

HPLC测定盐酸四氢唑啉滴眼液的含量及其有关物质

税庆华¹, 韩保萍¹, 王玉玲¹, 张世磊¹, 于盛茂² (1. 山东博士伦福瑞达制药有限公司, 济南 250014; 2. 山东省生物药物研究院, 济南 250014)

摘要: 目的 建立 HPLC测定盐酸四氢唑啉滴眼液含量的方法。方法 采用 Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱; 以甲醇-醋酸盐缓冲液 (40: 60) 为流动相, 检测波长为 235 nm。结果 盐酸四氢唑啉质量浓度在 9.94~497.0 mg·L⁻¹ 内与峰面积呈良好线性关系 ($r=0.9999$); 最低检测限为 0.22 ng 平均回收率为 99.86%, RSD 为 0.23%。结论 本方法灵敏度高, 方法操作简便, 可满足本品含量及有关物质的测定。

关键词: 盐酸四氢唑啉滴眼液; 含量测定; 有关物质; 高效液相色谱法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1001-2494 (2008) 19-1513-03

Determination of Tetrahydrozoline Hydrochloride and Its Related Substances in Eye Drops By HPLC

SHUI Qing-hua¹, HAN Bao-ping¹, WANG Yu-ling¹, ZHANG Shi-lei¹, YU Sheng-mao² (1. Shandong Bausch & Lomb Freda Pharmaceuticals Co., Ltd., Jinan 250014 China; 2. Institute of Biopharmaceuticals of Shandong Province, Jinan 250014 China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a HPLC method for determining the content of tetrahydrozoline hydrochloride and its related substances in eye drops. **METHODS** A diamonsil C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was used with a mobile phase of methanol acetate buffer (40: 60). The detection was carried out at 235 nm. **RESULTS** The determination limit was 0.22 ng. The standard curve was linear in the range of 9.94-497.0 mg·L⁻¹ ($r=0.9999$). The average recovery was 99.86% and RSD was 0.23%. **CONCLUSION** The method established is successfully used to determine tetrahydrozoline hydrochloride and its related substances in eye drops.

KEY WORDS tetrahydrozoline hydrochloride eye drops assay related substances HPLC

盐酸四氢唑啉为异吡唑素 (imidazoline) 衍生物类 α 受体激动剂, 作用于 H₂ 受体及 α 受体, 具有 α 拟交感神经作用。盐酸四氢唑啉滴眼液主要用于解除由轻度刺激引起的眼红。暂时缓解眼干引起的眼灼热感和轻度刺激引起的不适以及暴露在风或日光下引起的不适^[1]。盐酸四氢唑啉滴眼液已在国外多个国家上市, 但国内目前尚未有上市品种。盐酸四氢唑啉滴眼液为单方制剂, 主成分为盐酸四氢唑啉, 规格: 每 5 mL 含 2.5 mg。本实验建立了 RP-HPLC 测定盐酸四氢唑啉滴眼液含量^[2-3]及有关物质的测定方法, 该方法简便、专属性强、结果准确。

1 材料

HP1100 高效液相色谱仪, 四元泵, DAD 二极管阵列检测器 (美国惠普公司)。

盐酸四氢唑啉对照品 (含量: 99.9%) 和盐酸四氢唑啉滴眼液 (批号 20000905、20000906、20000907) 均由山东博士伦福瑞达制药有限公司提

供。甲醇为色谱纯, 其他试剂为分析纯, 水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

取经 105 °C 干燥至恒重的盐酸四氢唑啉对照品适量, 加水溶解并稀释制成每 1 mL 中含 200 μg 的溶液作为对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

取本品适量, 加水稀释制成每 1 mL 中含 200 μg 的溶液作为供试品溶液。

2.3 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 不锈钢填充柱。流动相: 甲醇-醋酸盐缓冲液 (取无水醋酸钠 1.36 g 加水适量溶解; 加冰醋酸 33.0 mL 及三乙胺 20.0 mL, 用水稀释至 1 000 mL, 摇匀, 即得) (40: 60); 检测波长: 235 nm; 柱温: 35 °C; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 进样量: 20 μL。理论板数按盐酸四氢唑啉应不低于 2 000。对

作者简介: 税庆华, 女, 副主任药师 Tel: (0531) 88937780-1521 E-mail: shu2000@126.com

有条件性破坏的供试品 (高温 80 ℃, 3 d)、(紫外照射 5 h)、(酸调 pH 为 2 加热水解 4 h)、(碱调 pH 为 13 加热水解 2 h)、(H₂O₂破坏, 加热水解), 其主峰与杂质可获得基线的分离。流动相及空白辅料溶液不干扰测定, 见图 1。盐酸四氢唑啉对照品、未经破坏样品及高温破坏、强光破坏、酸破坏、碱破坏、氧化破坏后测定的 HPLC 图谱见图 2~ 8。

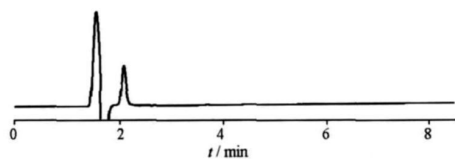


图1 空白辅料溶液色谱图

Fig. 1 Chromatogram of blank solution

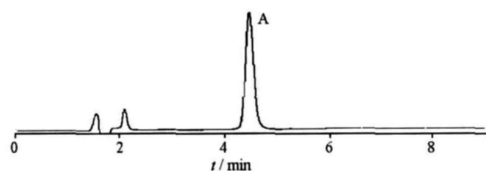


图2 对照品色谱图

A - 四氢唑啉

Fig. 2 Chromatogram of reference

A - tetrahydrozoline

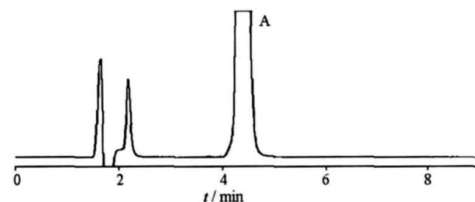


图3 未经破坏的供试品色谱图

A - 四氢唑啉

Fig. 3 Chromatogram of eye drops

A - tetrahydrozoline

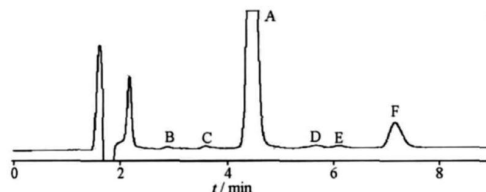


图4 高温破坏样品色谱图

A - 四氢唑啉; B ~ F - 降解产物

Fig. 4 Chromatogram of sample destroyed by high temperature

A - tetrahydrozoline; B ~ F - degradation products

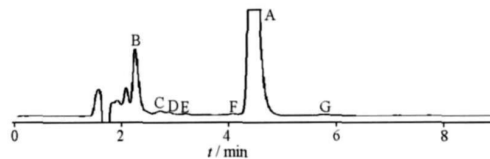


图5 强光破坏样品色谱图

A - 四氢唑啉; B ~ G - 降解产物

Fig. 5 Chromatogram of sample destroyed by intense light

A - tetrahydrozoline; B ~ G - degradation products

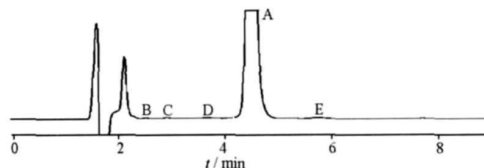


图6 酸破坏样品色谱图

A - 四氢唑啉; B ~ E - 降解产物

Fig. 6 Chromatogram of sample destroyed by acid

A - tetrahydrozoline; B ~ E - degradation products

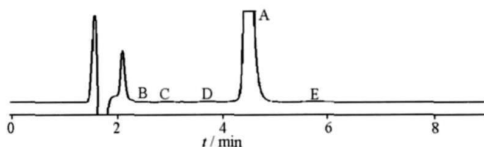


图7 碱破坏样品色谱图

A - 四氢唑啉; B ~ E - 降解产物

Fig. 7 Chromatogram of sample destroyed by alkali

A - tetrahydrozoline; B ~ E - degradation products

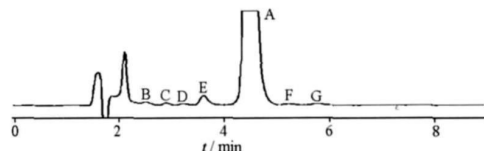


图8 氧化破坏样品色谱图

A - 四氢唑啉; B ~ G - 降解产物

Fig. 8 Chromatogram of sample destroyed by oxidation

A - tetrahydrozoline; B ~ G - degradation products

每 1 mL 中含 9.94 49.7 99.4 198.8 497.0 μg 的溶液, 照“2.3”项下的色谱条件测定, 以峰面积 Y 对质量浓度 ρ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 作回归分析, 得线性回归方程为 $Y = 12.445\rho + 6.214$, $r = 0.999\ 99$ ($n = 5$), 表明盐酸四氢唑啉在 9.94 ~ 497.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的质量浓度内与峰面积线性关系良好。经测定盐酸四氢唑啉的检测限为 0.22 ng。

2.4 精密度实验

取线性关系实验项下的 4 号溶液, 连续进样 6 次, 记录色谱图及峰面积, 结果 RSD 为 0.24%,

取盐酸四氢唑啉对照品, 加水溶解并稀释制成

表明该色谱条件精密密度较好。

2.5 稳定性实验

取“2.2”项下的供试品溶液,分别于配制后0、1、2、4、8、24 h测定,记录色谱图及峰面积,结果峰面积没有明显变化,峰面积的RSD为0.72%,表明供试品溶液配制后24 h内稳定。

2.6 重现性实验

取同1批滴眼液,按“2.2”项下的方法制备6份供试品溶液,照“2.3”项下的色谱条件测定,记录色谱图及峰面积,结果峰面积的RSD为0.50%。

2.7 回收率实验

依据本品处方,按处方量的80%、100%、120%分别称取盐酸四氢唑啉对照品8.0、10.0、12.0 mg(各3份)置50 mL量瓶中,用空白辅料溶液溶解并稀释至刻度得160、200、240 mg·L⁻¹的供试品溶液,取供试品溶液和“2.1”项下的对照品溶液各20 μL,照“2.3”项下的色谱条件测定,记录色谱图及峰面积,以外标法计算,平均回收率为99.86%,RSD为0.23%(n=9)。

2.8 含量测定

取3批样品,按“2.2”项下的方法制备供试品溶液,取供试品溶液和“2.1”项下的对照品溶液各20 μL,照“2.3”项下的色谱条件测定,外标法计算各样品的含量。3批样品含量分别为:20000905批:100.4%,20000906批:100.6%,20000907批:100.7%。

2.9 有关物质测定

取本品原液作为供试品溶液。另取本品适量,加水稀释制成每1 mL中含5 μg的溶液,作为对照溶液。分别取供试品溶液和对照溶液各20 μL,照“2.3”项下的色谱条件测定,记录色谱图至主成分峰保留时间的2倍以上。供试品溶液的色谱图中如有杂质峰,量取各杂质峰面积的总和,用自身对照法计算杂质含量。3批样品杂质含量为:

20000905 批: 0.51%, 20000906 批: 0.52%,
20000907批: 0.52%。

3 讨 论

由本色谱条件下的系统适用性和专属性实验表明,本法可满足盐酸四氢唑啉滴眼液含量及有关物质的测定。

由DAD二极管阵列检测器于200~400 nm内绘制的紫外光谱图显示,盐酸四氢唑啉对照品及供试品均在235 nm处有较强的紫外吸收,且噪音小,HPLC显示峰面积较高,效果较为理想,因此确定检测波长为235 nm。

对有条件性破坏供试品(高温、光照、强酸、强碱、氧化),其主峰与杂质峰可获得基线的分离,各破坏样品项下的分离度均大于1.5,符合《中国药典》(2005年版二部)对分离度的要求。

美国药典(30版)系采用紫外法检测本品含量,该方法需经生色、过滤、有机溶剂提取等多个步骤,过程繁复^[4],操作不便;同时有资料报道^[2],杂质\ [N-(2-乙氨基)-1,2,3,4-四氢-1-萘甲酰胺\]可干扰紫外测定,鉴于上述,我们采用HPLC测定其含量及有关物质,经对其的方法学研究表明,该方法可满足本品的含量和有关物质测定,且该方法具有操作简便,专属性强,灵敏度高,结果准确等优点。

REFERENCES

- [1] JIMMY D. Ophthalmic Drug Facts(M). USA: Wolters Kluwer business 2006 65-66.
- [2] ALTUNTAST G, KORKMAZ F, NEBIOGLU D. Determination of tetrahydrozoline hydrochloride and fluorometholone in pharmaceutical formulations by HPLC and derivative UV spectrophotometry[J]. *Pharmazie*, 2000 55(1): 49-52.
- [3] BAUER J, KROGH S. High-performance liquid chromatographic stability-indicating assay for naphazoline and tetrahydrozoline in ophthalmic preparations[J]. *J Pharm Sci*, 1983, 72(11): 1347-1349.
- [4] USP 30(NF25) [S]. 2007 3316.

(收稿日期: 2007-12-18)

关于收取稿件处理费的通知

本刊来稿收取稿件处理费,每篇50元,请作者在寄发稿件的同时将处理费通过邮局寄汇本刊(请勿在稿件中夹带现金),收款地址:北京市朝阳区建外大街四号建外SOHO九号楼1803室 中国药学会,邮编:100022。汇款单上请注明论文题目及第一作者姓名。

[本刊讯]