·实验研究·

首批酒石酸溴莫尼定国家对照品的研制

张　媛,耿　颖,朱容蝶,吴彦霖,高　华
(中国食品药品检定研究院,北京 102629)

[摘要]　**目的**:建立首批含量测定用酒石酸溴莫尼定国家对照品。**方法**:应用红外光谱、核磁共振及液质联用仪对酒石酸溴莫尼定进行结构确证。采用高效液相色谱法测定纯度,并测定溶剂残留、炽灼残渣、水分等,通过质量平衡法计算酒石酸溴莫尼定含量。**结果**:确证酒石酸溴莫尼定的结构,确定首批酒石酸溴莫尼定对照品含量为99.8%。**结论**:首批酒石酸溴莫尼定国家对照品的研制可作为酒石酸溴莫尼定原料及其相关制剂的鉴别和含量测定用对照品。

[关键词]　酒石酸溴莫尼定;对照品;含量测定;高效液相色谱法
[中图分类号]　R917　　[文献标志码]　A　　[文章编号]　1003－3734(2021)02－0178－04

Standardization of the first batch of national reference standard of brimonidine tartrate

ZHANG Yuan, GENG Ying, ZHU Rong-die, WU Yan-lin, GAO Hua
(*National Institutes for Food and Drug Control*, *Beijing* 102629, *China*)

[**Abstract**]　**Objective**: To establish the first batch of national reference standard of brimonidine tartrate. **Methods**: The structure of brimonidine tartrate was confirmed by IR, NMR and LC-MS spectroscopy. The purity of brimonidine tartrate was determined by HPLC. Moreover, the residual solvents, residual ignition and moisture were determined. The content of brimonidine tartrate was calculated by mass balance method. **Results**: The structure of brimonidine tartrate was confirmed. The content of brimonidine tartrate was assigned as 99.8%. **Conclusion**: The first batch of national reference standard of brimonidine tartrate can be applied for the identification and content determination of brimonidine tartrate and its related preparations.

[**Key words**]　brimonidine tartrate; reference standard; content determination; HPLC

酒石酸溴莫尼定化学名称为5-溴-6-(2-咪唑双烯氨)喹噁啉-*L*-酒石酸盐,为微黄色结晶性粉末。本品是一种新型高度选择性 α_2-肾上腺素能受体激动剂,对 α_2-受体的选择性比可乐定高7～12倍,比阿普拉可乐定高23～32倍。临床上用以治疗开角型青光眼、高眼压症[1-3],美国Allergan公司为其原研药厂。目前,酒石酸溴莫尼定收载于美国药典(USP41-NF36)、欧洲药典(EP 9.6)、英国药典(BP2018)。2018年收录于《中华人民共和国药典》(2015年版)第一增补本。因而,本实验建立其国家对照品,报道如下。

[作者简介]　张媛,女,副研究员,主要从事药检药理研究。联系电话:(010)53851631,E-mail:zhyuan_cn@126.com。
[通讯作者]　高华,女,研究员,主要从事药检药理研究。联系电话:(010)53851589,E-mail:huag55@163.com。

材　　料

1　药品与试剂

酒石酸溴莫尼定原料药(常州亚邦制药有限公司,批号:CPC-053-M170701);酒石酸溴莫尼定USP对照品,批号:1076400,Batch:F034H0;酒石酸溴莫尼定EP对照品,批号:Y0001658,Batch 1.1;氧化氘(D_2O,Aldrich公司,批号:MKCD5458)。

2　仪器

LC－20A液相色谱仪(Shimadzu公司);VD53真空干燥箱(Binder公司);Avance NEO核磁波谱

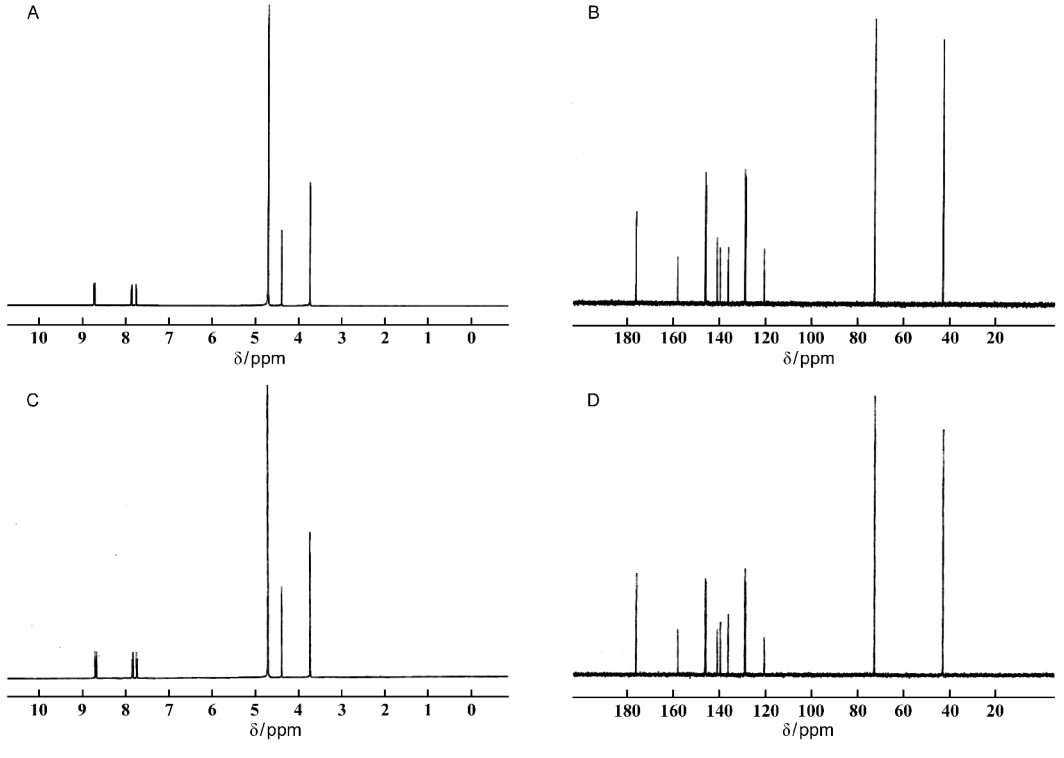
(Bruker 公司);Nexus 傅立叶变换红外光谱仪(Thermo 公司);Q-TOF 6538 液相色谱-质谱联用仪(Agilent 公司);6890N 气相色谱仪(Agilent 公司);Autopol 旋光仪(Rudolph 公司);TU－1901 紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);S500－B 酸度计、V305 水分仪(XP205 电子天平梅特勒-托利多公司);CWF 1100 马弗炉(Carbolite 公司);Milli Q 纯水机(Millipore 公司)。

方法与结果

1 性状鉴别与结构确证

1.1 外观性状 待标品为微黄色结晶性粉末,无臭。

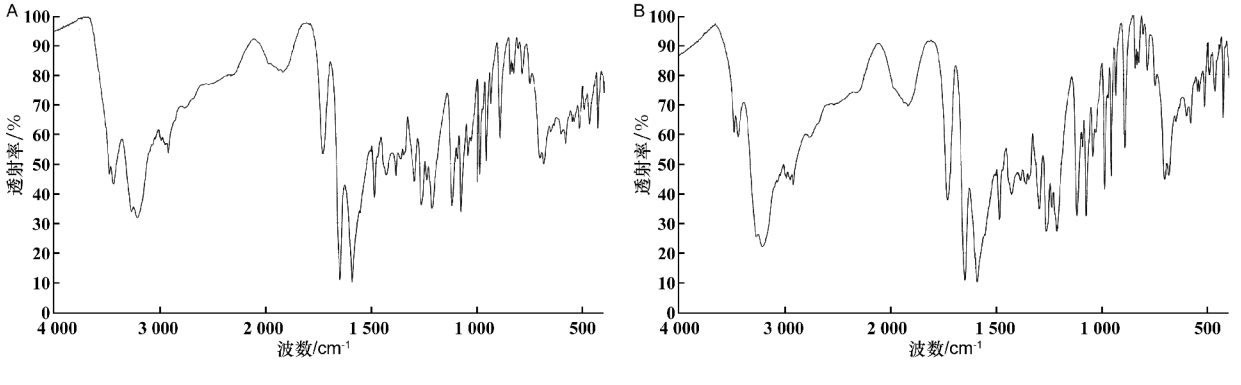
1.2 核磁共振 精密称取待标品,于 D_2O 中完全溶解,在核磁共振仪上采集一维 ^1H 谱、一维 ^{13}C 谱。待标品的氢谱碳谱与酒石酸溴莫尼定 USP 对照品图谱一致,见图 1。



A,B:酒石酸溴莫尼定 USP 对照品;C,D:酒石酸溴莫尼定待标品

图 1 酒石酸溴莫尼定核磁共振图谱

1.3 红外光谱 采用溴化钾压片法制备样品,扫描次数为 32,分辨率为 4.000,采集速度为 0.632 9,狭缝宽度为 150.00。待标品的红外光吸收图谱与酒石酸溴莫尼定 EP 对照品红外图谱一致,见图 2。

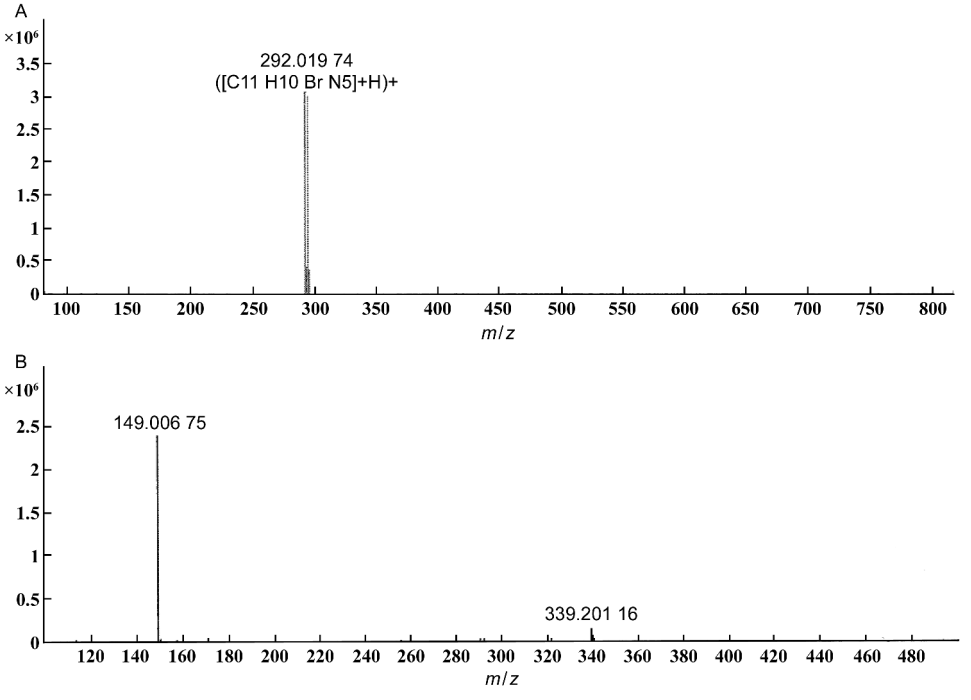


A:酒石酸溴莫尼定 EP 对照品;B:酒石酸溴莫尼定待标品

图 2 酒石酸溴莫尼定红外图谱

1.4 液质联用 高效液相条件:乙腈-水(30∶70),流速:200 μL·min^{-1},进样体积:20 μL;质谱条件:干燥器温度:350 ℃,干燥器流量:9 L·min^{-1},雾化器压力:40 psig,毛细管电压:3 500 V,碰撞电压(fragmentor):120 V,锥孔电压:65 V,八级杆电压:750 V,正负离子扫描。

待标品高分辨率质谱正离子准分子离子峰 *m/z* 292.019 74,与理论计算值 292.019 23 相差 0.17 ppm,推测分子式为 $C_{11}H_{10}BrN_5$。待标品高分辨率质谱负离子准分子离子峰 *m/z* 149.006 75,与理论计算值 149.009 16 相差 1.62 ppm,见图 3。



A:正离子模式;B:负离子模式

图 3 酒石酸溴莫尼定液质联用图谱

2 理化特性

2.1 鉴别 取待标品约 50 mg,置于试管中,加水溶解,再加入氨制硝酸银试液数滴,水浴加热,产生银镜。

2.2 比旋度 将待标品用水溶解制成约 20 mg·mL^{-1}的溶液,采用钠光谱 D 线(589 nm)测定旋光度,比旋度为 +9.2°。

2.3 吸收系数 将待标品用水溶解制成约 10 μg·mL^{-1}的溶液,测定波长为 247 nm,吸收系数($E_{1cm}^{1\%}$)为 576。

2.4 pH 值 取待标品用水溶解制成约 20 mg·mL^{-1}的溶液,测定 pH 值为 3.52。

2.5 引湿性 待标品在 25 ℃,80% 湿度条件下放置 24 h 后,增重 0.06%,表明本品几乎无引湿性。

3 杂质和纯度

3.1 炽灼残渣 精密称取待标品,于 700 ℃下测定,未检出炽灼残渣。

3.2 水分 采用卡式库伦法测定,测定待标品水分含量为 0.20%。

3.3 干燥失重 精密称取待标品,在 105 ℃下干燥至恒重,重量减失为 0.14%。

3.4 有机溶剂残留 采用气相色谱法测定待标品生产工艺中使用的有机溶剂残留量,DB-5 色谱柱(30 m×0.32 mm,0.5 μm)。精密称取待标品,加二甲基亚砜溶解并定量稀释制成每 1 mL 中含 40 mg 的溶液。柱温初始柱温 35 ℃,保持 5 min,再以每分钟 3 ℃升至 75 ℃,然后以每分钟 35 ℃升至 260 ℃,保持 5 min;进样口温度为 200 ℃,检测器温度为260 ℃;分流比为 20∶1;流速为 2.0 mL·min^{-1};检测器为氢火焰离子化检测器(FID)。按外标法以峰面积计算甲苯、甲醇与 *N*,*N*-二甲基甲酰胺的残留量。经测定,待标品中甲醇、甲苯及 *N*,*N*-二甲基甲酰胺均未检出。

3.5 HPLC 纯度 色谱柱为 Waters Xbridge C_{18} 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为磷酸盐缓冲液:

乙腈(3∶1),检测波长为 246 nm。将待标品用流动相溶解制成约 0.5 mg·min^{-1}的溶液,进样体积 20 μL,记录色谱图。理论板数按溴莫尼定峰计算不低于 2 000,溴莫尼定峰与氧化产物峰(相对保留时间约为 0.75)间的分离度应 >6.0。待标品按面积归一化法计算总杂质含量为 0.054%,单个最大杂质含量为 0.044%;采用 0.5% 自身对照法计算总杂质含量为 0.053%,单个最大杂质含量为 0.043%。待标品 HPLC 纯度为 99.95%。系统适用性及待标品典型色谱图见图 4 和图 5。

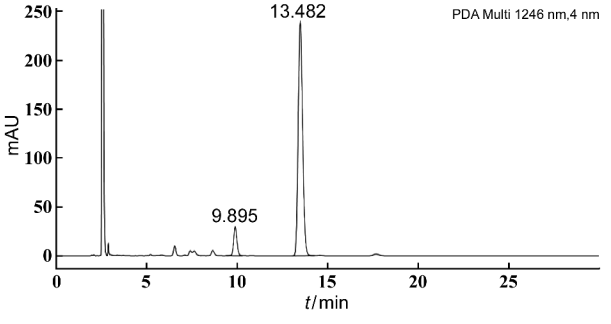


图 4 酒石酸溴莫尼定 HPLC 系统适用性色谱图

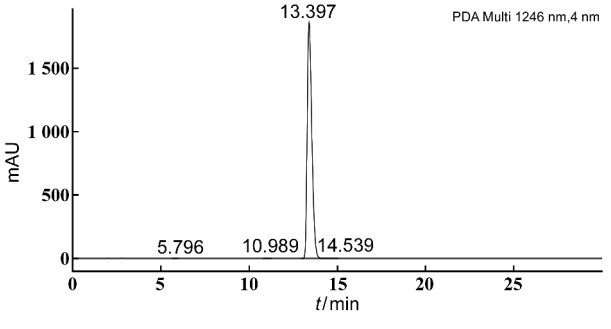


图 5 酒石酸溴莫尼定 HPLC 典型色谱图

4 含量测定

4.1 HPLC 外标法 以酒石酸溴莫尼定 USP 对照品作为对照,外标法测得待标品含量为 99.9%。

4.2 质量平衡法 根据水分、炽灼残渣、残留溶剂及 HPLC 纯度的测定结果,以质量平衡法计算,本批对照品的 HPLC 法含量/% =(100% - 水分 - 炽灼残渣% - 残留溶剂)× HPLC 纯度 =99.8%。

4.3 核磁共振定量 以对苯二酚 6.6 ppm 波谱峰为内标物,以待标品 7.8 ppm 波谱峰定量,含量为 99.8%,RSD 为 0.17%;以待标品 8.0 ppm 波谱峰定量,含量为 99.3%,RSD 为 0.20%。取 7.8 ppm 与 8.0 ppm 2 个波谱峰的定量测定结果均值,本待标品核磁共振定量含量为 99.6%。

5 均匀性与稳定性[4]

5.1 均匀性 取 12 支待标品,每支待标品使用 HPLC 法分别独立测定 2 次。采用单因素方差分析进行统计,$P>0.05$($F<F_{\alpha}$),结果表明本待标品均匀性符合要求,支间均匀。

5.2 短期稳定性 取待标品 15 支置于 60 ℃恒温箱中,分别于 0,5 和 10 d 各取 5 支检测有关物质,采用面积归一化法测定总杂质及最大单杂质。结果表明待标品 60 ℃放置 10 d,有关物质未见明显变化,结果见表 1。

表 1 酒石酸溴莫尼定短期稳定性有关物质测定结果 $n=5$

项目	0 d	5 d	10 d
HPLC 纯度/%	99.947	99.947	99.948
最大单杂质/%	0.044	0.043	0.04
总杂质/%	0.054	0.053	0.052

讨 论

本待标品作为首批酒石酸溴莫尼定对照品,对其化学结构确证、纯度及杂质、理化性质等进行了考察,并采用 HPLC 外标法、质量平衡法及核磁共振法多种方法对其含量进行测定。此外,参考《中华人民共和国药典》2015 年版四部通则 9901 国家药品标准物质制备指导原则对本批待标品的均匀性和稳定性进行考察。最终通过世界卫生组织(WHO)推荐的标准物质定值法,即质量平衡法,以扣除水分、炽灼残渣、残留溶剂后的 HPLC 纯度对本批对照品含量进行赋值[5]。

经过药品标准物质专家委员会审定,批准待标品(批号:150704-201801)作为酒石酸溴莫尼 HPLC 鉴别和含量测定用国家对照品使用,其含量为 99.8%。

[参 考 文 献]

[1] 陈利荣, 姚军平, 张贻转, 等. 拉坦前列素与酒石酸溴莫尼定治疗开角型青光眼的临床疗效比较[J]. 湘南学院学报(医学版), 2017, 19(1): 18-20.
[2] 罗曼, 缪茶英, 陈伟, 等. 拉坦前列腺素与溴莫尼定治疗开角型青光眼的疗效对比[J]. 国际眼科杂志, 2015, 15(7): 1256-1258.
[3] 李智佳, 孙建和, 廖琴, 等. 多种降眼压药物对前房注射磁珠诱导的大鼠高眼压的影响[J]. 今日药学, 2018, 28(9): 584-588.
[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 四部. 北京:中国医药科技出版社,2015:416-417.
[5] 韩永志. 标准物质的定值[J]. 化学分析计量, 2001, 10(5): 38-39.

编辑:赵文锐/接受日期:2020-01-02