

·国家药监局重点实验室·麻精药品质量研究专题·

中图分类号: R927.7; R971.7 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)03-0012-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.03.003



高效液相色谱法测定盐酸羟考酮缓释片中盐酸羟考酮含量*

马睿¹, 曾令高^{2△}, 罗娟¹, 孙怀敬¹, 程浩男¹, 尹可欣¹, 林美龄¹, 熊莉平¹

(1. 西南药业股份有限公司, 重庆 400038; 2. 重庆市食品药品检验检测研究院·国家药品监督管理局麻醉精神药品质量监测重点实验室, 重庆 401121)

专家简介: 马睿, 女, 硕士研究生, 工程师, 研究方向为药物制剂及质量。参与盐酸羟考酮缓释片、盐酸吗啡缓释片、盐酸氟西汀胶囊、左氧氟沙星片等 10 个品种的研发, 其中盐酸氟西汀胶囊及左氧氟沙星片已拿到生产批文。发表 SCI 论文 3 篇。



摘要: 目的 建立测定盐酸羟考酮缓释片中盐酸羟考酮含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Agilent Eclips XDB-C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 1.1 g/L 庚烷磺酸钠溶液(pH 2.0) - 乙腈 - 甲醇(750:95:155, V/V/V), 流速为 1.2 mL/min, 检测波长为 230 nm, 柱温为 40 °C, 进样量为 20 μL。结果 羟考酮的质量浓度在 0.047~189.920 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($R^2 = 1.0000, n = 6$); 定量限为 50.75 ng/mL; 精密性、重复性、稳定性试验结果的 RSD 均小于 2.0%; 平均回收率为 99.72%, RSD 为 0.93% ($n = 9$)。样品中盐酸羟考酮的含量分别为 100.03%, 100.82%, 100.11% ($n = 4$)。结论 该方法专属性强、耐用性好、回收率高, 可用于盐酸羟考酮缓释片中盐酸羟考酮的含量测定。

关键词: 高效液相色谱法; 盐酸羟考酮缓释片; 盐酸羟考酮; 含量测定

Content Determination of Oxycodone Hydrochloride in Oxycodone Hydrochloride Prolonged - Release Tablets by HPLC

MA Rui¹, ZENG Linggao², LUO Juan¹, SUN Huaijing¹, CHENG Haonan¹, YIN Kexin¹, LIN Meiling¹, XIONG Liping¹

(1. Southwest Pharmaceutical Co., Ltd., Chongqing, China 400038; 2. Chongqing Institute for Food and Drug Control · NMPA Key Laboratory for Quality Monitoring of Narcotic Drugs and Psychotropic Substances, Chongqing, China 401121)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for content determination of oxycodone hydrochloride in Oxycodone Hydrochloride Prolonged - Release Tablets. **Methods** The chromatographic column was Agilent Eclips XDB - C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was 1.1 g/L sodium heptane sulfonate solution (pH 2.0) - acetonitrile - methanol (750 : 95 : 155, V / V / V), the flow rate was 1.2 mL / min, the detection wavelength was 230 nm, the column temperature was 40 °C, and the injection volume was 20 μL. **Results** The linear range of oxycodone was 0.047 - 189.920 μg / mL ($R^2 = 1.0000, n = 6$). The limit of quantification (LOQ) was 50.75 ng / mL. The RSDs of precision, repeatability, and stability test results were all lower than 2.0%. The average recovery of hydroxycodone was 99.72% with an RSD of 0.93% ($n = 9$). The contents of oxycodone hydrochloride in samples were 100.03%, 100.82%, and 100.11% ($n = 4$), respectively. **Conclusion** The method is specific, robust, and accurate, which can be used for the content determination of oxycodone hydrochloride in Oxycodone Hydrochloride Sustained - Release Tablets.

Key words: HPLC; Oxycodone Hydrochloride Prolonged - Release Tablets; oxycodone hydrochloride; content determination

* 基金项目: 重庆英才计划“包干制”项目[cstc2021ycjh - bgzxm0315]。

第一作者: 马睿, 女, 硕士研究生, 工程师, 研究方向为制剂质量, (电子信箱)maruisdu@126.com。

△通信作者: 曾令高, 男, 硕士研究生, 主任药师, 研究方向为药品质量与标准, (电子信箱)zenglinggao@cqifdc.org.cn。

emulsifying osmotic delivery system of nifedipine[J]. Archives of Pharmacy Practice, 2012, 3(2): 128 - 135.

[17] KUSHNER J 4TH, LAMBA M, STOCK T, et al. Development and validation of a level A *in-vitro in-vivo* correlation for tofacitinib modified release tablets using extrudable core system osmotic delivery technology[J]. Eur J Pharm Sci, 2020, 147: 105200.

[18] 北京天衡药物研究院. 一种渗透泵型控释片及其制备方
法: CN102198112A[P]. 2011 - 09 - 28.

[19] 朱双双, 胡容峰, 孙超杰. 增塑剂及肠溶致孔剂对醋酸纤维素游离膜性能的影响[J]. 安徽医药, 2016, 10: 1836 - 1841.

[20] PATRA CN, SWAIN S, SRUTI J, et al. Osmotic drug delivery systems: Basics and design approaches[J]. Recent Pat Drug Deliv Formul, 2013, 7(2): 150 - 161.

(收稿日期: 2023 - 09 - 11; 修回日期: 2023 - 11 - 01)

肿瘤患者初期疼痛发生率约为25%，晚期疼痛发生率为60%~80%^[1]。癌痛可能会引起或加重患者的焦虑、抑郁、乏力、失眠、食欲减退等症状，严重影响患者的日常活动、自理能力、交往能力及整体生活质量^[1-2]。世界卫生组织(WHO)认定阿片类镇痛药为三阶梯癌痛治疗的常规用药，能有效缓解中度至重度疼痛，是治疗急性疼痛的一线药物，但具有成瘾性^[3]。且使用即释阿片类药物服药次数大大增加^[4]，患者担心药物成瘾性，导致用药依从性降低。盐酸羟考酮是由生物碱蒂巴因植物衍生物制成的半合成阿片类药物，自1917年开始应用于临床，主要作用于中枢神经系统和平滑肌，对 μ 、 κ 、 δ 受体具有激动剂活性^[5-6]，镇痛作用强。盐酸羟考酮缓释片具有双相释放特点，38%首先快速释放，其余62%随后缓慢持续释放^[7-8]，能在口服后1 h内快速镇痛，并持续12 h镇痛，既起到了镇痛效果，又大大降低了成瘾性。故控制盐酸羟考酮缓释片中盐酸羟考酮含量至关重要。为此，本研究中建立了测定盐酸羟考酮缓释片中盐酸羟考酮含量的高效液相色谱法。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);Waters e2695型高效液相色谱仪(美国Waters公司);HT-800型超声波清洗机(海腾超声电子设备有限公司,功率为800 W,频率为25~40 kHz);ME204E型电子天平(精度为万分之一),XPE26型电子天平(精度为百万分之一),均购自瑞士Mettler-Toledo公司。

1.2 试剂

盐酸羟考酮对照品(批号为171271-201501,含量为94.9%),枸橼酸三乙酯对照品(批号为190096-201802,含量为99.5%),均购自中国食品药品检定研究院;羟考酮杂质B对照品(消旋体,批号为2005604-3,含量为99.58%,含杂质B₁及B₂2种异构体),羟考酮杂质C对照品(批号为2005609-1,含量为99.19%),盐酸羟考酮原料(批号为CP0012103005),均购自甘肃普瑞制药有限公司;乳糖(德国美剂乐两合公司);十八醇(江西阿尔法高科药业有限公司);盐酸羟考酮缓释片(西南药业股份有限公司,批号分别为Y211201, Y220901, Y221001,规格为每片10 mg);庚烷磺酸钠(色谱纯,山东禹城市中美色谱产品厂);磷酸(分析纯,重庆川东化工<集团>有限公司);甲醇、乙腈(色谱纯,赛默飞世尔科技<中国>有限公司);水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Agilent Eclipse XDB-C₁₈柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μ m);流动相:1.1 g/L 1-庚烷磺酸钠溶液

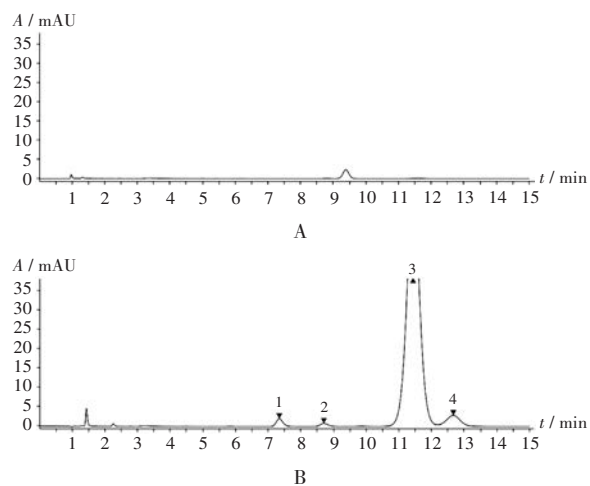
(pH 2.0)-乙腈-甲醇(750:95:155, V/V/V);流速:1.2 mL/min;检测波长:230 nm;柱温:40 °C;进样量:20 μ L。系统适用性溶液在此色谱条件下,色谱峰的分度大于1.5,理论板数按羟考酮峰计为4 886。

2.2 溶液制备

取盐酸羟考酮、羟考酮杂质B、羟考酮杂质C对照品各适量,精密称定,加流动相溶解,稀释成每1 mL约含盐酸羟考酮80 μ g、杂质B和C均为1.6 μ g的系统适用性溶液。取枸橼酸三乙酯、乳糖、十八醇各适量,精密称定,加流动相溶解,稀释成每1 mL含乳糖、枸橼酸三乙酯、十八醇均为1 mg的空白辅料溶液。取盐酸羟考酮对照品适量,精密称定,加流动相溶解,稀释成每1 mL约含盐酸羟考酮80 μ g的对照品溶液。取样品10片,除去包衣,精密称定,研磨至极细粉末,精密称取适量(约相当于盐酸羟考酮8 mg),置100 mL容量瓶中,加流动相适量,超声使盐酸羟考酮溶解完全,放冷,用流动相定容,摇匀,滤过,即得供试品溶液。

2.3 方法学考察

专属性试验:精密量取2.2项下空白辅料溶液及系统适用性溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。系统适用性溶液色谱中,各成分分离度良好,且辅料无干扰。详见图1。



1. 羟考酮杂质B₁ 2. 羟考酮杂质B₂ 3. 羟考酮 4. 羟考酮杂质C

A. 空白辅料溶液 B. 系统适用性溶液

图1 专属性试验高效液相色谱图

1. Oxycodone impurity B₁ 2. Oxycodone impurity B₂

3. Oxycodone 4. Oxycodone impurity C

A. Excipients - blank solution B. System suitability solution

Fig. 1 HPLC chromatograms of the specific test

定量限确定:取盐酸羟考酮原料,按2.2项下方法制备浓度为25%的线性溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,以信噪比(S/N)为10倍时的质量浓度为定量限。结果盐酸羟考酮定量限为50.75 ng/mL。

线性关系考察:取盐酸羟考酮原料,按2.2项下方法

制备浓度分别为25%, 100%, 150%, 200%, 250%的系列线性溶液,精密量取各线性溶液及定量限溶液(质量浓度为50.75 ng/mL),按2.1项下色谱条件进样测定,以羟考酮的质量浓度($X, \mu\text{g}/\text{mL}$)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 20.884 X + 0.6169$ ($R^2 = 1.0000, n = 6$)。结果表明,羟考酮的质量浓度在0.047 ~ 189.920 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密量取2.2项下对照品溶液2份及供试品溶液1份,按2.1项下色谱条件分别进样测定5次、2次、6次,记录色谱图。结果对照品溶液峰面积比值的RSD为0.52%,供试品溶液保留时间的RSD为0.01% ($n = 6$),峰面积的RSD为0.11% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取样品(批号为Y211201)适量,按2.2项下方法制备供试品溶液6份,由2名操作人员在不同时间用不同仪器重复上述操作,计算盐酸羟考酮的含量。结果2名操作人员的RSD分别为0.33% ($n = 6$)和0.78% ($n = 6$),盐酸羟考酮的平均含量为100.36%,RSD为0.62% ($n = 12$),表明方法重复性良好。

稳定性试验:取2.2项下供试品溶液适量,于室温放置0, 6, 24, 48 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果平均含量为100.16%,RSD为0.17% ($n = 4$),表明供试品溶液在室温放置48 h内稳定性良好。

耐用性试验:取样品(批号为Y211201),按2.2项下方法制备供试品溶液,分别考察不同的检测波长(228, 232 nm),柱温(38, 42 $^{\circ}\text{C}$),流速(1.1, 1.3 mL/min),甲醇和乙腈体积分数($1 \pm 5\%$),缓冲液pH值(1.8, 2.2),色谱柱[Agilent Eclipse XDB - C_{18} 柱(150 mm \times 4.6 mm, 5 μm), Agilent Zorbax SB - C_{18} 柱(150 mm \times 4.6 mm, 5 μm)],色谱仪(Agilent 1260型、Waters e2695型)对样品提取效果的影响。结果当测定条件发生微小变动时,均能达到分离要求,各条件下盐酸羟考酮平均含量为100.09%,RSD为0.81%,能满足测试要求。

回收试验:取盐酸羟考酮原料,照处方与工艺制备样品,盐酸羟考酮按处方量的80%, 100%, 120%投料,各平行3份,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,计算回收率。结果见表1。

2.4 样品含量测定

取3批(批号分别为Y211201, Y220901, Y221001)样品,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,每批样品平行配制2份,每份重复测定2次。结果样品中盐酸羟考酮的含量分别为100.03%, 100.82%, 100.11% ($n = 4$)。

3 讨论

3.1 色谱条件选择

缓释制剂活性成分难提取^[9-10],辅料有一定干扰。

表1 回收试验结果($n = 9$)

盐酸羟考酮含量按处方量的水平	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	\bar{X} (%)	RSD (%)
80%	6.48	6.32	97.53	99.72	0.93
	6.50	6.46	99.38		
	6.46	6.51	100.77		
100%	8.02	7.98	99.50		
	7.94	7.94	100.00		
	8.03	8.05	100.25		
120%	9.59	9.60	100.10		
	9.62	9.64	100.21		
	9.60	9.57	99.69		

本品为强有机碱盐酸盐,选择以离子对试剂为流动相的反相液相色谱系统进行试验,根据各国药典标准含量测定方法^[11-14],拟定了初步的含量测定色谱条件,即色谱柱为 C_{18} 柱,流动相为1.1 g/L 1-庚烷磺酸钠溶液(用50%磷酸溶液调pH至2.0) - 乙腈 - 甲醇(738:102:160, V/V/V),流速为1.2 mL/min,柱温为40 $^{\circ}\text{C}$,检测波长为230 nm,进样量为20 μL 。后续研究中发现,该方法存在辅料干扰主峰及活性成分难以提取的风险,样品含量偏低(95.62% ~ 97.64%)。降低流动相中有机相的比例,将主峰保留时间延后,辅料峰保留时间未发生明显变化,两色谱峰有分离趋势,表明主峰对流动相的改变更敏感;提高甲醇比例,辅料峰与主峰完全分离,且出峰时间合适。故最终确定2.1项下色谱条件。

3.2 提取方法选择

前期试验中,考察研磨方法、滤液弃去体积量、提取方法(超声及振摇)、溶剂体积对提取效果的影响。发现提高研磨效率可升高提取效率;弃去不同体积量,结果无显著差异,滤膜对样品无吸附作用;超声提取效率显著高于振摇提取,超声时间越长,提取越充分,选择较大的提取体积可规避提取不完全的风险。取同一批样品,按2.2项下方法制备供试品溶液,结果盐酸羟考酮含量为100.72%,故最终确定2.2项下供试品溶液制备方法。

3.3 方法评价

本研究中建立的方法专属性强、耐用性好、回收率高,可用于盐酸羟考酮缓释片中盐酸羟考酮的含量测定。

参考文献

- [1] 樊宗兵,张 凤,彭加兵,等. 规范化药学服务模式用于癌痛全程化管理效果分析[J]. 中国药业,2022,31(8):121-124.
- [2] 肖志军,周 婷,刘秀凤,等. 药学服务对肿瘤患者癌痛规范化治疗知行信及疼痛控制的影响[J]. 中国药业,2020,29(4):24-27.
- [3] 王佳瑜,高梓真,许向阳,等. 盐酸羟考酮缓释片的制备及防滥用性能评估[J]. 中国药业,2023,32(19):17-21.