

- [2] 中国药典. 一部 [S]. 2010: 231, 251.
- [3] LI K. Determination of andrographolide and dehydroandrographolide in Yuyeqinghuo capsule with HPLC [J]. Guid J Tradit Chin Med (中医药导报), 2007, 13(10): 68-70.
- [4] GUO M. HPLC determination of dehydroandrographolide and geniposide in Qinghuozhimai capsules [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2008, 28(11): 1921-1922.

- [5] GONG H N. Determination of geniposide in Yuye Qinghuo Jiaonang by HPLC [J]. Cent South Pharm(中南药学), 2010, 8(6): 448-450.
- [6] LAN X Y, LIN H. HPLC determination of three effective components in Qinghuo Zhimai tablets [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2011, 31(2): 228-230.

收稿日期: 2014-06-14

依巴斯汀原料药及其片剂有关物质测定方法的改进

林琼¹, 杨伟峰^{1,2*}, 陈爽²(1.浙江工业大学, 杭州 310014; 2.浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310004)

摘要: 目的 改进依巴斯汀原料药及其片剂有关物质的测定方法。方法 色谱柱采用 YMC-pack ODS-A C₁₈ 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈-磷酸盐缓冲液(pH 7.0)(75:25)为流动相, 柱温为 35 °C, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 210 nm。结果 所建立色谱条件可有效检测出依巴斯汀原料药和片剂中杂质, 杂质 C 和杂质 D 的检出限均为 0.11 μg·mL⁻¹, 其校正因子均为 1.4。结论 该方法测定依巴斯汀及其片剂有关物质简便、专属性强, 测定结果准确可靠。

关键词: 依巴斯汀; 有关物质; 高效液相色谱法; 杂质

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)04-0489-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.04.026

Improved Determination Method of Related Substances in Ebastine and Ebastine Tablets

LIN Qiong¹, YANG Weifeng^{1,2*}, CHEN Shuang²(1.Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 2.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To improve the method of related substances determination of ebastine and ebastine tablets. **METHODS** Chromatography was carried on YMC-pack ODS-A C₁₈ column (150 mm×4.6 mm, 5 μm) with the column temperature at 35 °C, using the acetonitrile-phosphate buffer (pH 7.0) as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. the detective wavelength was set at 210 nm. **RESULTS** The method was effective for determination of related substance in ebastine and ebastine tablets. The detection limit and the calibration factor both of impurity C and impurity D were 0.11 μg·mL⁻¹ and 1.4 respectively. **CONCLUSION** The method proposed for determining the related substances determination of ebastine and ebastine tablets is quick, accurate and reliable.

KRY WORDS: ebastine; related substance; HPLC; impurity

依巴斯汀是一种强效、长效、高选择性的组胺 H₁ 受体阻断剂, 用于各种过敏性疾病的治疗^[1]。国内现有生产企业 2 家, 均执行国家食品药品监督管理局国家药品标准 WS1-(X-008)-2013Z^[2]。另有西班牙艾美罗医用药物有限公司产品进口, 进口药品注册标准为 JX20030151^[3]。EP8.0、BP2014 和 JP16 版均收录了依巴斯汀^[4-6], 但美国药典未见收录。有关物质检测均采用 HPLC, 但方法有较大差异。在国家药品标准提高过程中发现现行国家标准中有关物质检测方法不尽合理, 在规定的检测波长下, 部分杂质无吸收, 未对已知杂质进行

单独控制, 也未控制单个未知杂质。本文对依巴斯汀有关物质的测定方法进行了改进。

1 仪器与试剂

Agilent 1260 高效液相色谱仪、二极管阵列检测器(美国 Agilent 公司); Mettler Toledo Xs 205 Du 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); Mettler Toledo S40k pH 计(梅特勒-托利多仪器有限公司); Milli-Q 纯水仪(美国 Millipore 公司)。

依巴斯汀对照品(杭州澳医保灵药业有限公司提供, 批号: WS20120701, 含量: 99.7%); 依巴斯汀杂质 C(4-二苯基甲氧基哌啶; 江苏联环药业

作者简介: 林琼, 女, 硕士 Tel: (0571)86459422 E-mail: linqiong823@163.com

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

股份有限公司, 批号: 20140446, 含量: 99.3%); 依巴斯汀杂质 D(1-[3-(4-叔丁基苯甲酰)丙基]-4-羟基哌啶, 杭州澳医保灵药业有限公司, 批号: 20140314, 含量 99.5%); 依巴斯汀、依巴斯汀片(杭州澳医保灵药业有限公司、江苏联环药业股份有限公司及西班牙艾美罗医用药物有限公司, 片剂规格: 10 mg; 批号见表 1); 乙腈(色谱纯, 默克化工技术有限公司); 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液的配制

2.1.1 对照品溶液的配制 取依巴斯汀对照品 10.0 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 备用, 以上操作均在避光条件下进行。

2.1.2 供试品溶液的配制 取依巴斯汀 50.0 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 备用。取依巴斯汀片细粉适量(约含依巴斯汀 50.0 mg), 置 50 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 滤过, 取续滤液, 备用, 以上操作均在避光条件下进行。

2.1.3 系统适用性溶液的配制 取依巴斯汀对照品和依巴斯汀杂质 C、杂质 D 对照品适量, 用流动相溶解并稀释制成每 1 mL 中含依巴斯汀 10 μg 、杂质 C 和杂质 D 各 2 μg 的溶液, 备用。

2.2 液相色谱分析方法的建立

2.2.1 色谱条件 采用 YMC-Pack ODS-A C_{18} 色谱柱(150 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 乙腈-磷酸盐缓冲液(取磷酸二氢钾 3.4 g, 加适量水溶解并稀释至 1 000 mL, 用 10% 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 7.0)(75 : 25)为流动相; 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长为 210 nm; 进样量为 20 μL , 流速为 1.0 mL \cdot min $^{-1}$ 。

2.2.2 系统适用性试验 精密量取 20 μL , 按“2.2.1”项下色谱条件测定, 结果见图 1。杂质 C 和杂质 D 的分离度 >1.5 , 表明在确定的色谱条件下杂质 C、杂质 D 和依巴斯汀之间能完全分离。

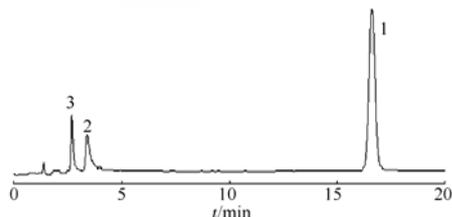


图 1 系统适用性试验色谱图

1-依巴斯汀; 2-杂质 C; 3-杂质 D。

Fig. 1 HPLC chromatogram of system suitability of related substances determination

1-ebastine; 2-impurity C; 3-impurity D.

2.2.3 专属性试验 取依巴斯汀原料药 50 mg 和依巴斯汀片细粉适量(约含依巴斯汀 50 mg)各 5 份, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相 5 mL, 超声使依巴斯汀溶解, 按以下方法操作: ①酸破坏: 加 1 mol \cdot L $^{-1}$ 盐酸溶液 2 mL, 放置 2 h, 加 1 mol \cdot L $^{-1}$ 氢氧化钠溶液中和, 加流动相稀释至刻度。②碱破坏: 加 1 mol \cdot L $^{-1}$ 氢氧化钠溶液 2 mL, 放置 2 h, 加 1 mol \cdot L $^{-1}$ 盐酸溶液中和, 加流动相稀释至刻度。③氧化破坏: 加 3% H_2O_2 溶液 1 mL, 放置 10 min, 加流动相稀释至刻度。④光破坏: 在强光照射下放置 6 h, 加流动相稀释至刻度。⑤热破坏: 在 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中放置 3 h, 加流动相稀释至刻度。取上述溶液滤过, 取续滤液作为供试品溶液, 精密量取 20 μL , 按“2.2.1”项下色谱条件测定。依巴斯汀与依巴斯汀片的专属性试验结果一致, 故本文只列出依巴斯汀专属性试验色谱图, 结果见图 2。

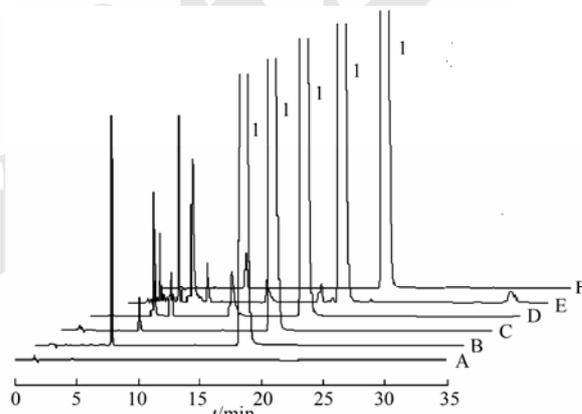


图 2 专属性试验色谱图

1-依巴斯汀; A-空白; B-酸破坏; C-碱破坏; D-氧化破坏; E-光破坏; F-热破坏。

Fig. 2 HPLC chromatogram of specificity test

1-ebastine; A-blank; B-destroyed by acid; C-destroyed by alkali; D-destroyed by oxidant; E-destroyed by light; F-destroyed by heat.

专属性试验结果表明, 依巴斯汀在酸、碱和热的环境下较为稳定。氧化剂和强光照射下本品不稳定, 但各降解产物均能与主成分峰基线分离, 表明该方法专属性较强。

2.2.4 检测波长选择 从专属性试验、系统适用性试验和供试品溶液的二极管阵列检测器(DAD)记录图谱分析, 在现行国家药品标准规定的检测波长(254 nm)下, 虽主成分依巴斯汀和杂质 D 均有最大吸收, 但杂质 C 和相对保留时间约 0.4 处的最大未知杂质几乎无吸收, 依巴斯汀和各杂质紫外吸收光谱图见图 3。在 210 nm 波长处上述杂质和降解产物均有较大吸收, 故选择 210 nm 作为测定波长。

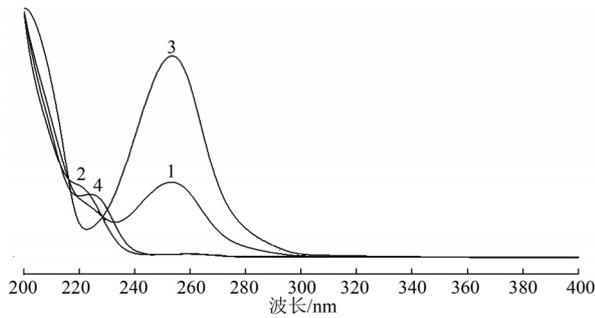


图3 依巴斯汀和各杂质紫外吸收光谱图
1-依巴斯汀; 2-杂质 C; 3-杂质 D; 4-相对保留时间 0.4 处杂质。
Fig. 3 UV spectra of Ebastine and impurities
1-ebastine; 2-impurity C; 3-impurity D; 4-the main impurity(Rt=0.4).

2.3 方法学验证

2.3.1 线性关系及杂质校正因子 分别取依巴斯汀原料药 50 mg, 杂质 C 和杂质 D 各 10 mg 置 50 mL 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 各取 1.0 mL 上述溶液置 100 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 即得线性关系测定浓溶液。分别精密量取上述溶液适量, 加流动相逐级稀释制成混合梯度测试溶液。精密量取 20 μL , 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 以峰面积(Y)对浓度(C, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)进行线性回归, 得各自的线性方程:

$Y_a = 74.93C + 3.829, r = 1.0000$, a: 依巴斯汀(C: 2.543~15.258 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

$Y_b = 54.75C + 2.256, r = 0.9934$, b: 杂质 C(C: 0.561~3.366 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

$Y_c = 54.47C - 3.753, r = 0.9963$, c: 杂质 D(C: 0.563~3.378 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

由各自线性方程可知, 已知杂质 C 和杂质 D 线性关系良好, 由斜率比较法计算得杂质 C 和 D 的校正因子均为 1.4。

2.3.2 检测限 取“2.3.1”项下线性关系测定项下浓溶液, 精密量取适量, 逐级稀释后进样。依巴斯汀和杂质 C、杂质 D 的最低检测浓度分别为 0.10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (S/N=2.8)、0.11 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (S/N=3.8)和 0.11 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (S/N=3.2)。

2.3.3 溶液稳定性试验 取“2.1.2”项下依巴斯汀供试品溶液, 每隔 2 h 精密量取 20 μL , 按“2.2.1”项下色谱条件进行测定, 在 12 h 内, 主成分依巴斯汀 RSD=0.40%, 单个杂质和杂质总量未见增加, 表明供试品在流动相中较为稳定, 无需临用新配。

2.4 样品有关物质的测定

按“2.2.1”项下色谱条件, 对 6 批依巴斯汀原料药和 9 批依巴斯汀片进行测定, 用加校正因

子的自身对照法计算测定结果。测定结果见表 1, 典型色谱图见图 4。

表 1 样品有关物质测定结果

Tab. 1 Results of related substances determination of sample

样品	批号	杂质 C/%	杂质 D/%	最大单个杂质/%	杂质总量/%
依巴斯汀	YB201307006	ND	ND	<0.1	<0.1
	YB201307007	ND	ND	1.6	1.6
	YB201307008	ND	ND	0.3	0.3
	120301	ND	ND	<0.1	<0.1
	131102	ND	ND	0.5	0.5
	131212	ND	ND	1.0	1.0
依巴斯汀片	20130203	0.1	0.1	0.1	0.3
	20130601	<0.1	0.1	ND	0.1
	20131101	0.1	0.1	ND	0.1
	120309	ND	ND	<0.1	<0.1
	131204	ND	ND	0.1	0.1
	131205	ND	ND	0.1	0.2
	14H	ND	ND	ND	<0.1
	16H	ND	ND	ND	<0.1
18H	ND	0.1	ND	0.1	

注: ND-未检出。
Note: ND-not detected.

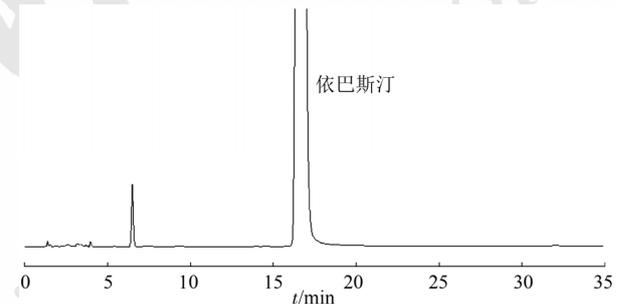


图4 依巴斯汀有关物质测定典型色谱图
Fig. 4 Typical HPLC chromatogram of related substances determination of ebastine

3 结论

原国家药品标准有关物质检查采用 C_{18} 柱, 流动相为甲醇-0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸铵缓冲液 (pH 3.9)(75 : 25), 检测波长为 254 nm。在该波长下杂质 C 和主要未知杂质几乎无吸收; 如改为 210 nm, 由于流动相中含较高比例的甲醇, 背景吸收较高, 不适合杂质检测; EP8.0 的色谱条件, 采用氰基柱分离, 虽然对杂质的分离较合适, 但主峰的峰型较差, 出峰时间长达 130 min, 不适合主峰后的杂质检测, 另外氰基柱的耐用性较差, 色谱柱也较易损坏; JP16 色谱条件采用离子对试剂(SDS), 色谱平衡时间较长, 色谱柱也易损坏。文献[7]采用

梯度洗脱法测定有关物质,依巴斯汀的保留时间缩短为约 55 min,但基线漂移较大,不利于微小杂质的检测。本研究所建立的测定依巴斯汀及其片剂中有关物质的方法,操作简便、专属性强,测定结果准确可靠,可有效解决上述问题。

杂质 C 和杂质 D 分别为国内两家企业生产工艺中的中间体和初始原料^[8],容易获得,故参考 EP 7.0 增加了系统适用性试验,以保证方法的可靠性。

上述样品按原国家药品标准检验,结果均符合规定(杂质总量不得>1.0%)。但按本文方法检测,结果显示不同批次原料药中相对保留时间约 0.4 处的最大单个杂质含量相差较大,部分批次单个杂质含量>0.5%,杂质总量>1.0%,说明生产工艺参数需进一步验证,以降低不良反应的发生。目

前正在对此杂质进行分离纯化,进行杂质结构鉴定,为工艺改进提供技术支撑。

REFERENCES

- [1] 郭英军,韩秀萍.依巴斯汀治疗慢性皮炎湿疹临床疗效观察[J].临床皮肤科杂志,2010,39(1):24.
- [2] 国家食品药品监督管理局.国家药品标准 WS1-(X-008)-2013Z [S].北京,2013.
- [3] The Imported Drug Registration Standards JX20030151 (进口药品注册标准 JX20030151) [S].2003.
- [4] EP 8.0 Vol. II (欧洲药典 8.0,二卷) [S].2014:2125-2126.
- [5] BP 2014 Vol. II (英国药典 2014,二卷) [S].2014:817-818.
- [6] JP 16(日本药局方第 16 版) [S].2011:763-764,766-767.
- [7] XU L, PANG J. Determination of related substance in Ebastine Tablets by HPLC gradient elution [J]. Qilu Pharm Aff(齐鲁药事),2007,26(12):720-721.
- [8] SUN P H, TANG W S, ZHANG H S. Improved Synthesis of Ebastine [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志),2004,35(6):326-327.

收稿日期:2014-08-12

“第五届中西部儿科学术会暨社区儿科常见疾病诊治及干预国家级继续医学教育学习班”征文通知

中西部儿科学术会是中西部地区儿科医学的一个学术盛会。其宗旨是“交流、合作、发展”,更好地推动我国中西部儿童医疗事业的持续性发展,促进基层儿科人才成长。

由《儿科药理学杂志》《中华实用儿科临床杂志》主办,中西部儿科学术会组委会、重庆医科大学附属儿童医院承办的“第五届中西部儿科学术会暨社区儿科常见疾病诊治及干预国家级继续医学教育学习班”,定于 2015 年 6 月 25 日—27 日在重庆召开。本次会议主要针对中西部儿童健康状况和特点,交流和传播实用儿科医学知识和技术,切实解决中西部儿科医生工作中迫切需要解决的问题;本届重点关注“儿童营养保健与发育行为、儿童呼吸道疾病、儿童感染性疾病”3 大主题,重点关注基层儿科医生临床研究相关问题;会议内容既注重前瞻性,更具有实用性,报告形式既有专家讲座,又有病例讨论,既有中青年学者论坛,又有与杂志主编的面对面交流。会议将邀请美国、英国、加拿大及国内院士、知名学者进行大会演讲和点评,相信这次会议对广大基础儿科医生定会有所裨益。本次会议有“国家级继续医学教育项目”支持。欢迎各位积极参加并踊跃投稿。

1 征文内容

①儿童营养、保健与发育行为:儿童营养新进展;儿童早期综合发展;早产儿营养;儿童肥胖症;儿童生长发育的促进和评估;儿童食物过敏;环境与儿童健康;儿童行为发育问题、障碍性疾病等。②儿童呼吸道疾病:儿童呼吸系统感染性疾病;儿童哮喘及其他喘息性疾病;间质性肺疾病;呼吸睡眠障碍;呼吸系统疾病的影像学、肺功能、支气管镜检查等。③儿童感染性疾病:儿童细菌感染与对策;EB 病毒感染;流感病毒感染早期识别与管理;儿童结核病;中枢神经系统感染;免疫缺陷与感染;不明原因发热等。

2 征文要求

①文章内容应具有科学性、创新性和实用性;②来稿必须是未公开发表过的学术论文;③论文要求 500~800 字摘要,内容包括目的、方法、结果、结论四部分,格式按《儿科药理学杂志》稿约要求。一律采用 Word 文档,小四号宋体。④来稿时注明作者姓名、单位、详细地址、邮政编码、联系电话、电子邮箱。⑤被录用论文将编入“会议论文集”,优秀论文将优先在《中华实用儿科临床杂志》、《儿科药理学杂志》发表。

3 投稿方式

稿件直接以电子邮件方式发送至会务组邮箱(E-mail: ekyxzz2012@163.com),邮件主题请注明“儿科医学发展论坛征文稿”。会议征文联系人:刘雄志,杨丹,电话:023-63633143。截稿日期:2015 年 5 月 15 日。

4 会议安排

2010 年 6 月 25 日全天报到,6 月 26 日—27 日召开学术会议。会务费 800 元/人(学生代表 400 元/人),食宿由会务组统一安排,费用自理。会议地点:重庆市(具体见第二轮通知)。

5 会务组联系方式

“第五届中西部儿科学术会”会务组地址:重庆市渝中区中山二路 136 号重庆医科大学附属儿童医院;联系人:曾敏莉,王乐乐;电话:(023)63633143。