

# HPLC法测定二氮嗪注射液的含量

刘玉含<sup>1\*</sup>, 张连成<sup>2#</sup>, 王超众<sup>2</sup>, 贾首时<sup>2</sup>(1.齐齐哈尔市第一医院, 黑龙江 齐齐哈尔 161005; 2.齐齐哈尔市食品药品检验检测中心, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)09-1280-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.09.46

**摘要** 目的:建立测定二氮嗪注射液含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Waters symmetry-C<sub>18</sub>, 流动相为 0.01 mol/L 庚烷磺酸钠-甲醇-醋酸(79:20:1, V/V/V), 检测波长为 254 nm, 流速为 1.0 ml/min, 柱温为 30 ℃, 进样量为 20 μl。结果:二氮嗪的质量浓度在 30~110.0 μg/ml 范围内与峰面积呈良好线性关系( $r=0.999\ 8$ );精密度、稳定性、重复性试验的 RSD<1.0%;加样回收率为 99.57%, RSD=0.94%( $n=3$ )。结论:本方法简便、准确,专属性好,精密度高,可用于二氮嗪注射液的质量控制。

**关键词** 二氮嗪注射液;氢氯噻嗪;高效液相色谱法;含量测定

## Content Determination of Diazoxide Injection by HPLC

LIU Yu-han<sup>1</sup>, ZHANG Lian-cheng<sup>2</sup>, WANG Chao-zhong<sup>2</sup>, JIA Shou-shi<sup>2</sup>(1.The First Hospital of Qiqihaer City, Heilongjiang Qiqihaer 161005, China; 2.Qiqihar Municipal Food and Drug Inspection and Testing Center, Heilongjiang Qiqihaer 161006, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of Diazoxide injection. METHOD: HPLC was conducted with Waters symmetry-C<sub>18</sub> column. The mobile phase was 0.01 mol/L heptane sulfonate-methanol-acetic acid (79:20:1, V/V/V). The detection wavelength was 254 nm, the flow rate was 1.0 ml/min, the column temperature was 30 ℃, volume was 20 μl. RESULTS: There was a good linear relationship between the quality content of diazoxide and peak area values in the range of 30-110.0 μg/ml( $r=0.999\ 8$ ). The average recovery was 99.57% and RSD was 0.94% ( $n=3$ ). CONCLUSIONS: The method is simple and accurate with good specificity and high precision. It can be used for the quality control of Diazoxide injection.

**KEYWORDS** Diazoxide injection; Hydrochlorothiazide; HPLC; Content determination

二氮嗪注射液在临床常用于治疗高血压危象、高血压脑病、幼儿特发性低血糖、胰岛细胞瘤引起的严重低血糖病、痛经和流产等症<sup>[1]</sup>,但对嗜铬细胞瘤或单胺氧化酶抑制剂引起的高血压无效<sup>[2]</sup>。二氮嗪注射液载于《国家药品标准》(第3册)<sup>[3]</sup>,采用紫外分光光度(UV)法测定其含量,方法操作简便,但专属性较差,含量结果易受溶剂和辅料的干扰。为此,笔者参考相关文献<sup>[4]</sup>,以氢氯噻嗪为内标物,建立了采用高效液相色谱(HPLC)法测定二氮嗪注射液含量的方法。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Waters 2695e 型 HPLC 仪,包括 2489 紫外-可见光检测器和 Empower 工作站(美国 Waters 公司);SK2510HLC 型超声波清洗机(上海科导超声仪器有限公司,功率:250 W,频率:50 kHz);BP221S 电子天平(德国赛多利斯公司)。

### 1.2 药品与试剂

二氮嗪注射液(北京双鹤现代医药技术有限责任公司,批号:131002、130907、130418,规格:20 ml:0.3 g;北京紫竹药业有限公司,批号:130317、130712、130509,规格:20 ml:0.3 g);二氮嗪对照品(上海博顿生物化工有限公司,批号:100203-201301,纯度:99.95%);氢氯噻嗪内标物(中国食品药

品检定研究院,批号:100309-201103);甲醇为色谱纯,庚烷磺酸钠为色谱级,醋酸为优级纯,水为二次蒸馏的纯化水。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

2.1.1 氢氯噻嗪内标溶液 精密称取氢氯噻嗪内标物 15 mg,置于 50 ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.1.2 供试品溶液 精密量取本品 2 ml,置于 100 ml 量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,摇匀;精密量取 5 ml,加入“2.2.1”项下氢氯噻嗪内标溶液 5 ml,置于 50 ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.1.3 对照品溶液 精密称取二氮嗪对照品 15 mg,置于 50 ml 量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,摇匀;精密量取 5 ml,加入“2.2.1”项下氢氯噻嗪内标溶液 5 ml,置于 50 ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.1.4 空白辅料溶液 取按二氮嗪处方中不含二氮嗪的辅料适量制成溶液,按“2.1.2”项下方法制备,即得。

### 2.2 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Waters symmetry-C<sub>18</sub>(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.01 mol/L 庚烷磺酸钠-甲醇-醋酸(79:20:1, V/V/V);检测波长:254 nm;流速:1.0 ml/min;柱温:30 ℃;进样量:20 μl。分别取“2.1”项下对照品溶液、供试品溶液、空白辅料溶液各 20 μl,按上述色谱条件进样测定,记录色谱图。理论板数以二氮嗪峰计为 4 500,分离度>1.5。色谱见图 1。

### 2.3 线性关系考察

\* 主管药师。研究方向:医院药学。电话:0452-2459309。E-mail:122805807@qq.com

# 通信作者:主任药师。研究方向:药物分析。电话:0452-2713526。E-mail:zhangliancheng\_ren@163.com

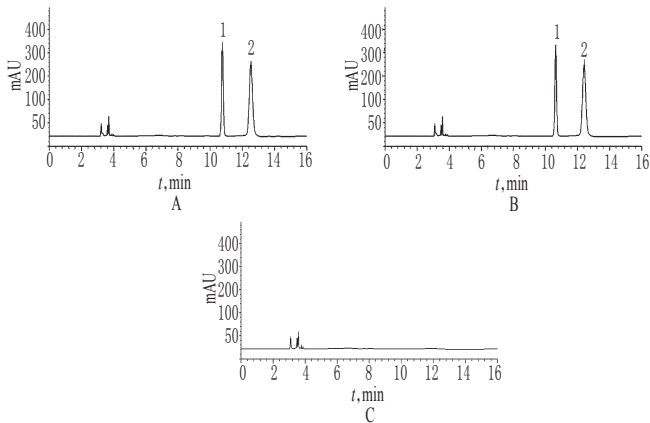


图1 高效液相色谱法

A.对照品溶液;B.供试品溶液;C.空白辅料溶液;1.氢氯噻嗪内标物;2.二氮嗪

Fig 1 HPLC Chromatograms

A.reference solution;B.test solution;C.blank solution;1.diazoxide;2. Internal standard of hydrochlorothiazide

精密量取二氮嗪对照品适量,加流动相制成质量浓度为1.5 mg/ml的溶液,分别精密吸取上述溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 ml,置于10 ml量瓶中,再分别精密加入“2.1.1”项下氢氯噻嗪内标溶液0.5 ml,加甲醇稀释至刻度,摇匀,制成含二氮嗪质量浓度为0.030、0.060、0.090、0.120、0.150 mg/ml及含氢氯噻嗪内标溶液质量浓度为0.5 mg/ml的溶液,按“2.2”项下色谱条件进样20  $\mu$ l,记录峰面积。以质量浓度( $x$ , 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 $y=47.76x+0.0853$  ( $r=0.9998$ )。结果表明,二氮嗪的质量浓度在0.030~0.110 mg/ml范围内与峰面积呈良好线性关系。

#### 2.4 精密度试验

精密量取“2.1.3”项下对照品溶液20  $\mu$ l,按“2.2”项下色谱条件重复进样6次,记录峰面积。结果,  $RSD=0.68\%$  ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

#### 2.5 稳定性试验

取样品(批号:131002)适量,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,分别在室温与冷藏4  $^{\circ}$ C条件下放置0.2、4、8、10、12 h时进样,记录峰面积。结果,二氮嗪在室温放置12 h的  $RSD$ 为0.95% ( $n=6$ ),冷藏4  $^{\circ}$ C放置12 h的  $RSD$ 为0.79% ( $n=6$ ),表明供试品溶液在室温与冷藏4  $^{\circ}$ C条件下12 h内稳定性均较好。

#### 2.6 重复性试验

取样品(批号:131002)2 ml(约相当于二氮嗪30 mg),共6份,分别置于100 ml量瓶中,加甲醇适量并稀释至刻度,摇匀;精密量取5 ml,分别置于50 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,  $RSD=0.68\%$  ( $n=6$ ),表明该方法重复性良好。

#### 2.7 加样回收率试验

精密量取已知含量的同一批样品(批号:131002)适量,共9份,分别精密加入低、中、高3种质量浓度的二氮嗪对照品各适量,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率,结果见表1。

#### 2.8 样品含量测定

取6批样品各适量,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,以内标法计算含量结果,并与笔者在试验前期采用UV法测定的结果进行比较。结果发现,

UV法测定的结果高于HPLC法,表明HPLC法测定时可排除辅料等因素的干扰,方法更为准确,详见表2。

表1 加样回收率试验结果 ( $n=3$ )

Tab 1 Results of recovery test ( $n=3$ )

样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
29.232 1	23.965 2	53.401 0	100.85		
29.232 1	24.021 3	52.801 7	98.12		
29.232 1	24.087 2	53.194 0	99.48		
29.232 1	30.012 4	59.304 5	100.20		
29.232 1	29.802 1	58.923 9	99.63	99.57	0.94
29.232 1	29.807 6	58.825 0	99.28		
29.232 1	35.879 6	64.5304	99.38		
29.232 1	35.684 1	65.194 5	100.78		
29.232 1	36.017 1	64.676 5	98.41		

表2 样品含量测定结果 ( $\%$ ,  $n=3$ )

Tab 2 Results of content determination of samples ( $\%$ ,  $n=3$ )

批号	UV法	HPLC法
131002	99.51	97.44
130907	96.62	94.72
130418	97.24	95.83
130317	98.21	96.92
130712	99.23	97.13
130509	98.62	96.22

### 3 讨论

#### 3.1 检测波长的选择

笔者将二氮嗪用流动相溶解制成每1 ml含90  $\mu$ g的溶液,在200~400 nm范围内进行扫描<sup>[4]</sup>。结果发现,二氮嗪在254 nm波长处有最大吸收,故将检测波长确定为254 nm。

#### 3.2 流动相的选择

笔者比较了多种流动相系统(甲醇-磷酸盐缓冲液、乙腈-磷酸盐缓冲液、甲醇-水)对结果的影响,同时考虑到二氮嗪和氢氯噻嗪内标物均具有弱碱性,因此采用离子对试剂庚烷磺酸钠加入流动相进行试验。当选择0.01 mol/L庚烷磺酸钠溶液-甲醇-醋酸(79:20:1,  $V/V/V$ )为流动相时,二氮嗪和氢氯噻嗪峰形尖锐对称,且出峰时间短。

国家药品标准采用UV法测定了二氮嗪的含量,该方法易受到辅料等因素的影响,测定的结果不能真实地反映二氮嗪的含量。而HPLC法专属性强,加入内标物质后可以校准和消除由于操作条件的波动而对分析结果产生的影响,可提高分析结果的准确度,更适用于二氮嗪的含量测定。

综上所述,本方法简便、准确,专属性好,精密度高,可用于二氮嗪注射液的质量控制。

#### 参考文献

- [1] 何柯,胡蕴,刘好,等.二氮嗪与糖尿病[J].临床荟萃,2014,29(2):220.
- [2] 李少民,成少利,万俊哲,等.二氮嗪防治低氧性肺动脉高压的作用机制[J].西安交通大学学报,2007,28(5):28.
- [3] 国家药典委员会.国家药品标准:新药转正标准:第3册[S].北京:化学工业出版社,2002:11.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录VD、附录IV.A.

(收稿日期:2014-10-08 修回日期:2015-01-23)

(编辑:陈宏)