

HPLC 测定依卡倍特钠颗粒有关物质及其含量

刘广娟, 裴志东, 张稼小, 张慧* (辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600)

摘要: 目的 建立 HPLC 测定依卡倍特钠颗粒的含量及有关物质的方法。方法 采用美国热电公司 C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-1.36%磷酸二氢钾溶液(27:73); 柱温为室温; 检测波长为 271 nm。结果 依卡倍特钠在 0.010 26~0.153 9 mg·mL⁻¹ 浓度范围内呈良好的线性关系($r=0.999\ 8$), 平均回收率为 99.8%; 有关物质的破坏性试验中杂质与主峰分离度符合规定。结论 该方法简便、准确、专属性强, 可用于控制依卡倍特钠颗粒的质量。

关键词: 依卡倍特钠; 有关物质; 含量测定; 高效液相色谱法

中图分类号: R927.2; R917.101

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)01-0070-03

Determination of Contents and Related Substances of Ecabet Sodium Granules by HPLC

LIU Guangjuan, PEI Zhidong, ZHANG Jiaxiao, ZHANG Hui* (Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the HPLC method for determining the contents and related substances in Ecabet sodium granules. **METHODS** C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used. The mobile phase consisted of acetonitrile-1.36% potassium dihydrogen phosphate (27:73), and the detective wavelength was 271 nm. **RESULTS** The linearity was obtained over the range of 0.010 26–0.153 9 mg·mL⁻¹, ($r=0.999\ 8$). The average recovery was 99.8%. The related substances were well separated in the degradation test. **CONCLUSION** The method is simple, convenient, accurate and can be employed to assay the contents and related substances in Ecabet sodium granules for its quality control.

KEY WORDS: Ecabet sodium; related substances; determination; HPLC

依卡倍特钠颗粒(Ecabet sodium)是由日本田边公司生产的一种新型治疗胃炎、胃溃疡的药物^[1]。现代药理研究证明, 依卡倍特钠的最大特点是“覆盖保护、直接治疗”^[2-3], 其机理为本品与胃粘膜病变部位的血浆蛋白结合, 覆盖在胃粘膜上, 形成膜屏障, 保护胃粘膜, 并与胃液中的消化酶及前体胃蛋白酶原结合, 抑制胃蛋白酶的消化活性, 同时与幽门螺旋杆菌产生的尿素酶蛋白质结合, 抑制其活性, 而达到杀菌作用^[4-6]。目前市售依卡倍特钠颗粒均由日本进口, 临床应用广泛, 但其有关物质及含量测定的方法国内尚未见文献报道。建立药品含量和有关物质检查的方法对于控制药品质量是非常重要的^[7-8]。鉴于此, 本试验建立了 HPLC 法测定依卡倍特钠颗粒的含量及有关物质的方法, 为本品的质量控制提供可靠的检测手段。

1 仪器与材料

1.1 仪器

美国 Agilent 1200 高效液相色谱仪(DAD 检测

器, 美国安捷伦公司); U-3010 紫外分光光度计(HITACHI); ALC-110.4 电子天平(德国艾科勒); 北京光明 DKZW 型电子恒温水浴锅(北京光明)。

1.2 药品与试剂

依卡倍特钠颗粒(天津田边制药有限公司, 批号: 20100701、20100702、20100703, 1.5 g:1.0 g); 依卡倍特钠原料药为本实验室合成; 乙腈、甲醇为色谱纯(天津科密欧); 对羟基苯甲酸乙酯(天津天泰精细化学品有限公司); 磷酸二氢铵、磷酸二氢钾为分析纯(天津科密欧); 水为三级水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: 美国热电公司 C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-1.36%磷酸二氢钾溶液(取磷酸二氢钾 13.6 g, 加水至 1 000 mL)(27:73); 柱温为室温; 检测波长为 271 nm。

2.2 溶液的制备

2.2.1 有关物质 取本品适量, 加流动相制成 0.5 mg·mL⁻¹ 的供试品溶液; 取供试品溶液适量, 加流

作者简介: 刘广娟, 女, 硕士生 Tel: 15140394611
Tel: 13998541994 E-mail: syyyys@163.com

E-mail: sunsea1987@163.com

*通信作者: 张慧, 女, 副教授

动相制成 $1.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照溶液。

2.2.2 含量测定 精密称取本品适量(约相当于依卡倍特钠 30 mg)与依卡倍特钠对照品约 30 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇溶液适量溶解并稀释至刻度, 精密量取 3 mL 置 50 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 制成供试品溶液和对照品溶液。

2.3 有关物质考察

2.3.1 系统适用性试验 取“2.2.2”项下供试液 1 mL, 加 0.005% 对羟基苯甲酸乙酯甲醇溶液 0.1 mL, 加流动相稀释至 20 mL, 取 20 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 依卡倍特钠峰与对羟基苯甲酸乙酯峰的分离度应 ≥ 6 。

2.3.2 空白干扰试验 取除去主药的空白辅料适量, 按“2.2.2”项下方法制成空白辅料溶液, 滤过, 取续滤液和“2.2.2”项下供试液各 20 μL , 按“2.1”项下色谱条件进样, 结果显示, 空白辅料对测定无干扰。色谱图见图 1。

2.3.3 耐用性试验 分别选用批号 E2013359 大连依利特 C_{18} (200 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)、批号: 09052002 江苏汉邦 C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)、批号: 6003496 北京迪马(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) 的色谱柱, 分别注入供试品溶液 20 μL 。结果显示, 上述不同厂家的色谱柱均达到基线分离, 分离度符合规定。

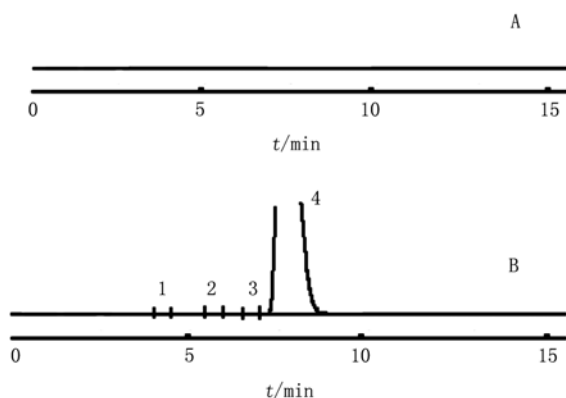


图 1 高效液相色谱图

A—空白辅料; B—供试品溶液; 1,2,3—有关物质峰; 4—主成分峰

Fig 1 HPLC chromatograms

A—excipient; B—sample; 1,2,3—related substances peaks; 4—main component peak

2.3.4 检测限和定量限 将供试品溶液逐级稀释, 按“2.1”项下色谱条件进样, 取基线噪声的

3 倍值作为最低检测限, 基线噪声的 10 倍值作为最小定量限。测得依卡倍特钠的检测限为 0.23 ng, 定量限为 0.61 ng。

2.3.5 破坏性试验 取本品 3 份各约相当于依卡倍特钠 50 mg, 精密称定分别置 100 mL 量瓶中, 分别加 $1.0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸溶液 10 mL 放置 2 h、加 $1.0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氢氧化钠溶液 10 mL 放置 30 min、加 10% 过氧化氢 2 mL 放置 20 min 进行强酸、强碱和氧化破坏; 另取本品 2 份, 各约相当于依卡倍特钠 50 mg, 精密称定, 分别置 100 mL 量瓶中, 置光照(4 500 $\pm$ 500 Lx)条件下照射 10 d 和 120 $^{\circ}\text{C}$ 条件下加热 30 min 进行光照和高温破坏, 分别取上述 5 种破坏后溶液, 加入流动相至刻度, 摇匀, 分别取 20 μL , 按“2.1”项下色谱条件进样。结果显示, 各条件下的降解产物与主成分均能很好分离, 证实建立的有关物质方法可行。

2.3.6 有关物质测定 取本品 3 批样品, 按“2.2.1”项下方法配制成供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件试验, 用自身对照法考察, 总有关物质见图 1B, 含量见表 1。

2.4 含量测定

2.4.1 线性关系考察 精密量取依卡倍特钠对照品溶液($5.13 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)0.2, 0.6, 1.0, 2.0, 3.0 mL, 分别置 100 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 制成不同浓度的对照品溶液。分别精密吸取上述不同浓度的对照品溶液各 20 μL , 按“2.1”项下色谱条件试验, 记录峰面积, 以依卡倍特钠峰面积(Y)为纵坐标, 以依卡倍特钠进样浓度(X, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)为横坐标, 绘制标准曲线, 得依卡倍特钠线性方程: $Y=13\ 296 X-105.21$, $r=0.999\ 8$ 。可见依卡倍特钠在 0.010 26~0.153 9 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内呈良好的线性关系。

2.4.2 溶液稳定性 取样品, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样 20 μL , 测定样品和有关物质的峰面积, RSD 分别为 1.86% 和 1.69%, 表明样品溶液及其有关物质在 10 h 内稳定性良好。

2.4.3 精密度试验 精密称取同批样品 6 份, 按“2.2.2”项下方法制成供试品溶液, 分别精密量取 20 μL 进样, 测定峰面积, 计算含量, 考察重复性; 取同批供试品 6 份, 在同一实验室, 由三个不同的实验人员, 采用日本岛津 LC-10A、Agilent 1100、大连依利特 P200II 三种色谱仪, 按上述色

谱条件测定峰面积, 计算含量, 考察中间精密度的结果, 重复性和中间精密度的 RSD 分别为 1.02% 和 0.97%, 表明重复性、中间精密度良好。

表 1 依卡倍特钠有关物质及含量测定结果($n=3$)

Tab 1 Determination results of contents and related substances($n=3$)

批号	有关物质/%	含量/% (mean±SD)
20100701	0.061	98.34±1.1
20100702	0.064	99.79±1.3
20100703	0.063	98.03±0.9

2.4.4 准确度试验 按处方量的 80%、100%和 120%分别精密称取依卡倍特钠各 3 份, 按“2.2.2”项下方法制成供试品溶液, 进样 20 μ L 测定峰面积, 计算回收率。结果本品的平均回收率为 99.8%, RSD 为 1.32%。

2.4.5 样品含量测定 取本品三批, 按“2.2.2”项下方法制成供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 外标法计算含量, 测定结果见表 1。

3 讨论

3.1 流动相的选择

本试验曾尝试采用甲醇-0.75%磷酸二氢铵溶液、甲醇-1.36%磷酸二氢钾溶液、乙腈-0.75%磷酸二氢铵溶液、乙腈-1.36%磷酸二氢钾溶液及甲醇-乙腈-1.36%磷酸二氢钾溶液的不同比例作为流动相系统, 结果文中采用的乙腈-1.36%磷酸二氢钾溶液(27:73)的流动相系统的柱效、分离度满足试验要求。

3.2 检测波长的确定

对依卡倍特钠对照品进行了紫外扫描, 结果显示, 其最大吸收波长为 271 nm, 同时对本品进行了 DVD 多波长扫描, 结果显示, 在此波长下检测的依卡倍特钠的杂质峰多, 有关物质的含量最高, 为此最终确定采用 271 nm 为检测波长。

REFERENCES

[1] ZHU H, YUAN Y Q, SUN Q L, et al. Assignment of Chemical Shift of Ecabet Sodium [J]. Fine Chem Intermed (精细化工中间体), 2008, 38(5): 65-67.

[2] WANG X D, LI C H. Clinical Efficacy of Ecabet Sodium and Famotidine in Treatment of Gastric Ulcer [J]. Med J Chin PAPF(武警医学), 2007, 18(2): 118-120.

[3] LIU X L. Clinical Efficacy of Ecabet Sodium in Treatment of Gastric Ulcer [J]. Chin J Med Guide(中国医药导刊), 2009, 11(6): 967-968.

[4] ITO Y, ONODA Y, NAKAMURA S, et al. Effects of the new anti-ulcer drug ecabet sodium (TA-2711) on pepsin activity II: Interaction with substrate protein [J]. Jpn J Pharmacol, 1993, 62(2): 175-181.

[5] SHIBATA K, ITO Y, HONGO A, et al. Bactericidal activity of a new antiulcer agent, ecabet sodium against helicobacter pylori under acidic conditions [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1995, 39(6): 1295-1299.

[6] ONODA Y, TAKIDO M, MAGARIBUCHI T, et al. Effects of 12-sulfodehydroabietic acid monosodium salt (TA-2711), a new anti-ulcer agent, on gastric mucosal lesions induced by necrotizing agents and gastric mucosal defensive factors in rats [J]. Jpn J Pharmacol, 1990, 52(4): 631-638.

[7] LI Y F, ZHU L, TAO L H, et al. HPLC determination of contents and related substances of synthetic thymosin α_1 [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学), 2010, 27(3): 265-268.

[8] GAO Z Y, ZHENG J, LI Y L, et al. Determination of crude drug di-phenyl-di-(2,4-difluorobenzohydroxamato) tin and its related substances by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(12): 1119-1121.