# 卡泊芬净及其杂质的 LC-QTOF-MS 定性分析

张 拥 军<sup>1</sup>,梁 紫 琦<sup>2</sup>,郭 拥 政<sup>1</sup>,朱 勇 华<sup>1</sup>,周 丈 武<sup>1</sup>,王 书 芳<sup>2,3\*</sup>(1.浙江野风药业股份有限公司,浙江 东阳 322100; 2.浙江大学金华研究院转化药学创制中心,浙江 金华 321016; 3.浙江大学药学院,杭州 310058)

摘要:目的 采用 LC-QTOF-MS 分析醋酸卡泊芬净原料药及其强降解产物的杂质,研究卡泊芬净及其相关杂质(杂质 A、B、C、D和 E)的质谱特征。方法 采用 Waters CORTECS<sup>®</sup> C<sub>18</sub><sup>+</sup>(4.6 mm×150 mm, 2.7 μm)色谱柱,流动相 A 为 0.1%甲酸-水溶液,流动相 B 为 0.1%甲酸-乙腈,流速为 0.6 mL·min<sup>-1</sup>,梯度洗脱; ESI-QTOF-MS 正离子扫描检测。结果 在一级 质谱中,除杂质 D 主要显示单电荷准分子离子峰外,卡泊芬净及其余 4 个杂质均以多电荷准分子离子峰的响应较高;在 二级质谱中,卡泊芬净及其他含乙二胺结构的杂质均会丢失乙二胺及其所连基团产生碎片离子 m/z 103 3;卡泊芬净及其 相关杂质主要通过肽键的断裂生成一系列碎片离子,也可以通过丢失氨基酸残基中的羟基、酰基或氨基生成碎片离子; 杂质 A 和杂质 C 分别显示高丰度的特征碎片离子 m/z 137.070 8 和 m/z 77.071 1,可以与卡泊芬净及其他杂质区分。结论 卡 泊芬净及其 5 个杂质均具有明显的质谱特征,研究结果可为卡泊芬净生产过程中可能出现的未知杂质的结构鉴定提供参 考,以便及早发现生产工艺中的潜在问题,降低产品质量风险。

关键词:卡泊芬净;杂质;LC-QTOF-MS;定性分析

中图分类号: R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)23-3281-07 **DOI:** 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20231407

引用本文:张拥军,梁紫琦,郭拥政,等.卡泊芬净及其杂质的 LC-QTOF-MS 定性分析[J]. 中国现代应用药学,2023, 40(23): 3281-3287.

#### Qualitative Analysis of Caspofungin and Its Impurities by LC-QTOF-MS

ZHANG Yongjun<sup>1</sup>, LIANG Ziqi<sup>2</sup>, GUO Yongzheng<sup>1</sup>, ZHU Yonghua<sup>1</sup>, ZHOU Wenwu<sup>1</sup>, WANG Shufang<sup>2,3\*</sup> (1.Zhejiang Wild Wind Pharmaceutical Co., Ltd., Dongyang 322100, China; 2.Innovation Center of Translational Pharmacy, Jinhua Institute of Zhejiang University, Jinhua 321016, China; 3.College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To analyze caspofungin acetate and the samples under different strong degradation conditions by LC-QTOF-MS, and to study the characteristics in mass spectra of caspofungin and its related impurities (impurities A, B, C, D and E). **METHODS** Chromatographic separation was accomplished on Waters CORTECS<sup>®</sup>  $C_{18}^+(4.6 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}, 2.7 \mu\text{m})$  column using a gradient elution with monile phase of 0.1% formic acid-H<sub>2</sub>O(A) and 0.1% formic acid-CH<sub>3</sub>CN(B) at a flow velocity of 0.6 mL·min<sup>-1</sup>; The analytes was detected in positive ion scan mode by ESI-QTOF-MS. **RESULTS** In MS<sup>1</sup> spectra, except that impurity D mainly showed single-charge quasi-molecular ion, caspofungin and the other four impurities showed muti-charge quasi-molecular ions with high abundance; In MS<sup>2</sup> spectra, caspofungin and its impurities that containing ethylenediamine generated fragment ions at m/z 1 033 by losing the ethylenediamine and the groups attached to it; caspofungin and its impurities produced a series of fragment ions mainly through the cleavage of peptide bonds, as well as through the loss of hydroxyl, acyl, or amino groups from amino acid residues; Impurity A and C showed characteristic fragment ions m/z 137.070 8 and m/z 77.071 1 with high abundance, respectively, which could be used to distinguish them from caspofungin and the other impurities. **CONCLUSION** Caspofungin and its five impurities that may occur in the production process of caspofungin, so as to quickly discover the potential problems in the production process and reduce the quality risk of the products.

KEYWORDS: caspofungin; impurity; LC-QTOF-MS; qualitative analysis

醋酸卡泊芬净是首个棘白菌素半合成类抗真菌药物,由美国 Merck 公司率先研发,商品名为 Cancidas,该药以较强的抗真菌活性为主要特点, FDA 先后批准其用于治疗对其他药物治疗无效或 耐受性差的侵袭性曲霉菌感染和治疗发热性中性 粒细胞减少症患者真菌感染。2006 年,原国家食品药品监督管理局(SFDA)批准醋酸卡泊芬净进入中国市场,商品名为科赛斯<sup>®[1-2]</sup>。醋酸卡泊芬净是以丝状真菌 *Glarea lozoyensis* 发酵得来的Pneumocandin B<sub>0</sub>为底物,通过修饰部分基团而得

**作者简介:**张拥军,男,硕士,高级工程师 E-mail: zyjwinner@163.com <sup>\*</sup>通信作者:王书芳,女,博士,副教授 E-mail: wangsf@zju.edu.cn

到的环六肽类化合物<sup>[3]</sup>,该化合物结构稳定性较差,在发酵起始原料、工艺合成和环境中易变质 或降解生成其他杂质。因此,醋酸卡泊芬净中的 杂质检测对于其质量控制尤为重要。

杂质的结构鉴定及来源分析对于药品的生产 质量控制具有重要意义。目前,已有关于醋酸卡 泊芬净中杂质的定性或定量检测的研究报道。余 欢等[4]通过制备液相色谱分离得到醋酸卡泊芬净 制备过程中产生的 4 个杂质,并采用高分辨质谱 和核磁共振波谱法鉴定了醋酸卡泊芬净制备过程 中产生的4个杂质的结构。郭跃龙等[5]建立了醋酸 卡泊芬净及其5个杂质的 HPLC 定量分析方法, 并对卡泊芬净在强降解破坏条件下的样品进行了 分析。杜明镜等[6]采用质谱和核磁波谱法鉴定了醋 酸卡泊芬净制备过程中的一个杂质。采用质谱和 核磁波谱法能够明确未知杂质的结构, 但需分离 得到足够量的杂质,研究周期长,难以对生产过 程中产生的未知杂质进行快速鉴定,不利于及时 发现工艺环节中潜在问题。因此,研究卡泊芬净 相关杂质结构的快速鉴定方法有重要的意义。

近十余年来,随着高分辨质谱技术迅速发展,整合了色谱高分离效率与高分辨质谱对化合物结构鉴定优势的液相色谱-高分辨质谱联用技术已成为复杂体系中化学成分结构快速鉴定的强有力技术手段<sup>[7-9]</sup>。其中液相色谱-四级杆飞行时间质谱联用(liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry, LC-QTOF-MS)技术的应用最为 广泛<sup>[10-14]</sup>。QTOF-MS 能够提供化合物的准确分子 量、分子式及其质谱碎片离子的准确质荷比,在 此基础上可对未知化合物的结构进行推测。本研 究采用 LC-QTOF-MS 对醋酸卡泊芬净原料药及其 强降解产物中的杂质进行定性分析,研究其质谱 裂解特征。

## 1 仪器与试药

Shimadzu 30AD UHPLC-AB Sciex Triple TOF<sup>™</sup> 7600 超高效液相色谱-质谱联用仪(日本岛 津公司,美国 AB 公司); XS105DU 型 十万分之 一天平(瑞士 Mettler 公司); Milli-Q 超纯水处理系 统(英国 ELGA 实验室纯水公司)。

醋酸卡泊芬净原料药(批号:DC5306)和杂质 A、B、C、D、E 对照品均由浙江野风药业股份有 限公司提供,杂质 A(批号:210301;纯度:96.6%); 杂质 B(批号:200701;纯度:92.6%);杂质 C(批 号:200301;纯度:95.9%);杂质 D(批号:200301; 纯度:96.6%);杂质 E(批号:200701;纯度:89.2%)。 甲酸(Aladdin 科技有限公司)和乙腈(德国 Merk 公 司)均为色谱纯;超纯水由实验室超纯水仪制备得 到,其他均为分析纯试剂。

## 2 方法

### 2.1 样品溶液的配制

精密称取醋酸卡泊芬净原料药适量,用含20%乙腈的 0.01 mol·L<sup>-1</sup>乙酸钠溶液(用冰乙酸调节 pH 至 4.0)配制成浓度约为 1.5 mg·mL<sup>-1</sup>的供试品储备液,再用 45%乙腈水溶液稀释至 0.5 mg·mL<sup>-1</sup> 后进行 LC-QTOF-MS 分析。

平行配制 6 份浓度为 1.5 mg·mL<sup>-1</sup>的醋酸卡泊 芬净溶液,溶剂为含 20%乙腈的 0.01 mol·L<sup>-1</sup>乙酸 钠溶液(用冰乙酸调节 pH 至 4.0),分别进行破坏性 试验。其中氧化破坏样品配制时加入 3%过氧化氢 溶液于 25 ℃放置 12 h;高温破坏样品于 25 ℃烘 箱中放置 36 h;高湿破坏样品置 25 ℃、(90±5)% 的干燥皿中放置 36 h;强光破坏样品放入照度为 (4 500±500)lx的光照箱中放置 10 d;强酸破坏样 品配制时加入 1.0 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸溶液 1.0 mL,于 25 ℃放置 5 h,临用前加 1.0 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠溶液 中和;强碱破坏样品配制时加 1.0 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠溶液 中和;强碱破坏样品配制时加 1.0 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠溶液 乙腈水溶液稀释至 0.5 mg·mL<sup>-1</sup>后进行 LC-QTOF-MS 分析。

2.2 混合对照品溶液的配制

→ 分别精密称取杂质 A、B、C、D 和 E 适量, 用 30%乙腈水溶液配制成浓度约为 1.0 mg·mL<sup>-1</sup>的 对照品储备液。分别取对照品储备液适量,用 30% 乙腈水溶液配制成浓度约为 0.1 mg·mL<sup>-1</sup>的混合 对照品溶液。

2.3 LC-QTOF-MS 分析方法

2.3.1 色谱条件 色谱柱为 Waters CORTECS<sup>®</sup> C<sub>18</sub><sup>+</sup>(4.6 mm×150 mm, 2.7 µm); 柱温为 40 ℃; 以 0.1%甲酸-水溶液为流动相 A, 0.1%甲酸-乙腈 为流动相 B; 流速为 0.6 mL·min<sup>-1</sup>; 进样量为 3 µL; 检测波长为 203 nm; 梯度洗脱: 0~5 min, 25%→35%B; 5~8 min, 35%→40%B; 8~15 min, 40%→100%B; 15~20 min, 100%B。

2.3.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),正离子扫 描检测,扫描范围为 *m/z* 100~2 000;雾化气 1(GS1) 为 55 psi;雾化气 2(GS2)为 55 psi;气帘气(CUR) 为 35 psi;离子源温度(TEM)为 550 ℃;离子源电

压(IS)为 5 500 V;去簇电压(DP)为 80 V;碰撞电压(CE)为 50 V;质谱采集时间:2~20 min。

3 结果

取醋酸卡泊芬净原料药及破坏性试验中的样品,按"2.3"项下 LC-QTOF-MS 分析方法进样分析,色谱图见图 1。LC-QTOF-MS 数据显示醋酸卡泊芬净原料药中含有杂质 1,3,4 和 5,杂质 2 仅在高湿和强碱破坏样品中出现;杂质 3 在所有样品中均存在;杂质 4 和 5 在氧化、高温、高湿、强光、强酸破坏样品中均存在。经对照品比对,杂质 1~5 分别为卡泊芬净杂质 A、B、C、D 和 E,卡泊芬净及相关杂质的化学结构见图 2。

卡泊芬净分子式为 C<sub>52</sub>H<sub>88</sub>N<sub>10</sub>O<sub>15</sub>, 一级质谱图 中显示单电荷准分子离子 *m/z* 1 093.649 6[M+H]<sup>+</sup> 和双电荷准分子离子 *m/z* 547.329 6[M+2H]<sup>2+</sup>, 双 电荷离子响应高。二级质谱中卡泊芬净易丢失乙二 胺 形 成 基 峰 碎 片 离 子 *m/z* 1 033.586 9[M+H-C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; 卡泊芬净结构中含有多个羟基,因此, 该化合物还产生一系列失水形成的碎片离子,如 *m/z* 1 075.639 7[M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、*m/z* 1 015.572 4[M+H- C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、*m/z* 997.561 8[M+H-C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>-2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> 和*m/z* 979.550 7[M+H-C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>-3H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>; 卡泊芬净 通过肽键的断裂会生成一系列碎片,这也是肽类 化合物质谱裂解的重要特征,如:丢失 β-羟基鸟 氨酸残基和 H<sub>2</sub>O 后生成碎片离子 *m/z* 945.565 9 [M+H-C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>,丢失羟脯氨酸、苏氨酸 和  $\gamma$ -羟基鸟氨酸残基及其所连基团和水分子后产 生碎片离子 *m/z* 435.188 0[M+H-C<sub>32</sub>H<sub>60</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> 和*m/z* 417.177 3[M+H-C<sub>32</sub>H<sub>60</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>-2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, $\beta$ -羟基鸟 氨酸残基离子 *m/z* 131.081 8[M+H-C<sub>47</sub>H<sub>78</sub>N<sub>8</sub> O<sub>13</sub>]<sup>+</sup>, 苏氨酸残基离子 *m/z* 102.054 6[M+H-C<sub>48</sub>H<sub>81</sub>N<sub>9</sub> O<sub>13</sub>]<sup>+</sup>,  $\beta$ -羟基鸟氨酸残基丢失酰基和氨基后生成的碎片离 子 *m/z* 86.060 0 [M+H-C<sub>48</sub>H<sub>81</sub>N<sub>9</sub>O<sub>14</sub>]<sup>+</sup>。结果见图 3。

杂质 A 分子式为 C<sub>51</sub>H<sub>86</sub>N<sub>10</sub>O<sub>15</sub>,其一级质谱 中显示单电荷准分子离子 *m/z* 1079.634 5[M+H]<sup>+</sup> 和双电荷准分子离子 *m/z* 540.321 7[M+2H]<sup>2+</sup>,双 电荷离子响应高。杂质 A 与卡泊芬净结构的不同 之处在于:卡泊芬净结构中苏氨酸残基在杂质 A 中变为丝氨酸残基。杂质 A 在二级质谱中可产生 高丰度的特征碎片离子 *m/z* 137.070 8[M+H-



图1 不同样品的提取离子流图

\*-卡泊芬净(m/z 547.33); 1-杂质 A(m/z 540.32); 2-杂质 B(m/z 547.33); 3-杂质 C(m/z 555.33); 4-杂质 D(m/z 1 051.59); 5-杂质 E(m/z 709.41)。 Fig. 1 Extracted ion chromatogram of different samples

\*-Caspofungin(*m/z* 547.33); 1-impurity A(*m/z* 540.32); 2-impurity B(*m/z* 547.33); 3-impurity C(*m/z* 555.33); 4-impurity D(*m/z* 1 051.59); 5-impurity E(*m/z* 709.41).

中国现代应用药学 2023 年 12 月第 40 卷第 23 期

Chin J Mod Appl Pharm, 2023 December, Vol.40 No.23  $\phantom{000}\cdot3283\cdot\phantom{000}$ 



图 3 卡泊芬净 m/z 1 093.649 6[M+H]<sup>+</sup>二级质谱及碎片归属 Fig. 3 MS<sup>2</sup> spectrum and fragment attribution of caspofungin m/z 1 093.649 6[M+H]<sup>+</sup>

C<sub>44</sub>H<sub>74</sub>N<sub>8</sub>O<sub>12</sub>-2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 由丝氨酸残基-羟脯氨酸残基 片段失去酰基和水分子后生成,可作为杂质 A 的 诊断离子。另外,二级质谱中还有高丰度的碎片 离子 m/z 86.060 1[M+H-C<sub>47</sub>H<sub>79</sub>N<sub>9</sub>O<sub>14</sub>]<sup>+</sup>(基峰)和 m/z131.081 4[M+H-C<sub>46</sub>H<sub>76</sub>N<sub>8</sub>O<sub>13</sub>]<sup>+</sup>,其中前者为 β-羟基 鸟氨酸残基丢失酰基和氨基后生成的碎片离子, 后者为β-羟基鸟氨酸残基离子。杂质A与卡泊芬 净类似,也会通过丢失乙二胺和水分子生成一系 列碎片离子: *m/z* 1019.568 8[M+H-C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>、 *m/z*1001.550 5[M+H-C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、*m/z*983.543 3 [M+H-C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>-2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>和*m/z*931.555 6[M+H-C<sub>5</sub>H<sub>10</sub> N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>,而且可以看到丰度较高的乙二胺的碎

中国现代应用药学 2023 年 12 月第 40 卷第 23 期

片离子 m/z 61.076 3。结果见图 4。

杂质 C 分子式为 C<sub>52</sub>H<sub>88</sub>N<sub>10</sub>O<sub>16</sub>,其一级质谱中显示单电荷准分子离子 *m/z* 1109.643 2[M+H]<sup>+</sup>和双电荷准分子离子 *m/z* 555.326 9[M+2H]<sup>2+</sup>,双电荷离子响应高。杂质 C 与卡泊芬净结构的不同之处在于:乙二胺基团的仲胺连接有氧原子,此结构片段在杂质 C 的二级质谱中会产生高丰度的特征碎片离子 *m/z* 77.071 1[C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup>,可作为杂

质 C 的诊断离子。杂质 C 二级质谱中还有高丰度 的碎片离子 *m/z* 86.060 1[M+H-C<sub>48</sub>H<sub>81</sub>N<sub>9</sub>O<sub>15</sub>]<sup>+</sup> (基 峰)和 *m/z* 131.081 5[M+H-C<sub>47</sub>H<sub>78</sub>N<sub>8</sub>O<sub>14</sub>]<sup>+</sup>。此外, 杂质 C 二级质谱中还有一些与卡泊芬净相同的碎 片离子,如 *m/z* 1 033.583 1[M+H-C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、*m/z* 435.186 7[M+H-C<sub>32</sub>H<sub>60</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>和 *m/z* 417.177 4 [M+H-C<sub>32</sub>H<sub>60</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>-2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>等,只是相对丰度大小 与卡泊芬净中的不同,结果见图 5。



图 4 杂质 A m/z 540.321 7[M+2H]<sup>2+</sup>二级质谱及碎片归属 Fig. 4 MS<sup>2</sup> spectrum and fragment attribution of impurity A m/z 540.321 7[M+2H]<sup>2+</sup>



Fig. 5 MS<sup>2</sup> spectrum and fragment attribution of impurity C m/z 555.326 9[M+2H]<sup>2+</sup>

中国现代应用药学 2023 年 12 月第 40 卷第 23 期

杂质 B 为卡泊芬净的差向异构体,其在一级质 谱中显示单电荷准分子离子峰 m/z 1093.650 3 [M+H]<sup>+</sup>和双电荷准分子离子 547.330 0[M+2H]<sup>2+</sup>, 双电荷离子响应高。杂质 B 的二级质谱与卡泊芬净 相 似 , 基 峰 碎 片 离 子 也 是 m/z 1033.578 0 [M+H-C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>。卡泊芬净其他碎片离子在杂质 B 二级质谱中也可以看到,只是有些离子的相对丰度 与卡泊芬净中的不同,如 m/z 137.071 2 的相对丰度 比卡泊芬净中的利高。另外,杂质 B 和卡泊芬净二 级质谱中均有碎片离子 m/z 885[M+H-C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>和 m/z 867[M+H-C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>和 m/z 867[M+H-C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>,但这 2 个离子丰度的相对高低不同:杂 质 B 中 m/z 885 碎片离子的丰度稍高,而卡泊芬净 中则情况相反, m/z 867 碎片离子的丰度稍高。结 果见图 6A。

杂质 D 的分子式为 C<sub>50</sub>H<sub>82</sub>N<sub>8</sub>O<sub>16</sub>,其在一级质 谱中显示单电荷准分子离子 *m/z* 1051.5901 [M+H]<sup>+</sup>,其二级质谱基峰离子为其准分子离子, 丰度最高的碎片离子为 *m/z* 1033.5801[M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>,其余碎片离子与卡泊芬净的二级质谱碎片一致。结果见图 6B。

杂质 E 的分子式为 C<sub>102</sub>H<sub>168</sub>N<sub>18</sub>O<sub>30</sub>,其在一级 质谱中显示双电荷准分子离子 *m/z* 1 063.616 0 [M+2H]<sup>2+</sup>和三电荷准分子离子 *m/z* 709.413 7 [M+3H]<sup>3+</sup>,三电荷离子响应高。其二级质谱基峰 碎片离子为 *m/z* 1 033.576 9[M+H-C<sub>52</sub>H<sub>88</sub>N<sub>10</sub> O<sub>15</sub>]<sup>+</sup>; 碎片离子 *m/z* 1 093.648 6[M+H-C<sub>50</sub>H<sub>80</sub>N<sub>8</sub> O<sub>15</sub>]<sup>+</sup>,与 卡泊芬净单电荷准分子离子质荷比一致。在高质 荷比区有一系列失水后生成的碎片离子 *m/z* 1 075.636 8[M+H-C<sub>50</sub>H<sub>80</sub>N<sub>8</sub>O<sub>15</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、*m/z* 1 054.609 4 [M+2H-H<sub>2</sub>O]<sup>2+</sup>、*m/z* 1 045.598 4[M+2H- 2H<sub>2</sub>O]<sup>2+</sup>、*m/z* 1 015.568 6[M+H-C<sub>52</sub>H<sub>88</sub>N<sub>10</sub>O<sub>15</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、*m/z* 997.566 8 [M+H-C<sub>52</sub>H<sub>88</sub>N<sub>10</sub>O<sub>15</sub>-2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、*m/z* 885.492 7[M+H-C<sub>52</sub>H<sub>88</sub>N<sub>10</sub>O<sub>15</sub>-3H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、*m/z* 867.492 3[M+H-C<sub>52</sub>H<sub>88</sub>N<sub>10</sub>O<sub>15</sub>-4H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>。此外,还有一些与卡泊芬净相同的碎片离子, *如 m/z* 867.4923 和 *m/z* 137.070 8 等。结果见图 6C。



**图 6** 杂质 B、D 和 E 二级质谱 A-杂质 B(*m*/*z* 1 093.650 3[M+H]<sup>+</sup>); B-杂质 D(*m*/*z* 1 051.590 1[M+H]<sup>+</sup>); C-杂质 E(*m*/*z* 1 063.616 0[M+2H]<sup>2+</sup>)。 **Fig. 6** MS<sup>2</sup> spectra of impurities B, D and E A-impurity B(*m*/*z* 1 093.650 3[M+H]<sup>+</sup>); B-impurity D(*m*/*z* 1 051.590 1[M+H]<sup>+</sup>); C-impurity E(*m*/*z* 1 063.616 0[M+2H]<sup>2+</sup>).

·3286 · Chin J Mod Appl Pharm, 2023 December, Vol.40 No.23

中国现代应用药学 2023 年 12 月第 40 卷第 23 期

## 4 讨论

肽类化合物的稳定性较差,易降解产生杂质。 卡泊芬净原料药中可检出杂质 A、C、D 和 E, 在 强破坏条件下可产生新的杂质,如在强碱和高湿 条件下生成杂质 B。肽类化合物在 ESI 源中会产生 多电荷离子,因此,卡泊芬净及杂质A、B、C、E 均有双电荷准分子离子,且杂质 E 因相对分子质 量更大,其一级质谱中还显示有三电荷准分子离 子,二级质谱中也产生有双电荷碎片离子。卡泊 芬净及其5个杂质的二级质谱裂解行为基本相同: 均可以丢失乙二胺、水分子后形成碎片离子; 主 要通过肽键的断裂生成一系列碎片离子;氨基酸 残基可以丢失酰基和氨基生成碎片离子。但各化 合物具体结构上的差异使之具有特征二级质谱 图。杂质 B 是卡泊芬净的差向异构体,杂质 E 相 当于卡泊芬净的二聚体,二级质谱图中,卡泊芬 净和杂质 B、E 均通过丢失乙二胺或丢失部分结构 片段后再丢失乙二胺产生基峰碎片离子 m/z1033, 杂质 D 的结构中不含二乙胺基团, 其二级质谱中 响应最高的碎片离子也是 m/z 1033。杂质 A 和 C 的二级质谱图中基峰离子均为 m/z 86, 而且这 2 个化合物二级质谱中分别显示有高丰度的诊断离 子 m/z 137.070 8 和 m/z 77.071 1。

本研究可为卡泊芬净产品的质量检测提供技术支撑,当卡泊芬净生产过程中产生未知杂质时, 根据此研究结果可快速推测鉴定杂质的结构,及 早发现生产过程中的潜在问题,保障产品的质量。

#### REFERENCES

- YU H. Study on key impurities in quality control of caspofungin acetate[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2020.
- [2] HOANG A. Caspofungin acetate: An antifungal agent[J]. Am J Health Syst Pharm, 2001, 58(13): 1206-1214.
- [3] FU S J, ZHAO Y R. The preparation and quality control of caspofungin acetate for injection[J]. Chem Ind Times(化工时

刊), 2018, 32(8): 23-27, 34.

- [4] YU H, PAN X X, ZHANG B Y, et al. Study on impurity structure in preparation of caspofungin acetate[J]. Fine Chem Intermed(精细化工中间体), 2020, 50(5): 27-31.
- [5] GUO Y L, CHEN F Q. Determination of the related substances in caspofungin acetate for injection by HPLC[J]. China Pharm(中国药师), 2020, 23(5): 990-992.
- [6] DU M J, ZHOU C F, XU L H, et al. Discovery of a rare impurity in the preparation process of caspofungin acetate[J]. Anhui Chem Ind(安徽化工), 2019, 45(6): 61-63, 67.
- [7] BECCARIA M, CABOOTER D. Current developments in LC-MS for pharmaceutical analysis[J]. Analyst, 2020, 145(4): 1129-1157.
- [8] KEEVIL B G. LC-MS/MS analysis of steroids in the clinical laboratory[J]. Clin Biochem, 2016, 49(13/14): 989-997.
- [9] YANG F, DING G B, LIU M, et al. Determination of flurbiprofen in human plasma by HPLC-MS/MS and its bioequivalence[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药 学), 2023, 40(7): 938-944.
- [10] CHEN L L, CHEN C H, ZHANG X X, et al. Identification of constituents in Gui-Zhi-Jia-Ge-Gen-Tang by LC-IT-MS combined with LC-Q-TOF-MS and elucidation of their metabolic networks in rat plasma after oral administration[J]. Chin J Nat Med, 2019, 17(11): 803-821.
- [11] WANG S F, CHEN P H, JIANG W, et al. Identification of the effective constituents for anti-inflammatory activity of Ju-Zhi-Jiang-Tang, an ancient traditional Chinese medicine formula[J]. J Chromatogr A, 2014(1348): 105-124.
- [12] JIANG J, HU Z L, BOUCETTA H, et al. Identification of degradation products in flumazenil using LC-Q-TOF/MS and NMR: Degradation pathway elucidation[J]. J Pharm Biomed Anal, 2022(215): 114764.
- [13] LIU Y N, HU M T, QIAN J, et al. Characterization of the chemical constituents of Jie-Geng-Tang and the metabolites in the serums and lungs of mice after oral administration by LC-Q-TOF-MS[J]. Chin J Nat Med, 2021, 19(4): 284-294.
- [14] LIN Y G, LI X D, ZHANG X X, et al. Analysis of chemical constituents in Guizhi Mahuang Geban decoction by LC-Q-TOF-MS and LC-IT-MS[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中 国现代应用药学), 2023, 40(11): 1512-1519.

收稿日期: 2023-05-23 (本文责编:陈怡心)