

HPLC法测定利培酮口服液中主药的含量

蒋华治^{1*},刘锐锋¹,箫绮珊²(1.中山市人民医院药学部,广东中山 528403;2.中山市食品药品检验所,广东中山 528400)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)24-2283-02
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.24.25

摘要 目的:建立测定利培酮口服液中主药含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Hypersil BDS-C₁₈柱,流动相为乙腈-0.5%醋酸铵溶液(用三乙胺调pH值至7.0,22:78,V/V),流速为1.5 ml/min,检测波长为275 nm,柱温为40 ℃,进样量为10 μl。结果:利培酮检测质量浓度在0.16~0.24 mg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.9996$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD均≤0.7%;平均回收率为99.5%,RSD=0.6%($n=9$)。结论:该法专属性强、灵敏度高、简便易行、结果准确,适用于利培酮口服液中主药的含量测定。

关键词 利培酮口服液;高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of Main Component of Risperidone Oral Solution by HPLC

JIANG Hua-zhi¹, LIU Rui-feng¹, XIAO Qi-shan² (1.Dept. of Pharmacy, Zhongshan People's Hospital, Guangdong Zhongshan 528403, China; 2.Zhongshan Institute for Food and Drug Control, Guangdong Zhongshan 528400, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of main component in Risperidone oral solution. METHODS: HPLC method was adopted. The separation was performed on Hypersil BDS-C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.5% ammonium acetate (pH adjusted to 7.0 with triethylamine, 22:78, V/V) at the flow rate of 1.5 ml/min. The detection wavelength was set at 275 nm and column temperature was 40 ℃. The sample size was 10 μl. RESULTS: The linear range of risperidone was 0.16-0.24 mg/ml ($r=0.9996$) with an average recovery of 99.5% (RSD=0.6%, $n=9$). RSDs of precisions, stability and reproducibility tests were lower than and equal to 0.7%. CONCLUSIONS: The method is specific, sensitive, simple and accurate, and it can be used for the content determination of main components in Risperidone oral solution.

KEY WORDS Risperidone oral solution; HPLC; Content determination

利培酮是新一代的抗精神病药物,为苯并异恶唑衍生物,是一种具有独特性质的选择性单胺能拮抗药,对精神分裂症阳性及阴性症状均有良好疗效,现已成为一线治疗药物^[1]。利培酮口服液在2011年时收录入《美国药典》(USP 33 增补版2),而《中国药典》2010年版尚未收录相关标准。本试验在参考文献^[2-3]的基础上,采用高效液相色谱(HPLC)法测定利培酮口服液中主药的含量,并对该方法作了方法学考察。

1 材料

168型HPLC仪,配备508型自动进样器、色谱工作站(美国Beckman公司);BP 711 D型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];pHSJ-5型精密酸度计(上海雷磁仪器厂)。

利培酮口服液(雅柏药业有限公司,批号:T120901、T120902、T120903,规格:30 ml/瓶);利培酮对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100570-201102,质量分数:99.9%);甲醇、乙腈均为色谱纯,醋酸铵、三乙胺均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性

色谱柱:Hypersil BDS-C₁₈(4.6 mm×100 mm, 3 μm);流动相:乙腈-0.5%醋酸铵溶液(用三乙胺调pH值至7.0,22:78,V/V);流速:1.5 ml/min;检测波长:275 nm;柱温:40 ℃,进样量:10 μl。

*主管药师,本科。研究方向:医院药学。电话:0760-89880947

系统适用性试验结果表明,该色谱条件下主峰与杂质峰的分度度不小于1.5,利培酮峰的拖尾因子小于2.0,理论板数按利培酮峰计算不低于4 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品贮备溶液的制备 取利培酮对照品适量,精密称定,用甲醇溶解使配成质量浓度为1 mg/ml的对照品贮备溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密量取“2.2.1”项下对照品贮备溶液5.0 ml,置于25 ml量瓶中,加入5.0 ml水和12.5 ml 0.5%醋酸铵缓冲液,冷却至室温后,加入甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密量取样品约5 ml(相当于5 mg的利培酮),置于25 ml量瓶中,加入12.5 ml 0.5%醋酸铵缓冲液,冷却至室温后,再用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.4 空白辅料溶液的制备 根据利培酮口服液的处方,去除利培酮以外的空白辅料,按“2.2.3”项下方法进行制备,即得。

2.3 专属性试验

取空白辅料溶液、对照品溶液和供试品溶液各10 μl,分别注入HPLC仪,记录色谱图,观察空白辅料在275 nm检测波长下对利培酮主峰测定是否有干扰。结果表明,空白辅料不干扰利培酮含量测定,详见图1。

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下的对照品贮备溶液4.0、4.5、5.0、

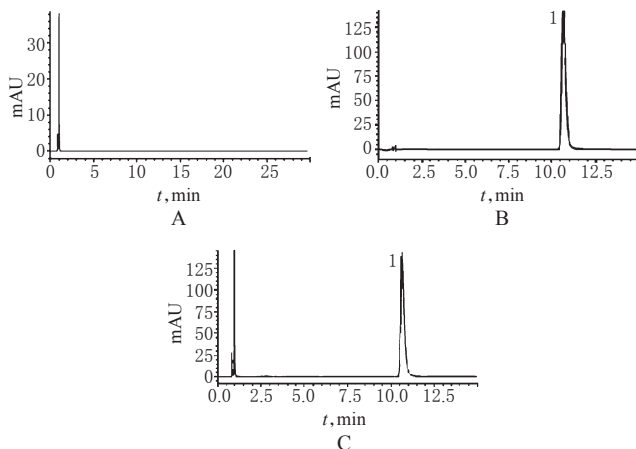


图1 高效液相色谱图

A.空白辅料;B.对照品;C.供试品;1.利培酮

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank excipients; B. substance control; C. test sample; 1. risperidone
5.5、6.0 ml, 分别置于 25 ml 量瓶中, 加入 5.0 ml 水和 12.5 ml 0.5% 醋酸铵缓冲液, 冷却至室温后, 加入甲醇稀释至刻度, 制成质量浓度分别为 0.162 6、0.182 9、0.203 2、0.223 5、0.243 8 mg/ml 的系列对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样分析。以质量浓度为横坐标(x, mg/ml), 峰面积(y)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $y = 10\ 514x - 31\ 474$ ($r = 0.999\ 6$)。结果表明, 利培酮检测质量浓度在 0.16~0.24 mg/ml 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

精密量取“2.2.2”项下对照品溶液适量, 注入 HPLC 仪, 记录色谱, 重复进样 5 次, 测定。结果, $RSD = 0.5\%$ ($n = 5$), 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

分别取“2.2.2”和“2.2.3”项下对照品溶液和供试品溶液, 分别于 0.6、10、18、24 h 进样测定。结果, 对照品溶液和供试品溶液在放置 24 h 后, 利培酮峰面积比新制时分别减少了 0.5% 和 0.4%, RSD 分别为 0.4% 和 0.6% ($n = 5$), 表明两种溶液放置 24 h 后质量稳定性良好。

2.7 重复性试验

取同一批号(T120901)的利培酮口服液适量, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液 6 份, 进样测定。结果, $RSD = 0.7\%$ ($n = 6$), 表明本方法重复性良好。

2.8 回收率试验

按利培酮口服液处方比例及其制备方法, 精密称取利培酮对照品制成相当于标示含量 80%、100%、120% 的模拟样品溶液各 3 份, 分别注入 HPLC 仪, 记录色谱, 按外标法以峰面积计算回收率, 结果见表 1。

2.9 样品含量测定

取 3 批样品适量, 分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 另取对照品适量, 按“2.2.1”和“2.2.2”项下方法制备对照品溶液, 精密量取上述两种溶液各 10 μ l, 分别注入 HPLC 仪, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 按外标法以峰面积计算含量, 结果见表 2。

3 讨论

3.1 流动相的选择

表1 回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery test($n=9$)

编号	加入量, μ g/ml	测得量, μ g/ml	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
1	162.6	161.0	98.9		
2	162.6	161.6	99.3		
3	162.6	161.2	99.1		
4	203.2	202.7	99.6		
5	203.2	201.9	99.3	99.5	0.6
6	203.2	201.6	99.1		
7	243.8	245.4	100.6		
8	243.8	241.8	99.1		
9	243.8	244.8	100.3		

表2 样品含量测定结果($n=3$)

Tab 2 Results of content determination of samples($n=3$)

批号	占标示含量的百分比, %
T120901	99.2
T120902	100.5
T120903	100.6

流动相是改善分离度的重要参数。本试验选择乙腈-0.5%醋酸铵溶液为流动相, 考察了乙腈-0.5%醋酸铵溶液配比如分别为 30:70、26:74、22:78、18:82 (V/V) 时的分离度情况。结果发现, 乙腈比例提高时分离度变小, 杂质分不开, 分离失真; 乙腈比例偏低时主峰出峰时间延长, 工作效率降低。故配比最终选择 22:78 (V/V)。

3.2 流动相 pH 值的选择

利培酮口服液配方中含有苯甲酸, 溶液呈弱酸性。在流动相中加入三乙胺调 pH 值至 7.0, 可改善利培酮在色谱柱中的分配行为, 减少拖尾现象, 呈现良好的峰形。

3.3 柱温的选择

参考文献^[4-5]介绍的柱温, 笔者在试验中发现, 柱温为室温时, 拖尾现象严重, 保留时间相对较长; 当柱温逐渐升高至 40 $^{\circ}$ C 时, 出峰时间提前, 分离度良好; 但当柱温继续上升至 45 $^{\circ}$ C 时, 峰形出现变形, 而且长期使用会缩短色谱柱的寿命, 故试验中的柱温选择在 40 $^{\circ}$ C。

综上所述, 对利培酮含量测定方法的专属性、线性关系、精密度、稳定性、回收率研究结果表明, 该分析方法专属性强、灵敏度高、简便易行、结果准确, 适用于利培酮口服液中主药的含量测定。

参考文献

- [1] 颜晓丹, 蔡振华, 高明, 等. 色谱技术分析利培酮含量及有关物质的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2012, 27(3): 317.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[S]. 2010 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 V D.
- [3] The United States Pharmacopeial Convention. USP 34-NF 29[S]. 2011: 4 169-4 171.
- [4] 陈钧, 高小玲, 蒋新国. 高效液相色谱法测定利培酮片含量及有关物质[J]. 中国现代应用药学, 2004, 21(4): 302.
- [5] Bharathi C, Chary DK, Kumar MS, et al. Identification, isolation and characterization of potential degradation product in risperidone tablets[J]. J Pharm Biomed Anal, 2008, 46(1): 165.

(收稿日期: 2013-01-28 修回日期: 2013-04-16)