

HPLC法和非水电位滴定法测定盐酸艾咪朵尔含量

徐丽佳¹, 陈晓辉¹, 刘中博¹, 官平², 于治国¹, 毕开顺^{1*}

(1. 沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016 2 沈阳药科大学制药工程学院, 沈阳 110016)

摘要 目的: 分别建立高效液相色谱法和非水电位滴定法测定盐酸艾咪朵尔含量。方法: 高效液相色谱法: 色谱柱为 Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水-甲酸 (36:64:0.5 v/v/v), 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 254 nm; 柱温 30 °C。非水电位滴定法以冰醋酸和醋酐为溶剂, 用 0.1 mol·L⁻¹ 高氯酸溶液进行滴定。结果: 高效液相色谱法: 盐酸艾咪朵尔在 2.02~50.4 μg·mL⁻¹ 范围内线性关系良好, $r = 0.9999$, 方法精密度 RSD 为 0.45% ($n = 5$); 平均回收率为 100.0% ($n = 9$)。非水电位滴定法: 方法精密度 RSD 为 0.13% ($n = 5$); 平均回收率为 99.8%, RSD 为 0.15% ($n = 5$)。结论: 高效液相色谱法和非水电位滴定法的测定结果在统计学上无显著性差异。高效液相色谱法分离能力高, 专属性强, 消耗样品量少; 非水电位滴定法简单、快速, 测定结果精密, 准确度高。

关键词: 盐酸艾咪朵尔; 含量测定; 高效液相色谱法; 非水电位滴定法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)11-1790-03

Determination content of imidol hydrochloride by HPLC and non- aqueous potentiometric titration

XU Li- jia¹, CHEN X iao- hu¹, LIU Zhong- bo¹, GONG Ping², YU Zhi- guo¹, BIKai- shun^{1*}

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

2. School of Pharmaceutical Engineering, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016 China)

Abstract Objective To establish an HPLC method and a non- aqueous potentiometry titration method for the content determination of imidol hydrochloride. **Methods** An HPLC method was used. The separation was performed on a Kromasil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was methanol- water- formic acid (36:64:0.5 v/v/v) at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The UV detection was set at 254 nm and the column temperature was maintained at 30 °C. Acetic acid and acetic anhydride were used as solvent for non- aqueous potentiometry titration. 0.1 mol·L⁻¹ perchloric acid was used to titrate the content of imidol hydrochloride. **Results** HPLC: The linear range for imidol hydrochloride was 2.02- 50.4 μg·mL⁻¹ ($r = 0.9999$), the precision RSD was 0.45% ($n = 5$), the average recovery was 100.0% ($n = 9$), non- aqueous potentiometry titration. The precision RSD was 0.13% ($n = 5$), the average recovery was 99.8% with an RSD of 0.15% ($n = 5$). **Conclusions** The HPLC method and non- aqueous potentiometry titration method are identical statistically. The HPLC method is sensitive, specific and needs small amount of sample. Non- aqueous potentiometry titration method is accurate and used widely.

Key words imidol hydrochloride; content determination; HPLC; non- aqueous potentiometry titration

盐酸艾咪朵尔 (imidol hydrochloride) 是一个全新结构的化合物 (专利申请号为 200510054663.2), 化学名为 1-甲基-4-(1-咪唑基)甲基-2-(苯基亚磺酰甲基)-5-羟基-6-溴-*H*-吲哚-3-羧酸乙酯盐酸盐。结构式见图 1。

盐酸艾咪朵尔具有抑制 HBV-DNA 复制作用。该药临床前研究结果表明抗乙型肝炎病毒活性显著, 毒

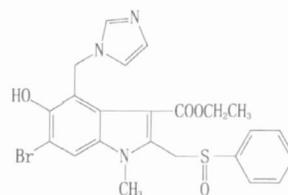


图 1 艾咪朵尔化学结构式

Fig 1 Chemical structure of imidol

* 通讯作者 Tel: (024) 23986016 E-mail: bikaishun@yahoo.com

性低, 无致畸、致突变作用, 长期毒性和生殖毒性研究亦未见明显毒性, 并且具有良好的药代动力学特性, 目前正在进行一类新药的临床试验^[1]。盐酸艾咪朵尔的含量测定方法作者未见文献报道, 本文采用高效液相色谱法和非水电位滴定法^[2, 3]对它进行含量测定方法的研究, 为该药物的质量控制提供依据。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪由 LC-10 AT VP 型液相色谱泵、SPD-10 A VP 型紫外检测器组成 (日本岛津)。Mettler Toledo DL 50 自动电位滴定仪 (梅特勒-托利多国际股份有限公司)。Sartorius CP225D 型天平 (德国赛多利斯公司)。

盐酸艾咪朵尔样品 (批号: 080523, 080604, 080617) 及对照品 (原料药精制品, 色谱峰面积归一化法纯度质量分数 > 99.5%) 由沈阳药科大学药物化学合成实验室提供。甲醇、甲酸为色谱纯; 双蒸水自制; 冰醋酸、醋酐、醋酸汞及高氯酸均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 高效液相色谱法

2.1.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水-甲酸 (36: 64: 0.5, v/v/v), 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 254 nm; 柱温 30 °C; 进样量: 20 μL。在上述色谱条件下, 理论塔板数按盐酸艾咪朵尔计不低于 6000 与相邻杂质的分离度大于 1.5, 拖尾因子在 0.95~1.05 之间。

2.1.2 溶液的制备

对照品溶液: 取盐酸艾咪朵尔对照品约 10 mg 精密称定, 加流动相溶解并稀释, 制成每 1 mL 中约含 20 μg 的溶液。

供试品溶液: 取盐酸艾咪朵尔样品约 10 mg 精密称定, 加流动相溶解并稀释, 制成每 1 mL 中约含 20 μg 的溶液。

2.1.3 方法专属性考察 取盐酸艾咪朵尔对照品经降解所得产物进行 HPLC 分离检测 (结果见图 2)。表明经酸、碱、氧化、高温、高湿及光照破坏所产生的有关物质与主药峰达到完全分离, 本法专属性良好。

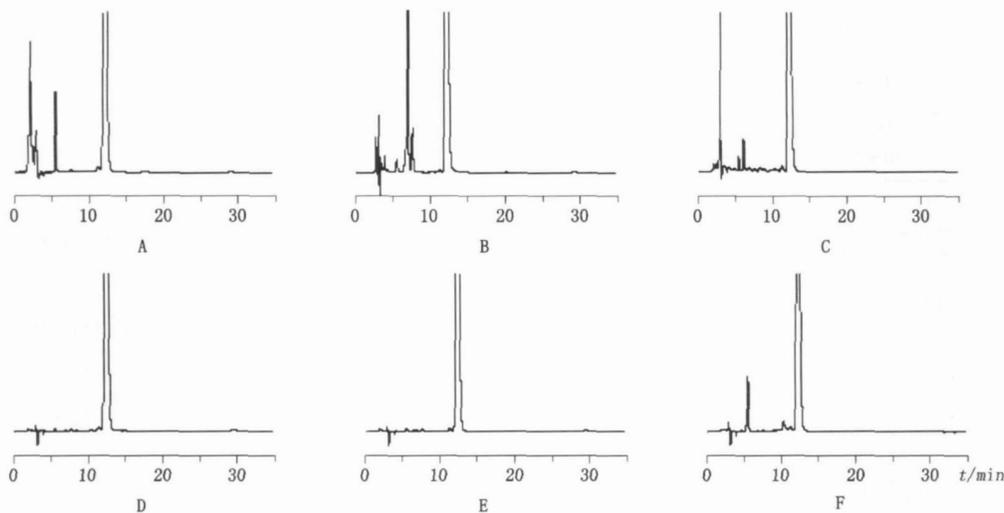


图 2 盐酸艾咪朵尔降解产物色谱图

Fig 2 Chromatograms of degradation products of imidazole hydrochloride

A. 酸降解产物 (degradation of products in 1 mol·L⁻¹ HCl solution) B. 碱降解产物 (degradation of products in 0.5 mol·L⁻¹ NaOH solution) C. 氧化产物 (degradation of products in 0.3% H₂O₂ solution) D. 高温降解产物 (degradation of products under high temperature) E. 高湿降解产物 (degradation of products at high moisture) F. 光降解产物 (degradation of products under strong light)

2.1.4 标准曲线的制备 取盐酸艾咪朵尔对照品约 25 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。再精密量取此溶液 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 5.0 mL 分别置 50 mL 量瓶中, 以流动相稀释至刻度, 摇匀。精密吸取 20

μL, 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以峰面积 (A) 与盐酸艾咪朵尔浓度 (C) 做线性回归, 线性方程为: $A = 1.448 \times 10^4 C - 1.518 \times 10^3$ $r = 0.9999$ 结果表明盐酸艾咪朵尔浓度在 2.02~50.4 μg·mL⁻¹ 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.1.5 精密度试验 取对照品溶液在上述色谱条件下连续进样 5 针, 计算盐酸艾咪朵尔峰面积的 RSD 为 0.38%, 表明仪器精密度良好。

2.1.6 重复性试验 取同一批盐酸艾咪朵尔原料药 6 份, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 在上述色谱条件下, 平行测定 6 次, 计算含量质量分数平均值为 99.3%, RSD 为 0.45%, 表明方法重复性良好。

2.1.7 回收率试验 取盐酸艾咪朵尔对照品约 16.20~24 mg 各 3 份, 精密称定, 按“2.1.2”项下方法操作, 在上述色谱条件下进样分析, 记录峰面积。计算低、中、高 3 种浓度回收率 ($n=3$) 分别为 99.4%, 100.2%, 100.3%; RSD 分别为 0.48%, 0.30%, 0.42%, 计算平均回收率 ($n=9$) 为 100.0%。

2.1.8 供试品溶液稳定性试验 取供试品溶液, 室温下避光放置, 分别在 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 按上述色谱条件测定, 测得不同时间盐酸艾咪朵尔峰面积的 RSD 为 0.30%, 结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.1.9 样品测定 取 3 批盐酸艾咪朵尔原料药, 按“2.1.2”项下方法配制供试品溶液, 在上述色谱条件下测定, 记录峰面积。另取对照品溶液同法测定, 按外标对照法计算样品含量, 结果见表 1。

表 1 样品含量测定结果 (% , $n=3$)

Tab 1 Content results of samples

批号 (LotNo)	HPLC法 (HPLC method)		电位法 (potentiometry titation method)	
	含量	RSD	含量	RSD
	(content) %	%	(content) %	%
080523	99.4	0.55	99.7	0.39
080604	99.4	0.66	99.7	0.24
080617	99.3	0.42	99.6	0.20

2.2 非水电位滴定法

2.2.1 滴定方法 在室温下, 取盐酸艾咪朵尔样品约 0.44 g, 精密称定, 加入醋酸汞试液 5 mL, 再分别加入冰醋酸 20 mL, 醋酐 15 mL 溶解后, 摇匀, 用高氯酸滴定液 ($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 滴定, 电位法确定滴定终点, 并将滴定的结果用空白试验校正。每 1 mL 的高氯酸滴定液 ($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 相当于 55.29 mg 的 $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{BN}_3\text{O}_4\text{S} \cdot \text{HCl}$ 。

2.2.2 精密度试验 取盐酸艾咪朵尔对照品约 0.44 g 共 5 份, 精密称定, 按“2.2.1”项下方法测定并计算平均含量为 100.0%, RSD 为 0.13%。

2.2.3 回收率试验 取盐酸艾咪朵尔对照品约 0.35, 0.40, 0.44, 0.48, 0.53 g 共 5 份, 精密称定, 按“2.2.1”项下方法测定并计算平均回收率为 99.8%, RSD 为 0.11%。

2.3 2种方法测定结果的比较 分别用高效液相色谱法和非水电位滴定法测定 3 批盐酸艾咪朵尔含量 (以“盐酸盐”的干燥品计算) 的结果见表 1。经 t 检验, 2 种方法的结果在统计学上无显著性差异, 提示 2 种方法的测定结果具有可比性。

4 讨论

4.1 检测波长的选择 取盐酸艾咪朵尔的甲醇溶液在 190~400 nm 区间做紫外扫描, 结果分别在 314, 254, 218 nm 处有最大吸收, 218 nm 处为末端吸收峰, 314 nm 处的吸收度较 254 nm 处的吸收度小, 故选择 254 nm 为检测波长。

4.2 流动相的选择 对流动相中甲醇的比例及甲酸的加入量进行了优化, 两者均对保留时间有较大影响, pH 对峰形有着较大影响, 通过调节甲酸的加入量, 在 pH 为 2.25 左右时得到最佳的峰形。

4.3 非水电位滴定法 盐酸艾咪朵尔的化学结构属于吲哚类生物碱, 且在水中几乎不溶, 而在非水酸性介质中, 可以被高氯酸滴定; 使用冰醋酸和醋酐混合溶剂, 能够增大滴定突越, 增加溶解度; 本品溶解后呈淡黄色, 滴定过程中溶液本身发生了颜色变化: 淡黄色-绿色-深咖啡-褐色, 所以不适宜用指示剂法确定终点, 因此选择用电位法滴定终点, 通过记录加入滴定剂的体积和电位读数, 用数学内插法计算滴定终点。

4.4 小结 本文分别建立了高效液相色谱法和非水电位滴定法测定盐酸艾咪朵尔含量, 两种方法测定结果在统计学上无显著性差异, 均可为该药物的质量控制提供保证。

参考文献

- GONG Ping(宫平), ZHAO Yan-fang(赵燕芳). 5-hydroxyindole-3-carboxylate derivatives and uses thereof (5-羟基吲哚-3-羧酸酯类衍生物及其用途). CN: 1706827A, 200510054663.2 2005-12-14
- LIN ing(李宁), LIU Jun-hu(刘俊路), GONG Ping(宫平), et al. Determination of CD-01 hydrochloride by HPLC and potentiometry titation (HPLC法和电位滴定法测定创新药物 CD-01 盐酸盐的含量). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2005 25(5): 530
- ChP(中国药典). 2005 Vol III (二部): Appendix(附录) V D, VII B

(本文于 2008 年 12 月 17 日收到)