

药物分析

第三章 药物的杂质检查



人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

主要内容

1

药物的杂质与限量

2

杂质的检查方法

3

一般杂质的检查方法

4

特殊杂质的检查方法



第一节

药物的杂质与限量



一、药物的杂质与纯度

杂质

- 任何影响药品纯度的物质均称为杂质。
- 无治疗作用，或影响药物的稳定性和疗效，甚至对人体健康有害。

药品纯度

- 指药物的纯洁程度，是反映药品质量的一项重要指标。
- 主要由药品质量标准中的“检查”项下的“杂质检查”来控制。



药物纯度的评价

- 应把药物的性状、理化常数、杂质检查、含量测定等作为一个有联系的整体来评价药物的纯度。

注意

药物纯度与化学纯度的区别



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

- 药物“纯度”是否合格：影响临床使用的安全性
- 化学“纯度”高低：品质优劣，化学可靠性

“毒胶囊事件”：工业明胶 $\neq$ 药用明胶

化工企业生产：“盐酸克仑特罗” = 瘦肉精

$\neq$

药企GMP生产：“盐酸克仑特罗” 药物原料



二、杂质的来源

生产过程中引入：

- 合成反应：原料、中间体、副产物；
- 残留：试剂、溶剂；
- 一般杂质：酸碱、水分、重金属等。

贮藏过程中引入：

环境影响所致：

- 发生的分解、转化、聚合等产生的有关杂质。

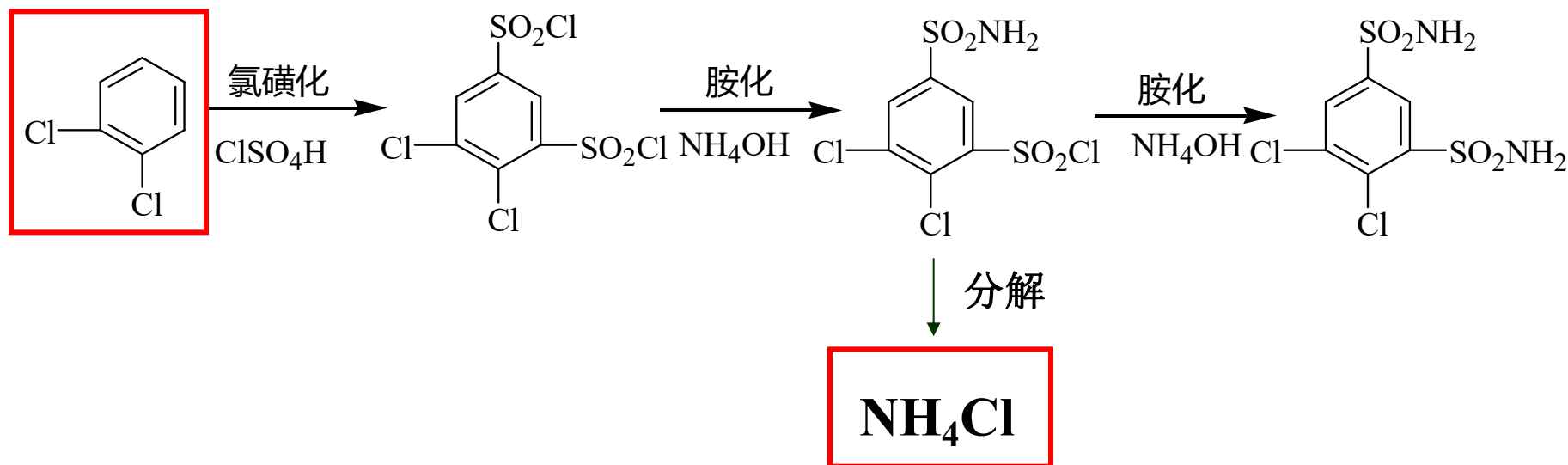


原料药生产中引入的杂质

- 示例：双氯非那胺的生产

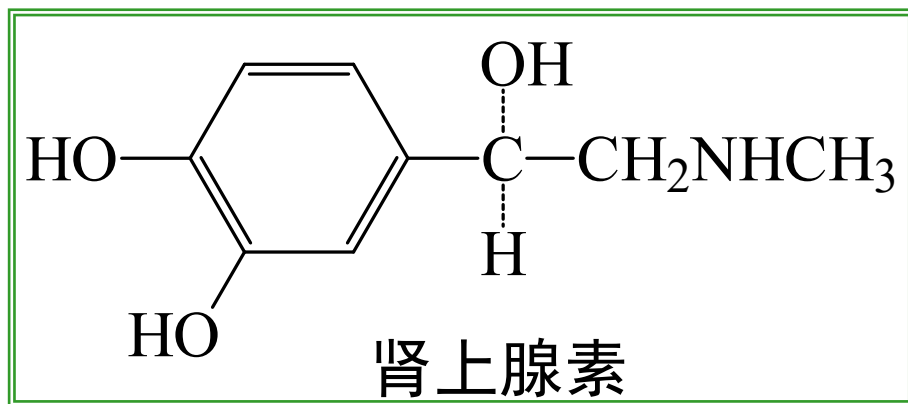
- 原料残留：邻二氯苯

- 中间体分解：氯化铵



制剂生产中引入的杂质

- 示例： 肾上腺素注射液
 - 抗氧化剂——焦亚硫酸钠
 - 稳定剂——EDTA-2Na



肾上腺素



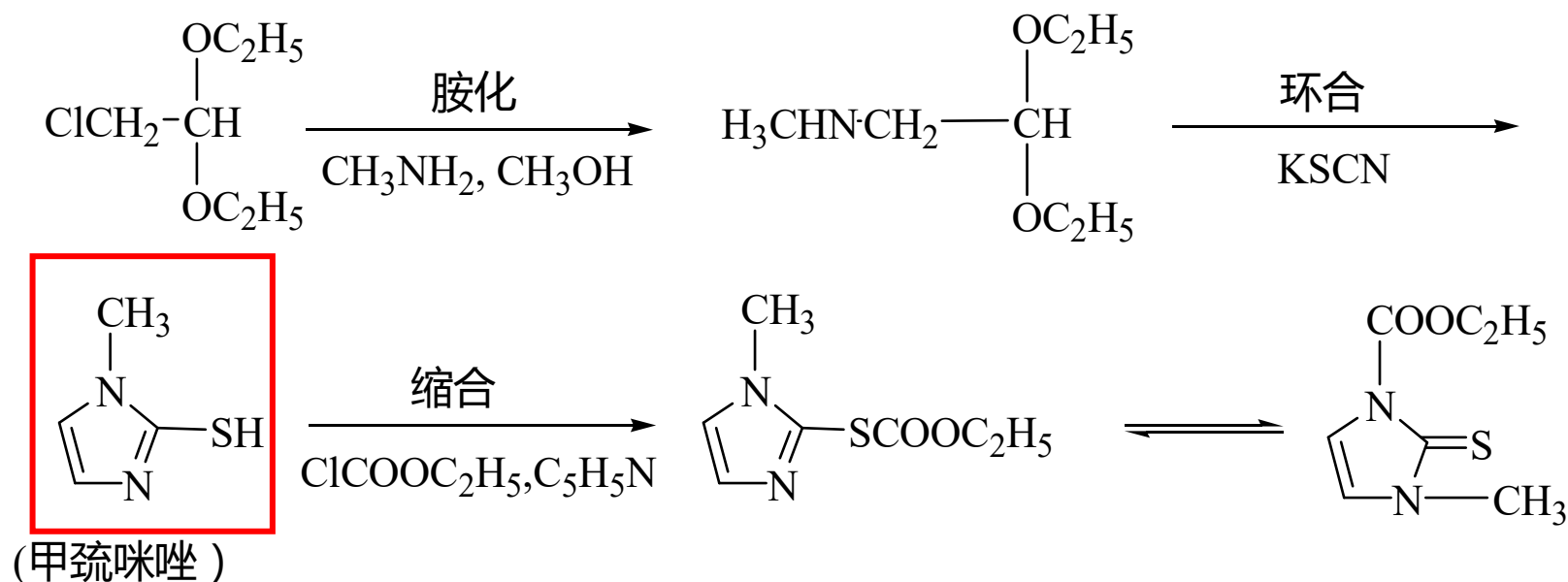
肾上腺素磺酸



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

贮藏过程中引入

- 卡比马唑的合成过程:



甲巯咪唑: 既是合成中间体，又是贮存过程中的分解产物。

严格控制贮藏条件，是保证药品质量的重要措施



三、杂质的种类与分类

按来源分

一般杂质

- 在自然界中分布较广泛，在大多数药物的生产和贮藏过程中均容易引入的杂质。
- 如：酸、碱、水分、氯化物、硫酸盐、重金属、砷盐。

特殊杂质

- 特定药物的生产和贮藏过程中引入的杂质。
- 如：阿司匹林→游离水杨酸，甲硝唑→2-甲基-5-硝基咪唑。



按毒性分

信号杂质

- 本身一般无害，但其含量的多少可以反映出药物的纯度水平，称其为“信号”杂质。
- 如氯化物、硫酸盐等；
- 仔细控制，保障规范生产。

毒性杂质

- 对人体有毒害的杂质。
- 如：重金属、砷盐、氰化物等，
- 严格控制：保证用药安全。



按化学类别和特性分类

无机杂质

来源于生产过程，一般是已知的和确定的，直接影响药物的稳定性，反映生产工艺情况

有机杂质

合成中未反应完全的原料、中间体、副产物、降解产物等

残留溶剂

生产中使用，未除净的有机溶剂



四、杂质的限量

定义

药物中所含杂质的最大允许量。

表示

百分之几或百万分之几（ppm）

计算

$$\text{杂质限量} = \frac{\text{杂质的最大允许量}}{\text{供试品的量}} \times 100\%$$

$$= \frac{\text{标准液浓度} \times \text{体积}}{\text{供试品的量}} \times 100\%$$

$$L(\%) = \frac{C \times V}{S} \times 100\%$$



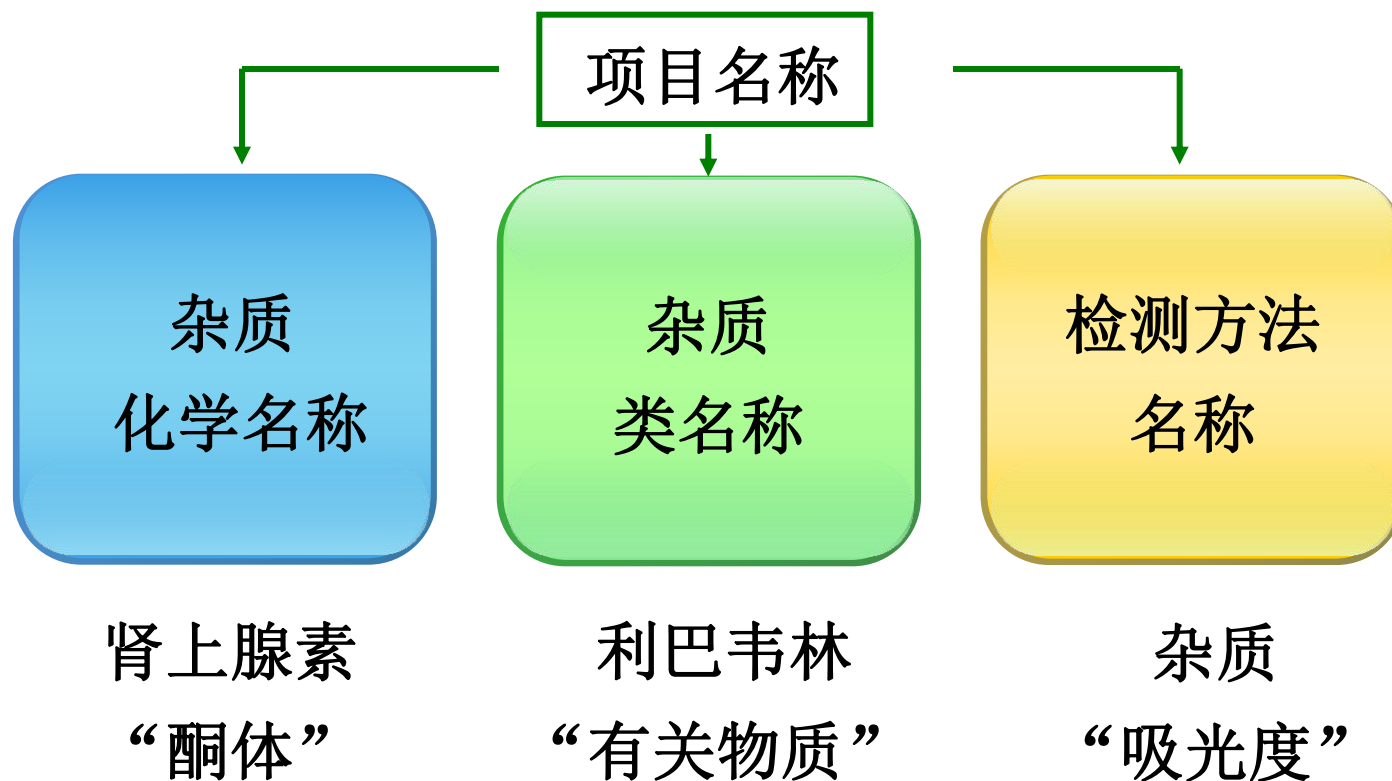
第二节

杂质的检查方法



一、杂质的研究规范

(一) 有机杂质在药品质量标准中的“项目名称”



（二）杂质检查项目的确定

- 原则：针对性

- 依据：起始原料、生产工艺、稳定性情况，确定检查项目。
- 尤其注意：降解产物和毒性杂质。
 - 原料中已控制的杂质，在制剂中一般不再控制。
 - 降解产物和毒性杂质：制剂中也必须检查。



（三）杂质限度的确定

确定原则（合理）

- 确保安全的前提下，顾及→生产可行性、批次波动性和药品的稳定性



根据每日剂量，控制的杂质一般限度：

药物	最大日剂量	报告限度 ^a	鉴定限度 ^b	质控限度 ^c
原料药	≤2g >2g	0.05% 0.03%	0.10%或1.0mg 0.05%	0.15%或1.0mg 0.05%
制剂	≤1g >1g <1mg 1~10mg >10mg~2g >2g <10mg 10~100mg >100mg~2g >2g	0.1% 0.05%	1.0%或5 μg 0.5%或20 μg 0.2%或2mg 0.10%	1.0%或50 μg 0.5%或200 μg 0.2%或3mg 0.15%

- a. 报告限度（**reporting threshold**）：超出此限度的 杂质均应在检测报告中报告，并应报告具体的检测数据。
- b. 鉴定限度（**identification threshold**）：超出此限度的杂质均应进行定性分析，确定其化学结构。
- c. 质控限度（**qualification threshold**）：质量标准中一般允许的杂质限度，如制订的限度高于此限度，则应有充分的依据。



（四）杂质检查方法的选择与验证

分析方法

- 专属、灵敏
- 采用HPLC法检查有机杂质时，常采用梯度洗脱。

专属性/要求

- 所有可能的杂质与主成分，及各杂质间的分离度。
- 根据原料药或制剂的生产工艺及储存条件，以中间体、立体异构体、粗品、重结晶母液、加速和破坏性试验后的样品作为测试品进行系统适用性研究。

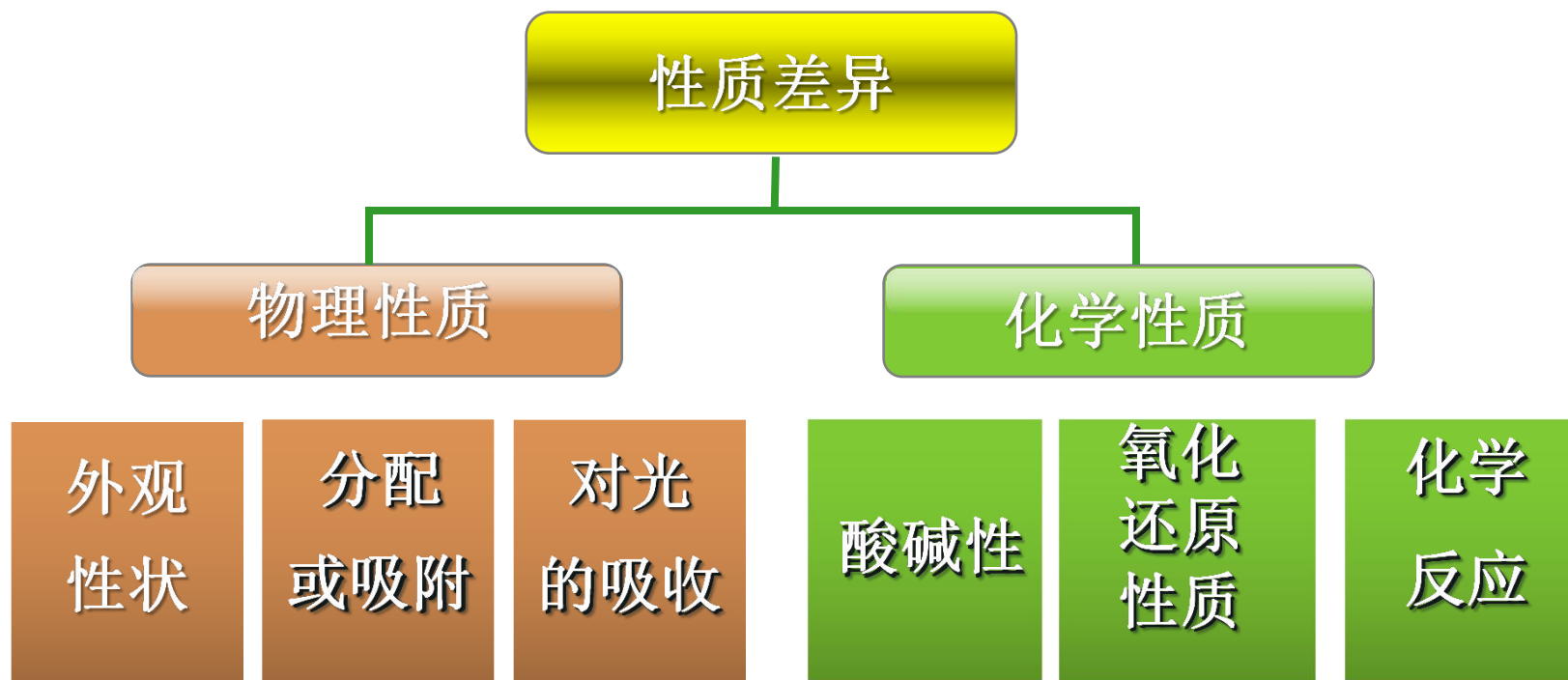


检测限

- 符合“杂质限度”检查的要求，“最低检测限”✧“报告限度”。



二、杂质的常用检查方法



常用方法

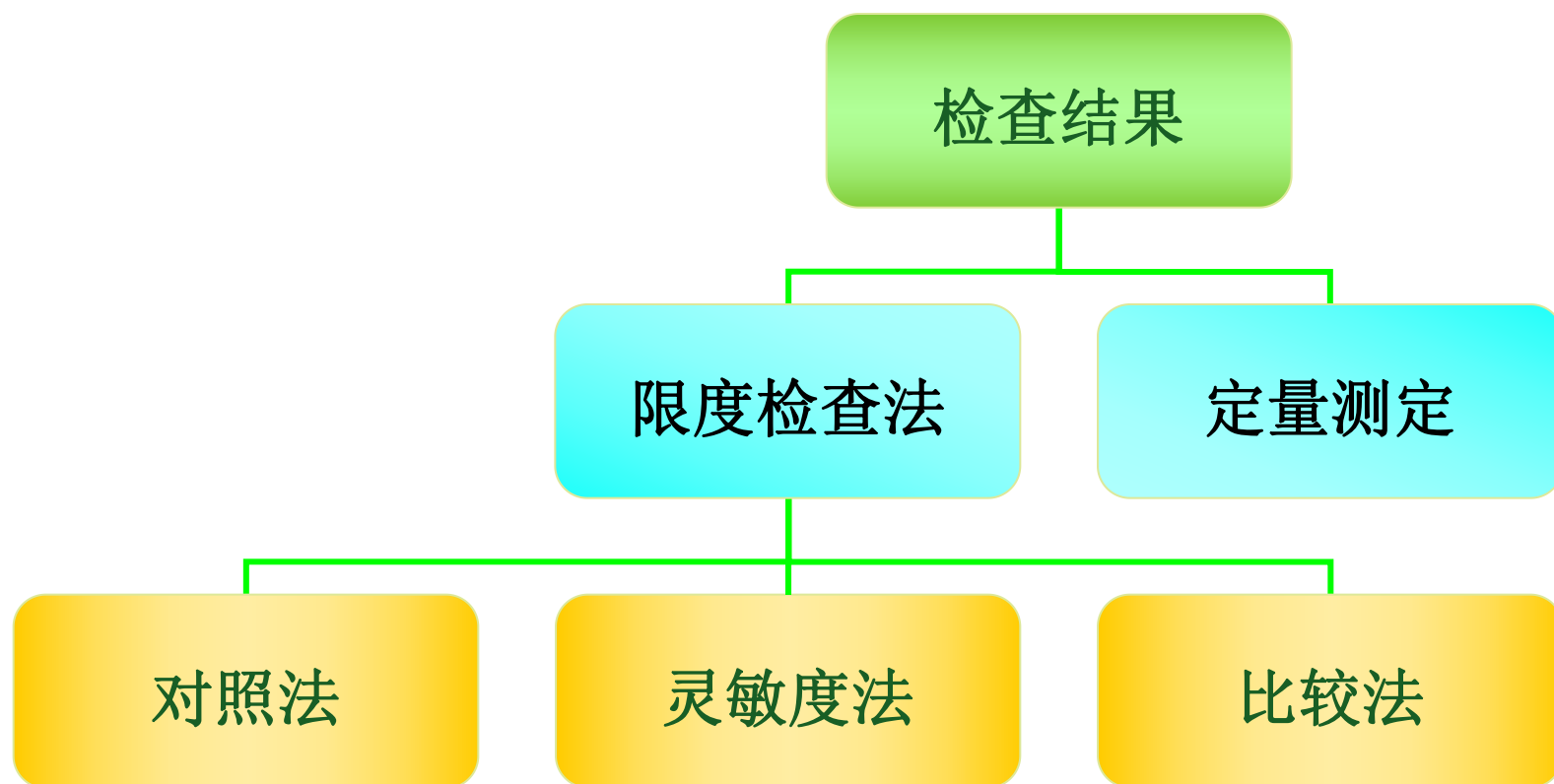
化学方法

色谱方法

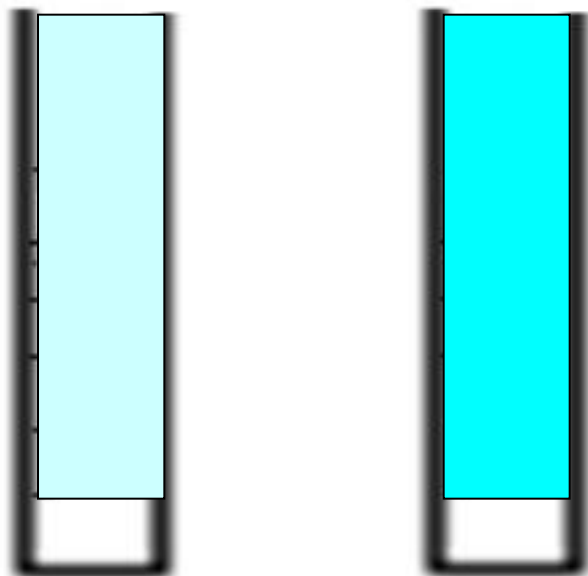
光谱方法

物理方法





对照法

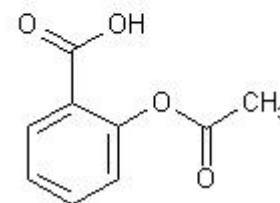


$$L(\%) = \frac{C \times V}{S} \times 100\%$$



阿 司 匹 林

Asipilin
Aspirin



- 注意事项：平行操作原则。
- 2005年版ChP阿司匹林中“游离水杨酸”：
与稀硫酸铁铵溶液显紫红色
- 供试品溶液 不得 比对照液更深



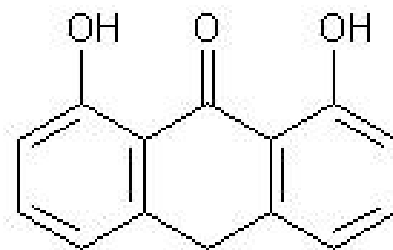
人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

灵敏度法

- 在供试品溶液中加入一定量的试剂，在一定反应条件下，不得有正反应出现
- 地蒽酚的酸度检查：
 - 取本品1.0g，加水25ml，摇匀，滤过；取续滤液10ml，加甲基红指示剂2滴，不得显红色。
 - **pH<1.8 甲基红显红色**

地 蒽 酚

Di' enfen
Dithranol



比较法

- 取一定量供试品依法检查，测定 特定待检“杂质的参数”与“规定的限量”比较，不得更大。



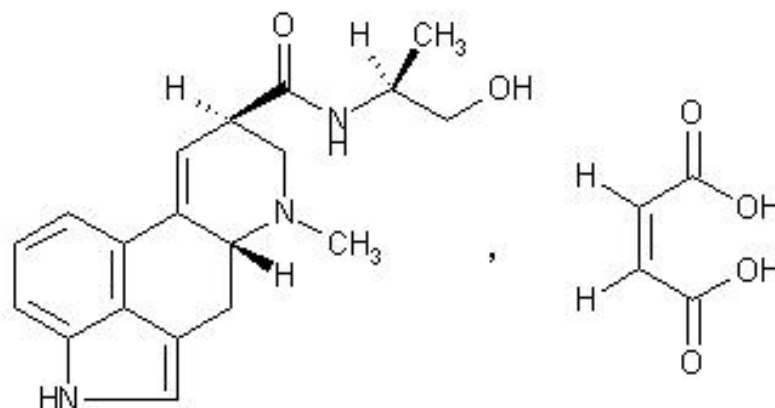
示例：

马来酸麦角新碱中有关物质的TLC检查

- 其含杂质：异麦角新碱、麦角酸、异麦角酸及其他麦角碱等。
- 对照品：含的杂质符合限量要求，并用于供试品控制对照。

马来酸麦角新碱

Malaisuan Maijiao Xinjian
Ergometrine Maleate



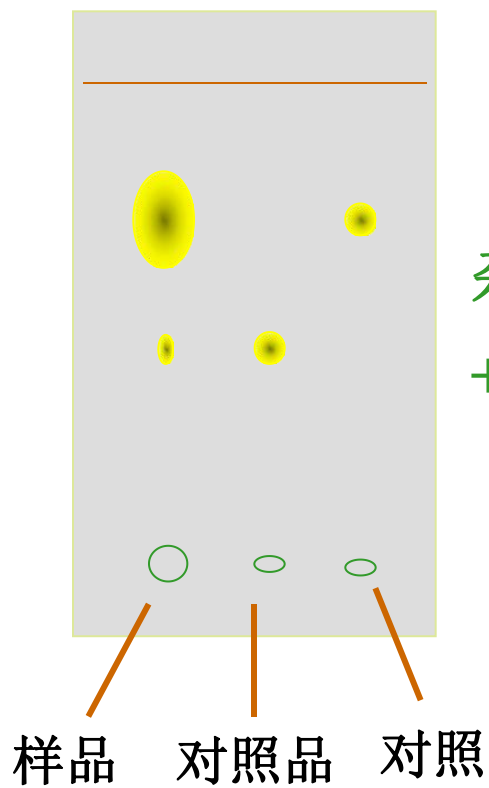
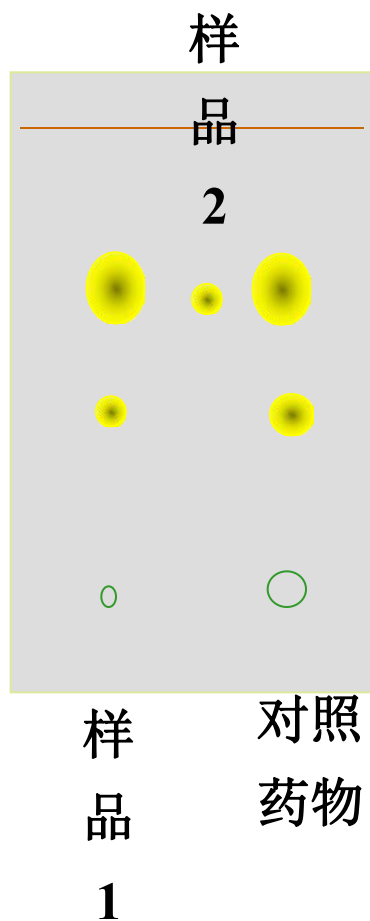
人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

- 制备：5mg/ml和0.2mg/ml的溶液作为供试品溶液①和②，用对照品配制成浓度为5mg/ml的溶液作为对照品溶液。
- 操作：各取10 μ l分别点于同一硅胶板上，展开、斑点定位。
- 比较：供试品溶液①主斑点的位置与颜色应与对照品溶液的主斑点一致，如显杂质斑点，其颜色不得深于对照品溶液对应的杂质斑点，并不得有对照品溶液以外的杂质斑点；供试品溶液②除主斑点外，不得显任何杂质斑点。

比较法 + 对照法 + 灵敏度法



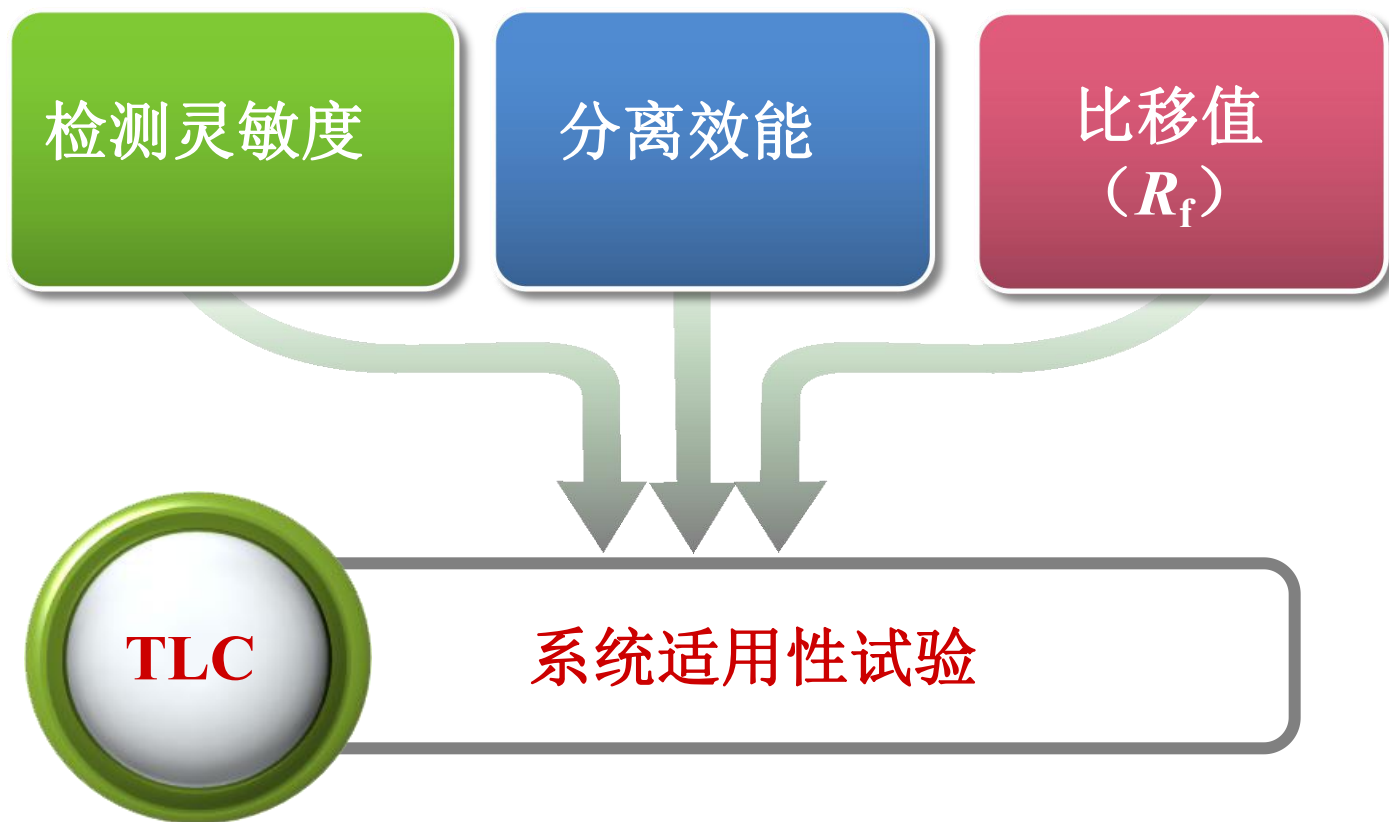
自身稀释对照法



杂质对照品法
+自身稀释对照法



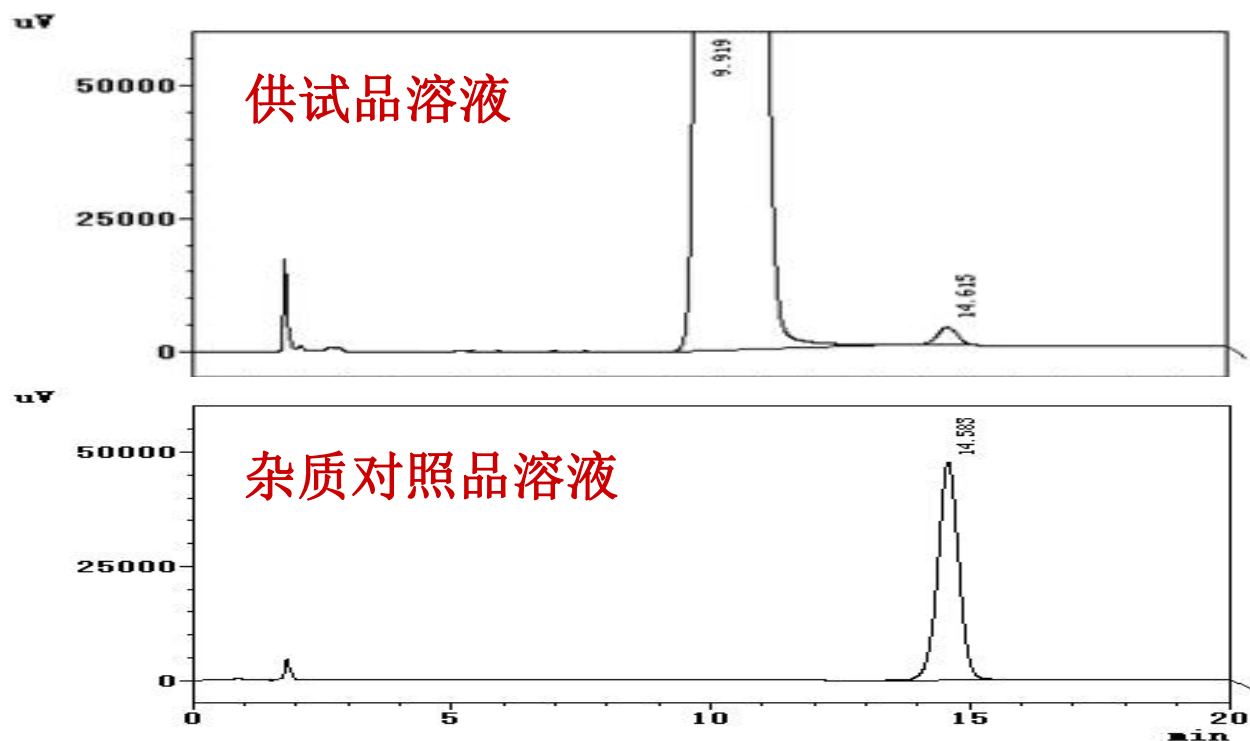
人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE



限量要求：规定杂质斑点数和单一 杂质量、杂质总量



HPLC 法：分离之后的对照、比较

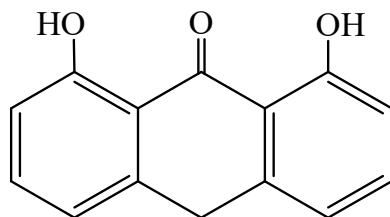


光谱方法

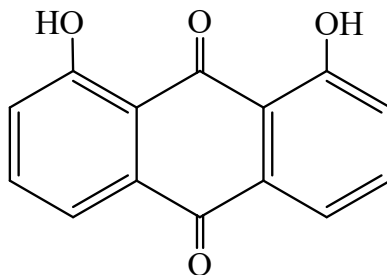
- 依据药物和杂质的光谱差异进行检查

地蒽酚中二羟基蒽醌的检查

地蒽酚

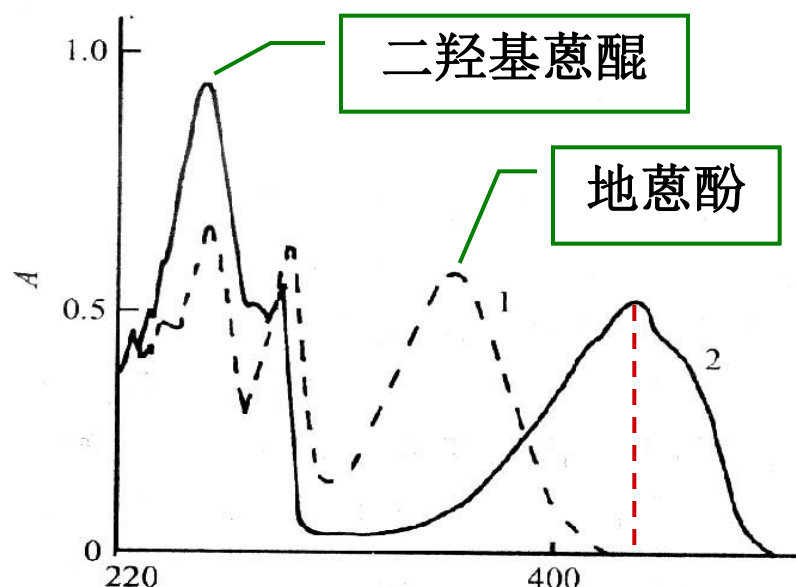


二羟基蒽醌



均有紫外吸收





432nm

地蒽酚

无吸收

二羟基蒽醌

有最大吸收



规定0.01%地蒽酚三氯甲烷溶液 $A_{432\text{nm}} < 0.12$

- 规定：在某一波长处杂质有最大吸收，药物无吸收。



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

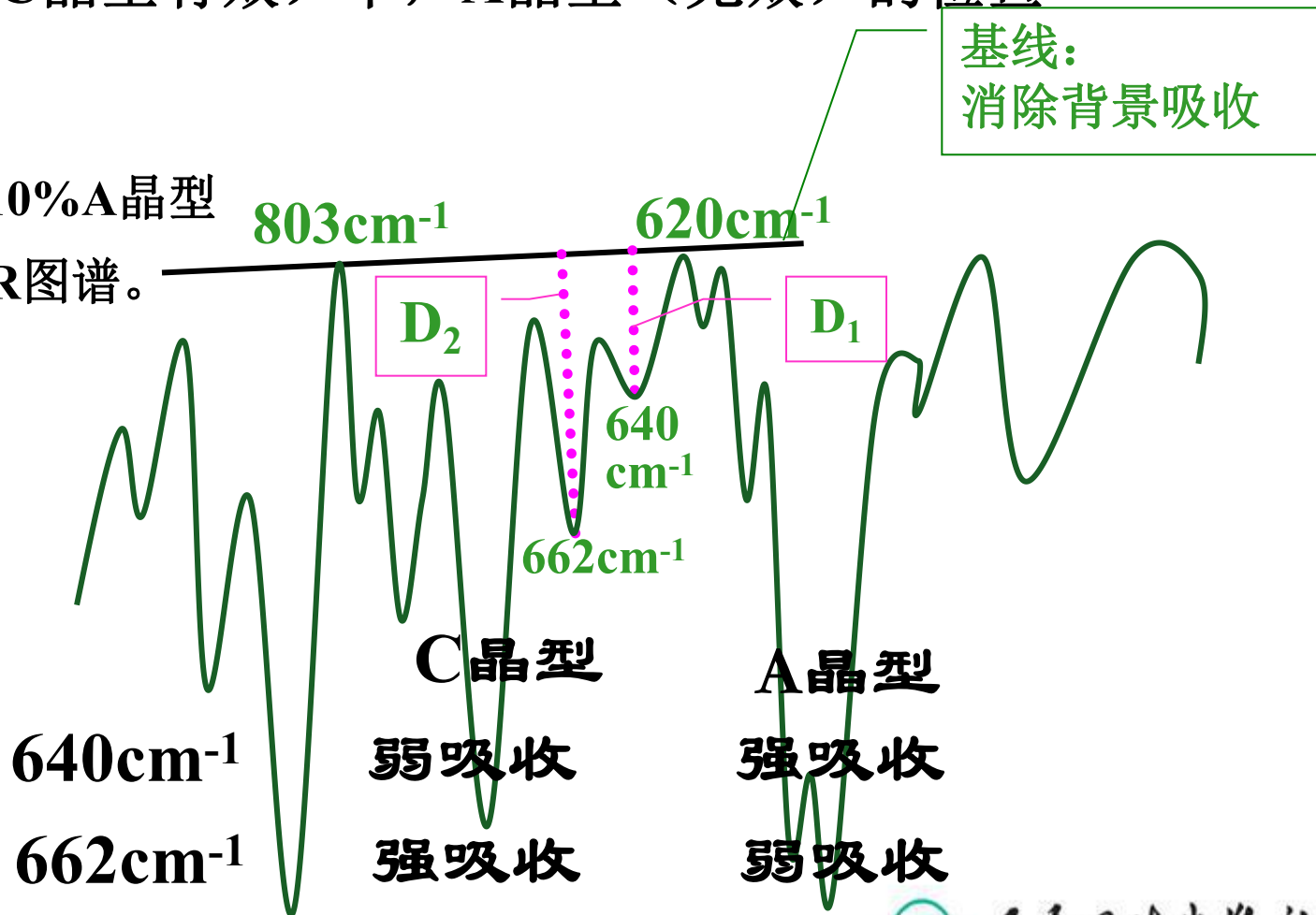
红外分光光度法

- 甲苯咪唑（C晶型有效）中，A晶型（无效）的检查

样品25mg

对照品25mg：含10%A晶型

同法制样，记录IR图谱。



第三节

一般杂质的检查方法

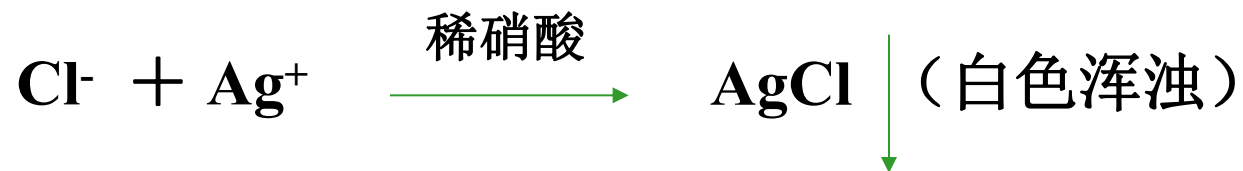


人民卫生出版社

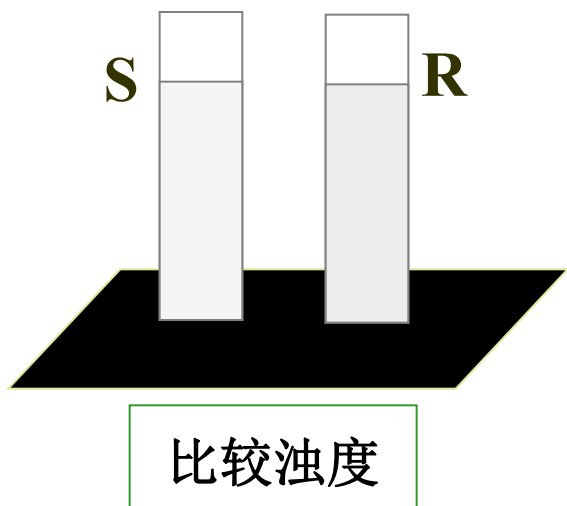
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

一、氯化物的检查法

1. 原理



2. 方法



S: 供试品溶液

R: 标准溶液

- 标准氯化钠溶液：以50ml中含50~80 μg 的Cl为宜
- 酸度以50ml供试溶液中含稀硝酸10ml为宜

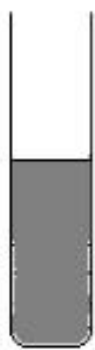


人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

NaCl对照液



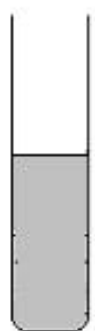
↓稀硝酸10ml
↓硝酸银1ml



葡萄糖



↓稀硝酸10ml
↓硝酸银1ml



对照液浊度 > 供试液浊度

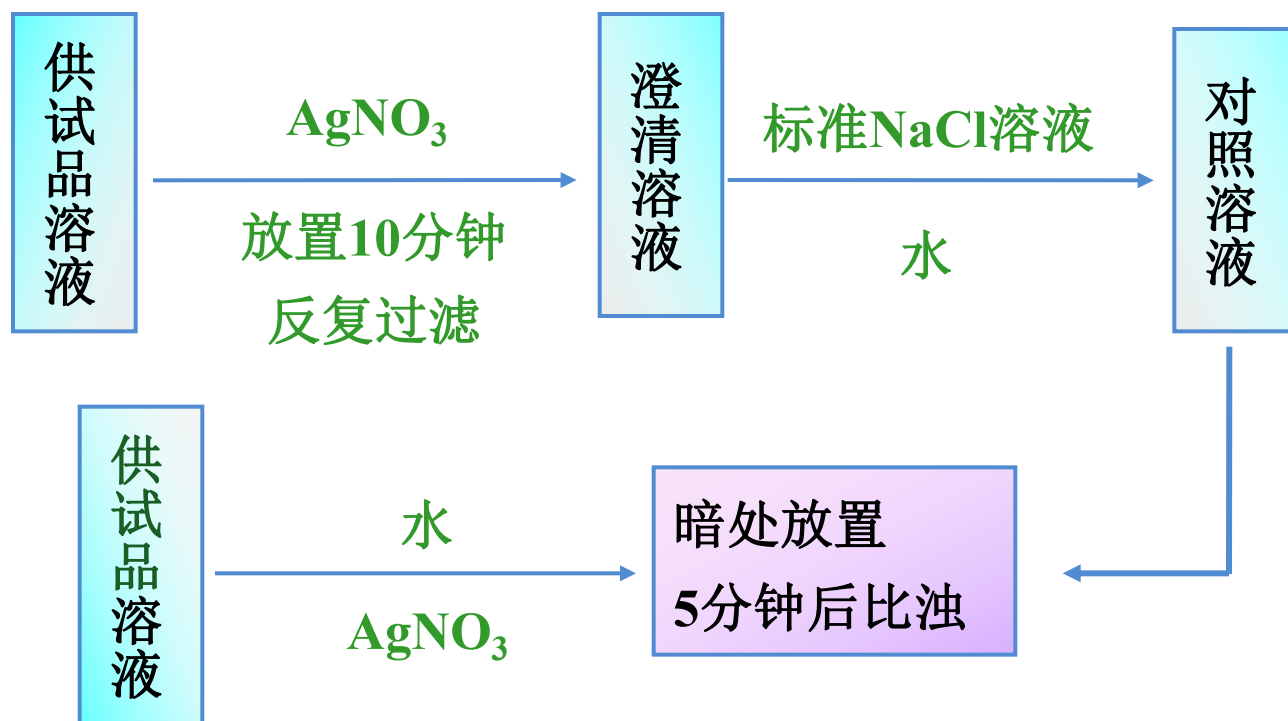


人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

3. 注意事项

(1) 供试品有色

- 采用内消色法，按ChP附录规定的方法处理。



二、重金属检查法

重金属

- 在规定实验条件下能与硫代乙酰胺或硫化钠作用显色的金属杂质，如银、铅、汞、铜、镉、锡、锑、铋等。在药品生产过程中遇到铅的机会较多，铅在体内又易积蓄中毒，故检查时以铅为代表。
- **ChP2015 收载三种检查方法**
 - 第一法 硫代乙酰胺法
 - 第二法 炽灼后的硫代乙酰胺法
 - 第三法 硫化钠法



第一法 硫代乙酰胺法

- 适用对象：溶于水、稀酸和乙醇的药物

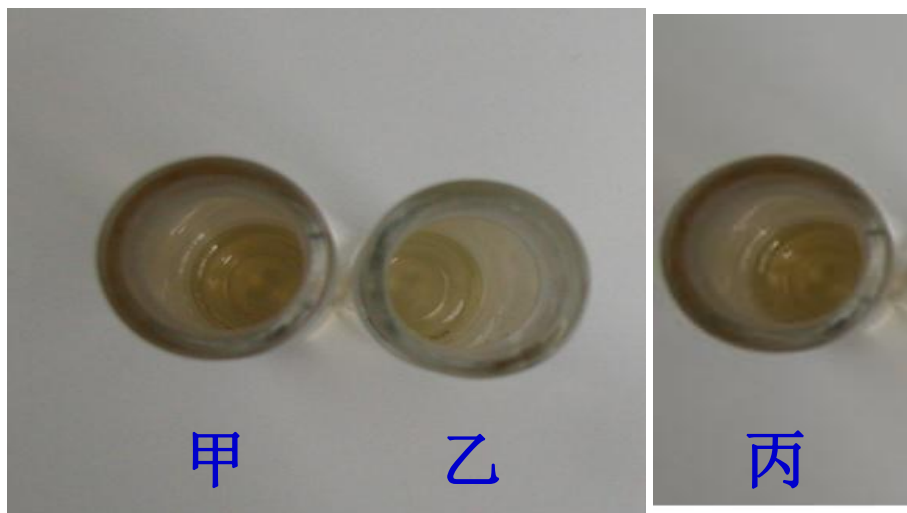
1.原理



2.条件

- 介质：醋酸盐缓冲液（pH 3.5） 2ml
- 试剂：硫代乙酰胺（ CH_3CSNH_2 ） 2ml
- 杂质对照液： PbNO_3 （10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）
- 灵敏度范围： 10~20 μg / 27ml





甲：供试

乙：对照

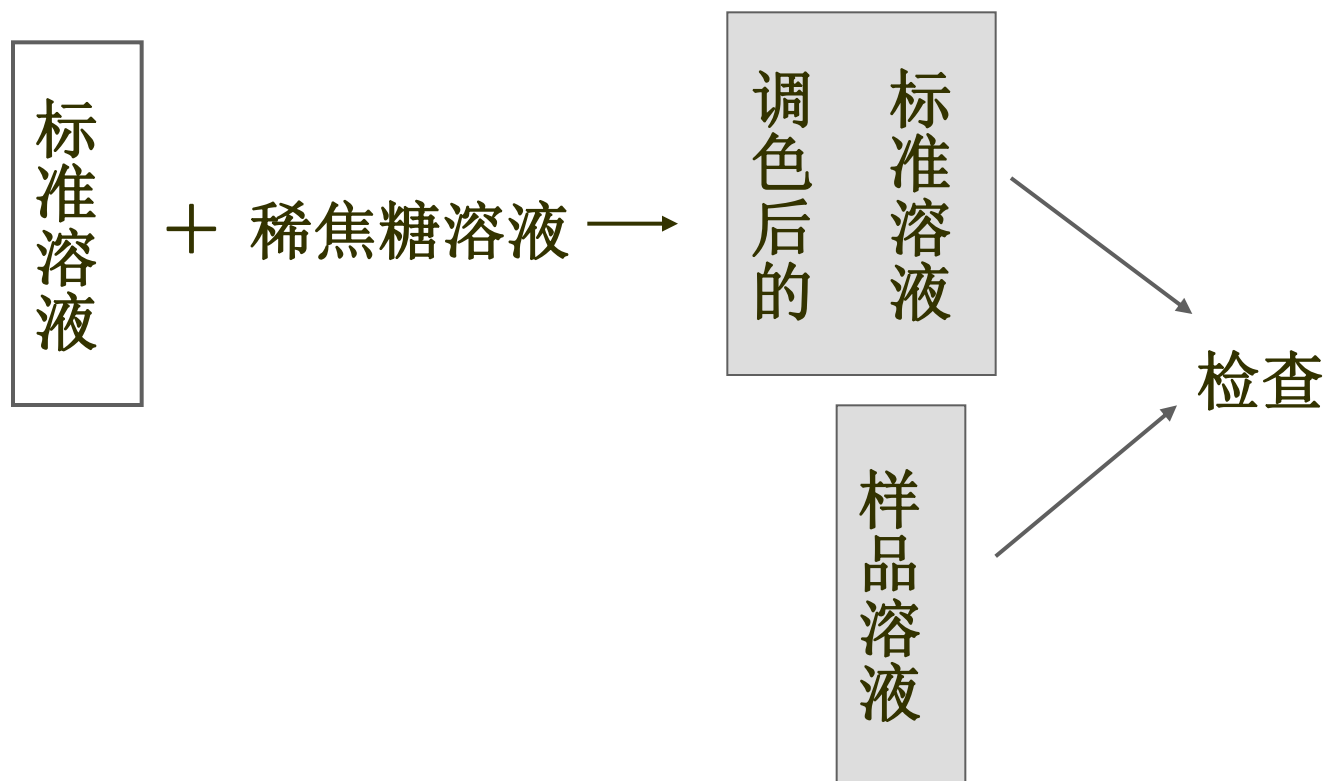
丙：对照 + 供试



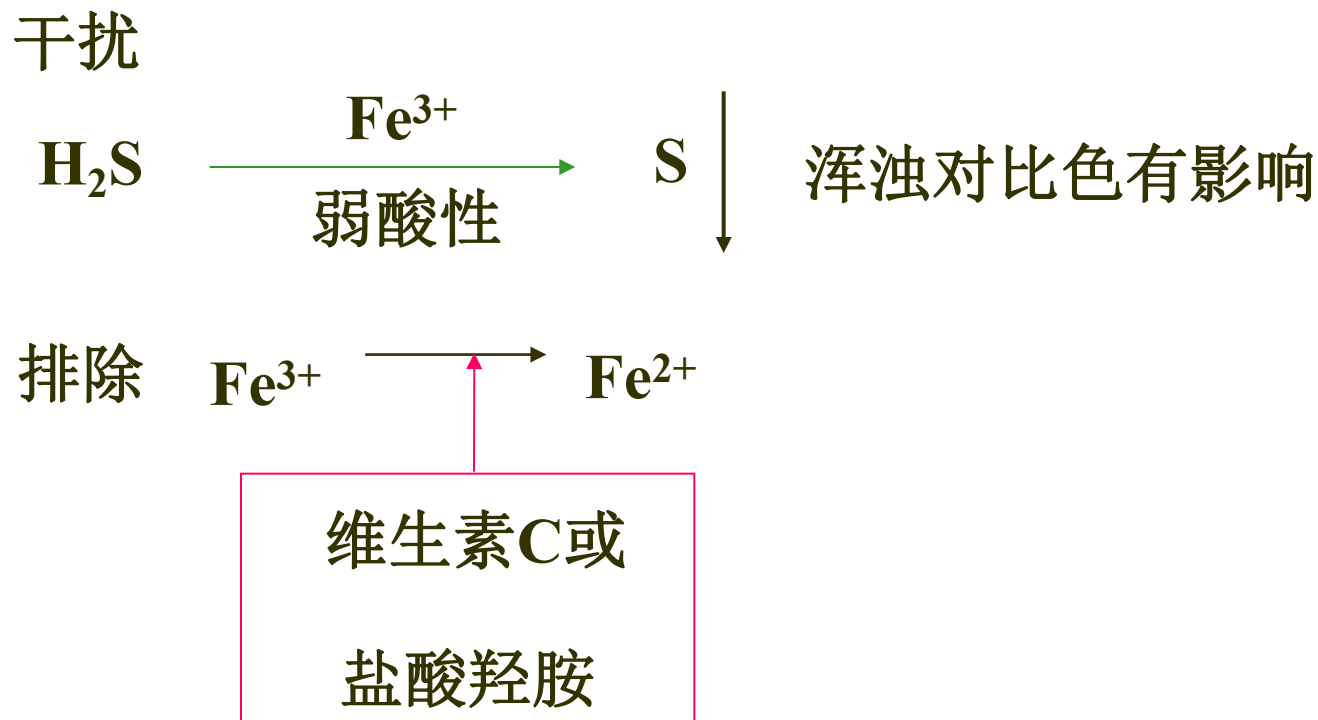
人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

3. 注意事项

(1) 供试品有色：可采用外消色法消除干扰。



(2) 供试品中有微量 Fe^{3+}



(3) 酸度 pH为3.0~3.5时，硫化铅沉淀较完全。



第二法 炽灼后的硫代乙酰胺法

- 适用于含芳环、杂环以及难溶于水、稀酸及乙醇的有机药物。

1.原理

- 重金属可能会与芳环、杂环形成较牢固的价键，需先将供试品炽灼（ $500\sim 600^{\circ}\text{C}$ ）破坏，残渣加硝酸进一步破坏，蒸干。加盐酸转化为易溶于水的氯化物，再按第一法进行检查。



2. 注意事项

- 炽灼温度应在 $500\sim 600^{\circ}\text{C}$ 。温度过高，重金属损失。
- 加硝酸加热处理后，必须蒸干，除尽氧化氮，否则亚硝酸可氧化硫化氢析出硫，影响比色。
- 消除盐酸或其他试剂中可能夹杂重金属的影响。
- 对于含钠盐或氟的有机药物，应用铂坩埚或硬质玻璃蒸发皿。



第三法 硫化钠法

- 适用于溶于碱性水溶液，而难溶于稀酸或在稀酸中即生成沉淀的药物。
- **原理** 在碱性条件下用硫化钠作显色剂。



硫化钠试液应临用新制。



三、砷盐检查法

- 砷盐是剧毒物质，多由药物生产过程中所使用的无机溶剂引入。

各国药典砷盐检查法比较

	ChP	JP	USP	BP
古蔡法				
Ag-DDC法				
次磷酸法				



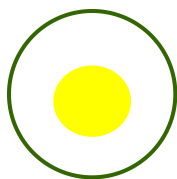
(一) 古蔡 (Gutzeit) 法

1. 原理

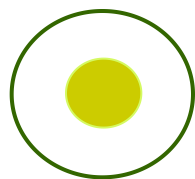


2. 装置与试剂作用

(1) 验砷仪



样品

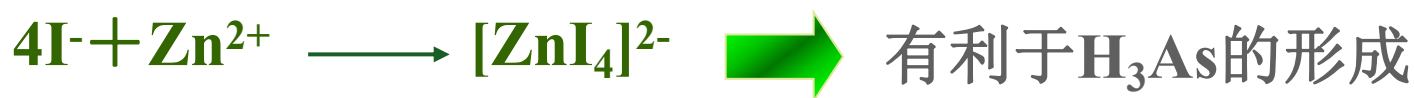


对照



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

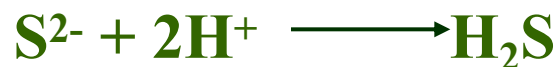
1) KI-SnCl₂试液



- Zn粒与氯化亚锡在锌粒表面形成Zn-Sn齐，起去极化的作用，有利于H₂均匀连续发生。



2) $\text{Pb}(\text{Ac})_2$ 棉

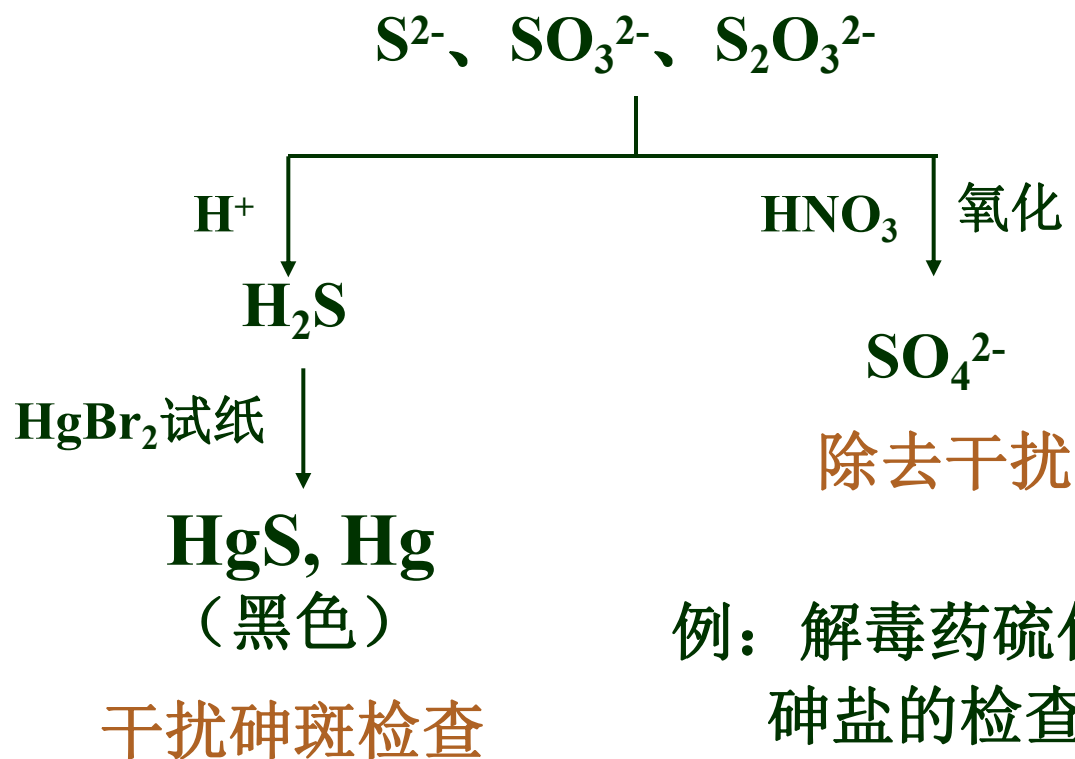


- 锌粒及供试品中可能含有少量硫化物，在酸性液中产生硫化氢气体，与溴化汞作用生成硫化汞色斑，干扰砷斑试验结果。用醋酸铅棉花吸收硫化氢，可消除硫化氢影响。



3. 注意事项/干扰的排除

- 供试品为 S^{2-} 、 SO_3^{2-} 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$



例：解毒药硫代硫酸钠中
砷盐的检查



供试品为铁盐 (Fe^{3+})

- 干扰：消耗 KI 、 SnCl_2 ，氧化 AsH_3
- 排除：可以先加足量的 KI 或先加入酸性氯化亚锡试液，将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} 。
- 例：枸橼酸铁铵中砷盐检查



含锑药物 例如：葡萄糖酸锑钠

- 干扰： $\text{SbH}_3 + \text{HgBr}_2 \longrightarrow \text{SbH}_2(\text{HgBr}) + \text{HBr}$
(灰色)

干扰砷斑检查

- 排除：改用白田道夫（Betterdorff）法。

白田道夫法



(棕褐色的胶态砷)

- 与一定量标准砷溶液用同法处理后的颜色比较



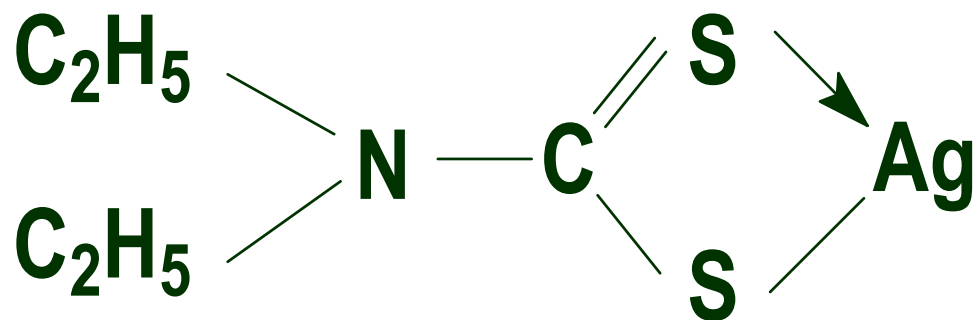
环状药物

- 环状药物须进行有机破坏，方法有：
- 碱破坏法
 - 样品加 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 小火灼烧，再于 $500\sim 600^\circ\text{C}$ 炽灼至完全灰化。
 - 例：酚磺酞、呋塞米检查中砷盐检查
- 碱融破坏法
 - 适用于环状结构的有机酸碱金属盐用石灰法不能破坏完全的情况。以无水碳酸钠进行碱融破坏
 - 例：苯甲酸钠中砷盐检查



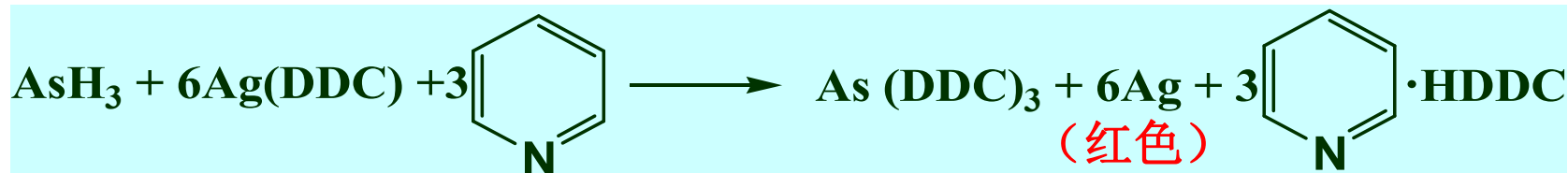
（二）二乙基二硫代氨基甲酸银法（Ag-DDC法）

- 二乙基二硫代氨基甲酸银结构：



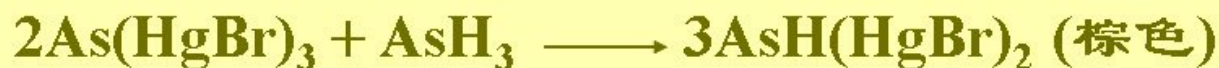
1. 原理

- 利用砷化氢与Ag-DDC吡啶溶液作用，使Ag-DDC中的银还原为红色胶态银，以Ag-DDC溶液为空白，于510nm的波长处，测定吸收度，供试品溶液的吸收度不得大于标准砷溶液的吸收度。

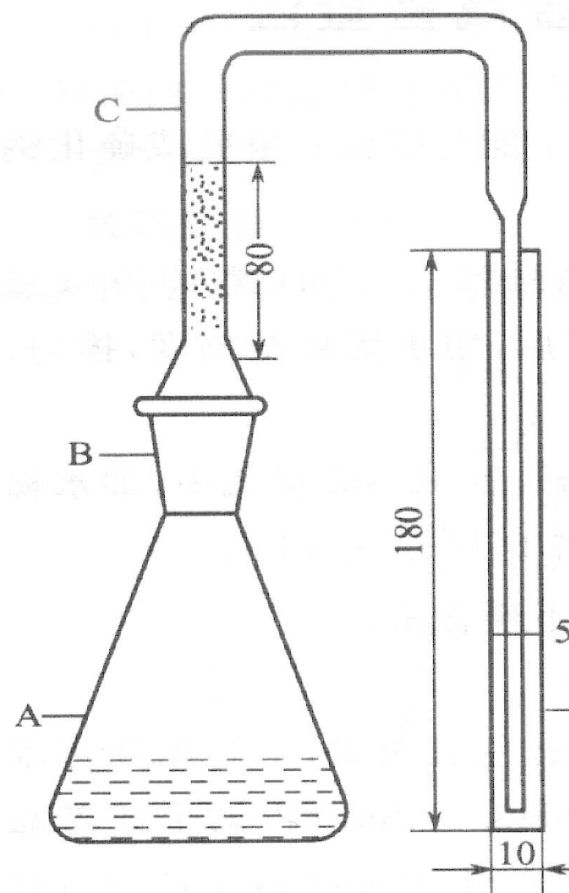


2. 装置与试剂作用

- 试砷瓶中试剂的作用：同古蔡法



装置：



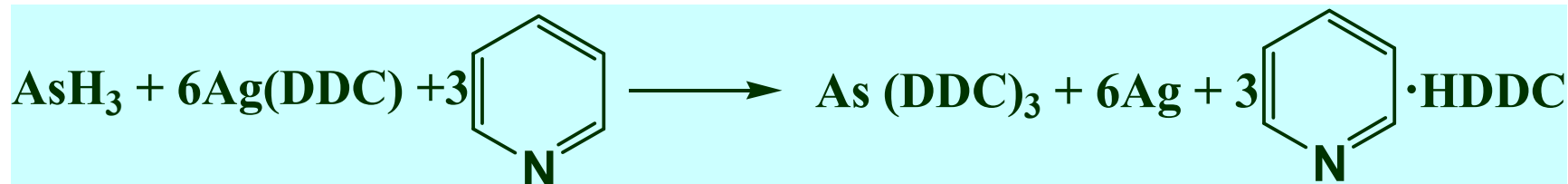
二乙基二硫代氨基甲酸银试液：

- 取二乙基二硫代氨基甲酸银0.25g，加三氯甲烷适量与三乙胺1.8ml，加三氯甲烷至100ml，搅拌使溶解，放置过夜，用脱脂棉滤过，即得。本液应置棕色玻璃瓶内，密塞，置阴凉处保存。

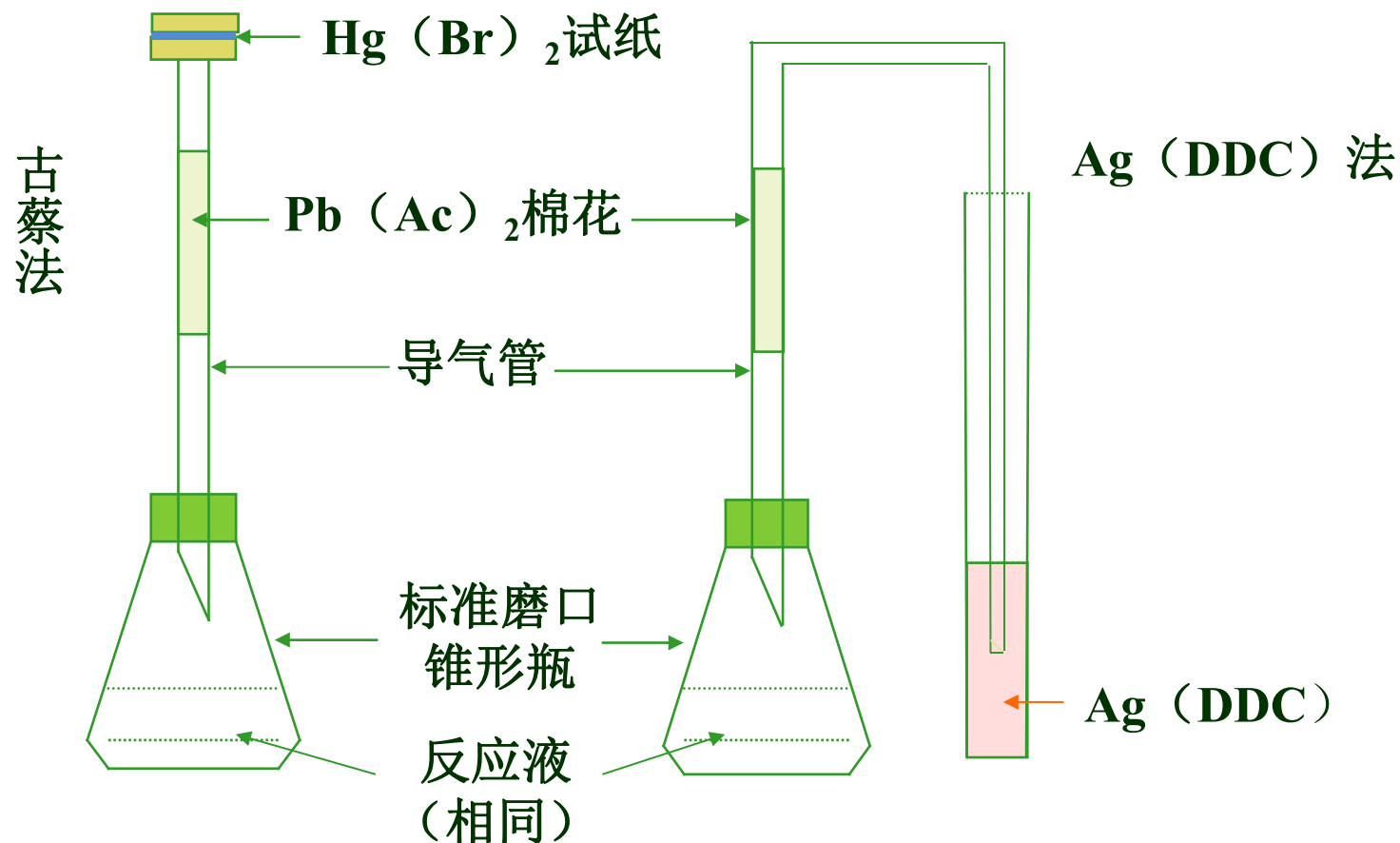


有机碱溶液

- 吡啶（**USP法**）、三乙胺-三氯甲烷溶液（**ChP法**）、三乙醇胺等
- 本反应可逆，加入有机碱使与HDDC结合，有利于反应向右定量进行完全。



(三) 古蔡法与 Ag (DDC) 法的比较



四、干燥失重检查法

- 主要检查药物中的水分和其他挥发性物质。



(一) 常压恒温干燥法

- 适用于受热较稳定的药物。

1.方法

- 将样品置于相同条件下已干燥至恒重的扁形称量瓶中，除另有规定外，在105℃干燥至恒重，按下式计算：

$$\text{干燥失重}\% = \frac{\text{减失重量}}{\text{样品量}} \times 100\%$$

- 干燥至恒重的第二次及以后各次称重均应在规定的条件下继续干燥1小时后进行。



2. 注意事项

- 供试品应平铺于扁形称量瓶中，其厚度不超 5mm；如为疏松物质，厚度不超过10mm。
- 含有较多结晶水的药物，在105℃不易除去结晶水，可提高干燥温度。
- 某些药物中含有较大量的水分，熔点又较低，如直接在105℃干燥，供试品易融化，表面结成一层薄膜，使水分不易继续挥发。先于40～50℃加热，使结晶水缓缓释去；然后逐渐升高温度，在105℃干燥至恒重的方式。



(二) 减压干燥法与恒温减压干燥法

- 适用于熔点低或受热分解的供试品。
- 设备：减压干燥器或恒温减压干燥器
- 条件：压力应在2.67kPa（20mmHg）以下，温度为60℃。
- 干燥剂：
 - 减压干燥器中：无水氯化钙、硅胶和五氧化二磷
 - 恒温减压干燥器中：五氧化二磷。





人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

示例

药物	熔点 (°C)	干燥剂	减压干燥时间 (h)
木糖醇	91.0~94.5	五氧化二磷	24
卡托普利	104~110	五氧化二磷	至恒重
奋乃静	94~100	五氧化二磷	至恒重
泛昔洛韦	101~105		80°C至恒重



(三) 干燥剂干燥法

- 适用于受热分解或易升华的供试品。
- 设备：干燥器
- 常用的干燥剂：硅胶、硫酸、五氧化二磷等
 - 硅胶的吸水力次于五氧化二磷
- 例 马来酸麦角新碱干燥失重检查
 - 将本品置于五氧化二磷干燥器中至恒重，减失重量不得超过2.0%。
 - 马来酸麦角新碱分子中具有酰胺结构，在较高的温度下会水解，干燥失重检查采用该法。



注意事项

- 使用 P_2O_5 时，需将干燥剂铺于培养皿中，置于干燥器内。
- 若发现干燥剂表层结块、出现液滴，应将表层刮去，另加新的 P_2O_5 再使用。
- 弃去的 P_2O_5 不可倒入水中（下水道），应埋入土中。
 P_2O_5 不能反复使用。



- 使用 H_2SO_4 ，应将 H_2SO_4 盛于培养皿或烧杯中，不能直接倾入干燥器；搬动干燥器时，应注意勿使 H_2SO_4 溅出；
- 用过的 H_2SO_4 经加热除水后可再用。
- 除水的方法：将含水硫酸置烧杯中加热至冒白烟，保持在 110°C 左右约30分钟。



五、水分测定法

ChP、USP和BP收载的方法



结合水

吸附水

费休法

甲苯法



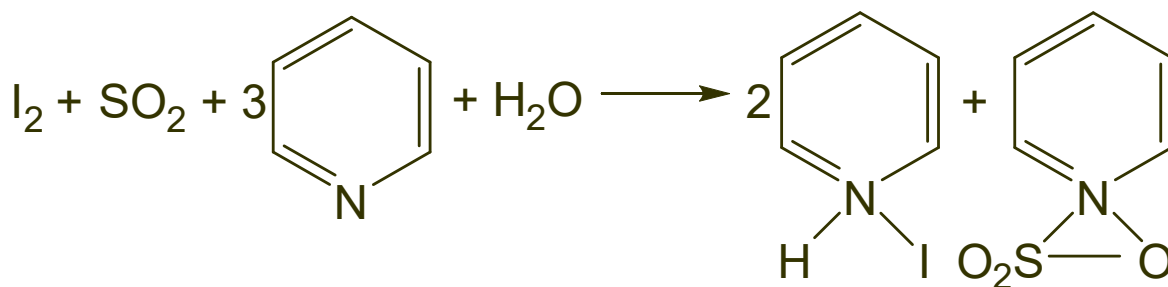
人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

费休法

原理



$$\text{供试品中水分含量 (\%)} = \frac{(A - B) F}{W} \times 100\%$$

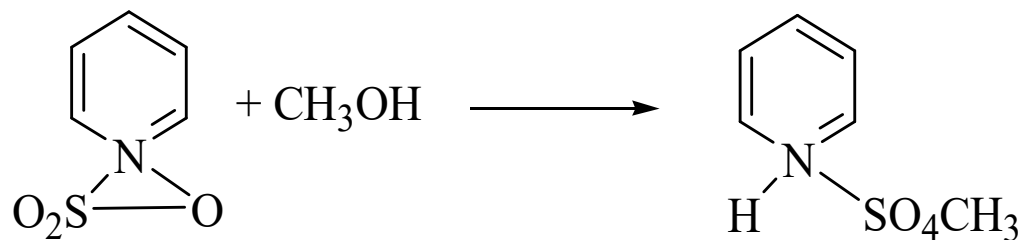


硫酸酞吡啶

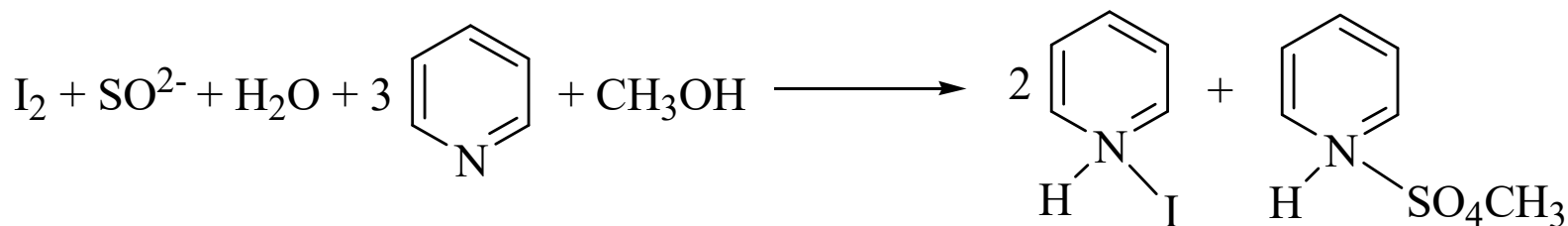


人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

- 硫酸酐吡啶不稳定，可与水发生副反应，加入无水甲醇可形成稳定的甲基硫酸氢吡啶：



滴定的总反应为：

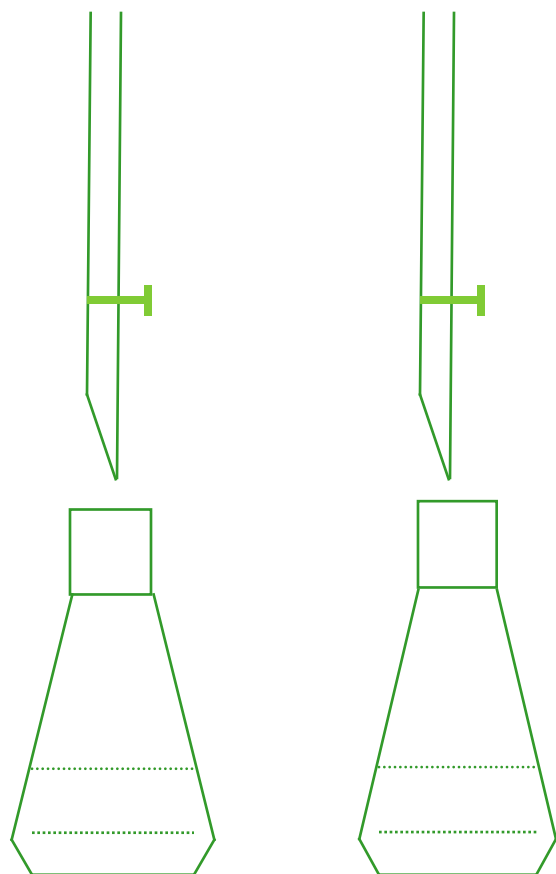


费休试液的配制

- 称取碘（置硫酸干燥器内48小时以上）110g，置干燥的具塞锥形瓶中，加无水吡啶160ml，注意冷却，振摇至碘全部溶解，加无水甲醇300ml，称定重量，将锥形瓶置冰浴中冷却，在避免空气中水分侵入的条件下，通入干燥的二氧化硫至重量增加72g，再加无水甲醇使成1000ml，密塞，摇匀，于暗处放置24小时后进行标定。



测定方法



空白

供试品

终点指示

自身指示

永停法

美罗培南
氨苄西林钠

分子中具有 β -内酰胺和酰胺结构，对水不稳定

盐酸伐
昔洛韦

具有引湿性



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

六、炽灼残渣检查法

- BP 等称为硫酸化灰分
- 检查目的：有机药物经炭化，或挥发性无机药物加热分解后，高温炽灼，所产生的非挥发性无机杂质的硫酸盐。
- 采用方法：重量法
- 操作：

$$\text{残渣}\% = \frac{\text{残渣及坩埚重} - \text{坩埚重}}{\text{供试品重}} \times 100\%$$



注意

- 遗留的炽灼残渣需留作重金属检查时，炽灼温度应控制在 $500\sim 600^{\circ}\text{C}$ 。
- 炽灼至恒重的第二次称重应在规定温度继续炽灼30分钟后进行。
- 含氟药物对磁坩埚有腐蚀，应采用铂坩埚。
- 恒重：系指供试品连续两次干燥或炽灼后称重的差异在 0.3mg 以下的重量。



七、残留溶剂测定法

- **主要检查：**在合成原料药，辅料或制剂生产的过程中使用的，但在工艺中未能完全除去有机溶剂。
 - 第一类：应该避免使用
 - 第二类：应该限制使用
 - 第三类：**GMP**或其他质控要求限制使用
 - 第四类：尚无足够毒理学资料

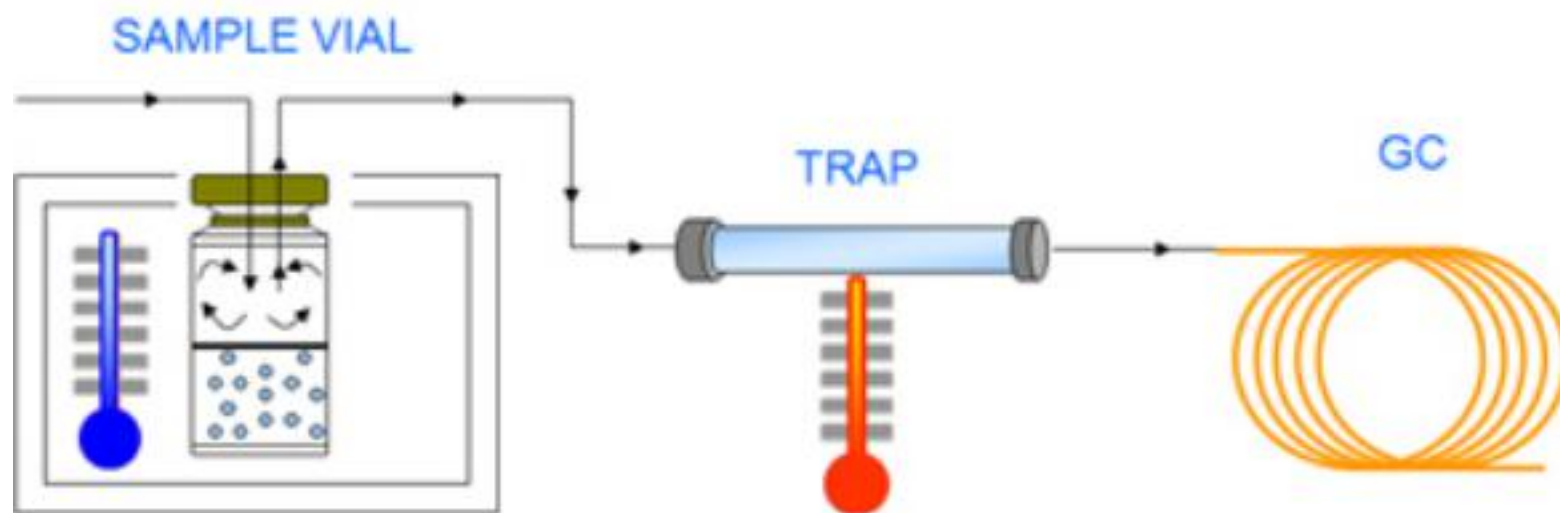


(一) 测定方法

ChP规定采用GC法

- **第一法：**毛细管柱顶空进样等温法
- 适用于所需要检查的有机溶剂数量不多，并且极性差异较小的情况。
- **第二法：**毛细管柱顶空进样程序升温法
- 适用于所需要检查的有机溶剂数量较多并且极性差异较大时的情况。
- **第三法：**溶液直接进样法
- 采用填充柱，亦可采用适宜极性的毛细管柱。





色谱柱类型		固定液/固定相
毛细管柱	非极性	100%的二甲基聚硅氧烷
	极性	聚乙二醇（PEG-20M）
	中极性	（35%）二苯基-（65%）甲基聚氧硅烷 （50%）二苯基-（50%）二甲基聚氧硅烷 （35%）二苯基-（65%）二甲基亚芳基聚氧硅烷 （14%）氰丙基苯基-（86%）二甲基聚氧硅烷 （6%）氰丙基苯基-（94%）二甲基聚氧硅烷
	弱极性	（5%）苯基-（95%）甲基聚氧硅烷 （5%）二苯基-（95%）二甲基亚芳基硅氧烷共聚物
填充柱		乙二烯苯-乙基乙烯苯型高分子多孔小球或其他适宜的填料



（二）系统适用性试验

（1）柱效

- 用待测物的色谱峰计算，毛细管色谱柱 $n > 5000$ ，填充柱 $n > 1000$ 。

（2）分离度：

- 色谱图中待测物色谱峰与其相邻色谱峰分离度（ R ）应 > 1.5 。



(3) 精密度

- 对照品溶液连续进样5次，所得待测物与内标物峰面积之比的*RSD*:

内标法*RSD*应 $< 5\%$

外标法*RSD*应 $< 10\%$



顶空条件的选择

- 时间：一般平衡30~45min
- 温度：对沸点较高的残留溶剂，通常选择较高的顶空平衡温度；但应兼顾试品的热分解特性。



(三) 计算法



第四节

特殊杂质的检查与鉴定



一、特殊杂质的研究规范

定性研究的意义

- 获得有关物质的结构信息，分析其形成过程，合成时可设法避免该杂质的形成，或经纯化使之降至可接受的水平，考察贮存过程中的分解降解变化，确定贮藏条件。



定性或确证结构的杂质

- 表观含量在**0.1%**及其以上（或者等于或高于鉴定限度）的杂质
- 表观含量在**0.1%**以下的具强烈生物作用的杂质或毒性杂质



光学异构体检查

- 在原料药制备工艺研究时，应严格控制手性原料与每步反应产物的光学纯度
- 在质量研究中，应结合工艺与各手性中心的稳定性，确定需要研究与控制的光学异构体杂质，并注意验证各种手性分析方法的立体专属性



二、分析方法的选择

- 专属 灵敏
- 采用现代色谱分离分析手段



三、杂质限度制定

依据：

- ①杂质的活性或毒性；
- ②给药途径、剂量、人群；
- ③分析方法的检测水平和可接受的误差和精密度；
- ④产品储运过程中等稳定性；
- ⑤在保证安全有效的前提下，药品生产企业对生产高质量药品所需成本和消费者对药品价格的承受能力等。

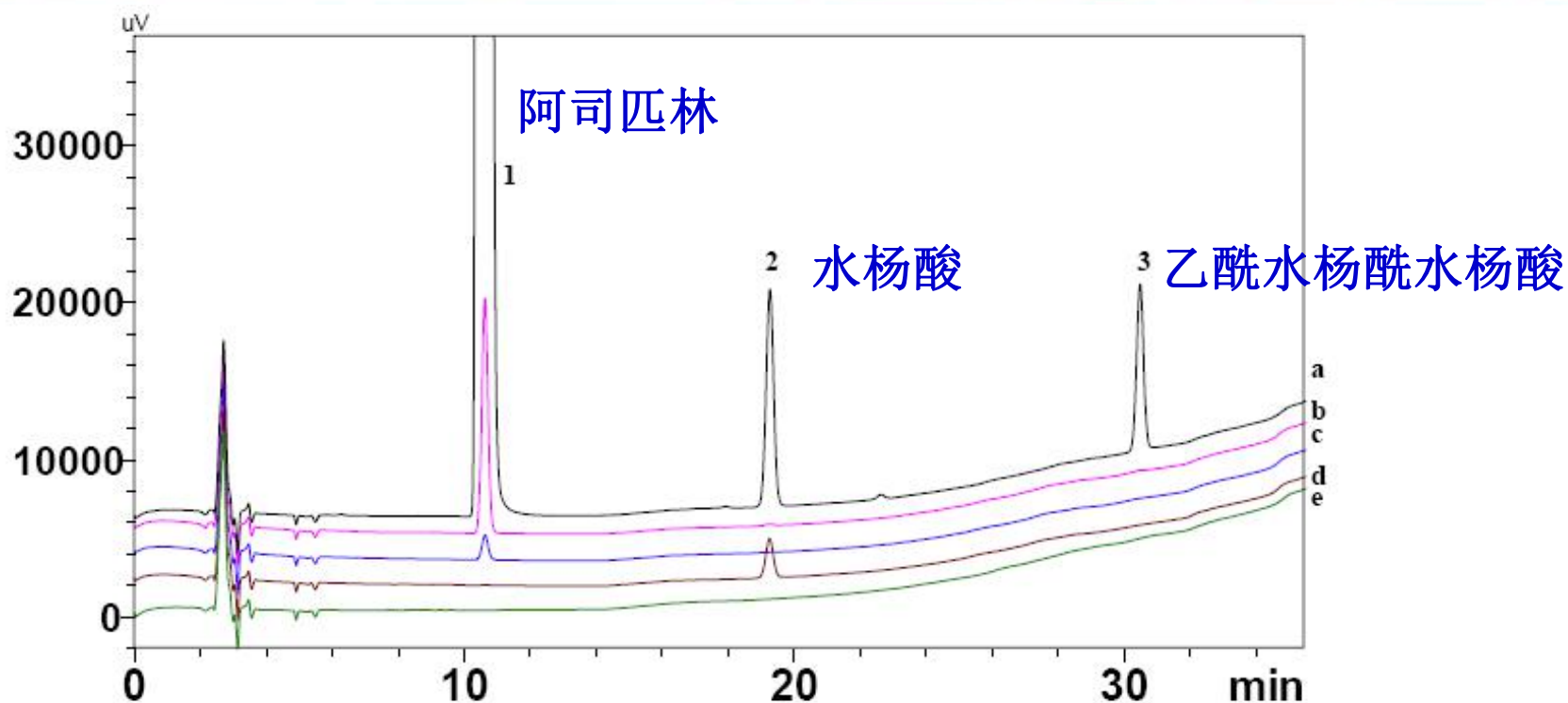


四、特殊杂质的鉴定

（一）有杂质对照品的鉴定法

- 杂质对照品：经分离纯化或合成制备
- 鉴定：通过比较未知杂质与已知杂质对照品的色谱性特征 和光谱特征，判断杂质与杂质对照品的一致性。





a:阿司匹林供试品 (10mg/ml) ;

b:0.5%自身对照 (50 μ g/ml) ;

c: 0.05%自身对照 (灵敏度试验5 μ g/ml) ;

d:水杨酸对照 (10 μ g/ml) ;

e:空白

（二）无杂质对照时的联用鉴定法

- 当全新药物，杂质研究无基础、数目多、含量小，不能够获得对照品时，通过色谱及联用技术进行**鉴定推测**。
- 然后**再**通过合成制备验证，**确证**结构。



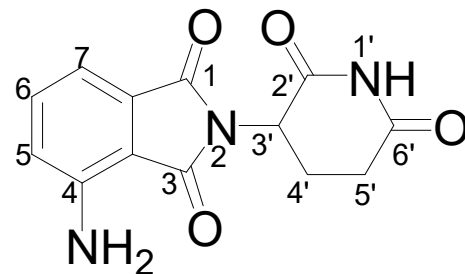
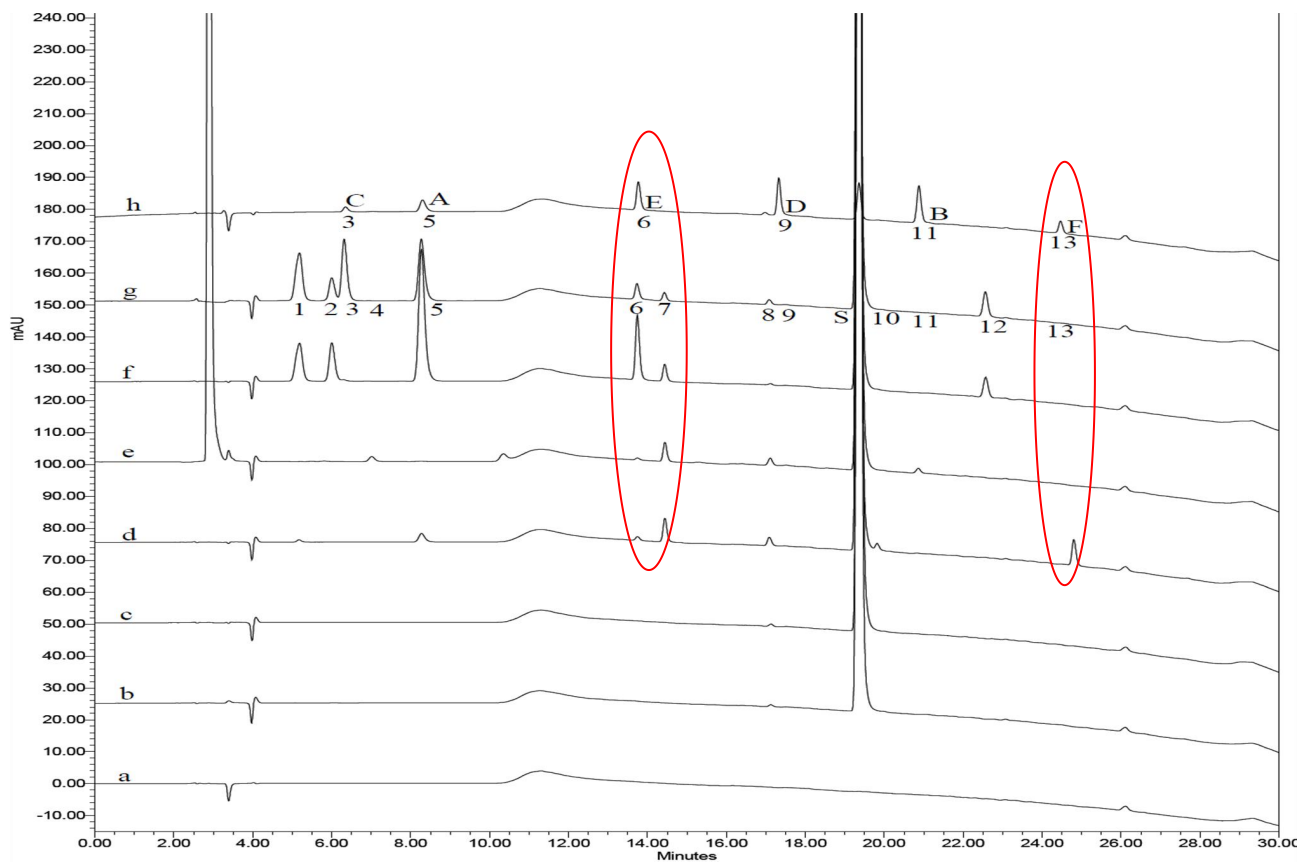
示例：泊马度胺中特殊杂质的鉴定

HPLC-MS联用分析



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

供试品及强制降解样品溶液的HPLC色谱图

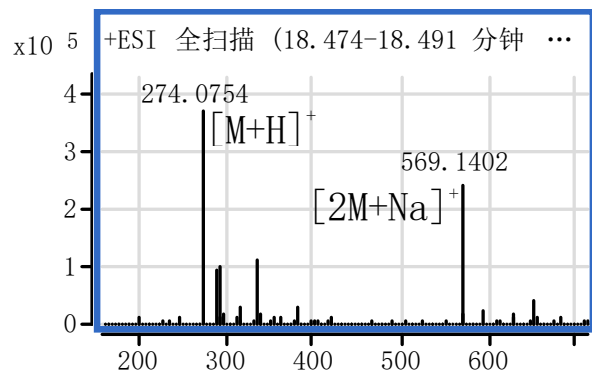


泊马度胺

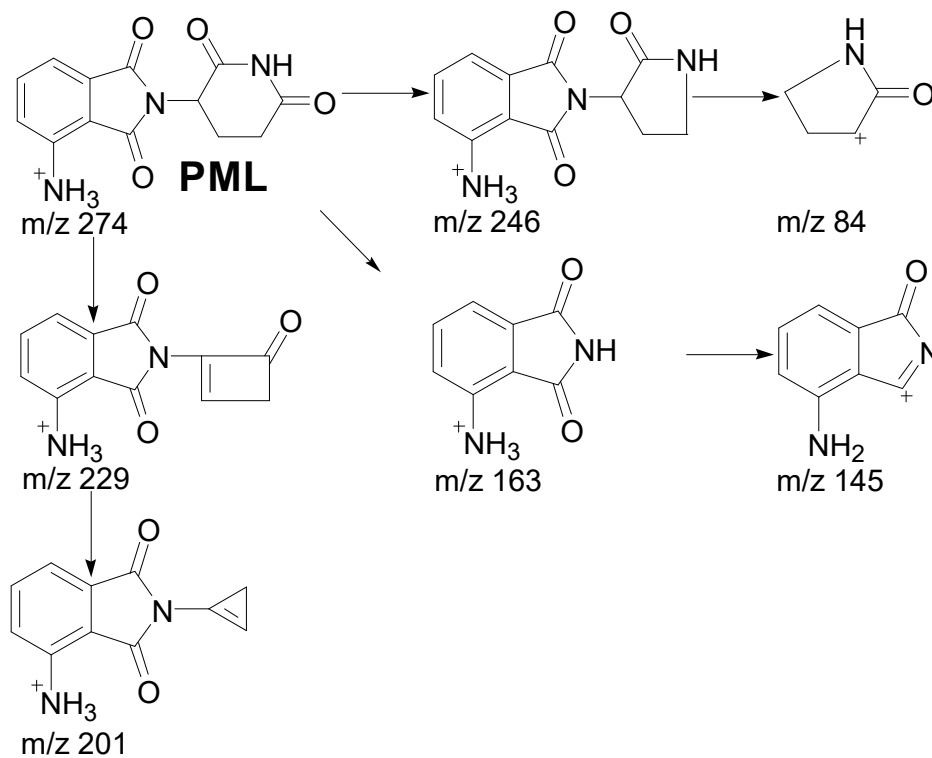
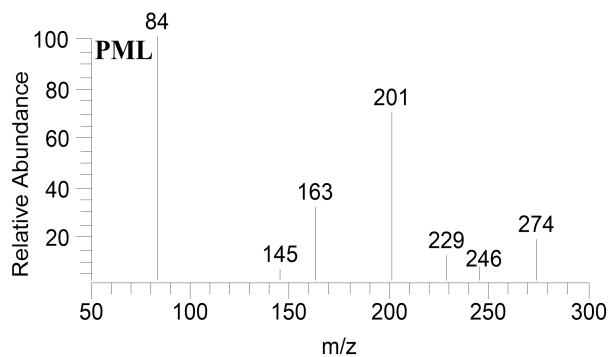
a. 空白溶剂; b. 泊马度胺原料药（未破坏）; c. 光照破坏; d. 高温破坏; e. 氧化破坏; f. 碱破坏; g. 酸破坏; h. 特殊杂质对照品（A~F）的混合对照溶液



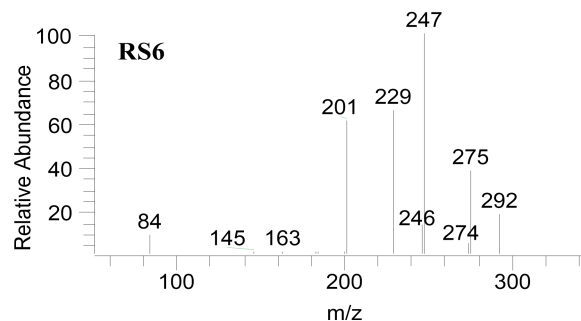
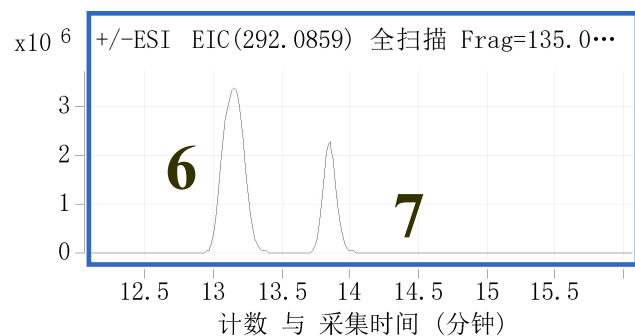
泊马度胺的质谱测定及裂解途径



计数与质荷比 (m/z)

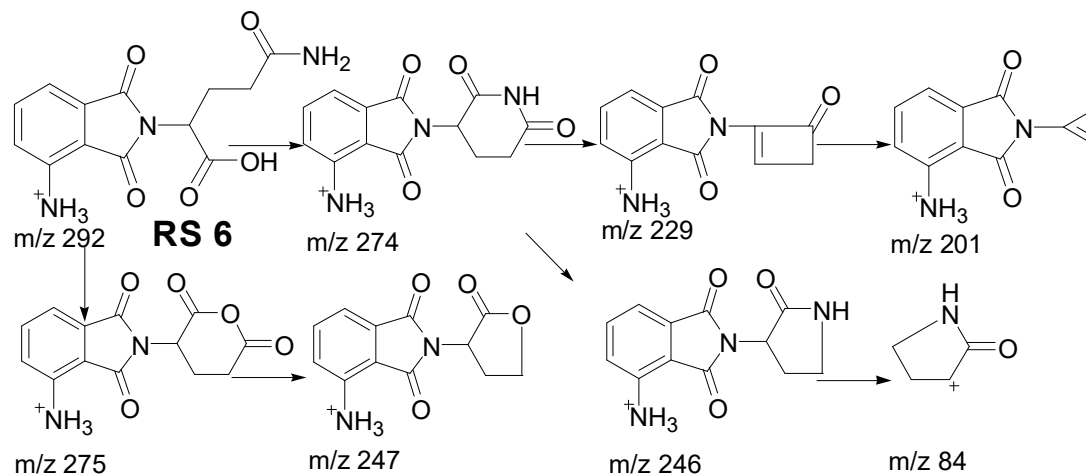


有关物质6和7的联用鉴定



ECI

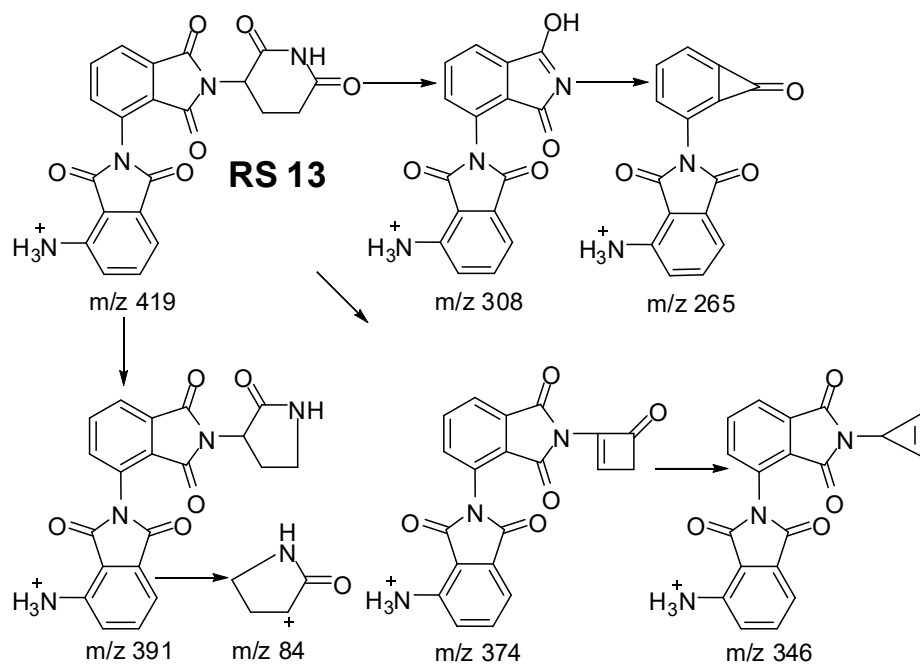
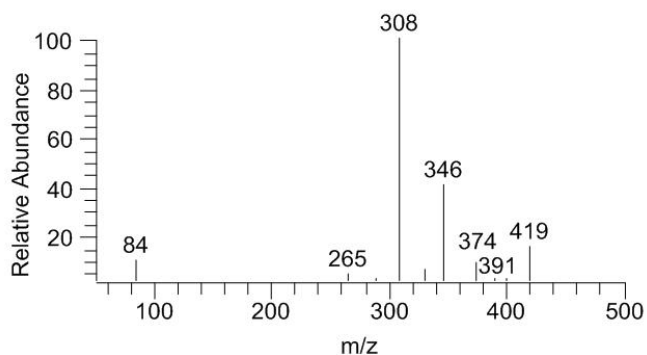
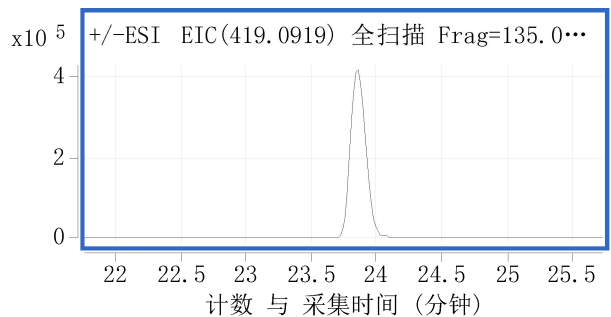
二级质谱



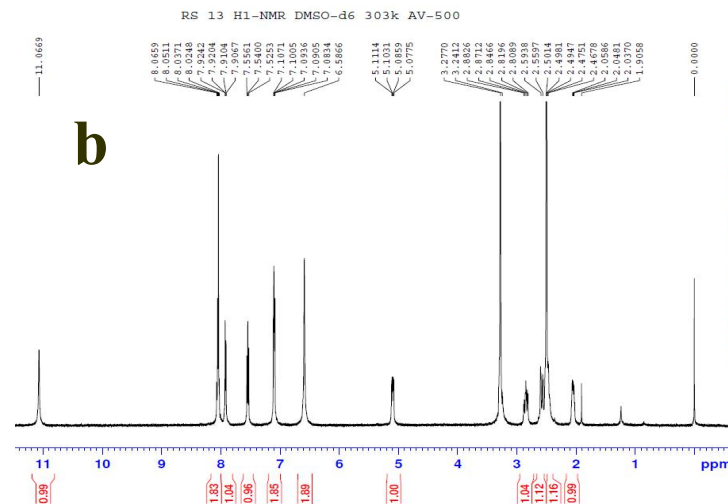
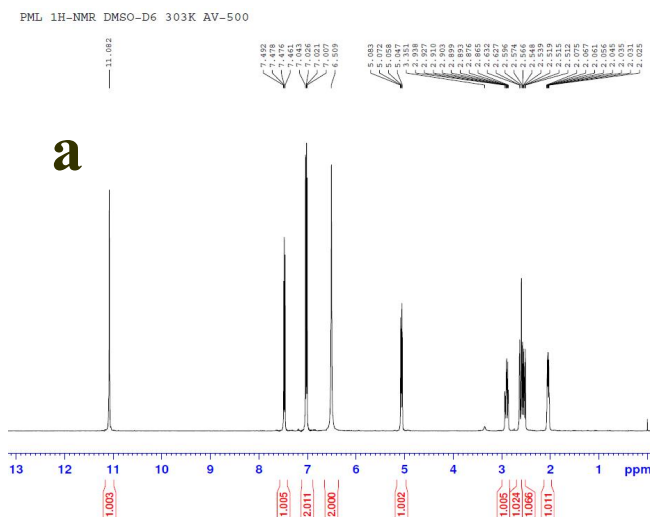
裂解途径

有关物质13的对照品制备验证

(1) 联用鉴定



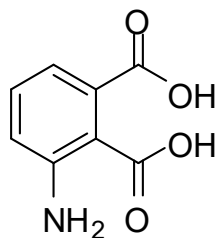
(2) 色谱制备杂质对照品确证



泊马度胺 (a) 及其有关物质13 (b) 的 ^1H -NMR图



(3) 合成杂质对照品确证



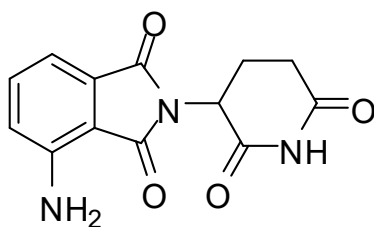
起始物料A

3-氨基邻苯二甲酸盐二水合物

分子式: $C_8H_{12}ClNO_6$

分子量: 253.64

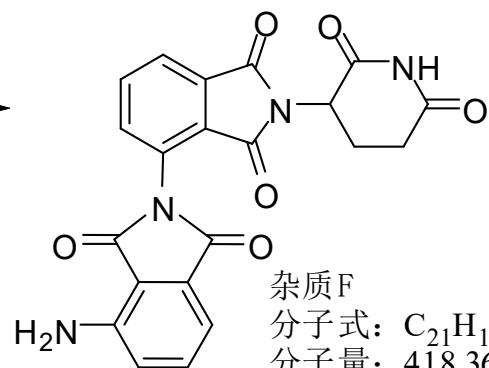
+



泊马度胺

分子式: $C_{13}H_{11}N_3O_4$

分子量: 273.24



杂质F

分子式: $C_{21}H_{14}N_4O_6$

分子量: 418.36



人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

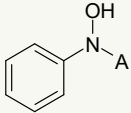
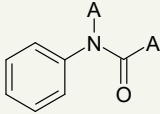
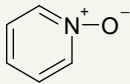
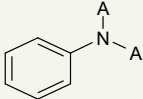
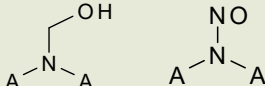
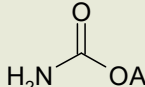
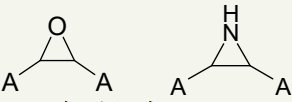
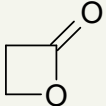
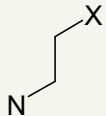
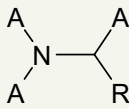
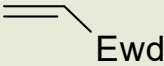
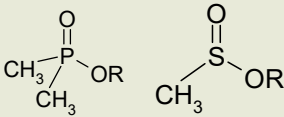
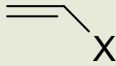
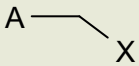
五、基因毒性杂质的检查

基因毒性杂质（Genotoxic Impurity, GTI）

- 是指在以杂质（化合物）与DNA的反应为主要研究对象的体内体外试验中，如果发现化合物本身对DNA具有直接或间接的破坏性，产生基因突变或体内诱变，而具有致癌可能或者倾向的杂质（化合物）。
- 如：黄曲霉素类、亚硝胺类、甲基磺酸酯、顺铂、卡铂、氟尿嘧啶等。
- 基因毒性杂质的毒性很强，常常在很低的含量或浓度水平下，即可对人体造成遗传物质的损伤，并进而导致基因突变促使肿瘤的发生。



具有基因毒性的有机化合物警示结构

第一组 芳香化合物	 N-羟基芳胺	 N-酰化芳胺	 氮杂芳胺 N-氧化物	 芳胺和 N-烷基芳胺
第二组： 烷基芳基 化合物	 醛	 N-羟甲基胺 N-亚硝基胺	A-NO₂ 硝基化合物	 氨基甲酸酯
	 环氧烷类 氮丙啶类	 环丙内酯类	 β-卤代胺	 肼和偶氮类
第三组： 含杂原子 化合物	 迈克尔加成 反应受体	 磷酸酯 磺酸酯	 卤代烯烃	 卤代烃
A=烷基、芳香基，或 H； X= F、Cl、Br、I； Ewd= 吸电子基团（CN、C=O、酯等）				

六、金属催化剂杂质的检查

金属杂质分类

第1类

- 具有显著安全性风险的金属
- 如, Pd 和Cr

第2类

- 具有低安全性风险的金属
- 如, Cu 和Mn

第3类

- 具有极少安全性风险的金属
- 如, Fe和Zn



Thank you very much!



人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE