

HPLC-加校正因子的主成分自身对照法同时测定琥珀酸索利那新原料药中7种有关物质^Δ

郭青^{1,2*}, 刘莉², 周自桂², 秦勇^{1,2#} (1.中国药科大学中药学院, 南京 211198; 2.江苏神龙药业股份有限公司, 南京 210046)

中图分类号 R927.2; O657.72 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)11-1481-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.11.09

摘要 目的: 建立同时测定琥珀酸索利那新原料药中7种有关物质的方法。方法: 采用HPLC法。色谱柱为Thermo Hypersil ODS C₁₈, 流动相为0.02 mol/L KH₂PO₄ (含0.2% 三乙胺, pH 3.0)-乙腈溶液(梯度洗脱), 流速为1.2 mL/min, 检测波长为210 nm, 柱温为40 ℃, 进样量为20 μL; 绘制琥珀酸索利那新和杂质A、C、D、I、J、K、L的回归方程, 以斜率计算各杂质相对于琥珀酸索利那新的校正因子, 并测定3批琥珀酸索利那新原料药中杂质A、C、D、I、J、K、L的含量。结果: 杂质A、C、D、I、J、K、L的检测质量浓度线性范围分别为0.148 1~0.740 3、0.142 9~0.714 5、0.141 1~0.705 6、0.148 9~0.744 6、0.152 0~0.759 9、0.137 9~0.689 6、0.020 0~0.100 0 μg/mL ($r=0.999 8$ 或 $0.999 9$ 或 $1.000 0$), 校正因子分别为0.51、0.40、0.41、0.91、0.47、0.85、1.23, 检测限分别为0.049 3、0.047 6、0.047 0、0.048 1、0.050 7、0.046 0、0.006 7 μg/mL, 定量限分别为0.148 1、0.142 9、0.141 1、0.148 9、0.152 0、0.137 9、0.020 0 μg/mL, 精密密度、稳定性(24 h)、重复性试验的RSD均 $<5.0\%$ ($n=6$), 平均回收率分别为101.09%、97.58%、93.77%、98.56%、99.68%、97.07%、93.54%, RSD分别为0.75%、0.51%、0.47%、0.84%、0.70%、0.75%、1.21% ($n=9$)。3批琥珀酸索利那新原料药中杂质I含量为0.015%~0.018%, 其余杂质未检出。结论: 该方法灵敏度高、准确可靠, 可用于琥珀酸索利那新原料药中有关物质的测定。

关键词 琥珀酸索利那新; 原料药; 有关物质; 高效液相色谱法; 校正因子

Content Determination of 7 Related Substances in Solifenacin Succinate Raw Material by HPLC with Principal Component Self-control with Correction Factor

GUO Qing^{1,2}, LIU Li², ZHOU Zigui², QIN Yong^{1,2} (1.College of TCM, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China; 2.Jiangsu Shenlong Pharmaceutical Co., Ltd., Nanjing 210046, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish method for simultaneous determination of 7 related substances in solifenacin succinate raw material. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Thermo Hypersil ODS C₁₈ column with mobile phase consisted of 0.02 mol/L KH₂PO₄ (0.02% triethylamine, pH=3.0)-acetonitrile (gradient elution) at the flow rate of 1.2 mL/min. The detection wavelength was set at 210 nm, and column temperature was 40 ℃. The sample size was 20 μL. The regression equation of solifenacin succinate and impurity A, C, D, I, J, K, L were drawn. Correction factors of impurities to solifenacin succinate were calculated with slope. The contents of impurities A, C, D, I, J, K and L were determined in 3 batches

- 提取物中柴胡皂苷 a 和柴胡皂苷 d[J]. 中成药, 2013, 35 (2): 342-345.
- [10] 胡丹. HPLC-QAMS 同时测定复方黄芩片中 6 种活性成分的含量[J]. 中国药房, 2018, 29(11): 1510-1514.
- [11] 王冬梅, 高颢, 张洪霞, 等. HPLC 法同时测定芩连片中黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28(12): 955-958.
- [12] 郝乘仪, 郭淑英, 朱鹤云, 等. HPLC 法同时测定牛黄清感胶囊中 6 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(3): 422-426.
- [13] 刘来正, 冀小君, 堽榜琴. HPLC 法同时测定黑柴胡药材中柴胡皂苷 a 和 d 的含量[J]. 中国药房, 2014, 25(23): 2147-2149.
- [14] 赵佳文, 瞿领航, 刘艳菊, 等. 多成分含量测定结合 UPLC 指纹图谱及其模式判别评价子芩与枯芩质量[J]. 中药材, 2017, 40(9): 2101-2106.
- [15] 吉晓丽. 黄芩的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中医临床研究, 2017, 9(9): 128-129.
- [16] 辛国, 赵昕彤, 黄晓巍. 柴胡化学成分及药理作用研究进展[J]. 吉林中医药, 2018, 38(10): 1196-1198.
- [17] 李丽莉, 吕轶峰, 朱雪妍. 葛根芩连片多成分含量测定的研究[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(9): 1607-1614.

Δ 基金项目: 江苏省第五期“333 高层次人才培养工程”科研项目 (No.BRA2017221)

* 硕士研究生。研究方向: 药物质量控制。E-mail: 948601686@qq.com

通信作者: 研究员。研究方向: 新药研究与开发。E-mail: qyja-son@163.com

(收稿日期: 2019-02-28 修回日期: 2019-03-28)

(编辑: 刘萍)

of solifenacin succinate raw material. RESULTS: The linear ranges of impurity A, C, D, I, J, K and L were 0.148 1-0.740 3, 0.142 9-0.714 5, 0.141 1-0.705 6, 0.148 9-0.744 6, 0.152 0-0.759 9, 0.137 9-0.689 6, 0.020 0-0.100 0 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999 8, 0.999 9$ or $1.000 0$), respectively. The relative correction factors were 0.51, 0.40, 0.41, 0.91, 0.47, 0.85, 1.23. The limits of detection were 0.049 3, 0.047 6, 0.047 0, 0.048 1, 0.050 7, 0.046 0, 0.006 7 $\mu\text{g/mL}$. The quantification limits were 0.148 1, 0.142 9, 0.141 1, 0.148 9, 0.152 0, 0.137 9, 0.020 0 $\mu\text{g/mL}$, respectively. RSDs of precision, stability (24 h) and reproducibility tests were all lower than 5.0% ($n=6$). Average recoveries were 101.09%, 97.58%, 93.77%, 98.56%, 99.68%, 97.07% and 93.54%; RSDs were 0.75%, 0.51%, 0.47%, 0.84%, 0.70%, 0.75%, 1.21% ($n=9$). The contents of impurity I in 3 batches of solifenacin succinate raw material were 0.015%-0.018%, other impurities were not detected. CONCLUSIONS: The method is sensitive, accurate and reliable, which can be used to determine the related substances of solifenacin succinate raw material.

KEYWORDS Solifenacin succinate; Raw material; Related substance; HPLC; Correction factor

琥珀酸索利那新(Solifenacin succinate),由日本安斯泰来制药公司开发,2004年8月首次在欧洲上市,2004年11月获美国FDA许可在美国上市,琥珀酸索利那新能够抑制膀胱平滑肌收缩,且对尿频、尿急、尿失禁有较好的改善作用^[1-3],与传统的抗胆碱药物相比,琥珀酸索利那新不良反应少、耐受性好^[4-6],在多个国家被列为治疗膀胱过度活动症(OAB)的首选用药^[7-8]。随着中国老龄化现象日益明显,OAB在中老年人群中发病率也越来越高,流行病学调查显示,我国OAB的患病率约有6.0%^[9]。随着人们对OAB认知的增加,此类治疗药物将具有广阔的市场前景。琥珀酸索利那新在《欧洲药典》(EP)^[10]和《美国药典》(USP)^[11]中均有收载,但由于合成路线差异,EP中仅对琥珀酸索利那新原料药中的杂质A、C、D、I有所研究,李艳贞等^[12]对琥珀酸索利那新原料药中5个杂质进行研究,相关文献^[13-14]也仅对琥珀酸索利那新原料药中部分杂质进行研究,未全面监控琥珀酸索利那新原料药合成过程中可能产生的工艺杂质和潜在的降解杂质。为更好控制琥珀酸索利那新原料药质量,保证其用药的安全性和有效性,笔者建立高效液相色谱(HPLC)-加校正因子的主成分自身对照法同时测定琥珀酸索利那新原料药中7种有关物质的含量,为控制琥珀酸索利那新原料药的质量提供参考。琥珀酸索利那新原料药有关物质基本信息见表1。

1 材料

1.1 仪器

1260 HPLC仪,包括二极管阵列紫外检测器、Openlab CDS 色谱工作站(美国Agilent公司);ALC-210千分之一分析天平、BT125D十万分之一分析天平均购自德国Sartorius公司;FE20 pH计(瑞士Mettler-toledo公司)。

1.2 药品与试剂

琥珀酸索利那新原料药(批号:171113、180117、180119、180502,纯度:99.93%)、琥珀酸索利那新对照品(批号:171113,纯度:99.93%)、杂质I对照品(批号:170817,纯度:99.60%)、杂质J对照品(批号:171019,纯度:99.80%)、杂质K对照品(批号:180328,纯度:95.30%)均购自江苏神龙药业股份有限公司;杂质A对

表1 琥珀酸索利那新原料药有关物质基本信息

Tab 1 General information of related substance of solifenacin succinate raw material

杂质	化学名称	结构式	杂质来源
A	(S)-1-苯基-1,2,3,4-四氢异唑啉		工艺杂质、降解杂质
C	双[(1S)-1-苯基-3,4-二氢异唑啉-2(1H)-基]甲酮		潜在工艺杂质
D	[(1R)-1-苯基-3,4-二氢异唑啉-2(1H)-基][(1S)-1-苯基-3,4-二氢异唑啉-2(1H)-基]甲酮		潜在工艺杂质
I	(3R)-3-[[[(1S)-1-苯基-3,4-二氢异唑啉-2(1H)-碳基]氧基]-1-氮杂双环[2.2.2]辛烷-1-氧化物]		氧化降解杂质
J	2-(1H-咪唑-2-基碳基)-(1S)-1-苯基-1,2,3,4-四氢异唑啉		工艺杂质
K	(+)-(R)-奎宁环-3-基[2-(2-苯甲酰基苯基)乙基]氨基甲酸酯		氧化降解杂质
L	(2S,3S)-4-(4-氯苯基氨基)-2,3-二羟基-4-氧丁酸		拆分试剂杂质

照品(批号:170402,纯度:99.90%)、杂质L对照品(批号:161001,纯度:96.80%)均购自成都新恒创药业有限公司;杂质C对照品(批号:5-YDL-33-3,纯度:93.68%)、杂质D对照品(批号:5-YDL-40-2,纯度:96.00%)均购自加拿大TRC公司;乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Thermo Hypersil ODS C_{18} (150 mm \times 4.6 mm, 5 μm);流动相:0.02 mol/L KH_2PO_4 (含0.2%三乙胺, pH 3.0)(A)-乙腈(B)溶液为流动相,梯度洗脱;流速:1.2 mL/min;检测波长:210 nm;柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;进样量:20 μL 。梯度洗脱程序见表2。

2.2 溶液的制备

2.2.1 琥珀酸索利那新原料药供试品溶液 精密称取

琥珀酸索利那新原料药 10 mg,置于 20 mL 量瓶中,加溶剂(A 与 B 以 80:20 体积比混合而得,下同)溶解并定容,摇匀,即得。

表2 梯度洗脱程序

Tab 2 Gradient elution procedures

时间,min	A,%	B,%
0	80	20
5	80	20
30	35	65
55	35	65
60	80	20
70	80	20

2.2.2 杂质对照品溶液 分别取杂质 A、C、D、I、J、K、L 对照品约 12.5 mg,杂质 L 约 1.87 mg,精密称定,分别置于 25 mL 量瓶中,加溶剂溶解并稀释制成杂质 A、C、D、I、J、K 质量浓度均为 0.5 mg/mL,杂质 L 质量浓度为 0.075 mg/mL 的杂质对照品溶液。

2.2.3 琥珀酸索利那新对照品溶液 称取琥珀酸索利那新对照品 10 mg,置于 20 mL 量瓶中,加溶剂溶解并稀释至刻度,即得每 1 mL 中约含 0.5 mg 的琥珀酸索利那新对照品母液;精密量取 1 mL 琥珀酸索利那新对照品母液,置于 50 mL 量瓶中,加溶剂溶解并稀释至刻度,摇匀;再从中精密量取 1 mL,置于 20 mL 量瓶中,加溶剂溶解并稀释至刻度,摇匀,即得琥珀酸索利那新对照品溶液。

2.2.4 系统适用性试验溶液 精密移取“2.2.2”项下杂质对照品溶液各 1 mL,置于同一 100 mL 量瓶中,加溶剂稀释制成杂质 A、C、D、I、J、K 质量浓度均为 5 μg/mL,杂质 L 质量浓度为 0.75 μg/mL 的混合对照品贮备液;精密称取琥珀酸索利那新原料药 10 mg,置于 20 mL 量瓶中,精密加入 2 mL 混合对照品贮备液,加溶剂溶解并定容,摇匀,即得系统适用性试验溶液。

2.3 系统适用性试验

精密量取空白溶液(溶剂)和“2.2”项下琥珀酸索利那新原料药供试品溶液、系统适用性试验溶液各 20 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果,主成分峰与杂质峰之间、各杂质峰之间分离度良好,且分离度均 > 1.5,理论板数以杂质 A 峰计 > 2 000。系统适用性试验 HPLC 图见图 1。

2.4 专属性试验

(1) 酸破坏样品溶液。取琥珀酸索利那新原料药(批号:171113,下同)10 mg,置于 20 mL 量瓶中,加 1 mol/L 盐酸溶液 2 mL,于 80 °C 水浴放置 3 h 后,放冷,加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 2 mL 中和,加溶剂溶解,定容,摇匀,即得。

(2) 碱破坏样品溶液。取琥珀酸索利那新原料药 10 mg,置于 20 mL 量瓶中,加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 2 mL,于 80 °C 水浴放置 3 h 后,放冷,加 1 mol/L 盐酸溶液 2 mL 中和,加溶剂溶解,定容,摇匀,即得。

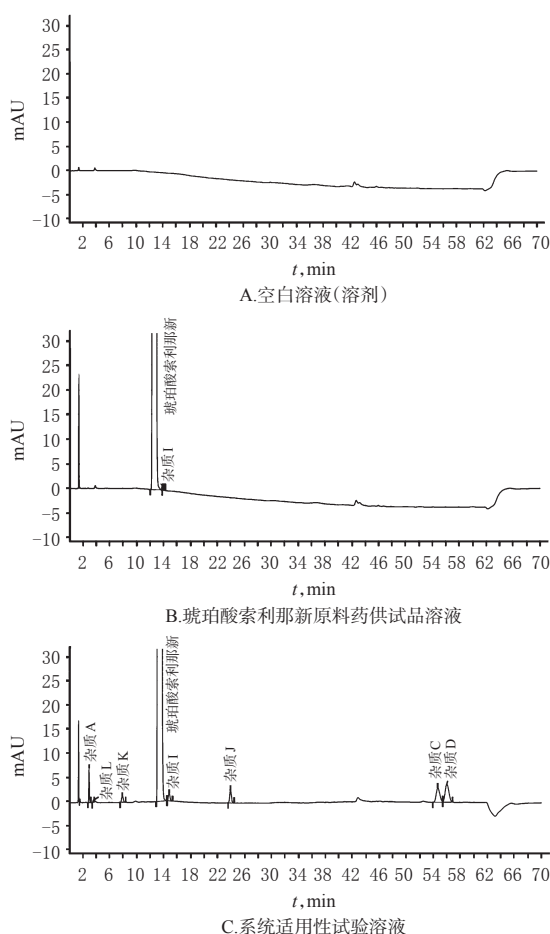


图1 系统适用性试验 HPLC 图

Fig 1 HPLC chromatograms of system suitability test

(3) 氧化破坏样品溶液。取琥珀酸索利那新原料药 10 mg,置于 20 mL 量瓶中,加 3% 过氧化氢溶液 2 mL,于 80 °C 水浴放置 1 h,放冷,加溶剂溶解,定容,摇匀,即得。

(4) 高温破坏样品溶液。取琥珀酸索利那新原料药适量,置于 105 °C 烘箱中放置 3 h,取出放冷,取 10 mg,置于 20 mL 量瓶中,加溶剂溶解,定容,摇匀,即得。

(5) 光照破坏样品溶液。取琥珀酸索利那新原料药 10 mg,置于 20 mL 量瓶中,加溶剂溶解,置于强光照箱(4 500 ± 500) lx 照射 24 h 后取出,放至室温,定容,摇匀,即得。

(6) 未破坏样品溶液。取琥珀酸索利那新原料药 10 mg,置于 20 mL 量瓶中,加溶剂溶解,定容,摇匀,即得。

取上述各样品溶液 20 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果,琥珀酸索利那新原料药在酸、高温、光照条件下均较为稳定,基本无降解产物产生,在碱破坏、氧化破坏条件下有不同程度的降解,主要生成杂质 A、I、K。降解产物与主峰以及杂质峰间均能达到基线分离,且分离度均 > 1.5,说明本法的专属性较强。专属性试验 HPLC 图见图 2。

2.5 线性关系考察

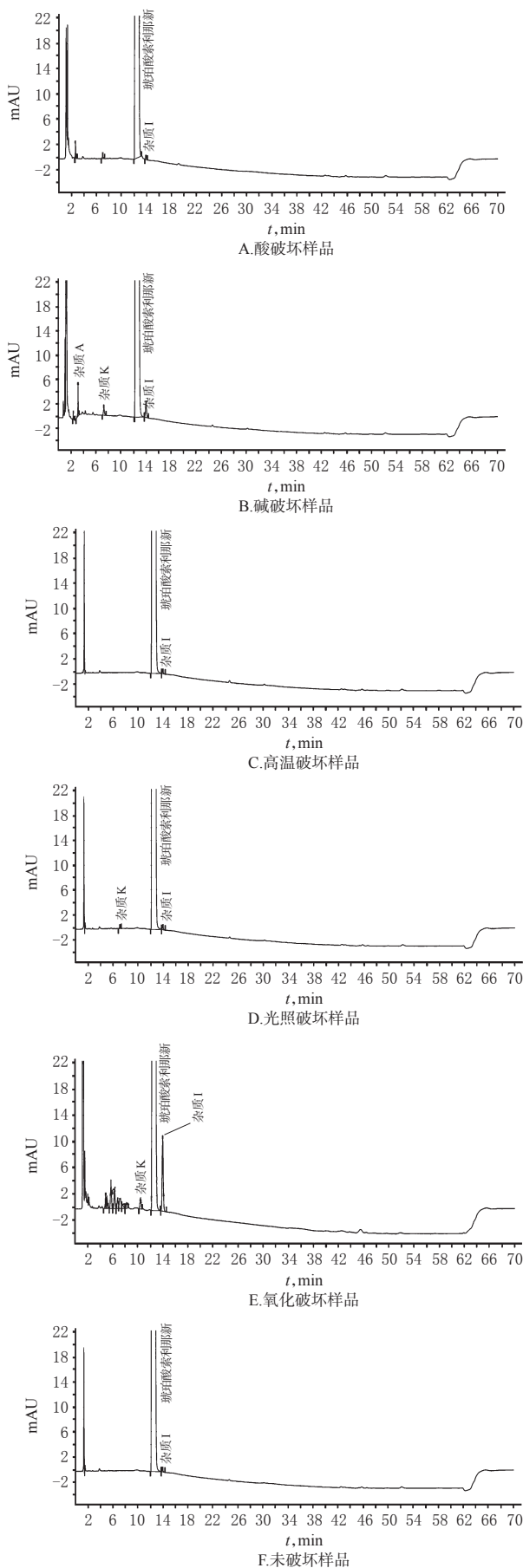


图2 专属性试验高效液相色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms of specific test

精密量取“2.2.2”项下杂质对照品溶液和“2.2.3”项下琥珀酸索利那新对照品母液适量,分别用溶剂进行稀释,即得杂质A质量浓度为0.148 1、0.246 8、0.394 8、0.493 5、0.592 2、0.740 3 $\mu\text{g/mL}$,杂质C质量浓度为0.142 9、0.238 2、0.381 0、0.476 3、0.571 6、0.714 5 $\mu\text{g/mL}$,杂质D质量浓度为0.141 1、0.235 2、0.376 3、0.470 4、0.564 5、0.705 6 $\mu\text{g/mL}$,杂质I质量浓度为0.148 9、0.248 2、0.397 1、0.496 4、0.595 7、0.744 6 $\mu\text{g/mL}$,杂质J质量浓度为0.152 0、0.253 3、0.405 3、0.506 6、0.607 9、0.759 9 $\mu\text{g/mL}$,杂质K质量浓度为0.137 9、0.229 9、0.367 8、0.459 7、0.551 6、0.689 6 $\mu\text{g/mL}$,杂质L质量浓度为0.020 0、0.033 3、0.053 3、0.066 7、0.080 0、0.100 0 $\mu\text{g/mL}$,琥珀酸索利那新质量浓度为0.148 5、0.247 5、0.395 9、0.494 9、0.593 9、0.742 4 $\mu\text{g/mL}$ 的系列溶液。精密量取上述溶液20 μL ,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以杂质A、C、D、I、J、K、L和琥珀酸索利那新的质量浓度(x)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,并以方程斜率(K)计算校正因子 $=K_{\text{琥珀酸索利那新}}/K_{\text{杂质}}$ 。琥珀酸索利那新和各杂质的回归方程与校正因子见表3。

表3 琥珀酸索利那新和各杂质的回归方程与校正因子
Tab 3 Regression equation and correction factors of solifenacin succinate and impurities

成分	回归方程	r	线性范围, $\mu\text{g/mL}$	校正因子
琥珀酸索利那新	$y=43.612 4x+0.183 9$	1.000 0	0.148 5~0.742 4	
杂质A	$y=86.295 3x-0.113 3$	1.000 0	0.148 1~0.740 3	0.51
杂质C	$y=110.228 2x-0.580 9$	0.999 9	0.142 9~0.714 5	0.40
杂质D	$y=105.189 0x-0.775 6$	1.000 0	0.141 1~0.705 6	0.41
杂质I	$y=47.997 3x-0.057 5$	0.999 9	0.148 9~0.744 6	0.91
杂质J	$y=92.986 3x-0.401 0$	1.000 0	0.152 0~0.759 9	0.47
杂质K	$y=51.200 6x-0.051 9$	0.999 9	0.137 9~0.689 6	0.85
杂质L	$y=35.499 6x-0.005 8$	0.999 8	0.020 0~0.100 0	1.23

2.6 定量限与检测限考察

精密量取“2.2.2”项下杂质对照品溶液和“2.2.3”项下琥珀酸索利那新对照品母液适量,逐级稀释,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。以信噪比为10:1计算定量限,以信噪比为3:1计算检测限。结果,琥珀酸索利那新和杂质A、C、D、I、J、K、L的定量限分别为0.148 5、0.148 1、0.142 9、0.141 1、0.148 9、0.152 0、0.137 9、0.020 0 $\mu\text{g/mL}$,检测限分别为0.049 5、0.049 3、0.047 6、0.047 0、0.048 1、0.050 7、0.046 0、0.006 7 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.7 精密度试验

取“2.2.4”项下系统适用性试验溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样6次,记录峰面积。结果,琥珀酸索利那新和杂质A、C、D、I、J、K、L峰面积的RSD分别为1.01%、0.61%、0.57%、0.66%、0.75%、0.69%、0.61%、1.06% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.8 稳定性试验

取“2.2.4”项下系统适用性试验溶液适量,分别于室温下放置0、5、10、15、20、24 h后,按“2.1”项下色谱条件

进样测定,记录峰面积。结果,琥珀酸索利那新和杂质A、C、D、I、J、K、L峰面积的RSD均 $<5.0\%$ ($n=6$),表明系统适用性溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.9 重复性试验

按“2.2.4”项下系统适用性试验溶液制备方法制备供试品溶液共6份,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,琥珀酸索利那新和杂质A、C、D、I、J、K、L峰面积的RSD分别为0.76%、1.51%、1.12%、0.93%、1.10%、2.32%、2.08%、2.86% ($n=6$),表明本试验重复性良好。

2.10 加样回收率试验

精密称取琥珀酸索利那新原料药(批号:171113)10 mg,置于20 mL量瓶中,共9份,分别加入“2.2.4”项下溶液1.6、2.0、2.4 mL,再用溶剂稀释至刻度,即得分别相当于杂质限度为80%、100%和120%的供试品溶液。取上述供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以加校正因子的主成分自身对照法计算各杂质回收率。结果,杂质A、C、D、I、J、K、L的平均回收率分别为101.09%、97.58%、93.77%、98.56%、99.68%、97.07%、93.54%,RSD分别为0.75%、0.51%、0.47%、0.84%、0.70%、0.75%、1.21% ($n=9$)。回收率测定结果见表4。

表4 回收率测定结果($n=9$)

Tab 4 Results of recovery tests ($n=9$)

成分	杂质限度	取样量, mg	样品中含 量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均回收率, %	RSD, %			
杂质A	80%	10.86	0	8.12	8.226	101.31	101.09	0.75			
		10.73	0		8.257	101.69					
		10.94	0		8.303	102.25					
	100%	10.64	0	10.15	10.241	100.89					
		10.34	0		10.215	100.64					
		10.53	0		10.317	101.65					
	120%	10.86	0	12.18	12.281	100.83					
		10.73	0		12.296	100.95					
		10.94	0		12.133	99.61					
	杂质C	80%	10.86	0	7.46	7.236			97.05	97.58	0.51
			10.73	0		7.268			97.48		
			10.94	0		7.340			98.44		
100%		10.64	0	9.32	9.048	97.08					
		10.34	0		9.064	97.25					
		10.53	0		9.112	97.77					
120%		10.86	0	11.18	10.960	98.03					
		10.73	0		10.952	97.96					
		10.94	0		10.864	97.17					
杂质D		80%	10.86	0	7.69	7.200	93.65	93.77	0.47		
			10.73	0		7.228	94.02				
			10.94	0		7.245	94.23				
	100%	10.64	0	9.61	8.942	93.05					
		10.34	0		9.028	93.95					
		10.53	0		9.020	93.86					
	120%	10.86	0	11.53	10.861	94.20					
		10.73	0		10.832	93.95					
		10.94	0		10.730	93.06					
	杂质I	80%	10.86	1.52	7.59	8.974	98.18			98.56	0.84
			10.73	1.50		9.102	100.11				
			10.94	1.53		9.080	99.42				

续表4

Continued tab 4

成分	杂质限度	取样量, mg	样品中含 量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均回收率, %	RSD, %			
杂质I	100%	10.64	1.49	9.49	10.828	98.40	99.68	0.70			
		10.34	1.49		10.802	98.57					
		10.53	1.47		10.873	99.04					
	120%	10.86	1.52	11.39	12.650	97.72					
		10.73	1.50		12.672	98.07					
		10.94	1.53		12.642	97.54					
	杂质J	80%	10.86	0	8.19	8.112			99.03	99.68	0.70
			10.73	0		8.178			99.83		
			10.94	0		8.263			100.86		
100%		10.64	0	10.24	10.194	99.55					
		10.34	0		10.227	99.88					
		10.53	0		10.241	100.01					
120%		10.86	0	12.29	12.295	100.04					
		10.73	0		12.239	99.58					
		10.94	0		12.088	98.36					
杂质K	80%	10.86	0	7.70	7.446	96.75	97.07	0.75			
		10.73	0		7.481	97.20					
		10.94	0		7.590	98.62					
	100%	10.64	0	9.62	9.316	96.84					
		10.34	0		9.265	96.31					
		10.53	0		9.367	97.37					
	120%	10.86	0	11.54	11.212	97.15					
		10.73	0		11.229	97.30					
		10.94	0		11.093	96.12					
	杂质L	80%	10.86	0	1.19	1.113			93.64	93.54	1.21
			10.73	0		1.114			93.73		
			10.94	0		1.129			94.91		
100%		10.64	0	1.49	1.380	92.87					
		10.34	0		1.410	94.86					
		10.53	0		1.395	93.86					
120%		10.86	0	1.78	1.653	92.72					
		10.73	0		1.675	93.96					
		10.94	0		1.627	91.27					

2.11 样品中有关物质测定

取琥珀酸索利那新原料药3批,按“2.2.1”项下方法制备溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并按加校正因子的主成分自身对照法计算各杂质的含量。结果,3批琥珀酸索利那新原料药中杂质I含量为0.015%~0.018%,其余杂质未检出。琥珀酸索利那新原料药中有关物质检测结果见表5。

表5 琥珀酸索利那新原料药中有关物质检测结果(%)

Tab 5 Results of related substance determination in solifenacin succinate raw material (%)

样品批号	杂质A	杂质C	杂质D	杂质I	杂质J	杂质K	杂质L	总杂
180117	-	-	-	0.015	-	-	-	0.015
180119	-	-	-	0.018	-	-	-	0.018
180502	-	-	-	0.016	-	-	-	0.016

注:“-”表示未检出

Note:“-”represents undetected

3 讨论

3.1 色谱条件选择

琥珀酸索利那新原料药在储存过程中可能会氧化

降解产生杂质K,杂质L是潜在基因毒杂质,限度较低,需要较高的检测灵敏度;杂质J是合成过程中可能产生的工艺杂质,上述杂质在EP、USP中均未进行研究。笔者在前期比较了EP、USP对琥珀酸索利那新原料药中的有关物质的研究,EP中的方法对实验室条件要求苛刻,方法适用性有限,USP中的方法使主峰峰形欠佳;鉴于本研究中的几个杂质极性相差较大,无法采用现有标准的检测方法进行分析,经笔者前期筛选优化,以0.02 mol/L的KH₂PO₄(含0.2%三乙胺,pH 3.0)-乙腈溶液为流动相进行梯度洗脱时,能有效检出琥珀酸索利那新原料药在合成路径或降解途径中可能产生的杂质,且杂质之间、主成分峰与相邻杂质峰之间均能有效分离,且经验证表明,优化的色谱条件适用于本品有关物质测定。

3.2 波长、柱温、流动相的选择

笔者在前期试验中,分别考察在一定范围内改变检测波长(205~215 nm)、柱温(35~45 ℃)、初始流动相中乙腈比例(18%~22%)、流动相中三乙胺溶液浓度(0.18%~0.22%)、pH值(2.8~3.2)是否满足系统适用性和灵敏度要求,同时考察在一定范围内色谱条件改变对样品测定结果的影响。研究发现,流动相pH为2.8时,杂质L与相邻溶剂峰之间分离度欠佳,pH为2.9时分离度符合要求,pH为3.0时分离效果最佳;其他各考察条件在一定范围内改变对供试品检测无影响。

3.3 各杂质限度拟定

根据人用药品注册技术要求国际协调会议(ICH)的指导原则^[19],结合各国药典规定的各杂质限度,拟定琥珀酸索利那新杂质限度为杂质A、C、D、I、J、K均不得超过0.1%,杂质I不得超过0.015%,总杂不得超过0.3%。

综上所述,本研究建立的HPLC-加校正因子的主成分自身对照法灵敏、准确、可靠,可同时测定琥珀酸索利那新原料药中7种有关物质的含量,可为琥珀酸索利那新原料药的质量控制提供参考。

参考文献

[1] BJOM R, CHRISTIAN AB, SASCHA A, et al. Assessing psychological factors, social aspects and psychiatric comorbidity associated with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome (CP/CPPS) in men: a systematic review[J]. *J Psychosom Res*, 2014, 77(5): 333-350.

[2] 金柯, 王志荣, 宣枫, 等. 联用琥珀酸索利那新片和坦索罗辛缓释胶囊治疗女性膀胱过度活动症的效果评析[J]. *当代医药论丛*, 2018, 16(5): 177-178.

[3] 马江, 李小顺, 董维平, 等. 琥珀酸索利那新片治疗膀胱过度活动症的效果分析[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(31): 6100-6102.

[4] 张唯力, 胡自力, 胡蓉, 等. 国产酒石酸托特罗定片治疗膀胱过度活动症的临床研究[J]. *中国药房*, 2001, 12(2): 40-41.

[5] 袁道彰, 徐晓龙, 黄兰珍, 等. 索利那新治疗膀胱过度活动症疗效观察[J]. *中国现代医学杂志*, 2014, 24(6): 101-103.

[6] LIU M, WANG JY, YANG Y, et al. Overactive bladder symptom score to evaluate efficacy of solinacin for the treatment of overactive bladder symptoms[J]. *Chin Med J*, 2014, 127(2): 261-265.

[7] 那彦群, 叶章群, 孙颖浩, 等. 中国泌尿外科疾病诊断治疗指南: 膀胱过度活动症诊治指南[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 330-333.

[8] APOSTOLIDIS A. Antimuscarinics in the treatment of OAB: is there a first-line and a second-line choice?[J]. *Current Drug Targets*, 2015, 16(11): 1187-1197.

[9] WANG Y, XU K, HU H, et al. Prevalence, risk factors, and impact on health related quality of life of overactive bladder in China[J]. *Neurourol Urodyn*, 2011, 30(8): 1448-1455.

[10] European Pharmacopoeia Commission. *European Pharmacopoeia*: 9.3[S]. S.I.: European Directorate for the Quality of Medicines, 2016: 4991-4992.

[11] The United States Pharmacopoeial Convention. *U.S. Pharmacopoeia*[EB/OL]. [2018-06-01]. [http://zy.yaozh.com/foreign/USPPHarmArchives/41\(5\)%20InProcess%20Revision%20Solifenacin%20Succinate.pdf](http://zy.yaozh.com/foreign/USPPHarmArchives/41(5)%20InProcess%20Revision%20Solifenacin%20Succinate.pdf).

[12] 李艳贞, 王成港. HPLC法测定琥珀酸索利那新原料中有关物质[J]. *现代药物与临床*, 2018, 33(7): 1573-1578.

[13] 喻颜, 赵劲松, 张弘. HPLC测定琥珀酸索利那新片中的有关物质[J]. *华西药学杂志*, 2017, 32(2): 214-216.

[14] 龚俊强. 琥珀酸索利那新片的制剂工艺及质量研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.

[15] International Council for Harmonization. *Harmonised tripartite guideline. Impurities in new drug substances Q3A (R2) (2006)*[EB/OL]. [2018-06-09]. https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3A_R2/Step4/Q3A_R2_Guideline.pdf.

(收稿日期:2018-11-30 修回日期:2019-03-06)

(编辑:唐晓莲)