

HPLC 测定盐酸法舒地尔的有关物质

葛 欣 孟祥军^① 李娜然

(沈阳医学院化学教研室 沈阳市皇姑区黄河北大街 146 号 110034)

摘 要 建立 HPLC 测定盐酸法舒地尔的有关物质。采用 C₁₈ 色谱柱, 以甲醇-磷酸二氢铵溶液 (30:70, 用磷酸调 pH 值至 3.5±0.05) 为流动相; 检测波长为 275nm。盐酸法舒地尔检测限为 0.3mg/mL, 主成分峰与其有关物质能完全分离。本方法简便、准确、专属性好, 可用于盐酸法舒地尔有关物质的测定。

关键词 盐酸法舒地尔; 有关物质; 高效液相色谱法

中图分类号: O657.7⁺2

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2011)04-1908-03

1 引言

盐酸法舒地尔(Fasudil hydrochloride)是一种具有广泛药理作用的新型药物, 它的分子结构为 5-异喹啉磺酰胺衍生物, 为 RHO 激酶抑制物。临床上主要应用于多种原因引起的缺血性脑血管疾病^[1]。盐酸法舒地尔原料在合成过程中存在有关杂质, 为此, 本研究参考新药转正标准 WS₁-(X-111)-2006Z 盐酸法舒地尔及相关文献^[2-4], 通过方法学验证, 建立了盐酸法舒地尔中对有关物质的 HPLC, 以对盐酸法舒地尔进行更有效的内在质量控制。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

LC-10Atvp 高效液相色谱仪(日本岛津公司); N2000 色谱工作站(杭州赛尔泰科技有限公司)。

盐酸法舒地尔对照品(批号 100614-200401, 含量 99.5%, 中国药品生物制品检定所); 盐酸法舒地尔(原料药, 湖北黄石世星制药有限公司, 批号 20080601, 20080602, 20080603); 甲醇(色谱纯); 磷酸二氢铵(分析纯); 其他试剂均为分析纯。

2.2 实验方法

2.2.1 色谱条件

Hypersil ODS2 色谱柱 C₁₈柱(4.6mm×250mm, 5μm, 大连依利特科学仪器有限公司); 流动相为甲醇-磷酸二氢铵溶液(用磷酸调 pH 值至 3.5±0.05, 30:70); 流速为 1.0mL/min; 检测波长为 275nm; 柱温为室温; 进样量 20μL。

2.2.2 溶液的配制

供试品溶液: 准确称取盐酸法舒地尔原料 30mg, 加流动相溶解并制成 0.3mg/mL 的溶液。

① 联系人, 电话: (024) 62215710; E-mail: mengxiangjun6@163.com

作者简介: 葛欣(1964—), 女, 沈阳市人, 副教授, 主要从事药品质量研究工作。

收稿日期: 2010-09-20; 接受日期: 2010-10-29

对照溶液: 准确量取供试品溶液 1 mL, 置于 100 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为对照溶液。

2.2.3 检测波长的选择

取盐酸法舒地尔适量, 用流动相制成每 1 mL 中含 30 μ g 的溶液, 在 200—400 nm 波长范围内进行紫外扫描。结果显示, 盐酸法舒地尔在 275、312、324 nm 波长处有最大吸收, 在 250、297 nm 波长处有最小吸收。且原标准中选择是检测波长为 275 nm^[2], 综合考虑, 选定波长 275 nm 作为有关物质的检测波长。

2.2.4 系统适用性试验

准确称取盐酸法舒地尔原料 30 mg, 用流动相配制成每 1 mL 中含盐酸法舒地尔 0.3 mg 的溶液, 取 20 μ L 注入液相色谱仪测定。结果盐酸法舒地尔和有关物质较好分离, 理论板数大于 5800, 分离度为 5.474。

2.2.5 稳定性试验

取供试品溶液分别于室温放置 0、1、2、3、4 h 后进样, 考察有关物质的变化。结果显示, 单个杂质的峰面积不大于对照溶液主峰面积的 3/10, 各杂质峰面积的和也不超过对照溶液的主峰面积。可见, 盐酸法舒地尔在有关物质测定时, 4 h 内是稳定的。

2.2.6 专属性试验和检出限

称取盐酸法舒地尔原料 30 mg, 加流动相溶解并稀释成每 1 mL 中含盐酸法舒地尔 0.3 mg 的溶液, 摇匀。分别进行高温 100℃、强酸(用盐酸调节 pH 值为 3.0)、强碱(用 1 mol/L 氢氧化钠调节 pH 值为 11.0)和氧化(加 0.056 g 高锰酸钾)破坏试验, 记录色谱图(如图 1)。结果经各种破坏的样品都有分解产物产生, 主成分峰与各破坏产物能够有效分离, 可见本方法可以用于检查本品有关物质。S/N = 3 时, 得检出限为 0.3 mg/mL。

2.2.7 样品测定

取对照溶液 20 μ L 注入液相色谱仪, 调节检测灵敏度, 使主要成分峰的峰高约为满量程的 10%—20%; 再准确量取供试品溶液和对照溶液各 20 μ L, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图至主峰保留时间的 3 倍。结果所测的 3 批样品中有关物质合格。

3 结果与讨论

本文首先参照新药转正标准 WS₁-(X-111)-2006Z^[2]中的高效液相色谱方法测定盐酸法舒地尔的有关物质, 其色谱条件为: 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 以 1.0% 三乙胺水溶液(用磷酸调 pH 值至 7.0)-甲醇(15:15)为流动相; 检测波长为 275 nm。用此色谱条件测定, 其方法学研究表明, 盐酸法舒地尔中的有关物质分离度不能满足标准要求。考虑到盐酸法舒地尔[六氢-1-(5-磺酰基异喹啉)-1(H)-1,4-二氮杂卓盐酸盐]化学结构与格列苯脲相似, 均有磺酰基特征结构, 因此按照中国药典 2005 年版二部格列苯脲标准^[4], 以甲醇-磷酸二氢铵溶液(5:3)为流动相。检测结果理论板数有很大的提高, 但由于流动相极性小, 无法保证主峰与杂质峰能够有效分离。为此, 调整流动相比例为甲醇-磷酸二氢铵溶液(pH 3.5 $\pm$ 0.05, 30:70)。检测结果理论板数(N)不仅满足要求, 且主峰与杂质峰能够有效分离, 准确的检测出相关物质。

本方法经试验, 表明灵敏度高, 准确度好, 专属性强, 可作为盐酸法舒地尔的质量控制。

4 结论

本研究建立的高效液相色谱能够准确检测盐酸法舒地尔制剂的相关杂质, 可以有效的控制产品的质量。

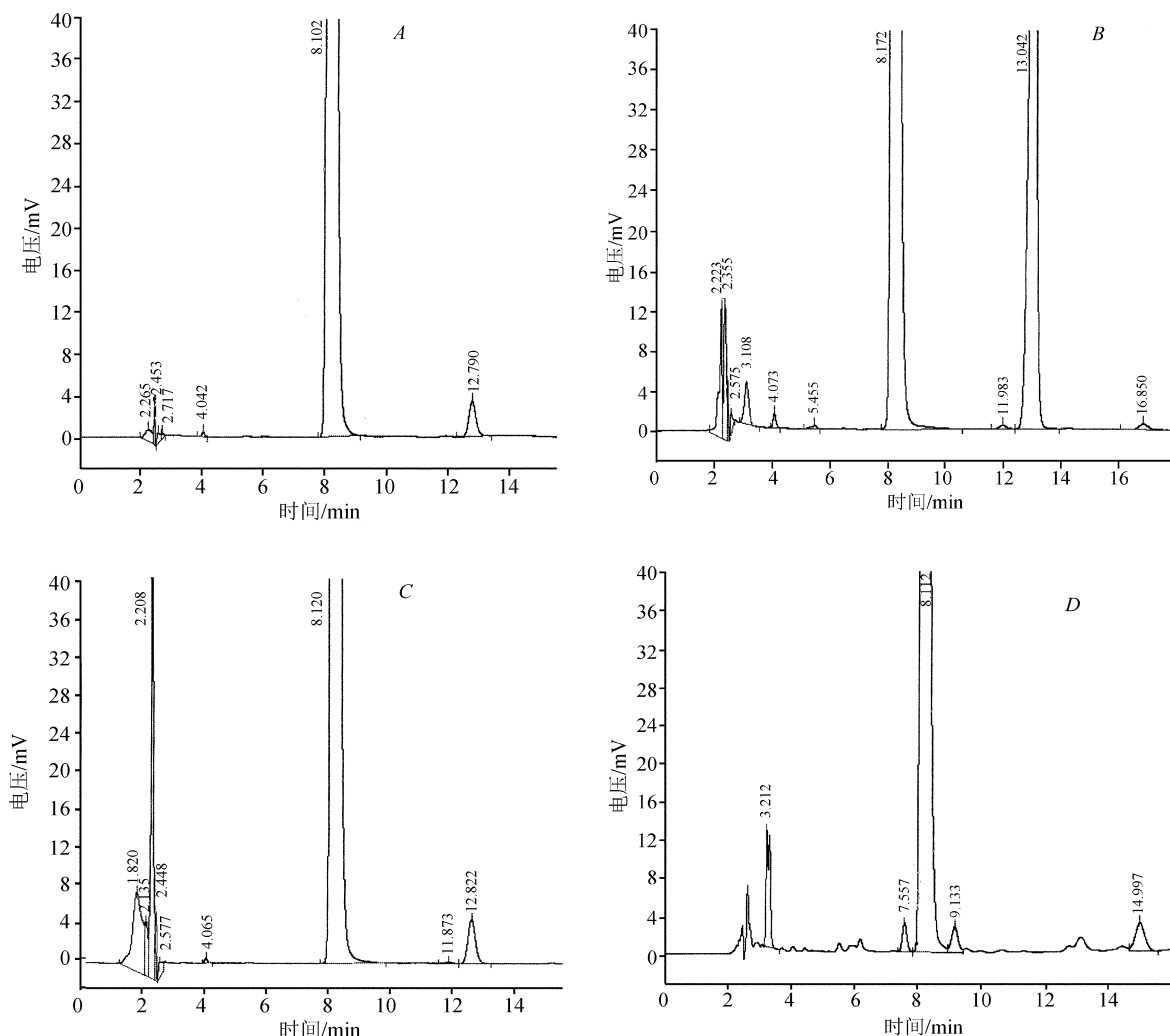


图 1 盐酸法舒地尔的高温(A)、酸(B)、碱(C)和氧化(D)破坏色谱图

参考文献

- [1] 张明. 舒地尔的药理作用及其临床应用的研究进展[J]. 山西医科大学学报, 2007, **38**(4): 369—373.
- [2] 国家药典委员会. 盐酸法舒地尔[S]. WS₁-(X-111)-2006Z. 北京: 中国药典委员会出版, 2006.
- [3] 刘宇, 刘东. HPLC 法测定血浆中法舒地尔的浓度[J]. 中国药师, 2006, **9**(4): 316—317.
- [4] 国家药典委员会. 中国药典(二部) 格列苯脲[M]. 北京: 中国药典委员会出版, 2005. 594—595.

Determination of Related Substances in Fasudil Hydrochloride by HPLC

GE Xin MENG Xiang-Jun LI Na-Ran

(The Chemistry Department of Shenyang Medical College, Shenyang 110034, P. R. China)

Abstract The determination of related substances in fasudil hydrochloride was investigated by HPLC on C₁₈ column, with methanol-ammonium dihydrogen phosphate (30 : 70, adjusting pH to 3.5±0.05 with phosphoric acid) as mobile phase at the detection wavelength of 275nm. The detection limit was 0.3mg/mL for fasudil hydrochloride, and the main compound peak could entirely separate from related substances. The method is simple, accurate and sensitive, that can be applied for determination of related substances in fasudil hydrochloride.

Key words Fasudil Hydrochloride; Related Substances; HPLC