

高效液相色谱法测定替米沙坦片含量及有关物质

高素英¹, 宋小莉², 韩加怡¹ (1. 浙江省药品检验所, 浙江 杭州 310004; 2. 浙江省邵逸夫医院, 浙江 杭州 310006)

摘要:目的 建立一种高效液相色谱法测定替米沙坦片含量及有关物质的方法。方法 色谱柱为 C_{18} 柱, 流动相为 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸铵溶液(用醋酸调节 $\text{pH} 6.0$)-乙腈(40:60); 检测波长有关物质为 255 nm , 含量测定为 298 nm ; 流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。
结果 替米沙坦在 $50 \sim 250 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内, 峰面积与浓度呈线性关系, $r = 0.9999$, 平均回收率为 100.1% ($\text{RSD} = 0.75\%$, $n = 9$)。
结论 用 HPLC 法测定替米沙坦片含量及有关物质方法简便, 结果准确。

关键词: 替米沙坦; 含量测定; 有关物质; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.01; R972.4 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2004)03-0207-03

Assay and test for related substance of telmisartan tablets by HPLC

GAO Su-ying¹, SONG Xiao-li², HAN Jia-yi¹ (Zhejiang Institute for Drug Control, Hangzhou 310004, China; 2. Zhejiang Sir Run Run Hospital, Hangzhou 310006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE A HPLC methods was established for the determination of telmisartan tablets and its related substances.

METHOD The column: Attach C_{18} column ($150 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$). The mobile phase: $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ammonium acetate (adjusted to $\text{pH} = 6.0$ by acetic acid) - acetonitrile (40:60). The detective wavelength was 255 nm for test of related substances and 298 nm for determination of telmisartan. The flow rate: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. **RESULTS** Standard curve was linear in the range of $50 \sim 250 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ and the correlation coefficient was 0.9999 . The average recovery was 100.1% ($\text{RSD} = 0.75\%$, $n = 9$). **CONCLUSION**

The method is easy to operate and the results of the determination is accurate.

KEY WORDS: telmisartan; determination; related substances; HPLC

替米沙坦片为非肽类血管紧张素 II 受体拮抗剂, 是一长效、高效、低毒的新型抗高血压药^[1], 最早由德国 Boehringer Ingelheim 公司研制开发, 1999 年 3 月分别在美国及德国上市, 于 2002 年 9 月进入中国市场。在该药的研制过程中, 为严格有效地控制该药的质量, 我们研究并建立了 HPLC 法测定其含量及有关物质, 操作简单, 结果准确。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(带自动进样器), 紫外检测器; Shimadzu LC-10AT VP 高效液相色谱仪(带自动进样器), 二极管阵列检测器。

替米沙坦片对照品由 A 公司提供, 片剂批号: 001001, 001002, 001003; 对照品批号: 000925, 含量 99.6% (归一化法); 乙腈为色谱纯, 其余均为分析纯。

2 色谱条件及系统适用性试验

色谱柱: Attima 公司的 Attach C_{18} 柱 ($150 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$,

$5 \mu\text{m}$)。流动相: 乙腈- $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸铵溶液(用醋酸调节 $\text{pH} 6.0$)(60:40); 检测波长: 含量测定为 298 nm , 有关物质为 255 nm ; 流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 进样量: $20 \mu\text{L}$ 。理论板数按替米沙坦峰计算, 应不低于 2000。

3 实验结果

3.1 线性试验

精密称取替米沙坦对照品约 50 mg , 置 100 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 $2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 \text{ mL}$, 分别置 20 mL 的量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 照含量测定项下的方法测定, 用峰面积 Y 对浓度 X 作线性回归后得: $Y = 59918.6x + 53785.2$, $r = 0.9999$, 结果表明, 本品在 $50 \sim 250 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内, 峰面积与浓度呈良好的线性关系。

3.2 精密度试验

取本品一批, 于同 1 日内及不同日内分别测定含量 5

次,得到日内和日间的精密度,结果 RSD 分别为 0.78 % 和 0.58 % (n = 5)。

3.3 回收率试验

精密称取替米沙坦对照品适量,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 64,80,96 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,精密量取 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图;另取替米沙坦对照品,同法测定,计算回收率,结果平均回收

率为 100.1 % (RSD = 0.75 %, n = 9)。

3.4 方法专属性

通过对替米沙坦片主成分及降解产物进行 HPLC 分离检测,结果表明采用 HPLC 法测定替米沙坦片含量及有关物质的方法专属性良好,见图 1。另取辅料适量,按处方配成空白溶液,同法操作,结果未见出峰,说明辅料对含量及有关物质的测定无干扰,见图 1。

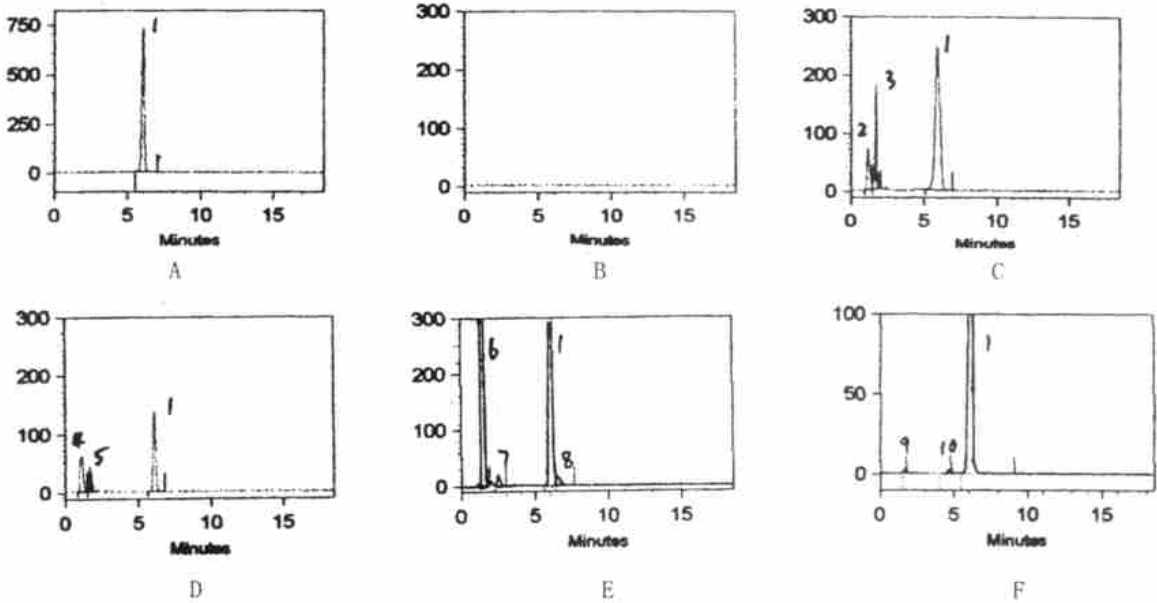


图 1 HPLC 方法专属性考察图谱

Fig 1 The exclusion inspection of HPLC detective method

A. 替米沙坦片样品; B. 辅料; C. 酸加热破坏样品; D. 碱加热破坏样品; E. 强光照射破坏样品; F. 氧化破坏样品; 1. 替米沙坦; 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10. 分解产物

A. sample of telmisartan tablets; B. excipients; C. sample of telmisartan tablets destroyed by acid in water bath; D. sample of telmisartan destroyed by alkali in water bath; E. sample of telmisartan tablets destroyed by strong light; F. sample of telmisartan tablets destroyed by oxidation; 1. telmisartan; 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10. degradation products

3.5 最低检测限

在选定的色谱条件下,按信噪比为 3,替米沙坦的最低检测量为 0.04 μg 。

3.6 替米沙坦片的含量测定

取本品 20 片,精密称定,研细,精密称取适量(相当于替米沙坦 8 mg),置 100 mL 量瓶中,加流动相适量,超声助溶并加流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图;另取经 105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重的替米沙坦对照品,同法测定,按外标法以主峰的峰面积计算含量,结果见表 1。

3.7 替米沙坦片的有关物质测定

取本品适量,加流动相溶解并定量稀释制成每 1 mL 含替米沙坦 0.16 mg 的溶液,滤过,取滤液作为供试品溶液;取供试品溶液 1.5 mL,置 100 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照溶液。取对照溶液 20 μL ,注入液相色谱仪,进行预试,调节仪器灵敏度,使主成分色谱峰的峰高约为满量程的 10 %,再准确量取上述两种溶液各 20 μL ,分别进样,记录色谱图至主成分峰保留时间的 2 倍。供试溶液的色谱图中如杂质峰,量取各杂质峰面积的和,以自身对照法

计算有关物质的量,结果见表 1 及图 2。

表 1 替米沙坦片含量及有关物质测定结果(标示量 %, n = 2)

Tab 1 The results of assay and test for related substance of telmisartan tablets (labelled amount %)

批号	001001	001002	001003
含量	96.1	98.1	98.2
有关物质	0.65	0.70	0.72

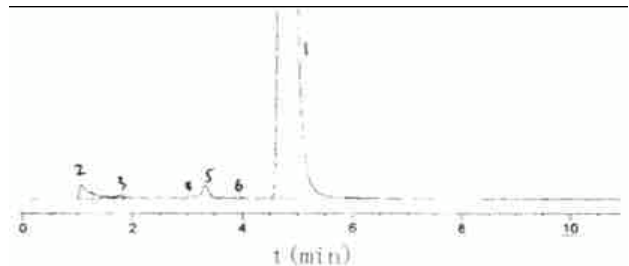


图 2 替米沙坦片有关物质的 HPLC 图

Fig 2 HPLC chromatograms of related substance of telmisartan tablets

1. 替米沙坦; 2, 3, 4, 5, 6. 有关物质

1 .tel misartan ;2 ,3 ,4 ,5 ,6 .related substances

4 讨论

4.1 测定波长的选择

取替米沙坦对照品加流动相溶解制成 $10\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,在 $200\sim 400\text{nm}$ 的波长范围内扫描,结果在 298nm 的波长处有最大吸收,故选用 298nm 为含量测定的波长;另取替米沙坦生产过程中的各中间体,加流动相溶解后,在 $200\sim 400\text{nm}$ 的波长范围内扫描并测定,结果在 255nm 处样品与各中间体的吸收系数较一致,同时,替米沙坦片经酸、碱、氧化、光照破坏后,产生的杂质经用二极管阵列检测器检测后,发现在 255nm 处均有较大吸收,为有效控制原料带入的杂质及生产贮藏中产生的降解产物,故选择 255nm 为有关物质的检测波长。

4.2 流动相的选择

分别用 pH 值为 5.5 、 6.0 和 6.6 的 $0.01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸铵

溶液与不同比例的乙腈混合为流动相,结果当 $0.01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸铵溶液 pH 值为 6.0 时,各中间体及降解产物与主峰能基线分离,故选择乙腈- $0.01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸铵溶液(用醋酸调节 $\text{pH}6.0$)($60:40$)为流动相。

4.3 有关物质检查

替米沙坦片经酸、碱、氧化、光照破坏后,产生的杂质峰均在主峰保留时间的二倍内,并能与主峰基线分离,说明本色谱系统能有效控制其降解产物,并将记录时间定为主峰保留时间的二倍。

参考文献

- [1] 孙忠实.新型 AT-拮抗剂[J].中国新药杂志,1999,8(12): 801.
- [2] 中国药典[S].2000年版.

收稿日期:2003-03-13