

反相高效液相色谱法测定奋乃静片的含量

王晓娥

(湖南省攸县人民医院, 湖南攸县 412300)

[摘要] 目的: 建立测定奋乃静片含量的 HPLC 法。方法: 采用 Diamonsil TM C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为 0.09 mol/L 醋酸铵(pH 3.0)-甲醇(30:70), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 256 nm, 柱温为 40℃。结果: 奋乃静在 0.01~0.50 mg/ml 范围内线性关系良好($r=0.999\ 9$, $n=5$), 平均回收率为 90.0%, RSD 为 1.8%($n=9$)。结论: 本方法简便、快速、准确, 专属性好, 可用于奋乃静片的含量测定。

[关键词] 奋乃静片; HPLC; 含量测定

[中图分类号] R927.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-7210(2009)06(c)-054-03

Content determination of Perphenazine Tablets by HPLC

WANG Xiao'e

(People's Hospital of Youxian, Youxian 412300, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method for the determination of the content of Perphenazine Tablets. **Methods:** Diamonsil TM C₁₈ column(4.6 mm×250 mm, 5 μm) was used, the mobile phase was 0.09 mol/L ammonium acetate (with acetic acid to pH 3.0)-methanol(30:70) at the flow rate of 1.0 ml/min. The UV detection wavelength was 256 nm, and the column temperature was 40℃. **Results:** The linear range was 0.01-0.50 mg/ml ($r=0.999\ 9$, $n=5$) and the average recoveries was 99.0%($n=9$) for perphenazine. **Conclusion:** The method proposed for determination of the content of Perphenazine Tablets was simple, rapid, accurate and specific, and can be used to determine the content of Perphenazine Tablets.

[Key words] Perphenazine Tablets; HPLC; Content determination

奋乃静(perphenazine)为化学合成的吩噻嗪类抗精神病药。抗精神病作用较氯丙嗪强 5~10 倍, 而镇静、安定作用较弱, 主要用于精神分裂症症状性精神病, 临床上除应用于严重精神病患者治疗外, 还用于镇吐、抗组胺以及帕金森综合征的治疗^[1]。虽然其药理作用尚未完全清楚, 但普遍认为奋乃静的作用机制主要与其阻断中脑边缘系统及中脑皮层通路的多巴胺受体有关。《中国药典》2005 版分别采用滴定法和分光光度法对奋乃静原料药和片剂进行分析^[2], 还可采用流动注射化学发光法、褶合光谱法、极谱法、二阶导数光谱法、毛细管电泳法-安培检测法、分子印迹-后化学发光法、高效液相色谱法等方法^[3-7]进行分析。本文在文献报道的色谱系统的基础上进行优化, 建立了反相高效液相色谱法测定奋乃静片含量的方法, 该方法灵敏、准确、简便、快速, 为更好地控制该药品的质量提供了依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Alliance 高效液相色谱仪, 包括 Waters 2695 分离单元(四元梯度洗脱的溶剂输送系统, 四通道在线真空脱气机, 可容纳 120 个进样瓶的自动进样系统), Waters 2996 二极管阵列检测器, 柱温箱, Empower 色谱工作站; Mettler AE163 电子天平; PS-100 超声仪; Millipore Q 超纯水仪; MP200 pH 计; UV-1 三用紫外分析仪。

1.2 试剂

奋乃静对照品(中国药品生物制品检定所, 批号为 100133-200602); 奋乃静片(苏州天力士帝盟药业有限公司, 批号为 200805181; 江苏黄河药业股份有限公司, 批号为 061226; 广东彼迪制药有限公司, 批号为 20080701D; 规格均为 2 mg/片); 色谱纯甲醇(天津市四友精细化学品有限公司); 分析纯

3 讨论

依据上述方法, 对吉林省银河制药厂研制的 3 批样品进行了质量研究, 并制定了碳酸氢钠注射液质量标准草案。作为对本品初步稳定性考察的检验依据, 研制的 3 批样品按照本质量标准草案检验, 结果符合规定, 允许上市销售。

[参考文献]

- [1] Cui H, Sun J, Li B. Preparation of tubular flow-through scopolamine hyosine electrode and its application in flowsystems[J]. Lihua Jianyan Huaxue Fence, 1990, 26(5): 296-297, 301.
- [2] 张明. 碳酸氢钠注射液质量控制实验研究[J]. 徐州医学院学报, 2004, 24(6): 45.
- [3] 苏冰. 盐酸丁卡因碱化液的制备与质量控制[J]. 中国药业, 2001, 10(6):

26-27.

- [4] 罗格莲. 细菌内毒素法检查碳酸氢钠注射液的探讨[J]. 安徽医药, 2008, 12(14): 65-66.
- [5] 何清林, 田洪. 盐酸纳洛酮注射液细菌内毒素检查方法的研究[J]. 中南药学, 2007, 5(17): 42-43.
- [6] 王立军, 周学琴, 张耀东. 细菌内毒素法检查碳酸氢钠注射液热原的研究[J]. 中国药业, 2008, 17(33): 47-48.
- [7] 曾成祥, 黄素丹, 潘洪斌. 碳酸氢钠注射液的细菌内毒素检测[J]. 广东药学院学报, 2007, 23(19): 52-53.
- [8] 潘孝平. 提高碳酸氢钠注射液质量的探讨[J]. 首都医药, 2006, 13(30): 40-41.

(收稿日期: 2009-02-05)

醋酸铵及冰醋酸(广州化学试剂厂);水为 Millipore18 兆净化的超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及相关考察

2.1.1 色谱条件的考察

2.1.1.1 检测波长的选择 从紫外二极管阵列检测器提取的光谱图(图1)可见,奋乃静在 255.7 nm 波长处有最大吸收,因此选择 256 nm 波长作为检测波长。

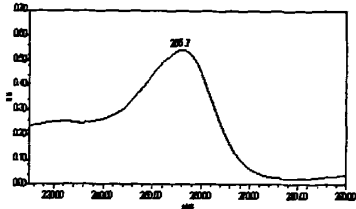


图1 奋乃静的紫外光谱图
Fig.1 UV spectra for Perphenazine

2.1.1.2 流动相系统的优化 文献[6]采用 0.03 mol 醋酸铵-甲醇(23:77)的色谱分离系统测定奋乃静的含量。本文在该色谱条件的基础上进行优化,应用于奋乃静的测定,效果良好,重点考察 pH 值和盐浓度对分离分析的影响,以优化最佳色谱系统。

①pH 值的影响:用磷酸调节 0.03 mol/L 的磷酸二氢钾溶液至不同的 pH 值(3.0、3.5、4.0、5.0、6.8),分别与甲醇配成流动相。固定流动相比为 0.03 mol 醋酸铵-甲醇(30:70),流速为 1.0 ml/min,柱温为 40℃。分别进样,记录色谱图,比较流动相的 pH 值对保留时间、峰形(拖尾因子)和柱效(理论塔板数)的影响(表 1)。结果显示,随着流动相 pH 值的增大,奋乃静峰的保留时间延长,拖尾因子增大,理论塔板数减小,考虑到色谱柱对 pH 值的耐受程度,选择流动相的 pH 值为 3.0。

表 1 流动相的 pH 值对保留时间、峰形和柱效的影响

Tab.1 The effect of pH on retention time, peak shape and column efficiency			
pH 值	保留时间(min)	拖尾因子	理论塔板数
3.0	5.99	1.17	2 506
3.5	6.52	1.22	3 180
4.0	7.64	1.24	3 926
5.0	9.36	1.25	4 864
6.8	14.15	1.27	5 796

②盐浓度的影响:配制不同浓度的醋酸铵溶液(0.01、0.03、0.06、0.09、0.10 mol/L),用冰醋酸调节 pH 值至 3.0,并分别与甲醇配成流动相。固定流动相比为醋酸铵-甲醇(30:70),流速为 1.0 mol/L,柱温为 40℃。分别进样,记录色谱图,比较醋酸铵浓度对保留时间、峰形(拖尾因子)和柱效(理论塔板数)的影响(表 2)。结果显示,醋酸铵浓度对保留时间影响较小,拖尾因子随着醋酸铵浓度的增加而降低,而理论塔板数则随之增大,综合考虑色谱柱的寿命及拖尾因子,不采用 0.1 mol/L 的浓度,因此选择醋酸铵的浓度为 0.09 mol/L。

表 2 流动相的醋酸铵浓度对保留时间、峰形和柱效的影响

Tab.2 The effect of concentration of ammonium acetate on retention time, peak shape and column efficiency			
醋酸铵浓度(mol/L)	保留时间(min)	拖尾因子	理论塔板数
0.01	6.05	1.39	938
0.03	6.39	1.23	1 356
0.06	6.13	1.09	1 963
0.09	5.99	1.05	2 343
0.10	6.11	1.07	2 481

2.1.2 色谱条件 色谱柱为 Diamonsil TM C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相为 0.09 mol/L 醋酸铵(用醋酸调至 pH 3.0)-甲醇(30:70),流速为 1.0 ml/min,检测波长为 256 nm,柱温为 40℃。

2.2 系统适用性试验

精密称取对照品适量,加甲醇制成浓度为 0.1 mg/ml 的溶液,在上述色谱条件下进样 20 μl,记录色谱图(图 2),理论板数大于 2 000。

2.3 专属性试验

2.3.1 酸破坏溶液 取奋乃静对照品 1 mg,加甲醇 1 ml 使溶解,加 1 mol/L 盐酸 1 ml,放置 30 min,加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 1 ml,用甲醇定容至 10 ml。

2.3.2 碱破坏溶液 取奋乃静对照品 1 mg,加甲醇 1 ml 使溶解,加 1 mol/L 氢氧化钠 1 ml,放置 30 min,加 1 mol/L 盐酸溶液 1 ml,用甲醇定容至 10 ml。

2.3.3 氧化破坏溶液 取奋乃静对照品 1 mg,加甲醇 1 ml 使溶解,加 1%过氧化氢溶液 1 ml,放置 30 min,用甲醇定容至 10 ml。

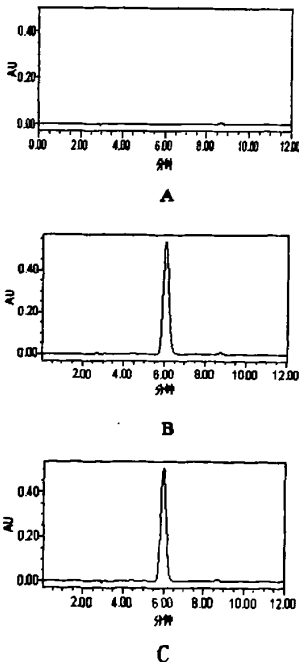


图 2 HPLC 色谱图
(A.空白;B.对照品;C.供试品)
Fig.2 HPLC chromatograms
(A.Blank; B.Standard; C.Sample)

2.3.4 高热破坏溶液 取奋乃静对照品 1 mg, 加甲醇定容至 10 ml, 于 90℃ 加热放置 2.5 h。

2.3.5 光照破坏溶液 ①取奋乃静对照品 1 mg, 于紫外光下照射 8 h, 加流动相定容至 10 ml。②取奋乃静对照品 1 mg, 加流动相定容至 10 ml, 于紫外光下照射 2.5 h。

取上述溶液, 按“2.1”项色谱条件分别进样 20 μ l, 记录色谱图, 以考察奋乃静峰与杂质峰的分离情况。结果表明, 各破坏条件下的降解产物峰对奋乃静峰无干扰, 分离效果良好, 说明该方法专属性良好(图 3)。从图中也可以看出, 奋乃静对酸、碱和热均较稳定, 无杂质峰出现; 氧化破坏后, 有杂质峰出现, 说明奋乃静对氧化剂不稳定, 应避免其氧化; 固体奋乃静经光照破坏 8 h 后, 无杂质峰产生, 而奋乃静溶液经光照破坏后, 出现明显的杂质峰, 说明奋乃静溶液对光极不稳定, 应避免光保存。

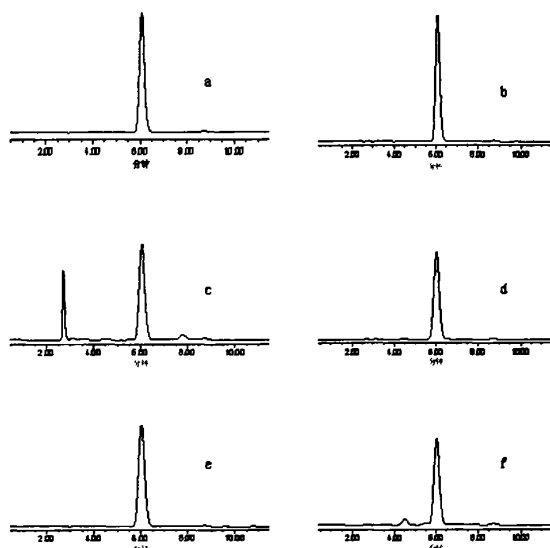


图 3 专属性试验色谱图

(a.酸破坏;b.碱破坏;c.氧化破坏;d.热破坏;e.光破坏①;f.光破坏②)

Fig.3 HPLC chromatograms of specificity tests

(a.Destroyed by acid; b.Destroyed by alkali; c.Destroyed by oxidation; d.Destroyed by heating; e.Exposed to strong light①; f.Exposed to strong light②)

2.4 线性关系考察

避光操作(以下实验均避光操作)。精密称取奋乃静对照品约 100 mg 于 100 ml 容量瓶中, 加甲醇 60 ml 使溶解并稀释至刻度, 作为对照品储备液。分别精密量取对照品储备液 1.5、1.5、5 ml 于 100、100、10.25、10 ml 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 配制成 0.01、0.05、0.10、0.20、0.50 mg/ml 的奋乃静对照品溶液, 分别进样 20 μ l, 记录色谱图, 以浓度 C (mg/ml) 对峰面积 A 进行线性回归, 得线性方程为 $A=98\ 953\ 254C+259\ 369$, $r=0.999\ 9$ 。结果表明, 奋乃静的浓度在 0.01~0.50 mg/ml 范围内与峰面积线性关系良好。

2.5 精密度试验

取同一份对照品溶液连续进样 6 次, 峰面积 RSD 为 0.2%。

2.6 重复性试验

取同一批号供试品溶液 6 份, 按“2.10”项下操作, 平均含量为 96.2%, RSD 为 0.9%。

2.7 回收率试验

精密称取奋乃静对照品约 100 mg, 置 100 ml 容量瓶中, 加甲醇 60 ml 使溶解并稀释至刻度, 作为对照品溶液。取供试品 50 片, 精密称定, 研细, 精密称取适量(约相当于奋乃静 5 mg), 置 100 ml 量瓶中, 共 9 份。分别精密量取对照品溶液 3、5、7 ml 各 3 份于供试品量瓶中, 各加入甲醇 60 ml 使溶解, 并稀释至刻度, 按“2.10”项下条件测定, 测得平均回收率为 99.0%, RSD 为 1.8%($n=9$)。

2.8 稳定性试验

取同一份样品溶液, 分别于 0、1、2、3、4、5、6、8 h 取 20 μ l 进样, 记录色谱图, 奋乃静的峰面积基本不变, RSD 为 0.7%。结果表明, 奋乃静注射液在 8 h 内稳定性良好。

2.9 检测限和定量限

以信噪比为 3:1, 测得系统的最低检测浓度为 0.2 μ g/ml, 即最低检测限为 4 ng; 以信噪比为 10:1, 测得系统的最低定量浓度为 0.6 μ g/ml, 即最低定量限为 12 ng。

2.10 样品含量测定

精密称取奋乃静对照品约 10 mg, 置 100 ml 容量瓶中, 加甲醇 60 ml 使溶解并稀释至刻度, 作为对照品溶液。取供试品 20 片, 精密称定, 研细, 精密称取适量(约相当于奋乃静 5 mg), 置 50 ml 量瓶中, 加甲醇 60 ml 使溶解并稀释至刻度, 作为供试品溶液。取上述两种溶液各 20 μ l 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算, 结果厂家为苏州天力士帝盟药业有限公司、江苏黄河药业股份有限公司、广东彼迪制药有限公司的供试品含量测定结果分别为 94.9%、97.5%、96.0%。

3 讨论

奋乃静在水中几乎不溶, 因此配制对照品和供试品溶液时, 选用甲醇使溶解并定容。本文建立的色谱系统具有流动相组成简单, 对色谱柱损伤小的优点, 用于奋乃静的含量测定, 快速、准确、专属性强。

【参考文献】

- [1] 汪洋, 陈太友. 齐拉西酮与奋乃静治疗精神分裂症的临床疗效及安全性比较[J]. 中国药房, 2008, 19(26): 2048-2050.
- [2] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 二部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 328-329.
- [3] 弋景峰, 韩小年, 于春玲, 等. 奋乃静药物的流动注射化学发光测定方法的建立[J]. 西安交通大学学报, 2006, 27(5): 513-516.
- [4] AM Galvez, JVG Mateo, JM Calatayud, et al. Simultaneous dissolution profiles of two rugs, sulfadiazine-trimethoprim and amitriptyline-perphenazine, in solid oral dosage forms by a FIA manifold provided with a single spectrophotometric detector[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2002(30): 535-545.
- [5] 牛卫芬, 吕九如. 高锰酸钾-鲁米诺化学发光体系分子印迹-后化学发光法测定奋乃静[J]. 分析化学, 2007, 35(2): 281-284.
- [6] 朱军, 黄伟桥, 刘伟忠, 等. 反相高效液相色谱法测定人血浆奋乃静浓度[J]. 医药导报, 2007, 26(7): 733-734.
- [7] 邱颖娟, 赵佩莲, 李玉兰. 反相高效液相色谱法测定奋乃静片的含量[J]. 中国药师, 2008, 11(12): 1470-1471.

(收稿日期: 2009-03-20)