

HPLC法测定盐酸兰地洛尔起始物料B中有关物质的含量

曾正渝*, 曾雪, 陈竹, 谭韬(重庆医药高等专科学校, 重庆 400033)

中图分类号 R927.2;R972*.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)45-4294-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.45.25

摘要 目的:建立测定合成盐酸兰地洛尔起始物料B中有关物质含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Agilent XDB C₁₈,流动相为乙腈-水(40:60),流速为1.0 ml/min,检测波长为222 nm,柱温为室温。结果:杂质A检测质量浓度线性范围为0.738~6.0 μg/ml($r=0.999\ 9$),总平均回收率为100.06%($RSD=0.48\%$, $n=3$),检测限和定量限分别为0.038 5、0.13 ng。结论:建立的方法简便、快捷、结果可靠,可用于盐酸兰地洛尔起始物料B的质量控制。

关键词 盐酸兰地洛尔;起始物料B;有关物质;高效液相色谱法

Content Determination of Related Substances in Landiolol Hydrochloride Starting Material B by HPLC

ZENG Zheng-yu, ZENG Xue, CHEN Zhu, TAN Tao (Chongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing 400033, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of related substance in landiolol hydrochloride starting material B. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Angilent XDB C₁₈ column with acetonitrile-water (40:60) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 222 nm and column temperature was room temperature. RESULTS: The linear range of impurity A were 0.738-6.0 μg/ml ($r=0.999\ 9$) with an average recovery of 100.06% ($RSD=0.48\%$, $n=3$). The detection limit and detection limit were 0.038 5 ng and 0.13 ng. CONCLUSIONS: The method is simple, rapid and reliable, and suitable for the quality control of landiolol hydrochloride starting material B.

KEY WORDS Landiolol hydrochloride; Starting material B; Related substance; HPLC

盐酸兰地洛尔是在艾司洛尔基础上进行结构改进而获得的新化合物^[1-2],是一种选择性β₁受体阻滞药,主要拮抗存在于心脏的β₁受体,通过抑制儿茶酚胺引起的心搏增加而改善心动过速性心律失常。盐酸兰地洛尔由小野药品工业株式会社研发,其原料药和灭菌冻干粉末于2002年9月在日本首次上市^[3],用于手术时心动过速性心律失常(包括心房纤颤、心房扑动、窦性心动过速)的紧急治疗。2006年10月在日本又追加手术后循环动态监视下对心动过速性心律失常紧急治疗的适应证并获得批准。该药较艾司洛尔具有更强的β₁受体阻滞作用和更好的可控性,其安全性和有效性已得到证实。目前国内该药还处于研究起步阶段,并主要针对国外过期专利进行工艺改造,匹配相应的药物分析手段,以期达到降低用药成本的目的^[4]。

根据合作企业提供的盐酸兰地洛尔的合成路线,起始物料B是其必备原料。该原料中易产生副产物杂质A,且该杂质对盐酸兰地洛尔的合成产率有一定影响,而通过控制其有关物质即杂质A的含量,可以有效控制盐酸兰地洛尔的质量。为此,笔者建立了测定杂质A含量的高效液相色谱(HPLC)法。

1 材料

1.1 仪器

LC-20AT HPLC仪、SPD-20A紫外检测器(日本岛津公司);TP300超声波清洗仪(金信诺机电设备有限公司)。

1.2 药品与试剂

盐酸兰地洛尔起始物料B对照品(批号:110905,纯度:99.6%)、杂质A对照品(批号:100615,纯度:99.8%)均来源于济南爱思医药科技有限公司;盐酸兰地洛尔起始物料B原料药(北京天泰华恒医药技术有限公司,批号:110701、110801、110802、110803,纯度:98.5%、98.7%、98.7%、98.4%);乙腈为色谱纯。

2 方法与结果

* 副教授。研究方向:药物分析。电话:023-86262085。E-mail: cqzhengyu@126.com

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent XDB C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(40:60, V/V),流速:1.0 ml/min;检测波长:222 nm;进样量:20 μl;柱温:室温。

2.2 溶液的配制

2.2.1 起始物料B对照品及样品溶液。精密称取起始物料B对照品或原料药12.4 mg,置于25 ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度为0.496 mg/ml的溶液。

2.2.2 杂质A对照品溶液。精密称取杂质A对照品12.3 mg,置于25 ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,得贮备液(0.492 mg/ml)。再取此溶液1.0 ml,置于10 ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度为0.049 2 mg/ml的溶液。

2.2.3 系统适用性溶液。分别取起始物料B对照品溶液和杂质A对照品溶液各1.0 ml,置于同一个10 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 系统适用性试验

取上述系统适用性溶液,进样测定,记录色谱,见图1。

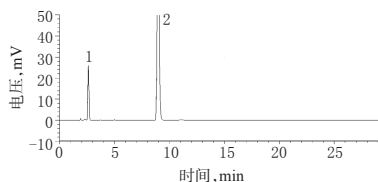


图1 系统适用性试验高效液相色谱图

1.杂质A;2.起始物料B

Fig 1 HPLC chromatograms of systematic test

1. impurity A; 2. starting material B

计算得杂质A和起始物料B的理论板数分别为9 789、12 458,出峰时间分别为2.599、8.940 min,结果表明系统适用性较好。

2.4 破坏性试验

取起始物料B原料药(批号:110701)4份,其中3份分别经酸(加0.1 mol/L的盐酸溶液10 ml,加热煮沸5 min,放冷,用0.1 mol/L的氢氧化钠中和至近中性)、碱(加0.1 mol/L的氢氧化钠溶液10 ml,加热煮沸5 min,放冷,用0.1 mol/L的盐酸溶液中和至近中性)、氧化(加50%双氧水溶液10 ml,加热煮沸5 min,放冷)处理后,加无水乙醇稀释至25 ml,摇匀,滤过,取续滤液;另外1份经高温处理[加无水乙醇-水(1:1)溶液适量,在60℃破坏2 h],放冷,加无水乙醇-水(1:1)溶液溶解并稀释至25 ml,滤过,取续滤液,即得各条件破坏后溶液。因样品在光照下稳定,故在此试验中未进行光照试验。取4份破坏后溶液进样分析,记录色谱。结果样品经破坏后产生的降解产物均能与起始物料B、杂质A有效分离(分离度>1.5),且起始物料B的纯度符合要求,表明本文建立的色谱条件可行。4种溶液的色谱图见图2。

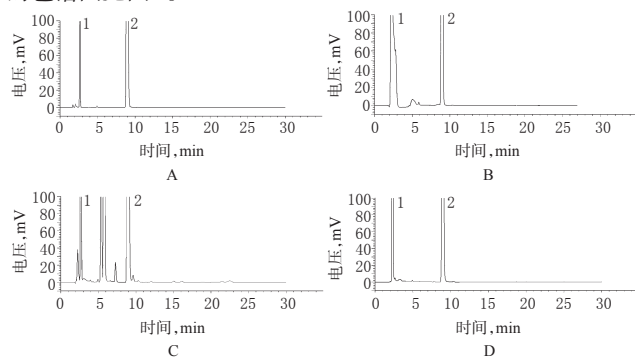


图2 破坏性试验高效液相色谱图

A.酸破坏后样品;B.碱破坏后样品;C.氧化破坏后样品;D.高温破坏后样品;1.杂质A;2.起始物料B

Fig 2 HPLC chromatograms of destroyed tests

A. samples destroyed by acid; B. samples destroyed by alkali; C. samples destroyed by oxidation; D. samples destroyed by high temperature; 1. impurity A; 2. starting material B

2.5 专属性试验

取“2.2.1”项下样品溶液(批号:110701)及流动相(溶剂)进样分析,结果溶剂、杂质A、起始物料B出峰时间分别为1.915、2.599、8.959 min,各峰间的分离度>1.5,溶剂峰对主峰的测定未见干扰,专属性较好,色谱图见图3。

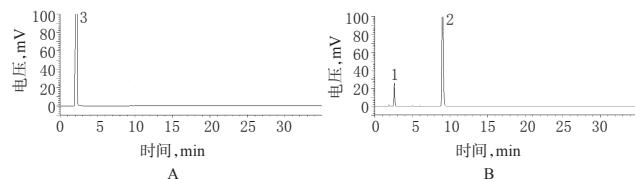


图3 专属性试验高效液相色谱图

A.溶剂;B.样品溶液;1.杂质A;2.起始物料B;3.溶剂

Fig 3 HPLC chromatograms of specific test

A. solvent; B. sample solution; 1. impurity A; 2. starting material B; 3. solvent

2.6 线性关系考察

配制杂质A对照品质量浓度分别为0.25、0.5、2.5、4.0、5.0、6.0 μg/ml的溶液,进样分析,以质量浓度(x)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标,计算得回归方程为 $y=35\ 652x+1\ 083$ ($r=0.999\ 9$),表明杂质A检测质量浓度线性范围为0.738~6.0 μg/ml。

2.7 检测限与定量限试验

分别在信噪比为3、10时计算杂质A和起始物料B的检测限和定量限,结果杂质A分别为0.038 5、0.13 ng,起始物料B分别为0.073 1、0.28 ng。

2.8 精密度试验

取杂质A对照品溶液连续进样6次,计算峰面积的RSD=0.17%($n=6$)。

2.9 稳定性试验

取同一批样品溶液(批号:110701)分别在室温下放置0、1、2、4、8 h进样分析,结果起始物料B和杂质A含量的RSD分别为1.2%、0.001%($n=5$),表明样品溶液在8 h内稳定。

2.10 回收率试验

取起始物料B原料药(批号:110701)适量,9份,按低、中、高水平加入杂质A对照品各3份,加入流动相配制成相应溶液后进样分析,计算杂质A的回收率。结果低、中、高水平的平均回收率分别为99.78%、100.35%、100.05%,总平均回收率为100.06%,RSD=0.48%($n=3$),表明该方法回收率较好。

2.11 样品中有关物质的测定

取3批样品(批号:110801、110802、110803),按“2.2.1”项下方法制备成样品溶液,进样分析,测定其中杂质A的含量,结果分别为0.041%、0.035%、0.051%。

3 讨论

3.1 建立测定杂质A含量方法的意义

本文涉及的盐酸兰地洛尔的合成路线为:以起始物料B[4S-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊烷-4-丁基)-3-(4-羟基苯基)丙酸酯]为原料,经开环、氨解、水解、酯交换反应得到最终产品。由于在起始物料B的合成过程中用到石油醚和异丙醚,故易引入杂质A[(S)-2,3-二羟基丙基-3-(4-羟基苯基)丙酸酯],该杂质不仅影响起始物料B的合成收率,最终也会影响盐酸兰地洛尔的产率,所以需要控制起始物料B中杂质A的含量。而目前国内未见文献报道控制起始物料B的内容,故需要建立相关方法。

3.2 检测波长的选择

分别取盐酸兰地洛尔起始物料B原料药及对照品、杂质A对照品的流动相溶液进行扫描。结果,杂质A在217、222、227 nm波长处均有较强吸收,峰面积分别为171 036、192 943、177 416,其中在222 nm波长处,杂质A的吸收最强,故确定222 nm为检测波长。

3.3 流动相的选择

在前期试验中,以乙腈-水(体积比分别为38:62、40:60、42:58)进样分析,结果在二者比例为40:60时,杂质A与起始物料B的分离度达到最大值(>1.5),且峰的拖尾因子最小,分别为1.26和1.31,因此选择乙腈-水(40:60)为二者配比组成流动相。

综上,本方法简便、快捷、准确,不但能测定起始物料B中杂质A的含量,同时对起始物料B和杂质A也可进行有效分离,故本方法可以作为起始物料B的质量控制方法用于有关物质检查。

参考文献

- [1] 叶惠珍.β-受体阻断剂盐酸兰地洛尔[J].世界临床药物,2004,25(3):189.
- [2] 赫冠男,吕黄伟,王俊科.兰地洛尔的药理作用及其围手术期的应用[J].中国新药与临床杂志,2007,26(12):942.
- [3] 佚名.β-受体阻滞剂盐酸兰地洛尔 landiolol hydrochloride [J].中国医药技术与市场,2007,7(1):55.
- [4] Sasao J, Tarver SD, Kindscher JD, et al. In rabbits, landiolol, a new ultra-short-acting β-blocker, exerts a more potent negative chronotropic effect and less effect on blood pressure than esmolol[J]. *Can J Anaesth*, 2001, 48(10):985.

(收稿日期:2013-05-24 修回日期:2013-09-18)