

文章编号:1674-2869(2012)04-0011-04

高效液相色谱法测定奥氮平的含量

黄坤^{1,2}, 郭庆东², 谢芳^{1,2}, 王增明^{1,2}, 郭嘉¹, 梅兴国^{2*}

(1. 武汉工程大学绿色化工过程教育部重点实验室, 湖北武汉 430074;

2. 军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

摘要: 为了建立一种高效液相色谱法测定奥氮平及其口崩片的含量, 采用 Venusil ASB C18 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 进行分析, 流动相为缓冲液 (pH = 2.5): 乙腈 = 45:55 (体积比); 检测波长为 259 nm; 柱温为 25 °C; 流速为 1.5 mL · min⁻¹; 进样量为 20 μL。结果表明: 奥氮平在 20.33 ~ 203.30 μg · mL⁻¹ 范围内线性关系良好 ($r=0.9998$), 平均回收率为 100.12% (RSD=0.33%), 检测限为 1 ng; 该方法灵敏快速、重复性好、专属性强, 可用于非经典抗精神病药奥氮平及其口崩片的含量测定。

关键词: 高效液相色谱法; 奥氮平; 口崩片; 含量测定

中图分类号: R917

文献标识码: A

doi:10.3969/j.issn.1674-2869.2012.04.003

0 引言

奥氮平 (olanzapine) 是美国礼来公司研究开发的非经典抗精神病药, 为噻吩苯二氮革类多巴胺 (DA) 和 5-羟色胺 (5-HT) 拮抗剂, 它能选择性作用于中脑边缘多巴胺通路, 改善脑内多种神经通路功能, 主要用于治疗精神分裂症、精神病性障碍和情感障碍等^[1]。临床试验表明奥氮平能有效改善精神病理学的各个方面, 疗效卓越且副作用轻微, 尤其是锥体外系副反应 (EPS) 和迟发性运动障碍 (TD) 发生率很低^[2], 因此目前奥氮平正成为治疗精神病性障碍的生力军。

口崩片作为一种新型片剂, 具有服用简单方便、在口腔中能迅速崩解或溶解、吸收起效快以及能避免肝脏首过效应等优点^[3]; 由于其在精神疾病治疗方面有着独特的实用性, 将抗精神病药奥氮平制备成口崩片, 能提高患者药物治疗的依从性, 减少护理工作的负担^[4]。

关于奥氮平药代动力学的报道常见于文献^[5-8], 但关于其含量及有关物质测定的报道不多^[9-10], 同时中国药典也未收录该药, 因此缺乏相应的药品标准。本文在参照最新美国药典的基础上建立了奥氮平原料药及片剂含量测定的高效液相色谱法, 同时应用于相应的质量和稳定性研究。实验结果表明方法灵敏度高、重复性好、专属性强, 适

合奥氮平及其片剂的含量测定和有关物质检查。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪 (Degasser G1322A, Quat pump G1311A, ALS G1329A, TCC G1316A, VWD G1314D, 美国 Agilent 公司); Venusil ASB C18 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm, 北京艾杰尔科技有限公司); 分析天平 (Sartorius BT125D 型, 德国赛多利斯公司); 超声清洗仪 (KS-120D 型, 新芝仪器厂)。

奥氮平对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号: 100948-200801), 奥氮平原料药 (军事医学科学院毒物药物研究所合成, 批号 20110831、20110930、20111010), 奥氮平口崩片 (自制, 批号 20111120、20111210、20111217), 乙腈、甲醇为色谱纯, 磷酸、磷酸二氢钠、十二烷基硫酸钠为分析纯, 水为双蒸水。

1.2 实验方法

1.2.1 色谱条件 色谱柱: Venusil ASB C18 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 缓冲液 (含质量分数为 0.69% 磷酸二氢钠和质量分数为 1.2% 十二烷基硫酸钠, 磷酸调节 pH 值为 2.5)-乙腈 (45:55); 检测波长: 259 nm; 柱温: 25 °C; 流速: 1.5 mL · min⁻¹; 进样量: 20 μL。

收稿日期: 2012-02-16

基金项目: “十二五”国家科技重大专项课题资助 (2012ZX09301003-001)

作者简介: 黄坤 (1985-), 男, 湖北襄阳人, 硕士研究生。研究方向: 药物制剂。

指导老师: 梅兴国, 男, 研究员, 博士研究生导师。研究方向: 现代药剂学新技术、新剂型。* 通信联系人

1.2.2 溶液的配制 对照品溶液:精密称取奥氮平对照品,流动相溶解、定容制成质量浓度为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,作为对照品溶液。

奥氮平溶液:精密称取奥氮平原料药适量,配制方法同对照品溶液,作为原料药溶液。

供试品溶液:取奥氮平口崩片 20 片,称重,研细至粉末;精密称取适量(相当于奥氮平 30.00 mg),流动相溶解后用 $0.45 \mu\text{m}$ 的有机滤膜过滤,流动相将续滤液稀释成 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,作为供试品溶液。

1.2.3 专属性试验 酸破坏:取片剂研细粉末,流动相配制成 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,加入 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 溶液适量,室温放置 1 d, $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液中和后滤过,续滤液作为酸破坏样品溶液。

碱破坏:取片剂研细粉末,流动相配制成 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,加入 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液适量,室温放置 2 d, $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 溶液中和后滤过,续滤液作为碱破坏样品溶液。

氧化破坏:取片剂研细粉末,流动相配制成 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,加入 30% 的双氧水适量,室温放置 5 d 后滤过,续滤液作为氧化破坏样品溶液。

高温破坏:取片剂研细粉末,于 60°C 条件下放置 1 d,流动相稀释定容制成浓度为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,滤过,续滤液作为高温破坏样品溶液。

光照破坏:取片剂研细粉末,于 4 500 lx 强光条件下照射 5 d,流动相稀释定容制成浓度为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,滤过,续滤液作为光照破坏样品溶液。

分别取奥氮平溶液、流动相、各种破坏样品溶液以及空白辅料溶液,按“2.1”项下的色谱条件测定各溶液,记录色谱图至主峰保留时间的 3 倍。

1.2.4 线性关系 精密称取奥氮平原料药,流动相溶解、稀释制备成浓度为 20.33、50.83、81.32、101.65、121.98、152.48、203.30 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的系列标准溶液。按“2.1”项下的色谱条件测定各溶液,记录峰面积。以峰面积对浓度进行线性回归,计算标准方程及相关系数。

1.2.5 重复性 取奥氮平原料药和 20111217 批的片剂,按“2.2”项下的方法制备原料药溶液和高、中、低 9 份供试品溶液,按“2.1”项下的色谱条件测定,计算以标示量为基准的片剂含量及其 RSD。

1.2.6 中间精密度 更换测定时间、高效液相

色谱检测仪器和人员进行含量测定,具体试验方案同“2.5.1”。

1.2.7 回收率 分别精密称取奥氮平原料药约 8.00、10.00、12.00 mg,置于 100 mL 容量瓶中,加入处方量辅料,按“2.2”项下供试品溶液的制备方法制备回收率试验溶液。分别取该溶液及奥氮平原料药溶液,按“2.1”项下的色谱条件测定,记录峰面积。按外标法计算方法的回收率及其 RSD。

1.2.8 溶液稳定性 取奥氮平片剂研细粉末,按“2.2”项下供试品溶液的制备方法制备稳定性试验溶液。将其置于室温条件下,分别于 0、1、2、4、6、8、12、24 h 取该溶液,按“2.1”项下的色谱条件测定,记录峰面积。计算峰面积的 RSD,考察 24 h 内溶液的稳定性。

1.2.9 检测限与定量限 取“2.2”项下对照品溶液,用流动相逐步稀释,按“2.1”项下的色谱条件测定,按 $S/N=2$ 计算检测限,按 $S/N=10$ 计算定量限。

1.2.10 含量测定与有关物质检查 含量测定:分别取“2.2”项下的对照品溶液、原料药溶液和供试品溶液,按“2.1”项下的色谱条件测定,记录峰面积,按外标法计算原料药和片剂的含量。

有关物质检查:取奥氮平原料药和片剂研碎粉末,按“2.2”项下原料药溶液和供试品溶液的配制方法制备成浓度为 $500 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 供试品溶液。精密量取供试品溶液用流动相稀释成质量浓度为 $7.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照溶液。按“2.1”项下的色谱条件测定各溶液,记录供试品溶液的色谱图至主峰保留时间的 3 倍,计算杂质峰面积的总和(不包含溶剂峰和辅料峰),用主成分自身对照法计算原料药和片剂的有关物质含量。

2 结果与讨论

2.1 结果

2.1.1 专属性试验 表明在此色谱条件下,辅料与流动相对测定无干扰,主药能与破坏产生的降解产物有效分离($R>1.5$),方法的专属性良好,结果见图 1。

2.1.2 线性回归得标准方程: $Y = 84.465X - 92.104$, $R = 0.9998$ ($n = 7$);表明质量浓度在 20.33 ~ 203.3 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内,峰面积与质量浓度呈良好的线性关系。重复性试验测得片剂的平均含量为标示量的 98.54%,RSD 为 0.61%,表明该方法重复性良好;中间精密度试验测得片剂的平均含量为标示量的 98.07%,RSD 为 0.89%,证明该分析方法的中间精密度良好。

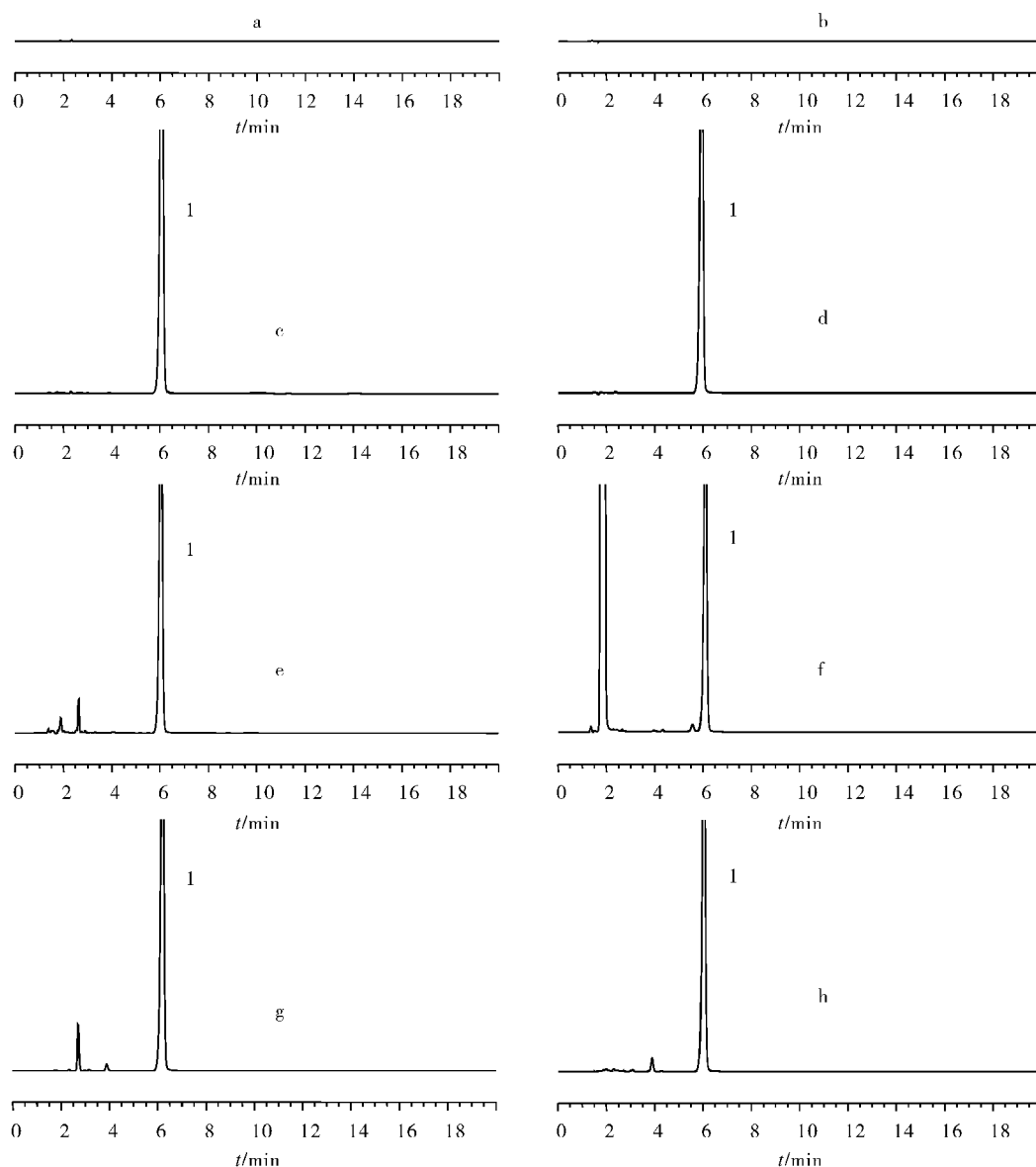


图1 奥氮平与降解产物的 HPLC 色谱图

Fig. 1 Chromatograms of olanzapine and degradation products

注:a. 空白辅料;b. 流动相;c. 奥氮平溶液;d. 酸降解;e. 碱降解;f. 氧化降解;g. 高温降解;h. 光照降解;1-奥氮平峰.

2.1.3 回收率试验 按外标法计算得到方法 方法准确度良好,结果见表1.
 的平均回收率为 100.12%,*RSD* 为 0.33%,表明

表1 奥氮平回收率试验结果

Table 1 Results of recovery test of olanzapine

(n=2)

样品	实际质量浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	检测质量浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回收率/%	平均回收率/%	<i>RSD</i> /%
1	80.2	80.4	100.30	100.12	0.33
2	79.7	80.1	100.46		
3	81.6	81.7	100.18		
4	100.2	100.6	100.40		
5	99.7	99.6	99.90		
6	102.3	102.6	100.33		
7	120.5	120.4	99.93		
8	119.7	118.9	99.37		
9	121.2	121.5	100.22		

2.1.4 稳定性试验测得峰面积的 *RSD* 为 0.18%, 说明在 24 h 内溶液的稳定性良好. 检测限与定量限试验测得奥氮平的检测限为 1 ng, 定量限为 5 ng, 表明方法灵敏度高.

2.1.5 含量测定结果表明三批原料药的含量均在 98.0% ~ 102.0% 之间, 三批片剂的含量均在标示量的 90.0% ~ 110.0% 之间, 原料药与片剂的含量符合美国药典要求. 有关物质检查结果表明三批原料药的总杂质质量分数均小于 0.4%, 三批片剂的总杂质质量分数均小于 1.5%, 原料药与片剂的杂质质量分数符合美国药典要求. 结果见表 2.

表 2 奥氮平含量测定与有关物质检查试验结果

Table 2 Results of determination of content of olanzapine and its impurities

样品	批号	含量/%	有关物质/%
奥氮平原料药	20110831	99.9	0.08
	20110930	99.8	0.07
	20111010	99.5	0.08
	20111120	98.2	0.19
奥氮平口崩片	20111210	97.5	0.20
	20111217	99.3	0.17

2.2 讨论

a. 本实验进行了相应的破坏性试验, 结果表明奥氮平在酸、碱、氧化、高温和光照的条件下均有不同程度的降解; 所产生的杂质均能与主药较好的分离, 分离度大于 1.5. 同时试验结果表明在主药峰之后未出现其他杂质峰, 因此在有关物质检查时可以适当缩短分析时间.

b. 本实验考察了不同的柱温 (25 ~ 35 °C)、不同流速 (1 ~ 1.5 mL · min⁻¹)、缓冲液与有机相不同配比 (1:1 ~ 1:1.5) (体积比) 的流动相系统, 结果表明柱温为 25 °C、流动相为缓冲液 (含质量分数 0.69% 磷酸二氢钠和质量分数 1.2% 十二烷基硫酸钠, pH 值为 2.5)-乙腈 (45:55) (体积比)、流速为 1.5 mL · min⁻¹ 时, 柱效较高, 保留时间为 6.2 min, 主药峰与杂质峰能够有效的分离.

c. 本实验还考察了另一种测定奥氮平的流动相体系: 缓冲液 (含质量分数 0.68% 磷酸二氢钾和质量分数 1% 三乙胺, pH 值为 6.0)-甲醇-乙腈. 实验结果表明其分离效果与“3.2”项下所采用方法相差不多, “3.2”项下流动相体系更为简单, 因此采用其作为奥氮平 HPLC 含量测定方法的流动相.

3 结 语

本研究在综合相关参考文献和药典的基础

上, 建立了一种简单的测定非经典抗精神病药奥氮平及其片剂的 HPLC 法, 方法学验证结果表明方法灵敏度高、重复性好、专属性强, 适合药物的含量测定和有关物质检查. 该方法曾用于奥氮平的处方优化和质量研究, 结果表明该方法简单快捷, 适合药物的相关分析.

参考文献:

- [1] 李娜, 许秀峰. 奥氮平的药理学和临床应用[J]. 云南医药, 2004, 25 (6): 521 - 522.
- [2] 崔炳喜. 奥氮平——新型抗精神病药[J]. 天津药, 1999, 11 (4): 13 - 14.
- [3] 温中京, 戴建锋. 口腔崩解片的研究进展[J]. 海峡药学, 2010, 22 (4): 22 - 24.
- [4] 寻知元. 药物干预与改善分裂症患者的依从性[J]. 国际精神病学杂志, 2007, 34 (1): 39 - 42.
- [5] Berna M, Ackermann B, Ruterbories K, et al. Determination of olanzapine in human blood by liquid chromatography - tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2002, 767 (1): 163 - 168.
- [6] D' Arrigo C, Migliardi G, Santoro V, et al. Determination of olanzapine in human plasma by reversed - phase high - performance liquid chromatography with ultraviolet detection[J]. Ther Drug Monit, 2006, 28 (3): 388 - 393.
- [7] 季慧芳, 谢林, 王建, 等. 奥氮平血药浓度的测定及其人体药代动力学[J]. 中国药科大学学报, 2002, 33 (5): 397 - 400.
- [8] 唐亚芳, 宋伟明, 吴柳松. 反相高效液相色谱法测定人血清中奥氮平浓度[J]. 临床医药, 2007, 16 (21): 46 - 47.
- [9] Raggi M A, Casamenti G, Mandrioli R, et al. Quantitation of olanzapine in tablets by HPLC, CZE, derivative spectrometry and linear voltammetry[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2000, 23 (6): 973 - 981.
- [10] Krishnaiah C, Vishnu M M, Kumar R, et al. Development of a stability-indicating UPLC method for determining olanzapine and its associated degradation products present in active pharmaceutical ingredients and pharmaceutical dosage forms[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2011, 54 (4): 667 - 673.

(下转第 68 页)