

吡达帕胺及片剂有关物质研究*

赵 喆,唐素芳

(天津市药品检验所,天津 300070)

摘要 目的:建立了吡达帕胺及片剂有关物质色谱系统适用性试验。方法:色谱柱为 Sepax Sapphire C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水-冰醋酸(45: 55: 0.1); 流速为 1.0 ml/min; 检测波长为 240 nm; 进样量为 20 μl。结果:该方法完善了现版《中国药典》标准的色谱系统,提高了 HPLC 的专属性。结论:本方法准确、适用性强,可满足吡达帕胺及片剂的有关物质测定。

关键词 吡达帕胺,片剂,有关物质

中图分类号:R972⁺.4

文献标识码:A

文章编号:1006-5687(2010)03-0001-03

Determination of related substances in indapamide tablets by HPLC

Zhao Zhe, Tang Sufang

(Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070)

ABSTRACT Objective: To establish a system suitability test for the determination of related substances in indapamide and its tablets by HPLC. Method: The chromatographic column was Sepax Sapphire C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), and the mobile phase consisted of methanol - water - acetic acid (45: 55: 0.1), the flow rate of which was 1.0 ml/min. The sample was injected into the chromatograph with a volume of 20 μl and indapamide was detected at the wavelength of 240 nm. Conclusions: The suitability and specificity of the chromatographic system were improved, and the new method was both accurate and suitable for determination of the related substances in indapamide tablets.

KEY WORDS indapamide, tablets, related substances

吡达帕胺为目前临床上广泛应用的一线抗高血压药,吡达帕胺原料及片剂均收载于《中国药典》2005年版二部^[1],其中有关物质检查与含量测定均采用 HPLC 方法,其色谱系统中的系统适用性试验仅对色谱柱的理论板数和主成分与内标物的分离度做出规定,而在实际检验中发现,即使色谱系统满足上述两个要求时也不能确保主成分色谱峰与相邻杂质峰的有效分离,从而影响有关物质检测结果,所以有必要进行完善与修订。本文通过对吡达帕胺原料药和片剂进行专属性试验的考察,发现碱降解破坏试验可以产生 1 个与主峰相邻的、稳定的、结构基本明确的降解产物,可以此来制备色谱系统适用性溶液,从而对现有的色谱条件加以限定和完善,提高了 HPLC 方法的专属性,经试验,可完全满足吡达帕胺原料及片剂有关物质检查。经与吡达帕胺原研厂法国施维雅公司提供的已知杂质进行比对,确定了杂质的归属,本文建立的方法将收载于《中国药典》2010年版二部。

1 仪器与试剂

LC-10AT 高效液相色谱仪系统(日本岛津)。吡

达帕胺对照品(中国药品生物制品检定所,批号 100257-200002);吡达帕胺原料和吡达帕胺片(均由天津力生制药股份有限公司提供,原料批号为 Y0709010、Y0709011 和 Y0709012,片剂批号为 0801001、0801003 和 0802012);甲醇、乙腈为色谱纯;水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱为 Sepax Sapphire C₁₈(4.6 mm × 250mm, 5μm); 流动相为甲醇-水-冰醋酸(45: 55: 0.1); 检测波长为 240 nm; 进样量 20 μl。调节流速使吡达帕胺峰的保留时间约为 12 min,量取对照品溶液(每 1 ml 中约含吡达帕胺 0.2 mg)5 ml,加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 2 ml,摇匀,置水浴中加热回流 1 h,放冷后用 1 mol/L 盐酸溶液调节至中性,加流动相稀释至 50 ml,摇匀,量取 20 μl 注入液相色谱仪,调节检测灵敏度,使主成分色谱峰的峰高达到满量程,色谱图中吡达帕胺峰与相对保留时间约为 1.26 的降解产物的分离度应大于 6.0。在上述色谱条件下,基线平稳,主峰的保留时间约为 11.6 min,与

各杂质峰分离良好,理论板数按吲哒帕胺峰计算为10 778。

2.2 溶液的制备

2.2.1 原料药储备液 称取吲哒帕胺原料 25 mg 置 50 ml 量瓶中,加流动相适量,在水浴中加热使溶解,加流动相稀释至刻度,摇匀(0.5 mg/ml)。

2.2.2 片剂储备液 称取吲哒帕胺片粉(5片量)置 25 ml 量瓶中,加流动相适量,在水浴中加热使溶解,加流动相稀释至刻度,摇匀(0.5 mg/ml)。

2.2.3 辅料储备液 按照处方分别称取除吲哒帕胺以外的其他成分和辅料,混合均匀,制成辅料粉。称取辅料粉(5片量)置 25 ml 量瓶中,加流动相适量,在水浴中加热使溶解,加流动相稀释至刻度,摇匀。

2.2.4 原料药测定溶液 取原料药储备液作为供试品溶液;精密量取适量,加流动相稀释制成每 1 ml 中约含 5 μ g 的溶液,作为对照溶液。

2.2.5 片剂测定溶液 取片剂储备液适量,滤过,取续滤液作为供试品溶液;精密量取适量,加流动相稀释制成每 1 ml 中约含 5 μ g 的溶液,作为对照溶液。

2.2.6 阴性对照溶液 取辅料储备液适量,滤过,取续滤液作为阴性对照溶液。

2.3 方法的专属性

2.3.1 酸破坏试验 取上述 3 种储备液各 2 ml 分别加入 1 mol/L 盐酸溶液 2 ml,水浴中加热回流 1 h,放冷,用氢氧化钠试液调节 pH 值至中性,加流动相稀释至 50 ml,用 0.45 μ m 滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.3.2 碱破坏试验 取上述 3 种储备液各 2 ml 分别加入氢氧化钠试液 2 ml,水浴中加热回流 1 h,放冷,用 1 mol/L 盐酸溶液调节 pH 值至中性,加流动相稀释至 50 ml,用 0.45 μ m 滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.3.3 氧化破坏试验 取上述 3 种储备液各 2 ml 分别加入 1% 过氧化氢溶液 0.1 ml,放置 40 min,加流动相稀释至 50 ml,用 0.45 μ m 滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

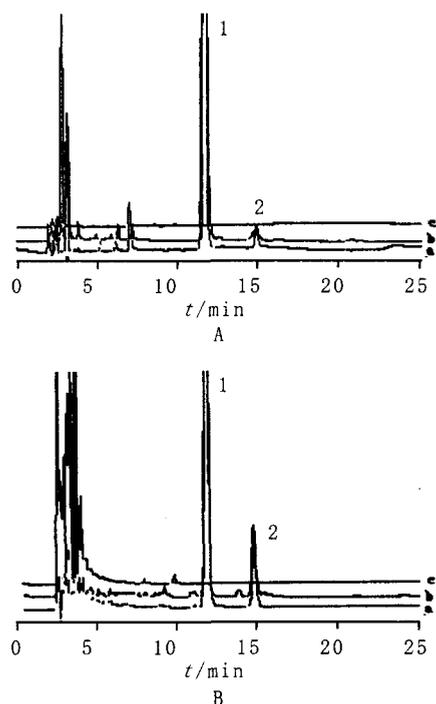
2.3.4 高温破坏试验 取上述 3 种储备液各 2 ml 直接在水浴中加热回流 1 h,放冷,加流动相稀释至 50 ml,用 0.45 μ m 滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

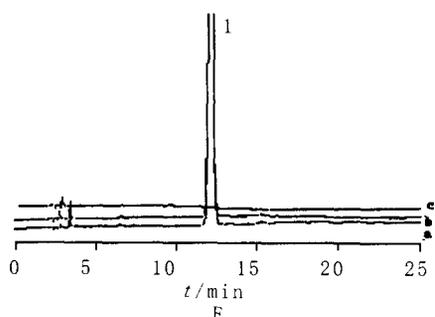
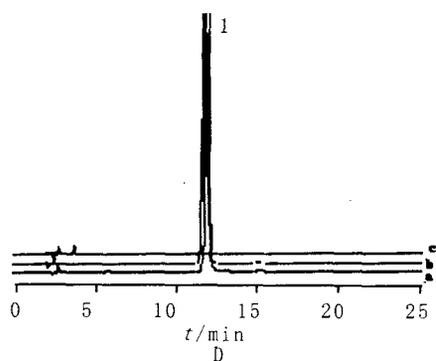
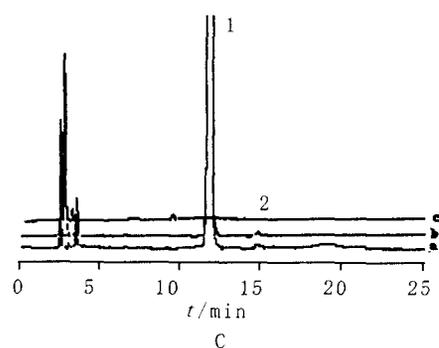
2.3.5 光照破坏试验 取上述 3 种储备液适量,在阳光下照射 3 d,分别加流动相稀释至 50 ml,用 0.45 μ m 滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

取上述供试品溶液按照“2.1”项下色谱条件进样分析,见图 1。结果表明,通过上述苛刻的试验条件后,高温条件和光照条件下供试品较为稳定,未产生明

显的降解产物,而在其他三个破坏条件下,供试品均有不同程度的降解,而且随着破坏条件的加剧,检出杂质峰的个数与杂质的量均有不同程度的增加,但主峰与降解产物峰均能达到良好的分离,特别是在碱破坏条件下,吲哒帕胺会产生一个较大的相对保留时间约为 1.26 的杂质峰(与主峰分离度为 6.2),该杂质经 DAD 检测紫外图谱与法国施维雅公司(吲哒帕胺片原研厂)提供的 Y38 杂质[3-氨基磺酰基-4-氯-N-(2-甲基-吡啶)苯甲酰胺]一致,故初步推断该杂质即为 Y38 杂质。辅料溶液在上述苛刻试验中发生的降解很小,对杂质的测定无影响。上述破坏试验的溶液经采用另两种不同品牌的色谱柱(Dikma Kromasil、Agilent Extend)进样分析,均得到相同的实验结论,表明粗放度良好。结果表明,该色谱条件专属、可行。故根据上述专属性试验结果,在拟定标准中增订了以碱破坏试验来制备色谱系统适用性溶液,以满足吲哒帕胺原料及片剂有关物质测定的要求。

2.4 杂质的限度与检出限 现版药典标准中杂质的限度仅规定了杂质总量不得过 1%,根据国外药典的现状及目前国内杂质检测的要求,在拟定标准中增加了对最大单一杂质的限制,即单一杂质不得过 0.5%,杂质总量不得过 1.0%。经试验,采用逐步稀释法测定吲哒帕胺的最低检出限为 0.01%。为增强质量标准的可操作性,在拟定标准中规定检出限以下的色谱峰面积可忽略不计。





1. 吲达帕胺 2. Y 38 杂质

a - 吲达帕胺原料, b - 吲达帕胺片剂, c - 辅料

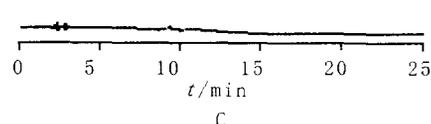
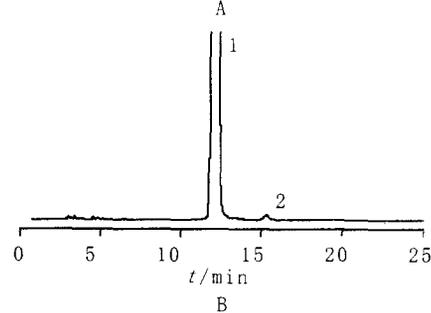
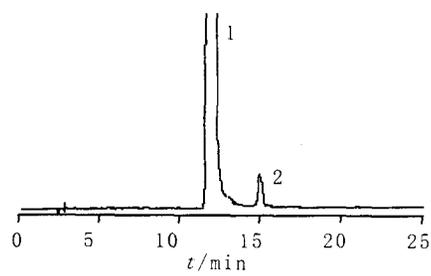
图1 经酸破坏(A)碱破坏(B)氧化破坏(C)

高温破坏(D)和光照破坏(E)后溶液的 HPLC 色谱图

2.5 有关物质的测定 按照“2.1”项下色谱条件,精密量取对照溶液 20 μl 注入液相色谱仪,调节检测灵敏度,使主成分色谱峰的峰高约为满量程的 20%,再精密量取供试品溶液与对照溶液各 20 μl ,分别注入液相色谱仪,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,单一杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积的 1/2,各杂质峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积(供试品溶液中任何小于对照溶液主峰面积 0.01 倍的色谱峰可忽略不计)。经对收集到的吲达帕胺原料和片剂样品进行测定,结果均符合规定,同时精密量取阴性对照溶液 20 μl 注入液相色谱仪,记录色谱图,结果表明辅料对片剂有关物质的测定无影响,见表 1,图 2。

表 1 有关物质测定结果($n=3$)

剂型	批号	杂质个数	最大单一杂质 (%)	杂质总量 (%)
原料药	Y0709010	1	0.20	0.20
	Y0709011	1	0.18	0.18
	Y0709012	1	0.17	0.17
片剂	0801001	1	0.13	0.13
	0801003	2	0.12	0.13
	0802012	2	0.15	0.16



1. 吲达帕胺 2. Y38 杂质

图2 吲达帕胺原料(A)片剂样品(B)和辅料(C)色谱图

3 讨论

3.1 建立的系统适用性试验完善了现版《中国药典》标准的色谱系统,提高了 HPLC 方法的专属性,而且有关物质限度增加了对单一杂质的限定,更加严格地控制了吲达帕胺及片剂的产品质量。

3.2 经采用不同品牌的色谱柱(Dikma Kromasil、Agilent Extend)进样分析,实验结果基本一致,表明该方法适用性强,粗放度好,准确可靠,为《中国药典》2010 年版该品种的修订提供了依据。

参考文献

- 1 中国药典. 二部. 2005:253