

HPLC 测定长春西汀注射液的有关物质

刘加元¹, 何胜利^{2*}

(1. 湖北省中山医院药学部中药房, 武汉 430000;
2. 天津药业集团新郑股份有限公司, 河南 新郑 451150)

[摘要] 目的:应用高效液相色谱法测定长春西汀注射液的有关物质。方法:采用 Hypersil ODS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 甲醇-1.75 g·L⁻¹ 碳酸铵溶液-乙酸(80:25:3)为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 273 nm。结果:在选定的色谱条件下, 长春西汀与有关物质分离完全, 最低检测限为 20 ng, 精密度高(RSD 0.52%)。结论:方法简便、准确、专属性好、灵敏度高, 可用于长春西汀注射液的有关物质测定。

[关键词] 长春西汀注射液; 有关物质; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0137-03

Determination of Related Substances in Vinpocetine Injection by HPLC

LIU Jia-yuan¹, HE Sheng-li^{2*}

(1. Hubei Zhongshan Hospital, Wuhan 430000, China;
2. Tianjin Pharmaceutical Group Xinzheng Co. Ltd., Xinzheng 451150, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the related substances of Vinpocetine Injection by HPLC. **Method:** The separation was performed on Hypersil ODS C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of methanol-1.75 g·L⁻¹ ammonium carbonate solution-acetic acid (80:25:3), the flow rate was set at 1.0 mL·min⁻¹ with detection at 273 nm. **Result:** Under the established chromatographic conditions, the related substances and vinpocetine were separated completely. The detective limit was 20 ng. The precision in a day was

[收稿日期] 20120709(014)

[第一作者] 刘加元, 主管药师, 从事医院药学研究, E-mail: liujiayuan_2010@163.com

[通讯作者] * 何胜利, 工程师, 从事药物研究与开发, Tel: 0371-62599489, E-mail: hhjj_000@163.com

- [7] 王四旺, 谢艳华, 王剑波. 中药蒲参胶囊的研究综述 [J]. 中国新医药, 2004, 3(1):64.
- [8] 王捷频, 王剑波, 谢艳华, 等. 中药新药蒲参胶囊对军队高脂血症临床疗效的观察 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(3):715.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 29, 38, 70, 147, 164, 212, 264, 331.
- [10] 关洪月, 李林, 刘晓, 等. 中药指纹图谱相似度计算方法探析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18):282.
- [11] 孙磊, 乔善义, 赵毅民. 中药指纹图谱应用研究进展 [J]. 国际药学研究杂志, 2009, 36(3):194.
- [12] 李伟东, 蔡宝昌, 狄留庆. 通塞脉微丸 HPLC 指纹图谱的研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(3):16.
- [13] 王桂红, 聂华, 胡俊杰, 等. 何首乌 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 湖北中医学院学报, 2010, 12(2):29.
- [14] 詹雪艳, 史新元, 段天璇, 等. 色谱指纹图谱相似性方法的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2):248.
- [15] 高晓霞, 严寒静, 梁从庆. 不同采集地制何首乌薄层色谱指纹图谱研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 13(5):4.
- [16] 林华, 邓广海. 川乌 HPLC 指纹图谱的研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3):73.
- [17] 胥秀英, 郑一敏, 傅善权, 等. 蒲黄高效液相色谱指纹图谱模式识别研究 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8):1891.

[责任编辑 顾雪竹]

good (RSD 0.52%)。 **Conclusion:** The method is simple, accurate, specific and sensitive for the determination Vinpocetine Injection related substances.

[**Key words**] vinpocetine injection; related substance; HPLC

长春西汀为脑循环代谢改善剂,能增加脑血流量并提高葡萄糖的利用率,减少脑血管阻力,用于改善脑梗死、脑出血后遗症、脑动脉硬化症等引发的各种症状^[1-3]。作者采用高效液相色谱法测定,优化了液相条件,建立了长春西汀注射液有关物质的测定方法,可用于长春西汀注射液有关物质的控制。

1 仪器与试剂

LC-10ATVP 型高效液相色谱仪(日本岛津), SPD-10AVP 紫外可见检测器, ANASTAR 色谱数据工作站, 长春西汀对照品(批号 100947-201101, 中国食品药品检定研究院), 长春西汀(原料药, 东北制药集团股份有限公司), 长春西汀注射液(批号 120511, 120512, 120513, 自制), 甲醇(色谱纯, 北京益利精细化学品有限公司), 碳酸胺(分析纯, 上海化学试剂四厂), 乙酸、乙醚(分析纯, 天津市德恩化学试剂有限公司), 水为重蒸馏水。

2 方法与结果^[4-13]

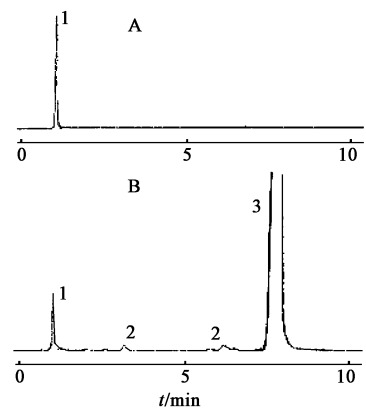
2.1 色谱条件及系统适用性 Hypersil ODS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 甲醇-1.75 g·L⁻¹ 碳酸铵溶液-乙酸(80:25:3)为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 273 nm。理论塔板数按长春西汀峰计算不低于 2 500。长春西汀峰与其他相邻杂质峰之间的分离度应符合要求。

2.2 检测波长的选择 取长春西汀注射液适量, 用流动相稀释后, 用普析通用 TU-1800SPC 型紫外-可见分光光度计, 按紫外分光光度法(《中国药典》2010 年版二部附录 IV A)^[1], 在 200 ~ 400 nm 扫描, 结果在 273 nm 波长处有最大吸收, 故确定检测波长定为 273 nm。

2.3 供试品溶液及预试溶液的制备 精密量取长春西汀注射液适量, 加流动相稀释成每 1 mL 含长春西汀 50 μg 的溶液, 作为供试品溶液; 精密量取长春西汀注射液适量, 加流动相稀释成每 1 mL 含长春西汀 10 μg 的溶液, 作为预试溶液。

2.4 辅料干扰试验 按长春西汀注射液处方制成缺长春西汀的空白辅料溶液, 分别取适量空白辅料溶液和供试品溶液, 注入液相色谱仪, 见图 1。结果表明, 辅料在主药的出峰时间内不出现色谱峰, 不干扰长春西汀注射液有关物质的测定。

2.5 检测限的测定 取空白基线一段, 测量其噪音



A. 空白辅料; B. 供试品;

1. 辅料峰; 2. 主药杂质峰; 3. 主药主峰

图 1 空白溶剂与供试品溶液 HPLC

峰高, 再将供试品溶液稀释成适当浓度, 取 20 μL 注入液相色谱仪, 使其主药峰高为噪音峰高的 3 倍, 以其浓度作为其最低检出浓度, 计算最低检测量, 经检测, 其检测限为 20 ng。

2.6 破坏性试验

2.6.1 破坏实验贮液的制备 精密量取长春西汀注射液 1 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.6.2 破坏前溶液的制备 精密量取破坏试验贮液 5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.6.3 氧化破坏溶液制备 精密量取破坏试验贮液 5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 30% 过氧化氢浓溶液 1 mL, 放置 1 h, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.6.4 酸破坏溶液制备 精密量取破坏试验贮液 5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加入 0.1 mol·L⁻¹ 的盐酸溶液 1 mL, 室温放置 1 h, 用氢氧化钠溶液中和后, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得。

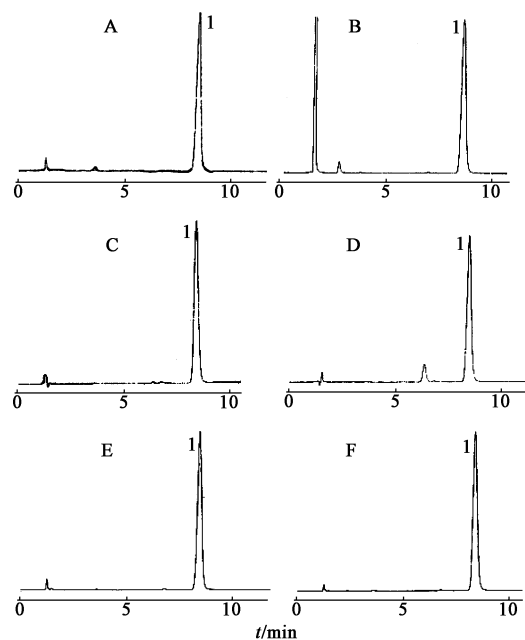
2.6.5 碱破坏溶液制备 精密量取破坏试验贮液 5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加入 0.1 mol·L⁻¹ 的氢氧化钠溶液 1 mL, 室温放置 1 h, 用盐酸溶液中和后, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.6.6 热破坏溶液制备 精密量取破坏试验贮液 5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 置于 100 °C 下加热破坏 2 h, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.6.7 强光破坏溶液制备 取破坏试验贮液适量,

置于4 000 Lx的强光下照射2 h,精密量取5 mL,置10 mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得。

2.6.8 分别取上述破坏溶液各20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱峰见图2,结果表明:长春西汀注射液对热稳定,对强光、对酸较稳定,对碱、氧化不稳定。各降解产物在选定色谱条件下达到良好分离,说明该方法专属性良好。



A. 破坏前;B. 氧化破坏;C. 酸破坏;D. 碱破坏;

E. 热破坏;F. 强光破坏;1. 长春西汀

图2 破坏性试验 HPLC

2.7 稳定性试验 取供试品溶液,室温放置,分别于0,2,4,6,8,12,24 h进样,考察供试品溶液的稳定性,结果表明供试品溶液在室温条件下24 h内稳定,RSD 0.40%。

2.8 精密度试验 取供试品溶液,连续进样6次,考察仪器的精密度,结果表明仪器的精密度良好,RSD 0.52%。

2.9 样品的测定 取预试溶液20 μL ,注入液相色谱仪,调节检测灵敏度,使主成分色谱峰的峰高为满量程的60%~80%;再取供试品溶液20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分色谱峰保留时间的2倍。供试品溶液如显示杂质峰,扣除辅料峰,单个杂质峰面积不得大于总峰面积的0.8%,各杂质峰面积之和不得大于总峰面积的1.5%。经检测,3批长春西汀注射液(批号120511,120512,120513)的有关物质单个杂质峰占总峰面积分别是0.53%,0.52%,0.53%,各杂质峰的和占总峰面积分别是0.76%,0.78%,0.75%。

3 讨论

流动相的选择分别以甲醇-水(50:50)、甲醇-1.75 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 碳酸铵溶液-乙醚(90:20:3)和甲醇-1.75 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 碳酸铵溶液-乙酸(80:25:3)为流动相,结果甲醇-水(50:50)分离效果不好;甲醇-1.75 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 碳酸铵溶液-乙醚(90:20:3)长春西汀与其他色谱峰均不能达到基线分离;甲醇-1.75 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 碳酸铵溶液-乙酸(80:25:3)长春西汀与其他色谱峰均能达到基线分离。故选用甲醇-1.75 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 碳酸铵溶液-乙酸(80:25:3)为流动相。

辅料干扰试验中曾对空白辅料溶液和供试品溶液用紫外分光光度计在200~400 nm扫描,结果空白辅料溶液在273 nm波长处有小的吸收,供试品溶液在273 nm波长处有最大吸收。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:附录23.
- [2] 国家药典委员会. 国家药品标准新药转正标准第56册[S]. 北京:人民卫生出版社,2006:5.
- [3] 国家药典委员会. 国家药品标准新药转正标准第78册[S]. 北京:人民卫生出版社,2006:166.
- [4] 孙熠,耿婷,单鸣秋,等. HPLC测定荆芥内酯的含量和有关物质[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(5):52.
- [5] 张小娟,龚伟,蒋金富,等. RP-HPLC测定长春西汀冻干乳剂的含量及其有关物质[J]. 军事医学科学院院,2010,34(2):143.
- [6] 运晨霞,李可成,王坤,等. 猕猴桃水提物诱导二相酶产生及抗氧化的机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(12):201.
- [7] 于曼娜. HPLC法测定注射用长春西汀苯甲醇的含量[J]. 海峡药学,2008,20(7):74.
- [8] 戚颖. HPLC法测定长春西汀注射液的含量[J]. 适宜诊疗技术,2002,20(6):2.
- [9] 李春来,李伟东,吴育,等. HPLC同时测定白虎汤中4种有效成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(12):78.
- [10] 廖利平,易炳学,林晓生,等. 中药方剂编码规则研究[J]. 中国实验方剂学杂志. 2012,18(12):324.
- [11] 沈寿茂,张艳华,沈连钢,等. 一点红属植物化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(12):308.
- [12] 麻秀萍,蒋朝晖,贾先生,等. HPLC测定齐酞酸钠含量及其有关物质[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):89.
- [13] 张志勇,葛睿,刘恩荔,等. 日本毛连菜降血糖作用的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(12):215.

[责任编辑 顾雪竹]