

高效液相色谱法测定盐酸丙酰左卡尼汀片中 盐酸丙酰左卡尼汀的含量

肖红梅

(安徽医科大学第一附属医院药剂科、国家中医药管理局中药化学三级实验室,安徽 合肥 230001)

摘要:目的 建立高效液相色谱法(HPLC)用于测定盐酸丙酰左卡尼汀片中盐酸丙酰左卡尼汀的含量。方法 色谱柱为 Thermo Hypersil Aps-2 氨基柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相为0.05 mol·L⁻¹磷酸二氢钾缓冲液-乙腈(35:65),流速1.0 mL·min⁻¹,柱温30℃,检测波长205 nm。结果 盐酸丙酰左卡尼汀在0.505 0~5.050 2 g·L⁻¹($r=0.9999$)浓度范围内线性良好,平均加样回收率为100.1%。结论 该文建立的方法专属性强、重复性好、结果准确可靠,可用于盐酸丙酰左卡尼汀片的质量控制和评价。

关键词:氯丙酰左卡尼汀片;高效液相色谱法;含量测定

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.11.010

Determination of the content of propionyl *L*-carnitine hydrochloride in propionyl *L*-carnitine hydrochloride tablets by HPLC

XIAO Hongmei

(Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, The Grade3 Pharmaceutical Chemistry Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Hefei, Anhui 230001, China)

Abstract: **Objective** To establish an HPLC method for determining the content of propionyl *L*-carnitine hydrochloride in propionyl *L*-carnitine hydrochloride tablets. **Methods** The column was on a Thermo Hypersil Aps-2 amino column (4.6 mm×250 mm,5 μm) and 0.05 mol·L⁻¹ solution of potassium dihydrogen phosphate-acetonitrile (35:65) was employed as the mobile phase. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ with UV detection wavelength at 205 nm and the column temperature was kept at 30℃. **Results** The linear range of propionyl *L*-carnitine hydrochloride was within 0.505 0 and 5.050 2 g·L⁻¹($r=0.9999$). The average recovery was 100.1%. **Conclusion** The method is of high specificity, repeatability and accuracy, and it can be used for the quality control and evaluation of propionyl-*L*-carnitine hydrochloride tablets.

Key words: Propionyl *L*-carnitine hydrochloride tablets; HPLC; Content determination

盐酸丙酰左卡尼汀(Propionyl-*L*-carnitine hydrochloride)化学名为(*R*)-3-羧基-2-丙酰氧基-N,N,N-三甲基-1-丙胺盐酸盐,为左卡尼汀乙酰转移酶刺激剂,可以扩张外周微动脉血管,改善微循环,临床上主要用于治疗间歇性跛行、外周微血管疾病、慢性充血性心力衰竭等^[14]。目前仅有意大利 Sigma-tau 公司上市了片剂和注射用冻干粉末,我国目前没有其任何制剂上市销售,尚处于临床

研究阶段。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 SHIMADZU LC-20 系列高效液相色谱仪(岛津 SHIMADZU 公司);XP205 型分析天平(0.01 mg,梅特勒-托利多仪器有限公司);SK5200 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);Mili-Q 型超纯水制备仪(密理博中国有限公司)。

1.2 试剂 盐酸丙酰左卡尼汀对照品(瑞阳制药

[10] 赵宝林,钱枫,刘学医.药用丹参资源分布与开发利用[J].现代中药研究与实践,2009,23(2):17-19.

[11] 黄利,葛婷,夏蕴琼,等. HPLC-ELSD 同时测定丹参注射液4种糖类成分的含量[J]. 中国现代中药,2013,15(6):500-502.

[12] TANG Y, WANG M, LE X, et al. Antioxidant and cardioprotective effects of Danshensu [3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-hydroxy-propanoic acid from *Salvia miltiorrhiza*] on isoproterenol-induced myo-

cardial hypertrophy in rats [J]. Phytomedicine, 2011, 18(12):1024-1030.

[13] ZHANG X, LIU C.J. Multifaceted regulations of gateway enzyme phenylalanine ammonia-lyase in the biosynthesis of phenylpropanoids [J]. Molecular Plant, 2015, 8:17.

[14] 沈志刚.一种从丹参茎叶中制备丹酚酸 B 和丹参素的方法:中国, CN101348474[P]. 2009-01-21.

(收稿日期:2017-05-18,修回日期:2017-06-01)

有限公司,批号:20141001);乙酰左卡尼汀(瑞阳制药有限公司,批号:20141101),左卡尼汀(中国药品生物制品检定研究院,批号:101041-201503),巴豆甜菜碱(中国药品生物制品检定研究院,批号:420033-201501),盐酸丙酰左卡尼汀片(瑞阳制药有限公司,批号:20150101、20150102、20150103,规格:500 mg);乙腈(色谱纯、天津市光复精细化工研究所);磷酸二氢钾、氢氧化钠均为分析纯;水(自制超纯水)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Thermo Hypersil Aps-2 氨基柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),以 0.1 mol·L⁻¹磷酸二氢钾缓冲液(1.0 mol·L⁻¹氢氧化钠溶液调 pH 调至 4.7)-乙腈(35:65)为流动相,流速为 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30℃,检测波长 205 nm。

2.2 样品溶液制备

2.2.1 对照品贮备液 精密称取盐酸丙酰佐卡尼汀对照品适量,加流动相溶解并稀释制成 5.050 2 g·L⁻¹作为盐酸丙酰左卡尼汀对照品贮备液。

2.2.2 对照品溶液 精密量取对照品贮备液 4 mL 置于 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液 取供试品 10 片,研细,精密称取细粉适量(约相当于盐酸丙酰左卡尼汀 20 mg),置 10 mL 量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,作为供试品溶液。

2.2.4 空白辅料溶液制备 称取盐酸丙酰左卡尼汀片所用空白辅料(按处方配比)适量,加流动相振荡并稀释至刻度,摇匀,滤过,即得。

2.2.5 杂质贮备溶液 精密称取巴豆甜菜碱、乙酰左卡尼汀、左卡尼汀^[5]适量,用流动相溶解并稀释制成含巴豆甜菜碱 252 mg·L⁻¹、乙酰左卡尼汀 244 mg·L⁻¹和左卡尼汀 261 mg·L⁻¹的混合溶液,摇匀即得。

2.2.6 系统适用性试验溶液 精密称取盐酸丙酰左卡尼汀 50.3 mg,置于 10 mL 量瓶中,先加少量流动相溶解,再加入 1.0 mL 杂质贮备溶液,用流动相稀释至刻度,摇匀,即得。

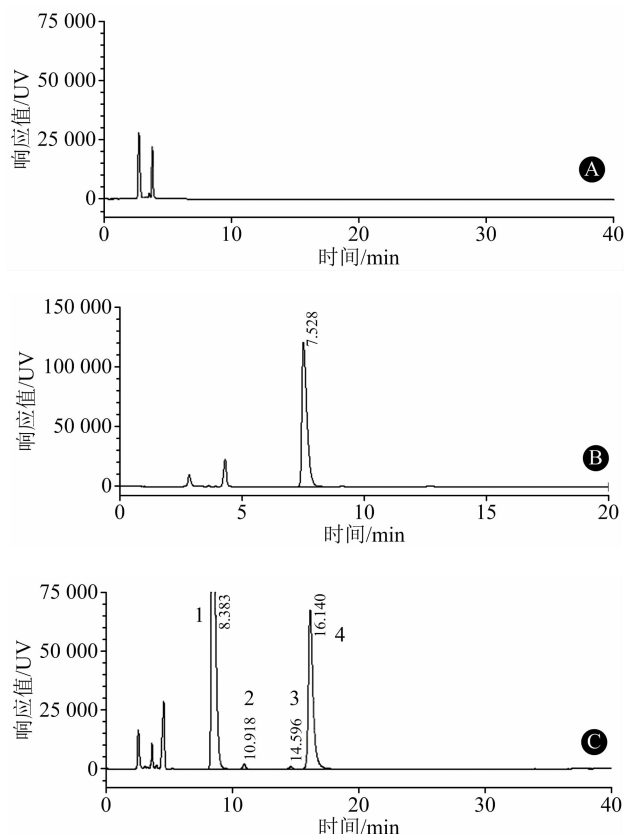
2.3 方法学考察

2.3.1 专属性 分别取空白辅料溶液与系统适用性溶液 20 μL,在上述色谱条件下进样分析,结果显示制剂中各辅料组分与各杂质在 205 nm 的波长下不干扰主成分的测定,盐酸丙酰左卡尼汀峰与相邻杂质峰分离度为 5.8,系统适用性符合要求。结果

见表 1,高效液相色谱图见图 1。

表 1 试验溶液的系统适用性结果

物质名称	浓度/mg·L ⁻¹	保留时间/min	分离度
盐酸丙酰左卡尼汀	5.0	8.383	5.8
乙酰左卡尼汀	25.2	10.918	5.8
左卡尼汀	24.4	14.596	10.0
巴豆甜菜碱	26.1	16.140	2.9



注:A 为空白辅料溶液;B 为对照品溶液;C 为系统适用性溶液;1 为盐酸丙酰左卡尼汀;2 为乙酰左卡尼汀;3 为左卡尼汀;4 为巴豆甜菜碱

图 1 HPLC 含量测定色谱图

2.3.2 定量限的考察 取对照品溶液浓溶液,稀释 20 000 倍后,进样 20 μL,计算盐酸丙酰左卡尼汀定量限(S/N≈10)为 0.253 mg·L⁻¹。

2.3.3 线性关系的考察 分别精密吸取“2.2.1”项下对照品贮备液 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL 置于 10 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取 20 μL 注入液相色谱仪中,记录色谱图,以峰面积对进样浓度(g·L⁻¹)进行线性回归,得盐酸丙酰左卡尼汀回归方程 $Y = 808\,112X + 19\,954$, $r = 0.999\,9$ 。结果表明:盐酸丙酰左卡尼汀在 0.505 0 ~ 5.050 2 g·L⁻¹ 范围内,峰面积与进样浓度呈良好的线性关系。

2.3.4 精密度试验 取“2.2.2”项下对照品溶液,精密吸取 20 μL 注入液相色谱仪中,重复进样 6 次,盐酸丙酰左卡尼汀峰面积 RSD 为 0.34%,结果表明方法精密度良好。

2.3.5 重复性试验 取盐酸丙酰左卡尼汀片(批号:20150101)10 片,按“2.2.3”项下方法处理并测定,盐酸丙酰左卡尼汀的平均标示含量为 100.6% ($n=6$),RSD 为 0.83%,结果表明测定重复性好。

2.3.6 稳定性试验 精密吸取“2.2.3”项下供试品溶液于 0、2、4、6、8、12 h 进样测定,盐酸丙酰左卡尼汀峰面积 RSD 为 0.87%,结果表明在室温放置条件下 12 h 内对照品溶液基本稳定。

2.3.7 加样回收率试验 按处方量称取空白辅料(按处方配比)适量,加入 80% 处方量的盐酸丙酰左卡尼汀对照品,混合均匀。同法称取空白辅料适量,按处方配比加入 100% 处方量,120% 的盐酸丙酰左卡尼汀对照品。精密称取以上供试品适量(以空白辅料为固定量),置于 10 mL 量瓶中,计算含量。回收率平均为 100.1%,RSD 为 0.9%,具体数据见表 2。结果表明测定方法准确、可靠。

表 2 加样回收率试验($n=9$)

称样量/mg	样品量/mg	实际测得量/mg	回收率/%
21.33	16.10	15.91	98.83
20.87	15.75	15.87	100.76
21.18	15.98	15.88	99.34
25.66	20.37	20.43	100.32
24.82	19.70	20.02	101.63
24.95	19.80	19.65	99.23
30.07	24.72	24.63	99.66
29.42	24.18	24.33	100.62
29.53	24.27	24.42	100.61

2.4 样品测定 取盐酸丙酰左卡尼汀片 3 批,按照“2.2.3”项下方法处理并测定盐酸丙酰左卡尼汀片的含量,结果见表 3。

表 3 盐酸丙酰左卡尼汀片含量测定结果($n=3$)

批号	含量/%
20150101	100.6
20150102	99.8
20150103	99.2

3 讨论

取盐酸丙酰左卡尼汀对照品(批号:20141001)适量,用流动相溶解稀释成适宜浓度($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),在 190 ~ 400 nm 的波长范围内进行紫外扫描,结果溶液在 205 nm 波长处有最大吸收值,因此选择 205 nm 为检测波长。

在选择色谱系统的过程中,参考了文献[6-8]所使用的色谱系统,发现在使用的过程中盐酸丙酰左卡尼汀峰峰形较差,拖尾因子较大,达到 1.5 以上,理论塔板数仅能达到 2 000 左右,满足不了本研究的要求,后参考欧洲药典 9.0 收载的左卡尼汀有关物质检测项下的色谱系统^[9],其结果盐酸丙酰左卡尼汀峰峰形较好,拖尾因子可以达到 1.3 以内,理论塔板数达 5 000 以上,与相邻的乙酰左卡尼汀杂质峰分离度达到 5.0 以上,各杂质峰的分离度也均符合要求,可以满足本研究的要求,最终选择本试验所用的条件为盐酸丙酰左卡尼汀片含量测定的方法。

参考文献

- [1] MERRA G, GASBARRINI G, LATERZA L, et al. Propionyl-L-carnitine hydrochloride for treatment of mild to moderate colonic inflammatory bowel diseases[J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(36):5065-5071.
- [2] 陈卓. 丙酰左卡尼汀对酒精所致肝损伤小鼠的保护作用[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(4):996-997.
- [3] 孙永旭, 陆丛笑, 李淑卿, 等. 丙酰左卡尼汀的基础研究和临床应用[J]. 中国医药指南, 2009, 7(20):48-49.
- [4] 董梅蓉, 肖峰, 吴成义, 等. 盐酸丙酰左卡尼汀片在健康人体中的药代动力学研究[J]. 安徽医药, 2013, 17(3):376-380.
- [5] 陈玉玲. 氯化丙酰左卡尼汀的合成研究[J]. 科技创新与应用, 2012(2):21.
- [6] 张现涛, 焦豪妍, 沈小钟, 等. HPLC 法测定盐酸丙酰左卡尼汀原料药及其制剂的含量和有关物质[J]. 中国药房, 2012, 23(21):1992-1994.
- [7] 沈小钟, 杨帆, 杨燕军, 等. 盐酸丙酰左卡尼汀注射剂中有关物质及含量的测定[J]. 中国药业, 2012, 21(24):43-44.
- [8] 宋兴发, 孙增先. UPLC 法测定注射用左卡尼汀含量[J]. 海峡药学, 2017, 29(1):50-51.
- [9] 欧洲药品质量管理局. 欧洲药典[S]. 9.0 版, 2017:2890-2891.

(收稿日期:2017-04-20,修回日期:2017-06-19)