

氨基糖苷类抗生素的杂质谱研究

刘雅萱¹ 张文志²

(1. 通化市食品药品检验所 吉林 通化 134000;

2. 通化市食品药品检验所 吉林 通化 134000)

[摘要]氨基糖苷类抗生素是通过微生物发酵合成的药物, 发酵副产物较多, 结构组成复杂, 异构体降解副产物较多, 极易影响药品质量。通过合理地确定特定杂质和杂质限度以及杂质来源, 不仅能提高药品的质量控制水平, 还能指导生产工艺的优化并提高药品的质量。因此对氨基糖苷类抗生素进行杂质谱研究是药品质量控制和研发生产的重要环节, 对提高药品的整体质量具有十分重要的意义。

[关键词]氨基糖苷类抗生素; 杂质谱研究; 方法

[DOI] 10.12252/j.issn.2096-627X.2021.05.1223

由于氨基糖苷类抗生素是极性较大的、在C18柱上几乎无保留的化合物, 故多选择在流动相中添加多氟羧酸(如三氟乙酸, 五氟丙酸, 七氟丁酸)或烷基磺酸盐(如己烷磺酸钠, 庚烷磺酸钠, 辛烷磺酸钠)的离子对HPLC法, 或者采用碱性的流动相的HPLC法使氨基糖苷类抗生素离子化程度降低, 以提高其在C18色谱柱上保留。也有文献报道采用HILIC柱的方式以增强其保留口工由于氨基糖苷类抗生素在较宽的pH范围内都为离子化状态, 故也可采用毛细管电泳法, 因不含有共轭结构, 多无紫外吸收, 故国内外药典对氨基糖苷类抗生素的检测手段大多使用蒸发光散射检测器(ELSD), 脉冲安培检测器(PAD), 柱前/柱后衍生化-紫外检测器/荧光检测器。本文主要侧重于对硫酸/单硫酸卡那霉素的杂质谱研究。

一、卡那霉素杂质谱研究背景

卡那霉素由发酵工艺生产, 其生物合成主要由糖基转移酶kanA-B-K, kanC-kanD, kanE, kanF和kanI-kacL等参与, 卡那霉素A为卡那霉素的主要有效成分。在生物合成卡那霉素A的同时可能生成卡那霉素B、卡那霉素C、卡那霉素D等发酵副产物。

二、仪器与试剂

(一) 仪器

Agilent 1260 LC-6550 Q-TOF/MS液相一质谱联用仪。

(二) 试剂

名称	批号	厂家
乙睛	色谱纯	MERCK
甲醇	色谱纯	MERCK
甲酸	分析纯	TEDIA
硫酸卡那霉素	130556-201502	中国食品药品检定研究院
卡那霉素B	130548-200501	中国食品药品检定研究院
2-脱氧链霉素	101838279	aldrich
6-O-(3-氨基-3-脱氧- α -D-葡萄糖基)脱氧链霉素	7-APD-119-1	Toronto Research Chemicals

三、方法

(一) 色谱系统

色谱条件: 色谱柱: TSK gel (IC-Cation-SW) (4.6mmX50mm); 流动相: 0.1%

甲酸水溶液-0.1%甲酸乙睛溶液(1:1); 流速: 1 mL/min; 进样量: 5 μ l; 柱温: 30 $^{\circ}$ C。

质谱条件: 正离子模式, 扫描范围(m/z): 50-1700 Da, Gas Temp: 220 $^{\circ}$ C,

Drying Gas: 19L/min, Nebulizer: 20psi, Sheath Gas Temp: 250 $^{\circ}$ C, Sheath

GasFlow: 11L/min, Vcap: 3000V, Vnozzle: 1500V

(二) 溶液配制

硫酸卡那霉素原料: 精密称取原料适量, 用水溶解并稀释制成0.5mg/mL的溶液, 通过液相色谱一柱后衍生一荧光检测系统分析。

硫酸卡那霉素高温酸降解溶液: 取硫酸卡那霉素原料约2g, 置20mL量瓶中, 加10mL 2mol/L盐酸溶液, 振摇使混合均

匀, 水浴加热30分钟, 加10mL 2mol/L的氢氧化钠溶液中和, 用水稀释至刻度, 摇匀, 通过液相色谱一柱后衍生一荧光检测系统分析。

对照品溶液的制备: 葡吡喃糖基)脱氧链霉素分别取2-脱氧链霉素对照品、6-O-C-3-氨基-3-脱氧- α -D-、卡那霉素对照品和卡那霉素B对照品适量, 用水溶解并稀释制成0.5mg/mL的溶液。

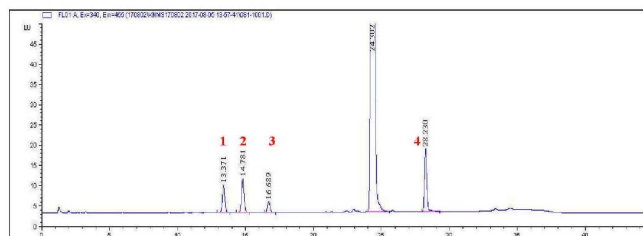


图1 硫酸卡那霉素原料的典型杂质色谱图

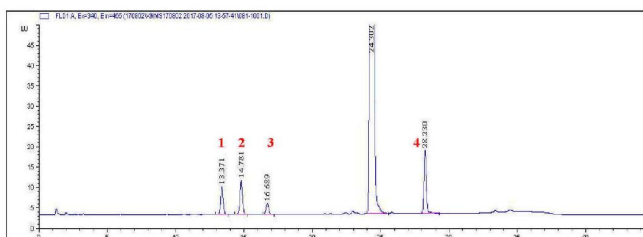


图2 硫酸卡那霉素原料的高温酸破坏典型杂质色谱图

(三) 结果

为了确定硫酸卡那霉素原料中的有关物质结构, 研究思路如下: 首先采用半制备液相色谱制备硫酸卡那霉素溶液(临用新制)中的杂质1, 2, 3, 4(详见图1)和高温酸降解硫酸卡那霉素溶液(临用新制)中的杂质5, 6(详见图); 其次, 采用HPLC-Q/TOF-MS联用技术对卡那霉素对照品(即卡那霉素A)进行分析和结构推导, 掌握卡那霉素A的质谱裂解规律; 最后, 将该裂解规律用于硫酸卡那霉素中有关物质的结构推断, 并预测各杂质的来源。将各杂质进行归属后, 为后续制剂有关物质测定方法的建立及杂质限度的制定奠定基础。

分别收集图1中洗脱时间约为13.4min, 14.8min, 16.7min, 23.2min的杂质, 氮气流吹干, 加0.5mL去离子水复溶, 命名为杂质1、杂质2、杂质3、杂质4。分别收集图2中洗脱时间约为3.8min, 9.0min的杂质, 氮气流吹干, 加0.5mL去离子水复溶, 命名为杂质5、杂质6。

将以上半制备杂质及对照品溶液进行HPLC-Q/TOF-MS分析, 确定结构。

参考文献

[1] 柳佳. 药品理化检验复检工作中的若干问题探讨[J]. 临床检验杂志(电子版), 2020, 9(3): 504.