

# HPLC 测定盐酸洛美利嗪胶囊的含量及有关物质

李煜, 郑金琪, 郑国刚, 洪利娅(浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310004)

**摘要:** 目的 建立盐酸洛美利嗪胶囊的含量测定及有关物质检查方法。方法 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Diamonsil-ODS 柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm), 以乙腈-0.001 mol·L<sup>-1</sup> 十二烷基硫酸钠溶液(60:40)为流动相, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 35 °C, 波长 225 nm。结果 盐酸洛美利嗪与各主要杂质及强制破坏产生的降解产物的杂质峰均分离良好, 盐酸洛美利嗪在 17.04~153.40 μg·mL<sup>-1</sup> 内与峰面积呈良好线性关系,  $r=1.000$ , 回收率为 99.8% (RSD=1.12%,  $n=9$ ), 供试品溶液在 24 h 内稳定。结论 本法专属性强, 结果准确, 方法灵敏可靠, 可用于盐酸洛美利嗪的含量测定和有关物质检查。

**关键词:** 盐酸洛美利嗪; 含量测定; 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)12-1125-04

## Determination of Content and Related Substances of Lomerizine Hydrochloride in Capsule by HPLC

LI Yu, ZHENG Jinqi, ZHENG Guogang, HONG Liya(Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a method to determine the content and related substances of lomerizine hydrochloride capsule. **METHODS** HPLC was adopted on a Diamonsil-ODS column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) using an isocratic mobile phase consisted of acetonitrile-0.001 mol·L<sup>-1</sup> SDS (60:40) with a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The column temperature was kept at 35 °C and the detection wavelength was set at 225 nm. **RESULTS** Lomerizine hydrochloride and its related impurities could be separated effectively. The concentration-response relationship was linear over the range of 17.04~153.40 μg·mL<sup>-1</sup> ( $r=1.000$ ). The average recovery was 99.8%(RSD=1.12%,  $n=9$ ). The solution was stable for 24 h. **CONCLUSION** The method is specific, accurate, sensitive and suitable for the determination of content and related substances of lomerizine hydrochloride.

**KEY WORDS:** lomerizine hydrochloride; content determination; related substances; HPLC

盐酸洛美利嗪(lomerizine hydrochloride)是哌嗪类脑血管扩张药, 可选择性地作用于脑动脉而不影响血压和心率, 临床主要用于治疗偏头痛, 无其他钙通道阻滞剂常有的不良反应如低血压等<sup>[1-3]</sup>。笔者在“盐酸洛美利嗪胶囊”的新药试行标准转正工作(中国食品药品检定研究院(中检药函[2011]792号)“关于开展新药试行标准转正品种标准统一工作的函”要求)中采用 HPLC 对其含量及有关物质检查方法进行了研究。

### 1 仪器与试剂

Agilent1100 液相色谱仪(包括在线真空脱气机, 四元泵自动进样系统)。乙腈(色谱纯); 盐酸(分析纯); 盐酸洛美利嗪对照品(浙江省食品药品检验研究院, 含量: 99.9%, 批号: 100701); 盐酸洛美利嗪胶囊(由浙江为康制药有限公司提供, 批号: 20110402, 20110403, 20110501, 规格: 5 mg); 水为重蒸水, 其余试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件及测定方法

色谱柱: Diamonsil-ODS 柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.001 mol·L<sup>-1</sup> 十二烷基硫酸钠溶液(60:40); 检测波长: 225 nm; 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。分别取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 按外标法以峰面积计算盐酸洛美利嗪的含量。

#### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 供试品溶液的制备** 取本品 20 粒内容物, 精密称定, 研细, 精密称取适量(约相当于盐酸洛美利嗪 5 mg), 置 50 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 取盐酸洛美利嗪对照品约 10 mg, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

作者简介: 李煜, 女, 博士, 主管药师 Tel: (0571)86459422

E-mail: yuli113@126.com

### 2.3 破坏性试验

取批号 20110403 样品, 研细, 取细粉 5 份, 每份约相当于盐酸洛美利嗪 12.5 mg, 分别置 25 mL 量瓶中, 加流动相 10 mL, 振摇使盐酸洛美利嗪溶解, 进行破坏性试验。

**2.3.1 强酸破坏试验** 取 1 份, 加入 3 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸溶液 5 mL, 摇匀, 放置 24 h, 用 3 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠溶液中和, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液进样, 结果见图 1A。

**2.3.2 强碱破坏试验** 取 1 份, 加入 3 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠 5 mL, 摇匀, 放置 24 h, 用 3 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸溶液中和, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液进样, 结果见图 1B。

**2.3.3 热破坏试验** 取 1 份, 60 °C 水浴加热 6 h, 放冷, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液进样, 结果见图 1C。

**2.3.4 氧化破坏试验** 取 1 份, 加入 30% 过氧化氢溶液 5 mL, 摇匀, 放置 24 h, 放冷, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液进样, 结果见图 1D。

**2.3.5 光破坏试验** 取 1 份, 置(4 500±500)lx 下照射 24 h, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液进样, 结果见图 1E。

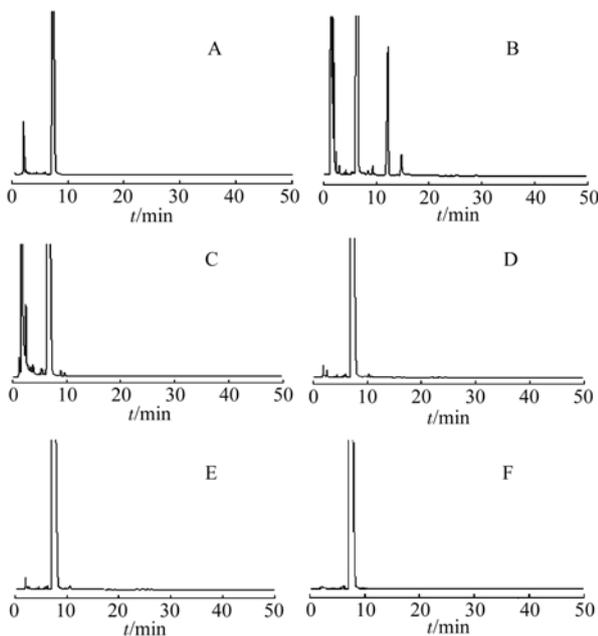


图 1 专属性试验图谱

A-强酸破坏; B-强碱破坏; C-热破坏; D-氧化破坏; E-强光破坏; F-未破坏处理

**Fig 1** Chromatograms of specificity test of lomerizine hydrochloride

A-3.0 mol·L<sup>-1</sup> HCl; B-3.0 mol·L<sup>-1</sup> NaOH; C-heat; D-30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; E-strong light; F-without treated

### 2.4 线性关系考察

取盐酸洛美利嗪对照品适量, 加流动相溶解并稀释制成 20.0, 50.0, 60.0, 80.0, 100.0, 120.0 和 150.0 μg·mL<sup>-1</sup> 的线性溶液, 进行 HPLC 测定, 分别取上述溶液 10 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 以浓度 C(g·mL<sup>-1</sup>) 对峰面积 A 作标准曲线, 线性回归方程为: A=25 513C-8 943.6, r=1.000, 盐酸洛美利嗪在 17.04~153.40 μg·mL<sup>-1</sup> 内与峰面积呈良好的线性关系。

### 2.5 回收率试验

精密称取盐酸洛美利嗪对照品适量, 加入处方量的辅料, 用流动相溶解并定量稀释制成每 1 mL 中约含 80, 100, 120 μg 的溶液, 精密量取续滤液 10 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图; 另取盐酸洛美利嗪对照品, 同法测定, 计算每份的回收率, 结果见表 1。平均回收率与 RSD 值分别为 99.8% 和 1.12%。

表 1 回收率结果

Tab 1 Results of recovery test

浓度/μg·mL <sup>-1</sup>	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
80	97.86	99.8	1.12
	99.32		
	99.30		
100	98.73		
	100.97		
	99.77		
120	100.57		
	100.91		
	101.00		

### 2.6 仪器精密度试验

取盐酸洛美利嗪对照品溶液, 连续重复进样 5 次, 结果 RSD 为 0.05%。

### 2.7 重复性试验

取批号 20110403 样品, 研细, 称取粉末适量, 制备 6 份供试品溶液, 分别进样, RSD 为 0.52%。

### 2.8 稳定性试验

取批号 20110403 样品, 测定供试品溶液, 分别在 0, 1, 3, 6, 12 和 24 h 进样分析, 记录液相色谱图, 结果不同时间色谱峰面积一致, RSD 为 0.57%, 表明供试品溶液在室温条件下放置 24 h 内稳定。

### 2.9 色谱柱耐用性考察

分别采用不同品牌的色谱柱, 考察方法的耐用性, 结果见表 2。色谱柱 1: Kromasil C<sub>18</sub>(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 色谱柱 2: SHIMADZU C<sub>18</sub>(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 上述结果显示, 本方法色

谱柱耐用性较好。

表 2 色谱柱耐用性实验结果

Tab 2 Results of chromatographic column durability test

批号	色谱柱	最大单个杂质/%	总杂质/%	含量/%
20110403	色谱柱 1	0.2	0.8	101.5
	色谱柱 2	0.3	0.6	100.9

### 2.10 有关物质检查

精密称取本品适量(约相当于盐酸洛美利嗪 50 mg), 置 100 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释到刻度, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液; 量取供试品溶液 1.0 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为对照溶液。按“2.1”项下色谱条件, 取对照溶液 20  $\mu$ L 注入液相色谱仪, 调节检测灵敏度, 使主成分色谱峰的峰高约为满量程的 20%, 再精密量取对照溶液与供试品溶液各 20  $\mu$ L, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图至主成分峰保留时间的 2 倍。供试品溶液的色谱图中如有杂质峰, 单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积的 0.5%, 各杂质峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积的 1.5%。

### 2.11 样品测定

取盐酸洛美利嗪胶囊样品, 按“2.2”及“2.10”项下制备供试品溶液, 测定含量和有关物质, 结果见表 3。

表 3 盐酸洛美利嗪胶囊含量及有关物质测定结果( $n=2$ )

Tab 3 Determination results of contents and related substances of lomerizine hydrochloride capsule ( $n=2$ )

样品批号	含量/%	有关物质/%	
		最大单个杂质	总杂质
20110402	99.7	0.26	0.64
20110403	100.0	0.29	0.58
20110501	97.4	0.27	0.64

### 2.12 检测灵敏度

制备 2,3,4-三甲氧基苯甲醛、4,4-对二氟苯甲哌嗪和盐酸洛美利嗪浓度均为 10  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup> 的混合溶液, 并逐步稀释, 测定各自的最低检测限(LOD), 结果见表 4。

表 4 检测灵敏度实验结果

Tab 4 Results of detection sensitivity test

名称	LOD	
	浓度/ng·mL <sup>-1</sup>	S/N
2,3,4-三甲氧基苯甲醛	49.15	4.9
4,4-对二氟苯甲哌嗪	55.95	2.8
盐酸洛美利嗪	52.95	1.9

## 3 讨论

### 3.1 色谱方法的选择

经标准和相关文献查阅<sup>[4-6]</sup>, USP34 版、BP2011 版、EP7.0 版、JP16 版和 ChP2010 版均未收载盐酸洛美利嗪, 亦无该品种进口药品注册质量标准。该品种共涉及生产企业 10 家, 发文征收到生产企业 2 家。经比较, 两家企业该品种注册标准(试行)差异较大, 结合检验工作的实际情况, 对两家企业的试行标准进行统一和转正工作。

2 个标准均采用 HPLC 法, 使用 C<sub>18</sub> 色谱柱进行有关物质检查, 其他色谱条件差异较大, 详见表 5。

表 5 标准比对

Tab 5 The comparison of standards

项目	YBH009642005 (原料药)	YBH08032006 (原料药)
有关物质	乙腈-0.001 mol·L <sup>-1</sup> 十二烷基硫酸钠溶液 (60:40) (磷酸调 pH 至 4.0)	乙腈-0.02 mol·L <sup>-1</sup> 磷酸盐缓冲液 (pH 值 6.5) (69:31)

分别依标准中的有关物质检查方法进行有关物质测定, 结果: 依据 YBH00942005 (原料药) 标准测得的杂质个数较多、最大单个杂质较小、杂质总量略大。另一种方法测得的最大单个杂质为多个杂质的叠加导致偏高。

综上所述, 从杂质的分离效果和杂质的检出量来看, YBH00942005(原料药)方法较优, 故采用 YBH00942005 标准中的有关物质检查方法进行方法学研究, 认为可行。

### 3.2 测定波长的选择

收到样品的企业均使用 2,3,4-三甲氧基苯甲醛和 4,4-对二氟苯甲哌嗪一步合成盐酸洛美利嗪, 因而本品可能引入的杂质为 2,3,4-三甲氧基苯甲醛和 4,4-对二氟苯甲哌嗪。2 个标准中均采用 225 nm 作为测定波长, HPLC 图谱显示, 2,3,4-三甲氧基苯甲醛和 4,4-对二氟苯甲哌嗪均在 225 nm 波长处有较大吸收; 同时降解试验显示, 各降解杂质均在 225 nm 波长处有较大吸收, 因而选择 225 nm 作为测定波长。

### 3.3 相对响应因子测定

制备 2,3,4-三甲氧基苯甲醛、4,4-对二氟苯甲哌嗪和盐酸洛美利嗪浓度均为 10  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup> 的混合溶液, 测定各自的相对响应因子, 结果 2,3,4-三甲氧基苯甲醛和 4,4-对二氟苯甲哌嗪与盐酸洛美利嗪的相对响应因子分别为 1.8 和 0.7, 样品中均

未检出上述中间体, 故采用以盐酸洛美利嗪自身对照法测定有关物质, 方便今后操作。

### 3.4 有关物质限度的确定及样品质量的探讨

在研究过程中, 进行了盐酸洛美利嗪最大单杂和杂质总量的测定, 以便更好地了解本品的质量。参考 YBH00942005 和 YBH08032006 标准, 拟定标准中限度为杂质总量不得过 1.5%, 并增加单个杂质的控制, 限度为不得过 0.5%。

## REFERENCES

[1] HARA H, SHIMAZAWA M, SASAOKA M, et al. Selective-effects of lomerizine, a novel diphenylmethyl-piperazine  $\text{Ca}^{2+}$  channel blocker, on cerebral blood flow in rats and dogs [J].

Clin Exp Pharmacol Physiol, 1999, 26(11): 870-876.  
[2] HARADA K, NAKAMURA A, DOBASHI R, et al. Effects of lomerizine, a new  $\text{Ca}^{2+}$  entry blocker, on the contractile response of isolated canine cerebral and peripheral arteries [J]. Jpn Pharmacol Ther, 1997, 25(3): 167-177.  
[3] Lomerizine hydrochloride [J]. Drugs of the Future, 1996, 21(4): 435-436.  
[4] ZOU G C, YAN H. Determination of related substances of lomerizine hydrochloride by RP-HPLC [J]. J Clin Exp Med(临床和实验医学杂志), 2006, 5(2): 133-134.  
[5] LIU M H, DING J, YAO X M, et al. Preparation and quality control of lomerizine hydrochloride capsules [J]. Prog Pharm Sci(药学进展), 2005, 29(10): 468-471.  
[6] LIU W W, WU Q Z, DAI Y, et al. Determination of lomerizine hydrochloride and its related substances by HPLC [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2003, 34(3): 139-140.

收稿日期: 2012-02-22

## LC-MS/MS 测定人血浆中罗红霉素的浓度及其在生物等效性研究中的应用

王峰, 贾飞, 高素英, 李会林(浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310004)

**摘要:** 目的 建立 LC-MS/MS 测定人血浆中罗红霉素浓度的方法, 并研究其制剂的生物等效性。方法 以克拉霉素为内标, 色谱柱: Alltech Alltima(2.1 mm×100 mm, 3.5  $\mu\text{m}$ ); 流动相: 0.1%甲酸溶液-乙腈(45:55); 流速: 0.2 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温: 30  $^{\circ}\text{C}$ 。采用三重四极杆串联质谱, 电喷雾离子源, 正离子模式检测, 以选择反应监测(SRM)方式进行检测, 罗红霉素母离子  $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$  837.5, 子离子  $m/z$  679.2, 内标克拉霉素母离子  $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$  748.5, 子离子  $m/z$  590.2。结果 罗红霉素线性范围为 0.10~20.00  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 最低检测限为 0.01  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 3 种浓度的相对回收率为 100.8%~103.1%, 日内、日间 RSD 均 <5.9%( $n=5$ )。生物等效性研究表明受试制剂和参比制剂生物等效, 受试制剂相对生物利用度为 (100.655±9.552)% ( $P=0.5\%$ )。结论 该方法专属、灵敏、快速, 适用于罗红霉素制剂的生物等效性研究。

**关键词:** 罗红霉素; 液相色谱-串联质谱法; 生物等效性

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)12-1128-04

## Determination of Roxithromycin in Plasma by LC-MS/MS and Its Application in the Bioequivalence Study

WANG Feng, JIA Fei, GAO Suying, LI Huilin(Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a LC-MS/MS method for determination of roxithromycin in plasma and to study its bioequivalence. **METHODS** Clarithromycin was used as internal standard. The method was performed on Alltech Alltima (2.1 mm×100 mm, 3.5  $\mu\text{m}$ ) at 30  $^{\circ}\text{C}$ , and 0.1% formic acid-acetonitrile(45:55) was used as mobile phase with the flow rate of 0.2 mL·min<sup>-1</sup>. Electrospray ionization source was applied and operated in positive ion mode. Selected reaction monitoring(SRM) mode with the transitions of  $m/z$  837.5→679.2 and  $m/z$  748.5→590.2 was used to quantify roxithromycin and clarithromycin, respectively. **RESULTS** The assay was linear over the range of 0.10~20.00  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , the limit of detection was 0.01  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , relative recoveries at three level concentrations ranged from 100.8% to 103.1%, the intra- and inter-day precision(RSD) were below 5.9%. Bioequivalence study showed the test roxithromycin tablets was bioequivalent to the reference tablets. The relative bioavailability of the test sample was (100.655±9.552)%( $P=0.5\%$ ). **CONCLUSION** The method is simple, rapid, accurate and can be applied to perform the bioequivalence research of roxithromycin tablets.

**KEY WORDS:** roxithromycin; LC-MS/MS; bioequivalence

作者简介: 王峰, 男, 硕士, 主管药师 Tel: (0571)86459422

E-mail: wfeng1979@gmail.com