

HPLC 同时测定丙戊酸钠口服溶液中丙戊酸钠及防腐剂的含量

李树英, 王英新, 刘玲, 吴学萍, 王文笙, 何淑旺(山东达因海洋生物制药股份有限公司, 山东 荣成 274300)

摘要: 目的 建立 HPLC 同时测定丙戊酸钠口服溶液中丙戊酸钠及防腐剂含量的方法。方法 采用 Thermo Hypersil BDS C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以 0.01 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠(磷酸调节 pH 为 2.3)-乙腈(63:37)为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 210, 254 nm。结果 丙戊酸钠线性范围为 0.99~2.92 mg·mL⁻¹($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 98.8%(RSD=0.5%); 羟苯甲酯钠线性范围为 14.74~58.96 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 100.8%(RSD=0.4%); 羟苯丙酯钠线性范围为 10.21~20.41 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 101.1%(RSD=0.8%)。结论 该方法简单、迅速、可靠, 可用于丙戊酸钠口服溶液的检测和质量控制。

关键词: 丙戊酸钠; 口服溶液; 防腐剂; 羟苯甲酯钠; 羟苯丙酯钠; 含量测定; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2017)05-0711-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.05.017

引用本文: 李树英, 王英新, 刘玲, 等. HPLC 同时测定丙戊酸钠口服溶液中丙戊酸钠及防腐剂的含量[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(5): 711-714.

Simultaneous Determination of Valproate Sodium and Preservative in Sodium Valproate Oral Solution by HPLC

LI Shuying, WANG Yingxin, LIU Ling, WU Xueping, WANG Wensheng, HE Shuwang(Shandong Dyne Marine organism Pharmaceutical Co. Ltd., Rongcheng 264300, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for simultaneous determination of valproate sodium and antiseptic in sodium valproate oral solution. **METHODS** Thermo Hypersil BDS C₁₈ chromatographic column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used. The isocratic elution was adopted, with the mobile phase composed of PBS (pH 2.3)-acetonitrile(63:37). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the detective wavelength was 210 and 254 nm. **RESULTS** The linear range of valproate sodium was 0.99~2.92 mg·mL⁻¹ and the regression coefficient was 0.999 9. The recovery was 98.8%(RSD=0.5%). The linear range of sodium methylparaben was 14.74~58.96 μg·mL⁻¹ and the regression coefficient was 0.999 9. The recovery was 100.8%(RSD=0.4%). The linear range of sodium propylparaben was 10.21~20.41 μg·mL⁻¹ and the regression coefficient was 0.999 9. The recovery was 101.1%(RSD=0.8%). **CONCLUSION** The method is simple, quick and reliable. It can be used for actual test and quality control of sodium valproate oral solution.

KEY WORDS: valproate sodium; oral solution; preservative; sodium methylparaben; sodium propylparaben; content determination; HPLC

丙戊酸钠作为抗癫痫药物已在全世界 100 多个国家上市, 用于治疗多种不同类型的癫痫发作, 疗效得到全世界的公认^[1]。丙戊酸钠口服溶液未被中国药典 2015 年版收录, 该品种为多剂量使用, 处方组成中含羟苯甲酯钠及羟苯丙酯钠 2 种防腐剂^[2]。

USP35 采用 GC 测定丙戊酸口服液中丙戊酸钠的含量, 样品前处理较为繁琐; IP2010 采用电位滴定法, 专属性不高; BP2013 采用 HPLC 测定丙戊酸钠的含量, 但未对防腐剂进行测定。注射剂^[3]、片剂^[4-5]以及糖浆剂^[6]中丙戊酸钠的含量测定

已有文献报道, 但未见 HPLC 同时测定丙戊酸钠口服溶液中丙戊酸钠以及防腐剂含量的相关报道。

本实验采用 HPLC, 2 个波长分别同时测定丙戊酸钠口服溶液中丙戊酸钠以及防腐剂含量, 以期对丙戊酸钠口服溶液的质量控制提供技术支持。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), 色谱柱为 Thermo Hypersil BDS C₁₈ 键合硅胶柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); AB204-S, AB265-S 型电子分析天平(瑞士梅特勒公司)。

基金项目: 山东省自主创新及成果转化专项项目(2015ZDXX0302A02)

作者简介: 李树英, 男, 硕士, 工程师

Tel: (0631)7606291

E-mail: lishuying@dynemed.com

磷酸二氢钠、磷酸(国药化学试剂公司, 分析纯); 乙腈(默克, 色谱纯); 丙戊酸钠口服溶液(山东达因海洋生物制药公司, 批号: 1505004, 1505005, 1505006, 规格: 300 mL : 12 g), 丙戊酸钠对照品(BP, 批号: 2939, 含量: 98.5%); 羟苯甲酯钠对照品(批号: 100719, 含量: 98.0%); 羟苯丙酯对照品(批号: 100444-201403, 含量: 99.6%)均来自中国药品生物制品检定研究院。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液制备

精密量取丙戊酸钠口服溶液(批号: 1505004)5.0 mL, 置 100 mL 量瓶中, 用流动相[0.01 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠(磷酸调节 pH 为 2.3)-乙腈(63 : 37)]适量冲洗移液管至内壁无色, 并稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 滤膜过滤, 取续滤液即得。

2.2 对照品溶液制备

羟苯甲酯钠储备液: 精密称取羟苯甲酯钠对照品 102.45 mg, 置 100 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得。

取丙戊酸钠、羟苯甲酯钠、羟苯丙酯对照品适量, 精密称定, 加少量 1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液溶解后, 用流动相定量稀释制成每 1 mL 约含丙戊酸钠 2 mg、含羟苯甲酯钠 50 μg、羟苯丙酯 17 μg 的溶液(约相当于羟苯丙酯钠 29.2 μg)。

2.3 色谱条件及系统适应性试验

色谱柱为 Thermo Hypersil BDS C₁₈ 键合硅胶柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以 0.01 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠(磷酸调节 pH 为 2.3)-乙腈(63 : 37)为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 210, 254 nm, 柱温: 30 ℃。

在该色谱条件下, 丙戊酸钠在 210 nm、防腐剂(羟苯甲酯钠、羟苯丙酯)在 254 nm, 各色谱主峰理论板数(以主峰计)均≥5 000。

2.4 专属性考察

2.4.1 防腐剂专属性 考察空白溶剂、防腐剂空白溶液、主成分丙戊酸钠是否对样品检测有干扰。结果表明空白溶剂、防腐剂空白溶液、丙戊酸钠不会对样品检测产生干扰; 且羟苯甲酯钠、羟苯丙酯主峰和降解产物对羟基苯甲酸能完全分离, 结果见图 1。

2.4.2 丙戊酸钠专属性 考察空白溶剂、空白溶液、防腐剂是否对样品检测有干扰, 结果见图 2。

结果表明空白溶剂、空白溶液不会对样品检测产生干扰; 在强制降解条件(酸、碱、氧化)下(1 mol·L⁻¹ 盐酸溶液、1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液各 5 mL, 于 60 ℃破坏 2 h; 30% H₂O₂ 溶液 5 mL, 室温破坏 2 h), 未对丙戊酸钠含量检测产生干扰, 该方法专属性良好, 结果见图 3~5。

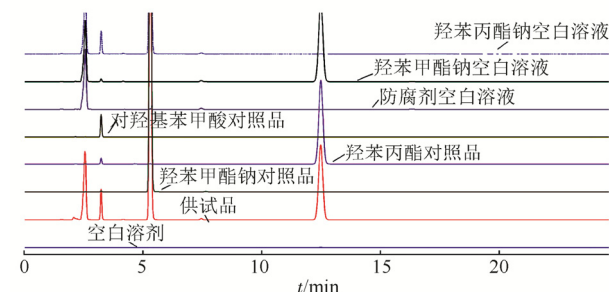


图 1 防腐剂(羟苯甲酯钠、羟苯丙酯钠)专属性图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of specificity of preservatives (sodium methylparaben and propylparaben sodium)

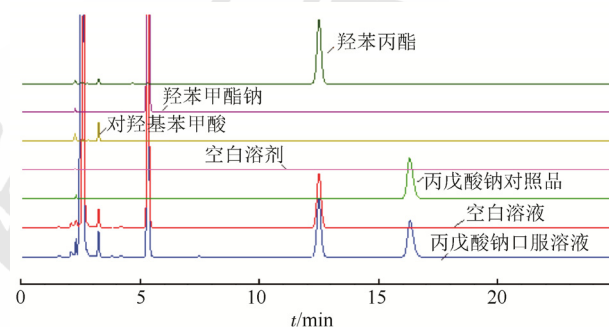


图 2 丙戊酸钠专属性图谱

Fig. 2 HPLC chromatograms of specificity of sodium valproate

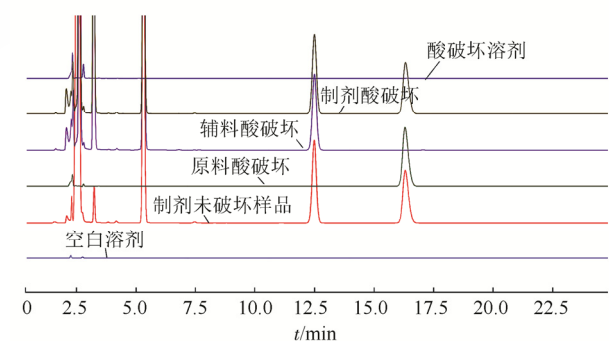


图 3 丙戊酸钠口服溶液酸破坏图谱

Fig. 3 HPLC chromatograms of sodium valproate oral solution with acid degradation

2.5 线性与范围

羟苯甲酯钠含量测定在进样浓度 40%~120% 的水平、羟苯丙酯钠含量测定样品在进样浓度 60%~120% 的水平、丙戊酸钠含量测定样品在进样浓度 50%~150% 的水平各取 5 个点; 以测得的响应

信号(峰面积)对被分析物浓度的函数作图,最小二乘法进行线性回归。结果表明:羟苯甲酯钠在14.74~58.96 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内,峰面积与浓度线性关系良好($n=5$),线性相关系数 $r=0.999\ 9$;羟苯丙酯钠在10.21~20.41 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内,峰面积与浓度线性关系良好($n=5$),线性相关系数 $r=0.999\ 9$;丙戊酸钠在0.99~2.92 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内,峰面积与浓度线性关系良好($n=5$),线性相关系数 $r=0.999\ 9$ 。

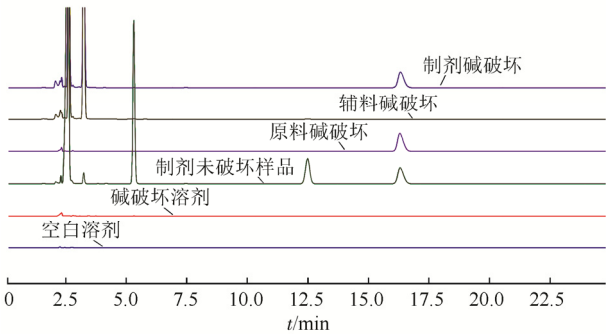


图4 丙戊酸钠口服溶液碱破坏图谱
Fig. 4 HPLC chromatograms of sodium valproate oral solution with alkaline degradation

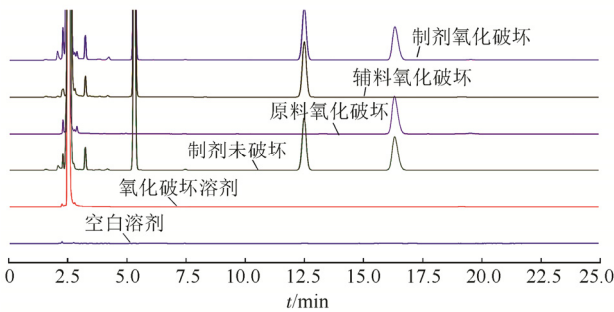


图5 丙戊酸钠口服溶液氧化破坏图谱
Fig. 5 HPLC chromatograms of sodium valproate oral solution with oxydative degradation

2.6 回收率试验

2.6.1 丙戊酸钠 精密移取空白辅料溶液 5.0 mL 共 9 份,分别置 100 mL 量瓶中,再分别加入丙戊酸钠原料药(批号: 1312P106)160, 200, 240 mg,按“2.1”项下方法配制,即得标示量分别为 80%, 100%, 120%的丙戊酸钠样品溶液,每个浓度分别制备 3 份样品。测定不同加入量下丙戊酸钠口服溶液中丙戊酸钠测定结果和加入量之间的回收率,结果见表 1。

结果表明,该方法在标示量 80%~120%内,丙戊酸钠平均回收率为 99.8%,满足各加标浓度的回收率应在 98.0%~101.0%之间的要求,表明该方法测定丙戊酸钠含量具有较好的回收率。

表 1 丙戊酸钠回收率测定结果($n=9$)
Tab. 1 Results of recovery of sodium valproate($n=9$)

浓度/%	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
80	160.17	159.06	99.31	99.8	0.5
	160.09	158.26	98.86		
	160.01	160.35	100.21		
100	200.20	200.28	100.04		
	200.30	200.28	99.99		
	200.10	200.70	100.30		
120	240.10	239.86	99.90		
	240.10	239.64	99.81		
	239.85	239.54	99.87		

2.6.2 羟苯甲酯钠 精密移取“2.4”项下除防腐剂空白溶液 5.0 mL 共 15 份,分别置 100 mL 量瓶中,精密量取羟苯甲酯钠储备液 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 mL,置于上述量瓶中,流动相稀释至刻度,相当于含标示量 40%, 60%, 80%, 100%, 120%的羟苯甲酯钠样品溶液,每个浓度平行制备 3 份。测定不同加入量下羟苯甲酯钠测定结果和加入量之间的回收率,结果见表 2。

表 2 羟苯甲酯钠回收率测定结果($n=15$)
Tab. 2 Results of recovery of sodium methylparaben($n=15$)

相当于标 示量/%	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
40	2.01	2.03	100.90	100.8	0.4
	2.01	2.03	101.21		
	2.01	2.02	100.51		
60	3.02	3.06	101.36		
	3.02	3.04	100.73		
	3.02	3.04	100.81		
80	4.02	4.07	101.17		
	4.02	4.05	100.75		
	4.02	4.05	100.78		
100	5.03	5.06	100.58		
	5.03	5.08	100.91		
	5.03	5.11	101.57		
120	6.03	6.04	100.18		
	6.03	6.04	100.09		
	6.03	6.05	100.29		

结果表明,羟苯甲酯钠在标示量 40%~120%内,平均回收率为 100.8%,各标示量的平均回收率应在 98.0%~102.0%之间,表明该方法测定羟苯甲酯钠含量具有较好的回收率。

2.6.3 羟苯丙酯钠 精密称取羟苯丙酯对照品约 1.2, 1.6, 2.0, 2.4 mg,分别置 100 mL 量瓶中,加 1 mL 1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液使其溶解;精密移

取空白溶液 5 mL 共 12 份, 分别加入上述量瓶中, 流动相稀释至刻度, 相当于含标示量 60%, 80%, 100%, 120% 的羟苯丙酯样品溶液, 每个浓度平行制备 3 份, 测定不同加入量下羟苯丙酯的测定结果和加入量之间的回收率, 结果见表 3。

表 3 羟苯丙酯钠回收率测定结果($n=12$)

Tab. 3 Results of recovery of sodium propylparaben($n=12$)

浓度/%	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/%	平均回 收率/%	RSD/%
60	1.25	1.27	101.71	101.1	0.8
	1.26	1.27	101.08		
	1.29	1.30	101.12		
80	1.66	1.69	101.70		
	1.62	1.64	101.00		
	1.57	1.57	99.91		
100	1.99	1.99	99.78		
	2.01	2.04	101.53		
	2.05	2.05	100.12		
120	2.43	2.47	101.85		
	2.40	2.44	101.80		
	2.42	2.46	101.59		

结果表明, 羟苯丙酯钠在标示量 60%~120% 内, 平均回收率为 101.1%, 各标示量的平均回收率应在 98.0%~102.0% 之间, 表明该方法测定羟苯丙酯含量具有较好的回收率。

2.7 精密性试验

2.7.1 仪器精密性 取丙戊酸钠口服溶液(批号: 1505004), 精密称定 6 份, 按“2.1”项下方法操作, 按“2.3”项下色谱条件下测定, 测得丙戊酸钠含量的 RSD 为 0.80%; 羟苯甲酯钠含量的 RSD 为 0.86%; 羟苯丙酯钠含量的 RSD 为 0.92%($n=6$)。

2.7.2 中间精密性 2 名实验人员在 2 台仪器上测定同一批丙戊酸钠口服溶液(批号: 1505004)中丙戊酸钠及防腐剂的含量, 每人平行测定 6 次, 测得丙戊酸钠含量的 RSD 为 0.84%; 羟苯甲酯钠含量的 RSD 为 0.85%; 羟苯丙酯钠含量的 RSD 为 0.83%($n=12$)。

2.8 耐用性

改变柱温 $\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、流速 $\pm 0.2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 、流动相 pH 值 ± 0.2 、流动相比比例($0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钠: 乙腈) ± 5 后, 系统适用性试验仍然符合要求, 测得丙戊酸钠口服溶液含量结果的 RSD 为 0.41%, 羟苯甲酯钠含量结果的 RSD 为 0.80%, 羟苯丙酯

钠含量结果的 RSD 为 0.65%, 各物质含量与正常条件下测出含量的 RD 均在 $\pm 2\%$ 以内, 对含量结果没有显著影响; 上述结果说明此检测方法有较好的耐用性。

2.9 样品测定

按“2.1”项下供试品溶液制备方法, 对丙戊酸钠口服溶液 3 个批次样品按“2.3”项下色谱条件检测, 其结果见表 4。

表 4 样品含量测定结果($n=3$)

Tab. 4 Results of sample determination($n=3$)

批次	羟苯甲酯钠		羟苯丙酯钠		丙戊酸钠	
	含量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/ %	含量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/ %	含量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/ %
1505004	0.98	0.50	0.39	0.15	40.69	0.21
1505005	0.98	0.51	0.39	0.16	39.97	0.22
1505006	0.98	0.50	0.39	0.16	40.59	0.21

3 讨论

本实验采用 HPLC 以 2 个波长分别同时测定丙戊酸钠口服溶液中丙戊酸钠及防腐剂含量, 采用降解杂质及强制降解实验全面考察了含量测定方法专属性, 确保了此分析方法的准确度。同时依据中国药典 2015 年版最新的指导原则完成了全面的分析方法学验证, 此分析方法可用于丙戊酸钠口服溶液中丙戊酸钠及防腐剂含量的测定, 为丙戊酸钠口服溶液的质量控制提供了可靠手段。

REFERENCES

- [1] LÖSCHER W. Basic pharmacology of valproate: a review after 35 years of clinical use for the treatment of epilepsy [J]. CNS Drugs, 2002, 16(10): 669-694.
- [2] Sodium Valproate Liquid 200mg/5ml Last Updated on eMC [2016-12-18]. <http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/26115#EXCIPIENTS>
- [3] 黄剑英, 黄惠琼, 李玲玲. HPLC 测定丙戊酸钠注射液中丙戊酸钠的含量[J]. 中国现代应用药学, 2009, 16(13): 1159-1161.
- [4] 李静. 高效毛细管气相色谱法测定片剂中丙戊酸钠含量[J]. 科技与企业, 2013(6): 335.
- [5] YANG S F, ZHANG N H, XU H, et al. Capillary column gas chromatography determination of sodium valproate in sodium valproate tablets [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2005, 25(5): 434-436.
- [6] XU H, ZHANG N H, YANG S F, et al. Capillary column gas chromatography determination of sodium valproate syrup [J]. Chin J Anal Pharm(药物分析杂志), 2005, 25(4): 461-463.

收稿日期: 2016-11-15

(本文责编: 曹粤锋)