

HPLC法测定马洛替酯片的含量及有关物质

李彦艳^{1*}, 张连成², 王超众²(1.齐齐哈尔市第一医院药学部, 黑龙江 齐齐哈尔 161005; 2.齐齐哈尔市食品药品检验检测中心, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)15-2142-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.15.46

摘要 目的:建立测定马洛替酯片的含量及有关物质的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Waters Symmetry-C₁₈, 流动相为甲醇-水-醋酸(45:55:0.5, V/V/V), 检测波长为 362 nm, 流速为 1.0 ml/min, 柱温为 30 ℃, 进样量为 20 μl。结果:主成分峰与杂质峰均能达到基线分离;马洛替酯质量浓度在 1.50~30.0 μg/ml 范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.9996$);精密度、稳定性、重复性试验的 RSD≤1.05%;平均加样回收率为 99.74%, RSD=0.85%($n=9$)。结论:本法简便、准确、专属性好、精密度高,可用于马洛替酯片的质量控制。

关键词 马洛替酯片;高效液相色谱法;含量测定;有关物质

Determination of the Content of Malotilate Tablets and Related Substances by HPLC

LI Yan-yan¹, ZHANG Lian-cheng², WANG Chao-zhong²(1.Dept. of Pharmacy, the First Hospital of Qiqihaer City, Heilongjiang Qiqihaer 161005, China; 2.Qiqihaer Institute for Food and Drug Control, Heilongjiang Qiqihaer 161006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method of the content and related substances determination of Malotilate tablets. METHODS:HPLC was performed on the column of Waters Symmetry-C₁₈ with mobile phase of methanol-water-acetic acid (45:55:0.5, V/V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 362 nm, the column temperature was 30 ℃ and the volume was 20 μl. RESULTS: The main component peak and impurity peak could be baseline separated; there was a good linear relationship between the mass concentration of malotilate and peak area in the range of 1.50-30.0 μg/ml($r=0.9996$); the RSDs of precision, stability and reproducibility tests were no more than 1.05%; the average recovery was 99.74%(RSD=0.85%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate, specific and precise, and can be used for quality control of Malotilate tablets.

KEYWORDS Malotilate tablets; HPLC; Content determination; Related substances

马洛替酯可用于治疗慢性肝炎、肝硬化、晚期血吸虫病肝损伤和肺结核并发的低蛋白血症,目前已广泛应用于临床的保肝治疗^[1-3]。该药收载于《国家药品标准》第38册^[4],采用紫外分光光度法测定含量,采用薄层色谱法测定有关物质。紫外分光光度法简便易操作,但准确度和精密度较低;薄层色谱法测定有关物质准确度亦较低,人为因素影响较大。为此,笔者参考相关文献^[5],建立了采用高效液相色谱(HPLC)法测定马洛替酯片的含量及有关物质的方法,现报道如下。

1 材料

2695e HPLC仪,包括WVD检测器、Empower工作站(美国Waters公司);SK2510LHC型超声波机(上海科导超声仪器有限公司,功率:250 W,频率:50~60 Hz);BP211D型电子天平(德国赛多利斯公司)。

马洛替酯对照品(上海博顿生物化工有限公司,批号:420003-201301,纯度:99.95%);马洛替酯片(锦州九泰药业有限责任公司,批号:131102、130911、130428;江苏亚邦爱普森

药业有限公司,批号:130414、130712、130904);甲醇为色谱纯,醋酸为优级纯,水为二次蒸馏的纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Waters Symmetry-C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水-醋酸(45:55:0.5, V/V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:362 nm;柱温:30 ℃;进样量:20 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液 取本品20片,研细,精密称取适量(约相当于马洛替酯60 mg),置于100 ml量瓶中,加甲醇70 ml超声处理10 min使之溶解,放冷,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过;精密量取续滤液2 ml,置于200 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液 取马洛替酯对照品15 mg,精密称定,置于25 ml量瓶中,加甲醇适量超声处理10 min使之溶解,放冷,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液;精密量取上述贮备液2 ml,置于200 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

2.2.3 空白辅料溶液 按马洛替酯处方取不含马洛替酯的辅料适量,置于100 ml量瓶中,加甲醇70 ml超声处理10 min使

* 主管药师。研究方向:医院药学。E-mail: zhangliancheng_ren@163.com

之溶解,放冷,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,作为空白辅料溶液。

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”项下对照品溶液、供试品溶液和空白辅料溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱,详见图1。结果,该色谱条件下杂质对主成分马洛替酯的测定无干扰,马洛替酯与杂质能达到完全分离,且分离度大于1.5,理论板数以马洛替酯峰计为3500。

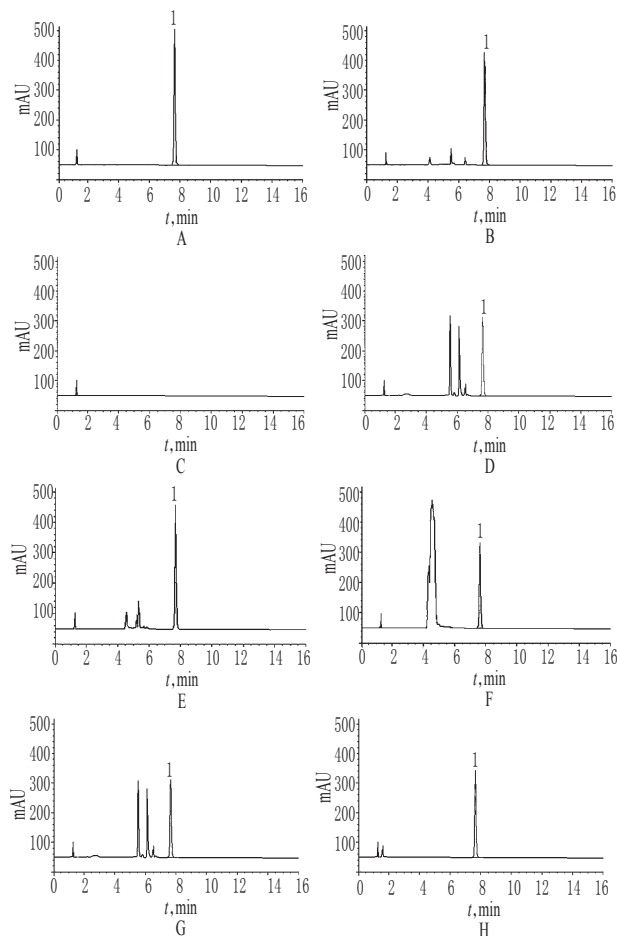


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.空白辅料;D.碱破坏样品;E.热破坏样品;F.酸破坏样品;G.氧化破坏样品;H.光照破坏供试品;1.马洛替酯

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference; B.test sample; C.blank accessories; D.sample destroyed by alkali; E.sample destroyed by heat; F.sample destroyed by acid; G.sample destroyed by oxidation; H.sample destroyed by light; 1.malotilate

2.3.2 专属性试验 精密称取样品细粉适量(约相当于马洛替酯60 mg),共5份,分别置于100 ml量瓶中。其中3份分别加入1 mol/L盐酸溶液5 ml(用1 mol/L氢氧化钠溶液调至中性)、2 mol/L氢氧化钠溶液5 ml(用1 mol/L氢氧化钠溶液调至中性)和10%过氧化氢溶液5 ml,放置30 min后,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀;另2份分别置于100℃水浴中加热破坏2 h和置于3000 lx光照下放置2 h后,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。以上5份经破坏的样品溶液滤过后,取续滤液20 μl注入HPLC仪进样,记录色谱,详见图1。结果表明,经光照破

坏的样品溶液色谱中未见其他明显的杂质峰产生;而经酸、碱、氧化和热破坏的样品溶液色谱中均有不同程度的杂质峰产生,且产生的杂质峰均能与主峰基线分离。这表明该色谱系统能有效检出马洛替酯的降解产物,可用于马洛替酯的含量和有关物质的测定。

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.2”项下对照品溶液0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 ml,分别置于200 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,按“2.1”项下色谱条件分别进样6次,记录色谱。以质量浓度($x, \mu\text{g/ml}$)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得马洛替酯回归方程为 $y=103.23x+49.378$ ($r=0.9996$)。结果表明,马洛替酯质量浓度在1.50~30.0 μg/ml范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 定量限和检测限

取“2.2.2”项下对照品溶液适量,分别用适量甲醇稀释后测定,在信噪比为10和信噪比为3时计算定量限和检测限分别为30 ng和0.75 ng。

2.6 精密度试验

精密量取“2.2.2”项下对照品溶液2 ml,置于200 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,按“2.1”项下色谱条件重复进样6次,记录峰面积。结果,马洛替酯峰面积的RSD为0.96%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液(批号:131102)和“2.2.2”项下的对照品溶液各适量,分别在室温(20~25℃)下放置0、4、8、12、16、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积。结果,马洛替酯峰面积的RSD分别为0.95%和1.05%($n=6$),表明供试品和对照品溶液在室温下24 h内稳定。

2.8 重复性试验

取批号为131102的样品细粉适量(约相当于马洛替酯60 mg),精密称定,置于100 ml量瓶中,加甲醇70 ml超声处理10 min使之溶解,放冷,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过;精密量取续滤液2 ml,置于200 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,平行制备6份,按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果,马洛替酯含量的RSD为0.94%($n=6$),表明本方法的重复性良好。

2.9 加样回收率试验

分别精密称取已知含量的批号为131102的样品细粉适量(约相当于马洛替酯60 mg),共9份,分别置于100 ml量瓶中,按80%、100%、120%的比例精密加入马洛替酯对照品各3份,再分别按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算加样回收率,结果详见表1。

2.10 样品含量及有关物质测定

取6批样品各适量,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液;另精密量取“2.2.2”项下对照品贮备液1 ml,置于100 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。分别取上述供试品溶液和对照品溶液各20 μl,注入HPLC仪,记录色谱,按外标法以峰面积计算含量,并与紫外分光光度法结果进行比较,结果见表2。

表1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery test (n=9)

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, %
0.060 35	0.012 14	0.072 56	99.90		
0.061 22	0.012 01	0.073 84	99.17		
0.062 03	0.012 06	0.074 24	100.21		
0.063 14	0.015 23	0.078 27	100.13		
0.064 12	0.015 14	0.078 98	100.35	99.74	0.85
0.061 75	0.015 17	0.076 47	100.59		
0.062 44	0.018 25	0.082 49	97.82		
0.061 82	0.018 35	0.079 99	100.22		
0.060 91	0.018 18	0.078 55	99.32		

另取样品细粉适量(约相当于马洛替酯 20 mg),置于 50 ml 量瓶中,加甲醇适量,超声 10 min 使溶解,放冷,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取滤液作为供试品溶液;精密量取上述供试品溶液 1 ml,置于 200 ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,取续滤液作为对照溶液。分别取上述供试品溶液和对照溶液各 20 μ l,注入 HPLC 仪,记录色谱至主成分峰保留时间的 2 倍。供试品溶液的色谱图中如有杂质峰,单个杂质峰面积不得大于对照溶液的主峰面积,各杂质峰面积的总和不得大于对照溶液主峰面积的 2 倍(2%),结果见表 2。

表2 样品含量及有关物质测定结果

Tab 2 Results of the determination of content and related substances

批号	占标示量百分含量, %		有关物质, %	
	紫外法(国标)	HPLC法(本法)	单个杂质	总杂质
131102	99.5	98.4	0.36	0.48
130911	96.6	95.7	0.33	0.42
130428	97.2	95.8	0.32	0.47
130414	98.2	96.9	0.39	0.49
130712	99.2	98.1	0.31	0.41
130904	98.6	97.2	0.36	0.47

3 讨论

3.1 含量测定方法的确定

国家药品标准采用紫外分光光度法测定马洛替酯片含量,而受辅料和测定方法的影响,测定的结果将不能真实地反映其中马洛替酯的含量。本试验同时采用紫外分光光度法和 HPLC 法测定马洛替酯片含量,经比较, HPLC 法优于紫外分光

光度法,前者专属性强、灵敏度高、分离度好、结果准确,适用于马洛替酯片的含量测定。

3.2 有关物质测定方法的确定

国家药品标准对马洛替酯片有关物质测定采用薄层色谱法,通过薄层色谱自身对照,根据圆点的大小、颜色深浅来判断所含杂质是否符合标准。但采用此方法,不同检验者的判断存在明显的差异,影响了结果的准确性。本试验采用 HPLC 法,能够很好地将杂质与主成分分离,通过峰面积的大小可以准确地计算出杂质的含量,更有利于药品质量控制。

3.3 流动相和检测波长的选择

本试验参考相关文献^[5-6],选择甲醇-水-醋酸(45:55:0.5, V/V/V)为流动相,其中加入少量的醋酸调节 pH,是为防止样品各成分在分离过程中产生拖尾;并参考国家药品标准^[4],选择马洛替酯的最大吸收波长 362 nm 为检测波长。该色谱条件下,主成分马洛替酯与有关物质能达到基线分离,且峰形对称,保留时间更容易调整。

综上所述,本法简便、准确、专属性好、精密度高,可用于马洛替酯片的质量控制。

参考文献

- [1] 翁亚丽,董莉,陈念,等.马洛替酯乳剂治疗慢性肝病低蛋白血症随机双盲多中心临床研究[J].江苏医药,2005,31(6):468.
- [2] 熊诗松,赵敏,赵国龙,等.马洛替酯治疗慢性肝炎及肝硬化低蛋白血症的疗效观察[J].河南医科大学学报,1991,26(2):164.
- [3] 金仲品.治疗肝硬化的新药:马洛替酯[J].实用内科杂志,1990,10(1):47.
- [4] 国家药典委员会.新药转正标准:第 38 册[S].北京:化学工业出版社,2000:102.
- [5] 马小亚,王美纳,田怀平,等.马洛替酯缓释片人体药代动力学及生物利用度[J].西安交通大学学报:医学版,2004,25(3):1 686.
- [6] 朱国建.马洛替酯的紫外分光光度测定法[J].医药工业,1987,11(6):223.

(收稿日期:2014-11-14 修回日期:2015-04-02)

(编辑:周 箐)

国家卫生计生委副主任马晓伟赴吉林省调研督导辽吉黑医改工作

本刊讯 2015 年 4 月 15—17 日,国家卫生计生委副主任马晓伟率队赴吉林省长春市调研督导医改工作。马晓伟同志召开东北三省医改工作座谈会,听取了辽宁、吉林、黑龙江三省医改工作情况汇报,并与地方政府、卫生计生行政部门负责人和公立医院院长就进一步深化医药卫生体制改革进行了深入座谈。在实地考察长春市绿园区人民医院和普阳社区卫生服务中心时,听取了长春市医改工作汇报。

马晓伟同志充分肯定了东北三省医改工作取得的成效并指出,今后一个时期是深化医改的关键时期,各地要坚决贯彻

党中央、国务院的决策部署,坚持医疗卫生事业的公益性质,切实加强对医改工作的组织领导;要大力推进公立医院改革,进一步完善公立医院补偿机制,理顺医疗服务比价关系,加快建立现代医院管理制度,深化编制人事薪酬制度改革,充分调动医务人员积极性;要加快建立分级诊疗机制,健全医疗服务体系,落实医疗机构功能定位,促进医疗资源纵向流动,完善基层首诊、双向转诊、急慢分治、上下联动的分级诊疗模式;要坚持统筹安排、突出重点、循序渐进的基本路径,统筹推进各项医改重点工作。