

高效液相色谱法测定替米沙坦有关物质的方法学研究

陈珏^{1,2}, 郑国钢³, 曾苏¹ (1. 浙江大学药学院, 浙江 杭州 310031; 2. 浙江省食品药品监督管理局, 浙江 杭州 310012; 3. 浙江省药品检验所, 浙江 杭州 310004)

摘要:目的 建立新药替米沙坦中有关物质的测定方法, 以控制其质量。方法 采用反相高效液相色谱法, 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 乙腈-0.01 mol/L 醋酸铵溶液 (60:40) (用 30% 醋酸调节 pH 值至 6.0) 为流动相, 检测波长为 255 nm。结果 在本实验选定的色谱条件下, 替米沙坦峰能与各主要合成中间体和降解产物峰有效分离, 检测灵敏。结论 本法简便、准确, 重复性好, 结果满意。

关键词: 替米沙坦; 有关物质; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.7.1 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2005)03-0252-02

Determination of the related substances of telmisartan by HPLC

CHEN jue^{1,2}, ZHENG Guo-gang³, ZENG Su¹ (1. College of Pharmaceutical Science, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China; 2. Zhejiang Province Food and Drug Administration, Hangzhou 310012, China; 3. Zhejiang Institute for Drug Control, Hangzhou 310004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To control quality of telmisartan, a method for determination of the related substances of telmisartan was established. **METHODS** The reserved-phase high performances liquid chromatography was equipped with C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) and DAD detector. The detective wavelength was set at 255 nm. The mobile phase consisted of acetonitrile-0.01 mol/L ammonium acetate (60:40), and was adjusted to pH 6.0 with 30% acetic acid. **RESULTS** Telmisartan was separated with the intermediates and degraded substances efficiently. The repeatability and sensitivity of the analytical method was satisfactory. **CONCLUSION** A sensitive, simple and repeated method for detecting the related substances from telmisartan is developed and used to the quality control of telmisartan.

KEY WORDS: telmisartan; related substances; HPLC

替米沙坦 (Telmisartan) 是一种非肽类血管紧张素 II 受体拮抗剂, 用于治疗高血压^[1,2]。该药经多步反应合成, 主要有以下四种中间体^[3]。对本品的有关物质测定曾有报道^[3,4]。笔者通过对替米沙坦酸、碱、氧化、光照破坏及其四种主要中间体 HPLC 测定的研究, 建立了替米沙坦另一种有关物质检查方法, 方法灵敏、简便。

1 药品、试剂及仪器

替米沙坦原料药: 由中国医学科学院药物研究所提供, 批号为 000901、000902、000903; 中间体 A、B、C、D: 由中国医学科学院药物研究所提供。乙腈: 色谱纯, 醋酸和醋酸铵均为分析纯。仪器: Shimadzu LC-10AT vp 高效液相色谱仪, 二

极管阵列检测器; HP1100 高效液相色谱仪, 紫外检测器。色谱柱: 岛津 VP-ODS, 150 mm × 4.6 mm, 5 μm; ALLTECH C₁₈ 柱, 150 mm × 4.6 mm, 5 μm。

2 方法与结果

2.1 供试液的配制

取替米沙坦及各中间体适量, 加流动相, 超声助溶并稀释制成 0.15 mg/mL 溶液, 作为供试液。

2.2 测定波长的选择

取上述各供试溶液, 分别进样 20 μL, 用二极管阵列检测器检测, 并分析每一成分实时出峰时的紫外光谱图, 另外还对替米沙坦及工艺中的 4 种主要中间体用流动相溶解后, 在

200 ~ 400nm 的波长范围内进行紫外扫描,并选 298, 290, 286, 280, 275, 265, 260, 255, 250nm 波长处测定百分吸收系数,结果表明:在 255nm 波长处样品与各中间体的百分吸收系数相对偏差最小,即最接近。根据主成分和各个杂质的紫外吸收情况,兼顾各杂质的检出灵敏度,确定检测波长为 255nm。

2.3 流动相的选择

选用不同 pH 的流动相,进行试验,见表 1。

表 1 不同 pH 的流动相时替米沙坦与各中间体的保留时间 (RT)

Tab.1 Retention time of telmisartan and its intermediates with different pH of mobile phase

pH	保留时间 (min)				
	替米沙坦	中间体 A	中间体 B	中间体 C	中间体 D
6.0	5.14	2.50	1.41	2.51	12.55
6.6	2.63	2.40	1.23	2.46	13.58
5.0	8.99	2.30	1.47	2.07	8.94

由表 1 可知, pH5.0 时,样品峰与中间体 D 峰在同一位置出峰,故不选用 pH5.0 的流动相。pH6.6 时,样品峰出峰较快 (RT=2.63min),且与中间体 C 较接近 (RT=2.46min),不能分离,故也不采用。当 pH6.0 时,各杂质峰与样品峰分离度大于 2.0,但中间体 A 与 C 基本重叠,考虑到该两杂质峰可一并控制,故选用 pH6.0 的流动相。

2.4 方法专属性试验

2.4.1 替米沙坦与个中间体混合物的色谱分离 取上述各供试溶液等量混合,进样 20 μ l,记录色谱图,结果见图 1。

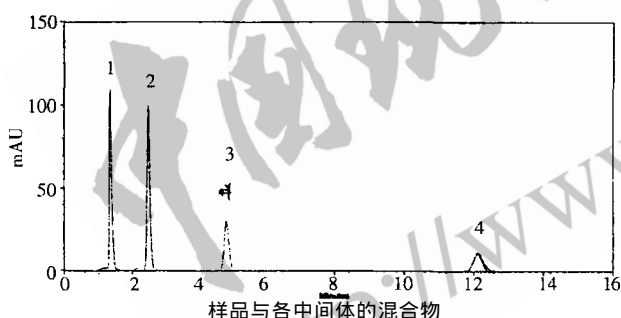


图 1 替米沙坦与各中间体的分离色谱图

Fig 1 Separation chromatogram of telmisartan with its intermediates

1 中间体 B 2 替米沙坦 3 样品 4 中间体 D

2.4.2 强制破坏试验 取本品适量,分别加 2mol/L 的氢氧化钠溶液、2mol/L 盐酸溶液和 30% 过氧化氢溶液,并加热 1h 进行破坏。另取本品,4500lx 光强度下光照 5d,按上述溶液配制及色谱系统,进样 20 μ l,记录色谱图,并与未破坏的样品对照。

2.5 方法灵敏度试验

取样品及各中间体,分别用流动相稀释制成测定液,取测定溶液 20 μ l 注入液相色谱仪,依法测定,计算方法的检测限 (S/N=3),结果最低检出量替米沙星为 0.4ng,中间体 A

为 0.4ng,中间体 B 为 0.4ng,中间体 C 为 0.4ng,中间体 D 为 1.0ng。

2.6 替米沙坦有关物质测定

2.6.1 系统适用性试验 取对照品适量,用流动相稀释成测定液,取测定液,照本实验色谱条件进样 20 μ l,理论板数大于 4000,拖尾因子为 1.05,主峰与各峰间的分离度均大于 2。

2.6.2 测定方法 取本品,用流动相溶解并定量稀释分别制成每 1mL 中含 0.16mg 的供试品溶液和每 1mL 中含 1.6 μ g 的对照溶液,照本实验选定的色谱条件,取对照溶液 20 μ l 注入液相色谱仪进行预试,调节仪器灵敏度,使主成分色谱峰的峰高约为满量程的 20%,再准确量取上述两种溶液各 20 μ l 注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分保留时间的 3 倍,供试品溶液的色谱图中如有杂质峰,量取各杂质峰面积之和,不得大于对照溶液主成分峰的峰面积 (1.0%)。批号为 000901,000902,000903,3 批样品的有关物质检查结果分别为 0.60%,0.60%,0.63%。

3 讨论

3.1 强制破坏试验表明,本实验的色谱条件下各降解产物均能与主峰完全分离。本品在未加热的情况下,分别用 1 ~ 5mol/L 的酸碱进行破坏,样品均无降解产物,后加热试验,仍无明显降解产物,表明本品对酸碱较稳定。氧化破坏未加热,在 2.2min 处有降解产物,总杂质上升 1.0%,氧化破坏加热 1h,样品基本降解。光破坏 5d,9.3min 增加一杂质。

3.2 有关物质的初步判断 从图 2,图 3 分析,样品中 t_R 1.54min 的杂质与中间体 B (t_R 1.4min) 接近,可能系中间体 B;样品中 t_R 2.52min 的杂质与中间体 A, C (t_R 2.50, 2.51min) 基本一致。在稳定性试验中发现一批样品增加了 9.25min 的杂质,与光照 5d 产生的杂质 (t_R 9.34min) 基本一致,可能是光照产生的杂质。

3.3 由于中间体 D 的保留时间为主峰保留时间的 2.4 倍,故有关物质测定时记录色谱图至主峰保留时间的 3 倍。

3.4 限度确定的讨论 根据表 3 和图 2A, 三批样品的总杂质在 0.60% ~ 0.63% 范围内,单个杂质均没有超过 0.15%。故控制总杂质质量,将本品的杂质限度定为不得过 1.0%。

参考文献

- [1] Ries UJ, Mihm G, Narri B, et al. 6-Substituted Benzimidazoles as New Nonpeptide Angiotensin II Receptor Antagonists: Synthesis, Biological Activity, and Structure [J]. J Med Chem., 1993, (36): 4040.
- [2] Dina R, Jafari M. Angiotensin II Receptor Antagonists: B An overview [J]. Am J HEALTH-Syst Pharm, 2000, (57): 1231.
- [3] Drugs Future, 1997, 22(10): 1112.
- [4] 丁雪琴,晁若冰,廖靛,等, HPLC 测定替米沙坦的含量和有关物质 [J]. 华西药学杂志, 2003, 18(3): 212.
- [5] 郭文 M. HPLC 法检查替米沙坦中有关物质 [J]. 海峡药学, 2002, 14(5):

收稿日期: 2004-09-01