

HPLC法测定右旋兰索拉唑缓释胶囊的光学纯度

宋素异^{1*}, 刘奎利², 房伟³(1.郑州市第一人民医院, 郑州 450004; 2.郑州大桥医院, 郑州 450006; 3.河南中医药大学第一附属医院, 郑州 450000)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)29-2754-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.29.22

摘要 目的:建立一种右旋兰索拉唑缓释胶囊光学纯度测定的新方法。方法:在手性柱上拆分兰索拉唑,用高效液相色谱仪进行测定,色谱柱为Chiralcel OZ-H,流动相为正己烷-异丙醇(3:1),流速为0.7 ml/min,柱温为40℃,检测波长为284 nm,进样量为20 μl。结果:在测定条件下,右旋兰索拉唑检测质量浓度线性范围为0.096 64~0.302 mg/ml($r=0.999\ 9$),低、中、高3种质量浓度的回收率为99.75%~100.02%, $RSD<0.15\%$ ($n=3$)。结论:该方法操作简单,回收率、精密度均较好,可作为右旋兰索拉唑缓释胶囊的光学纯度测定方法。

关键词 右旋兰索拉唑缓释胶囊;光学纯度;高效液相色谱法

Determination of Optical Purity of Dexlansoprazole Sustained-release Capsules by HPLC

SONG Su-yi¹, LIU Kui-li², FANG Wei³(1.Zhengzhou First People's Hospital, Zhengzhou 450004, China; 2. Zhengzhou Big Bridge Hospital, Zhengzhou 450006, China; 3.The First Affiliated Hospital of Henan University of TCM, Zhengzhou 450000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the determination of optical purity of dexlansoprazole sustained-release capsules. METHODS: Lansoprazole was separated by using chiral column, and HPLC method was adopted for the determination. Chiralcel OZ-H column was used with mobile phase consisted of *n*-hexane-isopropyl alcohol (3:1) at the flow rate of 0.7 ml/min. The determination wavelength was 284 nm and column temperature was 40 °C. The injection volume was 20 μl. RESULTS: The linear range of dexlansoprazole were 0.096 64-0.302 mg/ml ($r=0.999\ 9$). The recoveries were 99.75%-100.02% at low, medium and high concentrations ($RSD<0.15\%$, $n=3$). CONCLUSIONS: The method is simple and has good recovery and precision. It can be used for the determination of optical purity of dexlansoprazole sustained-release capsules.

KEYWORDS Dexlansoprazole sustained-release capsules; Optical purity; HPLC

兰索拉唑(Lansoprazole)是一种苯并咪唑衍生物,通过抑制胃黏膜壁细胞的质子泵(即 H^+ , K^+ -ATP酶)活性从而有效地抑制胃酸的分泌,临床上已广泛用于胃、十二指肠溃疡、反流性食管炎、卓-艾综合征及对 H_2 受体阻滞药抵抗的酸相关性疾病的治疗^[1]。目前国内市场上销售的主要是兰索拉唑消旋体,有文献报道右旋兰索拉唑较兰索拉唑的治愈率更高、耐受性更好^[2]。右旋兰索拉唑是兰索拉唑的右旋对映体,与左旋兰索拉唑的抑酸活性相当,但其在体内平均滞留时间更长、消除速率远小于消旋体,有更好的药动学性质^[3]。

手性药物对映异构体的光学纯度测定在手性药物的开发和质量控制及生命科学研究中具有非常重要的意义。手性固定相高效液相色谱(HPLC)法具有专属性强、分离效率高、测定灵敏度高、分析速度快等优点,可以准确测定手性对映体光学纯度,其中,纤维素类手性固定相(如Chiralcel OZ-H)是发展最快、拆分手性化合物范围最广的一类手性固定相^[4]。有关右旋兰索拉唑光学纯度的分析国内尚未见文献报道,本文采用手性固定相HPLC法测定其光学纯度,为国内类似制剂的研发及质量控制等提供参考。

1 材料

1.1 仪器

LC-15C HPLC仪(日本岛津公司);色谱柱:Chiralcel

* 主管药师,硕士。研究方向:临床药学。电话:0371-56580326。

E-mail: songsuyi8195@163.com

OZ-H[大赛璐(中国)投资有限公司,250 mm×4.6 mm,5 μm]; BP211型1/10万天平(德国Sartorius公司);WFZ800-D3B紫外-可见分光光度计(北京瑞利公司);8892 cole pormar超声仪(宁波海曙科生超声设备有限公司)。

1.2 药品与试剂

右旋兰索拉唑缓释胶囊样品(批号:110101、110102、110103,规格:每粒30 mg)、左旋兰索拉唑对照品(批号:20101001,纯度:99.80%)、右旋兰索拉唑对照品(批号:20101101,纯度:99.80%)均来源于郑州兰索化工科技有限公司;兰索拉唑对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100709-200902,纯度:99.80%);正己烷、异丙醇均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液的配制

0.2 mg/ml兰索拉唑对照品溶液:精密称取兰索拉唑对照品0.005 00 g,置于25 ml量瓶中,用流动相定容,即得。

0.302 mg/ml右旋兰索拉唑对照品溶液:精密称取右旋兰索拉唑对照品0.030 26 g,置于100 ml量瓶中,用流动相定容,即得。其他系列质量浓度溶液用流动相稀释即得。

0.302 mg/ml左旋兰索拉唑对照品溶液:精密称取左旋兰索拉唑对照品0.030 26 g,置于100 ml量瓶中,用流动相定容,即得。其他系列质量浓度溶液用流动相稀释即得。

样品溶液:取胶囊10粒,内容物研细,称取0.030 00 g(约

相当于右旋兰索拉唑0.005 00 g),用流动相溶解于25 ml并稀释至刻度,摇匀,滤过。

2.2 分离条件的筛选

2.2.1 测定波长的选择。分别精密称取右旋兰索拉唑和兰索拉唑对照品适量,加甲醇制成10 $\mu\text{g/ml}$ 的溶液,照紫外-可见分光光度法测定。结果显示,无论是右旋兰索拉唑还是兰索拉唑对照品,均在284 nm波长处有最大吸收,故选择284 nm的波长为检测波长。

2.2.2 流动相的选择。以Chiralcel OZ-H为手性色谱柱,流速为0.7 ml/min,检测波长为284 nm,柱温为40 $^{\circ}\text{C}$,进样量为20 μl 。在此条件下取兰索拉唑对照品溶液,考察流动相正己烷-异丙醇的比例为7:3、3:2、3:1时的分离情况。结果左旋和右旋兰索拉唑主峰分离度分别为1.30、1.26和2.89,前两者的分离度不符合要求,故选择正己烷-异丙醇(3:1)为光学纯度检测的流动相。

2.2.3 柱温的选择。柱温是HPLC手性拆分的一个重要影响因素,会影响分析时间、分离因子和分离度。手性拆分是一个熵驱动过程,分离因子和柱效随温度的升高而升高^[5]。在流动相正己烷-异丙醇的比例为3:1时,其他条件同“2.2.2”项,考察柱温为15、25、35、40 $^{\circ}\text{C}$ 时兰索拉唑的拆分情况。结果出峰时间随柱温的升高而缩短,分离度均在1.5以上。综合考虑分离效果和分析时间,选择最佳温度为40 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.2.4 流速的选择。其他条件同“2.2.2”项,考察流速为0.5、0.7、0.9、1.0 ml/min时对分离度的影响。结果分离因子随流速增大而升高,但分离度显著下降,分离度分别为3.33、2.89、1.57、1.36。综合考虑分离度和分离因子,最终确定最佳流速为0.7 ml/min。

2.3 色谱分离条件

以Chiralcel OZ-H为色谱柱,正己烷-异丙醇(3:1)为流动相(流动相均经0.45 μm 滤膜滤过并超声脱气处理),流速为0.7 ml/min,检测波长为284 nm,柱温为40 $^{\circ}\text{C}$,样品用流动相溶解,进样量为20 μl 。

2.4 光学纯度测定

2.4.1 空白溶剂影响。按上述确定的HPLC条件,取空白溶剂进样20 μl ,记录色谱图,见图1A。

2.4.2 左、右旋兰索拉唑的定位。分别精密量取左旋和右旋兰索拉唑对照品溶液适量,用流动相稀释成0.2 mg/ml的溶液,摇匀,分别进样20 μl ,记录色谱图,见图1B、C。

2.4.3 分离度试验。精密量取20 μl 兰索拉唑对照品溶液,进样,记录色谱。可见右旋兰索拉唑主峰保留时间为25.126 min,左旋兰索拉唑主峰保留时间为33.881 min,分离度为2.835,符合要求,详见图1D。

2.4.4 标准曲线、检测限、定量限试验。精密称取右旋兰索拉唑对照品溶液10、8.2、6.6、5.5、3.2 ml,分别置于10 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,配制成质量浓度为302.00、247.64、199.32、166.10、96.640 $\mu\text{g/ml}$ 的系列溶液,分别进样3次。结果右旋兰索拉唑检测质量浓度在96.640~302.00 $\mu\text{g/ml}$ 范围内,测得其峰面积(y)与其质量浓度(x)具有良好的线性关系,回归方程为 $y=50\ 083x+4\ 479$ ($r=0.999\ 9$)。当信噪比为3和10时,计算检测限和定量限分别为0.02、0.2 $\mu\text{g/ml}$ 。

2.4.5 精密性、溶液稳定性试验。取高、中、低(247.60、199.30、

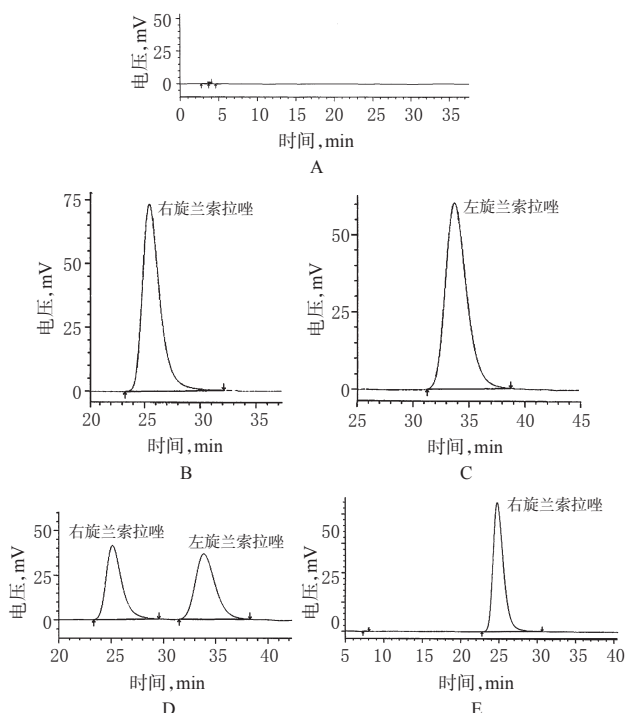


图1 高效液相色谱图

A.空白溶剂;B.右旋兰索拉唑对照品;C.左旋兰索拉唑对照品;D.兰索拉唑对照品;E.样品

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank solvent; B. *d*-dexlansoprazole control; C. *l*-lansoprazole control; D. lansoprazole control; E. samples

166.10 $\mu\text{g/ml}$)3个质量浓度的右旋兰索拉唑对照品溶液分别重复进样3次,结果峰面积的RSD分别为0.37%、0.90%、0.81%($n=3$),均 $<1.0\%$ 。将199.30 $\mu\text{g/ml}$ 的右旋兰索拉唑对照品溶液重复进样6次,峰面积的RSD为0.03%($n=6$),表明方法精密性良好。精密量取199.30 $\mu\text{g/ml}$ 的溶液20 μl ,分别在0、1、2、4 h进样,结果峰面积的RSD为0.65%($n=4$),在4 h内变化不大,表明溶液相对较稳定。

2.4.6 回收率试验。按处方,取高(120%)、中(100%)、低(80%)3种量的右旋兰索拉唑对照品,分别加入处方量的辅料置于同一量瓶中,加流动相适量溶解,摇匀,滤过。精密量取溶液20 μl ,记录峰面积,并计算回收率,每个质量浓度测定3份,结果分别为100.02%、99.96%、99.75%,RSD分别为0.11%、0.03%、0.14%($n=3$),均 $<0.15\%$;总平均回收率和RSD分别为99.91%和0.09%($n=3$)。

2.4.7 样品光学纯度测定。取样品溶液20 μl ,按上述色谱条件进样测定,见图1E(批号:110101)。测得3个批号样品的光学纯度分别为99.80%、99.84%、99.81%,RSD=1.7%($n=3$)。

3 讨论

目前已上市的兰索拉唑的产品有日本北美武田公司的右旋兰索拉唑软胶囊,本文所用制剂为国内仿制制剂。右旋兰索拉唑原料药纯度为99.8%,在选定测定条件下,制剂中未检出左旋兰索拉唑,仅在成分峰前出现1个杂质峰。经笔者查阅国内外文献,多为消旋兰索拉唑或同类药物及其相关物质^[6-7]的研究报道,未见右旋兰索拉唑纯度测定的文献报道;而本文采用手性固定相HPLC法拆分、测定右旋兰索拉唑,结果表明

高效毛细管电泳法分离氟西汀和联苯苄唑的对映体

滕怀凤*,李尚颖,刘慧颖(辽宁省药品检验检测院,沈阳 110023)

中图分类号 R917;R978.5;R971⁺.43 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)29-2756-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.29.23

摘要 目的:建立拆分氟西汀和联苯苄唑两种药物手性对映体的方法。方法:采用高效毛细管电泳法,以羧甲基-β-环糊精(CM-β-CD)为手性选择剂,以未涂层熔融石英毛细管柱为分析柱,重力进样5 s,高度差10 cm,柱温20 ℃。分别对缓冲盐浓度、手性选择剂的浓度、缓冲盐的pH、分离电压进行考察,确定两种药物最佳分离条件;并以分离度为指标对两种药物的原料药进行分离验证试验。结果:氟西汀对映体在pH 4.5的30 mmol/L NaH₂PO₄缓冲溶液(含1.0% CM-β-CD)为运行电解质时达到最佳分离,分离度为3.70;联苯苄唑对映体在pH 3.0的30 mmol/L NaH₂PO₄缓冲溶液(含1.0% CM-β-CD)为运行电解质时达到最佳分离,分离度为5.44。方法精密度的RSD均≤0.9%(n=6)。结论:CM-β-CD的加入对氟西汀和联苯苄唑有很高的对映体选择性,可有效分离两种药物;建立的方法精密度好、经济、简便、快捷。

关键词 高效毛细管电泳法;氟西汀;联苯苄唑;手性分离;羧甲基-β-环糊精

Separation of Fluoxetine and Bifonazole Enantiomer by High Performance Capillary Electrophoresis

TENG Huai-feng, LI Shang-ying, LIU Hui-ying (Liaoning Provincial Institute for Drug Control, Shenyang 110023, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the separation of chiral enantiomers of fluoxetine and bifonazole. METHODS: High performance capillary electrophoresis was established using carboxymethyl-β-cyclodextrin (CM-β-CD) as chiral selective agent; the separation of enantiomers was performed on uncoated fused-silica capillary column with gravity sampling time of 5 s, height difference of 10 cm and column temperature of 20 ℃; the concentration and pH value of phosphate buffer, the concentration of chiral selective agent and the separation voltage were investigated, and the optimal separation condition of 2 kinds of drugs were determined. The validation test of 2 kinds of raw materials was conducted using separation rate as index. RESULTS: Under the optimal conditions, the resolutions of fluoxetine and bifonazole enantiomers were 3.70 and 5.44 by using 30 mmol/L NaH₂PO₄ buffer solution (pH 4.5 and 3.0, containing 1.0% CM-β-CD) as running electrolyte, respectively. RSD of method precision was ≤ 0.9% (n=6). CONCLUSIONS: CM-β-CD is high enantio-selective for the fluoxetine and bifonazole and can separate them effectively. The method is accurate, economical, convenient and rapid.

KEYWORDS High performance capillary electrophoresis; Fluoxetine; Bifonazole; Chiral separation; Carboxymethyl-β-cyclodextrin

不同的立体异构体在体内的药理学、药动学和毒理学性质不同,并表现出不同的治疗作用与不良反应,因此对映体的分离具有重要意义^[1]。拆分光学对映体的方法有很多种,常用

的高效液相色谱法有的采用手性柱进行分离^[2],但采用手性柱分离费用高,适合的种类少,柱效比较低,无法满足众多手性药物分离的需要。高效毛细管电泳(HPCE)法是近十几年高

该方法操作简单,线性、重复性、回收率、精密度均较好,可作为右旋兰索拉唑缓释胶囊的光学纯度测定方法。

参考文献

- [1] 兰聪贤,刘倩,周燕文.兰索拉唑肠溶片健康人体药动学研究[J].中国药房,2007,18(8):588.
- [2] 金荣庆,刘树芳,陈小玲.R-兰索拉唑的合成[J].中南药学,2011,9(9):667.
- [3] 房超,包冰初,陈庆华.右旋兰索拉唑双相控释制剂的药动学研究及其临床疗效[J].世界临床药物,2011,32(7):428.
- [4] 张义文,宋航,林凡,等.手性固定相HPLC法拆分3-叔丁

- 基己二酸对映体[J].分析测试学报,2010,29(7):739.
- [5] 翁文,姚碧霞,陈秀琴,等.液相色谱手性拆分机理的热力学方法研究[J].化学进展,2006,18(7):1 056.
- [6] Toribio L, del Nozal MJ, Bernal YL, et al. Semipreparative chiral supercritical fluid chromatography in the fractionation of lansoprazole and two related antiulcer drugs enantiomers[J]. *J Sep Sci*, 2008, 31(8):1 307.
- [7] Andersson S, Nelander H, Ohlen K. Preparative chiral chromatography and chiroptical characterization of enantiomers of omeprazole and related benzimidazoles[J]. *Chirality*, 2007, 19(9):706.

*主管药师,硕士。研究方向:药物分析。电话:024-25435807。E-mail:nicole.teng@163.com

(收稿日期:2013-09-27 修回日期:2013-11-25)