

# 阿苯达唑亚砷酸盐对照品候选物 纯度检测方法的建立

刘志亮<sup>1</sup>, 徐光科<sup>2</sup>, 裴香玲<sup>1</sup>, 乔彦良<sup>1</sup>, 闫祥华<sup>1</sup>

(1. 山东信得科技股份有限公司, 山东青岛 266061; 2. 信阳农业高等专科学校, 河南信阳 464000)

[收稿日期] 2010-04-12 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2010)07-0013-03 [中图分类号] TQ460.72

**[摘要]** 以盐酸阿苯达唑亚砷原料为基础, 通过反复提纯, 得到盐酸阿苯达唑亚砷对照品候选物, 该候选物经过熔点、薄层色谱法 (TLC) 和高效液相色谱法检测, 初步确认符合对照品的要求, 经过高效液相色谱检测, 采用面积归一化法计算其纯度不小于 99.5%。该方法的建立为盐酸阿苯达唑对照品进一步研究提供了帮助。

**[关键词]** 阿苯达唑亚砷酸盐; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 面积归一化

## Establishment for Detecting Purity of Albendazole Sulfoxide Hydrochloride Reference Substance Candidates

LU Zhi-liang<sup>1</sup>, XU Guang-ke<sup>2</sup>, PEI Xiang-ling<sup>1</sup>, QIAO Yan-liang<sup>1</sup>, YAN Xiang-hua<sup>1</sup>

(1. Shandong Sinder Technology Corporation, Qingdao Shandong 266061; 2. Xinyang Agricultural College Xinyang, Henan 464000 China)

**Abstract** A bendazole sulfoxide hydrochloride candidate was obtained through repeatedly purify the base material—a bendazole sulfoxide hydrochloride raw material. This control article was initially confirmed to the standard comply by detection of melting point, thin-layer chromatography (TLC) and HPLC. Through detection of HPLC method and calculation of area normalization method, the content of this control article not less than 99.5%. The method provided help for further study of albendazole sulfoxide hydrochloride reference substance.

**Key words** a bendazole sulfoxide hydrochloride; TLC; HPLC; area normalization method

阿苯达唑亚砷酸盐是广谱抗寄生虫药物阿苯达唑的一种衍生物。阿苯达唑是目前应用广泛的高效、广谱的抗寄生虫药, 其驱虫谱、疗效和毒性均优于目前临床上的常用药物<sup>[1]</sup>, 但由于阿苯达唑的水溶性很差, 只能制备成混悬剂和非水溶性固体制剂, 从而影响了其在体内的吸收率 (生物利用度)<sup>[1]</sup>。研究表明, 在动物体内阿苯达唑仅作为“前体性药物”, 主要作用是由它在机体内的代谢产物亚砷来完成, 阿苯达唑亚砷是阿苯达唑发挥作用

的活性物质。阿苯达唑亚砷酸盐是一种水溶性很好的衍生物, 但目前国内外还没有阿苯达唑亚砷酸盐对照品的相关资料, 因此本文以阿苯达唑亚砷酸盐原料为基础进行了其对照品的制备, 以便于阿苯达唑亚砷酸盐的研究需要。

### 1 仪器和试剂

1.1 仪器 DF200A型电子天平, 感量 0.0001 g 常熟市衡器厂; X-4型显微熔点测定仪, 北京科仪光电光仪器厂; ZF-C1型三用紫外分析仪, 上海康禾

基金项目: 国家科技支撑计划 (2006BAD31B04) 经济型新化学合成药的研制与应用

作者简介: 刘志亮 (1978年-), 硕士, 药理与毒理学专业, 助理工程师, 从事兽用原料药合成的及兽药制剂开发工作。

E-mail: lizhiliangpp@126.com

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

光电仪器有限公司; P230 型高效液相色谱仪, UV 230<sup>+</sup> 紫外检测器, 大连伊利特分析仪器有限公司; GF254 硅胶板, 化学纯, 厚度 0.2~ 0.25 mm, 批号 2009 年 12 月 20 号, 青岛海浪硅胶干燥剂厂制造。

1.2 试剂 阿苯达唑亚砷酸盐, 山东信得科技股份有限公司; 乙腈, 色谱纯; 丙酮, 分析纯; 二甲亚砷, 分析纯。

## 2 实验及方法

2.1 阿苯达唑亚砷酸盐对照品的制备 将阿苯达唑亚砷酸盐 10.02 g 粗品加入装有球形冷凝管的三口瓶中, 90 °C 水浴, 加入丙酮 80 mL, 二甲亚砷 20 mL 搅拌至溶解, 趁热抽滤, 滤液缓慢冷却至 4 °C, 放置 5~ 10 h 后过滤, 滤饼先用水冲洗再用丙酮冲洗并于自然条件下于减压干燥箱中干燥, 该操作主要目的是除掉产物中的可能存在的阿苯达唑亚砷、阿苯达唑及其它杂质。

得到的产物烘干后再用丙酮和二甲亚砷按体积比 (80:20) 重结晶 3 次以上并于自然条件下减压干燥箱中干燥, 得白色粉末。

2.2 熔点测定 取少许阿苯达唑亚砷产品, 以自由落体法将样品装入毛细管中, 用显微熔点测定仪测其熔点, 分别进行 3 次测定, 记录结果并计算平均值。

2.3 薄层色谱法检测 将阿苯达唑亚砷酸盐对照品用适量甲醇溶解, 采用 GF254 硅胶板进行点样。分别以三氯甲烷、甲醇、冰醋酸 (9:4.5:1, V/V/V); 甲醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、冰醋酸 (9:3.5:6:1, V/V/V) 和 (20:2:8, V/V/V), 为展开剂, 展开后紫外灯下观察有无杂斑, 并计算其 R<sub>f</sub> 值。

2.4 高效液相色谱法检测 样品的制备: 精密称取阿苯达唑亚砷酸盐对照品 15 mg 置 25 mL 棕色容量瓶中, 加乙腈-水 (35:65) 溶解并稀释至刻度, 摇匀, 用乙腈-水 (35:65) 稀释成约为 2.0 μg/mL 的待检溶液。

色谱条件 1: 大连伊利特 P23 型高效液相色谱仪, UV 230<sup>+</sup> 紫外检测器。Kromasil-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱。流动相为乙腈-水-冰乙酸, 33:66:1 (V/V/V), 薄膜 (0.45 μm) 过滤并脱气; 流速为 1.0 mL/min; 紫外检测波长 292 nm, 灵敏度 0.005 AUFS, 进样量 20 μL<sup>[2]</sup>。

色谱条件 2: 大连伊利特 P23 型高效液相色谱

仪, UV 230<sup>+</sup> 紫外检测器。Kromasil-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱。流动相为乙腈-水, 35:65 (V/V), 薄膜 (0.45 μm) 过滤并脱气; 检测波长为 230 nm; 流速 1.0 mL/min; 灵敏度 1.00 AUFS, 进样量 20 μL。

色谱条件 3: 色谱柱为用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 流动相, 5 mM 磷酸二氢钾溶液 (20% 氢氧化钾溶液调 pH 至 6.5): 乙腈 = 68:32, 薄膜 (0.45 μm) 过滤并脱气 (V/V); 检测波长为 230 nm; 流速, 0.7 mL/min; 灵敏度, 1.00 AUFS, 进样量, 20 μL。

## 3 结果

### 3.1 熔点测定结果

表 1 阿苯达唑亚砷酸盐熔点测定表

测定次数	熔点	文献值 <sup>[3]</sup>
1	132.5~133.3°C	130~135°C
2	132.8~133.7°C	
3	132.3~133.9°C	
平均值	132.5~133.8°C	

由表 1 可知, 得到的阿苯达唑亚砷酸盐对照品的熔点为 132.5~133.8 °C, 与文献报道一致 (130~135 °C)。通过熔程只有 1.3 °C, 可初步判断物质组分较为单一。

3.2 薄层色谱检测结果 分别采用 3 种展开剂进行薄层色谱检测, 阿苯达唑亚砷酸盐的 R<sub>f</sub> 值分别为三氯甲烷、甲醇、冰醋酸: R<sub>f</sub> = 6.7/8.1 = 0.8272; 甲醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、冰醋酸: R<sub>f</sub> = 6.4/8.0 = 0.8000; 甲醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、冰醋酸: R<sub>f</sub> = 5.4/8.0 = 0.6750。硅胶板展开后置于紫外灯下观察, 每个硅胶板均显示一个斑点。

3.3 高效液相色谱检测结果 通过上述三种 HPLC 方法进行检测, 盐酸阿苯达唑亚砷均只有唯一的色谱峰, 其色谱图分别见图 1, 2, 3。

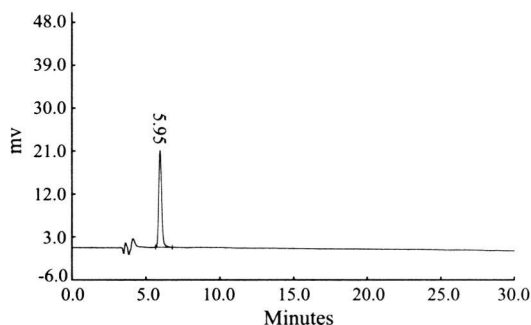


图 1 色谱条件 1 检测得到的色谱图

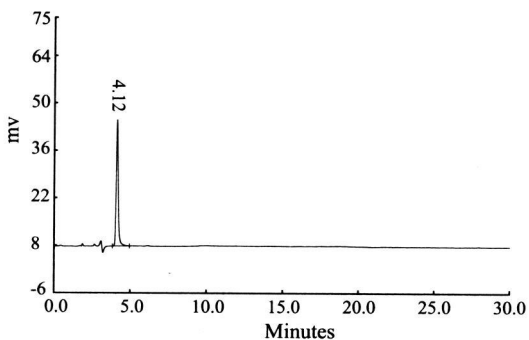


图2 色谱条件2检测得到的色谱图

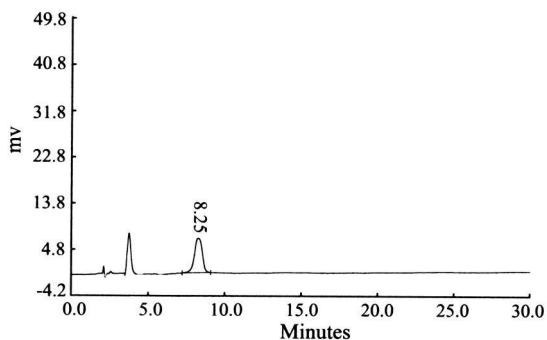


图3 色谱条件3检测得到的色谱图

纯度测定: 采用色谱条件2通过高效液相色谱的高浓度 HPLC-DAD 全波长扫描, 采用面积归一法得含量为 99.94%。

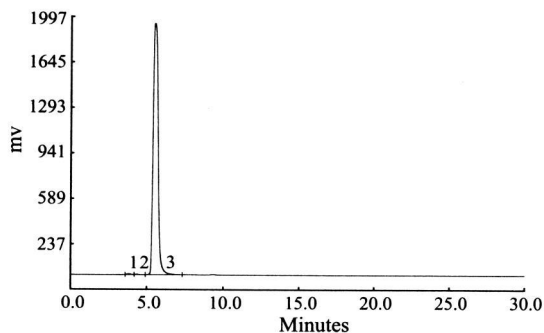


图4 高浓度丙硫咪唑亚砷酸盐的高效液相色谱图

高浓度全波长扫描时在波长为 294 nm, 保留时间为 4.35 min 处有一杂质峰, 通过高效液相色谱法的面积归一法计算含量结果如表 2 所示。

表 2 阿苯达唑亚砷含量测定结果

保留时间 /min	峰面积	含量
4.35	26.47	0.06%
5.49	44160.21	99.94%

世界卫生组织有关化学对照品建立、保存及分发情况介绍, 指导原则规定: 对照品候选物质的纯度根据其用途而定, 用于鉴别用途的, 纯度无需很高; 而用于含量测定的则要求很高, 一般纯度要求不低于 99.5%<sup>[4]</sup>, 因此, 将本方法制备的盐酸阿苯达唑亚砷的含量限度定为不低于 99.5%。

#### 4 讨论

本文通过反复重结晶提纯的方法得到丙硫咪唑亚砷酸盐的对照品, 并对其采用熔点, TLC, HPLC 三种方法进行了检测, 结果显示: 该物质熔点为 1.3 度, TLC 方法均没有检测到杂斑, 低浓度 HPLC 方法均没有检测到杂峰, 通过高浓度扫描, 采用面积归一法得含量不低于 99.5%, 因此认为该方法得到的对照品基本符合对照品的要求, 可以在阿苯达唑亚砷酸盐的研究中作为对照品进行使用。

#### 参考文献:

- [1] 毕殿洲. 药剂学 [M]. 第四版. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 401.
- [2] 范盛先, 黄玲利, 袁宗辉, 等. 猪牛羊可食性组织中阿苯达唑残留检测方法研究 [J]. 中国农业科学, 2004, 37(8): 1229-1234.
- [3] 王玉石, 潘贞德, 戴晓曦, 等. 盐酸阿苯达唑亚砷的制备 [P]. 中国专利: 1519234A, 2004-08-11.
- [4] 王国荣, 石上梅, 张庆生. 世界卫生组织有关化学对照品建立、保存及分发情况介绍 [J]. 药物分析杂志, 2002, 22(6): 491-495.

(上接第 10 页)

#### 参考文献:

- [1] 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所. 动物传染病学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2008: 181-188.
- [2] 费恩阁, 李德昌, 丁壮. 动物疫病学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2004: 158-167.
- [3] 万遂如. 动物和人的衣原体病流行状况与防治办法 [C]. 人畜

共患传染病防治研究新成果汇编: 37-44

- [4] 张险朋, 周萍, 郭宵峰, 等. 广东省东莞市犬狂犬病的流行病学调查 [J]. 中国兽医科学, 2008, 38(7): 629-632.
- [5] 阎守敦, 施远翔, 托哈耐, 等. 动物的鸫热原原体调查 [J]. 中国兽医杂志, 2000, 26(4): 8-10.
- [6] 朱燕秋, 王锐彬, 蔡奕琪. 猪衣原体血清流行病学调查 [J]. 广东畜牧兽医科技, 2007, 32(4): 26-27.