奥贝胆酸原料药中有关物质 HPLC-CAD 检测方法的建立与验证

周培培[1,2]，佘鹏鹏[1,2]，孙春艳[1,2]*

（1. 扬子江药业集团有限公司，江苏泰州 225300；2. 克服递药屏障高端制剂全国重点实验室，江苏泰州 225300）

摘要：研究建立并验证了奥贝胆酸原料药中有关物质的高效液相色谱 - 电雾式检测器（HPLC-CAD）测定法。使用 Poroshell EC-C_{18} 色谱柱（4.6 mm×150 mm，2.7 μm），流动相 A 为 0.1%甲酸溶液，B 为乙腈，梯度洗脱，流速 1 mL/min，柱温 30 ℃。通过专属性、线性、精密度、准确度及耐用性等试验，对该检测方法进行方法学验证。结果表明，在各介质条件下，奥贝胆酸、熊去氧胆酸、奥贝胆酸乙酯及杂质 Z1 ～ Z6 在 0.40 ～ 16.16 μg/mL 的质量浓度范围内与峰面积线性关系良好，精密度与准确度均符合分析要求，且供试品溶液在 39 h 内稳定。该法能准确测定奥贝胆酸中的有关物质，适用于其原料药的质量控制。

关键词：奥贝胆酸；熊去氧胆酸；奥贝胆酸乙酯；有关物质；高效液相 - 电雾式检测器法；质量控制

中图分类号：R917；R975^{+}.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2026)08-0983-07

引用：周培培, 佘鹏鹏, 孙春艳. 奥贝胆酸原料药中有关物质HPLC-CAD检测方法的建立与验证[J]. 中国医药工业杂志, 2026, **57**(8): 983-989. DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2026.08.013

Establishment and Validation of an HPLC-CAD Method for the Determination of Related Substances in Obeticholic Acid Bulk Drug

ZHOU Peipei[1,2], SHE Pengpeng[1,2], SUN Chunyan[1,2]*

(*1. Yangtze River Pharmaceutical Group Co., Ltd., Taizhou 225300; 2. National Key Lab. of Complex Drug Formulations for Overcoming Delivery Barriers, Taizhou 225300*)

ABSTRACT: An HPLC method with charged aerosol detection (CAD) was established for the determination of the related substances in obeticholic acid bulk drug. The analysis was performed on a Poroshell EC-C_{18} column (4.6 mm×150 mm, 2.7 μm), with a mobile phase of 0.1% formic acid solution and acetonitrile under gradient elution. The flow rate was 1 mL/min, and the column temperature was 30 ℃. The analytical method was validated by a series of tests including specificity, linearity, precision, accuracy and robustness. The results showed that obeticholic acid, ursodeoxycholic acid, obeticholic acid ethyl ester, and impurities Z1 − Z6 exhibited good linear relationships between mass concentration and peak area within the range of 0.40 − 16.16 μg/mL. The precision and accuracy complied with analytical requirements, and the sample solution remained stable for up to 39 h. The established HPLC-CAD method enables accurate quantification of related substances in obeticholic acid and is applicable to its quality control.

Key Words: obeticholic acid; ursodeoxycholic acid; obeticholic acid ethyl ester; related substance; HPLC-CAD; quality control

奥贝胆酸（obeticholic acid，**1**）是一种法尼醇 X 受体（farnesoid X receptor，FXR）激动药，可调节胆汁酸代谢，在胆汁淤积性肝病治疗中具有重要临床价值[1]。与传统胆汁酸药物熊去氧胆酸（ursodeoxycholic acid，**2**）相比，**1** 具有更强的 FXR 亲和力，能有效改善肝脏纤维化和缓解炎症[2]，主要用于治疗非酒精性脂肪性肝炎，其长期疗效与安

收稿日期：2026-01-27

作者简介：周培培，工程师，从事药物质量的研究。

通信作者：孙春艳，副主任药师，从事药物质量的研究。

全性受到广泛关注[3-4]。甾体骨架的化学结构决定了**1**在生产和贮存中易发生降解、异构化或酯化，产生奥贝胆酸乙酯（obeticholic acid ethyl ester，**3**）等杂质。因此，建立精准监控**1**有关物质的分析方法，可有效保障产品质量与用药安全[5]。

1合成过程中产生的杂质包括：工艺副产物**2**、主成分与残留乙醇的酯化产物3*α*,7*α*-二羟基-6*α*-乙基-5*β*-胆烷酸乙酯（**3**）、反应中间体还原产生的3*α*,7*α*-二羟基-6*β*-乙基-5*β*-胆甾烷-24-酸（杂质**Z1**）、硼氢化钠还原副产物3*α*,7*β*-二羟基-6*α*-乙基-5*β*-胆甾烷-24-酸（杂质**Z2**）、中间体还原产生的3*α*,7*β*-二羟基-6*β*-乙基-5*β*-胆甾烷-24-酸（杂质**Z3**）、主成分过度还原的产物3*α*,7*α*-二羟基-6*α*-乙基-5*β*-胆烷醇（杂质**Z4**）、起始物料残留和工艺杂质3*α*,7*α*-二羟基-5*β*-胆甾烷-24-酸（杂质**Z5**）和（*E*）-3*α*,7*α*-二羟基-6-乙叉基-5*β*-胆甾烷-24-酸（杂质**Z6**）。**1**及其有关物质的结构式如图1所示。

1及其杂质分子结构中缺乏强紫外发色团，常规HPLC-紫外检测法灵敏度较低[6]。电雾式检测器（charged aerosol detection，CAD）的响应不依赖化合物的光学性质，针对弱紫外化合物，CAD在灵敏度、重现性及梯度兼容性方面优势显著[7]。本研究旨在建立并验证一种专用于**1**有关物质分析的HPLC-CAD方法，并对方法的专属性、线性、精密度、准确度及耐用性进行验证[8]。本法为**1**原料药的质量控制提供了灵敏、可靠的分析工具，并可为其杂质谱研究与质量评价提供参考[9]。

1　仪器与试药

Thermo Ultimate 3000型高效液相色谱仪（美国Thermo Fisher公司）；XPE205DR型电子天平、ML204型电子天平和Seven Compact型pH计（瑞士Mettler Toledo多公司）。

1原料药（含量99.6%、99.5%、99.9%，批号19111601、R191118011、20030501）和**1**对照品（含量≥97.3%，批号RS18101801-201912）均由扬子江药业集团有限公司提供；**2**对照品（上海思言生物科技有限公司，含量≥99.7%，批号RSSY20180426-A06）；**3**对照品［梯尔希（南京）药物研发有限公司，含量≥99.9%，批号RS3503-090A4］；**Z1**（含量≥98.5%，批号RS02-APR-17-28）、**Z2**（含量≥98.4%，批号RS08-MAR-17-07）、**Z3**（含量≥99.4%，批号RS14-MAY-17-27）、**Z4**（含量≥99.5%，批号RS30-MAY-17-31）、**Z5**（含量≥99.2%，批号RS25-JUN-17-01）和**Z6**（含量≥97.4%，批号RS11-MAY-17-02）的对照品均由美国Quality Control Chemicals公司提供；甲酸、氢氧化钠、盐酸及双氧水为分析纯，乙腈、甲醇为色谱纯，水为超纯水。

2　方法与结果

2.1　色谱条件

色谱柱　Poroshell EC-C_{18}柱（4.6 mm×150 mm，2.7 μm）；流动相　A为0.1%甲酸溶液，B为乙腈，

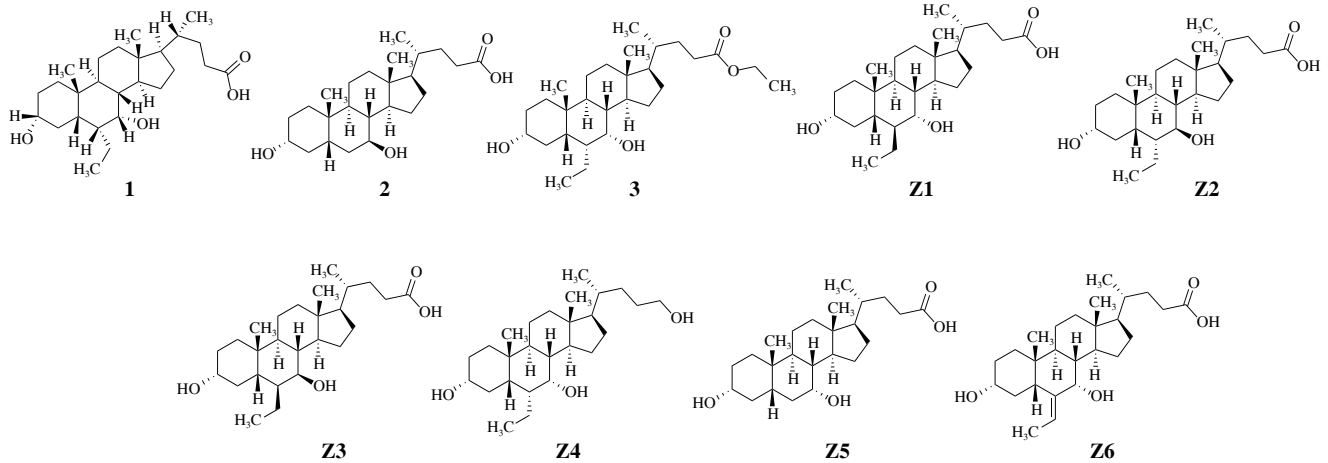


图1　1及其有关物质的化学结构

Fig.1　Chemical Structures of **1** and Its Related Substances

梯度洗脱（表 1）；柱温 30 ℃；检测器 CAD；雾化温度 35 ℃；流速 1 mL/min；进样量 20 μL。

表 1 梯度洗脱程序

Tab.1 Gradient Elution Program

t/min	A/%	B/%
0	60	40
20	40	60
40	20	80
45	10	90
50	10	90
52	60	40
60	60	40

2.2 溶液制备

稀释剂：80%乙腈水溶液。

供试品溶液：精密称取 **1** 原料药 50 mg，置 10 mL 量瓶中，用稀释剂溶解并定容，摇匀，即得。

1%对照溶液：精密量取供试品溶液 1 mL，置于 100 mL 量瓶中，用稀释剂定容，摇匀，即得。

1 对照品贮备液：精密称取 **1** 对照品 10 mg，置于 10 mL 量瓶中，加入稀释剂超声溶解后，用稀释剂定容，即得。

各杂质对照品贮备液：精密称取 **2**、**3**、**Z1** ～ **Z6** 的对照品各 10 mg，分别置 10 mL 量瓶中，加入稀释剂超声溶解后，用稀释剂定容，即得。

线性贮备液：分别精密量取 **1** ～ **3**、**Z1** ～ **Z4**、**Z6** 对照品贮备液各 1 mL，**Z5** 对照品贮备液 1.5 mL，置同一 20 mL 量瓶中，用稀释剂定容，摇匀，得 **1** ～ **3**、**Z1** ～ **Z4**、**Z6** 质量浓度为 50 μg/mL，**Z5** 质量浓度为 75 μg/mL 的混合杂质对照品溶液。精密量取 2 mL 上述溶液，置 10 mL 量瓶中，加稀释剂定容，摇匀，即得。

混合杂质对照品溶液：分别精密量取 **2**、**3**、**Z1** ～ **Z4**、**Z6** 杂质对照品贮备液各 1 mL，**Z5** 对照品贮备液 1.5 mL，置同一 20 mL 量瓶中，用稀释剂定容，摇匀，得 **2**、**3**、**Z1** ～ **Z4**、**Z6** 质量浓度为 50 μg/mL，**Z5** 质量浓度为 75 μg/mL 的混合杂质对照品溶液。精密量取 2 mL 上述溶液，置 10 mL 量瓶中，加稀释剂定容，摇匀，即得。

回收率试验溶液：精密称取 **1** 原料药 50 mg，共 3 份，各置于 100、10、5 mL 量瓶中，分别加入混合杂质对照品溶液 1 mL（各杂质限度为 10%、100%、200%），再加稀释剂定容，摇匀，即得。

线性试验溶液：精密量取线性贮备液适量，加稀释剂制成 **1** ～ **3**、**Z1** ～ **Z4**、**Z6** 质量浓度梯度为 1.0、2.5、5.0、7.5、10.0 μg/mL，**Z5** 质量浓度梯度为 1.50、3.75、7.50、11.25、15.00 μg/mL 的系列线性试验溶液。

分离度溶液：取 **1** 126 mg，精密称定，置于 25 mL 量瓶中，再精密量取各杂质对照品贮备液各 1 mL，置同一 25 mL 量瓶中，加稀释剂定容，摇匀，即得。

2.3 系统适用性及定位试验

取“**2.2**”项下各杂质对照品贮备液作为定位溶液，将稀释剂、定位溶液和分离度溶液分别按“**2.1**”项下条件进样测定，记录色谱图（图 2），以及分离度溶液和定位溶液的色谱峰保留时间（表 2）。结果表明，稀释剂在各已知物质出峰处无干扰；分离度溶液中，杂质与杂质之间、杂质与 **1** 主峰之间的分离度均大于 1.5，系统适用性良好。

2.4 专属性试验

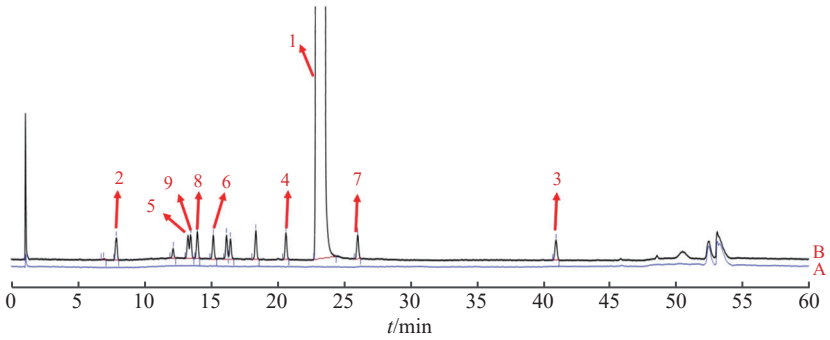
在光、湿、热、酸、碱、氧化剧烈破坏条件下，对 **1** 的杂质产生情况进行考察。①未破坏：取 **1** 50 mg，精密称定，置 10 mL 量瓶中，加入稀释剂溶解并定容，摇匀；②光破坏（溶液破坏）：取 **1** 50 mg，置 10 mL 量瓶中，加入稀释剂适量使溶解，在光照强度为

表 2 分离度溶液和定位溶液中各有关物质的保留时间

Tab.2 Retention Times of All Related Substances in the Resolution Solution and the Identification Solution

杂质	定位溶液 保留时间 /min	分离度溶液 保留时间 /min	与相邻峰 最小分离度
2	8.0	0.34	18.12
Z2/**Z6**[1)]	13.6	0.58	2.05
Z5	14.1	0.60	5.25
Z3	15.3	0.65	4.31
Z1	20.7	0.88	5.37
1	23.5	1.00	4.78
Z4	26.1	1.11	54.60
3	40.9	1.74	—

注：[1)]**Z2**/**Z6** 的保留时间接近，验证时使用 CAD 检测器检测绝对质量，可作区分；实际检测中，若有检出，不作区分是 Z2 还是 Z6，将这 2 个杂质合并为一个未知单杂进行限度控制。



1—**1**；2—**2**；3—**3**；4—**Z1**；5—**Z2**；6—**Z3**；7—**Z4**；8—**Z5**；9—**Z6**。

图 2　稀释剂（A）与分离度溶液（B）的系统适用性图谱

Fig.2　System Suitability Chromatograms of Diluent（A）and Resolution Solution（B）

（4 500±500）lx 环境中放置 24 h，取出，加入稀释剂定容，摇匀；③固体高温破坏：取 **1** 适量，于 60 ℃放置 7 d，取 50 mg，精密称定，置 10 mL 量瓶中，加入稀释剂溶解并定容，摇匀；④溶液高温破坏：取 **1** 50 mg，置 10 mL 量瓶中，加入稀释剂适量使溶解，于 60 ℃放置 24 h，放冷至室温，加入稀释剂定容，摇匀；⑤酸破坏：取 **1** 50 mg，精密称定，置 10 mL 量瓶中，加入稀释剂适量使溶解，再加入 1 mol/L 盐酸 2 mL，室温放置 24 h，再加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液 2 mL 中和，加入稀释剂定容，摇匀；另取 1 mol/L 盐酸 2 mL 置 10 mL 量瓶中，室温放置 24 h，加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液 2 mL 中和，加入稀释剂定容，摇匀，配得酸碱空白溶液；⑥碱破坏：取 **1** 50 mg，精密称定，置 10 mL 量瓶中，加入稀释剂适量使溶解，加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液 2 mL，室温放置 24 h，再加入 1 mol/L 盐酸 2 mL 中和，加入稀释剂定容，摇匀；⑦氧化破坏：取 **1** 50 mg，精密称定，置 10 mL 量瓶中，加入稀释剂适量使溶解，加入 10%过氧化氢溶液 2 mL，室温放置 24 h，加入稀释剂定容，摇匀；另取 10%过氧化氢溶液 2 mL，置 10 mL 量瓶中，室温放置 24 h，加入稀释剂定容，摇匀，配得氧化空白溶液。

取上述各破坏样品溶液、空白溶液，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定，并记录色谱图。各破坏条件下所产生的降解产物均能良好分离，各降解产物之间也能较好分离，各破坏性试验样品溶液的主峰纯度合格，物料保持平衡，说明此法专属性好，能有效检测 **1** 中的降解产物。

结果显示，**1** 碱破坏及氧化破坏条件下，杂质明显增加；其余条件下杂质无明显变化，**1** 与相邻杂质峰的分离度符合要求，降解杂质不干扰已知杂质的检测；典型色谱图如图 3 所示，测定结果如表 3 所示，各强制破坏条件下，质量平衡均在 90%～110%，方法专属性良好。

2.5　LOD 与 LOQ

取“**2.2**”项下线性试验溶液，按“**2.1**”项下色谱条件进行测定，以信噪比 *S*/*N* ≥ 3 计算 LOD，以 *S*/*N* ≥ 10 计算 LOQ，结果如表 5 所示。各杂质及

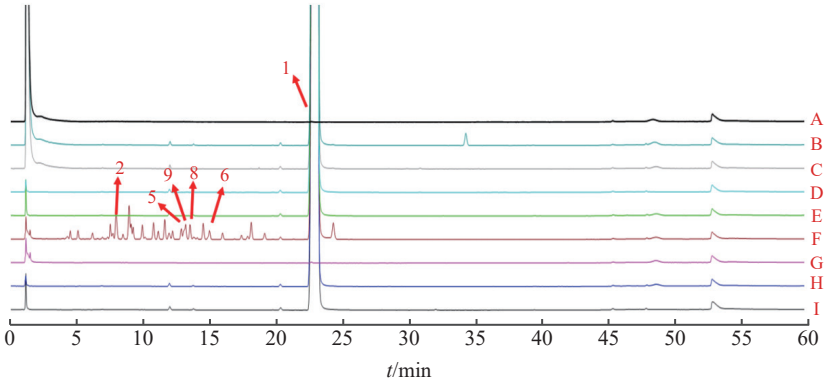
表 3　强制降解试验结果

Tab.3　Results of Forced Degradation Studies

样品	主峰面积	总峰面积	主峰回收率[1)]/%	质量平衡[2)]/%
未破坏	6 342.766	6 351.665	—	—
光破坏（溶液破坏）	6 377.834	6 386.460	99.3	99.3
固体高温破坏	6 004.145	6 060.706	95.1	95.9
溶液高温破坏	6 308.957	6 317.865	98.8	98.8
酸破坏	6 388.212	6 399.155	100.0	100.0
碱破坏	6 441.526	6 472.858	101.6	101.9
氧化破坏	6 939.013	6 972.983	108.7	109.0

注：[1)] 主峰回收率 =（各破坏条件下主峰峰面积 × 未破坏供试品称样量）/（未破坏主峰峰面积 × 各破坏条件下供试品称样量）×100%；

[2)] 质量平衡 =（各破坏条件下总峰面积 × 未破坏供试品称样量）/（未破坏总峰面积 × 各破坏条件下供试品称样量）×100%。



A—酸碱空白；B—碱破坏供试品；C—酸破坏供试品；D—光破坏（溶液破坏）供试品；E—溶液高温破坏供试品；F—氧化破坏供试品；G—氧化破坏空白；H—固体高温破坏供试品；I—未破坏供试品。

1—**1**；2—**2**；5—**Z2**；6—**Z3**；8—**Z5**；9—**Z6**。

图 3 强制降解试验色谱图

Fig.3 Chromatogram of Forced Degradation Test

主成分的 LOQ 溶液连续测定 6 次，所得峰面积的 RSD（n=6）均不大于 10%。根据临床使用说明书中 **1** 的用法及用量，其最大日剂量不大于 10 mg。依据 2005 年 NMPA 药品审评中心发布的《化学药物杂质研究的技术指导原则》要求，**1** 原料药中杂质的报告限度为 0.05%，而本研究显示各杂质及 **1** 的 LOQ 均小于供试品浓度的 0.05%，提示该方法灵敏度满足杂质分析的要求。

2.6 线性试验

取“**2.2**”项下线性试验溶液，按“**2.1**”项下色谱条件进样，以峰面积对数值（y）为纵坐标、质量浓度对数值（x）为横坐标进行线性回归，计算标准曲线方程（表 4）。**1** 及各杂质在各自质量浓度范围内线性相关系数均大于 0.99，y 轴截距偏差均小于 0.25，线性关系良好。本品采用 CAD 检测有关物质，其响应值仅与被测物质的质量有关，与待测物质的结构无关，故不再考察各杂质的校正因子[10-11]。

2.7 重复性及中间精密度试验

取“**2.2**”项下供试品溶液和 1%对照溶液，各 6 份，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定。结果表明，6 份供试品溶液中检出 2 种含量在 LOQ 以上的杂质（种类一致）；单杂和总杂检出量均小于 0.1%，极差均不大于 0.02%，该方法重复性良好。

为考察随机变动因素对精密度的影响，于不同日期，由另一名分析人员按上述方法进行试验。12 份供试品溶液中各杂质的检测结果均符合限度要求，

表 4 线性试验、LOD 和 LOQ 结果

Tab.4 Results of the Linearity Test, LOD and LOQ

名称	线性范围 /（μg·mL^{-1}）	线性方程	相关系数	LOD/（μg·mL^{-1}）	LOQ/（μg·mL^{-1}）	LOQ 溶液测得的峰面积 RSD/%（n=6）
1	0.41 ～ 9.85	y=5.358 7x+1.081 9	0.999 1	0.12	0.41	7.6
2	0.44 ～ 10.88	y=4.931 5x+1.659 3	0.998 4	0.13	0.44	7.0
3	0.43 ～ 10.75	y=5.488 x+1.581 9	0.998 2	0.13	0.43	5.0
Z1	0.41 ～ 10.19	y=4.819 2x+1.131 0	0.998 7	0.12	0.41	8.3
Z2	0.43 ～ 9.85	y=4.715 8x+1.493 6	0.999 0	0.13	0.43	4.2
Z3	0.40 ～ 10.03	y=4.867 8x+1.363 7	0.999 3	0.12	0.40	8.7
Z4	0.43 ～ 10.82	y=4.599 2x+1.180 0	0.999 0	0.13	0.43	4.7
Z5	0.43 ～ 16.16	y=4.478 1x+2.082 2	0.998 6	0.13	0.43	1.7
Z6	0.42 ～ 10.53	y=4.768 1x+1.591 9	0.999 5	0.13	0.42	4.0

检出 2 种含量在 LOQ 以上的杂质（种类一致）；单杂和总杂的检出量均小于 0.1%，极差均不大于 0.02%，该方法精密度良好。

2.8 回收率试验

取“**2.2**”项下混合杂质对照品溶液、回收率试验溶液，按“**2.1**”项下条件进样测定，记录色谱图，计算回收率。结果表明，**2**、**3**、**Z1** ～ **Z6** 的平均回收率分别为 101.7%、98.9%、95.4%、103.9%、101.1%、100.8%、100.7%、99.4%。10% 水平回收率试验溶液的回收率均在 70%～ 130%，100%、200% 浓度水平的回收率均在 80%～ 120%。3 个浓度水平回收率的 RSD（n=3）分别为 11.3%、8.8%、8.1%、13.9%、11.1%、9.3%、14.4%、9.6%，均小于 15.0%，方法准确度良好。

2.9 溶液稳定性试验

按“**2.2**”项下方法配制供试品溶液、1% 对照溶液，分别于室温放置 0、5、10、20、31、39 h，按“**2.1**”项下条件进样测定，记录色谱图。结果显示，各杂质及总杂含量在各时间点与 0 h 比较，单杂和总杂含量变化的绝对值均小于 0.02%，表明供试品溶液在室温条件下放置 39 h 内稳定。

2.10 耐用性试验

按“**2.2**”项下方法配制供试品溶液、1% 对照溶液，按“**2.1**”项下色谱条件，分别考察柱温［(30±5) ℃］、流速［(1.0±0.1) mL/min］、初始梯度流动相 A 比例［(60±2)%］、甲酸比例［(0.1%±0.02)%］微小变动对方法分离度及杂质检出情况的影响。结果显示，供试品溶液中各杂质及总杂检出量与正常条件相比变化的绝对值均小于 0.02%，检出量基本一致。分离度溶液色谱图（图 2）中各组分除 **Z6** 与 **Z2** 合并计算外，其他杂质与杂质之间，杂质与 **1** 主峰之间的分离度均符合要求，供试品溶液可检出的各杂质之间及与主峰之间的分离度均符合要求，方法耐用性良好。

2.11 样品测定

取 **1** 原料药和在加速条件［(40±2) ℃，相对湿度 (70±5)%］下放置 6 个月的 **1** 原料药各 3 批，按“**2.2**”项下配制供试品溶液及 1% 对照溶液。分别精密量取 20 μL，按“**2.1**”项下条件进样测定。多批次 **1** 原料药及加速条件下放置 6 个月的 **1** 原料药中，**Z1** 均小于 0.1%，**Z5** 均小于 0.15%，其他最大单杂均小于 0.10%，总杂均小于 0.5%（表 5）。

3 讨论

因 **1** 及其杂质无紫外吸收，本研究采用 HPLC-CAD 法，以可挥发性 0.1% 甲酸溶液 - 乙腈体系为初始条件，通过替换色谱柱、优化流速和柱温来改善杂质分离效果。化合物 **1** 的结构中含羧基，若选用甲醇为有机相，易发生酯化反应生成奥贝胆酸甲酯，干扰杂质检测，因此选用乙腈为流动相 B。

1 目前尚未被各国药典收录，也未检索到进口注册标准 [12]。参考 ICH Q3A(R) 指导原则《新药物质中的杂质》，结合 3 批 **1** 原料药的专属性试验、加速条件下放置 6 个月的结果，拟定 **1** 的有关物质限度为：**Z1** 不得大于 0.1%；**Z5** 不得大于 0.15%；其他单个杂质应不得大于 0.10%；总杂应不得大于 0.5%。供试品色谱图中保留时间 3 min 之前的杂质峰忽略不计 [13]。

本研究建立了 **1** 有关物质的检测方法，对该方法进行了全面的方法学验证。结果证明该方法专属性强、精密度好、灵敏度高、耐用性良好，适用于 **1** 有关物质的检测。

表 5　多批样品有关物质检测结果汇总表

Tab.5　Summary of Related Substances Test Results for Batches

放行标准限度	**1** 原料药			加速条件下放置 6 个月时的 **1** 原料药		
	19111601	R191118011	20030501	19111601	R191118011	20030501
Z1 ≤ 0.1%	0.030	0.010	0.010	0.030	0.009	0.010
Z5 ≤ 0.15%	0.060	0.020	0.010	0.060	0.020	0.004
其他单个杂质≤ 0.10%	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010
总杂≤ 0.5%	0.150	0.060	0.030	0.130	0.060	0.030

参考文献：

[1] 陈丽华, 高文恒, 等. 奥贝胆酸胆碱缀合物对高脂血症小鼠降血脂作用研究[J]. 药学与临床研究, 2025, **33**(3): 206-210.

[2] 张尚师, 郑滔, 谢晓玲, 等. 奥贝胆酸关键双键杂质的合成研究[J]. 广东药科大学学报, 2021, **37**(2): 63-65.

[3] 朱元菊, 程瑞雪, 侯旭奔, 等. FXR激动剂治疗非酒精性脂肪肝炎的临床研究进展[J]. 中国药物化学杂志, 2025, **35**(6): 468-479.

[4] 傅宇洁, 陈曦慧, 刘珉宇. 非酒精性脂肪性肝炎治疗靶点及药物研发进展[J]. 世界临床药物, 2025, **46**(2): 123-129.

[5] 周培培, 孙春艳, 侯晓虹. 雷诺嗪缓释片剂量倾泻方法学建立与验证[J]. 沈阳药科大学学报, 2024, **41**(12): 1627-1633.

[6] 郗伟, 李斌. 紫外-可见分光光度法测定H2O2氧化邻苯醌发色基团的实验研究[J]. 化学工程师, 2021, **35**(8): 22-25.

[7] 冉文华, 彭丽芳, 冷泽山, 等. 基于HPLC-CAD法与ELSD法测定蓖麻油中三蓖麻油酸甘油酯含量的对比研究[J]. 中国新药杂志, 2024, **33**(12): 1270-1276.

[8] 张迪, 张丽, 李尚颖, 等. 吡拉西坦氯化钠注射液有关物质的测定及影响因素考察[J]. 中国药物评价, 2024, **41**(3): 192-197.

[9] 丁极武, 李恩澳, 陆荣政, 等. 左乙拉西坦注射液中有关物质HPLC测定方法的建立[J]. 山东化工, 2025, **54**(2): 153-156.

[10] 徐晓茜, 周佳彤, 文松松, 等. 高效液相色谱联用电喷雾检测器解析利丙双卡因乳膏中聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油的含量[J]. 药学研究, 2025, **44**(7): 669-673.

[11] 陈震, 杨建红, 韩鹏, 等. 我国实施ICH Q系列技术指导原则的策略研究[J]. 现代药物与临床, 2018, **33**(4): 981-988.

[12] 孙昱, 郑蕊, 文海若. 单一成分药物有关物质的质量控制研究要点[J]. 药物评价研究, 2021, **44**(5): 924-930.

[13] 夏振华, 刘文志, 韩新荣, 等. HPLC分析方法验证中有关问题再探讨[J]. 药学与临床研究, 2020, **28**(2): 120-124.

（上接第 941 页）

and *Glycyrrhiza uralensis*: a sample preparation strategy to broaden analyte coverage of herbal medicines [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2021, **413**(23): 5871-5884.

[16] Zhen T, Wang H J, Li C H, *et al*. Characterization of chemical ingredients and in rats metabolic profiling of Lingyang Qingfei pills via ultra-high-performance liquid chromatography combined with Quadrupole-Exactive Orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2023, **46**(19): e2200793.

[17] Lener T, Štícha M, Nesměrák K. HPLC-MS/MS authentication of the eighteenth century liquorice drug remains and mass spectrometry of selected liquorice-specific compounds [J]. *Monatsh Chem*, 2024, **155**(8): 813-823.

[18] Perumal U, Sabareesh V. Molecular structural features and tandem mass spectral characteristics of flavonoids from the analysis of the LIPID MAPS Database [J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2026, **23**(5): e03379.

[19] Wang Y Q, Xu L P, Gu T G, *et al*. Direct identification and quantification of flavonoids and their structural isomers using ambient ionization tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2026, **40**(3): e10169.

[20] Ceccuzzi G, Rapino A, Perna B, *et al*. Liquorice toxicity: a comprehensive narrative review [J]. *Nutrients*, 2023, **15**(18): 3866.

[21] Rao J Q, Peng T, Li N, *et al*. Nephrotoxicity induced by natural compounds from herbal medicines-a challenge for clinical application [J]. *Crit Rev Toxicol*, 2022, **52**(9): 757-778.

[22] Rossi B, Freni F, Carelli C, *et al*. Determination of traditional and designer benzodiazepines in urine through LC-MS/MS [J]. *Curr Pharm Des*, 2022, **28**(32): 2622-2638.