

西咪替丁有关物质检查方法的再评价

陈英, 王彩媚(广东省药品检验所, 广州 510180)

摘要: 目的 对西咪替丁有关物质测定方法进行评价。方法 分别用中国药典 2005 年版的 TLC 和自建立的 HPLC, 对西咪替丁有关物质进行测定。选用 C₁₈ 柱, 以甲醇-水(240 : 760)(每 1 000 mL 甲醇水溶液中含磷酸 0.3 mL 及正己烷磺酸钠 0.94 g)为流动相, 检测波长为 220 nm。结果 TLC 检测 7 个厂家共 8 批西咪替丁的有关物质均符合标准规定(0.5%); HPLC 检测结果显示仅 1 个厂家 1 批西咪替丁的有关物质在 0.5%之内, 其他批次样品均超出 0.5%。结论 TLC 法无法准确客观检测出本品的有关物质, HPLC 测定结果更准确可靠。

关键词: 西咪替丁; 有关物质; TLC; HPLC

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)08-0726-04

Revaluation of the Determination Method for Related Substances in Cimetidine

CHEN Ying, WANG Caimei(*Guangdong Provincial Institute for Drug Control, Guangzhou 510180, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To revalue the determination method for related substances in cimetidine. **METHODS** The related substances in cimetidine were tested by TLC and HPLC, respectively. The HPLC method was carried out on a C₁₈ column with the mixture of methanol-water(240 : 760) (dissolved 0.3 mL of phosphoric acid and 0.94 g sodium hexanesulfonate in 1 000 mL methanol) as mobile phase and UV wavelength at 220 nm. **RESULTS** The results of related substances tested by TLC were all within 0.5% in 8 batches of cimetidine from 7 manufacturers, but only one batch was within 0.5% by HPLC. **CONCLUSION** The result of related substances in cimetidine tested by HPLC was more credible than the result tested by TLC.

KEY WORDS: cimetidine; related substances; TLC; HPLC

基金项目: 广东省科技计划资助项目(2009B030801272); 广东省药检系统科研资助项目(YJ200923)

作者简介: 陈英, 女, 硕士, 主任药师 Tel: (020)81886382 E-mail: chenyinggdgz@163.com

西咪替丁又名甲氰咪胍, 为 H_2 受体拮抗剂。其质量标准收载于中国药典 2005 年版二部, 其在合成和贮存过程中易引入较多的有机杂质(即“有关物质”), 药典采用薄层色谱法(TLC)控制产品的有关物质。本试验建立了 HPLC, 通过对多个厂家产品的有关物质进行考察, 并对现有 TLC 的检测有效性进行再评价。

1 仪器与试药

Agilent 1100 液相色谱仪系统(美国安捷伦公司); 硅胶 G 薄层色谱板(Merck 预制板)。西咪替丁(Y1 厂, 批号: 0712035; Y2 厂, 批号: 20040201; Y3 厂, 批号: 20071014; Y4 厂, 批号: 080401、080402; Y5 厂, 批号: 20080150; Y6 厂, 批号: 20071132; Y7 厂, 批号: 20080103); H_2O_2 、乙酸乙酯、浓氨溶液、磷酸均为分析纯; 甲醇分别为分析纯(用于 TLC)和色谱纯(用于 HPLC); 水为二次去离子纯化水。

2 方法与结果

2.1 TLC 法

2.1.1 方法 按中国药典 2005 年版二部^[1], 展开剂略作优化, 展开条件为: 乙酸乙酯-甲醇-浓氨溶液(10:1.5:0.5)。在该条件下, 展开的斑点整齐, 无拖尾现象, 酸、碱和氧化的破坏溶液中, 各杂质斑点与主成分均能良好分离, 主斑点 R_f 值在 0.41~0.52 之间。

2.1.2 试验结果 按“2.1.1”项下方法对收集的样品进行有关物质考察, 色谱图见图 1。

其中斑点 1~8 分别对应 Y1~Y7 各厂家的各批号, 9 为对照溶液斑点。结果显示, 各厂家样品均有多个的杂质斑点, 但杂质斑点的颜色均不深于对照斑点, TLC 结果显示各厂家样品均符合规定, 杂质均小于 0.5%。

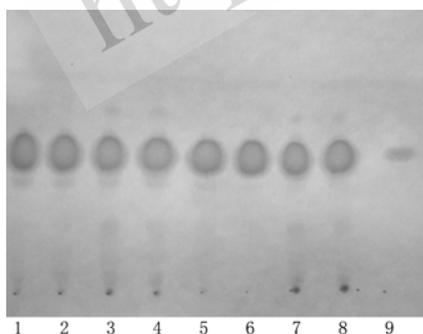


图 1 西咪替丁有关物质 TLC 图

Fig 1 TLC chromatogram of related substances in cimetidine

2.2 HPLC 法

2.2.1 色谱条件 色谱柱: C_{18} 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-水(240:760)(每 1 000 mL 中含磷酸 0.3 mL 及正己烷磺酸钠 0.94 g); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 220 nm; 进样量: 20 μ L, 色谱图记录时间至主成分峰保留时间的 3.5 倍。

2.2.2 系统适用性条件 取本品约 40 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加 1 mol·L⁻¹ 盐酸溶液 10 mL, 水浴加热 2 min, 放冷, 加 1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液 10 mL 中和后, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 取 20 μ L 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 酰胺类似物峰与西咪替丁峰的分度度不小于 8.0。

在该色谱条件下, 西咪替丁色谱峰的保留时间约为 11 min, 见图 2; 酰胺类似物对西咪替丁的相对保留时间为 1.8 min, 分离度为 9.3, 见图 3。

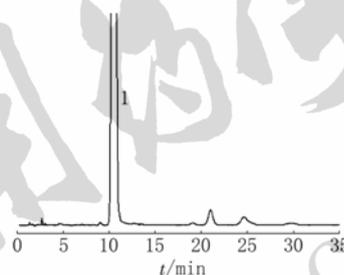


图 2 供试品图谱

1-西咪替丁

Fig 2 Chromatograms of sample

1-cimetidine

2.2.3 方法的专属性考察

2.2.3.1 热破坏试验 取本品 40 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相适量, 水浴加热 1 h, 加流动相并稀释至刻度, 摇匀, 取 20 μ L, 进样测定, 供试品未明显产生新的杂质, 表明本品对热较稳定。

2.2.3.2 光照破坏试验 取本品 40 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相使溶解并稀释至刻度, 分别置照度为 4 000 Lx 下照射 3 d, 和置 365 nm 紫外光灯下照射 14 h, 分别取 20 μ L, 进样测定, 供试品未明显产生新的杂质, 表明本品对光较稳定。

2.2.3.3 酸破坏样品的检测 取本品 40 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加 1 mol·L⁻¹ 盐酸溶液 10 mL, 水浴加热 2 min, 放冷, 加 1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液 10 mL, 加流动相并稀释至刻度, 摇匀, 取 20 μ L, 进样测定, 在主成分相对保留时间约 1.8 min 处, 产生一个主要杂质, 该杂质峰面积随着破坏时间延长而加大。根据文献[2], 该杂质为酰胺类似物。见图 3。

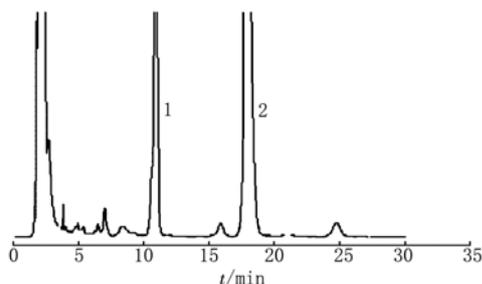


图3 酸破坏样品的图谱

1-西咪替丁; 2-酰胺类似物

Fig 3 Chromatograms of sample destroyed by HCl

1-cimetidine; 2-amide analog

2.2.3.4 碱破坏样品的检测 取本品 40 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加 $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液 10 mL, 放置 2 h, 溶液由无色澄清变为黄色溶液, 加 $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 10 mL, 加流动相并稀释至刻度, 摇匀, 取 20 μL , 进样测定, 产生的杂质与主成分分离良好。见图 4。

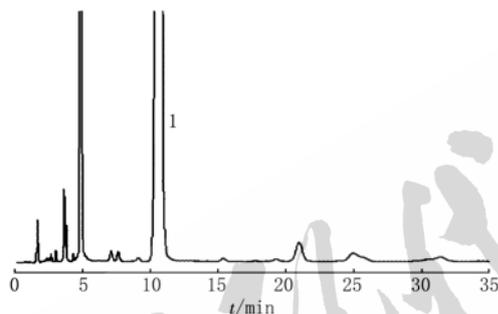


图4 碱破坏样品的图谱

1-西咪替丁

Fig 4 Chromatograms of sample destroyed by NaOH

1-cimetidine

2.2.3.5 氧化破坏样品的检测 取本品 40 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加 1.5%过氧化氢溶液 10 mL, 放置 10 min, 加流动相并稀释至刻度, 摇匀, 取 20 μL , 进样测定, 产生的杂质在主成分之前, 与主成分分离良好。见图 5。

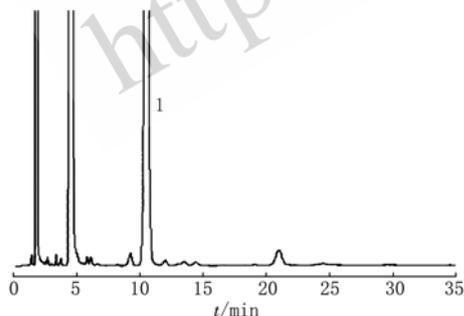


图5 氧化破坏样品的图谱

1-西咪替丁

Fig 5 Chromatograms of sample destroyed by H_2O_2

1-cimetidine

2.2.4 分离度的确定 考察结果发现, 当西咪替丁与酰胺类似物的分离度大于 8.0 时, 西咪替丁色谱峰之后出现一个杂质峰; 分离度小于 8.0 时, 该杂质峰与西咪替丁的分离度不符合规定 (<1.5); 当西咪替丁与酰胺类似物的分离度小于 4.0 时, 该杂质峰被包含入西咪替丁色谱峰中。故确定西咪替丁与丁酰胺类似物的分离度不小于 8.0。

2.2.5 检测限和定量限的测定 将供试品溶液逐级稀释, 测得西咪替丁的检测限为 80 ng ($\text{S/N}=3.8$); 定量限为 400 ng ($\text{S/N}=11.8$, $\text{RSD}\%$ 为 0.26%, $n=5$)。

2.2.6 稳定性试验 取 Y1 厂样品, 用流动相配制成每 1 mL 中含 0.4 mg 的供试品, 按上述色谱条件, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 h 进行进样测定, 供试品溶液的杂质数和量均未增加, 主峰峰面积、最大杂质峰面积和各杂质峰面积的变化 RSD 分别为 0.2%, 1.1%, 1.7%, 均在 2.0% 以内。表明供试品溶液在 14 h 内稳定。

2.2.7 样品有关物质的测定结果 取各样品, 照上述建立的 HPLC 色谱条件, 用自身对照法考察产品的有关物质情况, 结果见表 1。

表 1 HPLC 考察西咪替丁有关物质的结果

Tab 1 Results of related substances in cimetidine by HPLC

厂家	批号	有关物质	
		最大杂质/%	杂质总量/%
Y1	0712035	0.73	1.61
Y2	20040201	1.18	1.32
Y3	20071014	0.37	0.41
Y4	080401	0.57	1.43
	080402	0.52	1.70
Y5	20080150	0.57	1.51
Y6	20071132	0.80	1.57
Y7	20080103	0.91	1.65

3 讨论

HPLC 方法测定的各样品有关物质, 在 7 个厂家生产的 8 个批次样品中, 仅有 Y3 厂产品的单个杂质和杂质总量小于 0.5%, 其余厂家的样品杂质均超过 0.5%, 与 TLC 测得各厂家产品均符合规定 (不过 0.5%) 的结论有很大差别。

从 TLC 图谱和 HPLC 图谱可见, 本品存在较多的杂质, TLC 虽然分离能力也好, 但结果用目视判断, 在对杂质的半定量计算和客观判断上, 则远不如 HPLC。通过考察可见, 用本试验建立的

HPLC 测定西咪替丁有关物质, 结果较 TLC 更为准确、客观。

根据文献[2], 检测波长选用 220 nm, 该检测波长下, 杂质和主成分均可较好检出。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2005)Vol II(中国药典 2005 年版. 二部)[S]. 2005: 191.
- [2] USP32 [S]. 2009: 1936.

收稿日期: 2010-02-25