

RP-HPLC 测定辛伐他汀胶囊的有关物质

胡楚楚, 郑国钢, 郑金琪(浙江省食品药品检验所, 杭州 310004)

摘要:目的 建立用反相高效液相色谱法测定辛伐他汀胶囊有关物质的方法,同时考察了 19 批辛伐他汀胶囊的有关物质。
方法 使用 SUPELCO C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×33 mm, 3 μm),以乙腈-0.1%磷酸溶液(50:50)为流动相 A,0.1%磷酸的乙腈溶液为流动相 B,梯度洗脱。检测波长为 238 nm,流速为 3.0 mL·min⁻¹。结果 辛伐他汀峰与洛伐他汀峰及其余有关物质分离良好,辛伐他汀的检测限为 0.25 ng。结论 方法准确、灵敏度高,可作为该制剂的质量控制方法。

关键词:辛伐他汀胶囊;有关物质;梯度洗脱法;反相高效液相色谱法

中图分类号:R917.101;R927.11

文献标志码:B

文章编号:1007-7693(2011)09-0856-04

作者简介:胡楚楚,女,硕士,主管药师

Tel:(0571)86459422

E-mail:chuchuhu.xs@gmail.com

RP-HPLC Determination of the Related Substances of Simvastatin Capsules

HU Chuchu, ZHENG Guogang, ZHENG Jinqi(Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for determination of the related substances of simvastatin capsules by RP-HPLC gradient elution method. And the related substances of nineteen batches of simvastatin capsules are detected. **METHODS** A SUPELCO C₁₈ column(4.6 mm×33 mm, 3 μm)was used. The mobile phase A was acetonitrile-0.1% phosphoric acid (50 : 50), mobile phase B composed of 0.1% phosphoric acid acetonitrile solution, with gradient elution method. The wavelength of UV detector was 238 nm, the flow rate was 3.0 mL·min⁻¹. **RESULTS** The resolutions of simvastatin and lovastatin and other related substances were good. The limit of quantitation was 0.25 ng. **CONCLUSION** The method is accurate and repeatable, and could be applied to control the quality of this drug.

KEY WORDS: simvastatin capsule; relative substances; gradient elution; RP-HPLC

辛伐他汀为甲基羟戊二酰辅酶 A(HMG-COA)还原酶抑制剂, 抑制内源性胆固醇的合成, 为降血脂药。因此对动脉粥样硬化和冠心病的防治产生作用^[1]。由于辛伐他汀结构中的不稳定基团(4-羟基-2H-6 氧合-吡喃环)容易被氧化, 因此一般在制剂处方中加入抗氧化剂以增加稳定性, 如枸橼酸、叔丁基-4-羟基茴香醚、硫脲和抗坏血酸^[2]。查阅国内外药品标准, 辛伐他汀胶囊仅收载于国家药品标准 WS1-(X-065)-2003Z^[3]中, 且未对有关物质进行控制, 国内外文献也未对辛伐他汀胶囊的有关物质进行测定。为了更好地控制辛伐他汀胶囊的质量, 在中国药典2010 年版二部该品种质量标准起草过程中, 研究小组首次建立了更有效控制辛伐他汀胶囊中杂质的 HPLC 梯度洗脱方法。本方法经试验, 对辛伐他汀胶囊样品的有关物质实行了较好的分离, 适用于检测各个厂家的多批样品的有关物质。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

Waters 2695 高效液相色谱仪, 带 Waters 2996 DAD 检测器, Agilent 1200 高效液相色谱仪; 辛伐他汀对照品为中国药品生物制品检验所提供(批号: 100601-200502, 含量: 100%); 洛伐他汀对照品为中国药品生物制品检验所提供(批号: 100600-200502, 含量: 100%)。19 批辛伐他汀胶囊样品收集自 7 个厂家。

1.2 溶液的制备

1.2.1 供试品溶液的制备 取本品内容物适量(约相当于辛伐他汀 80 mg), 置 100 mL 量瓶中, 加稀释液[乙腈-0.01 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(用磷酸溶

液调节 pH 值至 4.0)(60 : 40)]适量, 充分振摇, 使辛伐他汀溶解并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

1.2.2 对照溶液的制备 精密量取上述供试液 1 mL, 用稀释液稀释至 100 mL, 摇匀, 作为对照溶液。

1.3 色谱条件

参考 USP32 辛伐他汀原料有关物质方法, 采用 C₁₈(4.6 mm×33 mm, 3 μm)柱。以乙腈-0.1%磷酸溶液(50 : 50)为流动相 A, 含 0.1%磷酸的乙腈溶液为流动相 B, 线性梯度洗脱程序见表 1; 检测波长为 238 nm; 流速为 3.0 mL·min⁻¹; 进样量 10 μL。

表 1 线性梯度洗脱程序

Tab 1 The linear elution process

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	100	0
4.5	100	0
4.6	95	5
8.0	25	75
11.5	25	75
11.6	100	0
13	100	0

2 方法与结果

2.1 色谱条件的选择

首先采用国家药品标准含量测定液相方法, 将洗脱时间延长, 但是杂质峰较少, 可能有杂质难以洗脱。

参考 USP32^[4]和 EP5.0^[5]辛伐他汀原料含量测定方法, 采用乙腈和 0.1%磷酸溶液进行梯度洗脱。结果, 杂质峰基本被洗脱并检出, 主峰与洛伐他汀峰、辅料及其余有关物质分离良好。因此, 采用此方法对辛伐他汀胶囊进行有关物质测定。

2.2 色谱柱的选择

USP32 和 EP5.0 均采用 ODS 柱(4.6 mm×33 mm, 3 μm)考察 Luna、SUPELCO 和 Inertsil 3 个厂家此规格的色谱柱,发现辛伐他汀和有关物质均分离良好。

2.3 方法专属性考察

2.3.1 系统适用性试验及辅料空白试验 取辛伐他汀和洛伐他汀各适量,加稀释液溶解并稀释制成每 1 mL 中各约含 0.02 mg 的溶液,作为系统适用性溶液。辛伐他汀保留时间为 3.256 min,洛伐他汀保留时间为 2.180 min,分离良好,辅料及溶剂无干扰,色谱图见图 1、图 2 和图 3。辅料的出峰位置基本上在主峰的相对保留时间 0.3 倍之前,因此,在有关物质测定中扣除相对主峰保留时间 0.3 倍前的辅料峰。

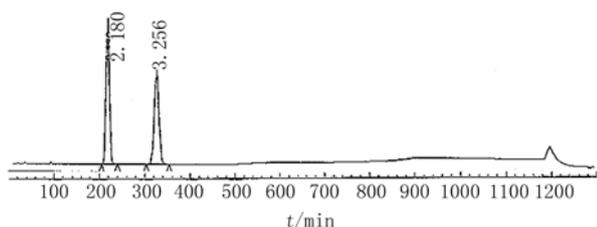


图 1 系统适用性溶液色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram of the system suitability solution

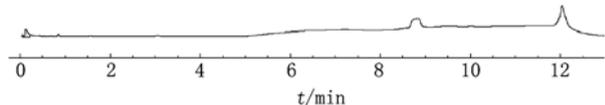


图 2 辅料溶液图谱

Fig 2 HPLC chromatogram of adjuvant solution

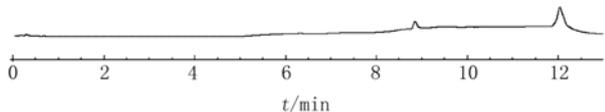


图 3 空白溶剂图谱

Fig 3 HPLC chromatogram of diluent solvent

2.3.2 强制破坏试验 取厂家 5 批号为 080101 的样品内容物,研细,取粉末 5 份,每份约相当于含辛伐他汀 40 mg,分别置 50 mL 量瓶中,各加稀释液 10 mL 溶解。分别进行酸、碱、氧化、光照、热降解试验。其中酸破坏试验加入 1.0 mol·L⁻¹ 盐酸溶

液 5.0 mL,放置 24 h,加 1.0 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液 5.0 mL 中和后,加稀释液稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液;碱破坏试验加入 1.0 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液 5.0 mL,放置 24 h,加 1.0 mol·L⁻¹ 盐酸溶液 5.0 mL 中和后,加稀释液稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液;氧化破坏试验加入 30%过氧化氢溶液 5 mL,放置 24 h,加稀释液稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液;光照破坏试验在(4 500±500)lx 光照强度下放置 24 h,加稀释液稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液;热破坏试验在 60 °C 水浴中加热 8 h,放冷,加稀释液稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液。按“1.3”项下色谱条件进行有关物质检查。试验结果表明该法能使辛伐他汀胶囊内容物的酸、碱、氧化、光照与热破坏的降解产物与主峰均能获得良好的分离,色谱图见图 4 至图 8。

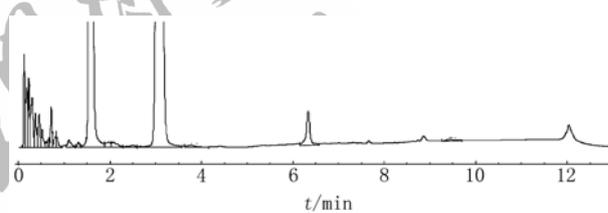


图 4 辛伐他汀胶囊酸破坏 HPLC 图

Fig 4 HPLC chromatogram of simvastatin capsules treated with 1.0 mol·L⁻¹ HCL

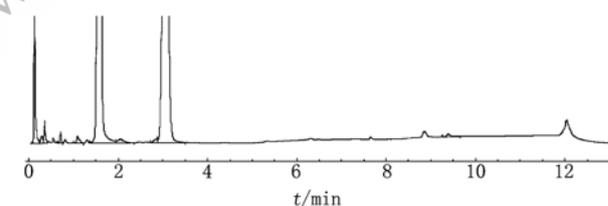


图 5 辛伐他汀胶囊碱破坏 HPLC 图

Fig 5 HPLC chromatogram of simvastatin capsules treated with 1.0 mol·L⁻¹ NaOH

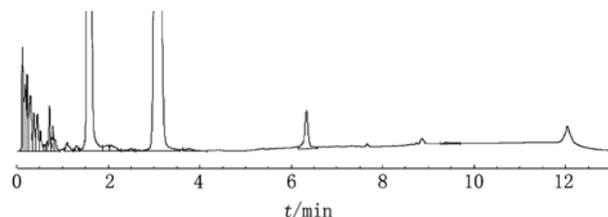


图 6 辛伐他汀胶囊氧化破坏 HPLC 图

Fig 6 HPLC chromatogram of simvastatin capsules treated with 30% H₂O₂

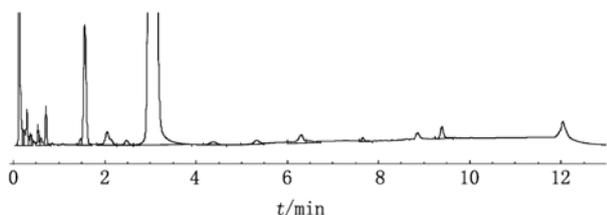


图7 辛伐他汀胶囊光照破坏 HPLC 图

Fig 7 HPLC chromatogram of simvastatin capsules treated with strong light

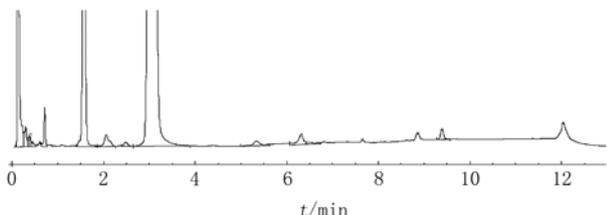


图8 辛伐他汀胶囊热破坏 HPLC 图

Fig 8 HPLC chromatogram of simvastatin capsules treated with heat

2.3.3 检测限 将辛伐他汀对照品溶液逐步稀释得到 LOD, 信噪比为 3 时, 辛伐他汀浓度为 0.25 ng。

2.4 样品有关物质测定

将各批样品按“1.2”和“1.3”项下方法测定。结果见表 2, 样品典型色谱图见图 9。

表 2 辛伐他汀胶囊有关物质测定结果

Tab 2 Results of related substance of simvastatin capsules

厂家序号	批号	规格/mg	总杂质/%	最大单个杂质/%
1	080101	10	1.99	0.97
	080201	20	1.59	0.69
	080101	5	2.66	1.41
2	20070928	5	3.14	1.35
	20071212	5	3.16	1.30
	20080123	5	1.92	0.61
3	070730	10	1.34	0.47
	071120	10	1.34	0.46
	071203	10	1.36	0.43
4	08022601	10	2.17	0.62
	08022701	10	2.07	0.56
	08022901	10	2.09	0.54
5	080101	10	2.63	1.47
	080302	10	2.40	1.30
	080301	10	2.73	1.55
6	070907	5	6.53	5.31
	20070902	5	2.58	1.16
7	20070503	20	1.83	0.64
	20070901	40	1.46	0.48

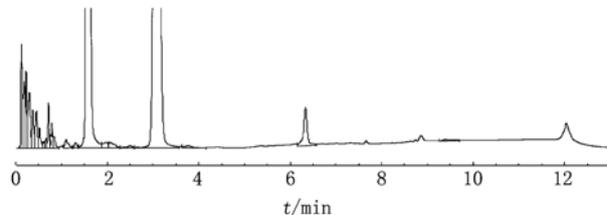


图9 厂家 5 批号为 080101 的辛伐他汀胶囊样品有关物质的色谱图

Fig 9 HPLC chromatogram of simvastatin capsule (Batch No. 080101, Manufacturer 5)

3 讨论

由于辛伐他汀是易氧化物质, 为了更好地控制辛伐他汀胶囊的质量, 应该检测单个最大杂质和总杂质。结果大部分厂家的产品有关物质检查结果均较高, 且该胶囊剂与同品种片剂比较有关物质明显偏高, 因此建立一个灵敏、可靠的有关物质测定方法对提高产品质量至关重要, 可帮助生产企业了解各种影响产品稳定性的因素, 以便在生产、储藏过程中能有的放矢地降低对产品质量的破坏, 达到控制产品质量的目的。

由于厂家提供的辅料不全, 不能对所有辅料峰定位, 因而也不能排除所有辅料峰的干扰。考虑到辅料出峰大多在 1 min 之前, 即相对辛伐他汀峰保留时间的 0.3 倍之前, 而且日后检验工作中要获取各厂家全部辅料有一定难度, 因此, 笔者拟定将所有与主峰相对保留时间 0.3 倍内的辅料峰不计入有关物质当中, 不对各辅料峰进行单独定位扣除。由降解试验可见, 有一保留时间约为 1.5 min 的未知杂质峰较容易在破坏试验, 尤其是酸碱破坏后迅速增大, 因此有必要对单一杂质也进行控制。

用本文方法检验从 7 个厂家收集到的 19 批样品, 结果满意。

REFERENCES

- [1] SUN Z S. Evaluation of simvastatin [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2003, 38(9): 711-712.
- [2] JIANG J R, JIN H R. Development in synthesis of simvastatin [J]. Zhejiang Chem Ind (浙江化工), 2006, 37 (2): 20-22.
- [3] WS1-(X-065)-2003Z [S]. 2004: 137.
- [4] USP 32 [S]. 2008: 3234-3235.
- [5] EP 5.0 [S]. 2005: 2413-2415.

收稿日期: 2010-06-22