

HPLC 法测定盐酸哌替啶及其片剂的含量

陈翠萍 姜心如 安登魁

(药药分析教研室)

关键词 盐酸哌替啶；高效液相色谱法

盐酸哌替啶(Pirenzepine)为一抗消化性溃疡药，其含量测定有紫外法^[1]、酸性染料直接滴定法^[1]和 HPLC 法^[2]。由于其合成工艺的改进，成品中引入了其他一些杂质，用上述方法测定均有干扰。本文采用与本品结构相近的安定为内标，以甲醇-三乙胺-醋酸为流动相，消除了杂质的干扰，并对盐酸哌替啶及其片剂进行了分析。

1 仪器与试药

HP 1050 系列高效液相色谱仪包括 HP 1050 系列光电二极管阵列多波长检测器，HP 3396 A 色谱记录仪(均由美国惠普公司生产)；7125型定量进样阀(Rheohyne, 美国)；BYS-2型平流泵；K401型紫外检测器(中国科学院上海科学仪器厂)；LM 14-264记录仪(上海大华仪表厂)。盐酸哌替啶标准品(经 HPLC 面积归一化测得含量>99.5%)、样品及其片剂(25 mg)(均由盐城制药厂提供)；安定(本校药剂学教研室提供)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Syperil ODS 柱 $5 \mu\text{m}$, $4.6 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$ (惠普公司, 美国)；流动相为甲醇-三乙胺(0.1 mol/L)-醋酸(5%)(90:4:10)，流速 0.7 ml/min ；检测器量程0.04；进样量 $10 \mu\text{l}$ 。在此色谱条件下，8 min 内样品主成分及其杂质和内

标全部流出，且达基线分离。见图1。

2.2 线性范围及回归方程

取盐酸哌替啶标准品适量，精密称定，以流动相溶解，配制成 $40 \mu\text{g/ml}$ 的溶液；同样配制成 $20 \mu\text{g/ml}$ 的内标溶液。分别吸取上述标准品溶液 $6, 6.5, 7, 8, 9 \text{ ml}$ 及内标溶液 $4, 3.5, 3, 2, 1 \text{ ml}$ ，置 10 ml 刻度离心管中，混匀。

HPLC 分析。每一测定液进样5次，以样品与内标浓度比 Y(5次平均值) 对两者的峰高比 X 进行回归，得方程 $Y = 12.94X - 0.2006$, $r = 0.9997$ ($n=3$)。结果表明，本品在 $6-134 \mu\text{g/ml}$ 内线性关系良好。

2.3 原料药及其片剂的含量测定

本文用 HPLC 的内标单点校正法对四个不同批号的原料药进行了含量测定，并与 UV 法^[1]作了比较。

2.3.1 HPLC 测定液的配制 精密吸取样品溶液($40 \mu\text{g/ml}$) 8.0 ml 及内标溶液($20 \mu\text{g/ml}$) 2.0 ml 于 10 ml 刻度离心管中，混匀，进样分析。由回归方程求得其含量。本法与 UV 法测得结果见表1。

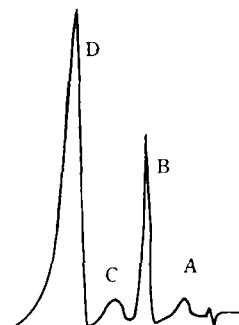


Fig 1. Chromatogram of pirenzepine (peak D), its impurities (peak A, c) and internal standard (peak B) under the conditions prescribed

Tab 1. Results of sample determination (determined by HPLC method and UV method)

Sample	HPLC method (n=15)	CV, %	UV method (n=5)
0	97.15	1.2	99.70
5	94.33	1.0	103.1
89042	98.65	1.5	100.3
89043	100.5	0.47	100.3

2.3.2 模拟片剂的回收率试验 取本品标准品适量,按处方加入适量辅料于50 ml量瓶中,用流动相溶解,充分振摇(约10 min),用流动相稀释至刻度,混匀。干过滤,弃去初滤液。取续滤液8.0 ml,以下按原料药测定项下操作、计算。本文在三个浓度水平作了回收率试验,每一水平作三份,每份进样5次,结果见表2。

Tab 2. Recoveries of pirenzepine in its simulated dosage form (n=15)

Amount of the added, ug/ml	Amount of the found, ug/ml	Recovery, %	CV, %
19.28	19.49	19.30	19.48
23.11	23.23	22.96	23.23
26.99	27.58	27.28	26.78

2.3.3 片剂的含量测定 取本品20片,精密称定。研细,称取细粉适量(相当于盐酸哌替啶2 mg)置50 ml量瓶中,用流动相溶解,以下操作同模拟片剂的回收率项下。本文对同一批号的片剂进行分析,测得本品占标示量的百分含量为99.81% (n=18),变异系数为0.59%。

3 讨论

3.1 流动相的选择 曾试验过多种流动相系统,发现以一般的缓冲溶液加甲醇为流动相,样品不被洗脱,只有加入一定浓度的有机胺后方出峰。为使各组分在较短时间内达到最佳分离,本文用混合液十点设计技术及单纯形法对流动相的配比优化,确定为本文所述之组成及配比。

3.2 峰纯度的鉴定和检测波长的选择 为得到可靠正确的分析定量结果,本文开发利用HP 1050系列多波长光电二极管陈列检测器对在本文色谱条下流出的色谱峰(A, C, D)进行了纯度鉴定,表明三者均为纯峰;同时采集它们相应的光谱图,杂质(A, C)在UV法测定波长281±1 nm附近有较大吸收。样品(D)除在280 nm附近有吸收外,在254 nm处亦有较大吸收,为便于方法推广使用,故选择检测波长为254 nm。

3.3 HPLC分析结果表明,本文所测四个批号的样品中均含有不同量的杂质A, D。因此,UV法测得含量偏高。

参考文献

- 1 姜心如,王月明,孙亦平.酸性染料直接滴定法测定盐酸哌替啶的含量,中国药科大学学报,1986;17(3):216
- 2 Salim AB. Determination of pirenzepine in dosage forms and in biological fluids. *J Chromatogr*, 1984;7(12):2401

Determination of Pirenzepine and Its Tablet by HPLC

Chen Cuiping, Jian Xinru, An Dengkui

Department of Pharmaceutical Analysis

A simple and sensitive method for the determination of pirenzepine in dosage form by HPLC using diazepam as internal standard without the interference of impurities was developed. The chromatographic conditions were as follows: column, ODS 100×4.6mm ID 5 μm; mobile phase, methanol: triethylamine (0.1 mol/L); acetic acid (5%) (90:4:10); detecting wavelength was 254 nm. It showed a good linearity between 6—134 μg/ml with the correlation coefficient 0.9997. Pirenzepine was extracted with the mobile phase, and the mean recovery of it from its simulated dosage form was found to be 100.5% with CV = 0.43%. Complete separation of the drug was within 7.5 min under the present conditions. This method is more accurate, rapid and simple than the UV method.

Key words Pirenzepine; HPLC