

罗替高汀原料药中有关物质及对映异构体的 HPLC 检测方法



王伟姣¹, 陈鸿玉¹, 唐浩铮¹, 田家林², 赵士冶¹, 童 明²

1. 湖南省药品检验检测研究院 (长沙 410001)

2. 湖南欧亚药业有限公司 (长沙 410300)

【摘要】目的 分别建立控制罗替高汀原料药中有关物质及其对映异构体的 HPLC 分析方法。**方法** 有关物质测定: 采用 Waters Sunfire C₁₈ 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 3.5 μm); 流动相为 pH 6.6 ± 0.05 的磷酸二氢钾缓冲液-乙腈-甲醇, 梯度洗脱; 检测波长为 220 nm, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 40 °C, 进样量为 10 μL。对映异构体测定: 采用手性柱 CHIRALPAK IB N-5 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为正己烷-稀释剂 (无水乙醇-异丙醇=95:5)-二乙胺 (97:3:0.1); 检测波长为 225 nm, 流速为 0.8 mL/min, 柱温为 35 °C, 进样量为 5 μL。**结果** 在有关物质检查中, 罗替高汀与各已知杂质分离良好; 各成分在考察浓度范围内线性关系良好 ($r \geq 0.997\ 0$); 在定量限、100% 限度、150% 限度 3 个加标水平下, 平均回收率在 95.7% ~ 104.5% 之间, $RSD \leq 4.80\%$ ($n = 9$)。在对映异构体检查中, 杂质 A 在 1.4 ~ 8.8 μg/mL 浓度范围内线性关系良好 ($r = 1.000\ 0$), 在定量限、100% 限度、150% 限度 3 个加标水平下, 平均回收率分别为 124.0%、101.1% 和 114.2%, RSD 分别为 4.69%、1.88% 和 0.78% ($n = 9$)。**结论** 该法专属性、灵敏度、准确性及耐用性良好, 可用于罗替高汀原料药中有关物质和对映异构体的质量控制。

【关键词】 高效液相色谱法; 罗替高汀; 有关物质; 对映异构体; 方法学验证

【中图分类号】 R927.2

【文献标识码】 A

Determination of related substances and enantiomer in active pharmaceutical ingredient of rotigotine by HPLC

WANG Weijiao¹, CHEN Hongyu¹, TANG Haozheng¹, TIAN Jialin², ZHAO Shiye¹, TONG Ming²

1. Hunan Provincial Institute for Drug Control, Changsha 410001, China

2. Hunan OUYA Pharmaceutical Co., Ltd., Changsha 410300, China

Corresponding author: CHEN Hongyu, Email: 649409690@qq.com

【Abstract】Objective To establish HPLC analysis methods for controlling the related substances and its enantiomer in the active pharmaceutical ingredient of rotigotine. **Methods** The HPLC chromatographic conditions for related substances were as follows: the separation was performed on a Waters Sunfire C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 3.5 μm) with a mobile phase consisting of potassium dihydrogen phosphate buffer (pH 6.55±0.05, mobile phase A), acetonitrile (mobile phase B), and methanol (mobile phase C) with gradient elution, the detection wavelength was 220 nm, the flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 40 °C, and the injection volume was 10 μL. The HPLC chromatographic conditions for enantiomer were as follows: the

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202605095

基金项目: 湖南省自然科学基金部门联合基金项目 (2025JJ80134)

通信作者: 陈鸿玉, 硕士, 副主任药师, Email: 649409690@qq.com

<https://yxqy.whuzhmedj.com>

separation was performed on a CHIRALPAK IB N-5 chiral column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with a mobile phase consisting of *n*-hexane-diluent (anhydrous ethanol isopropanol=95: 5) -diethylamine (97: 3: 0.1), the detection wavelength was 225 nm, the flow rate was 0.8 mL/min, the column temperature was 35 °C, and the injection volume was 5 μL. **Results** In the determination of related substances, rotigotine was well separated from its known impurities. The linearity of all components was satisfactory within the investigated concentration ranges ($r \geq 0.9970$). The average recoveries at three spiked levels (limit of quantitation, 100% limit, 150% limit) ranged from 95.7% to 104.5%, with $RSDs \leq 4.80\%$ ($n = 9$). In the determination of the enantiomer, impurity A exhibited a good linear relationship within the concentration range of 1.4-8.8 μg/mL ($r = 1.0000$). The average recoveries at three spiked levels (limit of quantitation, 100% limit, 150% limit) were 124.0%, 101.1%, and 114.2%, and $RSDs$ were 4.69%, 1.88% and 0.78% ($n = 9$), respectively. **Conclusion** The method is specific, sensitive, accurate, and robust, and can be applied for the quality control of related substances and the enantiomer in the active pharmaceutical ingredient of rotigotine.

【Keywords】 HPLC; Rotigotine; Related substances; Enantiomer; Method validation

罗替高汀 (rotigotine) 是一种非麦角类多巴胺受体激动剂, 以透皮贴剂形式用于治疗帕金森病和不宁腿综合征^[1-4]。罗替高汀化学名为 (6*S*)-5,6,7,8-四氢-6-(丙基[2-(2-噻吩基)乙基]氨基)-1-萘酚, 其分子结构中含有1个手性中心, 对映异构体及其降解产物和工艺副产物是罗替高汀原料药质量控制的关键对象。目前,《中国药典》2025年版尚未收载罗替高汀原料及其制剂的质量标准, 而《欧洲药典》12.3版 (*EP* 12.3)^[5]、《英国药典》2026年版 (*BP* 2026) 及《美国药典》2026年版 (*USP*-NF 2026) 均已收载罗替高汀质量标准, 其中 *BP* 2026^[6-7] 和 *USP*-NF 2026^[8-9] 同时收载了罗替高汀透皮贴剂质量标准, 在各论中列出了包括去噻吩乙基罗替高汀 (杂质B)、罗替高汀C (杂质C)、乙基罗替高汀 (杂质D)、罗替高汀E (杂质E)、罗替高汀H (杂质H)、罗替高汀-O-噻吩乙基 (杂质J)、罗替高汀K (杂质K) 及 *R*-对映异构体 (杂质A) 在内的8种已知杂质, 各杂质结构图见图1。经比对, *USP*、

BP、*EP* 对各杂质分离度的要求基本一致, 但色谱条件等细节存在差异。鉴于目前公开报道的方法学文献有限, 为实现罗替高汀原料药中降解产物和工艺副产物等多个杂质的有效分离与检测, 为罗替高汀仿制药质量控制提供技术支撑, 本研究参考各国药典标准, 以及国际人用药品注册技术要求协调会 (International Council for Harmonisation, ICH) Q3A 和 ICH Q3B^[10-11], 系统分析了罗替高汀原料药的杂质谱, 参照《中国药典》2025年版四部通则9101“分析方法验证指导原则”^[12] 及 ICH Q2 (R1)^[13] 关于分析方法验证的相关要求, 对色谱条件进行系统优化和方法学验证, 分别建立了适用于罗替高汀原料药有关物质和对映异构体检查的 HPLC 法, 现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 主要仪器

Agilent 1260 Infinity II 高效液相色谱仪 [安捷伦科技 (中国) 有限公司]; LC-20AT 高效液

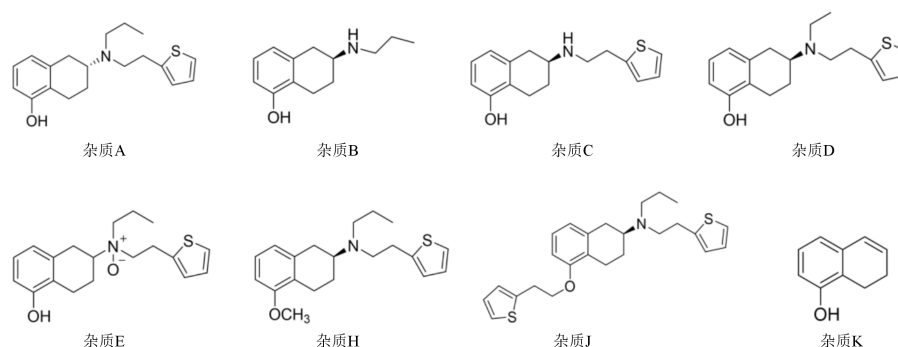


图1 罗替高汀各杂质结构图

Figure1. Structures of impurities in rotigotine

相色谱仪 [岛津企业管理 (中国) 有限公司]; ARC HPLC 高效液相色谱仪 [沃特世科技 (上海) 有限公司]; XSE205DU 电子天平 (赛多利斯科学仪器有限公司); WHLL-125BE 电热鼓风干燥箱 (江苏禾汽科学仪器有限公司); KQ-500DE 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

对照品: 罗替高汀 (批号: TGB-20230425, 纯度 99.7%)、杂质 A (R-对映异构体, 批号: TGB-501-A-20230328, 纯度 95.02%)、杂质 B (批号: TGB-501-B-20230321, 纯度: 76.1%)、杂质 C (批号: TGB-501-C-20230321, 纯度 98.2%)、杂质 D (批号: TGB-501-D-20230321, 纯度 94.9%)、杂质 E (批号: TGB-501-E-20231027, 纯度 90.65%)、杂质 H (批号: TGB-501-H-20230328, 纯度 99.8%)、杂质 J (批号: TGB-501-J-20231027, 纯度 99.44%)、杂质 K (批号: TGB-501-K-20231108, 纯度 98.47%) 均由长沙晶易医药科技股份有限公司提供; 罗替高汀原料药 (湖南欧亚药业有限公司, 批号: LTG-231101、16240301、16240401、16240501); 甲醇、乙腈、乙醇、三氟乙酸、异丙醇、正己烷均为色谱纯; 磷酸二氢钾、氢氧化钾、盐酸、氢氧化钠、过氧化氢、二乙胺均为分析纯; 水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 有关物质检查

2.1.1 色谱条件

采用 Waters Sunfire C₁₈ 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 3.5 μm), 捕集小柱采用 Ghost Sniper Column (50 mm × 4.6 mm); 以 pH 6.55 ± 0.05 磷酸二氢钾缓冲液 (A)-乙腈(B)-甲醇 (C) 为流动相进行梯度洗脱 (洗脱程序见表 1); 流速为 1.0 mL/min; 检测波长为 220 nm; 进样量为 10 μL; 柱温为 40 °C; 样品盘控温为 4 °C。

2.1.2 溶液的制备

(1) 各杂质对照品储备液: 分别取杂质 B、杂质 C、杂质 D、杂质 E、杂质 H、杂质 J、杂质 K 等杂质对照品适量, 精密称定, 分别置于量瓶中, 加甲醇溶解并稀释制成每 1 mL 中各约含杂质 C 0.4 mg、杂质 B 0.3 mg、杂质 D 0.3 mg、杂质 J 0.3 mg、杂质 E 0.2 mg、杂质 H 0.2 mg、杂质 K 0.2 mg 的单个杂质储备液 (杂质 B 储备液需加入

表 1 梯度洗脱程序

Table 1. Gradient elution program

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)	流动相 C (%)
0 ~ 40	82	18	0
40 ~ 40.1	82→25	18→65	0→10
40.1 ~ 65	25	65	10
65 ~ 65.1	25→15	65→75	10
65.1 ~ 70	15	75	10
70 ~ 70.1	15→82	75→18	10→0
70.1 ~ 80	82	18	0

微量三氟乙酸助溶)。

(2) 混合杂质对照品储备液: 精密量取各单个杂质储备液适量, 置于同一量瓶中, 加甲醇稀释制成每 1 mL 中约含杂质 C 40 μg、杂质 B 30 μg、杂质 D 30 μg、杂质 J 30 μg、杂质 E 20 μg、杂质 H 20 μg、杂质 K 20 μg 的混合溶液。

(3) 罗替高汀对照品储备液: 取罗替高汀对照品约 10 mg, 精密称定, 置于 25 mL 量瓶中, 加乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 (约 0.4 mg/mL)。

(4) 罗替高汀对照品溶液: 精密量取罗替高汀对照品储备液 1 mL, 置于 100 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得 (约 4 μg/mL)。

(5) 供试品溶液: 取罗替高汀原料药 (批号: LTG-231101) 约 40 mg, 精密称定, 置于 20 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 (约 2 mg/mL)。

(6) 加标供试品溶液 (同时作为系统适用性溶液): 取罗替高汀原料药 (批号: LTG-231101) 约 40 mg, 精密称定, 置于 20 mL 量瓶中, 加入混合杂质对照品储备液 1 mL, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

(7) 单标定位溶液: 分别取杂质 B 储备液 300 μL、杂质 C 储备液 400 μL、杂质 D 储备液 300 μL、杂质 E 储备液 200 μL、杂质 H 储备液 200 μL、杂质 J 储备液 300 μL、杂质 K 储备液 200 μL, 置于不同的 20 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

(8) 强制降解试验溶液:

高温破坏供试品溶液, 取罗替高汀原料药 (批号: LTG-231101) 约 40 mg, 精密称定, 置称量瓶中, 于 90 °C 中放置 14 h 后, 放至室温, 加甲醇溶解并全量转移至 20 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

光照破坏供试品溶液, 取罗替高汀原料药(批号: LTG-231101) 约40 mg, 精密称定, 置称量瓶中, 强光照(照度: $8\,000\text{ Lx} \pm 500\text{ Lx}$, 辐射度: $90\text{ }\mu\text{w}/\text{cm}^2$) 8 d, 加甲醇溶解并全量转移至20 mL量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

酸破坏供试品溶液, 取罗替高汀原料药(批号: LTG-231101) 约40 mg, 精密称定, 置于20 mL量瓶中, 加入4 mL甲醇, 超声(功率: 500 W, 频率: 40 kHz)使溶解, 精密加入1 mol/L盐酸溶液1 mL, 边加边振摇, 室温放置48 h后, 精密加入1 mol/L氢氧化钠溶液1 mL中和, 边加边振摇, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

碱破坏供试品溶液, 取罗替高汀原料药(批号: LTG-231101) 约40 mg, 精密称定, 置20 mL量瓶中, 加入4 mL甲醇, 超声(功率: 500 W, 频率: 40 kHz)使溶解, 精密加入1 mol/L氢氧化钠溶液1 mL, 边加边振摇, 室温放置48 h后, 精密加入1 mol/L盐酸溶液1 mL中和, 边加边振摇, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

氧化破坏供试品溶液, 取罗替高汀原料药(批号: LTG-231101) 约40 mg, 精密称定, 置于20 mL量瓶中, 加入4 mL甲醇, 超声(功率: 500 W, 频率: 40 kHz)使溶解, 精密加入3%过氧化氢溶液5 mL, 边加边振摇, 放置3 h后, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 立即进样。

酸、碱、氧化破坏空白溶液, 除去不加罗替高汀原料药, 其余均按相应供试品溶液制备方法制备。

2.1.3 系统适用性试验

取系统适用性溶液(加标供试品溶液), 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定。系统适用性溶液中, 各杂质峰之间、主峰与相邻杂质峰之间的分离度均 ≥ 2.79 , 罗替高汀主峰拖尾因子为0.80。

2.1.4 专属性试验

分别取空白溶液(甲醇)、各杂质定位溶液、供试品溶液、加标供试品溶液及各强制降解试验溶液进样分析。加标供试品溶液中各已知杂质与主峰、各已知杂质之间分离度均 > 1.5 。杂质A(R-对映异构体)在本色谱条件下与主峰共出峰, 不干扰其他杂质检测, 另行建立手性分离方法控制。

强制降解试验结果显示, 各破坏条件下, 主

峰与相邻降解产物峰分离度均 > 1.5 。各破坏条件的空白溶液在各杂质及主峰出峰处均无干扰。方法专属性良好, 典型色谱图见图2。

2.1.5 线性关系考察

分别取混合对照品储备液适量, 配制从定量限至150%限度浓度范围内的系列线性溶液, 进样测定, 以浓度(X , $\mu\text{g}/\text{mL}$)对峰面积(Y)进行线性回归各组分在各自浓度范围内线性关系均良好($r \geq 0.997\,0$), 结果见表2。

2.1.6 定量限与检测限

采用逐级稀释法制备各组分系列标准溶液, 并按“2.1.1”项下色谱条件进样测定。根据信噪比(S/N)确定方法的灵敏度: $S/N \approx 10$ 时定为定量限, $S/N \approx 3$ 时定为检测限, 结果见表2。

2.1.7 精密度试验

取系统适用性溶液(加标供试品溶液), 按“2.1.1”项下色谱条件连续进样5针, 罗替高汀及各杂质的峰面积 RSD 均 ≤ 1.85 ($n = 5$)。

2.1.8 重复性试验

平行配制6份加标供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 6份加标供试品溶液各杂质的平均含量见表2, 各杂质含量6份结果的极差值为0.01% ($n = 6$), 结果表明该方法重复性良好。

2.1.9 稳定性试验

取混合对照品溶液(取混合对照品储备液1 mL, 用甲醇稀释定容至20 mL, 即得)及加标供试品溶液, 在样品盘控温 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下分别于0、14、30、43、56、62 h, 按“2.1.1”项下色谱条件进样分析, 并按外标法计算各杂质含量。结果表明混合对照品溶液和加标供试品溶液在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下分别放置62 h(各杂质含量与0 h的差值 $< 0.01\%$)和56 h(各杂质含量与0 h的差值 $< 0.01\%$)稳定。

2.1.10 回收率试验

在供试品溶液中分别添加相当于各杂质定量限浓度、100%限度浓度和150%限度浓度3个水平的杂质对照品溶液, 每个浓度平行制备3份, 进样测定, 按外标法计算各杂质回收率。定量限、100%、150% 3个浓度水平下各杂质平均回收率在95.7% ~ 104.5%之间, RSD 均 $\leq 4.80\%$ ($n = 9$), 表明准确度良好, 结果见表2。

2.1.11 耐用性考察

取加标供试品溶液, 考察了柱温变化($35\text{ }^{\circ}\text{C} \sim$

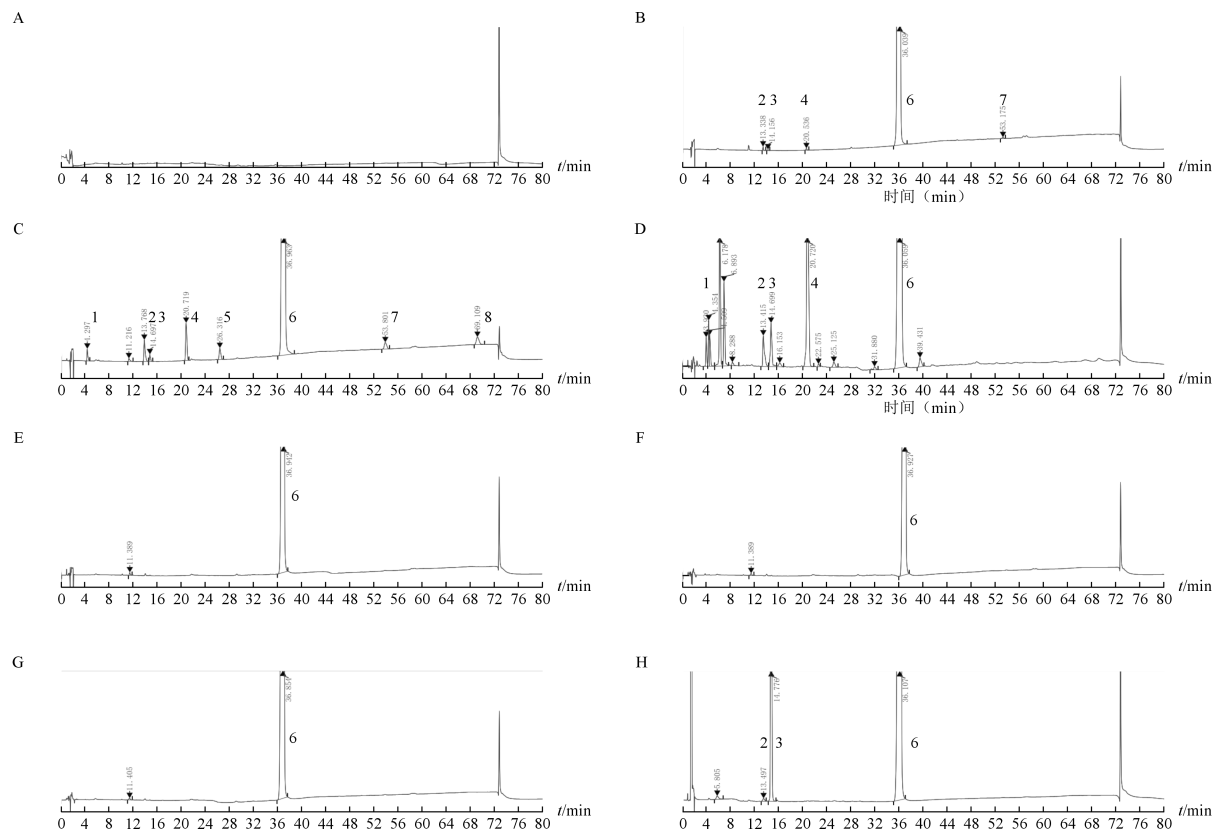


图2 有关物质检查典型HPLC色谱图

Figure 2. Typical HPLC chromatogram of related substances determination

注：A. 空白溶液；B. 供试品溶液；C. 加标供试品溶液；D. 高温破坏供试品溶液；E. 光照破坏供试品溶液；F. 酸破坏供试品溶液；G. 碱破坏供试品溶液；H. 氧化破坏供试品溶液；1. 杂质B；2. 杂质C；3. 杂质E；4. 杂质K；5. 杂质D；6. 罗替高汀；7. 杂质H；8. 杂质J。

表2 罗替高汀及其杂质的方法学验证结果

Table 2. Summary of method validation results for rotigotine and its impurities

组分	回归方程	<i>r</i>	线性范围 (μg/mL)	检测限 (μg/mL)	定量限 (μg/mL)	重复性试验平均 含量 (%)	回收率范围 (%)
罗替高汀	$Y = 23.3594X + 4.8385$	0.9970	0.82 ~ 6.16	0.2463	0.8211	—	—
杂质B	$Y = 18.0072X + 0.2463$	1.0000	0.67 ~ 3.36	0.2018	0.6727	0.10	96.2 ~ 100.7
杂质C	$Y = 22.2386X + 0.7860$	1.0000	0.78 ~ 5.87	0.2347	0.7824	0.21	97.3 ~ 102.1
杂质E	$Y = 15.1814X + 1.1022$	1.0000	0.76 ~ 2.85	0.2282	0.7606	0.07	96.1 ~ 104.5
杂质K	$Y = 80.2095X - 0.4112$	1.0000	0.86 ~ 3.22	0.2576	0.8585	0.10	96.7 ~ 100.1
杂质D	$Y = 23.5090X - 0.3191$	1.0000	0.85 ~ 4.26	0.2559	0.8528	0.13	95.7 ~ 99.4
杂质H	$Y = 22.2976X + 1.3132$	1.0000	0.85 ~ 3.18	0.2544	0.8481	0.12	96.2 ~ 101.5
杂质J	$Y = 25.2737X - 2.1917$	0.9980	0.91 ~ 4.53	0.2718	0.9061	0.14	96.6 ~ 102.9

注：—表示不涉及。

42℃)、检测波长±2nm、不同色谱柱的影响。结果表明，各耐用性条件下系统适用性符合要求。重点考察了流动相pH值对分离的影响：当流动相A的pH值从6.50增至6.70时，杂质C与杂质E两者出峰重合。经综合评估，将流动相A拟定为pH(6.55±0.05)的磷酸盐缓冲液，其余条件不变，该方法在拟定参数范围内耐用性良好。结果见表3。

2.2 对映异构体检查

2.2.1 色谱条件

采用HPLC法（《中国药典》2025年版四部通则0512）测定^[5]。使用CHIRALPAK IB N-5手性色谱柱（250mm×4.6mm，5μm）；流动相为正己烷-稀释剂A（无水乙醇-异丙醇=95：5）-二乙胺（97：3：0.1）；流速为0.8mL/min；检测波长为225nm；柱温为35℃；进样体积为5μL。

表3 有关物质检查的耐用性考察结果

Table 3. Durability assessment results of material inspection

耐用性条件	项目	杂质B	杂质C	杂质E	杂质K	杂质D	罗替高汀	杂质H	杂质J
标准条件	分离度	N/A	44.46	3.16	26.35	16.16	26.75	15.74	18.85
	RRT	0.12	0.37	0.40	0.56	0.71	1.00	1.46	1.87
	杂质含量 (%)	0.10	0.21	0.07	0.10	0.13	N/A	0.12	0.14
柱温 35 °C	分离度	N/A	49.23	3.96	20.63	10.78	20.79	26.44	20.63
	RRT	0.12	0.38	0.41	0.59	0.70	1.00	1.49	1.93
	杂质含量 (%)	0.10	0.21	0.07	0.11	0.13	N/A	0.12	0.15
柱温 42 °C	分离度	N/A	50.06	3.66	27.75	18.52	25.81	34.02	31.09
	RRT	0.12	0.37	0.39	0.56	0.70	1.00	1.46	1.88
	杂质含量 (%)	0.07	0.15	0.07	0.07	0.09	N/A	0.08	0.10
波长 218 nm	分离度	N/A	28.94	2.79	17.10	12.23	19.56	5.72	19.36
	RRT	0.12	0.37	0.40	0.56	0.71	1.00	1.46	1.87
	杂质含量 (%)	0.11	0.20	0.07	0.11	0.13	N/A	0.12	0.14
波长 222 nm	分离度	N/A	28.87	2.79	17.09	12.20	19.6	25.44	19.35
	RRT	0.12	0.37	0.40	0.56	0.71	1.00	1.46	1.87
	杂质含量 (%)	0.09	0.21	0.07	0.10	0.13	N/A	0.12	0.15
不同批号色谱柱	分离度	N/A	47.31	7.24	27.81	14.66	26.45	34.18	30.42
	RRT	0.12	0.37	0.39	0.56	0.70	1.00	1.46	1.88
	杂质含量 (%)	0.07	0.15	0.07	0.07	0.09	N/A	0.08	0.10
流动相 A (pH 6.50)	分离度	N/A	39.62	5.70	27.27	9.06	23.14	13.94	28.84
流动相 A (pH 6.56)	分离度	N/A	41.74	4.24	27.02	13.84	25.57	15.13	29.35
流动相 A (pH 6.65)	分离度	N/A	44.01	2.21	26.47	17.96	26.49	15.48	18.50
流动相 A (pH 6.70)	分离度	N/A	43.63 (杂质C与杂质E重合)		24.93	21.13	27.57	16.09	17.62

注：RRT表示相对保留时间；N/A表示不适用。

2.2.2 溶液的制备

(1) 稀释剂B：无水乙醇-异丙醇-二乙胺 (90 : 10 : 0.1)。

(2) 杂质A对照品储备液：取杂质A对照品约12 mg，精密称定，置于20 mL量瓶中，加稀释剂B溶解并稀释至刻度，摇匀，即得 (约0.6 mg/mL)。

(3) 罗替高汀对照品储备液：取罗替高汀对照品约12 mg，精密称定，置于20 mL量瓶中，加稀释剂B溶解并稀释至刻度，摇匀，即得 (约0.6 mg/mL)。

(4) 系统适用性溶液：取罗替高汀对照品约40 mg，精密称定，置于10 mL量瓶中，加适量稀释剂B溶解，精密移取100 μ L杂质A对照品储备液置于同一量瓶中，用稀释剂B稀释至刻度，摇匀，即得 (含罗替高汀约4 mg/mL，含杂质A约6 μ g/mL)。

(5) 罗替高汀对照品溶液：精密量取罗替高汀对照品储备液1 mL，置于100 mL量瓶中，用稀释剂B稀释至刻度，摇匀，即得 (约6 μ g/mL)。

(6) 供试品溶液：取本品约40 mg，精密称

定，置于10 mL量瓶中，用稀释剂B溶解并稀释至刻度，摇匀，即得 (约4 mg/mL)。

(7) 加标供试品溶液1：取罗替高汀原料药约40 mg，精密称定，置于10 mL量瓶中，加入杂质A对照品储备液1 mL，用稀释剂B溶解并稀释至刻度，摇匀，即得加标供试品溶液1。

(8) 加标供试品溶液2：精密称取罗替高汀原料药、杂质A、杂质B、杂质C、杂质E、杂质K、杂质D、杂质H和杂质J对照品适量，用稀释剂B溶解并稀释制成含罗替高汀4 mg/mL、杂质A 6 μ g/mL、杂质B 6 μ g/mL、杂质C 8 μ g/mL、杂质E 4 μ g/mL、杂质K 4 μ g/mL、杂质D 6 μ g/mL、杂质H 4 μ g/mL和杂质J 6 μ g/mL的加标供试品溶液2。

2.2.3 系统适用性试验和专属性试验

取系统适用性溶液、空白溶液 (稀释剂B)、加标供试品溶液1、加标供试品溶液2和供试品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件进样测定。结果显示，主峰与杂质A之间的分离度为1.83；空白溶液在主峰及杂质A出峰处无干扰；在该色谱条件

下, 加标供试品溶液 1 和加标供试品溶液 2 均检出杂质 A 和罗替高汀, 且二者分离为 ≥ 1.69 , 加标供试品溶液 2 能检出杂质 D、杂质 K 和杂质 J 且均不干扰杂质 A。典型色谱图见图 3。

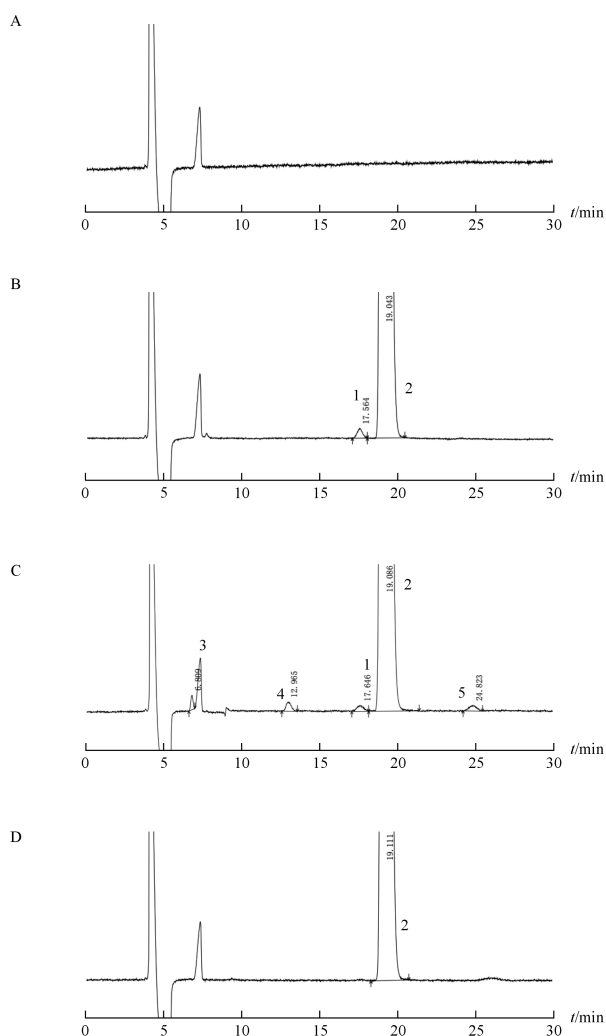


图3 对映异构体检查典型色谱图

Figure 3. Typical chromatogram of enantiomer determination

注: A. 空白溶液; B. 加标供试品溶液 1; C. 加标供试品溶液 2; D. 供试品溶液; 1. 杂质 A; 2. 罗替高汀; 3. 杂质 J; 4. 杂质 K; 5. 杂质 D。

2.2.4 线性关系考察

取罗替高汀、杂质 A 对照品储备液, 用稀释剂 B 逐级稀释, 配制相当于定量限、50%、75%、100%、125%、150% 限度浓度 (以 0.15% 限度计) 的系列线性溶液, 按 “2.2.1” 项下色谱条件进样测定, 以浓度 (X , $\mu\text{g/mL}$) 对峰面积 (Y) 进行线性回归。结果显示, 罗替高汀在 $1.5 \sim 8.9 \mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好, 线性方程为 $Y=160\,66.7X-2\,855.1$ ($r=0.999\,0$); 杂质 A 在 $1.4 \sim 8.3 \mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好, 线性方程为

$Y=15\,127.5X-3\,852.4$ ($r=1.000\,0$)。表明二者在各自测试浓度区间内均具有优异的线性相关性。

2.2.5 定量限与检测限

取罗替高汀对照品溶液、杂质 A 对照品储备液用稀释剂 B 逐级稀释, 按 “2.2.1” 项下色谱条件进样测定。根据 S/N 确定方法的灵敏度: $S/N \approx 10$ 时定为定量限, $S/N \approx 3$ 时定为检测限。结果得到罗替高汀的检测限为 $0.6 \mu\text{g/mL}$, 定量限为 $1.5 \mu\text{g/mL}$; 杂质 A 的检测限为 $0.6 \mu\text{g/mL}$, 定量限为 $1.4 \mu\text{g/mL}$ 。

2.2.6 精密度试验

取系统适用性溶液, 按 “2.2.1” 项下色谱条件连续进样 5 针, 罗替高汀及杂质 A 的峰面积 RSD 均 ≤ 1.85 ($n=5$)。

2.2.7 重复性试验

取同一批供试品 (批号: LTG-231101), 按 “2.2.2” 项下方法平行配制 6 份加标供试品溶液 (含杂质 A 约 $6 \mu\text{g/mL}$), 进样测定, 按外标法计算杂质 A 的含量。6 份加标供试品溶液杂质 A 的平均含量为 0.10% , RSD 为 4.5% ($n=6$), 表明精密度良好。

2.2.8 稳定性试验

取加标供试品溶液 (含杂质 A 约 $6 \mu\text{g/mL}$), 在室温条件下分别于 0、6、11、17、27、36、45 h 进样分析。结果显示, 加标供试品溶液在 45 h 内 (杂质 A 的量与 0 h 的差值 $< 0.02\%$) 稳定。

2.2.9 回收率试验

取已知本底 (未检出杂质 A) 的罗替高汀原料药 (批号: LTG-231101) 约 40 mg , 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 分别加入定量限浓度、100% 限度浓度 (0.15%)、150% 限度浓度 3 个水平的杂质 A 对照品溶液, 每个水平平行配制 3 份, 按 “2.2.2” 项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 按外标法计算回收率。结果显示, 罗替高汀平均回收率为 113.1% ($RSD=2.45\%$, $n=9$), 表明准确度良好。

2.2.10 耐用性试验

考察了色谱条件发生微小变动 (流速 $\pm 0.2 \text{ mL/min}$ 、柱温 $\pm 2^\circ\text{C}$ 、流动相比比例中正己烷比例 $\pm 1\%$ 、检测波长 $\pm 2 \text{ nm}$) 对加标供试品溶液 1 中杂质 A 含量测定结果的影响。结果显示, 各变动条件下, 空白溶液在主峰及杂质 A 出峰处均无干扰; 主峰与杂质 A 之间的分离度 ≥ 1.68 ,

主峰拖尾因子 ≤ 1.87 ；加标供试品溶液中杂质 A 含量与标准条件相比，差值最大为 0.02%。表明方法在拟定的变动范围内耐用性良好。结果见表 4。

表 4 对映异构体检查的耐用性考察结果

Table 4. Results of the durability assessment of the enantiomeric checks

耐用性条件	项目	杂质 A	罗替高汀	罗替高汀拖尾因子
标准条件	分离度	N/A	1.83	1.72
	杂质含量 (%)	0.11	N/A	
流速 0.6 mL/min	分离度	N/A	2.02	1.76
	杂质含量 (%)	0.10	N/A	
流速 1.0 mL/min	分离度	N/A	1.79	1.57
	杂质含量 (%)	0.09	N/A	
柱温 33 °C	分离度	N/A	1.89	1.64
	杂质含量 (%)	0.09	N/A	
柱温 37 °C	分离度	N/A	1.82	1.65
	杂质含量 (%)	0.11	N/A	
波长 223 nm	分离度	N/A	1.88	1.47
	杂质含量 (%)	0.09	N/A	
波长 227 nm	分离度	N/A	1.96	1.87
	杂质含量 (%)	0.11	N/A	
流动相比例：正己烷-稀释剂 A-二乙胺 (96 : 4 : 0.1)	分离度	N/A	1.68	1.71
	杂质含量 (%)	0.11	N/A	
流动相比例：正己烷-稀释剂 A-二乙胺 (98 : 2 : 0.1)	分离度	N/A	2.08	1.72
	杂质含量 (%)	0.10	N/A	

注：N/A 表示不适用。

2.3 样品的测定

取 3 批罗替高汀原料药（批号：16240301、16240401、16240501），分别按“2.1.2”和“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1.1”和“2.2.1”项下色谱条件进样测定，以外标法计算各杂质的含量，结果见表 5。

表 5 样品中有关物质及对映异构体的测定结果 ($n = 2$)Table 5. Determination results of related substances and enantiomer in samples ($n = 2$)

杂质	批号		
	16240301	16240401	16240501
A	未检出	未检出	未检出
B	未检出	低于检测限	低于检测限
C	0.01%	0.01%	0.01%
E	低于检测限	低于检测限	低于检测限
K	低于检测限	未检出	未检出
D	未检出	未检出	未检出
H	低于检测限	低于检测限	低于检测限
J	未检出	未检出	未检出

3 讨论

3.1 有关物质色谱条件优化

在流动相 pH 值考察中，杂质 C 与杂质 E 的分

离度受 pH 值影响显著。耐用性试验数据表明，随着流动相 A 的 pH 值由 6.50 升高至 6.70，二者分离度呈下降趋势，至 pH 6.70 时已无法分离。这一现象可能与 2 种杂质的离子化状态及与固定相相互作用的差异有关。为确保方法的稳健性，将流动相 A 的 pH 值范围确定为 6.55 ± 0.05 ，在此范围内两杂质的分离度达到 2.79，满足系统适用性要求 (≥ 1.5)。捕集小柱的使用可有效捕集流动相中的非特异性干扰峰，提升基线的稳定性。

3.2 对映异构体方法学

本研究中 R-对映异构体（杂质 A）在有关物质检查的 C₁₈ 色谱条件下与主峰共出峰，无法分离，因此必须建立手性分离方法。参考 EP 12.3、BP 2026 及 USP-NF 2026 各论^[5-9]，采用多糖衍生物为填充剂的手性柱（CHIRALPAK IB N-5）在正相条件下实现了罗替高汀与其对映异构体的基线分离（分离度 > 1.5 ）。方法学验证结果表明，该方法专属性强、灵敏度高、线性良好、精密度和准确度均符合指导原则要求，且耐用性良好。

3.3 杂质谱分析

罗替高汀涉及的主要杂质包括降解杂质（杂质 B、杂质 E、杂质 K）和工艺副产物（杂质 C、

杂质D、杂质J、杂质H)。强制降解试验结果表明,罗替高汀在高温条件下降解明显,主要降解产物为杂质K和杂质E;在氧化条件下主要降解为杂质E;而在光照、酸和碱条件下相对稳定。因此在原料药的贮藏和制剂生产过程中应重点关注温度和氧化因素的控制。

3.4 杂质限度制订

罗替高汀透皮贴剂为长期给药途径。参照ICH Q3A关于新原料药中杂质研究的相关要求,并根据EP 12.3、BP 2026及USP-NF 2026罗替高汀各论的质量标准^[5-9],拟定罗替高汀主要杂质的限度如下:杂质B(去噻吩乙基罗替高汀)限度为0.15%,杂质C限度为0.2%,杂质D(乙基罗替高汀)限度为0.15%,杂质J(罗替高汀-O-噻吩乙基)限度为0.15%,杂质E限度为0.10%,杂质K限度为0.10%,杂质H限度为0.10%,其他单个未知杂质限度为0.10%,杂质总量限度为0.6%。对映异构体(杂质A)限度为0.15%。本方法验证结果达到上述限度要求,可用于罗替高汀原料药有关物质及对映异构体的质量控制。

参考文献

- 1 Scheller D, Ullmer C, Berkels R, et al. The *in vitro* receptor profile of rotigotine: a new agent for the treatment of Parkinson's disease[J]. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2009, 379(1): 73-86. DOI: 10.1007/s00210-008-0341-4.
- 2 耿彪,党和勤,任广伟,等.罗替高汀治疗帕金森病非口服疗法的研究进展[J].中风与神经疾病杂志,2021,38(10): 1147-1149. [Geng B, Dang HQ, Ren GW, et al. Research progress on non-oral therapies of rotigotine for parkinson's disease[J]. Journal of Apoplexy and Nervous Diseases, 2021, 38(10): 1147-1149.] DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2017.40.004.
- 3 张凌锋,张一攀,林鹏星.罗替高汀透皮贴剂治疗帕金森病疗效和安全性的Meta分析[J].中国新药与临床杂志,2020,39(12): 753-760. [Zhang LF, Zhang YP, Lin PX. Meta-analysis of rotigotine transdermal patch in treatment of parkinson's disease[J]. Chinese Journal of New Drugs and Clinical Remedies, 2020, 39(12): 753-760.] DOI: 10.14109/j.cnki.xyylc.2020.12.11.
- 4 Chaudhuri KR, Qamar MA, Rajah T, et al. Non-oral dopaminergic therapies for Parkinson's disease: current treatments and the future[J]. NPJ Parkinsons Dis, 2016, 2: 16023. DOI: 10.1038/nnpjparkd.2016.23.
- 5 EP 12.3 Rotigotin[S/OL]. 2026: 3014. (2026-01)[2026-03-19] <https://pheur-online.edqm.eu/home/>.
- 6 BP 2026. Rotigotin[S/OL]. (2026-01-01)[2026-03-19] <https://www.pharmacopoeia.com/login>.
- 7 BP 2026 12.3. Rotigotine transdermal patches[S/OL]. (2026-01-01)[2026-01-01]. <https://www.pharmacopoeia.com/login>.
- 8 USP-NF 2026. Rotigotin[S/OL]. (2024-08-01)[2026-03-19]. https://online.uspnf.com/uspnf/document/1_GUID-4A6F04CD-6206-43B4-845A-27AE30E7C8FE_5_en-US.
- 9 USP-NF 2026. Rotigotin transdermal system[S/OL]. (2024-08-01)[2026-03-19]. https://online.uspnf.com/uspnf/document/1_GUID-C2E26BF6-730F-4AB3-B9BF-CCCCACDE10F9_3_en-US.
- 10 ICH Harmonized Tripartite Guideline. Impurities in new drug substances: Q3A (R2)[S/OL]. (2006-10-25)[2026-03-19]. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q3A%28R2%29%20Guideline.pdf>.
- 11 ICH Harmonized Tripartite Guideline. Impurities in New Drug Products: Q3B (R2)[S/OL]. (2006-06-01)[2026-03-19]. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q3B%28R2%29%20Guideline.pdf>.
- 12 中国药典2025年版.四部[S]. 2025: 676-684.
- 13 ICH Harmonized Tripartite Guideline. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology: Q2 (R1) [S/OL]. (2005-11-10)[2026-03-19]. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q2%28R1%29%20Guideline.pdf>.

收稿日期: 2026 年 05 月 26 日 修回日期: 2026 年 08 月 04 日

本文编辑: 周璐敏 冼静怡