

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103472154 A

(43) 申请公布日 2013. 12. 25

(21) 申请号 201310446807. 3

(22) 申请日 2013. 09. 27

(71) 申请人 武汉武药科技有限公司

地址 430074 湖北省武汉市东湖开发区光谷  
创业街6栋2楼

(72) 发明人 乔春莲 刘莎 沈婕 杨波

(74) 专利代理机构 北京鼎佳达知识产权代理事  
务所(普通合伙) 11348

代理人 侯蔚寰

(51) Int. Cl.

G01N 30/02(2006. 01)

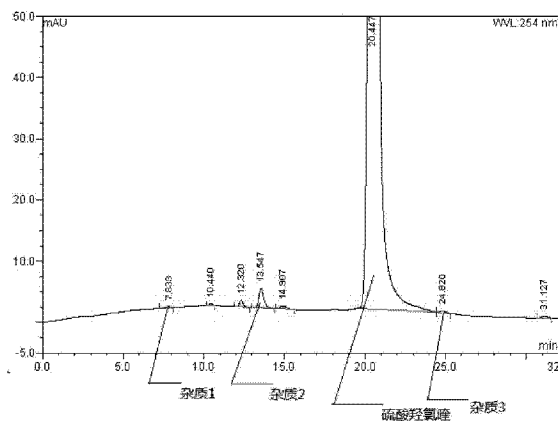
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54) 发明名称

一种用高效液相色谱法分析硫酸羟氯喹原料  
和制剂的方法

(57) 摘要

本发明属于药物分析领域;本发明公开了一种用高效液相色谱法分析硫酸羟氯喹原料和制剂的方法,采用此方法可以很好的将硫酸羟氯喹中的有关物质进行有效分离,从而控制硫酸羟氯喹的质量,准确测定硫酸羟氯喹原料和制剂的含量,指示硫酸羟氯喹的稳定性;本发明专属性强,准确度高,操作简便。



1. 一种高效液相色谱法分析硫酸羟氯喹中有关物质及测定含量的方法,其特征在于:色谱条件为:

固定相:十八烷基硅烷键合硅胶或辛烷硅烷键合硅胶;

流动相:水溶性有机溶剂、缓冲溶液组成的混合溶液;

检测波长:220 ~ 300nm。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:所述的水溶性有机溶剂为甲醇或乙腈。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:配制缓冲溶液的盐包括醋酸盐、磷酸盐、阳离子对试剂。

4. 根据权利要求3所述的方法,其特征在于:磷酸盐包括磷酸二氢钾、磷酸二氢钠、磷酸氢二钾、磷酸氢二钠。

5. 根据权利要求4所述的方法,其特征在于:缓冲溶液浓度为0.01mol/L ~ 0.05mol/L。

6. 根据权利要求5所述的方法,其特征在于:缓冲溶液pH值范围为7.2 ~ 8.2。

7. 根据权利要求6所述的方法,其特征在于:缓冲溶液中加入了三乙胺。

8. 根据权利要求1至7任一项所述的方法,其特征在于:流动相为等度或梯度洗脱。

## 一种用高效液相色谱法分析硫酸羟氯喹原料和制剂的方法

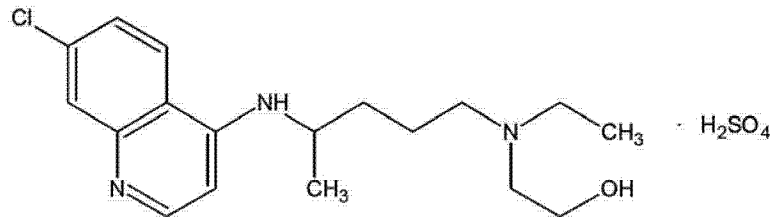
### 技术领域

[0001] 本发明属于药物分析领域,具体涉及一种用高效液相色谱法分析硫酸羟氯喹原料和制剂的方法。

### 背景技术

[0002] 硫酸羟氯喹是用于治疗盘状红斑狼疮及系统性红斑狼疮,以及类风湿关节炎等的药物。其结构式为:

[0003]



[0004] 化学名为 2-[[4-[(7-氯-4-喹啉)氨基]戊基]乙氨基]-乙醇硫酸盐。对于合成硫酸羟氯喹合成中引入的和贮存中降解的有关物质,无论是在原料药还是制剂中都是需要进行控制的。因此,实现硫酸羟氯喹及其有关物质的分离在硫酸羟氯喹的合成和制剂过程的质量控制方面具有重要的现实意义。

[0005] 目前,中华人民共和国国家标准和部颁标准、BP (2012)、USP (36) 中,均采用薄层色谱法,经研究发现,利用薄层色谱法来检测硫酸羟氯喹的有关物质时,存在专属性不强、灵敏度低的问题,且薄层色谱法只能检出有关物质的限度,而不能测定出准确的杂质量。而在硫酸羟氯喹及制剂的含量测定方法中,多采用氯仿提取羟氯喹后,采用非水滴定法进行测定。由于氯仿毒性较大,对实验操作者易造成伤害,对环境易造成污染。

### 发明内容

[0006] 本发明的创新在于开发了高效液相色谱法用于检测硫酸羟氯喹原料和制剂中的有关物质及含量,高效液相色谱法作为一种色谱分析方法,具有分离效果好,灵敏度高,分析速度快等优点。

[0007] 本发明克服了现有的检测方法专属性不强、灵敏度不高和使用有毒试剂的缺点。色谱条件为:

[0008] 固定相:十八烷基硅烷键合硅胶或辛烷硅烷键合硅胶

[0009] 流动相:水溶性有机溶剂、缓冲溶液组成的混合溶剂;采用等度或梯度进行洗脱。

[0010] 流速:0.5 ~ 2.0ml/min

[0011] 检测波长:220 ~ 300nm

[0012] 其中,配制缓冲溶液的盐包括醋酸盐、磷酸盐、阳离子对试剂等,其中优选磷酸盐,主要选自磷酸二氢钾、磷酸二氢钠、磷酸氢二钾、磷酸氢二钠。流动相中含有一定的三乙胺,有助于减少主成分色谱峰的拖尾,选用三乙胺的量为缓冲溶液的 0.01% ~ 1% V/V, 流动相

中缓冲液的 pH 选择范围为 7.2 ~ 8.2, 优选 pH8.0。

[0013] 其中, 所述流动相的混合溶剂中的水溶性有机溶剂为: 甲醇或乙腈, 或其他液相色谱中可接受的水溶性有机溶剂。

[0014] 本发明质量控制方法, 进行有关物质测定时, 可选用波长 220 ~ 270nm; 进行含量测定时, 可选用波长 245 ~ 300nm; 其中优选 254nm。

[0015] 本方法克服了现有的检测方法专属性不强、灵敏度不高和使用有毒试剂的缺点。

[0016] 图 1 显示, 硫酸羟氯喹原料中的杂质 1、2、3 分别为羟基喹啉、LC45-1、二氯喹啉(保留时间分别为 7.833、13.547、24.820min), 与硫酸羟氯喹峰(保留时间为 20.447min) 分离得很好。

### 附图说明

[0017] 图 1: 本发明有关物质具体实施例 1 中检测的有关物质图谱, 样品有关物质检测图谱。杂质 1、2、3 分别为羟基喹啉、LC45-1、二氯喹啉(保留时间分别为 7.833、13.547、24.820min), 硫酸羟氯喹峰(保留时间为 20.447min)

[0018] 图 2: 本发明有关物质具体实施例 1 中检测的有关物质对照图谱, 有关物质对照液图谱。硫酸羟氯喹峰(保留时间为 20.573min)

[0019] 图 3: 本发明含量具体实施例 1 中供试品溶液的色谱图, 含量测定中, 供试品溶液色谱图。硫酸羟氯喹峰(保留时间为 20.084min)

[0020] 图 4: 本发明含量具体实施例 1 中对照品溶液的色谱图, 含量测定中, 对照品溶液色谱图: 硫酸羟氯喹峰(保留时间为 20.103min)

### 具体实施方式

[0021] 下面通过具体实施例的方式对本发明做进一步详述, 但不应理解为是对本发明保护范围的限制, 凡基于上述技术思想, 利用本领域普通技术知识和惯用手段所做的修改、替换、变更均属于本发明的范围。

[0022] 检测有关物质具体实施例 1:

[0023] 用辛烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 以磷酸缓冲溶液(取磷酸二氢钾 2.72g, 置 1000ml 水中, 加三乙胺 2ml, 用 1mol 几氢氧化钾调节 pH 至  $8.0 \pm 0.05$  为流动相 A, 甲醇为流动相 B, 照下表进行梯度洗脱:

[0024]

| 时间(分钟)  | 流动相 A (V/V) | 流动相 B (V/V) |
|---------|-------------|-------------|
| 0 ~ 20  | 53 → 33     | 47 → 67     |
| 20 ~ 32 | 33          | 67          |

[0025] 检测波长为 254nm。理论板数按硫酸羟氯喹峰计算应不低于 2000。

[0026] 取硫酸羟氯喹原料药适量, 加溶剂 [流动相 A- 甲醇 (53 : 47)] 溶解并稀释制成每 1ml 中含 0.5mg 的溶液作为供试品溶液; 精密量取适量, 用上述溶剂稀释制成每 1ml 含  $5 \mu\text{g}$  的溶液作为对照溶液。分别精密量取供试品溶液和对照溶液各  $20 \mu\text{l}$ , 注入液相色谱

仪,记录色谱图。按自身低浓度对照法计算有关物质的含量。

[0027] 检测有关物质具体实施例 2:

[0028] 用辛烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以磷酸缓冲溶液(取磷酸二氢钠 3.12g,置 1000ml 水中,加三乙胺 5ml,用 1mol/L 氢氧化钾调节 pH 至  $8.0 \pm 0.05$ )为流动相 A,乙腈为流动相 B,照下表进行梯度洗脱:

[0029]

[0030]

| 时间(分钟)    | 流动相 A (V/V) | 流动相 B(V/V) |
|-----------|-------------|------------|
| 0 ~ 25    | 60 → 20     | 40 → 80    |
| 25.1 ~ 40 | 20          | 80         |

[0031] 检测波长为 254nm。理论板数按硫酸羟氯喹峰计算应不低于 2000。

[0032] 取硫酸羟氯喹原料药适量,加溶剂[流动相 A-乙腈(60:40)]溶解并稀释制成每 1ml 中含 0.5mg 的溶液作为供试品溶液;精密量取适量,用上述溶剂稀释制成每 1ml 含  $5 \mu\text{g}$  的溶液作为对照溶液。分别精密量取供试品溶液和对照溶液各  $20 \mu\text{l}$ ,注入液相色谱仪,记录色谱图。按自身低浓度对照法计算有关物质的含量。

[0033] 检测有关物质具体实施例 3:

[0034] 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以磷酸缓冲溶液(取磷酸二氢钾 5.44g,置 1000ml 水中,加三乙胺 3ml,用 1mol/L 氢氧化钾溶液调节 pH 值至  $8.0 \pm 0.05$ )-甲醇(60:40)为流动相,检测波长为 254nm。理论板数按硫酸羟氯喹峰计算应不低于 2000。

[0035] 取硫酸羟氯喹原料药适量,用流动相溶解并稀释制成每 1ml 中含 0.4mg 的溶液作为供试品溶液;精密量取适量,用流动相稀释制成每 1ml 含  $4 \mu\text{g}$  的溶液作为对照溶液。分别精密量取供试品溶液和对照溶液各  $20 \mu\text{l}$ ,注入液相色谱仪,记录色谱图。按自身低浓度对照法计算有关物质的含量。

[0036] 检测有关物质具体实施例 4:

[0037] 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以磷酸缓冲溶液(取磷酸二氢钾 5.44g,置 1000ml 水中,加三乙胺 2ml,用 1mol/L 氢氧化钾溶液调节 pH 值至  $8.0 \pm 0.05$ )-甲醇(60:40)为流动相,检测波长为 254nm。理论板数按硫酸羟氯喹峰计算应不低于 2000。

[0038] 取硫酸羟氯喹原料药适量,用流动相溶解并稀释制成每 1ml 中含 0.4mg 的溶液作为供试品溶液;精密量取适量,用流动相稀释制成每 1ml 含  $4 \mu\text{g}$  的溶液作为对照溶液。分别精密量取供试品溶液和对照溶液各  $20 \mu\text{l}$ ,注入液相色谱仪,记录色谱图。按自身低浓度对照法计算有关物质的含量。

[0039] 检测有关物质具体实施例 5:

[0040] 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以磷酸缓冲溶液(取磷酸二氢钾 5.44g,置 1000ml 水中,加三乙胺 1ml,用 1mol/L 氢氧化钾溶液调节 pH 值至  $8.0 \pm 0.05$ )-甲醇(60:40)为流动相,检测波长为 254nm。理论板数按硫酸羟氯喹峰计算应不低于 2000。

[0041] 取硫酸羟氯喹片细粉适量,用流动相溶解并稀释制成每 1ml 中含 0.4mg 的溶液,滤过,取续滤液作为供试品溶液;精密量取适量,用流动相稀释制成每 1ml 含  $4 \mu\text{g}$  的溶液作为

对照溶液。分别精密量取供试品溶液和对照溶液各 20  $\mu$  l, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。按自身低浓度对照法计算有关物质的含量。

[0042] 含量测定具体实施例 1:

[0043] 用辛烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 以磷酸缓冲溶液 (取磷酸二氢钾 2.72g, 置 1000ml 水中, 加三乙胺 2ml, 用 1mol 几氢氧化钾调节 pH 至 8.0 $\pm$ 0.05) 为流动相 A, 甲醇为流动相 B, 照下表进行梯度洗脱:

[0044]

| 时间(分钟)  | 流动相 A (V/V)         | 流动相 B (V/V)         |
|---------|---------------------|---------------------|
| 0 ~ 20  | 53 $\rightarrow$ 33 | 47 $\rightarrow$ 67 |
| 20 ~ 32 | 33                  | 67                  |

[0045] 检测波长为 254nm。理论板数按硫酸羟氯喹峰计算应不低于 2000。

[0046] 取硫酸羟氯喹原料药适量, 精密称定, 加溶剂 [流动相 -A 甲醇 (53 : 47)] 溶解并定量稀释制成每 1ml 中含 0.1mg 的溶液, 作为供试品溶液; 另取 105 $^{\circ}$ C 干燥后的酸羟氯喹对照品适量, 精密称定, 加上述溶剂溶解并稀释制成每 1ml 中约含 0.1mg 的溶液作为对照品溶液; 分别量取上述供试品溶液和对照品溶液 20  $\mu$  l 注入液相色谱仪, 记录色谱图。按外标法以峰面积计算, 即得。

[0047] 含量测定具体实施例 2:

[0048] 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 以磷酸缓冲溶液 (取磷酸二氢钾 2.72g, 置 1000ml 水中, 加三乙胺 2ml, 用 1mol 几氢氧化钾调节 pH 至 8.0 $\pm$ 0.05) - 甲醇 (60 : 40) 为流动相, 检测波长为 329nm。理论板数按硫酸羟氯喹峰计算应不低于 2000。

[0049] 取硫酸羟氯喹原料药适量, 精密称定, 加流动相溶解并定量稀释制成每 1ml 中含 0.1mg 的溶液, 作为供试品溶液; 另取 105 $^{\circ}$ C 干燥后的酸羟氯喹对照品适量, 精密称定, 加流动相溶解并稀释制成每 1ml 中约含 0.1mg 的溶液作为对照品溶液; 分别量取上述供试品溶液和对照品溶液 20  $\mu$  l 注入液相色谱仪, 记录色谱图。按外标法以峰面积计算, 即得。

[0050] 含量测定具体实施例 3:

[0051] 用辛烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 以磷酸缓冲溶液 (取磷酸氢二钠 4.0g, 置 1000ml 水中, 加三乙胺 2ml, 用 1mol 几氢氧化钾调节 pH 至 8.0 $\pm$ 0.05) - 乙腈 (70 : 30) 为流动相, 检测波长为 254nm。理论板数按硫酸羟氯喹峰计算应不低于 2000。

[0052] 取硫酸羟氯喹片 20 片, 精密称定, 研细, 取细粉适量, 加流动相溶解并定量稀释制成每 1ml 中含 0.1mg 的溶液, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液; 另取 105 $^{\circ}$ C 干燥后的酸羟氯喹对照品适量, 精密称定, 加流动相溶解并稀释制成每 1ml 中约含 0.1mg 的溶液作为对照品溶液; 分别量取上述供试品溶液和对照品溶液 20  $\mu$  l 注入液相色谱仪, 记录色谱图。按外标法以峰面积计算, 即得。

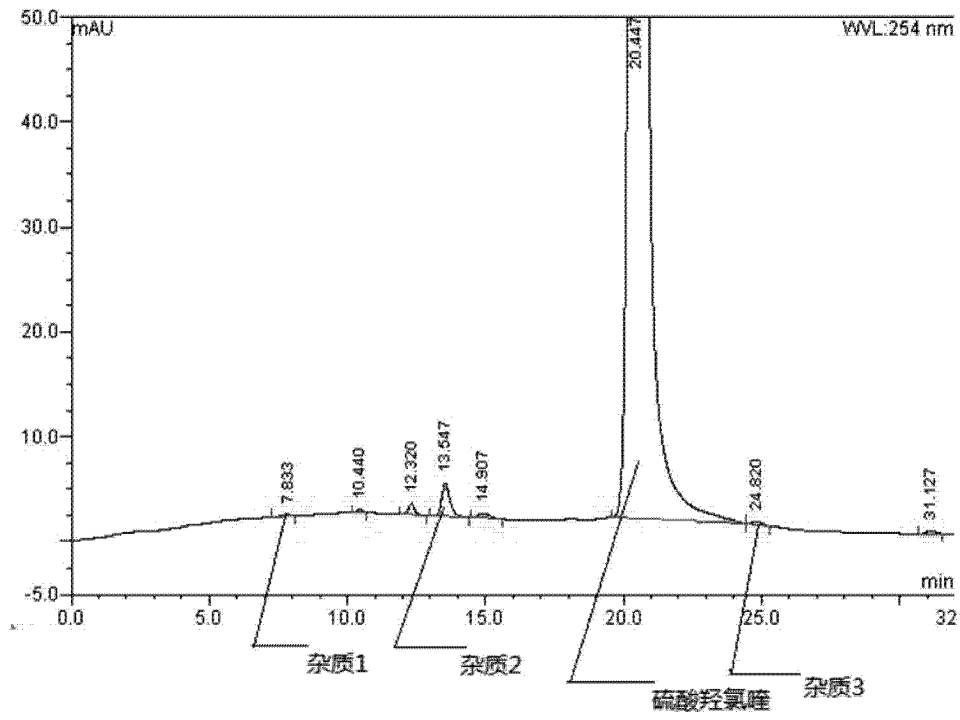


图 1

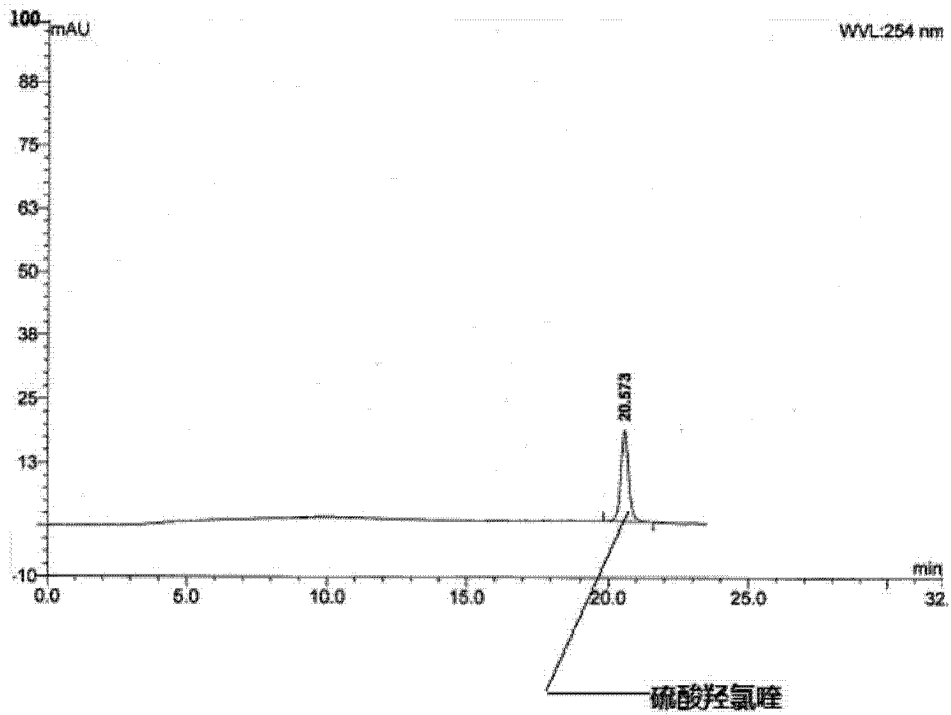


图 2

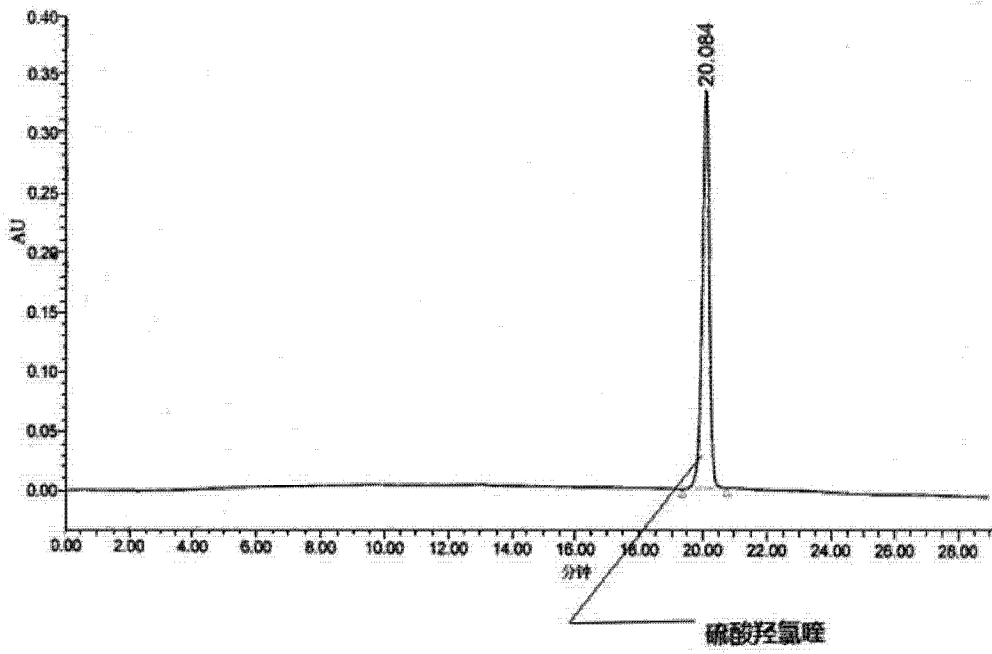


图 3

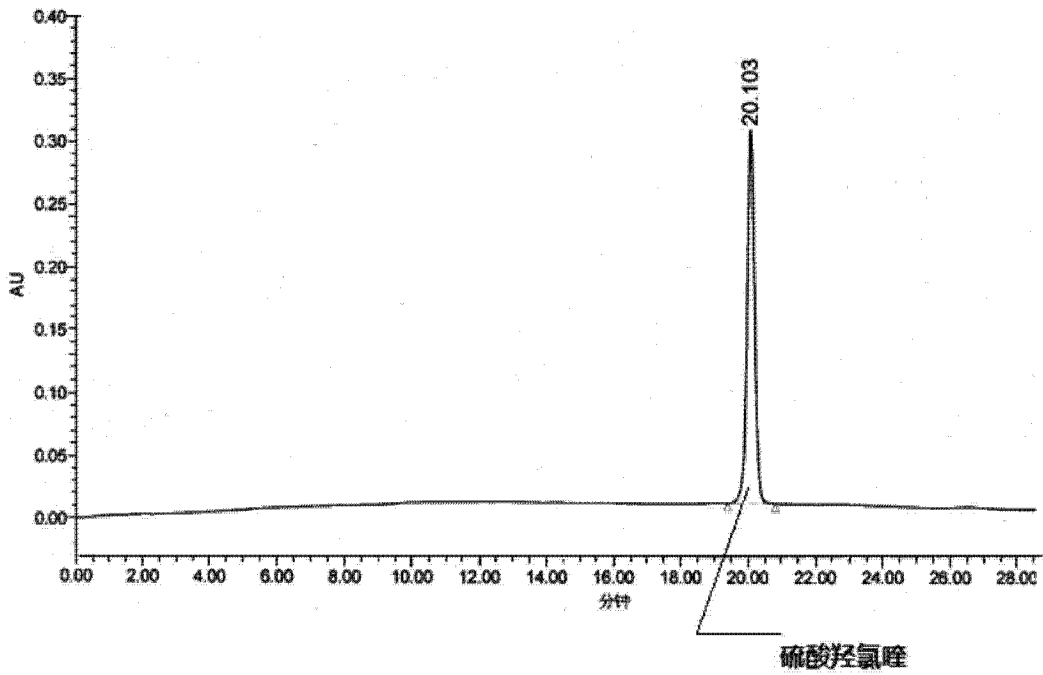


图 4