

# HPLC法测定他米巴罗汀原料药的含量及有关物质<sup>△</sup>

黄仁杰\*,肖健,鄢雪梨,叶雅沁,赖成敏(福建卫生职业技术学院药学系,福州 350101)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)09-0814-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.09.16

**摘要** 目的:建立测定他米巴罗汀原料药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Hypersil ODS2,流动相为甲醇-0.1%醋酸溶液(75:25,pH=4),流速为1.0 ml/min,检测波长为283 nm;同时与酸碱滴定法含量测定结果比较。结果:他米巴罗汀检测质量浓度线性范围为2~100 μg/ml( $r=0.9994$ ),平均回收率为99.2%,RSD为0.66%( $n=6$ );检测限为15 ng,定量限为45 ng;2种方法含量测定结果一致。结论:建立的方法简便、快速、准确,可用于他米巴罗汀原料药含量测定及有关物质检查。

**关键词** 他米巴罗汀;高效液相色谱法;有关物质;含量

## Content Determination of Tamibarotene Raw Materials and Related Substances by HPLC

HUANG Ren-jie, XIAO Jian, YAN Xue-li, YE Ya-qin, LAI Cheng-min (Dept. of Pharmacy, Fujian Health College, Fuzhou 350101, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of tamibarotene and related substances in tamibarotene raw material. METHODS: HPLC method was adopted. Hypersil ODS2 column was used with mobile phase consisted of methanol-0.1% acetic acid (75:25, pH=4) at the flow rate of 1.0 ml/min and the detection wavelength was 283 nm. The result of the method was compared with that of acid-base titration. RESULTS: The linear range of tamibarotene was 2-100 μg/ml ( $r=0.9994$ ) with an average recovery of 99.2% (RSD=0.66%,  $n=6$ ). The detection limit was 15 ng and the limit of quantification was 45 ng. Two methods revealed similar results. CONCLUSIONS: The method is simple, rapid, accurate and suitable for the content determination of tamibarotene raw materials and related substances.

**KEY WORDS** Tamibarotene; HPLC; Related substances; Content

他米巴罗汀(Tamibarotene)为合成维甲酸类化合物,是一种新型抗白血病药物。其具有独特的作用机制和药理特性,可通过解除急性早幼粒细胞白血病PML-RARa融合基因的变异性质,恢复早幼粒细胞性白血病细胞及RARa的正常功能,特别对复发性难治性的急性早幼粒细胞白血病具有显著分化诱导能力从而产生治疗作用<sup>[1]</sup>。该药由日本新药株式会社开发,于2005年在日本首次上市,其口服后吸收迅速、疗效确切、副作用小。笔者曾报道他米巴罗汀胶囊剂的含量测定<sup>[2]</sup>,但未涉及原料药含量及有关物质的检测。为此,笔者建立了高效液相色谱(HPLC)法测定他米巴罗汀原料药的含量及有关物质的方法,并与另一种检测原理的方法——酸碱滴定法进行结果比较。

## 1 材料

LC-2010型HPLC仪、紫外检测器、LC solution色谱工作站(日本岛津公司);EL204-2C型电子分析天平(瑞士梅特勒公司)。

他米巴罗汀对照品(批号:080423,纯度:≥99.0%)、他米巴罗汀原料药(批号:080910、080921、080929,纯度:均>99.00%)均由本课题组合成;甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

△ 基金项目:福建省产业技术开发资助专项(No:2008-3-16)

\* 副教授,硕士。研究方向:新药开发。电话:0591-22869860。

E-mail:hrj3@163.com

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Hypersil ODS2(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.1%醋酸溶液(75:25,pH=4),流速:1.0 ml/min;检测波长:283 nm;柱温:25℃;进样量:10 μl。

### 2.2 专属性试验

取他米巴罗汀原料药25 mg,置于50 ml量瓶中,分别加1 mol/L的盐酸溶液10 ml、1 mol/L的氢氧化钠溶液10 ml、0.5%过氧化氢溶液10 ml,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,沸水浴中加热30 min,作为酸破坏、碱破坏和氧化破坏样品溶液;取他米巴罗汀原料药25 mg,置于50 ml量瓶中,用适量甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,分别在紫外灯下照射24 h、加热回流30 min,作为光照破坏和高温破坏样品溶液。

取上述溶液及“2.3”项下对照品溶液分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,结果,主成分与其降解产物能很好地分离,专属性良好,保留时间适宜。表明在选定的色谱条件下,主峰与各杂质峰均能有效分离。色谱见图1。

### 2.3 线性关系考察

精密称取105℃干燥至恒质量的他米巴罗汀对照品25 mg,置于25 ml量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为贮备溶液。分别精密量取上述贮备溶液0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 ml,置于100 ml量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,进样测定。以峰面积( $y$ )为纵坐标,浓度( $c$ )为横坐标,进行线性回归,得回

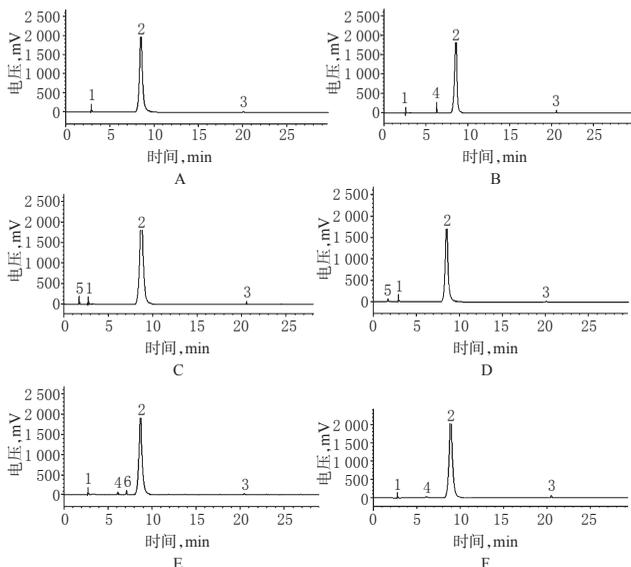


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 酸破坏样品; C. 碱破坏样品; D. 氧化破坏样品; E. 光照破坏样品; F. 高温破坏样品; 1. 溶剂; 2. 他米巴罗汀; 3. 有关物质; 4、5、6. 破坏产物

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. samples destroyed by acid; C. samples destroyed by alkali; D. samples destroyed by oxidation; E. samples destroyed by light radiation; F. samples destroyed by heat; 1. solvent; 2. tamibarotene; 3. related substance; 4, 5, 6. products after destroyed

归方程为:  $y = 5.0214 \times 10^5 c - 16.2319$  ( $r = 0.9994, n = 6$ )。结果表明, 他米巴罗汀检测质量浓度线性范围为  $2 \sim 100 \mu\text{g/ml}$ 。

#### 2.4 溶液稳定性考察

制备质量浓度为  $50 \mu\text{g/ml}$  的供试品溶液, 分别于 0、2、4、8、12 h 进样, 记录色谱图。结果, 12 h 内主峰与有关物质峰的峰面积均没有变化, RSD 分别为 0.11% 与 0.24%, 且未产生新的杂质峰, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

#### 2.5 精密度试验

制备质量浓度为  $50 \mu\text{g/ml}$  的供试品溶液, 重复进样 6 次, 测定, 记录各峰面积, 计算他米巴罗汀峰面积的 RSD 为 0.16% ( $n = 6$ ), 表明仪器精密度良好。

#### 2.6 重复性试验

取同一批样品, 平行制备 6 份, 分别进样测定, 结果样品含量的 RSD 为 0.11%, 表明方法重复性良好。

#### 2.7 耐用性试验

在“2.1”项色谱条件下, 微小改变柱温 ( $30 \text{ }^\circ\text{C}$ )、流速 ( $0.7 \text{ ml/min}$ )、pH 值 ( $\text{pH} = 4.4$ )、流动相比例 (72:28), 结果显示微小改变后各杂质峰之间、杂质峰与主峰之间均有较好分离。用不同厂家色谱柱 (Wondasil-C<sub>18</sub>、Ameritech Accurasil-C<sub>18</sub>) 试验, 含量测定结果 RSD 为 0.21%, 结果表明色谱柱的改变不影响结果分析。

#### 2.8 检测限和定量限试验

将对照品贮备溶液逐步稀释, 进样测定。当信噪比为 3 时, 测得检测限为 15 ng; 当信噪比为 10 时, 测得定量限为 45 ng (RSD = 0.41%,  $n = 6$ )。

#### 2.9 回收率试验

精密称取已知含量的他米巴罗汀原料药 (纯度: 99.39%) 10.0 mg, 各 6 份, 在他米巴罗汀线性关系的浓度范围内, 按供

试品中含量 1:1 的比例, 加入他米巴罗汀对照品, 按“2.10”项下方法制备溶液, 进样测定, 计算回收率。结果, 平均回收率为 99.2%, RSD 为 0.66%, 详见表 1。

表 1 回收率试验结果 ( $n = 6$ )

Tab 1 Results of recovery test ( $n = 6$ )

加入量, mg	测得量, mg	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
9.95	9.80	98.5		
9.89	9.83	99.4		
9.91	9.93	100.2	99.2	0.66
10.10	10.01	99.1		
10.05	9.93	98.8		
10.04	9.94	99.0		

#### 2.10 有关物质的测定

取他米巴罗汀原料药约 25 mg, 精密称定, 置于 250 ml 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 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, 作为对照溶液。取对照溶液  $10 \mu\text{l}$  进样, 调节仪器灵敏度, 使主成分色谱峰高度达到满量程的 20%~25%。在此色谱条件下取供试品溶液  $10 \mu\text{l}$  进样, 记录色谱图至主成分峰保留时间的 3 倍, 供试品溶液色谱图中如有杂质峰, 量取各杂质峰的峰面积, 计算有关物质的含量。结果, 3 批样品的有关物质含量分别为 0.36%、0.47%、0.46%。

#### 2.11 样品含量测定

取他米巴罗汀原料药约 25 mg, 精密称定, 置于 25 ml 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 再精密量取 1.0 ml, 置于 10 ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得供试品溶液, 取  $10 \mu\text{l}$  进样测定; 另精密称取  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  干燥至恒质量的他米巴罗汀对照品适量, 同法测定作为对照, 按外标法计算, 结果见表 2。

表 2 3 批样品 2 种含量测定方法结果 (%)

Tab 2 Results of content determination for 3 batches of samples by 2 kinds of methods (%)

批号	HPLC 法	酸碱滴定法
080910	99.39	99.14
080921	99.47	99.27
080929	99.27	99.26

精密称定他米巴罗汀原料药 0.5 g, 置于 25 ml 量瓶中, 加中性乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 加酚酞指示剂 3 滴, 用氢氧化钠滴定至浅红色, 记录滴定液体积, 计算含量, 结果见表 2。由表 2 可知, 2 种方法的测定结果一致, 无显著性差异。

### 3 讨论

#### 3.1 检测波长的确定

他米巴罗汀原料药的合成中间体中除了中间体 1 (2,5-二甲基-2,5-二氯己烷) 无紫外吸收之外, 其他 4 个中间体与主成分具有相似的发色团, 经紫外扫描显示中间体的最大紫外吸收波长与主成分相近, 故有关物质的检测波长亦选 283 nm。定量方法采用主成分自身对照法。

#### 3.2 流动相的确定

他米巴罗汀易溶于甲醇, 因此本试验选用甲醇作溶剂。由于该化合物显酸性, 所以加入 0.1% 醋酸水溶液调节流动相 pH 至 4 左右, 在保证化合物在检测过程中不会降解的同时, 使色谱图中主成分的拖尾因子在 1.02 左右, 对称性好、分离度高、专属性强。

前期试验中曾将 4 个中间体与主成分混合后进样, 色谱图中各峰的分离度均大于 1.5, 说明该流动相亦适于有关物质的

# HPLC法测定复方磺胺嘧啶银混悬液中2种组分的含量<sup>Δ</sup>

赵永德<sup>1\*</sup>, 田洪根<sup>2</sup>, 丁长玲<sup>1#</sup>, 丁召兴<sup>1</sup>, 崔光怀<sup>1</sup>, 刘呈华<sup>1</sup>(1.滨州医学院附属医院, 山东 滨州 256603; 2.滨州市药品检验所, 山东 滨州 256618)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)09-0816-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.09.17

**摘要** 目的:建立测定复方磺胺嘧啶银混悬液中2种组分含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Kromasil C<sub>18</sub>,先以流动相A 0.8%三乙胺(pH至4.9)-流动相B 甲醇(90:10)进行洗脱,检测磺胺嘧啶银,待其出峰后立即改以流动相A-流动相B(60:40)洗脱10 min后检测醋酸氯己定,流速为1.0 ml/min,检测波长为260 nm,柱温为室温。结果:磺胺嘧啶银和醋酸氯己定的检测质量浓度线性范围分别为0.051~0.153 mg/ml( $r=0.999\ 9$ )、20.32~60.96 μg/ml( $r=0.999\ 9$ ),平均回收率分别为99.3%(RSD=0.75%, $n=6$ )、98.0%(RSD=0.90%, $n=6$ )。结论:本文建立的方法可使磺胺嘧啶银和醋酸氯己定完全分离,避免了相互干扰,且方法简便、灵敏,能有效控制该制剂质量。

**关键词** 高效液相色谱法;复方磺胺嘧啶银混悬液;醋酸氯己定;含量测定

## Content Determination of 2 Ingredients in Compound Silver Sulfadiazine Suspension by HPLC

ZHAO Yong-de<sup>1</sup>, TIAN Hong-gen<sup>2</sup>, DING Chang-ling<sup>1</sup>, DING Zhao-xing<sup>1</sup>, CUI Guang-huai<sup>1</sup>, LIU Cheng-hua<sup>1</sup>(1. The Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Shandong Binzhou 256603, China; 2. Binzhou Institute for Drug Control, Shandong Binzhou 256618, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for content determination of 2 ingredients in Compound silver sulfadiazine suspension. METHODS: HPLC method was adopted. Kromasil C<sub>18</sub> column was used. Mobile phase A 0.8% triethylamine (pH value adjusted to 4.9)-mobile phase B methanol (90:10) was used to elute for the determination of silver sulfadiazine; after peak value appeared, mobile phase A-mobile phase B (60:40) was used to elute for 10 min for the determination of chlorhexidine acetate at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 260 nm and column temperature was room temperature. RESULTS: The linear ranges were 0.051-0.153 mg/ml for silver sulfadiazine ( $r=0.999\ 9$ ) and 20.32-60.96 μg/ml for chlorhexidine acetate ( $r=0.999\ 9$ ). Average recoveries were 99.3% (RSD=0.75%, $n=6$ ) and 98.0% (RSD=0.90%, $n=6$ ). CONCLUSIONS: Established method can separate silver sulfadiazine from chlorhexidine acetate completely and avoid mutual interference, and the method is simple, sensitive and effective for the quality control of the preparation.

**KEY WORDS** HPLC; Compound silver sulfadiazine suspension; Chlorhexidine acetate; Content determination

复方磺胺嘧啶银混悬液是滨州医学院附属医院研制的一种治疗烧伤、烫伤用特色药物。其中的组分磺胺嘧啶银保持了磺胺嘧啶及银离子两者的抗菌作用,除能控制创面感染外,还可促使创面干燥、结痂和促进愈合;另一种组分醋酸氯己定对易造成创面感染的革兰阳性球菌和革兰阴性杆菌也有较强的抑制和杀灭作用,二者合用具有协同抗菌作用<sup>[1]</sup>。经查阅文献,有采用永停滴定法<sup>[2]</sup>和紫外分光光度法<sup>[3]</sup>测定磺胺嘧啶银含量的报道,但是经笔者试验,这2种方法均不能有效分离2种组分,因此不能消除本品中磺胺嘧啶与醋酸氯己定之间的

相互干扰。为进一步完善该品种质量标准,保证检验质量,笔者参照《美国药典》中磺胺嘧啶银原料药及其制剂的含量测定方法<sup>[4]</sup>,建立了以高效液相色谱(HPLC)法测定该制剂中的2种组分含量的方法,并取得了满意的效果。

### 1 材料

LC-20A HPLC仪、LC-20AT紫外检测器(日本岛津公司)。

磺胺嘧啶银混悬液(滨州医学院附属医院,批号:20110503、20110602、20110626,规格:磺胺嘧啶银5 g:100 ml、醋酸氯己定0.1 g:100 ml);磺胺嘧啶银对照品(湖南化学试剂

测定。

### 3.3 色谱记录时间的确定

在有关物质研究中,发现色谱图20 min处有中间体5的杂质峰(图1A中3号峰)出现,为保证可能出现的杂质峰完全出

峰,且分离度良好,确定记录时间为主成分峰保留时间的3倍。

综上所述,本法简便、快速、准确,可用于他米巴罗汀含量及有关物质的测定。

### 参考文献

- [1] 赖树清, 须媚. 急性早幼粒细胞性白血病治疗药他米巴罗汀(tamibarotene)[J]. 世界临床药物, 2007, 28(4): 252.
- [2] 张丽华, 黄仁杰. 他米巴罗汀胶囊制备及其含量测定[J]. 今日药学, 2010, 20(10): 10.

(收稿日期:2012-04-01 修回日期:2012-05-09)

Δ 基金项目:滨州医学院科研计划资助项目(No.BY2009KJ40)  
\* 副主任药师。研究方向:药事管理。电话:0543-3256753。E-mail:byfyzyd1961@126.com  
# 通信作者:副主任药师。研究方向:临床药学与新制剂研发。电话:0543-3256751。E-mail:dingling256603@163.com