

5-氨基水杨酸锌及相关物质的高效液相色谱分析研究*

刘红霞 张书胜

袁倬斌**

(郑州大学分析测试中心 郑州 450052)

(中国科学技术大学研究生院 北京 100039)

提 要 对5-氨基水杨酸锌及相关物质5-氨基水杨酸、水杨酸、对氨基苯酚和5-苯偶氮水杨酸的高效液相色谱法(HPLC)的分离条件进行了优化研究,结果表明,采用CLC-ODS(150mm×6.0mm i.d.,10μm)作为分离柱,1%(V/V)HAc-MeOH(4:6)作为流动相,在流速为1mL/min的情况下,上述5种物质在10min内可以达到基线分离,保留时间的日内和日间的变异系数分别小于2%和5%,在一定浓度范围内,浓度与峰面积的线性关系良好。对5-氨基水杨酸锌原药含量测定表明,主要杂质为5-氨基水杨酸和水杨酸;对5-氨基水杨酸锌在酸和热强化条件下的浓度变化研究表明,分解产物为对氨基苯酚和5-苯偶氮水杨酸。

关键词 高效液相色谱法,5-氨基水杨酸锌,5-氨基水杨酸,水杨酸,对氨基苯酚,5-苯偶氮水杨酸

分类号 O658/R93

1 前言

5-氨基水杨酸是治疗胃溃疡和节段性回肠炎的药物^[1,2],血浆和尿液中药物的含量可采用高效液相色谱法(HPLC)测定^[3]。为提高其疗效,我们首次合成了药物5-氨基水杨酸锌。在进行药物质量检测及稳定性研究过程中,我们对主要杂质5-氨基水杨酸和水杨酸,以及可能降解的产物对氨基苯酚和5-苯偶氮水杨酸的HPLC的分离与测定进行了研究。结果表明,采用比文献[2,3]简单的流动相,10min内可使5种物质达到基线分离,测定准确,具有较高的应用价值。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

LC-6A HPLC带SPD-6AV可变波长紫外检测器和C-R4A微处理机,色谱柱为CLC-ODS,CLC-C₈,CLC-CN,规格为150mm×6.0mm i.d.(岛津)。

5-氨基水杨酸锌(简称ZASA,99%,自制),5-氨基水杨酸(简称ASA,成都化学试剂厂),水杨酸(简称SA,分析纯,北京化工厂),对氨基苯酚(简称AB,分析纯,中国医药公司北京采购站),5-苯偶氮水杨酸(简称NSA,98%,自制),乙酸(分析纯,北京化工厂),1g/L ZASA,ASA,SA,AB和NSA标准储备液(溶于流动相中),样品与流动相均用0.5μm砂芯漏斗过滤。

2.2 色谱分析方法

分析样品在指定色谱柱和流动相条件下进行,流速1mL/min,柱温20℃,进样20μL,采用280nm波长检测,记录峰面积A,重复进样5次,计算平均

值,使A对浓度C进行线性回归制得工作曲线。

3 结果与讨论

3.1 优化色谱条件

我们对ZASA,ASA,SA,AB,NSA5种物质在不同色谱柱和流动相组成条件下的色谱行为进行了考察,结果见表1。结合表1结果,在同时满足分析时间短,保证分离度的情况下,采用CLC-ODS为分离柱,1%(V/V)HAc-MeOH(4:6)为流动相,可使

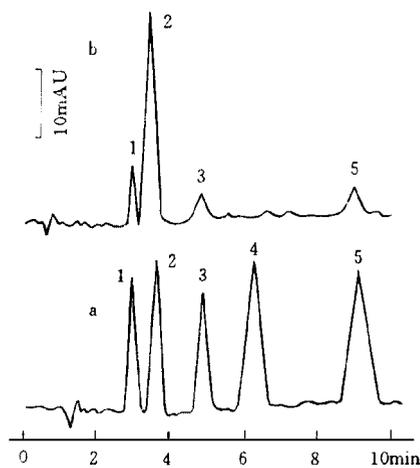


图1 ZASA等标准物质混合液(a)和100℃处理液(b)的HPLC谱图

Fig.1 The HPLC of a standard mixture(a) and solution (b) treated at 100℃

色谱柱(column): CLC-ODS; 流动相(mobile phase): 1%(V/V)HAc-MeOH(4:6),1mL/min; 检测波长(detection wavelength): 280nm; 进样(injection volume): 20μL. 峰(Peak): 1. ZASA, 2. ASA, 3. AB, 4. SA, 5. NSA.

* 河南省分析测试基金资助课题

** 通讯联系人

本文收稿日期:1997-04-06,修回日期:1997-07-28

表 1 不同色谱条件下 ZASA 及相关物质的 HPLC 色谱行为

Table 1 The HPLC behaviour of ZASA and related materials different chromatographic conditions

色谱柱 Column	流动相(V/V) Mobile phase	$t_R/m\ in$					备 注 Note
		ZASA	ASA	AB	SA	NSA	
CLC-ODS	1% (V/V) HAc-MeOH (7: 3)	3.62	3.82	4.51	24.53	29.20	NSA, SA 拖尾(tailing)
CLC-ODS	1% (V/V) HAc-MeOH (6: 4)	3.56	3.85	4.83	17.04	23.18	NSA 拖尾(tailing)
CLC-ODS	1% (V/V) HAc-MeOH (5: 5)	3.48	3.90	5.10	9.82	13.32	SA 峰前倾(leading)
CLC-ODS	1% (V/V) HAc-MeOH (4: 6)	3.40	3.80	5.02	6.16	9.26	基线分离(baseline separation)
CLC-CN	1% (V/V) HAc-MeOH (6: 4)	3.91	4.01	3.50	10.25	13.24	SA 拖尾严重(tailing gravely)
CLC-CN	1% (V/V) HAc-MeOH (4: 6)	2.82	2.90	4.42	8.21	10.87	NSA 拖尾严重(tailing greavely)
CLC-C ₈	1% (V/V) HAc-MeOH (4: 6)	3.98	4.23	6.40	5.52	8.95	AB 峰加宽严重(peak broadenening gravely)
CLC-C ₈	1% (V/V) H ₂ O-MeOH (4: 6)	2.08	2.10	4.23	2.20	6.54	ZASA, ASA, SA 重叠(overlapping)

分析物质达到基线分离。标准物质 HPLC 谱图见图 1-a。

3.2 ZASA 及相关物质保留时间的重现性

在选定的 HPLC 条件下,由 ZASA 等 5 种物质的保留时间考察结果表明,日内的变异系数小于 2%,日间的变异系数小于 5%,由此可对 ZASA 等物质进行定性分析。

3.3 ZASA 及相关物质的工作曲线和检测限

分别用标准储备液配制一系列的标准溶液,并进行 HPLC 分析,峰面积 A 对各自的浓度 C(mg/L) 进行线性回归,计算最低检测限(S/N = 2),结果见表 2。表 2 中的结果表明,在给定的浓度范围内,方法的回收率在 90% ~ 104% 之间,变异系数小于 4%,可用于 ZASA 及相关物质的定量分析。

表 2 ZASA 及相关物质的工作曲线和检测限

Table 2 The working curves and detection limits of ZASA and related materials

物 质 Material	浓度范围 Conc. range (mg/L)	工作曲线 Working curve	检测限 Detection limit (mg/L)
ZASA	1.0~ 100	$C = 0.016\ 3A + 0.41 (r = 0.998\ 6, n = 7)$	0.73
ASA	1.0~ 100	$C = 0.014\ 2A + 0.37 (r = 0.996\ 6, n = 6)$	0.55
SA	1.0~ 100	$C = 0.012\ 3A + 0.21 (r = 0.994\ 5, n = 6)$	0.46
NSA	0.8~ 50	$C = 0.009\ 2A + 0.17 (r = 0.998\ 7, n = 7)$	0.38
AB	0.4~ 40	$C = 0.010\ 8A + 0.11 (r = 0.999\ 6, n = 6)$	0.33

3.4 ZASA 原药纯度测定

根据以上方法对 ZASA 原药中 ASA 和 SA 进

行测定,结果见表 3。

表 3 ZASA 不同批号纯度的测定结果

Table 3 The purities of crude ZASA

	No. 960318	No. 960416	No. 960821	No. 960810	No. 960911
SA(10g/L)	2.18± 0.11	4.23± 0.13	0.15± 0.01	2.12± 0.09	1.28± 0.05
ASA(10g/L)	5.62± 0.18	3.94± 0.09	8.54± 0.12	7.03± 0.11	6.52± 0.17
ZASA(10g/L)	92.36± 1.02	91.97± 1.20	89.54± 0.81	90.14± 1.09	91.86± 1.28

3.5 ZASA 原药在酸和热条件下的稳定性

将 ZASA 原药用流动相配制成 100mg/L 的溶液,在一定温度的水浴中热处理 10m in,进行 HPLC 分析(图 1-b)。将 ZASA 原药用一定浓度的硫酸配制成 100mg/L 的溶液,测定 ZASA 及相关物质的浓度,结果见表 4。表 4 表明:在室温下,ZASA 具有较

高稳定性,在高温下,ZASA 的稳定性降低,主要分解为 ASA,AB 和 NSA。在强酸溶液中,ZASA 发生分解,有少量的 ASA,未检出其它物质。实验表明:在流动相为 1% (V/V) HAc-MeOH (4: 6) 时,并未发现 ZASA 发生分解,此外 HPLC 测定宜在室温下进行。

表 4 ZASA 及相关物质在酸热条件下的浓度变化(- 表示未检出)

处理条件 Conditions for treatment	检出浓度(Detectable concentration) (mg/L)				
	ZASA	ASA	SA	AB	NSA
22℃	98.26±0.78	-	-	-	-
50℃	89.45±0.92	5.23±0.15	-	-	-
80℃	56.16±0.59	34.53±0.62	-	8.13±0.18	-
100℃	9.74±0.27	78.29±0.87	-	3.72±0.11	3.43±0.15
0.5% (V/V)H ₂ SO ₄	58.31±0.72	25.18±0.42	-	-	-
1.0% (V/V)H ₂ SO ₄	22.23±0.52	8.12±0.19	-	-	-
5.0% (V/V)H ₂ SO ₄	-	-	-	-	-

3.6 结论

本法在 10 min 内可使 ZASA 等 5 种物质达到基线分离, 方法灵敏、准确、重现性好, 可用于 ZASA 原料药纯度测定, 亦可用于 ZASA 稳定性研究。

参 考 文 献

- 1 Fischer C, Klotz V. J Chrom atogr, 1978, 146: 157-162
- 2 Cendrow ska I, Drew now ska A, Grzszkiew icz A et al. J Chrom atogr, 1990, 509: 195-199
- 3 Fischer C, Maier K, Klotz V. J Chrom atogr, 1981, 225: 498-503

Study on the Analysis of Zinc 5-Aminosalicylate and Related Compounds by High Performance Liquid Chromatography

Liu Hongxia and Zhang Shusheng

(Center of Analysis & Testing, Zhengzhou University, Zhengzhou, 450052)

Yuan Zhuobin*

(Graduate School, USTC, Beijing, 100039)

Abstract In this paper, the separation and determination conditions of zinc 5-aminosalicylate (ZASA) and related compounds by high performance liquid chromatography (HPLC) have been studied systematically. The baseline separation was achieved at 20℃ on a CLC-ODS column (150mm × 6.0mm i.d., 10μm) within 10 minutes by using 1% (V/V) HAc-MeOH (4: 6) as mobile phase at a flow-rate of 1 mL/min. The RSDs of retention time within day and between days were less than 2% and 5% respectively. The injection volume was 20μL, and relationships between the peak area with 280nm detection and the analyte concentration were linear within certain ranges. This method was used for determination of ZASA, impurities and thermal decomposition compounds. The results showed that the impurities in the crude ZASA were 5-aminosalicylic acid and salicylic acid. The thermal decomposition compounds in acid medium were 5-aminosalicylic acid, 5-aminophenol and 5-benzeneazosalicylic acid.

Key words high performance liquid chromatography, zinc 5-aminosalicylate, 5-aminosalicylic acid, salicylic acid, *p*-aminophenol, 5-benzeneazosalicylic acid