

反相高效液相色谱法测定盐酸乙哌立松片剂的含量

付崇铭 李 波¹ 郭瑞臣¹ (济南 250014 山东省精神卫生中心 ;¹ 济南 250012 山东医科大学附属医院)

摘要 目的:建立高效液相色谱法测定盐酸乙哌立松片含量的方法。方法:盐酸乙哌立松片加甲醇,超声振荡,过滤后以 ODS-C₁₈ 为分析柱,以甲醇-水-三乙胺(80:19.5:0.5, V/V) 为流动相,托哌酮为内标,于 254nm 波长检测。结果:盐酸乙哌立松在 0.4~1.6mg/ml 浓度范围内线性关系良好($r=0.9999$),平均回收率 98.4%, $RSD=1.2\%$ 。三批盐酸乙哌立松片含量测定结果分别为标示量的 97.8%,98.3%和 98.9%。结论:方法快速、准确、专一性强,适用于盐酸乙哌立松片的含量测定。

关键词 盐酸乙哌立松;高效液相色谱;托哌酮(内标)

Determination of eperisone hydrochloride tablets by high performance liquid chromatography

Fu Chongming(Fu CM), Li Bo(Li B), Guo Ruichen(Guo RC) (Shandong Mental health Center, Jinan 250014)

ABSTRACT **OBJECTIVE:**To develop a method for the determination of eperisone hydrochloride by high performance liquid chromatography (HPLC). **METHOD:**C₁₈ column as the stationary phase and methanol-water-triethylamine (80:19.5:0.5, V/V, adjusted to pH 7.5 with glacial acetic acid) as the mobile phase were adopted. The detection was performed at 254nm. Eperisone hydrochloride tablets were dissolved in methanol, supersonic-vibrated and filtered. Tolperisone was used as internal standard. **RESULTS:**The standard curve was linear in the range of 0.4~1.6mg/ml with the excellent correlation coefficient of 0.9999. The average recovery was 98.4% ($RSD=1.2\%$, $n=15$). Three batches of eperisone hydrochloride tablets were analyzed and the labelled contents were 97.8%, 98.3% and 98.9% respectively. **CONCLUSION:**The method was simple, sensitive, rapid and suitable for the quantitative analysis of the preparation.

KEY WORDS eperisone hydrochloride, high performance liquid chromatography, tolperisone(internal standard)

盐酸乙哌立松(Eperisone hydrochloride, 商品名妙纳) 是一种能同时作用于中枢神经系统和血管平滑肌, 缓和骨骼肌紧张并改善血流, 从多方面阻断骨骼肌恶性循环, 改善各种肌紧张症状的新型药物。临床广泛用于各种脑脊髓疾病、颈肩臂综合征、肩周炎、腰痛症等引起的肩酸、颈部疼痛、头疼、眩晕、腰痛、手足等肌紧张症状。盐酸乙哌立松国外有用 GC-MS 法测定的报道, 灵敏度高, 分离度好, 而用于生物样本分

析^[1,2]。对其制剂含量尚未见 HPLC 法测定的报道。本文建立了反相高效液相色谱法测定盐酸乙哌立松片剂含量的方法, 该方法快速、准确、专一性强, 适用于制剂的含量测定。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

美国 Beckman 高效液相色谱系统, 126 型恒流泵, 166 型可调波长紫外检测器, IBM XT 微机控制器, Epson 记录仪,

CSF-1A 超声波发生器,日本岛津 UV-2201 全波长紫外分光光度计。

1.2 试药

盐酸乙哌立松对照品由日本卫材株式会社生产;盐酸乙哌立松片(商品名妙纳),规格 50mg/片,批号 970601,970301,971015,沈阳卫材制药有限公司提供;内标托哌酮由中国医学科学院药物研究所赠送;甲醇、三乙胺、冰醋酸等均为分析纯;重蒸馏水自制。

2 方法与结果

2.1 工作液配制

精密称取 105℃干燥至恒重的乙哌立松对照品及内标托哌酮各 500mg,分别置于 50ml 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成 10mg/ml 的对照品及内标工作液。该溶液 4℃保存 3 个月稳定不变。

2.2 色谱条件

色谱柱 ODS-C₁₈(4.6×250mm,5μm,中科院大连化物所),流动相甲醇-水-三乙胺(80:19.5:0.5,V/V,冰醋酸调 pH 至 7.5),流速 1ml/min,柱温室温,检测波长 254nm,灵敏度 0.5 AUFS,进样量 10μl。上述色谱条件下得色谱图,见图 1。盐酸乙哌立松保留时间为 8.2min,内标托哌酮保留时间为 6.6min。理论塔板数按盐酸乙哌立松计为 6033,样品峰与内标峰之间分离度(R)为 3.2。

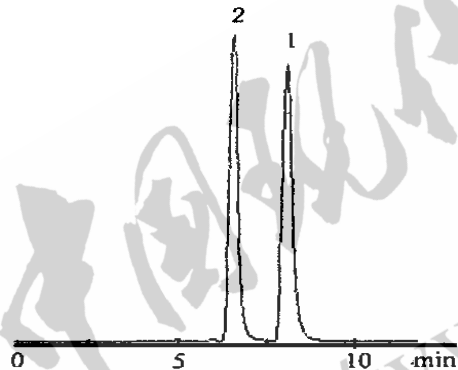


图 1 盐酸乙哌立松 HPLC 色谱图

1-盐酸乙哌立松;2-内标托哌酮

当流动相甲醇与水的配比不变,pH 值增大,洗脱时间缩短,样品峰与内标峰的分度差;当 pH 值不变,降低流动相中甲醇的配比时,洗脱时间延长,产生严重拖尾,灵敏度明显降低。本文所载流动相配比及 pH 经反复多次试验,可获最佳分离效果。

2.3 方法专属性试验

按处方配比量加入各种辅料,制成盐酸乙哌立松模拟空白片,按“2.7 样品测定”项下操作得空白样品色谱图,见图 2。与图 1 比较可见空白辅料不干扰样品的测定,故本方法专属性强。

图 2 空白辅料 HPLC 色谱图

2.4 测定波长的选择

以甲醇为空白对照液,在 200~400nm 波长范围内对盐

酸乙哌立松甲醇液进行紫外扫描,其最大吸收波长为 255nm,考虑到实验室的具体情况,本文选择 254nm 做为测定波长。

2.5 线性关系

精密量取盐酸乙哌立松对照品溶液 2.0,3.0,4.0,5.0,6.0,7.0,8.0ml 分别置于 50ml 量瓶中,各精密加入内标溶液 5.0ml,用甲醇稀释至刻度,摇匀,各吸取 10μl 进样,记录峰面积。以样品峰面积与内标峰面积之比为纵坐标(Y),相应样品峰浓度(C)为横坐标进行直线回归,得回归方程为 $Y = 8.547C - 0.010$, $r = 0.9999$, $n = 5$,在 0.4~1.6mg/ml 浓度范围内线性关系良好。

当信噪比(S/N)大于或等于 3 时,盐酸乙哌立松检测限为 0.1μg。

2.6 回收率与精密度

精密量取对照品溶液 3.0,5.0,7.0ml 分别置于 50ml 量瓶中,各精密加入内标溶液 5.0ml,再按处方配比量加入各种辅料,加甲醇稀释至刻度,摇匀,超声振荡 5min,过滤,弃去初滤液,取续滤液 10μl 进样,结果见表 1。

表 1 回收率与精密度/n=5

编号	投入量 / mg·ml ⁻¹	测定量 / mg·ml ⁻¹	平均回收率 / %	RSD / %
1	0.6	0.58±0.8	96.7	1.5
2	1.0	0.98±1.1	98.0	1.2
3	1.4	1.38±0.9	98.6	0.9

2.7 样品的测定

取盐酸乙哌立松片 3 批,每批 20 片,精密称定,研细,精密称出适量(约相当于盐酸乙哌立松 50mg)置 50ml 量瓶中,加甲醇溶解稀释至刻度,超声振荡 5min,过滤,弃去初滤液,取续滤液 5.0ml 于另一 50ml 量瓶中,精密加入内标液 5.0ml,加甲醇稀释至刻度,摇匀,取 10μl 进样,测得结果与紫外分光光度法测得结果见表 2。

表 2 三批样品测得结果/n=5

批号	每片含量 / mg	标示量/ %	
		HPLC 法	UV 法
970301	50	97.8	98.6
970601	50	98.3	99.2
971015	50	98.9	99.3

经比较两种方法的测定结果发现,HPLC 法较 UV 法低(但无显著性差异, $P>0.05$),原因可能由于 HPLC 法分离性能较好,不易受制剂中辅料的干扰。

3 讨论

盐酸乙哌立松临床用于治疗痉挛性麻痹。由于其广泛的首过效应和组织分布,血药浓度极低,欲评价其药代动力学特征,需极灵敏的测定方法。

盐酸乙哌立松含量测定国外采用 GC-MS 法,最低检测限为 0.2ng/ml,而用于体内盐酸乙哌立松血浓度测定,以及其人体药代动力学研究。但由于设备及技术条件要求高,一般

实验室难以达到要求,而不能用于常规测定。国内外尚无 HPLC 测定制剂含量的报导。本文采用 HPLC 法,提取过程简单,色谱条件易得,辅料不干扰测定,待测组分及内标物质分离度良好,保留时间适中,整个测定可在 10 min 完成。快速、简单,适用于制剂常规分析。

参考文献

1 Tomio Takamatsu, Kasuhiko Yamazaki, Masanori Kayano. Determination of

eperisone in human plasma by gas chromatography-mass spectrometry. J Chromato, 1992, 584: 261.

2 Fumio Toba, Masayuki Ando, Tsukasa Hamada, *et al.* A sensitive determination of epridone in plasma by GC/MS. J Mass Spectrom Soc Jap, 1993, 41(4): 335.

收稿日期:1999-08-30