盐酸赛洛唑啉中杂质 A及其他有关物质测定方法的建立*

陈英, 余国中

(广东省药品检验所, 广州 510180)

摘要　目的: 建立盐酸赛洛唑啉原料中杂质 A和其他有关物质的测定方法。方法: 采用 HPLC法, 色谱柱为 C_{18}柱, 流动相为乙腈 - 0.1% 三乙胺 (用冰醋酸调节 pH为 5.0) (55∶45), 流速 1.0 mL·min^{-1}, 检测波长 220 nm。测定了杂质 A的校正因子, 用加校正因子的主成分自身对照法测定杂质 A的限量, 不加校正因子的主成分自身对照法测定其他有关物质。结果: 用氢氧化钠溶液使盐酸赛洛唑啉破坏产生杂质 A, 进行杂质 A的定位; 杂质 A的校正因子为 1.55; 检测限: 杂质 A为 1 ng(S/N = 3.2), 盐酸赛洛唑啉为 0.5 ng(S/N = 4.2); 定量限: 杂质 A为 10 ng(S/N = 11.2), 盐酸赛洛唑啉为 5 ng(S/N = 12.8)。结论: 建立的方法用加校正因子的主成分自身对照法测定杂质 A, 简便准确, 可以避免使用杂质对照品, 方法可行。

关键词: 盐酸赛洛唑啉; 杂质 A; 校正因子

中图分类号: R917　　文献标识码: A　　文章编号: 0254-1793(2010)01-0142-03

Determination of impurity A and other related substances in xylometazoline hydrochloride*

CHEN Ying, YU Guo-zhong

(Guangdong Provincial Institute for Drug Control, Guangzhou 510180, China)

Abstract　**Objective**: To establish a method for determination of impurity A and other related substances in xylometazoline hydrochloride. **Methods**: An HPLC method was established. The chromatographic column was C_{18}, the mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% triethylamine (adjusted to pH 5.0 with glacial acetic acid) (55∶45) at the flow rate of 1.0 mL·min^{-1}, and the detection wavelength was 220 nm. **Results**: Impurity A made by destroying xylometazoline hydrochloride with NaOH solution, was used for ensuring its retention time in the chromatogram. The correction factor was 1.55. The LOD was 1 ng for impurity A (S/N = 3.2) and 0.5 ng for xylometazoline hydrochloride (S/N = 4.2); The LOQ was 10 ng for impurity A (S/N = 11.2) and 5 ng for xylometazoline hydrochloride (S/N = 12.8). **Conclusion**: Reference substance is avoided by the method using correction factor to determine impurity A. The method is accurate and available.

Key words: xylometazoline hydrochloride; impurity A; correction factor

盐酸赛洛唑啉为咪唑啉类衍生物, 具有直接激动血管 α_1受体而引起血管收缩的作用, 从而减轻炎症所致的充血和水肿。临床上用于减轻急、慢性鼻炎、鼻窦炎等疾病引起的鼻塞症状。我国新药转正标准[1]和美国药典 31版[2]均采用 TLC自身对照法测定有关物质, 经试验, 灵敏度和专属性较差, 英国药典 2007版[3]采用含盐流动相系统, 用杂质对照品法控制杂质 A的含量, 该法的流动相不利于色谱柱和仪器的保养, 且杂质对照品在日常检验中的使用难以普及。本研究首次采用欧洲药典的杂质 A对照品测定了杂质 A的校正因子, 用加校正因子的主成分自身对照法用于盐酸赛洛唑啉的杂质测定, 避免杂质对照品的使用; 并在一定的条件下将盐酸赛洛唑啉用碱液破坏使产生部分的杂质 A, 用于系统适用性试验中杂质 A的定位及与盐酸赛洛唑啉的分离度测试, 保证色谱系统的分离效果。经方法学验证, 确定的方法准确可行。

1　仪器与试药

Agilent 1100液相色谱仪系统 (美国安捷伦公司)。盐酸赛洛唑啉对照品 (中国药品生物制品检定所提供; 批号: 100744-200401); 盐酸赛洛唑啉原料 (某企业提供; 批号: C13-070902, C13-070904,

*　广东省科技计划项目 (编号: 2009B030801272)

第一作者　Tel: (020) 81886382, E-mail: chenyinggdgz@163.com

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

C13-070906); 杂质 A 对照品 (欧洲药典对照品; 来源: European Pharmacopoeia Reference Standard, 批号: 1.5); 乙腈为色谱纯, 三乙胺为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 系统适用性试验溶液 取盐酸塞洛唑啉约 12.5 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加 1 mol·L^{-1}氢氧化钠溶液 10 mL, 摇匀, 水浴加热约 5 min, 使产生杂质 A, 取出放冷, 加 1 mol·L^{-1}盐酸溶液 10 mL 中和后, 用水稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.1.2 供试品溶液 取盐酸赛洛唑啉 50 mg 置 100 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.1.3 盐酸赛洛唑啉对照品溶液 取盐酸赛洛唑啉对照品适量, 加流动相溶解并定量稀释制成每 1 mL 中含 1, 2, 5, 10, 15, 20 μg 的盐酸赛洛唑啉对照品溶液 (1)、(2)、(3)、(4)、(5)和 (6)。

2.1.4 杂质 A 对照品溶液 取杂质 A 对照品适量, 加流动相溶解并定量稀释制成每 1 mL 中含 1, 2, 5, 10, 15, 20 μg 的杂质 A 对照品溶液 (1)、(2)、(3)、(4)、(5)和 (6)。

2.2 色谱条件 色谱柱: (1) 依利特 C_{18} (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), (2) Thermo C_{18} (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 三乙胺 (用冰醋酸调节 pH 为 5.0) (55∶45), 流速 1.0 mL·min^{-1}; 检测波长: 220 nm; 进样量: 10 μL。在不同品牌的色谱柱上, 取系统适用性试验溶液进样分析, 杂质 A 相对盐酸赛洛唑啉的保留时间在 0.76~0.83 之间, 约为 0.8。杂质 A 与盐酸赛洛唑啉的分离度大于 3.5。本文主要采用依利特 C_{18} (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱进行方法研究。

2.3 方法的专属性考察

2.3.1 热破坏试验 取本品约 50 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 置 100 ℃水浴中加热 3 h, 进样测试, 未产生新的杂质, 表明本品的热稳定性良好。

2.3.2 光照试验 取本品约 50 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 4000 lx 照射 3 d, 进样测试, 未产生新的杂质, 表明本品的光稳定性良好。

2.3.3 氧化破坏试验 取本品约 50 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加 3% 过氧化氢溶液 10 mL, 放置 24 h, 进样测试, 产生的杂质在主成分峰之前, 与主成分峰分离良好。色谱图见图 1-A。

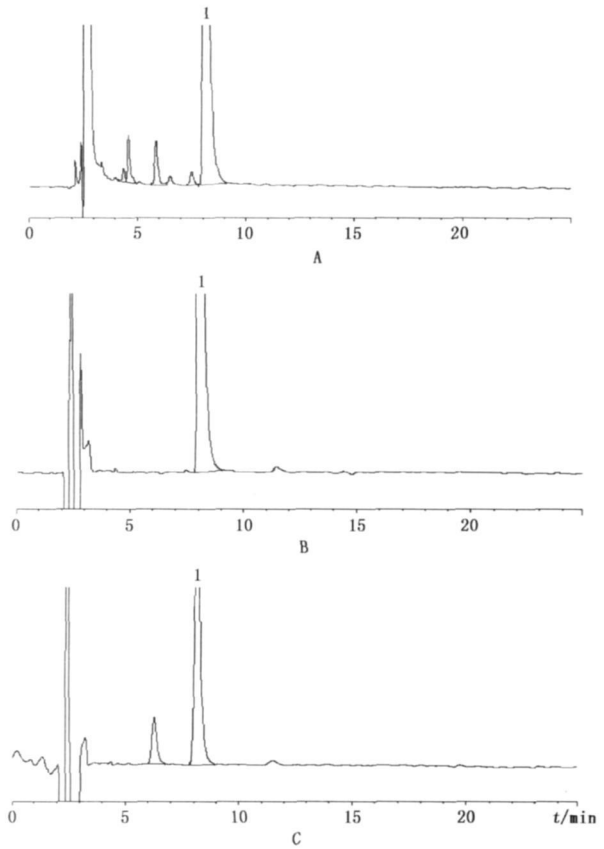


图 1 氧化破坏 (A)、酸破坏 (B)、碱破坏 (C) 图谱

Fig 1 Chromatograms of sample destroyed by H_2O_2 (A), sample destroyed by HCl (B) and sample destroyed by NaOH (C)

1. 赛洛唑啉 (xylometazoline)

2.3.4 酸破坏试验 取本品约 50 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加 1 mol·L^{-1}盐酸溶液 10 mL, 室温放置 24 h, 再水浴加热 1 h, 取出放冷, 加 1 mol·L^{-1}氢氧化钠溶液 10 mL 中和后, 加流动相稀释至刻度, 进样测试, 供试品产生的少量杂质在主成分峰之后, 与主成分峰分离良好。色谱图见图 1-B。

2.3.5 碱破坏试验 取本品约 50 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加 1 mol·L^{-1}氢氧化钠溶液 10 mL, 水浴加热 5 min, 取出放冷, 加 1 mol·L^{-1}盐酸溶液 10 mL 中和后, 加流动相稀释至刻度, 进样测试, 在相对主成分峰保留时间约 0.8 处产生 1 个与杂质 A 保留时间一致的杂质, 经 DAD 检测进一步验证, 该杂质色谱峰的光谱行为与杂质 A 一致。该杂质随着碱破坏时间延长而增加。色谱图见图 1-C。

2.4 检测限和定量限的测定 将杂质 A 对照品溶液和盐酸赛洛唑啉对照品溶液用流动相逐级稀释, 进样 10 μL, 测得杂质 A 的检测限为 1 ng (S/N = 3.2), 定量限为 10 ng (S/N = 11.2); 盐酸赛洛唑啉的检测限为 0.5 ng (S/N = 4.2), 定量限为 5 ng (S/N

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

= 12.8)。

2.5 杂质 A 校正因子的测定　分别精密量取“2.1.3”项和“2.1.4”项的盐酸赛洛唑啉对照品溶液和杂质 A 对照品溶液各 10 μL, 进样, 测定峰面积, 计算杂质 A 的校正因子。在 2 个不同牌号色谱柱上的测定结果的校正因子平均值为 1.55, 相对平均偏差为 0.2%。

2.6 稳定性试验　取同一份供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10, 16 h 内测定其有关物质, 杂质 A 峰面积变化的 RSD 为 2.1%, 盐酸赛洛唑啉峰面积变化的 RSD 为 0.2%, 总杂质峰面积变化的 RSD 为 1.2%。表明供试品溶液至少在 16 h 内稳定性良好。

2.7 样品有关物质的测定　分别按加校正因子的主成分自身对照法和杂质对照品法测定样品中的杂质 A, 并用自身对照法测定其他杂质, 结果见表 1。结果表明, 加校正因子的自身对照法测得样品中的杂质 A 含量与杂质对照品法测定的结果一致。

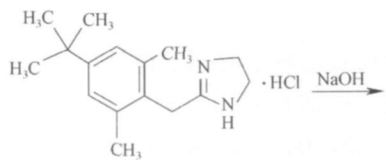
表 1　杂质 A 及其他有关物质测定结果 (%)

Tab 1　Results of impurity A and other related substances

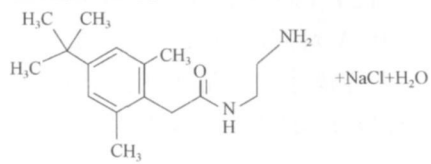
批号 (Lot No.)	杂质 A (impurity A)		其他单个最大杂质 (any other impurity)	其他总杂质 (total impurities other than impurity A)
	杂质对照品法 (calculated using impurity reference standard)	加校正因子的自身对照法 (以 f = 1.55 计) (calculated using the response factor as 1.55)		
C13-070902	0.11	0.10	0.26	0.47
C13-070904	0.29	0.26	0.16	0.47
C13-070906	0.30	0.28	0.31	0.57

3　讨论

3.1 杂质 A 为盐酸赛洛唑啉的主要降解产物, 英国药典 2007 和欧洲药典 5.0 (两者的控制标准一致) 采用 HPLC 外标法, 使用杂质对照品进行控制。然而, 目前杂质对照品在我国的日常检验工作中常常难以获得。自中国药典 2000 年版二部附录中首次收载加校正因子的自身对照法用于有关物质测定以来, 国内尚一直鲜为人用。该方法的优点是在日常工作中省去了杂质对照品, 又考虑到了杂质与主成分的相应因子可能不同所引起的测定误差, 测定的准确度较好; 缺点是在日常检验工作中由于没有杂质对照品, 杂质的定位要采用相对保留时间, 但相对保留时间在不同的实验室间可能有所波动[4]。本文测定了杂质 A 相对于主成分盐酸赛洛唑啉的校正因子, 采用加校正因子的自身对照法测定杂质 A 的限量, 测定结果与使用杂质对照品的结果一致, 避免了杂质对照品的使用。同时又根据主成分盐酸赛洛唑啉在碱性条件下, 能定向反应生成杂质 A, 使用盐酸赛洛唑啉的碱性破坏溶液 (含有杂质 A 和主成分的混合溶液) 作为系统适用性溶液, 用于杂质 A 的定位和分离试验的测定, 保证了在不同实验室间杂质定位的准确性和系统分离的有效性。在碱性条件下盐酸赛洛唑啉结构中的咪唑环开环, 生成杂质 A, 其反应式如下:



盐酸赛洛唑啉 (xylometazoline hydrochloride)



杂质 A (impurity A)

对于其他杂质, 则采用不加校正因子的自身对照法测定。

3.2 实验中, 我们采用新药转正标准和美国药典的 TLC 方法测定本品的有关物质, 结果发现, 供试品溶液浓度过大 (20 mg·mL^{-1}), 导致斑点向前扩展严重, 虽不影响杂质 A 的观察, 但可影响其他杂质斑点的观察, 对其他杂质的分离专属性不强, 不能有效控制其他杂质。

致谢: 本文承药典委员罗卓雅主任药师审阅并提出宝贵意见, 特此致谢。

参考文献

1　New Drug Official Standard in Drug Standard of China(新药转正标准). 2004. Vol 55(第 55 册): 45

2　USP. 31. 3533

3　BP. 2007. 2187

4　LIN Da-kui(凌大奎). Related substances and its determination methods by HPLC (有关物质及其高效液相色谱法测定). *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2000, 35(8): 567

(本文于 2009 年 1 月 12 日收到)

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net