

· 综述 ·

## 药物杂质研究现状概述

李娜, 姜子洋 (第二军医大学药学院, 上海 200433)

**[摘要]** 药品是一种特殊商品, 与人们的健康和生命安全息息相关, 药物杂质是影响药物稳定性和疗效的物质, 与药品质量、安全性及效能密切相关。随着杂质控制在药物开发研究中越来越受到重视, 研究者开始将注意力转移到痕量杂质的分析上。笔者总结近 10 年来国内外杂质研究的相关进展, 内容涉及药物杂质研究的相关指导原则、杂质定性研究的相关技术以及杂质定量研究等的一般方法。

**[关键词]** 杂质; 指导原则; 研究技术; 综述

**[中图分类号]** R927 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2014)03-0181-05

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2014.03.005

## Overview of the research on drug impurity

LI Na, LOU Ziyang (School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** As special commodities, drugs had closely relationships with human beings' health and life safety. Impurity, which would influence the stability and efficacy of drugs, was closely related to the quality, safety and efficacy of drugs. With more and more attendance had been attached to the impurity's control in the development of drugs, researchers turned their attentions to the analysis of trace impurity. In this paper, related progresses in recent 10 years were summarized, including guiding principles in impurity research, technologies in qualitative research and general approaches in quantitative research.

**[Key words]** impurity; guiding principles; research technologies; review

药品作为特殊商品, 保证其安全、有效、质量可控是药品研发和评价应遵循的基本原则。杂质的研究贯穿于整个药品研究的始终。药品中的杂质是否能被全面准确地加以控制, 直接关系到药品的质量可控性与安全性, 杂质研究及控制是药品质量保证的关键要素之一。SFDA 将药物杂质定义为任何影

响药物纯度的物质<sup>[1]</sup>。杂质按其理化性质一般分为: 有机杂质、无机杂质及残留溶剂。

FDA 对杂质的控制十分严格, 不仅在上市前严格把关, 上市后仍然密切跟踪。表 1 列出了几种因为杂质原因被 FDA 召回的药物<sup>[2]</sup>, 其中包括第三类药物, 即不会对人体健康产生副作用的药物。

表 1 FDA 召回的一些药物 (2011.9 - 2012.3)

产品	数量	召回原因	等级
腺苷脱氨酶注射液	155 363 瓶	18 个月稳定性分析时总杂质超出标准	Ⅲ
溴莫尼定滴眼液	18 137 瓶	9 个月的样品杂质检测不符合标准	Ⅲ
环吡酮凝胶	24 664 管	9 个月样品中杂质检验时 2 批样品不符合标准	Ⅲ
盐酸羟嗪口服液	30 740 瓶	室温放置 12 个月杂质检测不符合标准	Ⅲ
来氟米特片	32 325 瓶	抽查样品时一批样品杂质不符合标准	Ⅱ
硫酸阿托品注射液	37 100 管	药品 8 个月稳定性实验中总杂质含量高于标准	Ⅱ
盐酸罗匹尼罗片	1 103 813 瓶	贮存过程中一个已知杂质不符合标准	Ⅲ
托吡酯	82 653 片	杂质含量高于标准	Ⅱ

### 1 药物杂质的指导原则

最初人们出于对药物安全性的考虑从而开始关

注杂质的研究, 有关案例表明某些杂质会对人体产生副作用。例如, 四环素的降解产物会引起 Fanconi's 综合征, 最终导致肾衰竭; 在肝素中出现含硫磺过多的硫磺软骨素引起过敏反应, 导致 100 多人死亡<sup>[3]</sup>。另外, 一些杂质和降解产物还会产生遗传毒性, 这些成分可以引起基因突变、染色体断裂、染色体重排或

[作者简介] 李娜, 女, 硕士研究生. Tel: 13167137980, E-mail: nana\_li1989@yeah.net.

[通讯作者] 姜子洋. Tel: (021)81871335, E-mail: louziyang@126.com.

其他毒性作用<sup>[4]</sup>,甚至导致癌变。目前,很多监管机构都对杂质给予了密切的关注(表2)。

表2 国际上常见的指导原则

机构	指导原则
人用药物注册技术要求国际协调会(ICH)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Q3A(R2): Impurities in New Drug Substances</li> <li>• Q3B(R2): Impurities in New Drug Products</li> <li>• Q3C(R5): Impurities: Guideline for Residual Solvents</li> <li>• M7: Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk (final concept paper)</li> </ul>
欧洲药物管理局(EMA)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• EMEA/CHMP/CVMP/QWP/450653/2006: Assessment of Quality of Medicinal Products Containing Existing/ Known Active Substances</li> <li>• CPMP/QWP/1529/04: Control of Impurities of Pharmacopoeial Substances</li> <li>• CPMP/SWP/5199/02 and EMEA/CHMP/QWP/251344/2006: Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities</li> <li>• CPMP/SWP/QWP/4446/00 corr.: Guidelines on Specification Limits for Residues of Metal Catalysts</li> <li>• EMA/CHMP/CVMP/QWP/199250/2009: Guideline on Setting Specifications for Related Impurities in Antibiotics (draft)</li> </ul>
美国食品药品监督管理局(FDA)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• NDAs: Impurities in Drug Substances</li> <li>• Genotoxic and Carcinogenic Impurities in Drug Substances and Products; Recommended Approaches (draft)</li> </ul>
澳大利亚药物管理局(TGA)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ANDAs: Impurities in Drug Products</li> <li>• Impurities in Existing Drug Substances and Products (draft)</li> </ul>
加拿大治疗产品委员会(TPD)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Australian Regulatory Guidelines for Prescription Medicines; Appendix 18: Impurities in Active Pharmaceutical Ingredients and Finished Products</li> </ul>

在原料药研究中,大多数研究者都遵循人用药物注册技术要求国际协调会(ICH)颁布的《新原料药的杂质研究指导原则》中的要求,该指导原则规定:在原料药质量标准中任意一个单个非特定杂质的限度不得超过鉴定限度(表3)<sup>[2]</sup>。而对于制剂而言,由于原料药的质量标准已对各杂质进行了控制,在制剂的质量标准中仅控制降解产物,故在《新制剂的杂质研究指导原则》中规定:在制剂质量标准中任意一个单个非特定降解产物的限度不得过鉴定限度(表4)<sup>[5]</sup>。

表3 原料药的杂质限度

最大日剂量	报告限度	鉴定限度	质控限度
≤2g	0.05%	0.10%或1.0 mg <sup>1)</sup>	0.15%或1.0 mg <sup>1)</sup>
>2g	0.03%	0.05%	0.05%

注: <sup>1)</sup>表示取最小值

表4 制剂的杂质限度

最大日剂量	报告限度	鉴定限度	质控限度
≤1g	0.10%	—	—
>1g	0.05%	—	—
<1mg	—	1%或5 μg <sup>1)</sup>	—
1~10mg	—	0.5%或20 μg <sup>1)</sup>	—
10mg~2g	—	0.2%或2 mg <sup>1)</sup>	—
>2g	—	0.10% <sup>1)</sup>	—
<10mg	—	—	1.0%或50 μg <sup>1)</sup>
10~100mg	—	—	0.5%或200 μg <sup>1)</sup>
100mg~2g	—	—	0.2%或3 mg <sup>1)</sup>
>2g	—	—	0.15%

注: <sup>1)</sup>表示取最小值

从以上的指导原则也可以看出,国际上对非特定杂质的限度有着严格的要求。《中国药典》对杂质含量标准也做了明确的规定,“在药物临床使用前必须确证药物中含量在0.1%及其以上的杂质和表观含量在0.1%以下但具强生物作用的杂质或毒性物质的结构,在稳定性试验中生成的降解产物,也要求进行定性和定量研究”<sup>[6]</sup>。SFDA于2005年颁布了首部杂质研究指导原则《化学药物杂质研究的技术指导原则》,这对中国药物研发中的杂质研究起到了一定的控制作用。

## 2 杂质的定性研究

2.1 传统杂质鉴定技术 因为杂质的含量少,故检测方法至关重要,必须选择专属性强、灵敏度高、重复性好的方法。常用杂质分离检测技术包括高效液相色谱(HPLC)、气相色谱(GC)、毛细管色谱(CE)、毛细管电色谱(CEC),亲水作用液相色谱(HILIC)、超高效液相色谱(UHPLC)等,常用检测器有紫外检测器(UV)、荧光检测器(FLD)、蒸发光散射检测器(ELSD)、电喷雾检测器(CAD)等<sup>[7,8]</sup>。另外,还可以利用不同技术联合进行分离,如HPLC与CE联用<sup>[9]</sup>,HILIC与LC联用<sup>[10]</sup>,反相液相色谱(RPLC)与超临界流体色谱(SFC)联用<sup>[11]</sup>等,这些方法充分利用了各自不同的选择性,确保对杂质进行有效的分离。红外、紫外、核磁、

质谱等4大光谱是检测杂质结构的有力保证。

过去很长一段时间内,人们一直沿用上述手段进行研究,但是仍然具有其局限性。例如,当一个样品中含有多个杂质时就要考虑怎样完全分离的问题,但是当杂质的含量很少,并且浓缩过程不理想的时候,整个过程就变得困难了。遇到这种问题,通常的解决方法是依靠制备色谱柱多次循环进行制备,但是在这个过程中同时存在着杂质不稳定,或存在进行二次反应的问题等。随着质谱等仪器的应用,人们开始将串联质谱技术作为对痕量杂质进行鉴别和鉴定的首要选择,例如 GC-MS, LC-MS, CE-MS, LC-NMR/MS 等,尤其是 LC-MS 的应用最为广泛。

## 2.2 常用的现代联用技术

### 2.2.1 GC-MS

GC-MS 是最先被使用的联用技术,对有机挥发性杂质和残留溶剂的测定是不可或缺的工具,但大多数有机杂质的某些性质预先无法得知,例如挥发性和热稳定性。所以用 GC-MS 来测定药品中的杂质的报道较少。

在这些为数不多的报道中,GC-MS 曾被用来鉴定非法销售的含有苯丙胺衍生物的摇头丸中的杂质<sup>[12,13]</sup>。任丽萍等<sup>[14]</sup>利用 GC-MS 技术对丁草胺原药中的主要杂质进行定性分析,共鉴定出 11 种主要组分,其中 10 种为杂质。根据质谱数据推断出 11 种组分的结构式,并利用丁草胺标样的质谱数据对丁草胺有效成分进行了确认。Chen 等<sup>[15]</sup>用 GC-MS 和超声分子束技术结合来鉴定伯氨喹及其片剂中的喹西特。这种技术可以提供明显的分子离子峰,还可以提供药物和同位素污染物的不同裂解行为。

GC-MS 也同其他技术结合来鉴定药物杂质。Laniewsk 等用 GC-MS、GC-AED(原子发射检测器)和 GC-FT-IR 来鉴定叔丁基-2-F-3-羟丙基-氨基甲酸盐中的未知杂质,其中 GC-MS 提供未知物的分子量和碎片离子信息<sup>[16]</sup>。该作者又采用 GC-MS、GC-AED 和 NMR 鉴定 1,3-二氯-5-(二氟甲氧基)苯中的 4 个副产物。其中 1 个是利用 GC-MS 数据库鉴定出来的,2 个是结合 GC-MS 和 GC-AED 鉴定出来的,第 4 个是 GC-MS、GC-AED 和 NMR 互相补充鉴定出来的<sup>[17]</sup>。

GC-MS 由于仪器的局限性,其应用逐渐减少。目前 LC-MS 和 CE-MS 这两类检测技术都有较大的发展,在杂质鉴定方面应用十分广泛。

### 2.2.2 LC-MS

LC-MS 一系列的仪器在杂质鉴定方面是最常用的,虽然问世时间不如 GC-MS 早,但发展却十分迅速。LC-MS 总体来说主要分为三类,分别为高分辨率质谱(HRMS),多级质谱(MS<sup>n</sup>),

氢/氘转换质谱(HDE-MS)。

对于 HRMS,以飞行时间质谱(TOF)为例,可以提供精确到小数点后 4~6 位的相对分子质量( $M_r$ ),使得仪器分辨率和相对分子质量的精确度得到飞速发展,反过来帮助得到准确的元素组成。例如,CH<sub>2</sub> 和 N 的  $M_r$  都是 14 000,利用此类仪器可以根据其精确相对分子质量轻松地区别出来, $M_r$  分别是 14.015 7 和 14.003 1。由于高分辨质谱的精确性,使得其在化合物结构鉴定方面有着较多的应用<sup>[18-21]</sup>。

MS<sup>n</sup> 可以提供丰富的碎片离子信息以及裂解信息,利用得到的数据可以推测出药物及其杂质的裂解模式,进而结合已有的知识鉴定出未知化合物的结构。Wang 等<sup>[22]</sup>用 RPLC-Q-IT/MS 分析药物乙酰螺旋霉素(ASPM),共鉴定出 83 种化合物,其中 31 种杂质是之前文献未报道过的,该药物大多数杂质是原料或合成过程中产生的杂质。MS<sup>n</sup> 还可以区分具有相同精确相对分子质量的离子。Mehta 等<sup>[23]</sup>利用该类仪器得到了坎地沙坦西酯中  $m/z$  441.167 0, 423.156 4, 395.150 3 和 380.139 4 的两种不同结构的裂解途径。该类仪器中,离子阱比 LC-MS/MS 更有优势,因为 LC-MS/MS 只能提供二级数据。

第三类仪器,也就是 HDE-MS,是一种研究蛋白质空间构象的质谱技术,可以提供结构中活泼氢的数量,这样就获得了一些官能团的信息,如-OH、-NH<sub>2</sub> 或-NH、-SH、-COOH。近年来,在杂质鉴别方面逐渐得到应用。此外,HDE 还可以在具有相同元素组成、相同裂解模式化合物的多种结构中选择最可能的结构。David 等<sup>[24]</sup>阐述了 LC-MS HDE 对药物制备过程中的杂质进行鉴别的步骤。Shah 等<sup>[25]</sup>联合 LC-MS/TOF、MS<sup>n</sup>、在线 HDE 和 LC-NMR 对厄贝沙坦中的降解产物进行了结构鉴定,通过 MS/TOF、MS<sup>n</sup> 和 HDE 给出裂解途径,对目标化合物的结构进行推测,利用<sup>1</sup>H NMR, 2D-COSY 和 LC-NMR 对结构进行确证,最终鉴定出 3 个降解产物。

除了以上方法之外,放射性核素(同位素)和氮规则也可以辅助进行结构鉴定。例如,含有卤素的化合物具有唯一的同位素峰,尤其是氯和溴。<sup>37</sup>Cl 和<sup>35</sup>Cl 在自然界的相对丰度分别是 24.24% 和 75.77%,而溴的同位素<sup>79</sup>Br 和<sup>81</sup>Br 的相对丰度分别为 50.69% 和 49.31%。同样的,硫元素也可以通过同位素峰来证明其存在,<sup>32</sup>S、<sup>33</sup>S、<sup>34</sup>S 的相对丰度分别是 95.03%、0.75%、4.22%。将精确相对分子质量和同位素峰结合起来在高分辨仪器(TOF, FT-ICR)中可以得到未知化合物的元素组成<sup>[26]</sup>。

### 2.2.3 CE-MS

近些年 CE 和 CEC 分离杂质也是

比较常用的技术。CEC是一种混合技术,包含了CE的高效性,以及LC中流动相和固定相的选择性。目前,在鉴别杂质方面CE和CEC与质谱串联也获得了巨大的进步。

CE的离子化技术主要包括电喷雾离子化(ESI),大气压化学离子化(APCI),大气压光离子化(APPI)和热喷雾离子化(TSI)。ESI和TSI适用于分析溶液中带电荷的化合物。APCI和APPI的灵敏度较低,但是低、高极性的化合物都可以被其电离。分析带电化合物时,4种离子源的灵敏度顺序分别为 $ESI \geq TSI > APCI \approx APPI$ 。4种离子源得到的碎片离子的信息也有不同之处:ESI、TSI和APCI只能产生带偶数电荷的离子,而APPI既可以产生偶数电荷的离子,又可产生奇数电荷的离子。通常连接CE的质量检测器包括四极杆检测器(Q),三重四极杆检测器(TQ),离子阱检测器(IT),飞行时间检测器(TOF),傅立叶变换回旋共振检测器(FT-ICR)。

Bertinatto等用毛细管区带电泳(CZE)检测并鉴定了伊班膦酸盐中的相关杂质,并从专属性、精密度、线性和准确度层面对该方法进行了方法学考察,该方法检测限为 $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,定量限为 $7 \mu\text{g}/\text{ml}$ <sup>[27]</sup>。Wijk等<sup>[28]</sup>用非挥发性的缓冲液对一些基本药物进行了分离。实验结果显示,大多数药物的检测限都能达到0.05%,证明CE对它们的检测是适用的。而胶束电动毛细管色谱法(MEKC)的分离主要取决于被分离的化合物在假固定相和缓冲液中分配系数的差异,而这种差异主要是利用高电压的时候化合物迁移速度不同而产生的。有报道采用MEKC-MS对加兰他敏和异丙托铵进行了杂质谱的分析。在该研究中,通过MEKC-MS/MS对异丙托铵中2个高温降解产物进行了鉴别和鉴定<sup>[29]</sup>。

利用CE来鉴别杂质的药物还有很多,比如左旋肉碱<sup>[30]</sup>,利托纳韦等<sup>[31]</sup>。

以上列出常用的联用技术,还有一些在杂质分析中可以使用到的技术,例如SFC-MS<sup>[32]</sup>、LC-NMR<sup>[33]</sup>、CE-NMR<sup>[34]</sup>、LC-FTIR<sup>[35]</sup>等。

### 3 杂质的定量研究

按照ICH的规定将高于定量限度的杂质成分全部给予定量或限量。《化学药物杂质研究的技术指导原则》<sup>[1]</sup>中药物有机杂质的定量方法一般多采用色谱法,包括峰面积归一化法、不加校正因子的主成分自身对照法、加校正因子的主成分自身对照法、外标法(杂质对照品法)。

在质谱应用领域里三重四极杆是灵敏度和定量

重现性最好的仪器。检测限较低,可应用于复杂的体系中对成分进行定量而不需进行衍生化,既提高了实验效率,又提供了更加可靠的测试结果。Székely等<sup>[36]</sup>利用三重四极杆质谱,采用多反应检测扫描模式(MRM)对糖皮质激素中的具有潜在遗传毒性的微量杂质4-二甲基氨基吡啶进行定量测定。最低定量限为 $0.5 \text{ ng}/\text{ml}$ ,即在 $5 \text{ mg}/\text{ml}$ 的莫米松糠酸盐糖皮质激素中含有不超过千万分之一(0.1 ppm)的该杂质。此外,三重四极杆质谱在残留溶剂检测方面也有广泛应用,徐宜宏等<sup>[37]</sup>利用气相色谱-三重四级杆质谱法,采用多反应监测模式同时测定五味子中117种农药残留量,最低定量限达到 $0.005 \sim 0.2 \text{ mg}/\text{kg}$ 。

### 4 小结与展望

在新药研发过程中,杂质研究是药物质量控制研究的重要内容之一,是保证药品安全性和可控性的关键环节之一,是药物一致性评价的重要指标之一。严格控制杂质残留的要求对杂质的分析方法以及仪器灵敏度提出了更高的要求。当今仪器以及技术的飞速发展使得实现这些目标成为可能,一大批高精度的仪器投入到痕量杂质的研究中,使得对杂质进行准确鉴别也越来越快捷。而且我国在法规层面上的要求也越来越高,对我国药物研发中的杂质控制起到了一定的控制作用。

### 【参考文献】

- [1] 国家食品药品监督管理局. 化学药物杂质研究的技术指导原则[S]. 2005.
- [2] Available from: <http://www.fda.gov/Safety/Recalls/EnforcementReports/default.htm>.
- [3] McMahon AW, Pratt RG, Hammad TA. Description of hypersensitivity adverse events following administration of heparin that was potentially contaminated with oversulfated chondroitin sulfate in early 2008[J]. Pharm Epidemiol Drug Saf, 2010, 19(9): 921-933.
- [4] Müller L, Mauthe RJ, Riley CM. A rationale for determining, testing, and controlling specific impurities in pharmaceuticals that possess potential for genotoxicity[J]. Regul Toxicol Pharmacol. 2006, 44(3): 198-211.
- [5] <http://www.cde.org.cn/dzkw.do?method=largePage&id=311390>.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典2010年版二部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:附录205.
- [7] Görög S. Identification and determination of impurities in drugs[M]. Amsterdam (Netherlands): Elsevier Science, 2000: 506-547.
- [8] Pavón JLP, M. del NS, Laespada MEF. Analysis of class 1 residual solvents in pharmaceuticals using headspace-programmed tem-

- perature vaporization-fast gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1141(1): 123-130.
- [9] Saavedra L, Huidobro AL, García A. CE as orthogonal technique to HPLC for alprazolam degradation product identification[J]. *Electrophoresis*, 2006, 27(12): 2360-2366.
- [10] Wang X, Li W, Rasmussen HT. Orthogonal method development using hydrophilic interaction chromatography and reversed-phase high - performance liquid chromatography for the determination of pharmaceuticals and impurities[J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1083(1-2): 58-62.
- [11] Slonecker PJ, Li X, Ridgway TH. Informational orthogonality of two-dimensional chromatographic separations [J]. *Anal Chem*, 1996, 68(4): 682-689.
- [12] Cheng JYK, Chan MF, Chan TW. Impurity profiling of ecstasy tablets seized in Hong Kong by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Forensic Sci Int*, 2006, 162(1-3): 87-94.
- [13] Bonadio F, Margot P, Delémont O. Optimization of HS-SPME/GC - MS analysis and its use in the profiling of illicit ecstasy tablets (Part 1)[J]. *Forensic Sci Int*, 2009, 187(1-3): 73-80.
- [14] 任丽萍, 田 芹, 潘灿平. 丁草胺原药中主要杂质的 GC-MS 定性分析[J]. *农药 (Chinese Journal of Pesticides)*. 2005; 44(4): 74-78.
- [15] Chen W, Zhou P, Moon KCW. Identification of volatile degradants in formulations containing sesame oil using SPME/GC/MS [J]. *J Pharm. Biomed. Anal.*, 2007, 44(2): 450-455.
- [16] Łaniewsk K, Wannman T, Hagman G. Gas chromatography with mass spectrometric, atomic emission and fourier transform infrared spectroscopic detection as complementary analytical techniques for the identification of unknown impurities in pharmaceutical analysis[J]. *J Chromatogr A*, 2003, 985(1-2): 275-282.
- [17] Łaniewsk K, Vågerö M, Forsberg E. Complementary use of gas chromatography-mass spectrometry, gas chromatography-atomic emission detection and nuclear magnetic resonance for identification of pharmaceutically related impurities of unknown structures [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1027(1-2): 93-102.
- [18] Bedse G, Kumar V, Singh S. Study of forced decomposition behavior of lamivudine using LC, LC-MS/TOF and MSn [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 49(1): 55-63.
- [19] Modhave D. T, Handa T, Shah RP. Successful characterization of degradation products of drugs using LC-MS tools; application to piroxicam and meloxicam [J]. *Anal Methods*, 2011, 3(12): 2864-2872.
- [20] Modhave DT, Handa T, Shah RP. Stress degradation studies on lornoxicam using LC, LC-MS/TOF and LC-MSn [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 56(3): 538-545.
- [21] Shah RP, Singh S. Identification and characterization of a photolytic degradation product of telmisartan using LC-MS/TOF, LC-MSn, LC-NMR and on-line H/D exchange mass studies [J]. *J Pharm. Biomed Anal*, 2010, 53(3): 755-761.
- [22] Wang MJ, Pendela M, Hu CQ. Impurity profiling of acetylspiramycin by liquid chromatography-ion trap mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(42): 6531-6544.
- [23] Mehta S, Shah RP, Priyadarshi R. LC and LC-MS/TOF studies on stress degradation behaviour of candesartan cilexetil [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 52(3): 345-354.
- [24] Liu DQ, Wu L, Sun M. On-line H/D exchange LC-MS strategy for structural elucidation of pharmaceutical impurities [J]. *J Pharm Biomed. Anal*, 2007, 44(2): 320-329.
- [25] Shah RP, Sahu A, Singh S. Identification and characterization of degradation products of irbesartan using LC-MS/TOF, MSn, on-line H/D exchange and LC-NMR [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 51(5): 1037-1046.
- [26] Thurman EM, Ferrer I. The isotopic mass defect: a tool for limiting molecular formulas by accurate mass [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 397(7): 2807-2816.
- [27] Bertinato JA, Rodríguez, Desimone MF. Validation of a capillary electrophoresis method for the analysis of ibandronate related impurities [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 44(1): 305-308.
- [28] Wijk AMv, Muijselaar PG, Stegman K. Capillary electrophoresis-mass spectrometry for impurity profiling of basic pharmaceuticals using non - volatile background electrolytes [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1159(1-2): 175-184.
- [29] Mol R, Kragt E, Jimidar I. Micellar electrokinetic chromatography-electrospray ionization mass spectrometry for the identification of drug impurities [J]. *J Chromatogr B*, 2006, 843(2): 283-288.
- [30] Hernández SL, Ruiz GC, Crego AL. Sensitive determination of D-carnitine as enantiomeric impurity of levo-carnitine in pharmaceutical formulations by capillary electrophoresis - tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 53(5): 1217-1223.
- [31] Carvalho AZ, Attug EMN, Zayed SE. Micellar electrokinetic chromatography method development for determination of impurities in ritonavir [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 53(5): 1210-1216.
- [32] Görög S. Identification and Determination of Impurities in Drugs [M]. Amsterdam; Elsevier Science, 2000: 67-82.
- [33] Murakami T, Konno H, Fukutsu N. Identification of a degradation product in stressed tablets of olmesartan medoxomil by the complementary use of HPLC hyphenated techniques [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 47(3): 553-559.
- [34] Wolters AM, Jayawickrama DA, Larive CK. Capillary isotachopheresis /NMR; extension to trace impurity analysis and improved instrumental coupling [J]. *Anal Chem*, 2002, 74(10): 2306-2313.
- [35] Prabha Srinivasu, Devarakonda V, SubbaRao A. validated stability indicating LC method for acetazolamide in the presence of degradation products and its process-related impurities [J]. *J Pharm Biomed Anal.*, 2011, 52(1): 142-148.
- [36] Székely Gy, Henriques B, Gil M. Design of experiments as a tool for LC-MS/MS method development for the trace analysis of the potentially genotoxic 4-dimethylaminopyridine impurity in glucocorticoids [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 70: 251-258.
- [37] 徐宜宏, 蒋 施, 付海滨, 等. 气相色谱-三重四极杆质谱法同时测定五味子中 117 种农药残留量 [J]. *福建分析测试*, 2012, 21(5): 1-10.

[收稿日期] 2013-11-06 [修回日期] 2014-01-16

[本文编辑] 陈 静