

超高效液相色谱法测定富马酸伏诺拉生原料有关物质

赵静芝¹, 宿亮^{1*}, 朱婧¹, 朱跃芳², 吴超男¹ (1. 株洲千金药业股份有限公司, 株洲 412000; 2. 株洲市食品药品检验所, 株洲 412000)

摘要 目的: 建立超高效液相色谱法测定富马酸伏诺拉生有关物质的方法。方法: 采用ZORBAX SB-C₁₈色谱柱(4.6 mm×150 mm, 1.8 μm), 流动相A为0.025 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲溶液(pH 6.0)-甲醇-乙腈(14:5:1), 流动相B为0.025 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲溶液(pH 6.0)-乙腈(3:7), 采用梯度洗脱, 流速1.0 mL·min⁻¹, 柱温30℃, 检测波长230 nm, 进样量20 μL。结果: 杂质A、杂质C、杂质D、杂质F、杂质G、杂质H、杂质J、杂质K、杂质L、杂质M、杂质N和伏诺拉生分别在0.04177~2.088 μg·mL⁻¹ (*r*=1.0000)、0.07479~3.740 μg·mL⁻¹ (*r*=1.0000)、0.07335~3.668 μg·mL⁻¹ (*r*=1.0000)、0.1000~2.004 μg·mL⁻¹ (*r*=1.0000)、0.1325~6.623 μg·mL⁻¹ (*r*=1.0000)、0.09300~1.860 μg·mL⁻¹ (*r*=1.0000)、0.1380~2.7530 μg·mL⁻¹ (*r*=1.0000)、0.1350~2.698 μg·mL⁻¹ (*r*=1.0000)、0.1130~2.257 μg·mL⁻¹ (*r*=1.0000)、0.05060~2.530 μg·mL⁻¹ (*r*=0.9999)、0.1420~2.846 μg·mL⁻¹ (*r*=1.0000)、0.1190~2.382 μg·mL⁻¹ (*r*=0.9998)浓度范围内与峰面积呈良好线性关系。上述各杂质的平均回收率(*n*=9)分别为97.24%、102.12%、99.46%、98.29%、101.51%、100.84%、99.18%、101.20%、98.49%、103.63%、96.49%。采用该检测方法对5批样品进行有关物质检测, 其中杂质C、杂质M、杂质N检出量均≤0.05%, 杂质H、其他最大单个杂质检出量均≤0.10%, 总杂质检出量均≤0.31%。结论: 经方法学验证, 本法专属性强、灵敏度高、准确度高, 可用于富马酸伏诺拉生原料的有关物质测定, 为其质量控制提供方法保证。

关键词: 消化性溃疡; 富马酸伏诺拉生; 有关物质; 超高效液相色谱法; 质量控制

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2022)07-0800-10

doi:10.16153/j.1002-7777.2022.07.009

Determination of the Related Substances in Vonoprazan Fumarate by Ultra High Performance Liquid Chromatography (UPLC)

Zhao Jingzhi¹, Su Liang^{1*}, Zhu Jing¹, Zhu Yuefang², Wu Chaonan¹ (1. Zhuzhou Qianjin Pharmaceutical Co., Ltd., Zhuzhou 412000, China; 2. Zhuzhou Institute for Food and Drug Control, Zhuzhou 412000, China)

Abstract Objective: To establish a method for the determination of related substances in vonoprazan fumarate by ultra high performance liquid chromatography (UPLC). **Methods:** ZORBAX SB-C₁₈ column (4.6 mm×150 mm, 1.8 μm) was performed, the mobile phase A was 0.025 mol·L⁻¹ phosphate buffer solution (pH 6.0) -

基金项目: 湖南省自然科学基金资助项目(编号2017JJ2123)

作者简介: 赵静芝 Tel: 15673320719; E-mail: 894497685@qq.com

通信作者: 宿亮 Tel: 13469015240; E-mail: 85442705@qq.com

methanol-acetonitrile (14 : 5 : 1), and the mobile phase B was $0.025 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ phosphate buffer solution (pH 6.0) - acetonitrile (3 : 7). Gradient elution was used, the flow rate was $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, the column temperature was $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$, the detection wavelength was 230 nm , and the injection volume was $20 \text{ }\mu\text{L}$. **Results:** Impurity A, impurity C, impurity D, impurity F, impurity G, impurity H, impurity J, impurity K, impurity L, impurity M, impurity N and vonoprazan in the concentration ranges of $0.04177\text{-}2.088 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=1.0000$), $0.07479\text{-}3.740 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=1.0000$), $0.07335\text{-}3.668 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=1.0000$), $0.1000\text{-}2.004 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=1.0000$), $0.1325\text{-}6.623 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=1.0000$), $0.09300\text{-}1.860 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=1.0000$), $0.1380\text{-}2.7530 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=1.0000$), $0.1350\text{-}2.698 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=1.0000$), $0.1130\text{-}2.257 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=1.0000$), $0.05060\text{-}2.530 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9999$), $0.1420\text{-}2.846 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=1.0000$), and $0.1190\text{-}2.382 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9998$) revealed good linear relationship with the peak area. The rates of recovery ($n=9$) of the above impurities were 97.24%, 102.12%, 99.46%, 98.29%, 101.51%, 100.84%, 99.18%, 101.20%, 98.49%, 103.63%, and 96.49%, respectively. Five batches of samples were tested for related substances by this detection method, in which the detection amount of impurity C, impurity m and impurity N was $\leq 0.05\%$, the detection amount of impurity h and other largest single impurities was $\leq 0.10\%$, and the total detection amount of impurities was $\leq 0.31\%$. **Conclusion:** The method has been proved to be exclusive, sensitive and accurate. It can be used to determine the related substances in vonoprazan fumarate materials and can provide a method guarantee for its quality control.

Keywords: peptic ulcer; vonoprazan fumarate; related substances; ultra high performance liquid chromatography; quality control

富马酸伏诺拉生 (Vonoprazan, TAK-438) 是一种属于钾离子 (K^+) 竞争性酸阻滞剂 (P-CAB) 的新一类抑制剂, 能够在胃壁细胞胃酸分泌的最后一步, 通过抑制 K^+ 对 H^+ - K^+ -ATP 酶 (质子泵) 的结合作用, 提前终止胃酸的分泌, 具有强劲、持久的抑制胃酸分泌作用; 可用于治疗或预防消化性溃疡、佐-埃综合症、胃炎、糜烂性食管炎, 反流性食管炎、症状性胃食管返流疾病 (Gastroesophageal Reflux Disease, GERD)、功能性消化不良、胃癌、胃 MALT 淋巴瘤或胃酸过多症。与已上市的质子泵抑制剂 (Proton Pump Inhibitor, PPIs) 不同, 本品具有全新的靶点, 并不主要由 CYP2C19 代谢; 同时, 对质子泵的抑制作用无需酸的激活, 以高浓度进入胃中, 首次给药便能产生最大的抑制效应, 且可持续 24 h。富马酸伏诺拉生在酸中稳定, 药效及起效剂量在不同患者中无显著差异^[1-5]。

富马酸伏诺拉生由日本武田制药公司开发, 于 2014 年 2 月 28 日向日本提交上市申请, 2014 年 12 月在日本上市, 商品名为 Takecab, 规格为 10 mg、20 mg, 最初称为富马酸沃诺拉赞。2018 年 10 月,

武田制药向我国国家药典委员会提交了 TAK-438 片中文通用名称的命名申请, 正式更为富马酸伏诺拉生片, 英文名称为 Vonoprazan Fumarate Tablets。

根据日本武田制药专利及已有文献报道^[6-8], 富马酸伏诺拉生商业化生产 (合成路线见图 1) 以 5-(2-氟苯基)-1H-吡咯-2-氯-3-乙酸乙酯为起始原料, 经亲核取代、氨化还原、解离成盐和精制 4 个步骤合成制得^[9]。

富马酸伏诺拉生性质较稳定, 不易降解, 最终引入的杂质主要是合成过程中的工艺杂质 (结构式见图 2)。在已有文献报道中, 未见采用超高效液相色谱 (Ultra-high Performance Liquid Chromatography, UPLC) 法用于有关物质控制的分析方法研究, 且现有方法对有关物质检出能力较弱^[6-8,10-15]。为加强富马酸伏诺拉生的质量控制, 本文在充分研究的基础上, 建立了 UPLC 法测定富马酸伏诺拉生的已知杂质和未知杂质, 结果表明, 该方法操作简单, 灵敏度高, 专属性强, 可快速测定富马酸伏诺拉生的有关物质。

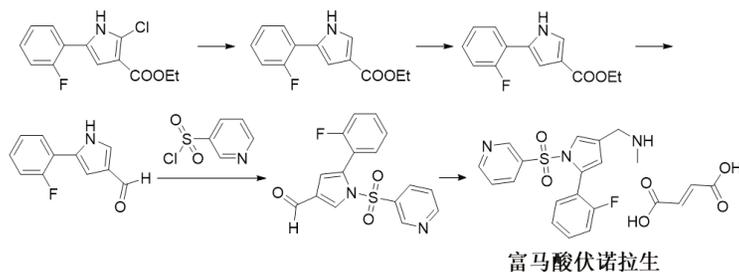


图1 富马酸伏诺拉生合成路线图

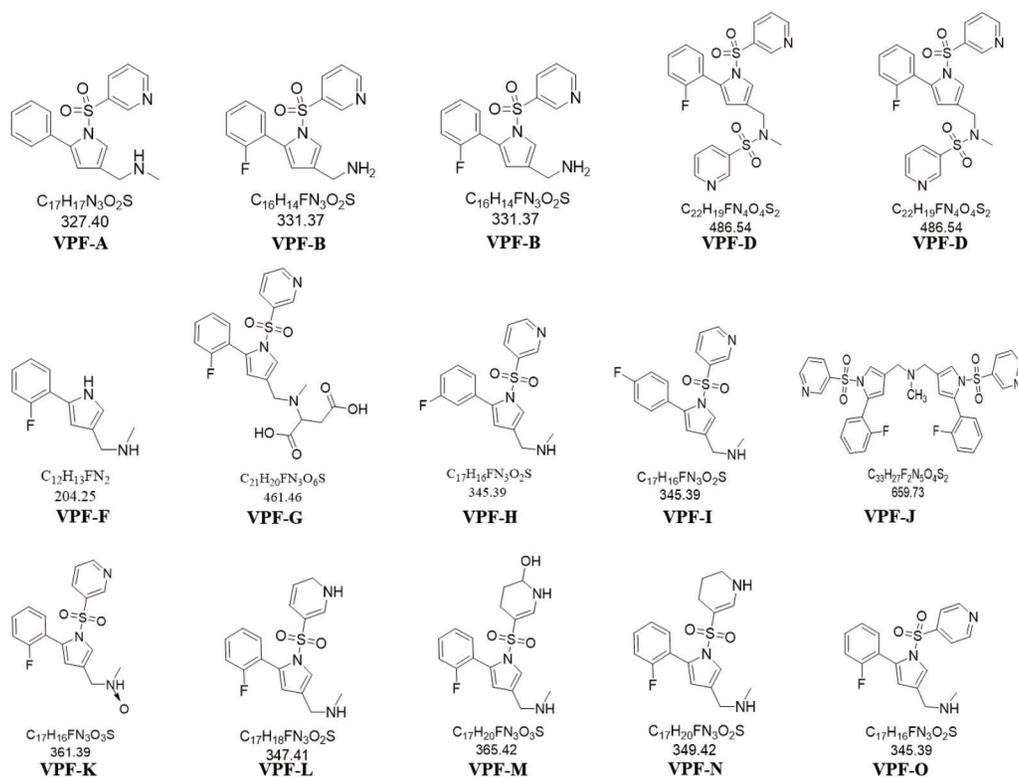


图2 富马酸伏诺拉生主要杂质

1 仪器与试剂

Waters e2695型高效液相色谱仪（配备PDA检测器）及Empower工作站（Waters公司）。富马酸伏诺拉生对照品（自制，纯度99.61%，批号210129）；甲醇、乙腈（Spectrum Chemical，

HPLC级），其余试剂均为分析纯；富马酸伏诺拉生原料（自制，批号20180701、20190101、20190401、20190402、20190403）；各杂质对照品信息详见表1。

表1 各杂质对照品信息

杂质	来源	含量 /%	批号
杂质 A	QCC	99.25	18-07-0317
杂质 C	SINCO	98.06	18-06-3014
杂质 D	SINCO	98.57	19-04-0835

续表 1

杂质	来源	含量 /%	批号
杂质 F	SINCO	98.02	18-07-1716
杂质 G	SINCO	97.25	18-07-0310
杂质 H	Pharmace chemiLab	98.25	P1-D2
杂质 J	QCC	98.04	11-AUG-17-19
杂质 K	QCC	99.37	02-JUN-17-73
杂质 L	QCC	98.18	20-Jul-17-22
杂质 M	上海启太生物科技有限公司	96.76	18102568
杂质 N	上海启太生物科技有限公司	98.49	18041569

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 1.8 μm) 色谱柱; 流动相: A相为0.025 mol · L⁻¹磷酸盐缓冲溶液 (pH 6.0) - 甲醇-乙腈 (14 : 5 : 1),

B相为0.025 mol · L⁻¹磷酸盐缓冲溶液 (pH 6.0) - 乙腈 (3 : 7), 按表2程序进行梯度洗脱; 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 230 nm, 进样量 20 μL。

表 2 梯度洗脱程序

时间 /min	流动相比例 /%	
	流动相 A	流动相 B
0	100	0
10	100	0
30	50	50
40	0	100
50	0	100
50.1	100	0
55	100	0

2.2 溶液的制备

2.2.1 单个杂质对照品储备液

分别取杂质A、杂质C、杂质D、杂质F、杂质G、杂质H、杂质J、杂质K、杂质L、杂质M、杂质N对照品各约10 mg, 精密称定, 分别置20 mL量瓶中, 加25%乙腈适量超声15 min使溶解, 并稀释至

刻度, 摇匀, 作为上述单个杂质对照品储备液。

2.2.2 对照品溶液

取富马酸伏诺拉生对照品约10 mg, 精密称定, 置50 mL量瓶中, 用25%乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀; 精密量取1 mL, 置50 mL量瓶中, 用25%乙腈稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.3 供试品溶液

取富马酸伏诺拉生原料20 mg (相当于伏诺拉生约15 mg), 精密称定, 置50 mL量瓶中, 加25%乙腈适量超声15 min使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 系统适用性试验

取富马酸伏诺拉生原料约20 mg, 精密称定, 置50 mL量瓶中, 加25%乙腈适量超声15 min, 使

溶解; 精密加入上述单个杂质对照品储备液各0.1 mL, 置同一量瓶中, 用25%乙腈稀释制成每1 mL中约含各杂质1 μ g及约含伏诺拉生300 μ g的溶液。按“2.1”项色谱条件取上述溶液进样, 各峰的出峰顺序: 杂质M、杂质F、杂质N、杂质L、杂质G、主成分、杂质A、杂质H、杂质C、杂质K、杂质D、杂质J; 理论塔板数以伏诺拉生计为71931, 结果见表3, 色谱图见图3。

表3 相对保留时间及分离度结果

化合物	分离度	相对保留时间	理论塔板数
杂质 M	-	0.44	14404
杂质 F	15.26	0.62	17927
杂质 N	10.77	0.75	35728
杂质 L	9.38	0.88	77005
杂质 G	4.84	0.92	123586
伏诺拉生	5.95	1.00	71931
杂质 A	4.58	1.07	189191
杂质 H	5.10	1.14	229227
杂质 C	3.61	1.17	187377
杂质 K	4.78	1.45	340169
杂质 D	33.52	1.74	1086244
杂质 J	40.00	2.07	719051

2.4 专属性试验

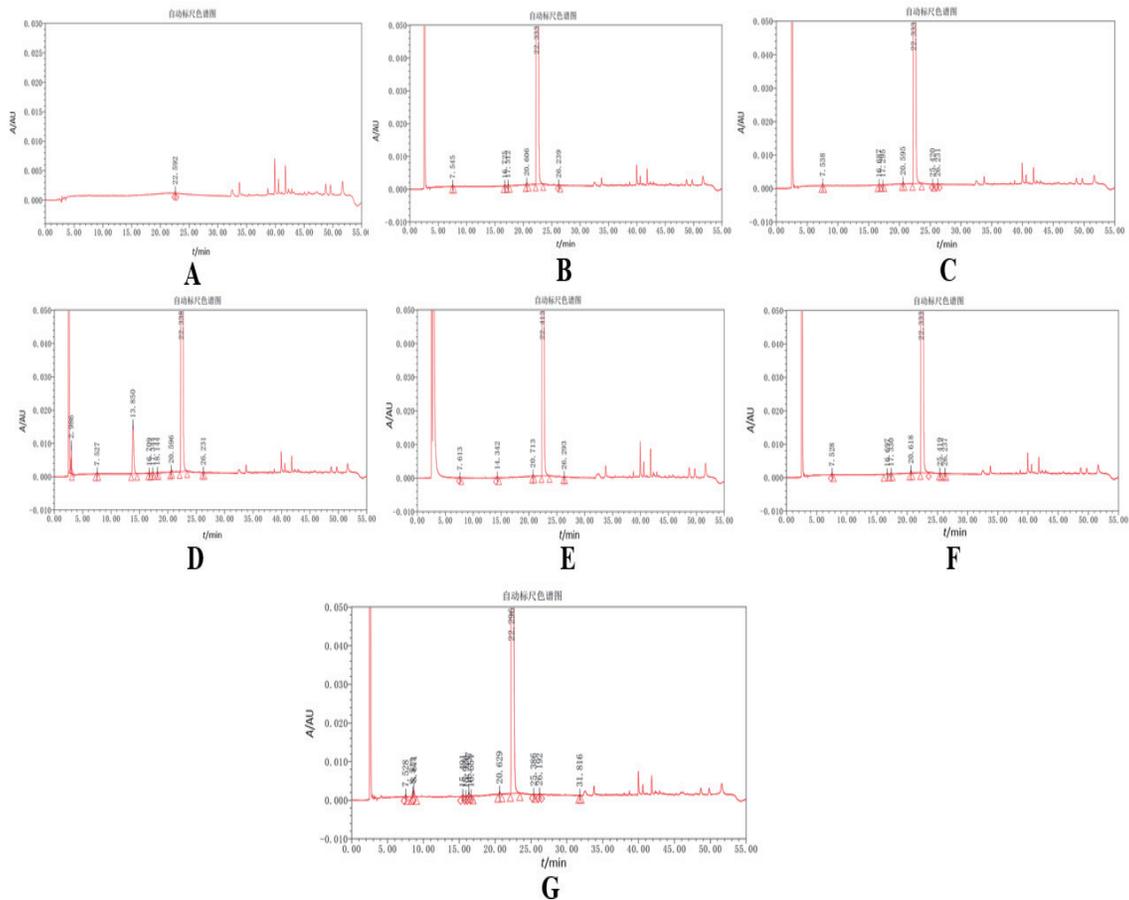
2.4.1 空白溶剂干扰试验

取空白溶剂 (25%乙腈) 20 μ L, 注入液相色谱仪, 结果显示空白溶剂不干扰主峰及各杂质测定。

2.4.2 强制破坏试验

精密称取富马酸伏诺拉生原料 (批号20190401) 约20 mg, 置50 mL量瓶中, 先加20 mL 25%乙腈使溶解, 摇匀, 共称取6份备用, 进行不同条件下的降解试验。试验条件依次为: 未破坏样品 (即供试品溶液); 酸破坏: 加1 mol \cdot L⁻¹盐酸溶液2 mL, 室温放置2 h, 用1 mol \cdot L⁻¹氢氧化钠溶液中和; 碱破坏: 加1 mol \cdot L⁻¹氢氧化钠溶液

2 mL, 室温放置30 min, 用1 mol \cdot L⁻¹盐酸溶液中和; 氧化破坏: 加30%过氧化氢溶液5 mL, 摇匀, 室温放置6 h; 高温破坏: 置于90 $^{\circ}$ C水浴锅中加热8 h (加热过程中如溶剂挥发, 及时补加适量25%乙腈, 使样品处于溶液状态); 光照: 在5000 \pm 500 lx照度下放置15 h。上述6种溶液冷却至室温后, 分别加25%乙腈稀释至刻度, 按“2.1”项色谱条件进样, 用PDA检测器扫描, 得到色谱图, 见图3。结果显示, 各破坏条件产生的降解物质与主峰均能良好分离, 表明该法的专属性较强; 根据PDA扫描图, 可知主峰纯度均符合要求, 证明没有共洗脱峰存在。



A. 空白溶剂; B. 未经破坏样品; C. 酸破坏样品; D. 碱破坏样品; E. 氧化破坏样品; F. 高温破坏样品; G. 光照破坏样品。

图3 不同降解条件下的UPLC色谱图

2.5 稳定性试验

按“2.2”项下方法制备对照品溶液和供试品溶液，再按“2.1”项下色谱条件进样测定，分别于0、4、8、12、24、48 h进样，各测定时间点，对照品溶液中主峰面积变化率最大为3.3%，在±5%范围内，对照品溶液室温放置48 h内稳定；与0 h相比，供试品溶液中各杂质的极差均<0.05%，且未出现新的>0.05%的杂质，供试品溶液室温放置48 h内稳定。

2.6 精密度试验

2.6.1 进样精密度

按“2.1”项下色谱条件，精密量取“2.2”项

下对照品溶液，连续进样6针，记录峰面积，结果主成分峰面积的RSD为0.16%，小于2.0%，表明该方法进样精密度良好。

2.6.2 重复性试验

按“2.1”项下色谱条件，取富马酸伏诺拉生原料（批号 20190401）20 mg，精密称定，置50 mL量瓶中，加25%乙腈溶解并稀释至刻度，摇匀，即得。平行配制6份供试品溶液，进行测定。按加校正因子的主成分对照品法计算各杂质含量，6份供试品测定结果见表4，其中单个杂质和总杂质含量的绝对变化值均在0.05%以内，且未出现新的大于0.05%的杂质，表明该方法重复性良好。

表4 重复性结果

杂质	供试品杂质含量 /%						极差 /%
	1	2	3	4	5	6	
杂质 C	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.00
杂质 G	0.06	0.06	0.07	0.06	0.06	0.06	0.01
杂质 M	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.00
杂质 N	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.00
总杂质	0.90	0.91	0.92	0.93	0.91	0.91	0.03

2.7 线性关系考察

2.7.1 主成分线性

取富马酸伏诺拉生对照品约40 mg (相当于伏诺拉生约30 mg), 精密称定, 置50 mL量瓶中, 加25%乙腈使溶解, 稀释至刻度, 摇匀, 作为主成分储备液 (供试品浓度200%)。精密量取主成分储备液分别稀释制成0.5% ($1.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、0.2% ($0.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、0.1% ($0.3 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、0.05% ($0.15 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、0.02% ($0.06 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的一系列线性溶液, 依次进样测定, 记录峰面积 A 。

2.7.2 杂质线性及相对校正因子

分别精密量取杂质A对照品储备液3 mL、杂质C对照品储备液5 mL、杂质D对照品储备液5 mL、杂质F对照品储备液7 mL、杂质G对照品储备液7.5 mL、杂质H对照品储备液7 mL、杂质J对照品储备

液7.5 mL、杂质K对照品储备液7.5 mL、杂质L对照品储备液7 mL、杂质M对照品储备液3 mL及杂质N对照品储备液3 mL, 置同一100 mL量瓶中, 用25%乙腈定量稀释制成每1 mL约含杂质A $15 \mu\text{g}$ 、杂质C $25 \mu\text{g}$ 、杂质D $25 \mu\text{g}$ 、杂质F $35 \mu\text{g}$ 、杂质G $37.5 \mu\text{g}$ 、杂质H $35 \mu\text{g}$ 、杂质J $37.5 \mu\text{g}$ 、杂质K $37.5 \mu\text{g}$ 、杂质L $35 \mu\text{g}$ 、杂质M $15 \mu\text{g}$ 、杂质N $15 \mu\text{g}$ 的溶液, 作为混合杂质储备液。分别精密量取混合杂质储备液2、1、3、1、1 mL, 分别置10、25、100、50、250 mL量瓶中, 加25%乙腈定量稀释至刻度, 摇匀, 依次进样测定, 记录峰面积 A 。

以峰面积 A 为纵坐标, 以质量浓度 C ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)为横坐标进行线性回归, 所得回归方程 ($n=5$)、线性范围及相对校正因子见表5。

表5 回归方程、线性范围、相关系数及相对校正因子的测定结果

化合物	回归方程	线性范围/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	r	f
杂质A	$A=42392.08C-162.94$	0.04177~2.088	1.0000	1.02
杂质C	$A=39032.48C-407.60$	0.07479~3.740	1.0000	1.11
杂质D	$A=41523.47C-309.34$	0.07335~3.668	1.0000	0.97
杂质F	$A=25,646.50C-406.52$	0.1000~2.004	1.0000	1.67
杂质G	$A=28483.21C-192.00$	0.1325~6.623	1.0000	1.52
杂质H	$A=42078.57C-232.20$	0.09300~1.860	1.0000	1.02
杂质J	$A=38518.98C-1205.71$	0.1380~2.753	1.0000	1.11
杂质K	$A=33113.35C-364.09$	0.1350~2.698	1.0000	1.29

续表 5

化合物	回归方程	线性范围/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	<i>r</i>	<i>f</i>
杂质L	$A=26,677.34C-627.67$	0.1130~2.257	1.0000	1.60
杂质M	$A=40,920.94C-1,132.02$	0.05060~2.530	0.9999	1.06
杂质N	$A=26531.06C-854.12$	0.1420~2.846	1.0000	1.61
伏诺拉生	$A=42766.13C+2735.96$	0.1190~2.382	0.9998	-

结果表明,在各自的线性范围内,伏诺拉生与11个杂质均呈良好的线性关系, Y轴截距均在100%浓度响值的10.0%以内。以伏诺拉生为参照物,计算各杂质相对校正因子*f*,结果见表5。

2.8 检测限和定量限

取“2.7”项下最低浓度的溶液,逐步稀释后进样测定,以信噪比约为3时计算检测限,以信噪比约为10时计算定量限,测得各化合物的定量限及检测限见表6。

2.9 回收率试验

精密称取富马酸伏诺拉生供试品20 mg,置50 mL量瓶中,加25%乙腈适量使溶解,再分别精密

量取“2.7”项下混合杂质储备液1、2、4 mL,置同一量瓶中,用25%乙腈稀释至刻度,摇匀,分别作为50%、100%、200%的供试溶液,各浓度平行配制3份。按“2.1”项下色谱条件进样,按外标法计算,结果杂质A、杂质C、杂质D、杂质F、杂质G、杂质H、杂质J、杂质K、杂质L、杂质M、杂质N的平均回收率依次为97.24%、102.12%、99.46%、98.29%、101.51%、100.84%、99.18%、101.20%、98.49%、103.63%、96.49%; RSD依次为0.41%、0.85%、0.62%、0.55%、0.51%、0.67%、1.02%、0.35%、0.54%、0.73%、1.51% ($n=9$)。

表6 定量限 (LOQ) 及检测限 (LOD) 的测定结果

化合物	LOQ		LOD	
	测定值 /ng	S/N	测定值 /ng	S/N
杂质 A	0.8	42.7	0.4	27.4
杂质 C	1.0	59.0	0.7	38.9
杂质 D	2.1	20.6	0.8	8.7
杂质 F	1.0	15.6	0.2	3.0
杂质 G	3.0	95.3	1.0	67.3
杂质 H	0.6	24.0	0.2	5.4
杂质 J	0.6	20.1	0.3	3.0
杂质 K	0.3	12.1	0.2	7.2
杂质 L	1.1	14.5	0.8	8.2
杂质 M	1.0	32.2	0.5	19.6
杂质 N	1.0	27.0	0.5	20.5
伏诺拉生	1.0	88.2	0.6	43.9

2.10 耐用性试验

分别考察流速 ($\pm 10\%$)、柱温 ($\pm 5^\circ\text{C}$)、流动相初始比例 ($\pm 2\%$)、流动相pH (± 0.2)及不同型号不同批次色谱柱条件下系统适用性和供试品有关物质变化情况。各条件下单个杂质含量的绝对变化值均在0.05%以内,总杂质含量的绝对变化值均小于限度的20% (0.20%),系统适用性除保留时间略有变化外,主峰理论塔板数和主峰与各杂

质峰的分离度均符合规定,表明本法测定富马酸伏诺拉生有关物质耐用性良好。

2.11 样品测定

按“2.1”项下色谱条件,取本品20 mg,精密称定,置50 mL量瓶中,加25%乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。精密量取供试品溶液20 μL 进样分析,按上述方法同时测定5批样品,结果均符合要求,结果见表7。

表7 有关物质测定结果

有关物质	含量 /%				
	20180701	20190101	20190401	20190402	20190403
杂质 A	nd	nd	nd	nd	nd
杂质 C	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
杂质 D	nd	nd	nd	nd	nd
杂质 F	nd	nd	nd	nd	nd
杂质 H	0.08	0.08	0.07	0.07	0.08
杂质 J	nd	nd	nd	nd	nd
杂质 K	nd	nd	nd	nd	nd
杂质 L	nd	nd	nd	nd	nd
杂质 M	< 0.05	< 0.05	nd	< 0.05	< 0.05
杂质 N	< 0.05	0.05	< 0.05	< 0.05	0.05
其他最大单个杂质	< 0.05	0.05	< 0.05	0.07	< 0.05
总杂质	0.23	0.31	0.22	0.27	0.22

注: nd 表示未检出。

3 讨论

3.1 流动相缓冲液浓度的选择

因高浓度缓冲盐在长期试验过程中容易造成盐析出,导致仪器及色谱柱的损耗,经过方法开发,筛选合适的缓冲盐浓度,最终选择0.025 mol \cdot L⁻¹酸盐缓冲液。

3.2 有关物质检测能力

与传统的HPLC相比,UPLC的速度更快,灵敏度更高,主峰及有关物质分离度更佳,因此本文采用UPLC进行有关物质分析,杂质检出能力更强,

检出效率更高,且能达到有效分离。

3.3 强制破坏试验

从降解试验可以看出,富马酸伏诺拉生原料性质较稳定,采用剧烈的酸、高温、氧化破坏条件均未发生明显降解。按照面积归一化法计算,富马酸伏诺拉生在碱降解条件下,相对保留时间约为0.62 (杂质F)和0.13的杂质分别增长1.90%和0.17%;光照降解条件下,出现多个新杂质,相对保留时间约为0.39、0.73的杂质分别增长0.15%、0.11%。对试验中主要降解产物的结构分析有待进

一步研究,以便更好地控制富马酸伏诺拉生的质量。同时,为确保有关物质检测结果的准确性,在供试品溶液配制时应注意避光操作。

3.4 小结

本文采用的UPLC法测定富马酸伏诺拉生有关物质,成功用于检测富马酸伏诺拉生及其杂质。该方法专属性强,准确度高,与常规HPLC方法相比,检测速度更快,经济环保,可用于富马酸伏诺拉生的有关物质控制。

参考文献:

- [1] Hori Y, Matsukawa J, Takeuchi T, et al. A Study Comparing the Antisecretory Effect of TAK-438, a Novel Potassium-competitive Acid Blocker, with Lansoprazole in Animals[J]. *Gastroenterology*, 2011, 140 (3): S-577.
- [2] Wang J, Chen Z, Hou S, et al. TAK-242 Attenuates Crush Injury Induced Acute Kidney Injury Through Inhibiting TLR4/NF- κ B Signaling Pathways in Rats[J]. *Prehospital and Disaster Medicine*, 2020, 35 (6): 619-628.
- [3] 乔元, 黄剑林, 徐媛, 等. 沃诺拉赞富马酸盐与传统质子泵抑制剂临床疗效对比研究进展[J]. *药物流行病学杂志*, 2017, 26 (11): 3.
- [4] Sakurai Y, Nishimura A, Kennedy G, et al. Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, and Pharmacodynamics of Single Rising TAK-438 (Vonoprazan) Doses in Healthy Male Japanese/Non-Japanese Subjects[J]. *Clin Transl Gastroenterol*, 2015, 6 (6): e94.
- [5] Kogame A, Takeuchi T, Nonaka M, et al. Disposition and Metabolism of TAK-438 (vonoprazan fumarate), a Novel Potassium-competitive Acid Blocker, in Rats and Dogs[J]. *Xenobiotica*, 2017, 47 (3): 255-266.
- [6] 乐志艳, 肖敏, 方潇颖. HPLC法测定富马酸沃诺拉赞原料药中吡啶-3-磺酸的含量[J]. *今日药学*, 2019 (1): 4.
- [7] 柯潇, 孔祥瑞, 郑强. 一种富马酸沃诺拉赞有关物质的检测方法: 中国, CN108205021A[P]. 2018.
- [8] 王丽. 有关物质中误判杂质峰及形成机制的研究[J]. *中国药事*, 2019, 33 (11): 1254-1258.
- [9] 王春燕, 程磊, 王新平, 等. 富马酸沃诺拉赞合成路线图解[J]. *中国药物化学杂志*, 2019, 29 (3): 4.
- [10] Zhang Mingjie, Xiong Zhili, Zhao Longshan, et al. Simultaneous Determination of Epalrestat and Puerarin in Rat Plasma by UHPLC-MS/MS: Application to Their Pharmacokinetic Interaction Study[J]. *Biomedical Chromatography: An International Journal Devoted to Research in Chromatographic Methodologies and Their Applications in the Biosciences*, 2017, 31 (4): e3855-e3856.
- [11] Qiao Y, Huang J, Xu Y, et al. Determination of Vonoprazan Pyroglutamate and Vonoprazan Fumarate by HPLC[J]. *China Pharmacist*, 2018 (3): 38-41.
- [12] 余倩盈, 姚凯, 刘育, 等. HPLC法测定富马酸沃诺拉赞原料药中的有关物质[J]. *药物分析杂志*, 2018, 38 (4): 6.
- [13] 张羽强. HPLC法测定富马酸沃诺拉赞中富马酸含量方法研究[J]. *山东化工*, 2019, 48 (7): 3.
- [14] 李群鑫, 郑淑凤. HPLC法测定琥珀酸美托洛尔的含量及有关物质[J]. *中国药事*, 2017, 31 (6): 632-636.
- [15] 袁秀菊, 姚亮元, 宿亮, 等. RP-HPLC法测定安塞曲匹的有关物质[J]. *药物分析杂志*, 2019, 39 (2): 304-309.

(收稿日期 2021年12月8日 编辑 郑丽娥)