

# RP-HPLC法测定盐酸左西替利嗪咀嚼片中的有关物质

卢彦芳<sup>1\*</sup>, 林敏<sup>2</sup>(1.河北医科大学第二医院药学部, 石家庄 050000; 2.浙江海正药业股份有限公司药理中心, 浙江台州 318000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)18-2570-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.18.41

**摘要** 目的: 建立测定盐酸左西替利嗪咀嚼片中有关物质的方法。方法: 采用反相高效液相色谱法。色谱柱为 Venusil XBP-CN, 流动相为乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液(以磷酸调节 pH 至 3.0)(60:40, V/V), 检测波长为 230 nm, 流速为 1.0 ml/min, 柱温为 25 ℃, 进样量为 20 μl。结果: 盐酸左西替利嗪与有关物质分离度良好; 盐酸左西替利嗪检测质量浓度线性范围为 1.2~2.8 μg/ml ( $r=0.9999$ ); 定量限和检测限分别为 1.4、0.3 ng/ml; 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD < 1%; 加样回收率为 96.3%~105.0%, RSD = 1.7% ( $n=9$ ); 样品中有关物质含量 ≤ 0.17%。结论: 该方法操作简单, 灵敏度高, 重复性好, 结果准确、可靠, 可用于盐酸左西替利嗪原料药及其制剂的有关物质测定。

**关键词** 盐酸左西替利嗪咀嚼片; 有关物质; 反相高效液相色谱法

## Determination of Related Substance in Levo-cetirizine Hydrochloride Chewable Tablet by RP-HPLC

LU Yanfang<sup>1</sup>, LIN Min<sup>2</sup> (Dept. of Pharmacy, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China; 2. Pharmacology Research Center, Zhejiang Hisun Pharmaceutical Co., Ltd., Zhejiang Taizhou 318000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the determination of related substances in Levo-cetirizine hydrochloride chewable tablet. METHODS: RP-HPLC was performed on the column of Venusil XBP-CN with mobile phase of acetonitrile-0.05 mol/L Sodium dihydrogen phosphate solution (pH value adjusted to 3.0 by phosphoric acid) (60:40, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 230 nm, column temperature was 25 ℃, and volume injection was 20 μl. RESULTS: Levo-cetirizine hydrochloride chewable tablet showed good separation with related substances; the linear range of levo-cetirizine hydrochloride was 1.2-2.8 μg/ml ( $r=0.9999$ ); the quantification limit and detection limit was 1.4 ng/ml and 0.3 ng/ml, respectively; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1%; recovery was 96.3%-105.0% (RSD = 1.7%,  $n=9$ ); the contents of related substances were no more than 0.17%. CONCLUSIONS: The method is simple, sensitive, reproducible, accurate and reliable, and can be used for the determination of related substances in Levo-cetirizine hydrochloride chewable tablet.

**KEYWORDS** Levo-cetirizine hydrochloride chewable tablet; Related substance; RP-HPLC

盐酸左西替利嗪(Levo-cetirizine hydrochloride)属新一代高效无镇静副作用的H<sub>1</sub>受体拮抗药,用于治疗过敏性鼻炎和慢性自发性荨麻疹等过敏性疾病<sup>[1-2]</sup>。该药具有抗组胺活性强、无镇静副作用、安全性好、临床疗效好、适用人群广等优点。随着盐酸左西替利嗪在抗组胺药市场上的占有率不断提高,新开发的盐酸左西替利嗪制剂也越来越多。盐酸左西替利嗪咀嚼片与普通片剂相比具有分散状态佳、崩解时间短、药物溶出迅速、吸收快、生物利用度高等优点,方便老人、儿童、吞服困难及胃肠功能差的患者用药<sup>[3]</sup>。曾有文献报道采用高效液相色谱(HPLC)法测定盐酸左西替利嗪口腔崩解片的含量及有关物质,但专属性试验条件烦琐,耗时长<sup>[4]</sup>。本研究中,笔者采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法对自制的盐酸左西替利嗪咀嚼片的有关物质进行测定,进一步优化了色谱条件以及专属性试验条件,缩短了破坏处理时间,所建立的方法简便、准确、专属性强。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1260型HPLC仪,包括四元泵、自动进样器、柱温箱、紫外

监测器、色谱工作站(美国Agilent公司);BS124S型电子天平(北京赛多利斯天平有限公司);98-1-B型电子调温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司);HH.S11-NI2型电热恒温水浴箱(北京精科华瑞仪器有限公司);KQ220型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

盐酸左西替利嗪对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100659-200401,纯度:99.9%);盐酸左西替利嗪咀嚼片(浙江海正药业股份有限公司自制,批号:20150422、20150424、20150426);乙腈为色谱纯,盐酸、磷酸、磷酸二氢钠均为分析纯,水为重蒸水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Venusil XBP-CN(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相: 乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液(以磷酸调节 pH 至 3.0)(60:40, V/V);检测波长: 230 nm;流速: 1.0 ml/min;柱温: 25 ℃;进样量: 20 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取盐酸左西替利嗪对照品约 5 mg,精密称定,置于 25 ml 量瓶中,加流动相超声(功率: 80 W, 频率: 40

\* 主管药师。研究方向: 临床药学、药物质量控制。电话: 0311-66002773。E-mail: luyanfang2007@126.com

kHz,下同)溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 供试品溶液 取样品20片,将其研细、混匀,精密称取细粉适量(约含主药5 mg),置于25 ml量瓶中,加流动相超声溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 空白样品溶液 按处方比例称取空白辅料适量,置于25 ml量瓶中,加流动相超声溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

### 2.3 系统适用性和专属性试验

2.3.1 系统适用性试验 取“2.2”项下空白样品溶液、对照品溶液和供试品溶液各适量,分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。由图1可知,色谱基线平稳,主成分峰与杂质峰分离度 $>2.0$ ,理论板数以盐酸左西替利嗪峰计 $>15\ 000$ 。

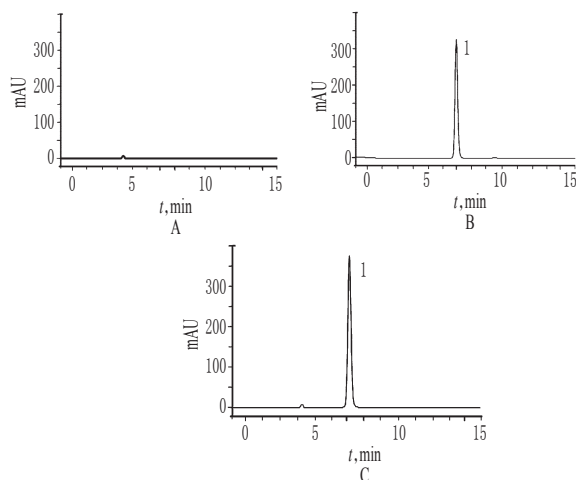


图1 系统适用性试验高效液相色谱图

A. 空白样品; B. 对照品; C. 供试品; 1. 盐酸左西替利嗪

#### Fig 1 HPLC chromatograms of system suitability test

A. blank sample; B. reference substance; C. test sample; 1. levo-cetirizine hydrochloride

2.3.2 专属性试验 (1)酸破坏试验。精密称取样品细粉适量,加1 mol/L 盐酸溶液20 ml,加热回流1 h,冷却,滤过,取续滤液用1 mol/L 氢氧化钠溶液调节pH至中性,加流动相稀释至适宜浓度。(2)碱破坏试验。精密称取样品细粉适量,加1 mol/L 氢氧化钠溶液20 ml,加热回流1 h,冷却,滤过,取续滤液用1 mol/L 盐酸溶液调节pH至中性,加流动相稀释至适宜浓度。(3)热破坏试验。精密称取样品细粉适量,置于180 °C烘箱中烘烤0.5 h,取出后冷却至室温,然后取适量加流动相溶解并稀释至适宜浓度。(4)氧化破坏试验。精密称取样品细粉适量,加30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20 ml,于70 °C水浴中加热20 min,冷却,滤过,取续滤液加流动相稀释至适宜浓度。另取空白辅料细粉适量,分别按照上述酸破坏、碱破坏、热破坏和氧化破坏条件同法试验,得到上述4种条件下的空白样品。分别取上述经破坏处理的溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图2。由图2可知,样品经酸破坏、碱破坏、热破坏和氧化破坏处理后,降解产物增加,杂质增多,而盐酸左西替利嗪峰与降解产物和杂质峰分离度均良好,且空白辅料对测定结果均无干扰。

#### 2.4 线性关系考察

精密称取盐酸左西替利嗪对照品10 mg,置于100 ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,精密吸取4 ml,置于100 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备

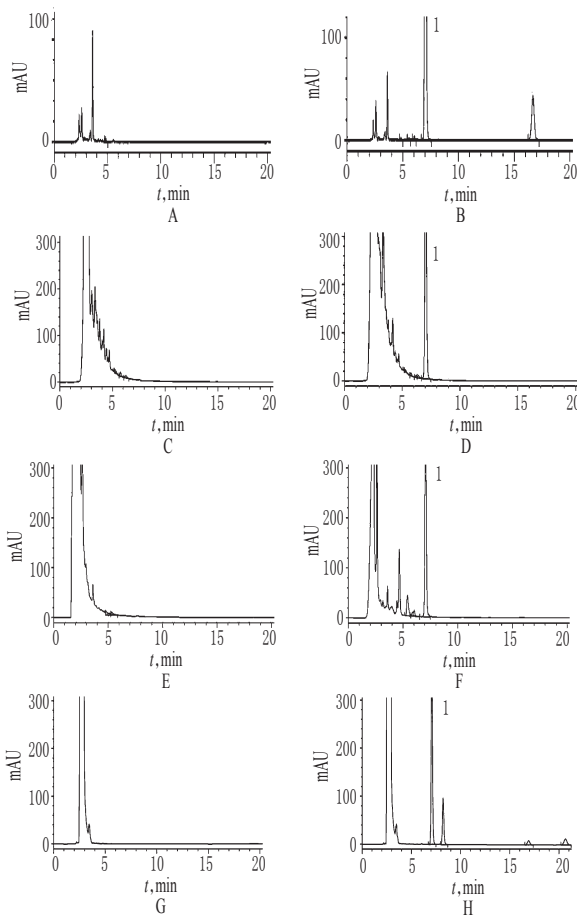


图2 专属性试验高效液相色谱图

A. 酸破坏空白样品; B. 酸破坏样品; C. 碱破坏空白样品; D. 碱破坏样品; E. 热破坏空白样品; F. 热破坏样品; G. 氧化破坏空白样品; H. 氧化破坏样品; 1. 盐酸左西替利嗪

#### Fig 2 HPLC chromatograms of specificity tests

A. blank samples destroyed by acid; B. sample destroyed by acid; C. blank sample destroyed by alkaline; D. sample destroyed by alkaline; E. blank sample destroyed by heat; F. sample destroyed by heat; G. blank destroyed by oxidation; H. sample destroyed by oxidation; 1. levo-cetirizine hydrochloride

液。精密吸取上述对照品贮备液3、4、5、6、7 ml,分别置于10 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以盐酸左西替利嗪质量浓度( $x$ ,  $\mu\text{g/ml}$ )为横坐标、峰面积( $y$ )为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $y=38.385x-0.776$ ( $r=0.999\ 9$ )。结果表明,盐酸左西替利嗪检测质量浓度线性范围为1.2~2.8  $\mu\text{g/ml}$ 。

#### 2.5 检测限与定量限考察

取“2.4”项下最低质量浓度的线性工作溶液逐级稀释,分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,以信噪比约为3:1时的溶液质量浓度为检测限,以信噪比约为10:1时的溶液质量浓度为定量限。结果,在该色谱条件下,盐酸左西替利嗪的检测限为0.3 ng/ml,定量限为1.4 ng/ml。

#### 2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,盐酸左西替利嗪峰面积的RSD=0.07%( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

#### 2.7 稳定性试验

取样品(批号:20150424)适量,按“2.2.2”项下方法制备供

试品溶液,分别于室温下放置0、1、2、4、8 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,盐酸左西替利嗪峰面积的RSD=0.5% (n=5),表明室温放置8 h内供试品溶液的稳定性良好。

### 2.8 重复性试验

取样品(批号:20150424)适量,共6份,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算含量。结果,盐酸左西替利嗪含量的RSD=0.5% (n=6),表明本方法重复性良好。

### 2.9 加样回收率试验

取样品(批号:20150424)适量,共9份,分别加入低、中、高3种不同质量浓度的对照品溶液适量,每种浓度各3份,再分别加流动相超声溶解并稀释至刻度,摇匀,按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery tests (n=9)

编号	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
1	2.52	2.04	4.52	99.1		
2	2.52	2.04	4.64	101.8		
3	2.52	2.04	4.39	96.3		
4	2.52	2.56	5.11	100.6		
5	2.52	2.56	5.23	103.0	101.1	1.7
6	2.52	2.56	5.19	102.2		
7	2.52	3.07	5.56	99.5		
8	2.52	3.07	5.87	105.0		
9	2.52	3.07	5.70	102.0		

### 2.10 样品有关物质测定

精密称取3批样品各适量(含盐酸左西替利嗪约5 mg),分别置于25 mg量瓶中,加流动相超声溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,作为供试品溶液。精密吸取1 ml供试品溶液,置于100 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照溶液。按“2.1”项下色谱条件,精密量取对照溶液20 μl注入HPLC仪,调节检测灵敏度,使主峰峰高为满量程的10%~20%,再精密量取供试品溶液20 μl注入HPLC仪,记录色谱至主峰保留时间的2倍。采用自身对照法<sup>[6]</sup>测定样品中的有关物质,以对照溶液中盐酸左西替利嗪峰面积计算有关物质的量,结果见表2。

表2 样品有关物质测定结果(n=3)

Tab 2 Determination results of related substances in samples (n=3)

批号	有关物质,%	RSD,%
20150422	0.17	0.3
20150424	0.14	0.2
20150426	0.15	0.2

## 3 讨论

在对本品进行专属性破坏试验的时候,笔者对酸、碱、热、氧化的条件进行了摸索,经过多次试验确定各个破坏条件。进行碱破坏加热回流时发现不能使液体沸腾太过剧烈,而且时间不可过长,否则会导致主药破坏过于严重。而对样品进行热破坏时发现,应将样品铺在大小适宜的容器中,并使样品疏松保持约5 mm的厚度,才不至于使主药被破坏过度,此时样品受热均匀,热破坏效果较好;另外,刚开始摸索热破坏条件时曾采用相关文献<sup>[9]</sup>的方法,于120 ℃下烘烤12 h,结果发现此条件会将主药几乎被破坏殆尽,因此笔者通过调整温度和缩短时间,最终确定以文中条件进行热破坏试验。在进行氧化破坏时,如果参照相关文献<sup>[7]</sup>方法加入适量3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>常温放置4 h后检验,发现几乎没有多大的破坏作用,后来加剧破坏条件,在水浴加热的条件下破坏,经过多次摸索,发现在加入适量30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>于70℃水浴中加热20 min就能破坏到比较合适的程度,而且节约时间。

综上所述,本方法操作简单,灵敏度高,重复性好,结果准确、可靠,可用于盐酸左西替利嗪原料药及其制剂的有关物质测定。

### 参考文献

- [1] Kapp A, Wedi B. Chronic urticaria: clinical aspects and focus on a new antihistamine, levocetirizine [J]. *J Drugs Dermatol*, 2004, 3(6):632.
- [2] Day JH, Ellis AK, Rafeiro E. Levocetirizine: a new selective H<sub>1</sub> receptor antagonist for use in allergic disorders [J]. *Drugs Today*, 2004, 40(5): 415.
- [3] 施昕磊,黄绳武.咀嚼片的研究进展[J]. *中国药业*, 2008, 17(14):17.
- [4] 张理星,孙建合,朱啸风,崔志红.盐酸左西替利嗪口腔崩解片的含量及有关物质测定[J]. *中国药业*, 2008, 17(12):47.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社, 2015: 色谱法61.
- [6] 张小娟,龚伟,蒋金富,等.RP-HPLC测定长春西汀冻干乳剂的含量极其有关物质[J]. *军事医学科学院院刊*, 2010, 34(2):143.
- [7] 刘建华,尹继业,杨德柱.硝酸咪康唑软膏有关物质检查方法的建立[J]. *医药导报*, 2007, 26(9):1 081.

(收稿日期:2015-07-05 修回日期:2016-05-11)

(编辑:周 箐)

《中国药房》杂志——中国生物医学期刊引文数据库(CMCI)收录期刊,欢迎投稿、订阅