盐酸巴尼地平的含量测定及其相关物质的检查

杨光[1], 李立威[2], 项光亚[1*]

(1. 华中科技大学同济医学院药学院, 武汉 430030; 2. 武汉百科药物开发有限公司, 武汉 430056)

摘要　目的: 建立高效液相色谱法测定盐酸巴尼地平的含量及其相关物质。方法: 采用 Phenomenex-Gemini C_{18} (5 μm, 4.6 mm × 250 mm)色谱柱, 以甲醇-0.005 mol·L^{-1} KH_2PO_4 (50∶50, pH 3.0)为流动相, 检测波长为 236 nm, 流速为 1.0 mL·min^{-1}, 柱温为室温。结果: 盐酸巴尼地平主要成分与其相关物质峰完全分离, 在 6~14 μg·mL^{-1}浓度范围内呈良好线性关系, 平均回收率 99.6%, RSD = 0.5% (n = 5)。结论: 该方法专属性好, 精密度、准确度符合要求, 方法可靠, 可用于盐酸巴尼地平的含量及其相关物质的测定。

关键词: 反相高效液相色谱; 盐酸巴尼地平; 非对映异构体

中图分类号: R917　　文献标识码: A　　文章编号: 0254-1793(2009)02-0320-03

HPLC determination of barnidipine hydrochloride and its related substances

YANG Guang[1], LI Li-wei[2], XIANG Guang-ya[1*]

(1. Pharmacy School of Tongji Medical College, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan 430030, China;
2. Wuhan Biocause Pharmaceutical Development Co. Ltd., Wuhan 430056, China)

Abstract　**Objective**: To develop an HPLC method for the determination of barnidipine hydrochloride and its related substances. **Methods**: The determination was performed on an Phenomenex-Gemini C_{18} (5 μm, 4.6 mm × 250 mm) column with methanol-0.005 mol·L^{-1} KH_2PO_4 (50∶50, pH 3.0) as the mobile phase. The flow rate was 1.0 mL·min^{-1}, the detection was set at 236 nm and the column temperature was maintained at room temperature. **Results**: Barnidipine and its related substance were completely separated. The calibration curve was linear in the range of 6-14 g·mL^{-1}, the average recovery was 99.6%, RSD = 0.5% (n = 5). **Conclusion**: The method is proved to be specific, accurate and reproducible. The proposed HPLC method can be used for the determination of barnidipine hydrochloride and its related substances.

Key words: RP-HPLC; barnidipine hydrochloride; diastereomer

巴尼地平 (barnidipine, I)是由日本山之内公司研究开发的选择性二氢吡啶类钙拮抗剂[1], 是该类药物中的第一个单一光学异构体, 于 1992年在日本上市。由于它的分子结构中有 2个手性中心, 共有 4个光学异构体 (4S-3S型、4R-3S型、4S-3R型、4R-3R型), 其中以 (4S-3S)型即 I的活性最高[2]。经研究发现[3], I不仅具有血管选择性高、降压作用强而持久的特点, 而且它对心、肾还有保护作用、不产生反射性心过速, 且耐受性更好, 不良反应发生率比尼群地平、氨氯地平更低, 因而常用于对老年人高血压患者的治疗, 是临床上治疗轻中度高血压的一线药物。

目前, 未见国内外有盐酸巴尼地平含量分析的相关文献报道。本文采用高效液相色谱法, 在 236 nm检测波长下, 测定了盐酸巴尼地平的含量及其相关物质。该法能够在适宜时间内完成分离测定, 重现性、精密度及可靠性良好, 可用于盐酸巴尼地平原料药的质量控制, 并可为其制剂含量分析及稳定性考察提供参考。

1　仪器与试药

1.1　仪器　日本岛津公司 HPLC系统: LC-10AD型高效液相色谱仪, SPD-10A 型紫外检测器,

* 通讯作者　Tel: (027) 83692793; E-mail: youjit@mails.tjmu.edu.cn

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

N2000在线色谱工作站。

1.2 试药 盐酸巴尼地平对照品(武汉百科药物开发有限公司提供,含量 99.6%);盐酸巴尼地平非对映体(4R-3S型,自制);盐酸巴尼地平原料药样品(武汉百科药物开发有限公司提供,批号:051101,051102,051103)。甲醇为色谱纯,磷酸二氢钾、磷酸为分析纯,实验用水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Phenomenex-Gemini C_{18}(5 μm,4.6 mm × 250 mm);流动相:甲醇-0.005 mol·L^{-1} KH_2PO_4(50∶50,磷酸调 pH 至 3.0);检测波长为 236 nm;流速为 1.0 mL·min^{-1},柱温为室温。

2.2 溶液的配制

对照品储备液:取盐酸巴尼地平对照品约 25 mg精密称定,置于 50 mL量瓶中,加甲醇使其溶解,并以流动相稀释至刻度,摇匀,即得。

对照品溶液:精密量取盐酸巴尼地平对照品储备液 10 mL置 100 mL量瓶中加流动相稀释至刻度,摇匀。

供试品溶液:取盐酸巴尼地平粉末,研匀,精密称取 25 mg,置 25 mL量瓶中,加甲醇适量使其溶解,并以流动相稀释至刻度,摇匀取 5 mL,置 50 mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得。

非对映体溶液:取盐酸巴尼地平非对映体约 10 mg,置于 25 mL量瓶中,加甲醇使其溶解,并以流动相稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 检测波长的选择 取盐酸巴尼地平对照品适量,加甲醇溶解并稀释成 10 μg·mL^{-1}的溶液,在 205~400 nm波长范围内进行扫描,结果在 236 nm波长处有最大吸收。因此,选择检测波长为 236 nm。

2.4 系统适应性试验 在上述色谱条件下,分别将对照品储备液、非对映体溶液以及两者适量的混合溶液稀释至 10 μg·mL^{-1},各进样 10 μL,色谱图见图 1。盐酸巴尼地平主峰的保留时间约为 20.4 min,其非对映异构体的保留时间约为 25.1 min,两者的分离度大于 1.5[4],盐酸巴尼地平的理论塔板数为 4519。

2.5 线性范围、最低定量限和检测限

精密量取对照品储备液适量,分别用流动相稀释制得浓度为 6,8,10,12,14 μg·mL^{-1}的系列浓度溶液,分别取 10 μL注入液相色谱仪,记录色谱图。以盐酸巴尼地平峰面积对浓度进行回归处理,以峰面积 A 为纵坐标,溶液浓度 C 为横坐标,得回归方程为:

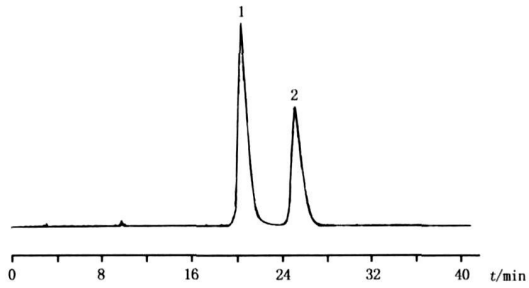

图 1 盐酸巴尼地平及其非对映体 HPLC 图谱

Fig 1 Chromatogram of bamidipine hydrochloride and its diastereomer

1. 盐酸巴尼地平(bamidipine hydrochloride) 2. 盐酸巴尼地平非对映体(diastereomer)

$$A = 3.1 \times 10^4 C + 45.7 \quad r = 0.9995$$

结果表明盐酸巴尼地平在 6~14 μg·mL^{-1}范围内线性关系良好。

取上述对照品溶液适量,加流动相稀释成 0.2 μg·mL^{-1}的溶液,依法测定,以 10倍噪音(S/N = 10)计算最小定量限,结果为 4 ng。

另取上述对照品溶液适量,以流动相逐级稀释后,进样测定,测得最低检测为 1 ng(S/N = 3),即本法可检测出 0.025%的杂质。

2.6 回收率试验 取盐酸巴尼地平对照品约 25 mg精密称定,置于 100 mL量瓶中,另精密加入样品 25 mg,加甲醇溶解后再用流动相稀释至刻度,摇匀。精密量取 20 mL置 1000 mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀。精密量取 10 μL及上述对照品溶液 10 μL分别注入色谱仪中,记录峰面积,以外标法计算含量,平均回收率(n = 5)为 99.6%,RSD = 0.5%。

2.7 精密度与稳定性试验

将对照品溶液用流动相稀释至 10 μg·mL^{-1},精密量取 10 μL,连续进样 5次,记录色谱图,计算得峰面积 RSD(n = 5)为 0.5%。

量取供试品溶液,用流动相稀释至 10 μg·mL^{-1}(批号:051101),分别于室温放置 0,2,4,8,16,24 h后进样测定,计算得峰面积 RSD为 1.0%(n = 6)。

2.8 重复性试验 取 051101批号样品分别制备 5份供试品溶液,测定样品含量为 99.3%,RSD为 0.7%(n = 5)。

2.9 含量测定 精密量取供试品溶液及对照品溶液,用流动相稀释至线性范围后,量取 10 μL,按上述色谱条件进行分析,按外标法以峰面积计算盐酸

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

巴尼地平的含量。051101, 051102, 051103批样品的测定结果分别为 99.3%, 99.5%, 99.1%; RSD分别为 0.7%, 0.5%, 0.4%。

3 讨论

3.1 本文采用在盐酸巴尼地平样品中加入其非对映体 4*R*-3*S* 型进行分析, 以考察色谱分离系统的适应性。由于两者是非对映异构体, 其理化性质有一定的差异。因此, 利用 HPLC 有可能将两者进行分离。本文建立的方法, 能够有效地将两者进行分离, 两者的分离度可达到 1.5以上, 说明选择的该色谱分离条件比较理想。在这样的分离条件应该不仅可以准确测定含量, 还可以用于测定盐酸巴尼地平的相关物质等。

为进一步考查该方法的专属性, 取盐酸巴尼地平对照品储备液适量, 加 10% 过氧化氢溶液破坏 4 h, 量取 10 μL按上述色谱条件进行分析, 结果几个降解产物均能分开, 说明该方法分离效果良好(见图 2)。

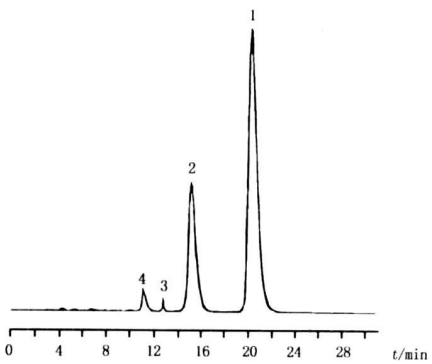

图 2　盐酸巴比地平加过氧化氢破坏后 HPLC图

Fig 2　Degradation chromatogram of bamidipine hydrochloride by H_2O_2

1 盐酸巴尼地平 (bamidipine hydrochloride);　2~4. 降解产物 (degradation products)

3.2 保持流动相中磷酸二氢钾浓度和 pH 不变, 改变甲醇的比例, 结果表明甲醇浓度对分离效果的影响较大。减少甲醇的浓度, 所有峰的保留时间延长, 在 45% ~ 55% 范围内, 各峰间的分离度较好, 保留时间合适, 而以 50% 最佳, 在此比例下, 各峰均可达到基线分离。

参考文献

1　LUO Yong-qiang(罗永强), ZHANG Wan-jin(张万金). Dihydropyridine calcium channel antagonist-Batnidipine(二氢吡啶类钙拮抗剂-巴尼地平). *Intern Med Health Guidance News*(国际医药卫生导报), 2003, 9(1): 40

2　Kazuharu Tamazawa, Hideki Arima, Tadao Kojima, *et al*. Stereoselectivity of a Potent Calcium Antagonist 1-Benzyl-3-pyrrolidinyl Methyl 2, 6-Dimetyl-4-(*m*-nitrophenyl)-1, 4-dihydropyridine-3, 5-dicarboxyla. *J Med Chem*, 1986, 29(12): 2504

3　Teramura T, Watanabe T, Higuchi S, *et al*. Pharmacokinetics of bamidipine hydrochloride, a new dihydropyridine calcium channel blocker in the rat, dog and human. *Xenbiotica*, 1995, 25(11): 1237

4　ChP(中国药典). 2005. Vol Ⅱ (二部): Appendix(附录) VD

5　SUN Dian-chun(孙殿春), ZHEN Hui-zhe(郑慧哲). New antihypertension drug-banidipine(新抗高血压药-巴尼地平). *China Pharm Inform* (中国制药信息), 2001, 6(17): 21

(本文于 2007年 10月 18日收到)

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