



(21) 申请号 202110490930.X

(22) 申请日 2021.05.06

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113189239 A

(43) 申请公布日 2021.07.30

(73) 专利权人 山东省药科学院
地址 250101 山东省济南市高新区新泺大街989号

(72) 发明人 张云 孙玲 王金虎 付丙月
于梦 鲜婧 张相军 李红

(51) Int. Cl.

G01N 30/02 (2006.01)

G01N 30/06 (2006.01)

审查员 李妙琪

权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54) 发明名称

一种用高效液相色谱法测定右兰索拉唑缓释胶囊中小丸I含量的方法

(57) 摘要

本发明属于分析化学领域,具体涉及一种用高效液相色谱法测定右兰索拉唑缓释胶囊中小丸I含量的方法,用于右兰索拉唑缓释胶囊中间体的质量控制,用十八烷基硅烷键合硅胶为填料的色谱柱,以碱性水溶液和有机溶剂为流动相,检测波长为280~290nm,柱温为25~35℃,流速为0.8~1.2ml/min,进样量为10~40 μl。本发明中的方法可以有效地将胶囊中的小丸I和小丸II分开检测,而且该方法具有灵敏度高、耐用性好,操作简单、结果稳定可靠等特点。

1. 一种用高效液相色谱法测定右兰索拉唑缓释胶囊中小丸I含量的方法,其特征在于,右兰索拉唑缓释胶囊是在同粒胶囊中填充两种不同pH敏感的肠溶微丸,小丸I在小肠近端,pH值约为5.5释放药物,小丸II在小肠远端,pH值约为6.75释放药物,所用测定方法为等度洗脱的高效液相色谱法,包括以下步骤:

1) 取右兰索拉唑缓释胶囊内容物适量,约相当于小丸I中右兰索拉唑20mg,置100ml量瓶中,加流动相适量,超声使小丸I中的右兰索拉唑溶解,放冷,用流动相稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液作为供试品溶液;

取右兰索拉唑对照品约20mg,精密称定,置100ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液作为对照品溶液;

2) 高效液相色谱条件检测器为紫外-可见分光检测器,洗脱方式为等度洗脱,色谱柱为Waters X-Bridge C18柱,4.6×250mm,5 μ m,流动相为用磷酸调节pH至5.5的1%三乙胺水溶液-乙腈=60:40,检测波长为285nm,柱温为30 $^{\circ}$ C,流速为1.0ml/min,进样量为20 μ l。

一种用高效液相色谱法测定右兰索拉唑缓释胶囊中小丸I含量的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及分析化学领域,具体涉及一种用高效液相色谱法测定右兰索拉唑缓释胶囊中小丸I含量的方法。

背景技术

[0002] 右兰索拉唑缓释胶囊是日本武田公司研发的缓释制剂,可持续抑制胃酸分泌、改善胃食管反流病症状,因而能够用于治疗非糜烂性胃管反流病患者引起的胃灼热、糜烂性食管炎等。它也是首个设计可以提供双相控释模式的质子泵抑制剂,其原理是在同粒胶囊中填充两种不同pH敏感的肠溶微丸,小丸I在小肠近端(pH值约为5.5)释放药物,小丸II在小肠远端(pH值约为6.75)释放药物。相比传统血药浓度仅有一个单峰的质子泵抑制剂,右兰索拉唑双相控释制剂释药时间更长,可在不改变药物血药峰浓度的前提下获得更高的药-时曲线下面积,从而能够在保持药物疗效的同时减少患者的服药次数。

[0003] 为了优化患者小肠中右兰索拉唑的药物浓度,需将小丸I和小丸II按一定的比例填充于胶囊中,但目前尚未有分别定量检测胶囊中两种小丸的报道。因此需建立一种稳定有效的含量测定方法对胶囊中小丸I进行质控,进而保证本品的安全、有效和质量可控,这对于提高临床用药安全性和有效性具有重要的现实意义。

发明内容

[0004] 为了解决上述技术问题,本发明提供了一种专属性强、灵敏度高、重现性好,可准确定量检测右兰索拉唑缓释胶囊中的小丸I,从而实现对小丸I和小丸II比例的控制,以保证右兰索拉唑缓释胶囊终产品的质量,提高临床用药的安全性和有效性。

[0005] 为了实现上述技术目的,本发明技术方案如下:

[0006] 一种用高效液相色谱法测定右兰索拉唑缓释胶囊中小丸I含量的方法,采用高效液相色谱法,包括以下步骤:

[0007] 1) (1)取右兰索拉唑缓释胶囊内容物适量(约相当于小丸I中右兰索拉唑20mg),置100ml量瓶中,加流动相适量,超声使小丸I中的右兰索拉唑溶解,放冷,用流动相稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液作为供试品溶液。

[0008] (2)取右兰索拉唑对照品约20mg,精密称定,置100ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液作为对照品溶液。

[0009] 本发明具有如下有益效果:

[0010] 本发明采用高效液相色谱法,用十八烷基硅烷键合硅胶为填料的色谱柱,能够准确有效地定量检测右兰索拉唑缓释胶囊中小丸I的含量。本发明解决了右兰索拉唑缓释胶囊中小丸I和小丸II比例控制的问题,实现了右兰索拉唑缓释胶囊的质量可控,提高了临床用药的安全性和有效性。

附图说明

- [0011] 图1为实施例2中空白溶剂的图谱；
[0012] 图2为实施例2中小丸II的供试品溶液的图谱；
[0013] 图3为实施例2中对照品溶液的图谱；
[0014] 图4为实施例2中供试品溶液的图谱；

具体实施方式

[0015] 以下实施例用于说明本发明，但不用来限制本发明的范围，凡基于本发明所述内容实现的技术均属于本发明的范围。

[0016] 实施例1

[0017] 仪器与条件

[0018] 色谱仪:Agilent 1260高效液相色谱仪(配置DAD检测器)

[0019] 色谱柱:Waters X-Bridge C₁₈柱(4.6×250mm,5μm)

[0020] 洗脱方式:等度洗脱

[0021] 流动相:1%三乙胺水溶液(用磷酸调节pH至5.5)-乙腈(60:40)

[0022] 检测波长:285nm

[0023] 柱温:30℃

[0024] 流速:1.0ml/min

[0025] 进样量:20μl

[0026] 2) 实施步骤(1)取右兰索拉唑缓释胶囊内容物适量(约相当于小丸I中右兰索拉唑20mg),置100ml量瓶中,加流动相适量,超声使小丸I中的右兰索拉唑溶解,放冷,用流动相稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液作为供试品溶液。

[0027] (2)取右兰索拉唑对照品约20mg,精密称定,置100ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液作为对照品溶液。

[0028] 精密量取供试品溶液和对照品溶液各20μl,分别注入高效液相色谱仪,记录色谱图。

[0029] 实施例2

[0030] 本发明对所述高效液相色谱法检测右兰索拉唑缓释胶囊中小丸I方法的以下项目进行了验证:

[0031] 1 专属性

[0032] 空白溶剂:精密量取流动相20μl,注入高效液相色谱仪,记录色谱图。

[0033] 小丸II的供试品溶液:取小丸II适量(约相当于右兰索拉唑20mg),置100ml量瓶中,加流动相适量,超声约5分钟,放冷,用流动相稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液。

[0034] 供试品溶液:取右兰索拉唑缓释胶囊内容物适量(约相当于小丸I中右兰索拉唑20mg),置100ml量瓶中,加流动相适量,超声使小丸I中的右兰索拉唑溶解,放冷,用流动相稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液。

[0035] 对照品溶液:取右兰索拉唑对照品约20mg,精密称定,置100ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液。

[0036] 精密量取空白溶剂、小丸II的供试品溶液、供试品溶液和对照品溶液各20μl,分别

注入高效液相色谱仪,记录色谱图。

[0037] 结果表明,空白溶剂和小丸II的供试品溶液在右兰索拉唑出峰处无干扰峰,不影响小丸I中右兰索拉唑的检测,本方法的专属性良好。

[0038] 2线性与范围

[0039] 取右兰索拉唑对照品约20mg,精密称定,置50ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液作为6[#]线性溶液。精密量取6[#]线性溶液0.5ml、2ml、4ml、5ml、6ml分别置10ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为1~5[#]线性溶液。精密量取上述溶液各20 μ l,分别注入高效液相色谱仪,记录色谱图。

[0040] 以峰面积A为纵坐标,浓度C为横坐标,进行线性回归得回归方程为 $Y=19.005X+3.0152$ 、相关系数r为1.0000,结果见表1。

[0041] 表1右兰索拉唑检测的线性关系试验结果

[0042]	编号	1	2	3	4	5	6
	浓度 μ g/ml	20.13	80.52	161.04	201.3	241.56	402.59
	峰面积	386.577	1522.995	3062.105	3841.909	4598.151	7647.910

[0043] 由上述结果可知,右兰索拉唑在20.13-402.59 μ g/ml浓度范围内,浓度与峰面积呈良好的线性关系。

[0044] 3定量限和检测限

[0045] 用信噪比法确定定量限和检测限,以右兰索拉唑峰的信噪比(S/N)约为10:1,作为定量限溶液,右兰索拉唑的定量限为0.443 μ g/ml;以右兰索拉唑峰的信噪比(S/N)约为3:1,作为检测限溶液,右兰索拉唑的检测限为0.133 μ g/ml。

[0046] 4精密度

[0047] 4.1进样精密度

[0048] 取对照品溶液连续进样6次,记录色谱图,考察6次进样的精密度。以右兰索拉唑的峰面积考察六次进样的精密度,结果见表2。

[0049] 表2右兰索拉唑检测的进样精密度试验结果

[0050]	编号	1	2	3	4	5	6
	峰面积	3844.759	3837.902	3849.730	3821.746	3854.128	3838.318
	平均值	3841.097					
	RSD%	0.30					

[0051] 由上述结果可知,本方法的进样精密度良好。

[0052] 4.2重复性

[0053] 配制6份供试品溶液,分别精密量取20 μ l注入高效液相色谱仪,记录色谱图。按外标法以峰面积计算右兰索拉唑缓释胶囊中小丸I的含量,考察六份含量的精密度,结果见表3。

[0054] 表3右兰索拉唑检测的重复性试验结果

编号	1	2	3	4	5	6
[0055] 含量%	30.17	30.36	30.41	30.45	30.25	30.28
平均值%	30.32					
RSD%	0.35					

[0056] 由上述结果可知,本方法的重复性良好。

[0057] 4.2中间精密度

[0058] 按“实施例1”项下的方法,取同一批样品制备12份供试品溶液,分别由两名试验人员用不同仪器各测定6份供试品溶液含量:1#-6#供试品溶液(人员1,仪器1),7#-12#供试品溶液(人员2,仪器2),按外标法以峰面积计算右兰索拉唑缓释胶囊中小丸I的含量,结果见表4。

[0059] 表4右兰索拉唑缓释胶囊含量测定的中间精密度试验结果

	测定次数	含量 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
[0060] 人员 1, 仪器 1	1	30.17	30.35	0.47
	2	30.36		
	3	30.41		
	4	30.45		
	5	30.25		
	6	30.28		
人员 2, 仪器 2	7	30.44		
	8	30.22		
	9	30.32		
	10	30.59		
	11	30.14		
	12	30.53		

[0061] 由上述结果可知,本方法的中间精密度符合要求。

[0062] 上述试验结果表明,本方法具有良好的精密度。

[0063] 5准确度

[0064] 供试品溶液:取右兰索拉唑对照品约16mg、20mg及24mg各3份,精密称定,置100ml量瓶中,按本品处方比例加入辅料,加流动相适量,超声使右兰索拉唑溶解,放冷,用流动相稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液。分别精密量取20 μ l注入高效液相色谱仪,记录色谱图。按外标法以峰面积计算右兰索拉唑的含量,并与理论加入量进行比较计算回收率,具体结果见表5。

[0065] 表5右兰索拉唑检测的准确度试验结果

序号	加入量 mg	测定量 mg	回收率%	平均值%	RSD%
1	16.33	16.145	98.87	99.38	0.93
2	16.19	16.112	99.52		
3	16.21	16.059	99.07		
4	20.07	19.604	97.68		
5	20.11	20.298	100.93		
6	20.28	20.051	98.87		
7	24.15	24.037	99.53		
8	24.07	24.094	100.1		
9	24.21	24.176	99.86		

[0067] 试验结果表明,本品的回收率均在97.68%以上,证实本法的准确度可靠。

[0068] 6溶液稳定性

[0069] 分别在0、1、2、3、4、5、6、8、10、12、18、24小时,精密量取对照品溶液和供试品溶液各20 μ l,分别注入高效液相色谱仪,记录色谱图,计算右兰索拉唑峰面积的RSD,考察对照品溶液和供试品溶液的稳定性,结果见表6。

[0070] 表6右兰索拉唑检测的溶液稳定性试验结果

时间(小时)	对照品溶液的峰面积	供试品溶液的峰面积
0	3838.719	3744.025
1	3846.221	3750.604
2	3819.739	3716.258
3	3798.925	3774.707
4	3857.710	3729.213
5	3866.254	3748.870
6	3821.997	3792.036
8	3855.211	3732.861
10	3841.092	3794.972
12	3888.803	3755.886
18	3834.775	3728.285
24	3822.999	3770.816
平均值	3841.037	3753.211
RSD(%)	0.63	0.68

[0072] 由上述结果可知,右兰索拉唑对照品溶液和供试品溶液在24小时内稳定。

[0073] 7耐用性

[0074] 根据色谱条件,确认右兰索拉唑缓释胶囊中小丸I含量测定的耐用性验证范围,见下表:

耐用性研究项目		试验方法的条件	确认的耐用性范围
[0075] 流动相	三乙胺溶液的浓度	1%	0.9%~1.1%
	三乙胺溶液的 pH 值	5.5	5.4~5.6
	三乙胺溶液的比例	60%	58%~62%
流速 (ml/min)		1.0	0.8~1.2
柱温 (°C)		30	25~35
波长 (nm)		285	280~290
色谱柱型号		YMC-Pack ODS-A 柱 (4.6×250mm, 5μm)	
		Inertsil ODS-3 柱 (4.6×250mm, 5μm)	

[0076] 按上表确认的耐用性试验范围,精密量取空白溶剂、对照品溶液和供试品溶液各 20μl,分别注入高效液相色谱仪中,记录色谱图,结果见表7。

[0077] 表7右兰索拉唑检测的耐用性试验结果

试验条件		含量 (%)
[0078] 三乙胺溶液的浓度	0.9%	30.24
	1%	30.32
	1.1%	30.25
三乙胺溶液的 pH 值	5.4	30.31
	5.5	30.32
	5.6	30.57
三乙胺溶液的比例	58%	30.53
	60%	30.32
	62%	30.29
流速 (ml/min)	0.8	30.52
	1.0	30.32
	1.2	30.48
柱温 (°C)	25	30.53
	30	30.32
	35	30.36
波长 (nm)	280	30.37
	285	30.32
	290	30.44
色谱柱	YMC-Pack ODS-A 柱 (4.6×250mm, 5μm)	30.35
	Inertsil ODS-3 柱 (4.6×250mm, 5μm)	30.50

[0079] 由上述结果可知,色谱条件的微小变动不影响右兰索拉唑缓释胶囊中小丸I含量

的检测,本方法具有可靠性。

[0080] 8样品测定

[0081] 按照上述试验确定的检测方法,对6批右兰索拉唑缓释胶囊中小丸I的含量进行检测,结果见表8。

[0082] 表8右兰索拉唑缓释胶囊中的小丸I检测结果

	批号	含量%
[0083]	202102-1	30.32
	202102-2	30.67
	202102-3	30.28
[0084]	202102-4	30.49
	202102-5	30.24
	202102-6	30.51

[0085] 上述结果表明,6批右兰索拉唑缓释胶囊中小丸I的含量均符合规定。

[0086] 上述实施例仅为本发明优选的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制,凡在本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化等,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围之内。

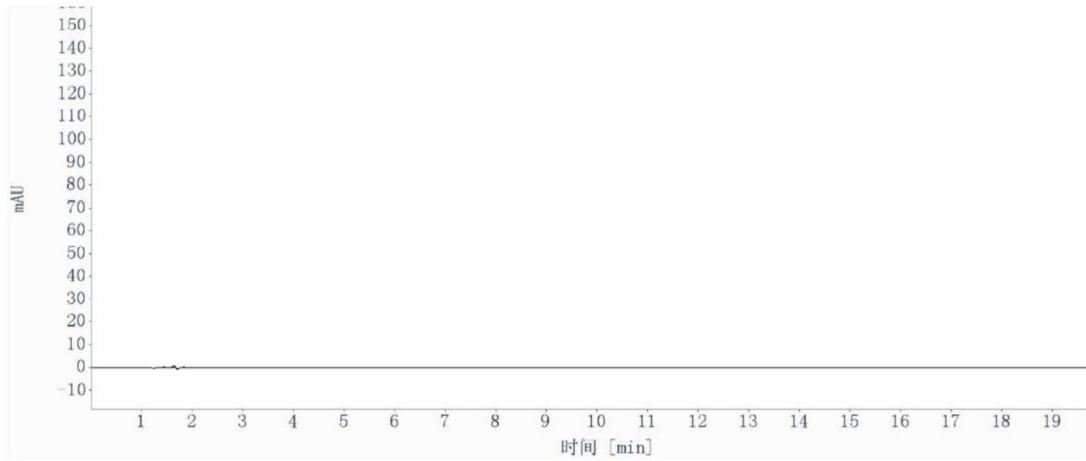


图1

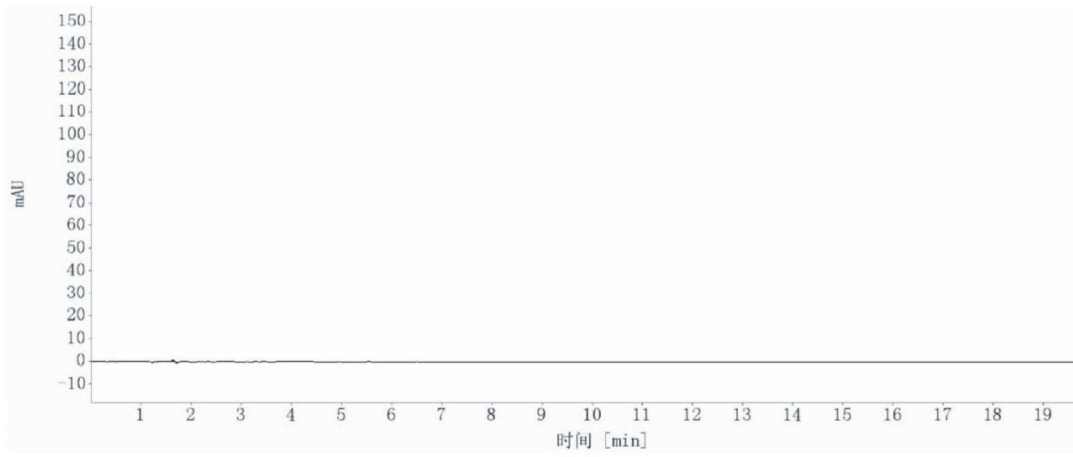


图2

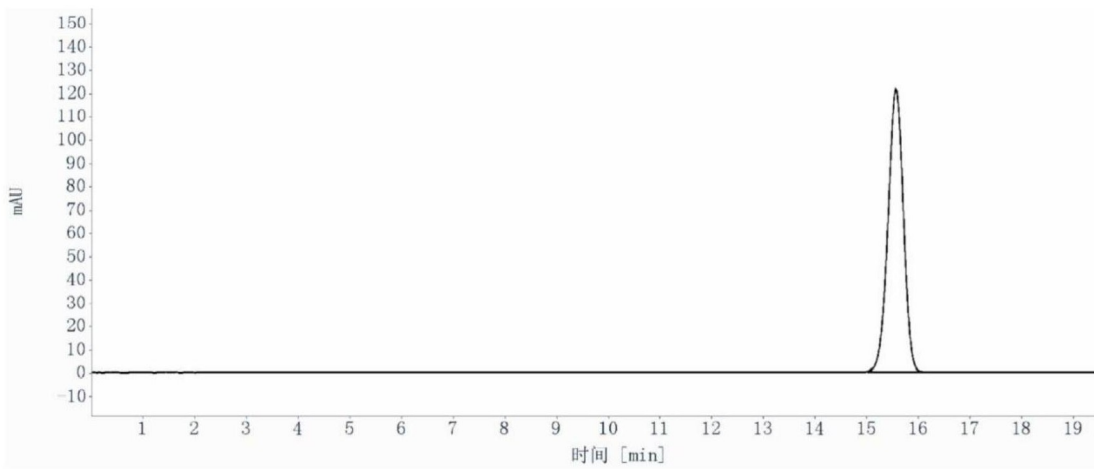


图3

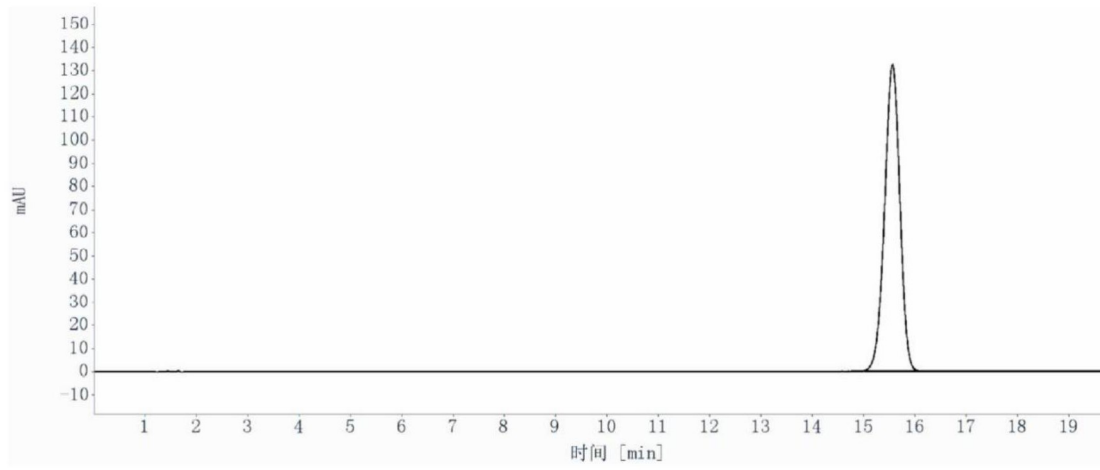


图4