

# HPLC-ELSD 测定美他多辛注射液有关物质

杨伟峰<sup>1</sup>, 林谊<sup>2</sup>(1.浙江省食品药品检验所, 杭州 310004; 2.浙江震元制药有限公司, 浙江 绍兴 312000)

**摘要:** 目的 建立 HPLC-ELSD 测定美他多辛注射液有关物质的方法。方法 色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.2 mol·L<sup>-1</sup> 三氟乙酸溶液-甲醇(92:8), 流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测器漂移管温度为 55 °C(低温型), 载气压力为 420 Pa。结果 主要杂质与美他多辛有较好的分离度, 所建立的方法可有效检测无紫外吸收的杂质。结论 方法简单、可靠, 适用于美他多辛的质量控制。

**关键词:** 高效液相色谱法; 美他多辛; 有关物质

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)05-0444-03

---

作者简介: 杨伟峰, 男, 硕士, 主任药师    Tel: (0571)86459413    E-mail: ywfhz@163.com

## Determination of the Related Substances in Metadoxine by HPLC-ELSD

YANG Weifeng<sup>1</sup>, LIN Yi<sup>2</sup>(1.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China; 2.Zhejiang Zhenyuan Pharmaceutical Co., Ltd., Shaoxing 312000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a method for determination of related substances in metadoxine. **METHODS** The HPLC-ELSD method was performed on Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) with the mobile phase of 0.2 mol·L<sup>-1</sup> trifluoroacetic acid-methanol(92 : 8), the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup> and the drift tube temperature of the detector was 55 °C(low temperature design), the gas pressure was 420 Pa. **RESULTS** The main impurities and the metadoxine had a good separation, the established method was effective to detect the non-UV-absorbing impurities. **CONCLUSION** The method is simple, fast, accurate, and may be used in quality control of metadoxine.

**KEY WORDS:** HPLC; metadoxine; related substances

美他多辛是一种保肝药,可促进乙醇代谢,对急、慢性酒精中毒有较好疗效<sup>[1]</sup>。美他多辛以维生素 B<sub>6</sub>和焦谷氨酸为原料合成制得,为离子对化合物。其有关物质检测文献报道均采用反相高效液相色谱法,使用紫外检测器检测。进一步研究发现,采用紫外检测器无法有效检测无紫外吸收的杂质,因此笔者新建了采用蒸发光散射检测器的液相色谱检测方法,作为原 HPLC-UV 的补充,新建的方法可以检测到美他多辛的 2 个离子组分峰(按色谱流出顺序依次为焦谷氨酸和维生素 B<sub>6</sub>)。

### 1 仪器与试剂

Agilent-1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); SEDEX-75 低温型蒸发光散射检测器(法国); Agilent Chemstation 色谱工作站。美他多辛注射液及其对照品(浙江震元制药有限公司,批号:090301,090101,H071114);维生素 B<sub>6</sub>对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100116,纯度≥99.5%);焦谷氨酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100785,纯度≥99.5%);甲醇(色谱纯,Merck 公司);三氟乙酸(色谱纯,Merck 公司),重蒸馏水。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱为 Agilen Zorbax SB-C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),柱温为 35 °C;流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。流动相为 0.2 mol·L<sup>-1</sup> 三氟乙酸溶液-甲醇(92 : 8),检测器漂移管温度为 55 °C,载气压力为 420 Pa。

#### 2.2 供试品溶液的制备

精密量取本品 5.0 mL(相当于美他多辛 0.3 g),置 100 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

#### 2.3 自身对照溶液的制备

精密量取 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mL, 分别置于 100 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,分别作为对照溶液 A, B, C, D。

#### 2.4 系统适应性试验

取供试品溶液 20 μL,进样,记录色谱图。色谱图中焦谷氨酸和维生素 B<sub>6</sub> 分别出峰,相对保留时间分别为 5.4 min 和 10.0 min。理论板数分别为 11 000 和 8 600。2 峰之间的分离度为 14.0。另取自身对照溶液 A 20 μL 进样,焦谷氨酸和维生素 B<sub>6</sub> 峰的信噪比均>10。

#### 2.5 破坏性试验

取美他多辛注射液各 5 mL,分别置 100 mL 量瓶中,分别加 3 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸溶液 5 mL、3 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠溶液 5 mL、30%过氧化氢溶液 5 mL,置 80 °C 水浴中加热 2 h,放冷,中和后,加水至刻度,摇匀,作为酸、碱、氧化降解溶液。另取供试品溶液适量,分别水浴加热 2 h 和光照 6 h,作为热降解和光降解溶液。取上述溶液各 20 μL,分别进样测试,结果表明,降解所产生的主要杂质均能与主成分良好分离。

#### 2.6 检测限试验

取自身对照溶液 A 适量,加水逐步稀释,进样测定,至焦谷氨酸峰信噪比为 3 时,检测浓度(以美他多辛计)为 5 μg·mL<sup>-1</sup>,检出量为 0.1 μg。

#### 2.7 溶液稳定性试验

取供试品溶液,室温放置 0, 1, 4, 8 h 后测定,各杂质峰面积无明显变化,表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

#### 2.8 样品测定

取供试品溶液和自身对照溶液,分别进样 20 μL,记录色谱图至维生素 B<sub>6</sub> 峰保留时间的 2 倍。

另取辅料焦亚硫酸钠适量,加水溶解并稀释制成每 1 mL 中含 0.05 mg 的溶液,进样测定,确定辅料峰的位置(保留时间约为 3.2 min)。以对照溶液主成分峰面积和的对数和对照溶液浓度的对数制备随行标准曲线。除辅料峰之外,最大单个杂质的峰面积以及杂质峰面积总和的对数按随行标准曲线法计算,得到最大单个杂质的量和杂质总量。色谱图见图 1~2,结果见表 1。

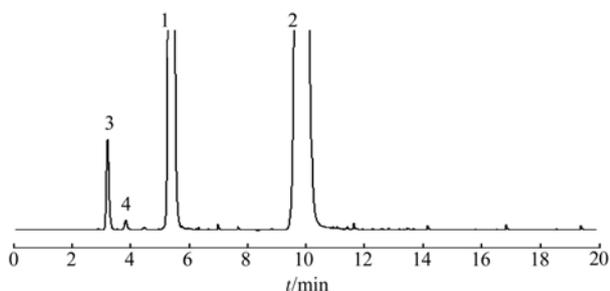


图 1 长期稳定性试验样品色谱图(放置 1 年)

1-焦谷氨酸; 2-维生素 B<sub>6</sub>; 3-焦亚硫酸钠; 4-杂质

Fig 1 HPLC chromatogram of long-term stability test sample (stored for 1 year)

1-pyroglutamate; 2-vitamin B<sub>6</sub>; 3-metabisulfite; 4-impurity

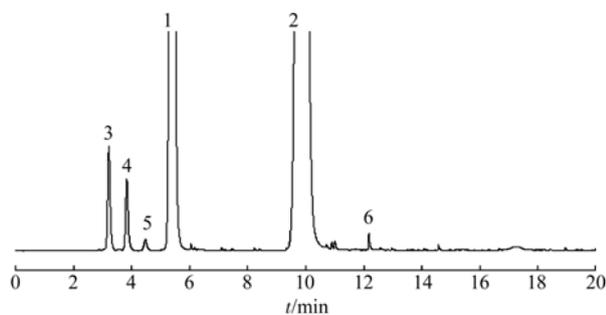


图 2 加速试验样品色谱图(40 °C, 6 个月)

1-焦谷氨酸; 2-维生素 B<sub>6</sub>; 3-焦亚硫酸钠; 4-6-杂质

Fig 2 HPLC chromatogram of accelerated test sample (stored at 40 °C for 6 months)

1-pyroglutamate; 2-vitamin B<sub>6</sub>; 3-metabisulfite; 4-6-impurities

表 1 有关物质测定结果

Tab 1 The determination result of related substances

样品类型	批号	最大单个杂质/%	杂质总量/%	峰面积比
长期试验样品	090301	0.4	1.6	0.511
加速试验样品(40 °C)	090101	4.2	6.3	0.512
加速试验样品(30 °C)	090301	0.9	1.9	0.510
国外上市产品	H071114	0.8	3.0	0.479

### 3 讨论

美他多辛为维生素 B<sub>6</sub>和焦谷氨酸的复盐,为离子对化合物。原有关物质检测方法以甲醇-0.04%戊烷磺酸钠溶液(用冰醋酸调节 pH 值至 3.0)(11:89)为流动相,检测波长为 291 nm,但进一步研究发现,在此色谱条件下,含量下降与有关物质增加的幅度相差较大,怀疑部分降解产物无紫外吸收或其紫外响应很小。当采用 220 nm 检测时发现,维生素 B<sub>6</sub>和焦谷氨酸分别出峰,而在检测波长为 291 nm,因焦谷氨酸在此波长下无吸收,故只呈现一个峰。且焦谷氨酸出峰较快,其紫外响应较小,并与杂质峰重叠,其降解产物的紫外响应更低,该方法无法有效检测无紫外吸收杂质,因此新建了 HPLC-ELSD 作为补充。

在新建立的色谱条件下,焦谷氨酸和维生素 B<sub>6</sub>分别出峰,且保留时间合适。焦谷氨酸与维生素 B<sub>6</sub>的峰面积比约为 0.51,通过控制两者峰面积比例,可以有效控制美他多辛复盐中 2 组分的含量。

### REFERENCES

- [1] CHENG X M, ZHANG J L. Determination of metadoxine by HPLC [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2003, 34 (2): 94-95.
- [2] GUO X F, LIU X Y. Synthesize of metadoxine [J]. Chem Intermed(化工中间体), 2006(4): 18-19.
- [3] CHENG X M, ZHANG J L. Determination of metadoxine and its related substances by RP-HPLC [J]. Chin J of New Drugs(中国新药杂志), 2002, 11(10): 780-782.

收稿日期: 2011-06-27