

HPLC 法测定富马酸氯马斯汀及富马酸氯马斯汀片的有关物质*

刘德胜¹, 徐玉文², 李玉梅³

(1. 滨州医学院药学院, 烟台 264003; 2. 山东省药品检验所, 济南 250101; 3. 山东博士伦福瑞达制药有限公司, 济南 250101)

摘要 目的: 采用高效液相色谱法测定富马酸氯马斯汀及片剂中的有关物质和降解产物。方法: 采用 ODS-3 C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 柱温为 35 ℃; 流动相为乙腈-辛烷磺酸钠溶液(50:50); 流速为 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长为 210 nm; 进样量为 10 μL。结果: 各降解产物、辅料均可与富马酸氯马斯汀主峰良好分离, 方法的精密度和重复性良好(RSD < 0.3%)。结论: 经方法学验证, 该法灵敏、准确, 适用于富马酸氯马斯汀及片剂中有关物质的测定。

关键词: 抗组胺药; 富马酸氯马斯汀; 原料; 片剂; 有关物质; 高效液相色谱法;

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2011)12-2333-04

HPLC determination of related substances in clemastine fumarate and its tablets*

LIU De-sheng¹, XU Yu-wen², LI Yu-mei³

(1. College of Pharmacy, Binzhou Medical College, Yantai 264003, China; 2. Shandong Provincial Institute for Drug Control, Jinan 250101, China;

3. Shandong Bauch & Lomb Freda Phar. Co. Ltd, Jinan 250101, China)

Abstract **Objective:** High performance liquid chromatography method was established to determine the related substances and the degradation substances in clemastine fumarate and its tablets. **Methods:** An ODS-3 C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with UV detection at 210 nm, and acetonitrile-sodium octanesulfonate solution (50:50) as the mobile phase were used in HPLC. The flow rate was 1.0 mL · min⁻¹, and the temperature of the column was 35 ℃. **Results:** An excellent separation was achieved for clemastine fumarate, excipient and its related substances. The reproducibility and precision of the method were good(RSD < 0.3%). **Conclusion:** This method was accurate, simple, quick and effective for determination of related substances and the degradation substances in clemastine fumarate tablets. It was also suitable for the quality control for clemastine fumarate and its tablets.

Key words: antihistaminic; clemastine fumarate; raw material; tablets; related substances; HPLC

富马酸氯马斯汀为抗组胺药, 是第 2 代 H₁ 受体拮抗剂, 具有极强的 H₁ 受体拮抗作用, 能阻断组胺与 H₁ 受体结合, 减少毛细血管的渗透性, 从而抑制其引起的过敏反应^[1]。目前, 在临床上应用的主要是片剂。本品标准收载于中国药典 2005 年版, 其原料的有关物质采用的是薄层色谱自身对照法^[2]。该方法操作复杂, 影响因素多并且有关物质无法准确定量, 而制剂没有进行有关物质控制。本文采用高效液相色谱法^[3]对富马酸氯马斯汀及片剂中的有关物质和降解产物进行了检测。

1 仪器与试剂

Waters-2695 高效液相色谱仪(含四元泵, 紫外

检测器, 自动进样器, 柱温箱, alliance 色谱工作站)。辛烷磺酸钠, 磷酸二氢钾和磷酸均为分析纯; 甲醇和乙腈为色谱纯, 水为蒸馏水。富马酸氯马斯汀(4 批, 批号为 20051227, 20060522, 20070402 的样品由济南高华制药厂提供; 批号为 070702 的样品由蓬莱诺康药业有限公司提供); 富马酸氯马斯汀片(5 批, 批号为 070832, 080109, 070411 的样品由山东力诺科峰制药有限公司提供; 批号为 041009, 060312 的样品由蓬莱诺康药业有限公司提供), 富马酸氯马斯汀对照品(中国药品生物制品检定所提供, 批号: 0229-9601, 含量 99.6%)。

2 溶液配制

供试品溶液: 取富马酸氯马斯汀(片)适量,精密称定,加流动相适量使溶解,用流动相稀释成每 1 mL 中含有富马酸氯马斯汀约 0.1 mg 的溶液,作为供试品溶液。

对照溶液: 供试品溶液 1 mL,加流动相适量使溶解,用流动相稀释成每 1 mL 中含有富马酸氯马斯汀约 10 μg 的溶液,作为对照溶液。

辛烷磺酸钠溶液: 取辛烷磺酸钠 4.0 g 与氢氧化钠 2.5 g,加水 1000 mL,溶解后,用磷酸调节 pH 值至 2.5。

3 色谱条件与系统适用性实验

色谱柱: ODS-3 C_{18} 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); **柱温:** 35 $^{\circ}\text{C}$; **流动相:** 乙腈-辛烷磺酸钠溶液(50:50); **流速:** 1.0 mL $\cdot$ min $^{-1}$; **检测波长:** 210 nm; **进样量:** 10 μL 。在选定的色谱条件下,取供试品溶液注入液相色谱仪测定,记录色谱图至主峰保留时间的 4 倍,理论板数按氯马斯汀峰计算为 9256。

4 方法学考察

4.1 分离度试验

4.1.1 酸破坏试验 取富马酸氯马斯汀 10.21 mg,加 2 mol $\cdot$ L $^{-1}$ 盐酸 5 mL,置 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中,加热 2 h,取出放冷,用 2 mol $\cdot$ L $^{-1}$ 氢氧化钠中和,加流动相稀释制成每 1 mL 含有 1 mg 的溶液,照“3”项下的色谱条件,注入液相色谱仪测定,色谱图见图 1-A。

4.1.2 碱破坏试验 取富马酸氯马斯汀 10.15 mg,加 2 mol $\cdot$ L $^{-1}$ 氢氧化钠溶液 5 mL,置 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中,加热 2 h,取出放冷,用 2 mol $\cdot$ L $^{-1}$ 盐酸中和,加流动相稀释制成每 1 mL 含有 1 mg 的溶液,照 3 项下的色谱条件,注入液相色谱仪测定,色谱图见图 1-B。

4.1.3 氧化破坏试验 取富马酸氯马斯汀 10.18 mg,加 10% 过氧化氢溶液 5 mL,置 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中,加热 1 h,取出放冷,加流动相稀释制成每 1 mL 含有 1 mg 的溶液,照 3 项下的色谱条件,注入液相色谱仪测定,色谱图见图 1-C。

4.1.4 加热破坏试验 取富马酸氯马斯汀 500 mg,置 140 $^{\circ}\text{C}$,加热 6 h,精密称取 10.23 mg,加流动相稀释制成每 1 mL 含有 1 mg 的溶液,照 3 项下的

色谱条件,注入液相色谱仪测定,色谱图见图 1-D。

4.1.5 光破坏试验 取富马酸氯马斯汀 1.2015 g,置 4500 lx 日光灯下,照射 48 h,精密称取 10.31 mg,加流动相稀释制成每 1 mL 含有 1 mg 的溶液,照 3 项下的色谱条件,注入液相色谱仪测定,色谱图见图 1-E。

4.1.6 干扰试验 取富马酸和辅料适量,加流动相稀释后照“3”项下的色谱条件,注入液相色谱仪测定,色谱图见图 1-F,H。以上试验结果可见,富马酸氯马斯汀与各分解产物峰分离良好,阴性对照溶液无干扰,说明本法专属性强,适用于富马酸氯马斯汀有关物质测定。

4.2 检出限 取富马酸氯马斯汀适量,用流动相逐次稀释制成每 1 mL 中约含 0.2 μg 的溶液,照 3 项下的色谱条件,进样量 1 μL ,注入液相色谱仪测定。按 $S/N=3$ 计算检出限为 0.2 ng。

4.3 精密度试验 取供试品溶液照“3”项下的色谱条件,注入液相色谱仪测定,连续进样 6 次,计算富马酸氯马斯汀峰面积的 RSD 为 0.50%,说明该方法的精密度较好。

4.4 溶液的稳定性考察 取供试品溶液,照 3 项下的色谱条件,分别于 0,2,4,6,8 h,注入液相色谱仪测定,计算供试品溶液中不同时间段的有关物质的峰面积,有关物质峰面积的 RSD 为 0.53%,说明供试品溶液在 8 h 内稳定性较好。

4.5 耐用性试验 在本研究的方法学专属性试验中,酸破坏试验产生的有关物质和主成分峰的分离度刚好满足分离的要求,为了更好地验证该方法的有效性,试验采用 3 项下的色谱条件,用另 1 种填料的色谱柱(Phenomenex Luna C_{18})对该方法的耐用性进行了验证,色谱图见图 1-G,说明该方法比较适合富马酸氯马斯汀有关物质的测定。

5 富马酸氯马斯汀及富马酸氯马斯汀片有关物质的测定

取供试品溶液和对照溶液,照“3”项下的色谱条件,注入液相色谱仪测定,按自身对照法计算其有关物质,色谱图见图 2,结果见表 1 与表 2。另外按中国药典 2005 年版二部收载的方法(TLC 法)同时测定,色谱图见图 3,结果见表 1 与表 2。

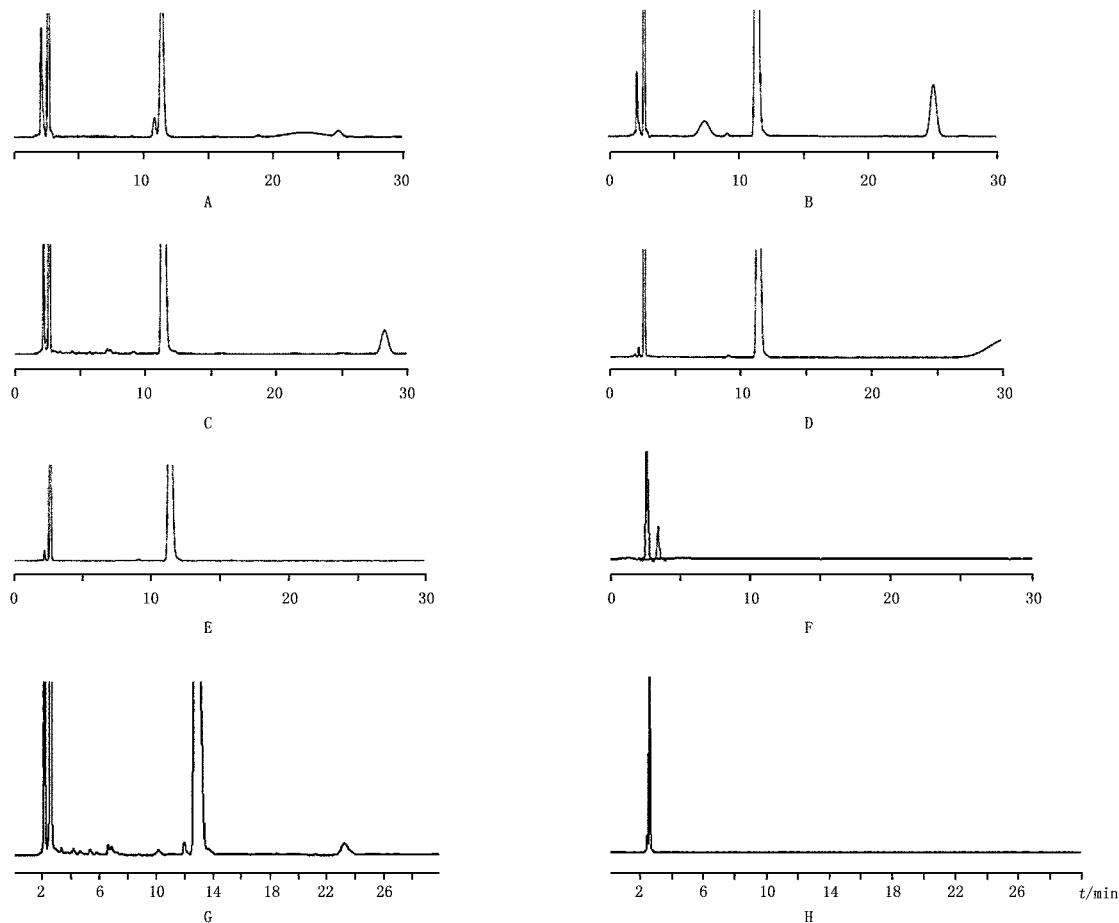


图1 破坏性试验样品色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of destroyed samples

A. 酸破坏(destroyed by HCl) B. 碱破坏(destroyed by NaOH) C. 氧化破坏(destroyed by H_2O_2) D. 热破坏(destroyed by heat) E. 强光破坏
(destroyed under strong light) F. 辅料溶剂(solvent of excipient) G. 耐用性试验(test of durability) H. 富马酸(fumarate)

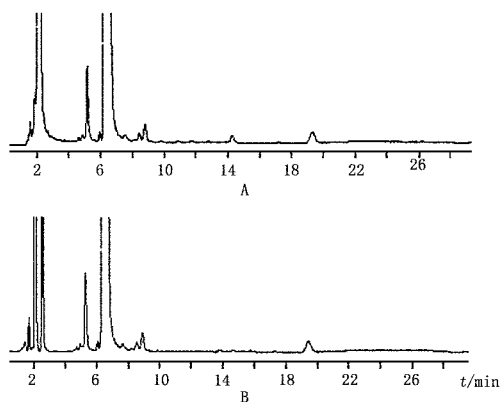


图2 有关物质测定色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms of related substances of clemastine fumarate ant its tablets

A. 富马酸氯马斯汀(clemastine fumarate) B. 富马酸氯马斯汀片
(clemastine fumarate tablets)

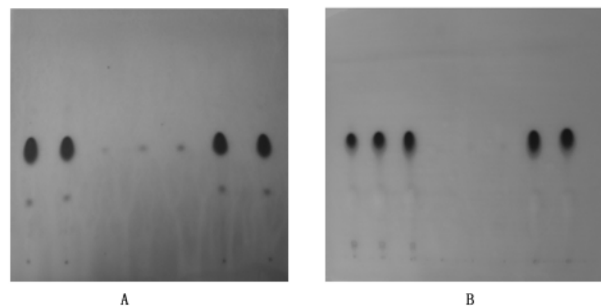


图3 有关物质测定 TLC 图

Fig 3 Detection of related substances of clemastine fumarate and its tab-
lets of TLC

A. 富马酸氯马斯汀(clemastine fumarate) B. 富马酸氯马斯汀片
(clemastine fumarate tablets)

表 1 富马酸氯马斯汀有关物质测定结果
Tab 1 Result of related substances in clemastine fumarate

厂家 (manufactory)	批号 (Lot No.)	HPLC		TLC
		单个最大杂质 (single max impurity) / %	总杂质 (total impurity) / %	总杂质 (total impurity) / %
济南高华制药厂(Jinan Gaohua Manufactory)	20051227	0. 63	1. 0	≤1. 0
	20060522	0. 66	1. 42	≤1. 0
	20070402	0. 56	1. 08	≤1. 0
蓬莱诺康药业有限公司(Penglai Nuokang Pharmaceutical Ltd. Company)	070702	0. 47	0. 95	≤1. 0

表 2 富马酸氯马斯汀片有关物质测定结果
Tab 2 Result of related substances in clemastine fumarate tablets

厂家 (manufactory)	批号 (Lot No.)	HPLC		TLC
		单个最大杂质 (single max impurity) / %	总杂质 (total impurity) / %	总杂质 (total impurity) / %
山东力诺科峰制药有限公司(Shangdong Linuolkefeng Pharmaceutical Ltd. Company)	070832	1. 84	1. 90	—
	080109	1. 96	2. 06	—
	070411	3. 72	3. 91	—
蓬莱诺康药业有限公司(Penglai Nuokang Pharmaceutical Ltd. Company)	041009	0. 43	0. 54	—
	060312	0. 07	0. 30	—

6 讨论

通过 2010 年中国药典 TLC 方法^[4] 展开剂: 甲醇-氯仿-氨水(10: 20: 1) , 硅胶 G 板, 显色剂: 稀碘化铋钾试液和 3% 过氧化氢溶液](见图 3) 与 HPLC 法(见图 1) 比较可以看出, TLC 法检出的杂质个数明显少于 HPLC 法, 所检出的杂质也不能准确定量, 方法的灵敏度较低; 而本研究所建立的 HPLC 法专属性强, 灵敏度高, 可准确地测定富马酸氯马斯汀及片剂中的有关物质。本研究为进一步控制富马酸氯马斯汀及片剂的质量提供了一种新的质控方法, 也为中国药典进一步提高富马酸氯马斯汀及片剂的质量标准提供了理论和实践基础。

参考文献

1 CHEN Jiu - yi(陈九义) , ZHAO Min - sheng(赵民生) , CAO Xiu - hong(曹秀虹) . Preparation and quality control of clemastine fumarate gel(富马酸氯马斯汀凝胶的研制与质量控制) . *Pharm J Chin PLA* (解放军药学报) , 2006, 22(1) : 65

2 ChP(中国药典) . 2005. Vol II (二部) : 795

3 LIU Xin - hong(刘新红) , LI Hao(李昊) , WANG Mai - li(王麦利) . HPLC determination of the content and the related substances of ibutilide fumarate for injection(HPLC 法测定注射用富马酸伊布利特的含量及有关物质) . *Chin J Phamar Anal*(药物分析杂志) , 2009, 29(8) : 1339

4 ChP(中国药典) . 2010. Vol II (二部) : 1054

(本文于 2010 年 12 月 26 日收到)



欢迎投稿 欢迎订阅 欢迎刊登广告