

## 夫西地酸有关物质的色谱-质谱结构鉴定

梁方梅, 倪悦玲, 王璐, 杭太俊, 宋敏\*

(中国药科大学药物分析系, 南京 210009)

**摘要** 采用色谱-质谱联用技术鉴定夫西地酸的有关物质。采用 Agilent Extend-C<sub>18</sub> 色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 3.5 μm), 以甲醇-乙腈-水-甲酸为流动相梯度洗脱, 对夫西地酸有关物质进行分离; 采用电喷雾正离子化-飞行时间质谱法(ESI-TOF/MS)测定各有关物质的相对分子质量和元素组成, 三重四极杆串联质谱(ESI-MS/MS)测定子离子特征, 解析鉴定有关物质的结构。在所建立的条件下, 夫西地酸及其有关物质分离良好, 检测并鉴定出 19 个主要有关物质, 其中 11 个为欧洲药典规定的已知有关物质, 8 个为未知有关物质。色谱-质谱联用技术能有效地分离鉴定夫西地酸中的有关物质, 为其存储条件和质量控制提供参考依据。

**关键词** 夫西地酸; 有关物质; 降解产物; 结构鉴定; 色谱-质谱联用

**中图分类号** R917 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2018)03-0322-11

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20180311

**引用本文** 梁方梅, 倪悦玲, 王璐, 等. 夫西地酸有关物质的色谱-质谱结构鉴定[J]. 中国药科大学学报, 2018, 49(3): 322–332.

**Cite this article as:** LIANG Fangmei, NI Yueling, WANG Lu, et al. Structural identification of the related substances of fusidic acid by LC-MS[J]. *J China Pharm Univ*, 2018, 49(3): 322–332.

## Structural identification of the related substances of fusidic acid by LC-MS

LIANG Fangmei, NI Yueling, WANG Lu, HANG Taijun, SONG Min\*

Department of Pharmaceutical Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract** To identify the related substances of fusidic acid by LC-MS, separation was performed on an Agilent Extend-C<sub>18</sub> column(150 mm × 4.6 mm, 3.5 μm) by linear gradient elution with a mobile phase consisting of methanol, acetonitrile and formic acid. Electrospray positive ionization high resolution TOF/MS was used for the determination of the accurate mass and elemental composition of parent ions of the related substances; triple quadrupole tandem mass was employed for the mass spectra determination of the product. The structures of the related substances were then figured out through the elucidation of the fragment ions. Fusidic acid and its related substances were adequately separated under the established HPLC conditions. Nineteen major related substances of fusidic acid were detected and speculated by hyphenated techniques. Eleven of them were recorded in European Pharmacopoeia, while the others have not been previously reported. The established LC-MS method is effective for the separation and identification of the related substances of fusidic acid and the results are useful for its storage conditions and quality assurance.

**Key words** fusidic acid; related substances; degradation products; structural identification; LC-MS

夫西地酸(fusidic acid, 图 1), 即 16β-乙酰氧基-3α, 11α-二羟基-4α, 8α, 14β-三甲基-18-去甲-5α, 10β-胆甾-(17Z)-17(20), 24-二烯-21-酸, 是一种具有甾体骨架的抗生素, 对葡萄球菌等多种革兰阳性菌有较强的抗菌作用<sup>[1-4]</sup>。夫西地酸通过抑

制核糖体的易位来延长干扰因子 G, 阻碍细菌蛋白质的合成, 此种独特的抗菌机制是夫西地酸与其他抗生素无交叉耐药性的原因<sup>[4-5]</sup>。夫西地酸的质量控制研究已有文献报道<sup>[6-11]</sup>, 欧洲药典(9.0 版)(EP9.0)和英国药典(2017 版)已收载其质量标

准。但关于夫西地酸有关物质的系统研究与鉴定未见报道。

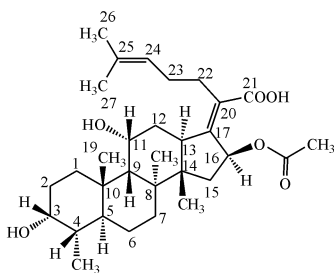


Figure 1 Chemical structure of fusidic acid

本研究建立了适用于夫西地酸有关物质检查的色谱-质谱联用分析方法,通过 TOF/MS 测定了夫西地酸有关物质的精密相对分子质量及分子式,结合 MS/MS 的子离子特征,综合解析鉴定其有关物质的结构,为夫西地酸的存储条件和质量控制提供了参考依据。

## 1 材料

### 1.1 试剂

夫西地酸原料药(批号 170910FA,江苏九阳生物制药有限公司);夫西地酸各有关物质对照品(EP9.0 杂质 A、B、C、D、F、G、H、I、K、L、M,美国 CATO Research Chemicals 公司)。甲酸(分析纯,南京化学试剂有限公司);甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Tedia 公司);水(市售纯净水)。

### 1.2 仪器

Agilent 1260 Infinity 液相色谱-6224 飞行时间质谱仪(美国 Agilent 公司);Thermo Dionex Ulti-Mate 3000 高效液相色谱-TSQ Quantum Ultra 型 LC-MS/MS 联用仪(美国 Thermo-Fisher 公司);BS 21S 分析天平(德国 Sartorius 公司)。

## 2 方法

### 2.1 色谱条件

色谱柱为 Agilent Extend-C<sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm, 3.5 μm);流动相 A 为甲醇-乙腈-水-甲酸(20:40:40:0.05),流动相为 B 甲醇-乙腈-水-甲酸(20:70:10:0.04),进行线性梯度洗脱(A:B):0 min (100:0)→28 min(0:100)→33 min(0:100)→33.1 min (100:0)→38 min(100:0),流速 1.0 mL/min,柱温 40 °C,检测波长为 235 nm。进样量 40 μL。

分流比 7:3 进行 MS 检测。

### 2.2 质谱条件<sup>[12]</sup>

电喷雾正离子化,TOF/MS 测定喷雾电压 3.5 kV,雾化氮气压力 275 kPa,流量 10 L/min,温度 350 °C,碎片电压 200 V,参比离子  $m/z$  121.050 8(质子化嘌呤, C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N<sub>4</sub><sup>+</sup>)和  $m/z$  922.009 8(质子化氟代磷嗪 HP-921, C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub>P<sub>3</sub>F<sub>24</sub><sup>+</sup>),扫描范围  $m/z$  100~1 000。MS/MS 测定的喷雾电压 4 kV,雾化气压力 300 kPa,辅助气压力 35 kPa,毛细管温度 350 °C,二级质谱扫描碰撞氩气压力 0.16 Pa,碰撞能量 10~35 eV。

### 2.3 溶液配制

2.3.1 供试品溶液 取夫西地酸约 25 mg,精密称定,置于 10 mL 量瓶中,加稀释剂(甲醇-乙腈-水,10:50:40)溶解并稀释至刻度,摇匀,配制成质量浓度为 2.5 mg/mL 的供试品溶液。精密量取上述溶液适量,加稀释剂定量稀释,配制 0.1% 的自身对照溶液。

2.3.2 对照品溶液 取各有关物质对照品适量,精密称定,加稀释剂溶解并定量稀释成质量浓度均约为 2.5 μg/mL 的溶液作为混合杂质对照溶液。

2.3.3 强制降解试验溶液 取夫西地酸各约 25 mg,分别经 2 mol/L 盐酸溶液 1 mL 60 °C 水浴 12 h,1 mol/L 氢氧化钠溶液 1 mL 室温放置 1.5 h,5% 过氧化氢 2 mL 60 °C 水浴 3 h,稀释剂 2 mL 90 °C 水浴 6 h,或光照(4 500 lx)5 d,分别处理,然后加稀释剂溶解(酸碱处理溶液先中和)并稀释至 10 mL,配制成质量浓度约为 2.5 mg/mL 的强制降解试验溶液。同时进行空白试验溶液。

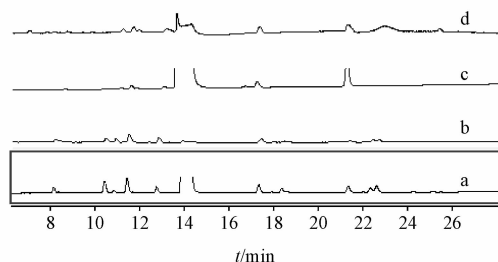
## 3 结果

### 3.1 有关物质检查

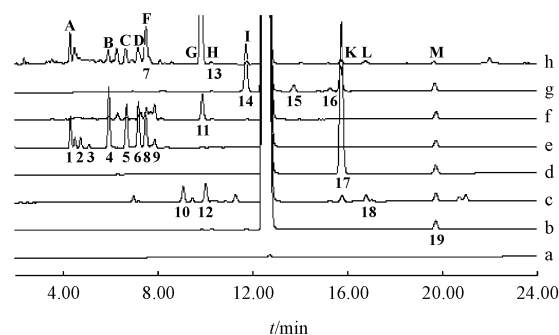
建立的夫西地酸有关物质挥发性流动相 HPLC 检查方法适用于质谱联用鉴定。图 2 为夫西地酸及其酸强制降解溶液的 DAD-TIC 谱图。图 3 为夫西地酸及其有关物质 HPLC 检查的典型色谱图。按保留时间由小到大顺序编号,共检出分离效果良好的 19 个主要有关物质。

夫西地酸供试品共检出 5 个有关物质,为有关物质 11、13、14、17、19(图 2-c~d);采用 0.1% 自身对照法估算有关物质含量,仅有关物质 19 的含量大于 0.1%(图 3-b)。强制降解试验结果表明,本

品在强酸、强碱、氧化、高温和光照条件下均不稳定。酸破坏形成4个主要降解产物(图3-c,有关物质10、12、17和18);碱破坏形成1个主要降解产物(图3-d,有关物质17);氧化破坏形成8个主要降解产物(图3-e,有关物质1~6、8和9);光照破坏形成5个主要降解产物(图3-f,有关物质4、6、8、9和11);高温破坏形成4个主要降解产物(图3-g,有关物质14~17)。



**Figure 2** LC-MS chromatograms of fusidic acid and its typical stress solutions  
a: DAD chromatograms of acid stress solutions; b: TIC chromatograms of acid stress solutions; c: DAD chromatograms of active pharmaceutical ingredient (API); d: TIC chromatograms of API



**Figure 3** HPLC-UV chromatograms of fusidic acid and its stress solutions  
a: 0.1% Reference solution; b: API; c: Acid; d: Alkaline; e: Oxidation; f: Photolysis; g: Thermal; h: Mixture of reference RSs (A–M)

### 3.2 有关物质的结构鉴定

采用 LC-MS 测得各有关物质母离子的准确相对分子质量和离子组成,以及它们的二级质谱特征碎片,并通过与夫西地酸和已知有关物质的质谱特征的对比分析,鉴定各主要有关物质的结构。结果见表1和图4。

**Table 1** Structures of the related substances (RSs) identified by LC-MS of fusidic acid

| RS<br>(EP 9.0 impurity) | $[M+H]^+ /$<br>$[M+NH_4]^+ (m/z)$ | $t_R/min$ | Ion formula             | Dif.  | Product ion ( $m/z$ )                           | Origins |
|-------------------------|-----------------------------------|-----------|-------------------------|-------|---|---------|
| 1(A)                    | 568.382 8                         | 4.3/4.5   | $C_{31}H_{50}O_8NH_4^+$ | 2.87  | 491, 473, 455, 437, 429                         | Dr      |
| 2                       | 584.377 0                         | 4.7       | $C_{31}H_{50}O_9NH_4^+$ | 3.95  | 507, 489, 471, 281                              | Dr      |
| 3                       | 584.377 3                         | 5.1       | $C_{31}H_{50}O_9NH_4^+$ | 3.60  | 507, 489, 471, 281                              | Dr      |
| 4(B)                    | 550.372 6                         | 5.9       | $C_{31}H_{48}O_7NH_4^+$ | 2.31  | 473, 455, 437, 261, 247                         | Dr      |
| 5(C)                    | 550.372 7                         | 6.7       | $C_{31}H_{48}O_7NH_4^+$ | 2.07  | 473, 455, 437, 261, 247                         | Dr      |
| 6(D)                    | 550.373 2                         | 7.2       | $C_{31}H_{48}O_7NH_4^+$ | 1.17  | 473, 455, 437, 261, 247                         | Dr      |
| 7(F)                    | 548.359 6                         | 7.5       | $C_{31}H_{46}O_7NH_4^+$ | 2.74  | 489, 471, 453, 435, 417, 351                    | –       |
| 8                       | 550.374 1                         | 7.7       | $C_{31}H_{48}O_7NH_4^+$ | –0.62 | 473, 455, 437, 261, 247                         | Dr      |
| 9                       | 550.374 3                         | 8.0       | $C_{31}H_{48}O_7NH_4^+$ | –0.93 | 473, 455, 437, 261, 247                         | Dr      |
| 10                      | 534.376 9                         | 9.1       | $C_{31}H_{48}O_6NH_4^+$ | 3.89  | 475, 457, 439, 421, 393                         | Dr      |
| 11(G)                   | 532.361 9                         | 9.9       | $C_{31}H_{46}O_6NH_4^+$ | 2.53  | 455, 437, 263                                   | Dr, Pr  |
| 12                      | 457.331 6                         | 10.0      | $C_{29}H_{44}O_4H^+$    | 0.59  | 439, 421, 393, 351, 299, 281                    | Dr      |
| 13(H)                   | 532.362 1                         | 10.3      | $C_{31}H_{46}O_6NH_4^+$ | 2.23  | 455, 437, 263                                   | Dr, Pr  |
| 14(I)                   | 475.341 9                         | 11.8      | $C_{29}H_{46}O_5H^+$    | –0.19 | 457, 439, 421, 263                              | Dr, Pr  |
| API                     | 534.378 6                         | 12.4      | $C_{31}H_{48}O_6NH_4^+$ | 0.63  | 475, 457, 439, 421, 263                         | API     |
| 15                      | 489.356 6                         | 13.8      | $C_{30}H_{48}O_5H^+$    | 2.88  | 457, 439, 421, 263                              | Dr      |
| 16                      | 457.331 1                         | 15.3      | $C_{29}H_{44}O_4H^+$    | 0.22  | 439, 421, 393, 351, 297, 279, 263, 217, 199, 95 | Dr      |
| 17(K)                   | 457.331 1                         | 15.8      | $C_{29}H_{44}O_4H^+$    | 0.26  | 439, 421, 393, 351, 297, 279, 263               | Dr, Pr  |
| 18(L)                   | 516.367 8                         | 16.8      | $C_{31}H_{46}O_5NH_4^+$ | 1.16  | 439   | Dr      |
| 19(M)                   | 518.382 8                         | 19.7      | $C_{31}H_{48}O_5NH_4^+$ | 2.39  | 441   | Pr      |

Pr: Process related substance; Dr: Degradation product

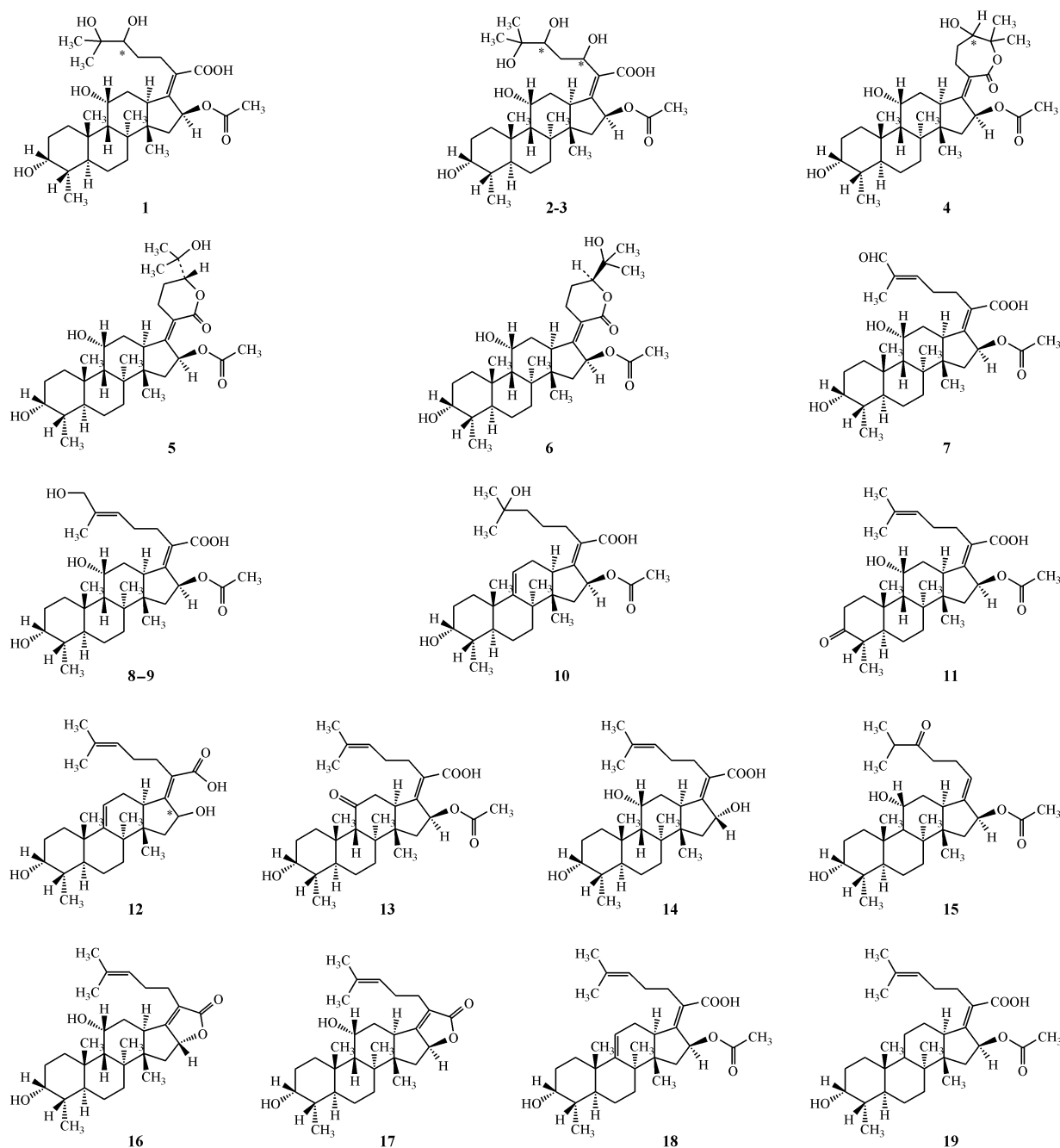


Figure 4 Chemical structures of the related substances (RS 1-19) of fusidic acid

3.2.1 已知有关物质的确证 通过有关物质 HPLC 定位及质谱定性,确证有关物质 1、4、5、6、7、11、13、14、17、18 和 19 分别与 EP9.0 规定的已知有关物质 A、B、C、D、F、G、H、I、K、L 和 M 对应。对夫西地酸和各已知有关物质的一级质谱母离子准确相对分子质量、二级质谱特征碎片离子和裂解途径(图 5 和图 6)分析,可以辅助其未知有关物质结构的推断与鉴定。

夫西地酸及已知有关物质裂解规律如下:

①夫西地酸及有关物质 7、11、13、18 和 19 的母离子( $P^+$ )中,16 位的酯键易断裂为羟基,进一步与 21 位的羧基缩合成五元环内酯,生成相对分子质量为 $[P-77]^+$ 的特征碎片离子。

②有关物质 14 的母离子( $P^+$ )中,16 位的羟基与 21 位的羧基缩合成五元环内酯,生成相对分子质量为 $[P-18]^+$ 的特征碎片离子。

③有关物质 **1**、**4**、**5**、**6** 的母离子( $P^+$ )中, 24 或 25 位的羟基易和 21 位的羧基缩合成六元环内酯, 16 位酯键易断裂为羟基, 同时结构中的羟基脱水, 生成相对分子质量为  $[P-77]^+ / [P-95]^+ / [P-113]^+ / [P-131]^+$  的一系列特征碎片离子。

④夫西地酸及其有关物质常会甾体环断裂, 产生 281、279、263、265、253、217、199、189、177、175、

159、145、119、95 等碎片离子峰簇, 尽管结构不同可能导致占主导地位的碎片离子峰不同, 但碰撞电压的不同也可能会导致以上碎片离子峰簇的丰度此消彼长, 因此, 此类碎片离子只宜用于验证结构推断的正确性, 而不能作为判定某基团存在的决定性依据。

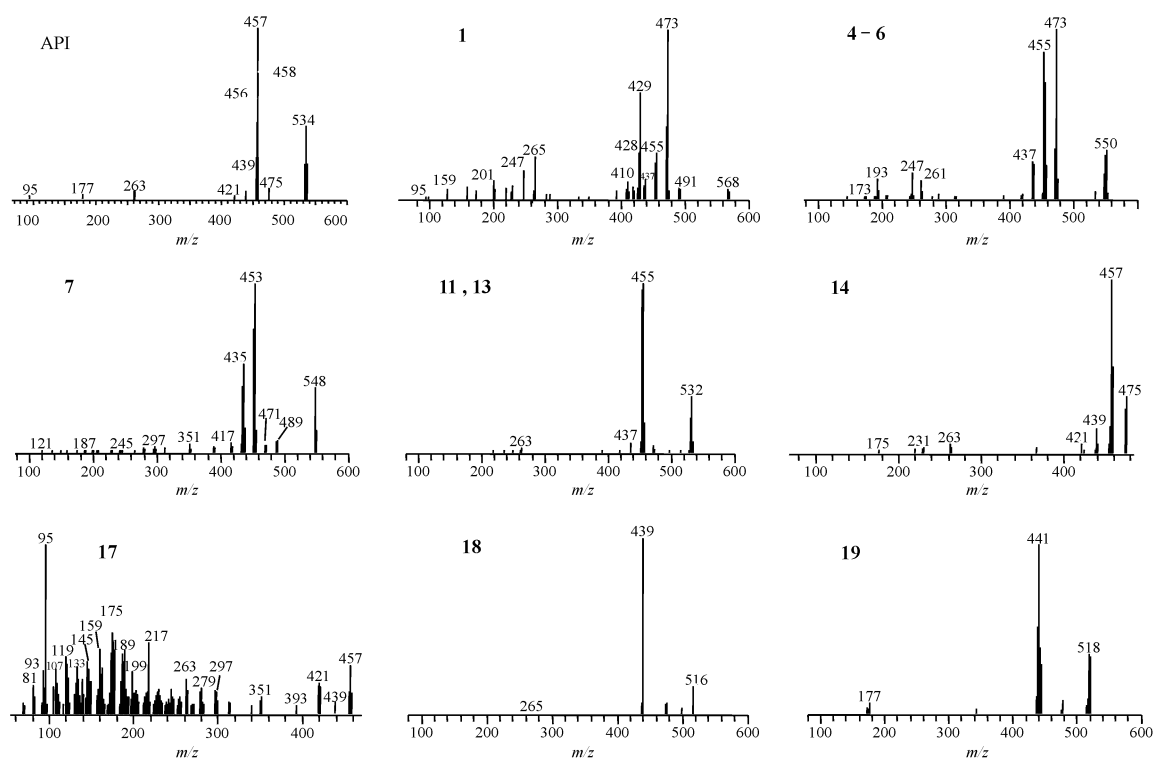
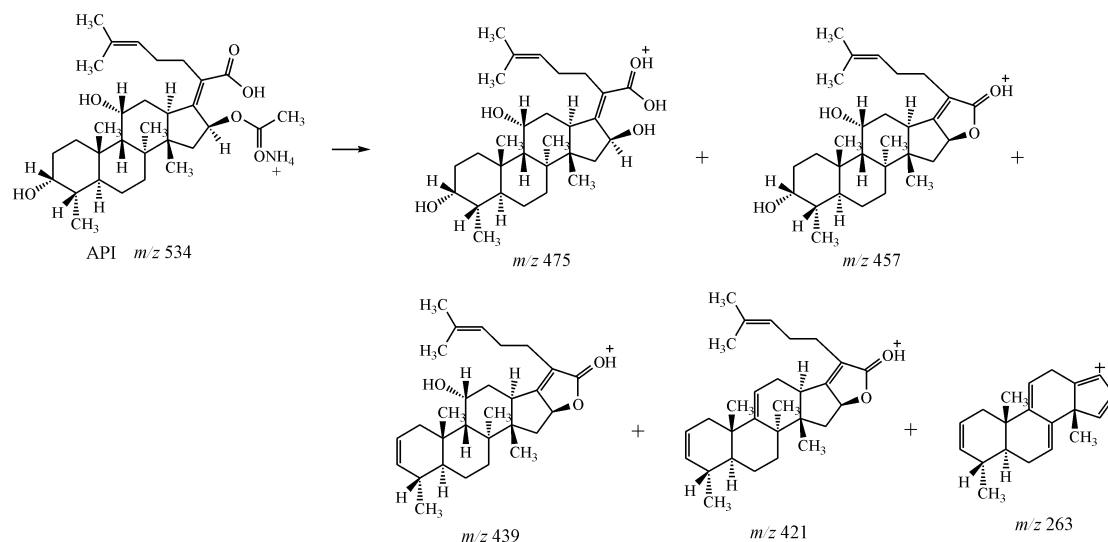
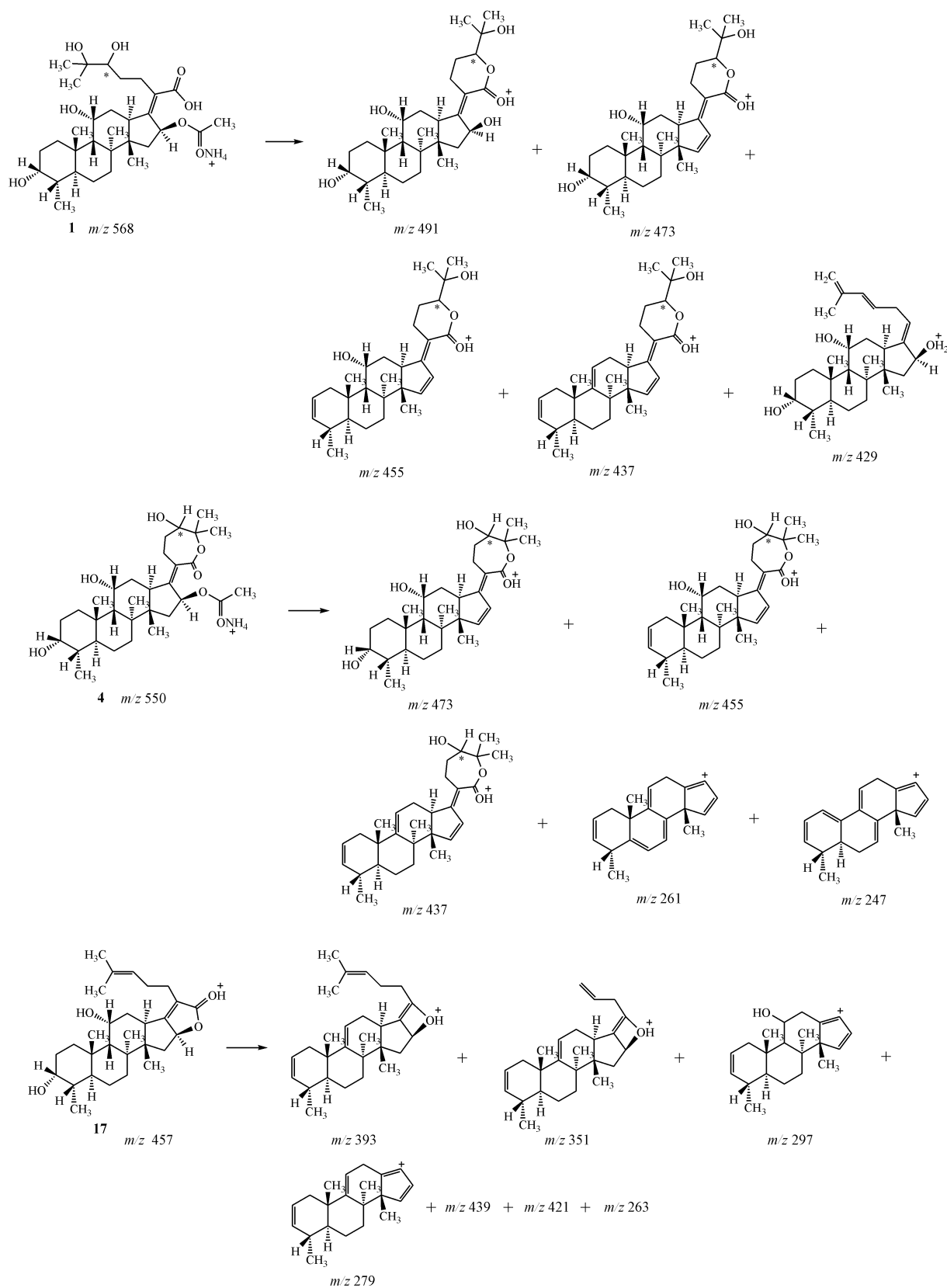


Figure 5 MS/MS spectra of fusidic acid and its impurity reference substance API ( $m/z$  534), **1** ( $m/z$  568), **4-6** ( $m/z$  548), **11** and **13** ( $m/z$  532), **14** ( $m/z$  475), **17** ( $m/z$  457), **18** ( $m/z$  516), **19** ( $m/z$  518)





**Figure 6** MS/MS fragmentation pathways of the product mass spectra of  $[M + H]^+$  or  $[M + NH_4]^+$  ions of fusidic acid and its typical RSs

3.2.2 未知有关物质的确证 通过有关物质 HPLC 定位及质谱特征,结合夫西地酸和已知有关物质裂解规律,对各未知有关物质进行综合分析鉴定其结构。

有关物质 **2** 和 **3**: ESI<sup>+</sup>-TOF/MS 测得有关物质 **2** 和 **3** 的  $[M + NH_4]^+$  的准确相对分子质量分别为 584.377 0 和 584.377 3, 均与离子式  $C_{31}H_{50}O_9NH_4^+$  相应,二者为同分异构体;其相对分子质量比有关物质 **1** 多 16, 与一个 O 原子相应。MS/MS 主要特征碎片离子  $m/z$  489、471 与有关物质 **1** 一致,均含

有  $[P - 77]^+ / [P - 95]^+$  碎片离子,故有关物质 **2** 和 **3** 是夫西地酸的三羟基化的同分异构产物。并且在氧化降解样品的  $m/z$  584.379 3 提取离子流色谱图中显示有 5 个三羟基化异构体(图 7),这与夫西地酸结构中存在两个烯键,且烯键及其  $\alpha$  位均可发生氧化反应的特征相应。因结构中有多个手性碳,故推断有关物质 **2** 和 **3**(图 7)为夫西地酸三羟基化的非对映异构体产物。有关物质 **2** 以图 7 中化合物 b 为例进行解析,质谱裂解(图 8)均得到合理归属。

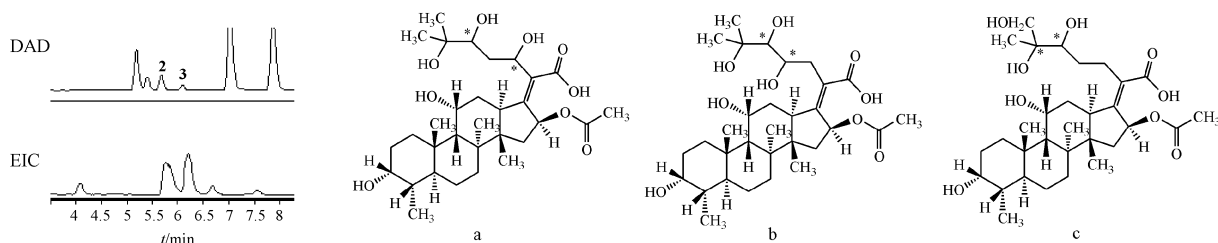


Figure 7 Extracted ion chromatogram of  $m/z$  584.379 3 and inferred structures

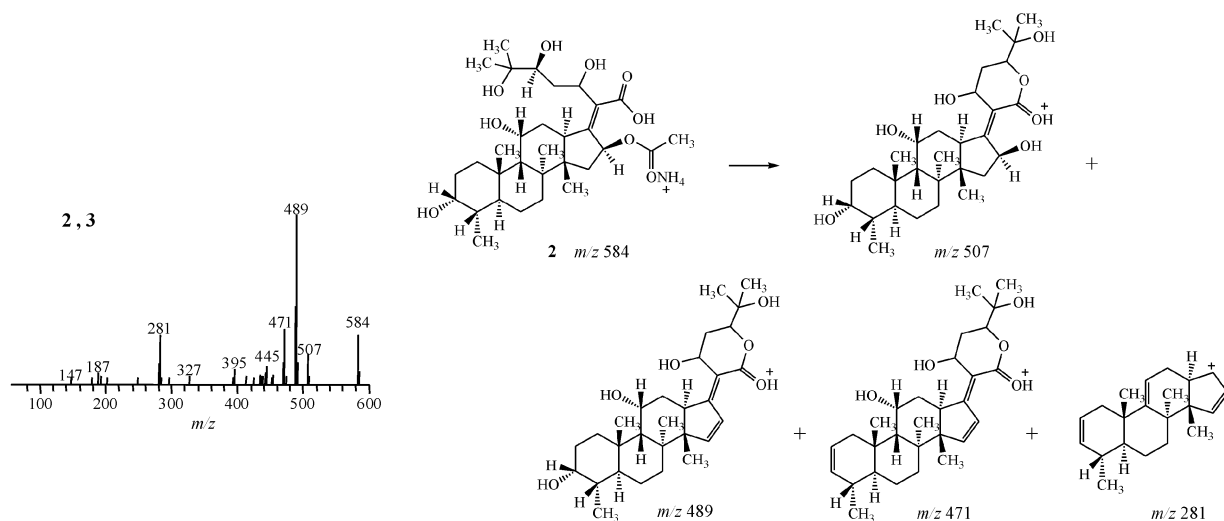


Figure 8 MS/MS spectrum and fragmentation pathways of the product mass spectrum of  $[M + NH_4]^+$  ions of RS **2**

有关物质 **8** 和 **9**: ESI<sup>+</sup>-TOF/MS 测得有关物质 **8** 与 **9** 的  $[M + NH_4]^+$  的准确相对分子质量分别为 550.374 1 和 550.374 3, 均与离子式  $C_{31}H_{48}O_7NH_4^+$  相应,与有关物质 **4**、**5**、**6** 互为同分异构体;其相对分子质量比夫西地酸多 16, 与一个 O 原子相应。MS/MS 主要特征碎片离子为  $m/z$  473、455、437、261、247, 其中  $m/z$  473 比夫西地酸的特征碎片  $m/z$  455 多 16, 推断有关物质 **8** 和 **9** 为夫西地酸单羟基化的同分异构产物,并且在氧化降解样品的

$m/z$  550.378 4 提取离子流色谱图中显示有多个单羟基化异构体(图 9),这与夫西地酸结构中存在两个烯键,且烯键及其  $\alpha$  位均可发生氧化反应的特征相应。如 26、27 位被氧化形成一对顺反异构体[图 9 中化合物 a(EP9.0 杂质 E)和化合物 b], 22 或 23 位被氧化形成两对对映异构体(图 9 中化合物 d 和 e), 24 位烯键可被氧化为酮(图 9 中化合物 c)。有关物质 **8** 以图 9 中化合物 a 为例进行解析,质谱裂解(图 10)均得到合理归属。

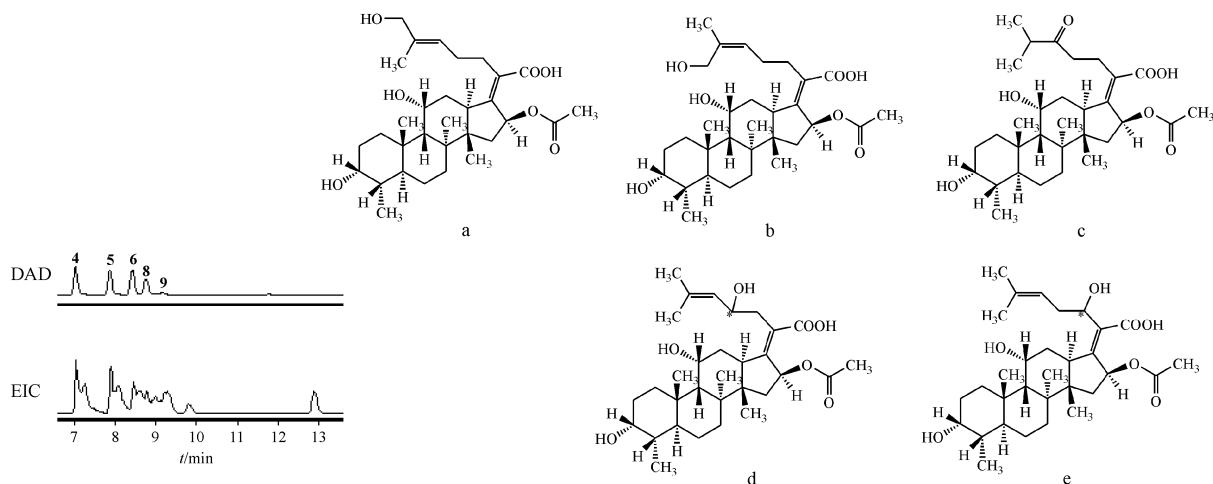


Figure 9 Extracted ion chromatogram of  $m/z$  550.378 4 and inferred structures

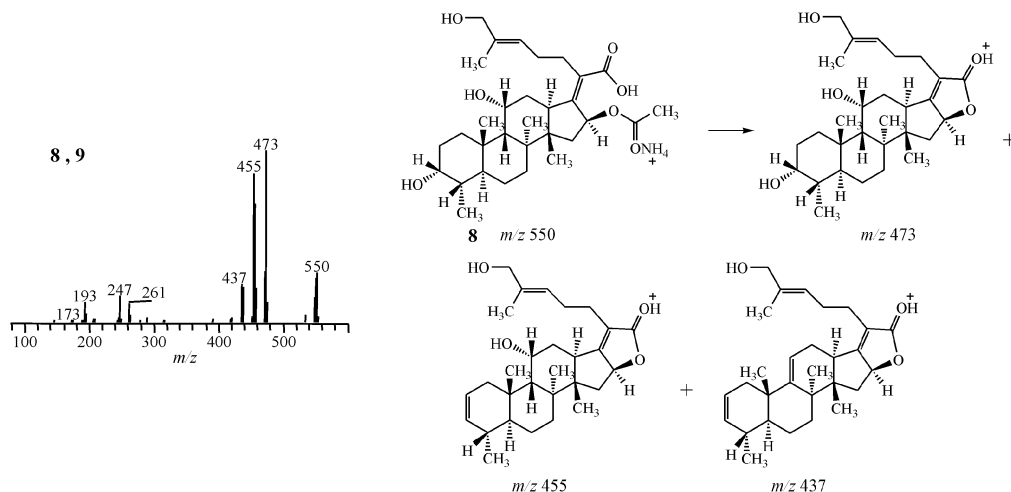


Figure 10 MS/MS spectrum and fragmentation pathways of the product mass spectrum of  $[M + NH_4]^+$  ions of RS 8

有关物质 10:ESI<sup>+</sup>-TOF/MS 测得有关物质 10 的  $[M + NH_4]^+$  的准确相对分子质量为 534.376 9, 与离子式  $C_{31}H_{48}O_6NH_4^+$  相应;相对分子质量与元素组成和夫西地酸一致,为夫西地酸异构体。MS/MS 主要特征碎片离子为  $m/z$  475、457、439、421、393,丰度较高的特征碎片离子 439 与有关物质 18 相同,推测其与有关物质 18 有相同的母核结构。在  $m/z$  534.378 9 的提取离子色谱图中显示 1 个夫西地酸异构体色谱峰(图 11),即有关物质 10。强制降解实验结果表明,有关物质 10 和 18 主要在酸破坏条件下产生,根据化学反应规律并参考裂解规律,推断夫西地酸在酸条件下 11 位羟基脱水,同时 24 位烯键与水加成(根据马氏规则,羟基加在 25 位 C)生成有关物质 10。有关物质 10 的碎片经合理途径产生(图 12)。

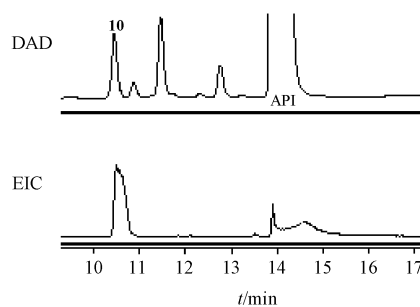


Figure 11 Extracted ion chromatogram of  $m/z$  534.378 9 of RS 10

有关物质 12 和 16:ESI<sup>+</sup>-TOF/MS 测得有关物质 12、16 的  $[M + H]^+$  的准确相对分子质量分别为 457.331 6、457.331 1,均与离子式  $C_{29}H_{44}O_4H^+$  相应,与有关物质 17 互为同分异构体。比夫西地酸相对分子质量少 60,元素组成少  $C_2H_4O_2$ ,与一分子  $H_2O$  和乙酰基相应。有关物质 12、16 和 17 二



级均需较高的碰撞能量,产生很多甾体环裂解碎片离子峰。在酸和高温破坏样品中提取离子流  $m/z$  457.331 2 的色谱图中,显示共有 5 个异构体色谱峰(图 13),其中 II、IV 和 V 分别为有关物质 12、16 和 17。有关物质 16 的 MS/MS 主要特征碎片离子与已知有关物质 17 一致,结合二者色谱保留和极性相近特征,推断有关物质 16[图 13 中化合物 c (EP9.0 杂

质 J)] 是有关物质 17 的非对映异构体。有关物质 12 极性较大,故推断其含有游离羟基和羧基,这与其 MS/MS 特征碎片离子  $m/z$  439 丰度较高相应,故推断有关物质 12 为夫西地酸 3 位或 11 位羟基脱水且 16 位酯键水解的降解产物(图 13 中化合物 a 和 b)。有关物质 12 以图 13 中化合物 b 为例进行解析,质谱裂解(图 14)均得到合理归属。

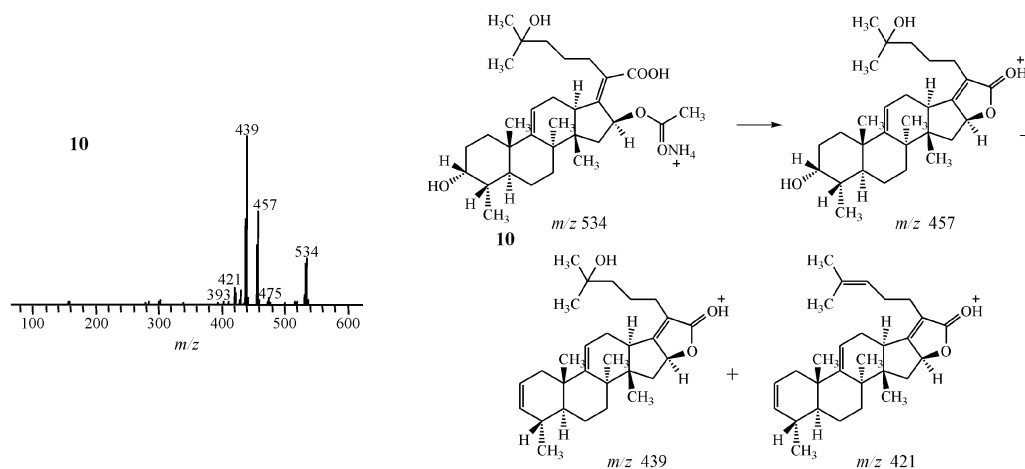


Figure 12 MS/MS spectrum and fragmentation pathways of the product mass spectrum of  $[M + NH_4]^+$  ions of RS 10

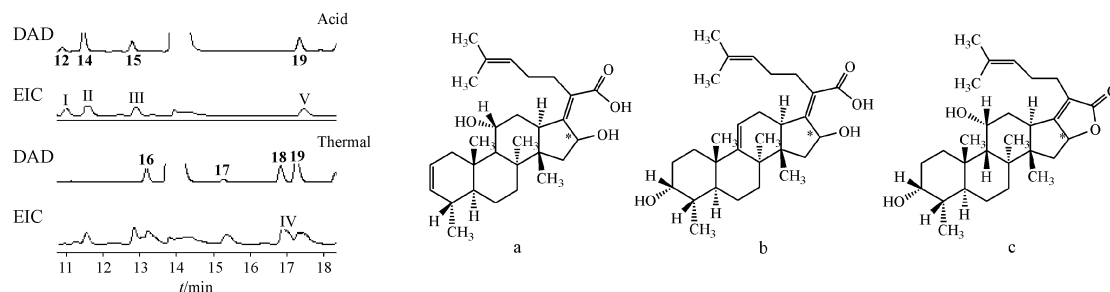


Figure 13 Extracted ion chromatogram of  $m/z$  457.331 2 and inferred structures

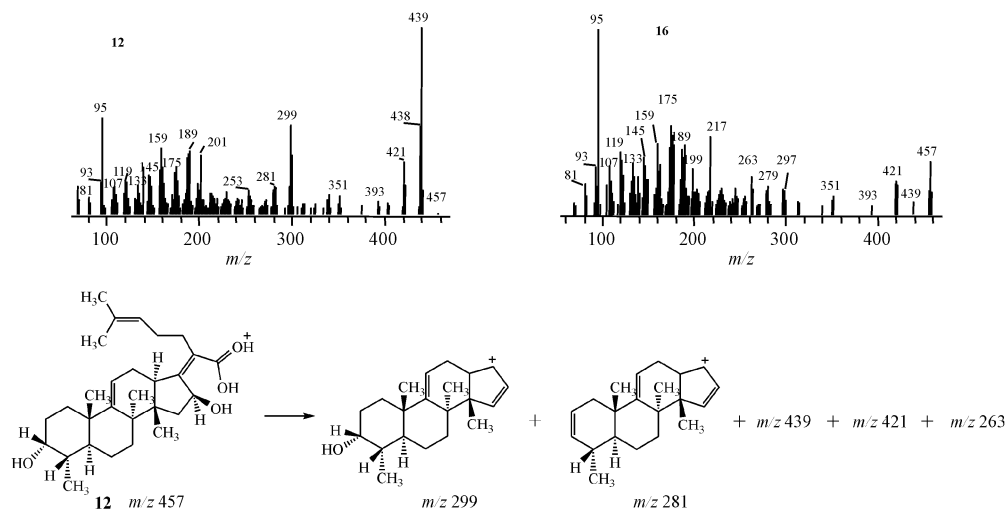


Figure 14 MS/MS spectra of RS 12, 16 and fragmentation pathways of the product mass spectrum of  $[M + H]^+$  ions of RS 12

有关物质 **15**:ESI<sup>+</sup>-TOF/MS 测得有关物质 **15** [M+H]<sup>+</sup> 的准确相对分子质量为 489.356 6,与离子式 C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>5</sub>H<sup>+</sup> 相应;比夫西地酸相对分子质量少 28,元素组成少 CO,与一分子 C=O 相应。在高温降解样品的 *m/z* 489.357 5 的提取离子流色谱图中显示 3 个异构体色谱峰(图 15),这与夫西地酸羧基断裂,且烯键可发生氧化反应的特征相应。如夫西地酸 21 位脱羧酸,同时 17 或 24 位烯键被

氧化为羰基的异构体产物(图 15 中化合物 a 和 b);或碳正离子发生重排,26 或 27 位被羰基化形成一对非对映异构体(图 15 中化合物 c)。有关物质 **15** 的主要碎片离子 *m/z* 457,与支链末端脱去一分子 CH<sub>3</sub>OH 相应,因此推断有关物质 **15** 为夫西地酸 24 位双键羰基化产物(图 15 中化合物 b 或 c)。有关物质 **15** 以图 15 中化合物 b 为例进行解析,质谱裂解(图 16)均得到合理解析。

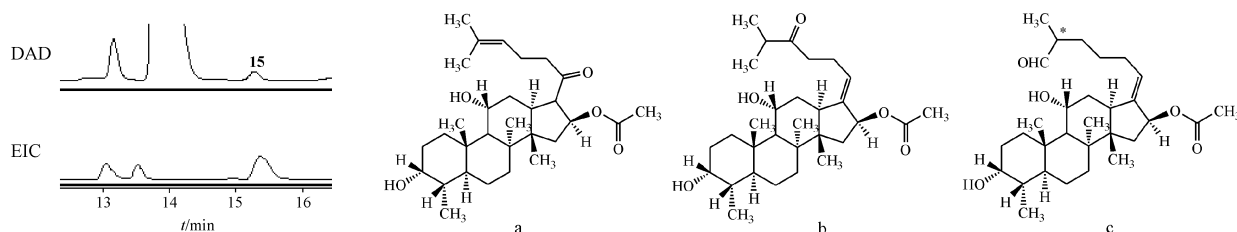


Figure 15 Extracted ion chromatogram of *m/z* 489.357 5 and inferred structures

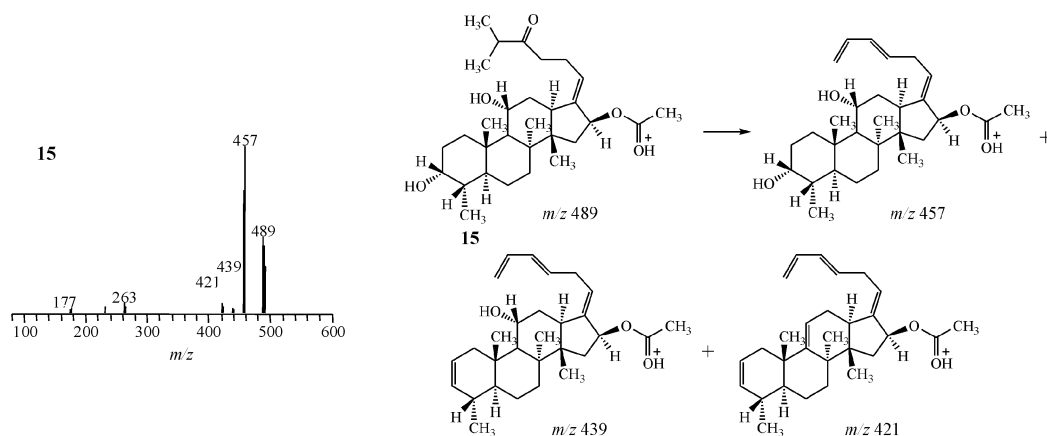


Figure 16 MS/MS spectrum and fragmentation pathways of the product mass spectrum of [M+H]<sup>+</sup> ions of RS **15**

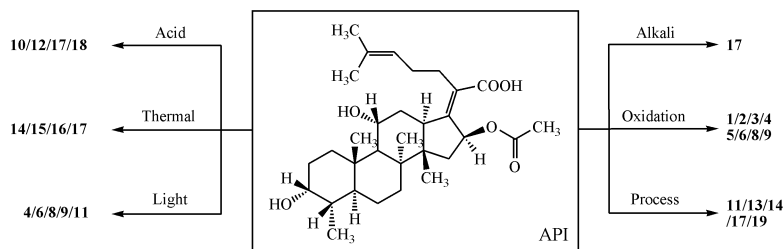


Figure 17 Schematic representation of main RSs of fusidic acid and the stress conditions

#### 4 讨论

在建立的挥发性流动相色谱-质谱联用鉴定条件下,夫西地酸与各有关物质均得到有效的分离,共检测到 19 个有关物质;其中 11 个为已知有关物质(1、4、5、6、7、11、13、14、17、18 和 19),8 个为未

知有关物质。且已知杂质的洗脱顺序、夫西地酸供试品检出的杂质及强制降解产生的杂质个数与 EP9.0 规定的非挥发性色谱条件结果一致。

夫西地酸有关物质的相关性与降解途径见图 17。强制降解实验结果表明,夫西地酸降解产物可分为 3 类。第 1 类为在酸、碱或高温条件下,导致

夫西地酸结构中酯键水解形成的产物,包括有关物质 14、15、16 和 17;第 2 类为在氧化或光照条件下结构中烯键及其  $\alpha$  位发生氧化反应形成的产物,包括有关物质 1、2、3、4、5、6、8、9 和 11。第 3 类为在强酸条件下结构中不同位点羟基脱水或酯键水解形成的产物,包括有关物质 10、12 和 18。因此,夫西地酸应避免光、阴凉暗处密闭存储。

本研究通过色谱-质谱联用技术对夫西地酸有关物质的分析研究,对其降解途径进行了探讨,为其存储条件和质量研究提供了参考依据。

### 参考文献

- [1] Frosini SM, Bond R, Loeffler A, *et al.* Opportunities for topical antimicrobial therapy: permeation of canine skin by fusidic acid [J]. *Bmc Vet Res*, 2017, **13**(1): 345–346.
- [2] Alsterholm M, Flytstrom I, Bergbrant IM, *et al.* Fusidic acid-resistant *Staphylococcus aureus* in impetigo contagiosa and secondarily infected atopic dermatitis [J]. *Acta Derm Venereol*, 2010, **90**(1): 52–57.
- [3] Doudoulakakis A, Spiliopoulou I, Spyridis N, *et al.* Emergence of a *Staphylococcus aureus* clone resistant to mupirocin and fusidic acid carrying exotoxin genes and causing mainly skin infections [J]. *J Clin Microbiol*, 2017, **55**(8): 2529–2537.
- [4] Belardinelli R, Rodnina MV. Effect of fusidic acid on the kinetics of molecular motions during EF-G-induced translocation on the ribosome [J]. *Sci Rep*, 2017, **7**(1): 10536.
- [5] Li B, Li B, Zhou C. Progress on antimicrobial peptides against drug-resistant bacterial infection [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2014, **45**(5): 580–586.
- [6] Curbete MM, Salgado HR. A critical review of the properties of fusidic acid and analytical methods for its determination [J]. *Crit Rev Anal Chem*, 2016, **46**(4): 352–360.
- [7] Goswami N, Gupta VR, Jogia HA. Development and validation of a novel stability-indicating RP-HPLC method for the simultaneous determination of halometasone, fusidic acid, methylparaben, and propylparaben in topical pharmaceutical formulation [J]. *Sci Pharm*, 2013, **81**(2): 505–518.
- [8] Morgan J, Joyce-Menekse ME, Rowlands RT, *et al.* Rapid and sensitive quantitation of antibiotics in fermentations by electrospray mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2001, **15**(14): 1229–1238.
- [9] Nawaz M, Arayne MS, Sultana N, *et al.* Simultaneous determination of fusidic acid and steroids from bulk drugs and human plasma by reversed phase HPLC [J]. *Acta Chromatogr*, 2014, **26**(1): 57–66.
- [10] Curbete MM, Salgado HRN. Stability-indicating RP-LC method for quantification of fusidic acid in cream [J]. *Braz J Pharm Sci*, 2016, **52**(3): 447–457.
- [11] Curbete MM, Salgado HRN. Rapid turbidimetric assay for quantification of fusidic acid in a dermatological cream [J]. *Talanta*, 2016, **153**: 51–56.
- [12] Yin XY, Wang C, Ming GJ, *et al.* Identification of the related substances of pioglitazone hydrochloride by hyphenated LC-MS techniques [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2017, **48**(6): 701–710.