

HPLC法测定盐酸西那卡塞片含量

赵玲^{1*}, 赵春才^{2#}, 陆超³, 刘艳艳²(1. 武汉轻工大学生物与制药工程学院, 武汉 430023; 2. 南京佳核鑫医药科技有限公司, 南京 210018; 3. 苏州卡耐博生物技术有限公司, 江苏 张家港 215600)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)13-1216-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.13.22

摘要 目的: 建立测定盐酸西那卡塞片含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Phenomenex C₁₈, 流动相为三乙胺水溶液(pH 8.0)-甲醇(15:85), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 272 nm, 柱温为 25 ℃, 进样量为 20 μl。结果: 盐酸西那卡塞检测质量浓度线性范围为 39.82~358.3 μg/ml($r=0.999\ 9$); 平均回收率为 99.54% (RSD=0.49%, $n=3$)。结论: 建立的方法操作简便、快捷, 结果准确、可靠, 可用于盐酸西那卡塞片的质量控制。

关键词 盐酸西那卡塞片; 含量测定; 高效液相色谱法

Content Determination of Cinacalcet Hydrochloride Tablets by HPLC

ZHAO Ling¹, ZHAO Chun-cai², LU Chao³, LIU Yan-yan²(1. School of Biology and Pharmaceutical Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China; 2. Nanjing Jiahexin Pharmaceutical Co., Ltd., Nanjing 210018, China; 3. Suzhou Canimble Biotechnology Co., Ltd., Jiangsu Zhangjiagang 215600, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of Cinacalcet hydrochloride tablets. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Phenomenex C₁₈ column with mobile phase composed of triethylamine solution (pH 8.0)-methanol (15:85) at a flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 272 nm at 25 ℃. The injection size was at 20 μl. RESULTS: The linear range of cinacalcet hydrochloride were 39.82-358.3 μg/ml ($r=0.999\ 9$) with an average recovery of 99.54% (RSD=0.49%, $n=3$). CONCLUSIONS: The method is convenient, rapid, accurate and reliable, and it is applicable for the quality control of Cinacalcet hydrochloride tablets.

KEYWORDS Cinacalcet hydrochloride tablets; Content determination; HPLC

盐酸西那卡塞(Cinacalcet hydrochloride)是被称为拟钙剂(Calcimimetics)的新一类化合物中的第1个药物,能激活甲状旁腺中的钙受体,从而降低甲状旁腺素(PTH)的分泌。其主要通过增强受体对血流中钙水平的敏感性,降低PTH、钙、磷和钙-磷复合物的水平而调节甲状旁腺钙受体的行为^[1]。该药批准的临床适应证包括:(1)治疗慢性肾脏病透析患者的继发性甲状旁腺功能亢进;(2)无法采用手术治疗的甲状旁腺瘤患者的高钙血症^[2-4]。盐酸西那卡塞片由美国NPS Pharmaceuticals公司研发,于2004年3月8日获美国FDA批准上市,商品名为Sensipar。盐酸西那卡塞的含量测定未见文献报道,《美国药典》亦未见收载。为控制其质量,笔者采用高效液相色谱(HPLC)法测定了国内研制的3.1类新药盐酸西那卡塞片(武汉轻工大学联合南京佳核鑫医药科技有限公司申报)的含量。目前,本分析方法尚未见文献报道,介绍如下。

1 材料

1.1 仪器

HPLC仪,包括LC-10AT泵、SPD-10Avp紫外检测器、LC solution色谱工作站、UV-2401PC紫外-可见分光光度计(日本Shimadzu公司)。

1.2 药品与试剂

盐酸西那卡塞片(南京佳核鑫医药科技有限公司制剂室,

* 讲师,博士研究生。研究方向:天然药物化学、药物合成。

E-mail: zhaolingcpu@126.com

通信作者: 工程师。研究方向: 药物分析。电话: 025-52642656。

E-mail: zccd01@126.com

批号: 120401、120402、120403,规格: 每片25 mg);盐酸西那卡塞对照品(武汉轻工大学生物与制药工程学院,批号: 120322,纯度: 99.69%);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Phenomenex C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 三乙胺水溶液(pH 8.0)-甲醇(15:85), 流速: 1.0 ml/min, 检测波长: 272 nm, 柱温: 25 ℃, 进样量: 20 μl。

2.2 溶液的制备

供试品溶液: 取盐酸西那卡塞片粉末适量(约相当于盐酸西那卡塞5 mg), 精密称定, 置于25 ml量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 滤过, 取续滤液即得。

对照品溶液: 取盐酸西那卡塞对照品, 用流动相溶解并制成每1 ml中含盐酸西那卡塞200 μg的溶液即得。

2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下对照品溶液、供试品(批号: 120401)溶液各20 μl, 按“2.1”项下色谱条件进样, 并以空白辅料的流动相溶液作为对照。结果, 在上述色谱条件下, 盐酸西那卡塞的理论板数为10 185, 保留时间约为14 min, 峰形对称; 空白辅料对主成分测定未见干扰。色谱图详见图1。

2.4 线性关系与定量限考察

取盐酸西那卡塞对照品, 用流动相溶解并稀释制成含盐酸西那卡塞质量浓度分别为39.82、119.4、199.1、278.7、358.3 μg/ml的溶液, 精密量取上述溶液各20 μl分别注入色谱仪, 记录色谱图。以盐酸西那卡塞的质量浓度(c)为横坐标、峰面积

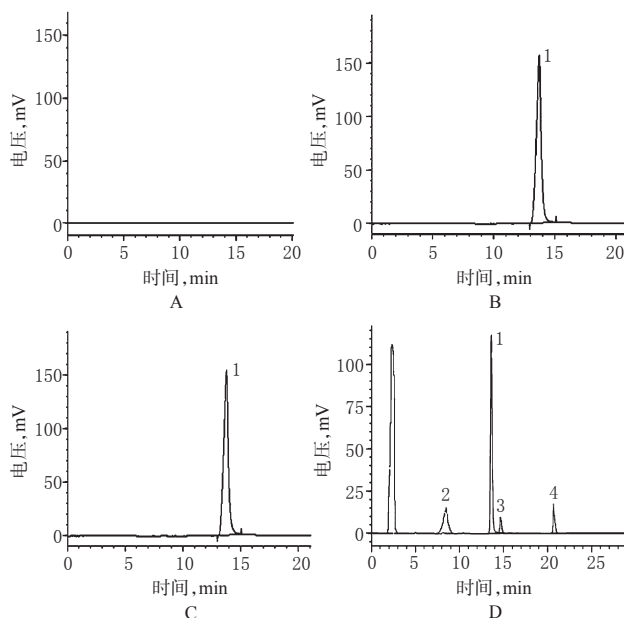


图1 高效液相色谱图

A.空白辅料;B.对照品;C.供试品;D.氧化破坏后样品;1.盐酸西那卡塞;2.降解产物 I;3.降解产物 II;4.降解产物 III

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank excipients; B. substance control; C. test sample; D. samples destroyed by oxidation; 1. cinacalcet hydrochloride; 2. catabolite I; 3. catabolite II; 4. catabolite III

(A)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $A=1.2345 \times 10^4 + 2.2123 \times 10^4 c$ ($r=0.9999$)。结果表明,盐酸西那卡塞检测质量浓度线性范围为 $39.82 \sim 358.3 \mu\text{g/ml}$ 。以信噪比为10计算,得盐酸西那卡塞定量限为 3 ng 。

2.5 精密度试验

取盐酸西那卡塞对照品适量,按“2.2”项下方法制备对照品溶液,连续进样5次测定峰面积。结果,峰面积的RSD=0.25% ($n=5$),表明精密度良好。

2.6 重复性试验

精密称取同批样品(批号:120401)6份,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,进样 $20 \mu\text{l}$,分别测定每份样品的含量。结果平均含量为99.53%,RSD=0.41% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.7 溶液稳定性试验

取供试品(批号:120401)溶液1份,在0、1、2、4、8 h分别进样 $20 \mu\text{l}$ 测定,结果峰面积RSD=0.19% ($n=5$),表明供试品溶液在8 h内稳定。

2.8 回收率试验

取同批样品(批号:120401),按 $200 \mu\text{g/ml}$ 质量浓度一半的80%、100%、120% 3个梯度分别加入盐酸西那卡塞对照品,各取3份,配制成供试品溶液,进样分析,测定含量,计算回收率。结果低、中、高质量浓度的平均回收率为99.54%,表明方法准确度好,详见表1。

2.9 样品含量测定

取盐酸西那卡塞片粉末及对照品适量,按“2.2”项下方法分别制备供试品溶液、对照品溶液。分别精密量取 $20 \mu\text{l}$ 注入色谱仪,记录峰面积,并按外标法以峰面积计算含量。结果,3

表1 回收率试验结果($n=3$)

Tab 1 Results of recovery test($n=3$)

已知量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
9.72	10.31	19.98	99.52	99.54	0.49
9.91	10.06	19.94	99.70		
10.01	10.12	20.01	98.81		
12.40	12.71	25.07	99.69		
12.45	12.56	25.02	100.10		
12.54	12.64	25.15	99.76		
14.79	15.24	29.94	99.41		
14.91	15.11	30.03	100.10		
15.02	15.03	29.86	98.74		

批样品(120401、120402、120403)占标示量的百分含量分别为99.53%、98.51%、99.44%。

3 讨论

3.1 检测波长的选择

前期试验中,取盐酸西那卡塞对照品及片粉末、合成各步中间体和空白辅料适量,分别用流动相配制质量浓度约为 $50 \mu\text{g/ml}$ 的溶液,按紫外分光光度法^[5]操作,于 $200 \sim 400 \text{ nm}$ 波长范围内进行测定。结果,对照品、供试品溶液均于282、272、222 nm波长处有最大吸收,合成各步中间体于272 nm波长处有最大吸收,辅料溶液在此处无吸收,故检测波长确定为272 nm。

3.2 流动相的选择

在前期流动相筛选试验中,曾分别试验了不同组成如水-甲醇及在此基础上加入三乙胺并调节不同pH的三乙胺水溶液-甲醇(不同比例)的流动相对分离效果的影响。通过对盐酸西那卡塞片(批号:120401)及相关破坏后样品的分析,发现采用水-甲醇(20:80)为流动相时,主峰拖尾很严重;采用三乙胺水溶液(pH 6.0)-甲醇(15:85)为流动相时,主峰有前沿;而采用三乙胺水溶液(pH 8.0)-甲醇(15:85)为流动相时,主峰峰形对称,与降解产物能得到很好的分离,主峰与最近的峰(降解产物 II)分离度为2.1。因此,确定了本试验中的流动相组成及比例,试验结果表明采用本流动相可有效分离盐酸西那卡塞片中的成分。样品及其氧化破坏后的色谱图见图1。

综上所述,建立的方法操作简便、快捷,结果准确、可靠,可用于盐酸西那卡塞片的质量控制。

参考文献

- [1] Bijukumar G, Maloyesh B, Bhaskar BS, *et al.* Efficient synthesis of cinacalcet hydrochloride[J]. *Synthetic Communications*, 2008, 38(10): 1512.
- [2] 燕宇.西那卡塞的临床应用以及研究进展[J]. *中国血液净化*, 2012, 11(8): 460.
- [3] Nagano N. Pharmacological and clinical properties of calcimimetics: calcium receptor activations that afford an innovative approach to controlling hyperparathyroidism[J]. *Pharmacol Ther*, 2006, 109(3): 339.
- [4] Nemeth EF, Heaton WH, Miller M, *et al.* Pharmacodynamics of the type II calcimimetic compound cinacalcet HCl [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2004, 308(2): 627.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 IV A.

(收稿日期: 2013-05-21 修回日期: 2013-07-10)