

RP-HPLC法同时测定盐酸硫利达嗪片的含量和有关物质

韩淑芹^{1*},张连成^{2#},王超众²,贾首时²(1.齐齐哈尔市第一医院,黑龙江齐齐哈尔 161000;2.齐齐哈尔市食品药品检验检测中心,黑龙江齐齐哈尔 161005)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)03-0422-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.03.44

摘要 目的:建立同时测定盐酸硫利达嗪片含量和有关物质的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为 Waters Symmetry-C₁₈,流动相为乙腈-水-三乙胺(85:14:1, V/V/V),流速为 1.0 ml/min,检测波长为 265 nm,柱温为 30 ℃,进样量为 20 μl。结果:盐酸硫利达嗪质量浓度在 2.5~37.5 mg/ml 范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 8$);精密性、稳定性、重复性试验的 RSD≤0.95%;平均加样回收率为 99.8%,RSD=0.83%($n=3$)。结论:该方法简便、准确、专属性好、灵敏度高,可用于盐酸硫利达嗪片的质量控制。

关键词 盐酸硫利达嗪片;反相高效液相色谱法;含量测定;有关物质

Simultaneous Determination of Content and Related Substances of Thioridazine Hydrochloride Tablets by RP-HPLC

HAN Shu-qin¹, ZHANG Lian-cheng², WANG Chao-zhong², JIA Shou-shi² (1. Qiqihar Municipal First Hospital, Heilongjiang Qiqihar 161000, China; 2. Qiqihar Institute for Food and Drug Control, Heilongjiang Qiqihar 161005, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method of the content determination and related substance of Thioridazine hydrochloride tablets. METHODS: RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on Waters Symmetry-C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-water-triethylamine (85:14:1, V/V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 265 nm, and column temperature was 30 ℃. The sample size was 20 μl. RESULTS: The linear range of thioridazine was 2.5-37.5 mg/ml ($r=0.999\ 8$) with an average recovery of 99.8% (RSD=0.83%, $n=3$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were ≤0.95%. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate, specific and sensitive. It can be used for quality control of Thioridazine hydrochloride tablets.

KEYWORDS Thioridazine hydrochloride tablets; RP-HPLC; Content determination; Related substances

盐酸硫利达嗪为吩噻嗪类抗精神病药,主要阻断脑内多巴胺受体,对锥体外系多巴胺受体、体温中枢及镇静作用均较弱。该药能增强镇痛药、催眠药、抗组胺药、麻醉药及乙醇的中枢抑制作用^[1]。盐酸硫利达嗪片收载于《中国药典》^[2],采用紫外分光光度法测定其含量,采用薄层色谱法测定有关物质;紫外分光光度法简便易操作,但准确度和精密性均较差;薄层色谱法测定有关物质准确度较低,人为因素较大。为此,笔者参考相关文献^[3-4]建立了采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法同时测定盐酸硫利达嗪片含量及有关物质的方法,以其质量控制提供参考。

1 材料

e2695型HPLC仪,包括2489紫外/可见光检测器、Empower工作站(美国Waters公司);KQ-1000型超声波机(昆山市超声仪器有限公司,功率:200 W);BP221S型电子天平(德国赛多利斯公司)。

盐酸硫利达嗪对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100344-201102,纯度:100%);盐酸硫利达嗪杂质对照品E^[5](英国政府化学家实验室,批号:MM0157.01,纯度:98%);盐

酸硫利达嗪片(湖南洞庭药业股份有限公司,批号:201209113、201210242、201304141、0907007、0908014);乙腈、三乙胺均为色谱纯,水为二次蒸馏纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Waters Symmetry-C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水-三乙胺(85:14:1, V/V/V);检测波长:265 nm;流速:1.0 ml/min;柱温:30 ℃;进样量:20 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液 取本品20片,研细,精密称取适量(约相当于盐酸硫利达嗪25 mg),置于100 ml棕色量瓶中,加入甲醇70 ml,超声(功率:200 W,频率:50 kHz)处理10 min,溶解,放冷,加入甲醇稀释至刻度,摇匀,过滤。精密量取续滤液2 ml,置于100 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得供试品溶液。

2.2.2 对照品贮备液 取盐酸硫利达嗪对照品25 mg,精密称定,置于100 ml棕色容量瓶中,加入甲醇70 ml,超声(功率:200 W,频率:50 kHz)处理10 min,溶解,放冷,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得对照品贮备液。

2.2.3 空白溶液 取盐酸硫利达嗪片处方中不含盐酸硫利达嗪的辅料适量,按“2.2.1”项下方法制备,即得空白溶液。

2.2.4 混合对照品溶液 精密称取盐酸硫利达嗪杂质对照品

* 副主任药师。研究方向:医院药学。电话:0452-2713526

通信作者:主任药师。研究方向:药物分析。E-mail: zhanglian-cheng_ren@163.com

E12.5 mg,置于50 ml量瓶中,加入甲醇40 ml,超声处理(功率:200 W,频率:50 kHz)10 min,溶解,放冷,加甲醇定容,摇匀。精密量取2 ml,置于100 ml量瓶中,加甲醇定容,摇匀,作为盐酸硫利达嗪杂质对照品E溶液贮备液。分别精密量取盐酸硫利达嗪杂质对照品E贮备液及“2.2.2”项下对照品贮备液各2 ml,置于同一25 ml量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得混合对照品溶液。

2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下供试品溶液、混合对照品溶液、空白溶液各20 μ l,分别注入HPLC仪,记录色谱图,详见图1。由图1可见,盐酸硫利达嗪与降解产物的分离度大于1.5,理论板数按盐酸硫利达嗪峰计算为3500;有关物质峰与盐酸硫利达嗪杂质对照E的保留时间一致,且空白辅料不干扰测定。

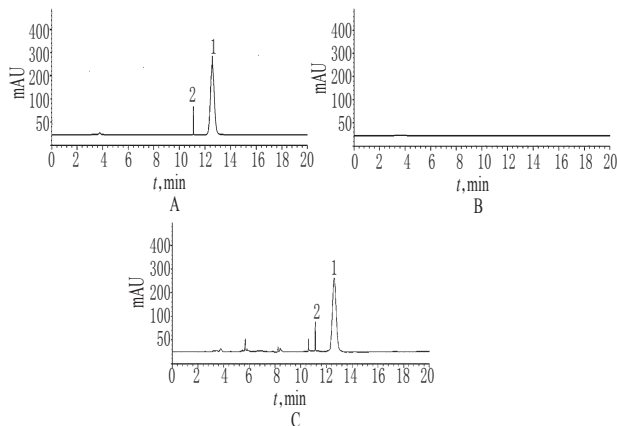


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品溶液;B.空白溶液;C.供试品溶液;1.盐酸硫利达嗪;2.盐酸硫利达嗪杂质对照E

Fig 1 HPLC chromatograms

A.mixed control solution;B.blank solution;C.test sample solution;1.thioridazine hydrochloride;2.thioridazine hydrochloride impurity control E

2.4 专属性试验

(1)精密量取“2.2.2”项下对照品贮备液2 ml,置于100 ml量瓶中,加入1 mol/L盐酸溶液2 ml,室温放置12 h,用1 mol/L氢氧化钠溶液中和至中性,加甲醇稀释至刻度,摇匀,备用;(2)精密量取“2.2.2”项下对照品贮备液2 ml,置于100 ml量瓶中,加入1 mol/L氢氧化钠溶液2 ml,室温放置12 h,用1 mol/L盐酸溶液中和至中性,加甲醇稀释至刻度,摇匀,备用;(3)精密量取“2.2.2”项下对照品贮备液2 ml,置于100 ml量瓶中,加入1%过氧化氢2 ml,室温放置12 h,加甲醇稀释至刻度,摇匀,备用;(4)精密量取“2.2.2”项下对照品贮备液2 ml,置于100 ml量瓶中,于100 $^{\circ}$ C水浴中加热4 h,加甲醇稀释至刻度,摇匀,备用;(5)精密量取“2.2.2”项下对照品贮备液2 ml,置于100 ml量瓶中,于4500 lx日光灯下照射24 h,加甲醇稀释至刻度,摇匀,备用。精密量取上述5种溶液各20 μ l,分别注入HPLC仪,记录色谱图,详见图2。由图2可见,本品在强酸、强碱、氧化、高温、光照条件下,降解产物均能与主峰基线分离。

2.5 线性关系考察

精密量取“2.2.2”项下对照品贮备液1、2、5、10、15 ml,分别置于100 ml棕色量瓶中,加入甲醇稀释至刻度,摇匀。按“2.1”项下色谱条件分别进样20 μ l,重复6次,记录色谱图。以检测质量浓度(x , mg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标,进行线性

回归,得回归方程 $y=306.96x-0.93$ ($r=0.9998$)。结果表明,盐酸硫利达嗪检测质量浓度在2.5~37.5 mg/ml范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

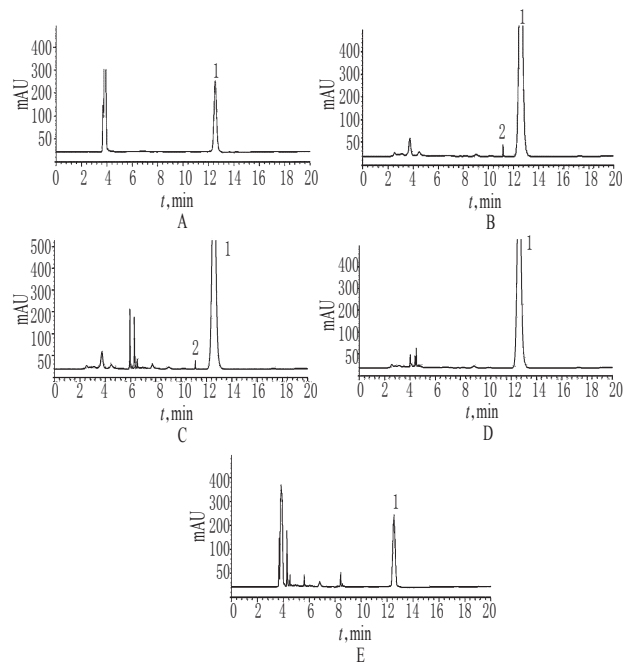


图2 破坏性试验高效液相色谱图

A.酸破坏样品;B.碱破坏样品;C.氧化破坏样品;D.高温破坏样品;E.光破坏样品;1.盐酸硫利达嗪;2.盐酸硫利达嗪杂质对照E

Fig 2 HPLC chromatograms of destructive test

A.Sample destroyed by acid; B.Sample destroyed by alkali; C.Sample destroyed by oxidation; D.Sample destroyed by high temperature; E. Sample destroyed by intense light; 1. thioridazine hydrochloride; 2.thioridazine hydrochloride impurity control E

2.6 检测限和定量限

以信噪比为3测得盐酸硫利达嗪最低检测限为0.75 ng;以信噪比为10测得盐酸硫利达嗪最低定量限为30 ng。

2.7 精密性试验

精密量取“2.2.2”项下对照品贮备液2 ml,置于100 ml棕色量瓶中,加入甲醇稀释至刻度,摇匀,按“2.1”项下色谱条件重复进样6次。结果,盐酸硫利达嗪峰面积的RSD为0.87%,表明仪器精密性良好。

2.8 稳定性试验

取“2.2”项下供试品溶液和混合对照品溶液适量,分别于20~25 $^{\circ}$ C放置0、4、8、12、24 h时进样测定6次。结果,供试品溶液和混合对照品溶液中盐酸硫利达嗪峰面积的RSD分别为0.95%和0.81%,表明样品溶液与混合对照品溶液在24 h内避光条件下稳定性良好。

2.9 重复性试验

取样品(批号:0907007)适量,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定6次。结果,盐酸硫利达嗪峰面积的RSD为0.91%,表明本方法重复性良好。

2.10 加样回收率试验

精密量取已知含量的样品(批号:0907007)适量,共9份,分别精密加入低、中、高三种质量浓度的盐酸硫利达嗪对照品,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件测

定并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=3$)

Tab 1 Results of recovery tests($n=3$)

待测成分	已知含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
盐酸硫利达嗪	24.440 1	19.845 6	44.285 9	100.0	99.8	0.83
	24.431 3	20.076 4	44.093 4	97.9		
	24.437 2	20.003 6	44.333 7	99.5		
	24.417 1	25.017 8	49.502 2	100.1		
	24.437 8	24.897 6	49.238 0	99.6		
	24.397 2	25.108 4	49.505 6	100.2		
	24.450 1	29.235 6	53.770 7	100.3		
	24.410 8	29.684 1	53.916 6	99.4		
	24.463 2	30.012 8	54.716 1	100.8		

2.11 样品含量测定

取样品细粉(约相当于盐酸硫利达嗪 25 mg)适量,按“2.2.1”项下方法制备含量测定的供试品溶液;精密量取“2.2.2”项下对照品贮备液 2 ml,置于 100 ml 棕色量瓶中,加入甲醇稀释至刻度,摇匀,作为含量测定的对照品溶液。分别量取上述对照品溶液和供试品溶液各 20 μ l,注入 HPLC 仪,记录色谱,按外标法以峰面积计算含量,结果见表 2。

表2 样品含量测定结果($n=3$,%)

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

批号	盐酸硫利达嗪
201209113	98.2
201210242	96.0
201304141	96.9
0907007	97.8
0908014	98.3

2.12 样品有关物质的测定

取样品(约相当于盐酸硫利达嗪 25 mg)适量,置于 100 ml 棕色量瓶中,加入甲醇 70 ml,摇匀,滤过,取滤液作为有关物质测定供试品溶液;精密量取 1 ml,置于 200 ml 棕色量瓶中,加入甲醇稀释至刻度,摇匀,取滤液作为有关物质测定对照溶液。取上述对照溶液 20 μ l,注入 HPLC 仪,调节仪器灵敏度,使主成分峰高为记录仪满量程的 20%~25%。取上述供试品溶液 20 μ l,注入 HPLC 仪,记录色谱至盐酸硫利达嗪保留时间的 3 倍。供试品溶液色谱图中如有杂质峰,各杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积的 0.5%;如有单个杂质峰超过对照溶液主峰面积时,单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积的 1%,结果见表 3。

3 讨论

3.1 检测方法的确定

2010 年版《中国药典》采用紫外分光光度法的 E 值法测定盐酸硫利达嗪含量。笔者将紫外分光光度法与 RP-HPLC 法测定的含量结果进行了比较。结果发现,RP-HPLC 法测得的样

表3 样品有关物质测定结果($n=3$,%)

Tab 3 Results of content determination of related substance ($n=3$,%)

批号	单个杂质	总杂质
201209113	0.15	0.43
201210242	0.14	0.40
201304141	0.13	0.42
0907007	0.14	0.45
0908014	0.12	0.44

品含量比紫外分光光度法平均低 1% 左右。这可能与紫外分光光度法专属性低,可受辅料和溶剂等的影响,使吸光度增高,从而影响含量结果。RP-HPLC 法专属性高,能有效地将样品和杂质分离,排除了辅料和溶剂等的影响,更适用于盐酸硫利达嗪片的含量测定。

3.2 流动相的选择

笔者参考相关文献^[1],当选择乙腈-水(85:15, V/V)为流动相时,存在盐酸硫利达嗪峰拖尾、积分不准确的现象;在加入少量三乙胺后,盐酸硫利达嗪色谱峰与杂质峰分离度较好,其基线平稳、峰形对称、积分准确。故选择乙腈-水-三乙胺(85:14:1, $V/V/V$)作为本研究的流动相。

3.3 降解产物的稳定性

本品在强碱、氧化和光照破坏的条件下均可产生盐酸硫利达嗪杂质对照 E,故本品需避光储存。

3.4 杂质的定位

5 批样品中的单个最大杂质的保留时间和盐酸硫利达嗪杂质对照 E 保留时间相同,故确定单个最大杂质为盐酸硫利达嗪杂质对照 E。采用归一化法计算出单个最大杂质的含量,较之薄层色谱自身对照通过圆点的大小、颜色深浅来判断杂质含量,前者结果更准确、方法更便于掌握。

综上所述,该方法简便、准确、专属性好、灵敏度高,可用于盐酸硫利达嗪片的质量控制。

参考文献

- [1] 王祖承,笄志民,谢斌.硫利达嗪的药物不良反应监察:34 例连续应用 4 个月的分析[J].药物流行病学杂志,1994,15(2):156.
- [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,2010:781.
- [3] 贾晶莹,张梦琪,桂雨舟,等.液相色谱-串联质谱法同时测定 7 种抗抑郁类和 5 种抗精神病类药物的血药浓度[J].中国药物应用与监测,2010,7(5):2010.
- [4] 殷金龙,顾牛范.反相 HPLC 法测定血清中硫利达嗪浓度[J].上海精神医学,1995,7(3):203.
- [5] 英国药品委员会.英国药典:卷 II[S].2009 年版.2009:2020.

(收稿日期:2014-06-19 修回日期:2014-08-19)

(编辑:陈宏)

《中国药房》杂志——《化学文摘》(CA)收录期刊,欢迎投稿、订阅