

HPLC 法测定盐酸曲美他嗪缓释片中有关物质

刘晓岚¹, 王红梅¹, 张轶华^{2*}

1. 四川省交通运输厅公路局医院, 四川 成都 611731

2. 河北省药品检验研究院, 河北 石家庄 050011

摘要: **目的** 建立盐酸曲美他嗪缓释片中有关物质的高效液相色谱测定方法。**方法** 采用 Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.012 mmol/L 庚烷磺酸钠溶液 (pH 3.5) - 甲醇 - 乙腈 (55:36:9), 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温为 30 ℃, 检测波长为 210 nm, 进样量: 20 μL。**结果** 在所选定的液相色谱条件下, 有关物质与主药分离良好。盐酸曲美他嗪、杂质 A、杂质 B 和杂质 C 的检出限分别为 10.2、4.4、4.5、8.0 ng。**结论** 该方法操作简单, 重复性好, 专属性强, 可用于控制盐酸曲美他嗪缓释片中的有关物质。

关键词: 盐酸曲美他嗪缓释片; 盐酸曲美他嗪; 有关物质; 高效液相色谱

中图分类号: R927.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2014)11-1242-03

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2014.11.012

Determination of related substances in Trimetazidine Dihydrochloride Modified Release Tablets by RP-HPLC

LIU Xiao-lan¹, WANG Hong-mei¹, ZHANG Yi-hua²

1. Sichuan Province Transportation Department Highway Bureau Hospital, Chengdu 611731, China

2. Hebei Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China

Abstract: Objective To establish an RP-HPLC method for the determination of related substances in Trimetazidine Dihydrochloride Modified Release Tablets. **Methods** The separation was performed on a Diamonsil C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with the mobile phase of 0.012 mmol/L heptane sulfonic acid sodium solution (pH 3.5) - methanol - acetonitrile (55:36:9). The flow rate was 1.0 mL/min with injection volume of 20 μL, the temperature of column was set 30 ℃, and the detection wavelength was set at 210 nm. **Results** Trimetazidine dihydrochloride and its related substances could be completely separated under the conditions. The detection limits of trimetazidine dihydrochloride, impurities A, B, and C were 10.2, 4.4, 4.5, and 8 ng. **Conclusion** The method is simple, quick, accurate, and reliable, which can control the related substances in Trimetazidine Dihydrochloride Modified Release Tablets.

Key word: Trimetazidine Dihydrochloride Modified Release Tablets; trimetazidine dihydrochloride; related substance; HPLC

盐酸曲美他嗪是一种抗心肌缺血的代谢性药物, 化学名为 1-[(2,3,4-三甲基苯基)甲基]-哌嗪二盐酸盐, 相对分子质量为 339.3。2001 年法国施维雅公司生产的片剂在我国上市, 至今该药品在众多省市进入了基本医疗保险药品目录, 表明其良好的治疗效果已被相关的管理机关及专家接受, 具有良好的市场前景。目前, 已广泛采用高效液相色谱法测定盐酸曲美他嗪制剂中有关物质, 并且采用自身对照法计算杂质^[1-4]。本实验采用高效液相色谱法测定

盐酸曲美他嗪缓释片中有关物质, 使用从英国 LGC 公司购得杂质 A、B、C 对照品, 采用外标法计算杂质, 测定结果更加真实地反映药品的质量, 并对杂质产生的原因进行推断。本方法专属性强, 准确, 灵敏, 可更好地控制盐酸曲美他嗪缓释片的质量。

1 仪器与试药

高效液相色谱仪 (美国戴安公司)。盐酸曲美他嗪对照品 (批号 100889-200901, 质量分数为 99.8%) 由中国食品药品检定研究院提供; 2,3,4-三甲氧基苯

收稿日期: 2014-06-24

作者简介: 刘晓岚 (1971—), 女, 主管药师, 学士, 从事临床药物分析。Tel: 15931692892 E-mail: 49567976@qq.com

*通信作者 张轶华, 女, 硕士, 主要从事药物分析工作。Tel: (0311) 85212004-8038 E-mail: zhangyihua0915@163.com

甲醇(杂质 A, 批号 9188, 质量分数 100%)、4-(2,3,4-三甲氧苄基)-1-哌嗪醛盐酸盐(杂质 B, 批号 8572, 质量分数 100%)、2,3,4-三甲氧基苯甲醛(杂质 C, 批号 539.04.09.02, 质量分数 100%)对照品均购自英国 LGC 公司; 盐酸曲美他嗪缓释片, 规格 35 mg/片, 自制。乙腈、甲醇均为色谱纯(Fisher Chemical); 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.012 mmol/L 庚烷磺酸钠溶液(pH 3.5) - 甲醇 - 乙腈(55:36:9), 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温为 30 °C, 检测波长为 210 nm, 进样量: 20 μL。理论板数按曲美他嗪峰计算应不低于 3 000, 杂质 A 峰与杂质 B 峰的分离度应大于 1.5。

2.2 专属性试验

分别精密称取杂质 A、B、C 对照品各 10 mg 和盐酸曲美他嗪对照品 20 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相溶解, 并稀释至刻度, 作为贮备液。再精密量取 1 mL 置 200 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 作为系统适用性试验溶液。取系统适用性试验溶液, 进样 20 μL, 记录色谱图。杂质 A 峰与杂质 B 峰的分离度为 2.2。在上述色谱条件下, 曲美他嗪与相邻杂质、各杂质之间均有良好的分离, 见图 1。

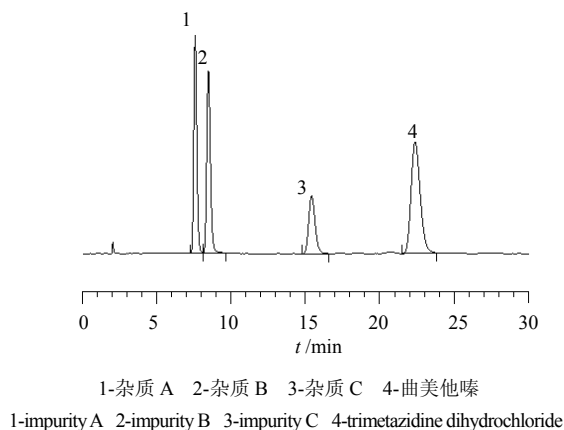


图 1 系统适用性试验色谱图

Fig. 1 Chromatogram of system suitability test

2.3 检出限和定量限

取贮备液适量, 用流动相逐步稀释成不同质量浓度, 在上述色谱条件下, 分别进样 20 μL。按信噪比 S/N=3 测定其检出限, 按信噪比 S/N=10 测定其定量限。曲美他嗪、杂质 A、杂质 B 和杂质 C 的检出限分别为 10.2、4.4、4.5、8.0 ng, 定量限分别

为 30.0、13.8、13.1、24.0 ng。

2.4 线性关系考察

取贮备液, 用流动相逐级稀释, 配制 0.002、0.005、0.010、0.020、0.050 mg/mL 对照品溶液(以盐酸曲美他嗪质量浓度计)。分别取上述溶液 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标进行线性回归, 得回归方程。盐酸曲美他嗪: $A=5\,839.1\,C-0.451\,3$, $r=1.000\,0$; 杂质 A: $A=56.755\,C-0.931\,2$, $r=0.999\,8$; 杂质 B: $A=59.941\,C-1.8247$, $r=0.999\,5$; 杂质 C: $A=33.652\,C+2.677$, $r=0.999\,1$ 。结果显示盐酸曲美他嗪以及杂质 A、B、C 在 0.002~0.05 mg/mL 与峰面积均呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取 2.2 项下 0.01 mg/mL 系统适用性试验溶液, 连续进样 6 次, 记录色谱图。结果曲美他嗪、杂质 A、杂质 B、杂质 C 峰面积 RSD 值分别为 0.1%、0.1%、0.2%、0.2%。

2.6 稳定性试验

称取批号 131101 样品适量, 约含盐酸曲美他嗪 10 mg, 置 100 mL 量瓶中, 分别加入杂质 A、B、C 各 10 mg, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀。分别于 0、2、4、8、12 h, 取 20 μL 进样, 记录色谱图。结果曲美他嗪、杂质 A、B、C 峰面积 RSD 值分别为 0.3%、0.7%、0.5%、0.4%。表明样品溶液在 12 h 内稳定。

2.7 重现性试验

称取批号 131101 样品适量, 约含盐酸曲美他嗪 10 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 平行操作 6 份, 分别计算盐酸曲美他嗪质量分数, 结果盐酸曲美他嗪的平均质量分数为 99.39%, RSD 值为 0.9%。

2.8 回收率试验

称取批号 131101 样品适量, 约含盐酸曲美他嗪 25 mg, 置 50 mL 量瓶中, 平行操作 9 份, 分别加入盐酸曲美他嗪对照品 20、25、30 mg, 加流动相溶解并稀释至刻度, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算得平均回收率为 100.08%, RSD 值为 0.2%。

2.9 样品测定

取本品 20 片, 精密称定, 研细, 精密称取适量, 加流动相溶解并稀释制成含盐酸曲美他嗪约 1.0 mg/mL 的溶液, 5 000 r/min 离心 15 min, 取上清液滤过, 取续滤液作为供试品溶液。分别精密称定杂

质 A、B、C 各 10 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为杂质对照品贮备液。分别精密量取杂质对照品贮备液和供试品溶液各 1 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为杂质对照品溶液。取对照品溶液 20 μ 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 20%; 再精密量取供试品溶

液和对照品溶液各 20 μ 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。已知杂质按外标法以峰面积计算质量分数, 未知杂质按自身对照法计算质量分数。测定结果见表 1, 色谱见图 2。

样品分别生产于 2013、2012、2010 年, 在同样条件下储藏, 对样品的杂质的量进行比较, 发现在放置过程中杂质 A、C 的量逐渐增大, 结果见表 1。

表 1 盐酸曲美他嗪缓释片中有关物质的测定

Table 1 Determination of related substance in Trimetazidine Dihydrochloride Modified Release Tablets

生产年份	批号	杂质 A/%	杂质 B/%	杂质 C/%	其他单个杂质/%	杂质总和/%
2013	131101	0.12	0.23	0.11	未检出	0.46
	131102	0.10	0.34	0.10	未检出	0.44
	131101	0.10	0.30	0.12	未检出	0.52
2012	120901	0.13	0.20	0.26	未检出	0.59
	120902	0.15	0.26	0.28	未检出	0.69
	120903	0.12	0.27	0.24	未检出	0.63
2010	100611	0.38	0.31	0.49	未检出	1.18
	100612	0.41	0.29	0.40	未检出	1.10
	100613	0.43	0.35	0.44	未检出	1.22

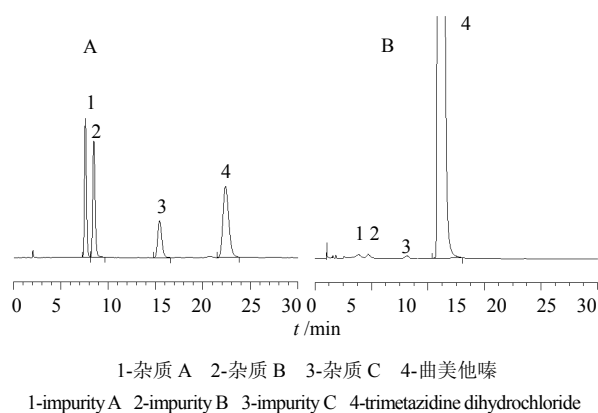


图 2 对照品 (A) 和盐酸曲美他嗪缓释片 (B) 的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC chromatograms of reference substances (A) and Trimetazidine Dihydrochloride Modified Release Tablets (B)

3 讨论

3.1 流动相的选择

文献报道^[2]采用甲醇-0.03 mol/L 磷酸二氢钾溶液为流动相测定盐酸曲美他嗪中有关物质, 但实验中发现该条件下很难将杂质 A 和杂质 B 完全分离。以 1 000 mL 水中加 50 mL 庚烷磺酸钠溶液 (取

无水庚烷磺酸钠 5.05 g, 加磷酸 3 mL, 加水稀释至 100 mL) - 甲醇 - 乙腈为流动相时, 增大乙腈比例, 出峰时间明显缩短, 但杂质 A 和杂质 B 的分离效果越来越差, 因此最终选定 0.012 mmol/L 庚烷磺酸钠溶液 (pH 3.5) - 甲醇 - 乙腈 (55:36:9)。

3.2 检测波长的确定

取盐酸曲美他嗪对照品及杂质 A、B、C 对照品适量, 用流动相为溶剂分别配制成一定的对照品溶液, 在 200~400 nm 波长进行紫外光谱扫描, 结果 4 种物质均在 210 nm 附近有较大吸收, 故选择检测波长为 210 nm。

参考文献

- [1] 周健鹏, 田 勇. RP-HPLC 法测定盐酸曲美他嗪的含量和有关物质 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(3): 464-466.
- [2] 王知斌, 孙 进, 孙英华, 等. RP-HPLC 法测定盐酸曲美他嗪片的含量和有关物质 [J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(8): 514-517.
- [3] 华 莲, 唐素芳. HPLC 法测定不同厂家盐酸曲美他嗪原料药及其制剂中的有关物质含量 [J]. 中国药房, 2013, 24(37): 3516-3518.
- [4] 王金虎, 鲜 婧, 石海英, 等. HPLC 法测定盐酸曲美他嗪含量及有关物质 [J]. 齐鲁药事, 2010, 29(3): 148-150.