

UPLC-MS/MS法测定注射用埃索美拉唑钠的含量^Δ

张雪宁^{1*}, 张利敏^{2#}, 张静², 周春华¹, 张乾¹, 侯志飞²(1.河北医科大学第二医院药学部, 石家庄 050000; 2.河北化工医药职业技术学院制药工程系, 石家庄 050026)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)27-3852-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.27.36

摘要 目的: 采用超高效液相色谱串联质谱法(UPLC-MS/MS)测定注射用埃索美拉唑钠的含量。方法: UPLC色谱柱为ZORBAX Eclipse Plus C₁₈, 流动相为0.1%甲酸-甲醇(73:27, V/V), 流速为0.3 ml/min, 柱温为35℃, 分析时间为5 min, 进样量为2 μl; 离子化模式为正离子模式, 离子源温度为150℃, 毛细管电压为3.0 kV, 锥孔电压为50 V, 锥孔气流量为150 L/Hr, 脱溶剂气温度为450℃, 脱溶剂气流量为900 L/Hr, 雾化气压力为7.0 Bar, 母离子扫描范围为100~800 m/z, 工作模式为多反应监测模式。结果: 埃索美拉唑的检测质量浓度线性范围为0.2~20.0 ng/ml($r=0.9997$); 定量限为50 pg/ml; 精密度、稳定性、重复性试验的RSD<2%; 回收率为99.93%~100.05%(RSD=0.1%, $n=9$)。结论: 该方法操作简便、结果准确, 可用于测定注射用埃索美拉唑钠的含量。

关键词 注射用埃索美拉唑钠; 含量测定; 超高效液相色谱串联质谱法

Content Determination of Esomeprazole Sodium for Injection by UPLC-MS/MS

ZHANG Xuening¹, ZHANG Limin², ZHANG Jing², ZHOU Chunhua¹, ZHANG Qian¹, HOU Zhifei² (1.Dept. of Pharmacy, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China; 2.Dept. of Pharmaceutical Engineering, Hebei Chemical and Pharmaceutical College, Shijiazhuang 050026, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of Esomeprazole sodium for injection. METHODS: UPLC-MS/MS was performed. The column of ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ with 0.1% formic acid-methanol(73:27, V/V) at a flow rate of 0.3 ml/min, column temperature was 35℃, analysis time was 5 min, injection volume was 2 μl; ionization mode was positive ion mode, ion source temperature was 150℃, capillary voltage was 3.0 kV, cone voltage was 50 V, cone flow was 150 L/Hr, desolvation temperature was 450℃, desolvation gas flow was 900 L/Hr, nebuliser pressure was 7.0 Bar, parent ion scan range was 100-800 m/z, working mode was multiple reaction monitoring mode. RESULTS: The linear range of esomeprazole was 0.2-20.0 ng/ml($r=0.9997$); the limit of quantitation was 50 pg/ml; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recovery was 99.93%-100.05%(RSD=0.1%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple and accurate, and can be used for content determination of Esomeprazole sodium for injection.

KEYWORDS Esomeprazole sodium for injection; Content determination; UPLC-MS/MS

埃索美拉唑为新一代的质子泵抑制剂, 是奥美拉唑的左旋异构体, 对胃食管反流和已愈合的腐蚀性食管炎的维持治疗均有显著疗效^[1-2]。该药于2001年在美国和欧洲国家获准上市, 2003年在我国获准上市。该药是通过特异性抑制胃壁细胞质子泵减少胃酸分泌来发挥作用^[3-5], 由于其具有强烈而持久的酸抑制作用, 同时对胃黏膜也有一定的保护作用, 因此

该药是目前治疗酸相关性疾病的首选药物^[6-11]。目前对埃索美拉唑钠的含量测定有滴定法和高效液相色谱法^[12], 但尚未见采用超高效液相色谱串联质谱法(UPLC-MS/MS)测定该药含量的报道, 因此本课题组参考相关文献^[13], 采用UPLC-MS/MS法测定注射用埃索美拉唑钠的含量, 以建立专属性强、灵敏度高, 操作简单、快速测定含量的方法。

对乙酰氨基酚和盐酸金刚烷胺的含量[C]//当代中国近红外光谱技术: 全国第一届近红外光谱学术会议论文集. 北京: 中国石化出版社, 2006: 596-600.

[6] Shervington LA, Sakhnini N. A quantitative and qualitative high performance liquid chromatographic determination of acetaminophen and five of its para-substituted derivatives[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2000, 24(1): 43.

Δ 基金项目: 河北省医学科学研究重点课题计划(No.20150261)

* 主管药师。研究方向: 临床药学和药物分析。电话: 0311-66007385。E-mail: Zxn20160101@sina.com

通信作者: 副教授, 硕士。研究方向: 药学教学及新药研发。电话: 0311-85110165。E-mail: Zhanglimin201601@sina.com

[7] 白雁, 张威, 王星. 近红外光谱法测定不同厂家银黄颗粒中黄芩苷含量[J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(2): 166.

[8] 章顺楠, 杨海雷, 刘占强, 等. 近红外光谱法在线监测复方丹参滴丸料液中有有效成分含量[J]. *药物分析杂志*, 2009, 29(2): 192.

[9] 聂黎行, 王刚力, 李志猛, 等. 近红外光谱法在中药辅料质量控制中的应用[J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(17): 2 185.

[10] 白雁, 李艳英. 近红外光谱法快速分析不同厂家的一清颗粒[J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(20): 2 413.

(收稿日期: 2015-10-09 修回日期: 2016-08-18)

(编辑: 周 箐)

1 材料

1.1 仪器

ACQUITY UPLC I-Class 型 UPLC 仪(美国 Waters 公司); Xevo TQ-S 型三重四极杆质谱仪(美国 Waters 公司); PL203 型万分之一电子分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司); SD1500 型超声波清洗仪(北京中晟铭科技有限公司, 功率: 200 W, 频率: 30 kHz)。

1.2 药品与试剂

注射用埃索美拉唑钠(阿斯利康制药有限公司, 批号: 1511145、1512192、1601016, 规格: 40 mg/支); 埃索美拉唑钠对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 510060-201401, 纯度: 100.0%); 甲醇、甲酸、乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 试验条件

2.1.1 UPLC 色谱柱: ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流动相: 0.1% 甲酸-甲醇(73:27, V/V); 柱温: 35 °C; 流速: 0.3 ml/min; 分析时间: 5 min; 进样量: 2 μl。

2.1.2 MS/MS 离子化模式: 正离子(ESI⁺)模式; 离子源温度: 150 °C; 毛细管电压: 3.0 kV; 锥孔电压: 50 V; 锥孔气流量: 150 L/Hr; 脱溶剂气温度: 450 °C; 脱溶剂气流量: 900 L/Hr; 雾化气压力: 7.0 Bar; 监测模式: 多反应监测模式(MRM); 碰撞能量(CE): 10/15 eV; 母离子扫描范围: 100~800 m/z; 二级主要裂解碎片: 198.2 和 168.2。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取埃索美拉唑钠对照品 10 mg, 置于 100 ml 量瓶中, 加甲醇-水(80:20, V/V)溶解并定容, 摇匀, 作为对照品贮备液。精密量取对照品贮备液适量, 加甲醇-水(80:20, V/V)稀释制成质量浓度为 0.5 ng/ml 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密称取样品适量, 置于 100 ml 量瓶中, 加甲醇-水(80:20, V/V)溶解并定容, 制成质量浓度为 0.5 ng/ml 的供试品溶液。

2.2.3 空白样品溶液 按样品的处方比例称取空白辅料适量, 按“2.2.2”项下方法制备空白样品溶液。

2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液和空白样品溶液各适量, 按“2.1”项下试验条件进样测定, 记录色谱和二级质谱, 详见图 1。由图 1 可知, 理论板数以埃索美拉唑计 ≥ 5 000; 峰形良好, 分离度 > 1.5。结果表明, 辅料不干扰样品的测定。

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下对照品溶液适量, 用甲醇-水(80:20, V/V)稀释制成质量浓度分别为 0.2、0.5、1.0、1.5、2.0、20.0 ng/ml 的溶液, 摇匀, 作为系列线性溶液。取上述溶液适量, 按“2.1”项下试验条件进样测定, 记录峰面积。以质量浓度(x, ng/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程为 $y = 169.08x + 14.852$ ($r = 0.9997$)。结果表明, 埃索美拉唑的检测质量浓度线性范围为 0.2~20.0 ng/ml。

2.5 定量限考察

取“2.2.1”项下对照品溶液适量, 用甲醇-水(80:20, V/V)逐级稀释, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。当信噪比为 10:1 时, 计算定量限。结果, 埃索美拉唑的定量限为 50 pg/ml。

2.6 精密度试验

精密量取“2.2.1”项下对照品溶液适量, 按“2.1”项下试验

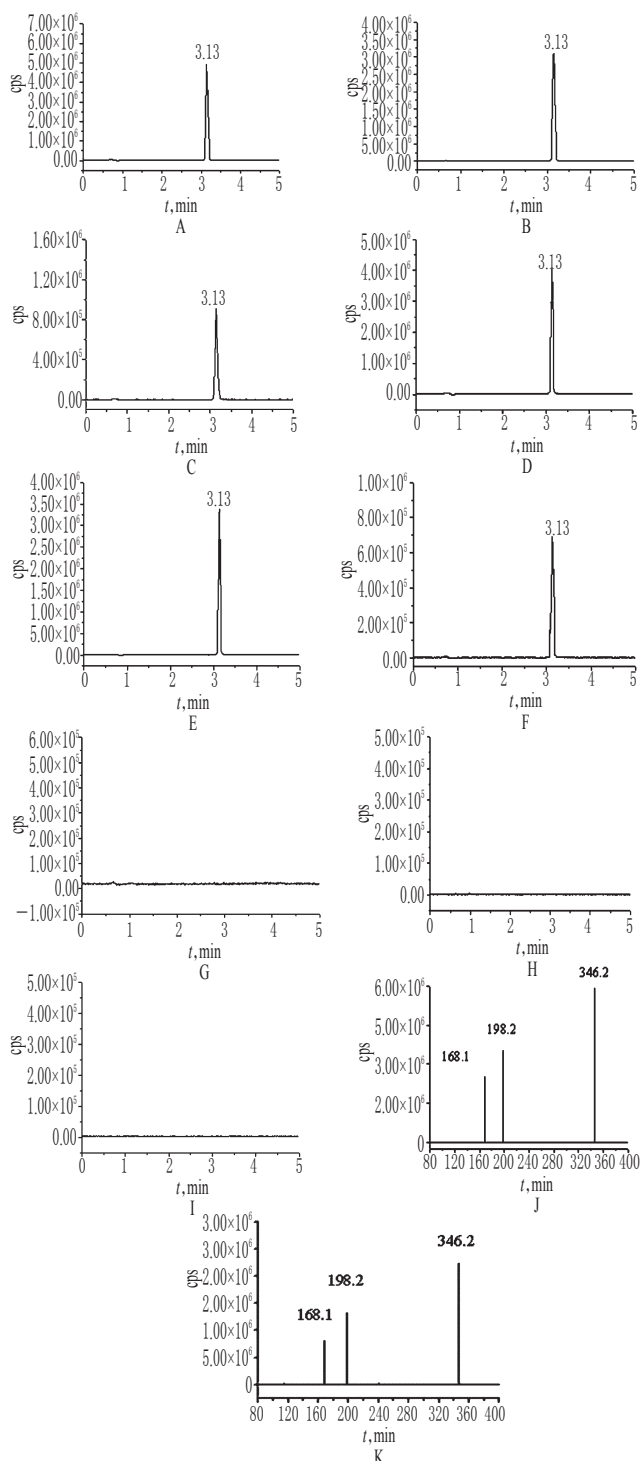


图 1 提取离子流图

A. 对照品总离子流; B. 对照品特征离子流(198.2); C. 对照品特征离子流(168.2); D. 供试品总离子流; E. 供试品特征离子流(198.2); F. 供试品特征离子流(168.2); G. 空白样品溶液总离子流; H. 空白样品溶液特征离子流(198.2); I. 空白样品溶液特征离子流(168.2); J. 对照品二级质谱图; K. 供试品二级质谱图

Fig 1 Extracted ion flow chromatograms

A. total ion flow of reference substance; B. characteristic ion flow of reference substance (198.2); C. characteristic ion flow of reference substance (168.2); D. total ion flow of test sample; E. characteristic ion flow of test sample (198.2); F. characteristic ion flow of test sample (168.2); G. total ion flow of blank sample solution; H. characteristic ion flow of blank sample solution (198.2); I. characteristic ion flow of blank sample solution (168.2); J. secondary mass chromatogram of reference substance; K. secondary mass chromatogram of test sample

条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,埃索美拉唑峰面积的RSD=0.9%(n=6),表明仪器精密度高。

2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液适量,分别于室温下放置0、2、4、6、12 h时按“2.1”项下试验条件进样测定,记录峰面积。结果,埃索美拉唑峰面积的RSD=0.7%(n=5),表明供试品溶液在室温下12 h内稳定性良好。

2.8 重复性试验

精密量取样品(批号:1511145)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,密封,摇匀,按“2.1”项下试验条件进样测定,记录峰面积。结果,埃索美拉唑峰面积的RSD=0.8%(n=6),表明本方法重复性良好。

2.9 回收率试验

按样品的处方取空白辅料9份,分别置于100 ml量瓶中,每3份精密加入低、中、高质量的对照品各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下试验条件进样测定,记录峰面积并计算回收率,结果详见表1。

表1 回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery test(n=9)

加入量,ng	测得量,ng	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
40.17	40.15	99.95		
40.36	40.34	99.95		
40.62	40.64	100.05		
50.01	50.00	99.98		
50.77	50.75	99.96	100.0	0.1
50.29	50.27	99.96		
60.56	60.58	100.03		
60.78	60.74	99.93		
60.99	60.97	99.97		

2.10 样品含量测定

取3批样品各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下试验条件进样测定,记录峰面积并按外标法计算样品含量,结果详见表2。

表2 样品含量测定结果(n=3,%)

Tab 2 Results of content determination of samples(n=3,%)

样品批号	含量	RSD
1511145	98.9	0.32
1512192	99.8	0.56
1601016	99.0	0.77

3 讨论

3.1 液相条件的优化

本试验采用ZORBAX Eclipse Plus C₁₈(50 mm×2.1 mm, 1.8 μm)作为色谱柱时,分别考察了乙腈-水、甲醇-水、0.1%甲酸-乙腈、0.1%甲酸-甲醇、2 mmol/L 乙酸铵-甲醇和2 mmol/L 乙酸铵-乙腈等6种流动相体系对色谱行为的影响。结果,乙腈-水和甲醇-水作为流动相时,色谱峰拖尾、峰形较差。将流动相中的水分别更换为0.1%甲酸和2 mmol/L 乙酸铵后,色谱峰拖尾现象和峰型均有很大改善,但采用2 mmol/L 乙酸铵体系灵敏度较差。故选择0.1%甲酸溶液体系。进一步对0.1%甲酸-乙腈和0.1%甲酸-甲醇进行比较,结果采用0.1%甲酸-甲醇

作流动相时色谱峰峰形更好,灵敏度更高。因此,选择0.1%甲酸-甲醇作为本试验的流动相。

3.2 质谱条件的优化

进行质谱条件探索时,本试验首先采用较高浓度的埃索美拉唑钠标准溶液,在ESI⁺模式下进行母离子全扫描,确定其准分子离子,然后以准分子离子为母离子,对其子离子进行全扫描,获得二级质谱响应较强的子离子,最后以MRM进行采集。在对埃索美拉唑进行参数优化时,采用0.1%甲酸-甲醇(73:27, V/V)为流动相,分别采用ESI⁺和ESI⁻离子模式进行调节,结果发现ESI⁺模式下的灵敏度远高于ESI⁻模式,且在ESI⁺模式下离子对346.2/198.2的响应值比离子对346.2/168.2高。因此,本试验最终选择信噪比高的346.2/198.2作为定量离子对,346.2/168.2作为定性离子对。

综上所述,本方法操作简便、结果准确,可用于测定注射用埃索美拉唑钠的含量。

参考文献

- [1] Thomas CK, Vasileios A, Michel B, et al. Physical and chemical stability of esomeprazole sodium solutions[J]. *The Annals of Pharmacotherapy*, 2008, 42(9):1 247.
- [2] Lou HY, Chang CC, Sheu MT, et al. Optimal dose regimens of esomeprazole for gastric acid suppression with minimal influence of the CYP2C19 polymorphism[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2008, 65(1):55.
- [3] 王健苗.埃索美拉唑镁联合盐酸依托必利分散片治疗反流性食管炎40例[J]. *医药导报*, 2010, 29(10):1 311.
- [4] 钱晓宏,刘琳娜,张琰.消化内科常见不合理用药问题[J]. *医药导报*, 2011, 30(2):262.
- [5] 杨丽,严宝霞.埃索美拉唑的药理学[J]. *中国新药杂志*, 2004, 13(5):398.
- [6] 张晖敏,缪应雷.埃索美拉唑的临床应用新进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2009, 20(17):2 064.
- [7] 楼永军,王峰,李会林.HPLC-MS测定人血浆中奥美拉唑浓度及药理学[J]. *中国药理学杂志*, 2010, 45(4):292.
- [8] 肖冬媛.埃索美拉唑与奥美拉唑治疗胃溃疡的临床对比分析[J]. *中国现代药物应用*, 2016, 10(1):136.
- [9] 王芳.埃索美拉唑与奥美拉唑治疗胃溃疡的临床疗效对比[J]. *世界临床医学*, 2015, 9(33):84.
- [10] 张凌燕.奥美拉唑与埃索美拉唑临床使用注意与配伍禁忌[J]. *中国现代药物应用*, 2016, 10(9):269.
- [11] 龚爱琴,扈田进,连亚红,等.埃索美拉唑钠含量的RP-HPLC法测定[J]. *江西化工*, 2013, 3(1):123.
- [12] 韩淑芹,白晓燕.吗多明片的含量及有关物质测定方法改进[J]. *中国药房*, 2016, 27(12):1 674.
- [13] 丁素玲,戴艳.HPLC-MS法测定甲磺酸多拉司琼原料药中有关物质和异构体含量[J]. *中国药房*, 2011, 22(41):3 901.

(收稿日期:2016-04-20 修回日期:2016-07-19)

(编辑:刘 柳)