

高效液相色谱法测定培唑帕尼片的有关物质

王文娟^{1,2}, 梁宁^{1*}

(1. 沈阳药科大学药学院, 辽宁沈阳 110016; 2. 扬子江药业集团江苏海岸药业有限公司, 江苏苏州 215000)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法(HPLC)测定培唑帕尼片有关物质的方法。方法 采用 Welch Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 以体积分数 0.1% 三氟乙酸水溶液和乙腈为流动相, 进行梯度洗脱; 柱温为 20 °C, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 260 nm。结果 培唑帕尼与各杂质分离度良好; 培唑帕尼、杂质 B 与杂质 D 分别在 0.07 ~ 1.41, 0.07 ~ 1.46 μg·mL⁻¹ 和 0.07 ~ 1.32 μg·mL⁻¹ 浓度内, 浓度与峰面积线性关系良好(*r* 均大于 0.999); 样品在低、中、高 3 个水平的回收率均在 90% ~ 108% 内, 方法准确度良好; 6 份样品中单个杂质和总杂检出量一致; 当色谱条件发生微小变化时, 各条件下检测结果一致。结论 该方法操作简便, 专属性强, 灵敏度与准确度高, 重复性和耐用性良好, 可用于培唑帕尼片中有关物质检查。

关键词: 培唑帕尼片; HPLC 法; 杂质

中图分类号: R 917 **文献标志码:** A

引用本文: 王文娟, 梁宁. 高效液相色谱法测定培唑帕尼片的有关物质[J]. 沈阳药科大学学报, 2026, 43(4): 386-392.

Cite this article as: WANG Wenjuan, LIANG Ning. Determination of related substance in Pazopanib tablets by HPLC[J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2026, 43(4): 386-392.

培唑帕尼是由葛兰素史克公司研制开发的酪氨酸激酶抑制剂, 于 2009 年 10 月获得美国 FDA 批准上市, 用于治疗晚期肾癌和肉瘤。培唑帕尼是一种血管内皮细胞生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)酪氨酸激酶抑制剂, 属于靶向治疗药物, 可选择性地将药物运送到靶部位, 使药物在正常组织内的分布减少, 从而提高化疗药的疗效并降低毒性和不良反应^[1], 这种物质可特异性抑制 VEGFR 及 ATP 的竞争性结合胞外配体结合位点, 阻断分子内酪氨酸的自身磷酸化, 抑制 VEGFR 激活, 通过这种方式阻碍为肿瘤供血的新血管生成, 进而阻断肿瘤的浸润和转移^[2]。研究表明, 培唑帕尼治疗晚期肾癌具有不亚于舒尼替尼的疗效^[3], 并且安全性更好, 可延长患者无症状生存期, 值得在临床推广应用^[4-5]。同时, 多项研究显示, 培唑帕尼在肾细胞癌外的其他肿瘤的治疗中也呈现较好疗效^[6], 但不良反应事件也多有报道, 药物的疗效还需要进一步证明。

目前, 国内对培唑帕尼片有关物质检测方法的文献相对有限^[7], 现有的研究主要集中在盐酸培唑帕尼原料药的杂质分析, 包括对基因毒性杂

质检测方法研究及杂质的合成研究^[8-9]。依据国家药品监督管理局药品审评中心(CDE)发布的《化学药物杂质研究原则》^[10], 本文对培唑帕尼片的潜在降解杂质进行剖析及研究, 以确保产品的安全性。本文作者在进口注册标准(标准号: JX20120191)中记载的有关物质检测方法的基础上进行方法开发与优化, 通过对流动相组成及比例、梯度洗脱程序、柱温等进行研究, 最终确定培唑帕尼片有关物质的检测方法, 并根据 CDE 发布的《化学药物质量分析方法验证原则》^[11] 对该方法进行了分析方法验证, 结果显示该方法专属性强, 灵敏度与准确度高, 重复性和耐用性良好。采用已建立的方法对已知杂质 B、D 进行研究, 杂质 B 和 D 为氧化降解杂质, 并将其订入质量标准中。具体的杂质结构见图 1。

1 仪器与材料

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 科技有限公司), XPE205DR、XPE56 电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司), ST16R 高速冷冻离心机(美国 Thermo Fisher 科技公司), 乙腈(色谱纯, 美国 Thermo Fisher 科技公司), 三氟乙酸(色谱

收稿日期: 2024-11-27

作者简介: 王文娟(1991-), 女, 硕士研究生, E-mail 15851593969@163.com; *通信作者: 梁宁(1967-), 女, 副教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事药物分析新材料与新技术研究工作, E-mail robinln2002@hotmail.com。

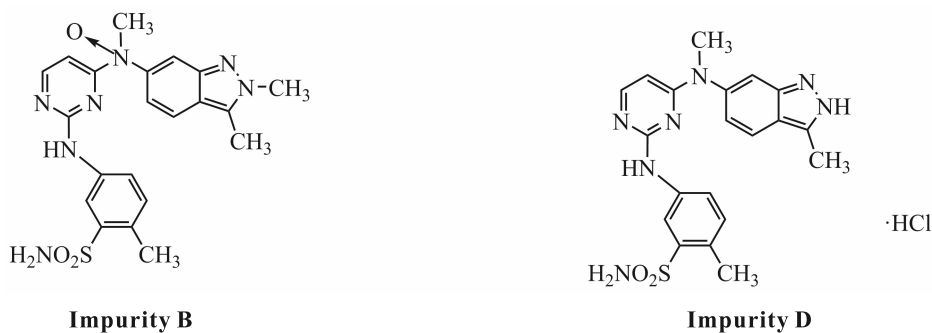


Fig. 1 The structures of impurities B and D

图1 杂质B和D的化学结构式

纯,美国 TEDIA 公司),质量分数 30% 过氧化氢、氢氧化钠、盐酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司),培唑帕尼片(扬子江药业集团有限公司,批号:19040421、19061421、19071621),杂质 B 对照品(含量质量分数为 90.8%,美国 Standardpharm 有限公司,批号:RS191063P-SL-01-201909),杂质 D 对照品(含量质量分数为 90.5%,美国 Standardpharm 有限公司,批号:RS191065P-SL-01-201909),盐酸培唑帕尼对照品(含量质量分数为 99.7%,扬子江药业集团有限公司,批号:RS17081501-201908);空白辅料(扬子江药业集团有限公司)。

2 方法

2.1 色谱条件

采用 Agilent 1260 高效液相色谱仪;色谱柱: Welch Ultimate XB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);捕集柱: Welch Ghost-Buster (50 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相 A 为体积分数 0.1% 三氟乙酸水溶液,流动相 B 为乙腈,按表 1 梯度洗脱;流速:1.0 mL·min⁻¹;柱温:20 °C;进样量:10 μL;检测波长:260 nm。

Table 1 Gradient elution program

表 1 梯度洗脱程序

| t/min | φ(A)/% | φ(B)/% |
|-------|--------|--------|
| 0 | 85 | 15 |
| 17 | 72 | 28 |
| 28 | 72 | 28 |
| 42 | 58 | 42 |
| 52 | 58 | 42 |
| 52.1 | 85 | 15 |
| 60 | 85 | 15 |

2.2 溶液的配制

2.2.1 空白溶液

水-乙腈-三氟乙酸(体积比 50:50:0.1)。

2.2.2 杂质 B 贮备液

称取杂质 B 10.027 mg,精密称定,置于 25 mL 量瓶中,加稀释剂超声溶解并稀释定容至刻度,制成每 1 mL 约含 0.4 mg 溶液。

2.2.3 杂质 D 贮备液

称取杂质 D 9.878 mg,精密称定,置于 25 mL 量瓶中,加稀释剂超声溶解并稀释定容至刻度,制成每 1 mL 约含 0.4 mg 溶液。

2.2.4 系统适用性溶液

称取盐酸培唑帕尼对照品 10.329 mg,精密称定,置于 25 mL 量瓶中,精密加入杂质 B、D 贮备液至该量瓶,稀释至刻度,制成每 1 mL 约含培唑帕尼 0.4 mg,杂质 B、D 各约 0.8 μg 的溶液。

2.2.5 供试品溶液

取本品 5 片,置 500 mL 量瓶中,加稀释剂适量,振摇使崩解,超声 10 min 使培唑帕尼溶解,冷却至室温,用稀释剂稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液 5 mL 置 25 mL 量瓶中,用稀释剂定容,摇匀,制成每 1 mL 约含培唑帕尼 0.4 mg 的溶液。

2.2.6 对照溶液

取供试品溶液适量,用稀释剂稀释制成每毫升约含 0.8 μg 的溶液。

2.2.7 灵敏度溶液

取供试品溶液适量,用稀释剂稀释制成每毫升约含 0.08 μg 的溶液。

2.2.8 空白辅料溶液

称取空白辅料适量,置 25 mL 量瓶中,定容到刻度,摇匀,滤膜(0.45 μm)滤过。

2.2.9 培唑帕尼贮备液

称取对照品适量 9.552 mg,精密称定,置于 25 mL 量瓶中,制成每毫升约含 0.4 mg 溶液。

2.2.10 杂质对照品溶液

量取杂质 B 贮备液与杂质 D 贮备液,制成每毫升约含杂质 B、D 各约 0.8 μg 的溶液。

2.2.11 20% 浓度水平回收率试验溶液

取本品1片,置50 mL量瓶中,加稀释剂适量,振摇使崩解,超声10 min使培唑帕尼溶解,冷却至室温。精密加入杂质B、杂质D贮备液各0.2 mL,用稀释液稀释至刻度,摇匀。精密量取5 mL置50 mL量瓶,加稀释剂稀释至刻度,摇匀。同法配制3份。

2.2.12 100% 浓度水平回收率试验溶液

取本品1片,置100 mL量瓶中,加稀释剂适量,振摇使崩解,超声10 min使培唑帕尼溶解,冷却至室温。精密加入杂质B、杂质D贮备液各1 mL,用稀释液稀释至刻度,摇匀。精密量取5 mL置25 mL量瓶,加稀释剂稀释至刻度,摇匀。同法配制3份。

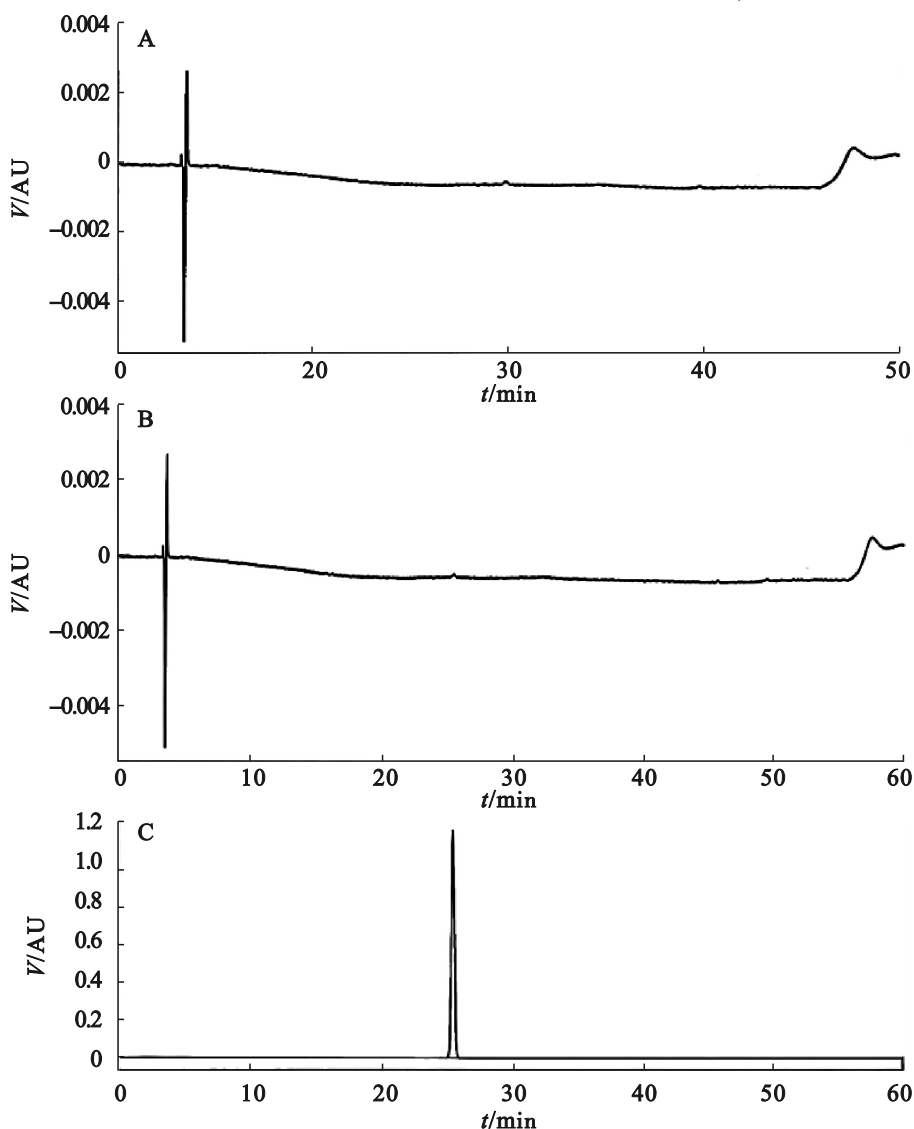
2.2.13 200% 浓度水平回收率试验溶液

取本品1片,置100 mL量瓶中,加稀释剂适量,振摇使崩解,超声10 min使培唑帕尼溶解,冷却至室温。精密加入杂质B、杂质D贮备液各2 mL,用稀释液稀释至刻度,摇匀。精密量取5 mL置25 mL量瓶,加稀释剂稀释至刻度,摇匀。同法配制3份。

2.3 方法学验证

2.3.1 专属性与强制降解试验

辅料干扰试验:取“2.2”项下配制的空白溶液、空白辅料溶液及系统适用性溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱图,结果见图2。结果显示,空白溶液及空白辅料溶液对主成分及各杂质检测无干扰;系统适用性溶液中,主峰与各杂质间分离度均大于1.5,方法专属性良好。



A—HPLC chromatogram of blank solvent; B—HPLC chromatogram of blank excipients; C—HPLC chromatogram of system suitability solution.

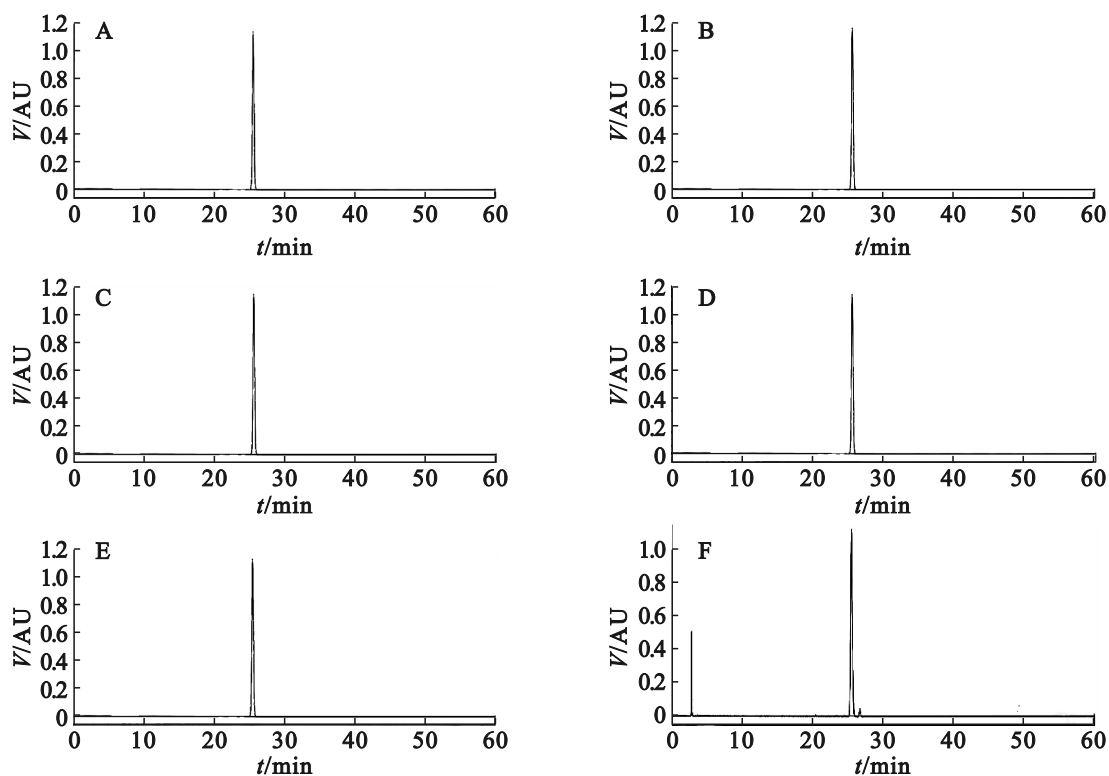
Fig. 2 Related substance—the chromatograms of specificity experiment

图2 有关物质—专属性试验色谱图

强制降解试验:按“2.2.5”项下配制供试品溶液数份,分别进行酸破坏(加入 $4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的盐酸溶液 2 mL,在 $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴放置 24 h 后放冷,再加入 $4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氢氧化钠溶液 2 mL 中和);碱破坏(加入 $4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氢氧化钠溶液 2 mL,在 $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴放置 24 h 后放冷,再加入 $4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的盐酸溶液 2 mL 中和);氧化破坏(加入质量分数 3% 双氧水 2 mL,在 $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴放置 24 h),取本品,分别进行高温破坏(本品裸片数片,置 $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温恒湿箱中放置 7 d)及光照破坏[取本品裸片数片,至混合光光

照箱($4\ 500 \pm 500$)lx 中放置 7 d]。

取“2.2.5”项下配制的供试品溶液及上述各破坏供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱图,结果见图 3。由图可见,培唑帕尼片在酸、高温、光照破坏条件下相对稳定,几乎未产生新杂质;在碱破坏条件下,产生杂质 D;在氧化破坏条件下,产生主要降解杂质 B 与杂质 D。在各降解条件下,各杂质间及各杂质与主成分分离度均大于 1.5,质量平衡均在 90% ~ 110% 内,主峰的纯度角均小于纯度阈值,方法专属性良好。



A—HPLC chromatogram of unstressed sample; B—HPLC chromatogram of acid-stressed sample; C—HPLC chromatogram of base-stressed sample; D—HPLC chromatogram of thermal-stressed sample; E—HPLC chromatogram of photostressed sample; F—HPLC chromatogram of oxidative-stressed sample.

Fig. 3 The HPLC chromatogram of stress test

图3 强制降解试验 HPLC 色谱图

2.3.2 滤膜吸附试验

实验室常用滤膜为聚四氟乙烯滤膜,考察聚四氟乙烯滤膜($0.45 \mu\text{m}$)对主成分的吸附作用。

离心样品:取本品 5 片,置 500 mL 量瓶内,加稀释剂适量,振摇使崩解,超声 10 min 使培唑帕尼溶解,冷却至室温,用稀释剂稀释至刻度,摇匀,以 $10\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液 5 mL 置 25 mL 量瓶中,用稀释剂稀释至刻度,混匀。

过滤样品:取本品 5 片,置 500 mL 量瓶内,加稀释剂适量,振摇使崩解,超声 10 min 使培唑

帕尼溶解,冷却至室温,用稀释剂稀释至刻度,摇匀。依次弃去 2、4、6、8 mL,取续滤液 5 mL 置 25 mL 量瓶中,用稀释剂稀释至刻度,混匀。

精密量取离心样品、过滤样品各 $10 \mu\text{L}$,分别进样 1 针,记录色谱图。验证结果见表 2。与离心结果相比,过滤样品在定量限以上的杂质峰的数量基本一致。各杂质含量变化绝对值小于 0.04%,总杂的 RSD 小于 5%。由此表明,滤膜无吸附干扰。

Table 2 Results of filter membrane adsorption test

表2 滤膜吸附试验结果

| $w(\text{impurity})/\%$ | Centrifuged Sample | Filtered 2 mL | Filtered 4 mL | Filtered 6 mL | Filtered 8 mL | Max absolute change/% | RSD/% |
|-------------------------|--------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----------------------|-------|
| Unknown Impurity 1 | 0.043 | 0.043 | 0.043 | 0.043 | 0.042 | 0.001 | — |
| Unknown Impurity 2 | 0.043 | 0.043 | 0.044 | 0.043 | 0.045 | 0.002 | — |
| Unknown Impurity 3 | 0.007 | 0.007 | 0.007 | 0.007 | 0.007 | 0.000 | — |
| Total Impurities | 0.093 | 0.093 | 0.094 | 0.093 | 0.094 | — | 0.56 |

—: Not applicable.

2.3.3 准确度

回收率。结果如表3所示。

分别以自身对照法和杂质外标法计算各杂质

Table 3 Accuracy results

表3 准确度结果

| Name | $\bar{x}(\text{recovery})/\%$ | RSD/% ($n=9$) | $\bar{w}(\text{self-control method})/\%$ | $\bar{w}(\text{external standard method})/\%$ | Absolute change in content/% |
|------------|-------------------------------|--------------------|--|---|------------------------------|
| Impurity B | 95.3 | 2.1 | 0.17 | 0.16 | 0.01 |
| Impurity D | 104.6 | 2.9 | 0.19 | 0.20 | 0.01 |

2.3.4 定量限与检测限

取培唑帕尼对照品溶液、杂质B贮备液与杂质D贮备液,用稀释剂逐级稀释后进样,记录信噪比S/N约为10:1的质量浓度即为定量限浓度。信噪比S/N约为3:1的质量浓度即为检测限浓度。结果见表4。

2.3.5 线性

取“2.2”项下杂质B贮备液、杂质D贮备液

及培唑帕尼贮备液适量,用稀释剂稀释。分别制成质量浓度为0.08、0.16、0.2、0.4、0.8、1.6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和2.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的线性试验溶液。精密量取上述溶液各10 μL ,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱图。以质量浓度($\rho, \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)为横坐标,对应的峰面积(A)为纵坐标作图,确定出回归方程。结果如表4所示。

结果表明,培唑帕尼、杂质B和杂质D的相

Table 4 Linearity test results

表4 线性试验结果

| Sample name | Regression equation | $\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ | r | y-Intercept deviation/% | LOQ/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) | LOD/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) | Correction factor |
|-------------|------------------------------------|---|---------|-------------------------|--|--|-------------------|
| Impurity B | $A = 3.402 \times 104\rho - 7.278$ | 0.07 - 1.46 | 0.999 9 | 0.0003 | 0.08 | 0.02 | 1.28 |
| Pazopanib | $A = 4.369 \times 104\rho + 909.1$ | 0.07 - 1.41 | 0.999 4 | 0.03 | 0.08 | 0.02 | — |
| Impurity D | $A = 3.819 \times 104\rho - 110.4$ | 0.07 - 1.32 | 0.999 9 | 0.004 | 0.07 | 0.02 | 1.14 |

关系数及y轴截距均符合要求,本方法线性良好。

2.3.6 杂质的校正因子

校正因子计算公式:培唑帕尼主成分标准曲线斜率/各杂质标准曲线斜率,各杂质的校正因子见表4。

2.3.7 精密度(重复性)

按“2.2”项下配制空白溶液、供试品溶液(平行配制6份)、对照溶液,精密量取上述溶液各10 μL ,根据设定的条件进行色谱分析,记录色谱图。

验证结果:6份供试品溶液中,含量在定量限以上的杂质峰个数一致;单杂和总杂含量变化的

绝对值分别为0.01%、0.02%,方法重复性良好。

2.3.8 溶液稳定性

在常温条件下考察系统适用性溶液、对照溶液和供试品溶液的稳定性。结果表明,系统适用性溶液、对照品、供试品溶液室温放置48 h稳定。

2.3.9 耐用性

以“2.1”色谱条件为基准,改变流动相的起始比例、柱温、波长及流速,考察适用性试验是否符合要求。结果表明,对流动相起始比例、柱温、波长及流速做微小变化,系统适用性均满足要求,说明本方法的耐用性良好。结果如表5所示。

Table 5 Results of durability testing

表5 耐用性考察结果

| w(impurity) /% | Initial mobile phase ratio [$\varphi(A) : \varphi(B)$] | | | λ/nm | | | $\theta/^\circ\text{C}$ | | | Flow rate/ ($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$) | | | Absolute change in content/% |
|-------------------------|---|-------|-------|---------------------|------|------|-------------------------|------|------|---|------|------|---------------------------------|
| | 84:16 | 85:15 | 86:14 | 258 | 260 | 262 | 25 | 20 | 15 | 1.1 | 1.0 | 0.9 | |
| Unknown Impurity 1/% | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.00 |
| Unknown Impurity 2/% | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.00 |
| Total Impurities/% | 0.08 | 0.08 | 0.08 | 0.08 | 0.08 | 0.08 | 0.08 | 0.08 | 0.08 | 0.08 | 0.08 | 0.08 | 0.00 |

3 结果

采用“2.1”项下色谱条件,对3批培唑帕尼

片产品进行测定,检验结果显示,各批样品的单个杂质和总杂均在限度范围之内,符合要求。结果见表6。

Table 6 Test results of multiple batches of samples

表6 多批样品检测结果

| Batch No. | w(impurity B)/% | w(impurity D)/% | w(other largest impurity)/% | w(total impurities)/% |
|-----------|-----------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------|
| 19040421 | ND | ND | 0.04 | 0.08 |
| 19061421 | ND | ND | 0.04 | 0.07 |
| 19071621 | ND | ND | 0.05 | 0.09 |

4 讨论与结论

4.1 讨论

4.1.1 色谱条件的选择

参考进口注册标准(标准号:JX20120191)建立了有关物质方法,将二元流动相体系进行了优化,将流动相B调整为纯有机相,同时通过调整梯度变化速率,将流动相梯度洗脱时间由40 min延长至60 min,使杂质B和D与未知杂质峰得到有效分离,各杂质间分离度均大于1.5。

4.1.2 检测波长的选取

运用二极管阵列检测器(PDA),在200~400 nm区间内,对各杂质以及培唑帕尼进行光谱扫描。经扫描发现,培唑帕尼以及各类杂质皆在260 nm左右呈现出最大吸收。由此确定本品有关物质的检测波长为260 nm。

4.1.3 质量标准制定依据

进口注册标准(标准号:JX20120191)中培唑帕尼片未列入特定杂质,本文对杂质B、D进行了研究,建立该品种有关物质检测方法,开展方法学验证,研究结果显示,所有验证结果均符合要求。在质量研究过程中发现,杂质A、C为原料引入的工艺杂质,杂质B为氧化降解杂质,杂质D为碱

和氧降解杂质工艺杂质,A、C已在原料药内控质量标准中进行有效控制,因此,培唑帕尼片中仅将降解杂质B和D作为特定已知杂质进行控制。

4.1.4 强制降解研究

培唑帕尼片在高温、光照及酸性条件下相对稳定,在碱性、氧化条件下不稳定,主要降解杂质为杂质B与杂质D。

4.1.5 杂质定量方法的选择

杂质B和杂质D校正因子不在0.9~1.1内,故需采用加校正因子的自身对照法。将外标法与加校正因子自身对照法计算结果对比,杂质B、杂质D含量变化绝对值均不大于0.01%,为简化试验操作,最终确定为使用加校正因子的自身对照法分析杂质B与杂质D。

4.2 结论

本文作者参照进口注册标准(标准号:JX20120191),建立了培唑帕尼片有关物质的液相方法,并对该方法进行方法学验证,验证项目包括:专属性、系统适用性、滤膜吸附试验、定量限和检测限、校正因子、精密度、溶液稳定性及耐用性。验证结果均符合要求,证明其检出结果准确、可靠,适用于检查培唑帕尼片中的有关物质。

本研究作者使培唑帕尼片的质量研究更加充

分,可为企业在进行产品研发过程中进行其他杂质研究时提供参考思路,对缩短产品的注册审评时间具有重要意义。

参考文献:

- [1] ZHANG L, YAN X, HONG H Y, et al. Preparation and evaluation of multiple-stimuli responsive mesoporous carbon based drug delivery system[J]. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University (沈阳药科大学学报)*, 2022, 39(1): 1-9.
- [2] WARD J E, STADLER W M. Pazopanib in renal cell carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(24): 5923-5927.
- [3] PICK A M, NYSTROM K K. Pazopanib for the treatment of metastatic renal cell carcinoma[J]. *Clin Ther*, 2012, 34(3): 511-520.
- [4] WANG J J, HU X Y, JIANG S, et al. Efficacy and safety of pazopanib for metastatic renal cell carcinoma[J]. *Journal of Modern Urology (现代泌尿外科杂志)*, 2022, 27(3): 205-209, 217.
- [5] YE W. Efficacy and safety of pazopanib in the first-line treatment of advanced renal cell carcinoma; a single-center study (培唑帕尼一线治疗晚期肾癌疗效及安全性: 一项单中心研究)[D]. Fuzhou: Fujian Medical University, 2020.
- [6] HUANG D L, JIA J J, WU M F. Progress in the application of

pazopanib in the treatment of different tumor [J]. *Journal of China Prescription Drug (中国处方药)*, 2021, 19(7): 18-20.

- [7] ZHAO L, ZHAO C C, YANG B, et al. Content determination of main component and related substances in Pazopanib Hydrochloride Tablets by HPLC[J]. *China Pharmacy (中国药房)*, 2012, 23(33): 3138-3139.
- [8] UN Y D, LI Y W, CHEN G H, et al. Determination of the related substances in pazopanib hydrochloride [J]. *Shandong Chemical Industry (山东化工)*, 2022, 51(3): 119-121, 124.
- [9] SUN C Y, JI Y H, SHI X N, et al. Determination of the contents of two genotoxic impurities in pazopanib by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method [J]. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University (沈阳药科大学学报)*, 2021, 38(9): 894-899.
- [10] Center for Drug Evaluation. NMPA. Technical guidelines for research on chemical drug impurities [EB/OL]. (2005-03-18) [2024-08-27]. <https://www.org.cn/main/fullsearch/fullsearchpage>.
- [11] Center for Drug Evaluation. NMPA. Technical guidelines for analytical method validation of chemical drug quality control [EB/OL]. (2005-03-18) [2024-08-27]. <https://www.cde.org.cn/main/fullsearch/fullsearchpage>.

Determination of related substances in Pazopanib tablets by HPLC

WANG Wenjuan^{1,2}, LIANG Ning^{1*}

(1. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. Yangzijiang Pharmaceutical Group Jiangsu Hai'an Pharmaceutical Co., Ltd., Suzhou 215000, China)

Abstract: Objective To develop an HPLC method for the determination of related substances in Pazopanib tablets. **Methods** The analysis was performed on a Welch Ultimate XB-C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of 0.1% (V/V) trifluoroacetic acid aqueous solution and acetonitrile with gradient elution. The column temperature was 20 °C, the flow rate was 1.0 mL · min⁻¹, and the detection wavelength was 260 nm. **Results** Pazopanib was well separated from all impurities. Good linear relationships were obtained for pazopanib, impurity B and impurity D in the concentration ranges of 0.07-1.41, 0.07-1.46 μg · mL⁻¹ and 0.07-1.32 μg · mL⁻¹, respectively, with correlation coefficients (*r*) > 0.999. Recoveries at low, medium, and high concentration levels ranged from 90% to 108%, indicating good accuracy. The contents of individual impurities and total impurities in six samples were consistent. When the chromatographic conditions were slightly modified, the detection results remained consistent. **Conclusion** The method is simple in operation and exhibits strong specificity, high sensitivity and accuracy, as well as good repeatability and robustness. It is suitable for the determination of related substances in Pazopanib tablets.

Key words: Pazopanib tablets; HPLC; related substances