

# HPLC 法测定阿苯达唑有关物质

孙海玲 陶怡 谭金玲 姜石畅 鲍实\*

湖北省药品监督检验研究院

DOI:10.12238/fcmr.v6i3.9254

**[摘要]** 目的: 探讨阿苯达唑有关物质的HPLC测定方法,方法: 采用Welch AQ 250m\*4.65  $\mu\text{m}$ 色谱柱,梯度洗脱,流动相A: 0.01mol.L<sup>-1</sup>乙酸铵(用甲酸调节pH至2.2),流动相B: 甲醇,流速为1ml.min<sup>-1</sup>,波长为254nm与292nm。结果: 阿苯达唑与各杂质有效分离,12个杂质在1~7  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 浓度范围内线性良好,回收率均在80%~120%之间。结论: 该方法首次将阿苯达唑及12个已知杂质有效分离,方法简便,专属性强,可作为产品的质量检测方法。

**[关键词]** 阿苯达唑; 有关物质; HPLC; 氧化杂质

中图分类号: TF703.5+1 文献标识码: A

## Determination of albendazole related substances by HPLC

Hailing Sun Yi Tao Jinling Tan Shichang Jiang Shi Bao\*

Hubei Provincial Institute of Drug Supervision and Inspection

**[Abstract]** Objective: To establish A HPLC Methods for the determination of albendazole related substances: Welch AQ 250m\*4.6 5 $\mu\text{m}$  column, gradient elute, mobile phase A: 0.01 mol.L<sup>-1</sup> ammonium acetate (pH adjusted to 2.2 with formic acid), mobile phase B: Methanol, flow rate is 1ml.min<sup>-1</sup>, wavelength is 254nm and 292nm. Results: Albendazole was effectively separated from the impurities, and the 12 impurities had good linearity in the concentration range of 1–7  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , and the recoveries were between 80% and 120%. Conclusion: Albendazole and 12 known impurities were effectively separated by this method for the first time The method is simple and specific, and can be used as a quality detection method for products.

**[Key words]** Albendazole related substances HPLC/ MS oxidized impurities

阿苯达唑异名丙硫咪唑,化学名: [5-(丙硫基)-1H-苯并咪唑-2-基]氨基甲酸甲酯。阿苯达唑作为苯并咪唑类药物中驱虫谱较广,杀虫作用最强的一种驱虫药,适用于驱除蛔虫、蛲虫、钩虫、鞭虫。是世界卫生组织(WHO)推荐的驱虫药,也是我国的基本药物。阿苯达唑于1975年由捷瑞克(Gyurik)和泰奥多里德(Theodorides)合成,在美国史(Smithkline)公司开发。开始作为家畜用驱虫药使用,1982年作为驱虫新药首次用于临床,治疗人类的蠕虫病。1979年我国农牧渔业部兽医药品监察所首次合成。1981年湖北省医药工业研究所合成,湖北省仙桃市第一制药厂生产供人畜应用。1987年中美天津史克引进美国史克公司的阿苯达唑片,进行专利生产,在中国上市。结构式如下:

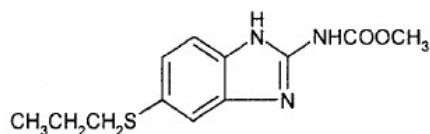


图1 阿苯达唑结构式

经国家药品监督管理局网站数据查询,阿苯达唑原料共有6个生产厂家,6个批准文号,该品种国内口服制剂的原料药主要是由湖北中佳合成制药有限公司生产。根据国内外标准比对及部分厂家(中美史克)的有关物质检查结果可知:(1)仅有天津中美史克的法定标准对有关物质进行了控制,其他国内生产企业均未对有关物质进行控制;(2)EP10.0收载的阿苯达唑标准收载了12个已知杂质<sup>[1-3]</sup>,并对其中的已知杂质A、B/C、D、E、F及H进行了控制,中美史克执行的国家食品药品监督管理局标准YBH05252018也对已知杂质A、B/C、D、E、F及H进行了控制。原料药的质量控制对制剂的治疗效果产生重要影响,因此建立有关物质检测方法并进行方法学验证,以及通过液质联用技术对可能产生的降解杂质进行分析,为国内的阿苯达唑原料药的质量控制提供研究数据。重点对EP10.0的12个已知杂质进行重点研究<sup>[4-9]</sup>。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

Waters高效液相(waters e2695),电子分析天平(梅特勒)。

## 1.2 试药

阿苯达唑原料药(),阿苯达唑对照品(批号:100373-201103,含量:99.9%,来源:中国食品药品检定研究院),阿苯达唑对照品(批号:R110M0,含量:99.6%,来源:USP),阿苯达唑对照品(批号:A0325100,含量:100%,来源:EP),杂质A(批号:4X-15351-1901,含量:98.1%,来源:EP),杂质B(批号:16S-TRU-06-3,来源:EP),杂质C(批号:4X-15353-1702,含量:96.6%,来源:EP),杂质D(批号:4X-15354-1708,含量:99.8%,来源:EP),杂质E(批号:4X-15355-1703,含量:99.5%,来源:EP)杂质F(批号:4X-15356-1812,含量:99.0%,来源:EP)杂质G(湖北中佳药业提供),杂质H(批号:16S-ESA-06-2,来源:EP)杂质I(批号:17S-DFR-17-5,来源:EP),杂质J(批号:16S-GHU-58-3,来源:EP),杂质K(批号:16S-DSC-27-4,来源:EP),杂质L(批号:16S-ASD-44-5,来源:EP)甲醇:色谱纯,由默克公司生产;硫酸、磷酸二氢铵、醋酸铵、甲酸,均为分析纯,由国药集团化学试剂有限公司生产。乙酸铵(LiChropur,批号A1468804 021),甲酸(赛默飞,批号157296),甲醇为色谱纯,水为去离子水。

## 2 方法与结果

## 2.1 色谱条件

用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,流动相A:0.01mol·L<sup>-1</sup>乙酸铵溶液为(用甲酸调节pH值为2.2)流动相B:甲醇,按表1梯度程序进行洗脱,检测波长:254nm与292nm;进样体积:10 μl;柱温:35℃,流速:1.0ml·min<sup>-1</sup>。

表1 梯度洗脱表

时间	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0	65	35
20	65	35
50	30	70
51	65	35
60	65	35

## 2.2 溶液的配制

系统适用性溶液:分别取阿苯达唑及12种已知杂质适量,精密称定,加稀释溶剂(1%硫酸甲醇20ml使溶解,再加流动相A—甲醇(65:35)至100ml)溶解并稀释制成含各已知杂质均约10 μg/ml及阿苯达唑1mg/ml的溶液。

供试品溶液:精密称取阿苯达唑原料加稀释溶剂制备成1mg/ml的溶液。

对照品溶液:精密称取阿苯达唑及各杂质加稀释溶剂制备成含阿苯达唑与各杂质均为10 μg/ml的溶液。

## 2.3 方法专属性

取阿苯达唑原料0.2139g置20ml量瓶中,加1%甲醇制硫酸溶液适量使溶解并稀释至刻度,摇匀。分别精密量取1ml至5个10ml量瓶中,分别加入1mol/L的盐酸溶液2ml,放置2小时,中和后作为酸破坏溶液;加1mol/L的氢氧化钠溶液2ml,放置2小时,中和后作为碱破坏溶液;加1%的双氧水溶液2ml,放置10分钟后作

为氧化破坏溶液;80℃水浴中加热,取出放冷后作为热破坏溶液;日光照射24小时作为光破坏溶液。按照拟定的HPLC色谱方法,进样10 μl,记录色谱图。实验表明:上述HPLC法能使各种强降解条件产生的降解物与阿苯达唑有效的分离,专属性良好。

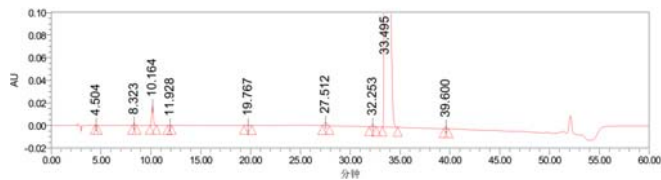


图2 阿苯达唑样品酸破坏色谱图

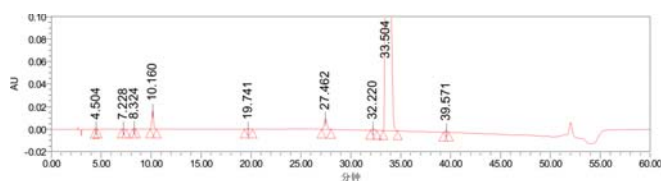


图3 阿苯达唑样品碱破坏色谱图

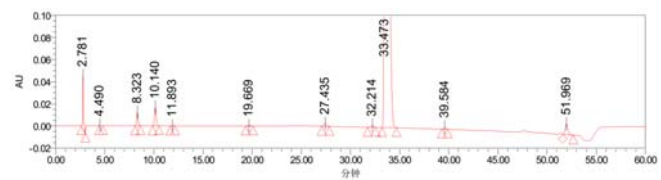


图4 阿苯达唑样品氧化破坏色谱图

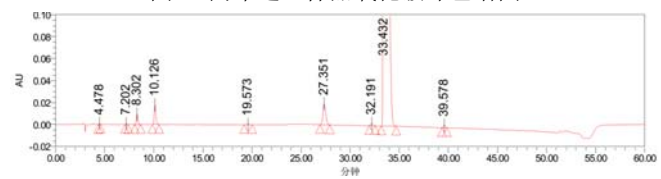


图5 阿苯达唑样品热破坏色谱图

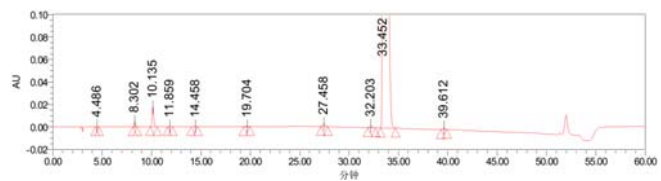


图6 阿苯达唑样品光破坏色谱图

## 2.4 杂质回收率

分别精密称取各杂质用稀释溶剂制备成100 μg/ml的杂质对照品储备液。精密称取中佳(批号C1001-200101M)阿苯达唑加稀释溶剂制备成1mg/ml的阿苯达唑储备液。精密量取各杂质储备液3ml、4ml、5ml置100ml量瓶中,再分别精密加入阿苯达唑储备液1.0ml制备成相当于标示量80%、100%、120%的回收率溶液。记录色谱图,以峰面积计算各杂质的回收率,12个杂质的回收率均在80%~120%。

## 2.5 检出限与定量限

采用拟定的色谱条件测定12个已知杂质的定量限(信噪比大于10)与检出限(信噪比大于3),结果见表2。

表3 有关物质测定结果(%)

厂家	批号	杂质A	杂质B	杂质C	杂质D	杂质E	杂质F	杂质G	杂质H	杂质I	杂质J	杂质K	杂质L	单杂	总杂
1	200702M	0.22	0.09	NA	NA	0.12	0.41	NA	NA	NA	NA	NA	0.18	0.13	1.4
2	/	0.26	0.17	NA	NA	0.15	0.59	NA	NA	NA	NA	NA	0.18	0.12	1.75
3	20191102	0.79	1.82	NA	NA	0.34	1.83	NA	NA	NA	NA	NA	0.1	0.1	5.14
4	201401	0.13	0.14	NA	NA	0.2	0.48	NA	NA	NA	NA	NA	0.19	0.07	1.47
5	1844502	NA	0.16	NA	NA	0.26	0.76	0.06	0.3	NA	NA	NA	NA	0.11	1.9
6	200604M	0.16	0.1	NA	NA	0.18	0.51	NA	NA	NA	NA	NA	0.23	0.09	1.46

表2 阿苯达唑杂质检出限与定量限

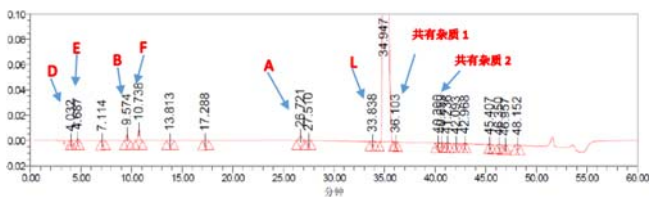
杂质	检出限			定量限		
	进样浓度 (μg/ml)	进样体积 (μl)	检出限 (ng)	进样浓度 (μg/ml)	进样体积 (μl)	定量限 (ng)
A	0.534	5	2.8	1.268	5	6.34
B	0.548	5	2.7	1.096	5	5.5
C	0.551	5	2.7	1.102	5	5.5
D	1.028	2	2.1	1.028	5	5.1
E	0.56	5	2.8	1.12	5	5.6
F	1.072	2	2.1	1.072	5	5.4
G(292nm)	0.0654	50	3.27	0.0654	100	6.54
H(292nm)	0.0612	50	3.06	0.0612	100	6.12
I(292nm)	0.0601	50	3.01	0.0601	10	6.02
J	0.516	5	2.6	1.032	5	10.3
K	0.546	5	2.7	1.092	10	10.9
L	0.525	5	2.6	1.05	10	10.5

2.6耐用性

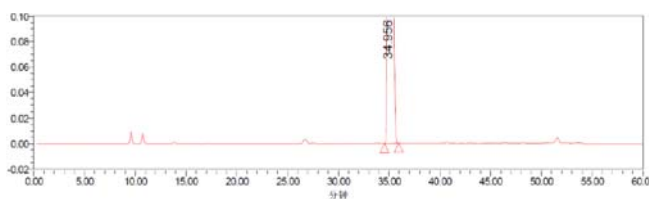
对不同品牌色谱柱及流动相pH±0.1进行耐用性考察,结果表明均不影响各杂质之间的有效分离。

2.7有关物质测定

按“2.2”项下方法制备有关物质样品溶液和对照品溶液,按外标法以峰面积计算各已知杂质的含量,其他杂质以阿苯达唑外标法以峰面积计算含量,结果见表3。典型色谱图见图7。



a. 254nm



b. 292nm

图7 企业6有关物质色谱图

3 总结

本实验建立的测定阿苯达唑有关物质高效液相色谱法,该方法首次将阿苯达唑及12个已知杂质有效分离,方法简便,专属性强,可作为产品的质量检测方法。

湖北省药品监督管理局项目,项目名称:基于阿苯达唑多晶型表现溶出率对其片剂一致性评价体外溶出行为影响的研究(项目编号:20220109)。

[参考文献]

[1]Ch.P(2010)Vol II(中国药典2010年版.二部)[S].2010:393.

[2]BP 2011[S].2011:78-79.

[3]EP 7.0[S].2008:1335-1336.

[4]郑爱华,黄金占,陈祖国.合成阿苯达唑的研究进展[J].浙江化工,2018(49):12.

[5]李安良,许爱霞.阿苯达唑中杂质的检测[J].中国医药工业杂质,1991(22):8.

[6]孙春艳,赵亚萍,郭江红.HPLC测定阿苯达唑有关物质[J].中国现代应用药学,2012(3):29.

[7]刘志辉.HPLC测定阿苯达唑片的含量与有关物质[J].中国药师,2014(17):3.

[8]Haibo Zhanga,b,1,Jun Zhaoa,1,Bei Chena.Pharmacokinetics and tissue distribution study of liposomal albendazole in naturally Echinococcus granulosus infected sheep by a validated UPLC-Q-ToF-MS method[J].Journal of Chromatography B,1141(2020):122016.

[9]Yan Lin,a Yih Ching Ong,a Sarah Keller.Synthesis, characterization and antiparasitic activity of organometallic derivatives of the anthelmintic drug albendazole[J].Dalton Trans., 2020,(49)6616.

作者简介:

孙海玲(1983--),女,汉族,湖北省孝感市人,高级职称,研究方向: 药物分析。

通讯作者:

鲍实(1982--),女,汉族,湖北人,研究生,高级工程师,湖北省药品监督检验研究院,研究方向: 药物分析。