

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2025)06-0078-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2025.06.016



离子色谱法检测富马酸伏诺拉生原料药中甲胺残留*

冯文, 周锐, 刘峰[△]

(四川省药品检验研究院·国家药品监督管理局药物制剂体内外相关性技术研究重点实验室, 四川 成都 611731)

摘要:目的 建立检测富马酸伏诺拉生原料药中甲胺的离子色谱法。方法 色谱柱为 Dionex IonPac™ CS-12A 柱(250 mm × 4 mm), 流动相为 4 mmol/L 甲基磺酸溶液-60 mmol/L 甲基磺酸溶液(梯度洗脱), 流速为 1.2 mL/min, 进样量为 25 μL, 柱温为 35 °C, 检测方式为抑制电导检测。结果 甲胺质量浓度在 0.012~6.0 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($r=1.0000$); 仪器的检测限和定量限分别为 0.0036 μg/mL 和 0.012 μg/mL; 精密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 2.0%; 平均加样回收率为 99.70%, RSD 为 1.05% ($n=9$)。结论 该方法操作简便、快速, 灵敏度高、专属性好, 可准确测定富马酸伏诺拉生原料药中甲胺的残留量。

关键词: 富马酸伏诺拉生; 甲胺; 离子色谱法; 残留控制

Determination of Methylamine Residue in Vonoprazan Fumarate Raw Material by Ion Chromatography

FENG Wen, ZHOU Rui, LIU Feng

(Institute for Drug Control of Sichuan Province, Key Laboratory of In Vitro and In Vivo Correlation Technology for Pharmaceutical Preparations, National Medical Products Administration, Chengdu, Sichuan, China 611731)

Abstract: Objective To establish an ion chromatography method for the determination of methylamine residue in vonoprazan fumarate raw material. **Methods** The chromatographic column was the Dionex IonPac™ CS-12A column (250 mm × 4 mm), the mobile phase was 4 mmol/L methanesulfonic acid solution-60 mmol/L methanesulfonic acid solution (gradient elution), the flow rate was 1.2 mL/min, the injection volume was 25 μL, the column temperature was 35 °C, and the detection method was suppressed conductivity detection. **Results** The mass concentration of methylamine showed a good linear relationship with peak area in the range of 0.012-6.0 μg/mL ($r=1.0000$). The limits of detection and quantification were 0.0036 μg/mL and 0.0120 μg/mL, respectively. The RSDs of precision, stability, and repeatability tests were all lower than 2.0%. The average recovery rate was 99.70% with the RSD of 1.05% ($n=9$). **Conclusion** This method is simple, rapid, highly sensitive, and highly specific, and it can accurately determine the methylamine residue in vonoprazan fumarate raw material.

Key words: vonoprazan fumarate; methylamine; ion chromatography; residue control

《中国胃食管反流病专家共识(2020年版)》推荐质子泵抑制剂(PPI)或钾离子竞争性酸阻滞剂(P-CAB)作为治疗胃食管反流病(GERD)的首选药物^[1-6]。伏诺拉生(VPZ)为国内P-CAB中唯一批准上市的药物(2019年12月获批,用于治疗反流性食管炎)。甲胺为富马酸伏诺拉生的合成物料之一^[7-9],是合成该药最后一步化学反应所用物料,应加入乙醇进行反应,由于用量较大,若纯化不彻底会导致残留。有机胺多具有刺激性和毒性,对眼睛、耳、鼻、喉、皮肤、呼吸道、肝脏、肾脏有损伤,还可与亚硝酸盐反应,生成强致癌性的亚硝胺类物质,危害人体健康^[10-11]。甲胺测定方法多采用衍生化后的高效液相色谱(HPLC)法、气相色谱法、滴定分析法^[12-16],但衍生化方法操作烦琐,精密度、衍生效率、准确度均不佳,且实验成本较高。为此,本研究中建立了检测富马酸伏诺拉生中甲胺的离子色谱法,操作

简便、快速,方法专属性强、灵敏度高、准确度高,且节约实验成本,根据测得值进行甲胺的风险评估,可合理控制甲胺,确保药品的安全性,同时为其他品种中甲胺的残留量控制提供了参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

ICS 6000型离子色谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); XAU205型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司,精度为0.01 mg)。

1.2 试剂

富马酸伏诺拉生(四川弘远药业有限公司,批号分别为 S210401、S210901、S210902、S210903); 甲胺对照品(四川众创众睿质检技术有限公司,批号为 Z4990,含量 1 000 μg/mL); 钠、钾元素标准溶液(国家有色金属及电子材料分析测试中心,批号分别为 233038-7、

*基金项目:四川省药品监督管理局药品科技计划项目[2024013]。

第一作者:冯文,女,硕士研究生,副主任药师,研究方向为药品质量评价与质量标准,(电子信箱)273344933@qq.com。

[△]通信作者:刘峰,男,硕士研究生,主任药师,研究方向为药品质量评价与药品标准,(电子信箱)52986758@qq.com。

217018 - 2, 含量均为 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$); 甲磺酸(德国 CNW 公司, HPLC 级, 批号为 PMJ4B - VY), 水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Dionex IonPac™ CS - 12A 柱(250 mm \times 4 mm); 流动相: 4 mmol/L 甲基磺酸溶液(A) - 60 mmol/L 甲基磺酸溶液(B), 梯度洗脱(洗脱程序见表 1); 流速: 1.2 mL/min; 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 25 μL ; 检测方式: 抑制电导检测。

表 1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution procedure

时间 (min)	流动相(%)		时间 (min)	流动相(%)	
	A	B		A	B
0	100	0	25	0	100
15	100	0	25.1	100	0
15.1	0	100	40	100	0

2.2 溶液制备

专属性考察溶液: 称取样品约 20 mg, 置 10 mL 容量瓶中, 分别加入钠、钾标准溶液(分别含 Na^+ 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 K^+ 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 0.1 mL, 用 4 mmol/L 甲基磺酸溶液定容, 摇匀, 即得。

对照品溶液: 精密量取甲胺溶液(1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 3 mL, 置 100 mL 容量瓶中, 用 4 mmol/L 甲基磺酸溶液定容, 得对照品贮备液; 精密量取 1 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 用 4 mmol/L 甲基磺酸溶液定容, 摇匀, 即得。

供试品溶液: 取样品适量, 加 4 mmol/L 甲基磺酸溶液溶解并稀释, 得每 1 mL 中约含 2 mg 的供试品溶液。

加标供试品溶液: 取样品约 20 mg, 精密称定, 置 10 mL 容量瓶中, 精密加入对照品贮备液 1 mL, 加 4 mmol/L 甲基磺酸溶液溶解并定容, 摇匀, 即得。

空白对照品溶液: 以 4 mmol/L 甲基磺酸溶液作空白对照品溶液。

2.3 方法学考察

专属性试验: 精密量取 2.2 项下 5 种溶液, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果空白对照品溶

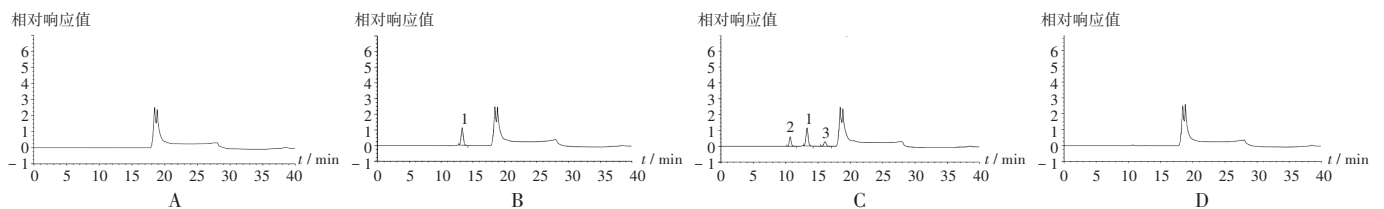
液、供试品溶液色谱中均无明显干扰峰, 专属性考察溶液色谱中甲胺与钠、钾离子峰之间分离度分别为 4.7 和 4.3, 均大于 1.5, 表明专属性良好。详见图 1。

定量限与检测限考察: 精密量取对照品溶液适量, 逐级稀释, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 以信噪比(S/N) 约为 3, 10 时的质量浓度记为检测限(LOD)和定量限(LOQ)。结果甲胺仪器的 LOD 和 LOQ 分别为 0.003 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 0.012 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 方法的 LOD 和 LOQ 分别为 0.000 2% 和 0.000 6%。

线性关系考察: 分别精密量取对照品贮备液 0.5, 0.8, 1.0, 1.5, 2.0 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 用 4 mmol/L 甲基磺酸溶液定容, 制成系列对照品溶液。精密量取适量, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 以甲胺质量浓度($X, \mu\text{g}/\text{mL}$) 为横坐标、峰面积(Y) 为纵坐标进行线性回归, 将仪器定量限代入计算, 得甲胺回归方程为 $Y = 0.154 5 X - 0.004 2 (r = 1.000 0)$ 。结果表明, 甲胺质量浓度在 0.012 ~ 6.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验: 1) 日内精密度。取 2.2 项下对照品溶液适量, 按 2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积。结果的 RSD 为 0.39% ($n = 6$), 见表 2。2) 加标重复性。按 2.2 项下方法制备 100% 加标供试品溶液 6 份, 各取适量, 按 2.1 项下色谱条件连续进样测定, 记录峰面积。结果的 RSD 为 1.54% ($n = 6$), 详见表 2。3) 中间精密度。在不同时间、不同人员情况下, 分别按 2.2 项下方法制备对照品溶液、供试品溶液与加标供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件连续进样测定, 记录峰面积。结果与加标重复性结果比较, 3 次测试结果无明显差异, 方法中间精密度良好。结果见表 2。

稳定性试验: 取 2.2 项下对照品溶液、供试品溶液与加标供试品溶液适量, 分别于室温下放置 0, 4, 10, 16, 26 h 时按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果见表 3。



1. 甲胺 2. 钠 3. 钾

A. 空白对照品溶液 B. 对照品溶液 C. 专属性考察溶液 D. 供试品溶液

图 1 离子色谱图

1. Methylamine 2. Sodium 3. Potassium

A. Blank reference solution B. Reference solution C. Specificity test solution D. Test solution

Fig. 1 Ion chromatogram

表2 精密度试验结果

Tab. 2 Results of the precision test

项目	1	2	3	4	5	6	RSD(%)
日内精密度(峰面积)	0.464 8	0.465 5	0.462 5	0.464 2	0.464 9	0.460 8	0.39
加标重复性($\mu\text{g}/\text{mL}$)	2.940	3.016	3.045	3.034	3.073	3.054	1.54
中间精密度1($\mu\text{g}/\text{mL}$)	3.013	3.043	3.034	3.019	3.063	3.024	0.60
中间精密度2($\mu\text{g}/\text{mL}$)	3.023	3.063	3.004	3.022	3.061	3.021	0.79

表3 溶液稳定性试验结果

Tab. 3 Results of the solution stability test

溶液	峰面积					RSD(%)
	0 h	4 h	10 h	16 h	26 h	
对照品溶液	0.442 6	0.454 1	0.453 9	0.458 5	0.450 9	1.31
供试品溶液	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	
加标供试品溶液	0.448 2	0.454 1	0.455 8	0.455 6	0.443 9	1.17

加样回收试验:取样品约20 mg,共9份,精密称定,置10 mL容量瓶中,分别精密加入0.5,1.0,1.5 mL对照品贮备液,加4 mmol/L甲基磺酸溶液溶解并定容,制成供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果见表4。

表4 加样回收试验结果($n=9$)

Tab. 4 Results of the recovery test ($n=9$)

样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD(%)
0	15	14.88	99.20		
0	15	14.84	98.93		
0	15	14.85	99.00		
0	30	29.40	98.00		
0	30	30.16	100.53	99.70	1.05
0	30	30.45	101.50		
0	45	45.02	100.04		
0	45	44.90	99.78		
0	45	45.16	100.36		

耐用性试验:取2.2项下对照品溶液、供试品溶液与加标供试品溶液,按2.1项下色谱条件(分别改变流速、柱温)进样测定,记录色谱图。结果表明,色谱柱、流速、柱温发生一定程度变化时,本方法能满足试验要求,耐用性良好。结果见表5。

表5 耐用性试验结果(%)

Tab. 5 Results of the robustness test (%)

指标	耐用性条件1	耐用性条件2	耐用性条件3	耐用性条件4
	(流速:1.1 mL/min)	(流速:1.3 mL/min)	(柱温:30 °C)	(柱温:40 °C)
供试品溶液回收率	未检出	未检出	未检出	未检出
加标供试品溶液回收率	99.42	99.79	100.38	100.32

2.4 样品含量测定

对4批样品各适量,分别按2.2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,平行测定3次,记录峰面积并计算样品含量。结果样品中均未检出甲胺。

3 讨论

3.1 离子色谱的优势

甲胺在常温下为无色有氨臭的气体或液体,沸点较低(为 $-6.7 \sim -6.3$ °C),易气化,看似契合气相分析特性,实际应用中却受基质效应及制样过程气化过快等因素制约,导致检测灵敏度欠佳、回收率难达标,凸显了气相色谱在这类特定样品分析中的局限性;而离子色谱法凭借对水溶性、弱碱性且无生色基团的物质良好适配性,成功突破瓶颈,实现了高灵敏度、专属性强、精准检测,为类似结构且具挥发性、低沸点有机胺类物质在药品残留检测领域开辟了新路径。

3.2 提取溶剂的选择

采用水作溶剂时发现,对照品溶液连续进样峰面积的RSD较大,可能为甲胺在水中挥发导致对照品溶液不稳定。采用初始流动相浓度(4 mmol/L)的甲磺酸溶液作为溶剂时,对照品与供试品溶液稳定性均显著提升,故以此作为溶剂。提示提取溶剂对易挥发目标物不仅有溶解提取功能,更需具备维持其化学稳定性的关键作用。

3.3 环境干扰物的影响

对干扰因素深度剖析发现,自然界广泛存在的钠离子、钾离子可能干扰样品中甲胺的测定,因此溶剂需新鲜制备的超纯水(电阻率大于 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$)制备。另外,常用的玻璃容量瓶、乳胶胶头等均可能引入其他阳离子物质,干扰结果,因此操作过程中应特别注意外来阴离子的干扰和影响,器皿应多采用超纯水清洗处理或采用一次性器皿,优选高分子材料制成的塑料器皿。这表明在痕量有机胺检测场景下,即便常规视为“无害”或“微量”的环境本底离子,都会因方法高灵敏度而“放大”影响,凸显超纯水制备、器皿材质管控的极端重要性,也警示药物分析中,全面排查、防控潜在干扰源需从实验环境、耗材全方位着手,任何细微疏忽都可能干扰实验结果。

3.4 下一步的研究方向

尽管离子色谱法解决了诸多难题,但该方法对仪器设备依赖度高,基层实验室普及受限。因此,需要进一步研究开发更加简便、经济的检测方法,提高检测方法的普及性,以便更好地保障药品质量安全。另外,目前的方法优化聚焦富马酸伏诺拉生单一品种,对不同剂型、不同工艺生产同类含甲胺原料药物品的普适性有待验证。未来的研究需进一步拓展检测方法的适用范围,验证其在不同药品中的有效性和可靠性。

参考文献

- [1] 中华医学会消化病学分会. 2020年中国胃食管反流病专家共识[J]. 中华消化杂志, 2020, 41(2): 649-663.