

# HPLC法同时测定复方氯霉素滴眼液中醋酸泼尼松龙、氯霉素及其降解产物氯霉素二醇物的含量<sup>Δ</sup>

廖永清<sup>1\*</sup>, 邓红<sup>2#</sup>, 李焕清<sup>2</sup>, 梁颂晖<sup>1</sup>, 区洁雯<sup>1</sup> (1.佛山市顺德区第一人民医院, 广东佛山 528300; 2.广东药学院药物研究所, 广州 510006)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)03-0408-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.03.34

**摘要** 目的:建立同时测定复方氯霉素滴眼液中氯霉素、醋酸泼尼松龙及其降解产物氯霉素二醇物含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Dionex Acclaim C<sub>18</sub>,流动相为0.1%庚烷磺酸钠溶液-冰乙酸-乙腈-甲醇(60:0.2:30:10, V/V/V/V),流速为1.0 mL/min,检测波长为271 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μL。结果:氯霉素、醋酸泼尼松龙、氯霉素二醇物检测质量浓度线性范围分别为11.73~703.71 μg/mL( $r=0.999\ 8$ )、12.40~744.06 μg/mL( $r=0.999\ 8$ )、1.03~62.03 μg/mL( $r=0.999\ 8$ );氯霉素二醇物的定量限为0.01 μg/mL;精密度、稳定性试验的RSD<2.0%;氯霉素、醋酸泼尼松龙重复性试验的RSD<2.0%,氯霉素二醇物的RSD=4.5%;回收率分别为100.6%~102.7%(RSD=0.60%,  $n=9$ )、97.5%~100.3%(RSD=0.80%,  $n=9$ )、100.0%~103.2%(RSD=1.10%,  $n=9$ )。结论:该方法结果准确、操作简便,可用于复方氯霉素滴眼液中氯霉素、醋酸泼尼松龙及其降解产物氯霉素二醇物含量的同时测定。

**关键词** 高效液相色谱法;复方氯霉素滴眼液;氯霉素;醋酸泼尼松龙;氯霉素二醇物;含量测定

## Simultaneous Determination of Prednisolone Acetate, Chloramphenicol and Its Degradation Product Chloramphenicol Glycols in Compound Chloramphenicol Eye Drop by HPLC

LIAO Yongqing<sup>1</sup>, DENG Hong<sup>2</sup>, LI Huanqing<sup>2</sup>, LIANG Songhui<sup>1</sup>, OU Jiewen<sup>1</sup> (1.The First People's Hospital of Foshan Shunde District, Guangdong Foshan 528300, China; 2.Institute of Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of chloramphenicol, prednisolone acetate and chloramphenicol glycols in Compound chloramphenicol eye drop. METHODS: HPLC was performed on the column of Dionex Acclaim C<sub>18</sub> with mobile phase of 0.1% Heptane sodium sulfonate solution-glacial acetic acid-acetonitrile-methanol (60:0.2:30:10, V/V/V/V) at a flow rate of 1.0 mL/min, detection wavelength was 271 nm, column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μL. RESULTS: The linear range was 11.73-703.71 μg/mL for chloramphenicol ( $r=0.999\ 8$ ), 12.40-744.06 μg/mL for prednisolone acetate ( $r=0.999\ 8$ ) and 1.03-62.03 μg/mL for chloramphenicol glycols ( $r=0.999\ 8$ ); limit of quantification of chloramphenicol glycols was 0.01 μg/mL; RSDs of precision and stability tests were lower than 2.0%; RSDs of reproducibility test for chloramphenicol and prednisolone acetate were lower than 2.0%, RSD of chloramphenicol glycols was 4.5%; recoveries were 100.6%-102.7% (RSD=0.60%,  $n=9$ ), 97.5%-100.3% (RSD=0.80%,  $n=9$ ), 100.0%-103.2% (RSD=1.10%,  $n=9$ ), respectively. CONCLUSIONS: The method is accurate, simple, and can be used for the simultaneous determination of chloramphenicol, prednisolone acetate and chloramphenicol glycols in Compound chloramphenicol eye drop.

**KEYWORDS** HPLC; Compound chloramphenicol eye drop; Chloramphenicol; Prednisolone acetate; Chloramphenicol glycols; Content determination

复方氯霉素滴眼液主要由氯霉素和醋酸泼尼松龙组成,系佛山市顺德区第一人民医院的院内制剂,本品具有抗菌消炎作用,可用于虹膜炎、角膜炎、巩膜炎、过敏性结膜炎等症的治疗,临床疗效显著。该制剂中氯霉素在体外具广谱抗微生物作用,用于敏感菌引起的外眼感染,如结膜炎、沙眼等<sup>[1-2]</sup>;醋酸泼尼松龙是肾上腺皮质

激素类药物,具抗炎、抗过敏作用<sup>[2]</sup>。氯霉素和醋酸泼尼松龙均含已知杂质,氯霉素的已知杂质为氯霉素二醇物等<sup>[2]</sup>。现有文献报道<sup>[3]</sup>,氯霉素易发生水解,生成水解产物氯霉素二醇物。2015年版《中国药典》(二部)<sup>[4]</sup>记载的氯霉素滴眼液有氯霉素二醇物限度(8.0%)要求。鉴于氯霉素二醇物在贮存过程中持续增加,直接影响主药氯霉素的含量,在原标准的基础上,有必要增加氯霉素二醇物的含量测定方法;且现有文献也未见同时测定复方氯霉素滴眼液中醋酸泼尼松龙、氯霉素及其降解产物氯霉素二醇物含量的方法。因此,本课题组参考相关

<sup>Δ</sup> 基金项目:佛山市科技创新项目(No.2015AB002353)

\* 副主任药师。研究方向:医院药学。电话:0757-22318770。E-mail:gdsdl-y-q@163.com

# 通信作者:教授级高级工程师。研究方向:药品质量控制。电话:020-39352507。E-mail:dengh361@sohu.com

文献<sup>[5]</sup>,采用高效液相色谱法(HPLC)建立了同时测定复方氯霉素滴眼液中氯霉素、醋酸泼尼松龙及其降解产物氯霉素二醇物含量的方法,以期为复方氯霉素滴眼液的质量控制提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

3000型HPLC仪、3000型二极管阵列检测器、WPS-3000SL自动进样器、CHROMELEON Version数据处理机(美国Ultimate公司);CP225D型电子分析天平(德国Sartorius公司);MGC-300H型智能人工气候箱(上海一恒科技有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

复方氯霉素滴眼液(佛山市顺德区第一人民医院自制,批号:20131224、20131225、20131226,规格:8 mL:20 mg);氯霉素对照品(批号:130555-201203)、醋酸泼尼松龙对照品(批号:100124-200303)、氯霉素二醇物对照品(批号:130436-200704)、泼尼松龙对照品(批号:100153-201004)、醋酸氢化可的松对照品(批号:100013-200607)均购自中国食品药品检定研究院,纯度均>99%;乙腈、甲醇、冰乙酸、庚烷磺酸钠均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Dionex Acclaim C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:0.1%庚烷磺酸钠溶液-冰乙酸-乙腈-甲醇(60:0.2:30:10,V/V/V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:271 nm;柱温:30℃;进样量:10 μL。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 系统适用性溶液 取泼尼松龙、醋酸氢化可的松对照品适量,加甲醇溶解并稀释制成每1 mL含泼尼松龙、醋酸氢化可的松各1 mg的贮备液。精密量取上述贮备液1 mL,置于10 mL量瓶中,用混合对照品溶液定容,摇匀,即得<sup>[4]</sup>。

2.2.2 混合对照品溶液 取氯霉素二醇物对照品约20 mg、氯霉素对照品约250 mg、醋酸泼尼松龙对照品约250 mg,精密称定,置于同一100 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,即得混合对照品贮备液(氯霉素二醇物0.206 8 mg/mL、氯霉素2.345 8 mg/mL、醋酸泼尼松龙2.480 2 mg/mL)。精密量取上述混合对照品贮备液5 mL,置于50 mL量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得。

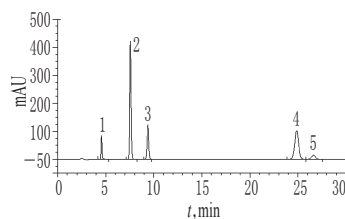
2.2.3 供试品溶液 取样品数支,置于25 mL量瓶中,混合,再充分摇匀,精密量取5 mL,置于50 mL量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得。

2.2.4 阴性对照溶液 取空白辅料适量,按样品制备工艺制成阴性样品,取阴性样品5 mL,置于50 mL量瓶中,加水定容,摇匀,即得。

### 2.3 系统适用性与专属性试验

精密量取“2.2”项下系统适用性溶液、混合对照品溶

液、供试品溶液和阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1、图2。由图1、图2可知,在该色谱条件下,各成分均能达到基线分离,分离度>1.5;醋酸泼尼松龙、氯霉素和氯霉素二醇物的理论板数均>3 000。结果表明,泼尼松龙、醋酸氢化可的松等有关物质对测定无干扰。

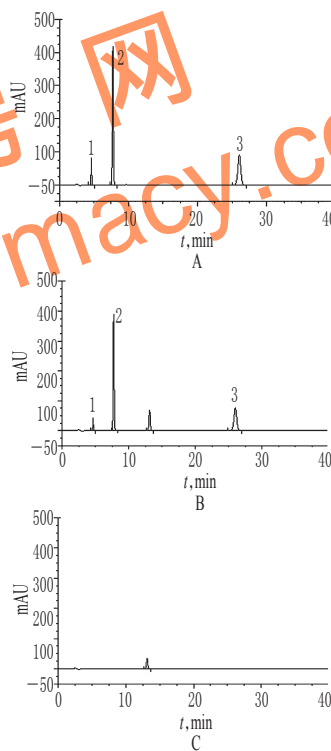


1. 氯霉素二醇物;2. 氯霉素;3. 泼尼松龙;4. 醋酸泼尼松龙;5. 醋酸氢化可的松

1.chloramphenicol glycols; 2.chloramphenicol; 3.prednisolone; 4.prednisolone acetate; 5.hydrocortisone acetate

图1 系统适用性试验高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of system suitability test



A.混合对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.氯霉素二醇物;2.氯霉素;3.醋酸泼尼松龙

A.mixed reference substance; B. test sample; C. negative control; 1.chloramphenicol glycols; 2.chloramphenicol; 3.prednisolone acetate

图2 专属性试验高效液相色谱图

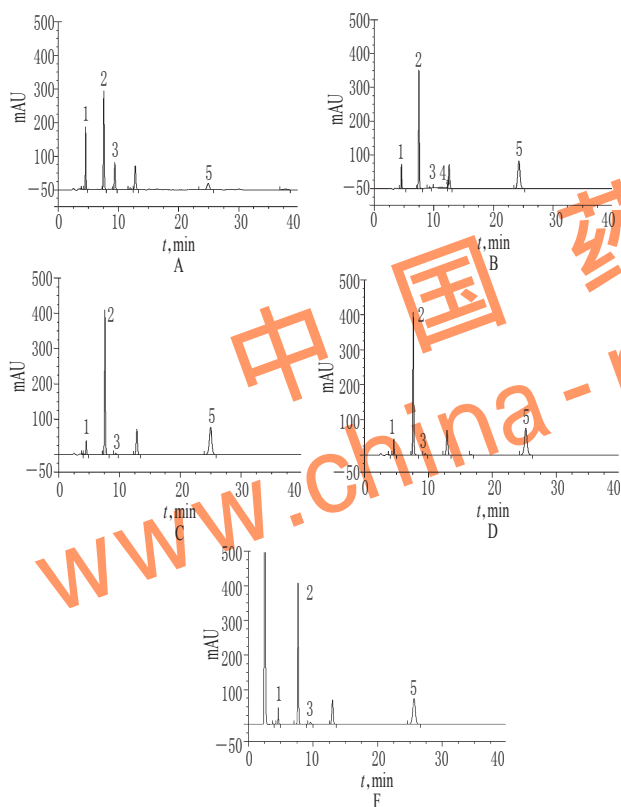
Fig 2 HPLC chromatograms of specificity test

### 2.4 破坏性试验

(1)高温破坏:精密量取样品(批号:20131224)2 mL,置于20 mL量瓶中,于沸水浴中加热5 h,加甲醇溶解并定容,即得高温破坏样品溶液。(2)光破坏:精密量取样品(批号:20131224)2 mL,置于20 mL量瓶中,于人工气候箱中(温度:25℃,照度:13 200 lx)照射18 h,加

甲醇溶解并定容,即得光破坏样品溶液。(3)酸破坏:精密量取样品(批号:20131224)2 mL,置于20 mL量瓶中,加2 mol/L 盐酸溶液2 mL,于室温下放置5 h,加2 mol/L 氢氧化钠溶液2 mL,再加甲醇溶解并定容,即得酸破坏样品溶液。(4)碱破坏:精密量取样品(批号:20131224)2 mL,置于20 mL量瓶中,加0.02 mol/L 氢氧化钠溶液2 mL,于室温下放置2.5 h,加0.02 mol/L 盐酸溶液2 mL,加甲醇溶解并定容,即得碱破坏样品溶液。(5)氧化破坏:精密量取样品(批号:20131224)2 mL,置于20 mL量瓶中,加30%过氧化氢4 mL,于室温下放置5 h,再加甲醇溶解并定容,即得氧化破坏样品溶液。

取上述5种破坏样品溶液各10 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图3。由图3可知,本品在上述条件下,产生的所有降解产物均能与主成分峰(氯霉素峰和醋酸泼尼松龙峰)和氯霉素二酯峰有效分离。



A. 高温破坏; B. 强光破坏; C. 酸破坏; D. 碱破坏; E. 氧化破坏; 1. 氯霉素二酯物; 2. 氯霉素; 3. 泼尼松龙; 4. 对硝基苯甲醛; 5. 醋酸泼尼松龙  
A. destroyed by high temperature; B. destroyed by light; C. destroyed by acid; D. destroyed by alkali; E. destroyed by oxidation; 1. chloramphenicol glycols; 2. chloramphenicol; 3. prednisolone; 4. P-nitrobenzaldehyde; 5. prednisolone acetate

图3 破坏性试验高效液相色谱图

Fig 3 HPLC chromatograms of destructive test

## 2.5 线性关系考察

分别精密量取“2.2.2”项下混合对照品贮备液0.1、0.2、0.4、1、2、3、4、6 mL,分别置于20 mL量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得系列混合对照品溶液。精密量取上述

系列混合对照品溶液10 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度( $x$ , μg/mL)为横坐标、峰面积( $y$ )为纵坐标进行线性回归,得回归方程与线性范围,详见表1。

表1 回归方程与线性范围

Tab 1 Regression equations and linear ranges

待测成分	回归方程	$r$	线性范围, μg/mL
氯霉素	$y=0.278 4x+0.088 1$	0.999 8	11.73~703.71
醋酸泼尼松龙	$y=0.192 6x-0.002 9$	0.999 8	12.40~744.06
氯霉素二酯物	$y=0.431 7x+0.001 3$	0.999 8	1.03~62.03

## 2.6 氯霉素二酯物定量限考察

按“2.2.2”项下方法制备氯霉素二酯物对照品溶液,倍比稀释,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。当信噪比为10:1时,得定量限为0.01 μg/mL (0.1 ng)。

## 2.7 精密度试验

取同一供试品溶液(批号:20131224)10 μL,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,氯霉素、醋酸泼尼松龙和氯霉素二酯物峰面积的RSD分别为0.48%、0.94%、1.5% ( $n=6$ ),表明方法精密度良好。

## 2.8 稳定性试验

取“2.2.3”项下供试品溶液(批号:20131224)适量,分别于室温下放置0、2、4、6、8 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,氯霉素、醋酸泼尼松龙和氯霉素二酯物峰面积的RSD分别为1.2%、0.78%、2.0% ( $n=5$ ),表明供试品溶液在室温放置8 h内稳定性良好。

## 2.9 重复性试验

取样品(批号:20131224)适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。结果,氯霉素和醋酸泼尼松龙峰面积的RSD分别为0.15%、0.93% ( $n=6$ ),表明本方法对于主药(醋酸泼尼松龙和氯霉素)的测定重复性良好。氯霉素二酯物峰面积的RSD=4.5% ( $n=6$ ),满足限量检查要求。

## 2.10 回收率试验

精密量取“2.2.4”项下阴性样品5 mL,共9份,分别置于50 mL量瓶中;再分别精密加入“2.2.2”项下混合对照品贮备液4、5、6 mL,各3份,分别加甲醇定容,摇匀,即得供试品溶液。取上述溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算回收率,结果见表2。

## 2.11 样品含量测定

取3批样品各适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按外标法以峰面积计算氯霉素二酯物、氯霉素和醋酸泼尼松龙的含量,结果3批样品(批号:20131224、20131225、20131226)中氯霉素含量分别为108.00%、108.70%、107.90%,醋酸泼尼松龙含量分别为98.00%、98.40%、96.80%,氯霉素二酯物含量分别为0.39%、

0.53%、0.57%。

表2 回收率试验结果(n=9)

Tab 2 Results of recovery test(n=9)

待测成分	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
氯霉素二醇物	0.827 0	0.836 4	101.1	101.9	1.10
	0.827 0	0.841 2	101.7		
	0.827 0	0.838 3	101.4		
	1.034 0	1.051 0	101.7		
	1.034 0	1.033 0	100.0		
	1.034 0	1.057 0	102.2		
	1.241 0	1.281 0	103.2		
	1.241 0	1.276 0	102.9		
	1.241 0	1.277 0	103.0		
	1.241 0	1.277 0	103.0		
	1.241 0	1.277 0	103.0		
	1.241 0	1.277 0	103.0		
氯霉素	9.383 0	9.510 0	101.4	101.7	0.60
	9.383 0	9.546 0	101.7		
	9.383 0	9.483 0	101.1		
	11.728 0	11.917 0	101.6		
	11.728 0	11.801 0	100.6		
	11.728 0	11.928 0	101.7		
	14.074 0	14.451 0	102.7		
	14.074 0	14.378 0	102.2		
	14.074 0	14.350 0	102.0		
	14.074 0	14.350 0	102.0		
	14.074 0	14.350 0	102.0		
	14.074 0	14.350 0	102.0		
醋酸泼尼松龙	9.921 0	9.832 0	99.1	99.3	0.80
	9.921 0	9.871 0	99.5		
	9.921 0	9.795 0	98.7		
	12.401 0	12.317 0	99.3		
	12.401 0	12.092 0	97.5		
	12.401 0	12.327 0	99.4		
	14.881 0	14.929 0	100.3		
	14.881 0	14.849 0	99.8		
	14.881 0	14.823 0	99.6		
	14.881 0	14.823 0	99.6		
	14.881 0	14.823 0	99.6		

### 3 讨论

#### 3.1 流动相的选择

本品原标准含量测定以甲醇-0.34%磷酸二氢钾水溶液(65:35, V/V)为流动相<sup>[5]</sup>,在本试验的色谱条件下测定,氯霉素二醇物几乎无保留,受相关溶剂峰干扰,醋酸泼尼松龙峰与有关杂质的峰分离度未达要求,干扰主药测定。经试验,在流动相中添加离子对试剂庚烷磺酸钠能有效增加氯霉素二醇物的保留<sup>[6-9]</sup>,笔者考查了有机相种类对色谱分离系统的影响,发现单一的乙腈或甲醇经过调整比例后虽能使各峰分离,但效果不理想,且发现有有机相为乙腈或甲醇时,色谱出峰顺序有所不同,说明其选择性不同。因此,笔者选用两者混合作为有机相,优化后的流动相为0.1%庚烷磺酸钠溶液-冰乙酸-乙腈-甲醇(60:0.2:30:10, V/V/V/V),且在本试验的色谱条件下测定,各成分均得到了有效分离。

#### 3.2 检测波长的确定

在选定的流动相条件下,通过二极管阵列检测器,在200~400 nm波长处进行全波长扫描。结果,醋酸泼尼松龙的最大吸收波长为246 nm,氯霉素的吸收波长为278 nm,氯霉素二醇物的最大吸收波长为271 nm,由于氯霉素二醇物为降解产物,含量远低于两主药,为了获得相对平衡的响应值,本试验选择271 nm作为检测波长。

#### 3.3 氯霉素二醇物的定量限

本研究建立的方法能同时测定两主药(醋酸泼尼松龙和氯霉素)和降解产物氯霉素二醇物的含量,适合医院制剂快速、简便的分析要求。经验证,氯霉素二醇物的最低定量限为0.01 μg/mL(0.1 ng),即在含量测定中供试品溶液质量浓度为0.25 mg/mL时,供试品中的氯霉素二醇物>0.004%即可被定量检出。

#### 3.4 制剂含量范围

本品原标准含量限度为含氯霉素和醋酸泼尼松龙均为相当于标示量的90.0%~110.0%。根据本试验的结果和参考相关文献,暂定氯霉素二醇物限度为8.0%<sup>[4-5]</sup>;将本品氯霉素含量限度修订为“应为标示量的90.0%~120.0%”。

#### 3.5 重复性试验

在重复性试验中,氯霉素二醇物峰面积的RSD=4.5%。因氯霉素二醇物为限量检查,本批样品(批号:20131224)为新批次,氯霉素二醇物的含量较低,超出已验证的线性范围(但高于定量限),造成RSD偏高,但满足限量检查要求。

#### 3.6 破坏性试验

氯霉素和醋酸泼尼松龙均含已知杂质,氯霉素的已知杂质为氯霉素二醇物和对硝基苯甲醛;醋酸泼尼松龙的已知杂质为泼尼松龙和醋酸氢化可的松。在破坏性试验中,复方氯霉素滴眼液的主要降解产物为氯霉素二醇物和泼尼松龙,在高温条件下易降解,产生的降解产物含量最高,强光下可产生氯霉素的光降解产物对硝基苯甲醛,对硝基苯甲醛峰前延,所有产生的降解产物均能与主成分峰(氯霉素峰和醋酸泼尼松龙峰)和氯霉素二醇峰有效分离。

综上所述,本方法结果准确、操作简便,可用于复方氯霉素滴眼液中氯霉素、醋酸泼尼松龙及其降解产物氯霉素二醇物含量的同时测定。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:临床用药须知:化学药和生物制品卷[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:1402.
- [2] 陈新谦,金有豫,汤光.新编药理学[M].16版.北京:人民卫生出版社,2007:84,625.
- [3] 郑虎.药物化学[M].6版.北京:人民卫生出版社,2009:293-296.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:1400,1537.
- [5] 孙俊军,梁兆熙.高效液相色谱法测定氯强滴眼液的含量[J].广东药学院学报,2003,19(2):139-140.
- [6] 常明,李靖,李淑芳.高效液相色谱法同时测定强氯滴眼液中2组分的含量[J].中国药房,2005,16(14):1106-1107.
- [7] 唐坤,黄猛.HPLC法同时测定强氯滴眼液中氯霉素和醋酸泼尼松龙含量分析[J].华夏医学,2009,22(2):192-194.

# HPLC法测定二对甲苯磺酸缘生替尼原料药中的有关物质

仲艳\*,李家春,李瑛光,王振中,黄文哲,萧伟\*(江苏康缘药业股份有限公司,江苏连云港 222001)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)03-0412-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.03.35

**摘要** 目的:建立测定二对甲苯磺酸缘生替尼原料药中有关物质的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Waters Symmetry C<sub>18</sub>,流动相为甲醇-0.01 mol/L 乙酸铵溶液(梯度洗脱),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 240 nm,柱温为 40 ℃,进样量为 10 μL。结果:在该色谱条件下,主成分峰与各杂质峰分离度均良好;杂质 A、B、C 和二对甲苯磺酸缘生替尼检测质量浓度线性范围均为 0.25~2.0 μg/mL( $r \geq 0.999 0$ ),杂质 A、B、C 的定量限分别为 0.5、0.5、2.5 ng;精密度、稳定性、重复性试验的 RSD < 1.0%;加样回收率分别为 97.9%~102.6%、95.1%~107.7%、95.8%~107.5%,RSD 分别为 1.4%、4.2%、4.1%( $n=9$ )。结论:该方法专属性好,操作简便,可用于二对甲苯磺酸缘生替尼原料药中有关物质的测定。

**关键词** 二对甲苯磺酸缘生替尼原料药;高效液相色谱法;有关物质

## Determination of Related Substances in Yunsintinib Ditosylate Active Pharmaceutical Ingredients by HPLC

ZHONG Yan, LI Jiachun, LI Yingguang, WANG Zhenzhong, HUANG Wenzhe, XIAO Wei (Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Jiangsu Lianyungang 222001, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the determination of related substances in yunsintinib ditosylate active pharmaceutical ingredient. METHODS: HPLC was performed on the column of Waters Symmetry C<sub>18</sub> with mobile phase of methanol-0.01 mol/L ammonium acetate solution (gradient elution), flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 240 nm, column temperature was 40 ℃, and injection volume was 10 μL. RESULTS: Under the chromatographic conditions, the main peaks and each impurity peak were well separated; The linear range of impurity A, B, C and yunsintinib ditosylate were 0.25-2.0 μg/mL ( $r \geq 0.999 0$ ); the quantification limits of impurity A, B and C were 0.5, 0.5 and 2.5 ng, respectively; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1.0%; recoveries were 97.9%-102.6% (RSD=1.4%,  $n=9$ ), 95.1%-107.7% (RSD=4.2%,  $n=9$ ), 95.8%-107.5% (RSD=4.1%,  $n=9$ ), respectively. CONCLUSIONS: The method is specific and simple, and can be used for the determination of related substances in yunsintinib ditosylate active pharmaceutical ingredients.

**KEYWORDS** Yunsintinib ditosylate active pharmaceutical ingredients; HPLC; Related substances

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤,占女性所有恶性肿瘤的 23%<sup>[1-3]</sup>。在我国,乳腺癌发病率逐年增加,已经成为城市女性的头号癌症杀手。二甲苯磺酸拉帕替尼是葛兰素史克公司研发的一种新型的小分子靶向双重酪氨酸激酶抑制剂,于 2007 年 3 月 13 日获美国食品药品监督管理局批准上市,与抗癌药物卡培他滨联合用于治疗晚期或转移性表皮生长因子受体阳性乳腺癌。近年来,关于二甲苯磺酸拉帕替尼在其他类型肿瘤方面的研究越来越多,其有望成为一种潜在的多肿瘤靶向治疗药物<sup>[4-8]</sup>。二对甲苯磺酸缘生替尼是我公司以二甲苯磺酸拉帕替尼为先导化合物自主研发的新药。由于本品

在合成过程中难免引入合成原料、中间体、副产物等杂质,如 6-碘喹啉-4-酮(杂质 A)、3-氯-4-[(3-氟苯基)甲氧基]苯胺(杂质 B)、N-[3-氯-4-(3-氟苯氧基)苯基]-6-碘-4-喹啉胺(杂质 C)等,因此需要建立合适的测定方法以实现对本品中有关物质的控制。本研究依据 2015 年版《中国药典》中药品质标准分析方法验证指导原则的相关规定<sup>[9]</sup>,参考相关文献<sup>[10-12]</sup>,优化高效液相色谱(HPLC)条件,建立了测定二对甲苯磺酸缘生替尼原料药中有关物质的方法。

## 1 材料

### 1.1 仪器

[8] 郭江红,姜红,赵亚萍,等.HPLC法同时测定氯霉素滴眼液中有关物质和尼泊金酯类防腐剂[J].药物分析杂志,2009,29(12):2071-2076.

[9] 谢楠,何晓英,张晓明,等.HPLC测定氯霉素滴眼液中氯

霉素及氯霉素二醇物的含量[J].华西药学杂志,2006,21(1):93-95.

[10] 区洁雯,李焕清,张蜀,等.HPLC法测定氯霉素溶液中氯霉素及氯霉素二醇物含量[J].中国抗生素杂志,2015,40(2):108-111.

(收稿日期:2016-07-29 修回日期:2016-11-11)

(编辑:刘柳)

\* 高级工程师。研究方向:药物分析。E-mail:zy521-521@126.com

# 通信作者:高级工程师,博士。研究方向:创新药物的研发。电话:0518-81152337。E-mail:wzhzh-nj@163.net