

## 高效液相色谱法测定奥卡西平及片剂的含量和有关物质

赵亚萍(武汉 430064 湖北省药品检验所)

**摘要** 目的:用高效液相色谱法测定奥卡西平及片剂的含量和有关物质。方法:采用 Diamonsil C<sub>18</sub>(200 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,流动相:乙腈-0.05 mol·L<sup>-1</sup>磷酸二氢钾(磷酸调 pH 为 3.0)(40:60),检测波长:256 nm,柱温:40 ℃,流速:1.0 ml·min<sup>-1</sup>,峰面积外标法。结果:在 12.5 ~ 112.5 μg·ml<sup>-1</sup> 的奥卡西平浓度范围内,峰面积与浓度呈良好的线性关系,回归方程:Y = 3.2 × 10<sup>5</sup>C - 2.61 × 10<sup>3</sup> 相关系数 r = 0.9996;片剂中奥卡西平平均回收率为 99.7%(n = 5),RSD = 0.33%。结论:方法简便,快速,准确。可同时分离和测定奥卡西平原料及其片剂中各杂质及主药含量。

**关键词** 高效液相色谱;奥卡西平;片剂;有关物质

### Determination of Oxcarbazepine and its Tablets and Related Substances by HPLC

Zhao Yaping( Hubei Institute for Drug Control, Wuhan 430064)

**ABSTRACT OBJECTIVE:** To establish a HPLC method for the determination of oxcarbazepine and its tablets and related substances. **METHOD:** Diamonsil C<sub>18</sub> column (200 mm × 4.0 mm, 5 μm), acetonitrile-0.05 mol·L<sup>-1</sup> potassium dihydrogen phosphate (adjusted to pH = 3.0 by phosphoric acid) (40/60) as mobile phase, the detection wavelength was 256 nm, column temperature was 40 ℃, the flow rate was 1.0 ml·min<sup>-1</sup>. **RESULTS:** The calibration curves was linear in the concentration range of 12.5 ~ 112.5 μg·ml<sup>-1</sup> for oxcarbazepine. The regression equation: Y = 3.2 × 10<sup>5</sup>C - 2.61 × 10<sup>3</sup>, r = 0.9996, the average recovery was 99.7% (n = 5), RSD = 0.33%. **CONCLUSION:** This method was found to be simple, quick and accurate for the simultaneous separation and determination of oxcarbazepine and its tablets and related substances.

**KEY WORDS** HPLC, oxcarbazepine, tablets, related substances.

奥卡西平是与卡马西平结构类似的抗癫痫新药,该原料药可能存在着合成时的中间体 10-甲氧基卡马西平和 5-亚胺基奥卡西平,英国药典<sup>[1]</sup>、美国药典<sup>[2]</sup>及中国药典<sup>[3]</sup>分别采用高效液相色谱法和紫外分光光度法测定卡马西平及片剂的含量,但都难以有效地分离有关物质。本文从分离有关物质着手,探索用高效液相色谱法,用外标法,同时分离和测定奥卡西平原料及其片剂中各杂质及主药含量,考察了线性关系,并进行了回收率试验,结果表明,本法简便,快速,准确,可用于检测原料药及片剂的含量和杂质,目前尚未有此方法报道。

#### 1 仪器与试剂

SHIMADZU LC-10AD 高效液相色谱仪,SHIMADZU SPD-10Avp 紫外检测器,SHIMADZU CTO-10Asvp 柱温箱,浙江大学 N2000 色谱工作站。

奥卡西平原料(批号 20000502、20000503、20000504)及片剂(批号 20000401、20000402、20000403),奥卡西平对照品(含量为 99.8%),合成中间体:10-甲氧基卡马西平和降解产物:5-亚胺基奥卡西平,均由人福药业提供。乙腈、甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

#### 2 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Diamonsil C<sub>18</sub>(200 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:

乙腈-0.05 mol·L<sup>-1</sup>磷酸二氢钾(磷酸调 pH 为 3.0)(40:60);流速:1.0 ml·min<sup>-1</sup> 检测波长:256 nm;柱温:40 ℃;进样量:20 μl。理论塔板数按奥卡西平峰计算,应不低于 2000,奥卡西平峰拖尾因子小于 1.5。

#### 3 实验结果

##### 3.1 线性实验

精密称取奥卡西平对照品 0.0625 g,置 50 ml 量瓶中,加乙腈溶解并稀释至刻度,精密量取 10 ml,置 100 ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,分别量取 1.0 ml、3.0 ml、5.0 ml、7.0 ml、9.0 ml 分置 5 个 10 ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀。在上述色谱条件下分别进样分析。结果表明:在 12.5 ~ 112.5 μg·ml<sup>-1</sup> 的奥卡西平浓度范围内,峰面积与浓度呈良好的线性关系,回归方程:Y = 3.2 × 10<sup>5</sup>C - 2.61 × 10<sup>3</sup> 相关系数 r = 0.9996。

##### 3.2 精密度试验

取浓度为 50 μg·ml<sup>-1</sup> 的对照品溶液,重复进样 5 次,以峰面积计算,RSD = 0.43%。

##### 3.3 重复性实验

分别精密称取同一批号的奥卡西平原料(批号 20000502)和奥卡西平片(批号 20000401)各 5 份,按含量测定项下的方法对奥卡西平测定,结果原料含量平均值为 99.

9%, RSD=0.52% (n=5), 片剂含量平均值为105.8%, RSD=0.33% (n=5); 分别取原料和片剂各一份, 每隔1h进样1次, 连续5次, 含量的RSD分别为0.42%和0.38%。

### 3.4 最低检测限

在选定的色谱条件下, 按信噪比为3(S/N=3)对最低检测限进行测定, 结果表明: 浓度为 $0.2\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 进样 $20\mu\text{l}$ 时,

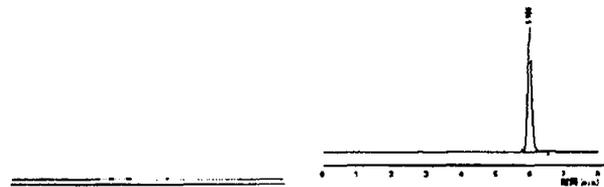


图1a 空白辅料色谱图

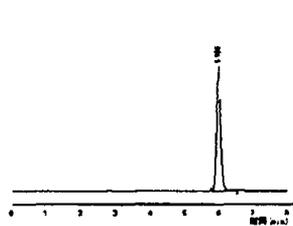


图1b 奥卡西平对照品

奥卡西平峰信号约为噪音的3倍, 即最低检测限量为4ng。

3.5 照处方配制5份奥卡西平片模拟样品和一份不含样品的空白辅料样品, 照含量测定项下方法试验, 测得平均回收率为99.7% (n=5), RSD=0.33%, 且片剂辅料不干扰测定(见图1a)。

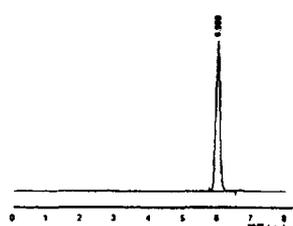


图1c 奥卡西平原料

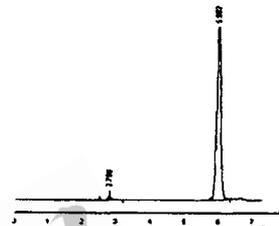


图1d 奥卡西平片

### 3.6 奥卡西平及片剂的含量测定(峰面积外标法)

3.6.1 奥卡西平原料 取奥卡西平约25mg, 置100ml量瓶中, 加乙腈10ml, 振摇使奥卡西平溶解后, 加水稀释至刻度, 摇匀, 精密量取5ml, 置25ml量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀; 取 $20\mu\text{l}$ 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 另取奥卡西平对照品适量, 同法测定, 按外标法以峰面积计算, 即得。结果见表1。

3.6.2 奥卡西平片 取本品20片, 精密称定, 研细, 精密称取适量(约相当于奥卡西平25mg), 置100ml量瓶中, 加乙腈10ml, 振摇使奥卡西平溶解后, 加水稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液5ml, 置25ml量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 其余操作同奥卡西平原料, 结果见表1。

### 3.7 奥卡西平及片剂的有关物质检查(峰面积归一化法)

取本品原料及片剂, 照含量测定项下的方法, 加乙腈制成 $1\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 溶液(片剂需滤过), 作为供试品溶液; 精密量取供试品溶液 $1.0\text{ml}$ 置 $200\text{ml}$ 量瓶中, 加乙腈, 稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。取对照溶液 $20\mu\text{l}$ 注入液相色谱仪进行预试, 调节检测灵敏度, 使主成分的峰高约为记录仪满刻度的20%~25%; 再量取供试品溶液 $20\mu\text{l}$ 注入液相色谱仪, 记录色谱图至主成分峰保留时间的4倍。结果见表1及图1。

表1 样品含量及有关物质测定结果

批号	含量测定结果 (标示量% n=3)	有关物质测定结果 (峰面积归一化法%)
奥卡西平	99.9	0.6
20000501	98.8	0.5
20000502	99.0	0.6
20000503	105.6	0.6
奥卡西平片	106.7	0.7
20000401	106.4	0.6
20000402		
20000403		



图1 奥卡西平原料有关物质

4.1 方法专属性考察 通过对奥卡西平主产物、空白辅料、合成中间体及降解产物进行HPLC分离检测, 结果表明采用HPLC法测定奥卡西平原料及其片剂的含量及有关物质的方法专属性良好(见图2)。

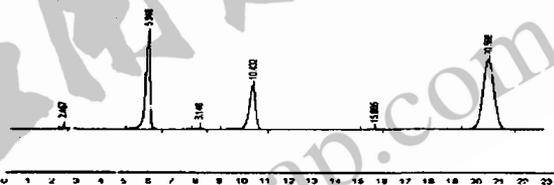


图2a 奥卡西平和10-甲氧基卡马西平, 5-亚胺基奥卡西平混合溶液分离色谱图, 其中5.948分为奥卡西平, 10.432分为10-甲氧基卡马西平, 20.598分为5-亚胺基奥卡西平, 其它为未知杂质。

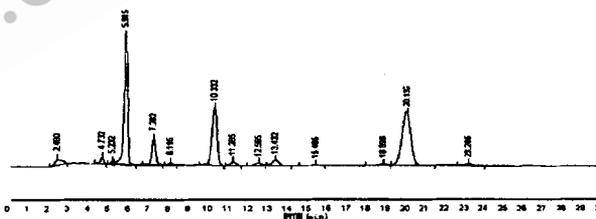


图2b 奥卡西平和10-甲氧基卡马西平, 5-亚胺基奥卡西平混合溶液光照48h(照度4000Lx)后分离色谱图

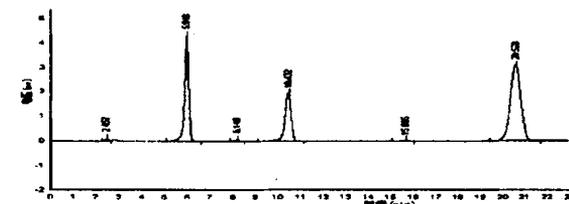


图2c 奥卡西平和10-甲氧基卡马西平, 5-亚胺基奥卡西平混合后 $120^{\circ}\text{C}$ 加热48h后分离色谱图

4.2 采用Diamonsil  $\text{C}_{18}$  ( $200\text{mm}\times 4.0\text{mm}, 5\mu\text{m}$ ) 色谱柱, 以乙腈-甲醇-0.1%磷酸溶液为流动相, 奥卡西平峰对称性差, 且主峰与合成中间体10-甲氧基卡马西平不能较好分离。

## 4 讨论

4.3 曾在  $\mu$ Bondapak  $C_{18}$  柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 10  $\mu$ m), Diamonsil  $C_{18}$ (200 mm  $\times$  4.0 mm, 5  $\mu$ m) 色谱柱上进行试验,通过调整流动相中乙腈的比例(30% ~ 50%之间),均可将待测组分与杂质分开,且峰对称性较好。

4.4 采用 HPLC 法检查有关物质较薄层色谱法检测灵敏度高,用薄层色谱法仅能检出除合成中间体 10-甲氧基卡马西平和 5-亚胺基奥卡西平外的 3 个杂质,而用 HPLC 法则可检出除合成中间体 10-甲氧基卡马西平和 5-亚胺基奥卡西平外的 5 个杂质;由于 5-亚甲胺基卡马西平出峰时间为主峰出峰时间的 3 倍多,故有关物质检查要记录色谱峰至主峰保留时间的 4 倍。

4.5 光照使杂质含量明显增加(见图 2b),故本品原料应避光保存。

4.6 流动相的 pH 值对主峰和杂质分离度影响较大,pH 值

升高,主峰与主峰前杂质分不开,pH 值为 3.0 时,主峰和杂质及和成中间体均能较好分离且分离度均大于 1.5(见图 1a)。

4.7 采用本法可以定量测定 10-甲氧基卡马西平和 5-亚胺基奥卡西平,在 0.2 ~ 5  $\mu$ g  $\cdot$  ml<sup>-1</sup> 的浓度范围内,10-甲氧基卡马西平和 5-亚胺基奥卡西平的回归方程分别为:  $Y = 278C - 5$ ,  $r = 0.9999$ ,  $Y = 308C + 8.88$ ,  $r = 0.9999$ ;其最低检测浓度分别为 0.2  $\mu$ g  $\cdot$  ml<sup>-1</sup>,最低检测限分别为 4 ng(信噪比为 3)。

## 参考文献

- 1 BP(英国药典)2000. Vol. I 287.
- 2 USP24(美国药典) NF19( I ) 229 ~ 301.
- 3 Chp(中国药典)2000. Vol II 二部:127.

收稿日期:2001 - 04 - 27