

高效液相色谱法测定辛伐他汀中间体

叶龙忠,王明霞,姜小林(浙江金华康恩贝生物制药有限公司,浙江 金华 321016)

辛伐他汀中间体(SV)为近年来发现的合成辛伐他汀的一种新的物质^[1],由于合成辛伐他汀的路径短,反应条件温和,极有可能取代洛伐他汀合成辛伐他汀,以大大降低生产成本。因此,很有必要建立一种快速、有效的检测方法来取代薄层色谱法,对辛伐他汀进行定量和定性,以满足生产和科研的需要。参照美国药典 24 版中洛伐他汀^[2]和辛伐他汀的检测方法^[3],经试验后得出了一种简便、快速、有效的 HPLC 分析方法。

1 仪器和试剂

岛津 LC-10AT 色谱仪,岛津 SPD-10 AUV-VIS 检测器,岛津 CTO-10A 柱温箱,岛津 DGU-4A 脱气机,浙江大学 N2000 数据工作站。

辛伐他汀中间体标准品由浙江金华康恩贝生物制药有限公司精制,含量经 HPLC 面积归一法分析为 98.5%,乙腈为 HPLC 级,磷酸为分析纯,所有实验用水为二次重蒸水。

2 色谱条件

色谱柱:Hypersil C18 柱 10 μ m 4.6mm $\times$ 250mm(大连依利特公司),流动相:乙腈-0.1%磷酸水溶液(体积比为 45:55);流速:1.2mL/min;检测波长:235nm;柱温:35 $^{\circ}$ C;进样量:20 μ L。

3 对照品及供试品溶液的制备

3.1 标准溶液的配制

精密称取辛伐他汀中间体标准品 20mg 于 100mL 容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度。

3.2 供试品液的配制

精密称取辛伐他汀中间体 20 mg 于 100mL 容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度。

4 系统适用性试验及含量测定方法

在上述色谱条件下,取标准品溶液进样,所得色谱图 1。结果:辛伐他汀中间体在本色谱条件下能完全分离(与相邻峰间分离度大于 1.5);理论板数按主峰计算为 2500。取供试品溶液 6 份,分别进样,按主峰面积计算,RSD 为 0.47%。

测定法 分别精密量取对照品溶液及供试品溶液 20 μ L 注入液相色谱仪,记录色谱图,按外标法以峰面积计算辛伐他汀中间体含量。

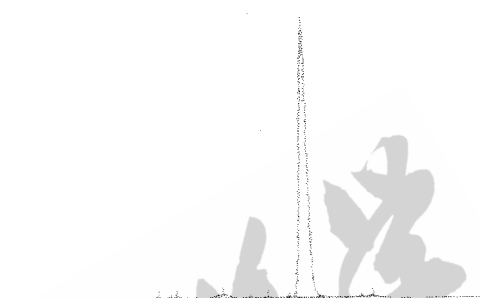


图 1 辛伐他汀中间体 HPLC 检测图谱

5 方法学考查

5.1 重复性试验

按“3.2”操作,平行配制 5 份供试品溶液,分别进样,按主峰面积计算,RSD=1.17,n=5。结果见表 1:

表 1 重复性试验结果

Tab 1 The repeatedly test results

编号	测定结果
1	4208356.3
2	4187256.54
3	4206541.87
4	4309056.25
5	4200325.23
RSD(%)	1.17

5.2 回收率试验

分别精密称取相当于含量测定项下的 80%、100%、120%的辛伐他汀中间体标准品,照含量测定项下的方法处理并测定,对本法的准确性进行考查,结果见表 1。

表 2 回收率试验测定结果

Tab 2 The results of recovery test

模拟浓度范围	加入量	测得量	回收率(%)	平均值(%)	RSD(%)
80%	15.9	15.8	99.37	98.96	0.457
	16.1	15.9	98.76		
	15.8	15.7	99.37		
	20.3	19.9	98.03		
100%	19.5	19.3	98.97	98.96	0.457
	19.6	19.5	99.49		
	24.3	24.0	98.77		
120%	24.1	23.8	98.76		

模拟浓度范围	加入量	测得量	回收率(%平均值(%RSD(%
	23.9	23.7	99.16

5.3 线性关系考查

取对照品约 300mg 于 100mL 容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度。后用水稀释配成浓度分别为 10,20,50,100,200,300,500 mg/mL 一系列不同浓度的溶液,进样 20 μ L,用最小二乘法以峰面积和浓度作标准曲线,得如下回归方程: $A=16461C+886616$ $r=0.9921$ $n=7$

在进样体积为 20 μ L 时,在 10 mg/mL ~500 mg/mL 的浓度范围内,辛伐他汀中间体峰面积呈良好的线性关系。

5.4 溶液的稳定性考查

同一份对照品溶液按 1,2,4,8,12h 分别进样,按主峰面积计算, $RSD=1.4\%$ 。结果见表 3:

表 3 稳定性实验测定结果

Tab 3 The stability test results

时间(h)	测定结果
1	4302532.25
2	4187256.5
4	4207894.2
8	4209231.25
12	4200844.3
RSD(%)	1.09

6 样品测定

分别取三批供试品,按“3.2”操作,在上述色谱条件下进样分析。结果见表 4。

表 4 辛伐他汀中间体含量测定结果($n=3$)

Tab 4 The results of sample determination

批号	HPLC 法
020405	95.13
020412	97.22
020418	96.18

7 结论

本实验建立的方法在检测辛伐他汀中间体的含量时,分离效果好,利于生产和科研的在线控制,具有较高的应用价值。

参考文献

- [1] U. S. 4,293,496 (1981).
- [2] USP24,First Supplement: 992.
- [3] USP24,Second Supplement:1521.

收稿日期:2003-07-14