

# 高效液相色谱法测定盐酸非索非那定中有关物质

夏锦辉

(天津药物研究院分析测试中心 天津 300193)

**摘要** 目的：建立盐酸非索非那定有关物质检查方法。方法：ODS C<sub>18</sub>柱为分离柱，0.01mol/L的KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(pH3.5)：甲醇(40：60)为流动相，检测波长为220nm。结果盐酸非索非那定与有关物质能有效地分离，有关物质的最小检出限是0.2 μg/mL。结论：本法快捷、简便、准确，能很好地控制非索非那定的质量。

**关键词** 盐酸非索非那定 有关物质 高效液相色谱法

盐酸非索非那定是以特非那定的活性代谢产物——非索非那定的盐酸盐的形式存在的。特非那定不仅本身有药理作用，其代谢产物仍具有药理活性，如直接用其治疗过敏反应，可免受药酶代谢而消除对人体的心脏毒性。基于此点，从1995年开始全面研究特非那定的活性代谢产物——非索非那定(Fexofenadine; Allegra™, MDL16455)，作为新型抗组胺药，其以盐酸盐的形式存在。

## 1 实验材料

甲醇和乙腈为色谱纯，磷酸二氢钾、磷酸、盐酸、氢氧化钠均为分析纯。盐酸非索非那定样品由本院合成室提供。

## 2 仪器及色谱条件

仪器：RAINI DYNAMAX MODEL SD-200泵；RAINI DYNAMAX 紫外检测器；色谱柱：ODS柱(Diamasil C<sub>18</sub>, 5 μm, 4.6m × 200mm)；流动相：0.01mol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(pH 3.5) - 甲醇(40：60)；流速：1.0mL/min；柱温：40℃；检测波长：220nm；检测灵敏度：0.1AUFS；理论板数按盐酸非索非那定峰计算应不低于5000。

## 3 实验方法与结果

### 3.1 方法研究

**3.1.1 流动相的选择** 用盐酸非索非那定和中间体进行流动相的选择和优化。我们采用ODS C<sub>18</sub>柱为分离柱，考察甲醇-磷酸盐溶液、乙腈-磷酸盐溶液和甲醇-乙腈-磷酸盐流动相系统。试验结果表明，选用甲醇-磷酸盐系统为好。为使杂质峰和盐酸非索非那定峰分开，调整盐的浓度，有机相与水相的比例以及流动相的pH值，对流动相进一步优化，最后确定为：0.01mol/L的KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(pH3.5)-

甲醇(40：60)为流动相。

**3.1.2 盐酸非索非那定和中间体的分离考察** 分别取盐酸非索非那定和中间体I、中间体II适量，混合均匀，再取混合物适量，在选定的色谱条件下进行试验，结果表明：在此色谱条件下，盐酸非索非那定与二种中间体能很好地分离。HPLC色谱图(见图1)。

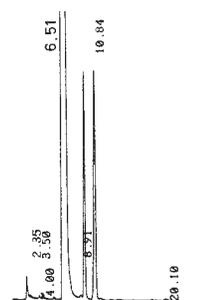


图1 样品和中间体色谱图

**3.1.3 盐酸非索非那定酸碱破坏性试验** 取盐酸非索非那定20mg，分别加入0.01mol/L的盐酸溶液和1mol/L的氢氧化钠溶液20mL，置沸水浴中回馏2h，放冷；分别用氢氧化钠溶液和盐酸溶液调pH至中性，进样测定，试验结果表明：本品经酸碱加热破坏，产生新的杂质峰，在此色谱条件下能与盐酸非索非那定主成分色谱峰分开。HPLC色谱图(见图2)。

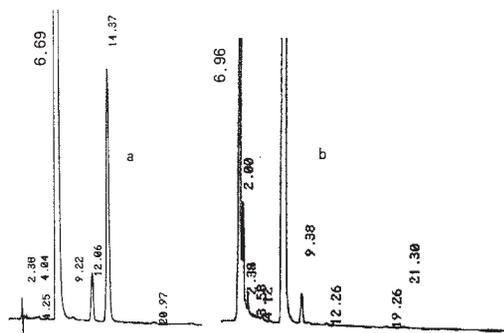


图2 色谱图

a. 酸破坏色谱图；b. 碱破坏色谱图

**3.1.4 检测限试验** 取盐酸非索非那定、中间体 I 和中间体 II 适量, 加流动相稀释成低浓度, 进样测定, 记录色谱图。试验结果: 盐酸非索非那定最小检测浓度为  $0.1 \mu\text{g/mL}$ , 中间体 I 最小检测浓度为  $0.2 \mu\text{g/mL}$ , 中间体 II 最小检测浓度为  $0.2 \mu\text{g/mL}$ 。

**3.1.5 线性关系试验** 量取供试品溶液 ( $0.4\text{mg/mL}$ )  $5.0\text{mL}$ , 置  $100\text{mL}$  量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。再分别量取此液  $0.5\text{mL}$ ,  $1.0\text{mL}$ ,  $2.0\text{mL}$ ,  $4.0\text{mL}$ ,  $8.0\text{mL}$ , 加流动相稀释至  $10\text{mL}$ , 摇匀, 得  $1 \mu\text{g/mL}$ ,  $2 \mu\text{g/mL}$ ,  $4 \mu\text{g/mL}$ ,  $8 \mu\text{g/mL}$ ,  $16 \mu\text{g/mL}$  的样品溶液, 分别进样  $20 \mu\text{L}$ , 测定峰面积, 作 C-A 线性方程如下:

$$\text{回归方程 } A = 563.6 + 4504.7C$$

$$\text{相关系数 } r = 0.9999$$

试验结果表明: 在  $220\text{nm}$  波长处盐酸非索非那定在  $1\sim 8 \mu\text{g/mL}$  范围内, 峰面积  $A$  与浓度  $C$  线性关系良好。

**3.1.6 重现性试验** 取 010813 批样品溶液  $20\text{mL}$ , 注入液相色谱仪, 连续进样 6 次, 依法进行有关物质检查。试验结果表明: 有关物质为  $0.17\%$ , RSD 为  $1.5\%$  ( $n=6$ )。

**3.1.7 样品溶液稳定性试验** 取 010813 批样品溶液, 分别在放置  $0\text{h}$ 、 $4\text{h}$ 、 $8\text{h}$ 、 $24\text{h}$  进行测定。试验结果表明: 盐酸非索非那定溶液在  $24\text{h}$  内基本稳定。

### 3.2 三批样品、对照品有关物质测定

准确称取  $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $1.36\text{g}$ , 溶解于  $950\text{mL}$  水中。用稀磷酸 (1 → 5) 调 pH 3.5, 加水稀释至  $1000\text{mL}$ , 混匀, 滤过, 即得  $0.01\text{mol/L}$  磷酸二氢钾溶液。取上述溶液  $600\text{mL}$ , 甲醇  $400\text{mL}$ , 混匀, 脱气, 即得  $0.01\text{mol/L}$  磷酸二氢钾溶液 (pH 3.5) - 甲醇 (40 : 60) 的流动相。

精密称取供试品  $10\text{mg}$ , 置  $25\text{mL}$  量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 混匀, 作为供试品溶液。

精密量取供试品溶液  $1.0\text{mL}$ , 置  $100\text{mL}$  量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 混匀, 作为对照溶液。

试验结果 (见表 1)。1% 对照溶液和供试品溶液 HPLC 色谱图 (见图 3)。

表 1 三批样品和对照品有关物质测定结果

批号	杂质含量/%
010813	0.17
010817	0.17
010820	0.16
对照品	0.12

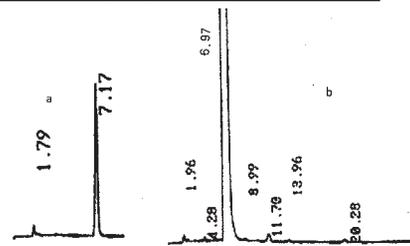


图 3 色谱图

a. 1% 对照溶液色谱图; b. 样品供试液色谱图

## 4 讨论

流动相中缓冲盐浓度及 pH 的确定: 为使杂质峰和盐酸非索非那定峰分开, 调整盐的浓度, 以及流动相的 pH 值, 对流动相进一步优化, 最后确定为:  $0.01\text{mol/L}$  的  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH 3.5) - 甲醇 (40 : 60) 为流动相。

### 参考文献

- 凌大奎. 有关物质及高效液相色谱测定法 [J], 中国药杂志, 2000, 30(8): 567
- Russell T, Maxine Stoltz, Scott Weir. Pharmacokinetics pharm-edy·namics, an d tolerance of single-an d multiple-dose fexotenadlne hydrochloride in healthy male volunteers. Clin pharmacol Ther, 1998, 64(12): 612
- 钟大放以加权最小二乘法建立生物分析标准曲线的若干问题, 药物分析杂志, 1996, 16(5): 343
- 孙忠实. 抗组胺药物的进展, 中国新药杂志, 1999, 8

## HPLC determination of relater substances in Fexofenadine

Xia Jinhui

(Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193)

**Abstract** Objective: To establish the HPLC method for the determination of related substances in Fexofenadine. Method: The HPLC system consisted of a ODS  $\text{C}_{18}$  column ( $4.6 \times 250\text{mm}$   $5\mu\text{m}$ ). The mobile phase was  $0.01\text{mol/L}$   $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH 3.5) - Methanol (40 : 60); The flow rate was  $1.0\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$  with detection wave length at  $220\text{nm}$ . Result: Fexofenadine could be completely separated from other impurities, the lowest detectable of Relater Substances is  $0.2 \mu\text{g/mL}$ . Conclusion: The method is simple, accurate, convenience, it can be well the quality control Fexofenadine.

**Key words** Fexofenadine Related substances HPLC