

加校正因子的主成分自身对照法测定雷贝拉唑钠中杂质过氧化物砒的含量

孙文俊^{1,2}, 阎卉², 王成港^{2*}

(1. 天津中医药大学, 天津 300193;

2. 天津药物研究院 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193)

[摘要] **目的:**建立加校正因子的主成分自身对照法测定雷贝拉唑钠中杂质过氧化物砒的含量。**方法:**采用高效液相色谱法,分别精密测定主成分雷贝拉唑钠和杂质过氧化物砒的线性方程,以斜率计算杂质相对于主成分的校正因子,并用该校正因子测定杂质过氧化物砒的含量。通过方法学验证和与外标法的比较证明此方法的可行性。流动相 0.05 mol·L⁻¹磷酸盐溶液(用 0.05 mol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液调节 0.05 mol·L⁻¹磷酸氢二钠溶液 pH 7.0)-甲醇(40:60);流速 1 mol·min⁻¹;柱温 35 °C;检测波长 290 nm。**结果:**测得过氧化物砒相对于主成分雷贝拉唑钠的相对保留时间为 0.74,校正因子为 0.74,经方法学考察验证该方法符合要求,且与外标法无明显差异。**结论:**用加校正因子的主成分自身对照法测定雷贝拉唑钠中氧化物砒含量的方法可行。

[关键词] 雷贝拉唑钠;过氧化物砒;校正因子;自身对照

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0118-05

Determine of Content of Impurity Rabeprazole Sulfone in Rabeprazole Sodium with Correction Factor and Self Contrast Method

SUN Wen-jun^{1,2}, YAN Hui², WANG Cheng-gang^{2*}

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** The self contrast and correction factor method was established to determinate of rabeprazole sulfone in rabeprazole rodium. **Method:** The slope of linear equation was used to determine the correction factor between rabeprazole sulfone and rabeprazole sodium. And then, by validation of the analytical method and compare the results determined were compared by the external standard method to ensure the HPLC method to determine the content of impurity rabeprazole sulfone in Rabeprazole sulfone meeting the requirement for the intended analytical applications. Mobile phase: 0.05 mol·L⁻¹phosphates solution (0.05 mol·L⁻¹disodium hydrogen phosphate solution is adjusted pH to 7.0 by 0.05 mol·L⁻¹potassium dihydrogen phosphate solution) - methanol (40:60); flow rate: 1 mol·min⁻¹; column temperature 35 °C; wavelengh 290 nm. **Result:** The relative retention time between Rabeprazole sulfone and rabeprazole rodium is 0.74 and the correction factor between rabeprazole sulfone and rabeprazole rodium is 0.74, and there is no apparent statistical difference of the contents of rabeprazole sulfone in rabeprazole Sodium determined by the above two methods. **Conclusion:** The method using the correction factor to determine the content of rabeprazole sulfone in rabeprazole sodium is available.

[收稿日期] 20111101(002)

[第一作者] 孙文俊, 硕士, 从事药物制剂研究, Tel:13602019086, E-mail:tianlan1718@sina.com

[通讯作者] * 王成港, 硕士, 副研究员, 从事药物制剂研究, Tel:022-23006879, E-mail:wcg666@gmail.com

[Key words] rabeprazole sodium; rabeprazole sulfone; the correction factor; self contrast

雷贝拉唑钠(rabeprazole sodium),其化学名称为2-[4-(3-甲氧基丙氧基)-3-甲基吡啶-2-基]甲亚磺酰基-1-氢-苯并咪唑钠盐,属于苯丙咪唑类化合物,是第二代质子泵抑制剂^[1-2],能直接抑制胃酸分泌的最终环节,发挥抑酸作用。临床主要用于治疗消化道溃疡、十二指肠溃疡、胃溃疡、消化不良、上消化道出血、反流性食管炎、胃泌素瘤等疾病^[3]。我国国家药品监督管理局药品标准(试行)对其有关物质采用了不加校正因子的自身对照法,且未规定已知杂质。经过文献检索发现,有日本和美国相关文献提到雷贝拉唑钠原料及其制剂有过氧化物砒(rabeprazole sulfone)杂质^[4],但至今作者未见关于该杂质含量测定的相关文献报道。因此本实验研究采用加校正因子的主成分自身对照法测定过氧化物砒的含量,并且证明此方法与外标法结果一致,故此方法可行,且操作简便快捷,结果准确可靠。

1 材料

1.1 仪器 色谱仪器系统1由LabAlliance Series 1500型高效液相测谱仪、Model 500型紫外检测器、和XTerra RP18(4.6 mm×250 mm, 5 μm)色谱柱组成;色谱仪器系统2由Agilent 1260series型高效液相测谱仪和二极阵列检测器以及Inertsil ODS-3(4.6 mm×250 mm, 5 μm)色谱柱组成。

1.2 试剂 雷贝拉唑钠对照品(珠海润都民彤制药有限公司,批号RS-LAB-20101201,含量99.8%),过氧化物砒对照品(加拿大TRC,货号R070505,含量99.9%),雷贝拉唑钠原料(珠海润都民彤制药有限公司,批号20101201,含量99.5%),色谱纯甲醇(天津市康科德科技有限公司,色谱纯),磷酸二氢钾(天津博迪化工股份有限公司,分析纯),磷酸二氢钠(天津市光复科技发展有限公司,分析纯),氢氧化钠(天津市凯信化学工业有限公司,分析纯)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 流动相0.05 mol·L⁻¹磷酸盐溶液(用0.05 mol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液调节0.05 mol·L⁻¹磷酸氢二钠溶液pH 7.0)-甲醇(40:60),流速1 mol·min⁻¹,柱温35℃,检测波长290 nm,进样量20 μL。

2.2 溶液的配制

2.2.1 混合溶剂 0.05 mol·L⁻¹氢氧化钠溶液-甲醇(2:3)。

2.2.2 雷贝拉唑钠供试溶液 称取雷贝拉唑钠原料适量,用混合溶剂稀释定容,制备成雷贝拉唑钠浓度为1 g·L⁻¹的溶液。

2.2.3 过氧化物砒贮备液 称取过氧化物砒对照品适量,用流动相稀释定容,制备成过氧化物砒浓度为0.1 g·L⁻¹的溶液。

2.3 检测波长的选择 用流动相将雷贝拉唑钠对照品和过氧化物砒对照品分别制成适宜浓度的溶液进行紫外扫描。结果显示,雷贝拉唑钠在290 nm波长附近有最大吸收,过氧化物砒在290 nm有较大吸收,因此选取290 nm作为检测波长。

2.4 系统适应性试验 称取雷贝拉唑钠对照品适量,加入过氧化物砒贮备液适量,加混合溶剂稀释定容,制备雷贝拉唑钠和过氧化物砒质量浓度分别为1 g·L⁻¹和0.01 g·L⁻¹的溶液。取该溶液20 μL注入高效液相测谱仪系统1和系统2,记录图谱。雷贝拉唑钠与过氧化物砒的分离度应大于1.5,按两者峰计,理论塔板数不低于6 000。结果表明,雷贝拉唑钠和过氧化物砒的分离度良好。结果见表1。

表1 系统适应性测定

高效液相系统	分离度	理论塔板数	
		雷贝拉唑钠	过氧化物砒
1	8.92	6 499	6 900
2	7.56	7 293	7 746

2.5 专属性试验 取过氧化物砒贮备液加流动相稀释为质量浓度为0.01 g·L⁻¹的杂质供试溶液,取流动相、过氧化物砒杂质供试溶液和雷贝拉唑钠供试溶液各20 μL注入液相色谱系统2,记录图谱,见图1。结果表明,流动相对雷贝拉唑钠中过氧化物砒的测定没有干扰,雷贝拉唑钠和过氧化物砒能达到基线分离。

2.6 破坏性试验 取雷贝供试品溶液适量(2份),分别置60℃高温下加热约3 h和4 500 Lx光照下照射24 h,取样冷却至室温,分别作为高温降解样品和光降解样品。取雷贝拉唑钠原料约25 mg,置25 mL量瓶中,分别加入0.1 mol·L⁻¹盐酸1 mL,室温下放置3 min后,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为酸降解样品。取雷贝拉唑钠原料约25 mg,置25 mL量瓶中,加入0.1 mol·L⁻¹的氢氧化钠溶液超声溶解并稀释至刻度,摇匀,水浴30 min,摇匀,作为碱降解样品。取雷贝拉唑钠原料约50 mg,置25 mL量瓶中,加水适量,加30%的双氧水50 μL,超声溶解并

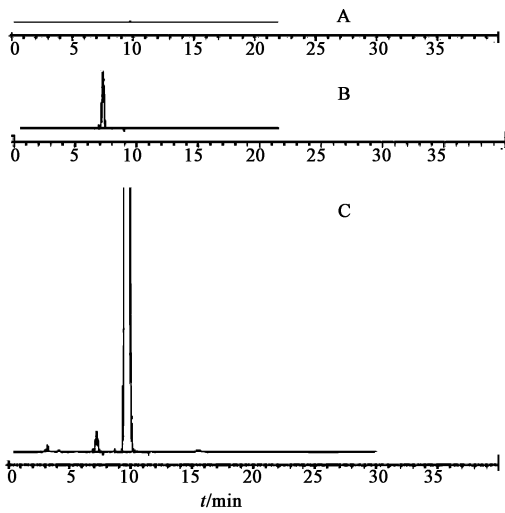


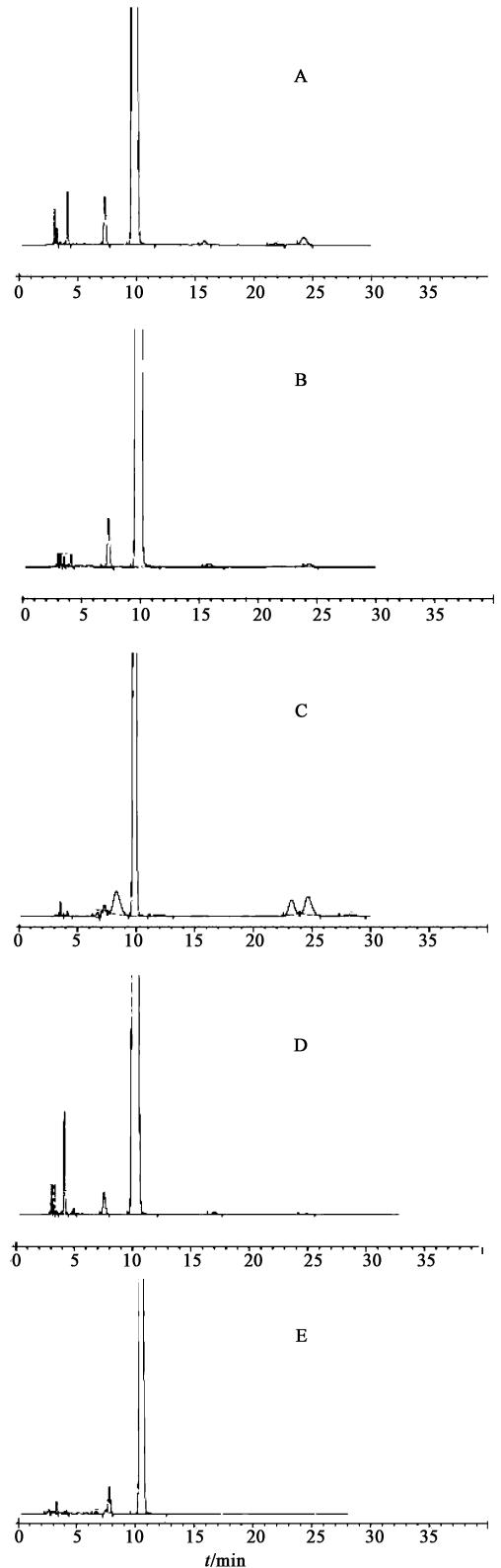
图 1 流动相(A)、过氧化物砷供试溶液(B)和雷贝拉唑钠供试溶液(C)

加水至刻度,摇匀,水浴 40 min。取 5 mL,置 10 mL 量瓶中,加混合溶剂稀释至刻度,摇匀,作为氧化降解样品。将上述降解样品分别照 2.1 项下色谱条件进行试验,记录色谱图。结果显示,各种破坏条件下,雷贝拉唑钠和过氧化物砷及各降解产物之间分离良好^[5]。见图 2。

2.7 线性关系、相对保留时间和校正因子的测定

称取雷贝拉唑钠对照品适量,加流动相稀释定容,制备雷贝拉唑钠浓度为 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液作为线性贮备液。精密量取该溶液适量,加入过氧化物砷贮备液适量,用流动相稀释定容,制备雷贝拉唑钠浓度为 $2, 4, 6, 8, 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以及同时分别含有过氧化物砷浓度为 $2, 4, 6, 8, 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,按 2.1 项下所述色谱条件,精密量取上述溶液 $20 \mu\text{L}$ 注入色谱仪器系统 1 和色谱仪器系统 2,记录雷贝拉唑钠和过氧化物砷的色谱峰面积和保留时间,并以浓度 (C) 为横坐标,峰面积 (A) 为纵坐标做图。计算过氧化物砷相对于雷贝拉唑钠的相对保留时间 (RRT)、回归方程和回归系数 (r) 并以雷贝拉唑钠和过氧化物砷的斜率计算过氧化物砷相对于雷贝拉唑钠的校正因子 (f), $f = (A_{\text{雷贝拉唑钠}} / C_{\text{雷贝拉唑钠}}) / (A_{\text{过氧化物砷}} / C_{\text{过氧化物砷}})$ 。结果表明,雷贝拉唑钠和过氧化物砷的质量浓度分别在 $2 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $2 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 杂质过氧化物砷相对于雷贝拉唑钠的相对保留时间为 0.74,校正因子为 0.74。见表 2。

2.8 精密度试验 取雷贝拉唑钠供试溶液,按 2.1 项下操作,在色谱仪器系统 1 和色谱仪器系统 2 中各连续进样 6 次,考察精密度,测得过氧化物砷峰面积 RSD 分别为 0.13% 和 0.14%,表明该方法精密



A. 高温破坏; B. 光照破坏; C. 酸破坏; D. 碱破坏; E. 氧破坏

图 2 雷贝拉唑钠破坏试验色谱

度良好^[6]。

2.9 重复性试验 取同一批雷贝拉唑钠原料,平行制备 6 份质量浓度为 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的供试溶液,然后取供

表2 相对保留时间及校正因子的测定

系统	化合物	t_R/min	RRT	线性方程	R^2	f
1	雷贝拉唑钠	9.81		$Y = 37\ 425X + 2.79$	0.999 9	
	过氧化物砒	7.31	0.75	$Y = 50\ 605X + 0.87$	0.999 9	0.74
2	雷贝拉唑钠	11.68		$Y = 24\ 993\ 550X - 1306$	0.999 9	
	过氧化物砒	8.53	0.73	$Y = 34\ 081\ 250X - 185.5$	0.999 8	0.73

试溶液适量,分别配制6份浓度为 $0.01\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的自身对照溶液,分别注入色谱仪器系统1和色谱仪器系统2中,采用加校正因子的主成分自身对照法测定过氧化物砒在此两个系统中的含量均值分别为0.52%和0.54%,RSD分别为0.96%和1.04%,表明该测定方法重复性良好。

2.10 加样回收率试验 取雷贝拉唑钠适量,精密称定,分别加入适量杂质过氧化物砒贮备液,以流动相稀释定容,摇匀,配制成过氧化物砒质量浓度分别相当于雷贝拉唑钠供试溶液质量浓度的0.5%,1%,1.5%(即5,10,15 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的混合溶液,每个浓度各配制3份。按2.1项下操作,记录峰面积;精密称取适量雷贝拉唑钠,加流动相溶解并定量稀释制成浓度为 $1\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液,同法操作^[7],结果见表3。

表3 雷贝拉唑钠中过氧化物砒加样回收率试验

过氧化物砒 $/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	加样回收率 /%	平均加样回收率 /%	平均RSD /%
5	100.9	99.8	0.97
	99.1		
	99.4		
10	99.9	100.2	0.26
	100.3		
	100.4		
15	101.1	100.4	0.65
	100.3		
	99.8		

2.11 重复性和稳定性 将同一份雷贝拉唑钠供试品溶液于0,2,3,4,6 h注入色谱仪器系统2,结果RSD 0.85%,雷贝拉唑钠供试溶液在6 h内稳定。

2.12 最小检出限和定量限实验 将一系列浓度的过氧化物砒对照品溶液注入色谱仪器系统2,直至信噪比为3:1,结果过氧化物砒最小检出限为1.2 ng,将一系列浓度的过氧化物砒对照品溶液注入色谱仪器系统1,直至信噪比为10:1,结果过氧化物砒的定量限为6.0 ng。

2.13 样品已知杂质的测定

2.13.1 用加校正因子的主成分自身对照法对已知杂质过氧化物砒的测定结果 精密量取雷贝拉唑钠供试溶液1 mL于100 mL量瓶中,混合溶剂稀释定容,摇匀作为自身对照溶液。按2.1项下操作,取20 μL 对照溶液注入色谱仪器系统2,调节检测灵敏度,使主成分色谱峰的峰高为满屏量程的15%~25%;再精密量取雷贝拉唑钠供试溶液和自身对照溶液各20 μL ,分别注入色谱仪器系统2,记录色谱图至雷贝拉唑钠峰保留时间的3倍。根据过氧化物砒(相对保留时间约为0.74)按校正后的峰面积计算(乘以校正因子0.74)不得大于对照溶液主峰面积的1%^[8],分别得到3份样品中过氧化物砒的平均含量为0.52%($n=3$)。

2.13.2 用外标法对已知杂质过氧化物砒的测定结果 雷贝拉唑钠供试品溶液质量浓度为 $1\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。取过氧化物砒杂质贮备液适量,用流动相稀释成浓度相当于雷贝1%($0.01\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)的杂质对照品溶液。按2.1项下操作,取杂质对照品溶液和供试品溶液各20 μL 分别注入液相色谱仪器系统2,记录色谱图,按外标法,计算过氧化物砒的含量。测得三份样品中过氧化物砒的平均含量为0.51%($n=3$)。结果表明,两种方法对同批次样品过氧化物砒的测定结果基本一致。

2.13.3 面积归一化法 由于峰面积归一化法测定误差大,因此,通常只能用于粗略考察供试品中杂质含量。2010年版药典规定,除另有规定外,一般不宜用于微量杂质的检查。

3 讨论

取雷贝拉唑钠和过氧化物砒进行紫外扫描,结果显示雷贝拉唑钠在290 nm波长附近有最大吸收,过氧化物砒在290 nm出有较大吸收,因此选取290 nm作为检测波长。

建立加校正因子的主成分自身对照法的关键环节在于确定过氧化物砒相对于主成分的相对保留时间和校正因子的准确性,因此校正因子由两个不同色谱仪器系统测定而确定的。结果显示:测得的相对保留时间、校正因子在不同仪器系统有较好的重

HPLC 测定牛膝和决津颗粒中 β -蜕皮甾酮的含量

王洪明¹, 陈炜², 刘冬洁¹, 侯晓虹¹, 梁宁^{1*}

(1. 沈阳药科大学制药工程学院, 沈阳 110016;

2. 沈阳药科大学生命科学院, 沈阳 110016)

[摘要] 目的:建立高效液相色谱法测定牛膝和决津颗粒中 β -蜕皮甾酮的方法。方法:分别采用回流法和超声法提取牛膝和决津颗粒中 β -蜕皮甾酮,并对提取方法进行优化;采用 HPLC 测定 β -蜕皮甾酮的含量, Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μ m) 色谱柱, 乙腈-水(17:83)为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 242 nm, 柱温 30 $^{\circ}$ C。结果:牛膝的最佳提取条件为加入 15 倍量 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h, 决津颗粒的最佳提取条件为以水为溶剂超声提取 30 min; β -蜕皮甾酮的线性范围为 10.37 ~ 103.7 mg·L⁻¹, 回归方程为 $Y = 24\ 867X + 1\ 563$ ($r = 0.999\ 5$), 牛膝和决津颗粒的平均回收率分别为 98.5%, 98.4%, RSD 分别为 1.6%, 1.4% ($n = 9$)。结论:方法准确可行, 重复性好, 可为评价决牛膝和决津颗粒质量提供依据。

[关键词] 牛膝; 决津颗粒; β -蜕皮甾酮; 质量控制; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0122-04

Determination of Ecdysterone in Radix *Achyranthis bidentatae* and Juejin Granula by HPLC

WANG Hong-ming¹, CHEN Wei², LIU Dong-jie¹, HOU Xiao-hong¹, LIANG Ning^{1*}

(1. School of Pharmaceutical Engineering, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;

2. School of Life Science and Biopharmaceutics, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a HPLC method for determining the content of ecdysterone in

[收稿日期] 20111010(007)

[第一作者] 王洪明, 硕士研究生, 从事中药质量标准的研究, Tel:15998330626, E-mail:wanghongming123@163.com

[通讯作者] * 梁宁, 副教授, 博士, 从事中药质量标准的研究, Tel:024-23986458, 13940032938, E-mail:robinln2002@hotmail.com

复性。

通过方法学实验表明加校正因子的主成分自身对照法适用于雷贝拉唑钠中杂质过氧化物砒含量的测定, 本色谱条件下, 不同的仪器系统中雷贝拉唑钠和过氧化物砒均能达到基线分离。

本方法省略了已知杂质对照品, 却能得到使用对照品的效果, 同时又省略了操作步骤, 使之简便、快速、重复性好, 同时可靠程度优于自身对照法和面积归一化法。

[参考文献]

- [1] 李杰. 波力特[J]. 中国新药杂志, 2001, 10(8): 623.
- [2] 杨昭徐. 质子泵抑制剂作用机制的新见解[J]. 中国医药导刊, 2008, 10(2): 165.
- [3] 何解生. 抗溃疡药雷贝拉唑的药理与临床[J]. 实用

药物与临床, 2005, 8(1): 42.

- [4] P Sreenivasa Rao, Uttam Kumar Ray, P Badarinadh Gupta, et al. Identification, isolation and characterization of new impurity in rabeprazole sodium [J]. J Pharm Biom Analysis, 2010, 52(4): 620.
- [5] 裴晓丽, 刘明月, 张小山, 等. HPLC 测定雷贝拉唑钠原料的含量及有关物质[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(8): 631.
- [6] 饶伟源, 兰保强, 李茂, 等. 康乐鼻炎胶囊质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(3): 13.
- [7] 黄鸣清, 谢友良, 王德杭, 等. HPLC 同时测定妇炎康片中芍药苷、丹酚酸 B、小檗碱[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22): 68.
- [8] 中国药典. 二部[S]. 2010: 附录 29.

[责任编辑 蔡仲德]