

文章编号: 1006-2858(2006)08-0514-04

RP-HPLC 法测定盐酸曲美他嗪片的 含量和有关物质

王知斌, 孙进, 孙英华, 何仲贵
(沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 目的 建立测定盐酸曲美他嗪片的含量和有关物质的 RP-HPLC 法。方法 色谱柱为 Diamonsil™ C₁₈ 柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以甲醇-0.03 mol L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(体积比为 15:85, pH=3.0) 为流动相, 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长为 225 nm。结果 盐酸曲美他嗪在 5~50 mg L⁻¹ 内线性关系良好, r=0.999 9; 平均回收率为 100.4%, RSD 为 1.6%; 检出限为 25 μg L⁻¹; 有关物质各杂质峰与主峰之间的分离良好。结论 该测定方法可作为盐酸曲美他嗪的含量测定方法, 以控制其原料及制剂的质量。

关键词: 盐酸曲美他嗪; 反相高效液相色谱法; 含量测定; 有关物质
中图分类号: R 917 **文献标识码:** A

盐酸曲美他嗪(trimetazidine dihydrochloride, 又称心康宁、三甲氧苄嗪)是一种抗心肌缺血的新药, 化学名为: 1-[(2, 3, 4-三甲氧苯基) 甲基]-哌嗪二盐酸盐, 相对分子质量为 339.3, 结构式见图 1^[1]。2001 年法国施维雅公司生产的片剂在我国上市, 至今该药品已在众多省市进入了医保药物目录, 表明其良好的治疗效果已为相关的管理机构及专家接受, 具有良好的市场前景。

因目前国内文献未见其含量测定的有关报道, 故本文建立了盐酸曲美他嗪的反相高效液相色谱测定方法, 用于本品的含量测定, 为控制该药的原料药及其制剂的质量提供了依据。

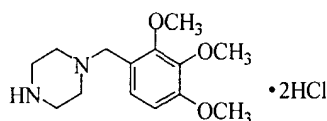


Fig. 1 The structure of trimetazidine dihydrochloride

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(Autosampler L-7200, UV-Vis Detector L-7420, Pump L-7110, 日本 Hitachi 公司), TG328A 电光分析天平(上海天平仪器厂)。盐酸曲美他嗪片(自制, 规格: 20 mg), 盐酸曲美他嗪对照品(北京万生药业有限责任公司, 归

一化法含量质量分数 > 99.5%), 甲醇(色谱纯, 天津康科德公司), 水为重蒸馏水, 磷酸二氢钾、磷酸均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱为 Diamonsil™ C₁₈ 柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μm, 迪玛公司), 流动相为甲醇-0.03 mol L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(体积比为 15:85, pH=3.0), 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长为 225 nm, 柱温为室温, 进样量为 20 μL。

在上述色谱条件下, 盐酸曲美他嗪对照的色谱图见图 2B, 盐酸曲美他嗪色谱峰保留时间为 6.8 min, 盐酸曲美他嗪片的主要成分色谱峰与杂质峰完全分离(见图 2C)。理论板数按曲美他嗪计算不低于 3 000。

2.2 专属性试验

2.2.1 辅料干扰试验

依盐酸曲美他嗪片处方配制不含主药的混合空白辅料溶液, 过滤后取 20 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图(见图 2A)。测定结果表明, 辅料不干扰主药的测定。

2.2.2 破坏产物的分离

强热破坏: 取样品适量, 直火灼烧至棕红色,

收稿日期: 2005-12-08

作者简介: 王知斌(1976-), 男(汉族), 山东阳谷人, 硕士研究生; 何仲贵(1965-), 男(汉族), 教授, 博士生导师, 主要从事药物制剂的研究, Tel. 024-23986321, E-mail hezhgui@mail.sy.ln.cn.

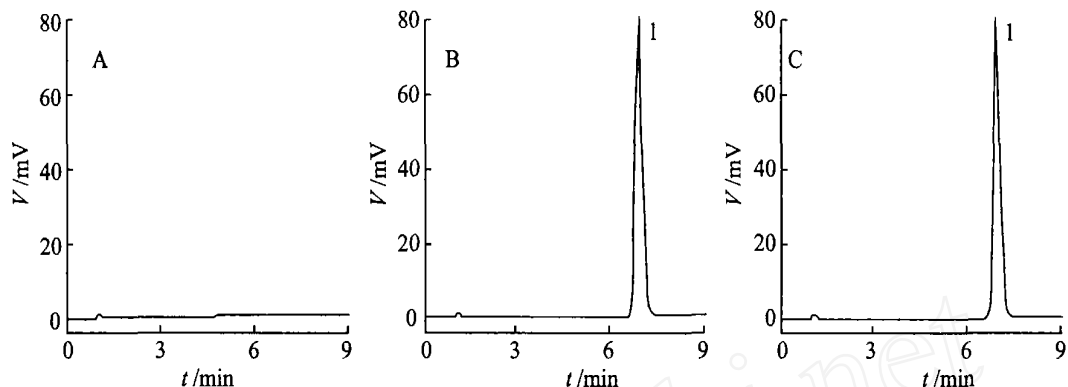
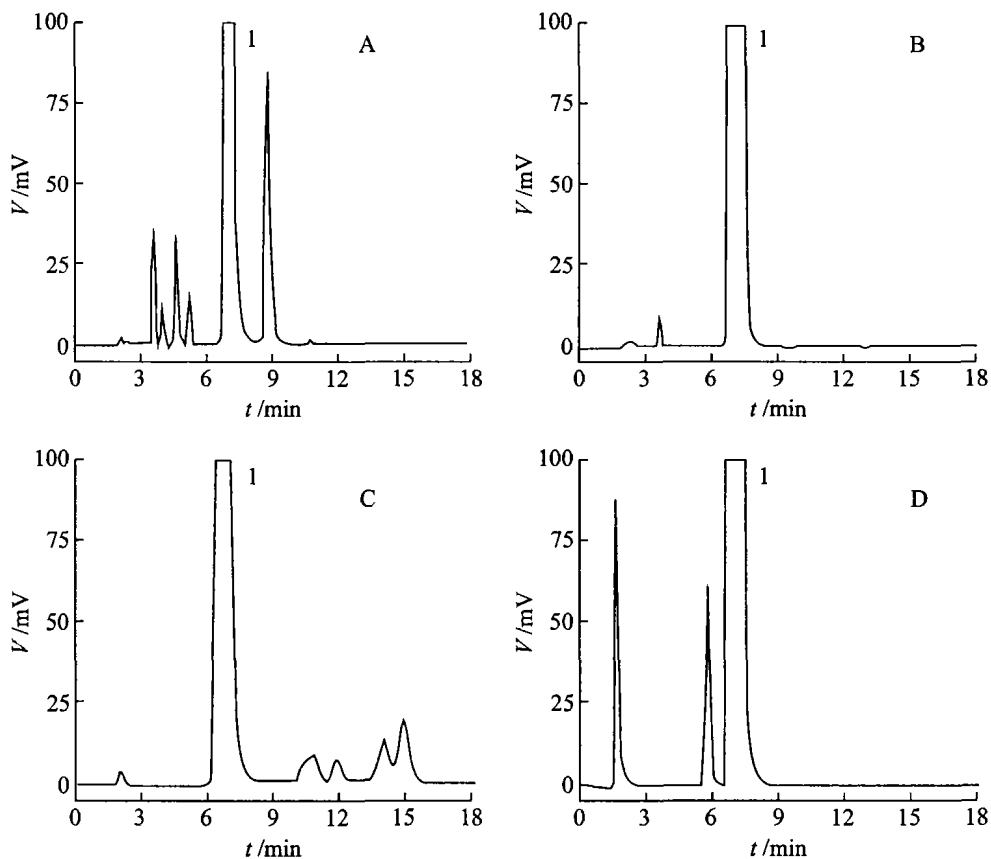


Fig. 2 HPLC chromatograms of the blank solution and samples

放冷;酸破坏:取样品加入 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的盐酸溶液,水浴加热 30 min,放冷后调至中性;碱破坏:取样品加入 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氢氧化钠溶液,水浴加热 30 min,放冷后调至中性;氧化破坏:取样品加入质量分数为 30% 过氧化氢溶液,水浴加热

30 min,放冷。将待测定破坏样品加水超声 30 min 溶解,微孔滤膜滤过 ($0.45 \mu\text{m}$) 后,取 $20 \mu\text{L}$ 进样。结果表明各分解产物获得基线分离(见图 3),样品在热、碱、氧化破坏的条件下不稳定,在酸性条件下较稳定。



A—Heating; B—HCl; C—NaOH; D— H_2O_2 ; 1—Trimetazidine

Fig. 3 HPLC chromatograms of trimetazidine dihydrochloride tablets

2.3 方法学试验

2.3.1 灵敏度试验

取盐酸曲美他嗪对照品适量,加水溶解并逐步稀释,最低检测质量浓度为 $25 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ($S/N = 3$),进样量为 $0.5 \mu\text{L}$ ($20 \mu\text{L}$)。

2.3.2 线性关系

精密称取盐酸曲美他嗪对照品 10 mg ,置于 100 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,配制成质量浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液。分别精密吸取对照品溶液 0.5 、 1.0 、 2.0 、 3.0 、 4.0 、

5.0 mL 至 10 mL 量瓶中,加水至刻度,充分振摇。按上述色谱条件各吸取 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图。以盐酸曲美他嗪的峰面积 A 为纵坐标,盐酸曲美他嗪对照品溶液系列质量浓度为横坐标,进行线性回归,得回归方程: $A = 1.56 \times 10^6 - 3.21 \times 10^4$, $r = 0.9999$ 。结果表明盐酸曲美他嗪在 $5 \sim 50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 内线性关系良好。

2.3.3 精密度试验

取线性关系项下低、中、高 3 种质量浓度的溶液分别连续进样 5 次,将峰面积进行统计分析,得上述 3 种溶液峰面积的 RSD 分别为 0.51%、0.28%、0.39%。结果表明方法的精密度良好。

Table 1 The recovery of trimetazidine dihydrochloride($n = 9$)

$m_{\text{added}} / \text{mg}$	$m_{\text{found}} / \text{mg}$	Recovery/ %	$\bar{x} / \%$	RSD/ %
15.1	15.2	100.7		
14.6	14.8	101.4		
14.8	15.0	101.4		
12.8	12.9	100.8		
12.6	12.5	99.2	100.4	1.6
12.4	12.2	98.4		
10.1	10.4	103.0		
10.2	10.3	101.0		
10.5	10.3	98.1		

2.4 样品测定

2.4.1 含量测定

取本品 10 片,精密称定,研细,精密称取适量(相当于盐酸曲美他嗪 25 mg),置 100 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,精密量取 5 mL,置 50 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。精密称取盐酸曲美他嗪对照品适量,用水制成 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液作为对照品溶液。精密量取对照品溶液与供试品溶液各 20 μL ,注入液相色谱仪,按外标法以峰面积计算含量,结果见表 2。

2.4.2 有关物质测定

精密称取盐酸曲美他嗪片细粉适量,加水制成 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,作为供试品溶液;精密量取适量,加水制成 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液作为对照溶液。照“2.1”条下的色谱条件,取对照溶液 20 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保留时间的 2.5 倍,以自身对照法测定有关物质的量,结果见表 2。

2.3.4 稳定性试验

取“2.4.1”条下的供试品溶液室温下放置,分别于 0、2、4、6、8、10、12 h 进样(20 μL)。盐酸曲美他嗪的峰面积的 RSD 为 0.79%,说明供试品溶液在室温下放置 12 h,能保持相对稳定。

2.3.5 回收率试验

依盐酸曲美他嗪片的处方,精密称取不同量的盐酸曲美他嗪对照品,按比例加入至处方量的空白辅料中,配制成高、中、低 3 种质量浓度的溶液。照“2.4.1”条下测定盐酸曲美他嗪的含量,计算盐酸曲美他嗪的回收率,结果见表 1。

Table 2 The results of contents and related substances determination($n = 3$)

No.	$w_{\text{content}} / \%$	$w_{\text{related substances}} / \%$
0801	98.2	0.25
0802	99.1	0.27
0803	100.1	0.20

3 讨论

a. 测定波长的选择 以水为溶剂配制成一定浓度的盐酸曲美他嗪对照品溶液,在 200 ~ 400 nm 内进行紫外光谱扫描,盐酸曲美他嗪在 225 nm 和 270 nm 处分别有吸收,经分析 270 nm 波长处光吸收弱且灵敏度低,所以本方法选用 225 nm 做为测定波长。

b. 作者参考相关文献[2],考察了分别使用甲醇和乙腈为流动相时的分离效果,结果表明甲醇和乙腈对盐酸曲美他嗪的分离效果和理论板数无明显差别。当甲醇体积分数为 15% 时,分离效果最好,且保留时间适宜。考察了流动相的 pH 对分离的影响, pH = 3.0 时,主成分色谱峰的对称

因子最好。

临床杂志,2001,20(6):469-471.

参考文献:

- [2] Thoppil SO, Amin PD. Trimetazidine: Stability indicating RPLC assay method [J]. J Pharm Biomed Anal, 2001, 25(2):191-195.

[1] 黄震华. 抗心肌缺血新药曲美他嗪 [J]. 中国新药与

RP-HPLC determination of trimetazidine dihydrochloride and its related substances in tablets

WANG Zhi-bin, SUN Jin, SUN Ying-hua, HE Zhong-gui

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract : Objective To develop an RP-HPLC method for the determination of the contents of trimetazidine dihydrochloride and its related substances in tablets. **Methods** The separation was performed on a Diamonsil™ C₁₈ column (200 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was composed of methanol-0.03 mol L⁻¹ potassium dihydrogen phosphate (pH = 3.0) (15:85, V/V). The flow rate was 1.0 mL · min⁻¹ and the determination wavelength was set at 225 nm. **Results** A linearity between peak areas and trimetazidine dihydrochloride concentrations was achieved in the range of 5 ~ 50 μg · mL⁻¹, with $r = 0.9999$. The average recovery was 100.4%, with an RSD of 1.6%. The detection limit was 25 μg L⁻¹. **Conclusions** The method is simple, rapid, accurate and sensitive, and can be used for the assay and quality control of trimetazidine dihydrochloride in the tablets.

Key words : trimetazidine dihydrochloride; RP-HPLC; content determination; related substances

(上接第 506 页)

A new flavonoid glycoside from *Epimedium koreanum* Nakai

LI Na, SONG Shao-jiang

(School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract : Objective To study the constituents of the extract from the *Epimedium koreanum* Nakai. **Methods** A chemical constituent was isolated by silica, polyamide, Sephadex LH-20 column chromatography and preparative HPLC. Chemical characters and spectroscopic analysis were employed for the structural identification. **Result** Compound 1 was obtained and its structure was identified as 3,5,7-trihydroxy-4-methoxy-8-(3-hydroxyisopentyl)-flavone-7-O-*D*-glucopyranosyl-3-O-*D*-glucopyranosyl (1→3)-*L*-(4-acetyl) rhamnopyranoside. **Conclusion** Compound 1 is a new flavonoid glycoside which has not been reported before, named caohuaside F.

Key words : *Epimedium koreanum* Nakai; flavonoid glycoside; NMR; structural identification