

# RP-HPLC法测定盐酸卡替洛尔口腔崩解片主药及有关物质的含量<sup>Δ</sup>

聂延君\*, 罗永煌#, 刘艳玲, 田朋鑫(西南大学药学院, 重庆 400715)

中图分类号 R927.2;R972\*.3 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2012)09-0829-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2012.09.21

**摘要** 目的:建立测定盐酸卡替洛尔口腔崩解片主药和有关物质含量的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Ultimate XB C<sub>18</sub>,以0.17%的Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>溶液(1 mol·L<sup>-1</sup>的H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>调节pH至3.0±0.05)-乙腈(85:15)为流动相,流速为1 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长为251 nm,柱温为30 ℃。结果:盐酸卡替洛尔与有关物质及破坏后的降解成分可完全分离;盐酸卡替洛尔检测浓度线性范围为1.25~40.0 μg·mL<sup>-1</sup>(*r*=0.999 8);低、中、高3种浓度的回收率(*n*=3)分别为101.4%(RSD=0.12%)、101.3%(RSD=0.07%)、101.4%(RSD=0.03%);最低检测限为6.3 ng,最低定量限为20.8 ng。结论:该方法操作简便、快速准确、专属性强、灵敏度高,可用于盐酸卡替洛尔口腔崩解片主药及其有关物质的含量测定。

**关键词** 盐酸卡替洛尔;口腔崩解片;含量;有关物质;反相高效液相色谱法

## Content Determination of Main Component and Related Substances in Carteolol Hydrochloride Oral Disintegrating Tablets by RP-HPLC

NIE Yan-jun, LUO Yong-huang, LIU Yan-ling, TIAN Peng-xin (College of Pharmacy, Southwest University, Chongqing 400715, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for content determination of main component and related substances in Carteolol hydrochloride oral disintegrating tablets. METHODS: RP-HPLC method was adopted. The separation was performed on a Ultimate XB C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of 0.17% dibasic sodium phosphate (pH value adjusted to 3.0±0.05 with 1 mol·L<sup>-1</sup> phosphoric acid)-acetonitrile (85:15) at the flow rate of 1 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was 251 nm and the column temperature was 30 ℃. RESULTS: Related substances and degraded substances were completely separated from carteolol hydrochloride. The linear range of carteolol hydrochloride was 1.25~40 μg·mL<sup>-1</sup> (*r*=0.999 8). The average recoveries of low, middle and high concentration were 101.4% (RSD=0.12%), 101.3% (RSD=0.07%) and 101.4% (RSD=0.03%) (*n*=3). The LOD was 6.3 ng and LOQ was 20.8 ng. CONCLUSION: The method is simple, rapid, accurate, specific and sensitive, and it is suitable for the content determination of main component and related substances in Carteolol hydrochloride oral disintegrating tablets.

**KEY WORDS** Carteolol hydrochloride; Oral disintegrating tablets; Content; Related substances; RP-HPLC

盐酸卡替洛尔(Carteolol hydrochloride, CH)是一种具有内在拟交感活性的β受体阻滞药,可用于心脏神经症(Cardiac neurosis)、小儿法洛四联症(Congenital fetralogy of fallot)、高血压、心律失常、心绞痛、心肌梗死等的治疗<sup>[1,2]</sup>。CH最早由日本大冢制药株式会社于1972年研制成功,1991年收载于日本第十二版药局方<sup>[3]</sup>,剂型有片剂、颗粒剂、滴眼剂和缓释胶囊剂等。《中国药典》从2000年版(二部)开始收载CH(原料药)及其滴眼液,国内目前仅有其滴眼剂上市。

本课题组与重庆市北碚现代应用药物研究所紧密合作,在深入研究心脏神经症的基础上,研制开发了CH的口腔崩解片,已申请发明专利<sup>[4]</sup>。本文参照《美国药典》CH普通片含量测定方法进行试验,发现主峰保留时间短,与杂质的分离度低,且峰拖尾、柱效低、理论板数不足3 000,因此,对流动相Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>的浓度和pH值以及其与乙腈的比例进行了优化调整,最终建立了测定CH口腔崩解片(HT)主药及有关物质含

量的反相高效液相色谱(RP-HPLC)法。

### 1 仪器与试剂

HPLC仪,包括二极管阵列检测器、LC-20AD泵、LC solution液相色谱工作站、色谱柱VP-ODS C<sub>18</sub>(150 mm×4.6 mm, 5 μm)均为日本岛津公司产品;色谱柱Hypersil BDS C<sub>18</sub>(大连依利特分析仪器有限公司, 250 mm×4.6 mm, 5 μm);Ultimate XB C<sub>18</sub>(南京利尔实验仪器设备有限公司, 250 mm×4.6 mm, 5 μm);PHS-3C型酸度计(上海虹益仪器仪表有限公司);药品强光照射实验箱(重庆市永兴实验仪器厂)。

CH对照品(重庆市北碚现代应用药物研究所,批号:100801,纯度:99.86%);CHT(自制,批号:101027、101029、101031,规格:每片5 mg);乙腈为色谱纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱:Ultimate XB C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.17%的Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>溶液(以1 mol·L<sup>-1</sup>的H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>调节pH至3.0±0.05)-乙腈=85:15,流速:1 mL·min<sup>-1</sup>;检测波长:251 nm;柱温:30 ℃;进样量:20 μL。

#### 2.2 溶液制备

2.2.1 供试品与对照品溶液的制备。取至少20片CHT,研细,

Δ 重庆市科技计划项目(CSTC, 2009CB1010)

\* 硕士研究生。研究方向:药物分析与药剂学。E-mail:nieyanjun1116@163.com

# 通讯作者:教授,硕士研究生导师。研究方向:新药研发。电话:023-68251225。E-mail:luoyonghuang@sohu.com

精密称定约相当于10 mg CH的粉末,加50 mL的流动相溶解,转入100 mL量瓶中,机械振摇1 h,再以流动相定容至刻度,摇匀,过滤;精密量取续滤液10 mL,置于100 mL量瓶中,用流动相定容至刻度,摇匀,即得供试品溶液。另取CH对照品适量,加流动相溶解并制成每1 mL中含10  $\mu\text{g}$ 的溶液,作为对照品溶液。

2.2.2 有关物质溶液的制备。精密称取“2.2.1”项下粉末适量(约相当于CH 25 mg),流动相溶解并定容至50 mL,过滤,续滤液作为供试液;精密量取1 mL供试液置于100 mL量瓶中,加流动相定容至刻度,摇匀,作为对照液。

2.2.3 辅料溶液制备。按处方比例取不含CH的辅料,按“2.2.2”项下制备供试液的方法制备辅料溶液。

### 2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下的5种溶液各适量,在“2.1”色谱条件下进样测定。结果显示,主峰峰形对称、尖锐,拖尾因子符合要求,主峰与辅料峰、杂质峰及溶剂峰能很好地分离,分离度大于1.5,理论板数按CH峰计算不低于3 000,色谱见图1、图2。

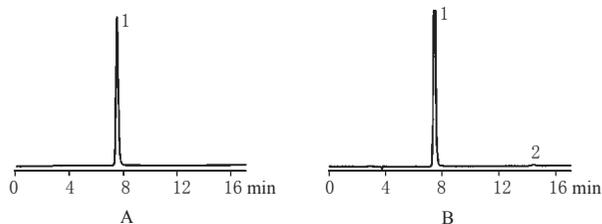


图1 CHT含量测定高效液相色谱图  
A.CH对照品;B.供试品;1.CH;2.辅料

Fig 1 HPLC chromatograms of content determination of Carteolol hydrochloride oral disintegrating tablets

A. carteolol hydrochloride control; B. test sample; 1. CH; 2. excipients

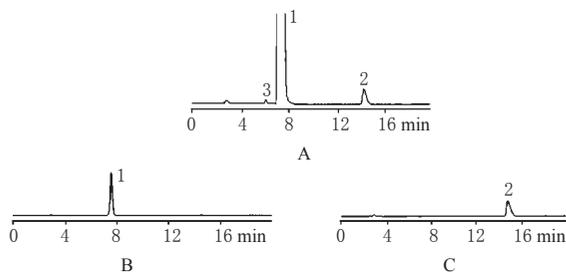


图2 CHT有关物质检查高效液相色谱图

A.供试液;B.对照液;C.辅料;1.CH;2.辅料;3.有关物质

Fig 2 HPLC chromatograms of content determination of related substances of Carteolol hydrochloride oral disintegrating tablets

A. test sample; B. control solution; C. blank excipients; 1. CH; 2. excipients; 3. related substance

### 2.4 专属性试验

精密量取“2.2.2”项下供试液5 mL置于25 mL量瓶中,制备4份,分别进行以下操作:加入1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH溶液,于100 °C水浴加热2 h;加入1 mol·L<sup>-1</sup>的HCl溶液,于100 °C水浴加热6 h;加入3%的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>溶液,于100 °C水浴加热10 min;室温放置。上述4种溶液分别作为碱破坏、酸破坏、氧化破坏和未破坏样品。另精密量取“2.2.3”项下辅料溶液5 mL置于25 mL量瓶中,制备4份,同法处理。处理完毕后,分别从中各精密量取2 mL至10 mL量瓶中,用流动相定容至刻度,摇匀,过滤待测。另取“2.2.1”和“2.2.3”项下供试品和辅料粉末适量,置于

(4 500 ± 500) lx下强光照射10 d,10 d后取出制备成5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 光破坏样品溶液。取上述10种样品溶液,照“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱图,见图3。

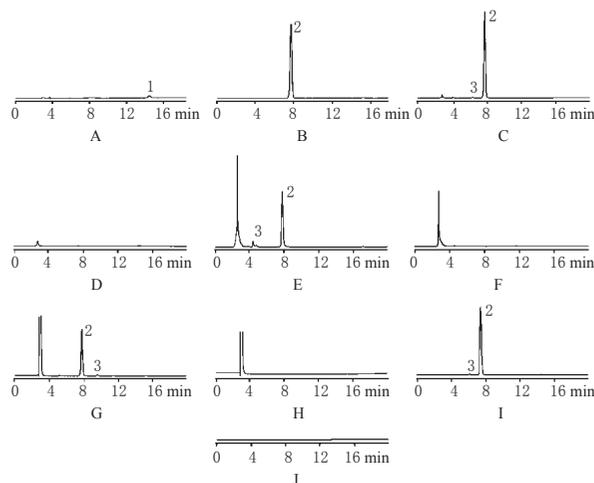


图3 CHT专属性试验高效液相色谱图

A.未破坏辅料;B.未破坏样品;C.酸破坏样品;D.酸破坏辅料;E.碱破坏样品;F.碱破坏辅料;G.氧化破坏样品;H.氧化破坏辅料;I.光照破坏样品;J.光照破坏辅料;1.辅料;2.CH;3.有关物质

Fig 3 HPLC chromatograms of specificity test of Carteolol hydrochloride oral disintegrating tablets

A. blank excipients not destroyed; B. sample not destroyed; C. sample destroyed by acid; D. excipients destroyed by acid; E. sample destroyed by alkali; F. excipients destroyed by alkali; G. sample destroyed by oxidation; H. excipients destroyed by oxidation; I. sample destroyed by light radiation; J. excipients destroyed by light radiation; 1. excipients; 2. CH; 3. related substance

由图3可见,CH在碱及氧化条件下不稳定,产生少量杂质;在酸和光照条件下比较稳定,几乎不发生降解。其中在酸条件下经计算仅降解了1.5%,将另一酸破坏样品置于80 °C水浴24 h,降解率也仅为1.8%,表明本品在酸条件下非常稳定。各降解产物与主成分峰均能达到良好分离。

### 2.5 标准曲线的制备

精密称取CH对照品适量,按“2.2.1”项下方法制备1.25、2.5、5.0、10.0、20.0、40.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  6个不同浓度的对照品溶液,进样。以浓度( $x, \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )为横坐标,以峰面积( $y$ )为纵坐标进行线性回归,得线性回归方程为: $y=33\ 419x+4\ 040.5$  ( $r=0.999\ 8$ )。结果表明,CH检测浓度的线性范围为1.25~40.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

精密称取CHT粉末适量,制备1.25、2.5、5.0、10.0、20.0、40.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  6个不同浓度的对照液,进样。同法得线性回归方程为: $y=33\ 618x+3\ 662.7$  ( $r=1.000$ )。结果表明,有关物质对照液检测浓度的线性范围为1.25~40.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

### 2.6 日内精密度的试验

按“2.2.1”方法制备10  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液,滤过,分别在下午和晚上由不同的分析人员连续进样6次,结果日内RSD=0.5% ( $n=12$ )。

### 2.7 重复性试验

取同一批CHT,按“2.2.1”项下方法制备6份供试品溶液,进样测定,结果,含量的RSD=0.54%,表明本方法重复性良好。

## 2.8 稳定性试验

取“2.2.1”项下供试品溶液,室温放置,分别于0、0.5、1、2、4、6、8 h进样测定,计算。结果,含量的RSD=0.16%,表明供试品溶液在室温下8 h内稳定。

## 2.9 回收率试验

取“2.2.2”项下供试液,从中精密量取0.8、1.0、1.2 mL,置于3个50 mL的量瓶中,以“2.2.3”项下制备的辅料溶液稀释、定容至刻度,滤过,进样,测定含量,计算回收率,结果低、中、高浓度的平均回收率分别为101.4%(RSD=0.12%)、101.3%(RSD=0.07%)、101.4%(RSD=0.03%),详见表1。

表1 回收率试验结果

Tab 1 Results of recovery tests

加入量 / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	测得值 / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
8.0	8.12	101.5		
8.0	8.11	101.4		
8.0	8.10	101.3		
10.0	10.14	101.4	101.37	0.07
10.0	10.14	101.4		
10.0	10.14	101.4		
12.0	12.16	101.3		
12.0	12.16	101.3		
12.0	12.15	101.3		

## 2.10 最低检测限和最低定量限测定

取“2.2.1”项下对照品溶液,加流动相不断稀释,记录峰面积,在信噪比(S/N)为3:1时测得最低检测限为6.3 ng,在信噪比(S/N)为10:1时测得最低定量限为20.8 ng。

## 2.11 系统耐用性试验

取“2.2.1”项下对照品溶液,在“2.1”色谱条件下改变流速,分别在0.8、1.0、1.2 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>时进样,各色谱峰的保留时间稍有位移,但峰形仍良好,分离度符合要求。选用3种色谱柱(VP-ODS C<sub>18</sub>、Hypersil BDS C<sub>18</sub>、Ultimate XB C<sub>18</sub>)进行系统适用性试验,结果,主峰峰形、理论板数、分离度均能达到要求,结果见表2。

表2 耐用性试验

Tab 2 Results of durability test

流速/mL $\cdot$ min <sup>-1</sup>	保留时间/min	峰面积	RSD/%
0.8	8.800	403 862	0.12
	8.793	404 109	
	8.782	403 021	
	8.773	404 346	
	8.810	403 879	
1.0	8.753	403 351	0.06
	7.127	325 355	
	7.124	325 464	
	7.128	325 336	
	7.118	325 299	
	7.145	325 363	
1.2	7.121	324 886	0.05
	5.940	271 854	
	5.931	271 946	
	5.937	271 616	
	5.929	271 633	
5.948	271 865		
5.963	271 814		

## 2.12 样品中主药含量测定

取3批CHT各若干片,照“2.2.1”项下方法制备供试品、对照品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样,按外标法以峰面积计算样品中主药的含量。结果,3批样品主药含量在99.33%~102.00%之间,符合要求,详见表3。

表3 CHT中主药与有关物质含量测定结果( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Tab 3 Results of content determination of main component and related substance in Carteolol hydrochloride oral disintegrating tablets( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

批号	主药含量/%	有关物质含量/%
101027	102.00 $\pm$ 1.22	0.09 $\pm$ 0.22
101029	101.24 $\pm$ 1.05	0.09 $\pm$ 0.21
101031	99.33 $\pm$ 1.04	0.10 $\pm$ 0.64

## 2.13 样品中有关物质含量检查

取3批CHT各若干片,照“2.2.2”项下制备供试、对照液,取对照液过0.45  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜,取续滤液20  $\mu\text{L}$ 进样,调节仪器灵敏度,使主成分峰高为满量程的20%;另取供试液的续滤液20  $\mu\text{L}$ 进样,记录色谱图至主成分峰保留时间的2倍以上。如有杂质峰,量取除溶剂峰和辅料峰以外的各杂质峰面积之和,并与对照液主成分峰面积比较,以不加校正因子的自身对照法计算杂质含量。结果,3批样品的有关物质含量均低于0.15%,符合要求,结果见表3。

## 3 讨论

### 3.1 检测波长的选择

利用二极管阵列检测器对CH对照品溶液扫描,结果在215、251 nm波长处均有最大吸收;对破坏性试验(酸、碱、氧化、光照等)后的样品溶液扫描,其最大吸收波长也多在251 nm波长处。另外,由于215 nm波长接近末端吸收,基线不易平衡。根据各主要杂质及主成分的紫外吸收特性,选取响应值基本一致的251 nm作为本品含量和有关物质的检测波长。

### 3.2 流动相的选择

《美国药典》记载的CH片的含量测定,其流动相为0.07%的Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(pH6.0)-乙腈(75:25)<sup>[5]</sup>。笔者自制的CHT,在此流动相下保留时间仅为3.8 min,且峰拖尾、柱效低、理论板数低于2 000。本文将Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>的浓度增加到0.17%时,柱效提高,理论板数在6 000左右;其pH值从原来的6.0调节至3.0时,峰形最好;将磷酸盐溶液与乙腈的比例从75:25调整为85:15,主峰的保留时间由3.8 min变为7.7 min,此时主峰与溶剂及有关物质峰能完全分离。

## 参考文献

- [1] Nagashima M, Akiko O, Sanity M, et al. The clinical trials of  $\beta$ -blocker agent carteolol in the field of pediatrics [J]. *Clin Pediatr*, 1983, 36(2): 415.
- [2] 刘慧. 新受体阻断剂-盐酸卡替洛尔的研究进展[J]. *天津药学*, 1992, 11(1): 15.
- [3] 盐酸卡替洛尔片. JAPIC 药品说明书[EB/OL]. [http://www.genome.jp/kusuri/japic\\_med/show/0052337](http://www.genome.jp/kusuri/japic_med/show/0052337). 2011-06-09.
- [4] 罗永煌, 聂延君, 乔彦茹, 等. 盐酸卡替洛尔口腔崩解片及其制备方法[P]. CN: 101690720, 2010-04-07.
- [5] The United States Pharmacopoeial Convention. *USA Pharmacopoeia (USP32-NF27)*. *Carteolol Hydrochloride Tablets*[EB/OL]. [http://www.drugfuture.com/Pharmacopoeia/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0\\_m13670.html](http://www.drugfuture.com/Pharmacopoeia/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_m13670.html). 2009-05-01. 2011-03-26.

(收稿日期:2011-03-29 修回日期:2011-06-10)