

应用 HPLC – ESI – IT – MSⁿ 法推定硫酸西索米星中有关物质的结构

袁耀佐¹, 赵恂¹, 张玫¹, 钱文¹, 张海娜², 张正行²

(1. 江苏省食品药品检验所, 南京 210008; 2. 中国药科大学药物分析教研室, 南京 210009)

摘要 目的: 建立 HPLC – ESI – IT – MSⁿ 方法, 研究硫酸西索米星的杂质谱。 **方法:** 采用 Agilent 1100 LC /MSD Trap 液质联用仪, 采用 Gemini NX C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱, 以水 – 氨水 – 冰醋酸 (96:3.6:0.4) 为流动相 A, 甲醇为流动相 B, 梯度洗脱, 流速 1 mL · min⁻¹; 质谱检测器采用 ESI 离子源, 正离子检测, 离子源温度为 350 °C, 雾化室压力为 275.8 kPa, 干燥气流速为 9 L · min⁻¹; 检出杂质结构的鉴定方法根据有无杂质对照品而异: 对于有对照品的杂质, 通过比较其与对照品的色谱和质谱行为来确定结构; 对于无对照品的未知杂质, 则以已知结构物质如西索米星、奈替米星等为模型, 通过分析已知物与未知杂质多级质谱行为的异同性推定其结构。 **结果:** 硫酸西索米星原料中检出 16 个有关物质, 其中 14 个物质的结构得到归属。 **结论:** 本文建立的 HPLC – ESI – IT – MSⁿ 方法及研究结果对硫酸西索米星的质量控制和工艺评价具有参考意义。

关键词: 抗生素; 氨基糖苷; 硫酸西索米星; 有关物质; 高效液相色谱; 电喷雾; 离子阱质谱; 结构; 推定

中图分类号: R917 **文献标识码:** A **文章编号:** 0254 – 1793 (2011) 07 – 1288 – 08

HPLC – ESI – IT – MSⁿ characterization of related substances in sisomicin sulfate

YUAN Yao – zuo¹, ZHAO Xun¹, ZHANG Mei¹, QIAN Wen¹,
ZHANG Hai – na², ZHANG Zheng – xing²

(1. Jiangsu Institute for Food and Drug Control, Nanjing 210008, China;

2. Department of Pharmaceutical Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC – ESI – IT – MSⁿ method for the study of impurity profile of sisomicin sulfate. **Methods:** The analysis was performed by an LC – Ion Trap MSⁿ system of Agilent 1100 LC /MSD, using a Gemini NX C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) column as stationary phase, a mixture solution of water – ammonia – glacial acetic acid (96:3.6:0.4) as mobile phase A and methanol as mobile phase B, the gradient elution was done with a flow rate of 1.0 mL · min⁻¹. Electrospray ionization (ESI) source was used at positive ion detection model, the temperature of ESI source was 350 °C, nebulizing pressure was 275.8 kPa, dry gas flow was 9 L · min⁻¹. The impurities which their reference substances were available were identified by comparing the chromatographic and mass spectrometric behaviors with that of reference substances, the others which reference substances were unavailable were deduced using the collision – induced dissociation (CID) spectra of sisomicin and netilmicin as templates. **Results:** A total of 16 compounds were characterized in commercial samples, among which 14 impurities were deduced. **Conclusions:** This work provides very useful information for quality control of sisomicin sulfate and evaluation of its fermentation and purification process.

Key words: antibiotic; aminoglycoside; sisomicin sulfate; related substance; HPLC; ESI; IT; MS; structure; identify

西索米星 (sisomicin) 是 20 世纪 60 年代开发的由小单孢菌产生的首个含双键的氨基糖苷类抗生素^[1,2], 也是奈替米星的合成用母体^[3], 具有疗效好、价格较低等特点, 其硫酸盐制剂在临床上仍被广泛应用。国外西索米星多由伊尼奥氏小单孢菌发酵

产生; 国产西索米星是由伊尼奥氏小单孢菌澄江变种产生^[4]。国家食品药品监督管理局网站上显示, 目前我国硫酸西索米星原料有 5 个厂家生产, 注射液、注射用粉针等不同剂型有 47 个生产批文, 质量

标准中国药典、日本药局方及美国药典收载^[1-3]，但英国药典及国际药典未收载。

由微生物发酵的西索米星样品为对组分样品，范明琦等^[4]曾从西索米星中分离出6个极性小组分，测定硫酸西索米星中有关物质的方法有薄层色谱^[2,3]、HPLC-ELSD^[6,7]等方法，王建等^[8]曾采用HPLC-MSⁿ方法探讨硫酸西索米星中有关物质结构，可能因流动相中三氟乙酸(0.05 mol·L⁻¹)对电喷雾有较强的离子抑制作用，检测灵敏度很低，从硫酸西索米星样品中只检出1个杂质，Li等^[9]通过在流动相中添加部分氨水，改善了检测灵敏度，但从硫酸西索米星中也只检出6个杂质，但对硫酸西索米星杂质谱的系统研究报道国内外未见，为此，作者在阿米卡星含量测定用的HPLC-ELSD色谱条件基础上^[9]，建立了灵敏度高，操作简单，适合硫酸西索米星LC-MS分析的碱性流动相色谱系统，对硫酸西索米星原料的主要杂质的结构进行推定，推定方法根据有无杂质对照品情况而异：有对照品的杂质，通过比较其与对照品的色谱和质谱行为来确定结构；无对照品的杂质，通过分析西索米星、奈替米星等类似结构的多级质谱行为，总结出同类物质的质谱裂解规律，再通过分析未知杂质多级质谱，实现对其结构的推定^[10]，作者曾采用本思路，对硫酸奈替米星中主要杂质的结构进行了推定^[11]。

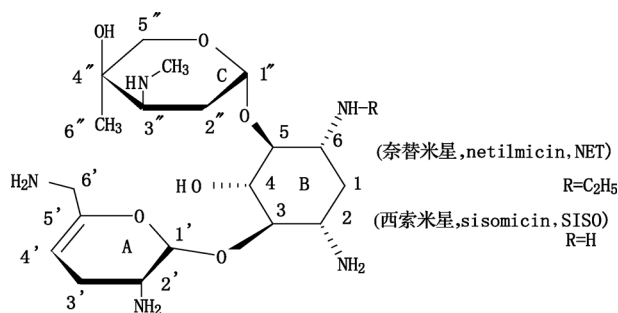


图1 西索米星和奈替米星的结构

Fig 1 Chemical structures of netilmicin and sisomicin

1 仪器与材料

Agilent 1100 LC /MSD Trap 液质联用仪(美国Agilent公司)。

西索米星粗品、硫酸西索米星原料分别由江苏省不同的生产企业提供(具体名称略)，奈替米星、西索米星对照品均由中国药品生物制品检定所提供，甲醇为色谱纯试剂，其余均为分析纯试剂。

2 实验方法

2.1 色谱条件 色谱柱: Gemini NX C₁₈(4.6 mm × 150 mm, 5 μm, 美国 Phenomenex 公司); 以水-氨水-冰醋酸(96:3.6:0.4)为流动相A, 甲醇为流动相B, 进行梯度洗脱 0~15 min, 5% B; 15~16 min, 5% → 15% B; 16~25 min, 15% B; 26~27 min, 15% → 30% B; 28~40 min, 30% B; 40~41 min, 30% → 40% B; 41~50 min, 40% B; 50~51 min, 40% → 50% B; 51~60 min, 50% B; 60~61 min, 50% → 5% B; 61~70 min, 5% B; 流速: 1 mL·min⁻¹; 柱温: 35℃; 进样量: 20 μL。

2.2 质谱条件 ESI 离子源; 离子源温度: 350℃; 雾化室压力: 275.8 kPa; 干燥气流速: 9 L·min⁻¹; 离子扫描范围: 100~900 m/z; 正离子方式检测, 分流模式进样(分流比为3:2), 采用全扫描一级质谱、自动全离子扫描二级质谱、手动多级质谱3种方式采集奈替米星及有关物质的质谱信息。

3 结果

3.1 西索米星、奈替米星对照品的质谱行为 对电喷雾正离子模式下奈替米星和西索米星的一级和二级质谱行为, 已有较多的报道, 详细裂解过程可参考文献^[11]。

3.2 硫酸西索米星粗品中有关物质质谱信息的采集 取硫酸西索米星粗品适量, 用水溶解并稀释制成含西索米星约 3 mg·mL⁻¹的溶液, 分别进行一级质谱全扫描和二级质谱离子全扫描, 图2为LC/MS的总离子流图, 有关物质测定结果见表1。

表1 有关物质的LC-ESI-IT-MSⁿ的测定结果

Tab 1 Related substances elucidated by LC-ESI-IT-MSⁿ determination

物质代号 (code of compounds)	峰号 (peak No.)	t _R /min	[M+H] ⁺ m/z	[M+H] ⁺ 主要子离子 (fragmentations) (m/z)	可能的结构 (proposed structures of the related substances)
1A	1	2.8	469	434, 366, 348, 324, 308, 289, 205, 187, 169, 163, 155, 146, 145	图3(Fig 3)
1B			308	273, 205, 187, 163, 146	图4(Fig 4)
2	2	3.3	469	434, 366, 348, 324, 308, 289, 205, 187, 169, 163, 155, 146, 145	图3(Fig 3)
3	3	3.8	469	434, 366, 348, 324, 308, 289, 205, 187, 169, 163, 155, 146, 145	图3(Fig 3)

续表 1

物质代号 (code of compounds)	峰号 (peak No.)	t_R/min	$[M+H]^+$ m/z	$[M+H]^+$ 主要子离子 (fragmentations) (m/z)	可能的结构 (proposed structures of the related substances)
4	4	4.2	322	205, 163, 160, 142, 118, 112	加洛糖胺 (garamine)
5	5	5.2	289	271, 254, 237, 173, 163, 145, 127, 110	图 6(Fig 6)
6	6	7.4	483	366, 349, 324, 322, 307, 294, 236, 205, 187, 163, 160, 145	庆大霉素 B (gentamicin B)
7	7	8.3	482	365, 347, 323, 322, 205, 203, 187, 163, 160, 145	图 8(Fig 8)
8	8	18.8	434	416, 399, 382, 308, 295, 271, 254, 205, 187, 163, 146	图 9(Fig 9)
9	9	24.6	434	416, 399, 382, 308, 296, 254, 205, 187, 163, 146	图 9(Fig 9)
10	10	26.1	462	444, 427, 345, 327, 303, 285, 268, 251, 233, 215, 186, 173, 163, 145	威大米星 (verdmicin)
11	11	29.1	447	429, 412, 330, 322, 312, 288, 270, 253, 227, 199, 173, 163, 160, 143	图 10(Fig 10)
西索米星 (sisomicin)	西索米星 sisomicin	30.2	448	430, 413, 322, 313, 295, 271, 254, 243, 205, 189, 173, 163, 160, 142	
12	12	31.9	448	430, 413, 322, 313, 296, 271, 254, 226, 205, 163, 160, 142	西索米星的同分 异构体(isomer of sisomicin)
13A	13	38.1	448	430, 413, 322, 313, 296, 271, 254, 226, 205, 163, 160, 142	西索米星的同分 异构体(isomer of sisomicin)
13B			554	428, 413, 377, 360, 322, 311, 293, 269, 254	未解析(no deduced)
14	14	43.7	554	536, 413, 394, 360, 322, 295, 254, 233, 197, 155	未解析(no deduced)

注(note): 有关物质的代号与图 3 中的色谱峰代号对应(number of reference substances is same as peak no.)

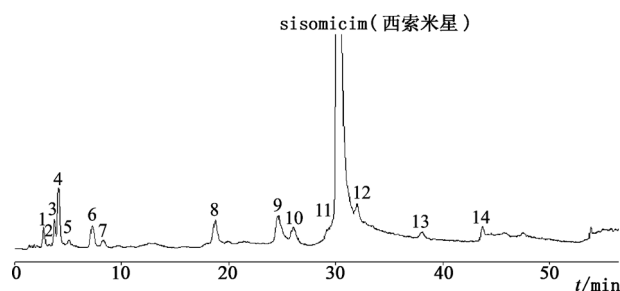


图 2 硫酸西索米星的 LC/MS(TIC) 图

Fig 2 Typical TIC chromatogram of the sisomicin sulfate sample by LC/MS

3.3 有关物质结构推定

物质 1A、物质 2 及物质 3 的 $[M+H]^+$ m/z 均为 469, 其二级质谱一致, 均为 m/z 452, 434, 366, 348, 324, 308, 289, 205, 187, 169, 163, 155, 146, 145。文献 [2] 报道过庆大霉素 A、A₁、A₃ 的 $[M+H]^+$ m/z 为 469, 它们的结构如图 4 所示, 范明琦等 [1] 曾从西索米星原料药中分离得到庆大霉素 A₁ 及庆大霉素 A 组分, 这三组分的结构均能合理解释各碎片离子, 裂解途径如图 3 所示, 对结构进一步的确认可能需要采用高分辨质谱或制备杂质对照品等其他方法。

物质 1B 的 $[M+H]^+$ m/z 308, 与上述几庆大霉素 A 组分脱去 A 环降解产物的加氢离子吻合; 其二级质谱为 $[M+H]^+$ m/z 273, 205, 187, 163, 146, 用庆大霉素 A 组分脱 A 环降解物各碎片离子均能得到合理解释, 裂解途径如图 4 所示, 测定庆大霉素 A 组分二级质谱碎片离子 m/z 308 的三级质谱, 也与物质 1B 的二级质谱一致, 证明推测合理, 即可将物质 B 归属为庆大霉素 A 的降解物。

物质 4 的 $[M+H]^+$ m/z 322, 与西索米星脱去 A 得到的降解产物 B + C 环的加氢离子吻合, 提示该组分为西索米星失去 A 环的降解物, 即加洛糖胺 (garamine), 其二级质谱为 $[M+H]^+$ m/z 205, 187, 163, 160, 142, 118, 112 各碎片离子均能得到合理解释, 裂解途径如图 5 所示, 测定西索米星二级质谱碎片离子 m/z 322 的三级质谱, 也与物质 3 的二级质谱一致, 证明推测合理, 即有关物质 4 为加洛糖胺。

物质 5 的 $[M+H]^+$ m/z 289, 与西索米星脱去 C 得到的降解产物 A + B 环的加氢离子吻合, 提示该组分为西索米星失去 C 的降解物, 其二级质谱为

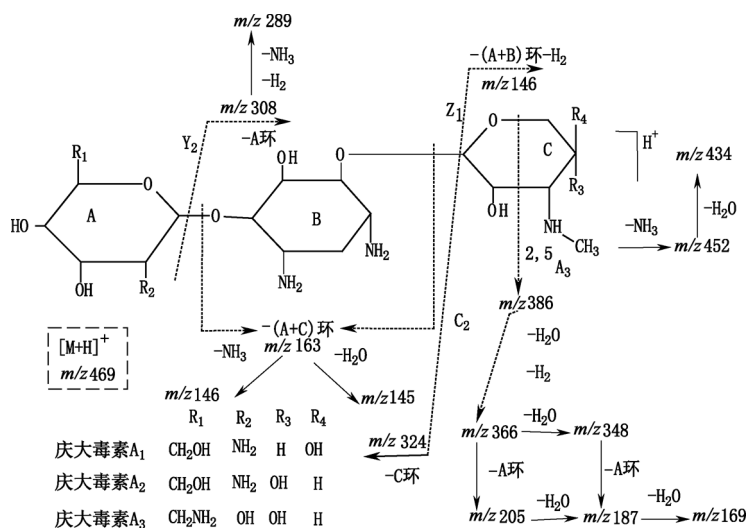


图3 物质1A、物质2及物质3可能的结构及二级质谱裂解途径

Fig 3 The possible chemical structures of compound 1A, compound 2, compound 3 and their possible fragmentation pathways of MS²

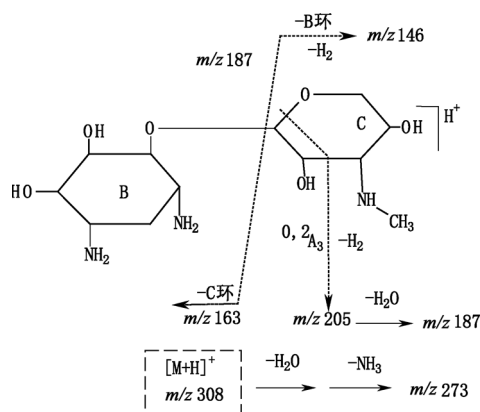


图4 物质1B可能的结构及二级质谱裂解途径

Fig 4 The possible chemical structure of compound 1B and its possible fragmentation pathway of MS²

$[M+H]^+$ m/z 271, 254, 237, 173, 163, 145, 127, 109, 各碎片离子均能得到合理解释, 裂解途径如图6所示,

测定西索米星二级质谱碎片离子 m/z 289 的三级质谱, 也与物质4的二级质谱一致, 证明推测合理, 证明物质5为西索米星脱去C环得到的降解产物。

物质6的 $[M+H]^+$ m/z 483, 与庆大霉素B的相对分子质量吻合, 其二级质谱为 $[M+H]^+$ m/z 366, 349, 324, 322, 307, 294, 236, 205, 187, 163, 160, 145, 各碎片离子均能得到合理解释, 裂解途径如图7所示, 方金瑞等^[3]发现小单孢菌可以产生庆大霉素B, 旁证该结构推定的合理性, 即有关物质6为庆大霉素B。

物质7的 $[M+H]^+$ m/z 482, 与文献报道的JI-20A的相对分子质量吻合, 其二级质谱为 $[M+H]^+$ m/z 365, 347, 323, 322, 205, 203, 187, 163, 160, 145, 各碎片离子均能得到合理解释, 裂解途径如图8所示, 有关物质7为JI-20A, 其结构与庆大霉素B相似, 差

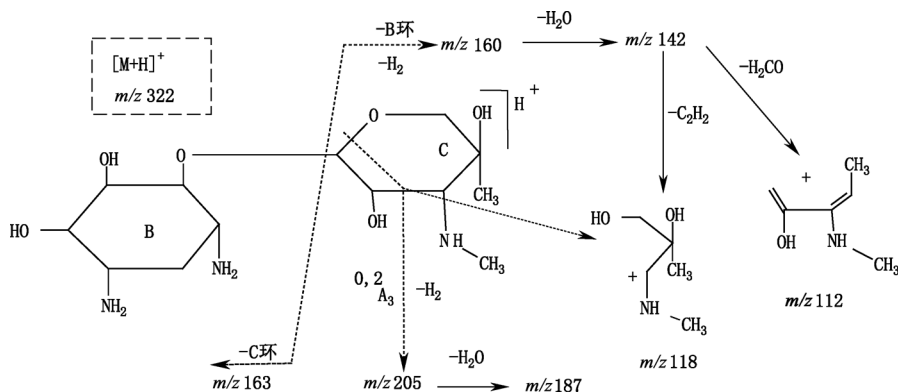


图5 物质4(加洛糖胺)的二级质谱裂解途径

Fig 5 The possible fragmentation pathway of MS² of compound 4(garamine)

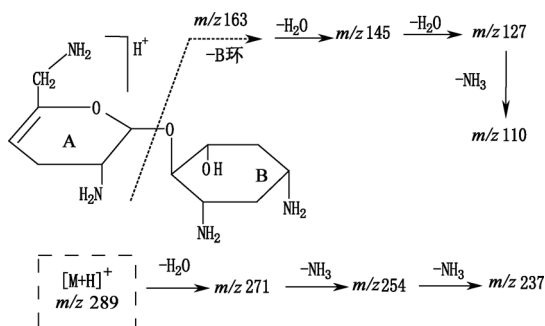


图6 物质5的二级质谱裂解途径

Fig 6 The possible fragmentation pathway of MS² of compound 5

别在于庆大霉素B的A环2位上为羟基,而JI-20A的A环2位上为氨基。

物质8($t_R = 18.8$ min)和物质9($t_R = 24.6$ min)均为 $[M+H]^+$ m/z 434, 比西索米星的 $[M+H]^+$ m/z

448小14,提示结构中比西索米星少1个亚甲基。两物质的二级质谱主要碎片一致。碎片离子 m/z 163为西索米星B环特征离子, m/z 271及254为西索米星A+B环分别脱水、脱氨的特征离子,可见,物质8、物质9的A环和B环与西索米星相同,由此推断,物质8、物质9的C环上比西索米星的C环少1个亚甲基,西索米星的C环的3''、4''位上均有可能脱去甲基,但只从二级质谱信息无法指定这两物质的结构归属,为此,分别对C环的特征离子 m/z 146进行3级质谱扫描,结果显示,物质7的 m/z 146的3级质谱中有明显的脱氨基峰 m/z 129,而物质8的 m/z 146的3级质谱中基峰为 m/z 128,由此可以确定物质8和物质9的结构,如图9所示,即物质8为3''-氮-去甲基西索米星,物质9为4''-去甲基西索米星。

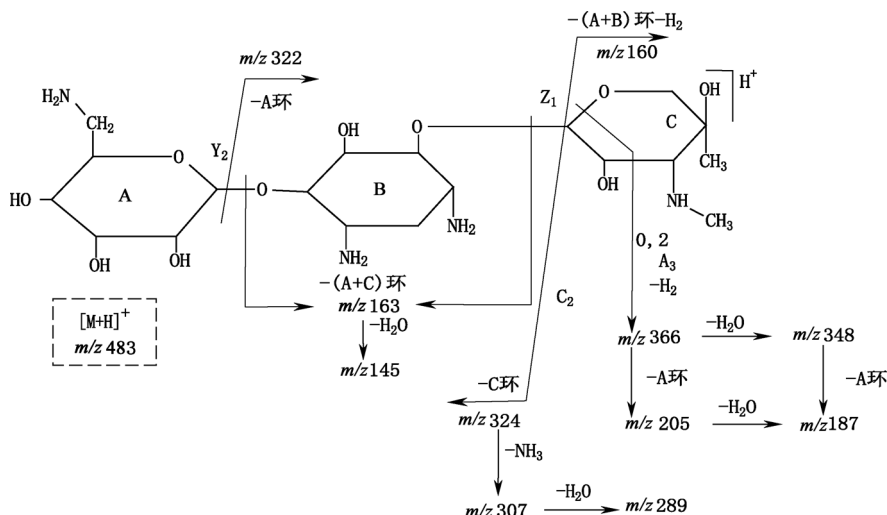


图7 有关物质6(庆大霉素B)的二级质谱裂解途径

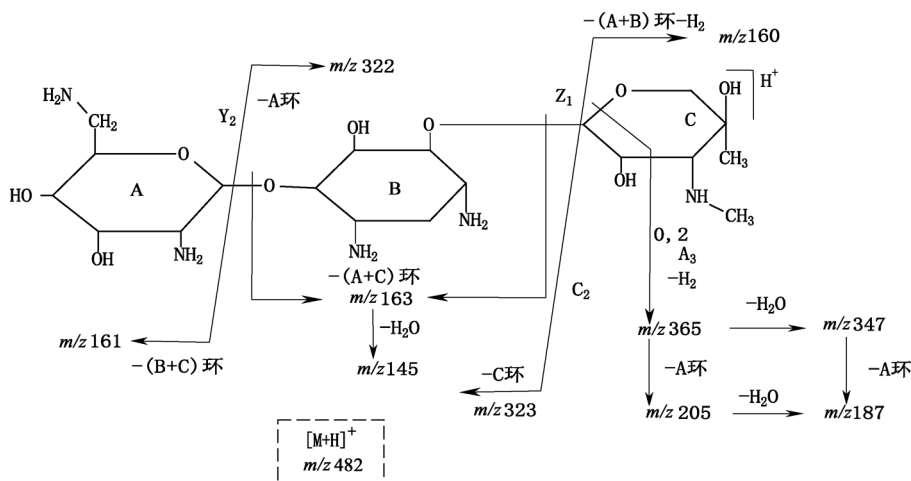
Fig 7 The possible fragmentation pathway of MS² of compound 6(gentamicin B)

图8 有关物质7(JI-20A)的二级质谱裂解途径

Fig 8 The possible fragmentation pathway of MS² of compound 7(JI-20A)

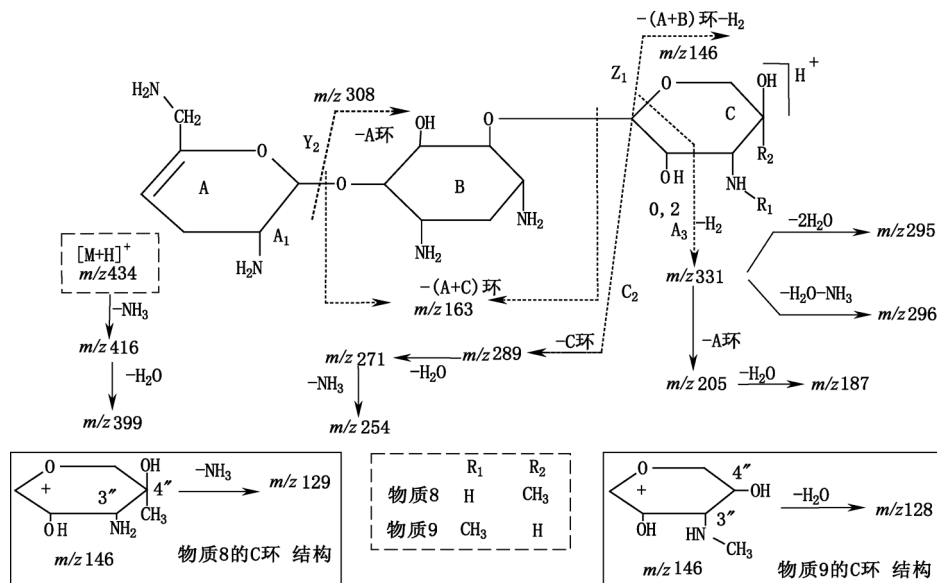


图9 物质8和物质9的二级、三级质谱裂解途径

Fig 9 The possible fragmentation pathway of MS² and MS³ of compound 8 and compound 9

物质10的 $[M+H]^+$ m/z 462, 比小诺霉素的 $[M+H]^+$ m/z 464 小2, 推测其为小诺霉素某个环中含有双键, 其二级质谱为 $[M+H]^+$ m/z 444, 427, 345, 327, 303, 285, 268, 251, 215, 186, 173, 163, 160, 其中 m/z 163 为小诺霉素的B环特征离子, m/z 303

比小诺霉素对应的脱去C环特征离子 m/z 305 小2, 推测该双键应在A环上, 由西索米星的结构推测该双键可能在4,5位之间, 可能的结构如图10所示, 按该结构能解释二级质谱中所有碎片离子, 表明该结构推测合理。

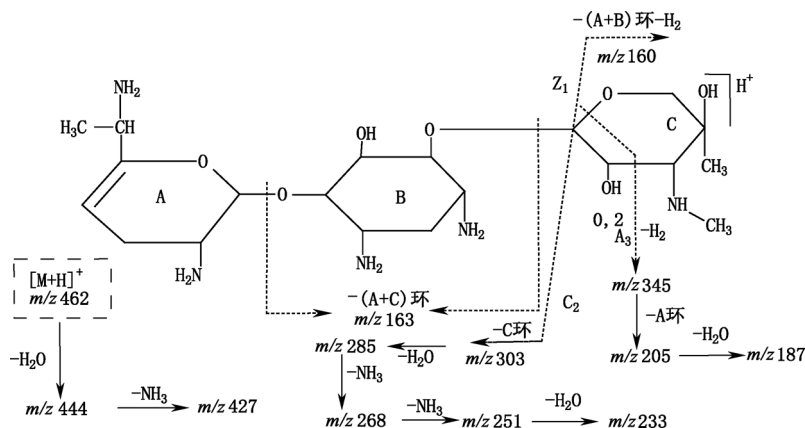


图10 物质10(威大米星)的二级质谱裂解途径

Fig 10 The possible fragmentation pathway of MS² of compound 10(verdamycin)

文献报道西索米星产生菌橄榄星小单孢菌可产生威替米星的结构吻合, 进一步用威大米星对照品进行验证, 物质10一级质谱、二级质谱及色谱保留时间与威大米星完全一致, 表明推测合理, 即物质10为威大米星。

物质11的 $[M+H]^+$ m/z 447, 比西索米星的 $[M+H]^+$ m/z 448 小1, 推测其为西索米星类似物, 其二级质谱为 $[M+H]^+$ m/z 429, 412, 330,

322, 312, 288, 270, 253, 227, 186, 173, 163, 160, 142, 其中 m/z 163 为西索米星的B环特征离子, m/z 322 为西索米星B+C环的特征离子, 推测物质11的A环上比西索米星的A环少1, 提示其环上的氧原子为氮取代, 即西索米星的A环上唯一的连接糖苷的氧原子可能被氮原子取代, 物质11可能的结构如图11所示, 该结构能解释二级质谱中主要碎片离子, 表明该结构推测合理。

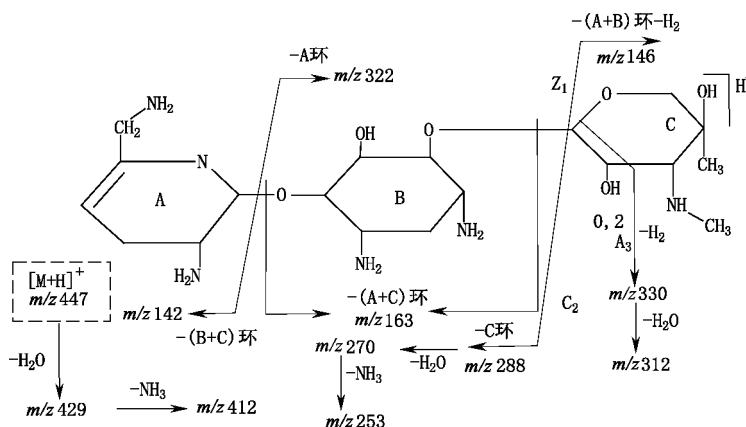


图 11 物质 11 的结构及二级质谱裂解途径

Fig 11 The possible chemical structure of compound 11 and its possible fragmentation pathway of MS²

物质 12 及物质 13A 的 $[M+H]^+$ m/z 448, 与西索米星相同, 二级质谱裂解途径也相同, 可见它们为与西索米星结构极其相似的同分异构体。

物质 13B 及物质 14 的一级质谱均为 $[M+H]^+$ m/z 544, 但二级质谱完全不同, 对其裂解规律进行分析, 与现在能查阅到的氨基糖苷类抗生素无相似之处, 为新发现的结构。

3.4 硫酸西索米星对照品及不同企业原料杂质谱差异性考察 分别取西索米星对照品、2 批硫酸西索米星原料适量, 用水溶解并稀释制成含西索米星约 $3 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液, 应用建立的 HPLC-ESI-IT-MSⁿ 分析它们的杂质谱, 图 12 为它们的 LC-MS 总离子流图 (TIC), 结果显示, 西索米星对照品中仅检出西索米星脱去 A 环的加洛糖胺, 纯度较高, 1 批硫酸西索米星中检出 7 个杂质, 另外 1 批硫酸西索米星原料检出 16 个杂质, 采用上述结构分析的思路, 各检出杂质的结构均得到归属 (详细结果略)。这些分析结果对生产企业改进发酵、精制工艺和储存条件等方面有重要的指导意义。

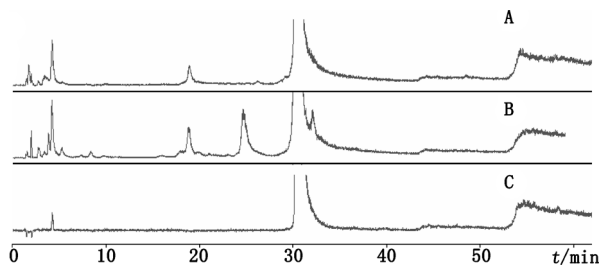


图 12 不同企业硫酸西索米星原料的 LC/MS 总离子流图 (TIC)

Fig 12 Typical TIC chromatograms of sisomicinsulfate samples from different manufactures by LC/MS

A. 原料 1 (bulk 1) B. 原料 2 (bulk 2) C. 西索米星对照品 (reference substance)

4 讨论

4.1 因氨基糖苷类抗生素结构中有很多的氨基和羟基, 其在反相色谱柱中几乎不保留, 很多文献报道通过在流动相添加全氟酸 (三氟乙酸、五氟丙酸、七氟丁酸等) 改善这类物质的色谱分离, 因流动相中的全氟酸对质谱检测特别是正离子有强抑制, 使得质谱中几乎无信号, 有人建议^[4] 在柱后添加含丙酸或丁酸的丙醇溶液, 即所谓的 “TFA fix” 技术解决三氟乙酸对质谱灵敏度抑制问题, 后因其操作复杂, 人们在应用过程中逐渐演变为在流动相中直接添加部分丙酸或丁酸^[5], 也有学者通过在含全氟酸流动相中增加氨水的方法改善灵敏度^[6], 在选择硫酸西索米星杂质谱分析的方法时, 对上述方法均进行了尝试, 结果显示, 上述 4 种方法均适用于硫酸西索米星 LC/MS 分析, 并有足够的灵敏度, 但含全氟酸的流动相对质谱仪的污染严重, 实验结束后需要对质谱仪进行全面清洗, 否则严重影响后面品种的质谱检测灵敏度, 而作者也曾利用氨基糖苷类抗生素是两性化合物的特点, 采用 pH 10 的碱性流动相, 通过 LC-MS 成功地实现了对研究依替米星^[7]、小诺霉素^[8] 等原料中杂质谱的研究, 而碱性流动相可以同时解决分离和检测的问题, 而且对仪器没有污染, 优于全氟酸的检测条件。

4.2 本研究选用电喷雾离子化方法, 分别用正、负离子模式扫描西索米星溶液, 结果显示, 正离子模式下检测灵敏度超乎想象地远远大于负离子检测模式, 可能是流动相中氨水的挥发性远远大于冰醋酸, 电喷雾形成的液滴在去溶剂时氨水部分先挥发去除, 使残存液滴由原先的碱性转变为酸性, 提供氢离子, 西索米星及其有关物质经库仑爆炸后呈现为加氢离子。

4.3 用建立的方法对不同来源的硫酸西索米星原料及中检所提供的西索米星对照品的杂质谱进行了研究,检测结果显示不同来源原料的杂质谱差异很大,预示新建方法作为硫酸西索米星工艺优化、质量监督以及应急检验等方面的“眼睛”,具有良好的应用前景。

4.4 因样品来源问题,本文未比较国内外不同菌种发酵产生的西索米星的杂质谱的差异,有待于进一步研究。

参考文献

- FAN Ming - qi(范明琦), SHEN Yi - qun(沈依群), HU Xiao - ling(胡小玲), *et al.* Studies on the polar minor components of sisomicin bulk material(西索米星原料药中极性小组分的研究). *Chin J Antibiot*(中国抗生素杂志), 1998,23(3): 178
- ZHU Jian - ping(朱坚屏), NI Yong - fu(倪雍富). Regulation of the secondary component in sisomicin fermentation(抗生素西索米星发酵过程中次要组分的调控). *Chin J Antibiot*(中国抗生素杂志), 1999,24(1): 16
- HONG Hong(洪虹), SHEN Jian - feng(沈剑锋), ZHANG Jin(章瑾). An improved synthetic process of netilmicin sulfate(硫酸奈替米星的合成工艺改进). *Chin J Pharm*(中国医药工业杂志), 2002,33(1): 3
- USP32/NF27. 2009. 3559
- JP X V. 2006. 1090
- ChP(中国药典). 2010. Vol II(二部): 971
- WANG Jian(王建), WANG Zhi - jian(王知坚), CHEN Gui - bin(陈贵斌), *et al.* Analysis of sisomicin sulfate and its related substances by HPLC - ELSD and HPLC - MSⁿ(HPLC - ELSD 和 HPLC - MSⁿ 分析硫酸西索米星及其注射液). *Chin Pharm J*(中国药杂志), 2007,42(1): 62
- Li B, Van Schepdael A, Hoogmartens J, *et al.* Characterization of impurities in sisomicin and netilmicin by liquid chromatography/mass spectrometry. *J Rap Comm Mass Spect*, 2008,22(22): 3455
- CHEN Guan - hua(陈冠华), PAN Shu - ping(潘淑萍), HU Jiang - ning(胡江宁). Determination of amikacin sulfate and its related substances by HPLC - ELSD(硫酸阿米卡星含量及有关物质的 HPLC - ELSD 测定). *Chin J Med Ind*(中国医药工业杂志), 2005,36(3): 171
- Zheng CN, Hao HP, Wang X, *et al.* Diagnostic fragment - ion - based extension strategy for rapid screening and identification of serial components of homologous families contained in traditional Chinese medicine prescription using high - resolution LC - ESI - IT - TOF/MS: Shengmai injection as an example. *J Mass Spect*, 2009,44(2): 230
- YUAN Yao - zuo(袁耀佐), ZHANG Mei(张玫), QIAN Wen(钱文), *et al.* Rapid characterization of the related substances in netilmic in sulfate sample by HPLC - ESI - IT - MSⁿ(高效液相色谱 - 电喷雾 - 离子阱质谱法推定硫酸奈替米星中有关物质的结构). *Chin Pharm J*(中国药杂志), 2010,45(18): 1428
- Grahek R, Kralj LZ. Identification of gentamicin impurities by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal*, 2009,50(5): 1037
- FANG Jin - rui(方金瑞), CHENG Zhen - tai(程振泰), CHEN Yong - xin(陈永信), *et al.* Gentamicin B produced by the green mutant of *Micromonospora inyoensis*(伊尼奥小单孢菌绿色变株产生庆大霉素 B). *Chin J Antibiot*(中国抗生素杂志), 1989,14(3): 214
- Thomas MA. Ion suppression in mass spectrometry. *Clin Chem*, 2003,49(7): 1041
- Shou WZ, Naidong W. Simple means to alleviate sensitivity loss by trifluoroacetic acid(TFA) mobile phases in the hydrophilic interaction chromatography - electrospray tandem mass spectrometric(HILIC - ESI/MS/MS) bioanalysis of basic compounds. *J Chromatogr B*, 2005,825(2): 186
- Vogel R, Defillipo K, Reif V. Determination of isepamicin sulfate and related compounds by high performance liquid chromatography using evaporative light scattering detection. *Pharm Biomed Anal*, 2001,24(3): 405
- YUAN Yao - zuo(袁耀佐), ZHANG Mei(张玫), QIAN Wen(钱文), *et al.* Characterization of related substances in etimicin sulfate sample by high performance liquid chromatography electrospray ionization ion trap mass spectrometry(高效液相色谱 - 电喷雾 - 离子阱质谱法推定硫酸依替米星中有关物质的结构). *Chin J Anal Chem*(分析化学), 2010,38(6): 817
- YUAN Yao - zuo(袁耀佐), TAN Li(谭力), ZHANG Mei(张玫), *et al.* Rapid characterization of the related substances in micronomicin sulfate by HPLC - ESI - IT - MSⁿ(HPLC - ESI - IT - MSⁿ 法快速推定硫酸小诺霉素中有关物质的结构). *Pharm Clin Res*(药与临床研究), 2010,18(1): 31

(本文于 2010 年 7 月 3 日收到)