

HPLC法测定特非那定片中有关物质含量

龙娜*(惠州市第三人民医院,广东惠州 516002)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)33-3145-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.33.26

摘要 目的:建立测定特非那定片中有关物质含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Hypersil Phenyl 2,流动相为乙腈-磷酸盐缓冲液(50:50),流速为 1.5 ml/min,检测波长为 220 nm,柱温为室温。结果:该色谱条件下,杂质与主成分能完全分离(分离度>8),重复性试验 RSD=0.27% (n=6),检测限为 0.005 μg/ml。3批样品中有关物质含量均为 0.3%。结论:建立的方法简便、灵敏度高,可用于特非那定片中有关物质的含量测定。

关键词 特非那定片;高效液相色谱法;有关物质;测定

Content Determination of Related Substances in Terfenadine Tablets by HPLC

LONG Na(Huizhou Third People's Hospital, Guangdong Huizhou 516002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of related substances in Terfenadine tablets. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Hypersil Phenyl 2 column with mobile phase consisted of acetonitrile-phosphate buffer (50:50) at the flow rate of 1.5 ml/min. The detection wavelength was set at 220 nm and the column temperature was maintained at room temperature. RESULTS: Under this condition, the impurity could be completely separated from main components ($R>8$). The RSD of repeatability test was 0.27% ($n=6$). The limit of detection was 0.005 μg/ml and the contents of related substances were 0.3% in 3 batches of samples. CONCLUSIONS: The method is simple, sensitive and suitable for the content determination of related substances in Terfenadine tablets.

KEY WORDS Terfenadine tablets; HPLC; Related substances; Determination

特非那定(Terfenadine)是由美国 Merrell 制药公司于 1981 年上市的抗组胺药,目前已在欧美各国广泛使用。该药在抗组胺类药中属于组胺 H_1 受体拮抗药^[1],现已广泛用于治疗变态反应性鼻炎、荨麻疹等疾病。

2010年版《中国药典》(二部)检测项下并未规定对特非那定片剂的有关物质进行检测^[2],所以,为进一步有效控制药品质量、完善质量标准,笔者采用高效液相色谱(HPLC)法测定特非那定片中有关物质含量。结果表明,建立的方法准确、灵敏度高、快速简便,优于文献^[3-4]方法。

特非那定化学名为 α -[4-(1,1-二甲基乙基)苯基]-4-(羟基二苯甲基)-1-哌啶丁醇,化学结构式见图1。

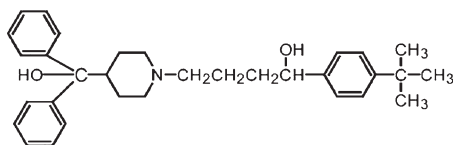


图1 特非那定化学结构式

Fig 1 Chemical structure of terfenadine

1 材料

1.1 仪器

SPD-6AV 紫外检测器(日本岛津公司);P680A 型 HPLC 仪,包括 SCL-6B 系统控制仪、LC-9A 泵、SIL-6B 自动进样器、C-R4A 数据处理机(美国 Dionex 公司);AS20500A 超声波清洗器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

* 药师,硕士研究生。研究方向:医院药学。E-mail: longnasuccess@163.com

特非那定对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100292-200201,纯度:99.8%);特非那定片(广东某厂,批号:010511、010520、010601,规格:每片 60 mg,主成分含量:97.8%);乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

2.1.1 色谱条件^[5]。色谱柱: Hypersil Phenyl 2(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-磷酸盐缓冲液(50:50),流速:1.5 ml/min;检测波长:220 nm;进样量:20 μl;柱温:室温。以主成分峰计理论板数不低于 2 000。

2.1.2 系统适用性试验。取特非那定对照品适量,加水制成每 1 ml 中相当于含特非那定 1 mg 的溶液,置于沸水浴加热回流 2 h 以上,放冷;取回流液适量,加流动相制成每 1 ml 中相当于含特非那定 0.06 mg 的溶液,取 20 μl 注入色谱仪,记录色谱图。结果,特非那定的理论板数大于 3 000,特非那定峰与水解产物峰的分离度大于 8,表明系统适用性试验结果符合要求,色谱图详见图 2。

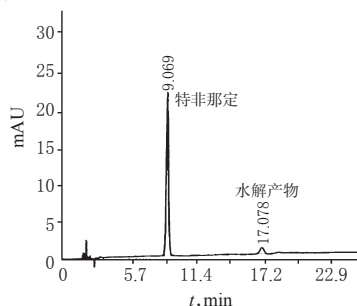


图2 系统适用性试验高效液相色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms of system suitability test

2.2 样品的酸、碱、光照、氧化破坏试验

取特非那定片3片(批号:010511),研细,备用。

酸(碱)破坏:精密称取细粉(约相当于特非那定20 mg),加入0.1 mol/L HCl溶液(0.1 mol/L NaOH溶液)20 ml,置于沸水浴中加热回流1 h;光照破坏:将上述酸性和碱性溶液置于日光下光照2周;氧化破坏:精密称取细粉(约相当于特非那定20 mg),加入6%的H₂O₂溶液10 ml,置于沸水浴中加热回流1 h。取上述各溶液按“2.1.2”项下方法自“放冷…”起操作,色谱图见图3。

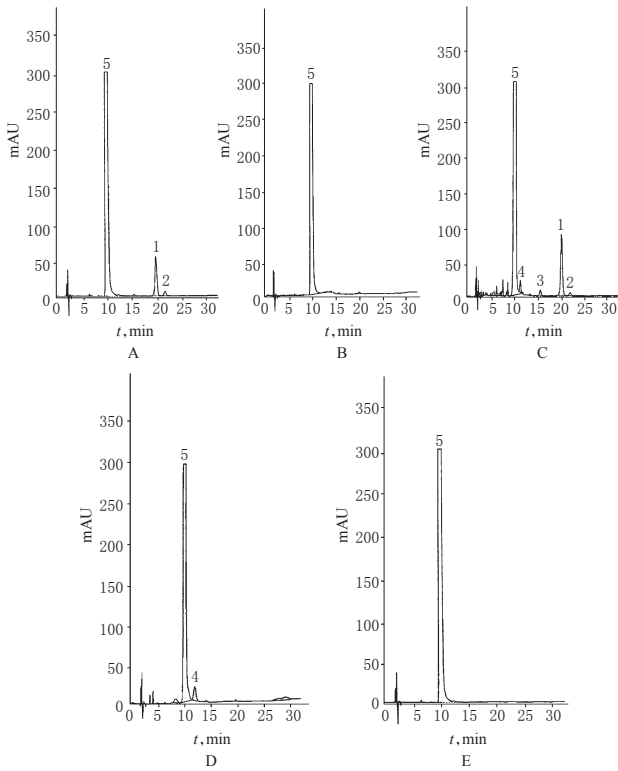


图3 破坏试验高效液相色谱图

A.酸破坏样品;B.碱破坏样品;C.酸+光照破坏样品;D.碱+光照破坏样品;E.氧化破坏样品;1.杂质I;2.杂质II;3.杂质III;4.杂质IV;5.特非那定

Fig 3 HPLC chromatograms of destruction tests

A. sample destroyed by acid; B. sample destroyed by alkali; C. sample destroyed by acid and light; D. sample destroyed by alkali and light; E. sample destroyed by oxidation; 1. impurity I; 2. impurity II; 3. impurity III; 4. impurity IV; 5. terfenadine

由图3可见,片剂在酸和碱溶液中均有降解,但在碱中降解程度更弱,降解杂质峰并不明显;在酸和碱性条件下,经过光照破坏后均出现杂质峰,并以酸性条件下的破坏情况较为剧烈;经氧化破坏后,并未见明显的杂质峰,表明片剂在氧化条件下稳定存在,不易降解。各破坏条件下杂质含量见表1(注:未经破坏的特非那定样品有关物质检查结果为0.3%)。

表1 各破坏条件下杂质含量

Tab 1 The contents of impurity under different conditions					
项目	酸	碱	酸+光照	碱+光照	氧化
峰数	增加1个明显杂质峰	无降解峰	增加多个杂质峰	增加3个杂质峰	无降解峰
杂质含量,%(按归一法计算并扣除溶剂峰)	2.9	0.45	7.6	3.8	0.39

2.3 重复性试验

取特非那定片样品(批号:010511)6份,精密称定,用流动相溶解制成质量浓度为60 μg/ml的溶液,进样测定并计算杂质的含量。结果主成分峰面积的RSD=0.27%,杂质的平均含量为0.27%,RSD=0.86%。

2.4 检测限考察^[9]

精密称取特非那定片适量,用流动相配制成质量浓度为60 μg/ml的溶液,加水稀释,精密量取20 μl注入色谱仪,记录色谱图,结果主成分可被检出;信噪比约为3时得检测限为0.005 μg/ml。

2.5 稳定性试验

精密称取特非那定片适量,用流动相配制成质量浓度为60 μg/ml的溶液,在0、4、8 h规定时间内,分别取样注入色谱仪,记录色谱峰。结果主成分峰面积的RSD=0.29%(n=3),杂质平均含量为0.28%,RSD=0.58%(n=3),表明溶液在8 h内稳定。

2.6 特非那定片中有关物质的测定

取本品适量,加流动相制成每1 ml中相当于含特非那定1.0 mg的溶液,作为供试品溶液;取供试品溶液适量,加流动相制成每1 ml中相当于含特非那定5.0 μg的溶液,作为对照溶液。取对照溶液20 μl注入色谱仪,调节检测灵敏度,使主成分峰高约为满量程的10%;另取供试品溶液和对照溶液各20 μl,分别注入色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的3倍。分别对3批供试品溶液依法测定,采用主成分自身对照法计算有关物质的含量,结果见表2。

表2 3批样品中有关物质测定结果

Tab 2 Results of content determination of related substances in 3 batches of samples

批号	有关物质含量,%
010511	0.3
010520	0.3
010601	0.3

3 讨论

(1)方法的专属性考察显示,特非那定在碱和氧化条件下较稳定,经碱解和氧化破坏后,杂质峰面积无明显增加;酸条件下,杂质峰主要集中在15 min后,但杂质峰分离度不好;光照条件下非常不稳定,除主要杂质峰外,还有多个未知降解产物,主成分峰面积明显下降;水解条件下不稳定,主要杂质峰明显,并且与主峰分离度良好。故选择加热水解破坏后的溶液为方法的系统适用性溶液。

(2)本品无相应杂质的对照品,且杂质含量低,不适合用面积归一化法计算杂质含量。主成分自身对照法是通过稀释供试品溶液作为杂质对照计算杂质含量的一种方法,适用于无法得到杂质对照品的化合物的有关物质含量测定,故本文选用此法进行测定。通过考察特非那定色谱图杂质峰情况,将杂质限量定为1%,以供试品溶液的1%作为对照溶液计算样品杂质的含量(计算杂质含量时,任何小于主成分峰面积0.05倍的峰忽略不计)。

(3)从试验结果可以看出,用HPLC法测定特非那定片中有关物质的含量,方法简便、灵敏度高,适用于该制剂的质量控制,从而为制订该制剂质量标准提供了可靠依据。

2种含硫黄制剂的微生物限度检查方法研究

赵新霞^{1*}, 牛 坡²(1.河南省食品药品检验所, 郑州 450003; 2.河南省人民医院, 郑州 450003)

中图分类号 R927.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)33-3147-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.33.27

摘要 目的:建立对2种含硫黄制剂(硫软膏和喘舒片)进行微生物限度检查的方法。方法:硫软膏供试液分别采用常规法、培养基稀释法、中和(加入中和剂亚硫酸钠)-常规法等进行验证试验,喘舒片供试液分别采用常规法、培养基稀释法和离心沉淀-薄膜过滤法、中和-培养基稀释法进行验证试验,并对筛选出的可行方法进行控制菌验证试验。结果:硫软膏检查中只有中和法对各菌的菌回收率均高于70%;喘舒片检查中细菌计数中只有中和法的菌回收率高于70%;控制菌验证试验中试验组结果均为阳性。结论:加入亚硫酸钠后可中和制剂中所含的硫黄而消除供试品抑菌活性。硫软膏细菌计数采用中和-常规法,喘舒片细菌计数采用中和-培养基稀释法,霉菌和酵母菌计数、控制菌检查采用常规法,试验结果符合要求。建立的方法简便、有效、可行,可作为这2种含硫黄制剂的微生物限度检查方法。

关键词 硫软膏;喘舒片;含硫黄制剂;微生物限度检查;中和法;亚硫酸钠

Study of Microbiological Limit Test for 2 Kinds of Sulfur Preparation

ZHAO Xin-xia¹, NIU Po²(1.Henan Provincial Institute for Food and Drug Control, Zhengzhou 450003, China; 2. Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450003, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for microbial limit test of 2 kinds of sulfur preparation (Sulfur ointment and Chuanshu tablets). METHODS: Test solution of Sulfur ointment were validated by routine method, culture medium dilution method, neutralization (adding neutralizing agent sodium sulfite)-routine method; test solution of Chuanshu tablets were validated by routine method, culture medium dilution method, centrifugation-membrane-filter procedure, neutralization-culture medium dilution method; validation test of control bacteria was carried out for selected feasible method. RESULTS: Recovery rate of all bacterials by neutralization method of Sulfur ointment was higher than 70%. Recovery rate of neutralization method was higher than 70% in bacterial count of Chuanshu tablets. Validation test of control bacteria was positive in test group. CONCLUSIONS: The bacteriostatic action of test sample is effectively eliminated by sulfur in samples after adding sodium sulfite. The number of bacterial of Sulfur ointment was counted by neutralization-routine method; the number of bacterial in Chuanshu tablet was counted by neutralization-medium dilution method. The molds and yeast count and control bacteria test were performed using routine method. The test results met the requirements. The method is simple, effective and feasible. It can be used for microbial limit test for 2 kinds of Sulfur preparations.

KEY WORDS Sulfur ointment; Chuanshu tablets; Sulfur preparation; Microbial limit test; Neutralization method; Sodium sulfite

硫软膏是用于治疗疥疮、头癣、痤疮、脂溢性皮炎、酒渣鼻、单纯糠疹、慢性湿疹的一种制剂;喘舒片是用于治疗慢性支气管炎、支气管哮喘、肺气肿,尤其适用于喘息型气管炎的一种制剂。这2种制剂中均含有硫黄,硫黄有溶解角质、杀疥虫、杀菌、杀真菌的作用^[1]。因此,对这2种制剂进行微生物限

度检查时,应先消除供试品中硫黄的抑菌活性,再依法进行检查。笔者利用硫与亚硫酸钠生成硫代硫酸钠的反应原理,在供试液中加入亚硫酸钠溶液,以此来中和供试品中所含的硫黄,从而进行2种含硫黄制剂的微生物限度检查,建立了有效的微生物限度检查方法。

参考文献

- [1] 陆芳,金孝玲.复方特非那定凝胶滴鼻剂的制备[J].中国实用医药,2009,4(26):126.
- [2] 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,2010:840-841.
- [3] 李丽敏,郝彬.人血浆中特非那定的LC-MS测定法[J].中国临床药理学与治疗学,2009,14(4):432.
- [4] Ghonein M, Issa R, Tavfik A. Assay of terfenadine in pharmaceutical formulation and human plasma by adsorptive stripping voltammetry[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2001,26(4):593.
- [5] 吴海雯.特非那定片溶出度检查和含量测定流动相的改进[J].药学实践杂志,2007,25(2):98.
- [6] 高振强,刘珠.HPLC法测定盐酸氯哌丁原料药的有关物质[J].中国药房,2008,19(22):1738.

*主管药师。研究方向:微生物检验。E-mail:zxxybfq@sohu.com

(收稿日期:2013-02-28 修回日期:2013-04-23)