

复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊中盐酸异丙嗪和氯氮草的有关物质分析

陈晓英*(福建生物工程职业技术学院,福州 350002)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)41-3911-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.41.24

摘要 目的:建立测定复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊中盐酸异丙嗪和氯氮草产生的有关物质。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为ZORBAX SB-C₈,流动相为0.05 mol/L磷酸二氢铵(pH 3.2)-甲醇(梯度洗脱),检测波长为254 nm;按照对照品保留时间归属各杂质及采用液质联用法确定氯氮草中的杂质,面积归一化法计算51批10个企业样品中有关物质的量。结果:主成分与有关物质能有效分离,且空白辅料和其他组分对检测成分未见干扰,盐酸异丙嗪和氯氮草中杂质检测限分别为2.5、2 ng;51批次样品检查结果显示盐酸异丙嗪的杂质质量较低(均低于1%),而氯氮草的杂质质量普遍较高(大多在2%~5%),且后者中的主要杂质为7-氯-5-苯基-1,3-二氢-1,4-苯并二氮杂革-2-酮(4-氧化物)。结论:本方法可用于分析复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊中盐酸异丙嗪和氯氮草产生的有关物质。

关键词 复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊;盐酸异丙嗪;氯氮草;有关物质;高效液相色谱法

Analysis of Related Substances Produced by Promethazine Hydrochloride and Chlordiazepoxide in Compound Bendazol and Hydrochlorothiazide Capsules

CHEN Xiao-ying(Fujian Vocational College of Bio-engineering, Fuzhou 350002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the detection of related substance produced by promethazine hydrochloride and chlordiazepoxide in Compound bendazol and hydrochlorothiazide capsules. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on ZORBAX SB-C₈ column with mobile phase consisted of 0.05 mol/L ammonium dihydrogen phosphate (pH 3.2)-methanol (gradient elution). The detection wavelength was set at 254 nm. According to the retention time of substance control, LC-MS method was adopted to determine the impurity of chlordiazepoxide, and the amount of related substance in 51 batches of samples from 10 manufacturers were calculated by normalization method of peak area. RESULTS: Main component was separated from related substance, and test component didn't suffered from the interference from blank excipients and other component. The detection limits of impurity in promethazine hydrochloride and chlordiazepoxide were 2.5 ng and 2 ng. 51 batches of samples showed that the amount of impurities by promethazine hydrochloride was in low level (less than 1%), and that of chlordiazepoxide was generally high (mostly between 2%-5%). The impurity of the latter was 7-chloro-5-phenyl-1,3,2 hydro-1,4 benzodiazepine-2-ketone (4-oxide). CONCLUSIONS: This method could be used for detecting the related substances produced by promethazine hydrochloride and chlordiazepoxide in Compound bendazol and hydrochlorothiazide capsules.

KEYWORDS Compound bendazol and hydrochlorothiazide capsules; Promethazine hydrochloride; Chlordiazepoxide; Related substances; HPLC

复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊为复方降压药,是多组分复方制剂,其主要成分为:地巴唑、盐酸异丙嗪、磷酸氯喹、硫酸胍生、维生素B₆、氯化钾、利血平、氯氮草、氢氯噻嗪、乳酸钙、维生素B₁、三硅酸镁。国内文献多见其各主成分的含量测定^[1-5],而未见对其有关物质的分析。笔者对该制剂的有关物质进行了初步研究,结果发现与高慧钦^[6]报道相似,盐酸异丙嗪和氯

氮草性质不太稳定。为此,本研究采用高效液相色谱(HPLC)法对该制剂中盐酸异丙嗪和氯氮草产生的杂质进行了分析,并对市售的不同企业的51批产品进行了分析检测,为其质量控制提供依据。

1 材料

1.1 仪器

书[S].2010-08-20.

[6] 彭燕,张玲莉,刘红.鲎试剂法检测盐酸多普沙仑注射液中细菌内毒素的可行性[J].中国药师,2013,16(11):1743.

*讲师,工程师,硕士。研究方向:高职药理学课程教学、药物合成、分离纯化、药品质量控制。E-mail:80597194@qq.com

[7] 曹春雨,刘婷,郭静,等.显色基质法检测6种中药注射液内毒素含量[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(9):88.

[8] 李荣,吴玲.动态浊度法检测乳酸左氧氟沙星氯化钠注射液中的细菌内毒素[J].中国药房,2012,23(9):837.

(收稿日期:2014-01-13 修回日期:2014-03-06)

1100型液相色谱仪、6400 LC/MS(液质联用)仪(美国 Agilent 公司)。

1.2 药品与试剂

市售复方地巴唑氯氮嗪胶囊(厂家及批号见表1,规格:均为每粒0.25 g);盐酸异丙嗪原料药(批号:090214,纯度:99.2%)、氯氮草原料药(批号:171229-200603,纯度:99.92%)均由福建省药品检验所提供;磷酸二氢铵、磷酸、盐酸均为分析纯,甲醇为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相A:0.05 mol/L 磷酸二氢铵(用磷酸调节pH至3.2),流动相B:甲醇(梯度洗脱,0~20 min,60% A;20~50 min,60% A 渐降至15% A;50~55 min,15% A;56~60 min,60% A),流速:1.0 ml/min;检测波长:254 nm;柱温:室温;进样量:10 μl。

2.2 专属性试验

盐酸异丙嗪结构中含有吩噻嗪环,容易被氧化成醌型化合物,对光敏感,光照下吩噻嗪类化合物更易被氧化。根据此特性,将盐酸异丙嗪原料药同时进行光照(4 500 lx)和高温(60 ℃)处理,处理后的样品用0.1 mol/L 盐酸(以下简称盐酸)溶解,制成0.5 mg/ml的溶液(a)。

氯氮草的杂质参考2010年版《中国药典》二部^[6]中该品种有关物质项下及程东升报道^[7]。其主要有2个杂质,分别是2-氨基-5-氯-2-苯甲酮(简称化合物 I)和7-氯-5-苯基-1,3-二氢-1,4-苯并二氮杂卓-2-酮(4-氧化物,简称化合物 II),前者为氯氮草在酸中加热后的水解产物,后者为合成氯氮草的中间体遇氢氧化钠时扩环生成的产物。试验时将氯氮草原料药加1 mol/L 盐酸2 ml水浴10 min,再用盐酸制成0.5 mg/ml的溶液(b)。

取约2粒胶囊样品(批号:20111204)细粉于90 ℃加热处理后,置于25 ml棕色量瓶中用盐酸溶解并稀释至刻度,微孔滤膜滤过,作为破坏后供试品溶液(c)。

取约2粒胶囊样品(批号:20111204)细粉置于25 ml棕色量瓶中,用盐酸溶解并稀释至刻度,微孔滤膜滤过,作为供试品溶液(d)。

取上述溶液进样,记录色谱图见图1。

根据图1可知,在破坏试验中,无论是盐酸异丙嗪原料药还是胶囊样品,均存在1个保留时间约为5.4 min的杂质及主峰异丙嗪后面的2个杂质峰。

氯氮草破坏后杂质较多,44.26 min所显杂质峰经对照品确定为化合物 I,但实际上在供试品溶液中均只发现保留时间在26.85 min左右的杂质峰,而且峰较大。采用文献^[6]方法(液相-质谱),所显杂质峰经对照品初步确定该杂质为化合物 II,采用电喷雾(ESI)负离子模式确定。其准分子离子质荷比(m/z)为284.9,结果与程东升^[7]报道的该物质准分子离子 m/z 为285(大气压化学电离负离子模式,APCI)一致,因此可以确定该杂质为化合物 II。液相-质谱图见图2。

2.3 空白干扰试验

经调查,各不同厂家生产的该制剂的配方和工艺基本相似,按照该品配方制备缺主药成分盐酸异丙嗪和氯氮草的阴性

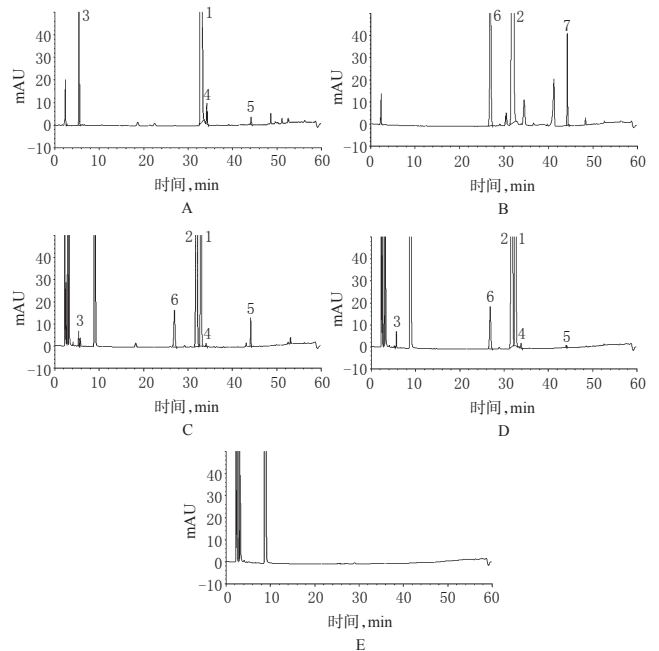


图1 高效液相色谱图

A.溶液a;B.溶液b;C.溶液c;D.溶液d;E.溶液e;1.异丙嗪;2.氯氮草;3.异丙嗪杂质 I;4.异丙嗪杂质 II;5.异丙嗪杂质 III;6.化合物 II;7.化合物 I

Fig 1 HPLC chromatograms

A. solution a; B. solution b; C. solution c; D. solution d; E. solution e; 1. promethazine; 2. chloridazepoxide; 3. promethazine impurity I; 4. promethazine impurity II; 5. promethazine impurity III; 6. compound II; 7. compound I

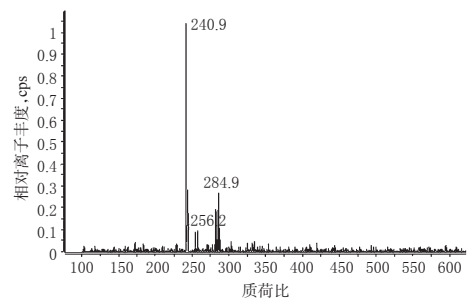


图2 化合物 II 的液相-质谱图(ESI 负离子)

Fig 2 LC/MS spectrum of compound II (ESI negative ion)

样品,按照与制备供试品溶液相同的方法制备成溶液 e,进样后记录色谱图。结果表明,在该色谱条件下阴性样品对主成分测定未见干扰,见图1E。

2.4 检测限与精密度试验

2.4.1 检测限:取盐酸异丙嗪和氯氮草原料药适量,精密称定,分别按照供试品溶液配制方法制备,再进行逐级稀释,进样后记录色谱图。计算二者的检测限分别为2.5、2 ng。

2.4.2 精密度:取溶液 d 连续进样6次,记录色谱图。结果盐酸异丙嗪和氯氮草主峰峰面积的RSD分别为0.73%、0.52% ($n=6$)。

2.5 稳定性试验

取溶液 d 在室温下放置,分别在0、2、4、6、8 h 取样测定,记录峰面积。结果盐酸异丙嗪和氯氮草主峰峰面积的RSD分别

为1.69%、1.09% (n=5),表明供试品溶液在8 h内稳定。

2.6 有关物质检查方法与结果

取胶囊2粒,除去囊壳,细粉置于25 ml棕色量瓶中用盐酸溶解并稀释至刻度,微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。按“2.1”项色谱条件,进样10 μ l,记录色谱图,采用杂质与各自主成分面积归一化法计算杂质的量。

10个企业51批市售胶囊样品经上述方法测定,其结果显示,盐酸异丙嗪的杂质含量均在1%以下,且各厂家的产品中该杂质的量都相对比较稳定;而氯氮草的杂质即化合物II的量普遍偏高,在1%以下的约占22%、1%~3%约占33%、3%以上的约占45%,最高的一批次甚至接近8%,详见表1。

表1 51批市售胶囊样品杂质检查结果

Tab 1 Results of impurity detection in 51 batches of commercially available capsule

批号	生产厂家	杂质含量, %	
		在氯氮草中	在盐酸异丙嗪中
110306	湖南康寿制药有限公司	5.1	0.5
20111204	福建延年药业有限公司	0.5	0.6
20111206	福建延年药业有限公司	0.6	0.5
110704	湖南德康制药股份有限公司	4.5	0.5
120303	湖南康寿制药有限公司	2.4	0.8
20111213	福州辰星药业有限公司	2.4	0.6
20120211	福建延年药业有限公司	0.4	0.4
120602	湖南德康制药股份有限公司	7.9	0.8
111006	西安天一秦昆制药有限责任公司	1.7	0.4
120401	湖南德康制药股份有限公司	2.8	0.7
20111212	福建延年药业有限公司	0.6	0.6
20111104	福建延年药业有限公司	0.6	0.6
120206	长沙东风药业有限公司	4.6	0.8
20120407	福建延年药业有限公司	0.5	0.5
20120406	福建延年药业有限公司	0.5	0.5
20120510	福州辰星药业有限公司	2.8	1.0
20120517	福州辰星药业有限公司	3.7	2.8
120301	山西皇城相府药业有限公司	1.3	0.7
120401	山西皇城相府药业有限公司	1.9	0.6
120408	湖南德康制药股份有限公司	2.0	0.4
110703	湖南德康制药股份有限公司	3.8	0.7
120601	湖南德康制药股份有限公司	3.0	0.5
110824	陕西京西药业有限公司	3.6	0.8
120203	湖南康寿制药有限公司	3.3	0.5
120609	长沙东风药业有限公司	5.5	0.5
20120306	福州辰星药业有限公司	2.7	0.6
20120320	福州辰星药业有限公司	3.1	0.7
110601	山西省临汾健民制药厂	2.6	0.8
120201	西安天一秦昆制药有限责任公司	2.5	0.9
110809	山西皇城相府药业有限公司	2.3	0.8
20120102	福建延年药业有限公司	0.5	0.6
20120209	福建延年药业有限公司	0.6	0.6
20120101	青海益欣药业有限责任公司	2.0	0.8
111101	西安天一秦昆制药有限责任公司	3.1	0.8
120102	湖南康寿制药有限公司	3.2	0.8
20110812	福建辰星药业有限公司	4.4	0.7
111101	山西省临汾健民制药厂	1.6	0.6
120302	湖南康寿制药有限公司	6.6	0.6
120319	长沙东风药业有限公司	5.5	0.6
120103	湖南康寿制药有限公司	4.0	0.8
110501	湖南康寿制药有限公司	5.3	0.8

续表1

Continued tab 1

批号	生产厂家	杂质含量, %	
		在氯氮草中	在盐酸异丙嗪中
120301	湖南德康制药股份有限公司	2.4	0.6
20111212	福建延年药业有限公司	0.5	0.5
120206	长沙东风药业有限公司	5.2	0.8
111101	山西省临汾健民制药厂	0.8	0.6
110705	山西皇城相府药业有限公司	1.7	0.6
20111220	福建辰星药业有限公司	4.0	0.7
120406	湖南德康制药股份有限公司	2.7	0.5
120303	湖南康寿制药有限公司	3.9	0.4
110827	陕西京西药业有限公司	3.2	0.8
110801	山西皇城相府药业有限公司	3.5	0.6

3 讨论

经二极管阵列检测器扫描发现,异丙嗪和氯氮草杂质最大吸收波长均在240 nm附近,而异丙嗪和氯氮草主峰的最大吸收波长在250~260 nm之间。在254 nm波长处异丙嗪、氯氮草和杂质均有较好的吸收,故选择该波长为杂质检测波长。

市售复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊中盐酸异丙嗪所产生的杂质,未见有文献报道其归属,而且在《中国药典》^[6]以及《美国药典》^[8]的盐酸异丙嗪的质量标准中均采用薄层色谱自身对照法进行有关物质检查,同时也未指明杂质归属。因此,复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊中盐酸异丙嗪所产生的杂质归属有待进一步研究。

根据初步原因排查,氯氮草的杂质质量普遍偏高可能与原料药的质量有关,但具体原因有待进一步研究。另外,氯氮草如何转化成其氧化物(化合物II)也未见报道,需要进一步探讨。

综上,本方法可用于分析复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊中盐酸异丙嗪和氯氮草产生的有关物质。

参考文献

- [1] 邓富良,饶均明,周平,等.HPLC测定复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊中五种成分的含量[J].中国药科大学学报,2004,35(5):446.
- [2] 修虹.HPLC法测定复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊中利血平的含量[J].海峡药学,2011,23(12):63.
- [3] 陈秀琳.HPLC法测定复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊中硫酸胍生、磷酸氯喹、维生素B₁和维生素B₆的含量[J].中国药品标准,2010,11(6):453.
- [4] 田宝勇,刘英华,杨晓华,等.火焰原子吸收法测定复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊中氯化钾含量[J].河北科技大学学报,2010,31(5):406.
- [5] 高慧钦.复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊工艺改进和质量研究[D].天津:天津大学,2009:1-53.
- [6] 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,2010:1 026.
- [7] 程东升.苯二氮草类药物有关物质的研究[D].北京:中国药品生物制品检定所,2007:28-42.
- [8] The United States Pharmacopeial Convention. USP32/NF27 [S]. Washington D.C.: The United States Pharmacopeial Convention, Inc.,2009:3 405.

(收稿日期:2014-07-23 修回日期:2014-08-28)