

采用加校正因子主成分自身对照法测定马来酸依那普利片有关物质

LC-252

摘要：本文采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱仪，建立了加校正因子的主成分自身对照法测定马来酸依那普利片有关物质的方法。该方法中，依那普利及其有关物质在 0.1-50.0 mg/L 线性范围内，线性相关性良好，相关系数均大于 0.999；依那普利及其有关物质保留时间 RSD% 为 0.06~0.24%，峰面积 RSD% 为 0.03~1.28%，稳定性良好；依那普利拉（杂质 I）、依那普利双酮（杂质 II）校正因子分别为 0.85 和 0.94，加校正因子的主成分自身对照法和不加校正因子的主成分自身对照法测得结果无显著性差异。实验结果表明，该方法能快速准确地测定马来酸依那普利片的有关物质。

关键词：Nexera LC-40 校正因子 主成分自身对照法 有关物质

马来酸依那普利片是临床上常用于抗高血压的血管紧张素酶抑制剂，其主要降解产物为依那普利拉和依那普利双酮^[1]。按照 2020 年版《中国药典》（第二部）马来酸依那普利片检查项下限度要求，使用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱仪对马来酸依那普利片有关物质进行测定。

随着对杂质研究的逐渐深入，研究人员越来越倾向于对已知杂质采用外标法或加校正因子的主成分自

身对照法定量^[2]。本实验使用了加校正因子主成分自身对照法计算依那普利拉（杂质 I）和依那普利双酮（杂质 II）的量，以提高了定量结果的准确性。

本实验使用 Nexera LC-40 高效液相色谱仪建立了加校正因子的主成分自身对照法测定马来酸依那普利片有关物质的方法，该系统具有稳定性良好、结果准确度高的特点，适用于制药药检相关行业对药品质量控制和分析的检验检测工作。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱仪，配置信息如下：

系统控制器：SCL-40

自动进样器：SIL-40C XR

柱温箱：CTO-40C

输液泵：LC-40B XR

脱气机：DGU-405

二极管阵列检测器：SPD-M40

色谱工作站：Labsolutions Ver. 5.99

1.2 分析条件

色谱柱：Shim-pack GIST C8（100 mm × 2.1 mm I.D.，2 μm；岛津（上海）实验器材有限公司；P/N：227-30160-04）

流动相 A：磷酸盐缓冲溶液（0.01 mol/L 磷酸二氢钾溶液，用磷酸调 pH 值为 2.2）

流动相 B：乙腈

流速：0.4 mL/min

柱温：50°C

检测波长：215 nm

进样体积：20 μL

洗脱方式：等度洗脱，B 相浓度为 25%

■ 样品前处理

参照 2020 年版《中国药典》（第二部）^[3] 马来酸依那普利检查项下有关物质溶液制备方法配制。

系统适用性溶液：取马来酸依那普利及依那普利拉（杂质 I）、依那普利双酮（杂质 II）对照品各 10 mg，精密称定，分别置 100 mL 量瓶中，加流动相溶解并稀释至刻度，摇匀作为对照品储备液。精密量取上述三种对照品储备液各 2 mL，置同一 10 mL 量瓶中，加流动相稀释至刻度，摇匀，作为系统适用性试验溶液。

对照品溶液：精密量取马来酸依那普利及依那普利拉（杂质 I）、依那普利双酮（杂质 II）对照品储备溶液各 2 mL，置同一 100 mL 量瓶中，加流动相溶解并稀释至刻度。

供试品溶液：精密称取本品细粉适量（相当于马来酸依那普利 10 mg），置 5 mL 量瓶中，加流动相超声溶解并稀释至刻度。

对照溶液：精密量取供试品溶液 3 mL 置 100 mL 量瓶中，加流动相稀释至刻度，摇匀，即得。

■ 结果与讨论

3.1 色谱图

取 2 中的系统适用性溶液及对照品溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，色谱图如图 1~2 所示。系统适用性结果见表 1。结果表明，所有化合物系统适用性试验结果符合 2020 年版《中国药典》（第四部）通则 0512 高效液相色谱法规定。

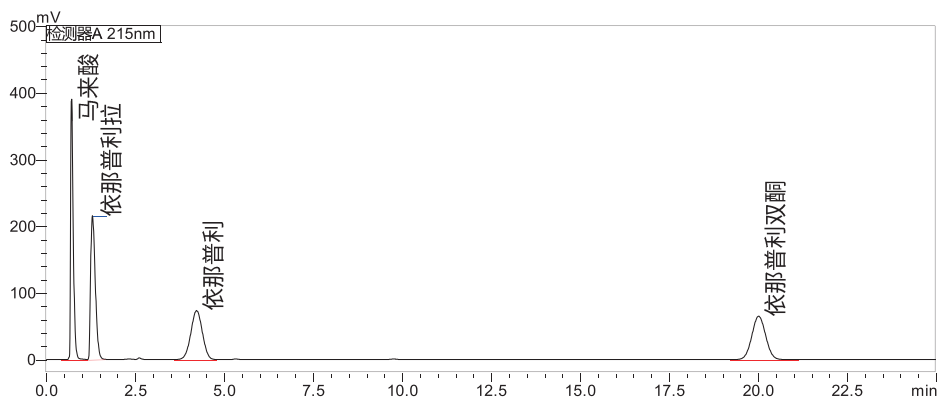


图 1 系统适用性溶液色谱图 (20.0 mg/L)

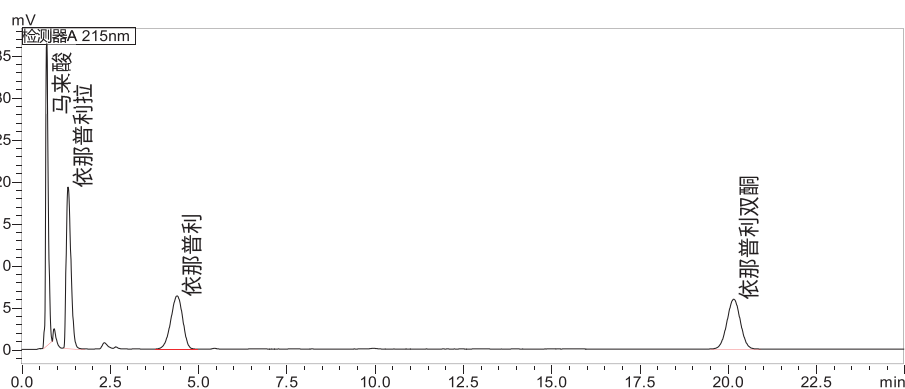


图 2 对照品溶液色谱图 (2.0 mg/L)

表 1 依那普利及其有关物质灵敏度结果

化合物名称	分离度	拖尾因子
依那普利拉 (杂质 I)	2.945	1.085
依那普利	6.878	0.994
依那普利双酮 (杂质 II)	23.930	1.029

3.2 线性范围

配制依那普利及其有关物质系列浓度混合工作溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积比为纵坐标，采用外标法建立标准曲线，结果如图 3 所示，依那普利及其有关物质在 0.1-50.0 mg/L 线性浓度范围内，线性相关性良好，相关系数均大于 0.999，具体结果见表 2。

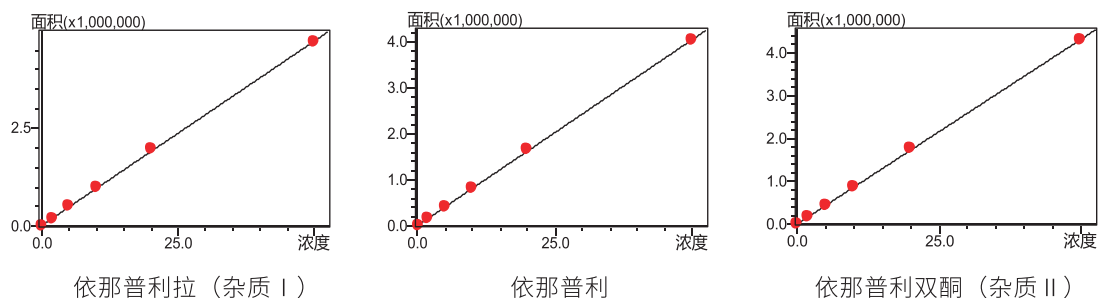


图 3 依那普利及其有关物质标准曲线图

表 2 标准曲线参数

化合物名称	线性方程	线性范围 (mg/L)	相关系数 r	准确度 (%)
依那普利拉 (杂质 I)	$Y = 96194.9X + (-250.220)$		0.9997	93.5-104.8
依那普利	$Y = 81667.0X + (-916.219)$	0.1-50.0	0.9999	97.0-102.9
依那普利双酮 (杂质 II)	$Y = 86680.7X + (-1717.01)$		0.9999	96.5-102.4

3.3 精密度

取混合工作标准溶液 (0.1 mg/L、5.0mg/L、20.0 mg/L) 连续进样 6 次，考察仪器精密度，结果如表 3，依那普利及其有关物质保留时间 RSD% 为 0.06~0.24%，峰面积 RSD% 为 0.03~1.28%，仪器精密度良好。

表 3 精密度结果 (n=6)

化合物名称	0.1 mg/L		5.0 mg/L		20.0 mg/L	
	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD(%)	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD(%)	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD(%)
依那普利拉 (杂质 I)	0.06	0.41	0.05	0.04	0.14	0.04
依那普利	0.11	0.81	0.10	0.05	0.24	0.04
依那普利双酮 (杂质 II)	0.13	1.28	0.12	0.05	0.15	0.03

3.4 灵敏度

按照 1.2 分析条件测定，混合标准工作溶液中最低点 0.1 mg/L 计算仪器灵敏度，通过 LabSolutions 软件计算仪器检测限及定量限，结果见表 4。

表 4 依那普利及其有关物质灵敏度结果

化合物名称	检测限 LOD($\mu\text{g/L}$)	定量限 LOQ($\mu\text{g/L}$)
依那普利拉 (杂质 I)	1.15	3.82
依那普利	3.71	12.36
依那普利双酮 (杂质 II)	4.27	14.24

3.5 方法回收率

取已知两种杂质含量的供试品，分别精密加入相当于两种杂质含量的 80%、100% 与 120% 的杂质对照品，按 2 中供试品溶液的制备进行样品前处理，制备低、中、高 3 种浓度的溶液，进样测定，回收率测定结果见表 5。依那普利拉 (杂质 I) 的平均回收率为 97.7%，依那普利双酮 (杂质 II) 的平均回收率为 95.4%。

表 5 回收率结果考察 (n=4)

化合物名称	低浓度 (80%)	中浓度 (100%)	高浓度 (120%)
依那普利拉 (杂质 I)	93.1%	92.0%	108.0%
依那普利双酮 (杂质 II)	92.4%	95.6%	98.3%

3.6 校正因子的计算

以 3.2 中标准曲线所得的依那普利和依那普利拉 (杂质 I)、依那普利双酮 (杂质 II) 的线性方程斜率计算依那普利的两种杂质相对于依那普利的校正因子 (f)， $f = k_{\text{依那普利}} / k_{\text{杂质}}$ ，结果见表 6。杂质 I 与杂质 II 的相对校正因子分别为 0.85 和 0.94。根据杂质研究相关技术指导原则^[4]，为确保杂质测定结果的准确可靠，一般情况下，校正因子在 0.9 ~ 1.1 时可不予校正，直接采用不加校正因子的自身对照法定量；超出该范围，须用加校正因子的主成分自身对照法，以保证杂质定量的准确性。

表 6 马来酸依那普利片有关物质的校正因子

化合物名称	校正因子
依那普利拉 (杂质 I)	0.85
依那普利双酮 (杂质 II)	0.94

3.7 有关物质测定结果

按 1.2 中的分析条件进行测定，供试品溶液色谱图如图 4 所示，对照溶液色谱图如图 5 所示，有关物质测定结果见表 7。结果表明，两种杂质测定结果符合 2020 年版《中国药典》(第二部) 马来酸依那普利片检查项下有关物质规定。

2020 年版《中国药典》(第二部) 马来酸依那普利片检查项下有关物质规定：供试品溶液色谱图中如有杂质峰，依那普利 (杂质 I) 峰面积不得大于对照溶液中依那普利峰面积的 1.5 倍 (1.5%)，依那普利双酮 (杂质 II) 峰面积不得大于对照溶液中依那普利峰面积 (1.0%)，其他单个杂质峰面积不得大于对照溶液中依那普利峰面积的 0.5 倍 (0.5%)，各杂质峰面积的和不得大于对照溶液中依那普利峰面积的 3 倍 (3.0%)。

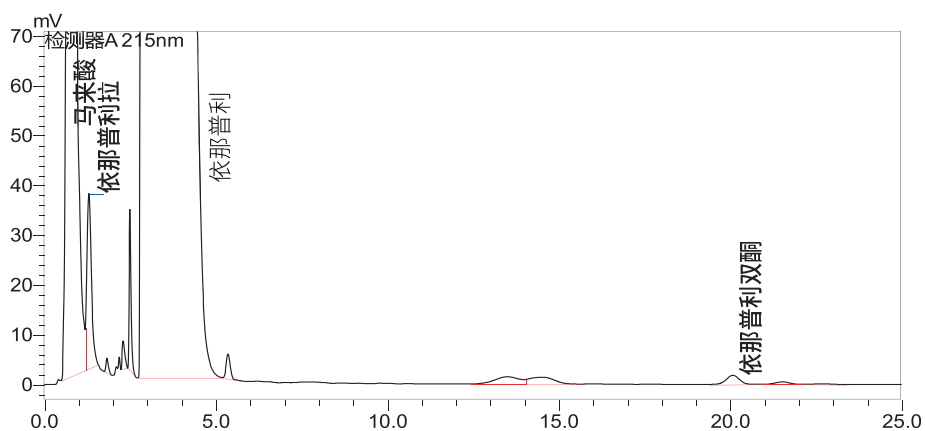


图 4 供试品溶液色谱图

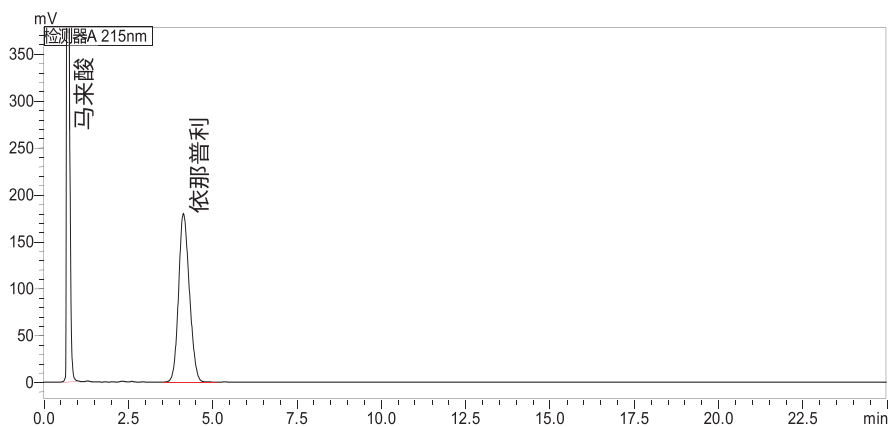


图 5 对照溶液色谱图

表 7 马来酸依那普利片有关物质测定结果

化合物名称	杂质峰面积与对照品溶液中依那普利峰面积的倍数 (加校正因子主成分自身对照法)	杂质峰面积与对照品溶液中依那普利峰面积的倍数 (不加校正因子主成分自身对照法)	标准要求 (不得大于对照溶液中依那普利峰面积的倍数)
依那普利拉 (杂质 I)	0.07	0.08	≤ 1.5
依那普利双酮 (杂质 II)	0.01	0.01	≤ 1.0
其他单个杂质峰	/	0.004	≤ 0.5
	/	0.007	
	/	0.03	
	/	0.01	
	/	0.02	
	/	0.02	
其他单个杂质峰	/	0.003	≤ 0.5
	/	0.0009	
	/	0.0009	
各杂质峰之和	/	0.18	≤ 3.0

■ 结论

本实验使用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱仪，参照 2020 年版《中国药典》（第二部）马来酸依那普利片检查项下有关物质测定，建立了加校正因子的主成分自身对照法测定马来酸依那普利片有关物质的方法。结果表明，依那普利的有关物质依那普利拉（杂质 I）和依那普利双酮（杂质 II）使用了加校正因子主成分自身对照法进行测定，提高了定量结果的准确性。本实验使用了岛津 Nexera LC-40 超高效液相色谱仪，其稳定性良好、结果准确度高；各峰分离度、重复性良好，与药典方法相比节省了一半以上的流动相用量。该方法为现行检测方法的完善提供了数据支持，并为制药药检相关行业对药品质量控制和分析的检验检测工作提供了参考。

< 参考文献 >

- [1] 刘浩. 用 HPLC 法测定马来酸依那普利片的含量和有关物质 [J]. 药学服务与研究, 2003, 3 (4): 247
- [2] 魏凯. 加校正因子的主成分自身对照法测定马来酸依那普利片有关物质 [J]. 中国药品标准, 2021, 22(1)
- [3] 中华人民共和国药典 2020 年版. 二部 [S]. 2020: 66-67
- [4] 化学药物杂质研究的技术指导原则 [S]. 2005
- [5] 中华人民共和国药典 2020 年版. 四部 [S]. 2020: 64

岛津应用云

