

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)14-0103-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.14.021



高效液相色谱法检测盐酸托哌酮胶囊中有关物质

王悦, 杨丽蓉, 齐衍超, 聂晓华, 胡鹏

(山东省潍坊市检验检测中心, 山东 潍坊 261000)

摘要:目的 建立检测盐酸托哌酮胶囊中2种有关物质的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Phenomenex Luna® C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.01 mol/L 磷酸二氢钾水溶液(以三乙胺调 pH 至 8.0) - 乙腈(40:60, V/V), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 254 nm, 柱温为 35 °C, 进样量为 10 μL。结果 杂质 I、杂质 II 质量浓度分别在 0.51~51.43 μg/mL 和 0.52~51.59 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($r \geq 0.999$), 检测限分别为 0.05 μg/mL 和 0.10 μg/mL, 定量限分别为 0.26 μg/mL 和 0.52 μg/mL; 精密性、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 2.0%, 平均加样回收率分别为 96.00% 和 95.81%, RSD 分别为 1.21% 和 0.90% ($n = 6$)。结论 所建方法准确性好, 灵敏度高, 可用于盐酸托哌酮胶囊中有关物质的测定。

关键词: 高效液相色谱法; 盐酸托哌酮胶囊; 有关物质

Determination of Related Substances in Tolperisone Hydrochloride Capsules by HPLC

Wang Yue, Yang Lirong, Qi Yanchao, Nie Xiaohua, Hu Peng

(Weifang Inspection and Testing Center, Weifang, Shandong 261000, China)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the determination of two related substances in Tolperisone Hydrochloride Capsules. **Methods** The chromatographic column was Phenomenex Luna® C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was 0.01 mol/L potassium dihydrogen phosphate solution (pH adjusted to 8.0 with triethylamine) - acetonitrile (40:60, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 254 nm, the column temperature was 35 °C, and the injection volume was 10 μL. **Results** The linear ranges of impurity I and impurity II were 0.51 - 51.43 μg/mL and 0.52 - 51.59 μg/mL, respectively ($r \geq 0.999$). The limits of detection were 0.05 μg/mL and 0.10 μg/mL, and the limits of quantification were 0.26 μg/mL and 0.52 μg/mL, respectively. The RSDs of precision, stability, and repeatability test results were all lower than 2.0%. The average recoveries were 96.00% and 95.81%, with RSDs of 1.21% and 0.90% ($n = 6$), respectively. **Conclusion** The established method is accurate and sensitive, and can be used for the determination of related substances in Tolperisone Hydrochloride Capsules.

Key words: HPLC; Tolperisone Hydrochloride Capsules; related substances

盐酸托哌酮属中枢性肌肉松弛药, 化学名为 2,4-二甲基-3-哌啶基苯丙酮盐酸盐, 临床多用于治疗缺血性血管病、卒中后遗症、脑性麻痹症和脊髓末梢神经疾病等^[1-7]。目前, 盐酸托哌酮胶囊的质量标准尚未收载入《中国药典》和国外的各主要药典中。我国现行检验标准收载于《国家药品标准: 化学药品地方标准上升国家标准第七册》^[8], 但标准中无有关物质检查项。盐酸托哌酮原料药有关物质检查已有研究^[9], 而盐酸托哌酮相关制剂(包含片剂和胶囊剂)有关物质的检查尚未见报道。有关物质检查作为评价药品质量安全性的关键指标, 在药品质量控制中具有重要作用^[10-13], 故需建立相应的检验方法对在生产和贮存等环节中产生的有关物质进行检查^[14-16]。为此, 本研究中建立了检测盐酸托哌酮胶囊中有关物质的高效液相色谱(HPLC)法, 以期为该制剂的质量控制提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

1260 II 型液相色谱仪, 配二极管阵列检测器(美国 Agilent 公司); XSE205DU 型电子分析天平(精度为 0.01 mg)、S210 型酸度计, 均购自瑞士 Mettler Toledo 公司, KQ5200DE 型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

盐酸托哌酮胶囊(某公司, 批号为 2111015、2105015、2201015); 盐酸托哌酮对照品(批号为 1101-RD-0039, 含量 97.2%), 对甲基苯丙酮(杂质 I)对照品(批号为 0907-RD-0022, 含量 100.0%)、2-甲基-1-(4-甲基苯基)丙-2-烯-1-酮(杂质 II)对照品(批号为 0926-RD-0040, 含量 97.8%), 均购自广州佳途科技股份有限公司; 乙腈为色谱纯, 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:Phenomenex Luna[®] C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.01 mol/L磷酸二氢钾水溶液(以三乙胺调pH至8.0)–乙腈(40:60, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:254 nm;柱温:35 °C;进样量:10 μL。

2.2 溶液制备

混合对照品溶液:分别取盐酸托哌酮、杂质 I、杂质 II 对照品 10.01, 10.08, 10.12 mg, 精密称定, 分别置 10 mL 容量瓶中, 加 20% 甲醇约 3 mL, 超声(功率 250 W、频率 40 kHz, 下同)溶解, 冷却至室温, 加 20% 甲醇定容, 摇匀, 即得对照品贮备液。取盐酸托哌酮 100.03 mg, 精密称定, 置 100 mL 容量瓶中, 加 20% 甲醇约 20 mL, 超声使溶解, 再精密加入杂质 I、杂质 II 对照品贮备液各 1 mL, 加 20% 甲醇定容, 摇匀, 即得混合对照品溶液(盐酸托哌酮、杂质 I、杂质 II 对照品质量浓度分别为 1 mg/mL、10 μg/mL、10 μg/mL)。

供试品溶液:取样品 20 粒, 取内容物, 研细, 混匀, 取适量, 置 50 mL 容量瓶中, 加 20% 甲醇 20 mL, 振摇 15 min 使溶解并定容, 摇匀, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液, 即得(临用新制)。

阴性对照品溶液:按盐酸托哌酮胶囊处方和工艺制备缺盐酸托哌酮的阴性样品, 并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

系统适用性试验:取 2.2 项下 3 种溶液各适量, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果, 理论板数按盐酸托哌酮峰计 ≥ 3 000; 分离度均大于 1.5, 基线分离良好。详见图 1。

破坏性试验:取样品(批号为 2201015)内容物适

量, 精密称定, 各 6 份, 分别置 50 mL 容量瓶中。1)未破坏。仅以 20% 甲醇溶解并定容。2)高温破坏。20% 甲醇溶解并定容, 90 °C 水浴加热 6 h。3)日光照射。以 20% 甲醇溶解并定容, 于 (4 000 ± 500) lx 照度的光照下放置 24 h。4)酸破坏。加 1 mol/L 盐酸溶液 2 mL, 室温放置 6 h, 加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 2 mL 中和, 用 20% 甲醇定容。5)碱破坏。加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 2 mL, 放置 6 h, 加 1 mol/L 盐酸溶液 2 mL 中和, 用 20% 甲醇定容。6)氧化破坏。加 10% 过氧化氢溶液 2 mL, 室温放置 2 h, 用 20% 甲醇定容。取上述供试品溶液各适量。按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果, 盐酸托哌酮在高温、日光照射、酸、碱、氧化破坏条件下均不稳定, 均降解产生杂质 II, 其中在酸、碱破坏条件下同时降解产生杂质 I、杂质 II 和另一种未知杂质, 氧化条件下同时降解产生杂质 II 和另一种未知杂质; 盐酸托哌酮与各种破坏条件产生的杂质均能有效分离, 对 2 种待测杂质的检测无干扰。详见图 2。

线性关系考察:分别精密量取 2.2 项下对照品贮备液各适量, 加 20% 甲醇稀释, 制成系列混合对照品溶液。精密量取 10 μL, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以待测成分质量浓度(X , μg/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归。结果见表 1。

定量限与检测限考察:分别精密量取 2.1 项下对照品贮备液适量, 加 20% 甲醇倍比稀释, 并按 2.1 项下色谱条件进样测定, 以信噪比 10:1 和 3:1 时的质量浓度分别记作定量限和检测限。结果见表 1。

精密度试验:取混合对照品溶液适量, 按 2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积。结果盐酸托哌酮、杂质 I 和杂质 II 峰面积的 RSD 分别为 0.21%, 0.20%, 0.10% ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取 2.2 项下供试品溶液(批号为

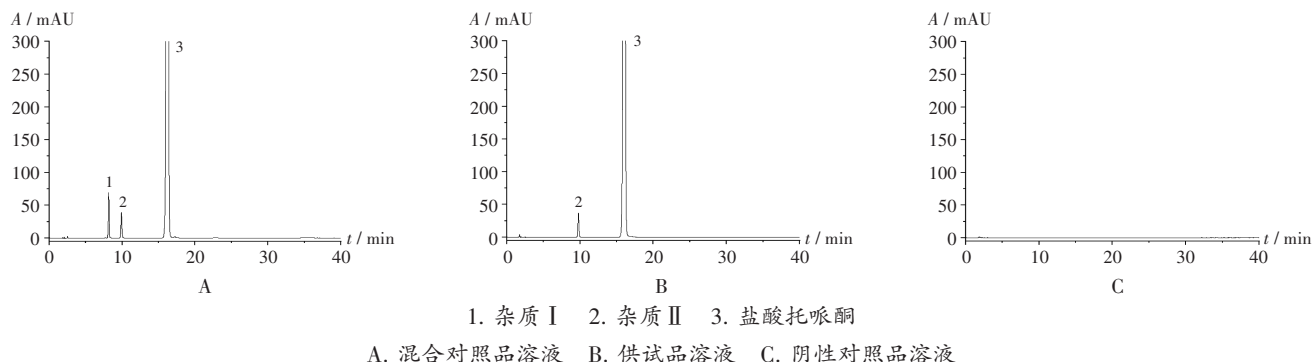
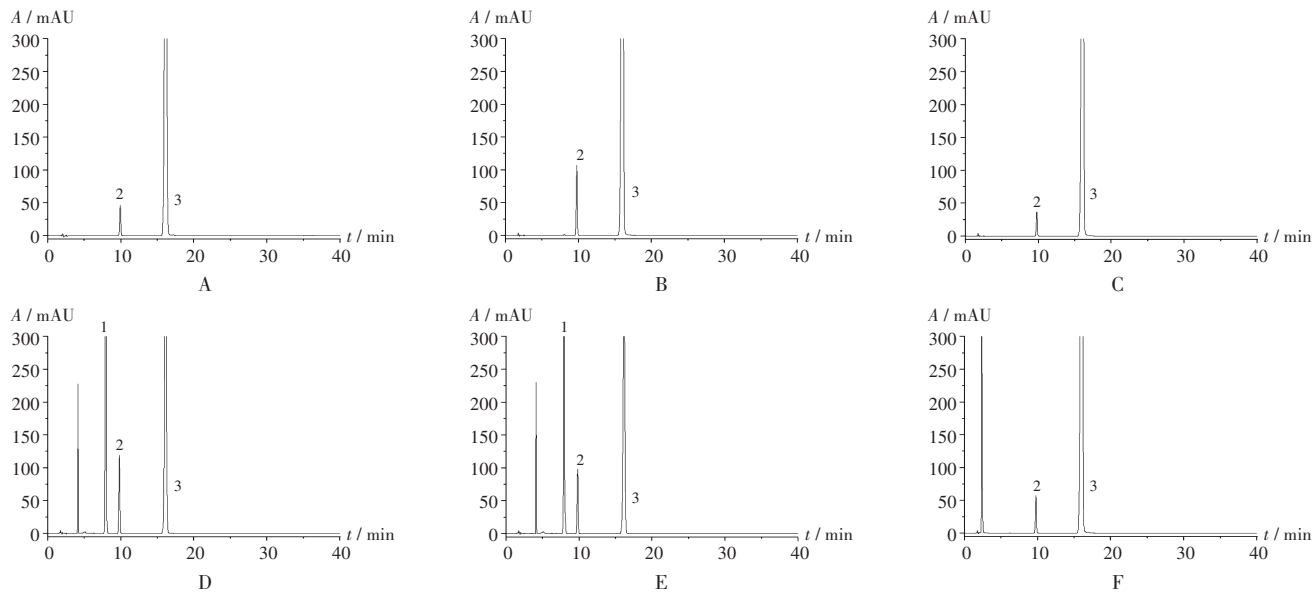


图 1 系统适用性试验高效液相色谱图

1. Impurity I 2. Impurity II 3. Tolperisone hydrochloride
A. Mixed reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 1 HPLC chromatograms of system suitability test



1. 杂质 I 2. 杂质 II 3. 盐酸托哌酮

A. 未破坏 B. 高温破坏 C. 日光照射破坏 D. 酸破坏 E. 碱破坏 F. 氧化破坏

图 2 破坏性试验高效液相色谱图

1. Impurity I 2. Impurity II 3. Tolperisone hydrochloride

A. No degradation B. High temperature degradation C. Sunlight degradation D. Acid degradation E. Alkali degradation F. Oxidative degradation

Fig. 2 HPLC chromatograms of degradation test

表 1 线性关系与定量限、检测限考察结果

Tab. 1 Results of linearity relationship, limits of quantification and limits of detection

待测成分	回归方程	r	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	校正因子	定量限 ($\mu\text{g/mL}$)	检测限 ($\mu\text{g/mL}$)
盐酸托哌酮	$Y_1 = 30.8216X_1 + 2.8514$	0.9999	0.56~55.80	0.22	0.05	
杂质 I	$Y_2 = 53.3642X_2 - 0.2718$	0.9999	0.51~51.43	0.58	0.26	0.05
杂质 II	$Y_3 = 33.9726X_3 - 1.7300$	0.9998	0.52~51.59	0.91	0.52	0.10

2201015)和杂质 I、杂质 II 加标溶液各适量,分别于室温下放置 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 时按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果供试品溶液中盐酸托哌酮、杂质 II 峰面积的 RSD 分别为 0.20%, 0.30% ($n = 6$),加标溶液中盐酸托哌酮、杂质 I 和杂质 II 峰面积的 RSD 分别为 0.35%, 1.02%, 0.80%。表明供试品溶液和加标溶液在室温放置 24 h 内基本稳定。

重复性试验:取样品(批号为 2201015)内容物适量,精密称定,各 6 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,记录峰面积并计算含量。结果杂质 II 含量平均值的 RSD 为 0.61% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

回收试验:取阴性对照品溶液 9 份,取杂质 I、杂质 II 对照品溶液各适量,加 20% 甲醇稀释,制成质量浓度均分别为 5.00 $\mu\text{g/mL}$ 、10.00 $\mu\text{g/mL}$ 和 40.00 $\mu\text{g/mL}$ 的加标溶液,平行制备 3 份;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 2。

表 2 回收试验结果 ($n = 9$)

Tab. 2 Results of the recovery test ($n = 9$)

待测成分	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
杂质 I	1.0286	0.9908	96.33	96.00	1.29
	1.0286	0.9901	96.26		
	1.0286	0.9914	96.38		
	10.286	9.6889	94.20		
	10.286	9.6804	94.11		
	10.286	9.7837	95.12		
	41.144	39.9856	97.18		
	41.144	39.9904	97.20		
	41.144	39.9921	97.20		
杂质 II	1.0318	0.9813	95.11	95.81	0.90
	1.0318	0.9756	94.55		
	1.0318	0.9741	94.41		
	10.318	9.9258	96.20		
	10.318	9.9217	96.16		
	10.318	9.9415	96.35		
	41.272	39.821	96.48		
	41.272	39.8259	96.50		
	41.272	39.8214	96.49		

2.4 样品中杂质含量测定

取 3 批样品适量,分别按 2.2 项下方法制备供试品溶液,再按 2.1 项下色谱条件进样测定,平行测定 3 次,记录峰面积,并计算样品中杂质含量。结果见表 3。

表 3 样品中杂质含量测定结果(%,*n* = 3)
Tab. 3 Results of impurity content determination in samples
(%,*n* = 3)

批号	杂质 I 含量	杂质 II 含量	总杂
2111015	未检出	1.41	1.54
2105015	未检出	3.60	3.80
2201015	未检出	2.72	3.02

3 讨论

3.1 2 种有关物质检查必要性

目前盐酸托哌酮原料药有 3 种合成路线,均通过 Mannich 反应一步制得,均采用杂质 I 作为起始原料^[17]。而杂质 II 则是托哌酮生产和贮藏过程中易产生的降解产物之一^[18]。国内现行标准均未对盐酸托哌酮原料药和制剂进行有关物质的检查。因此,有必要建立相应的方法以控制药物的质量和安全性。

3.2 流动相选择

盐酸托哌酮分子骨架中存在六氢吡啶环结构,在常规流动相中易因硅醇基残留作用导致色谱峰拖尾。为抑制峰拖尾,在流动相中加入三乙胺等竞争性胺类和硅醇基作用^[19]。预试验中选择不同浓度的磷酸二氢钾水溶液、磷酸二氢钠水溶液分别和乙腈、甲醇按不同比例混合作为流动相,结果甲醇体系主成分出峰时间较晚,而 0.01 mol/L 磷酸二氢钾水溶液 - 乙腈体系可实现主成分峰与相邻杂质峰的良好分离。在盐相中加入三乙胺调流动相 pH,结果以 0.01 mol/L 磷酸二氢钾水溶液(以三乙胺调 pH 至 8.0) - 乙腈(40:60, V/V)为流动相时,盐酸托哌酮峰与相邻杂质峰分离良好,且 3 个色谱峰的峰形均良好,无拖尾现象,故选择。

3.3 检测波长选择

采用高效液相色谱仪配备的二极管阵列检测器记录盐酸托哌酮和 2 种待测杂质对照品溶液色谱图,提取各峰的光谱图,杂质 I、杂质 II、盐酸托哌酮最大吸收波长分别为 254, 254, 260 nm,综合各杂质的响应情况,选用 254 nm 作为检测波长。

3.4 方法评价

按所建方法检验,3 批样品均检出杂质 II,且含量均超 1.0%。现行检验标准缺乏对有关物质的控制,制剂的质量安全存在一定风险。本研究中建立的 HPLC 法准确度高、选择性好,具有较好的重复性和稳定性,可实现对盐酸托哌酮胶囊中的 2 种杂质的定量检测。

参考文献

[1] Domendra S, Shekhar V, Ravindra D. Formulation and evaluation of tolperisone hydrochloride sustained release tablet[J]. Res J Pharm Dosage Forms Technol, 2011, 3(5): 220 - 224.

[2] Bhattacharjya B, Naser M, Biswas A, et al. Effectiveness of tolperisone hydrochloride with aceclofenac as combined therapy in acute low back pain[J]. Indian J Phys Med Rehabil, 2012, 23(2): 74 - 78.

[3] Bushra Z, Irona M, Tazree H, et al. Tolperisone hydrochloride improves motor functions in Parkinson's disease via MMP - 9 inhibition and by downregulating p38 MAPK and ERK1 / 2 signaling cascade [J]. Biomed Pharmacother, 2024, 174: 116438.

[4] Samartsev N I, Zhivolupova S, Parshin S M, et al. The efficacy and tolerability of tolperisone hydrochloride various regimens in the treatment of patients with acute musculoskeletal low back pain [J]. Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova, 2024, 124(9): 60 - 67.

[5] 李培林. 治痛灵、谷维素、盐酸托哌酮治疗癫痫 60 例[J]. 中国中医药现代远程教育, 2010, 8(20): 16.

[6] 李俊雅, 李君. 对缺血性再灌注脑损伤大鼠采用盐酸托哌酮联合骨髓间充质干细胞移植进行治疗的效果探讨[J]. 当代医药论丛, 2018, 16(20): 111 - 113.

[7] 李培林. 托哌酮联合精神类药物治疗精神病 1800 例[J]. 中国中医药现代远程教育, 2010, 8(19): 24.

[8] 国家药品监督管理局. 国家药品标准: 化学药品地方标准上升国家标准(第七册)[M]. 北京: 国家药典委员会, 2002: 187.

[9] 嘉实(湖南)医药科技有限公司. 一种盐酸托哌酮有关物质的测定方法: CN115932082A[P]. 2023 - 04 - 07.

[10] 邹艳, 吴海龙, 邓丽, 等. HPLC 法检查奥拉帕利原料中有关物质[J]. 药物分析杂志, 2024, 44(8): 1379 - 1386.

[11] 张培生, 张磊, 郑磊. 高效液相色谱法测定盐酸替罗非班原料药中 2 种有关物质[J]. 中国药业, 2025, 34(12): 85 - 87.

[12] 谭菊英, 蒋洁, 刘庄蔚, 等. 高效液相色谱法测定烟酰胺注射液含量及检测有关物质[J]. 中国药业, 2025, 34(1): 78 - 82.

[13] 路愫楠, 张素平, 王柳, 等. 一测多评法检测头孢克洛胶囊中 3 种已知杂质[J]. 中国药业, 2023, 32(24): 81 - 85.

[14] 章海云, 金秉德, 王玲兰, 等. 富马酸丙酚替诺福韦片中有关物质测定及杂质鉴定[J]. 中国药业, 2024, 33(7): 53 - 58.

[15] 刘珊珊, 王松, 何承华, 等. 盐酸丙卡特罗片有关物质的 HPLC 检查研究[J]. 药学与临床研究, 2024, 32(1): 12 - 15.

[16] 陈冬华, 李智颖, 黄丹, 等. 瑞格列奈片有关物质检查的研究[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(4): 676 - 683.

[17] Raju T, Seshadri R, Arutla S, et al. Development and Validation of a Precise, Single HPLC Method for the Determination of Tolperisone Impurities in API and Pharmaceutical Dosage Forms[J]. Sci Pharm, 2012, 81(1): 123 - 138.

[18] Gabor O, Karoly T, Bela N, et al. NMR analysis, protonation equilibria and decomposition kinetics of tolperisone[J]. J Pharm Biomed Anal, 2009, 50(5): 718 - 723.

[19] 曹娜, 蒋寿剑, 李洋. 碱性药物反相高效液相色谱分析的挑战以及改进方法[J]. 山东化工, 2023, 52(22): 134 - 136.

(收稿日期: 2025 - 08 - 19; 修回日期: 2026 - 02 - 07)