超高效液相色谱-三重四极杆质谱法同时测定盐酸莫西沙星片中11种杂质的含量

高 琳，雷成康，杜亚俊，黄 萍，饶雅琨，杜 晖*
西安市食品药品检验所，西安 710119

摘要：目的 建立基于超高效液相色谱-三重四极杆质谱（ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry，UPLC-MS/MS）的检测方法，用于同步测定盐酸莫西沙星片中7-氨基莫西沙星喹啉羧酸等11种杂质的含量。**方法** 采用体积分数50%甲醇水溶液对片剂样品中的杂质进行提取，通过CAPCELL PAK C_{18}色谱柱（150 mm×2.0 mm，2.0 μm）完成组分分离；以体积分数0.1%甲酸水溶液-乙腈体系为流动相进行梯度洗脱，设定流速为0.3 mL·min^{-1}、进样量为1 μL。采用电喷雾电离（electrospray ionization，ESI）正离子扫描模式，结合多反应监测（multiple reactions monitoring，MRM）实现11种杂质的定性鉴别和定量检测。**结果** 11种杂质在各自对应的质量浓度范围内线性关系良好，相关系数r均＞0.999，各杂质检出限为0.34～1.70 μg·L^{-1}，定量限为1.01～5.09 μg·L^{-1}，方法平均加样回收率为90.5%～104.4%。**结论** 建立的UPLC-MS/MS检测方法准确度高、灵敏度优异，可满足盐酸莫西沙星片中11种杂质的精准定量分析需求，适用于该制剂的杂质质量控制。

关键词：盐酸莫西沙星片；超高效液相色谱-三重四极杆质谱法；杂质测定；质量控制
DOI:10.3969/j.issn.1004-2407.2026.05.008
CSTR:32412.14.2026.05.008
中图分类号：R927.1 **文献标志码：**A **文章编号：**1004-2407(2026)05-0054-09

Simultaneous determination of 11 impurities in Moxifloxacin Hydrochloride Tablets by ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry

GAO Lin, LEI Chengkang, DU Yajun, HUANG Ping, RAO Yakun, DU Hui*
Xi'an Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710119, China

Abstract: Objective To develop an ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for the simultaneous determination of 11 impurities, including 7-amino-moxifloxacin quinoline carboxylic acid in Moxifloxacin Hydrochloride Tablets. **Methods** Impurities were extracted from the tablet samples using 50% (v/v) methanol. Chromatographic separation was performed on a CAPCELL PAK C_{18} column (150 mm×2.0 mm, 2.0 μm) with gradient elution using a mobile phase composed of 0.1% formic acid in water and acetonitrile, at a flow rate of 0.3 mL·min^{-1} and an injection volume of 1 μL. Electrospray ionization (ESI) in positive-ion mode coupled with multiple reaction monitoring (MRM) was employed for the identification and quantification of the 11 impurities. **Results** The 11 impurities exhibited good linearity in their respective concentration ranges, with all correlation coefficients (r) greater than 0.999. The limits of detection ranged from 0.34 to 1.70 μg·L^{-1}, and the limits of quantification were in the range of 1.01 — 5.09 μg·L^{-1}. The average spiked recoveries of the method were between 90.5% and 104.4%. **Conclusion** The developed UPLC-MS/MS method is accurate and highly sensitive. It can meet the requirements for precise quantitative analysis of the 11 impurities in Moxifloxacin Hydrochloride Tablets, and is suitable for impurity quality control of this formulation.

Key words: Moxifloxacin Hydrochloride Tablets; ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry; impurity determination; quality control

盐酸莫西沙星是第四代氟喹诺酮类广谱合成抗菌药物，可通过抑制细菌Ⅱ、Ⅳ型拓扑异构酶的生物活性，阻断细菌脱氧核糖核酸（deoxyribonucleic acid，DNA）的复制与转录过程，从而发挥高效广谱的抗菌作用[1]。药品的质量稳定性与安全性直接决定临床用药疗效，是保障临床合理用药的核心前提。盐酸莫西沙星原料药及片剂制剂在工业化生产、仓储运输及临床储存过程中，受工艺条件、环境温湿度及光照等因素影响，易生成多种工艺杂质及降解杂质[2]。在药品质量评价体系中，有关物质检测是判定药物纯度、考察制剂稳定性、评估用药安全性的关键指

收稿日期：2025-11-01
基金项目：陕西省药品监督管理局“两品一械”探索性研究项目（编号：2025-12）；陕西省市场监督管理局科研项目（编号：2023KY17）
*通信作者：杜晖，主任药师。E-mail:duhui0504@126.com

标，也是药品质量控制领域的重点研究内容[3-6]。

高效液相色谱法（high performance liquid chromatography，HPLC）因其适用性广、分离性能优良、检测结果准确等优势，长期作为药物有关物质检测的主流技术，被广泛应用于各类制剂的质量分析研究[7-11]。近年来，色谱-质谱联用技术凭借其高灵敏度、高特异性的检测优势，在药物痕量杂质的定性与定量分析中表现出显著应用价值，其中超高效液相色谱-三重四级杆质谱联用技术（ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry，UPLC-MS/MS）[12]、液相色谱-傅里叶变换离子回旋共振质谱联用技术[13]及定量核磁共振波谱法（nuclear magnetic resonance，NMR）[14-15]已逐步应用于复杂基质中微量杂质的筛选与精准测定。

现阶段莫西沙星杂质的质量控制标准尚未完全统一，不同药典中收录的杂质种类存在差异。其中，《中华人民共和国药典》（以下简称《中国药典》）（2025年版）明确将莫西沙星杂质A～F作为盐酸莫西沙星原料药的主要工艺杂质[16]；《美国药典》（2025年版）则收录了7-氟-8-羟基莫西沙星喹啉羧酸、7-氟基莫西沙星喹啉羧酸和7-氟莫西沙星喹啉羧酸乙酯等片剂常见降解杂质[17]；喹啉羧酸螯合物作为莫西沙星螯合合成工艺的关键中间体，亦是制剂中潜在的特征杂质[18-19]。目前，各国药典及现有文献针对上述莫西沙星相关杂质的检测方法仍以传统的HPLC法为主[16-17,20]。

随着药品质量监管标准的不断提高，传统HPLC法在检测灵敏度、特异性及杂质结构鉴定方面的局限性逐渐显现，难以满足多组分、痕量杂质同步检测的需求。一方面，常规HPLC检测体系难以在单一色谱条件下实现莫西沙星多种结构相似杂质的基线分离，针对结构高度同源的杂质组分，需要更换特异性苯基色谱柱并严格控制柱温（50 ℃）以提升分离选择性[8]。对于部分特征降解杂质，需单独开发专属检测方法，或采用两套独立色谱系统分段检测，大幅增加了检测流程的复杂性与实验成本[21-22]。另一方面，HPLC法检测灵敏度有限，对遗传毒性等高活性痕量杂质的筛选能力不足，且仅依靠保留时间与紫外光谱特征定性，缺乏杂质结构确认的有效依据，检测特异性与可靠性存在短板[23]。此外，NMR技术虽具备优异的杂质结构解析能力，但检测灵敏度较低，仅适用于高纯度对照品的定性分析，无法实现复杂药物基质中多种微量杂质的同步定量检测。

UPLC-MS/MS技术兼具超高效液相色谱的高分离效能和质谱的高灵敏度、高特异性检测优势，为多组分痕量杂质的同步分析提供了可靠的技术支撑。目前，国内关于莫西沙星UPLC-MS/MS检测的相关研究多集中于亚硝胺类特定杂质的分析[12]，针对降解产物、工艺杂质及合成中间体等多类型共存杂质的系统性同步检测方法鲜有报道。基于此，本研究建立UPLC-MS/MS同步检测方法，覆盖盐酸莫西沙星片中工艺杂质、合成中间体及降解产物等11种特征杂质，优化简化多组分杂质检测流程，旨在为盐酸莫西沙星制剂的质量升级及仿制药的一致性评价工作提供参考。

1　仪器与试药

1.1　仪器

Xevo TQ-S型超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪（美国Waters公司）；Milli-Q Advantage型超纯水机（美国Merck Millipore公司）；BT25S型十万分之一分析天平、BT124S型万分之一分析天平，均购自德国Sartorius公司；TGL-17型高速冷冻离心机（四川蜀科仪器有限公司）。

1.2　试药

盐酸莫西沙星片样品共计10批次，涵盖7个不同生产企业，规格均为0.4 g·片$^{-1}$，样品来源于西安市药品监督抽检及正规渠道采购，其中Bayer公司生产的“拜复乐”为原研药，具体信息见表1。甲醇（色谱纯）、乙腈（色谱纯），均购自上海泰坦科技股份有限公司；甲酸（色谱纯）、乙酸（色谱纯），均购自美国Fluka公司；对照品信息见表2。

表1　样品信息

Tab. 1 The sample information

生产企业	商品名	批次数
Bayer Healthcare Manufacturing S. r. l.	拜复乐	1
江苏天一时制药有限公司	怡定	3
北京万生药业有限责任公司	万星宁	1
四川国为制药有限公司	适必达	1
广东东阳光药业有限公司	东阳光	1
南京圣和药业股份有限公司	圣得诺	1
石家庄四药有限公司	依新锐	2

2　方法

2.1　色谱、质谱条件

2.1.1　色谱条件　采用CAPCELL PAK C_{18}色谱柱（150 mm × 2.0 mm，2.0 μm）；以体积分数0.1%甲酸水溶液（A）-乙腈（B）为流动相，进行梯度洗脱，洗脱程序为：0～7 min，80% A；7～10 min，80% A→

60% A；10～15 min，60% A；15～15.5 min，60% A→80% A；15.5～18 min，80% A；流速为0.3 mL·min^{-1}；柱温为40 ℃；进样量为1 μL。

表2 对照品信息

Tab. 2 Information of standard substances

名称	CAS号	来源	批号	质量分数/%
盐酸莫西沙星	186826-86-8	中国食品药品检定研究院	510140-202304	97.5
莫西沙星杂质A	151282-23-4	思科(深圳)药物研发有限公司	25-02-1502	99.8
莫西沙星杂质B	2252446-68-5	思科(深圳)药物研发有限公司	23-06-2607	98.7
莫西沙星杂质C	1029364-75-7	思科(深圳)药物研发有限公司	24-12-2609	99.7
莫西沙星杂质D	1029364-77-9	思科(深圳)药物研发有限公司	24-09-2612	100.0
莫西沙星杂质E	721970-36-1	思科(深圳)药物研发有限公司	SK-23-12020	98.5
莫西沙星杂质F	721970-37-2	思科(深圳)药物研发有限公司	20-11-3002	99.0
喹啉羧酸螯合物	139693-52-0	思科(深圳)药物研发有限公司	SK-24-03013	99.3
7-氟基莫西沙星喹啉羧酸	112811-72-0	思科(深圳)药物研发有限公司	18-11-2857	99.4
7-氟莫西沙星喹啉羧酸乙酯	112811-71-9	思科(深圳)药物研发有限公司	24-01-1101	99.7
7-氟-8-羟基莫西沙星喹啉羧酸	154093-72-8	思科(深圳)药物研发有限公司	21-01-1809	98.0
7-氨基莫西沙星喹啉羧酸	172426-88-9	思科(深圳)药物研发有限公司	24-11-1507	98.8

2.1.2 质谱条件 采用电喷雾电离源(electrospray ionization，ESI)，正离子模式扫描，多反应监测(multiple reaction monitoring，MRM)采集模式；雾化气和脱溶剂气为高纯氮气(体积分数＞99.9%)，碰撞气为氩气；离子源温度为150 ℃；毛细管电压为2.0 kV；脱溶剂温度为500 ℃；脱溶剂气流速为1 000 L·h^{-1}。12种待测化合物的质谱采集参数见表3。

表3 12种化合物的质谱分析参数

Tab. 3 MS parameters for the 12 compounds

名称	母离子(m/z)	子离子(m/z)
盐酸莫西沙星	402.2	384.2,358.2*
莫西沙星杂质A	390.2	372.2,346.2*
莫西沙星杂质B	414.2	396.2,370.2*
莫西沙星杂质C	416.2	398.2,372.2*
莫西沙星杂质D	402.2	384.2,358.2*
莫西沙星杂质E	388.2	370.2,344.2*
莫西沙星杂质F	416.2	398.2,372.2*
喹啉羧酸螯合物	446.0	364.0,322.0*
7-氟基莫西沙星喹啉羧酸	296.0	278.0*,250.0
7-氟莫西沙星喹啉羧酸乙酯	324.1	278.1*,250.1
7-氟-8-羟基莫西沙星喹啉羧酸	282.0	264.0*,236.0
7-氨基莫西沙星喹啉羧酸	293.1	275.1*,260.1

注：*为定量离子。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液 随机取盐酸莫西沙星片剂20片，精密称定，计算平均片质量。将片剂研细并混匀，精密称取适量细粉(折合莫西沙星约50 mg)，置于100 mL量瓶中，加入适量体积分数50%甲醇溶液，振摇使其溶解，采用体积分数50%甲醇溶液定量稀释，配制得到每1 mL含莫西沙星0.5 mg的供试品溶液。将供试品溶液以6 000 r·min^{-1}离心10 min，取上清液，经0.22 μm微孔滤膜滤过，收集续滤液即得。同步按照各制剂处方配比制备辅料空白溶液，用于空白干扰考察。

2.2.2 混合对照品溶液 分别取各待测化合物对照品约10 mg，精密称定，分别置于10 mL量瓶中，加入体积分数50%甲醇溶液溶解并定容，配制得到质量浓度约为1 mg·mL^{-1}的对照品储备液，避光保存备用。检测前，精密量取各对照品储备液1 mL，置于同一100 mL量瓶中，用体积分数50%甲醇溶液定容至刻度，得混合对照品储备液。分别精密量取混合对照品储备液0.05、0.10、0.20、0.40、0.60、1.00 mL，

分别置于100 mL量瓶中，梯度稀释配制得质量浓度分别为5、10、20、40、60、100 μg·L^{-1}的系列混合对照品溶液。

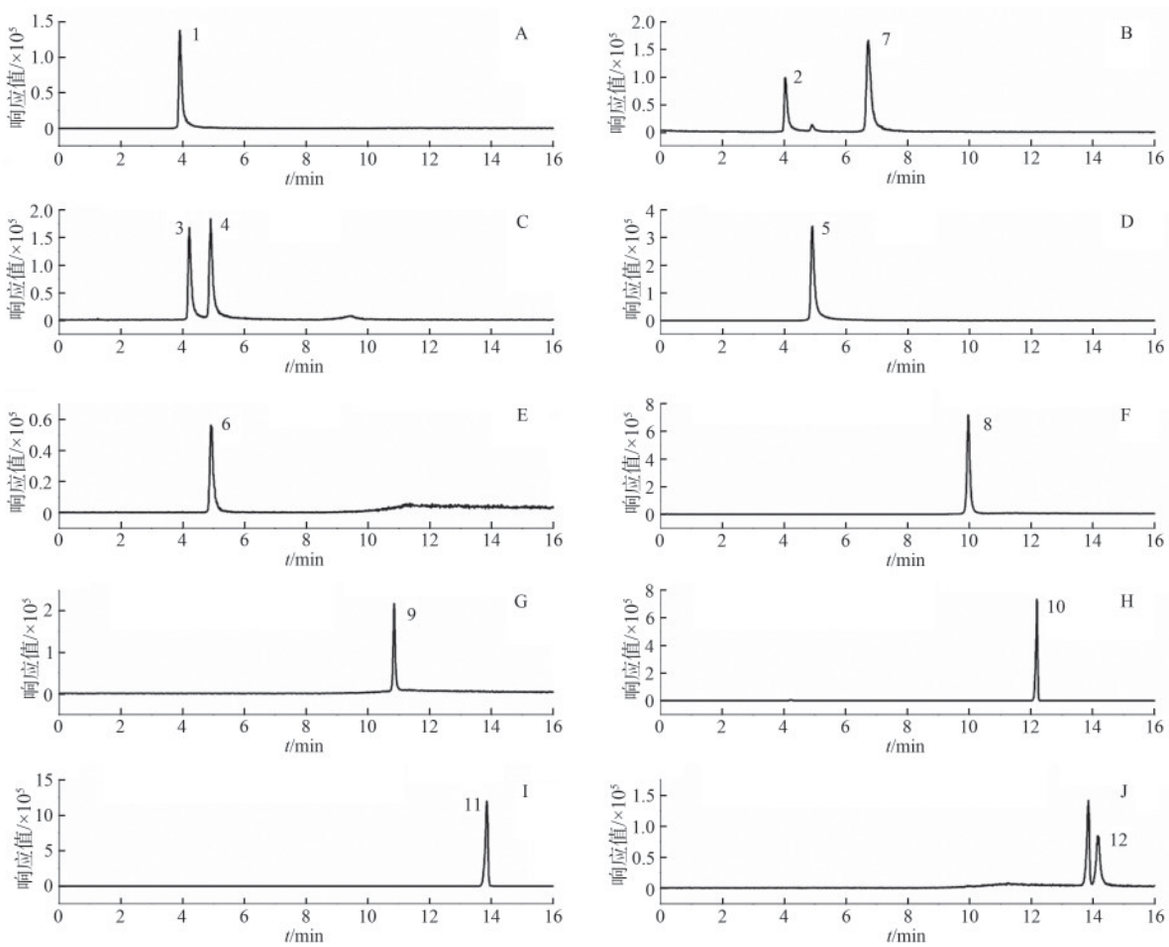
2.3　方法测定

按照2.1项下色谱条件与质谱条件，依次将2.2.2项下系列混合对照品溶液进样检测，采集各杂质定量离子对色谱峰面积，以峰面积为纵坐标、溶液质量浓度为横坐标绘制标准曲线，建立线性回归方程。取供试品溶液进样分析，记录各目标杂质的色谱峰面积，代入对应线性回归方程计算待测溶液中杂质的质量浓度，最终换算得到片剂样品中各杂质的含量。

3　结果

3.1　专属性实验

分别取2.2项下辅料空白溶液、100 μg·L^{-1}混合对照品溶液及供试品溶液，按照2.1项下色谱条件和质谱条件进样分析，采集MRM色谱图，通过比对保留时间、离子丰度比完成杂质定性鉴别。结果表明，片剂辅料基质对11种目标杂质的检测无干扰，各杂质色谱峰峰形对称、分离度良好、特异性良好。混合标准溶液中12种化合物均可实现有效分离，无峰重叠、无杂峰干扰，方法专属性良好。见图1。



注：A～J分别为390.2→346.2、416.2→372.2、402.2→358.2、414.2→370.2、388.2→344.2、293.1→275.1、282.0→264.0、446.0→322.0、324.1→278.1和296.0→278.0跃迁离子对色谱图；1. 莫西沙星杂质A；2. 莫西沙星杂质F；3. 盐酸莫西沙星；4. 莫西沙星杂质D；5. 莫西沙星杂质B；6. 莫西沙星杂质E；7. 莫西沙星杂质C；8. 7-氨基莫西沙星喹啉羧酸；9. 7-氟-8-羟基莫西沙星喹啉羧酸；10. 喹啉羧酸螯合物；11. 7-氟莫西沙星喹啉羧酸乙酯；12. 7-氟基莫西沙星喹啉羧酸。

图1　12种化合物的MRM图

Fig. 1 MRM chromatograms of the 12 compounds

3.2　精密度实验

取同一批次盐酸莫西沙星片样品，按照2.2.1项下方法平行制备6份供试品溶液，分别按照2.1项下色谱与质谱条件进样检测，采用外标法以峰面积计算11种杂质的含量。结果显示，6组平行样品中11种杂质含量的相对标准偏差（relative standard deviation，RSD）均小于2.12%，表明该方法的重复性良好。

为考察方法中间精密度，由2名实验人员在不同实验日期、采用不同仪器设备，分别按照2.2项下方

法制备供试品溶液与系列混合对照品溶液并进样测定，每人进行平行实验3组。结果显示，不同操作人员检测所得杂质结果的RSD值均小于3.53%，两人测定结果的相对平均偏差均小于4.87%，证实本方法的中间精密度优异，检测结果稳定可靠。

3.3 回归方程、线性范围、检出限和定量限

结果显示，11种待测杂质在各自对应的质量浓度梯度范围内线性关系良好，相关系数r均>0.999。以信噪比（signal/noise，S/N）=3为依据确定方法检出限（limit of detection，LOD），S/N=10为依据确定方法定量限（limit of quantification，LOQ），测得11种杂质LODs为0.34～1.70 μg·L^{-1}，LOQs为1.01～5.09 μg·L^{-1}。见表4。

3.4 方法耐用性

通过小幅微调实验参数考察方法耐用性，分别调整流动相（A）甲酸体积分数（0.09%、0.11%）、色谱柱柱温（39、41 ℃）和进样体积（0.9、1.1 μL），在调整后的条件下进样分析，上述实验参数的微小波动对11种杂质的峰形、保留时间及定量结果的影响均无统计学意义（P>0.05）。表明本检测方法对轻微实验条件波动的耐受度良好，耐用性满足药品检测分析要求。

3.5 加样回收率实验

取空白片剂辅料细粉适量，精密称定，置于100 mL量瓶中，分别加入高、中、低3个质量浓度水平的混合对照品溶液，每个质量浓度水平平行制备6份待测样品，按照2.2.1项下方法制备供试品溶液，并按照2.1项下色谱和质谱条件进样检测。记录各杂质定量离子对峰面积，代入对应线性方程计算杂质实测浓度，计算加样回收率和RSD。结果显示，11种待测杂质的平均加样回收率为90.5%～104.4%，各质量浓度水平下RSD均小于3.5%。见表5。

表4 11种杂质的回归方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限

Tab. 4 Regression equations, linear ranges, correlation coefficients, LODs and LOQs of the 11 impurities

名称	线性方程	线性范围/(μg·L^{-1})	r	LOD/(μg·L^{-1})	LOQ/(μg·L^{-1})
莫西沙星杂质A	y_1=793.7x_1+1 344.8	5.06～101.20	0.999 7	1.30	4.05
莫西沙星杂质B	y_2=734.4x_2+3 108.7	4.94～98.70	0.999 8	1.19	3.95
莫西沙星杂质C	y_3=785.8x_3+4 344.0	4.78～95.70	0.999 8	1.60	4.78
莫西沙星杂质D	y_4=1 304.7x_4+592.4	5.12～102.30	0.999 6	1.36	4.09
莫西沙星杂质E	y_5=1 296.2x_5−412.1	4.94～98.90	0.999 9	1.32	3.96
莫西沙星杂质F	y_6=991.7x_6+1 115.3	5.04～100.90	0.999 1	1.01	3.03
喹啉羧酸螯合物	y_7=2 963.7x_7−1 246.4	5.06～101.29	0.999 5	0.34	1.01
7-氟基莫西沙星喹啉羧酸	y_8=1 430.5x_8+640.2	5.09～101.80	0.999 7	1.70	5.09
7-氟莫西沙星喹啉羧酸乙酯	y_9=2 031.3x_9−717.1	4.86～97.30	0.999 4	1.30	3.89
7-氟-8-羟基莫西沙星喹啉羧酸	y_{10}=1 690.2x_{10}−119.9	5.18～103.70	0.999 9	1.56	5.18
7-氨基莫西沙星喹啉羧酸	y_{11}=2 473.4x_{11}−1 556.7	4.93～98.60	0.999 4	1.48	4.93

表5 11种杂质的加样回收率

Tab. 5 Spiked recoveries of the 11 impurities

名称	低质量浓度(10 μg·L^{-1})		中质量浓度(20 μg·L^{-1})		高质量浓度(50 μg·L^{-1})	
	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%
莫西沙星杂质A	93.1	2.5	94.1	2.9	99.0	1.7
莫西沙星杂质B	91.2	2.0	95.3	2.7	97.1	1.9
莫西沙星杂质C	91.8	2.2	105.2	3.4	97.8	2.0
莫西沙星杂质D	92.5	3.3	95.8	1.6	98.1	1.9
莫西沙星杂质E	95.2	2.5	93.3	1.9	96.5	1.6
莫西沙星杂质F	91.8	3.5	94.8	2.3	97.5	2.1
喹啉羧酸螯合物	90.5	2.7	104.4	2.1	95.8	2.3
7-氟基莫西沙星喹啉羧酸	92.4	2.1	100.2	2.0	96.1	0.8
7-氟莫西沙星喹啉羧酸乙酯	93.9	2.9	106.1	1.5	101.5	1.1
7-氟-8-羟基莫西沙星喹啉羧酸	93.0	3.2	95.2	1.4	104.1	1.9
7-氨基莫西沙星喹啉羧酸	94.1	3.5	95.0	2.8	97.2	2.3

3.6 样品测定

采用本研究建立的UPLC-MS/MS方法对10批次市售盐酸莫西沙星片样品进行检测，结果显示，部分批次样品可检出莫西沙星杂质C、杂质F、喹啉

羧酸螯合物和7-氟-8-羟基莫西沙星喹啉羧酸，其中杂质F在全部10批次样品中均有检出。相较于各国药典中收录的传统HPLC方法（LOD为0.05～0.50 μg·mL^{-1}）[16-17,20]，本方法的检出限更低，检测灵敏度显著提升。针对两种方法均能检出杂质F的6批次样品数据进行统计学t检验，结果显示2组数据比较差异无统计学意义（$F<F_{0.05,5,5}$，$t<t_{0.05,5}$）。见表6。

表6　样品测定结果

Tab. 6 Determination results of the samples

序号	名称	检出批次数	测定值/%	药典方法测定值/%
1	莫西沙星杂质A	0	—	—
2	莫西沙星杂质B	0	—	—
3	莫西沙星杂质C	2	0.002～0.003	—
4	莫西沙星杂质D	0	—	—
5	莫西沙星杂质E	0	—	—
6	莫西沙星杂质F	10	0.005～0.033	0.020～0.032
7	喹啉羧酸螯合物	1	0.001	—
8	7-氟基莫西沙星喹啉羧酸	0	—	—
9	7-氟莫西沙星喹啉羧酸乙酯	0	—	—
10	7-氟-8-羟基莫西沙星喹啉羧酸	2	0.002～0.003	—
11	7-氨基莫西沙星喹啉羧酸	0	—	—

注：“—”表示未检出。

4　讨论

4.1　莫西沙星杂质离子参数的优化

莫西沙星杂质A～F和喹啉羧酸类杂质均为喹啉羧酸衍生物，分子结构均含有喹啉环和环丙基特征基团，核心结构高度相似；两类杂质的主要差异在于莫西沙星系列杂质含有吡咯并吡啶基，且各杂质A_1、A_2、A_3位点的取代基团各不相同。见图2、表7。

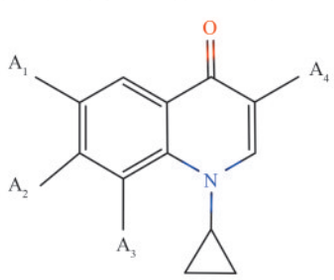


图2　莫西沙星杂质的结构式

Fig. 2 Structures of moxifloxacin impurities

结合杂质裂解规律分析可知，莫西沙星多数杂质的主要碎片离子由喹啉羧酸基团依次脱去1分子H_2O、1分子CO_2，或脱去1分子H_2O后进一步脱去CO形成，为该类杂质的特征裂解途径。

经全扫描质谱分析发现，喹啉羧酸螯合物的最优响应离子峰为钠离子加合离子[M＋Na]$^+$，以m/z 446.0 [M＋Na]$^+$作为母离子时，信号强度显著高于常规质子化离子[M＋H]$^+$。为排除实验偶然污染干扰，更换LC-MS8060型质谱仪（日本岛津公司）进行重复验证，结果仍可稳定检测到m/z为446.0的[M＋Na]$^+$特征峰。结合现有文献可知，喹啉羧酸螯合物合成过程中采用碱性水溶液调节体系pH，后续经酸中和处理后易残留微量Na$^+$，可与螯合物分子形成结构稳定的[M＋Na]$^+$加合离子[18-19]。同时，该分子结构中含有多个含氧官能团，氧原子可提供孤对电子，与钠离子空轨道形成配位键，进一步提升加合离子的稳定性。

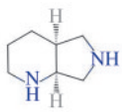
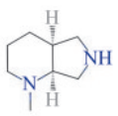
对喹啉羧酸螯合物的子离子裂解规律进一步分析可知，m/z 364.0、m/z 322.0为其特征碎片离子，主要由分子结构中的硼螯合基团逐步脱去1分子乙酰氧基（—CH_3CO_2）、1分子乙酰基（—CH_3CO）产生。因此本研究最终选定m/z 446.0/364.0，m/z 446.0/322.0作为喹啉羧酸螯合物MRM定量与定性离子参数，以保障该杂质检测的灵敏度与特异性。见图3。

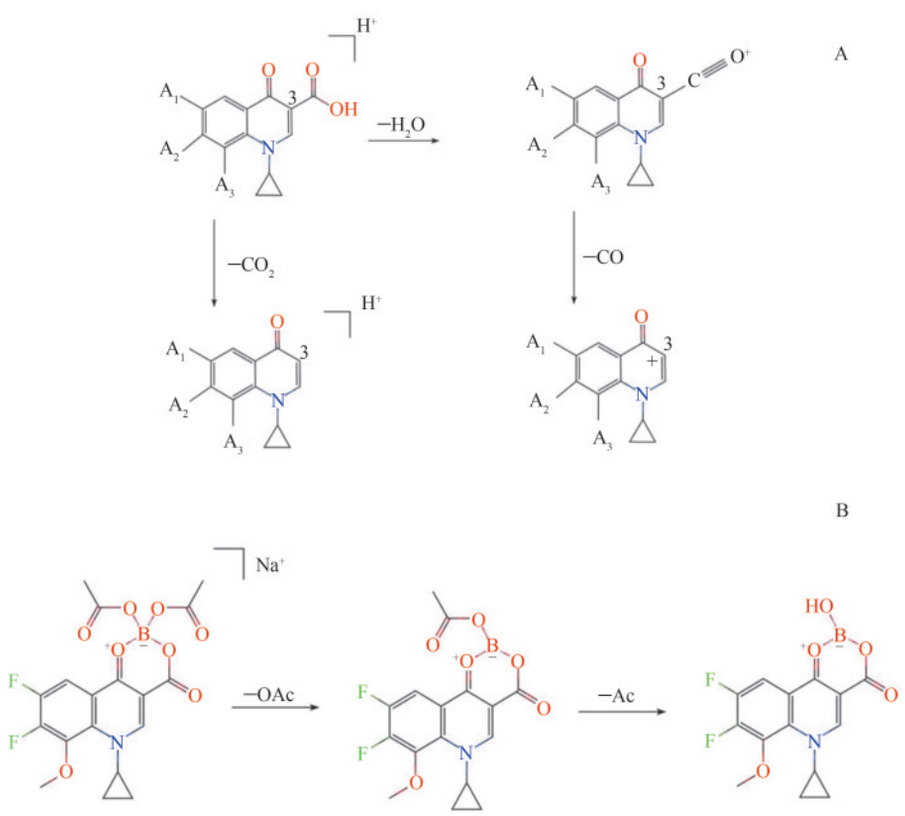
4.2　色谱柱的选择

本研究对比考察了3种不同型号、规格的色谱柱对12种待测化合物的分离效果，以筛选最优分离色谱柱。采用岛津Shim-pack Sceptor苯基柱（100 mm×2.1 mm，1.9 μm）时，该色谱柱对喹啉羧酸类杂质具有一定的选择性，但温度敏感性极强，柱温维持在40 ℃时，所有待测化合物的保留时间均明显缩短，杂质分离选择性大幅降低，无法满足多组分同步分离的需求。采用沃特世ACQUITY BEH C_{18}色谱柱（50 mm×2.1 mm，1.7 μm）时，受限于色谱柱柱长不足，对于母离子、子离子完全一致的两组同分异构体（莫西沙星和杂质D、杂质C和杂质F），无法实现基线分离，存在峰重叠问题。

表7 莫西沙星及其杂质结构的差别

Tab. 7 Configuration differences of moxifloxacin and its impurities

名称	A_1	A_2	A_3	A_4
莫西沙星	F		O—CH_3	COOH
莫西沙星杂质A	F		F	COOH
莫西沙星杂质B	O—CH_3		O—CH_3	COOH
莫西沙星杂质C	F		O—C_2H_5	COOH
莫西沙星杂质D	O—CH_3		F	COOH
莫西沙星杂质E	F		OH	COOH
莫西沙星杂质F	F		O—CH_3	COOH
喹啉羧酸螯合物	F	F	O—CH_3	COOB—O,O—$(COCH_3)_2$
7-氟基莫西沙星喹啉羧酸	F	F	O—CH_3	COOH
7-氟莫西沙星喹啉羧酸乙酯	F	F	O—CH_3	$COOC_2H_5$
7-氟-8-羟基莫西沙星喹啉羧酸	F	F	OH	COOH
7-氨基莫西沙星喹啉羧酸	F	NH_2	O—CH_3	COOH



注:A. 莫西沙星杂质裂解途径图;B. 喹啉羧酸螯合物裂解途径图。

图3 主要杂质的简要裂解途径

Fig. 3 Brief fragmentation pathways of the major impurities

经系统实验验证,资生堂CAPCELL PAK C_{18}色谱柱(150 mm×2.0 mm,2.0 μm)可有效解决上述问题。该色谱柱柱长充足、填料粒径适中,在预设实验条件下,可实现12种待测化合物的完全分离,所有杂质色谱峰的峰形对称、无拖尾,同分异构体分离度满足定量分析要求,完全适配本研究多类型、结构相似杂质的同步检测需求,因此最终选用该色谱柱作为分离色谱柱。

4.3 流动相的选择

为优化待测杂质的保留行为、峰形和离子化强

度，本研究系统比较了4种常用流动相体系：体积分数0.1%甲酸-乙腈、体积分数0.1%甲酸-甲醇、体积分数0.1%乙酸-乙腈、体积分数0.1%乙酸-甲醇。结果显示，当流动相为甲醇时，7-氟基莫西沙星喹啉羧酸等喹啉羧酸类杂质在30 min内无法被有效洗脱，洗脱能力与分离选择性显著弱于乙腈体系；同时，甲醇-水体系在本研究所用色谱柱条件下，系统压力超过10 000 psi，超出仪器耐受范围，实验稳定性较差。在有机相统一为乙腈的前提下，对比甲酸与乙酸缓冲体系的检测效果，在ESI正离子扫描模式下，0.1%甲酸水溶液体系可显著提升各待测杂质的离子化强度，检测灵敏度更高，杂质峰的峰形更尖锐、更对称，无拖尾、杂峰干扰，优于乙酸体系。因此，本研究最终确定体积分数0.1%甲酸水溶液-乙腈为最优流动相体系。

本研究中莫西沙星和杂质D、杂质C和杂质F为两组同分异构体，二者的母离子与子离子完全相同，仅可依靠色谱保留行为实现分离。实验发现，水相比例维持在80%左右时，两组同分异构体能够实现良好基线分离。而7-氟基莫西沙星喹啉羧酸和7-氟莫西沙星喹啉羧酸乙酯因A_4位取代基不同，存在子离子重叠干扰问题，分离难度较高。针对此问题，本研究对流动相梯度程序进行优化：乙腈比例低于35%时，二者分离度超过2.0，但保留时间超过30 min，分析周期过长且峰拖尾严重；乙腈比例高于45%时，峰形良好但分离度降至1.2，无法满足检测要求。最终确定在10 min时将乙腈比例调整为40%，可有效兼顾峰形、分离度与检测效率，在15 min内完成所有杂质的精准分离和检测。

5　结论

本研究成功建立了UPLC-MS/MS方法，可同步、精准测定盐酸莫西沙星片中7-氨基莫西沙星喹啉羧酸等11种工艺、中间体及降解杂质的含量。方法采用常规C_{18}色谱柱，整合了《中国药典》和《美国药典》中分散的莫西沙星杂质检测项目，新增了合成中间体喹啉羧酸螯合物的定量分析，突破了传统HPLC法需多套色谱体系、分步检测的技术局限，简化了检测流程，可在15 min内完成全部待测组分的分离与测定，检测效率显著提升。

经方法学验证，本方法的线性关系良好、灵敏度优异、准确度与精密度可靠、耐用性及专属性良好，相较于以往的检测方法，检出限更低、抗基质干扰能力更强，且检测结果与药典中方法的一致性良好。该方法解决了现有技术难以同步筛查莫西沙星多类型痕量杂质的问题，有效弥补了现有检测体系的短板，可为盐酸莫西沙星制剂的质量升级、日常质量管控及仿制药一致性评价提供科学、可靠的技术支撑，具备良好的实际应用价值与推广前景。

参考文献：

[1] 张英，赵志刚，张杰.莫西沙星——一种新的氟喹诺酮类药物[J].中国临床药理学杂志，2002，18(5)：396-400.
Zhang Ying, Zhao Zhigang, Zhang Jie. Moxifioxacinó a new fluoroguinolone drug[J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2002, 18(5): 396-400.

[2] 王堃，邹龙，刘根炎，等.莫西沙星及其杂质的合成研究进展[J].化学通报，2018，81(5)：414-424.
Wang Kun, Zou Long, Liu Genyan, et al. Recent development in syntheses of moxifloxacin and its impurities[J]. Chemistry, 2018, 81(5): 414-424.

[3] 胡昌勤.化学药品杂质控制的现状与展望[J].中国科学：化学，2010，40(6)：679-687.
Hu Changqin. Current situation and the trend in impurity control of chemical drugs[J]. Scientia Sinica Chimica, 2010, 40(6): 679-687.

[4] 韦日伟，王昆，吴先富，等.药物中有关物质检测方法的研究进展及应用[J].中国药师，2015(5)：851-855.
Wei Riwei, Wang Kun, Wu Xianfu, et al. Research advance and application of detection methods for related substances in drugs[J]. China Pharmacist, 2015(5): 851-855.

[5] 杨振伟.高效液相色谱法测定伊曲茶碱原料药中的有关物质[J].西北药学杂志，2025，40(3)：114-119.
Yang Zhenwei. Determination of related substances in istradefylline active pharmaceutical ingredients by high-performance liquid chromatography[J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2025, 40(3): 114-119.

[6] 陈聪，刘玉虎，王磊.HPLC法测定度米芬原料的有关物质[J].西北药学杂志，2023，38(3)：39-43.
Chen Cong, Liu Yuhu, Wang Lei. Determination of related substances in domiphen bromide raw material by HPLC[J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2023, 38(3): 39-43.

[7] 王夕静，常春，温秀红，等.HPLC法测定盐酸莫西沙星的有关物质[J].药物分析杂志，2020，40(11)：2048-2055.
Wang Xijing, Chang Chun, Wen Xiuhong, et al. Related substances analysis for moxifloxacin hydrochloride by HPLC[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2020, 40(11): 2048-2055.

[8] 李彧，车宝泉，李珉，等.HPLC法测定盐酸莫西沙星有关物质[J].中国抗生素杂志，2023，48(3)：300-307.
Li Yu, Che Baoquan, Li Min, et al. Determination of related substances in moxifloxaxin hydrochloride by HPLC[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2023, 48(3): 300-307.

[9] 王立新，田冶，王晨，等.盐酸莫西沙星片剂有关物质超

高效液相色谱法的建立[J].中国药物评价,2022,39(3):194-198.
Wang Lixin, Tian Ye, Wang Chen, et al. Establishment of UPLC method for determination of the related substances in Moxifloxacin Hydrochloride Tablets[J]. Chinese Journal of Drug Evaluation,2022,39(3):194-198.

[10] 徐颖,吴琼珠,柯学.HPLC法测定盐酸莫西沙星含量及其有关物质[J].中国药科大学学报,2012,43(1):46-50.
Xu Ying, Wu Qiongzhu, Ke Xue. Determination of moxifloxacin hydrochloride and its related substances by HPLC[J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2012,43(1):46-50.

[11] 周小华,陈瑶,赵恂,等.盐酸莫西沙星注射液的质量分析[J].中国抗生素杂志,2021,46(3):225-231.
Zhou Xiaohua, Chen Yao, Zhao Xun, et al. Quality analysis of Moxifloxacin Hydrochloride Injection[J]. Chinese Journal of Antibiotics,2021,46(3):225-231.

[12] 曹颖,朱飞,霍立茹.LC-MS/MS法测定盐酸莫西沙星中酰氯类遗传毒性杂质[J].药学与临床研究,2021,29(6):435-437,443.
Cao Ying, Zhu Fei, Huo Liru.Determination of acyl chloride genotoxic impurities in moxifloxacin hydrochloride by LC-MS/MS[J]. Pharmaceutical and Clinical Research, 2021, 29(6):435-437,443.

[13] Wu C S, Jia Z X, Ning B M, et al. Separation and identification of moxifloxacin impurities in drug substance by high-performance liquid chromatography coupled with ultraviolet detection and Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry[J].Chin Chem Lett, 2012, 23(10):1185-1188.

[14] 何雨,张雅军,谢晶鑫,等.定量核磁共振氢谱法测定4种盐酸莫西沙星杂质对照品的含量[J].中国药学杂志,2024,59(12):1151-1155.
He Yu, Zhang Yajun, Xie Jingxin, et al. Determination of reference standards of four moxifloxacin hydrochloride impurities by quantitative proton nuclear magnetic resonance[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2024, 59(12):1151-1155.

[15] 冯玉飞,吴先富,肖新月.1H定量核磁共振波谱法测定盐酸莫西沙星及其杂质7-氨基莫西沙星喹啉羧酸的含量[J].中国新药杂志,2021,30(4):357-361.
Feng Yufei, Wu Xianfu, Xiao Xinyue. Determination of moxifloxacin hydrochloride and it's impurity 7-amino-1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-8-methoxy-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid by ^{1}H qNMR[J].Chinese Journal of New Drugs,2021,30(4):357-361.

[16] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2025年版:二部[S].北京:中国医药科技出版社,2025:1316-1319.

[17] United States Pharmacopeial Convention. United States Pharmacopeia and National Formulary: NF2025[S]. Rockville,MD:United States Pharmacopeial Convention, 2025.

[18] 陶惠华,盛伟翔,李昌芳,等.莫西沙星有关物质的合成及其结构确证[J].精细化工中间体,2020,50(4):41-44.
Tao Huihua, Sheng Weixiang, Li Changfang, et al. Synthesis and identification of related substances of moxifloxacin[J]. Fine Chemical Intermediates, 2020, 50(4):41-44.

[19] 李延凯,郑颖,谢燕萍,等.盐酸莫西沙星的合成工艺优化与结构表征[J].中国药学杂志,2025,60(6):559-568.
Li Yankai, Zheng Ying, Xie Yanping, et al. Optimization of synthesis process and structural characterization of moxifloxacin hydrochloride[J]. Chinese Pharmaceutical Journal,2025,60(6):559-568.

[20] European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). European Pharmacopoeia: Ph. Eur. 11.0[M]. Strasbourg, France: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare,2022.

[21] 王鹏,于黎鑫,刘玉玉.HPLC法测定盐酸莫西沙星氯化钠注射液中脱羧莫西沙星的含量[J].机电信息,2018(23):34-38.
Wang Peng, Yu Lixin, Liu Yuyu. Determination of decarboxylation moxifloxacin in Moxifloxacin Hydrochlorideand Sodium Chloride Injection by HPLC[J]. Mechanical and Electrical Information,2018(23):34-38.

[23] 崇小萌,田冶,王立新,等.盐酸莫西沙星原料及片剂有关物质及稳定性分析[J].中国新药杂志,2022,31(15):1531-1541.
Chong Xiaomeng, Tian Ye, Wang Lixin, et al. Analysis of related substances and stability of moxifloxacin hydrochloride tablets[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2022, 31(15): 1531-1541.