

HPLC 测定枸橼酸莫沙必利片的有关物质

王守箐

(临沂大学生命科学学院, 临沂 276003)

摘要 目的: 建立高效液相色谱测定枸橼酸莫沙必利片有关物质的方法。方法: 采用 C_{18} 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以 0.05 mol · L⁻¹ 枸橼酸溶液(用氢氧化钠溶液调节 pH 至 4.0) - 乙腈(65:35) 为流动相, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长为 274 nm, 自身对照法测定。结果: 线性范围为 0.502 ~ 4.016 μg · mL⁻¹, $r^2 = 0.9978$, 最低检测限为 0.33 ng。结论: 该方法准确、简便, 可以用于枸橼酸莫沙必利片有关物质的测定。

关键词: 枸橼酸莫沙必利; 片剂; 有关物质; 主成分自身对照法; 高效液相色谱

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254 - 1793(2011) 12 - 2330 - 03

HPLC determination of related substances in mosapride citrate tablets

WANG Shou - qing

(College of Life Science, Linyi University, Linyi 276003, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC method for the determination of related substances in mosapride citrate tablets. **Methods:** The separation was performed on C_{18} Column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with mobile phase consisted of 0.05 mol · L⁻¹ citric acid (adjusted pH = 4.0 with sodium hydroxide solution) - acetonitrile (65:35) and the flow rate was 1.0 mL · min⁻¹. The detection wave length was set at 274 nm. The content of related substance was calculated by self - control with main component. **Results:** The standard curve was linear within the range of 0.502 - 4.016 μg · mL⁻¹ ($r^2 = 0.9978$) and the limit of detection was 0.33 ng. **Conclusion:** The method is accurate and simple for the determination of the related substances in mosapride citrate tablets.

Key words: mosapride citrate; tablets; related substances; main component self - compare method; HPLC

枸橼酸莫沙必利片是消化道促动力剂枸橼酸莫沙必利的片剂, 主要用于功能性消化不良伴有胃灼热、暖气、恶心、呕吐、早饱、上腹胀等消化道症状, 也可用于胃食、管反流性疾病、糖尿病性胃轻瘫及部分胃切除患者的胃功能障碍。现行标准^[1] 尚未收载该品种的有关物质的检查方法, 国内文献亦未见报道。为有效控制药品的质量, 本文参考相关文献^[2-4] 及枸橼酸莫沙必利原料药的有关物质检查方法^[5], 采用 HPLC 不加校正因子的主成分自身对照法对枸橼酸莫沙必利片中有关物质进行了检测, 以对本品进行更有效的内在质量控制。

1 仪器和试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(安捷伦公司), SHIMADZU VP - ODS 色谱柱(250 mm × 4.6 mm), 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为纯化水。

枸橼酸莫沙必利对照品(批号 20100201, 含量

99.96%); 枸橼酸莫沙必利片(批号 20100301, 20100302, 20100303), 规格: 5 mg · 片⁻¹, 均由鲁南制药贝特公司提供。

2 方法与结果

2.1 有关物质测定方法

2.1.1 色谱条件与系统适用性试验 用 VP - ODS (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以 0.05 mol · L⁻¹ 枸橼酸溶液(用氢氧化钠液调节 pH 至 4.0) - 乙腈(65:35) 为流动相, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 25 °C, 检测波长为 274 nm。理论板数按枸橼酸莫沙必利峰计, 应不低于 2000。

2.1.2 溶液的制备 取本品细粉适量(约相当于枸橼酸莫沙必利 10 mg), 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液; 精密量取供试品溶液 1.0 mL, 置 100 mL 的量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 作

为对照溶液。

2.1.3 测定法 取对照溶液 10 μL 注入液相色谱仪,调节检测灵敏度,使主成分色谱峰的峰高为满量程的 20%;再取供试品溶液 10 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的 2 倍。供试品溶液的色谱图中如有杂质峰,扣除溶剂峰和辅料峰,单个最大杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积的 1/2 (0.5%),各杂质峰面积的和,不得大于对照溶液的主峰面积 (1.0%)。

2.2 专属性考察 取相当于约含 10 mg 枸橼酸莫沙必利的空白辅料(处方来源于鲁南制药贝特公司)按供试品溶液制备法配制溶液,注入液相色谱仪,记录色谱图,结果见图 1-A。表明空白辅料在 274 nm 波长处无吸收,不干扰有关物质的检查。

2.3 检测限 取对照溶液逐步稀释,取 10 μL 进样,最后以 $4.0 \times 10^{-5} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液进样,此时峰面积可准确测得,按信噪比为 3:1 计算,最低检测量为 0.33 ng。

2.4 降解产物检查

取本品,研细,取细粉 5 份分别进行以下破坏试验:①高温破坏:取细粉置 105 $^{\circ}\text{C}$ 电热干燥箱中破坏 2 h;②酸破坏:取约相当于枸橼酸莫沙必利 10 mg 的细粉,置 50 mL 量瓶中,加 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸 20 mL,60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴破坏 0.5 h,再加 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液中和剩余盐酸;③碱破坏:取约相当于枸橼酸莫沙必利 10 mg 的细粉,置 50 mL 量瓶中,加 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液 20 mL,60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴破坏 0.5 h,再以 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸中和剩余氢氧化钠;④氧化破坏:取约相当于枸橼酸莫沙必利 10 mg 的细粉,置 50 mL 量瓶中,加 30% H_2O_2 20 mL,60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴破坏 0.5 h;⑤光破坏:取适量细粉,置药物稳定性试验仪中,4500 lx 常温照射 3 d。分别将降解后的样品用流动相溶解、稀释成含枸橼酸莫沙比利 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,过滤,分别取续滤液 10 μL 进样测定,记录色谱图,见图 1-B~F。

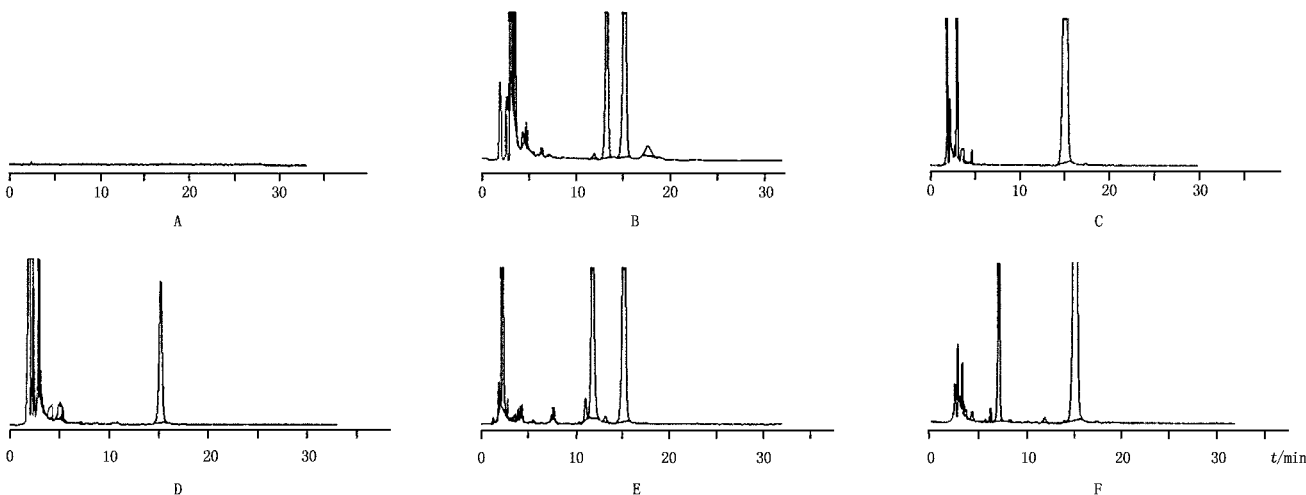


图1 辅料和破坏样品的高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of and destroyed sample

A. 辅料 (auxiliary material) B. 高温破坏 (sample destroyed by heat) C. 酸破坏 (sample destroyed by acid) D. 碱破坏 (sample destroyed by alkali) E. 氧化破坏 (sample destroyed by oxidant) F. 光破坏 (sample destroyed by light)

以上试验结果表明:样品经破坏后均发生明显降解,其中高温破坏检出的杂质峰最多,氧化破坏样品降解最严重,酸、光破坏降解较轻,说明样品对温度和氧化剂较敏感;在所采用的色谱条件下主峰和以上破坏产生的降解产物均能获得良好分离。

2.5 精密度试验 在选定的色谱条件下,取供试品溶液,连续进样 5 次,记录色谱图,峰面积的 RSD 为 0.27%,表明本方法精密度较好。

2.6 标准曲线与线性 取对照品适量,用流动相配成浓度为 0.502, 1.004, 1.506, 2.008, 2.510, 3.012, 4.016, 5.020 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的系列溶液。分别精密量取 10 μL 进样。以峰面积 Y 对其浓度 C 进行线性

回归,得回归方程 ($n=8$):

$$Y = 3.235 \times 10^4 + 1.738.3 \times 10^3 C \quad r^2 = 0.9986$$

表明对照品在 0.502 ~ 5.020 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内线性关系较好。

2.7 供试品溶液稳定性考察 取对照品溶液 10 μL ,分别于 0, 3, 6 h 注入液相色谱仪,计算有关物质含量,分别为 0.62%, 0.63%, 0.63%,表明测定液在 6 h 内基本稳定。

2.8 有关物质测定 取 3 批样品 (20100301, 20100302, 20100303),按“2.1”项下方法测定并计算,结果见表 1,图谱见图 2。

表 1 3 批样品有关物质检查结果 (%)

Tab 1 Related substances result of 3 samples

批号 (Lot No.)	单个最大杂质 (max peak)	总杂质 (total peaks)
20100301	0.27	0.61
20100302	0.28	0.63
20100301	0.27	0.68

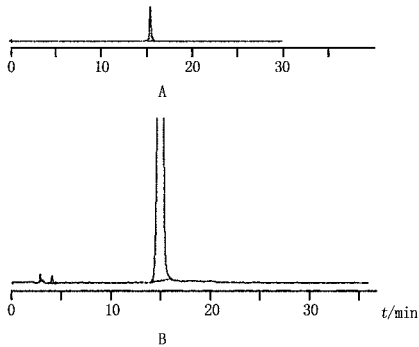


图 2 对照品和样品的高效液相色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms of reference substance and sample

A. 对照溶液 (reference solution) B. 样品 (sample)

3 讨论

3.1 分离条件选择 试验中考察了 3 种组成的流动相 (其中两份为国标原料药有关物质所采用的流动相^[5,6]): 0.05 mol · L⁻¹ 冰醋酸溶液 (用 1 mol · L⁻¹ 的氢氧化钠溶液调 pH 至 5.5) - 乙腈 0.05 mol · L⁻¹ 枸橼酸溶液 (用 1 mol · L⁻¹ 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 4.0) - 乙腈和甲醇 - 0.02 mol · L⁻¹ 磷酸二氢钾缓冲溶液 (以 5% 的磷酸调 pH 至 4.0), 通过调整流动相的比例使各色谱峰的相对保留时间发生改变, 对同一份破坏样品的溶液进样, 分别考察各种剧烈条件下的样品以 3 种流动相分离时杂质峰的个数和分离情况, 试验结果表明: 以 0.05 mol · L⁻¹ 枸橼酸溶液 (用 1 mol · L⁻¹ 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 4.0) - 乙腈 (65:35) 做流动相时, 各破坏样品杂质峰的个数最多, 杂质峰和主峰也均能完全分离; 以其他 2 种流动相分离时, 一方面检出的杂质峰个数少于前者, 说明有部分杂质峰未分开, 另一方面有些样品杂质峰和主峰不能完全分开, 故选择 0.05 mol · L⁻¹ 枸橼酸溶液 (用 1 mol · L⁻¹ 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 4.0) - 乙腈 (65:35) 做流动相。

3.2 测定波长选择 在波长 195, 210, 254, 274, 310, 365 nm 处对供试品溶液进行测定, 比较试验前后主峰个数和面积的变化, 同时粗略估算降解物对主成分的相对响应因子 (f), 结果表明在 195, 210 nm 波长处有些杂质峰未能检测到, 且溶剂峰、辅料峰明显; 在 254 nm 波长处 $f < 0.8$; 在 310, 365 nm 波长有些杂质峰未能检测到, 且样品的吸收峰也太小, $f < 0.8$ 均不能有效测定样品中的杂质。在 274 nm

波长处能测定到更多杂质峰, 粗略估算 $0.8 < f < 1.2$, 故测定波长确定为 274 nm。

3.3 测试样品浓度的确定 经试验, 在上述色谱条件下, 本品最大载样浓度约为 1 mg · mL⁻¹ (进样 10 μL), 大于该浓度则会影响各组分的分离度, 定量限试验表明: 按信噪比 10:1 计, 最低定量浓度为 11×10^{-6} mg · mL⁻¹, 结合最大载样浓度和最低定量浓度, 将样品测试浓度确定为 0.2 mg · mL⁻¹。

3.4 关于标准限度的规定 原料药的标准规定单个杂质的含量不得过 0.5%, 总杂质含量不得过 1.0%, 经对另 5 批片剂样品进行稳定性考察, 于 24 月时有关物质均未超出 1.0%, 单个杂质的含量均未超过 0.5%, 因此, 结合有效期规定, 建议将片剂有关物质的限度定为单个杂质的含量不得过 0.5%, 总杂质含量不得过 1.0%, 即能有效控制制剂中杂质含量。

3.5 需进一步去鉴定降解产物 由于各种条件限制, 未能确定经过破坏后产生了什么降解产物, 有待进一步研究。

4 结论

有关物质 HPLC 专属性试验表明, 该法灵敏度高, 专属性好, 最低检测限能满足杂质的检测要求, 重复性较好, 适用于枸橼酸莫沙必利片的稳定性研究及质量控制。

参考文献

- 1 Drug Specifications Promulgated by SFDA (国家食品药品监督管理局标准). Mosapride Citrate Tablets (枸橼酸莫沙必利片). 1999. WS-541(X-482)-99
- 2 YIN Yi-ping(殷义平), ZHOU Xue-ping(周雪萍), XIE Hong(谢虹) et al. HPLC determination of content and related substances of isoniazid (HPLC 法测定异烟肼含量及有关物质). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志) 2009, 29(6): 1027
- 3 MAO Shi-long(毛士龙), WU Ya-li(吴亚利), ZHANG Rong-rong(张蓉蓉) et al. HPLC determination of related substances in quinapril hydrochloride tablets (HPLC 法测定盐酸喹那普利片有关物质). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志) 2010, 30(6): 1076
- 4 LIU Jing(刘菁), CAI Mei(蔡梅), CAI Mei-ming(蔡美明) et al. HPLC determination of impurities in nitrazepam and its tablets (HPLC 法测定硝西泮及其片剂中有关物质). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志) 2010, 30(8): 1477
- 5 Drug Specifications Promulgated by SFDA (国家食品药品监督管理局标准). Mosapride Citrate (枸橼酸莫沙必利). 2000. WS-044(X-039)-2000
- 6 Drug Specifications Promulgated by SFDA (国家食品药品监督管理局标准). Mosapride Citrate (枸橼酸莫沙必利). 2004. WS₁-(X-357)-2004Z