

瑞舒伐他汀钙原料药中有关物质的测定

汪涛¹, 丁立秀², 马哲¹, 郑士灼¹, 张彩娟², 牛锋^{3*}

1. 石药集团欧意药业有限公司, 河北 石家庄 050000

2. 石药集团中诺药业(石家庄)有限公司, 河北 石家庄 050000

3. 石药集团恩必普药业有限公司, 河北 石家庄 050000

摘要: 目的 建立高效液相色谱(HPLC)法测定瑞舒伐他汀钙原料药中有关物质的方法。方法 采用 HPLC 法, Phenomenex Luna C₁₈ (2) 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为水-乙腈-1%三氟乙酸水溶液(62:37:1), 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温为 40 °C, 进样量为 20 μL, 检测波长为 242 nm。结果 系统和方法精密度 RSD 值均小于 20% (n=6), 瑞舒伐他汀钙在 0.020 1~0.201 3 μg 线性关系良好 (r=0.999 8), 瑞舒伐他汀钙的检测限为 2.76 ng, 各杂质氧化产物、内酯、光降解产物 I 和 II 和非对映异构体各杂质的检测限依次为 1.85、1.32、1.08、1.11、2.06 ng。结论 本法合理严谨, 精密度好, 检测灵敏度高, 可有效用于瑞舒伐他汀钙有关物质检测。

关键词: 瑞舒伐他汀钙原料药; 瑞舒伐他汀钙; 有关物质; 高效液相色谱

中图分类号: R917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2014)06-0603-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.06.005

Determination of related substances in rosuvastatin calcium bulks drug

WANG Tao¹, DING Li-xiu², MA Zhe¹, ZHENG Shi-zhuo¹, ZHANG Cai-juan², NIU Feng³

1. Shijiazhuang Pharmaceutical Group Ouyi Pharmaceutical Co., Ltd., Shijiazhuang 050000, China

2. Shijiazhuang Pharma Group Zhongnuo Pharmaceutical (Shijiazhuang) Co., Ltd., Shijiazhuang 050000, China

3. Shijiazhuang Pharma Group NBP Pharmaceutical Co., Ltd., Shijiazhuang 050000, China

Abstract: Objective To establish an HPLC method for detecting the related substances of rosuvastatin calcium. **Methods** HPLC was carried out on Phenomenex Luna C₁₈ (2) column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with water – acetonitrile - 1% trifluoroacetic acid (62 : 37 : 1) as mobile phase. The detection wavelength was 242 nm and injection volume was 20 μL at the flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was set for 40 °C. **Results** The RSD values of method precision and system precision were less than 20% (n=6). The rosuvastatin calcium had a good linearity in the range of 0.020 1 μg — 0.201 3 μg (r=0.999 8). The detection limit of rosuvastatin calcium was 2.76 ng and the detection limits of impurity were oxidation product (1.85 ng), rosuvastatin lactone (1.32 ng), photodegradation product I (1.08 ng), photodegradation product II (1.11 ng), non enantiomer (2.06 ng), respectively. **Conclusion** The method with good precision and high sensitivity could be used for detecting the related substances of rosuvastatin calcium.

Key words: rosuvastatin calcium bulks drug; rosuvastatin calcium; related substance; HPLC

瑞舒伐他汀钙是降血脂类固体口服制剂瑞舒伐他汀钙片的主要成分, 化学名称为双-[(E)-7-[4-(4-氟基苯基)-6-异丙基-2-[甲基(甲磺酰基)氨基]-嘧啶-5-基](3R,5S)-3,5-二羟基庚-6-烯酸]钙盐, 结构见图

1。有关物质研究作为化学药药学研究的重点, 是国家药品审评过程中较为关注的一项重要技术指标。近年, 国家出版、刊登了大量有关物质研究的指导原则和研究报道^[1-4]。因此, 建立良好、有效的

收稿日期: 2014-04-29

基金项目: 国家科技重大专项资助项目 (2011ZX09203-002)

作者简介: 汪涛 (1967—), 女, 安徽淮南人, 工程师, 学士学位, 负责石药集团药品事业部质量工作。

Tel: (0311) 87896583 E-mail: Kellywang@mail.ecspc.com

*通信作者 牛锋 (1977—), 男, 内蒙古乌海人, 高级工程师, 负责石药集团药品事业部新药研发工作。

Tel: (0311) 66693707 E-mail: niufeng0828@yahoo.com.cn

有关物质检测方法在药物研发中非常重要。本文参照现有标准^[5-7],建立了瑞舒伐他汀钙原料药中有关物质的检测方法,对杂质限度进行了修订。结果证明所制定方法合理有效,重复性好,准确度高。

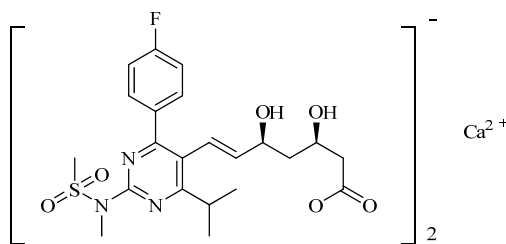


图 1 瑞舒伐他汀钙的结构

Fig. 1 Structure of rosuvastatin calcium

1 仪器与材料

Agilent HP 1100 高效液相色谱仪; XA205 型电子分析天平(梅特勒-托利多公司)。

瑞舒伐他汀钙对照品(批号 090701,质量分数为 99.7%)、瑞舒伐他汀内酯(批号 090202,质量分数为 98.0%)、瑞舒伐他汀钙非对映异构体(批号 090301,质量分数为 99.0%)、瑞舒伐他汀钙原料药(批号分别为 090901、090902、090903,规格 25 kg/桶)均购自石药集团中奇制药技术(石家庄)有限公司。乙腈为色谱纯,水为纯化水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Phenomenex Luna C₁₈(2)色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为水-乙腈-1%三氟乙酸水溶液(62:37:1),体积流量为 1.0 mL/min,柱温为 40 ℃,进样量为 20 μL,检测波长为 242 nm。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液的制备 取瑞舒伐他汀钙原料药适量,精密称定,加乙腈-水(30:70)溶解并稀释至刻度,配成质量浓度为 0.5 mg/mL 供试品溶液。

2.2.2 1%自身对照溶液的制备 精密量取 0.5 mg/mL 瑞舒伐他汀钙原料药供试品溶液 1 mL,置 100 mL 量瓶中,加乙腈-水(30:70)稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 系统适用性试验

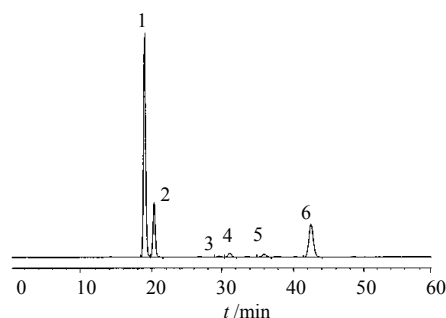
2.3.1 光降解产物 I、II 储备溶液的制备 称取瑞舒伐他汀钙对照品 25 mg,置 50 mL 量瓶中,加乙

腈 15 mL,超声使其溶解,加水稀释至刻度,摇匀;量取此溶液 10 mL 置洁净的玻璃小瓶中,将小瓶于 20 ℃置 15 000~25 000 lx·光照下照射 2 h,调节光照时间以获得等量的光降解产物 I 和 II。将光照后的溶液转移至 25 mL 量瓶中,加乙腈 5 mL 振摇,加水稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3.2 0.5%氧化降解产物的制备 取瑞舒伐他汀钙对照品 250 mg,置量瓶中,于 50 ℃加热 7 d,放冷,即得。

2.3.3 系统适用性试验溶液的制备 称取约含 0.5%氧化降解产物 25 mg、瑞舒伐他汀内酯和瑞舒伐他汀非对映异构体对照品各 10 mg,置同一 50 mL 量瓶中,加乙腈 15 mL,超声使其溶解,加光降解产物 I 和 II 的储备溶液 2 mL,用水稀释至刻度,摇匀,即得。

精密量取系统适用性试验溶液,注入液相色谱仪,记录色谱图,见图 2。理论板数按主成分峰计算为 20 577,主成分峰与最近杂质峰以及各杂质峰之间均能有效分离,分离度符合规定。



1-瑞舒伐他汀钙 2-非对映异构体 3-氧化产物 4-光降解产物 I
5-光降解产物 II 6-瑞舒伐他汀内酯
1-rosuvastatin calcium 2-non enantiomer 3-oxidation product
4-photodegradation product I 5-photodegradation product II
6-rosuvastatin lactone

图 2 系统适用性试验溶液的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC chromatograms of system suitability solution

2.4 系统精密度试验

制备 0.5 mg/mL 瑞舒伐他汀钙原料药(批号 090903)供试品溶液和 1%自身对照溶液,分别进样,重复测定 6 次,结果见表 1。

2.5 方法精密度试验

平行制备 6 份 0.5 mg/mL 瑞舒伐他汀钙原料药(批号 090903)供试品溶液和 1%自身对照溶液,分别进样,结果见表 2。表明 RSD 最大值为 14.1%,小于 20%,提示方法精密度良好。

表 1 系统精密度试验结果

Table 1 Results of system precision test

样 品	质量分数/%	RSD 值/%
氧化产物	—	—
内酯	0.032	12.90
光降解产物 I	0.030	0
光降解产物 II	0.030	0
非对映异构体	0.153	3.37
其他最大单杂质	0.038	10.60
总杂质	0.272	2.77

表 2 方法精密度试验结果

Table 2 Results of method precision test

样 品	质量分数/%	RSD 值/%
氧化产物	—	—
内酯	0.028	14.4
光降解产物 I	0.030	0
光降解产物 II	0.030	0
非对映异构体	0.155	3.53
其他最大单杂质	0.038	10.60
总杂质	0.270	2.34

2.6 线性关系考察

有关物质按照瑞舒伐他汀钙 1%自身对照法进行检测。因此,在 1%自身对照溶液浓度的 20%~200%进行线性考察。精密量取 0.5 mg/mL 瑞舒伐他汀钙对照品溶液 2 mL,置 100 mL 量瓶中,加乙腈-水(30:70)稀释至刻度,制成 1%自身对照溶液浓度的 200%溶液。精密移取上述溶液 8、5、2、1 mL,置 10 mL 量瓶中,加乙腈-水(30:70)稀

释至刻度,制成 1%自身对照溶液浓度的 160%、100%、40%、20%的溶液。将上述 5 个浓度溶液分别进样,记录色谱图。以峰面积为纵坐标,进样质量为横坐标,进行线性回归,得方程 $Y=938\ 127.5X-5\ 326.1$ ($r=0.999\ 8$)。表明瑞舒伐他汀钙在 0.020 1~0.201 3 μg 与峰面积有良好的线性关系。

2.7 稳定性试验

取 0.5 mg/mL 瑞舒伐他汀钙原料药(批号 090903)供试品溶液,放置 0、1、2、4、8、10 h 后分别进样,考察杂质氧化产物、内酯、光降解产物、非对映异构体、其他最大单杂和总杂的变化。结果表明,氧化产物、内酯、光降解产物、非对映异构体、其他最大单杂和总杂几乎无明显变化,表明本品溶液在 10 h 内稳定。

2.8 检测限测定

将 0.5 mg/mL 瑞舒伐他汀钙、氧化产物、内酯、光降解产物 I 和 II 和非对映异构体的对照品溶液分别逐步进行稀释,进样,记录色谱图,按信噪比 3:1 测得瑞舒伐他汀钙的检测限为 2.76 ng,氧化产物、内酯、光降解产物 I 和 II 和非对映异构体各杂质的检测限依次为 1.85、1.32、1.08、1.11、2.06 ng。

2.9 有关物质限度的确定

参考国家药品监督管理局药品标准 YBH04162008、YBH08932008 以及稳定性检测结果,拟定瑞舒伐他汀钙氧化产物、内酯、非对映异构体限度均不得超过 0.5%,光解产物 I、II 均不得超过 0.2%,其他最大单杂不得超过 0.5%,总杂不得超过 1.5%。

2.10 样品测定

取瑞舒伐他汀钙原料药 3 批样品,制备供试品溶液,按上述条件进行测定,结果见表 3。

表 3 瑞舒伐他汀钙样品有关物质测定结果

Table 3 Determination of related substances in rosuvastatin calcium samples

批号	氧化产物/%	内酯/%	光解产物 I /%	光解产物 II /%	非对映异构体/%	其他最大单杂/%	总杂质/%
090901	—	0.03	—	—	0.19	0.03	0.25
090902	—	0.04	—	—	0.15	0.04	0.23
090903	—	0.03	0.03	0.03	0.15	0.04	0.28

—未检出

—undetected

3 讨论

瑞舒伐他汀钙有关物质现有测定方法中,标准 YBH04162008 中控制已知杂质个数为 1;而

YBH08932008 没有控制已知杂质,且有关物质检测方法为梯度洗脱,在操作过程中容易引起基线噪声干扰;瑞舒伐他汀钙片进口注册标准 JX20030283

中有关物质测定方法为等度, 色谱系统易操作, 对 2 个已知杂质进行了控制。

为了更好地控制药品质量, 本实验以瑞舒伐他汀钙片进口注册标准 JX20030283 为参考, 依据《中国药典》2010 年版二部附录药品杂质分析指导原则, 对进口注册标准 JX20030283 中有关物质的个数和限度进行了修订, 严格控制了氧化产物、内酯、非对映异构体、光解产物 I 和 II 5 个杂质。光解产物 I 和 II 为样品处理过程中受光照射产生, 通过避光操作可以避免, 因此拟定限度均不得过 0.2%。为了有效防止光解产物 I 和 II 的产生, 本测定方法采取避光操作。

本法合理严谨, 方法精密度好, 检测灵敏度高, 因此可准确用于瑞舒伐他汀钙原料药中有关物质的检测。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 二部. 2010: 附录 204-206.
- [2] 谢沐风, 罗霞萍, 陈亚美. 如何建立 HPLC 法测定有关物质的方法 [J]. 中国药品标准, 2002, 3(6): 326-328.
- [3] 张玉琥, 仿制药有关物质研究的特点及研究思路 [J]. 中国执业药师, 2009, 6(8): 31-34.
- [4] 余振喜, 庾莉莉, 黄海伟, 等. 浅谈 HPLC 法测定有关物质时已知杂质的计算方法 [J]. 中国药品标准, 2010, 11(4): 278-282.
- [5] 国家食品药品监督管理局药品标准 YBH04162008 [S]. 2008.
- [6] 国家食品药品监督管理局药品标准 YBH08932008 [S]. 2008.
- [7] 国家食品药品监督管理局瑞舒伐他汀钙片进口注册标准 JX20030283 [S]. 2003.