

尼美舒利胶囊有关物质的研究

谢斌¹, 吴峰², 任霞¹, 郭庶东¹, 王文清¹, 方建国¹

(1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院药学部, 武汉 430030; 2. 武汉医药卫生学会联合办公室《中国医院药学杂志》编辑部, 武汉 430014)

【摘要】 目的 研究尼美舒利胶囊的有关物质。方法 采用高效液相色谱(HPLC)法, 色谱柱为 Hypersil C₁₈ 柱, 流动相为乙腈-1.15 g·L⁻¹磷酸二氢铵溶液(用氨水调 pH 至 7.0) (34: 66), 流速 1.3 mL·min⁻¹, 检测波长 230 nm。结果 3 批样品中有关物质的含量为 0.029%~0.056%。结论 该方法简便、准确、灵敏度高、重复性好, 可用于尼美舒利胶囊有关物质的检查。

【关键词】 尼美舒利胶囊; 有关物质; 色谱法; 高效液相

【中图分类号】 R971.1; R927.1

【文献标识码】 A

【文章编号】 1004-0781(2011)09-1219-03

尼美舒利化学名为 N-(4-硝基-2-苯氧基苯) 甲磺酰胺, 于 1985 年由 Roche 公司首先在意大利上市, 目前已在 50 个国家使用。尼美舒利是一种新型的非甾体抗炎药, 可选择性抑制环氧化酶-2(cyclooxygenase, COX-2) 而对具有保护性的 COX-1 抑制作用很弱, 在发挥有效的抗炎作用的同时, 减少了其他非甾体抗炎药常见的消化性溃疡和胃肠道出血等不良反应^[1-2]。临床上主要用于治疗慢性风湿性关节炎和骨关节炎、泌尿系统炎症、呼吸道感染、手术后疼痛及癌性疼痛等^[3-4]。

尼美舒利已被《欧洲药典》和《英国药典》收载多年, 随着尼美舒利在我国的广泛使用, 2010 年版《中华人民共和国药典》也收载了尼美舒利原料药及片剂, 增加了有关物质的限度检查。随着我国药品质量标准的提升, 除了尼美舒利原料药及片剂以外, 其他剂型如胶囊剂、分散片、颗粒剂、干混悬剂、缓释胶囊剂、缓释片剂、凝胶剂等的质量标准也将增加有关物质检查项。笔者采用高效液相色谱(HPLC)法对尼美舒利胶囊的有关物质进行测定, 报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Waters 高效液相色谱仪(Waters600 泵, Millennium32 色谱工作站, Waters996 二极管阵列检测器)。

1.2 试剂 尼美舒利胶囊(湖北丝宝药业有限公司, 批号: 20091001; 海南康芝药业股份有限公司, 批号:

20080901; 广东逸舒制药有限公司, 批号: 20090802); 尼美舒利对照品(天津药物研究院药业有限责任公司, 批号: 0511259, 纯度: 99.9%); 对氯苯胺(Sigma-Aldrich, 分析纯); 2-苯氧基苯胺(Sigma-Aldrich, 99%); 4-硝基-2-苯氧基苯胺(德国 LGC 公司, 纯度>99%); 乙腈(Dima technology INC., 色谱纯), 磷酸二氢铵(天津市博迪化工有限公司, 分析纯), 水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 Hypersil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm 5 μm), 流动相: 乙腈-1.15 g·L⁻¹磷酸二氢铵溶液(用氨水调 pH 至 7.0) (34: 66); 流速: 1.3 mL·min⁻¹; 检测波长: 230 nm; 柱温: 35 °C。

2.2 系统适用性实验 《英国药典》方法^[5]: 精密称取尼美舒利杂质 C(2-苯氧基苯胺)和杂质 D(4-硝基-2-苯氧基苯胺)对照品适量, 加甲醇适量使溶解并稀释制成每毫升中含尼美舒利杂质 C 和杂质 D 各 8 μg 的溶液, 摇匀, 滤过, 量取 20 μL 注入液相色谱仪, 所得色谱图见图 1。尼美舒利杂质 C 和杂质 D 的色谱峰之间的分离度>2.0。

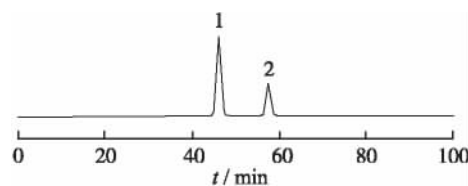


图 1 尼美舒利杂质 C 与 D 的 HPLC 色谱图

1. 杂质 C; 2. 杂质 D

《中华人民共和国药典》方法^[6]: 精密称取尼美舒利对照品和对氯苯胺适量, 加甲醇适量使溶解并稀释制成每毫升含尼美舒利 100 μg 和对氯苯胺 40 μg 的溶液, 摇匀, 滤过, 量取 20 μL 注入液相色谱仪, 所得色谱图见图 2。理论板数以尼美舒利计算 ≥3 000, 对氯

【收稿日期】 2010-11-22 **【修回日期】** 2011-01-21

【作者简介】 谢斌(1975-), 男, 安徽宿州人, 副研究员, 博士, 主要从事新药研究与开发及中药药理学等研究。电话: (0) 15902773519, E-mail: xiebinwh@163.com。

【通讯作者】 方建国(1965-), 男, 河南信阳人, 主任药师, 博士生导师, 博士, 主要从事中药药效的物质基础与标准化研究。电话: 027-83649095, E-mail: fjj3560@sina.com。

苯胺峰与尼美舒利峰之间的分离度 >2.0 。

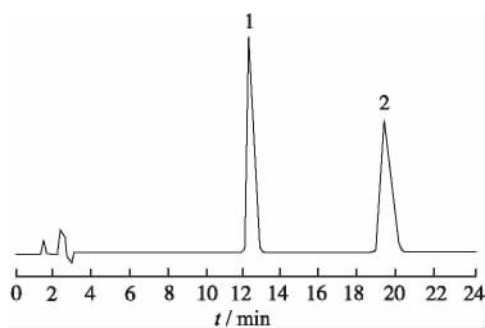


图2 对氯苯胺与尼美舒利对照品 HPLC 色谱图
1. 对氯苯胺; 2. 尼美舒利

2.3 破坏性实验

2.3.1 未破坏样品的制备 取尼美舒利胶囊粉末适量(相当于尼美舒利 50 mg),置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,量取 20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的 7 倍。按处方取等比例的各辅料作空白样品,平行操作,空白辅料峰对检测无干扰。

2.3.2 高温强碱破坏实验 取尼美舒利胶囊粉末适量(相当于尼美舒利 50 mg),置 50 mL 量瓶中,用甲醇 20 mL 溶解后,加 $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液 2 mL, $100 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴加热 1 h,放冷,用 $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液调节 pH 至 7~10,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,量取 20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的 7 倍。按处方取等比例的各辅料作空白样品,平行操作,空白辅料峰对检测无干扰。

2.3.3 高温强酸破坏实验 取尼美舒利胶囊粉末适量(相当于尼美舒利 50 mg),置 50 mL 量瓶中,用 20 mL 甲醇溶解后,加 $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 1 mL, $100 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴加热 1 h,放冷,用 $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液调节 pH 至 7~10,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,量取 20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的 7 倍。按处方取等比例的各辅料作空白样品,平行操作,空白辅料峰对检测无干扰。

2.3.4 高温氧化破坏实验 取尼美舒利胶囊粉末适量(相当于尼美舒利 50 mg),置 50 mL 量瓶中,用 20 mL 甲醇溶解后,加 20% 过氧化氢溶液 1 mL, $100 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴加热 0.5 h,放冷,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,量取 20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的 7 倍。按处方取等比例的各辅料作空白样品,平行操作,空白辅料峰对检测无干扰。

2.3.5 光照破坏实验 取尼美舒利胶囊粉末适量(相当于尼美舒利 50 mg),置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度。置 4 500 lx 光照箱中放置 30 d,摇

匀,滤过,量取 20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的 7 倍。按处方取等比例的各辅料作空白样品,平行操作,空白辅料峰对检测无干扰。

2.3.6 高温破坏实验 取尼美舒利胶囊粉末适量,于 $120 \text{ }^\circ\text{C}$ 加热 12 h,用适量甲醇溶解并稀释制成每毫升含尼美舒利 1 mg 的溶液,滤过,量取 20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的 7 倍。按处方取等比例的各辅料作空白样品,平行操作,空白辅料峰对检测无干扰。

结果显示,尼美舒利胶囊在高温破坏条件下,无明显降解产物;在高温强碱破坏条件下主要降解产物在 6.227, 10.278, 11.432 min;在高温强酸破坏条件下主要降解产物在 12.386 min;在高温氧化破坏条件下主要降解产物在 3.572, 3.767, 4.110, 4.524, 4.784, 5.073, 5.455, 6.221, 9.076, 10.245, 11.494, 13.582 及 55.944 min;在光照破坏条件下主要降解产物在 23.626 min。且上述各降解产物与主峰均能很好分离,该方法专属性良好。

2.4 检测限 精密称取尼美舒利对照品适量,用适量甲醇溶解并稀释制成每毫升中含尼美舒利 1 mg 的溶液。将此溶液逐级稀释,依法测定,以 $S/N=3$ 时计算检测限,测得检测限为 0.30 ng。

2.5 重复性实验 精密称取市售样品力美松(湖北丝宝药业有限公司,批号:20091001)适量,用适量甲醇溶解并稀释制成每毫升中含尼美舒利 1 mg 的溶液,滤过,量取 20 μL ,注入液相色谱仪,连续进样 6 次。有关物质的平均含量为 0.028%, RSD 为 4.7%。

2.6 稳定性实验 精密称取市售样品力美松(湖北丝宝药业有限公司,批号:20091001)适量,用适量甲醇溶解并稀释制成每毫升中含尼美舒利 1 mg 的溶液,滤过,分别在 0, 2, 5, 7, 24 h 量取 20 μL ,注入液相色谱仪。有关物质的平均含量为 0.035%, RSD 为 4.9%。

2.7 样品的测定 精密称取本品适量(相当于尼美舒利 50 mg)于 50 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,作为供试品溶液。取上述溶液 1 mL 至 200 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,作为对照溶液。精密量取对照溶液 20 μL ,注入液相色谱仪,调节仪器灵敏度使主成分峰高约为满量程的 20%,再取供试品溶液 20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的 7 倍。供试品溶液的色谱图中如有杂质峰,单个杂质峰面积不得大于对照溶液中主峰面积(0.1%),各杂质峰面积之和不得大于对照溶液中主峰面积的 5 倍(0.5%)。测定结果见表 1。

表 1 3 批样品中有关物质含量的测定结果 $n=3$

| 厂家及批号 | 有关物质 杂质数 / | |
|---------------------------|------------|---|
| | 含量 / % | 个 |
| 湖北丝宝药业有限公司 批号: 20091001 | 0.029 | 2 |
| 广东逸舒制药有限公司 批号: 20090802 | 0.058 | 3 |
| 海南康芝药业股份有限公司 批号: 20080901 | 0.056 | 3 |

3 讨论

3.1 检测波长的选择 将尼美舒利对照品溶液和尼美舒利酸、碱、氧化、光照破坏溶液用 DAD 检测器在 200 ~ 400 nm 范围内扫描, 结果发现, 在吸收波长 230 nm 处有最大吸收, 且 230 nm 处检出的杂质个数最多, 故选择 230 nm 作为检测波长。

3.2 流动相比例的选择 当乙腈 $4.15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸二氢铵溶液比例小于 34 : 66 时, 尼美舒利保留时间 $> 21 \text{ min}$, 尼美舒利杂质 C 出峰时间早于尼美舒利杂质 D, 且分离度 > 2.0 ; 当增大流动相中乙腈的比例时, 尼美舒利保留时间稍有提前, 尼美舒利杂质 D 出峰时间早于杂质 C, 但尼美舒利杂质 C 和 D 的分离度 < 2.0 。故选择乙腈 $4.15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸二氢铵溶液 (34 : 66) 为流动相。

3.3 缓冲溶液 pH 的选择 流动相的 pH 对尼美舒利的保留时间影响较大。由于尼美舒利为一弱酸, 流动相酸度越低, 其组分的 K 值越大, 尼美舒利保留时间越长, 当磷酸溶液 pH 为 4.0 时尼美舒利保留时间过长, 为 55.2 min, 当 pH 增加到 7.0 时尼美舒利有适宜的保留时间, 并且与其降解产物有较好的分离度。故笔者采用乙腈 $4.15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸二氢铵溶液 (用氨水调 pH 至 7.0) 为流动相, 在此条件下所有杂质峰与主峰的分离度均 > 2.0 , 且峰形对称, 基线平稳, 拖尾因子较低, 有关物质能被较好分离检测。

3.4 系统适用性 《中华人民共和国药典》2010 年版中考察尼美舒利有关物质检测分析方法的专属性时, 选择了对氯苯胺与尼美舒利地分离度作为考察指标, 其原因可能是两者的极性大小比较接近, 如果所采用

的方法能将此两种物质较好的分离, 那么则说明该方法专属性好。而《英国药典》则是选择尼美舒利杂质 C 和 D 的分离度作为考察指标, 这两种杂质结构相似, 杂质 D 的结构比杂质 C 多一个硝基基团。笔者采用《英国药典》流动相体系测定对氯苯胺和尼美舒利时, 两者能较好分离。

笔者分别参照了《英国药典》2009 年版和《中华人民共和国药典》2010 年版的方法对尼美舒利胶囊的有关物质进行了研究, 结果发现, 除了系统适用性研究有明显差异外, 其他条件均无明显差异。以上实验结果说明, 参照《英国药典》2009 年版和《中华人民共和国药典》2010 年版的方法检测尼美舒利有关物质, 专属性、灵敏度、重复性均较好, 均适用于尼美舒利胶囊有关物质的检测。

强化破坏实验结果显示, 尼美舒利胶囊在常温下稳定, 但在氧化、长时间光照条件下会产生分解, 应注意避光、密闭保存。

[DOI] 10.3870/yydb.2011.09.038

[参考文献]

- [1] 陈永顺, 吕明, 王启斌, 等. 尼美舒利缓释栓的制备与药理学研究 [J]. 医药导报, 2009, 28(9): 1194-1197.
- [2] PAOLO F, MAURO B. Simultaneous determination of nimesulide and hydroxynimesulide in rat plasma, cerebrospinal fluid and brain by liquid chromatography using solid-phase extraction [J]. *J Chrom B*, 2003, 785(2): 227-236.
- [3] CLAUDIO G, ANNA T. Determination of nimesulide and hydroxynimesulide in human plasma by high performance liquid chromatography [J]. *Biome Chrom*, 1998, 12(1): 50-56.
- [4] 李燕航, 高咏梅. 高效液相色谱 (HPLC) 法测定尼美舒利胶囊有关物质 [J]. 广东药学院学报, 2006, 20(5): 518-520.
- [5] 英国药典委员会. 英国药典 [M]. 伦敦: the Stationery Office, 2009: 373-376.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 225-226.

《肿瘤防治研究》杂志创刊于 1973 年, 是我国第一本独立的全国性肿瘤专业高级学术刊物。该刊由中华人民共和国卫生部主管, 中国抗癌协会、湖北省肿瘤医院主办。杂志是中文核心期刊、中国科技论文统计源期刊、湖北省优秀医学期刊、中国抗癌协会系列刊物。被美国 CA、CSA、Ulrich PD、波兰 IC、英国 CABI、Global Health、日本 JST 及国内所有大型数据库收录。主要栏目有: 专题论坛、基础研究、临床研究、临床诊断、临床应用、流行病学、研究简报、技术交流、论著摘要、综述、短篇个案、简讯等。是我国肿瘤防治研究领域的一面镜子和窗口。希望广大朋友们能一如既往地给予该刊以热忱的关注; 将优秀稿件投往《肿瘤防治研究》以支持我国学术期刊的发展; 订阅《肿瘤防治研究》以关注我国肿瘤防治研究事业取得的进步。邮发代号: 38-70; 国外代号: M06482; 定价: 每册 8.00 元; 出版周期: 月刊。中国标准连续出版物号: ISSN 1000-8578, CN 42-1241/R。投稿网站: <http://www.zlfzyj.com>, E-mail: zlfzyj@263.net.cn 电话(传真): 0086-27-87670126 地址: 武汉市武昌卓刀泉南路 116 号《肿瘤防治研究》编辑部 邮编: 430079。