

择合适的进样空隙高度对粒径分布测定至关重要。

REFERENCES

[1] 中国药典. 四部[S]. 2015: 通则 0982.

[2] LI J, LI T T. Measurement of particle size distribution of

sulfadiazine silver by laser light scattering method [J]. Chin Pharm Aff(中国药事), 2015, 29(1): 40-44.

[3] LI S X, QIU X J, et al. Quality standard of red ginseng ultra-micro powder [J]. Chin Pharm (中国药房), 2014, 25(3): 256-259.

收稿日期: 2016-03-04

UPLC-Q-TOF-MS 快速检测降糖类中成药中非法添加的盐酸苯乙双胍、格列本脲和盐酸吡格列酮

申兰慧¹, 彭耀文^{1,2}, 陈国清¹(1.江苏省无锡药品检验所, 江苏 无锡 214028; 2.江南大学药学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 目的 建立 UPLC Q-TOF MS 快速检测降糖类中成药中非法添加的盐酸苯乙双胍、格列本脲、盐酸吡格列酮。方法 采用 Aglient ZORBAX SB C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm), 甲醇-10 mmol·L⁻¹ 醋酸铵溶液(含 0.1% 甲酸)为流动相, 梯度洗脱; 离子源为 ESI, 正离子检测方式; 利用保留时间、DAD 紫外光谱图、一级质谱和二级质谱碎片信息四方面信息并结合数据库, 对 10 种降糖类化学成分进行质谱定性, 同时对 5 批降糖类中成药中非法添加的盐酸苯乙双胍、格列本脲、盐酸吡格列酮进行定性、定量测定, 并对这 3 种化学物质的裂解规律进行初步解析。结果 5 批胶囊中均检测出盐酸苯乙双胍、格列本脲、盐酸吡格列酮 3 种成分。结论 本方法专属性强、灵敏度高、操作简便, 可用作降糖类中成药中非法添加盐酸苯乙双胍、格列本脲、盐酸吡格列酮的检测。

关键词: UPLC-Q-TOF MS; 降糖类; 非法添加; 盐酸苯乙双胍; 格列本脲; 盐酸吡格列酮

中图分类号: R971.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2016)09-1160-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.09.016

Rapid Detection of Phenformin Hydrochloride, Glibenclamide and Pioglitazone Hydrochloride Illegally Mixed in Traditional Chinese Medicinal Preparation for Antidiabetics by UPLC-Q-TOF-MS

SHEN Lanhui¹, PENG Yaowen^{1,2}, CHEN Guoqing¹(1.Jiangsu Province Wuxi Institute for Drug Control, Wuxi 214028, China; 2.School of Pharmaceutical Science, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for rapidly qualitative and quantitative detection of phenformin hydrochloride, glibenclamide and pioglitazone hydrochloride illegally added in traditional Chinese medicines for antidiabetics by UPLC-Q-TOF-MS. **METHODS** The Aglient ZORBAX SB C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) column was used, with the mobile phase of methanol-10 mmol·L⁻¹ ammonium acetate(0.1% formic acid) by gradient elution. Electrospray ionization(ESI) source was applied and operated in the positive ion mode. Qualitative and quantitative detection were analyzed by retention time, DAD, mass spectra, and tandem mass spectra as four aspects information. **RESULTS** Phenformin hydrochloride, glibenclamide and pioglitazone hydrochloride were all detected illegally added in five batches capsules. **CONCLUSION** This method is specific, sensitive, easy to operate and can be used to detect the phenformin hydrochloride, glibenclamide and pioglitazone hydrochloride illegally added in traditional Chinese medicinal preparation for antidiabetics.

KEY WORDS: UPLC-Q-TOF-MS; antidiabetics; illegally added; phenformin hydrochloride; glibenclamide; pioglitazone hydrochloride

国家食品药品监督管理总局于 2003 年发布了《关于报请批准用补充检验方法和项目进行药品检验有关问题的通知》(国药监市[2003]91 号), 自此, 药品补充检验方法和检验项目工作正式启动,

十多年来开展多次药品及保健食品中非法添加化学物质专项抽检, 如“打击四非”、“两打两建”等, 检测结果表明目前降糖类及壮阳类非法添加化学物质现象比较普遍。针对此种情况, 国家食

作者简介: 申兰慧, 女, 硕士, 副主任药师 Tel: 13814236982

E-mail: 568795648@qq.com

品药品监督管理总局颁发了多个相应的补充检验方法,其中降糖类自 2003 年至今共颁布 29 个补充检验项目及检验方法批准件,占有获准补充批件的 28.2%,涉及可能非法添加的 13 种降糖类化学物质^[1-2]。由于有些补充检验方法只针对特定品种、特定厂家,化学成分单一,不具备通用性且分析时间较长(>60 min),笔者根据应急检验的需要,建立 UPLC-Q-TOF-MS 法,将 UPLC 和高分辨质谱相结合,在短时间内通过 UPLC(1.8 μm 颗粒度色谱柱)对中成药或保健食品中复杂基质进行有效分离,实现了 15 min 内快速筛查可疑目标物,大大缩短了分析时间,结合保留时间、DAD 紫外光谱图、一级质谱和二级质谱碎片信息 4 方面信息以及数据库,能快速准确判断降糖类中药制剂中是否同时非法添加盐酸苯乙双胍、格列本脲、盐酸吡格列酮等 10 种化学物质,为药监部门与公安联防联控对降糖类中成药及保健品的应急打假快速检测工作提供可靠的技术支持,保证人民用药安全^[3-7]。

1 仪器及试剂

Agilent 1290 UPLC-6530A Q-TOF-MS 仪(超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱联用,美国 Agilent 公司),配有系统:柱温箱,DAD 检测器,大气压离子源 ESI,MassHunter 工作站等;XS205 电子天平(梅特勒公司);KH-300E 超声仪(昆山禾创超声仪器有限公司);Millipore 纯水系统(美国 Millipore 公司)。

对照品:盐酸苯乙双胍(批号:100922-201001,纯度:99.7%)、格列本脲(批号:100135-201105,纯度:99.5%)、盐酸吡格列酮(批号:100634-201202,纯度:100.0%)、盐酸二甲双胍(批号:100664-201203,纯度:100.0%)、格列吡嗪(批号:100281-201203,纯度:99.5%)、格列齐特(批号:100269-201004,纯度:99.9%)、格列美脲(批号:100674-201102,纯度:99.1%)、格列喹酮(批号:100280-201002,纯度:100.0%)、瑞格列奈(批号:100753-201303,纯度:99.8%)、马来酸罗格列酮(批号:100952-200701,纯度:100.0%)均购自中国食品药品检定研究院;样品:金杞胶囊(批号:20131001,规格:每粒 0.35 g)、六仁胶囊(批号:20140101,规格:每粒 0.35 g)、乌梅酸枣仁胶囊(批号:20140403,规格:每粒 0.30 g)、葛根荷叶胶囊(批号:20140701,规格:每粒 0.30 g)、青果白

芷胶囊(批号:20140601,规格:每粒 0.35 g)标示为郑州某生物科技有限公司生产,均来自无锡“6.26”举报涉嫌非法添加样品,以金杞胶囊(批号:20131001)为方法学验证样品。甲醇为质谱纯;醋酸铵、甲酸均为分析纯;水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent ZORBAX SB C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm);流动相 A 为甲醇,流动相 B 为 10 mmol·L⁻¹ 醋酸铵(含 0.1%甲酸)溶液,流速:0.2 mL·min⁻¹,梯度洗脱程序见表 1;柱温:35 °C,检测波长:235 nm(波长范围 190~400 nm);进样量 1 μL 。

表 1 流动相洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution program

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0~5	40→60	60→40
5~6	60	40
6~12	60→85	40→15
12~14	85→70	15→30
14~15	70→40	30→60

2.2 质谱条件

电喷雾离子化正离子检测方式(ESI⁺),质荷比范围: m/z 50~700;干燥气温度:350 °C,干燥气流速:10 L·min⁻¹,毛细管电压:3.5 kV,干燥气压力:45 psi,碎裂电压:135 V,采用全扫描一级质谱、选择离子二级全扫描质谱检测方式。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品储备溶液的制备 分别精密称取盐酸苯乙双胍、盐酸二甲双胍、格列本脲、盐酸吡格列酮、格列美脲、格列齐特、格列喹酮、马来酸罗格列酮、格列吡嗪、那格列奈对照品各 20 mg 置 100 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,作为各对照品储备液。

2.3.2 混合对照品溶液的制备 取“2.3.1”项下对照品储备液适量,加甲醇稀释至浓度为 2~80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 混合对照品溶液,作为考察 10 种化学药线性范围用;分别取盐酸苯乙双胍对照品储备液 5 mL、格列本脲对照品储备液 2 mL、盐酸吡格列酮对照品储备液 1 mL 加甲醇定容至 20 mL 作为测定降糖类中成药中非法添加 3 个混合对照品方法学考察用溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 取 10 粒样品内容物,

精密称定,混匀研细,精密称取约 0.2 g 置 100 mL 量瓶中,加入甲醇约 80 mL,超声提取 20 min,放冷至室温,用甲醇定容,摇匀,取上清液用 0.22 μm 滤膜过滤,滤液稀释一定倍数后用于 UPLC、MS、MS/MS 分析。

3 结果

3.1 10 种降糖类化学物质对照品色谱及质谱行为
采用正离子检测方式对盐酸苯乙双胍、盐酸二甲双胍、格列本脲、盐酸吡格列酮等 10 种化学对照品溶液进行 UPLC、MS、MS/MS 分析,优化质谱毛细管电压、锥孔电压、脱溶剂气流速、脱溶剂温度、碰撞能量等参数,10 种降糖类化学药的一级质谱准分子离子和二级质谱的碰撞能量及碎片离子优化的结果见表 2,10 种降糖类化学药的总离子流图见图 1,并推测其中 3 个成分(盐酸

苯乙双胍、格列本脲、盐酸吡格列酮)质谱裂解途径见图 2。

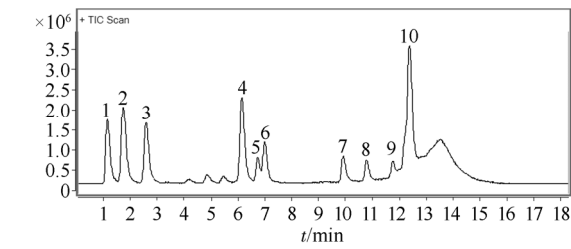


图 1 10 种降糖类化合物的总离子流图
1-盐酸二甲双胍; 2-盐酸苯乙双胍; 3-马来酸罗格列酮; 4-盐酸吡格列酮; 5-格列吡嗪; 6-格列齐特; 7-格列本脲; 8-格列美脲; 9-格列喹酮; 10-瑞格列奈。

Fig. 1 TIC of 10 antidiabetic components
1-metformin hydrochloride; 2-phenformin hydrochloride; 3-rosiglitazone maleate; 4-pioglitazone hydrochloride; 5-glipizide; 6-glicianide; 7-glibenclamide; 8-glimepiride; 9-gliquidone; 10-rcpaglinide.

表 2 10 个降糖类化学药准分子离子及碎片离子
Tab. 2 Parent ion and daughter ion of 10 reference substance

序号	化学成分	保留时间	准分子离子[M+H] ⁺ (m/z)	主要碎片离子(m/z)	碰撞能/eV
1	盐酸二甲双胍	1.121	130.11	71, 60, 85, 68, 88	18
2	盐酸苯乙双胍	1.710	206.14	60, 105, 85, 106, 164, 189	20
3	马来酸罗格列酮	2.577	358.12	135, 94, 136, 121, 107	35
4	盐酸吡格列酮	6.133	357.13	134, 119	33
5	格列吡嗪	6.722	446.19	32, 347, 100, 304, 286	13
6	格列齐特	6.978	324.14	110, 127, 91, 153, 155	25
7	格列本脲	9.912	494.15	369, 169,	15
8	格列美脲	10.779	491.23	126, 352	15
9	格列喹酮	11.768	528.22	403, 386	15
10	瑞格列奈	12.368	453.28	230, 86, 162	28

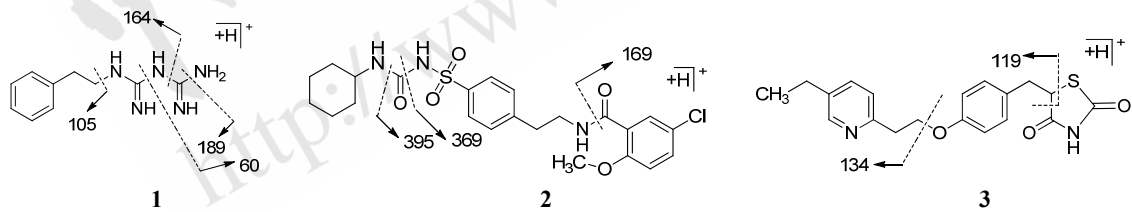


图 2 格列本脲、盐酸苯乙双胍及盐酸吡格列酮质谱裂解规律推测
1-盐酸苯乙双胍; 2-盐酸吡格列酮; 3-格列本脲。

Fig. 2 The fragmentation of phenformin hydrochloride, glibenclamide and pioglitazone hydrochloride
1-phenformin hydrochloride; 2-pioglitazone hydrochloride; 3-glibenclamide.

3.2 10 种降糖类化学物质的线性关系及检出限考察
3.2.1 10 种降糖类化学物质的线性关系考察 精密量取混合对照品的储备液 0.5, 3, 5, 10, 20 mL 置 50 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀即得。按“2.1”项下色谱条件进行测定,以峰面积为纵坐标,溶液的浓度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)为横坐标绘制标准曲线,计算回归方程,结果见表 3。

3.2.2 10 种降糖类化学物质的检出限 因不同化学成分的检出限除取决于其本身的性质,还与离子化效率有很大相关性,更能准确地反映仪器的性能,本实验选用 10 种混合对照品溶液适量,加甲醇逐步稀释,按“2.1”项下色谱条件进行测定,以 S/N=3,计算各化学成分的检测限,结果见表 3,显示 10 种化合物的检出灵敏度高,检出限均

<1 ng，都能达到标准的检测要求。

表 3 10 种降糖类化学物质的线性关系、范围及检出限

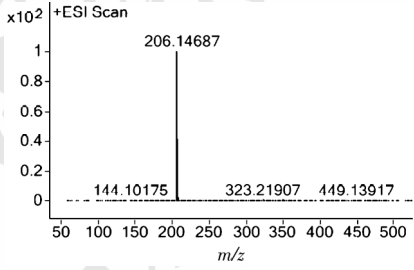
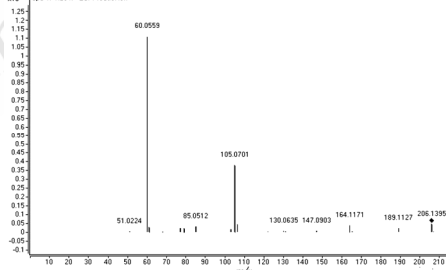
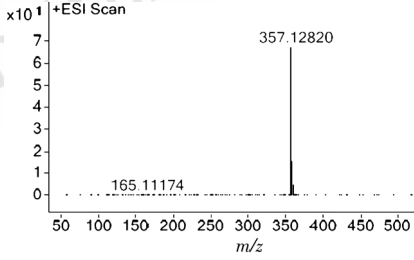
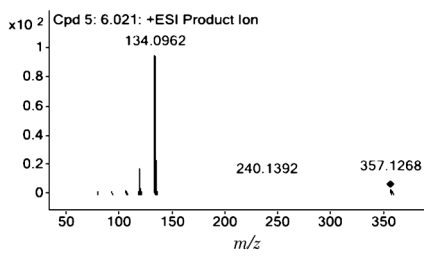
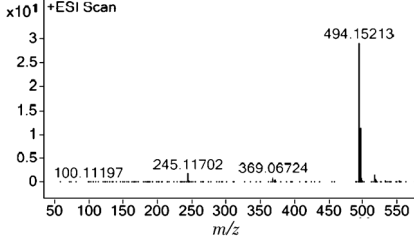
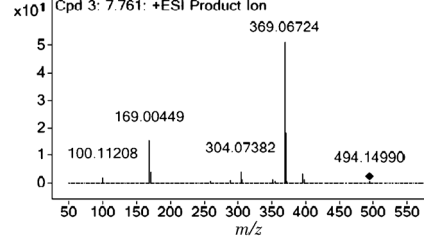
组 分	标准曲线	相关系数 r	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	检出限/ ng
盐酸二甲双胍	$Y=967.36X+3.4\times10^6$	0.999 8	2.019~80.076	0.041
盐酸苯乙双胍	$Y=1\,043.1X+2.4\times10^6$	0.998 8	2.021~80.840	0.041
马来酸罗格列酮	$Y=1\,149.2X+4.9\times10^5$	0.999 8	2.038~81.520	0.021
盐酸吡格列酮	$Y=1\,362.0X+2.6\times10^6$	0.999 1	2.021~80.840	0.041
格列吡嗪	$Y=404.78X-1.1\times10^5$	0.999 5	2.048~81.920	0.11
格列齐特	$Y=723.02X+5.5\times10^5$	0.999 3	2.029~81.160	0.013
格列本脲	$Y=427.27X-1.3\times10^5$	0.999 8	2.035~81.400	0.12
格列美脲	$Y=396.41X-3.6\times10^5$	1.000 0	2.050~82.000	0.084
格列喹酮	$Y=313.02X-2.7\times10^5$	0.999 8	2.028~81.120	0.21
瑞格列奈	$Y=1\,642.5X+4.5\times10^6$	0.998 8	2.027~81.080	0.21

3.3 降糖类中成药的定性检测

将“2.3.3”项下稀释后的样品在上述色谱和质谱条件下进行 UPLC、MS、MS/MS 分析，5 批降糖类中成药均检测到与盐酸苯乙双胍、格列本脲、盐酸吡格列酮 3 种对照品相同的保留时间峰，且 DAD 图谱也相同；结合质谱的准分子离子峰及

表 4 5 种降糖类中成药的分子离子和碎片离子

Tab. 4 Parent ions and daughter ions of 5 antidiabetic traditional Chinese medicines

非法添加的化学成分	分子离子	碎片离子
盐酸苯乙双胍		
盐酸吡格列酮		
格列本脲		

二级碎片离子峰信息，可以确定所测样品中非法添加了盐酸苯乙双胍、格列本脲、盐酸吡格列酮 3 种化学药，5 种降糖类中成药的总离子流图见图 2，分子离子及碎片离子见表 4。

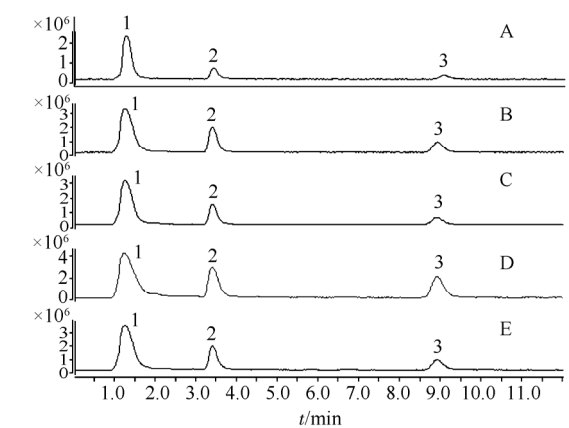


图 2 5 种降糖类中成药的总离子流图

A-金杞胶囊；B-六仁胶囊；C-乌梅酸枣仁胶囊；D-葛根荷叶胶囊；E-青果白芷胶囊；1-盐酸苯乙双胍；2-盐酸吡格列酮；3-格列本脲。

Fig. 2 TIC spectrum of 5 antidiabetic traditional Chinese medicines

A-Jiqi capsules; B-Liuren capsules; C-Wumei Suanzaoren capsules; D-Gegen Heye capsules; E-Qingguo Baizhi capsules; 1-phenformin hydrochloride; 2-pioglitazone hydrochloride; 3-glibenclamide.

3.4 降糖类中成药非法添加 3 个组分的定量检测
3.4.1 部分方法学试验 考察金杞胶囊(批号: 20131001)中非法添加 3 组分的线性范围、仪器精密密度试验、稳定性试验及重复性试验, 结果均符合相关规定。

3.4.2 回收率试验 精密称取约样品(金杞胶囊, 批号: 20131001)0.1 g, 分别加入约相当于相应成分 80%, 100%, 120%量的对照品各 3 份, 按照“2.3.2”项下方法制备供试液, 按“2.1”项下色谱条件进样, 记录色谱峰面积, 按外标法计算。盐酸苯乙双胍、格列本脲、盐酸吡格列酮的平均回收率分别为 97.5%, 99.4%, 101.3%; RSD 分别为 2.31%, 1.18%, 2.01%($n=9$)。结果表明, 本方法测定盐酸苯乙双胍、格列本脲、盐酸吡格列酮的回收率良好。

3.5 5 批降糖类中成药中非法添加的 3 组分的含量测定

将 5 批降糖类中成药按照“2.3.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样, 5 批降糖类中成药中非法添加盐酸苯乙双胍、格列本脲、盐酸吡格列酮的色谱峰面积按外标法计算, 每批测定 3 次, 测定结果见表 5。

表 5 5 种降糖类中成药中非法添加 3 个化学物质的含量结果($n=3$)

Tab. 5 Determination results of 3 substances illegally added in 5 antidiabetic traditional Chinese medicines($n=3$)

品 种	盐酸苯乙双胍/ mg·粒 ⁻¹	格列本脲/ mg·粒 ⁻¹	盐酸吡格列酮/ mg·粒 ⁻¹
金杞胶囊	10.5	3.08	1.48
六仁胶囊	7.39	1.88	0.96
乌梅酸枣仁胶囊	7.37	2.93	1.46
葛根荷叶胶囊	4.12	1.36	0.85
青果白芷胶囊	12.72	3.84	1.87

4 讨论

4.1 流动相的优化

实验中考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-5 mmol·L⁻¹ 的乙酸铵、乙腈-0.1%甲酸、甲醇-10 mmol·L⁻¹ 的乙酸铵(0.1%甲酸)等流动相体系对色谱峰形及质谱强度的影响, 通过比较发现采用甲醇-10 mmol·L⁻¹ 的乙酸铵(0.1%甲酸)溶液作为流动相, 梯度洗脱能够快速对样品进行筛查; 相对水作为流动相, 乙酸铵的加入提高了化合物的响应; 加入 0.1%甲酸使得化合物的离子化程度提高, 获得 10 个化学物质最优的色谱分离效果和质谱信

号响应, 得到的峰形对称、尖锐, 且基线平稳。

4.2 色谱柱选择

笔者比较了 Agilent ZORBAX SB C₁₈ 柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm), Waters BEH 柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), Thermo BDS Hypensil C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm, 3 μm), Phenomenex Kinetex™ C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm, 2.6 μm)等不同色谱柱, 发现在部分色谱柱上双胍类药物保留较弱, 磺酰脲类药物保留适中, 但分离不佳, 在 Agilent ZORBAX SB C₁₈ 柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)中, 10 种降糖类化学物质分离良好。故最终确定采用 Agilent ZORBAX SB C₁₈ 柱。

4.3 非法添加多种化学药物的危害^[8-10]

本研究从多种标示“降糖奇效”的中成药中均检出 3 种降血糖化学药, 按照其使用说明剂量(每天 2~3 次, 每次 2~6 粒)推算, 日服的化药剂量: 苯乙双胍达 16~144 mg, 盐酸吡格列酮 6.8~15 mg, 格列本脲亦达 12~30 mg 有可能超出临床推荐的每日最大剂量(15 mg), 并按照临床用药须知^[11], 每种药物适用于不同类型的糖尿病, 且使用剂量不可控, 其相互协同作用无临床验证, 各自均有禁忌症, 易产生不同的不良反应, 长期使用该类保健品可能使患者在不知情的情况下轻则贻误治疗时机、加重治疗成本; 重则过量摄入药物, 引起严重不良反应, 甚至导致死亡。

REFERENCES

- [1] HUANG B B, XU M Z, YANG Q Y, et al. Review of the approved supplementary testing methods and items on identifying adulterated chemical substances in traditional Chinese medicine preparations and herbal medicines [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2014, 34(9): 1701-1708.
- [2] TU J H, SHEN J, DING B Y, et al. Determination of 16 anti-diabetic chemicals added to traditional Chinese medicines and health care products by UPLC-MS/MS [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2014, 34(10): 1823-1829.
- [3] JIANG J G, ZHANG X R, ZHANG Y H, et al. Detecting illegally added sulfonamides in health foods and herb preparation by LC-MS/MS [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2014, 36(12): 2542-2546.
- [4] WANG M L, YAN H F, FU S L, et al. Rapid screening and confirmation of hormones in health foods by high performance liquid chromatography-ion trap-time of flight tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr(色谱), 2012, 30(10): 980-985.
- [5] ZHU F, RUAN L P, MA Y J, et al. Simultaneous determination of 20 illegally added anti-diabetic chemical components in hypoglycemic and weight-reducing health foods by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr(色谱), 2014,

- 32(1): 13-20.
- [6] OU B L, ZHANG H W, XU H X. UPLC-MS/MS determination of 36 chemicals added into traditional Chinese medicines and health care products [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2013, 33(12): 2141-2147.
- [7] PAN J. Study on LC-MS method for detection of 16 kinds of adrenal cortical hormone illegally added in Chinese medicinal lotions [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(11): 1391-1394.
- [8] WU J H, LUO H T, SHEN X L, et al. Simultaneous determination of four antidiabetics added to health-care food illegally by HPLC-MS/MS [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharm(中药新药与临床药理), 2014, 25(5): 606-610.
- [9] WEI Q F, WANG J L. Detection of 8 kinds of antidiabetics illegally added in traditional Chinese medicinal preparations and health foods by the liquid chromatography tandem with quadrupole mass spectrometry method [J]. Chin Pharm Aff(中国药事), 2011, 25(1): 70-72.
- [10] SHEN L H, PENG Y W, YANG M Z. Study on detection method of chemical drugs illegally added in Shuimianbao capsules [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2015, 32(6): 724-727.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国临床用药须知[M]. 2010 版.北京: 中国医药科技出版社, 2011.
- 收稿日期: 2015-10-16

HPLC 测定达比加群酯中的有关物质

屠莹¹, 陈丽娟^{1*}, 王平²(1.天津市胸科医院, 天津 300222; 2.天津市医科大学, 天津 300070)

摘要: 目的 建立达比加群酯原料药中有关物质的测定方法。方法 采用 Agilent SB-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈(A)-0.2%的醋酸铵(B, 用冰醋酸调节 pH 值至 4.4)为流动相进行梯度洗脱: 0~18 min, 90%→40%B; 18~30 min, 40%B。流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 340 nm。结果 各杂质与主峰之间的分离度良好。5 个已知杂质: 杂质 A 浓度在 0.117 0~1.872 μg·mL⁻¹ 内与峰面积呈良好的线性关系, *r* 为 0.999 7; 杂质 B 浓度在 0.126 5~2.024 μg·mL⁻¹ 内与峰面积呈良好的线性关系, *r* 为 0.999 5; 杂质 C 浓度在 0.113 0~1.808 μg·mL⁻¹ 内与峰面积呈良好的线性关系, *r* 为 0.999 5; 杂质 D 浓度在 0.120 5~1.928 μg·mL⁻¹ 内与峰面积呈良好的线性关系, *r* 为 0.999 9; 杂质 E 浓度在 0.123 0~1.968 μg·mL⁻¹ 内与峰面积呈良好的线性关系, *r* 为 0.999 6; 杂质 A、杂质 B、杂质 C、杂质 D 和杂质 E 加样回收率的平均值分别为 98.75%, 98.91%, 98.39%, 99.0%和 99.73%; RSD 分别为 0.91%, 1.09%, 1.22%, 1.35%和 1.18%。结论 本方法简便、准确可靠, 适用于达比加群酯中有关物质的控制。

关键词: 达比加群酯; 高效液相色谱法; 有关物质

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2016)09-1165-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.09.017

Determination of the Related Substances of Dabigatran Etxilate by HPLC

TU Ying¹, CHEN Lijuan^{1*}, WANG Ping²(1.Tianjin Chest Hospital, Tianjin 300222, China; 2.Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a method for determing the content of related substances of dabigatran etexilate. **METHODS** The condition of detection were: Agilent SB-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the gradient mobile phase consisted of acetonitrile(A) and 0.2% ammonium acetate (B, adjust with glacial acetic acid to pH 4.4): 0–18 min, 90%→40%B; 18–30 min, 40%B. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, the UV detection wavelength was 340 nm. **RESULTS** The resolution of dabigatran etexilate and relate substances was good. The calibration curves were linear in the range of 0.117 0–1.872 μg·mL⁻¹ for Impurity A (*r*=0.999 7); the calibration curves were linear in the range of 0.126 5–2.024 μg·mL⁻¹ for Impurity B (*r*=0.999 5); the calibration curves were linear in the range of 0.113 0–1.808 μg·mL⁻¹ for Impurity C (*r*=0.999 5); the calibration curves were linear in the range of 0.120 5–1.928 μg·mL⁻¹ for Impurity D (*r*=0.999 9); the calibration curves were linear in the range of 0.123 0–1.968 μg·mL⁻¹ for Impurity E (*r*=0.999 6). The average recoveries of Impurity A, Impurity B, Impurity C, Impurity D and Impurity E were 98.75%, 98.91%, 98.39%, 99.0% and 99.73% respectively; the RSD were 0.91%, 1.09%, 1.22%, 1.35% and

作者简介: 屠莹, 女, 硕士, 主管药师 Tel: (022)88185202

E-mail: doing2001@126.com

*通信作者: 陈丽娟, 女, 主任药师

Tel:

(022)88185202 E-mail: xkyxkyy@163.com