

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.16.019

高效液相色谱法测定盐酸托莫西汀口服溶液中盐酸托莫西汀含量*

张 辉¹,符才东^{2△}

(1. 海南省药品和医疗器械审评服务中心,海南 海口 570216; 2. 海南省食品药品检验所海口分所,海南 海口 570311)

摘要:目的 建立测定盐酸托莫西汀口服溶液中盐酸托莫西汀含量的高效液相色谱法。**方法** 色谱柱为 Agilent Extend C₁₈ 柱(75 mm×4.6 mm,3.5 μm),流动相为以 pH 2.5 磷酸-氢氧化钾缓冲液-正丙醇(90:10,V/V)为流动相 A,pH 2.5 磷酸-氢氧化钾缓冲液-正丙醇(65:35,V/V)为流动相 B(梯度洗脱),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 215 nm,柱温为 40 ℃,进样量为 10 μL。**结果** 盐酸托莫西汀质量浓度在 0.227 8~0.683 4 mg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($r=0.999\ 9,n=5$);精密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 0.3%;平均加样回收率为 99.74%,RSD 为 1.36%($n=9$)。**结论** 所建立的方法快速准确、重复性好,可用于盐酸托莫西汀口服溶液的含量测定。

关键词:高效液相色谱法;盐酸托莫西汀口服溶液;盐酸托莫西汀;含量测定

中图分类号:R917;R927.2 文献标志码:A 文章编号:1006-4931(2022)16-0077-03

Content Determination of Atomoxetine Hydrochloride in Atomoxetine Hydrochloride Oral Solution by HPLC

ZHANG Hui¹,FU Caidong²

(1. Hainan Center for Drug and Medical Device Evaluation and Service,Haikou,Hainan,China 570216; 2. Haikou Branch of Hainan Provincial Institute for Food and Drug Control,Haikou,Hainan,China 570311)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatograph (HPLC) method for the content determination of atomoxetine hydrochloride in Atomoxetine Hydrochloride Oral Solution. **Methods** The chromatographic column was Agilent Extend C₁₈ column (75 mm×4.6 mm,3.5 μm),the mobile phase A was pH 2.5 potassium hydroxide phosphate buffer solution-*n*-propyl alcohol (90:10,V/V) and the mobile phase B was pH 2.5 potassium hydroxide phosphate buffer solution-*n*-propyl alcohol (65:35,V/V) with gradient elution,the flow rate was 1.0 mL/min,the detection wavelength was 215 nm,the column temperature was 40 ℃,and the injection volume was 10 μL. **Results** The linear range of atomoxetine hydrochloride was 0.227 8-0.683 4 mg/mL ($r=0.999\ 9,n=5$). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 0.3%. The average

*基金项目:海南省重点研发计划项目[ZDYF2018203]。

第一作者:张辉,男,大学本科,副主任药师,高级工程师,研究方向为药品和医疗器械技术审评和药品检查,(电子信箱)zhanghui1969@126.com。

△通信作者:符才东,男,大学本科,高级工程师,研究方向为药品检验,(电子信箱)86046978@qq.com。

化性湿疹的疗效研究[J]. 名医,2020(4):43.

[3] 张海丽,回雪颖,孙凤娟,等. 湿润烧伤膏联合全蝎软膏治疗糖尿病性皮肤病溃疡的疗效观察[J]. 现代生物医学进展,2020,20(14):2640-2645.

[4] 赵海燕,于美,鞠小敏,等. 踝泵运动联合湿润烧伤膏在糖尿病足患者护理中的应用效果[J]. 中医临床研究,2020,12(9):68-71.

[5] 张晓雷,周明眉,贾伟,等. 黄连、黄芩及其配伍药对的现代研究概况[J]. 吉林中医药,2010,30(2):163-166.

[6] 郑勇凤,王佳婧,傅超美,等. 黄芩的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中成药,2016,38(1):141-147.

[7] 张艳. 黄芩苷和黄芩素的抗炎和免疫调控作用研究[D]. 上海:第二军医大学,2012.

[8] 侯媛媛. 大黄和黄芩抑菌活性物质追踪及其抑菌机理研究[D]. 上海:上海海洋大学,2015.

[9] 张艳霞. 黄芩黄酮类化合物体外抗宫颈癌作用的研究[D]. 秦皇岛:燕山大学,2013.

[10] 张会会. 黄芩汤抗炎药效及其作用机制研究[D]. 北京:中国中医科学院,2014.

[11] 赵田禾,张莹莹,吴洋洋,等. 汉黄芩素及其衍生物的抗肿瘤作用及其分子机制的研究进展[J]. 中国新药杂志,2016,25(7):760-766.

[12] 侯宏,李学刚,李平,等. 黄连生物碱的提取纯化及降脂作用[J]. 长春中医药大学学报,2011,27(1):7-8.

[13] 庞婕. 黄连活性物质的抗焦虑作用及其机理研究[D]. 重庆:西南大学,2014.

[14] 张月月,王君明,崔瑛,等. 中药生物碱类成分抗焦虑或抑郁活性及黄连生物碱药理作用研究进展[J]. 中华中医药杂志,2015,30(4):1184-1187.

[15] 高妍,周海芳,刘朵,等. 黄柏化学成分分析及其药理作用研究进展[J]. 亚太传统医药,2019,15(4):207-209.

[16] 李嘉诚,吴岚,蔡同凯,等. 黄柏化学成分及其药理作用研究进展[J]. 药学实践杂志,2018,36(5):389-391.

[17] 杨丽宏,袁子文,纪鹏,等. 黄连解毒汤中13种活性成分的HPLC检测及其有效部位的筛选[J]. 中草药,2019,50(16):3794-3801.

(收稿日期:2021-11-27;修回日期:2022-02-10)

recovery of atomoxetine hydrochloride was 99.74% with an *RSD* of 1.36% ($n = 9$). **Conclusion** The established method is rapid, accurate and reproducible, which can be used for the content determination of atomoxetine hydrochloride in Atomoxetine Hydrochloride Oral Solution.

Key words: HPLC; Atomoxetine Hydrochloride Oral Solution; atomoxetine hydrochloride; content determination

盐酸托莫西汀为(*R*)-*N*-甲基-3-2-(甲苯氧基)-3-苯丙基胺盐酸盐,属去甲肾上腺素递质再摄取抑制剂,2003年由Lilly公司研发成功并在美国上市,是首个用于治疗注意缺陷多障碍的非兴奋性药物^[1-5]。盐酸托莫西汀口服溶液具有易吸收、给药方便、口感好的优势,易为患者特别是儿童和婴幼儿所接受。有文献报道采用高效液相色谱(HPLC)法、紫外分光光度法和化学发光法测定盐酸托莫西汀原料药和胶囊中主药含量^[6-14],而其口服溶液中主药含量测定方法尚未见报道。本研究中建立了测定盐酸托莫西汀口服溶液中盐酸托莫西汀含量的HPLC法,为评价和控制该制剂的质量提供了依据。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Ultimate 3000型高效液相色谱仪(美国Dionex公司);Ex125ZH型电子天平(美国Ohaus公司);FE28型pH计(瑞士Mettler Toledo公司)。

1.2 试剂

盐酸托莫西汀对照品(中国食品药品检定研究院,批号为510143-201701,含量99.7%);盐酸托莫西汀口服溶液3批(A厂,批号分别为210201,210601-2;B厂,批号为9071B);正丙醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Extend C₁₈柱(75 mm × 4.6 mm, 3.5 μm);流动相:A为pH 2.5磷酸-氢氧化钾缓冲液-正丙醇(90:10, V/V),B为pH 2.5磷酸-氢氧化钾缓冲液-

正丙醇(65:35, V/V),梯度洗脱(0~9 min时100%A→30%A, 9~15 min时30%A, 15~15.5 min时30%A→100%A, 15.5~25 min时100%A);流速:1.0 mL/min;检测波长:215 nm;柱温:40℃;进样量:10 μL。

2.2 溶液制备

取磷酸2.9 g,精密称定,加水1 L,搅拌溶解后加5 mol/L氢氧化钾溶液调溶液pH至2.5,加入1-辛烷磺酸钠7.56 g,再加正丙醇,制成pH 2.5磷酸-氢氧化钾缓冲液-正丙醇(80:20, V/V),作为稀释剂。取盐酸托莫西汀对照品91.4 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,加稀释剂溶解并定容,摇匀,即得对照品贮备液;精密吸取5 mL,置10 mL容量瓶中,加稀释剂定容,制成质量浓度为0.46 mg/mL的对照品溶液。精密量取样品溶液5 mL,置50 mL容量瓶中,加稀释剂制成质量浓度为0.46 mg/mL的供试品溶液。按盐酸托莫西汀口服溶液处方及工艺制备缺盐酸托莫西汀的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

系统适用性与专属性试验:精密吸取2.2项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各10 μL,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图1。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液相应位置有吸收峰,理论板数按盐酸托莫西汀峰计应不小于3 000,分离度均大于1.5,且阴性对照无干扰,表明适用性与专属性良好。

线性关系考察:精密量取2.2项下对照品贮备液2.5,4.0,5.0,6.0,7.5 mL,分别置10 mL容量瓶中,加稀释剂定容,摇匀,按2.1项下色谱条件进样测定,记录

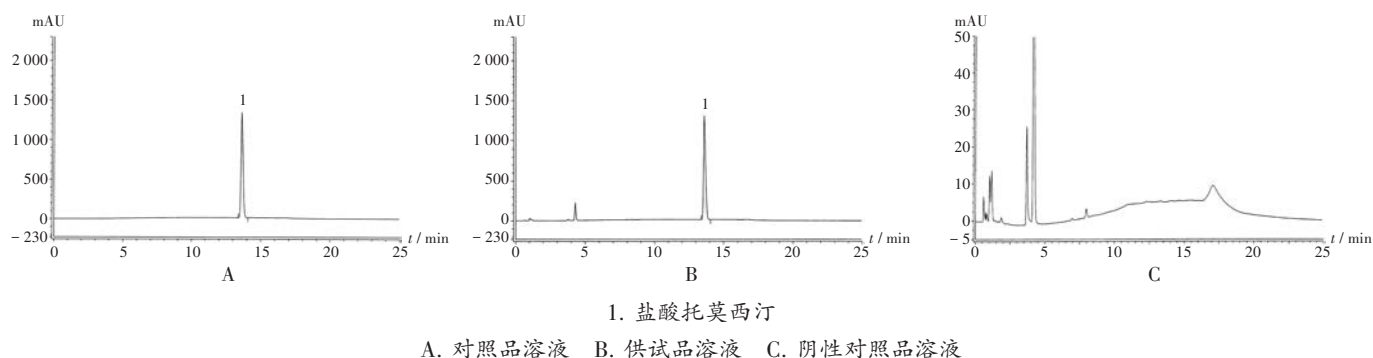


图1 高效液相色谱图

1. Atomoxetine hydrochlorid

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

峰面积。以待测成分质量浓度(X , mg/mL)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 29.5658X + 64.5567$ ($r = 0.9999, n = 5$)。结果表明,盐酸托莫西汀质量浓度在 $0.2278 \sim 0.6834$ mg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

定量限考察:精密量取 2.2 项下对照品溶液,逐级稀释,按 2.1 项下色谱条件进样测定,以信噪比为 10:1 的待测成分质量浓度作为定量限。结果盐酸托莫西汀的定量限为 $0.0683 \mu\text{g/mL}$ 。

精密度试验:精密吸取 2.2 项下对照品溶液 $10 \mu\text{L}$,按 2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果盐酸托莫西汀峰面积的 RSD 为 0.03% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取供试品溶液,分别于室温下放置 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 h 时,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果盐酸托莫西汀峰面积的 RSD 为 0.28% ($n = 7$),表明供试品溶液在室温下放置 24 h 内基本稳定。

重复性试验:取同一批(批号为 210201)样品,按 2.2 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果盐酸托莫西汀的平均含量为 96.54% , RSD 为 0.29% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:精密量取阴性对照品溶液 9 份,每份 5 mL,分别精密加入对照品贮备液适量,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果 ($n = 9$)

Tab. 1 Results of the recovery test ($n = 9$)

加入量(mg/mL)	测得量(mg/mL)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.2278	0.2293	100.66		
0.2278	0.2305	101.19		
0.2278	0.2316	101.67		
0.4556	0.4540	99.65		
0.4556	0.4420	97.01	99.74	1.36
0.4556	0.4539	99.63		
0.6834	0.6787	99.31		
0.6834	0.6790	99.36		
0.6834	0.6780	99.21		

2.4 样品含量测定

取 3 批样品适量,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并采用外标法计算盐酸托莫西汀含量。结果批号为 210201, 210601-2, 9071B 样品的含量分别为 96.44% , 96.70% , 98.02% , 平均 97.05% ($n = 3$)。

3 讨论

查阅相关文献,虽有建立 HPLC 法测定盐酸托莫西汀原料药含量的报道,但均为等度洗脱,样品主峰分离效果欠佳。预试验中考察了 0.8 mL/min 、 1.0 mL/min 和 1.2 mL/min 流速对测定结果的影响,结果表明更改流速对样品检测结果无影响;分别采用 Agilent Extend C_{18} 柱 ($75 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}, 3.5 \mu\text{m}$)、依利特 Hypersil BDS 柱 ($250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$) 和 Shimadzu VP-ODS 柱 ($150 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$) 考察结果,发现 Agilent Extend C_{18} 柱 ($75 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}, 3.5 \mu\text{m}$) 分离效果好且分析时间短;分别采用 $35, 40, 45^\circ\text{C}$ 柱温测定,发现对测定结果无明显影响。破坏性试验结果表明,色谱主峰与各杂质峰完全分离。

综上所述,本研究中所建方法灵敏度高、专属性强、耐用性好、重复性好,可用于盐酸托莫西汀口服溶液的含量测定。

参考文献

- [1] 陈前波,周翊,徐通. 盐酸托莫西汀对注意缺陷多动障碍共病的疗效[J]. 实用儿科临床杂志,2009,24(12):945-947.
- [2] 刘云海,王虹. 小儿多动症治疗新药:盐酸托莫西汀[J]. 医药导报,2004,23(5):338-339.
- [3] 马培奇. 盐酸托莫西汀及其市场展望[J]. 药学进展,2005,29(3):142-143.
- [4] 杜亚松. 治疗 ADHD 的新药——托莫西汀[J]. 中国儿童保健杂志,2008,16(1):65-69.
- [5] 施慧,丁庆明,唐篁. 治疗注意缺陷多动症药物托莫西汀的研究进展[J]. 中国医院药学杂志,2010,30(24):2110-2112.
- [6] 王玲,王广军,杨冉. 化学发光法测定盐酸托莫西汀含量[J]. 河南科学,2015,33(1):35-37.
- [7] 王华栋,吕和平,吴拥军,等. 化学发光法快速测定盐酸托莫西汀的含量[J]. 药物分析杂志,2007,3(3):348-350.
- [8] 伍季,王华栋,刘红伟,等. 紫外分光光度法测定盐酸托莫西汀胶囊的含量[J]. 河南科学,2006,3(3):356-357.
- [9] 何淑旺,李树英,蔡琨,等. 测定盐酸托莫西汀的含量[J]. 食品与药品,2016,18(6):417-420.
- [10] 张小燕,李伟,毕开顺,等. RP-HPLC 法测定盐酸托莫西汀的含量和有关物质[J]. 现代生物医学进展,2010,10(18):3541-3543.
- [11] 魏斌,周伟,吴玉章. 盐酸托莫西汀[J]. 中国新药杂志,2003,12(2):142-143.
- [12] 陈言德,童振雄,林利敏. HPLC 法测定盐酸托莫西汀口服溶液中对映异构体含量[J]. 精细化工中间体,2021,51(4):65-68.
- [13] 吕和平,吴相永,樊振,等. 高效液相色谱法测定盐酸托莫西汀有关物质[J]. 山东化工,2016,45(15):88-90.
- [14] 陈杰,李展. 高效液相色谱法检查盐酸托莫西汀左旋异构体的有关物质[J]. 中国药房,2014,25(45):4299-4301.

(收稿日期:2022-01-28;修回日期:2022-03-29)