

离子色谱法测定盐酸法舒地尔药物中高哌嗪含量

张婷婷

赛默飞世尔科技（中国）有限公司

关键词：离子色谱；高哌嗪；盐酸法舒地尔

Key words: Ion Chromatography; Homopiperazine; Fasudil Hydrochloride

引言

盐酸法舒地尔作为高效的血管扩张药物，可以有效缓解脑血管痉挛，是一种具有广泛药理作用的新型药物^[1-2]。高哌嗪是盐酸法舒地尔合成过程的中间体^[3]，文献报道测定盐酸法舒地尔的方法为液相色谱法^[4]，而其中的杂质高哌嗪含量的测定方法鲜有文献报道，主要原因是高哌嗪含量较低，在常规的反相色谱柱上保留较弱，同时没有紫外吸收，因此本文采用离子色谱的方法，电导作为检测器测定盐酸法舒地尔药品中高哌嗪的含量。

测试条件

仪器：ICS 2100系统（EG淋洗液发生装置）；

分析柱：IonPac CS17，250×4 mm；

保护柱：IonPac CG17，50×4 mm；

柱温：30℃；

淋洗液：17 mmol甲烷磺酸加15%乙腈，等度淋洗；

流速：1.00 mL/min；

定量环：25 μL；

检测方式：抑制型电导检测器（CMMS 300 4 mm抑制器）

样品前处理

精密称量盐酸法舒地尔固体样品0.50 g于100.0 mL容量瓶中，加MSA溶液溶解并定容到100 mL，将样品溶液过0.45 μm的滤膜和OnGuard RP固相萃取小柱（活化），待测。

结果和讨论

样品前处理方法优化

盐酸法舒地尔的结构如图1所示，具有苯环结构，与离子色谱柱CS17填料的苯乙烯-二乙烯苯聚合物骨架（图2）结构具有较强作用力，因此必须在前处理过程中将药物盐酸法舒地尔去除。比较了不同浓度MSA溶液将样品溶解，过OnGuard RP前处理小柱后高哌嗪的峰面积，结

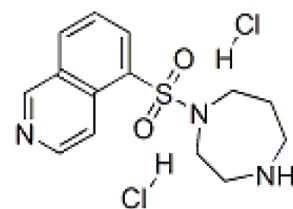


图1 盐酸法舒地尔的结构图

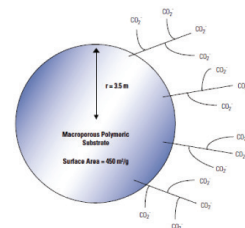


图2 IonPac CS17 色谱柱填料的结构图

果表明低浓度条件下，高哌嗪在前处理小柱上有吸附，而大于15 mmol/L浓度时，高哌嗪的峰面积与直接进样一致（见表1），故采用与流动相浓度一致的17 mmol/LMSA作为溶解样品的最佳溶液。

表1 溶液浓度和高哌嗪峰面积

MSA/mmol/L	Area of Homopiperazine/μS * min
0	0.01
5	0.03
10	0.11
15	0.18
17	0.18
20	0.18
直接进样	0.18

色谱柱填料对高哌嗪分离的影响

分别比较了不同类型的阳离子交换色谱柱Ion Pac CS12A、Ion Pac CS16和Ion Pac CS17对高哌嗪分离的影响，其中Ion Pac CS12A和Ion Pac CS16色谱柱柱容量中等偏高，拖尾严重，保留时间长，而Ion Pac CS17色谱柱柱容量相对较低，与待测离子的疏水作用力小，能够对高哌嗪进行定量分析（图3）。

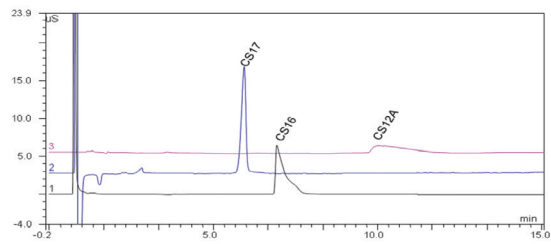


图3 不同色谱柱分离高哌嗪的色谱图

乙腈含量对高哌嗪分离的影响

考察了淋洗液中不同比例的乙腈对高哌嗪分离的影响，在较低比例时，高哌嗪与固定相的疏水作用力较强，导致保留时间较长，且峰展宽拖尾严重；在较高比例时，高哌嗪保留时间较短，分离易受到其他杂质离子的干扰，基线噪音偏大。故选择15%乙腈含量作为最优的淋洗液条件（图4）。

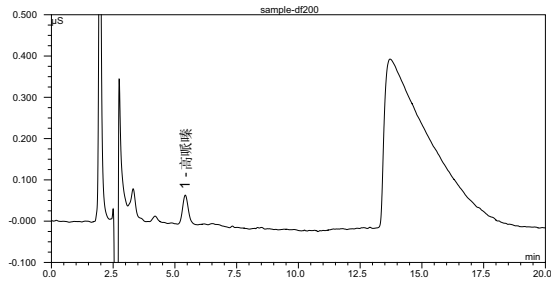


图4 盐酸法舒地尔样品中高哌嗪的色谱图

方法的检出限、定量限和线性范围

按色谱条件进行测定，以待测物的平均色谱峰面积对其在溶液中的含量进行线性回归，高哌嗪在0.05-5.0 mg/L测定范围内具有良好的线性，相关系数大于0.9996。依据色谱峰的信噪比，得到高哌嗪的LOD为0.015mg/L，LOQ为0.05mg/L。

样品测定

对盐酸法舒地尔样品进行前处理后，按测试条件进行测定，外标法定量，重复进样6次，其中盐酸法舒地尔样品中高哌嗪的加标回收率和相对标准偏差见表2。

结论

本文采用高效离子色谱法测定了盐酸法舒地尔中高哌嗪的含量，方法简单，分离柱效高，测定结果满足要求。高效离子色谱方法在药物杂质离子的测定中有比较广泛的应用前景。

参考文献

[1] 张明, 孙晓川. 法舒地尔的药理作用及其临床应用的研究进展. 山西医科大学学报, 2007, 38(4): 369-373

[2] Nishikimi, Toshio; Akimoto, Kazumib; Wang, Xina; Mori, Yosukea. Fasudil, a Rho-kinase inhibitor, attenuates glomerulosclerosis in Dahl salt-sensitive rats, Journal of Hypertension. 2004, 22(9): 1787-1796

[3] Ogata, Seiji; Morishige, Ken-Ichirou; Sawada, Kenjiro. Fasudil Inhibits Lysophosphatidic Acid-Induced Invasiveness of Human Ovarian Cancer Cells. International Journal of Gynecological Cancer, 2009, 19(9): 1473-1480

[4] Huaying Chen, Yang Lin, Min Han. Simultaneous quantitative analysis of fasudil and its active metabolite in human plasma by liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2010, 52(2): 242-248

表2 盐酸法舒地尔样品中高哌嗪的加标回收率及其相对标准偏差（n=6）

Compound	Added/(mg/L)	Found/(mg/L)	Recovery/%	RSD/%
Homopiperazine	0.5	1.373 ± 0.031	97.8	0.65
	1.0	1.896 ± 0.028	101.2	0.72
	2.0	2.850 ± 0.043	98.3	0.96

www.thermoScientific.com

©2013 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. ISO is a trademark of the International Standards Organization. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries. This information is presented as an example of the capabilities of Thermo Fisher Scientific Inc. products. It is not intended to encourage use of these products in any manners that might infringe the intellectual property rights of others. Specifications, terms and pricing are subject to change. Not all products are available in all countries. Please consult your local sales representative for details.



Thermo Fisher
Scientific, Austin, TX
USA is ISO 9001:2008 Certified.

上海
上海浦东
新金桥路 27 号 6 号楼

成都
成都市武侯区临江西路 1 号
锦江国际大厦 1406

北京
北京东城区安定门东大街 28 号
雍和大厦西楼 F 楼 7 层

沈阳
沈阳市沈河区惠工街 10 号
卓越大厦 3109 室

广州
广州市东风中路 410-412 号
时代地产中心 3001-04 室

西安
西安市高新区科技路 38 号
林凯国际大厦 1006-08 单元

服务热线
800 810 5118
400 650 5118

AN_C_IC-28

ThermoFisher
SCIENTIFIC