**桂利嗪片有关物质项目检验方法**

**【检查】 有关物质** 照高效液相色谱法（通则0512）测定。

供试品溶液 取本品细粉适量，精密称定，加甲醇超声使桂利嗪溶解并稀释制成每1ml中约含桂利嗪1.5mg的溶液，摇匀，滤过，取续滤液。

对照溶液 精密量取供试品溶液适量，用甲醇稀释制成每1ml中约含桂利嗪3μg的溶液，摇匀。

对照品贮备液（1） 取杂质Ⅰ、杂质Ⅱ对照品各约12mg，精密称定，置200ml量瓶中，加甲醇超声使溶解，放冷，用甲醇稀释至刻度，摇匀。

对照品贮备液（2） 取杂质Ⅲ对照品约10mg，精密称定，置500ml量瓶中，加甲醇超声使溶解，放冷，用甲醇稀释至刻度，摇匀。

对照品溶液 分别精密量取对照品贮备液（1）1ml、对照品贮备液（2）3ml，置同一20ml量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀。

系统适用性溶液 取本品细粉适量（约相当于桂利嗪15mg），精密称定，置10ml量瓶中，加甲醇5ml超声约15分钟使桂利嗪溶解，加2%过氧化氢溶液1ml，60℃水浴加热45分钟，迅速冷却至室温，用甲醇定量稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液。

灵敏度溶液 精密量取对照品溶液5ml，置20ml量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀。

色谱条件 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（Acclaim 120 4.6mm×250mm，5μm，或效能相当的色谱柱），以10g/L醋酸铵溶液（用冰醋酸调节pH值至5.5）为流动相A，以0.2%冰醋酸乙腈溶液为流动相B，按下表进行梯度洗脱；流速为每分钟1.5ml；柱温为35℃；检测波长为252nm；进样体积20μl。

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 时间（分钟） | 流动相A（%） | 流动相B（%） |
| 0 | 80 | 20 |
| 40 | 15 | 85 |
| 57 | 15 | 85 |
| 60 | 80 | 20 |
| 65 | 80 | 20 |

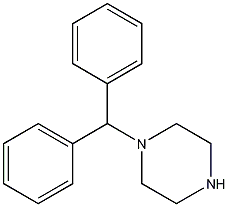
系统适用性要求 系统适用性溶液色谱图中，桂利嗪峰、氧化降解杂质峰（相对保留时间0.80～0.84）与相邻杂质峰间的分离度均应符合要求。灵敏度溶液色谱图中，杂质Ⅰ峰和杂质Ⅲ峰峰高的信噪比均应大于10。

测定法 精密量取供试品溶液、对照溶液和对照品溶液，分别注入液相色谱仪，记录色谱图。

限度 供试品溶液的色谱图中，如有与杂质Ⅰ、杂质Ⅱ、杂质Ⅲ保留时间一致的色谱峰，按外标法计算，均不得过桂利嗪标示量的0.25%；其他单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积（0.2%）；杂质总量不得过0.5%。杂质含量小于0.05%的色谱峰忽略不计。

**附：**

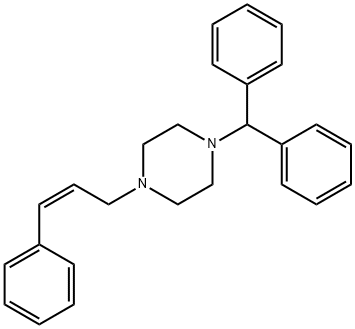
**杂质Ⅰ**



C17H20N2 252.36

1-二苯甲基哌嗪

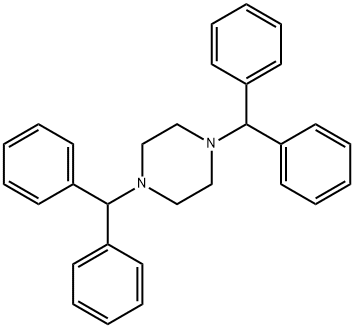
**杂质Ⅱ**



C26H28N2 368.53

(Z)-1-二苯甲基-4-(3-苯基-2-丙烯基)哌嗪

**杂质Ⅲ**



C30H30N2 418.58

1,4-二(二苯甲基)哌嗪