

## RP-HPLC 梯度洗脱法测定替米沙坦中有关物质

吴 贇<sup>1</sup>, 王成港<sup>1</sup>, 张胜利<sup>2</sup>

1. 天津药物研究院, 天津 300193

2. 施维雅(天津)制药有限公司, 天津 300457

**摘要:** **目的** 建立替米沙坦中有关物质的测定方法。**方法** 采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法, 使用 Dikma Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), [磷酸二氢钾-戊烷磺酸钠缓冲液(pH 3.0)]-[甲醇-乙腈(20:80)]线性梯度洗脱, 检测波长为 230 nm, 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温为 35 °C。**结果** 在上述色谱条件下, 5 种杂质能与替米沙坦有效地分离, 分离度大于 1.5, 检出限为 0.1 ng。**结论** 使用本方法测定替米沙坦中有关物质, 能有效检出特定杂质, 方法准确、快速、重复性好。

**关键词:** 替米沙坦; 有关物质; 高效液相色谱; 梯度洗脱

**中图分类号:** R927.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2012)03-0229-03

## Determination of related substances in telmisartan by elution gradient RP-HPLC

WU Yun<sup>1</sup>, WANG Cheng-gang<sup>1</sup>, ZHANG Sheng-li<sup>2</sup>

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

2. Servier (Tianjin) Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300457, China

**Abstract: Objective** To establish a method for the determination of related substances in telmisartan. **Methods** The RP-HPLC method was carried out using a Dikma Diamonsil C<sub>18</sub> column (150 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase consisted of KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-pentane sulfonic acid sodium salt buffer (pH 3.0) and methanol-acetonitrile (20:80) with linear gradient elution, the detective wavelength was at 230 nm with the flow rate of 1.0 mL/min and the temperature at 35 °C. **Results** Five impurities were effectively separated from telmisartan with separating degree (*R*)>1.5, and detection limit 0.1 ng. **Conclusion** The related substances could be determined from telmisartan by the method, and this method with better reproducibility is precise and rapid.

**Key words:** telmisartan; related substance; HPLC; gradient elution

替米沙坦是一种非肽类血管紧张素 II 受体拮抗剂, 用于治疗高血压, 具有受体作用专一、良好利尿作用、改善心肌狭窄障碍、不良反应小等特点, 临床使用效果良好。现有的有关物质测定方法为缓冲盐-乙腈系统等度洗脱, 对替米沙坦中可能存在的 5 种杂质不能完全分离<sup>[1-2]</sup>, 因此本实验参考《欧洲药典》<sup>[3]</sup>, 采用梯度洗脱法对替米沙坦中杂质进行控制, 并进行方法学研究。

### 1 仪器与试剂

安捷伦 1200 型高效液相色谱仪。替米沙坦原料药(常州亚邦制药有限公司, 批号 M100401); 替米沙坦对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 100629-200401, 质量分数 99.3%); 5 种替米沙坦杂

质 4-甲基-6-(1-甲基-1*H*-苯并咪唑-2-羟基)-2-丙基-1*H*-苯并咪唑(杂质 A)、4-[[7-甲基-5-(1-甲基-1*H*-苯并咪唑-2-羟基)-2-丙基-1*H*-苯并咪唑-1-羟基]甲基]联苯-2 羧酸(杂质 B)、1,1-二甲基甲烷-4-[[4-甲基-6-(1-甲基-1*H*-苯并咪唑-2-羟基)-2-丙基-1*H*-苯并咪唑-1-羟基]甲基]联苯-2 羧酸(杂质 C)、1-[(2-羧基联苯-4-羟基)甲基]-4-甲基-2-丙基-1*H*-2 苯并咪唑-6-羧酸(杂质 D)、4-[[4-甲基-6-(1-甲基-1*H*-苯并咪唑-2-羟基)-2-丙基-1*H*-苯并咪唑-1-羟基]甲基]联苯-2 羧酸(杂质 E)为《欧洲药典》替米沙坦系统适用性杂质对照品, 批号 002U12; 乙腈、甲醇(色谱纯, 天津康科德科技有限公司), 磷酸(化学纯, 天津风船化学试剂有限公司), 磷酸二氢钾(化学纯,

收稿日期: 2011-12-08

作者简介: 吴 贇(1979—), 女, 助理研究员, 2002 年毕业于四川大学华西药学院, 研究方向为药物制剂与分析。

Tel: (022) 23006879 E-mail: wuy@tjpr.com

天津迪博化工股份有限公司), 离子对试剂戊烷磺酸钠 (天津市光复精细化工研究所)。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的配制

**2.1.1 供试品溶液的制备** 精密称取替米沙坦原料药适量, 精密称定, 加甲醇溶解并稀释制成含替米沙坦 0.5 mg/mL 的溶液, 作为供试品溶液。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密量取替米沙坦对照品适量, 加甲醇稀释成 5  $\mu\text{g/mL}$  溶液, 作为对照品溶液。

### 2.2 色谱条件的选择

**2.2.1 检测波长的确定** 各取对照品和供试品溶液 20  $\mu\text{L}$ , 分别注入液相色谱仪, 用二极管阵列检测器检测, 并分析每一个成分实时出峰时的紫外吸收情况, 根据主成分和各杂质的紫外吸收情况, 兼顾各杂质的检出灵敏度, 确定实验的检测波长为 230 nm。

**2.2.2 流动相的配制** 精密称取 2.0 g 磷酸二氢钾和 3.8 g 戊烷磺酸钠, 加水溶解, 稀释并定容至 1 000 mL, 用磷酸调节 pH 值至 3.0, 即得。同时制备甲醇-乙腈 (20:80)。

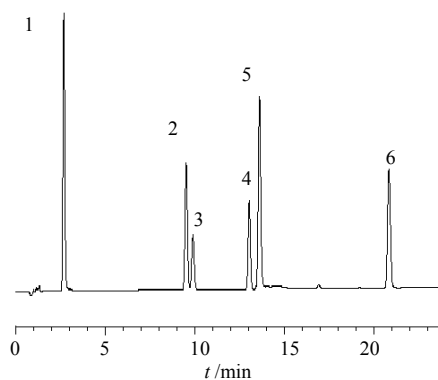
**2.2.3 色谱条件** Dikma Diamonsil  $\text{C}_{18}$  色谱柱 (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), [磷酸二氢钾-戊烷磺酸钠缓冲液 (pH 3.0)]-[甲醇-乙腈 (20:80)] 线性梯度洗脱, 检测波长为 230 nm, 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温为 35  $^{\circ}\text{C}$ 。在此条件下, 理论塔板数按替米沙坦主峰计不得低于 2 000。

**2.2.3 系统适用性对照溶液的制备** 称取《欧洲药典》系统适用性对照品 0.26 mg, 加甲醇 2 mL, 溶解作为系统适用性对照溶液。

### 2.3 专属性试验

**2.3.1 系统适用性试验** 取上述系统适用性对照溶

液 20  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪, 记录色谱图, 见图 1。结果表明在该色谱条件下替米沙坦主峰和杂质能完全分离, 相邻各峰分离度大于 1.5。



1-杂质 A 2-杂质 D 3-杂质 E 4-杂质 B 5-替米沙坦 6-杂质 C  
1-impurity A 2-impurity D 3-impurity E 4-impurity B 5-telmisartan 6-impurity C

图 1 HPLC 方法色谱系统适用性图谱

Fig. 1 HPLC chromatogram of system suitability

**2.3.2 降解产物分析** 分别称取 5 份样品研细粉适量, 取其中 3 份分别加入 1 mol/L 盐酸 3 mL、1 mol/L 氢氧化钠 3 mL、双氧水 3 mL, 放置 3 h, 再加甲醇稀释至 10 mL; 取其中 1 份放置于 4 500 lx 光照条件下连续照射 3 d, 加甲醇稀释至 10 mL; 取其中 1 份放置于 100  $^{\circ}\text{C}$  烤箱内, 加热 3 d, 加甲醇稀释至 10 mL。分别取上述溶液各 20  $\mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 结果见图 2。结果表明, 该原料对光、热、酸、碱条件均较稳定。扣除辅料空白, 在破坏条件很剧烈的情况下杂质增长也不明显, 几乎未检出新增的降解杂质峰; 该原料在较强的氧化破坏条件下, 扣除辅料空白, 新增的分解峰与其他物质峰分离良好, 降解产物色谱峰与替米沙坦主峰分离良好, 杂质归属明确。

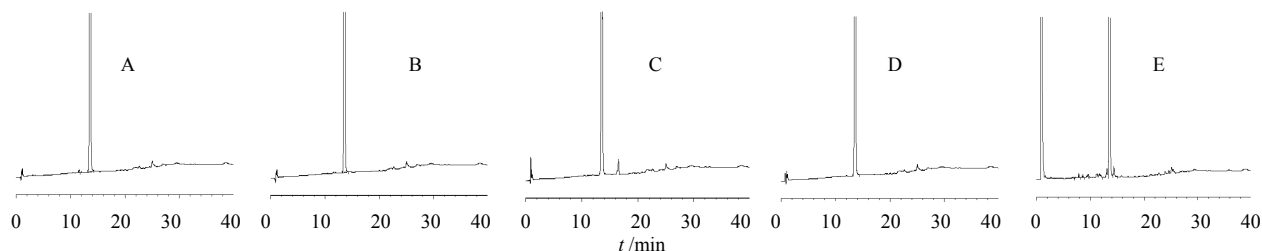


图 2 光照破坏 (A)、高温破坏 (B)、酸破坏 (C)、碱破坏 (D) 和氧化破坏 (E) 替米沙坦的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC chromatogram of degradation products of telmisartan under damage by light (A), high temperature (B), acid (C), base (D), and oxygenization (E)

## 2.4 线性关系考察

精密量取对照品溶液适量,用甲醇稀释成 0.1~7.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  溶液,精密量取溶液各 20  $\mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪,记录色谱图。以质量浓度为横坐标,相对应的峰面积为纵坐标,进行线性回归,其线性方程为  $Y=18.306 X+5.1707$  ( $r=1$ )。结果表明,替米沙坦在 0.1~7.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  与峰面积呈良好线性关系。

## 2.5 最小检出限的测定

精密量取对照品溶液适量,用甲醇稀释成不同质量浓度的溶液,分别注入液相色谱仪,记录色谱图。以  $S/N \geq 3$  计算,替米沙坦杂质最低检出限为 0.1 ng。

## 2.6 精密度试验

取替米沙坦对照品溶液适量,以上述液相色谱条件连续进样 6 次,按峰面积计算,RSD 为 0.10%。

## 2.7 稳定性试验

取供试品溶液和对照品溶液,分别于室温放置 0、3、5、8、12、24、48、52 h 依次进样,结果显示,该供试品溶液主峰替米沙坦峰面积的 RSD 为 0.41%,替米沙坦对照品溶液主峰峰面积的 RSD 为 0.11%。结果表明,对照品溶液和供试品溶液在 52 h 内稳定。

## 2.8 有关物质的测定

取本品适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释制成含替米沙坦 0.5  $\text{mg}/\text{mL}$  的溶液,作为供试品溶液;精密量取适量,加甲醇稀释成 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  对照品溶液;取对照品溶液 20  $\mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪,调节检测灵敏度,使主成分色谱峰的峰高约为满量程的 10%~15%;再精密量取供试品溶液和对照品溶液各 20  $\mu\text{L}$ ,分别注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的 3 倍。扣除溶剂峰,按外标法以峰面积计算杂质的量。结果见表 1。

## 3 讨论

使用《欧洲药典》系统适用性对照品,分别采用缓冲盐-乙腈等度系统和《欧洲药典》建立起来

表 1 替米沙坦中有关物质的测定结果 ( $n=2$ )

Table 1 Determination of related substances in telmissartan ( $n=2$ )

批号	最大杂质/%	总杂质/%
01	0.06	0.06
02	0.06	0.06
03	0.05	0.05

的梯度系统进行分离度测定,在缓冲盐-乙腈等度系统系统条件下,该混合对照品共检出包括替米沙坦主峰在内的 5 个色谱峰,并且色谱峰峰形前沿不利于积分分析;在梯度洗脱系统条件下,该混合对照品共检出包括替米沙坦主峰在内的 6 个色谱峰;缓冲盐-乙腈等度系统不能将替米沙坦 5 个杂质完全分离,影响替米沙坦原料中杂质的检出,最终影响其有关物质测定的准确性,因此建立该梯度洗脱的有关物质测定方法对现有的原料质量标准提高有积极意义。

本实验方法中,使用到了戊烷磺酸钠配制流动相,检测波长为 230 nm。在实验过程中发现在此洗脱条件下 20 min 左右基线会出现一些波动,但是不影响替米沙坦杂质检出。经过试验发现波动是由于戊烷磺酸钠中杂质引起的,即使使用国外进口离子对试剂也不能避免该情况发生。因此对国内外不同生产厂家的戊烷磺酸钠试剂进行比较对比研究,最终选择天津光复精细化工研究所生产的离子对试剂进行实验,能适当减少戊烷磺酸钠中杂质对基线的影响,不会对替米沙坦有关物质测定结果造成影响。

## 参考文献

- [1] 丁雪琴,晁若冰,廖 靛,等. HPLC 测定替米沙坦的含量和有关物质 [J]. 华西药学杂志, 2003, 18(3): 212-214.
- [2] 郑国刚,方宇瑾,方滢芝. RP-HPLC 法测定替米沙坦含量和有关物质 [J]. 药物分析杂志, 2005, 25(2): 147-149.
- [3] *European Pharmacopoeia* [S]. 7.0. 2010.