

高效液相色谱法测定拉呋替丁中的有关物质

上官盈盈¹, 施菁¹, 何贤晨¹, 胡秀爱² (1. 浙江医学高等专科学校, 浙江 杭州 310053; 2. 杭州德生医药技术开发有限公司, 浙江 杭州 310014)

摘要: 目的 建立拉呋替丁原料中的有关物质的检测和控制方法。方法 高效液相色谱法: Shim-pack 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-乙腈-0.02 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液 (三乙胺调至 pH 6.0) (25:15:60), 检测波长: 220 nm, 流速: 1.0 mL·min⁻¹。结果 拉呋替丁与合成反应中的四个重要中间体, 能够得到有效分离, 拉呋替丁最低检出量为 4 ng, 控制总杂质不超过 1.0%。结论 本方法准确、简便、专属, 适用于拉呋替丁中的有关物质的检查。

关键词: 拉呋替丁; 相关物质; 高效液相色谱法

中图分类号: R916.68; R917.799.1

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2005)04-0304-03

Determination of related substance in lafutidine by RP-HPLC

SHANGGUAN Ying-ying¹, SHI Jing¹, HE Xian-chen¹, HU Xiu-ai² (1. Zhejiang Medical College, Hangzhou 310053, China; 2. Hangzhou Desheng Pharmaceutical Development Co. Ltd., Hangzhou 310014, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a HPLC method for determination of related substances in lafutidine. **METHOD** The HPLC system consisted of Shim-pack μ -C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), methanol-acetonitrile-0.02 mol·L⁻¹ phosphate buffer (25:15:60), adjusting pH to 6.0 with triethylamine, as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 220 nm. **RESULTS** A satisfactory separation condition among the four related impurities and the sample was obtained. The LOD of lafutidine was 4 ng. The total impurities were not more than 1.0%. **CONCLUSION** This method can be used for the impurity control of lafutidine, and it is accurate, simple and specific.

KEY WORDS lafutidine; related substances; HPLC

拉呋替丁 (lafutidine, LF) 是一种新型非竞争性组胺 H₂ 受体拮抗药, 通过阻断组胺 H₂ 受体和辣椒素感受神经减少胃酸分泌, 促进胃黏膜再生, 增加胃黏膜血流量以及增加胃黏液等机制发挥抗消化性溃疡作用。同其他组胺 H₂ 受体拮抗药相比, 本品具有疗效显著、不良反应少和治愈后不易复发等优点^[1,2]。笔者采用 RP-HPLC 对其合成中的主要中间体及可能产生的有关物质进行分离测定, 取得了较好的效果, 其方法目前国内尚未见报道。

1 仪器与试剂

HPLC 系统: Shimadzu 高效液相色谱仪, 包括 LC-10ATVP 型双泵、SPD-10AVP 型紫外可见光检测器、7725 型手动进样器、2010 色谱管理软件; 甲醇 (优级纯北京化工厂); 乙腈 (色

谱纯 Fisher); 三乙胺 (分析纯北京化工厂); 磷酸二氢钾 (分析纯北京化工厂)。拉呋替丁及中间体 (杭州德生技术开发有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Shim-pack (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-乙腈-0.02 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液 (三乙胺调至 pH 6.0) (25:15:60), 柱温: 25℃, 流速: 1.0 mL·min⁻¹。

2.2 测定波长的选择

根据生产工艺, 拉呋替丁合成过程中可能引入的有关物质主要是中间体: (1) I; (2) II; (3) III; (4) IV。各化合物结构式见图 1。

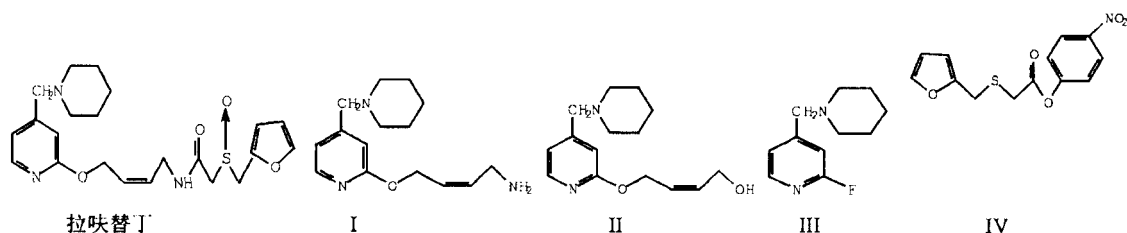


图 1 拉呋替丁及有关物质结构式

Fig 1 The structures of lafutidine and its related substances

作者简介: 上官盈盈 (1959-), 女, 副教授, 从事药物分析的教学与研究工作。

分别称取拉呋替丁原料及上述中间体各 5mg 用流动相溶解并定容至 250mL 制成 $20\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液, 于 200~400nm 内绘制紫外光谱图。经分析可知, 四者在此范围内均有一定波段的吸收, 而在 220nm 处, 各物质均有相当吸收, 而其他杂质在此波长处, 无紫外吸收, 故选取 220nm 作为检测波长。

2.3 方法的专属性考察

2.3.1 原料与中间体的分离效能 在此色谱条件下, 分别取拉呋替丁原料; 中间体 I, II, III, IV 适量用流动相溶解, 制成 $0.2\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液, 作为有关物质供试液, 取 20 μL 注入液相色谱仪, 得 HPLC 图谱。结果表明: 在本色谱条件下, 拉呋替丁与主要中间体能够得到有效分离和检测。保留时间分别为 2.8, 6.1, 8.2, 17.2, 11.4 min。分离图谱见图 2。

2.3.2 破坏性试验 取 5mg 拉呋替丁进行下列试验, (1) 加入 $6\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 4mL, 室温放置 2d 用 $6\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钾中和后, 用流动相定容至 25 mL, 得溶液 a。(2) 加入 $6\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钾溶液 4mL, 室温放置 2d 用 $6\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸中和后, 用流动相定容至 25 mL, 得溶液 b。(3) 加入 30% 过氧化氢 1mL, 室温放置 2h 用流动相定容至 25 mL, 得

溶液 c。(4) 置 115~120 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱加热 4h 依法配制成溶液 d。(5) 光照 (4500k) 10d 依法配制成溶液 e。分别取上述 a, b, c, d, e 溶液各 20 μL 注入色谱仪, 记录色谱图, 结果见图 3。

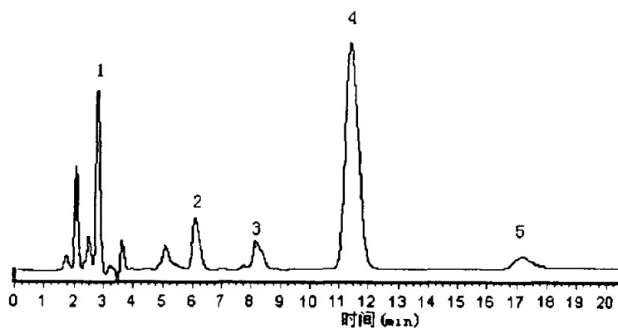


图 2 拉呋替丁与有关物质的分离图谱

Fig 2 Chromatogram of the separation of lafutidine and its related substances

1. 有关物质 I 2 有关物质 II 3 有关物质 III 4 拉呋替丁 5 有关物质 IV

1. related substances I 2 related substances II 3 related substances III 4 lafutidine 5 related substances IV

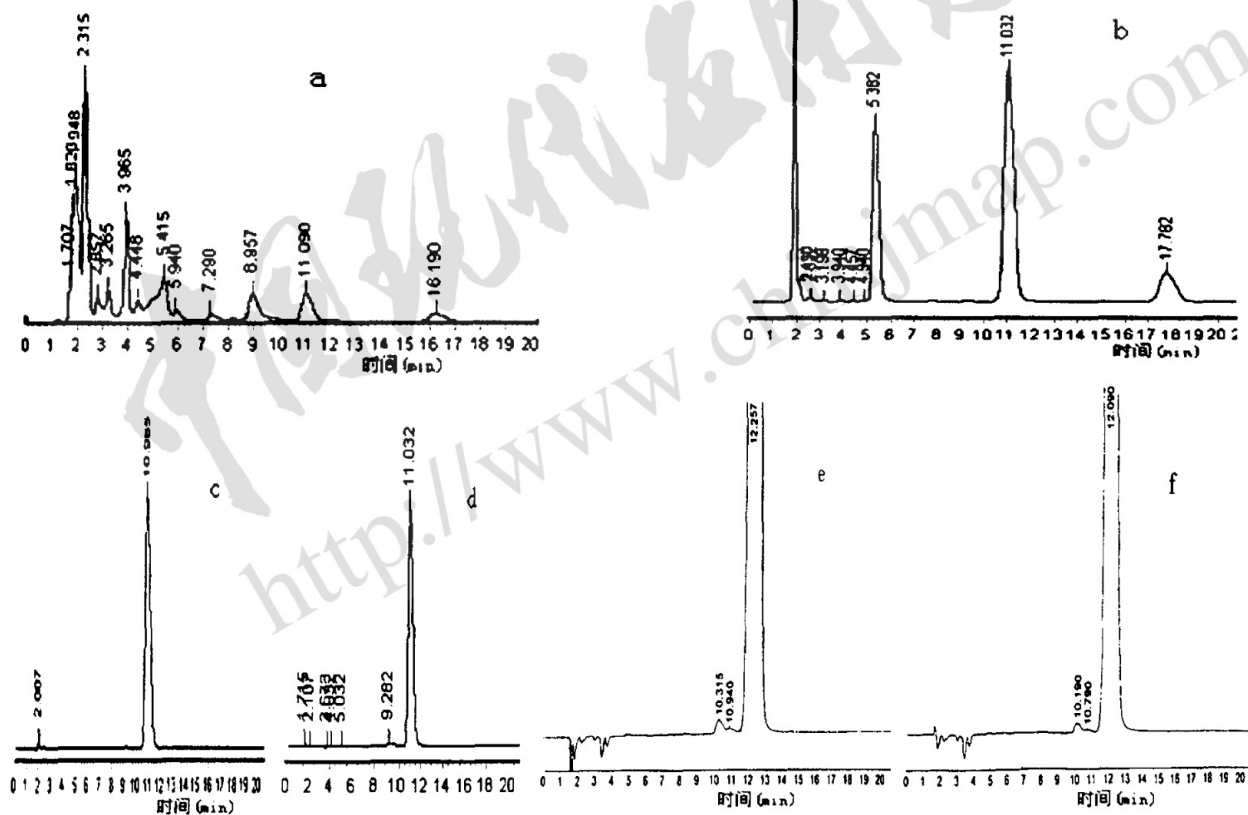


图 3 拉呋替丁降解产物的分离图谱

Fig 3 Chromatograms of the separation of the degradation products in lafutidine material

a HCl b H_2O_2 c KOH d treated under heat e treated under light f standard substance of lafutidine

结果表明, 拉呋替丁在碱性溶液中几乎无新的杂质峰产生, 说明其对碱稳定。在酸性溶液和 30% 过氧化氢溶液中几乎全部分解; 光照 10d 和 115~120 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱加热 4h 条件下, 粉末颜色变黄, 且有关物质有所增加。从图谱看, 降解物质主

要集中在本品主峰前出峰, 且与主峰基线分离。因此, 有关物质检查采取记录时间为主峰保留时间的二倍是可行的。

2.3.3 最低检测限量 在选定色谱条件下, 按信噪比大于 3 时, 对最低检测限进行测定。用流动相稀释成相当于样品中

主成分量的 2.0%, 1.0%, 0.5%, 0.1%, 0.05% 的溶液, 分别取 20 μ L 注入液相色谱仪, 得 HPLC 图谱。由色谱图可知, 0.1% 溶液的主成分峰在色谱图上清晰可见, 因此用本方法完全可以检出大于 0.1% 的有关物质, 本法对拉呋替丁的检出限为 4 ng, 方法的灵敏度符合测定本品有关物质限量的要求。

2.4 有关物质检测方法

供试品溶液的配制: 取拉呋替丁适量, 精密称定, 用流动相溶解并稀释成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液, 摇匀, 即得。

对照溶液的配制: 精密吸取上述溶液 1.0 mL 置 100 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得。

精密量取上述对照溶液 20 μ L, 注入液相色谱仪, 调节检测器灵敏度, 使拉呋替丁峰高为满量程的 20%, 再取对照液和供试品溶液各 20 μ L, 注入液相色谱仪, 记录色谱图至主成份峰保留时间的 2 倍, 供试品溶液的色谱图中如有有关物质峰, 量取各有关物质峰面积之和不得大于对照溶液主成份峰的峰面积 (1.0%)。

经测定三批拉呋替丁, 结果见表 1。

3 讨论

本流动相选择中, 曾经试用甲醇 - 水, 甲醇 - KH_2PO_4 缓

表 1 拉呋替丁有关物质检测结果 ($n=3$)

Tab 1 Determination results of related substances in Lafutidine ($n=3$)

批号	含量 (%)	有关物质 (%)
040501	99.44	0.29
040601	99.23	0.57
040701	99.31	0.48

冲液, 甲醇 - 乙腈 - KH_2PO_4 缓冲液等, 主成分峰拖尾, 加入三乙胺解决了拖尾问题; pH 值调至 6.0 后主峰对称 (T 在 0.95 ~ 1.05), 保留时间适宜 ($t_R=12$ min), 中间体、降解产物与样品均能得到有效分离和检测 ($R_s \geq 1.5$), 柱效较高 ($n \geq 2500$)。表 1 所列数值表明, 三批样品中有关物质含量均小于 1.0%。

参考文献

- [1] 陈伟强, 许德义. 新型消化性溃疡治疗药拉呋替丁 [J]. 中国新药与临床杂志, 2003, 22(4): 247.
- [2] 钟倩. 胃炎治疗药 - 拉呋替丁 (Lafutidine) [J]. 国外医学·合成药, 生化药, 制剂分册, 2002, 23(1): 57.

收稿日期: 2004-12-30