立了柱切换 -LC/MSn 杂质在线分析技术平台，解决了抗生素药物中微量、不稳定杂质的在线分离、质谱数据采集的技术难题，2013 年获上海市科学技术三等奖，2017 年获得中国药学发展奖，食品药品质量检测技术杰出青年学者奖。

通讯作者：胡昌勤，汉族，研究员，博士生导师，现任第十一届药典委员会执行委员，微生物专业委员会主任委员；北京药学会抗生素专业委员会主任委员；中国仪器仪表学会近红外光谱分会副理事长。曾认中国食品药品检定研究院化学药品检定首席专家，抗生素室主任兼任微生物检测室主任。获得国家科技进步二等奖、上海市科技进步二等奖、吴阶平 - 保罗杨森药学奖三等奖。出版专著 8 部，发表论文 500 余篇，其中 SCI 论文 80 余篇。授权国家发明专利 14 项。指导博士、硕士研究生 50 余人。

ZORBAX SB-C_{18} column, using a mobile phase gradient elution by phosphate buffer and methanol. The specification of RP-HPLC method was assessed by the dimensional chromatography method and the Column Switching-LC/MSn method as well as other method validation experiments. **Results** A series of polymer impurities in cefradine stress degradation solution were identified including cefradine dimers, trimers, and tetramers. Polymer impurities were liable to co-elute with small molecular impurities severe tailing peaks and shoulder peaks were found, which made a poor quantification accuracy. Cefradine dimers, trimers, and tetramers were detected with the retention time from 20.0 to 22.0min when the RP-HPLC method was used to separate cefradine stress degradation solution. The limit of quantification (LOQ) was 500μg and the limit of qualification was 150μg. **Conclusion** The HPSEC method is not suitable for the quality control of polymer impurities in cefradine raw materials and productions, while the new established RP-HPLC method is specific, sensitive, and robust, which can effectively control the polymer impurities. Cefradine stress degradation solution can be used to identify polymer peaks as the system suitability solution.

Key words Cefradine; Polymer; Impurity; Column Switch-LC/MS; HPSEC; 2D-HPLC; β-Lactam antibiotics.

β- 内酰胺类抗生素的高分子杂质容易诱发过敏反应，从而严重影响药物的安全性 [1-4]。随着生产工艺水平的提高，药品生产过程控制日益严格，源于发酵工艺的外源性杂质，如残留蛋白、核酸 、多糖及其与抗生素的结合产物等 [5]，现在已得到有效控制，但是内源性的聚合物杂质可在药品原料与制剂生产、运输、存储过程中产生，目前仍是影响药物安全性的重要风险因素。为保证药品的安全性，对抗生素药物中的聚合物杂质应进行严格控制。

随着色谱分离技术的发展，聚合物的质控手段在不断进步，目前已报道的方法主要包括葡聚糖凝胶 G10 色谱法 (Sephadex G10)、高效凝胶色谱法 (HPSEC)、反相高效液相色谱法 (RP-HPLC)、毛细管电泳法 (HPCE)、液质联用 (LC-MS)、柱切换技术、离子交换法等 [6]。聚合物质控的理念逐渐由控制聚合物的总量向精准控制指针性聚合物杂质的方向发展 [7]。在中国药典 2015 年版二部中，一共收录了 26 种头孢菌素类抗生素。其中 12 种采用葡聚糖 G-10 系统控制聚合物杂质；部分品种采用高效凝胶色谱法控制聚合物杂质，包括头孢米诺、头孢地嗪。

头孢拉定为第一代半合成头孢菌素，国家基本药物，具有耐酸、耐酶、吸收好、血药浓度高等优点，临床主要用于治疗呼吸道感染、泌尿生殖道感染及皮肤软组织感染等。中国药典中头孢拉定的聚合物的质控方法为葡聚糖凝胶 G10 色谱法 [8]，美国药典 41 版 [9] 未收载该品种，欧洲药典 (EP)9.0 版 [10] 中未设定头孢拉定聚合物控制项。

传统葡聚糖凝胶 G-10 系统存在柱效较低、操作不方便、分离时间长、分离度差等不足，少数头孢菌素类抗生素采用了高效凝胶色谱法控制聚合物杂质的总量。国外药典虽然未设定专门的聚合物检查项，但是在部分具体品种的有关物质项下，如阿莫西林、头孢噻肟钠等采用 RP-HPLC 方法控制其中的二聚体、三聚体等，但是该类方法能否检出更高聚合态的聚合物杂质缺乏方法专属性研究。在前期研究中，已对青霉素类抗感染药物聚合物杂质做过研究工作，证明采用中国药典 2015 年版的 RP-HPLC 有关物质测定方法可对指针性聚合物杂质进行精准控制 [11-12]。本文首先采用高效凝胶色谱法 (HPSEC) 和柱切换 -LC/MS 法对头孢拉定聚合物进行分离及初步定性分析；然后以 EP9.0 头孢拉定有关物质分析方法为基础，优化建立了头孢拉定的聚合物分析方法，并对该方法进行了方法学验证，进而为头孢菌素类抗生素聚合物的精准控制提供了可借鉴的参考。

1　材料与方法

1.1　仪器

二维色谱系统为 Summit 100 型，包括 P680 型双三元低压梯度泵、ACI-100 型自动进样器、Tcc-100 型柱温箱及 PDA-100 型二极管阵列检测器组成，工作站为 Chromeleon 6.8 版 (美国 Dionex 公司)；柱切换 LC-MS 系统由资生堂 HPLC 色谱系统 (包括 Nano Space S1-2 二元高压梯度泵、自动进样器、柱温箱、切换阀和 PDA 检测器) 和 Qtrap 3200 型 MS/MS 质谱仪 (美国 ABsciex 公司) 组成，工作站为 Analyst 1.6 版；Buchi 旋转蒸发仪 R-215V。

1.2　样品与试剂

头孢拉定原料 (批号：130588-201202) 由中国食品药品检定研究院提供。

乙腈 (色谱纯) 购自美国 Fisher 公司，其他化学试剂 (分析纯)，均购自国药集团化学试剂公司，水为实验室自制双蒸水。

1.3　高效凝胶排阻色谱 (HPSEC) 法

色谱柱 TSK-gel G2000SWxl(填料：刚性、球形、亲水硅胶；7.8mm×30cm，5μm)；流动相：A 相：磷酸盐缓冲液 (pH7.0)[0.01mol/L 磷酸氢二钠溶液 -0.01mol/L 磷酸二氢钠溶液 (61:39)]，B 相：乙腈，A:B=85:15，等度洗脱；流速：0.7mL/min；检测波长：233nm；柱温：30℃；进样量：20μL。稀释溶剂：水；样品浓度：10.0mg/mL。用于 HPSEC 法分析聚合物杂质。

1.4　RP-HPLC 法

色谱柱：Agilent ZORBAX SB-C_{18}(4.6mm×150mm，5μm)，PN:883975-902，SN: USCM040539, LN:B14172；流动相：A 相：2.72g/L 磷酸氢二钾溶液 (用磷酸溶液调节 pH 值 =3.0)；B 相：甲醇，梯度洗脱 0~2.5min，A 相由 99.5% 降低至 97.0%，2.5~11.0min 降低 A 相至 75%，11.0~13.0min 降低 A 相为 60%，13.0~16.0min 维持 A 相为 60%，16.0~19.0min 降低 A 相至 20%，19.0~30.0min 维持 A 相为 20%，30.0~30.1min 升高 A 相至 99.5%，30.1~35.0min 维持 A 相为 99.5%；流速：1.0mL/min；柱温：30℃；检测波长：220nm。用于分析头孢拉定原料及制剂中的指针性聚合物杂质。

1.5　二维色谱 (2D-HPLC) 法

色谱系统 I 同“1.3”项高效凝胶色谱法；色谱系统 II 同“1.4”项 RP-HPLC 优化法。切换阀的连接方式如图 1 所示，切换程序：①将切换阀设为 A 位置，采用右泵，以 TSK 凝胶色谱系统 (色谱系统 I) 对供试品进行分离，同时采用色谱系统 II 对 RP C_{18} 色谱柱进行平衡。②当采用色谱系统 I 分离的目标杂质出峰后，将切换阀设为 B 位置。③采用色谱系统 II 将柱后定量环中的目标杂质洗脱至第二根色谱柱中，并采用色谱系统 II 进行分离分析。用于对 HPSEC 色谱系统分离的聚合物杂质在 RP-HPLC 色谱系统中进行定位。

1.6　柱切换 -LC/MS-I 法

色谱系统 III：同“1.3”项色谱系统，进样体积增加至 50μL，用于杂质的分离。

色谱系统 IV：色谱柱：KromasiL 100-5，C_{18}(SN: E68355，4.6mm×250mm，5μm)。流动相：A 相：含有 1% 甲酸的水溶液；B 相：含有 1% 甲酸的乙腈溶液；梯度洗脱：0~(t_R+5min)(t_R 为目标杂质在色谱系统 III 的保留时间) 维持 100% 的 A 相 (脱盐处理)，(t_R+5)~(t_R+20)min 将 A 相降低至 10%，(t_R+20)~(t_R+25) min 维持 A 相为 10%，(t_R+25)min ~(t_R+26)min 升高 A 相至 100%，(t_R+26)~(t_R+40)min，维持 A 相 100%。柱温：室温；流速：0.5mL/min。切换阀：六通阀 A 和 B；切换用定量环体积：500μL；用于对高效凝胶色谱系统分离的聚合物杂质进行脱盐处理、质谱定性研究。

1.7　柱切换 -LC/MS-II 法

色谱系统 V：同“1.4”项色谱系统，进样体积增加至 50μL，用于杂质的分离。

色谱系统 VI：同色谱系统 IV，其中 t_R 为目标杂质在色谱系统 V 的保留时间。用于对 RP-HPLC 色谱系统分离的聚合物杂质进行脱盐处理、质谱定性研究。

1.8　质谱条件 (“1.6”和“1.7”项的质谱方法)

+EMS 和 +EPI 扫描范围：*m/z*200~1700；气帘气：20L/min；离子源电压：+5000V；离子源温度：400.00 ℃；气路 1：65L/min；气路 2：60L/min；碰撞气强度：强；解簇电压：+70.0V；入口电压：+10.0V；碰撞室入口电压：+10.00V；碰撞能：+10.00V：碰撞室出口电压：+0.00V。

1.9　溶液配制

头孢拉定强制降解物：取头孢拉定供试品约 500mg，置于玻璃试管中，加 2mL 氯仿，再加 0.4mL 三乙胺，振摇 3min 后，密封保存。室温静置 24h，

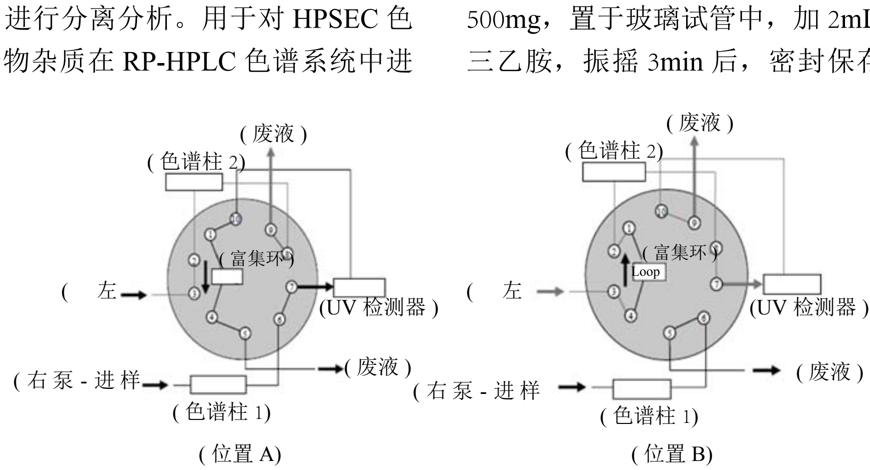


图 1　2D-HPLC 中 10 孔切换阀示意图

Fig. 1　Schemes of the 10-hole switching valve in 2D-HPLC

待完全溶解后，用旋转蒸发仪在 40℃水浴中蒸干溶剂，密封避光保存，作为头孢拉定强制降解物。

头孢拉定强制降解溶液：称取上述头孢拉定强制降解物适量，加水溶解并定量稀释成约含有 10mg/mL 的溶液，摇匀备用，作为头孢拉定强制降解溶液，备用。

方法学验证用溶液：精密称取头孢拉定强制降解物适量，加水溶解并定量稀释成浓度约为 5mg/mL 的溶液，作为方法学验证溶液。

2　结果与讨论

2.1　高效凝胶色谱法 (HPSEC) 分析头孢拉定聚合物

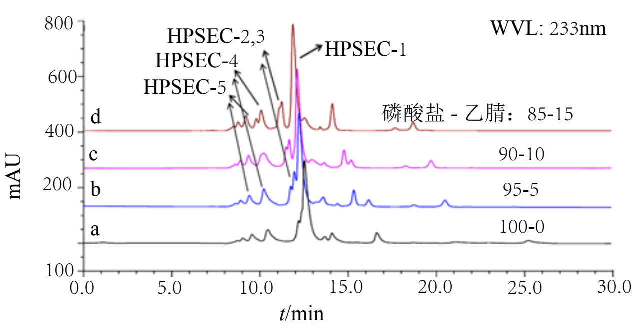
本研究首先参照中国药典 2015 年版二部中头孢地嗪有关物质 II 的方法 [13]，建立了 TSK G2000 SWxL 高效凝胶排阻色谱法 (HPSEC)，对头孢拉定强制降解溶液进行初步分离。结果显示，在头孢拉定主峰前检出若干个弱保留值杂质 HPSEC-1~5 等；其中 HPSEC-1、2、3 未能完全分离，参见图 2b；故在中国药典方法基础上，改变流动相中强溶剂的比例，对 HPSEC 法进行方法优化，结果如图 2a、c 和 d 所示。当流动相 A:B=85:15 时，弱保留值杂质 HPSEC-1 与 HPSEC-2、HPSEC-3 达到基线分离，但是各弱保留值杂质色谱峰拖尾严重，部分色谱峰还存在肩峰，分离效果较差。

2.2　柱切换 -LC/MSn 法鉴别头孢拉定聚合物的化学结构

以头孢拉定强制降解溶液为供试品，采用“1.3”项的优化后高效凝胶色谱法，在头孢拉定主峰前分离得到弱保留值杂质 HPSEC-1~5，其中包括聚合物杂质和小分子杂质，然后采用柱切换 -LC/MS-I 法 (参见“1.6”项) 法鉴别各组分的化学结构。

2.2.1　弱保留值杂质 HPSEC-1

柱切换 -LC/MS 结果表明 HPSEC-1 中包含多种小分子杂质，不是聚合物杂质。



a：A:B=100:0；b：A:B=95:5；c：A:B=90:10；d：A:B=85:15

图 2　HPSEC 法分析头孢拉定强制降解溶液的典型色谱图

Fig. 2　Typical chromatograms of cefradine stress degradation solution by HPSEC

2.2.2　弱保留值杂质 HPSEC-2 和 3

弱保留值杂质 HPSEC-2 和 3 的 TIC 图、+EMS 图及 +EPI@*m/z*699.4$[M+H]^+$ 的二级质谱如图 3a 所示。+EMS 图均显示 *m/z*699.5、*m/z*721.3 的准分子离子峰，分别为 $[M+H]^+$、$[M+Na]^+$ 峰，推测其分子量为 698.2，是头孢拉定分子量的 2 倍，提示其为头孢拉定二聚体，形成机理推测为一分子头孢拉定 7 位侧链的氨基，与另一分子头孢拉定母核四元内酰胺环的羰基反应，形成酰胺键从而聚合形成二聚体。HPSEC-1 和 HPSEC-2 的一级和二级质谱图基本一致，提示二者互为同分异构体。异构化的反应机理推测为头孢拉定在碱性条件下发生开环反应时 6 位和 7 位的手性碳构型发生改变，从而发生异构化，形成头孢拉定异构体，理论上存在 4 种异构体。头孢拉定二聚体及其异构体的结构参见图 4a。质谱分析结果证明弱保留值杂质 HPSEC-2 和 HPSEC-3 为头孢拉定二聚体。

2.2.3　弱保留值杂质 HPSEC-4

弱保留值杂质 HPSEC-4 的 TIC 图、+EMS 图及 +EPI@*m/z*1048.6$[M+H]^+$ 的二级质谱如图 3b 所示。+EMS 图存在 *m/z*1048.6、*m/z*1070.4 的准分子离子峰，分别为 $[M+H]^+$、$[M+Na]^+$ 峰，提示其分子量为 1047.6，为头孢拉定分子量的 3 倍，推测为头孢拉定三聚体，理论上也应存在多种异构体，结构见图 4b。

2.2.4　弱保留值杂质 HPSEC-5

弱保留值杂质 HPSEC-5 的 TIC 图、+EMS 质谱数据如图 3c 所示。+EMS 图显示 *m/z* 1397.8 的准分子离子峰，为 $[M+H]^+$ 峰，提示其分子量为 1396.8，为头孢拉定分子量的 4 倍，推测为头孢拉定四聚体，理论上推测也存在多种异构体。化学结构参见图 4c。

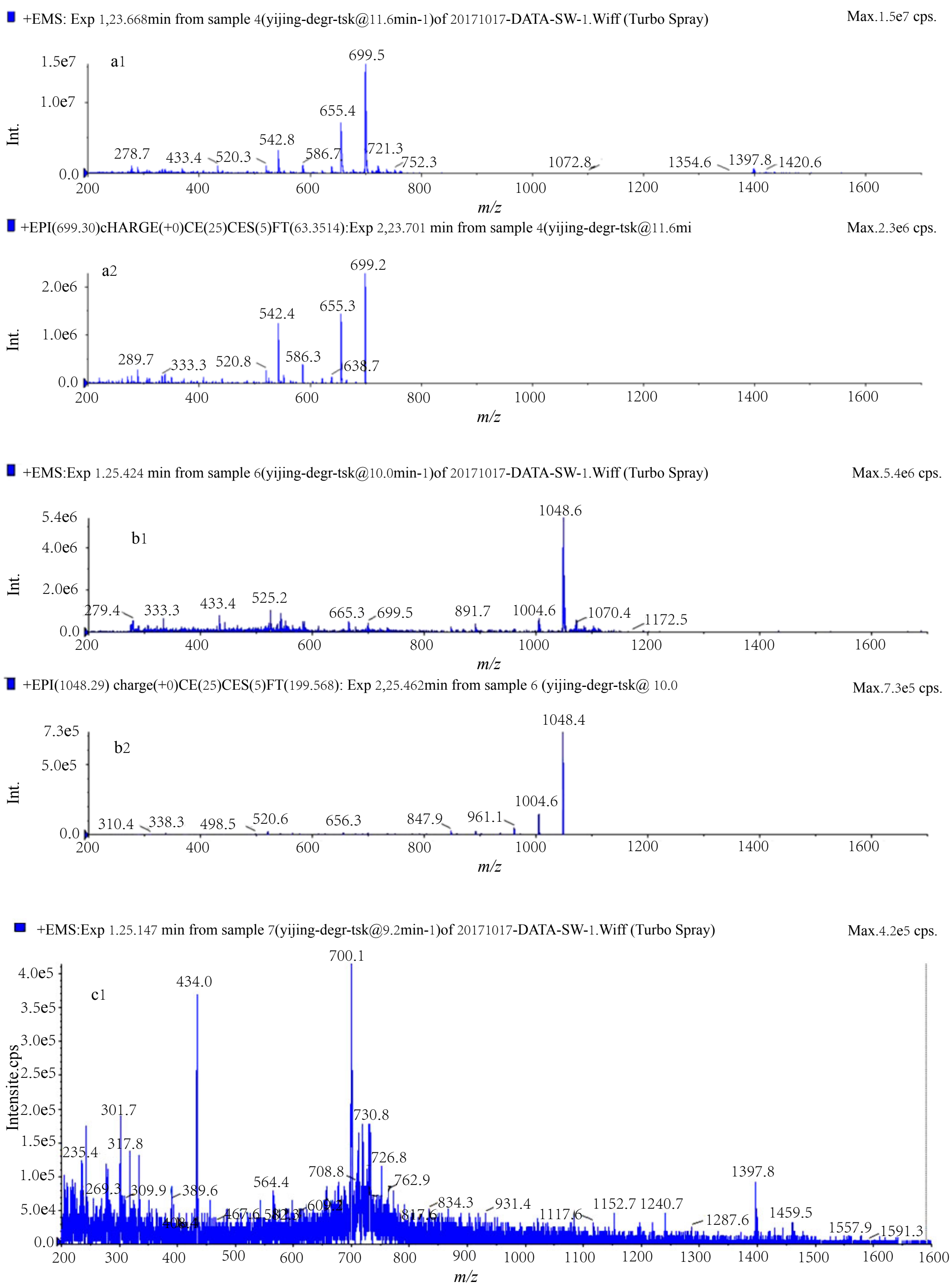
2.3　RP-HPLC 法分析头孢拉定的聚合物杂质

高效凝胶色谱法分析头孢拉定聚合物杂质的方法专属性较差，因此我们尝试建立了 RP-HPLC 法，并采用二维色谱法和柱切换 -LC/MS 法对 RP-HPLC 的专属性进行研究。

2.3.1　建立 RP-HPLC 法分离聚合物杂质

在 EP9.0 头孢拉定有关物质测定方法的基础上，通过增大有机相的比例，延长洗脱时间的方法，优化建立了聚合物分析的 RP-HPLC 法，具体方法参见“1.4”项，RP-HPLC 法分析头孢拉定强制降解溶液的典型色谱图如图 5 所示。

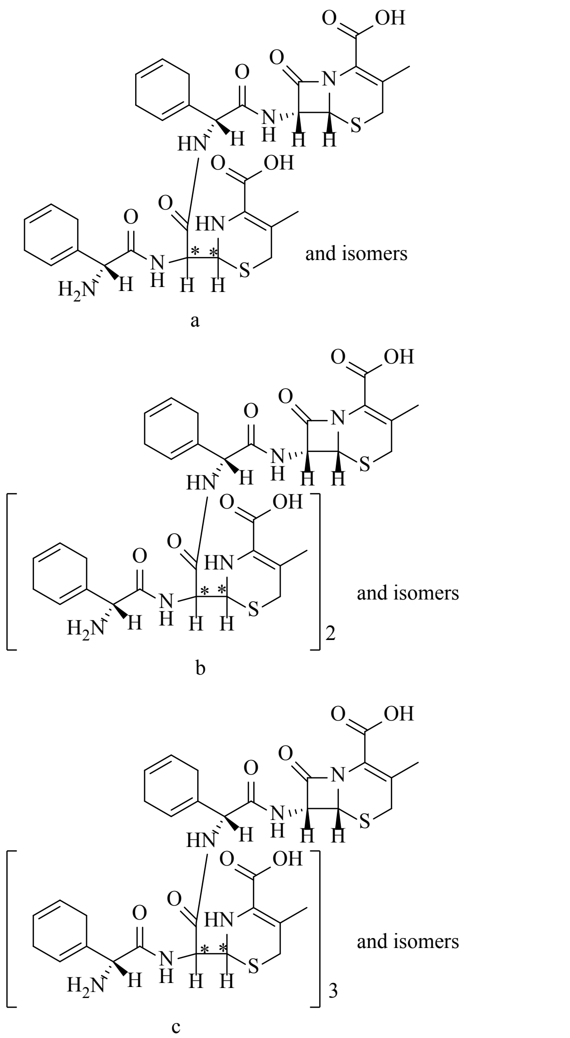
2.3.2　二维色谱法验证 RP-HPLC 法分离聚合物杂质的专属性



a：HPSEC-2,3；b：HPSEC-4；c：HPSEC-5

图 3　HPSEC-2~5 的 +EMS(1) 与 +EPI(2) 质谱图

Fig. 3　+EMS(1) and +EPI(2) mass spectra of impurities HPSEC-2~5



a：1~4：二聚体及异构体；b：三聚体及异构体；c：四聚体及异构体

图 4　强制降解溶液中聚合物杂质的结构式

Fig. 4　Structures of polymer impurities in stress degradation solution

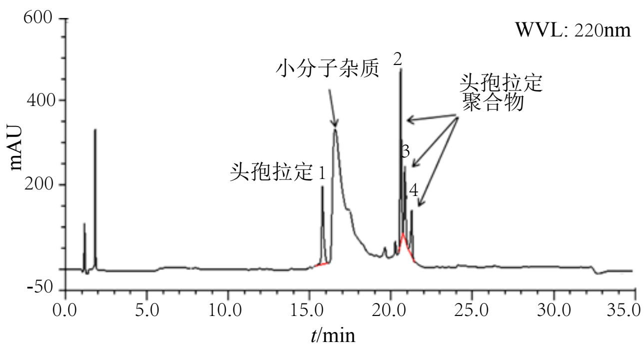
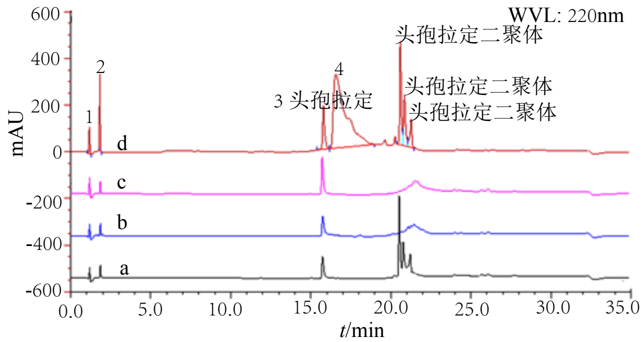


图 5　头孢拉定强制降解溶液的典型 RP-HPLC 图

Fig. 5　Typical chromatograms of cefradine stress degradation solution by RP-HPLC

为了考察 RP-HPLC 法分离聚合物杂质的专属性，本文采用二维色谱法（“1.5”项），将高效凝胶色谱法分离的聚合物杂质 HPSEC-2~4，转移至 RP-HPLC 系统中进行分析，归属各种聚合物杂质的出



a：HPSEC-2,3；b：HPSEC-4；c：HPSEC-5；d：强制降解溶液

图 6　杂质 HPSEC-2~5 与强制降解溶液的典型二维色谱图

Fig. 6　Typical two-dimensional chromatograms of impurity HPSEC-2~5 and stress degradation solution

峰位置，如图 6 所示。结果显示头孢拉定二聚体、三聚体、四聚体在 RP-HPLC 系统中的出峰时间均为 20.0~22.0min，其中 HPSEC-2 色谱峰在反相系统中分离为 3 个色谱峰，HPSEC-3 和 HPSEC-4 在反相系统中均分离为多重色谱峰，这与前期推断头孢拉定聚合物存在多种异构体的结论相吻合。因此，头孢拉定强制降解物的 RP-HPLC 典型图谱中 20.0~22.0min 的一组色谱峰可以初步归属为头孢拉定聚合物杂质，聚合物杂质出峰集中，且不受其他降解的小分子杂质干扰，初步说明建立的 RP-HPLC 分析头孢拉定聚合物杂质的专属性较好。

2.3.3　柱切换 -LC/MS 法验证 RP-HPLC 法分离聚合物杂质的专属性

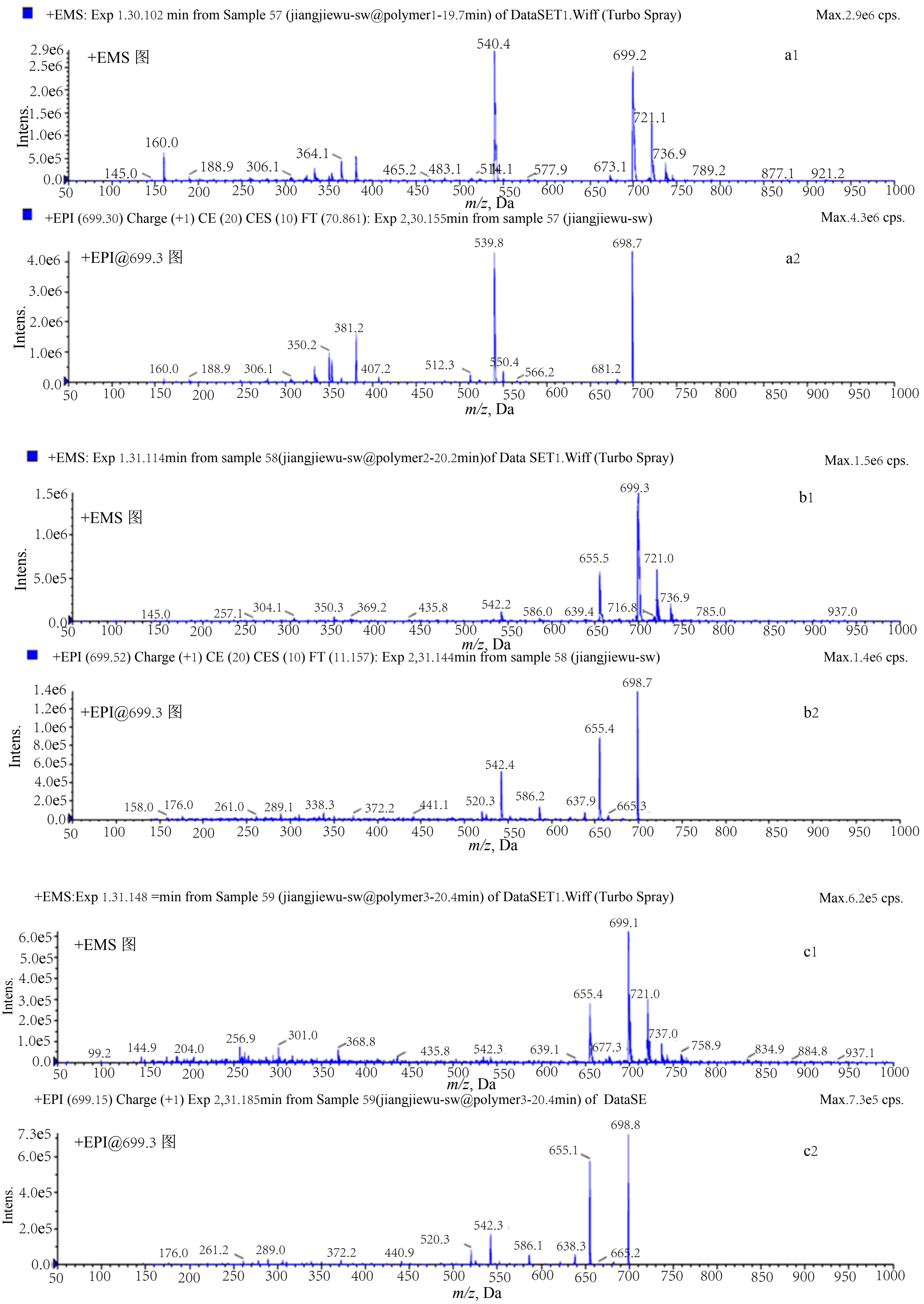
为了确认 RP-HPLC 法分析聚合物杂质的专属性，本文采用柱切换 -LC/MSn-II 法，将 RP-HPLC 色谱系统中 20.0~22.0min 区间的 3 个主要杂质峰 Imp-1~3 分别进行质谱分析，结果如图 7 所示。+EMS 质谱图显示 3 者均存在 *m/z*699、*m/z*721、*m/z*737 的准分子离子峰，分别为 $[M+H]^+$、$[M+Na]^+$、$[M+k]^+$ 峰，推测其分子量均为 698，与头孢拉定二聚体的分子量一致，证明这 3 个主要色谱峰均为头孢拉定二聚体，三者互为同分异构体，与二维色谱法的分析结果相一致。

2.3.4　RP-HPLC 法分离聚合物杂质的方法学验证

为了保证建立的方法灵敏、准确、耐用，本研究对 RP-HPLC 法进行了方法学验证。

(1) 专属性实验：参见“2.3.2”和“2.3.3”项。

(2) 检测限与定量限：精密量取方法学验证溶液 5μL，用水进行倍比稀释，得到不同浓度的系列溶液，注入液相色谱仪。以基线噪音的 10 倍为指标，得到方法的最低定量限；以基线噪音的 3 倍为指标，得到方法的最低检测限。结果表明，最低定量限为



a：Imp-1；b：Imp-2；c：Imp-3

图 7　强制降解溶液在 RP-HPLC 系统中 3 个杂质主峰的典型 +EMS(1) 和 +EPI(2) 质谱图

Fig. 7　Typical +EMS (1) and +EPI (2) mass spectrograms of 3 impurity peaks in stress degradation solution separated by RP-HPLC

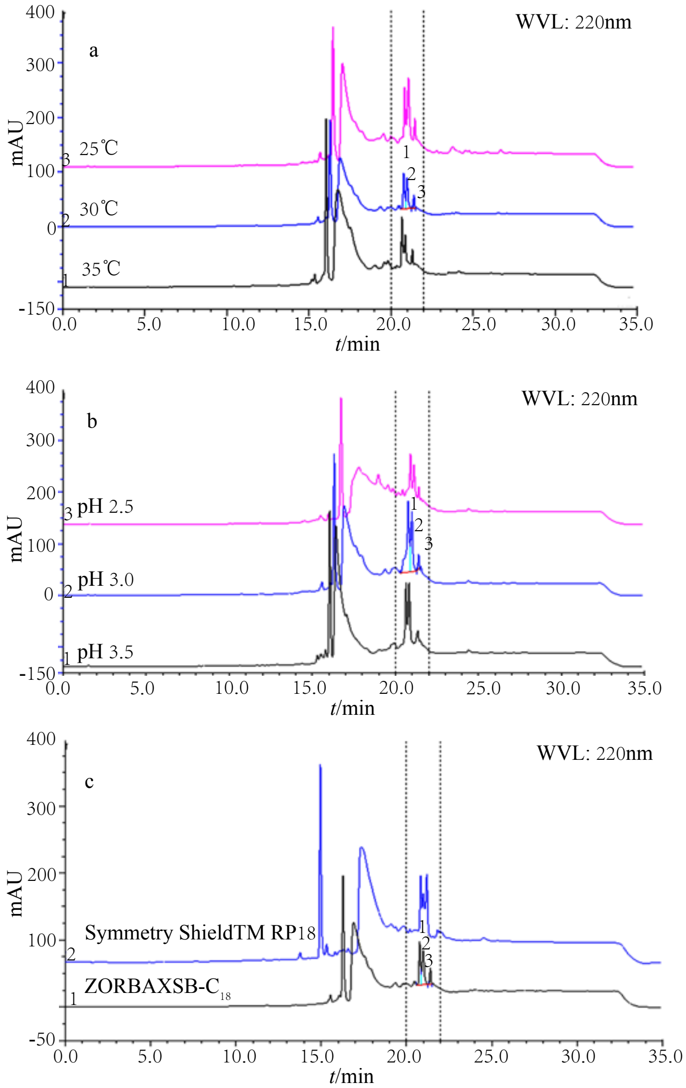
500μg；最低检测限为 150μg。

(3) 重复性实验：精密量取方法学验证溶液 5μL，注入液相色谱仪，连续进样 3 针，计算 3 个二聚体杂质的峰面积之和，经计算，3 次重复进样的 RSD 为 0.12%。

(4) 耐用性实验：精密量取方法学验证溶液 5μL，注入液相色谱仪，考察在不同柱温、流动相 pH 值、和不同色谱柱条件下，聚合物杂质的分离情况。如图 8 所示。结果表明当柱温、流动相 pH 值、色谱柱型号发生轻微改变时，RP-HPLC 法均可有效分离样品中的头孢拉定聚合物杂质，头孢拉定聚合物杂质的保留时间维持在 20.0~22.0min 范围内。

3　结论

本文综合运用高效凝胶色谱法 (HPSEC)、二维色谱法 (2D-HPLC)、柱切换 -LC/MSn 法等现代色谱分析技术，证明了基于 TSK2000 SWxL 型高效凝胶柱系统的 HPSEC 法分析头孢拉定原料及制剂的聚合物杂质的方法专属性差，新建立的 RP-HPLC 法分析头孢拉定聚合物杂质灵敏度高、耐用性好、专属性强，适用于头孢拉定原料及制剂的聚合物质控；头孢拉定强制降解溶液可作为头孢拉定聚合物分析的系统适用性溶液。



a：温度；b：pH；c：色谱柱；峰 1、2、3：头孢拉定聚合物

图 8　RP-HPLC 法的方法学验证典型色谱图

Fig. 8　Typical RP-HPLC chromatograms for method validations

参 考 文 献

[1] 金少鸿 . 头孢菌素过敏反应的研究进展 [J]. 国外医药抗生素分册 , 1984,5(3): 191-197.

[2] 金少鸿 . 抗生素的过敏反应——Ⅰ .β- 内酰胺类抗生素的过敏反应 [J]. 中国临床药理学杂志 , 1986, 2(4): 251-257.

[3] 金少鸿 , 胡昌勤 . β- 内酰胺类抗生素过敏反应的研究 [J]. 医学研究杂志 , 2002, 31(4): 22-23.

[4] 金少鸿 . β- 内酰胺类抗生素的质量和过敏反应关系的评述 [J]. 中国抗生素杂志 , 1988, 13(1): 65-71.

[5] 胡昌勤 , 金少鸿 . β- 内酰胺抗生素中的高分子杂质及其分析技术研究进展 [J]. 国外医药抗生素分册 , 1996, 17(5): 336-343.

[6] 王勇跃 , 陈悦 , 洪丽娅 . β- 内酰胺类抗生素中高分子杂质的分离与检测方法进展 [J]. 中国药事 , 2015, 29(6): 608-612.

[7] 胡昌勤 . β- 内酰胺抗生素聚合物分析技术的展望 [J]. 中国新药杂志 , 2008, 17(24): 2098-2102.

[8] 国家药典委员会 . 中华人民共和国药典 [S]. (2015 年版二部). 北京 : 化学工业出版社 , 2015: 267.

[9] The United States Pharmacopeia 41 edi[S]. Roehville MD: the United States Pharmacopeial Convention Inc, 2018.

[10] Europeon Pharmacopeia 9.0[S]. Strasbourg: European directorate for the quality of medicines, 2017: VII 1994.

[11] 李进 , 张培培 , 崇小萌 , 等 . 阿莫西林克拉维酸钾复方制剂中聚合物杂质的分析 [J]. 药物分析杂志 , 2017, 37(8): 1430-1440.

[12] 杨美琴 , 金少鸿 , 胡昌勤 . HPLC- 柱切换法归属青霉素钠有关物质中的聚合物分析 [J]. 药物分析杂志 , 2009,