

中国医药工业杂志



2018-11
第49卷·第11期

- 全国中文核心期刊
- 中国生物医学核心期刊
- 中国期刊方阵入选期刊
- 中国科技核心期刊
- 中国科学引文数据库来源期刊
- 华东地区优秀期刊



关注患者的顺应性

使用卡乐康包衣的片剂才是完美的

聪明的企业正通过口服固体制剂的外观设计来减少用药差错，并提高患者服药的顺应性。他们相信——片剂产品的外观会影响患者对药物的辨识和感受。监管部门同样深知这一点。

利用卡乐康薄膜包衣技术开发易于吞服的、独特的、品牌化的片剂可以为产品带来额外的价值。卡乐康为您打开了片剂设计的窗口，通过不同颜色、形状和薄膜包衣的组合，打造与众不同的片剂外观。联系我们，使您的片剂更完美。

从片芯到包衣
您可信赖的供应商

www.colorcon.com.cn



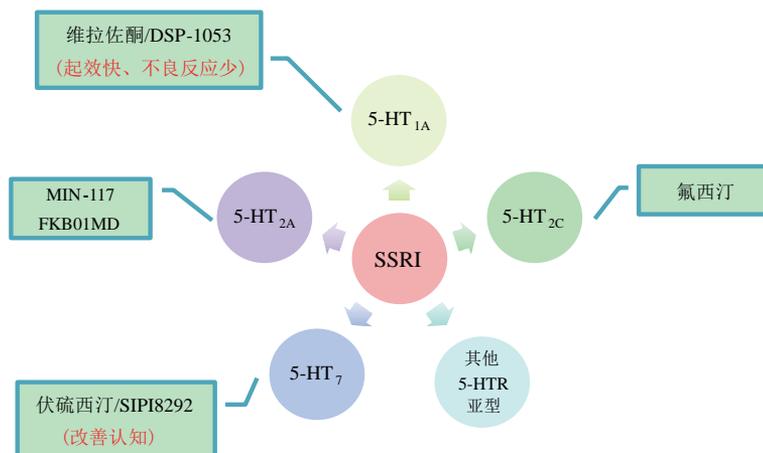
主 办
上海医药工业研究院
中国药学会
中国化学制药工业协会



微信号: cjph-cjph

· 专论与综述 ·

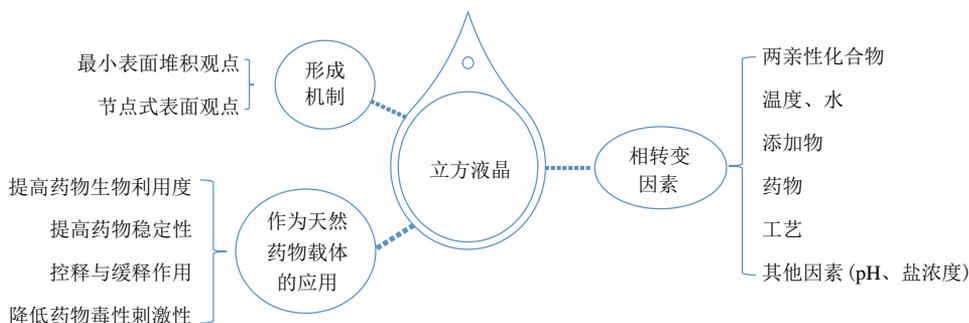
1481 5-HT 再摄取抑制/5-HT 受体亚型多重作用抗抑郁药物研究进展.....谷正松, 李建其*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.001



1492 3D 打印技术在透皮领域的研究进展.....杨雅丽, 童想柳, 边琼, 罗华菲*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.002

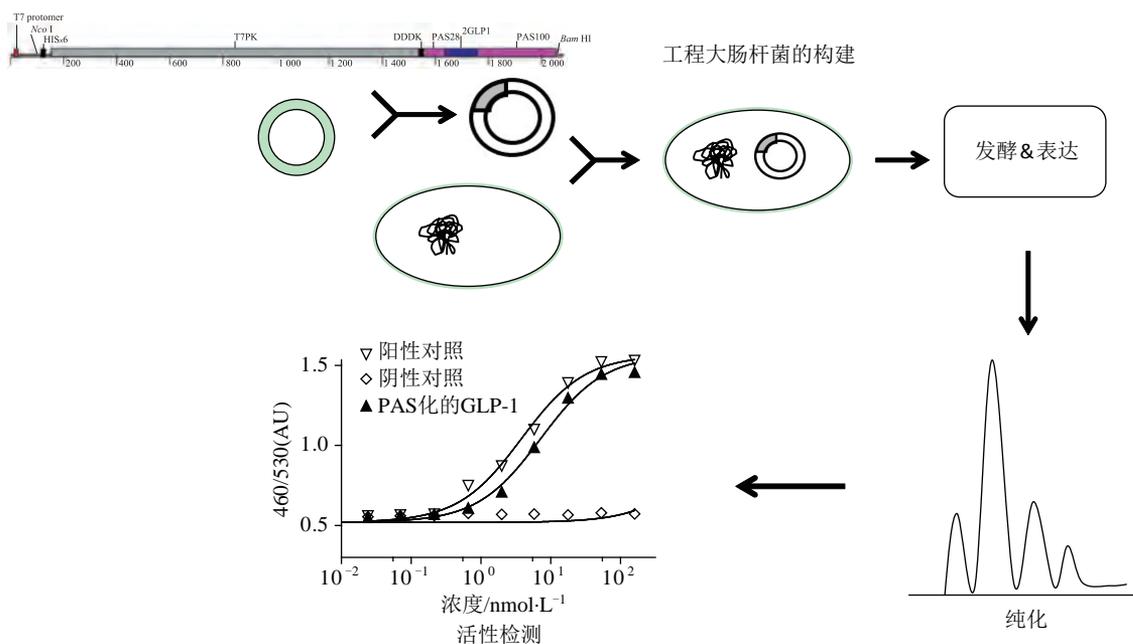


1500 立方液晶作为天然药物载体的研究进展.....徐玲霞, 申宝德, 金晨, 朱卫丰*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.003



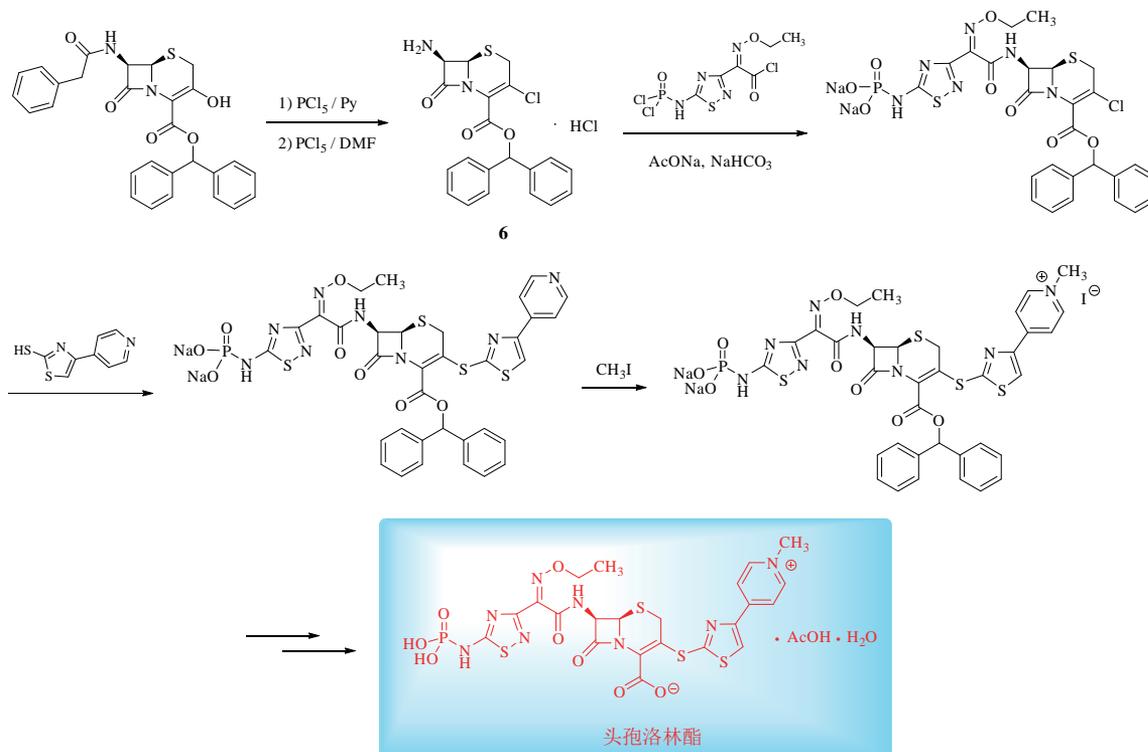
1508 GLP-1 融合蛋白的表达、纯化及其初步活性分析.....姜旖旎, 黄宗庆, 马洁, 冯军*

DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.004



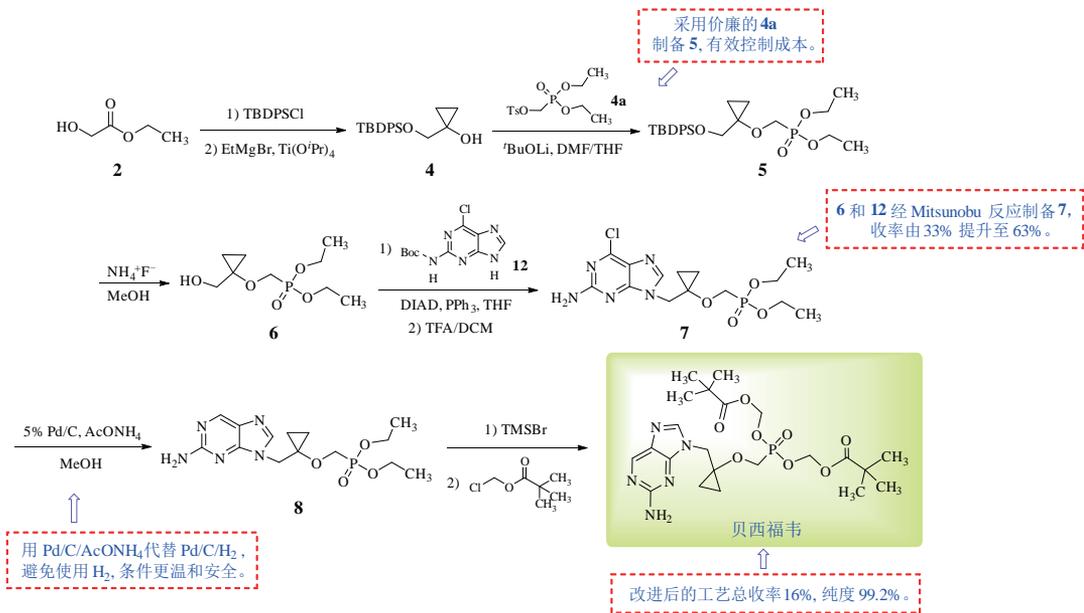
1518 头孢洛林酯的合成新工艺.....郭新亮, 张乃华, 鲍广龙, 张仲奎, 张贵民*

DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.005

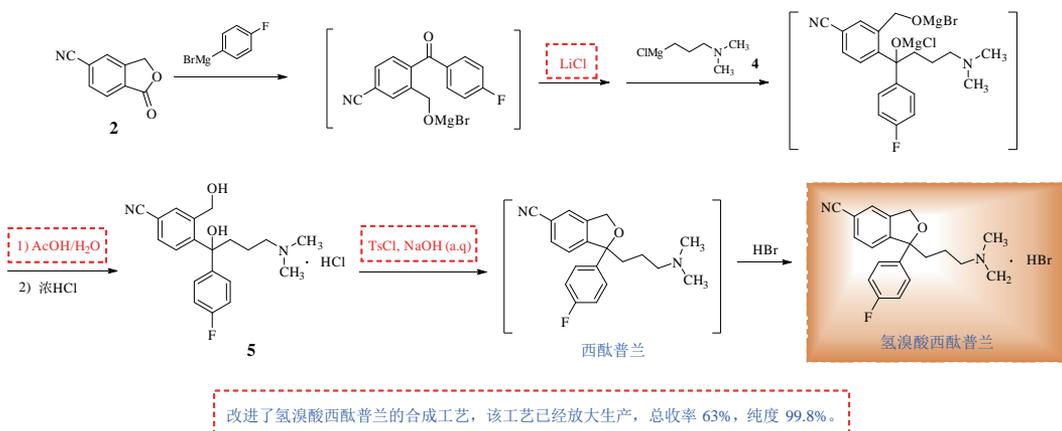


采用新工艺合成了头孢洛林酯, 纯度99.56%, 总收率34.8%, 本工艺已经过中试验证。

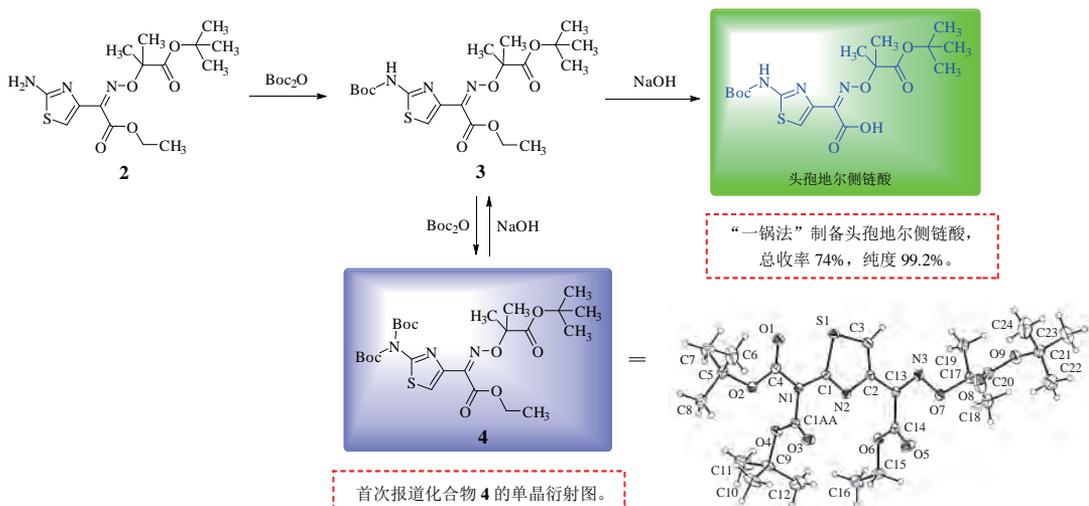
1524 贝西福韦合成工艺改进.....吴 阳, 廖国超, 郝玲花, 王鹏程, 孙平华*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.006



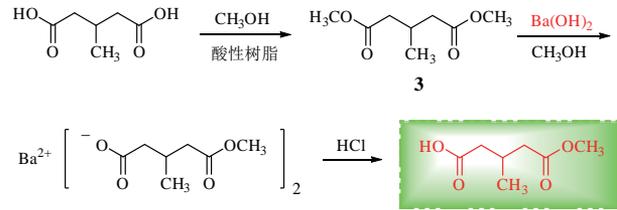
1530 西酞普兰氢溴酸盐的工艺改进.....黄文锋, 余文龙, 胡佳兴, 张 剑*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.007



1534 头孢地尔侧链酸的合成.....唐志勇, 阳学文, 卢凯恺, 毛侦军
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.008

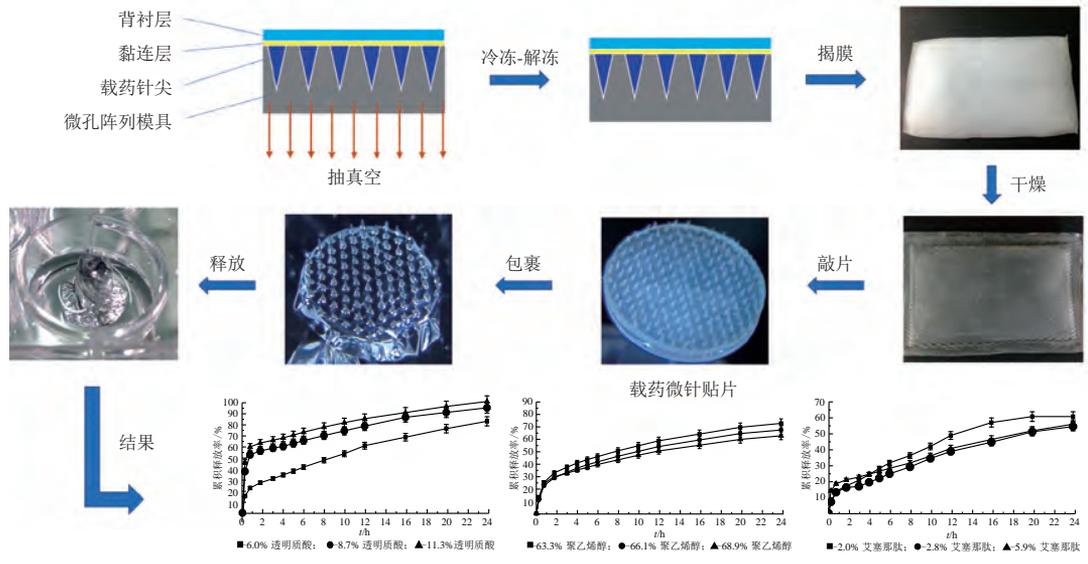


1538 β-甲基戊二酸单甲酯的合成.....赵丽华
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.009

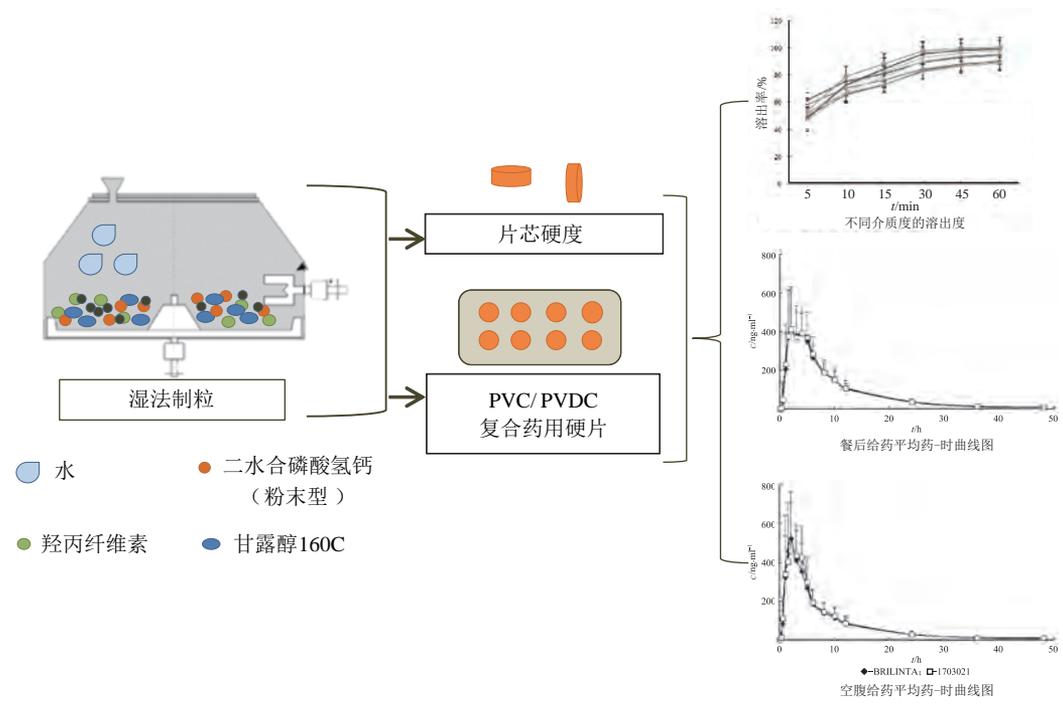


利用氢氧化钡对酯的温和碱解反应，开发了一条合成β-甲基戊二酸单甲酯的新路线，总收率90.3%。此工艺已经过中试验证。

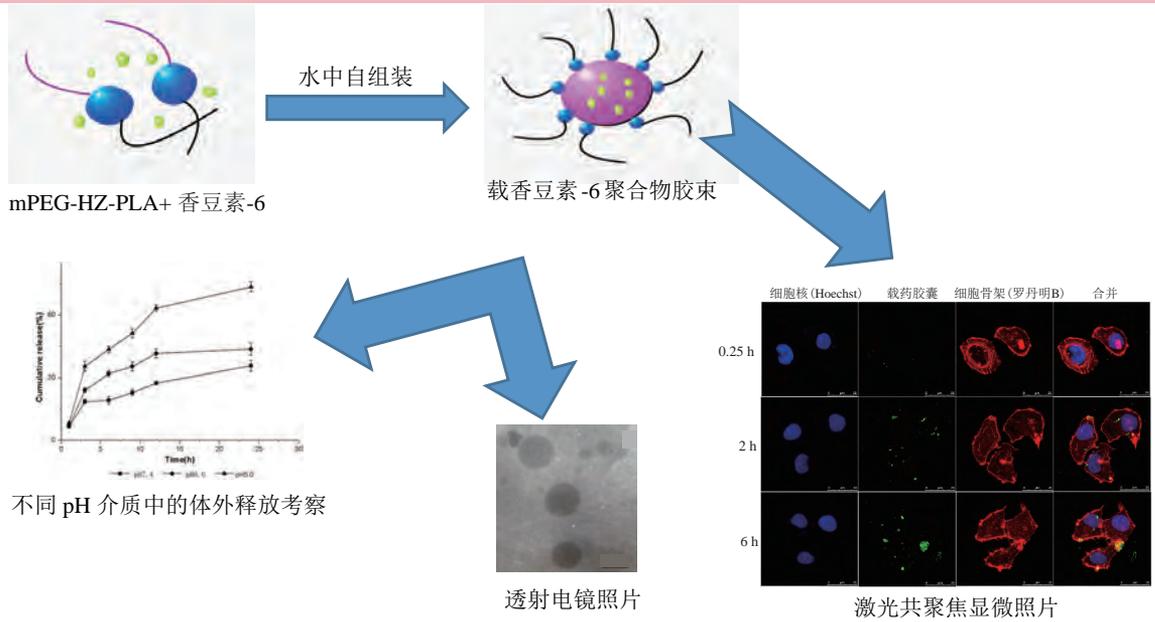
1541 艾塞那肽相转化微针的制备及处方优化.....朱嗣文, 刘 锋, 吴 飞, 金 拓*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.010



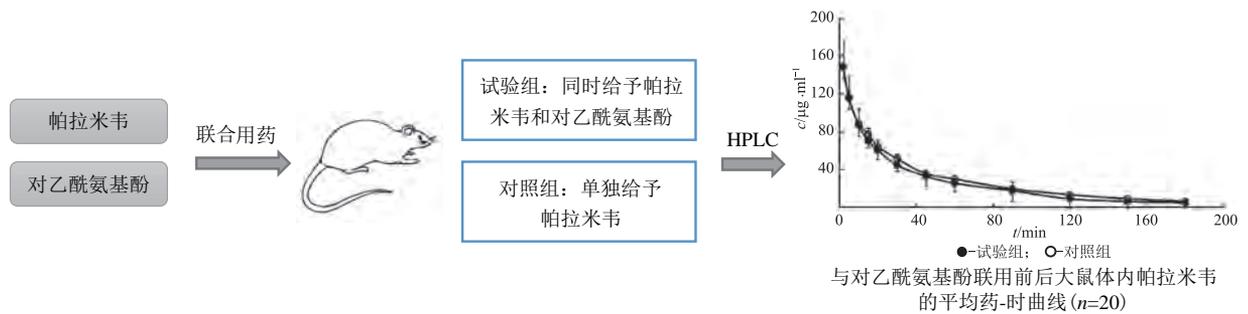
1548 替格瑞洛片处方工艺考察及其人体生物等效性.....刘 双, 屈 芮, 唐 云, 朱永强*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.011



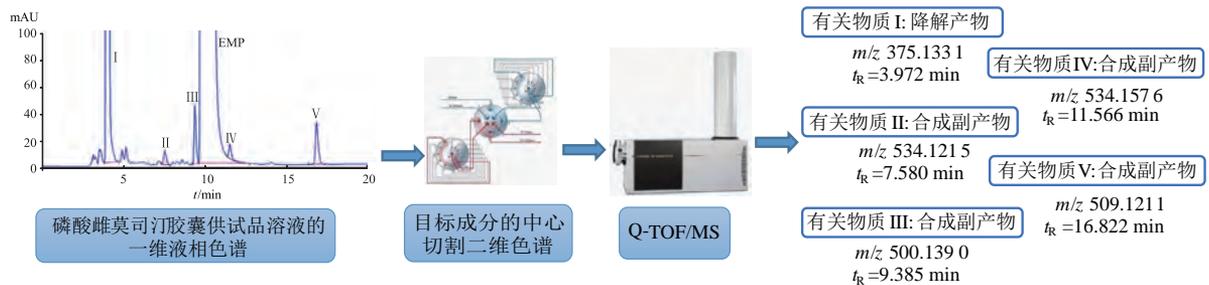
1559 包载荧光探针香豆素-6的pH敏感型聚合物胶束的制备与评价.....赵善科, 尹美林, 郑岩, 史淑丹, 孙玉琦*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.012



1567 对乙酰氨基酚对帕拉米韦在大鼠体内药动学的影响.....赵晓娟, 黄博雅, 刘秀菊, 赵永红, 张志清*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.013



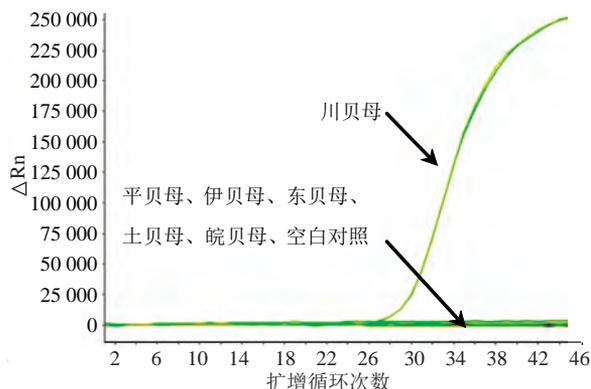
1571 中心切割二维高效液相色谱质谱联用法分析磷酸雌莫司汀胶囊中的有关物质.....邓云菲, 王林波, 吴晓鸾*, 彭兴盛, 林梅
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.014



1581 川贝母物种特异性 TaqMan 探针实时荧光定量 PCR 方法的建立.....

王成, 常志远, 兰青阔, 赵新, 兰璞*

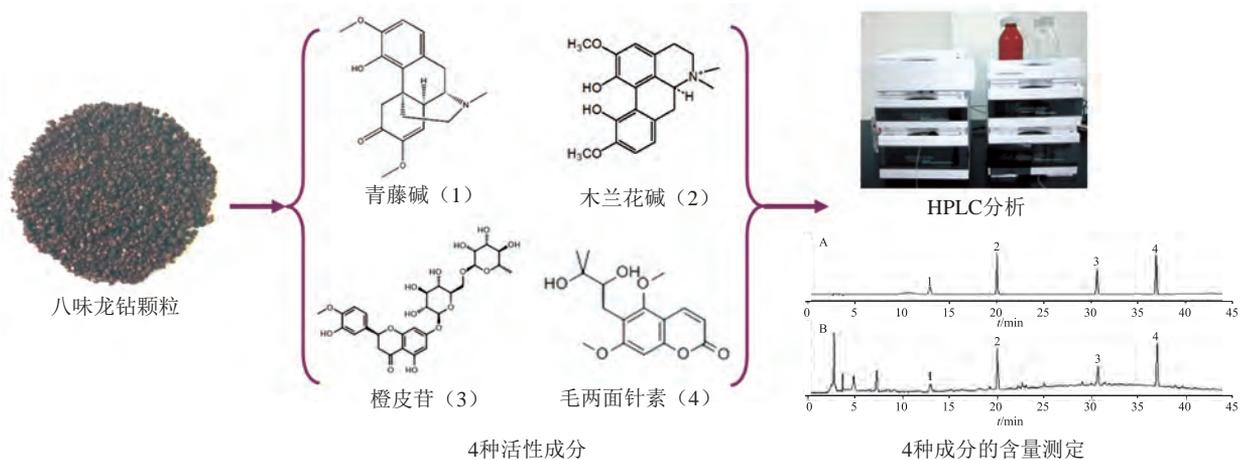
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.015



1586 壮药八味龙钻颗粒中 4 种有效成分的 HPLC 法测定.....

李海娇, 李琪, 方刚, 王平, 范刚*

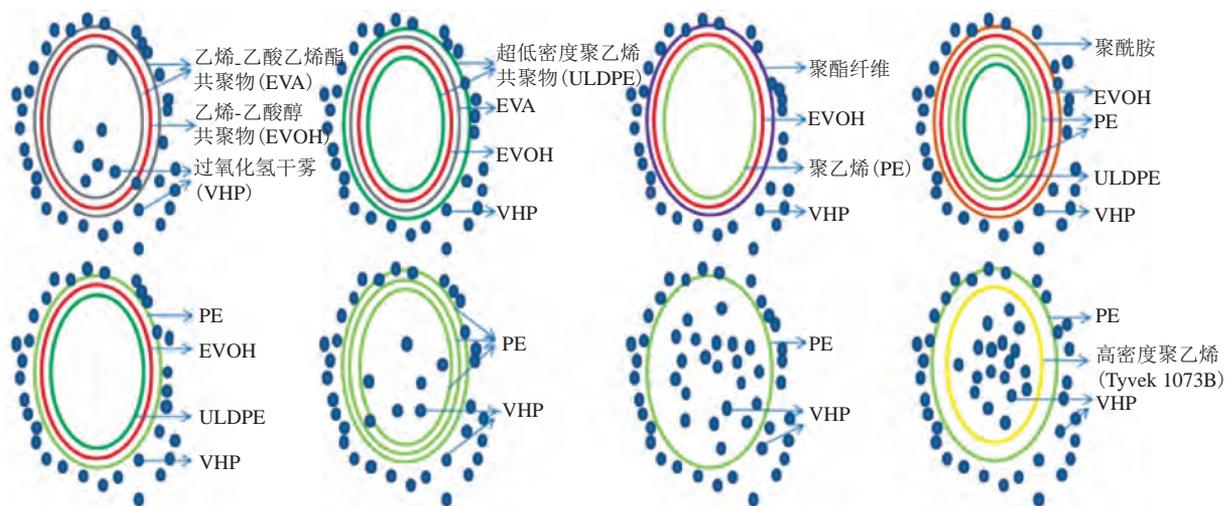
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.016



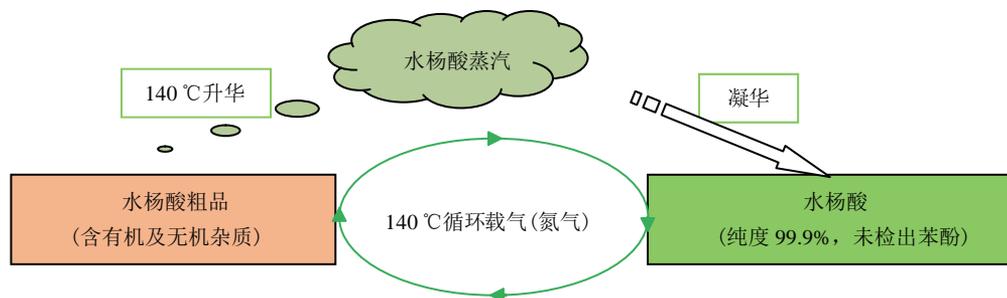
1591 隔离器 VHP 灭菌时呼吸袋及储液袋穿透性探究.....

刘向东, 梁开宇, 邓启, 徐威, 王威*

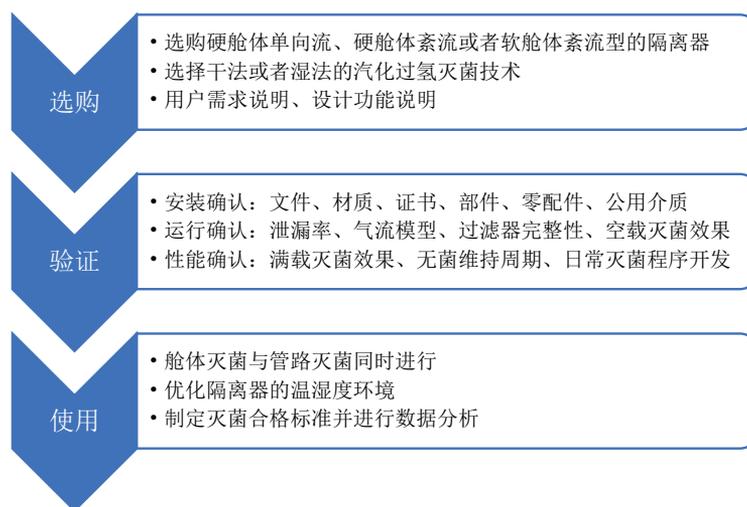
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.017



1595 升华法精制水杨酸的工艺研究.....徐 龙, 徐 旋, 林 波, 刘 芬, 赵国标*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.018

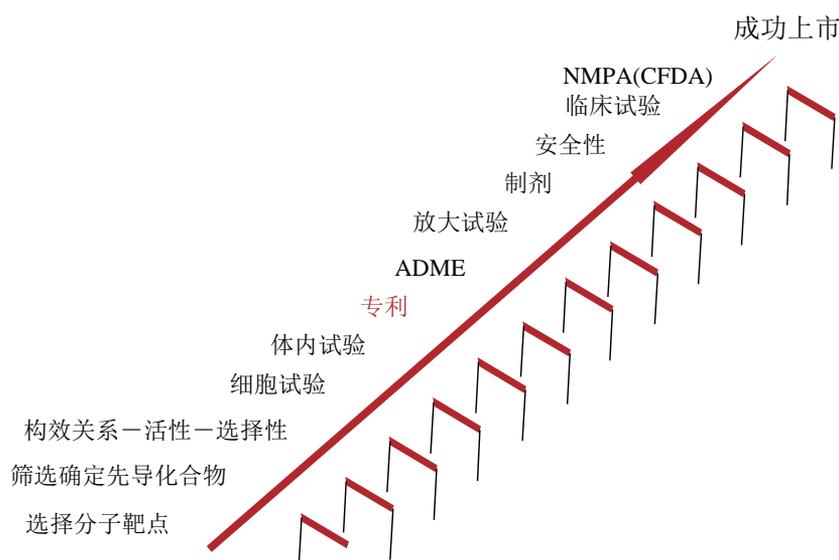


1602 无菌检查用隔离器选购、验证和使用的探讨.....黄家乐, 王 玥*, 何 睿, 徐雪娥
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.019

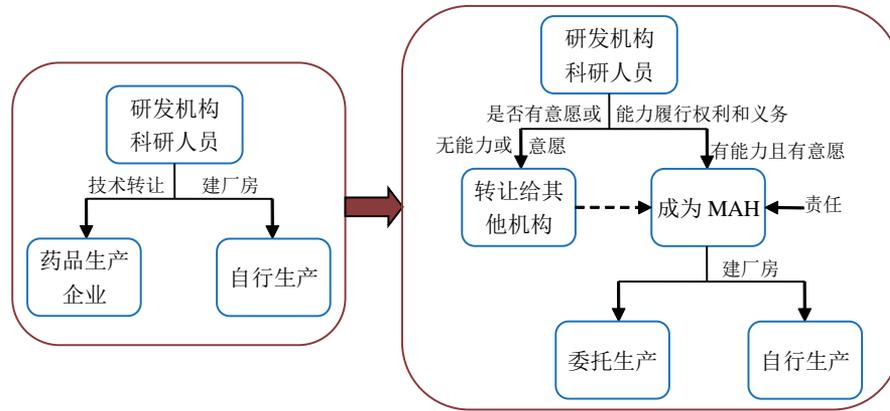


· 药学管理与信息 ·

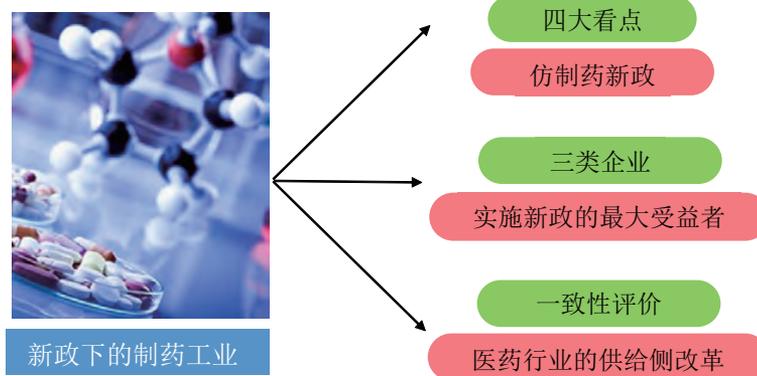
1610 新药研发专利保护策略.....刘桂明, 黄超峰
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.020



1615 药品上市许可持有人制度与现行制度的衔接问题探讨.....赵华婷, 颜建周, 邵蓉*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.021



1624 医药新政下我国制药行业发展的新思路.....徐培红, 刘天尧*, 干荣富
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.022



1629 创新型医药中小企业发展路径研究及启示——以约尼斯制药为例.....陆杰, 颜建周, 邵蓉*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.023



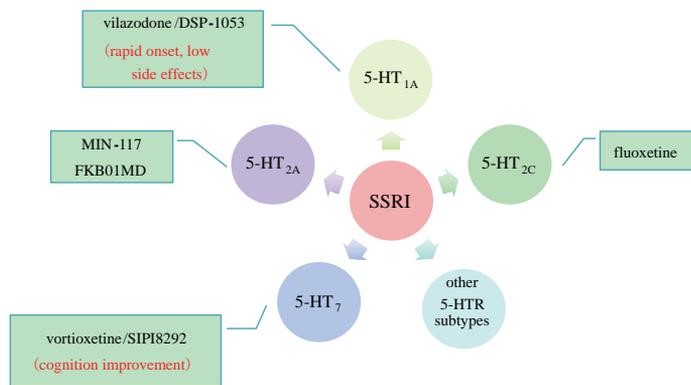
创新型医药中小企业发展路径

· 其他 ·

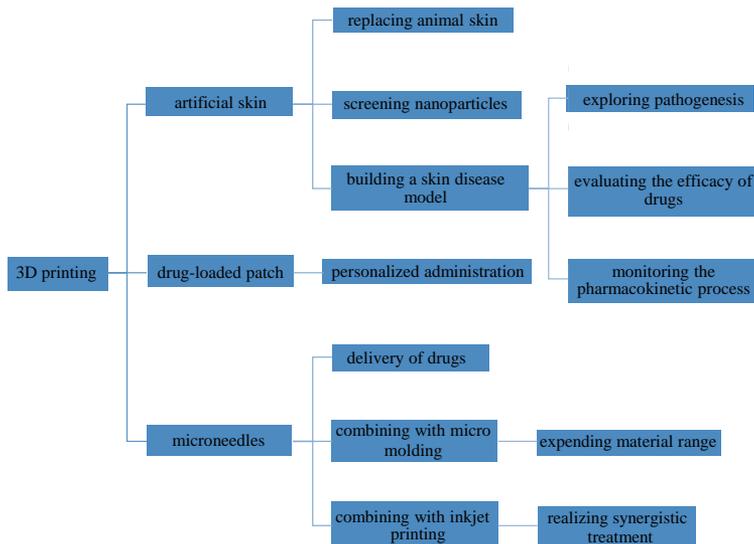
广告索引(1516)

Perspectives & Review

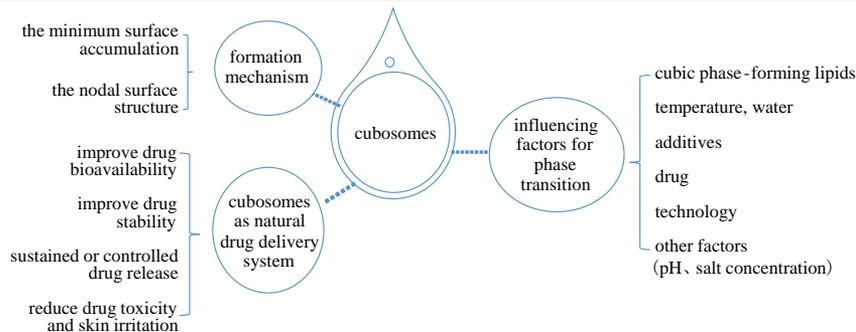
- 1481** Research Progress of Multi-target Antidepressants with SSRI and 5-HT Receptor Subtypes Activity *GU Z S, LI J Q**
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.001



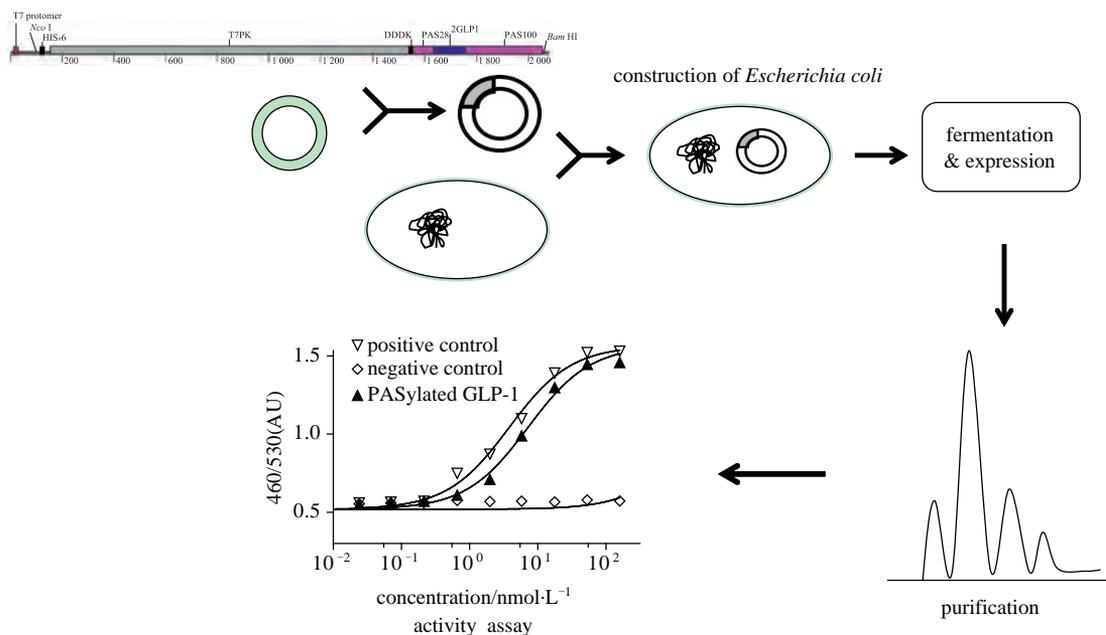
- 1492** Recent Advances of 3D Printing Technology in Transdermal Drug Delivery System
..... *YANG Y L, TONG X L, BIAN Q, LUO H F**
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.002



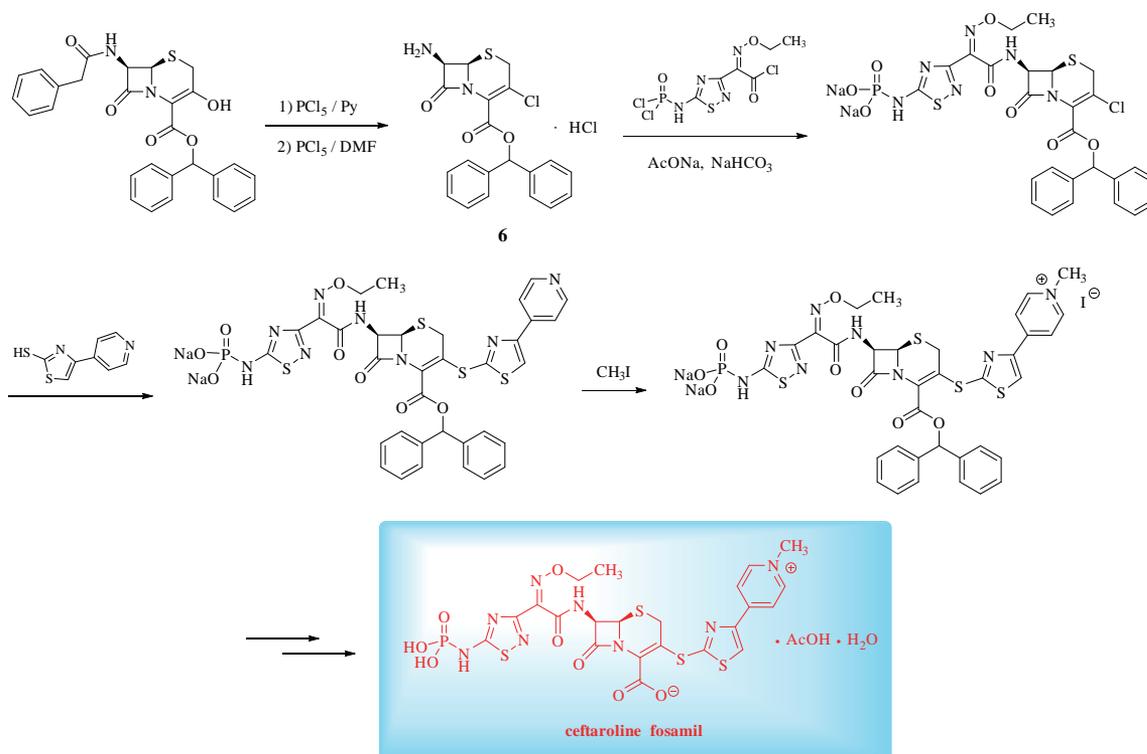
- 1500** Research Advance in Cubosomes as Carriers for Natural Medicines
..... *XU L X, SHEN B D, JIN C, ZHU W F**
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.003



1508 Expression, Purification and Preliminary Activity Analysis of GLP-1 Fusion Protein.....
JIANG Y N, HUANG Z Q, MA J, FENG J*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.004

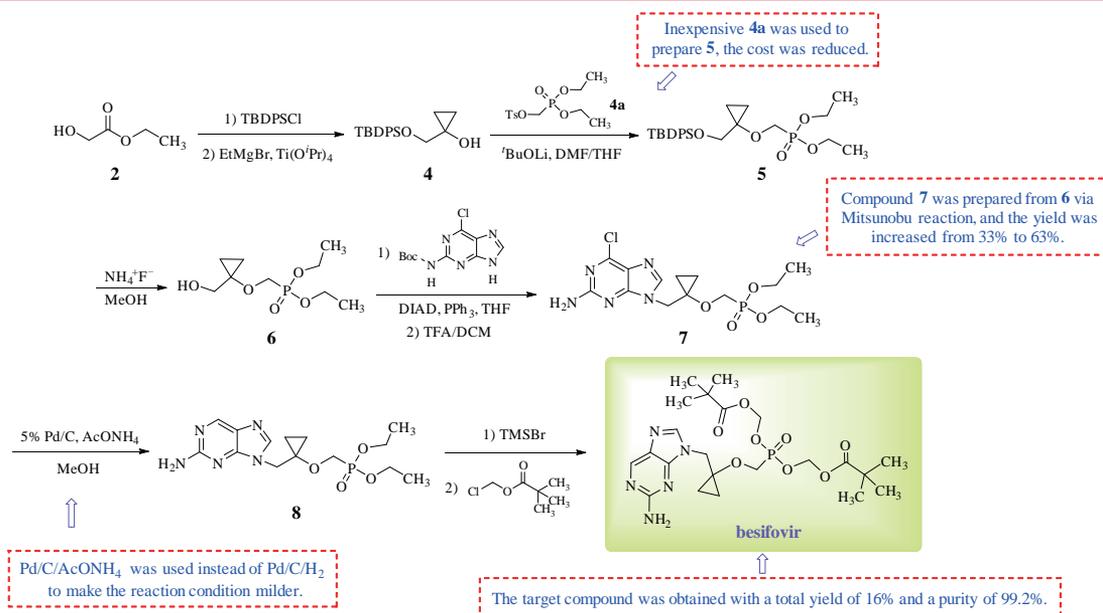


1518 A Novel Synthetic Process for Ceftaroline Fosamil.....
GUO X L, ZHANG N H, BAO G L, ZHANG Z K, ZHANG G M*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.005

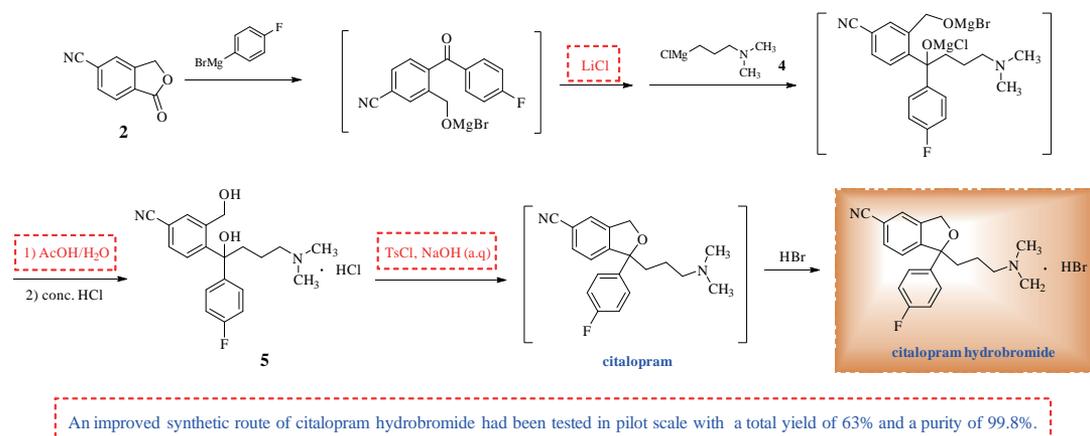


Ceftaroline fosamil was synthesized with a purity of 99.56% and a total yield of 34.8%, and this new process had been tested in pilot scale.

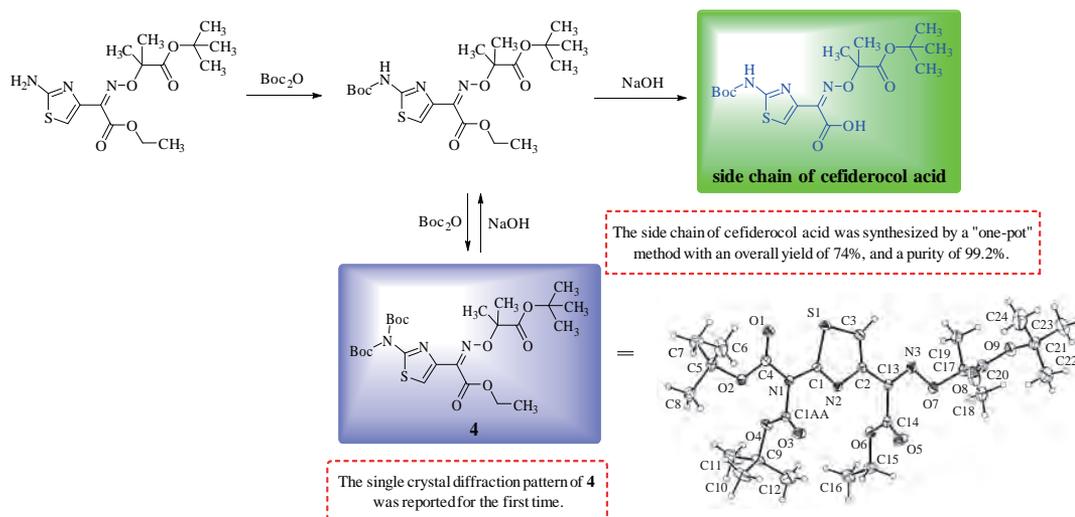
1524 Synthesis Improvement of Besifovir.....*WU Y, LIAO G C, HAO L H, WANG P C, SUN P H**
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.006



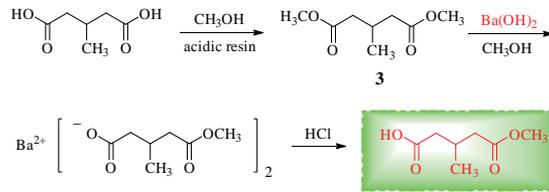
1530 Process Improvement for Citalopram Hydrobromide.....*HUANG W F, YU W L, HU J X, ZHANG J**
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.007



1534 Synthesis of the Side Chain of Cefiderocol Acid.....*TANG Z Y, YANG X W, LU K K, MAO Z J*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.008

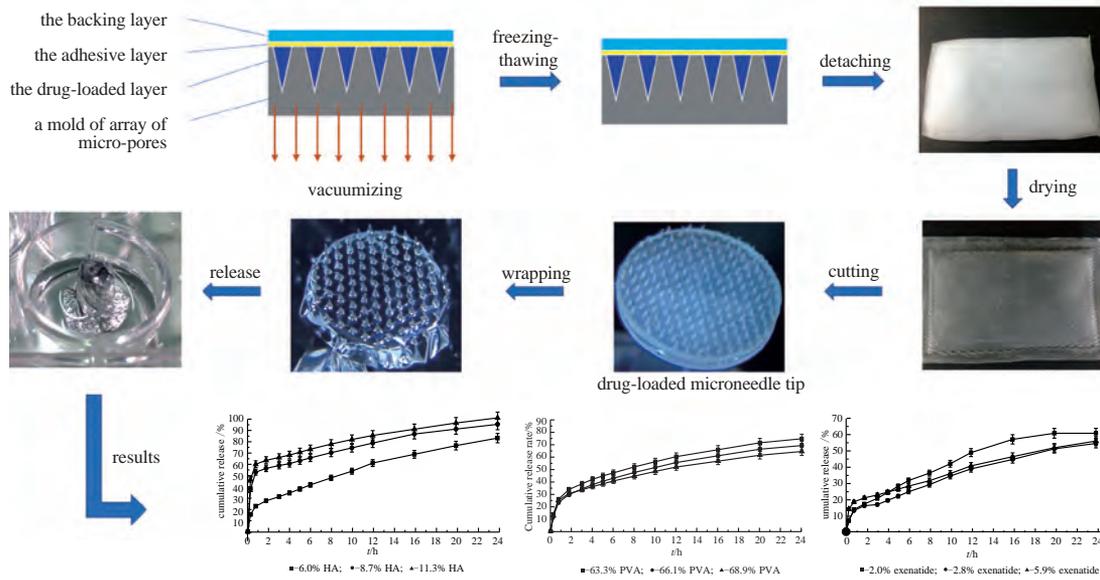


1538 Synthesis of Monomethyl β -Methylglutarate.....ZHAO L H
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.009

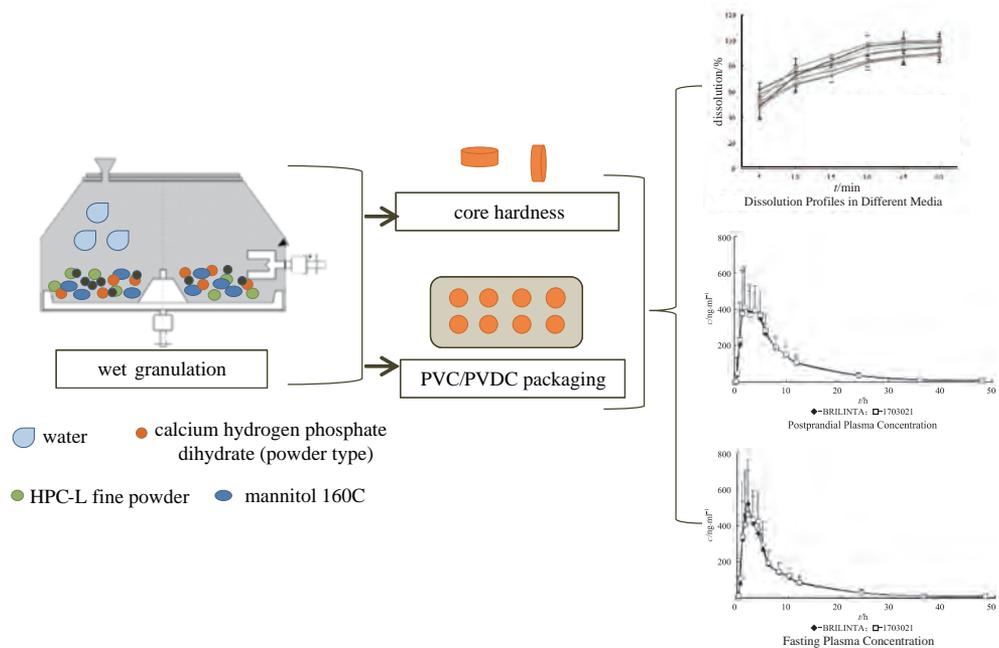


A novel synthetic process for monomethyl β -methylglutarate by utilizing the mild alkaline hydrolysis of barium hydroxide was developed. This new process had been validated in pilot scale with a total yield of 90.3%.

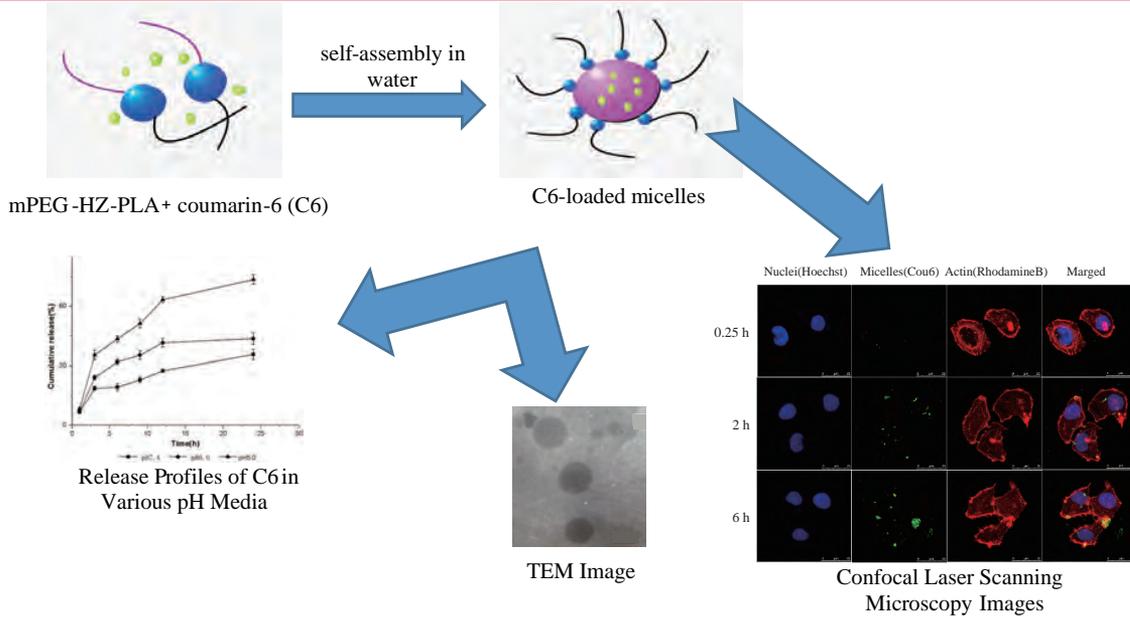
1541 Preparation and Formulation Optimization of the Exenatide Phase-transition Microneedle TipsZHU S W, LIU F, WU F, JIN T*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.010



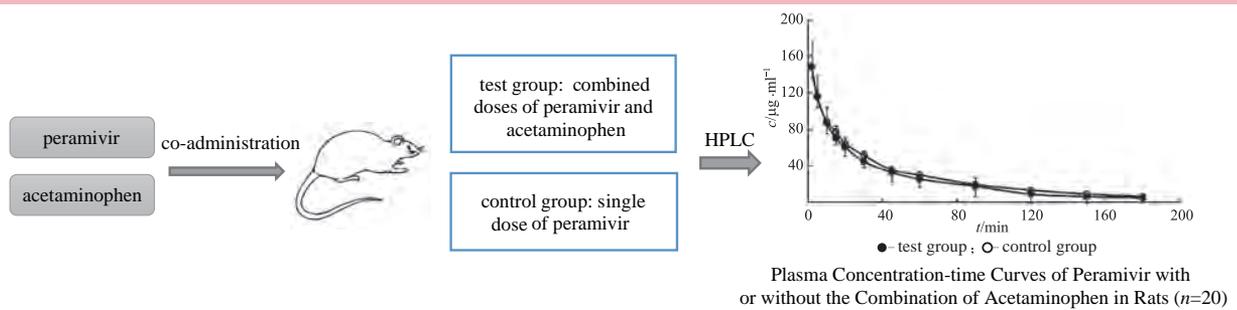
1548 Investigation on Formulation and Process of Ticagrelor Tablets and Their Human BioequivalenceLIU S, QU R, TANG Y, ZHU Y Q*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.011



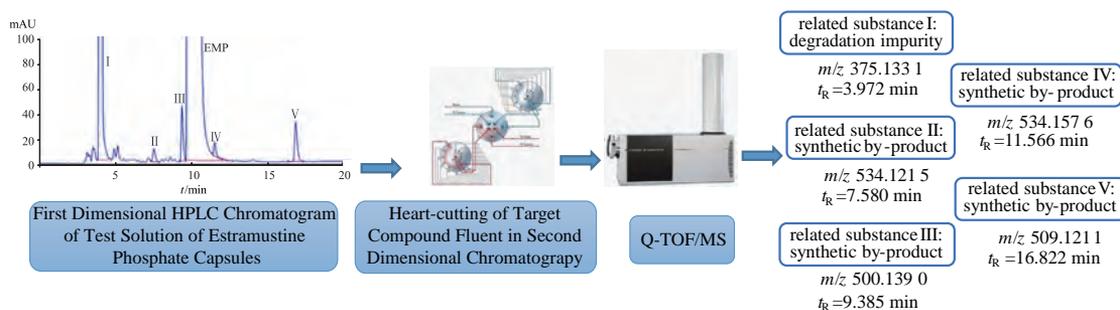
1559 Preparation and Evaluation of pH-Sensitive Polymer Micelles Coated with Fluorescent Probe Coumarin-6.....*ZHAO S K, YIN M L, ZHENG Y, SHI S D, SUN Y Q**
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.012



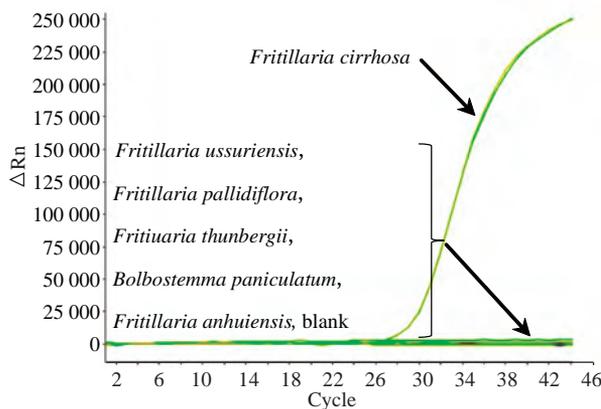
1567 Effect of Acetaminophen on the Pharmacokinetics of Peramivir in Rats.....*ZHAO X J, HUANG B Y, LIU X J, ZHAO Y H, ZHANG Z Q**
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.013



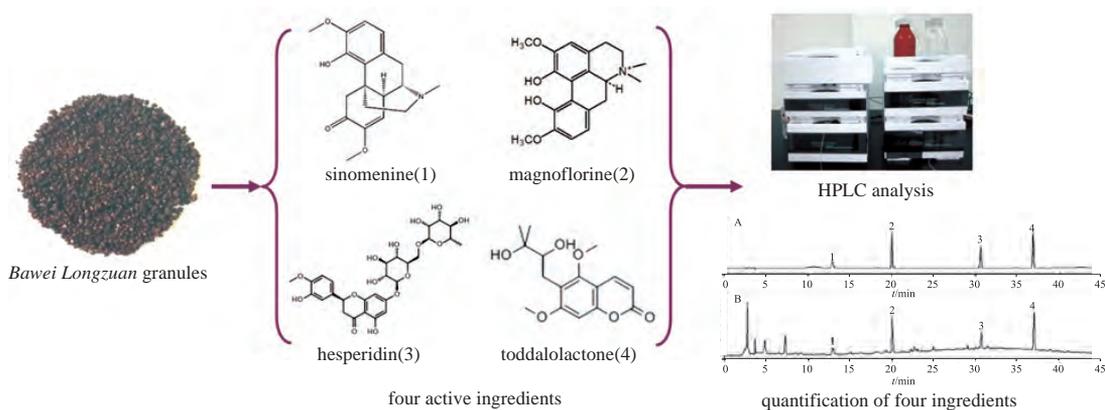
1571 Analysis of Related Substances in Estramustine Phosphate Capsules by Heart-cutting Two-dimensional Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry.....*DENG Y F, WANG L B, WU X L*, PENG X S, LIN M*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.014



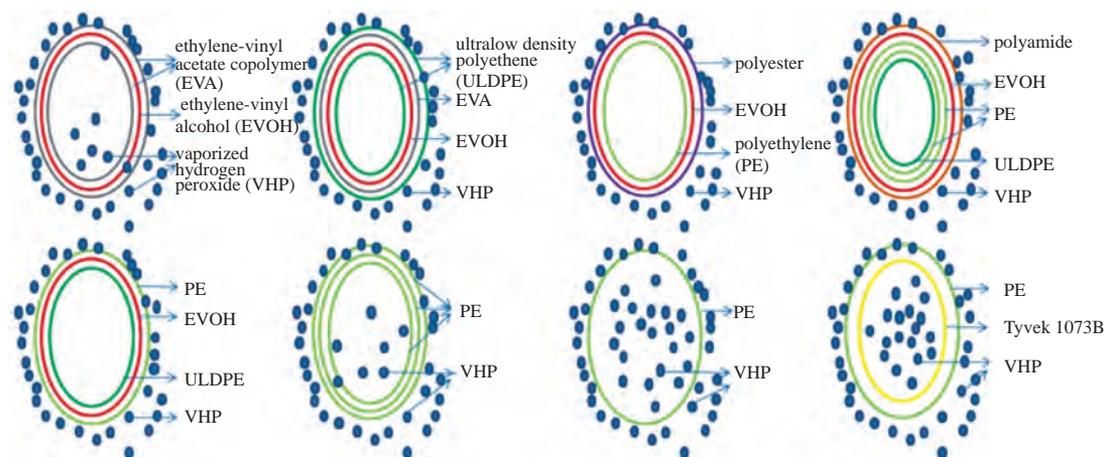
1581 Establishment of Real-time Quantitative PCR for TaqMan Probe Method of *Fritillaria cirrhosa* Species.....WANG C, CHANG Z Y, LAN Q K, ZHAO X, LAN P*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.015



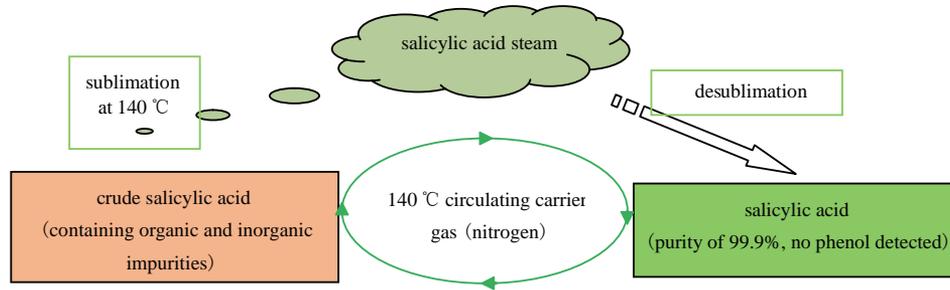
1586 Determination of Four Active Ingredients in *Bawei Longzuan* Granules by HPLC.....LI H J, LI Q, FANG G, WANG P, FAN G*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.016



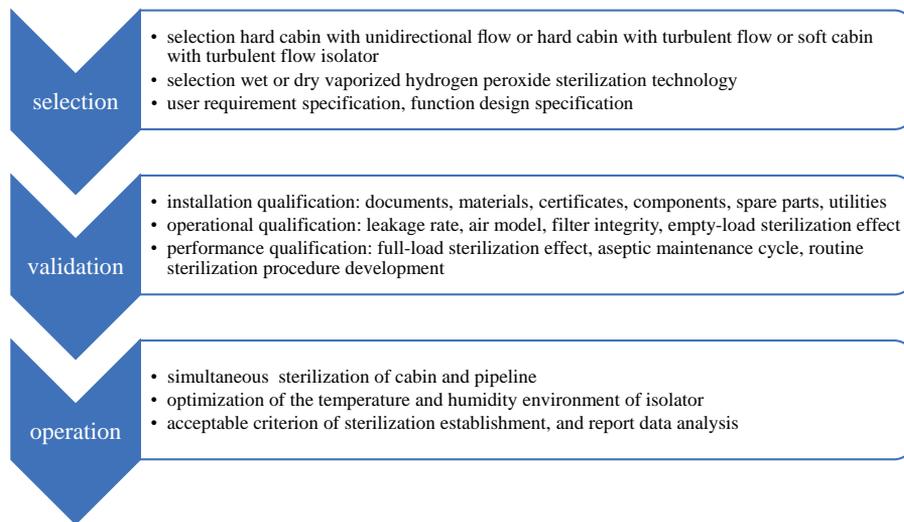
1591 Penetrability Tests of Breathe Bags and Bioprocess Containers during VHP Sterilization.....LIU X D, LIANG K Y, DENG Q, XU W, WANG W*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.017



1595 Purification of Salicylic Acid by Sublimation.....XU L, XU X, LIN B, LIU F, ZHAO G B*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.018

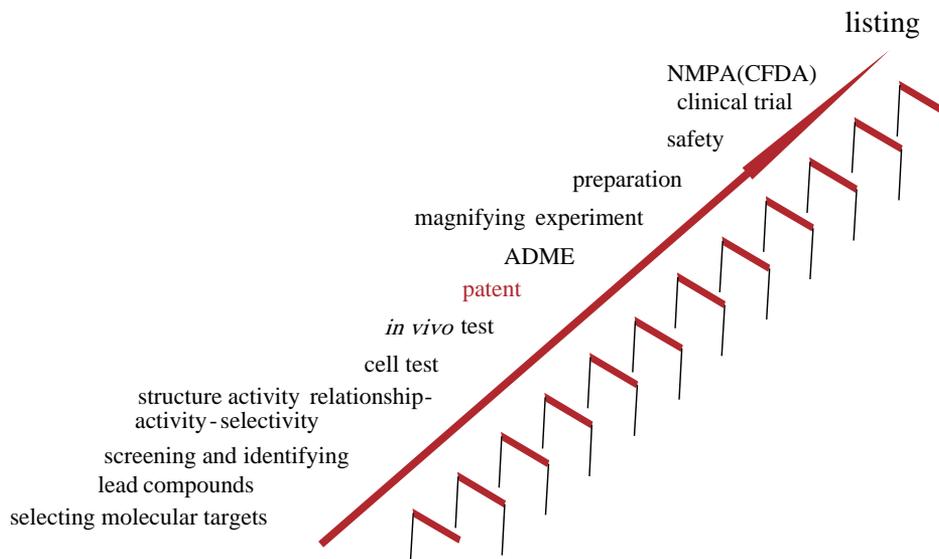


1602 Selection, Validation and Operation of Isolator for Sterility Test.....
HUANG J L, WANG Y*, HE R, XU X E
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.019

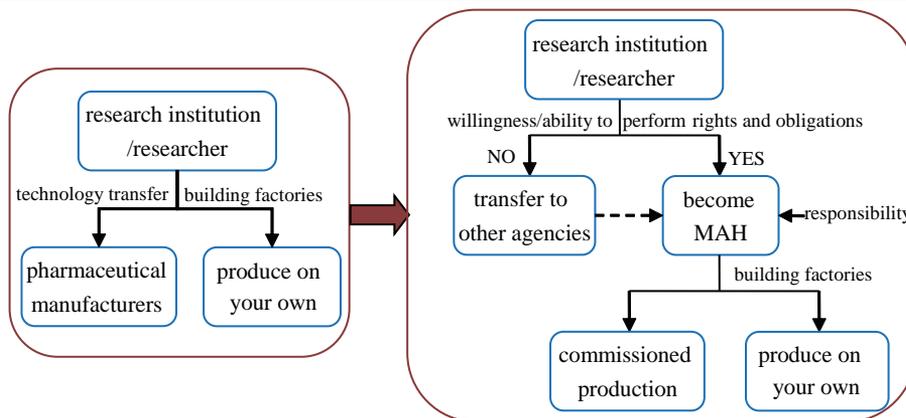


Pharmaceutical Management & Information

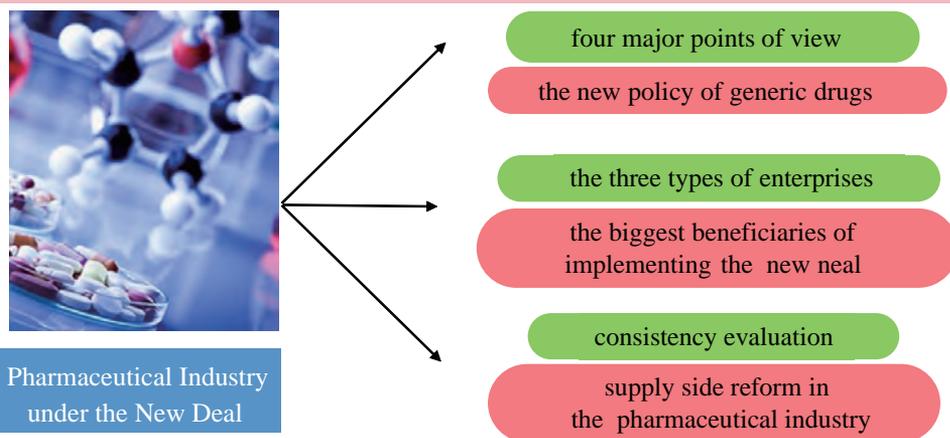
1610 Patent Protection Strategies in New Drug Development.....LIU G M, HUANG C F
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.020



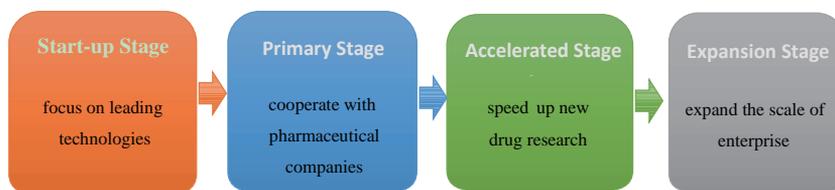
1615 Discussion of the Link between Rules of Marketing Authorization Holder and the Existing SystemZHAO H T, YAN JZ, SHAO R*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.021



1624 New Ideas for the Development of Chinese Pharmaceutical Industry under the New Policy of MedicineXU P H, LIU T Y*, GAN R F
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.022



1629 Development Path of Innovative Small and Medium-sized Pharmaceutical Enterprises: Taking Ionis Pharmaceuticals for ExampleLU J, YAN JZ, SHAO R*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.023



Development Path of Innovative Small and Medium-sized Pharmaceutical Enterprises

中国医药工业杂志

ZHONGGUO YIYAO GONGYE ZAZHI

(月刊, 1970年11月创刊)

2018年第49卷 第11期 11月10日出版

版权所有



Monthly (Founded in 1970)

Vol.49 No.11 November 10, 2018

©All Rights Reserved

主管	上海医药工业研究院	Director	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry
主办	上海医药工业研究院 中国药学会 中国化学制药工业协会	Sponsor	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Chinese Pharmaceutical Association China Pharmaceutical Industry Association
协办	浙江海正集团有限公司 上海数图健康医药科技有限公司 山东罗欣药业集团股份有限公司 楚天科技股份有限公司 鲁南制药集团股份有限公司 广东东阳光药业有限公司	Assist Sponsor	Zhejiang Hisun Group Co., Ltd. China Pharmadl (Shanghai) Co., Ltd. Shandong Luoxin Pharmaceutical Group Stock Co., Ltd. Truking Technology Limited Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd. Sunshine Lake Pharma Co., Ltd., HEC Pharma Group
总编辑	周伟澄	Managing Editor	ZHOU Weicheng
副总编辑	黄志红, 刘玲玲	Associate Managing Editor	HUANG Zhihong, LIU Lingling
责任编辑	王盈	Executive Editor	WANG Ying
编辑出版	《中国医药工业杂志》编辑部	Editor by	Editorial Board of <i>Chinese Journal of Pharmaceuticals</i>
编辑部地址	上海市北京西路1320号(200040)	Address for Foreign Subscriber	1320 Beijing Road (W), Shanghai 200040, China
电话	021-62793151	Tel	0 086-21-62793151
传真	021-62473200	Fax	0 086-21-62473200
电子邮件	cjph@pharmadl.com	E-mail	cjph@pharmadl.com
网址	www.cjph.com.cn www.pharmadl.com	Web Site	http://www.cjph.com.cn http://www.pharmadl.com
广告发行联系			
电话	021-62474272	Tel	021-62474272
传真	021-62473200	Fax	021-62473200
电子邮件	taoxh@pharmadl.com ouyy@pharmadl.com	E-mail	taoxh@pharmadl.com ouyy@pharmadl.com
印刷	上海欧阳印刷厂有限公司	Printed by	Shanghai Ouyang Printing Co., Ltd.
发行范围	公开发行		
国内发行	上海市报刊发行局	Domestic Distributed by	Local Post Office
国外发行	中国国际图书贸易集团有限公司 (北京399信箱, 100044)	Abroad Distributed by	China International Book Trading Corporation (P.O.Box 399, Beijing 100044, China)
国内订阅	全国各地邮政局		

* 通信联系人: 如为第一作者则不加“*”号。征稿简则刊登于当年第1期 *To whom correspondence should be addressed

[期刊基本参数] CN 31-1243/R *1970*m*A4*154*zh*P*20.00* *23*2018-11

2018年版权归《中国医药工业杂志》编辑部所有, 除非特别声明, 本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会的观点。

ISSN 1001-8255

国内邮发代号 4-205

CN 31-1243/R

国外邮发代号 M6070

CODEN: ZYGZEA

国内定价: 每册 20.00 元



公众微信
微信号: cjph-cjph



公众微博
weibo.com/cjph

《中国医药工业杂志》第十四届编辑委员会

EDITORIAL BOARD OF 《CHINESE JOURNAL OF PHARMACEUTICALS》

(以姓名拼音为序)

名誉主编 (HONORARY EDITOR-IN-CHIEF)

桑国卫* (SANG Guowei)

顾问 (CONSULTANT)

陈凯先* (CHEN Kaixian)

蒋建东 (JIANG Jiandong)

沈竞康 (SHEN Jingkang)

杨胜利* (YANG Shengli)

丁 健* (DING Jian)

孔德云 (KONG Deyun)

王广基* (WANG Guangji)

朱宝泉 (ZHU Baoquan)

侯惠民* (HOU Huimin)

李绍顺 (LI Shaoshun)

吴晓明 (WU Xiaoming)

主任编委 (EDITOR-IN-CHIEF)

陈芬儿* (CHEN Fener)

副主任编委 (ASSOCIATE EDITOR-IN-CHIEF) (△常务副主任编委)

白 骅 (BAI Hua)

陈桂良 (CHEN Guiliang)

唐 岳 (TANG Yue)

魏宝康 (WEI Baokang)

张 霁 (ZHANG Ji)

周 斌 (ZHOU Bin)

朱建伟 (ZHU Jianwei)

陈 兵 (CHEN Bing)

胡文浩 (HU Wenhao)

王 浩[△] (WANG Hao)

杨 超 (YANG Chao)

张万斌 (ZHANG Wanbin)

周伟澄[△] (ZHOU Weicheng)

陈代杰[△] (CHEN Daijie)

李明华 (LI Minghua)

王军志 (WANG Junzhi)

张贵民 (ZHANG Guimin)

张绪穆 (ZHANG Xumu)

周 燕 (ZHOU Yan)

编委 (MEMBER OF THE EDITORIAL BOARD)

蔡正艳 (CAI Zhengyan)

邓卫平 (DENG Weiping)

董树沛 (DONG Shupe)

冯 军 (FENG Jun)

干荣富 (GAN Rongfu)

何严萍 (HE Yanping)

黄志红 (HUANG Zhihong)

刘玲玲 (LIU Lingling)

龙亚秋 (LONG Yaqiu)

罗国强 (LUO Guoqiang)

马 璟 (MA Jing)

邵 蓉 (SHAO Rong)

孙飘扬 (SUN Piaoyang)

孙 逊 (四川大学) (SUN Xun)

屠永锐 (TU Yongrui)

王 旻 (WANG Min)

王 彦 (WANG Yan)

吴 伟 (WU Wei)

杨立荣 (YANG Lirong)

杨玉社 (YANG Yushe)

张福利 (ZHANG Fuli)

张卫东 (ZHANG Weidong)

赵临襄 (ZHAO Linxiang)

钟大放 (ZHONG Dafang)

周建平 (ZHOU Jianping)

陈少欣 (CHEN Shaoxin)

丁锦希 (DING Jinxi)

范代娣 (FAN Daidi)

傅 磊 (FU Lei)

郭 文 (GUO Wen)

胡海峰 (HU Haifeng)

李范珠 (LI Fanzhu)

刘新泳 (LIU Xinyong)

陆伟根 (LU Weigen)

罗一斌 (LUO Yibin)

潘卫三 (PAN Weisan)

宋秋玲 (SONG Qiuling)

孙小强 (SUN Xiaoqiang)

陶 涛 (TAO Tao)

王建新 (WANG Jianxin)

王全瑞 (WANG Quanrui)

王玉成 (WANG Yucheng)

吴 勇 (WU Yong)

杨 明 (YANG Ming)

殷 明 (YIN Ming)

张启明 (ZHANG Qiming)

张英俊 (ZHANG Yingjun)

赵文杰 (ZHAO Wenjie)

钟为慧 (ZHONG Weihui)

程卯生 (CHENG Maosheng)

董江萍 (DONG Jiangping)

方 浩 (FANG Hao)

甘 勇 (GAN Yong)

何 菱 (HE Ling)

胡又佳 (HU Youjia)

李建其 (LI Jianqi)

刘 忠 (LIU Zhong)

陆伟跃 (LU Weiyue)

吕 扬 (Lǚ Yang)

朴虎日 (PIAO Huri)

苏为科 (SU Weike)

孙 逊 (复旦大学) (SUN Xun)

涂 涛 (TU Tao)

王 健 (WANG Jian)

王善春 (WANG Shanchun)

吴 彤 (WU Tong)

吴勇琪 (WU Yongqi)

杨苏蓓 (YANG Subei)

尤启冬 (YOU Qidong)

张庆文 (ZHANG Qingwen)

张志荣 (ZHANG Zhirong)

郑起平 (ZHENG Qiping)

周虎臣 (ZHOU Huchen)

*院士

《中国医药工业杂志》编辑部成员 (EDITORIAL STAFF)

总编辑 (Managing Editor): 周伟澄 (ZHOU Weicheng)

副总编辑 (Associate Managing Editor): 黄志红 (HUANG Zhihong), 刘玲玲 (LIU Lingling)

责任编辑 (Editor): 刘玲玲 (LIU Lingling) (兼), 王 盈 (WANG Ying), 郭琳琳 (GUO Linlin), 马建芳 (MA Jianfang)

美术编辑 (Art Editor): 沈建成 (SHEN Jiancheng), 陆燕玲 (LU Yanling), 钱苗苗 (QIAN Miaomiao)

编辑助理 (Editorial Assistant): 韦旭华 (WEI Xuhua)

广告、发行负责 (Advertisement Manager): 陶旭辉 (TAO Xuhui), 欧阳怡 (OUYANG Yi)

中心切割二维高效液相色谱质谱联用法分析磷酸雌莫司汀胶囊中的有关物质

邓云菲^{1,2}, 王林波², 吴晓鸾^{2*}, 彭兴盛^{1,2}, 林梅^{1,2}

(1. 中国医药工业研究总院, 上海 201203; 2. 上海市食品药品检验所, 上海 201203)

摘要: 采用中心切割技术将磷酸雌莫司汀 (EMP) 一维目标组分在定量环收集, 经二维色谱在线净化后, 用电喷雾离子源 (ESI) 正负离子模式, 以四极杆-飞行时间串联质谱 (Q-TOF MS) 测定精确相对分子质量和相应组分的二级质谱图, 进行结构解析。结果在 EMP 胶囊中检出 5 个有关物质。它们均具有与主药 EMP 相似的结构碎片, 结合 EMP 的裂解碎片信息、合成路线及强制降解试验结果, 推测出 5 个有关物质的可能结构及来源, 为本品的质量控制提供参考。

关键词: 磷酸雌莫司汀; 有关物质; 二维液相色谱; 中心切割; 四极杆-飞行时间串联质谱

中图分类号: TQ460.7⁺2; O657.7⁺2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-8255(2018)11-1571-10

DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.11.014

磷酸雌莫司汀 (estramustine phosphate, EMP), 即雌二醇氮芥磷酸酯, 为用于晚期前列腺癌的细胞毒性药物, 对前列腺癌有中度抗肿瘤活性^[1-3], 并具有雌激素和化疗的双重细胞毒作用。前列腺细胞对其有特殊的亲和力, 在前列腺中的浓度为血清中浓度的 6 倍, 与其他抗肿瘤药联用可发挥较好的作用^[4-7]。

英国药典 (BP 2018) 记载了 EMP 胶囊剂, 其中有关物质检查采用薄层色谱法, 并未提到已知杂质。经文献调研, 尚未见关于 EMP 有关物质的研究报道。本研究采用中心切割二维高效液相色谱质谱联用 (2D-HPLC-Q-TOF MS) 法分离分析 EMP 胶囊中的有关物质。中心切割二维高效液相色谱具有强大的在线净化分离能力^[8-10], 结合四极杆-飞行时间串联质谱 (Q-TOF MS) 优越的定性功能^[11-13], 已广泛应用于化合物复杂成分的分析 and 结构鉴定等领域。本研究结合 EMP 的合成路线^[14] (图 1), 对 EMP 胶囊检验过程中发现的未知杂质通过中心切割

二维高效液相串联质谱仪进行检测和结构推测, 并分析可能的来源。

1 仪器与试剂

1290 Infinity 型二维超高效液相色谱 (配备 1290 型四元泵和六通阀)、6545 Q-TOF 型四极杆飞行时间质谱仪 (配备 MassHunter Qualitative Analysis B.08.00 数据处理系统和 Agilent Isotope Distribution Calculator 同位素分布质谱图模拟软件) 均为美国 Agilent 公司产品。

EMP 胶囊 (意大利 Pfizer Italia S.R.L. 制药公司, 规格 0.14 g, 批号 764CE); 乙腈、甲醇和甲酸均为色谱纯, 四丁基-17 β -羟基-雌甾-1,3,5(10)-三烯-3-醇铵 (TBH)、磷酸二氢钠、盐酸、氢氧化钠和 30% 双氧水均为分析纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 溶液配制

供试品溶液: 精密称取 EMP 胶囊内容物适量 (约相当于 EMP 100 mg), 置 50 ml 量瓶中, 加 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 6.8): 乙腈 (60:40, 溶剂 A) 适量, 振摇使溶解, 用溶剂 A 定容, 摇匀。经 0.4 μ m 滤膜过滤, 取续滤液作为供试品溶液。

强制降解试验溶液: 分别取 EMP 胶囊内容物适量 (约相当于 EMP 100 mg), 置 20 ml 量瓶中, 共 5 份。分别进行如下操作: 加 1 mol/L 盐酸或 1 mol/L 氢氧化钠溶液 1 ml, 置 60 $^{\circ}$ C 水浴中反应 4 h,

收稿日期: 2018-08-10

作者简介: 邓云菲 (1991—), 女, 硕士研究生, 专业方向: 药物分析。

Tel: 18201725673

E-mail: 18201725673@163.com

通信联系人: 吴晓鸾 (1981—), 女, 主管药师, 从事原料药及药物制剂的质量控制。

Tel: 13472642069

E-mail: 13472642069@163.com

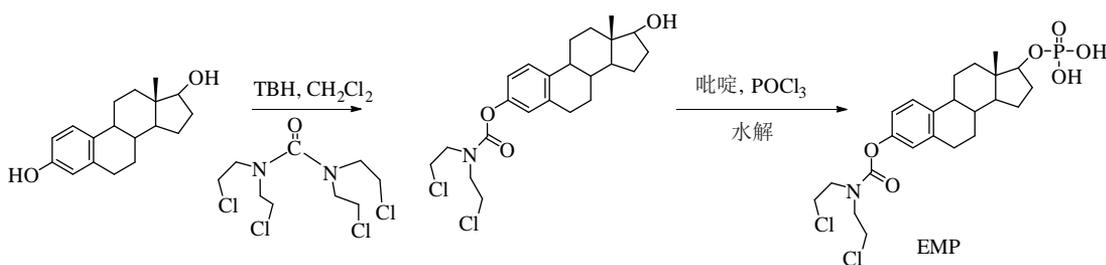


图1 EMP的合成路线^[14]
Fig.1 Synthetic Route of EMP^[14]

中和后用溶剂 A 定容，作为酸、碱破坏溶液；经 30% 双氧水 1 ml 溶解，用溶剂 A 定容，室温放置 24 h，作为氧化破坏溶液；置 80 °C 水浴中反应 24 h 或置强光下照射 24 h 后，用溶剂 A 定容，作为高温破坏和光照破坏溶液。

2.2 色谱条件

一维色谱条件：色谱柱 Athena C₁₈-120 A 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm)；流动相 PBS：乙腈 (60：40, A)，PBS：乙腈 (30：70, B)，线性梯度洗脱 (表 1)；检测波长 220 nm；柱温 30 °C；流速 0.6 ml/min；进样量 20 μl。

二维色谱条件：色谱柱 Agilent EC-C₁₈ 柱 (4.6 mm×50 mm, 2.7 μm)；流动相 甲醇：水 (10：90, A)，甲醇 (B)，线性梯度洗脱 (表 1)；流速 0.3 ml/min；柱温 30 °C。

表 1 线性梯度洗脱程序
Tab.1 Linear Gradient Elution Procedure

t/min	一维色谱		t/min	二维色谱	
	A	B		A	B
0	100	0	0	40	60
2	100	0	5	20	80
18	0	100	10	15	85
25	0	100	15	10	90

2.3 质谱条件

离子源 电喷雾电离源 (ESI)，正负离子模式检测；毛细管电压 3 500 V (ESI⁺)/3 000 V (ESI⁻)；鞘气温度 350 °C；鞘气流速 11 L/min；喷嘴电压 1 kV；雾化气压力 241.325 kPa；雾化器温度 300 °C；干燥气流量 8 L/min；毛细管出口电压 80 V；质量数扫

描范围 *m/z* 50 ~ 1 700；四极杆分辨率 (~ 4 *m/z*)；碰撞能量 20、50、70 V。

2.4 EMP 胶囊中的有关物质检测

取“2.1”项下供试品溶液，按一维液相色谱条件进样，得到供试品溶液的一维色谱图 (见图 2A)。将 5 个有关物质含量超过 0.1% 的峰依次编号为有关物质 I ~ V。取“2.1”项下的强制降解试验溶液，按一维液相色谱条件进样。结果表明，供试品溶液在酸、碱、高温和光照破坏条件下均易降解产生有关物质 I，有关物质 V 则在高温和酸破坏条件下发生降解，其他 3 个未知杂质均未见明显变化 (见图 2B)。

2.5 EMP 有关物质的质谱分析

采用 ESI-Q-TOF 正负离子模式扫描，得到各有关物质加合离子的精确相对分子质量 (*M_r*)。结合 MassHunter Qualitative Analysis B.08.00 数据处理系统及 Agilent Isotope Distribution Calculator 同位素分布质谱图模拟软件，推测出分子离子组成。EMP 及其有关物质的质谱信息见表 2。

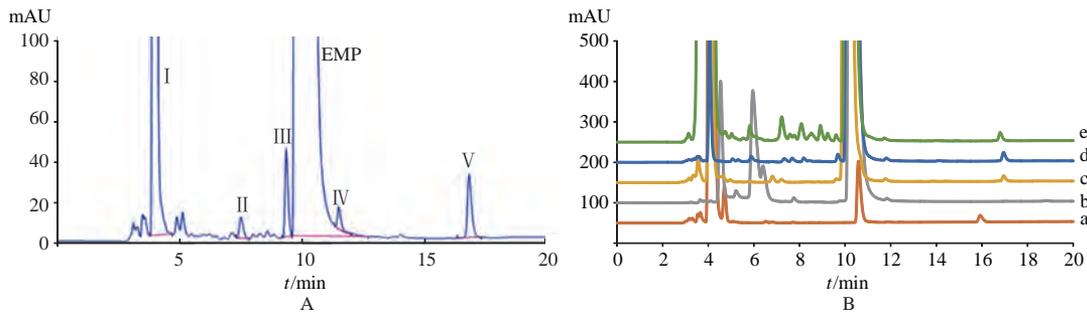
2.6 各化合物的裂解特点与结构解析

2.6.1 EMP

ESI⁺-TOF 测得 EMP 的 [M+H]⁺ 准分子离子峰为 *m/z* 520.141 8，同位素峰的分布与离子式 C₂₃H₃₃Cl₂NO₆P⁺ 相应，保留时间为 9.841 min。其 [M+H]⁺ 离子主要子离子为 *m/z* 422、300、326、255、167.9、159、135 和 63，与 EMP 的结构相应。*m/z* 422 为母离子 *m/z* 520 脱去 1 分子磷酸产生，*m/z* 255 和 *m/z* 167.9 是由 *m/z* 422 酯基的 C-O 键断裂形成的结构单元。*m/z* 326、*m/z* 300 是由 *m/z* 422

进行一系列的甾体母核 C-C 键断裂所得的结构单元。 m/z 159、 m/z 135 和 m/z 63 分别由 m/z 255 和 m/z 167.9 的甾体母核 C-C 键、甾体侧链 C-N 键断裂所

得的结构单元。EMP 的二级质谱分析对于解析确证其有关物质具有重要参考意义，可能的裂解途径见图 3。



A: 供试品溶液, B: 强制降解试验溶液 (a: 高温破坏, b: 酸破坏, c: 碱破坏, d: 光照破坏, e: 氧化破坏)

图 2 供试品溶液及强制降解试验溶液的一维色谱图

Fig.2 First Dimensional HPLC Chromatograms of Test Solution and Stress Testing Solutions

表 2 EMP 的质谱特征及其有关物质可能的化学结构

Tab.2 Mass Spectrometry Characteristics and Proposed Chemical Structures of EMP and Its Related Substances

序号	质荷比 (m/z)	推测分子离子式	质量偏差/ $\times 10^{-6}$	保留时间/min	子离子 (m/z)
EMP	520.141 8	$C_{23}H_{33}Cl_2NO_6P^+$	-0.18	9.841	422, 300, 326, 255, 167.9, 159, 135, 63
有关物质 I	375.133 1	$C_{18}H_{25}O_3PNa^+$	1.68	3.972	255, 159, 95, 67
有关物质 II	534.121 5	$C_{23}H_{31}Cl_2NO_7P^+$	0.04	7.580	436, 302, 269, 167.9, 63
有关物质 III	500.139 0	$C_{46}H_{61}Cl_3N_2O_{12}P_2^{2-}$	-0.37	9.385	965, 929, 893, 482, 464, 446, 78.9
有关物质 IV	534.157 6	$C_{24}H_{35}Cl_2NO_6P^+$	-0.46	11.566	436, 342, 316, 288, 269, 167.9, 135, 63
有关物质 V	509.121 1	$C_{46}H_{60}Cl_4N_2O_{11}P_2^{2-}$	1.32	16.822	580, 544, 518, 491, 158.9, 78.9

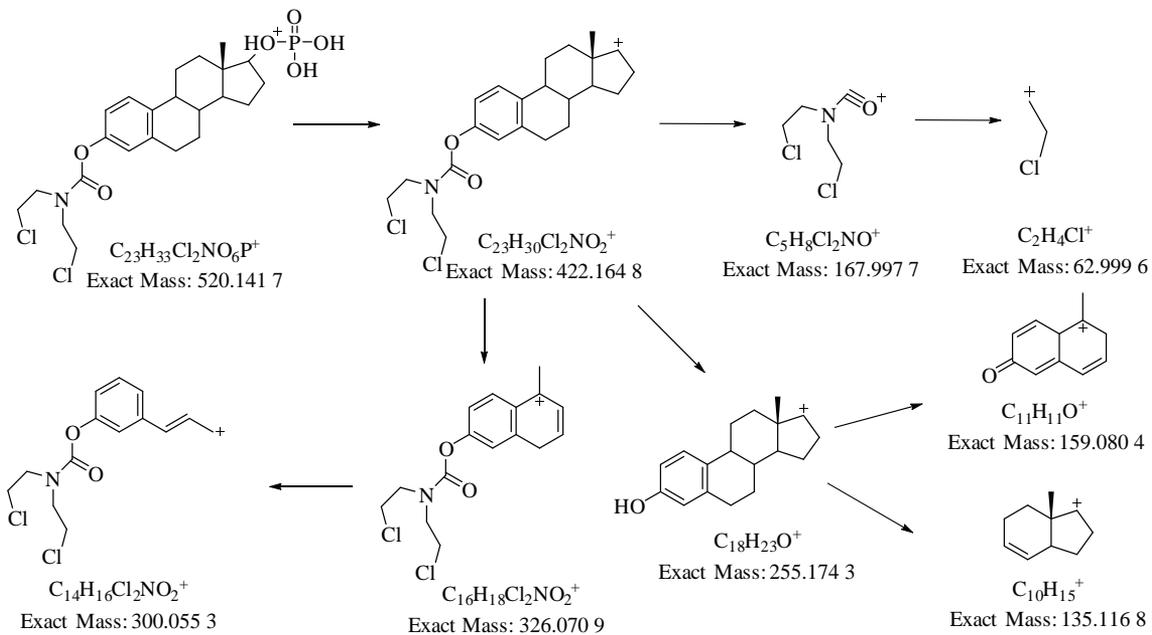


图 3 EMP 可能的裂解途径

Fig.3 Possible Fragmentation Pathway of EMP

2.6.2 有关物质 I

ESI⁺-TOF 测得有关物质 I 的 [M+Na]⁺ 离子为 *m/z* 375.133 1, 一级质谱结果显示不存在 Cl 原子的同位素信号, 说明该化合物不含 Cl 原子, 与离子式 C₁₈H₂₅O₅PNa⁺ 相应, 保留时间为 3.972 min。其 [M+Na]⁺ 离子主要子离子 *m/z* 255、159、95 和 67, 与有关物质 I 的结构相应 (表 3)。特征子离子 *m/z* 255 由母离子 *m/z* 375 脱去 1 分子磷酸钠所得, 该子离子与主药母核碎片相应。*m/z* 159、*m/z* 95 和 *m/z* 67 是由甾体母核 *m/z* 255 进行一系列的 C-C 键断裂所得的结构单元。结合 EMP 的裂解碎片信息以及 EMP 的合成以雌二醇为原料的资料, 可推测有关物质 I 为 EMP 的羧酸酯水解所得的降解杂质。有关物质 I 可能的裂解途径见图 4。

2.6.3 有关物质 II

ESI⁺-TOF 测得有关物质 II 的 [M+H]⁺ 准分子离子峰为 *m/z* 534.121 5, 同位素峰的分布与离子式 C₂₃H₃₁Cl₂NO₇P⁺ 相应, 保留时间为 7.580 min。其 [M+H]⁺ 离子主要子离子 *m/z* 436、302、269、167.9 和 63, 与有关物质 II 的结构相应 (表 3)。*m/z* 436 为 *m/z* 534 脱去 1 分子磷酸产生, *m/z* 302 和 *m/z* 269 是由 *m/z* 436 分别通过 C-C 键和 C-O 键断裂形成的结构单元。特征子离子 *m/z* 167.9 和 *m/z*

63 与 EMP 相关子离子相应, 表明该化合物与 EMP 结构相似。有关物质 II 与 EMP 的 *M_r* 相差 14, 结合裂解碎片信息及不饱和度判断增加了 1 个羰基氧, 推测该化合物为氧化磷酸雌莫司汀。由于在强制降解试验中并未见有关物质 II 的明显变化, 推测其为合成副产物。有关物质 II 可能的裂解途径见图 5。

2.6.4 有关物质 III

ESI⁻-TOF 测得有关物质 III 的 [M-2H]²⁻ 离子为 *m/z* 500.139 0, 其一级质谱图可见 Cl 原子同位素信号, 结合 Agilent Isotope Distribution Calculator 软件模拟同位素分布情况, 进一步验证该化合物有 3 个 Cl 原子, 与离子式 C₄₆H₆₁Cl₃N₂O₁₂P₂²⁻ 相应, 保留时间 9.385 min。其 [M-2H]²⁻ 离子主要子离子 *m/z* 965、929、893、482、464、446 和 78.9, 与推测的有关物质 III 的结构相应 (表 3)。特征子离子 *m/z* 965、*m/z* 929 和 *m/z* 893 分别为母离子 *m/z* 500 脱去 1、2 和 3 分子 HCl 所得的结构单元, *m/z* 482、*m/z* 464、*m/z* 446 则分别是 *m/z* 965、*m/z* 929 和 *m/z* 893 在 ESI⁻ 模式下 O-H 键断裂带 2 个负电荷所得的结构单元。*m/z* 78.9 为特征离子碎片 PO₃⁻。结合该化合物质谱图信息, *m/z* 965、*m/z* 929、*m/z* 893 (*z*=1) 与 *m/z* 482、*m/z* 464、*m/z* 446 (*z*=2) 一一对应, 推测该化合物为 EMP 的二聚体。结合 EMP 的裂解碎

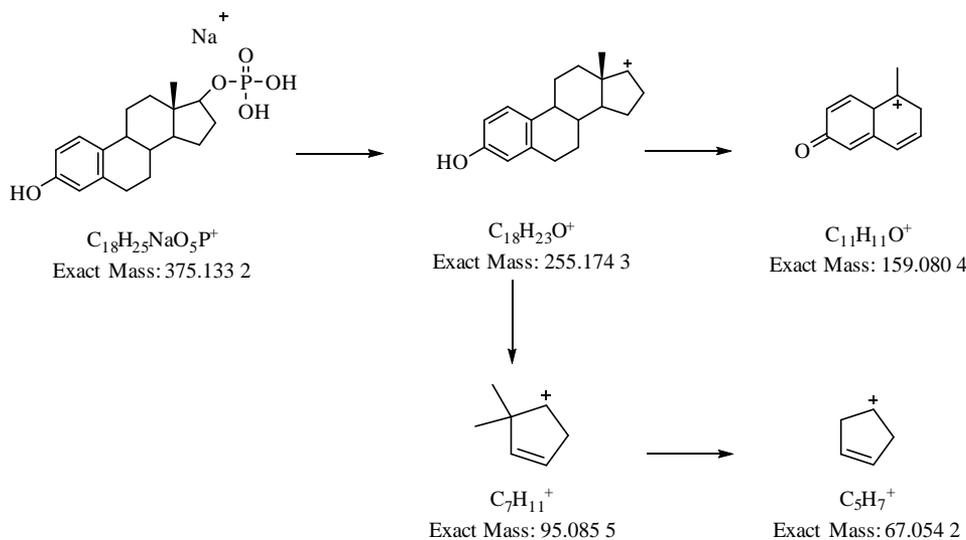


图 4 有关物质 I 可能的裂解途径

Fig.4 Possible Fragmentation Pathway of Related Substance I

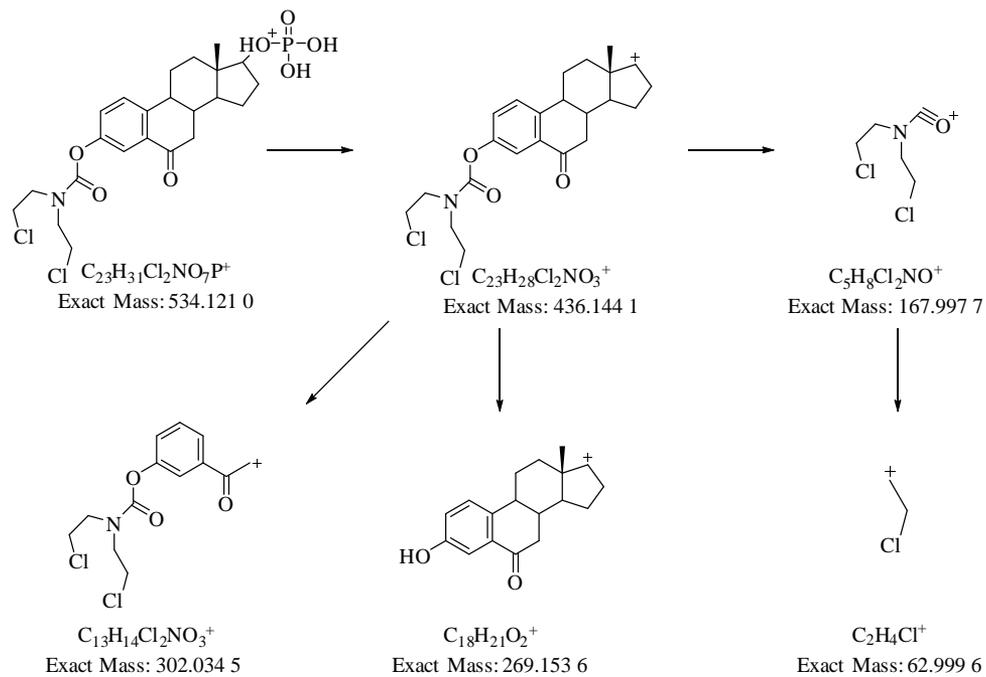


图 5 有关物质 II 可能的裂解途径

Fig.5 Possible Fragmentation Pathway of Related Substance II

片信息及合成路线，推测该化合物为两分子 EMP 缩合脱一分子 HCl 所得。有关物质 III 可能的裂解途径见图 6。

2.6.5 有关物质 IV

ESI⁺-TOF 测得有关物质 IV 的 [M+H]⁺ 准分子离子峰为 *m/z* 534.157 6，同位素峰的分布与离子式 C₂₄H₃₅Cl₂NO₆P⁺ 相应，保留时间为 11.566 min。*m/z* 556 为 M+Na 峰。其 [M+H]⁺ 主要子离子 *m/z* 436、342、316、288、269、167.9、135 和 63，与有关物质 IV 的结构相应（表 3）。*m/z* 436 为母离子 *m/z* 534 脱去 1 分子磷酸产生，*m/z* 342、*m/z* 316 和 *m/z* 288 是由 *m/z* 436 分别通过一系列甾体母核 C-C 键断裂形成的结构单元。*m/z* 269 和 *m/z* 135 是由 *m/z* 436 先进行酯键 C-O 键断裂，后由甾体母核 C-C 键断裂所得的结构单元。特征离子 *m/z* 167.9 和 *m/z* 63 与 EMP 相关子离子相应。该化合物与 EMP 相比 *M_r* 相差 14，通过不饱和度分析判断增加了一个 -CH₃。结合 EMP 的裂解碎片信息及合成路线，推测该化合物为甲基化产物。有关物质 IV 可能的裂解途径见图 7。

2.6.6 有关物质 V

ESI-TOF 测得 EMP 有关物质 V 的 [M-2H]²⁻ 离子为 *m/z* 509.121 1，其一级质谱图可见 Cl 原子同位素信号，结合 Agilent Isotope Distribution Calculator 软件模拟同位素分布情况，进一步验证该化合物有 4 个 Cl 原子，与离子式 C₄₆H₆₀Cl₄N₂O₁₁P₂²⁻ 相应，保留时间为 16.822 min。其 [M-2H]²⁻ 主要子离子 *m/z* 580、544、518、491、158.9 和 78.9，与有关物质 V 的结构相应（表 3）。*m/z* 544 和 *m/z* 491 是由 *m/z* 509 失去 1 分子 HCl 及 C-O 键断裂所得的结构单元。*m/z* 580、*m/z* 158.9 和 *m/z* 518 是由 *m/z* 491 通过 C-O 键断裂及焦磷酸 P-O 键断裂所得的结构单元。*m/z* 78.9 为特征子离子 PO₃⁻。该化合物具有 *m/z* 518，即 EMP[M-H]⁻ 的子离子碎片，结合 EMP 的裂解碎片信息及合成路线，推测该化合物为生产过程中 EMP 磷酸分子间脱水形成的焦磷酸二酯，为合成过程副产物。有关物质 V 可能的裂解途径见图 8。

3 讨论

本试验采用中心切割 2D-HPLC-Q-TOF/MS 法

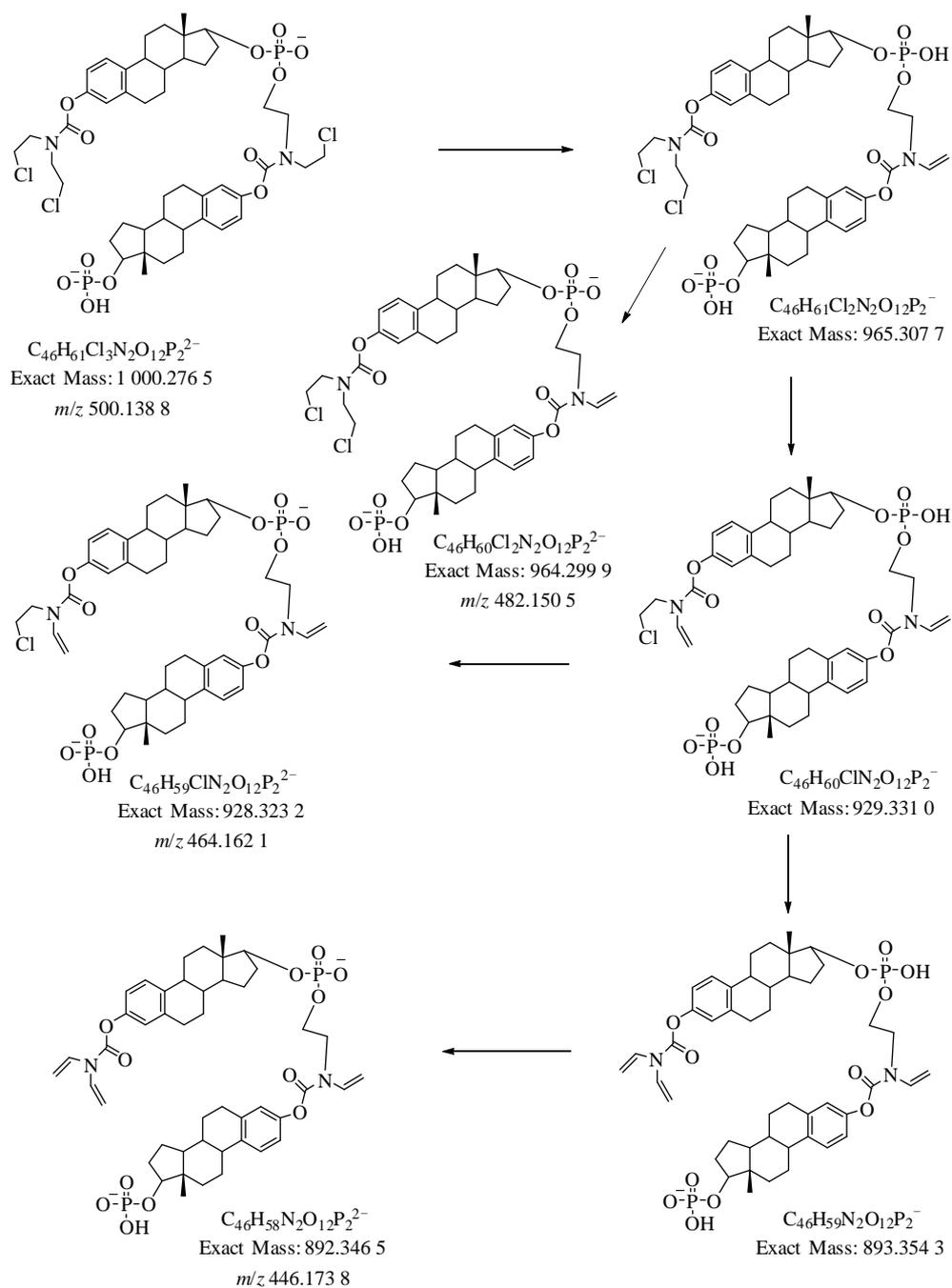


图 6 有关物质III可能的裂解途径

Fig.6 Possible Fragmentation Pathway of Related Substance III

研究了 EMP 胶囊中的有关物质。通过色谱柱串联及中心切割技术实现了对 EMP 及其主要有关物质的在线净化, 进而减少离子源污染, 增加分析准确度。结合二级质谱图、主药裂解规律及 EMP 的合成路线, 对 EMP 的 5 个主要有关物质进行了结构

推测及可能来源分析, 推测有关物质 I 为降解杂质, 其他均为合成副产物, 总结见表 3。强制降解试验结果表明, EMP 易发生羧酸酯键的水解, 且在酸性和氧化条件下发生降解产生更多的未知杂质, 提示 EMP 对酸和氧化剂较为敏感。本研究为 EMP 合成

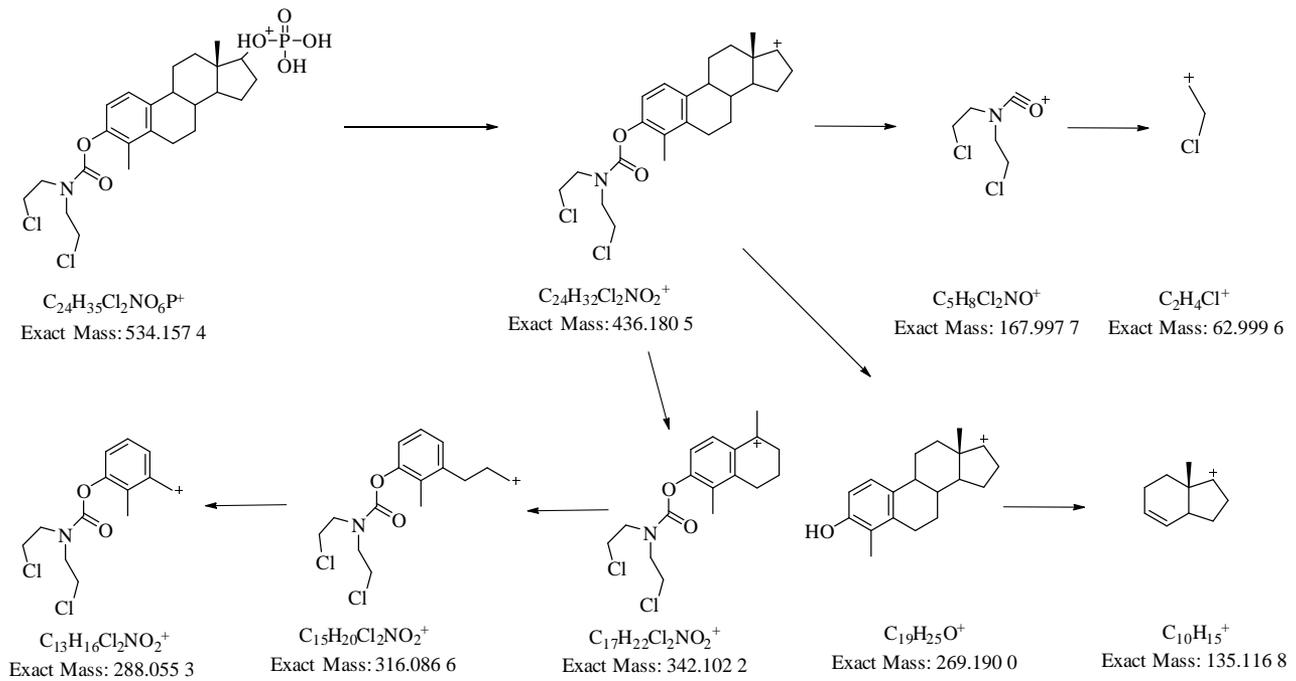


图 7 有关物质IV可能的裂解途径

Fig.7 Possible Fragmentation Pathway of Related Substance IV

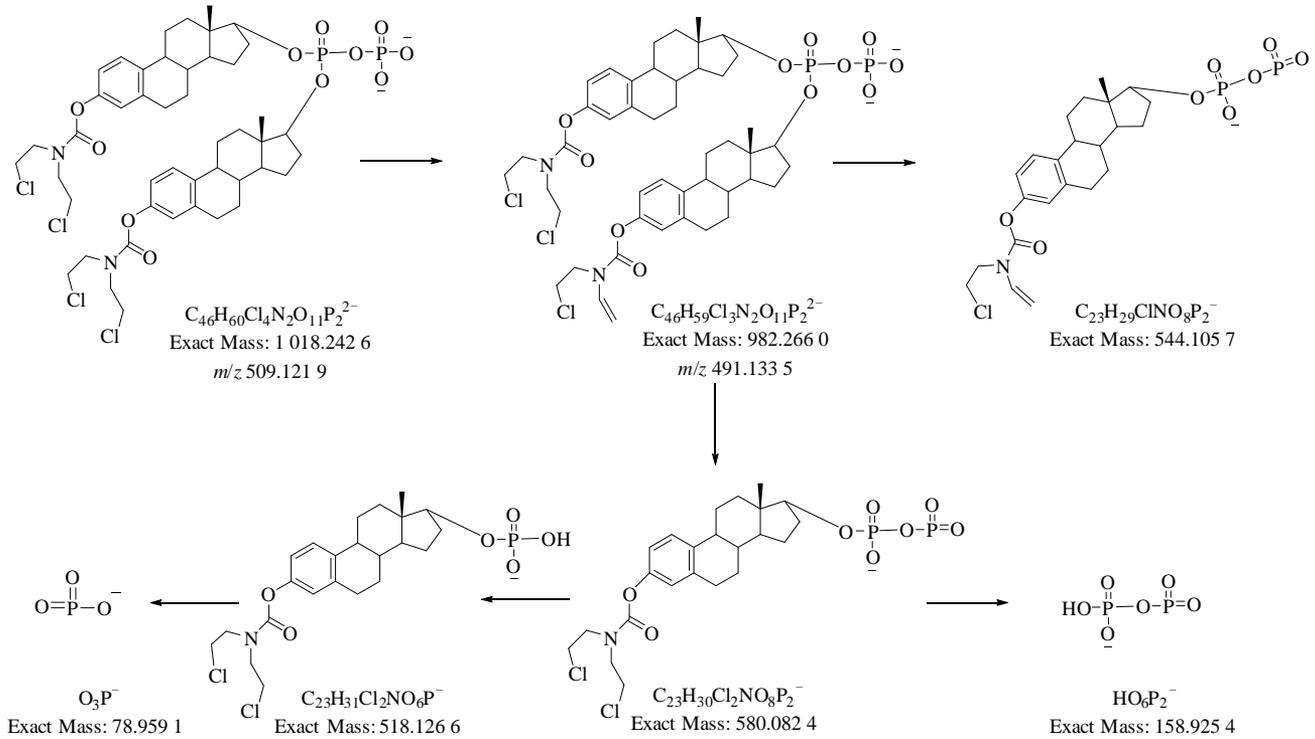


图 8 有关物质V可能的裂解途径

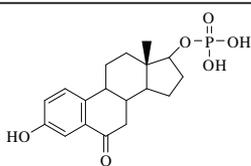
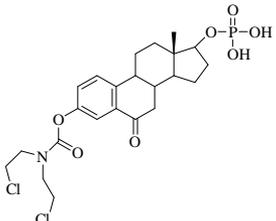
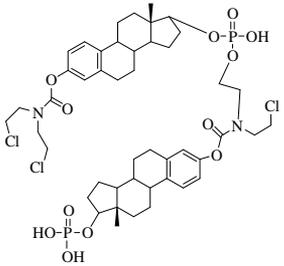
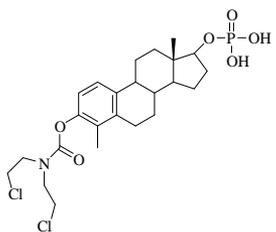
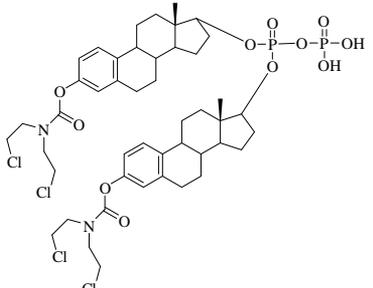
Fig.8 Possible Fragmentation Pathway of Related Substance V

工艺优化和质量控制提供了参考。由于本研究仅采用 2D-HPLC-Q-TOF/MS 手段推测杂质结构, 其中杂质 IV 虽在质谱分析下为甲基化产物, 基于质谱信息量较少, 仅可判断该甲基位于苯环上, 考虑到苯

环侧链基团的影响推测可能的结构, 因此需要进一步对有关物质进行制备, 并采用核磁共振等手段确证杂质结构。

表 3 推测的有关物质 I ~ V 结构

Tab.3 Speculated Structures of the Related Substances I - V

化合物	推测化学结构	分子式	可能来源
有关物质 I		$C_{18}H_{25}O_5P$	降解杂质
有关物质 II		$C_{23}H_{30}Cl_2NO_7P$	合成副产物
有关物质 III		$C_{46}H_{63}Cl_3N_2O_{12}P_2$	缩合二聚体(合成副产物)
有关物质 IV		$C_{24}H_{34}Cl_2NO_6P$	甲基化产物(合成副产物)
有关物质 V		$C_{46}H_{62}Cl_4N_2O_{11}P_2$	合成副产物

参考文献:

- [1] 中国抗癌协会泌尿肿瘤专业委员会. 中国去势抵抗性前列腺癌诊治专家共识[J]. 浙江医学, 2016, **38**(14): 1133-1145.
- [2] 高卜渝, 杨幼春. 抗肿瘤药磷酸雌醇芥钠的合成[J]. 医药工业, 1986, **17**(1): 7-9.
- [3] HIRANO D, MINEI S, KISHIMOTO Y, *et al.* Prospective study of estramustine phosphate for hormone refractory prostate cancer patients following androgen deprivation therapy [J]. *Urol Int*, 2005, **75**(1): 43-49.
- [4] 王荫槐, 张选志, 赵小昆, 等. 磷酸雌二醇氮芥联合非那雄胺治疗激素难治性前列腺癌疗效观察[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2017, **14**(5): 461-463.
- [5] HATANO K, NISHIMURA K, NAKAI Y, *et al.* Weekly low-dose docetaxel combined with estramustine and dexamethasone for Japanese patients with metastatic castration-resistant prostate cancer [J]. *Int J Clin Oncol*, 2013, **18**(4): 704-710.
- [6] MATSUMOTO K, TANAKA N, HAYAKAWA N, *et al.* Efficacy of estramustine phosphate sodium hydrate (EMP) monotherapy in castration-resistant prostate cancer patients: report of 102 cases and review of literature [J]. *Med Oncol*, 2013, **30**(4): 717.
- [7] KOIE T, OHYAMA C, YAMAMOTO H, *et al.* Safety and effectiveness of neoadjuvant luteinizing hormone-releasing hormone agonist plus low-dose estramustine phosphate in high-risk prostate cancer: a prospective single-arm study [J]. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2012, **15**(4): 397-401.
- [8] MILROY C S, DENNIS G R, SHALLIKER R A. Targeted isolations from complex samples using two-dimensional HPLC. Part1: analytical scale analysis [J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2012, **35**(11): 1481-1496.
- [9] 国金玲, 连云岚, 张远芳, 等. 中心切割-二维液相色谱分离清热解片(胶囊)中的咖啡酰奎宁酸类成分[J]. 中国药品标准, 2017, **18**(6): 449-454.
- [10] MATĚJÍČEK D. On-line two-dimensional liquid chromatography-tandem mass spectrometric determination of estrogens in sediments [J]. *J Chromatogr A*, 2011, **1218**(16): 2292-2300.
- [11] WANG Y, LU X, XU G. Development of a comprehensive two-dimensional hydrophilic interaction chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry system and its application in separation and identification of saponins from *Quillaja saponaria* [J]. *J Chromatogr A*, 2008, **1181**(1-2): 51-59.
- [12] LIU C, HUA Z, BAI Y. Classification of illicit heroin by UPLC-Q-TOF analysis of acidic and neutral manufacturing impurities [J]. *Forensic Sci Int*, 2015, **257**: 196-202.
- [13] DONGRE V G, GHUGARE P D, KARMUSE P, *et al.* Identification and characterization of process related impurities in chloroquine and hydroxychloroquine by LC/IT/MS, LC/TOF/MS and NMR [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, **49**(4): 873-879.
- [14] LIDSTRÖM P, BONASERA T A, MARQUEZ-M M, *et al.* Synthesis and *in vitro* evaluation of [carbonyl-¹¹C] estramustine and [carbonyl-¹¹C] estramustine phosphate [J]. *Steroids*, 1998, **63**(4): 228-234.

Analysis of Related Substances in Estramustine Phosphate Capsules by Heart-cutting Two-dimensional Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

DENG Yunfei^{1,2}, WANG Linbo², WU Xiaoluan^{2*}, PENG Xingsheng^{1,2}, LIN Mei^{1,2}

(1. China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203; 2. Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203)

ABSTRACT: A heart-cutting and two-dimensional liquid chromatography was used by transferring the target component in estramustine phosphate (EMP) capsules through a loop which could achieve the purpose of on-line purification. In the two-dimensional liquid chromatography system, a C₁₈ column was employed in the first dimension to separate the EMP. The target compound fluent were heart-cutted to a loop which was connected to a 6-way valve. Then the valve switched, so the second dimensional mobile phase took the target compound for the second dimension. Electrospray ionization source was operated in positive and negative ion mode. The structures of the related substances in EMP capsules were speculated by quadrupole time-of-flight (TOF) tandem mass spectrometry for accurate ion mass determination and by Q-TOF for product ion scanning. The structures of five related substances in EMP capsules were speculated according to the products of mass spectra fragmentation elucidation, combined with the synthetic process and stress testing results. Our work might provide some references for the quality control of EMP capsules.

Key Words: estramustine phosphate; related substance; two-dimensional liquid chromatography; heart-cutting; quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry

