

# HPLC法测定盐酸丁丙诺啡舌下片的含量和有关物质

刘胜春<sup>1\*</sup>, 赵学刚<sup>2</sup>, 冯雅慧<sup>2</sup>, 康海霞<sup>2</sup>, 滑千里<sup>2</sup>, 王乃浩<sup>2</sup>(1.河北省中医院药学部, 石家庄 050011; 2.河北奥星集团药业有限公司研究院, 石家庄 050700)

中图分类号 R927.11; R971<sup>+</sup>.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)25-2386-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.25.30

**摘要** 目的: 建立同时测定盐酸丁丙诺啡舌下片含量和有关物质的方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Agilent Eclipse XDB C<sub>18</sub>, 流动相为 1% 醋酸铵溶液(含 0.1% 冰醋酸)-甲醇(15:85), 流速为 1.0 ml/min, 柱温为 40 °C, 检测波长为 288 nm。结果: 有关物质与主成分有较好的分离, 盐酸丁丙诺啡检测质量浓度线性范围为 0.004 04~0.040 4 mg/ml( $r=0.999 9$ ), 检测限为 0.5 ng, 平均回收率为 100.1%, RSD 为 0.33%( $n=9$ )。结论: 本方法简便、灵敏度高、结果准确, 可用于盐酸丁丙诺啡舌下片含量和有关物质测定。

**关键词** 高效液相色谱法; 盐酸丁丙诺啡舌下片; 有关物质; 含量测定

## Determination of Related Substances and Content of Buprenorphine Hydrochloride Sublingual Tablet by HPLC

LIU Sheng-chun<sup>1</sup>, ZHAO Xue-gang<sup>2</sup>, FENG Ya-hui<sup>2</sup>, KANG Hai-xia<sup>2</sup>, HUA Qian-li<sup>2</sup>, WANG Nai-hao<sup>2</sup>(1. Dept. of Pharmacy, Hebei Provincial Hospital of TCM, Shijiazhuang 050011, China; 2. Hebei Aoxing Pharmaceutical Co., Ltd. Institute, Shijiazhuang 050700, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the determination of content and related substances in Buprenorphine hydrochloride sublingual tablets. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent Eclipse XDB C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of 1% ammonium acetate (containing 0.1% acetic acid)-methanol (15:85) at the flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was 40 °C, and detection wavelength was 288 nm. RESULTS: Buprenorphine hydrochloride was separated with its impurities thoroughly, and its linear range were 0.004 04-0.040 4 mg/ml ( $r=0.999 9$ ) with average recovery of 100.1% (RSD=0.33%,  $n=9$ ). The detection limit was 0.5 ng. CONCLUSIONS: The method is simple, sensitive and accurate. It could be applied for the determination of content and related substance in Buprenorphine hydrochloride sublingual tablets.

**KEY WORDS** HPLC; Buprenorphine hydrochloride sublingual tablets; Related substance; Content determination

观地反映出不同生产厂家或不同批次间杂质种类及杂质含量的异同,而且可以为其他 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物杂质的鉴别和监控提供参考。

五水头孢唑林钠的杂质数目和含量均小于头孢唑林钠,这可能与五水头孢唑林钠具有独特的螯合结构有关<sup>[7]</sup>:在此结构下,头孢唑林分子排列成一个隧道式空腔,将有重要生物学功能且性质不稳定的 $\beta$ -内酰胺母核、活泼的含硫基团、结晶水合钠离子保护在空腔内,从而达到增加稳定性效果。

专属性试验中未取五水头孢唑林钠进行试验,原因是本试验是证明在破坏试验条件下样品各杂质峰与主峰有较好的分离度,由于头孢唑林钠的杂质的数量要多于五水头孢唑林钠,因此笔者认为只需做头孢唑林钠的专属性试验即可证明本试验方法的专属性较好。

本试验考察了目前在徐州地区公立医院和基层医疗卫生机构中常用的4个生产厂家的头孢唑林钠及1个生产厂家的五水头孢唑林钠。通过笔者的市场调查发现五水头孢唑林钠的价格要明显高于头孢唑林钠。在临床上遴选中厂家的头孢唑林钠,价格较低的产品明显性价比较高,但结合本试验结果,考虑到五水头孢唑林钠的稳定性和杂质含量的水平要明显优于头孢唑林钠,对于一些过敏体质的细菌性感染患者,选

用五水头孢唑林钠可能在用药安全性和有效性方面更有保证。因此本文可以为临床医师选药提供一定的参考。

### 参考文献

- [1] 陈新谦,金有豫,汤光.新编药理学[M].15版.北京:人民卫生出版社,2003:58.
- [2] 练富林,李洪雪,施月芹,等.化学药物复方制剂中杂质的检查与控制[J].药学进展,2009,33(3):112.
- [3] 江晓玲,刘昆,邓俊丰,等.头孢菌素类抗生素中高分子杂质的研究进展[J].国外医药抗生素分册,2007,28(6):264.
- [4] 胡道德.头孢唑林钠皮试液的化学稳定性预测[J].中国药房,1993,4(2):25.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:206.
- [6] 陈宁,申劲锋,刘光荣.一种新型螯合结构五水头孢唑林钠的长期稳定性考察[J].中国抗生素杂志,2009,34(1):45.
- [7] 李耘,吕媛,刘健,等.五水头孢唑林体外抗菌作用[J].中国临床药理学杂志,2009,25(4):316.

\* 主管药师。研究方向:药品质量。电话:0311-66792700

(收稿日期:2012-09-03 修回日期:2013-01-09)

盐酸丁丙诺啡为[5 $\alpha$ ,7 $\alpha$ (S)]-17-(环丙基甲基)- $\alpha$ -(1,1-二甲ethyl基)-4,5-环氧-18,19-二氢-3-羟基-6-甲氧基- $\alpha$ -甲基-6,14-亚乙基吗啡喃-7-甲醇盐酸盐,是新型强效镇痛药和抗阿片戒断症状药物。其镇痛作用<sup>[1]</sup>强于哌替啶,是吗啡的30倍,持续时间长,在临床已被广泛应用20多年。

2010年版《中国药典》二部<sup>[2]</sup>盐酸丁丙诺啡舌下片质量标准项下未对其有关物质进行控制。为了保证药品安全、有效、稳定,笔者参照2010年版《中国药典》盐酸丁丙诺啡原料药质量标准及《美国药典》32版<sup>[3]</sup>、《欧洲药典》7.0版<sup>[4]</sup>盐酸丁丙诺啡原料药项下的高效液相色谱(HPLC)条件,建立了HPLC法同时测定盐酸丁丙诺啡舌下片中主成分和有关物质含量的方法,同时参考药品注册的国际技术要求(ICH)<sup>[5]</sup>质量部分,制订了其中有关物质的限度。

## 1 材料

1200型液相色谱仪(美国Agilent公司);CPA 225D电子天平(德国Sartorius公司)。

盐酸丁丙诺啡对照品(中国食品药品检定研究院,批号:171244-200704,纯度:99.6%);盐酸丁丙诺啡舌下片(青海制药厂有限公司,批号:20120101、20120102、20120103,规格:每片1 mg);甲醇为色谱纯,醋酸铵、冰醋酸均为分析纯,水为去离子水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Eclipse XDB C<sub>18</sub>(250 mm×4.60 mm,5  $\mu$ m);流动相:1%醋酸铵溶液(含0.1%冰醋酸)-甲醇(15:85),流速:1.0 ml/min;检测波长:288 nm;进样量:100  $\mu$ l;柱温:40  $^{\circ}$ C。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 有关物质检查溶液。精密称取盐酸丁丙诺啡舌下片细粉适量(约相当于盐酸丁丙诺啡2 mg),置于10 ml量瓶中,加流动相适量,超声使盐酸丁丙诺啡溶解,用流动相定容至刻度,摇匀,滤过,作为供试品溶液;精密量取供试品溶液1 ml,置于100 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,作为对照溶液。

2.2.2 主成分含量测定溶液。精密称取盐酸丁丙诺啡舌下片细粉适量(约相当于盐酸丁丙诺啡1 mg),置于50 ml量瓶中,加流动相适量,超声使盐酸丁丙诺啡溶解,用流动相定容至刻度,摇匀,滤过,作为供试品溶液。精密称取盐酸丁丙诺啡对照品约10 mg,置于50 ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液;精密量取对照品贮备液10 ml,置于100 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,作为对照品溶液。

### 2.3 专属性试验

精密称取盐酸丁丙诺啡舌下片细粉适量(约相当于盐酸丁丙诺啡2 mg),共5份,分别以强酸(1 mol/L的盐酸溶液)、强碱(1 mol/L氢氧化钠溶液)、氧化(30%双氧水)、光照(4 500 lx)、高温(105  $^{\circ}$ C、2 h)进行破坏处理,用流动相溶解并稀释制成0.2 mg/ml的溶液,同时制备不含主成分的空白溶液。各精

密度量取续滤液100  $\mu$ l注入液相色谱仪。结果,在高温、光照、强酸、强碱和氧化破坏条件下,主成分与降解产物均能够得到良好分离,故本品有关物质检测方法专属性良好。色谱图见图1。

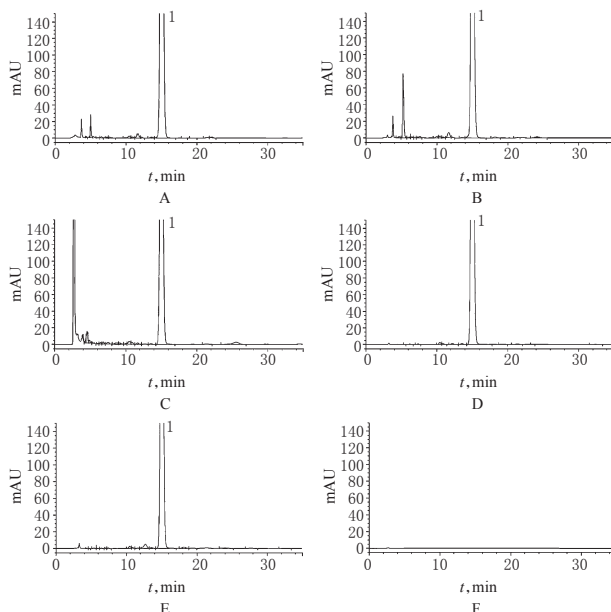


图1 专属性试验高效液相色谱图

A.酸破坏样品;B.碱破坏样品;C.氧化破坏样品;D.高温破坏样品;E.光照破坏样品;F.空白;1.盐酸丁丙诺啡

Fig 1 HPLC chromatograms of specificity test

A. samples destroyed by acid; B. samples destroyed by alkali; C. samples destroyed by oxidation; D. samples destroyed by heat; E. samples destroyed by light; F. blank; 1. buprenorphine hydrochloride

### 2.4 杂质检测限试验

配制盐酸丁丙诺啡对照品溶液,逐步进行稀释然后分别进样,扫峰高为基线噪声的3倍计算,结果盐酸丁丙诺啡检测限为0.5 ng。

### 2.5 供试品溶液的稳定性试验

按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别于0、2、4、6、8 h各精密量取100  $\mu$ l,直接进样,记录盐酸丁丙诺啡的峰面积。结果,其RSD为0.32%,表明供试品溶液在8 h内稳定。

### 2.6 线性范围的确定

分别精密量取盐酸丁丙诺啡对照品贮备液1、2、4、5、7、10 ml,置于50 ml量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,摇匀。分别精密量取100  $\mu$ l上述溶液,进样。以盐酸丁丙诺啡的峰面积(y)与质量浓度(x)作线性回归,计算得标准曲线方程: $y=18.631x+0.5577(r=0.9999)$ ,结果表明盐酸丁丙诺啡检测质量浓度线性范围为0.004 04~0.040 4 mg/ml。

### 2.7 精密度的试验

2.7.1 方法精密度。精密量取盐酸丁丙诺啡对照品溶液100  $\mu$ l,注入液相色谱仪,连续测定6次,RSD=0.51%,结果表明本测定方法精密度较好。

2.7.2 重复性试验。制备6份同一质量浓度的供试品溶液,分别精密量取100  $\mu$ l,直接进样,结果峰面积的RSD=0.53%,表明本测定方法重复性较好。

## 2.8 方法回收率试验

按本品制剂处方配制空白颗粒,分别精密称取9份空白颗粒置于50 ml量瓶中,分别加入对照品贮备液4、4、4、5、5、5、6、6、6 ml,按外标法测定其含量并计算回收率。结果,方法平均回收率为100.1%,RSD=0.33%,表明本方法准确可靠,辅料对本品含量测定也未见影响,详见表1。

表1 回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Result of recovery tests(n=9)

序号	加入量, $\mu\text{g}$	测得量, $\mu\text{g}$	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
1	80.8	80.7	99.9	100.1	0.33
2	80.8	80.6	99.8		
3	80.8	80.9	100.1		
4	101.0	101.2	100.2		
5	101.0	101.4	100.4		
6	101.0	100.9	99.9		
7	121.2	121.1	99.9		
8	121.2	121.5	100.2		
9	121.2	122.2	100.8		

## 2.9 样品中有关物质测定结果

分别精密量取“2.2.1”项下供试品溶液和对照溶液各100  $\mu\text{l}$ ,进样分析。结果,批号为20120101、20120102、20120103的样品中单一杂质含量分别为0.26%、0.27%、0.26%,总杂质含量分别为1.0%、0.9%、1.0%。批号为20120103的样品色谱图见图2。

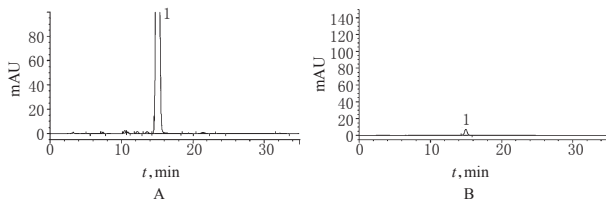


图2 有关物质检查高效液相色谱图  
A.供试品溶液;B.对照溶液;1.盐酸丁丙诺啡

Fig 2 HPLC chromatogram of related substances

A. test sample solution; B. solution control; 1. buprenorphine hydrochloride

## 2.10 样品含量测定结果

分别精密量取“2.2.2”项下供试品溶液和对照品溶液各100  $\mu\text{l}$ ,进样分析。结果,批号为20120101、20120102、20120103的样品中盐酸丁丙诺啡含量分别为96.4%、96.3%、96.2%。

## 3 讨论

### 3.1 流动相的选择

笔者分别采用自拟色谱条件[流动相:1%醋酸铵溶液(含0.1%冰醋酸)-甲醇(15:85)]与文献<sup>[4]</sup>的色谱条件[流动相:1%醋酸铵溶液-甲醇(15:85)]、文献<sup>[2]</sup>的色谱条件[流动相:甲醇-乙腈-2%醋酸铵溶液-冰醋酸(60:10:40:5)]进行有关物质检查

结果的比较。结果,3种条件下检出杂质个数分别为10、7、3个,总杂质质量分别为1.0%、0.9%、0.4%。表明自拟色谱条件的杂质检出能力最强,其色谱图见图3。

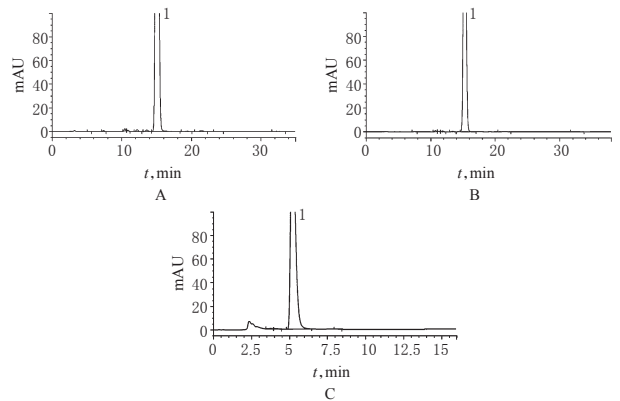


图3 3种色谱条件下样品的高效液相色谱图

A.本文条件;B.《欧洲药典》条件;C.《中国药典》条件;1.盐酸丁丙诺啡  
Fig 3 HPLC chromatograms of sample under 3 chromatographic conditions

A. condition of new standard; B. condition of European Pharmacopoeia; C. condition of Chinese Pharmacopoeia; 1. buprenorphine hydrochloride

### 3.2 检测波长的选择

由于《美国药典》32版、《欧洲药典》7.0版中盐酸丁丙诺啡原料药有关物质测定波长均为288 nm,同时对盐酸丁丙诺啡对照品溶液进行紫外扫描后显示,其也在288 nm波长处有最大吸收,故采用288 nm波长测定本品的有关物质。

### 3.3 杂质限度的确定

根据供试品实测结果、ICH中的杂质限度要求,暂定本品总杂质限度为不得过1.5%,单一杂质不得过0.5%(本品的日用量小于10 mg,杂质限度为0.5%)。

## 参考文献

- [1] 陈新谦,金有豫,汤光.新编药理学[M].16版.北京:人民卫生出版社,2007:175.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:628-629.
- [3] 美国药典委员会.美国药典[S].32版.罗克韦尔(Rockville):美国药典委员会出版社,2009:1 721.
- [4] 欧洲药品质量委员会.欧洲药典[S].7.0版.斯特拉斯堡(Strasbourg):欧洲药品质量委员会出版社,2010:1 523-1 524.
- [5] 周海钧.药品注册的国际技术要求质量部分[M].北京:人民卫生出版社,2007:99-110.

(收稿日期:2012-08-24 修回日期:2012-09-11)

《中国药房》杂志——《剑桥科学文摘》(CSA)收录期刊,欢迎投稿、订阅