

## 安全监测

## 喷昔洛韦乳膏有关物质的二维色谱-质谱联用鉴定\*

Abbosova Zokirjonovna Diyorakhon, 王李杰, 陆宇婷, 宋敏, 杭太俊\*\*

(中国药科大学药物分析系, 南京 210009)

**摘要** 目的: 基于二维高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱技术(2D-LC-Q TOF/MS), 鉴定喷昔洛韦乳膏有关物质的结构。方法: 采用 ODS(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以 0.15% 甲酸 10 mmol · L<sup>-1</sup> 甲酸铵缓冲溶液-乙腈为流动相, 进行一维梯度洗脱, 对喷昔洛韦乳膏及其依照 ICH 原则强制降解样品的有关物质进行分离, 并分别富集各有关物质; 再采用 Phenomenex Luna SCX(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以 0.1% 甲酸 20 mmol · L<sup>-1</sup> 甲酸铵缓冲溶液-乙腈为流动相, 进行二维梯度洗脱, 实现各有关物质与喷昔洛韦乳膏基质的良好分离。利用电喷雾正离子化-四极杆-飞行时间串联质谱高分辨测定各有关物质母离子及其子离子的准确质量和元素组成, 并解析鉴定其结构。结果: 在所建立的 2D-LC-Q TOF/MS 分析条件下, 喷昔洛韦与其有关物质分离良好, 检测出喷昔洛韦乳膏及其强制降解样品中 21 个主要有关物质。根据其色谱保留行为、光谱特征、质谱特征及与其他核苷类药物已知有关物质的差异, 结合合成和制剂工艺路线分析, 可鉴定出它们的结构, 它们均为首次被鉴定出的有关物质。结论: 研究结果为喷昔洛韦乳膏的质量控制提供了参考依据。

**关键词:** 喷昔洛韦; 有关物质; 结构鉴定; 强制降解; 二维高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱技术

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2024)01-0089-12

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024.01.09

## Identification of the related substances in penciclovir cream by two-dimensional LC-MS techniques\*

Abbosova Zokirjonovna Diyorakhon, WANG Li-jie, LU Yu-ting,

SONG Min, HANG Tai-jun\*\*

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

**Abstract Objective:** To identify the structures of the related substances in penciclovir cream by two-dimensional liquid chromatography quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (2D-LC-Q TOF/MS) technique. **Methods:** The first-dimension separation of the related substances in penciclovir cream and its stressed samples according to ICH were carried out on an ODS (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column with gradient elution by 0.15% formic acid 10 mmol · L<sup>-1</sup> ammonium formate buffer solution and acetonitrile as mobile phases, and each related substance was enriched separately. The second-dimension gradient elution was performed on a Phenomenex Luna SCX (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column with 0.1% formic acid 20 mmol · L<sup>-1</sup> ammonium

\* 国家药品监督管理局化学药品杂质谱研究重点实验室开放课题(NO. NMPA-KLIPCD-2020-03)

\*\* 通信作者 Tel:(025)83271090; E-mail:hangtj@cpu.edu.cn

第一作者 Tel:(025)83271090; E-mail:15651868323@163.com

formate buffer solution and acetonitrile as mobile phases for each of the related substances to achieve good separation with the matrix of penciclovir cream. The accurate mass and elemental composition of the parent ions and their product ions of the related substances were determined by positive electrospray - ionization quadrupole time - of - flight high resolution mass spectrometry, and the structures of all the related substances were elucidated. **Results:** Under the established 2D - LC - Q TOF/MS analytical conditions, penciclovir and its related substances were adequately separated, and 21 major related substances were detected and identified in the penciclovir cream and its stressed samples. According to their chromatographic retention behavior, spectral characteristics, mass spectrometry characteristics and their differences from other known related substances of nucleoside drugs and combing with synthesis and formulation process route, their structures can be identified all of which were identified for the first time. **Conclusion:** The results can provide reference for the quality control of penciclovir cream.

**Keywords:** penciclovir cream; related substances; structural identification; stressed degradation; 2D - LC - Q TOF/MS

喷昔洛韦(9 - [4 - 羟基 - 3 - (羟甲基) - 丁基] - 鸟嘌呤)是1990年开发上市的开环核苷类抗病毒药物。喷昔洛韦既是DNA聚合酶抑制剂<sup>[1]</sup>,又能直接参与到病毒的复制过程中,终止DNA链的合成和延长,达到抑制病毒增殖的目的。喷昔洛韦主要有抗单纯疱疹病毒、带状疱疹病毒和EB病毒的作用,并对耐药阿昔洛韦的病毒有效<sup>[2]</sup>。喷昔洛韦胃肠道吸收较差,口服生物利用度仅为5%~10%,主要以软膏剂用于娇嫩皮肤的疱疹治疗<sup>[3]</sup>。

喷昔洛韦原料药及其制剂暂未有药典收载,已有文献仅报道了喷昔洛韦的有关物质检查方法<sup>[4-5]</sup>,但喷昔洛韦乳膏杂质谱的全面研究尚未见报道。在乳膏制剂样品有关物质的质谱测定时,需要排除基质的干扰,既可通过溶剂提取、冷冻滤除或固相萃取等前处理方式<sup>[6-7]</sup>,也可通过二维液相色谱法排除基质的干扰<sup>[8-9]</sup>。

本研究建立了适用于喷昔洛韦有关物质检查的2D - LC - Q TOF/MS分析方法,实现有关物质与乳膏基质的良好分离,并测定了喷昔洛韦有关物质的准确相对分子质量及分子式,结合MS/MS的子离子特征、合成工艺<sup>[10-11]</sup>与反应机理,经综合解析,鉴定了各有关物质的结构,可为喷昔洛韦乳膏的质量控制提供参考。

## 1 材料

### 1.1 试药与试剂

喷昔洛韦乳膏(重庆华邦制药有限公司,批号011210030,规格1%)。甲酸铵、甲酸、盐酸、氢氧化

钠(AR级,南京化学试剂有限公司),乙腈(HPLC级,MERCK公司),去离子水(市售,娃哈哈纯净水),过氧化氢(AR级,南京化学试剂有限公司),碘化钠(HPLC级,萨恩化学技术有限公司)。

### 1.2 仪器

LC - 30AD 高效液相色谱仪(配SPD - M30A检测器) - 岛津LCMS - 9030 四极杆飞行时间质谱仪、Lab - Solutions 数据处理系统(岛津公司)、LC - 10AT 高效液相色谱仪(配SPD - 10A检测器)(岛津公司);BS21S 十万分之一电子分析天平(Sartorius公司);KH - 250DB 型数控超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司);PL - ELS 2100 蒸发光散射检测器(聚合物实验室)。

## 2 方法

### 2.1 溶液的配制

#### 2.1.1 供试品溶液

取本品适量(约相当于喷昔洛韦10 mg),精密称定,置10 mL量瓶中,加水约5 mL,超声使溶解,加水定量稀释制成每1 mL中约含1 mg的溶液,取出后放置至室温,5 000 r · min<sup>-1</sup>离心10 min,取下层澄清液体,滤过,取续滤液,即得。

#### 2.1.2 对照溶液

精密量取供试品溶液适量,用水定量稀释制成每1 mL中约含1 μg的溶液,即得。

#### 2.1.3 强制降解试验溶液

精密称取本品适量(约相当于喷昔洛韦10 mg),加4.0 mol · L<sup>-1</sup>盐酸1 mL并于40 °C水浴放置10 d;

或加  $4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  氢氧化钠溶液  $1 \text{ mL}$  并于  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  水浴放置  $1 \text{ d}$ ; 或加  $30\%$  过氧化氢溶液  $1 \text{ mL}$  并于  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  水浴放置  $1 \text{ d}$ ; 或于  $120 \text{ }^\circ\text{C}$  烘箱中放置  $1 \text{ d}$ ; 或加水  $1 \text{ mL}$  并于  $90 \text{ }^\circ\text{C}$  水浴放置  $8 \text{ d}$ ; 或加水  $1 \text{ mL}$  并于  $4\ 500 \text{ lx}$  光照放置  $10 \text{ d}$ ; 或  $4\ 500 \text{ lx}$  光照放置  $10 \text{ d}$ 。分别加水  $5 \text{ mL}$  (酸处理溶液需先加  $4.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  氢氧化钠  $1 \text{ mL}$ 、碱处理溶液需先加  $4.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸  $1 \text{ mL}$  中和, 放冷), 超声使溶解, 再加水稀释至  $10 \text{ mL}$ , 摇匀, 置于  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  中冷冻  $2 \text{ h}$ 。取出后放置至室温,  $5\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心  $10 \text{ min}$ , 取下层澄清液体, 滤过, 取续滤液, 即得采用不同方法制备的强制降解试验溶液。同法配制空白溶液。

## 2.2 色谱-质谱条件

### 2.2.1 一维色谱条件

采用十八烷基硅烷键合硅胶 Shim-pack Scepter  $\text{C}_{18}$ -120 ( $250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$ ,  $5 \text{ }\mu\text{m}$ ) 为填充剂的色谱柱; 以  $0.15\%$  甲酸  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  甲酸铵缓冲溶液-乙腈 ( $99:1$ ) 为流动相 A, 以  $0.15\%$  甲酸  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  甲酸铵缓冲溶液-乙腈 ( $50:50$ ) 为流动相 B, 进行线性梯度洗脱 (A-B):  $0 \text{ min} (100:0) \rightarrow 25 \text{ min} (80:20) \rightarrow 50 \text{ min} (0:100) \rightarrow 55 \text{ min} (0:100) \rightarrow 56 \text{ min} (100:0) \rightarrow 65 \text{ min} (100:0)$ ; 流速  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 柱温  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 检测波长  $254 \text{ nm}$ ; 进样体积  $10 \text{ }\mu\text{L}$ 。

### 2.2.2 二维色谱条件

采用阳离子交换键合硅胶 Phenomenex Luna

SCX ( $250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$ ,  $5 \text{ }\mu\text{m}$ ) 为填充剂的色谱柱; 以  $0.1\%$  甲酸  $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  甲酸铵缓冲溶液为流动相 A, 以乙腈为流动相 B, 进行线性梯度洗脱 (A-B):  $0 \text{ min} (95:5) \rightarrow 5 \text{ min} (80:20) \rightarrow 10 \text{ min} (80:20) \rightarrow 10.1 \text{ min} (95:5) \rightarrow 15 \text{ min} (95:5)$ ; 流速  $1.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 柱温  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 紫外检测器检测波长  $254 \text{ nm}$ ; 蒸发光散射检测器检测参数为雾化器温度  $90 \text{ }^\circ\text{C}$ , 漂移管温度  $90 \text{ }^\circ\text{C}$ , 氮气流速  $1.00 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 进样体积  $10 \text{ }\mu\text{L}$ 。

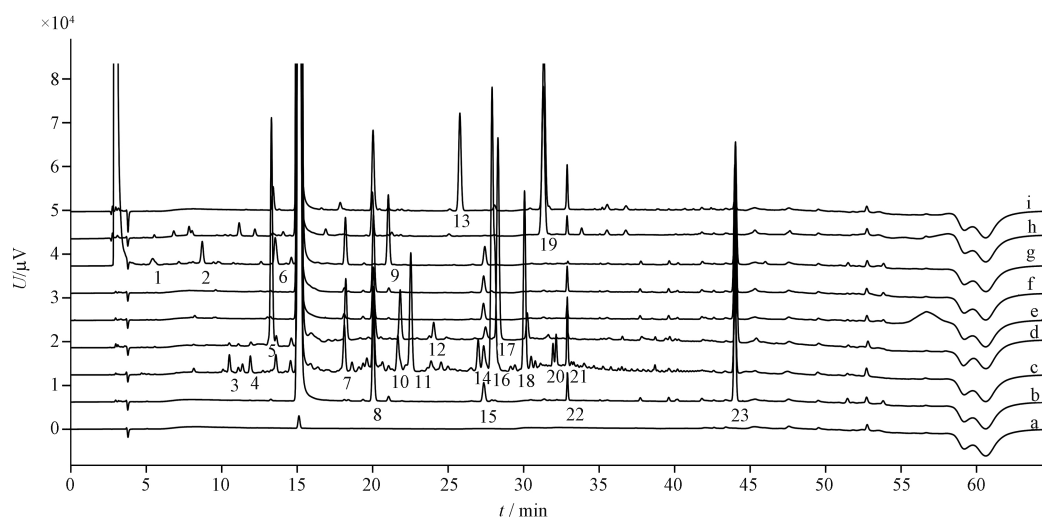
### 2.2.3 质谱条件

化合物 **19**、**23** 采用大气压化学电离源负离子模式。其余有关物质均采用电喷雾离子源正离子模式。质谱参数: 采用碘化钠溶液 ( $400 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 准确质量校正。喷雾电压  $4.0 \text{ kV}$ , 雾化氮气流量  $3 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ , 加热气流量  $10 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ , 干燥气流量  $10 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ , 脱溶剂离子传输管温度  $300 \text{ }^\circ\text{C}$ , 氩气 CID 能量  $5 \sim 35 \text{ eV}$ , 质量数扫描范围  $m/z$   $50 \sim 1\ 000$ 。

## 3 结果

### 3.1 有关物质检查

取强制降解试验溶液, 按“2.2.1”项一维色谱条件进样检测。结果表明, 建立的一维液相色谱分析法, 适用于喷昔洛韦乳膏有关物质液相色谱检查。采用  $0.1\%$  自身对照法计算有关物质的含量, 按保留时间由短到长顺序对主要有关物质进行识别和编号 (图 1)。



a.  $0.1\%$  自身对照 ( $0.1\%$  self-reference) b. 样品 (test sample) c. 高温干法破坏 (dry heat stress) d. 高温湿法破坏 (wet heat stress) e. 光照湿法破坏 (wet photolytic stress) f. 光照干法破坏 (dry photolytic stress) g. 氧化破坏 (oxidation stress) h. 碱破坏 (alkaline stress) i. 酸破坏 (acidic stress)

图 1 喷昔洛韦供试品及强制降解试验样品的 HPLC 有关物质检查图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of penciclovir cream and its stressed test solutions

强制降解试验结果表明,喷昔洛韦乳膏对高温条件比较敏感,全部降解条件下共分离并检出除主成分外的23个化合物,其中21个为喷昔洛韦有关物质(相对含量均超过0.1%),化合物**19**、**23**为辅料及辅料降解杂质。喷昔洛韦乳膏中检出3个有关物质(图1-b,有关物质**8**、**15**、**22**);酸破坏形成2个主要降解产物(图1-i,有关物质**13**、**22**);氧化破坏形成

4个主要降解产物(图1-g,有关物质**1**、**2**、**6**、**9**);高温干法破坏形成12个主要降解产物(图1-c,有关物质**3**、**4**、**6**、**7**、**10**、**11**、**14**、**16**、**18**、**20**、**21**、**22**);高温湿法破坏形成6个主要降解产物(图1-d,有关物质**5**、**7**、**10**、**12**、**17**、**18**)。研究建立的有关物质检查条件对于不同强制降解试验样品有关物质的检测均物料平衡(表1)。

表1 喷昔洛韦乳膏有关物质强制降解试验样品物料平衡结果

Tab.1 Mass balance of penciclovir cream and its stressed test solutions

样品 (sample)	C/ (mg · mL <sup>-1</sup> )	有关物质峰面积 (area <sub>impurity</sub> )	总峰面积 (area <sub>total</sub> )	area <sub>total</sub> /C	物料平衡比例 (mass balance ratio)
未破坏(non-stressed)	1.086 4	411 641	28 701 695	2.64 × 10 <sup>7</sup>	1.00
高温干法破坏(dry heat stress)	1.079 4	3 567 797	30 677 831	2.84 × 10 <sup>7</sup>	1.08
高温湿法破坏(wet heat stress)	1.125 8	1 850 991	29 278 510	2.60 × 10 <sup>7</sup>	0.98
光照湿法破坏(wet photolytic stress)	1.025 8	509 846	26 677 034	2.60 × 10 <sup>7</sup>	0.98
光照干法破坏(dry photolytic stress)	1.006 0	384 132	27 346 156	2.72 × 10 <sup>7</sup>	1.03
氧化破坏(oxidation stress)	1.123 4	579 843	29 188 880	2.60 × 10 <sup>7</sup>	0.98
碱破坏(alkaline stress)	1.077 6	853 821	27 977 022	2.60 × 10 <sup>7</sup>	0.98
酸破坏(acidic stress)	1.095 8	1 251 665	29 857 783	2.72 × 10 <sup>7</sup>	1.03

注(note):以上峰面积计算均不包括化合物**19**、**23**(mass balance ratios are calculated excluding compounds **19** and **23**)

### 3.2 二维液相色谱条件的建立

采用一维色谱分析方法对样品直接进行质谱测定。结果发现总离子流图中有响应很大的相对分子质量相差44的乳膏基质聚乙二醇簇

峰,干扰有关物质检测(图2)。故利用乳膏基质与喷昔洛韦及其有关物质在阳离子交换色谱柱上保留行为的差异,进行二维液相色谱分离,排除基质对样品中有关物质质谱测定的干扰。

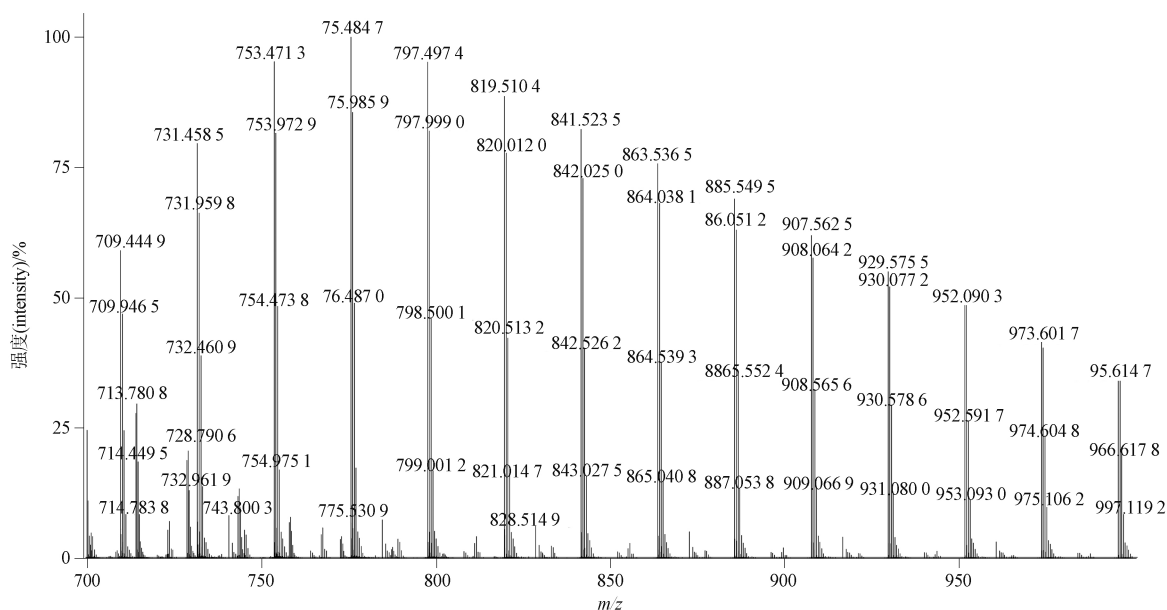
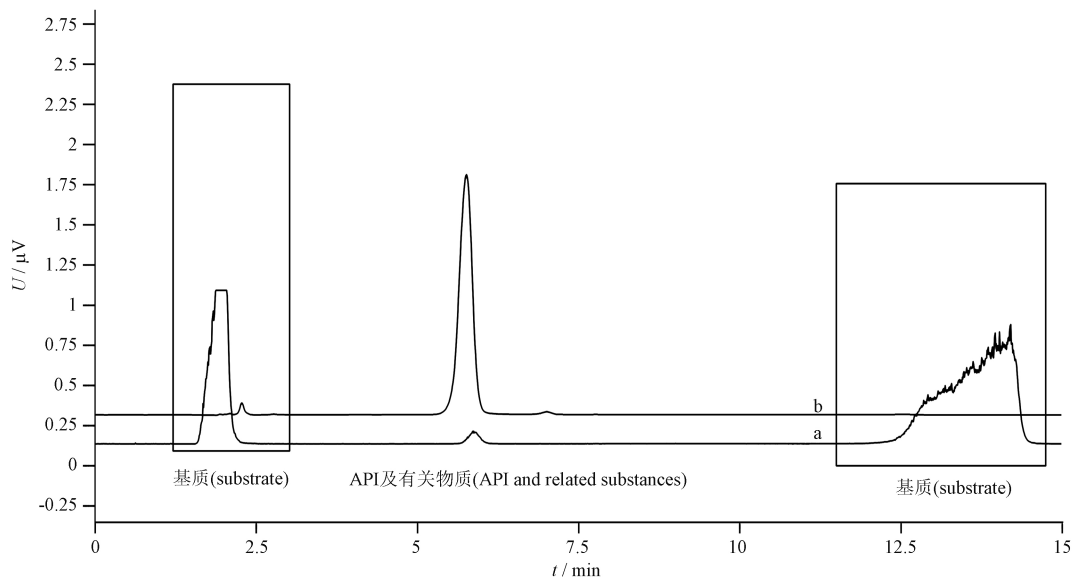


图2 辅料聚乙二醇的一级质谱图

Fig.2 MS spectrum of the excipient polyethylene glycol

因乳膏基质无紫外吸收,故在二维液相色谱方法摸索时,取供试品溶液,采用高效液相色谱(配SPD-10A检测器)串联蒸发光散射检测器(ELSD)

确定乳膏基质、喷昔洛韦及其有关物质的出峰位置。最终确定了如“2.2.2”所示的二维液相色谱条件,保证基质与各有关物质分离良好(图3)。



a. ELSD b. UVD

图3 喷昔洛韦乳膏及其有关物质二维液相色谱比较图

Fig. 3 The comparison second dimensional liquid chromatograms of penciclovir and its related substances

按“2.2.1”项下色谱条件,每次进样 100 μL,分别收集 23 个馏分,重复 3 次,将收集的溶液冻干,再用 0.1% 甲酸 20 mmol · L<sup>-1</sup> 甲酸铵 - 乙腈 (95:5) 100 μL

复溶,即分别得到喷昔洛韦各有关物质溶液。并按“2.2.2”所述色谱条件进行分析。各有关物质在二维液相色谱中保留时间适宜,与基质分离良好(图4)。

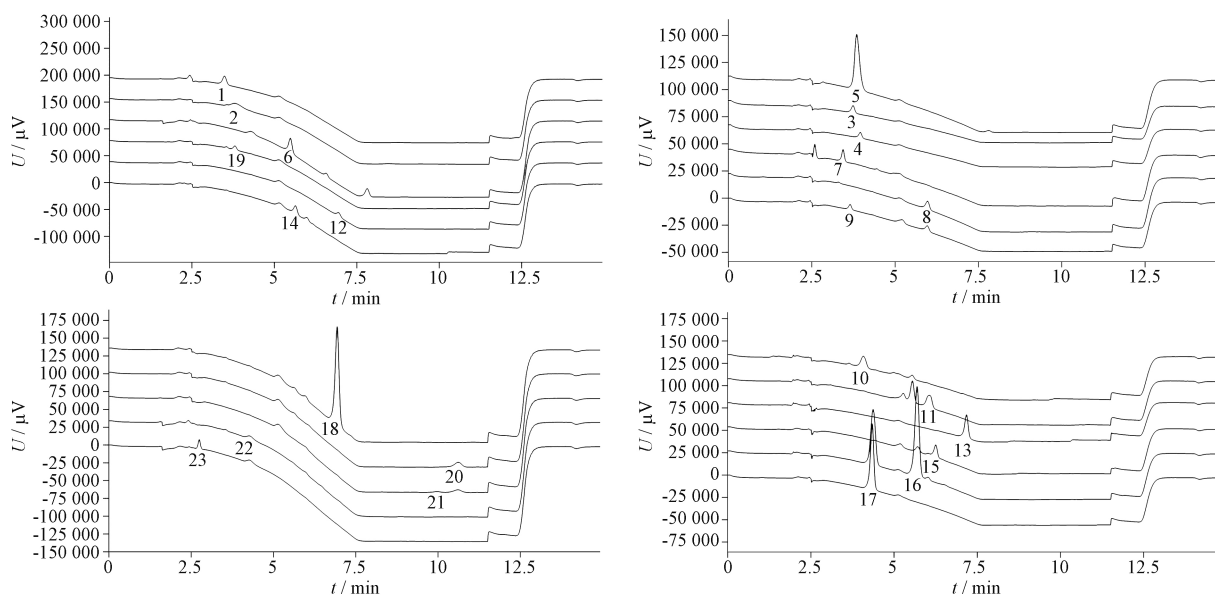


图4 喷昔洛韦乳膏及其有关物质的二维液相色谱叠加图

Fig. 4 The overlaid second dimensional liquid chromatograms of penciclovir and its related substances

### 3.3 有关物质的结构鉴定

按“2.2.2”所述色谱条件,采用高效液相色谱(配 SPD-M30A 检测器)串联高分辨质谱仪 Q-TOF 测定富集得到的各有关物质溶液,可得到各有关物质的母离子及子离子的准确质量和元素组成、其二级质谱特征碎片以及 DAD 图,并通过与喷昔洛韦的质谱特征的对比分析,鉴定各主要有关物质的结构。结果见图 5、6 及表 2。

#### 3.3.1 鸟嘌呤核苷类药物已知有关物质的结构鉴定

目前,各国药典暂未收录喷昔洛韦的有关物质,但可参考相关文献[12-13],根据喷昔洛韦和其他含鸟嘌呤结构化合物的质谱裂解特征(图 7),对喷昔洛韦有关物质的结构进行分析鉴定。鸟嘌呤核苷类药物的 MS/MS 裂解具有如下规律:(1)鸟嘌呤核苷类药物的支链易断裂,生成特征碎片离子  $m/z$  152.05 ( $C_5H_6N_5O^+$ ),其为鸟嘌呤  $[M+H]^+$  离子的准确离子质量,表明这些有关物质均含有鸟嘌呤结构;(2)  $m/z$  152.05 又可裂解为  $m/z$  135.03 ( $C_5H_3N_4O^+$ )、 $m/z$  110.03 ( $C_4H_4N_3O^+$ ) 的碎片离子,分别与鸟嘌呤  $[M+H]^+$  离子脱去  $NH_3$  和碳二亚胺相应。

#### 3.3.2 未知有关物质的确证

聚乙二醇是乳膏制剂中常用的辅料之一,可降解为甲醛、甲酸<sup>[14]</sup>和多种过氧化物<sup>[15]</sup>,这些辅料降解产物可进一步参与喷昔洛韦的降解反应,产生新的有关物质,在有关物质解析时应加以考虑。

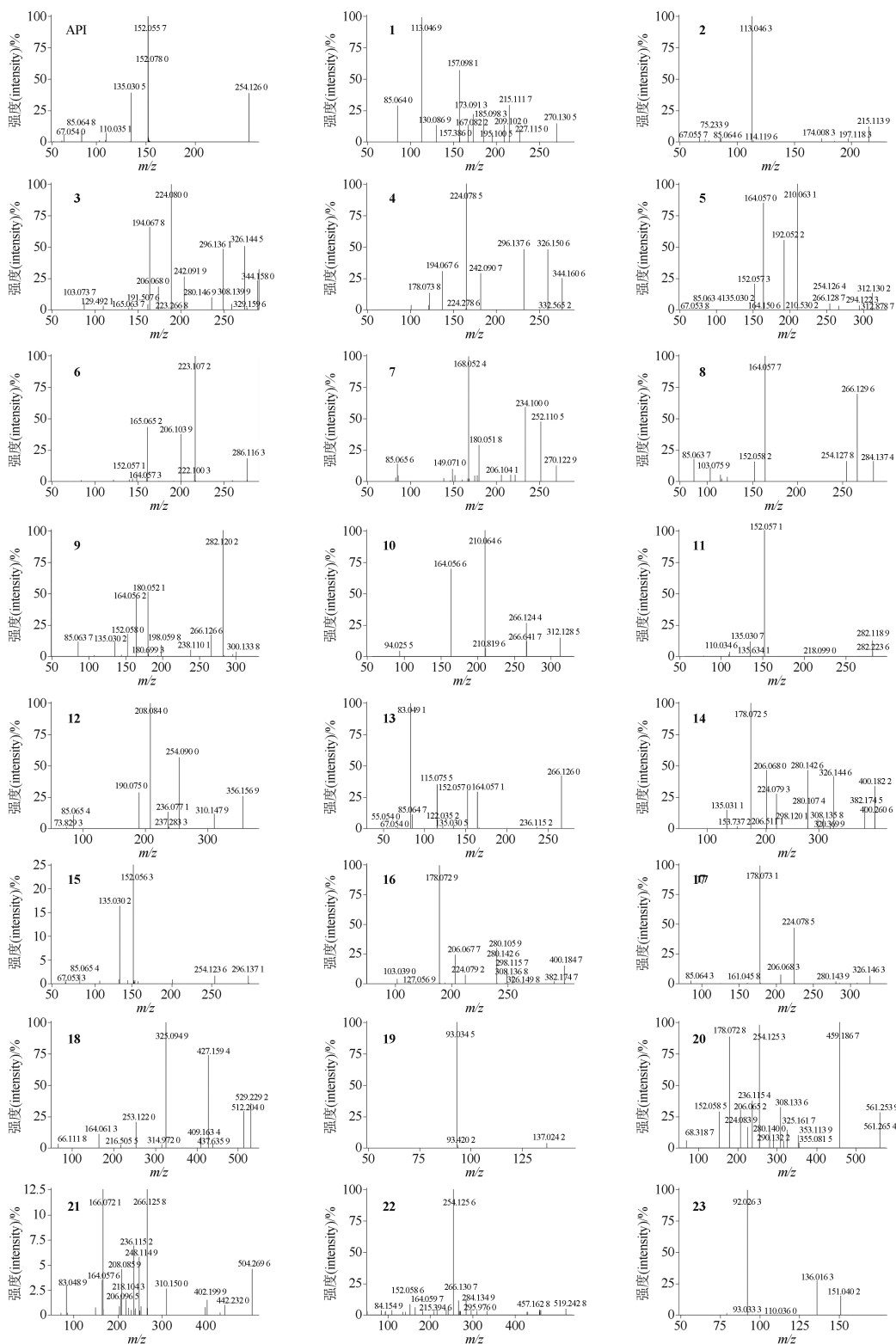
根据各有关物质的色谱保留特征、光谱特征、质谱特征及其与喷昔洛韦、阿昔洛韦、鸟嘌呤的差异,结合合成和制剂工艺路线分析,可鉴定其结构,并根据有关物质来源,进行归类分析。

**3.3.2.1 氧化破坏产生的降解杂质** 有关物质 1 是喷昔洛韦的特征氧化降解杂质;有关物质 7 是喷昔洛韦的高温干法、高温湿法、氧化降解杂质。测得其  $[M+H]^+$  的准确离子质量分别为 270.120 6、270.119 6,与离子式  $C_{10}H_{16}N_5O_4^+$  相应;与喷昔洛韦元素组成相比,是多 1 个 O 元素的同分异构体。有关物质 6 也是喷昔洛韦的特征氧化降解杂质,测得其  $[M+H]^+$  的准确离子质量为 286.116 3,与离子式  $C_{10}H_{16}N_5O_5^+$  相应。有关物质 1 的二级质谱碎片离子  $m/z$  227.114 7 ( $C_9H_{15}N_4O_3^+$ ) 与  $[M+H]^+$

脱去异氰酸相应; $m/z$  168.052 5 ( $C_5H_6N_5O_2^+$ ) 与  $[M+H]^+$  中性丢失侧链和 1 分子  $H_2O$  相应。由 DAD 图(图 8)可知,有关物质 1 的共轭结构与喷昔洛韦相差较大,即母核结构发生了改变。有关物质 1 的色谱保留极弱,极性很大。根据喷昔洛韦的结构特点,其 C-4、C-5 受双键共轭作用影响<sup>[16]</sup>,在过氧化氢和甲酸的存在下,易生成双羟化加成产物。故推测有关物质 1 应为喷昔洛韦侧链脱去 1 分子  $H_2O$ , C-4、C-5 被羟基化而形成的有关物质。有关物质 7 的二级质谱碎片离子  $m/z$  252.110 4 ( $C_{10}H_{14}N_5O_3^+$ )、 $m/z$  234.099 4 ( $C_{10}H_{12}N_5O_2^+$ ) 与  $[M+H]^+$  连续失去 1 分子  $H_2O$  相应。DAD 图表明,有关物质 7 在 292 nm 有一吸收峰,由于嘌呤的富电子特性,羟基自由基会攻击活性较高的 8 位,此位点易氧化,故推测有关物质 7 应为喷昔洛韦 8 位氧化成酮(即共轭羟基亚胺)得到的有关物质。有关物质 6 与有关物质 7 相比,多 1 个 O 原子,且极性更大,推测有关物质 6 是在氧化条件下,喷昔洛韦 8 位氧化成酮,3 位叔胺形成氮氧化物得到的有关物质。

有关物质 2 为喷昔洛韦的氧化降解杂质。测得其  $[M+H]^+$  的准确离子质量为 215.114 4,与离子式  $C_8H_{15}N_4O_3^+$  相应;与喷昔洛韦元素组成相比,少  $C_2HN$ 。有关物质 2 的 DAD 图与喷昔洛韦相差较大,共轭结构发生显著改变。碎片离子中无  $m/z$  152.05 ( $C_5H_6N_5O^+$ ),说明有关物质 2 的结构不含鸟嘌呤母核。碎片离子  $m/z$  197.102 1 ( $C_8H_{13}N_4O_2^+$ ) 与  $[M+H]^+$  丢失 1 分子  $H_2O$  相应。碎片离子  $m/z$  113.040 6 ( $C_3H_5N_4O^+$ ) 与有关物质 1 的碎片离子  $m/z$  113.045 8 ( $C_3H_5N_4O^+$ ) 元素组成相同,二级质谱图中含有碎片  $m/z$  85.065 1 ( $C_3H_9O^+$ ) 均证明此有关物质结构中仍保留喷昔洛韦侧链。故推测在强氧化条件下,喷昔洛韦 3 位发生氮氧化,嘧啶环脱去 CO,咪唑环丢失 1 分子 HCN 变成三元环,最终生成有关物质 2 (图 6)。

**3.3.2.2 7/9 位同分异构体杂质** 有关物质 3、4、14、16 为喷昔洛韦的特征高温干法降解杂质。测得有关物质 3 和 4 的  $[M+H]^+$  的离子准确质量分别为 344.158 2、344.155 9,是与离子式  $C_{13}H_{22}N_5O_6^+$  相应的同分异构体。测得有关物质 14 和 16 的  $[M+H]^+$  的离子准确质量为 400.182 6、400.182 4,是与离子



API ( $m/z$  254) 1 ( $m/z$  270) 2 ( $m/z$  215) 3 ( $m/z$  344) 4 ( $m/z$  344) 5 ( $m/z$  312) 6 ( $m/z$  286) 7 ( $m/z$  270) 8 ( $m/z$  284) 9 ( $m/z$  300)  
 10 ( $m/z$  312) 11 ( $m/z$  282) 12 ( $m/z$  356) 13 ( $m/z$  266) 14 ( $m/z$  400) 15 ( $m/z$  296) 16 ( $m/z$  400) 17 ( $m/z$  326) 18 ( $m/z$  529)  
 19 ( $m/z$  137) 20 ( $m/z$  561) 21 ( $m/z$  504) 22 ( $m/z$  519) 23 ( $m/z$  151)

图5 喷昔洛韦及其有关物质  $[M+H]^+$  离子的二级质谱图

Fig. 5 MS/MS spectra of penciclovir and its related substances  $[M+H]^+$  ions

表 2 喷昔洛韦乳膏有关物质的 LC-Q-TOF/MS 鉴定结果

Tab. 2 Related substances identified in penciclovir cream by LC-Q-TOF/MS

编号 (No.)	母离子 (parent ion) $m/z$	$t_R$ / min	离子式 (ion formula)	Dif	碎片离子 (product ions) $m/z$	来源 (origin)
1	270.120 6	5.410	$C_{10}H_{16}N_5O_4^+$	3.517	227.114 7, 197.104 0, 185.092 8, 168.052 5, 130.087 3, 113.045 8, 85.064 9	Dr
2	215.114 4	8.696	$C_8H_{15}N_4O_3^+$	2.417	197.102 1, 113.046 0, 85.065 1, 67.055 7	Dr
3	344.158 2	10.501	$C_{13}H_{21}N_5O_6^+$	4.969	326.146 7, 308.138 5, 296.1376, 242.089 6, 224.078 5, 206.065 6, 194.067 6, 178.074 5	Dr
4	344.155 9	11.892	$C_{13}H_{21}N_5O_6^+$	-1.685	326.145 4, 296.135 5, 242.089 6, 224.088 5, 194.069 1, 178.073 8	Dr
5	312.131 6	13.288	$C_{12}H_{18}N_5O_5^+$	4.389	294.122 3, 266.127 0, 254.125 9, 210.062 9, 192.052 5, 164.057 2, 152.057 7, 135.030 7, 85.0634	Dr
6	286.115 8	13.421	$C_{10}H_{15}N_5O_5^+$	4.054	223.107 5, 206.104 6, 165.065 2, 152.057 5	Dr
API	254.125 9	15.119	$C_{10}H_{16}N_5O_3^+$	4.525	152.057 3, 135.030 5, 110.035 1, 85.064 8, 67.054 0	API
7	270.119 6	18.116	$C_{10}H_{16}N_5O_4^+$	-0.111	252.110 4, 234.099 4, 206.103 4, 180.052 4, 168.052 2, 152.057 2, 85.065 3	Dr
8	284.134 0	20.038	$C_{11}H_{18}N_5O_4^+$	-4.575	266.125 7, 254.124 8, 164.057 6, 152.057 5, 103.076 4, 85.066 0	Dr/Pr
9	300.131 6	21.031	$C_{11}H_{18}N_5O_5^+$	4.331	282.123 5, 266.129 3, 238.104 6, 164.055 4	Dr
10	312.130 3	21.661	$C_{12}H_{18}N_5O_5^+$	-0.064	294.116 8, 266.121 3, 210.063 2, 192.052 4, 164.057 0, 115.055 5, 85.066 1	Dr
11	282.120 6	22.520	$C_{11}H_{16}N_5O_4^+$	3.226	218.101 8, 152.057 4, 135.030 9, 110.036 2	Dr
12	356.156 8	24.035	$C_{14}H_{22}N_5O_6^+$	0.814	310.152 1, 254.089 7, 236.078 6, 208.083 7, 190.075 0, 103.075 8, 85.064 6	Dr
13	266.124 8	25.822	$C_{11}H_{16}N_5O_3^+$	0.263	236.115 6, 206.104 7, 164.057 3, 152.057 2, 135.030 5, 115.075 4, 83.049 1	Dr
14	400.182 6	26.984	$C_{16}H_{26}N_5O_7^+$	-0.050	382.176 6, 280.141 8, 224.080 0, 206.068 8, 178.073 1, 135.031 3	Dr
15	296.136 5	27.349	$C_{12}H_{18}N_5O_4^+$	3.917	254.129 7, 204.095 9, 152.057 2, 135.030 0, 110.033 9	Pr
16	400.182 4	27.904	$C_{16}H_{26}N_5O_7^+$	-0.775	382.175 2, 298.114 8, 280.142 4, 224.081 1, 206.058 6, 178.0732	Dr
17	326.147 3	28.294	$C_{13}H_{20}N_5O_5^+$	4.170	308.135 8, 280.141 2, 224.078 8, 206.067 9, 178.072 8, 85.063 5	Dr
18	529.229 2	30.054	$C_{22}H_{29}N_{10}O_6^+$	4.894	511.221 0, 427.158 4, 325.093 0, 164.055 4	Dr
19	137.024 2	31.390	$C_7H_5O_3^-$	-1.387	93.034 3	Exp - Dr
20	561.253 9	31.939	$C_{23}H_{33}N_{10}O_7^+$	1.996	459.186 7, 325.163 0, 308.136 8, 280.140 2, 254.125 5, 236.115 1, 178.071 5, 152.057 9	Dr
21	504.269 6	32.148	$C_{21}H_{38}N_5O_9^+$	3.589	442.232 0, 310.152 3, 266.125 5, 248.114 5, 166.072 4, 83.048 6	Dr
22	519.242 8	32.887	$C_{21}H_{31}N_{10}O_6^+$	1.021	266.127 6, 254.125 0, 164.062 2, 152.057 3	Dr/Pr
23	151.040 2	43.988	$C_8H_7O_3^-$	0.794	136.016 2, 92.026 3	Exp

注 (note) : Dif. 测得离子质量误差 (MS difference as parts per million) ; Pr. 工艺有关物质 (process related substance) ; Dr. 降解有关物质 (degradation related substance) ; Exp. 辅料 (excipients) ; Exp - Dr. 辅料降解物 (degradant of excipients)

式  $C_{16}H_{26}N_5O_7^+$  相应的同分异构体。有关物质 **3** 和 **4**、有关物质 **14** 和 **16** 这 2 对同分异构体的二级质谱图、DAD 图均分别两两相似, 保留时间也接近, 推测其共轭结构也两两相似。由文献可知<sup>[17]</sup>, 对于鸟嘌呤核苷类药物, 当化合物母核相同、侧链相同时, 鸟嘌呤 7 位氮连接侧链, 化合物的极性强于 9 位侧链连接。故推测喷昔洛韦有关物质 **3** 和 **4**、有关物质 **14** 和 **16** 均含有鸟嘌呤母核, 但侧链取代位置不同 (7 位或 9 位) 的同分异构体, 根据其碎片特征推定相应结构式 (图 6)。以有关物质 **16** 为例进行结构解析。其 MS/MS 的碎片离子  $m/z$  298.115 3 ( $C_{11}H_{16}N_5O_5^+$ )、 $m/z$  280.141 8 ( $C_{11}H_{14}N_5O_4^+$ ) 与  $[M+H]^+$  中性丢失

侧链 2-乙基丙烷-1,3-二醇、进一步脱去 1 分子  $H_2O$  相应。碎片离子  $m/z$  224.080 0 ( $C_8H_{10}N_5O_3^+$ )、 $m/z$  206.068 8 ( $C_8H_8N_5O_2^+$ ) 别是在  $m/z$  298.115 3 的基础上脱去乙醇和 CO、再进一步脱去 1 分子  $H_2O$ 。观察喷昔洛韦及其有关物质可知, 其二级质谱碎片中大多不含  $m/z$  178.073 1 ( $C_7H_8N_5O^+$ ), 可知喷昔洛韦侧链碳碳键不易断裂, 故推测有关物质 **16** 二级质谱碎片中的该碎片是氨基所连支链的碳氧键断裂所得。故推测喷昔洛韦原有侧链连接在 7 位或 9 位, 断裂后的支链之间发生反应或断裂后的支链与聚乙二醇降解产物反应, 生成新的支链, 氨基端与新支链连接, 生成同分异构体: 有关物质 **14** 和 **16**。

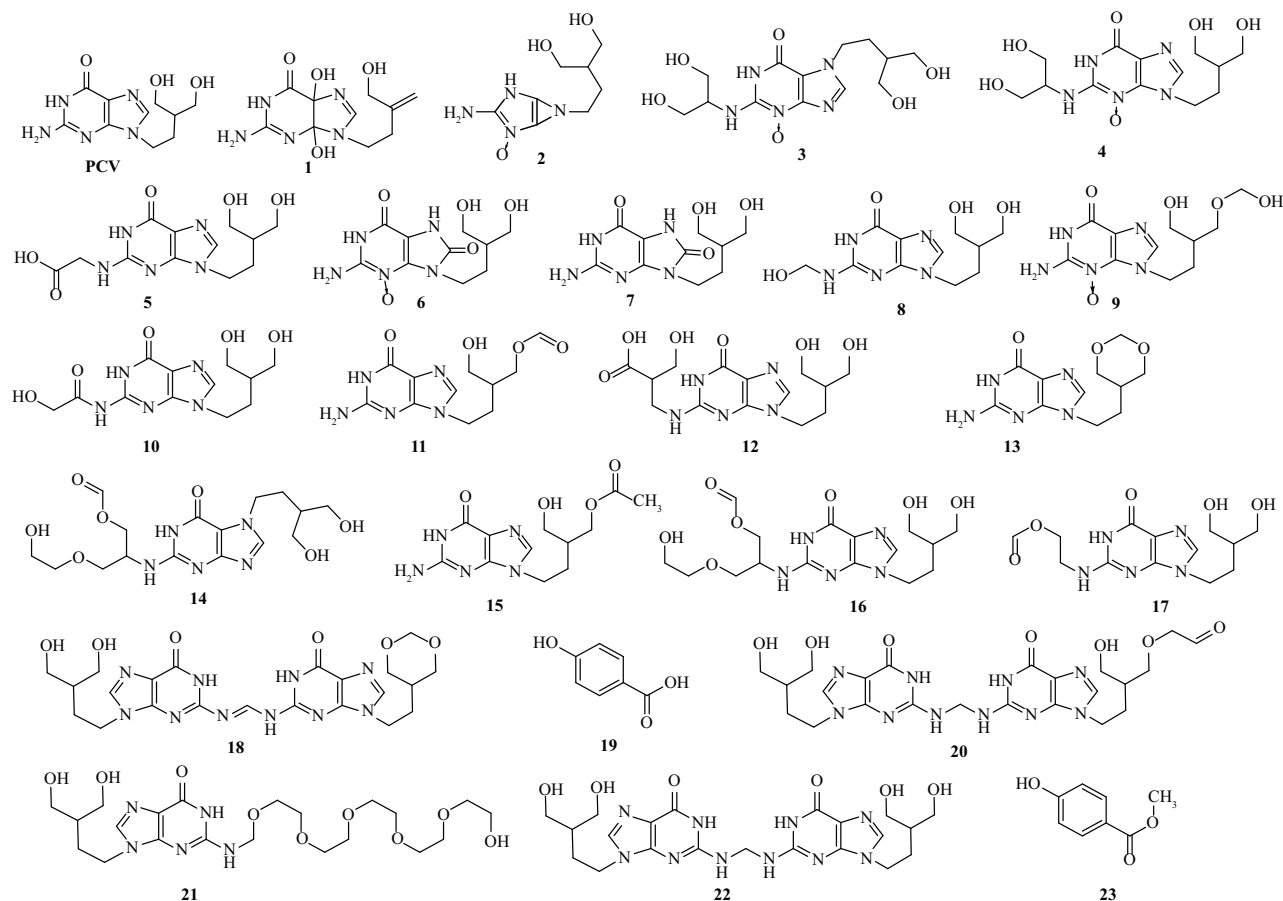


图6 喷昔洛韦及其有关物质1~23的化学结构

Fig.6 Chemical structures of penciclovir and its related substances 1-23

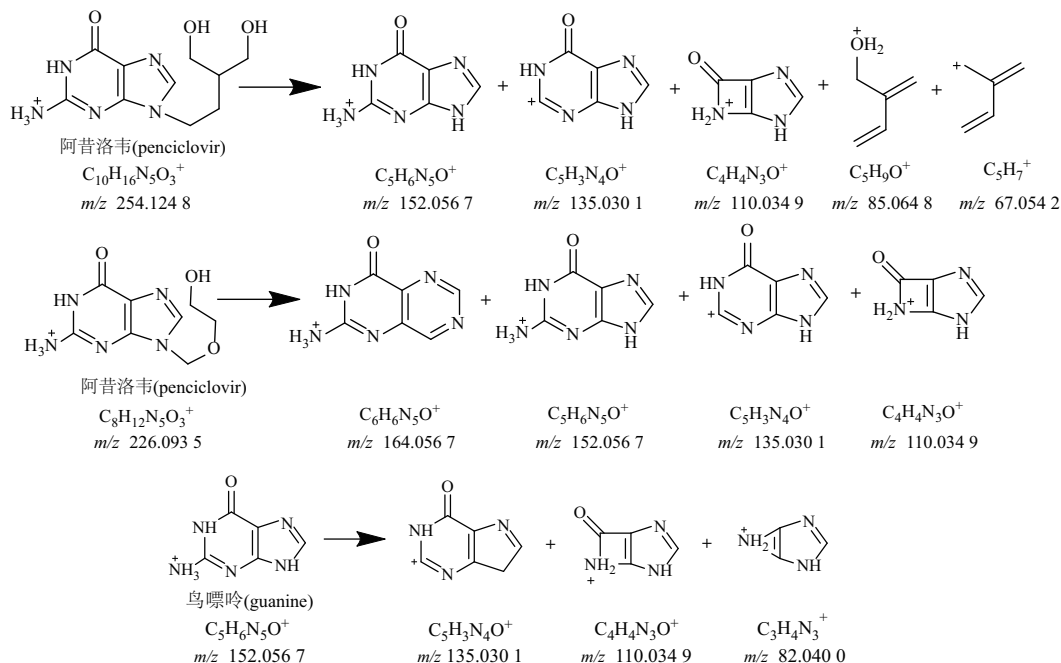


图7 喷昔洛韦、阿昔洛韦及鸟嘌呤[M+H]<sup>+</sup>离子的二级碎片裂解途径

Fig.7 MS/MS fragmentation pathways of penciclovir, acyclovir and guanine [M+H]<sup>+</sup> ions

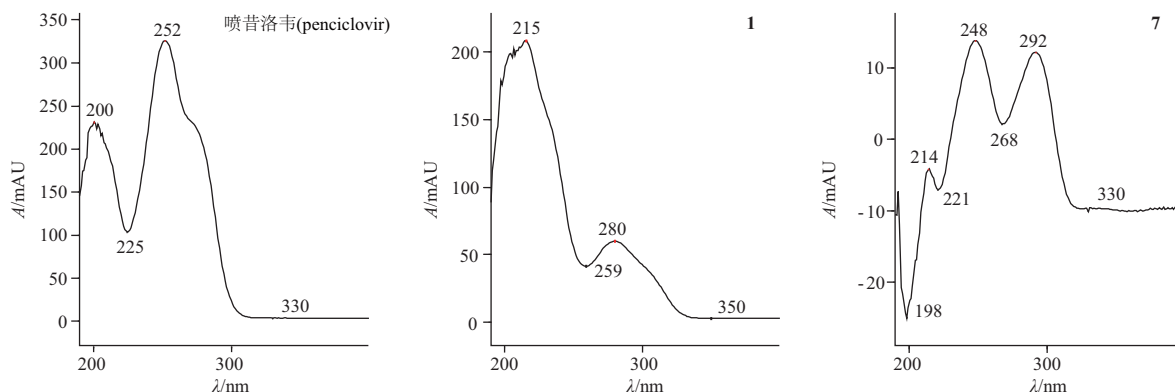


图8 喷昔洛韦、有关物质1、有关物质7的DAD图

Fig. 8 DAD spectra of penciclovir, related substance 1 and related substance 7

**3.3.2.3 侧链变化产生的杂质** 有关物质**5**和**10**主要为喷昔洛韦的高温湿法降解杂质。测得其 $[M+H]^+$ 准确离子质量分别为312.1316、312.1303,是与离子式 $C_{12}H_{18}N_5O_5^+$ 相应的同分异构体;且与喷昔洛韦元素组成相比,多 $C_2H_2O_2$ 。有关物质**5**的碎片离子 $m/z$  254.1259 ( $C_{10}H_{16}N_5O_3^+$ )与 $[M+H]^+$ 脱去甲醛和CO相应。有关物质**5**、**10**共同的MS/MS主要特征碎片离子 $m/z$  266.1270 ( $C_{11}H_{16}N_5O_3^+$ )与 $[M+H]^+$ 脱去 $H_2O$ 和CO相应;碎片离子 $m/z$  210.0629 ( $C_7H_8N_5O_3^+$ )、 $m/z$  192.0572 ( $C_7H_6N_5O_2^+$ )与 $[M+H]^+$ 脱去2-乙炔基丙烷-1,3-二醇、进一步脱去1分子 $H_2O$ 相应。二者都存在碎片离子 $m/z$  85.06,推测它们仍保留喷昔洛韦原侧链结构。虽然有关物质**10**和**5**的碎片离子相似,但二者的色谱保留时间相差约7 min,表明二者极性有明显差异。故推测有关物质**10**和**5**不是7/9位同分异构体,而是氨基所连侧链不同的异构体。根据二者元素组成与极性大小,推测有关物质**5**为喷昔洛韦2位氨基连接乙酸形成的有关物质(图6);有关物质**10**为喷昔洛韦2位氨基与聚乙二醇降解产物羟基乙酸反应形成的酰胺有关物质(图6)。

有关物质**12**、**17**为喷昔洛韦高温湿法降解杂质,有关物质**21**为喷昔洛韦的高温干法降解杂质。根据三者的元素组成及二级质谱特征碎片,推测三者均是以鸟嘌呤为母核,但2位氨基连接不同支链的有关物质(图6)。以有关物质**21**为例,其MS/MS主要特征碎片离子 $m/z$  442.2320 ( $C_{19}H_{32}N_5O_7^+$ )、 $m/z$  310.1523 ( $C_{13}H_{20}N_5O_4^+$ )、 $m/z$  266.1254 ( $C_{11}H_{16}N_5O_3^+$ ),均为其 $[M+H]^+$ 离子所连乙二醇长链在不同位置断裂产

生。碎片离子 $m/z$  266.1254的元素组成表明有关物质**21**仍保留喷昔洛韦的基本结构,进一步脱去1分子 $H_2O$ 生成 $m/z$  248.1145 ( $C_{11}H_{14}N_5O_2^+$ )。碎片离子 $m/z$  208.0859表明乙二醇长链与氨基相连,否则无法形成此碎片离子。故推测有关物质**21**为喷昔洛韦2位氨基连接乙二醇长链而形成的有关物质。

**3.3.2.4 与甲醛反应得到的杂质** 由喷昔洛韦的合成工艺可知,在合成过程中可能有多聚甲醛参与反应。有关物质**8**、**9**、**11**、**13**分别为为喷昔洛韦的工艺杂质、氧化降解杂质、高温干法降解杂质、特征酸降解杂质。根据各个有关物质的元素组成、保留时间、二级质谱特征碎片,可推测有关物质**8**、**9**、**11**、**13**的结构如图6所示。以有关物质**13**为例进行说明,其MS/MS主要特征碎片离子 $m/z$  115.0755 ( $C_6H_{11}O_2^+$ )与 $[M+H]^+$ 中性丢失鸟嘌呤相应,提示有关物质**13**由鸟嘌呤和准确离子质量为115.0755的支链构成,同时也可推出多余的1个C原子连接在侧链上。碎片离子 $m/z$  236.1156 ( $C_{10}H_{14}N_5O_2^+$ )、 $m/z$  206.1047 ( $C_9H_{12}N_5O^+$ )与 $[M+H]^+$ 接连丢失1分子甲醛相应;碎片离子 $m/z$  152.0563 ( $C_5H_6N_5O^+$ )是由母核与侧链之间的C-N键断裂而形成。碎片离子 $m/z$  206.1047 ( $C_9H_{12}N_5O^+$ )含碳原子数比鸟嘌呤多4,可以由此推测侧链氧原子的位置。二级质谱图中丰度最高的碎片离子 $m/z$  83.0491 ( $C_5H_7O^+$ )由 $m/z$  115.0755 ( $C_6H_{11}O_2^+$ )中性丢失1分子甲醇得到。又因有关物质**13**极性较小,推测在酸性条件下,甲醛与喷昔洛韦侧链两羟基反应成环得到的有关物质**13**。

**3.3.2.5 单乙酰化喷昔洛韦** 有关物质 **15** 为喷昔洛韦乳膏的工艺杂质。测得其  $[M + H]^+$  离子的准确质量为 296.136 5, 与离子式  $C_{12}H_{18}N_5O_4^+$  相应;与喷昔洛韦元素组成相比,多  $C_2H_2O$ 。MS/MS 主要特征碎片离子  $m/z$  254.129 7 ( $C_{10}H_{16}N_5O_3^+$ ) 与  $[M + H]^+$  脱去乙酰基相应,存在此碎片离子也表明其结构中可能保留喷昔洛韦母核结构。由喷昔洛韦的合成路线可知,侧链先乙酰化再与 2-氨基-6-氯鸟嘌呤反应,产物再经过酸水解最终得到喷昔洛韦,若水解反应不完全,则易产生有关物质 **15**。观察强制降解试验结果可知,有关物质 **15** 在强酸、强碱条件下,发生降解而含量下降,但其余条件均较稳定,也与该酯键在酸、碱条件下易水解特征相应(图 6)。

**3.3.2.6 二聚体杂质** 有关物质 **18**、**20**、**22** 分别为喷昔洛韦的工艺杂质和多种条件下的降解杂质。根据元素组成、质谱特征可知,有关物质 **18**、**20**、**22** 均含有 2 个鸟嘌呤母核,并根据剩余的碳原子与氧原子数以及极性大小的不同,可推测有关物质 **18**、**20**、**22** 的结构为喷昔洛韦经不同程度甲醛缩合的产物(图 6)。以有关物质 **22** 为例,对二聚体杂质进行结构解析。有关物质 **22** 的 MS/MS 主要特征碎片离子  $m/z$  152.057 0 ( $C_5H_6N_5O^+$ ) 与鸟嘌呤  $[M + H]^+$  相应;碎片离子  $m/z$  254.125 0 ( $C_{10}H_{16}N_5O_3^+$ ) 证明此有关物质保留喷昔洛韦母核结构, $m/z$  266.127 6 ( $C_{11}H_{16}N_5O_3^+$ ) 与  $[M + H]^+$  脱去 1 分子喷昔洛韦相应。又因有关物质 **22** 极性较弱、保留较强,故推测 1 分子喷昔洛韦与甲醛发生反应生成席夫碱(亚胺中间体),另 1 分子喷昔洛韦再亲核进攻此亚胺中间体而形成有关物质 **22**<sup>[18]</sup>。

**3.3.2.7 辅料及其降解杂质** 化合物 **19** 是酸、碱破坏条件下产生的杂质,同时酸碱破坏条件下化合物 **23** 不存在,其余条件下化合物 **23** 均存在,且化合物 **19**、**23** 含量均较大,故推测是化合物 **19** 是由化合物 **23** 降解得到。

采用电喷雾离子源正离子模式测定化合物 **19**、**23**,发现无质谱信号,又因它们的 DAD 图与喷昔洛韦相差较大,且化合物 **23** 在样品中的含量较高,故怀疑其是具有紫外吸收的乳膏辅料。化合物 **23** 的保留较强,极性较弱,故换用 APCI 源正/负离子模式测定。结果显示,化合物 **19**、**23** 在 APCI 负离子模式有响应。

测得化合物 **23**  $[M - H]^-$  离子的准确质量为

151.040 2,与离子式  $C_8H_7O_3^-$  相应。MS/MS 主要特征碎片离子 136.016 2 ( $C_7H_4O_3^{--}$ )、92.026 3 ( $C_6H_4O^{--}$ ) 与  $[M - H]^-$  脱去甲基自由基并进一步脱去  $CO_2$  相应。测得化合物 **19**  $[M - H]^-$  的准确离子质量为 137.024 2,与离子式  $C_7H_5O_3^-$  相应。MS/MS 主要特征碎片离子 93.034 3 ( $C_6H_5O^-$ ) 与  $[M - H]^-$  脱去  $CO_2$  相应。化合物 **19**、**23** 的 DAD 图可知,它们分别在 254、255 nm 处有最大吸收。故推测化合物 **23** 为辅料对羟基苯甲酸甲酯、化合物 **19** 为辅料降解产物对羟基苯甲酸(图 6)。

#### 4 讨论

在建立的 2D-LC-Q TOF/MS 条件下,喷昔洛韦与各有关物质均得到有效的分离,共检测到 23 个化合物,经鉴定,21 个有关物质均为本文首次鉴定的未知有关物质,其余 2 个为辅料和辅料降解杂质。根据喷昔洛韦及其有关物质的结构和相关裂解途径,总结了喷昔洛韦的有关物质来源。

在合成过程中,甲醛与喷昔洛韦反应生成有关物质 **8**;有关物质 **15** 为合成过程中生成的单乙酰化喷昔洛韦;甲醛参与反应,2 个分子喷昔洛韦易发生聚合,生成有关物质 **22**。在氧化条件下,鸟嘌呤 C-4、C-5 位被羟基化得到有关物质 **1**;鸟嘌呤 3 位发生氮氧化同时嘧啶环丢失 CO、咪唑环丢失 HCN 得到有关物质 **2**;喷昔洛韦 8 位氧化成酮,形成有关物质 **7**,在此基础上,喷昔洛韦 3 位叔胺发生氮氧化,则形成有关物质 **6**;喷昔洛韦 3 位氮氧化,且侧链与甲醛反应形成有关物质 **9**。在酸性条件下,甲醛与喷昔洛韦侧链两羟基反应成环得到有关物质 **13**。在高温干法条件下,3 位叔胺发生氮氧化反应,氨基与断裂的支链碎片连接,喷昔洛韦原有侧链连接在 7 位或 9 位,得到同分异构体:有关物质 **3** 和 **4**;氨基与聚乙二醇降解产物羟基乙酸反应生成酰胺,得到有关物质 **10**;喷昔洛韦侧链末端与醛基相连,形成有关物质 **11**;氨基与断裂后的支链连接,喷昔洛韦原有侧链连接在 7 位或 9 位,得到同分异构体:有关物质 **14** 和 **16**;有关物质 **13** 与喷昔洛韦通过次甲基连接生成有关物质 **18**;有关物质 **22** 与乙醛反应生成有关物质 **20**;喷昔洛韦与乙二醇链反应生成有关物质 **21**。在高温湿法条件下,氨基与聚乙二醇的降解产物乙酸反应生成有关物质 **5**;喷昔洛韦侧链末端的 1 个羟基被氧化成羧基,与喷昔洛韦的氨基相连生成有关物质 **12**;氨基与甲酸

乙酯相连生成有关物质 **17**。化合物 **23** 为添加的防腐剂对羟基苯甲酸甲酯,在酸、碱条件下化合物 **23** 降解为化合物 **19** 对羟基苯甲酸。本研究的结果表明,喷昔洛韦乳膏在高温下易和辅料聚乙二醇反应,在生产以及储存时应加以注意。

#### 参考文献

- [ 1 ] HODGE R, CHENG YC. The mode of action of penciclovir[J]. *Antivir Chem Chemother*, 1993, 4(6):13
- [ 2 ] BOYD M, SAFRIN S, KERN E. Penciclovir; a review of its spectrum of activity, selectivity, and cross-resistance pattern[J]. *Antivir Chem Chemother*, 1993, 4(6):3
- [ 3 ] SCHMID - WENDTNER MH, KORTING HC. Penciclovir cream - improved topical treatment for herpes simplex infections [J]. *Skin Pharmacol Physiol*, 2004, 17(5):214
- [ 4 ] 周利娟, 刘红. 喷昔洛韦乳膏的 HPLC 测定[J]. *中国医药工业杂志*, 2007, 38(5):374
- ZHOU LJ, LIU H. Determination of penciclovir cream by HPLC [J]. *Chin J Pharm*, 2007, 38(5):374
- [ 5 ] 王校生. 注射用喷昔洛韦的制备及质量研究[J]. *化工管理*, 2021(4):66
- WANG XS. Study on preparation and quality of penciclovir for injection[J]. *Chem Enterprise Manag*, 2021(4):66
- [ 6 ] 闵春艳, 王鸣人, 吴杨, 等. UPLC-MS/MS 法检测抗菌乳膏中的痕量地塞米松和倍他米松[J]. *药物分析杂志*, 2017, 37(7):1248
- MIN CY, WANG MR, WU Y, *et al.* Determination of dexamethasone and betamethasone in creams of antimicrobial agent by UPLC-MS/MS[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2017, 37(7):1248
- [ 7 ] 关蓉, 周瑞琪, 陆宇婷, 等. 复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏有关物质的色谱-质谱结构鉴定[J]. *药物分析杂志*, 2019, 39(12):2126
- GUAN R, ZHOU RQ, LU YT, *et al.* Identification of the related substances of compound tazarotene and clobetasol propionate ointment by LC-MS techniques[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2019, 39(12):2126
- [ 8 ] 李进, 姚尚辰, 胡昌勤. 注射用青霉素钠的聚合物杂质分析[J]. *中国新药杂志*, 2023, 32(6):629
- LI J, YAO SC, HU CQ. Analysis of polymer impurities in penicillin sodium for injection[J]. *Chin New Drugs J*, 2023, 32(6):629
- [ 9 ] 王理, 王嘉庆, 张立雯. 二维柱切换高效液相色谱法测定美白类化妆品中氢醌和苯酚[J]. *药物分析杂志*, 2022, 42(6):1065
- WANG C, WANG JQ, ZHANG LW. Determination of hydroquinone and phenol in whitening cosmetics by column switching two dimensional HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2022, 42(6):1065
- [ 10 ] CHOUDARY BM, GEEN GR, GRINTER TJ, *et al.* Influence of remote structure upon regioselectivity in the *N*-alkylation of 2-amino-6-chloropurine: application to the synthesis of penciclovir[J]. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 1994, 13(4):979
- [ 11 ] 陈梅玲, 裴慧霞. 喷昔洛韦合成工艺研究[J]. *中国药业*, 2006, 15(7):33
- CHEN ML, PEI HX. Study on synthetic technique of penciclovir [J]. *China Pharm*, 2006, 15(7):33
- [ 12 ] 王李杰, 林冬香, 朱米群, 等. 阿昔洛韦片有关物质的 LC-Q-TOF/MS 鉴定[J]. *药物分析杂志*, 2023, 43(8):1381.
- WANG LJ, LIN DX, ZHU MQ, *et al.* Identification of the related substances in acyclovir tablets by LC-Q-TOF/MS[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43(8):1381
- [ 13 ] 齐文竹, 邹桐, 管艺同, 等. LC-Q-TOF/MS 技术鉴定阿替洛尔中氨基醇类有关物质[J]. *中国药科大学学报*, 2020, 51(5):544
- QI WZ, ZOU T, GUAN YT, *et al.* Identification of amino alcohols related substances of atenolol by LC-Q-TOF/MS[J]. *J China Pharm Univ*, 2020, 51(5):544
- [ 14 ] WATERMAN KC, ARIKPO WB, FERGIONE MB, *et al.* *N*-methylation and *N*-formylation of a secondary amine drug (varenicline) in an osmotic tablet[J]. *J Pharm Sci*, 2008, 97(4):1499
- [ 15 ] WASYLASCHUK WR, HARMON PA, WAGNER G, *et al.* Evaluation of hydroperoxides in common pharmaceutical excipients[J]. *J Pharm Sci*, 2007, 96(1):106
- [ 16 ] LIENARD P, GAVARTIN J, BOCCARDI G, *et al.* Predicting drug substances autoxidation[J]. *Pharm Res*, 2015, 32(1):300
- [ 17 ] EP 11.2. Vol II [S]. 2023: 1758, 2735
- [ 18 ] BINDRA DS, WILLIAMS TD, STELLA VJ. Degradation of *O*<sup>6</sup>-benzylguanine in aqueous polyethylene glycol 400 (PEG 400) solutions: concerns with formaldehyde in PEG 400[J]. *Pharm Res*, 1994, 11(7):1060

(本文于 2023 年 5 月 11 日收到)