

利巴韦林片有关物质测定方法的建立

张勤仓¹ 叶青² 张静³

(1.新疆维吾尔自治区人民医院 2.新疆维吾尔自治区食品药品检验所,新疆乌鲁木齐 830000;
3.黑龙江省齐齐哈尔市中医医院检验科,黑龙江齐齐哈尔 161000)

[摘要] 目的 参照利巴韦林注射液的有关物质测定方法和有关文献报道的方法,建立了利巴韦林片有关物质的分析方法。方法 采用高效液相色谱法分别测定 20 个不同厂家不同批号利巴韦林的有关物质,对照品在强酸强碱及高温、光照的条件下的有关物质考察,以氢型阳离子交换树脂、磺化交联的苯乙烯-二乙烯基共聚物为填充剂,以水(用稀硫酸调节 pH 值至 2.5 ± 0.1)为流动相。结果 主峰位置未受杂质影响。结论 采用本法能有效检出杂质,实现主峰与杂质峰的基线分离,分离度符合中国药典的要求。

[关键词] 利巴韦林;有关物质;HPLC 法

[中图分类号] R927.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-9701(2009)26-74-03

利巴韦林(RBV)是一种新型的合成核苷类广谱抗病毒药物;本品主要成份为利巴韦林,其化学名称为:1-β-D-呋喃核糖基-1H-1,2,4-三氮唑-3-羧酰胺。利巴韦林片在《中国药典 2005 年版二部》检验方法中未考察有关物质项目,为了全面考察该品种的质量,本文参照利巴韦林注射液的有关物质测定方法和有关文献报道的方法,建立了利巴韦林片有关物质的分析方法。采用本法能有效检出杂质,实现主峰与杂质峰的基线分离,分离度符合中国药典的要求。

1 实验方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器 LC-2010A_{HT}型高效液相色谱仪、Waters 高效液相色谱仪、梅特勒托利多 AE-200 电子分析天平、色谱柱为:菲罗门 Rezex ROA-Organic Acid H⁺(8%)300×7.8mm 硫酸:分析纯(天津市富宇精细化工有限公司)。

1.1.2 试剂 利巴韦林片:厂家、批号:A 070801 B 080101 C 0709027A D 0801002A E 0707020A F 0710029A G 0803010A H 070901 I 070201 J 070704 K 070803 L 0706016A M 071001 N 070905 O 080402 P 080102 Q 080105 R 080201 S 20070303 T 20071001 利巴韦林对照品(中国药品生物制品检定所)。

1.2 色谱条件

以氢型阳离子交换树脂、磺化交联的苯乙烯-二乙烯基共聚物为填充剂,以水[用稀硫酸调节 pH 值至(2.5±0.1)]为流动相。

2 结果

2.1 线性关系

取已知浓度为 55.05 μg/mL 的利巴韦林对照品溶液 2 μL、4 μL、8 μL、16 μL、20 μL、24 μL、32 μL,注入高效液相色谱仪,进样量分别为 0.1101 μg、0.2202 μg、0.4404 μg、0.8808 μg、1.101 μg、1.3212 μg、1.7616 μg,记录色谱峰面积(A)。以色谱峰面积对其进样量(C, μg)进行线性回归,得回归方程如下:

$$A = 3.7E + 6C - 6927.9$$

$$(r = 1)$$

结果表明,利巴韦林在 0.1101~1.7616 μg 的范围内,线性关系良好。见图 1。

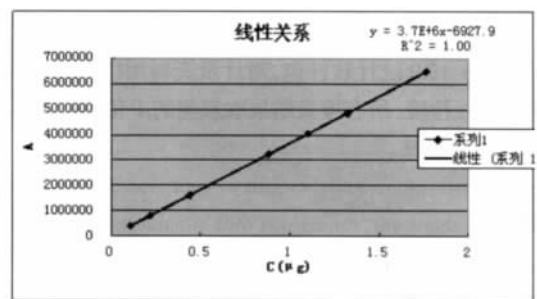


图 1

2.2 有关物质检查方法

取本品 10 片,研细,精密称取适量(约相当于利巴韦林 100mg)置 250mL 容量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,滤过,取续滤液作为供试品溶液,精密量取供试品溶液 1mL,置 100mL 容量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照溶液。取对照溶液 20 μL 注入液相色谱仪,调节仪器灵敏度,使主成分峰的峰高为满量程的 20%~25%;再精密量取供试品溶液与对照溶液各 20 μL,分别注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的 2 倍。以主成分自身对照法测定杂质含量。

2.2.1 专属性 采用选定的色谱条件,分别取高温、强酸、强碱和光照的破坏所得的供试液各 20 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图。破坏条件如下。

2.2.1.1 空白色谱图(图 2)

2.2.1.2 酸破坏 精密称取利巴韦林对照品约 10mg,置 25mL 容量瓶中,加 0.1mol/L HCL 溶液振摇并稀释至刻度,放置 2h,过滤,取续滤液作为供试液,结果检出酸破坏产生降解产物峰不影响分离度,主峰位置未受杂质影响。HPLC 图谱如图 3 所示。

2.2.1.3 碱破坏 精密称取利巴韦林对照品约 10mg,置 25mL 容量瓶中,加 0.1mol/L NaOH 溶液振摇并稀释至刻度,放置 2h,过滤,取续滤液作为供试液。结果主峰位置未受杂质影响。HPLC 图谱如图 4 所示。

2.2.1.4 高温 精密称取利巴韦林对照品约 10mg,置 25mL 容量

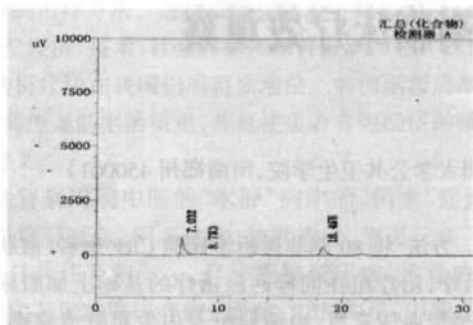


图2

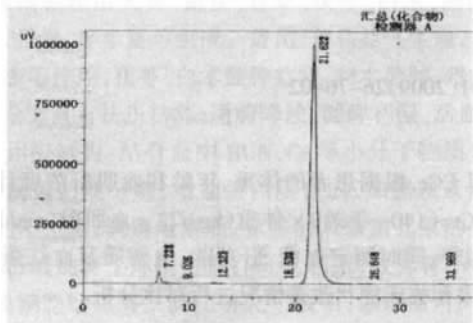


图3

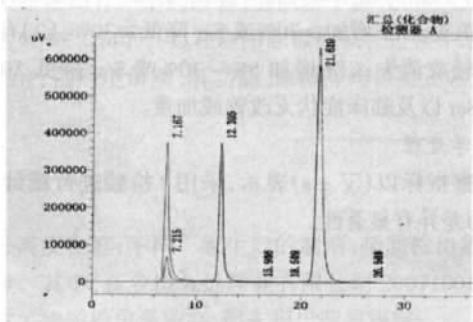


图4

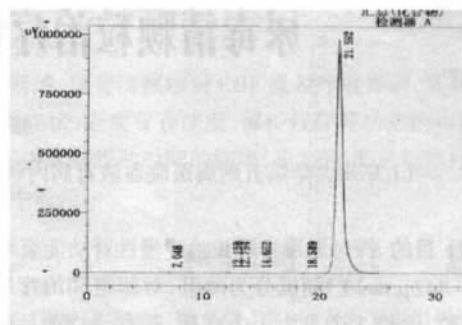


图5

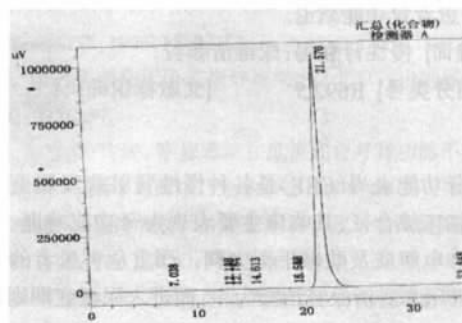


图6

表2 不同厂家生产的利巴韦林片有关物质测定结果

厂家	批号	最大杂质面积	总杂质面积	总杂质含量(%)	杂质个数
A	20070303	30803	95776	0.230	6
B	070801	82446	124179	0.363	3
C	080101	19128	39862	0.101	4
D	0709027A	129162	149856	0.424	2
E	0801002A	125408	153332	0.467	2
F	0707020A	35193	48604	0.142	2
G	0710029A	74710	105064	0.284	4
H	0803010A	53808	75349	0.217	3
I	070901	28510	62942	0.130	5
J	070201	69726	96998	0.241	3
K	070704	21148	48838	0.128	3
L	070803	36336	71506	0.209	3
M	0710031A	17444	43135	0.108	5
N	071001	13628	27058	0.098	3
O	070905	40586	130482	0.387	4
P	080402	38479	115797	0.350	4
Q	080102	44235	116921	0.297	6
R	080105	43719	130291	0.326	6
S	080201	42488	106427	0.309	4
T	20071001	98201	196491	0.487	6

瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,取该液于60℃水浴放置2h,取出,放冷至室温,过滤,取续滤液作为供试液。结果主峰位置未受杂质影响。HPLC图谱如图5所示。

2.2.1.5 光照 精密称取利巴韦林对照品约10mg,置25mL容量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,于3000lx照度下放置6h,过滤,取续滤液作为供试液。结果主峰位置未受杂质影响。HPLC图谱如图6所示。

2.2.2 重复性 精密量取2.1的对照品溶液,重复进样5次,供试液主峰峰面积的RSD为0.02%,说明此法具有较好的精度,见表1。

表1 重复性测定结果

进样序号	1	2	3	4	5	6	RSD(%)
峰面积	4050960	4049593	4049833	4050680	4050015	4050416	0.02

2.2.3 辅料干扰试验 按处方精密称取不含利巴韦林的辅料,置25mL容量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,滤过,取续滤液作为供试品溶液。照上述色谱条件进行检测,结果无色谱峰出现,说明辅料不干扰测定。

2.2.4 利巴韦林有关物质测定结果(表2)

2.2.5 有关物质检查结果分析

(1)从利巴韦林片有关物质的测定结果可看出,各杂质峰在主峰保留时间2倍内可全部检出。杂质主要来源于原料合成的中间体及降解产物等途径,本方法能检出3~6个杂质,主峰与

(下转第77页)

缺乏有效的治疗方法,透析或肾移植虽可延长晚期CRF患者的生命,但受经济、技术、社会等诸多条件限制而使广泛应用受限,因而非透析疗法在我国仍居重要地位。如何延缓或制止肾功能恶化,提高患者的生活质量,并且使患者有更经济的治疗费用具有重要意义。

慢性肾衰竭属中医的“水肿”病中的“阴水”症候,主要病理机制是脾肾衰惫,阳不化水,浊邪内停,壅遏三焦。病初以气虚为主,日久伤及阳气,一旦出现脾肾阳虚,水毒内盛并上凌心肺,治疗上很难取得疗效。因此,CRF的早、中期是治疗本病的关键。

尿毒清颗粒由大黄、黄芪、甘草、茯苓、白术、制何首乌、川芎、菊花、丹参、姜半夏等组成。黄芪、首乌益气生血,具有补气、益肾、固表等作用,茯苓、白术健脾益肾、利水消肿,丹参、川芎活血化瘀。全方具有扶正祛邪、通腑降浊、健脾利湿、活血化瘀等功效,其作用机制为:结合血中BUN、Cr等小分子物质自尿、粪中排出,抑制蛋白质分解,增加蛋白质合成,加速尿素循环,改善内环境的不平衡,调解电解质、氨基酸及微量元素的异常,改善肾血流量,增加肾小球滤过率,降压,利尿,改善肾小球高灌注;抑制系膜细胞增殖等。既往研究^[4-7]表明,尿毒清可同时对肠道及肾脏起到调节作用。本次研究治疗组患者服尿毒清治疗3个月后临床症状均有一定的改善,血肌酐下降及(或)CCr升高,总有效率达80%(32/40),且在应用尿毒清颗粒过程中未见明显毒副作用,治疗前后电解质、肝功能、血糖等均保持正常,大便糊状

2~4次/d,疗效与年龄、性别、病情分期无关,服用、保存方便,患者乐于接受。

综上所述,尿毒清颗粒对CRF患者疗效肯定,具有护肾降尿毒素、改善症状、延缓肾衰速度、保护残存肾功能的作用,降低血肌酐,推迟进入透析的时间的作用,是CRF非透析治疗中一种比较有效的中成药。

[参考文献]

- [1] 王海燕. 肾脏病学[M]. 第3版. 北京:人民卫生出版社,2000:1-19.
- [2] 叶任高,张通友,李惠群,等. 肾病综合征引起的急性肾功能衰竭[J]. 中华肾脏病杂志,1995,11(2):83.
- [3] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则[S]. 北京:中国医药科技出版社,2002:233-237.
- [4] 王明刚,李春盛,许丽,等. 尿毒清在危重症合并肾功能不全患者中的治疗作用[J]. 中国中西医结合急救杂志,2006,13(3):179-181.
- [5] 曹勇,刘骁. 尿毒清颗粒治疗糖尿病肾病致肾功能衰竭临床观察[J]. 中国中医急症,2005,14(4):313-314.
- [6] 钟伟强,刘冠贤,杨永铭. 尿毒清治疗慢性肾功能衰竭临床观察[J]. 实用医学杂志,2004,20(6):680-681.
- [7] 吴恒莲,林宏初,阮雪玲,等. 尿毒清颗粒剂治疗118例慢性肾衰竭的疗效观察[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2004,5(1):21-24.

(收稿日期 2009-07-03)

(上接第75页)

杂质峰分离度良好,不同厂家生产的制剂,杂质检出数量和大小存在差异。其中,新乡恒久远药业有限公司20071001批利巴韦林片的有关物质检出量较高,但未超出药典规定。

(2)从检出的杂质数量及杂质总量分析,20个药厂的产品质量均较好。各厂家样品的杂质中,相对保留时间为0.406、0.593、1.216三个峰位的杂质较集中。20批样品中杂质总量<0.2%的5批,占总数的25%,0.2%~0.3%的6批,占总数的30%,0.3%~0.4%的5批,占总数的25%,0.4%~0.5%的3批,占总数的15%。

(3)利巴韦林是一种广谱抗病毒药物。临床用于各种病毒引起的感染,具有抗病毒效果强、不易产生耐药的特点。主要用于治疗流行性感冒、病毒性腮腺炎、上呼吸道病毒感染、带状疱疹及病毒性肝炎等有一定的疗效。随着临床的广泛应用,其毒副作用明显增加,为保证人民的用药安全有效,减少不良反应的发生,有必要增加杂质的检出。

(4)在专属性试验中,通过高温、强酸、强碱和光照的破坏后,发现降解产物基本实现基线分离,主峰位置未发现杂质峰,故采用本法能有效检出杂质,实现主峰与杂质峰的基线分离,分离度符合中国药典的要求。

(5)长途运输中,温度、湿度的变化或生产工艺带来的影响等,所引起的一系列化学副反应,致使利巴韦林片有关物质都有可能发生变化。

因此,应对利巴韦林片的有关物质予以重视。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[M]. 2005年版二部. 北京:化学工业出版社,2005:1213-1250.
- [2] 胡昌勤. 抗生素质量评价[M]. 北京:气象出版社,2003:230-248.
- [3] 周明昊,胡楚楚. 反相高效液相色谱梯度洗脱法测定注射用氨苄西林钠舒巴坦钠有关物质[J]. 中国抗生素杂志,2009,34(3):158.
- [4] 张亦弘,黄竹青. HPLC整体柱测定利福平注射液的含量及有关物质[J]. 沈阳药科大学学报,2009,26(3):201.
- [5] 葛文娜,吴淑燕. 羟丙基-磺丁基-β-环糊精包合物冻干粉中多烯紫杉醇的含量及其有关物质测定[J]. 药物分析杂志,2009,29(4):582.
- [6] 阚家义,吴标. RP-HPLC法测定溴芬酸钠含量和有关物质[J]. 药物分析杂志,2009,29(4):666.
- [7] 蒋银妹,罗秀琴. 梯度洗脱反相高效液相色谱法测定恩替卡韦的有关物质[J]. 药物分析杂志,2009,29(4):676.
- [8] 吴颖,刘茜. HPLC法测定非诺洛芬钙胶囊的含量和有关物质[J]. 药物分析杂志,2009,29(1):66.
- [9] 银洪流,徐仪靖. RP-HPLC法测定雷尼酸锶含量及有关物质[J]. 药物分析杂志,2009,29(2):330.
- [10] 周伟,王文萃. RP-HPLC检测四乙酰基葛根素原料药中的有关物质[J]. 药物分析杂志,2009,29(3):381.

(收稿日期 2009-04-22)