

RP-HPLC法测定阿奇霉素颗粒(Ⅱ)中主药的含量

徐玲笑*(衢州市食品药品检验所,浙江衢州 324002)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)36-3447-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.36.31

摘要 目的:建立测定阿奇霉素颗粒(Ⅱ)中主药含量的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Agilent ZORBAX Extend-C₁₈柱,流动相为磷酸盐缓冲液(取0.05 mol/L磷酸氢二钾溶液,用20%的磷酸溶液调节pH至8.2)-乙腈(45:55, V/V),检测波长为210 nm,流速为1.0 ml/min,进样量为20 μl,柱温为30 ℃。结果:阿奇霉素检测质量浓度在0.259~2.586 mg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 8$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD均 $\leq 1.0\%$;平均加样回收率为100.2%,RSD=0.5%($n=9$)。结论:该方法简便、快速、准确,可用于该制剂的质量控制。

关键词 阿奇霉素颗粒(Ⅱ);阿奇霉素;高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of Azithromycin Granules (Ⅱ) by RP-HPLC

XU Ling-xiao(Quzhou Institute for Food and Drug Control, Zhejiang Quzhou 324002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of Azithromycin granules (Ⅱ). METHODS: RP-HPLC was adopted. The determination was performed on Agilent ZORBAX Extend-C₁₈ column with mobile phase consisted of phosphate buffer solution (0.05 mol/L dipotassium hydrogen phosphate solution, adjusting pH to 8.2 with 20% phosphoric acid)-acetonitrile (45:55, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 210 nm and the column temperature was 30 ℃. The sample size was 20 μl. RESULTS: The linear range of azithromycin was 0.259-2.586 mg/ml ($r=0.999\ 8$) with an average recovery of 100.2% (RSD=0.5%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, rapid and accurate for quality control of the preparation.

KEY WORDS Azithromycin granules(Ⅱ); Azithromycin; HPLC; Content determination

阿奇霉素颗粒(Ⅱ)为微囊包裹的细颗粒,其有效成分阿奇霉素为15元环大环内酯类抗菌药物,通过抑制细菌蛋白质的合成而起作用,具有抗菌谱广、不良反应小等优点^[1]。该制剂原标准^[2]含量测定项采用抗生素微生物检定法,该方法操作烦琐、重复性差,不利于其质量控制。为此,笔者参照《中国药典》和相关文献^[3-6],采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法测定阿奇霉素颗粒(Ⅱ)中主药的含量,以为该制剂的质量控制提供参考。

1 材料

LC-2010 AHT HPLC仪(紫外检测器)、LC-2010自动进样系统、CLASS-VP ver.6.1色谱数据工作站(日本岛津公司);BOLONGUSC-302超声波清洗器(上海波龙电子设备有限公司);BP-211D电子天平(德国赛多利斯公司)。

阿奇霉素对照品(中国食品药品检定研究院提供,批号:130593-201002,供含量测定用,质量分数:94.3%);阿奇霉素颗粒(Ⅱ)(沈阳金龙药业有限公司,批号:20120103、612031094、612071060,规格:0.1 g);乙腈为色谱纯,磷酸氢二钾、磷酸为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent ZORBAX Extend-C₁₈柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:磷酸盐缓冲液(取0.05 mol/L磷酸氢二钾溶

液,用20%的磷酸溶液调节pH至8.2)-乙腈(45:55, V/V);检测波长:210 nm;流速:1.0 ml/min;进样量:20 μl,柱温:30 ℃。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液的制备 取10包阿奇霉素颗粒(Ⅱ)内容物,混合均匀,精密称取适量(约相当于阿奇霉素0.1 g),加乙腈超声10 min(功率:120 W,频率:58 kHz),溶解并定量稀释制成每1 ml中约含阿奇霉素1 mg的溶液,滤过,即得。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取阿奇霉素对照品110.12 mg,置于20 ml量瓶中,加入乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 按处方比例和工艺取除去主药以外的空白辅料制备阴性样品,按“2.2.1”项下方法制成阴性对照溶液。

2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下制备的对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液,按“2.1”项下色谱条件进样20 μl,记录图谱,详见图1。由图1可知,阴性对照色谱在对照品色谱相应位置没有干扰峰出现,故样品中的其他组分对阿奇霉素的测定无干扰。理论板数按阿奇霉素峰计算应不低于3 000,分离度 > 1.5 ,阿奇霉素对称因子在0.95~1.05之间。

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.2”项下的对照品溶液0.5、1、1.5、2、3、4、5 ml,置于10 ml量瓶中,加乙腈至刻度,按“2.1”项下色谱条件进样20 μl,并分别记录峰面积。以峰面积(y)为纵坐标,阿奇霉

*主管药师,硕士研究生。研究方向:药物分析。电话:0570-8587265

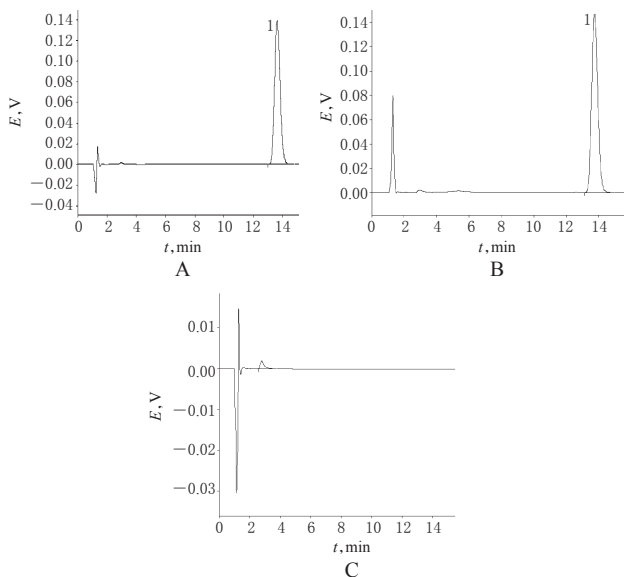


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 阿奇霉素

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test sample; C. negative control; 1. azithromycin

素检测质量浓度(x)为横坐标,进行线性回归,得回归方程 $y=6.58 \times 10^4 x - 3.28 \times 10^3$ ($r=0.9998$)。结果表明,阿奇霉素检测质量浓度在0.259~2.586 mg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取“2.2.2”项下对照品溶液适量,稀释成质量浓度约1 mg/ml的溶液,按“2.1”项下色谱条件重复进样5次,测定峰面积。结果,RSD=0.4%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.1”项下制备的同一批号供试品溶液(批号:20120103)适量,在常温下放置12 h,从2 h开始每间隔2 h按“2.1”项下色谱条件进样测定一次峰面积,连续测定6次。结果,RSD=1.0%,表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取同一批号样品(批号:20120103)适量,共5份,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件平行测定。结果,阿奇霉素的标示百分含量为99.7%,RSD=0.8%,表明本方法的重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密量取“2.2.1”项下供试品溶液5 ml,共9份,分别置于9个10 ml量瓶中,3份为一组,分别按照80%、100%、120%的比例加入阿奇霉素对照品,按“2.1”项下色谱条件进样测定和计算含量,并计算加样回收率,结果见表1。

2.9 样品含量测定

精密称取各批样品适量,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液;另精密称取阿奇霉素对照品适量,按“2.2.2”项下方法制备对照品溶液,将上述两种溶液按“2.1”项下色谱条件进样,记录阿奇霉素峰面积,按外标法计算含量(标示百分含量),并与原质量标准方法测定结果进行比较,结果见表2。

3 讨论

表1 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery tests($n=9$)

| 所含量, mg | 加入量, mg | 测得量, mg | 加样回收率, % | 平均加样回收率, % | RSD, % |
|---------|---------|---------|----------|------------|--------|
| 5.231 | 4.154 | 9.357 | 99.7 | | |
| 5.231 | 4.154 | 9.386 | 100.0 | | |
| 5.231 | 4.154 | 9.423 | 100.4 | | |
| 5.231 | 5.192 | 10.439 | 100.2 | | |
| 5.231 | 5.192 | 10.454 | 100.3 | 100.2 | 0.5 |
| 5.231 | 5.192 | 10.538 | 101.1 | | |
| 5.231 | 6.230 | 11.415 | 99.6 | | |
| 5.231 | 6.230 | 11.436 | 99.8 | | |
| 5.231 | 6.230 | 11.541 | 100.7 | | |

表2 样品含量测定结果($n=2$)

Tab 2 Results of content determination of samples($n=2$)

| 样品批号 | RP-HPLC法, % | 抗生素微生物检定法, % |
|-----------|-------------|--------------|
| 20120103 | 99.7 | 101.7 |
| 612031094 | 100.1 | 99.1 |
| 612071060 | 98.9 | 98.0 |

3.1 溶剂和提取方法的选择

根据阿奇霉素在乙腈中溶解、在水中几乎不溶的特性^[7],本试验分别选用了乙腈、流动相作为溶解上述对照品和样品的溶剂。结果,阿奇霉素在两种溶剂中都能溶解,但峰形以乙腈作为溶剂更好,故选择乙腈作为配制溶液的溶剂。另外,对样品溶液分别采用超声5、10、20、30 min提取作比较,结果,提取10 min后增加提取时间含量未再增加,因此提取时间选择10 min。

3.2 柱温和流动相的选择

本试验分别选用了20、30、40 °C的柱温进样,结果上述柱温对含量测定结果无显著影响。为保护色谱柱,柱温选择30 °C。另外,本试验分别选用了0.04、0.05、0.06 mol/L磷酸氢二钾溶液配制不同浓度的磷酸盐缓冲液,并分别调节其pH至8.0、8.2、8.3、8.4,同时,将流动相中的磷酸盐缓冲液与乙腈分别按40:60、45:55、50:50的不同比例配制,进行考察。结果,流动相比例与磷酸氢二钾溶液的质量浓度对含量测定结果无显著影响,磷酸盐缓冲液的pH值对含量测定结果无影响。因此,参照《中国药典》标准选择磷酸盐缓冲液(取0.05 mol/L磷酸氢二钾溶液,用20%的磷酸溶液调节pH至8.2)-乙腈(45:55, V/V)为流动相。

3.3 与原标准含量测定方法的比较

抗生素微生物检定法较直接地反映了制剂中阿奇霉素对细菌的作用,缺点是误差较大且耗时长。而采用RP-HPLC法测定准确、快速、辅料无干扰,故建议用RP-HPLC法替代抗生素微生物检定法测定该制剂中主药的含量。

参考文献

- [1] 徐静华,曹颖林,陈大为,等.注射用乳糖酸阿奇霉素安全性的再评价[J].沈阳药科大学学报,2004,21(3):215.
- [2] 国家药典委员会.国家药品标准:新药转正标准:西药:第七十七册[S].WS1-(X-007)-2009Z,2009.
- [3] 柏大为,陈佳.HPLC法测定注射用阿奇霉素枸橼酸二氢钠的含量及有关物质[J].中国药房,2013,24(5):451.
- [4] 刘葆林.微生物法和高效液相色谱法测定注射用阿奇霉素含量的比较[J].安徽医科大学学报,2000,35(5):387.

HPLC法测定复方罗布麻片 I 中盐酸异丙嗪的含量

吴芳花^{1*}, 曾庆伟¹, 黄玉昌¹, 陈振荣²(1.河源市食品药品检验所, 广东河源 517000; 2.广东医学院, 广东东莞 523808)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)36-3449-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.36.32

摘要 目的:建立测定复方罗布麻片 I 中盐酸异丙嗪含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Thermo C₁₈柱,流动相为乙腈-甲醇-水-冰醋酸(49:23:28:1, V/V/V/V, 每100 ml 含十二烷基硫酸钠 0.41 g),检测波长为 254 nm,流速为 1.0 ml/min,柱温为 40 ℃,进样量为 10 μl。结果:盐酸异丙嗪检测质量浓度在 0.001 978~0.197 8 mg/ml 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$);精密性、稳定性、重复性试验的 RSD 均 $\leq 1.0\%$;平均加样回收率为 99.57%, RSD=0.48%($n=9$)。结论:该方法操作简便、结果准确、专属性强,可用于复方罗布麻片 I 中盐酸异丙嗪的含量测定。

关键词 复方罗布麻片 I; 盐酸异丙嗪; 高效液相色谱法; 含量测定

Content Determination of Promethazine Hydrochloride in Compound Kendir Leaves Tablets I by HPLC

WU Fang-hua¹, ZENG Qing-wei¹, HUANG Yu-chang¹, CHEN Zhen-rong²(1.Heyuan Institute for Food and Drug Control, Guangdong Heyuan 517000, China; 2.Guangdong Medical College, Guangdong Dongguan 523808, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of promethazine hydrochloride in Compound kendir leaves tablets I. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Thermo C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-methanol-water-glacial acetic acid (49:23:28:1, V/V/V/V, containing lauryl sodium sulfate 0.41 g in 100 ml) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 254 nm, and column temperature was 40 ℃. The sample volume was 10 μl. RESULTS: The linear range of promethazine hydrochloride were 0.001 978-0.197 8 mg/ml ($r=0.999\ 9$); RSD of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 1.0%; average recovery rate was 99.57% (RSD=0.48%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and specific, and suitable for the content determination of promethazine hydrochloride in Compound kendir leaves tablets I.

KEY WORDS Compound kendir leaves tablets I; Promethazine hydrochloride; HPLC; Content determination

复方罗布麻片 I 是抗高血压的常用药,盐酸异丙嗪是其重要组分之一,现行质量标准^[1]中对盐酸异丙嗪的控制仅有薄层鉴别一项,缺乏其含量控制标准,且原方法中用三氯甲烷作为提取试剂,毒性大。笔者采用高效液相色谱(HPLC)法^[2-3]对 3 个不同厂家生产的复方罗布麻片 I 中盐酸异丙嗪的含量进行测定,发现含量高低不一,质量良莠不齐,但按现行标准进行薄层鉴别却均为合格,可见现行标准无法很好地控制该药质量。本试验所建立的 HPLC 含量测定方法所用提取试剂以 0.1 mol/L 盐酸代替三氯甲烷,更加环保,且本法操作简便、结果准确、专属性强,可用于该药中盐酸异丙嗪的含量测定。

1 材料

1.1 仪器

LC-20AT HPLC 仪,包含四元泵、自动进样器、紫外检测器等(日本岛津公司);CP225D 电子天平(德国赛多利斯公司);

KQ-250DA 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

复方罗布麻片 I (A 公司,批号:120701; B 公司,批号:110401; C 公司,批号:110201);盐酸异丙嗪对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100422-201002,质量分数:99.4%);盐酸(分析纯,西陇化工股份有限公司);乙腈、甲醇(色谱纯,美国 Honeywell Burdick & Jackson 公司);冰醋酸(分析纯,广东光华科技股份有限公司);水(超纯水,自制)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Thermo C₁₈柱(150 mm×4.60 mm, 5μm);流动相:乙腈-甲醇-水-冰醋酸(49:23:28:1, V/V/V/V, 每100 ml 含十二烷基硫酸钠 0.41 g);流速:1.0 ml/min;检测波长:254 nm;柱温:40 ℃;进样量:10 μl。

[5] 刘红梅,李欣,方光娟.反相高效液相色谱法测定乳糖酸阿齐霉素注射剂的含量[J].哈尔滨医科大学学报,2000, 34(3):225.

[6] 刘珂,张亚杰.HPLC法测定阿奇霉素及阿奇霉素胶囊的

含量[J].中国药师,2010,13(1):81.

[7] 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,2010:395.

(收稿日期:2013-03-15 修回日期:2013-07-24)

*主管药师,本科。研究方向:药品检验。电话:0762-3220381