

UPLC-MS 法检测克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液 高温灭菌后的药物成分

樊磊磊^{1*}, 李松武²

(1. 河南省食品药品检验所, 郑州 450003; 2. 河南省食品药品监督管理局, 郑州 450003)

[摘要] 目的:检测克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液高温灭菌后的药物成分。方法:采用 UPLC-MS 方法色谱条件:Acquity UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm) 色谱柱,流动相乙腈-0.02M 醋酸铵缓冲液(醋酸调 pH 3.0),梯度洗脱,流速为 0.25 mL·min⁻¹。质谱条件:电喷雾离子源(ESI),多反应检测(MRM)。结果:高温灭菌后的克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液中检测到克林霉素磷酸酯、克林霉素和林可霉素,克林霉素为克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液灭菌后的最大杂质。结论:此方法选择性强、灵敏度高,可作为分析灭菌后的克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液中药物成分的检测方法。

[关键词] 克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液;高温灭菌;克林霉素;林可霉素;超高频相色谱-质谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)24-0074-03

UPLC-MS Detection of Medicinal Ingredients in Clindamycin Phosphate Glucose Injection Sterilized with High Temperature

FAN Lei-lei^{1*}, LI Song-wu²

(1. Henan Institute for Food and Drug Control, Zhengzhou 450003, China;

2. Henan Food and Drug Administration, Zhengzhou 450003, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an UPLC-MS method for the determination of medicinal ingredients in Clindamycin Phosphate Glucose injection sterilized with high temperature. **Method:** LC condition; Adopted Acquity UPLC BEH C₁₈ column (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm, eluted gradiently with mobile phase consisted of acetonitrile and 0.02 mol·L⁻¹ ammonium acetate buffer solution adjusted pH 3.0 with acetic acid) at a flow rate 0.25 mL·min⁻¹. MS condition, adopted electrospray ionization (ESI), and multiple reaction monitoring. **Result:** Clindamycin phosphate, clindamycin and lincamycin were detected in the clindamycin phosphate glucose injection sterilized with high temperature, and clindamycin is the maxest impurity. **Conclusion:** This method is selectivity and sensitive, it is suitable for detection of the medicinal ingredients in clindamycin phosphate glucose injection sterilized with high temperature.

[Key words] clindamycin phosphate glucose injection; sterilized with high temperature; clindamycin; lincamycin; UPLC-MS

克林霉素磷酸酯 (clindamycin phosphate) 又名

氯洁霉素磷酸酯,是一种通过化学半合成的克林霉素衍生物。它由林可霉素经 7-OH 氯化转型生成克林霉素后,再经 2-OH 磷酰化成酯而得。临床上,克林霉素磷酸酯依靠其对厌氧菌和革兰阳性需氧菌较强的抗菌活性以及组织分布广、不需皮试的特点,已成为治疗呼吸道感染、骨及关节感染、盆腔感染、腹

[收稿日期] 20110829(008)

[通讯作者] * 樊磊磊, 从事药品质量标准及化学物质的非法添加检测研究工作, Tel: 13523446978, E-mail: fan2lei@qq.com

腔感染等常用的抗生素。其优秀的药代动力学和药效学的特点,已得到了众多临床医生和临床药理学家们的充分肯定。

克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液收载于国家药品标准(新药转正标准第45册)^[1]。未发现对克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液灭菌后的药物成分进行研究的相关文献报道。

由于生产过程中的灭菌环节对克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液稳定性有很大影响,本文采用超高效液相串联电喷雾三重四极杆质谱法,检测克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液高温灭菌后的药物成分。

1 仪器与试剂

美国 Waters Acquity-Quattro Premier XE 型超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪。

克林霉素磷酸酯对照品(批号130486-200502)、克林霉素对照品(批号130422-200404)、林可霉素对照品(批号130432-200407)均由中国药品生物制品检定所提供;醋酸、醋酸铵、甲醇、乙腈均为色谱纯,水为高纯水。

克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液,在河南天方药业股份有限公司大输液 GMP 车间自制,规格:100 mL:0.6 g,125 °C,30 min 湿热(热压)灭菌。

2 方法

2.1 溶液的配制 称取克林霉素磷酸酯、克林霉素、林可霉素对照品适量,分别用流动相稀释为约 5 mg·L⁻¹的对照品溶液;另吸取高温灭菌后的克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液适量,用流动相稀释为 12 mg·L⁻¹的供试品溶液。

2.2 液相色谱条件 色谱柱为 Acquity BEH C₁₈ (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm),柱温 35 °C,流速 0.25 mL·min⁻¹,进样量 5 μL,流动相乙腈-0.02 mol·L⁻¹醋酸铵缓冲液(醋酸调 pH 3.0),流动相梯度洗脱条件见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱条件

<i>t</i> /min	乙腈 /%	0.02 mol·L ⁻¹ 醋酸铵缓冲液 (pH 3.0)/%
0	10	90
0.5	10	90
2.5	30	70
3.5	80	20

2.3 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),正离子模式,多反应监测(MRM),毛细管电压 3.5 kV,离子源温度 110 °C,脱溶剂气温度 300 °C,脱溶剂气流量 600 L·h⁻¹,锥孔气流量 50 L·h⁻¹,氦气流量 0.18 mL·

min⁻¹,扫描方式为多反应检测(MRM),正离子方式;扫描范围为 *m/z* 200 ~ 1 000;进样量 5 μL,锥孔电压和碰撞能量见表 2。

表 2 MRM 分析的质谱参数

化合物	锥孔电压/V	碰撞能量/eV	离子对(<i>m/z</i>)
林可霉素	30	30	407→126
	30	20	407→359
克林霉素	35	25	425→126
	35	20	425→377
克林霉素磷酸酯	30	30	505→126
	30	30	505→457

3 结果

3.1 对照品分析 采用正离子检测方式,对林可霉素、克林霉素、克林霉素磷酸酯对照品溶液进行 UPLC、MS 和 MS-MS 分析,保留时间分别为 1.91, 3.22, 3.47 min。对照品的准分子离子 [M + H]⁺ 峰分别为 *m/z* 407, *m/z* 425, *m/z* 505, 相应谱图见图 1;同时对 *m/z* 407 进行子离子扫描,产生的主要碎片分别为 *m/z* 359, 126;对 *m/z* 425 进行子离子扫描,产生的主要碎片分别为 *m/z* 377, 126;对 *m/z* 505 进行子离子扫描,产生的主要碎片分别为 *m/z* 457, 126。见图 2。

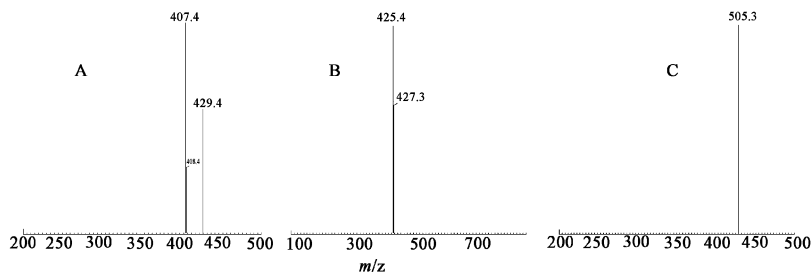
3.2 样品分析 在相同的色谱及质谱条件下对样品溶液进行 UPLC、MS、MS-MS 和 MRM 分析,在样品中检测到林可霉素、克林霉素、克林霉素磷酸酯的准分子离子,进行多反应检测分析后,产生与对照品完全一致的碎片离子,且保留时间分别与林可霉素、克林霉素、克林霉素磷酸酯相同。见图 3。

综合分析上述实验结果,可得出:在高温灭菌后的克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液中,检测到克林霉素磷酸酯、克林霉素及林可霉素 3 种药物成分。

4 讨论

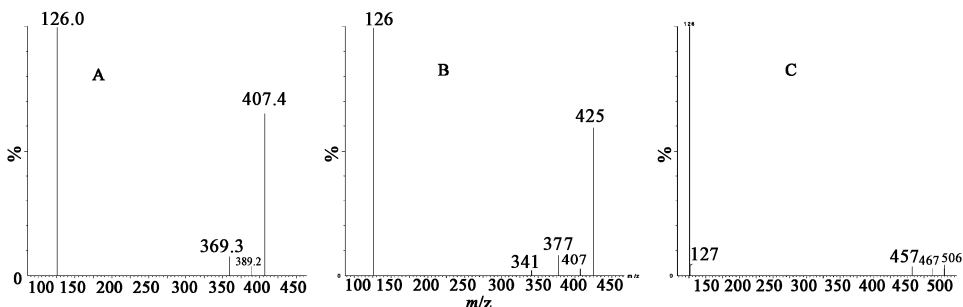
本实验采用 125 °C, 30 min 的条件对样品进行灭菌,采用这种超常规的高温灭菌方法,是为了放大克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液灭菌后的有关物质含量,便于检测分析。

实验证实:对克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液进行高温灭菌,克林霉素磷酸酯主要以降解为克林霉素、林可霉素的方式生成相关物质,克林霉素是克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液中的最大杂质成分。而克林霉素、林可霉素作为合成克林霉素磷酸酯的上游产品,它们自身也被制成注射剂,在克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液的临床应用范围内,被广泛运用。再结合“克林霉素磷酸酯属于林可胺类 抗生素,其抗



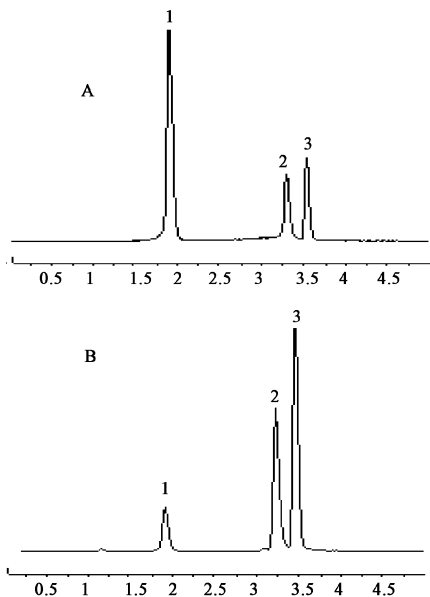
A. 林可霉素对照品; B. 克林霉素对照品; C. 克林霉素磷酸酯对照品

图 1 林可霉素、克林霉素、克林霉素磷酸酯对照品的一级扫描图谱



A. 林可霉素对照品; B. 克林霉素对照品; C. 克林霉素磷酸酯对照品

图 2 林可霉素、克林霉素、克林霉素磷酸酯对照品的二级扫描图谱



A. 对照品混合溶液 B. 供试品溶液

1. 林可霉素 2. 克林霉素磷酸酯 3. 克林霉素

图 3 对照品混合溶液和供试品溶液的色谱图

菌活性比林可霉素强 4~8 倍,在体外无抗菌活性,只有进入机体,在磷酸酯酶作用下迅速水解为克林霉素,才显示其药理活性,抗菌谱、抗菌活性及治疗效果均与克林霉素相同,但它的脂溶性及渗透性比克林霉素好,吸收迅速,作用持久”的特点,可得出:

本可作为克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液中药物成分的“克林霉素、林可霉素”,依据现行克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液质量标准进行评判,应被归为“有关物质”,进行严格控制。

在相关实验中曾观察到^[1-2]:克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液中的“有关物质”含量与灭菌温度、灭菌时间正相关,若以常规的大输液灭菌条件:115℃,30 min 湿热(热压)灭菌,会使产品不符合现行质量标准[有关物质]项中“单个杂质峰面积不得过 5.0%,各杂质峰的总和不得过 8.0%”的规定。这正是“欣弗”事件中,生产厂家为了满足上述质量标准要求,降低灭菌温度,缩短灭菌时间,从而导致[无菌]检查不符合规定的原由。

综上所述,对克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液的生产工艺、质控指标进行深入研究,制订出切实可行的质量标准来控制该制剂,是确保克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液“安全有效、质量可控”的前提,也是有效预防药品不良事件发生的前提。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. WS1-(X-360)-2003Z[S]. 国家药品标准新药转正标准,2004,45:149.
[2] 蒋林波. 甲硝唑注射液灭菌后混浊原因探讨[J]. 中国医院药学杂志,1993,13(7):314.

[责任编辑 蔡仲德]