

# HPLC-MS/MS 分析阿哌沙班中基因毒性杂质及基质效应消除研究

王建<sup>1,2</sup>, 周萍<sup>1</sup>, 刘贵君<sup>1</sup>, 梁键谋<sup>2</sup>, 曹粤锋<sup>2</sup>, 张凤妹<sup>2</sup>, 邵鹏<sup>2,3\*</sup> (1.浙江工业大学, 杭州 310014; 2.浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310052; 3.浙江省原料药安全研究中心, 杭州 310051)

**摘要:**目的 建立 HPLC-MS/MS 测定阿哌沙班中基因毒性杂质胺化物、开链酰胺和胍基物的方法。方法 色谱柱为 Zobax Eclipse XDB C<sub>18</sub>(3.0 mm×150 mm, 3.5 μm); 胺化物和开链酰胺测定采用梯度洗脱法, 流动相 A 为 10 mmol·L<sup>-1</sup> 乙酸铵溶液, 流动相 B 为乙腈; 胍基物测定采用等度法, 流动相为水-甲醇(30 : 70)。电喷雾离子化法在正离子模式下进行多重反应离子监测结构确认。结果 胺化物、开链酰胺和胍基物平均回收率分别为 99.6%, 92.2%和 97.5%, RSD 分别为 3.8%, 1.9%和 7.2%(n=9); 定量限分别为 0.05, 0.05, 0.05 ng·mL<sup>-1</sup>。结论 该方法有效地消除了分析中出现的基质效应, 可用于阿哌沙班中基因毒性杂质的定量检测。

**关键词:** 阿哌沙班; 基因毒性杂质; 基质效应; 液相色谱-质谱联用法

中图分类号: R973 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2022)10-1336-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.10.012

引用本文: 王建, 周萍, 刘贵君, 等. HPLC-MS/MS 分析阿哌沙班中基因毒性杂质及基质效应消除研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(10): 1336-1341.

## Study on Genotoxic Impurities and Elimination of Matrix Effect in Apixaban by HPLC-MS/MS

WANG Jian<sup>1,2</sup>, ZHOU Ping<sup>1</sup>, LIU Guijun<sup>1</sup>, LIANG Jianmou<sup>2</sup>, CAO Yuefeng<sup>2</sup>, ZHANG Fengmei<sup>2</sup>, SHAO Peng<sup>2,3\*</sup> (1.Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 2.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310052, China; 3.Zhejiang Research Center for API Security, Hangzhou 310051, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish an HPLC-MS/MS method for the determination of amines, open-chain amides and hydrazine based compound in apixaban. **METHODS** Separation was performed on a Zobax Eclipse XDB C<sub>18</sub>(3.0 mm×150 mm, 3.5 μm). Amines and open-chain amides were separated with the mobile phase of 10 mmol·L<sup>-1</sup> ammonium acetate solution and acetonitrile in gradient elution. Hydrazine based compound was separated with the mobile phase of water-methanol(30 : 70) in isocratic elution. The electrospray ionization source with positive ion mode was used for structure confirmation in the multiple reaction monitoring(MRM) mode. **RESULTS** The average recoveries for the determination of amines, open-chain amides and hydrazine based compounds were 99.6%, 92.2% and 97.5%, RSDs were 3.8%, 1.9% and 7.2%(n=9), respectively. Limits of quantitation were 0.05, 0.05 and 0.05 ng·mL<sup>-1</sup>. **CONCLUSION** The method can effectively eliminate the matrix effect and can be used for the quantitative determination of amines, open-chain amides and hydrazine based compound in apixaban.

**KEYWORDS:** apixaban; genotoxic impurities; matrix effect; HPLC-MS/MS

阿哌沙班是一种抗凝药, 临床上主要用于髌、膝关节置换术后预防下肢深静脉血栓形成。根据阿哌沙班的化学结构和生产工艺, 可能产生的潜在基因毒性杂质有胺化物(芳香胺类)、开链酰胺(芳香氮酰胺类)和胍基物(胍类)等, 这 3 个杂质的结构式见图 1(虚线部分为基因毒性杂质警示结构)。阿哌沙班中基因毒性杂质分析已有文献报道<sup>[1-2]</sup>, 其中开链酰胺和胺化物未有报道。通过实验评估, 阿哌沙班合成工艺中有产生基因毒性杂质胺化物、开链酰胺和胍基物的风险, 因此笔者开展了阿哌沙班中基因毒性杂质残留量测定方法的研究。阿哌沙班日最大

推荐量为 20 mg, 参考欧盟药品评价局(EMA)《基因毒性杂质限度指南》和 ICH M7<sup>[3-4]</sup>, 采用 TTC 计算方法, 阿哌沙班中全部基因毒性杂质的限度为 75 μg·g<sup>-1</sup>。考虑到阿哌沙班可能存在多个基因毒性杂质, 将限度设定为 10 μg·g<sup>-1</sup> 进行研究。

本研究在参考中国药典 2020 年版四部通则 9101、欧洲药典和 ICH Q2(R1)以及相关文献资料的基础上建立了胺化物、开链酰胺和胍基物测定方法<sup>[5-13]</sup>, 并在研究中发现本品中基因毒性杂质测定存在较明显的基质效应, 因此进一步研究了基质效应的消除方法。

基金项目: 浙江省基础公益研究计划(LGC19H300002)

作者简介: 王建, 男, 博士, 主任药师 E-mail: wangjianhw2000@aliyun.com \*通信作者: 邵鹏, 男, 博士, 副主任药师 E-mail: shaopeng@zjyj.org.cn

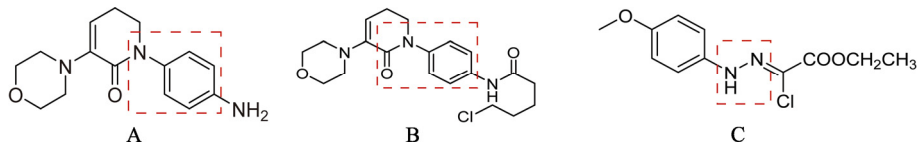


图1 杂质结构式  
A-胺化物; B-开链酰胺; C-胍基物。

Fig. 1 Structure of impurity  
A-amines; B-open-chain amides; C-hydrazine based compound.

## 1 仪器和试剂

### 1.1 仪器

LC-30AD 高效液相色谱仪、LC-MS-8060 三重四级杆质谱仪(日本岛津公司); XPE 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

### 1.2 试剂

水为超纯水(美国 Millipore 公司); 甲醇、乙腈为色谱纯(美国 Merck 公司); 乙酸铵为色谱纯(美国 Sigma 公司)。

阿哌沙班原料药(浙江华海药业股份有限公司, 批号: I08190701, I08200701, I08200801; 浙江京新药业股份有限公司, 批号: DK47-20090; 乳源东阳光药业有限公司, 批号: APXLL-201512103; 江西青峰药业有限公司, 批号: 20200214; 连云港润众制药有限公司, 批号: 11320018; 四川仁安药业有限责任公司, 批号: 90312007001; 江苏嘉逸医药有限公司, 批号: 200906)。

对照品: 阿哌沙班(批号: 62691RS200701; 含量: 99.8%)、胺化物(批号: JOD51111201; 含量: 99.7%)、开链酰胺(批号: JOD51111204; 含量: 99.6%)和胍基物(批号: JOD51111203; 含量: 99.6%)均购自浙江华海药业股份有限公司。

## 2 方法与结果

### 2.1 液相色谱-质谱条件

#### 2.1.1 液相色谱条件

**2.1.1.1 胺化物、开链酰胺测定** 采用梯度洗脱法, 色谱柱: Zobax Eclipse XDB C<sub>18</sub>(3.0 mm×150 mm, 3.5 μm)。以 10 mmol·L<sup>-1</sup> 乙酸铵溶液为流动相 A, 以乙腈为流动相 B, 进行梯度洗脱, 洗脱梯度为 0~5 min, 60%A; 5~9 min, 60%→10%A; 9~9.01 min, 10%→60%A; 9.01~14 min, 60%A。流速 0.3 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温 40 °C; 进样量 10 μL; 紫外检测波长 280 nm。

**2.1.1.2 胍基物测定** 采用等度法, 色谱柱: Zobax Eclipse XDB C<sub>18</sub>(3.0 mm×150 mm, 3.5 μm); 流动相

水-甲醇(30 : 70); 流速 0.3 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温 40 °C; 进样量 10 μL; 紫外检测波长 280 nm。

### 2.2 溶液配制

**2.2.1 供试品溶液** 取本品适量, 加乙腈溶解并稀释制成 0.1 mg·mL<sup>-1</sup> 的供试品溶液。

**2.2.2 对照品溶液** 取胺化物、开链酰胺和胍基物各适量, 加乙腈溶解并稀释制成 1.0 ng·mL<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

### 2.3 质谱条件

**2.3.1 质谱仪器参数** 采用电喷雾离子源 (electrospray ionization, ESI), 正离子模式; 多重反应离子监测 (multiple reaction monitoring, MRM), MRM 离子对见表 1。雾化气流量为 3 L·min<sup>-1</sup>, 加热气流量为 10 L·min<sup>-1</sup>, 接口电压为 4 kV, 检测电压为 2.0 kV, CID 为 270 kPa, 接口温度为 300 °C, DL 温度为 250 °C, 加热块温度为 400 °C, 干燥器流量为 10 L·min<sup>-1</sup>。

表 1 定量和定性离子对及采集电压

Tab. 1 Quantitative and qualitative ion pairs and acquisition voltages

化合物	离子对	Q1	CE	Q3
胺化物	274.1/202.1(定量)	-14	-20	-16
	274.1/230.1	-14	-24	-22
开链酰胺	392.1/348.1(定量)	-19	-25	-25
胍基物	392.1/320.1	-11	-30	-23
	257.0/122.0(定量)	-20	-11	-12
	257.0/95.0	-27	-34	-18

**2.3.2 定量离子对和定性离子对** 开链酰胺经一级 MS 分析, 得到母离子  $m/z$  为 392.1, 通过二级 MS 分析, 得到其子离子  $m/z$  为 348.1 和 320.1, 确定开链酰胺检测离子( $m/z$ )为 392.1/348.1(定量离子对)、392.1/320.1(定性离子对), 质谱图见图 2; 胺化物经一级 MS 分析, 得到母离子  $m/z$  为 274.1, 通过二级 MS 分析, 得到其子离子  $m/z$  为 230.1 和 202.1, 确定胺化物检测离子( $m/z$ )为 274.1/202.1(定量离子对)、274.1/230.1(定性离子对), 质谱图见图 3; 胍基物经一级 MS 分析, 得到母离子  $m/z$  为

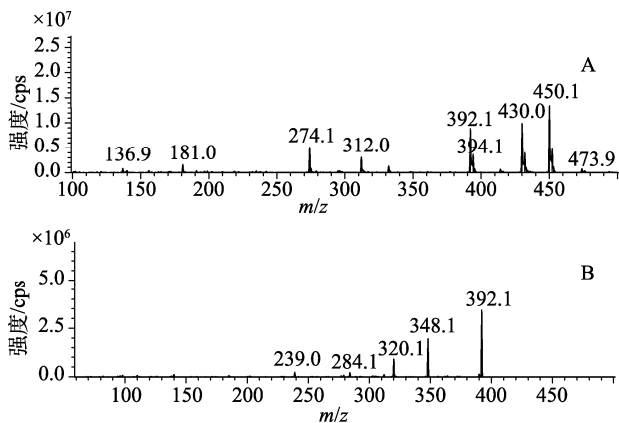


图2 开链酰胺对照品溶液 MS 扫描  
A—一级 MS 扫描; B—MS<sup>2</sup> 扫描。

Fig. 2 MS scanning of open-chain amides reference solution  
A—primary MS scan; B—MS<sup>2</sup> scanning.

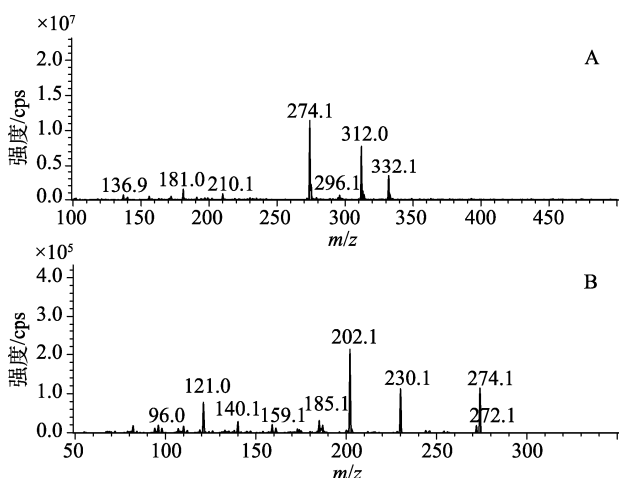


图3 胺化物对照品溶液 MS 扫描  
A—一级 MS 扫描; B—MS<sup>2</sup> 扫描。

Fig. 3 MS scanning of amines reference solution  
A—primary MS scan; B—MS<sup>2</sup> scanning.

257.0, 通过二级 MS 分析, 得到其子离子  $m/z$  为 122.0 和 95.0, 确定胺化物检测离子 ( $m/z$ ) 为 257.0/122.0 (定量离子对)、257.0/95.0 (定性离子对), 质谱图见图 4。

### 2.3.3 胺化物、开链酰胺和胍基物的质谱解析

胺化物的质谱图中  $m/z$  274.1 为母离子  $[M+H]^+$ , 母离子  $[M+H]^+$  通过 C-O 键断裂生成  $m/z$  230.1 的碎片离子,  $m/z$  230.1 的碎片离子进一步脱去 -CO 生成  $m/z$  202.1 的碎片离子; 开链酰胺的质谱图中  $m/z$  392.1 为母离子  $[M+H]^+$ , 母离子  $[M+H]^+$  通过 C-O 键断裂生成  $m/z$  348.1 的碎片离子,  $m/z$  348.1 的碎片离子进一步脱去 -CO 生成  $m/z$  320.1 的碎片离子; 胍基物的质谱图中  $m/z$  257.0 为母离子  $[M+H]^+$ , 母离子  $[M+H]^+$  通过 N-N 键断裂生成

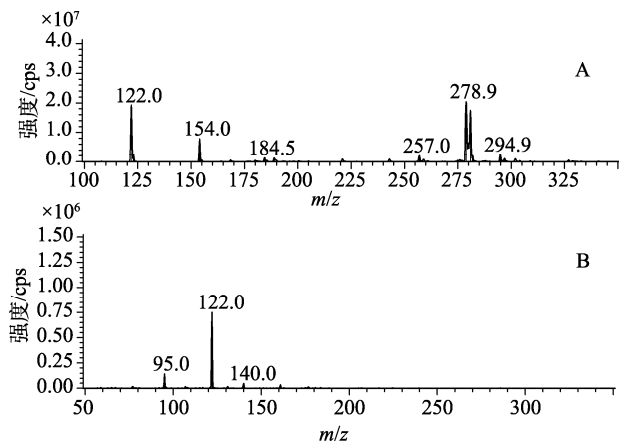


图4 胍基物对照品溶液 MS 扫描  
A—一级 MS 扫描; B—MS<sup>2</sup> 扫描。

Fig. 4 MS scanning of hydrazine based compound reference solution  
A—primary MS scan; B—MS<sup>2</sup> scanning.

$m/z$  122.0 的碎片离子,  $[M+H]^+$  也可生成  $m/z$  95.0 的碎片离子。质谱裂解方式见图 5。

2.3.4 质谱碰撞能量优化 采用 ESI, 正离子模式; MRM 进行上述 3 个基因毒性杂质的质谱碰撞能量(电压)参数优化, 优化的范围见表 2, 仪器自动进行优化, 优化后的质谱参数见“2.3.1”项下内容。

表 2 MRM 采集参数优化设置

Tab. 2 Optimization setting of MRM collection parameters

电压	下限/V	上限/V	步长宽度/V
Q1 Pre 偏差	-40	-10	1.0
CE	-50	-10	1.0
Q3 Pre 偏差	-40	-10	1.0

2.3.5 溶剂的选择及基质效应的消除研究 根据阿派沙班、胺化物、开链酰胺和胍基物的溶解度, 同时考虑到胍基物的酯键易水解, 经过试验选择乙腈为溶剂。但发现供试品溶液浓度为  $1.0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  时, 胺化物和开链酰胺测定存在明显的基质效应, 回收率分别为 81.18% 和 59.51%。

试验了不同的溶剂, 包括乙腈、水-乙腈(50 : 50)、甲醇, 均存在明显的基质效应, 加入样品后, 开链酰胺峰面积明显下降, 胺化物峰面积也下降, 结果见表 3。

试验了不同的供试品溶液浓度, 包括  $1.0, 0.2, 0.1, 0.05 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 结果随着供试品溶液浓度降低, 回收率提高, 可有效消除基质效应, 结果见表 4。因此选择供试品溶液浓度为  $0.1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 经测定, 定量限和灵敏度满足要求。

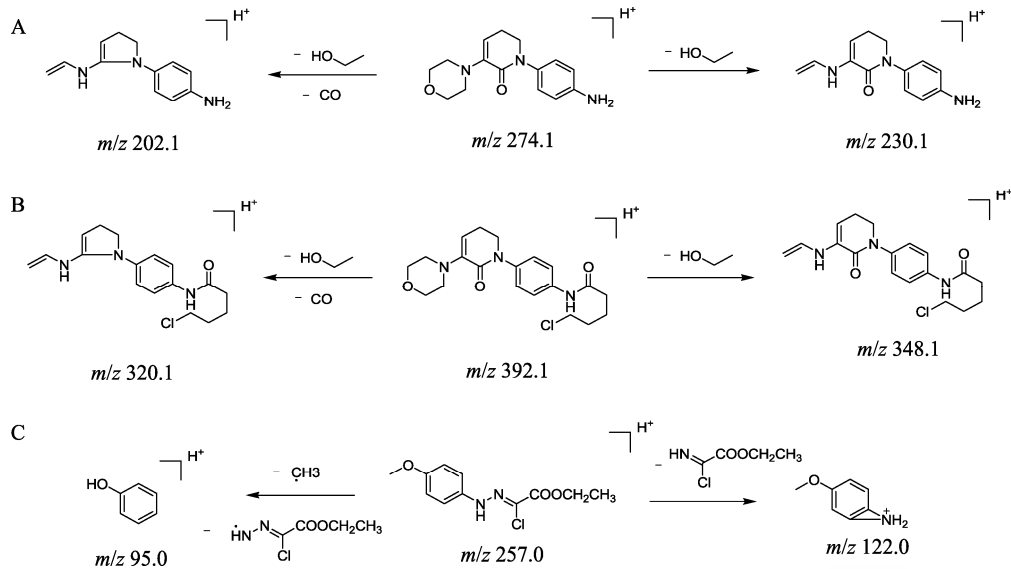


图5 杂质的质谱裂解途径

A-胺化物; B-开链酰胺; C-胍基物。

Fig. 5 Mass spectrometric fragmentation pathway of impurity  
A-amines; B-open-chain amides; C-hydrazine based compound.

表3 不同溶剂对样品基质效应的影响

Tab. 3 Effect of different solvents on matrix effect of samples

溶剂	开链酰胺 峰面积 (对照)	开链酰胺 峰面积 (对照+样品)	胺化物 峰面积 (对照)	胺化物 峰面积 (对照+样品)
乙腈	1 450 647	1 048 221	3 591 334	3 268 240
50%乙腈	1 672 623	1 051 839	3 717 801	3 268 240
甲醇	1 424 145	1 172 883	3 063 474	2 878 987

表4 不同供试品浓度的回收率结果

Tab. 4 Results of recovery of different test concentration

样品浓度/ mg·mL <sup>-1</sup>	开链酰胺平均 回收率/%	胺化物平均 回收率/%
1.0	59.51	81.18
0.2	88.10	97.20
0.1	92.20	99.60
0.05	92.50	102.80

## 2.4 方法学验证

**2.4.1 方法专属性** 阿哌沙班峰与开链酰胺峰、胺化物峰及胍基物峰完全分离,阿哌沙班峰对开链酰胺峰、胺化物峰及胍基物峰测定无干扰,见图6。

**2.4.2 线性关系** 精密称取开链酰胺对照品 10.91 mg、胺化物对照品 10.73 mg、胍基物对照品 10.87 mg 分别置 100 mL 量瓶中,加乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,得对照品溶液。各取 1 mL 的对照品溶液,置 100 mL 量瓶中,加乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,得 1 mL 中约含开链酰胺和胺化物 1 μg 的对照品储备液和 1 mL 中约含胍基物 1 μg 的对照品储备液;取对照品储备液,逐级稀释,

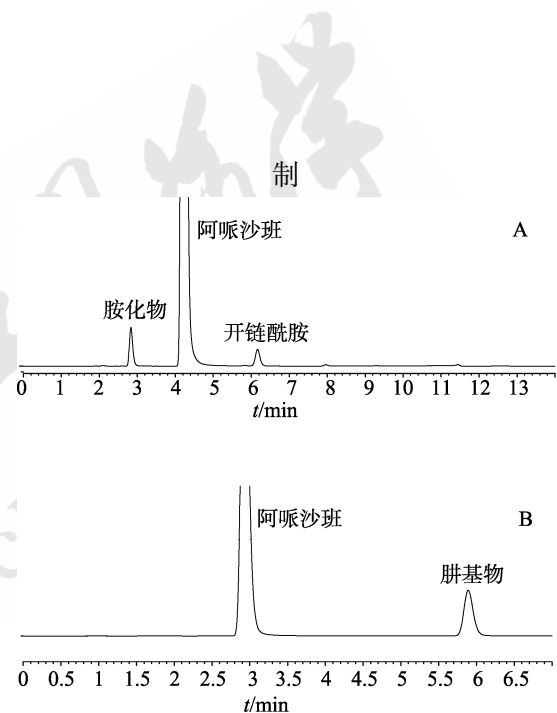


图6 阿哌沙班与杂质分离色谱图

A-开链酰胺和胺化物测定; B-胍基物测定。

Fig. 6 Separation chromatography of apixaban and impurity  
A-determination of open-chain amides and amides; B-determination of hydrazine based compound.

成含开链酰胺和胺化物质量浓度分别为 5, 1(限值), 0.2, 0.08, 0.05 ng·mL<sup>-1</sup> 的对照品溶液,含胍基物质量浓度分别为 25, 5, 1(限值), 0.2, 0.05 ng·mL<sup>-1</sup> 的对照品溶液,分别进样分析,以浓度为横坐标(x),峰面积为纵坐标(y),绘制标准曲线并进行线性回归,结果开链酰胺的线性方程为  $y=117\ 463x+18\ 842(r=0.999\ 9)$ ;胺化物的线性方程为  $y=234\ 613x-12\ 106(r=0.999\ 8)$ ;胍基物的线性方程为  $y=129\ 112x+66\ 921(r=0.999\ 9)$ 。

结果表明, 开链酰胺、胺化物浓度在 0.05~5 ng·mL<sup>-1</sup>, 胍基物浓度在 0.05~25 ng·mL<sup>-1</sup> 与峰面积呈良好的线性关系。

**2.4.3 定量限** 取“2.4.2”项下对照品储备液适量, 用乙腈稀释得质量浓度分别为开链酰胺 0.05 ng·mL<sup>-1</sup>, 胺化物 0.05 ng·mL<sup>-1</sup>, 胍基物 0.05 ng·mL<sup>-1</sup> 的对照品溶液, 进样分析。分别测得开链酰胺的定量限为 0.05 ng·mL<sup>-1</sup> (S/N=14.12), 胺化物的定量限为 0.05 ng·mL<sup>-1</sup> (S/N=11.84), 胍基物的定量限为 0.05 ng·mL<sup>-1</sup> (S/N=10.18)

**2.4.4 回收率** 取样品(批号: I08190701)200 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加乙腈稀释至刻度, 摇匀, 作为样品储备液, 取样品储备液 1 mL 分别置 20 mL 量瓶中, 共 9 份, 再加入限度浓度值 50%, 100%, 150% 的开链酰胺和胺化物对照溶液以及胍基物对照溶液并稀释至刻度, 摇匀, 即得 3 个浓度水平溶液, 进样分析, 结果见表 5~6。开链酰胺和胺化物的平均回收率分别为 92.2%, 99.6%, RSD 分别为 1.9%, 3.8%, 胍基物的平均回收率为 97.5%, RSD 为 7.2%。

表 5 开链酰胺和胺化物回收率测定结果

Tab. 5 Recovery rate results of open-chain amides and amines

化合物	浓度水平	实测浓度/ ng·mL <sup>-1</sup>	理论浓度/ ng·mL <sup>-1</sup>	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %			
开链 酰胺	低浓度	0.465	0.506	92.00	92.2	1.9			
		0.455	0.506	89.95					
		0.468	0.506	92.58					
	中浓度	0.959	1.011	94.83					
		0.914	1.011	90.41					
		0.913	1.011	90.27					
	高浓度	1.402	1.517	92.45					
		1.415	1.517	93.34					
		1.423	1.517	93.85					
	胺化物	低浓度	0.514	0.516			99.67	99.6	3.8
			0.518	0.516			1.00		
			0.563	0.516			1.09		
中浓度		1.009	1.031	97.84					
		1.003	1.031	97.31					
		1.016	1.031	98.50					
高浓度		1.517	1.547	98.11					
		1.515	1.547	97.96					
		1.504	1.547	97.26					

**2.4.5 稳定性** 取开链酰胺和胺化物杂质对照品溶液, 分别在 0, 1, 2, 16, 17 h 进样分析。结果胺化物和开链酰胺 5 个时间点峰面积 RSD 分别为 1.73% 和 1.13%, 说明溶液 17 h 内稳定。

表 6 胍基物回收率测定结果

Tab. 6 Recovery rate results of hydrazine based compound

化合物	浓度水平	实测浓度/ ng·mL <sup>-1</sup>	理论浓度/ ng·mL <sup>-1</sup>	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
胍基物	低浓度	0.482	0.522	92.44	97.5	7.2
		0.531	0.522	101.89		
		0.577	0.522	110.61		
	中浓度	0.989	1.043	94.82		
		1.059	1.043	101.51		
		0.962	1.043	92.27		
	高浓度	1.504	1.565	96.11		
		1.475	1.565	94.27		
		1.378	1.565	88.10		

取胍基物对照品溶液, 分别在 0, 1, 2, 4 h 进样分析。结果胍基物随时间增加峰面积下降, 说明样品需要临用新制。

**2.4.6 样品测定** 取阿哌沙班 9 批样品细粉各约 10 mg, 精密称定, 分别置 100 mL 量瓶中, 加乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液, 进样分析。9 批阿哌沙班样品中基因毒性杂质残留量测定结果均远低于限度值, 结果见表 7, 代表性图谱见图 7~8(截掉阿哌沙班主峰, 不流入质谱)。

表 7 阿哌沙班中基因毒性杂质残留量测定结果

Tab. 7 Determination results of genotoxic impurity residues in apixaban

批号	开链酰胺	胺化物	胍基物
I08190701	未检出	未检出	未检出
I08200701	1.5	未检出	未检出
I08200801	未检出	未检出	未检出
DK47-200906	未检出	未检出	未检出
APXLL-201512103	未检出	未检出	未检出
20200214	未检出	未检出	未检出
11320018	未检出	未检出	未检出
90312007001	未检出	未检出	未检出
200906	未检出	1.4	7.7

### 3 讨论

对色谱条件和质谱条件进行优化考察, 流动相试验了①10 mmol·L<sup>-1</sup> 乙酸铵溶液-乙腈(60 : 40) 和②0.1%甲酸溶液-乙腈(60 : 40) 2 种条件, 结果采用流动相条件①时杂质的检测灵敏度更高, 因此流动相选用 10 mmol·L<sup>-1</sup> 乙酸铵溶液-乙腈(60 : 40); 但开链酰胺出峰过慢, 因此采用梯度洗脱, 阿哌沙班、胺化物、开链酰胺峰之间均获得了完全分离, 保留时间适宜。

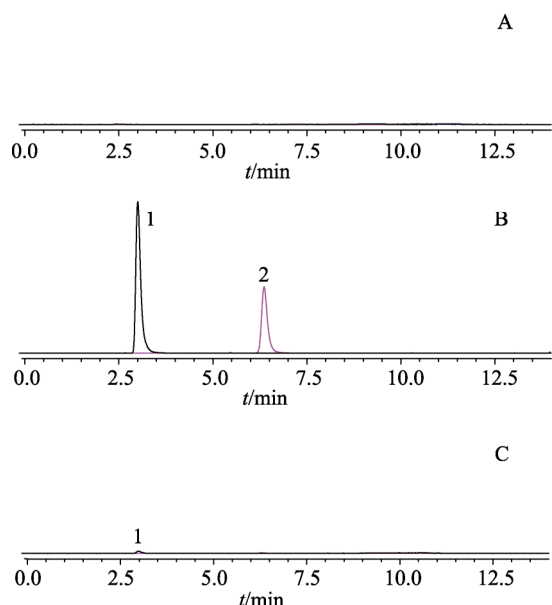


图7 开链酰胺和胺化物测定的MRM图谱  
A-空白溶液; B-对照品溶液; C-样品溶液; 1-胺化物; 2-开链酰胺。  
Fig. 7 MRM chromatograms of open chain amides and amides  
A-blank solution; B-reference solution; C-sample solution; 1-open chain amides; 2-amides.

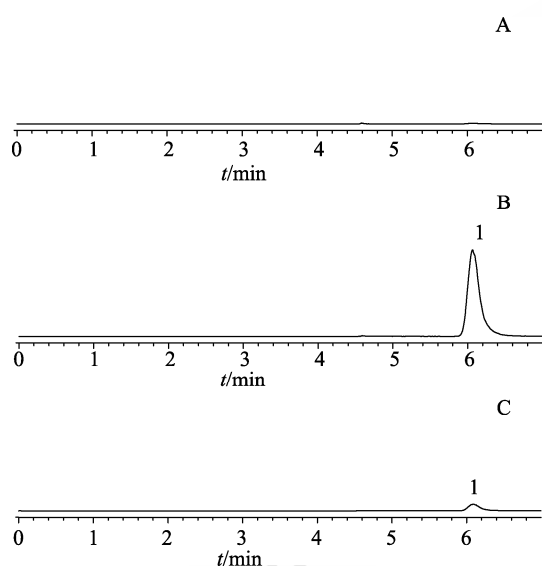


图8 胍基物测定的MRM图谱  
A-空白溶液; B-对照品溶液; C-样品溶液; 1-胍基物。  
Fig. 8 MRM chromatograms of hydrazine based compound  
A-blank solution; B-reference solution; C-sample solution; 1-hydrazine based compound.

胍基物在流动相条件①中离子化效率非常低,无法进行质谱测定,因此该杂质的测定需采用另外的流动相,经试验,采用水-甲醇(30:70),胍基物可获得良好的离子化效果,杂质间获得完全分离。

本法建立了阿哌沙班中开链酰胺、胺化物和胍基物3种基因毒性杂质的检测方法,并有效地消除了基质效应,方法专属性强、灵敏度高,满足痕量杂质的测定要求,可用于阿哌沙班中基因毒性杂质的定量检测和控制,保障公众用药安全有效。

## REFERENCES

- [1] CHENG F J, FU X T, GAO S X, et al. Determination of genotoxic impurities in apixaban by LC-MS/MS[J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2020, 29(7): 816-821.
- [2] WANG H J, PAN H J, LIU C, et al. Determination of the genotoxic impurity in apixaban by LC-MS[J]. *Chin J Pharm*(中国医药工业杂志), 2015, 46(9): 1004-1007.
- [3] EMEA. Guideline on the limits of genotoxic impurities[R]. 2006: 2.
- [4] ICH Q2(R1). Current Step4 Version: Parent Guideline dated 27 October 1994. 1994.
- [5] ZHANG Y F, QIAN J Q, WANG J. Determination of trace level of genotoxic impurity N, N-dimethylaniline in flucytosine by HPLC-MS/MS[J]. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2017, 37(2): 265-271.
- [6] GUO J J, CHEN B, CHEN B, et al. Determination of irbesartan and hydrochlorothiazide in human plasma by LC-MS/MS and its application[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2021, 38(1): 63-70.
- [7] WANG P, LIN L H. Improvement on synthesis process of apixaban[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2019, 36(14): 1783-1786.
- [8] 中国药典. 四部[S]. 2020: 9101.
- [9] EP[S]. 10.0th ed. 2020: 1710-1712.
- [10] LUO S Q, ZHANG Y, CAO L, et al. Quality analysis of amlodipine besilate tablets in provincial sampling inspection[J]. *China Pharm*(中国药师), 2020, 23(9): 1843-1848.
- [11] DEVENPORT N A, SEALEY L C, ALRUWAYS F H, et al. Direct detection of a sulfonate ester genotoxic impurity by atmospheric-pressure thermal desorption-extractive electrospray-mass spectrometry[J]. *Anal Chem*, 2013, 85(13): 6224-6227.
- [12] AROUS B, AL-MARDINI M A. Development and validation of a stability-indicating liquid chromatographic method with mass-spectrometric detection for the analysis of apixaban and determination of production related impurities[J]. *Pharm Chem J*, 2018, 52(6): 573-581.
- [13] KAKASAHEB N A, RAMAKRISHNA K, SPINIVASARAO V. Method development and validation by GC-MS for quantification of 1-chloroethylcyclohexyl carbonate as a genotoxic impurity in candesartan cilexetil drug substance[J]. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2014, 6(11): 370-372.

收稿日期: 2021-11-07  
(本文责编: 陈怡心)