HPLC 测定阿苯达唑有关物质

孙春艳，赵亚萍*，郭江红(湖北省食品药品监督检验研究院，武汉 430064)

摘要：目的 建立高效液相色谱法测定阿苯达唑有关物质。**方法** 采用资生堂 MGⅡ C_{18} 柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)色谱柱；流动相：磷酸二氢铵溶液(1.67 mg·mL^{-1})-甲醇(40∶60)；检测波长：290 nm。**结果** 样品中的杂质均能很好检出，各杂质与主峰之间的分离度良好，检测限为 0.228 6 ng。**结论** 该方法简单快速，专属性强，结果准确，可用作阿苯达唑有关物质检查。

关键词：阿苯达唑；有关物质；高效液相色谱法

中图分类号：R917.101 **文献标志码：**B **文章编号：**1007-7693(2012)03-0264-04

Determination of Related Substances in Albendazole by HPLC

SUN Chunyan, ZHAO Yaping*, GUO Jianghong(*Hubei Province Institute for Food and Drug Control, Wuhan 430064, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for determination of related substances in albendazole. **METHODS** PAK C_{18} HPLC packed column(MGⅡ, 250 mm×4.6 mm, 5 μm)was used, the mobile phase was ammonium dihydrogen phosphate-methanol(40∶60) and the determination wavelength was 290 nm. **RESULTS** Albendazole and related substances could be well isolated. The detection limit was 0.228 6 ng. **CONCLUSION** The method is simple, rapid, accurate and suitable for examinating the related substances of albendazole.

KEY WORDS: albendazole; related substances; HPLC

作者简介：孙春艳，女，硕士，主管药师 Tel: (027)87895875 E-mail: suncy25@126.com *__通讯作者：__赵亚萍，女，硕士，主任药师 Tel: (027)87895875 E-mail: wwjZYPWll@sina.com

阿苯达唑系苯并咪唑类衍生物，为抗蠕虫药，具有广谱、高效、低毒等特点，对多种寄生虫具有高度活性。阿苯达唑在中国药典 2010 版、美国药典 30 (NF25)版、BP2011 及 EP7.0 中均有收载，BP2011 及 EP7.0 均采用 HPLC 测定有关物质，中国药典 2010 版、美国药典 30 (NF25)采用薄层色谱法测定有关物质。为了进一步完善该品种的质量标准，更好地控制该品种质量，现参照 BP 和 EP，建立专属性较强的 HPLC 测定阿笨咪唑有关物质的方法。

1 仪器与试药

HPLC 色谱仪(ULTIMATE3000，美国戴安)；AG135 分析天平(瑞士 METTLER)；甲醇(色谱纯，美国天地公司)；磷酸二氢铵(分析纯，天津市光复精细化工研究所)；阿苯达唑原料(批号：080203、080409)、2-苯并咪唑-氨基甲酸甲酯(多菌灵，BP 标准杂质 E，批号：080305，纯度：81.2%)均由湖北中佳药业提供。

2 方法与结果[1-3]

2.1 色谱条件

色谱柱：资生堂 MG Ⅱ C_{18} 柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)；流动相：磷酸二氢铵溶液(取磷酸二氢铵 1.67 g，加水 1 000 mL 溶解)－甲醇(40∶60)；检测波长：290 nm；柱温：35 ℃；流速：1.0 mL·min^{-1}。

2.2 检测波长的确立

取本品及 2-苯并咪唑-氨基甲酸甲酯适量(杂质 E)，分别用含 0.5%硫酸的甲醇溶液 5 mL 溶解，再用流动相定量稀释成浓度约为 10 μg·mL^{-1} 的溶液。取此溶液照紫外分光光度法，分别在 200~400 nm 内扫描，结果阿苯达唑在 295 nm 处有最大吸收，2-苯并咪唑-氨基甲酸甲酯在 281 nm 处有最大吸收，两者约在 290 nm 的波长处有等吸收点，故选择 290 nm 的波长作为阿苯达唑有关物质检测的波长。

2.3 专属性试验

2.3.1 强酸破坏试验　取阿苯达唑约 25 mg，置 50 mL 量瓶中，加入 1 mol·L^{-1} 的盐酸溶液 2 mL 振摇，放置 16 h，再加入 1 mol·L^{-1} 的氢氧化钠溶液 2 mL 中和，加含 0.5%硫酸的甲醇溶液 5 mL 溶解，再用流动相稀释至刻度，摇匀。

2.3.2 强碱破坏试验　取阿苯达唑约 25 mg，置 50 mL 量瓶中，加入 1 mol·L^{-1} 的氢氧化钠溶液 2 mL 振摇，放置 16 h，再加入 1 mol·L^{-1} 的盐酸溶液 2 mL 中和，加含 0.5%硫酸的甲醇溶液 5 mL 溶解，再用流动相稀释至刻度，摇匀。

2.3.3 强光破坏试验　取阿苯达唑 0.026 7 g，置 50 mL 容量瓶中，加含 0.5%硫酸的甲醇溶液 5 mL 溶解，再用流动相稀释至刻度，摇匀，置开口容器中，在紫外灯照射 24 h。

2.3.4 高温破坏试验　取阿苯达唑约 25 mg，置具塞试管中，加含 0.5%硫酸的甲醇溶液 5 mL 溶解，置 80℃水浴中加热 30 min，再用流动相转移至 50 mL 量瓶中，稀释至刻度，摇匀。

2.3.5 氧化破坏试验　取阿苯达唑约 25 mg，置 50 mL 量瓶中，加含 0.5%硫酸的甲醇溶液 5 mL 溶解，再加入 10%过氧化氢溶液 1 mL，振摇，放置 30 min，再加流动相稀释至刻度，摇匀。

分别取未破坏样品溶液(1 mg·mL^{-1})和上述溶液按“2.1”项下色谱条件进样 20 μL，记录色谱图至主成份峰保留时间的 4.5 倍，考察主峰与各杂质的分离情况，色谱图见图 1~6。在拟定的色谱条件下，有关物质和降解产物与主成分峰可以有效分离，能较好地检测有关物质。

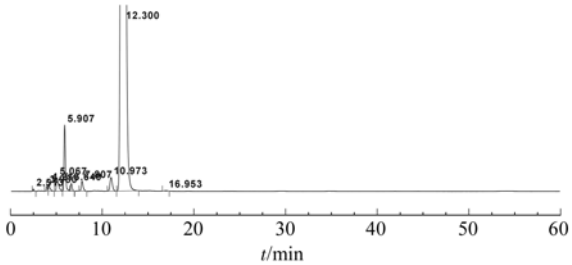

图 1 未破坏样品色谱图

Fig 1 Chromatogram of albendazole

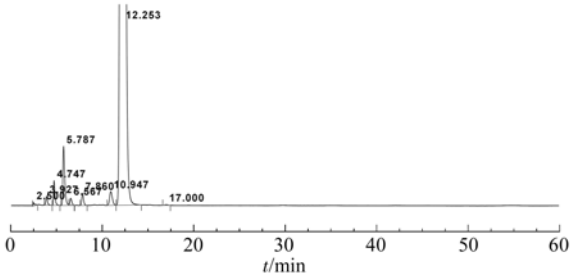

图 2 阿苯达唑酸破坏色谱图

Fig 2 Acid damage chromatogram of albendazole

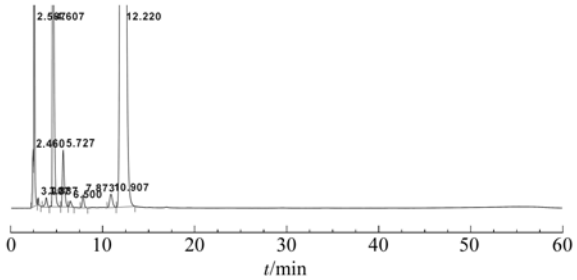

图 3 阿苯达唑碱破坏色谱图

Fig 3 Base damage chromatogram of albendazole

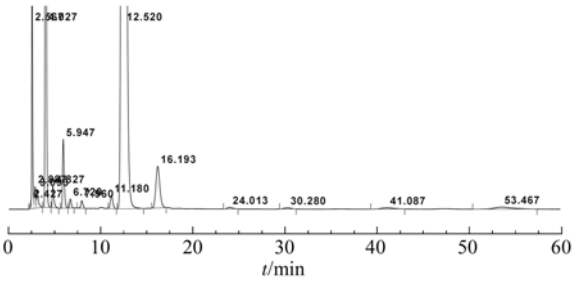

图 4 阿苯达唑强光破坏色谱图

Fig 4 Light damage chromatogram of albendazole

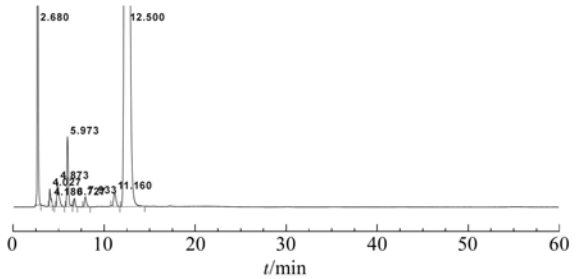

图 5 阿苯达唑高温破坏色谱图

Fig 5 High-temperature destruction chromatogram of albendazole

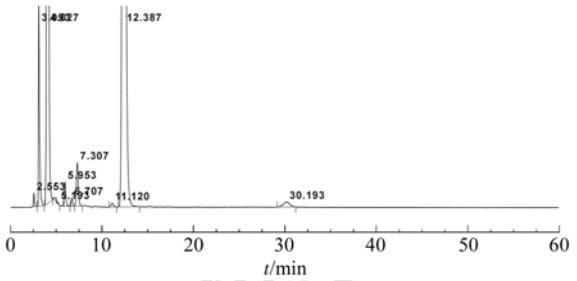

图 6 阿苯达唑氧化破坏色谱图

Fig 6 Oxidative damage chromatogram of albendazole

2.4 系统适用性试验

根据“2.3”项下专属性实验结果，阿苯达唑在光破坏条件下降解产物最多，为了保证样品中降解产物均能有效检出，制定系统适用性实验。取阿苯达唑(湖北中佳药业提供的符合 EP 标准的样品)约 25 mg 于 50 mL 量瓶中，加含 0.5%硫酸的甲醇溶液溶解，用流动相稀释至刻度，置敞口容器中，在 365 nm 的紫外灯下照射 20 h，取此溶液 20 μL 注入液相色谱仪，记录色谱图，结果见图 7。在色谱图中，在主峰相对保留时间约 1.3 倍处有明显的杂质峰出现，分离度为 4.8，主峰前有紧邻杂质峰，分离度为 2.6。故据此拟定色谱条件与系统适用性实验为在相对于主峰保留时间约 1.1~1.3 倍处的杂质峰与主峰的分离度不小于 3.0，主峰前紧邻的杂质峰与主峰的分离度应符合要求。

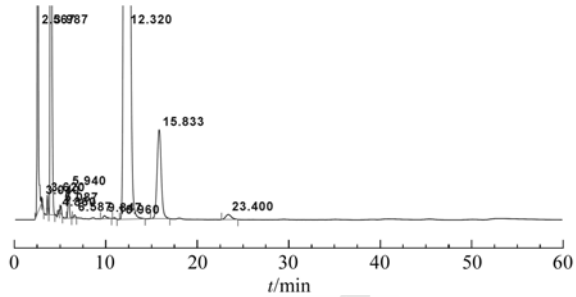

图 7 系统适用性实验色谱图

Fig 7 Chromatogram of system suitability test

2.5 重复性试验

取阿苯达唑原料(批号：080409) 6 份各约 25 mg，置 50 mL 量瓶中，分别用含 0.5%硫酸的甲醇溶液 5 mL 溶解，用流动相稀释至刻度，作为供试品溶液，再分别取供试品溶液 1 mL 于 100 mL 量瓶中，用流动相稀释至刻度，作为对照品溶液。分别取此溶液 20 μL 注入液相色谱仪，记录色谱图至主成份峰保留时间的 4.5 倍。结果见表 1。

表 1 重复性实验结果

Tab 1 Results of reproducible test

编号	对照溶液峰面积	最大杂质峰面积	最大杂质含量/%	总杂质峰面积	总杂质含量/%
T1	3.814	3.118	0.8	6.652	1.7
T2	3.760	3.041	0.8	6.498	1.7
T3	3.706	2.983	0.8	6.366	1.7
T4	3.787	3.140	0.8	6.699	1.8
T5	4.302	3.613	0.8	7.709	1.8
T6	3.833	3.132	0.8	7.206	1.9

2.6 检测限与定量限

取“2.5”项下第 1 份对照品溶液 1 mL 于 100 mL 量瓶中，用流动相稀释至刻度，取此溶液 20 μL 注入液相色谱仪，测得信噪比为 9.9，进样浓度为 50.8 ng·mL^{-1}，故定量限为 1.016 ng；再取此溶液 3 mL 于 10 mL 量瓶中，用流动相稀释至刻度，进样 15 μL，测得信噪比为 4.2，进样浓度为 15.24 ng·mL^{-1}，故检测限为 0.228 6 ng。

2.7 耐用性试验

2.7.1 色谱条件 仪器 Agilent 1200 HPLC 色谱仪，色谱柱：Aichrombond C_{18}，250 mm×4.6 mm，5 μm，流动相：磷酸二氢铵溶液(取磷酸二氢铵

1.67 g，加水 1 000 mL 溶解)-甲醇(32∶68)；其它条件不变。

2.7.2 方法 取本品未破坏、光破坏、高温破坏、氧化破坏、碱破坏后的样品溶液各 20 μL 注入液相色谱仪，记录色谱图。结果显示当仪器和色谱柱改变时，在拟定的色谱条件下，各有关物质和降解产物与主成分峰可以有效分离，系统适用性试验样品中主峰与相对保留时间 1.2 倍处的杂质峰分离度为 4.2，与其前紧邻的峰分离度为 2.9。

2.8 稳定性试验

取同一批样品溶液分别在放置 0，2，4，6，8，10 h 进样，测定杂质个数，杂质总峰面积，最大杂质峰面积，结果显示 10 h 内，杂质个数不变，杂质总峰面积 RSD=0.6%，单个最大杂质峰面积 RSD=0.4%，表明样品在避光条件下 10 h 内稳定。

2.9 样品中有关物质的检查

取本品 4 批样品进行检测，结果见表 2。

表 2 样品有关物质检测结果(n=3)

Tab 2 Related substances in albendazole(n=3)

批号	080203 (中佳)	080409 (中佳)	20080216 (A 厂)	06070704 (B 厂)
最大杂质含量/%	0.9	0.8	0.3	1.8
总杂质含量/%	1.9	1.7	1.1	2.6

3 讨论

阿苯达唑在在乙醇中几乎不溶，在水中不溶。BP2011 采用含 1%硫酸的甲醇溶液溶，因硫酸腐蚀性太强，故采用含 0.5%硫酸的甲醇溶液溶解样品。由专属性试验结果可以看出阿苯达唑对光、热、氧化较敏感，故本品适宜在阴凉处密闭保存。

样品有关物质检测中，单个杂质的量基本能控制在 1.0%以内，总杂质的量基本能控制在 2.0%以内。BP2011 和 EP7.0 中单个杂质限度为 0.75%，总杂质限度为 1.5%，中国药典 2010 年版有关物质薄层色谱法检查单个杂质限度为 1.0%。故确定本品有关物质检查限度为单个杂质不得过 1.0%，总杂质不得过 2.0%，供试品溶液中任何小于主峰面积 0.05 倍的峰可忽略不计。由于光破坏样品在主峰保留时间 4.3 倍处能检出杂质峰，样品(批号：06070704)在主峰保留时间 3.3 倍处能检测到杂质峰，故确定色谱图的记录时间为主峰保留时间的 4.5 倍。

REFERENCES

[1] Ch.P(2010)Vol Ⅱ(中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: 393.
[2] BP 2011 [S]. 2011: 78-79.
[3] EP 7.0 [S]. 2008: 1335-1336.

收稿日期：2011-05-05