

HPLC 测定利奈唑胺注射液中利奈唑胺的含量及其有关物质

黄成珂, 周伶俐, 吴伟明, 王增寿(温州医学院附属第二医院, 浙江 温州 325027)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法测定利奈唑胺注射液中利奈唑胺含量及其有关物质的方法。方法 色谱柱为 Eclipse XDB-C₁₈, 流动相为甲醇-水(45 : 55), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 254 nm, 柱温 25 °C。结果 利奈唑胺浓度在 0.5~250 mg·L⁻¹ 内线性关系良好($r=0.999\ 8$), 最低检测量 1 ng, 低、中、高 3 种浓度的平均回收率分别为 99.3%, 100.9%, 100.5%。结论 该方法简便、灵敏、准确, 专属性强, 适合于利奈唑胺注射液中利奈唑胺含量及其有关物质的测定。

关键词: 高效液相色谱法; 利奈唑胺注射液; 有关物质

中图分类号: R927.2; R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)07-0655-03

Determination of Linezolid Content and Related Substances in Linezolid Injection by HPLC

HUANG Chengke, ZHOU Lingli, WU Weiming, WANG Zengshou(*The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for the determination of linezolid and related substances in linezolid injection. **METHODS** The analytical column was Eclipse XDB-C₁₈, the mobile phase was methanol-water(45 : 55), the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 254 nm, and the column temperature was 25 °C. **RESULTS** The linear range of calibration curve was 0.5–250 mg·L⁻¹($r=0.999\ 8$), and the limit of detection was 1 ng. The average recovery of three concentrations were 99.3%, 100.9%, 100.5%, respectively. **CONCLUSION** The method is simple, sensitive and

作者简介: 黄成珂, 男, 硕士, 药师

Tel: (0577)88816257

E-mail: Huangchk18@126.com

accurate, and can control the quality of the preparation effectively.

KEY WORDS: HPLC; linezolid injection; related substances

利奈唑胺(linezolid)是第一个人工合成应用于临床的新型噁唑烷酮类抗菌药, 2000 年获得美国 FDA 批准上市, 并于 2007 年逐渐进入中国市场。由于该药作用机制独特, 主要抑制细菌蛋白质合成的最早阶段, 而其他抗菌药则抑制细菌蛋白合成的最后阶段, 故与其他药物无交叉耐药性。该药主要用于治疗革兰阳性球菌引起的感染, 对包括耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)、万古霉素耐药肠球菌(VRE)在内的葡萄球菌属、肺炎链球菌属、肠球菌属细菌等均具有高度的抗菌活性, 是治疗革兰阳性菌感染的糖肽类多重耐药的最后防线^[1]。由于该药上市时间不长, 目前国内外有关利奈唑胺注射液含量测定的报道较少。本试验建立了高效液相色谱法测定利奈唑胺注射液中利奈唑胺含量及有关物质。

1 材料与试药

1.1 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), AB204-A 电子分析天平[梅特勒-托利多(上海)仪器公司], XW-80A 涡旋混合器(上海医科大学仪器厂)。

1.2 试药

利奈唑胺标准品(加拿大 TRC, 批号: 5-ARP-79-1); 利奈唑胺注射液 3 批(辉瑞制药有限公司, 批号: 09B26Z49, 09H10Z16, 09H11Z18); 甲醇为一级色谱纯; 实验用水均为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性

色谱柱: Eclipse XDB-C₁₈(4.6 μm×250 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水(45:55), 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 柱温: 25 °C, 检测波长: 254 nm, 进样量 20 μL。在该色谱条件下, 利奈唑胺保留时

间为 6.725 min, 理论板数按利奈唑胺峰计算不低于 2 000, 色谱图见图 1。

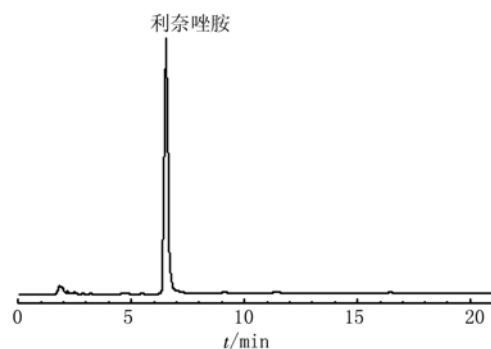


图 1 利奈唑胺系统适用性色谱图

Fig 1 System suitability chromatogram of linezolid

2.2 专属性试验

①加热破坏: 取本品置 80 °C 水浴加热 8 h, 冷却。②酸破坏: 取利奈唑胺注射液 5 mL, 置于 100 mL 量瓶中, 加 1 mol·L⁻¹ 盐酸溶液 5 mL, 放置 8 h 后, 用 1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液中和。③碱破坏: 取利奈唑胺注射液 5 mL, 置于 100 mL 量瓶中, 加 1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液 5 mL, 放置 8 h 后, 用 1 mol·L⁻¹ 盐酸溶液中和。④光照破坏: 取本品于强光(4 500 lx)照射 8 h。分别将以上破坏后的样品溶液用流动相配制成浓度为 200 mg·L⁻¹ 的溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定。由破坏实验结果可知, 本品经酸、碱、光照、高温破坏后, 各种条件下降解产物与利奈唑胺分离良好, 因此该色谱条件适合于利奈唑胺注射液中有物质的测定。结果见图 2。

2.3 线性关系

精密称取利奈唑胺对照品 10 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液。将对照品储备液用流动相稀释成浓度

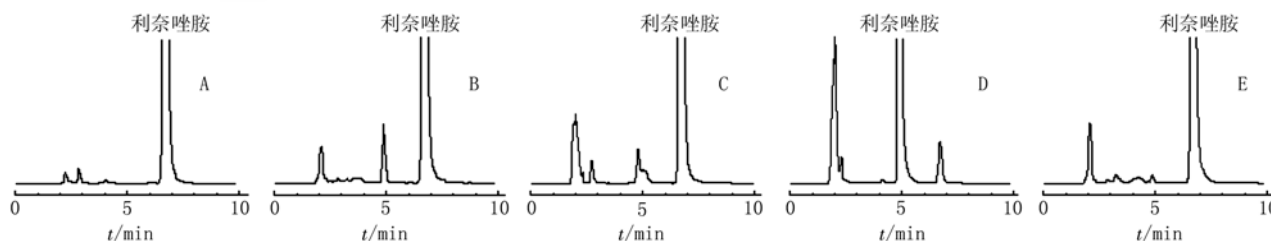


图 2 利奈唑胺与降解产物的分离色谱图

A-破坏前; B-加热破坏; C-酸破坏; D-碱破坏; E-光照破坏

Fig 2 Chromatogram of linezolid and its degradation products

A-undestroyed; B-destroyed by heat; C-destroyed by acid; D-destroyed by alkali; E-destroyed by light

分别为 250, 150, 100, 50, 10, 5, 1, 0.5 mg·L⁻¹ 的溶液, 取对照品储备液及稀释对照品溶液按“2.1”项下色谱条件进样检测, 以峰面积为纵坐标, 以利奈唑胺浓度(mg·L⁻¹)为横坐标绘制标准曲线, 得回归方程为: $A=55.415\ 9C-21.249\ 6$, $r=0.999\ 8$ 。利奈唑胺浓度在 0.5~250 mg·L⁻¹ 内线性关系良好。

2.4 检测限与定量限

当信噪比 $S/N=10$ 时, 利奈唑胺的定量限为 100 μg·L⁻¹; 按信噪比 $S/N=3$ 计算, 最低检测限为 50 μg·L⁻¹, 最低检出量为 1 ng。

2.5 精密度

按“2.3”项下制备浓度为 150 mg·L⁻¹ 的对照品溶液 6 份, 进样检测, 其峰面积的 RSD 为 0.39%。取利奈唑胺注射液适量(批号: 09H10Z16), 用流动相稀释成浓度为 150 mg·L⁻¹ 的溶液, 平行制备 6 份, 作为供试品溶液进样检测, 结果平均含量为 100.35%, RSD 为 0.43%, 连续 3 d 测定其含量, 日间精密度 RSD 为 0.51%。

2.6 稳定性

取利奈唑胺注射液适量, 用流动相稀释成浓度为 150 mg·L⁻¹ 的溶液, 作为供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样测定, 其峰面积的 RSD 为 0.86%, 表明溶液在 24 h 内稳定。

2.7 回收率试验

取已知浓度的利奈唑胺注射液, 精密量取 1 mL, 置 100 mL 量瓶中, 共 9 份, 分别精密加入适量利奈唑胺对照品, 制备成相当于测试浓度的 80%, 100%, 120% 的溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 根据利奈唑胺测得量计算, 3 个浓度的平均回收率($n=3$)分别为 99.3%, 100.9%, 100.5%; RSD 分别为 0.56%, 0.28%, 0.49%。

2.8 样品测定

2.8.1 含量测定 精密量取本品 5 mL(约相当于利奈唑胺 10 mg), 置 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 5 mL, 置于 25 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样分析; 另取利奈唑胺对照品适量, 加流动相制成 40 mg·L⁻¹ 的溶液, 同法测定, 按外标法以峰面积计算。结果见表 1。

2.8.2 有关物质测定 取利奈唑胺注射液作为供试溶液, 精密量取此供试溶液 1 mL, 置 100 mL 量瓶中, 以流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得对照溶液; 取对照溶液和供试溶液按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图至主成分保留时间的 2

倍, 各杂质峰面积之和(扣除空白溶剂峰)不得大于对照溶液主峰面积的 1.0 倍(1.0%)。有关物质测定结果见表 1。

表 1 样品测定结果($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Results of sample determination($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

批号	含量/%	有关物质/%
09B26Z49	101.7±0.15	0.64±0.08
09H10Z16	100.3±0.51	0.49±0.07
09H11Z18	99.9±1.14	0.47±0.06

3 讨论

利奈唑胺注射液在国内上市时间虽不长, 但由于其独特的药理作用及相对较好的耐受性, 已广泛应用于临床。目前国内外主要采用胶束毛细管电泳法、高效液相色谱法等测定利奈唑胺血药浓度^[2-5], 而利奈唑胺注射液含量测定的相关报道较少。因而, 本研究建立了利奈唑胺注射液含量与有关物质测定的高效液相色谱法, 以期产品质量监控提供参考。

参阅国内外有关高效液相色谱法检测利奈唑胺的相关文献^[2-5]后, 选择 254 nm 为样品检测波长。实验表明, 在该检测波长下, 利奈唑胺峰形良好, 无杂质峰干扰, 检测限与定量限满足要求。

Toutain 等^[2]采用乙腈-0.4%三乙胺-磷酸作为流动相, 并且采用梯度洗脱方式进行检测, 但容易发生基线漂移, 影响色谱峰; 也有文献^[4]的流动相为甲醇-2 g·L⁻¹庚磺酸钠-1%磷酸, 实验表明基线噪音较大, 色谱平衡时间也较长。本研究采用甲醇-水(45:55)为流动相, 基线平稳, 利奈唑胺峰形良好, 保留时间也较为理想。

REFERENCES

- [1] ABENA P A, MATHIEUX V G, SCHEIFF J M, et al. Linezolid and reversible myelosuppression [J]. J Am Med Assoc, 2001, 286(16): 1973-1974.
- [2] TOUTAIN J, BOSELLI E, DJABAROUTI S, et al. Determination of linezolid in plasma and bronchoalveolar lavage by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection using a fully automated extraction method [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2004, 813(1): 145-150.
- [3] BOAK L M, LI J, NATION R L, et al. High-performance liquid chromatographic method for simple and rapid determination of linezolid in human plasma [J]. Biomed Chromatogr, 2006, 20(8): 782-786.
- [4] LOVERING A M, LE F R, HOVSEPIAN L, et al. Pharmacokinetic evaluation of linezolid in patients with major thermal injuries [J]. J Antimicrob Chemother, 2009, 63(3): 553-559.
- [5] DONG H Y, DONG Y L, WANG X, et al. HPLC determination and clinical application of linezolid concentration in human serum [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2010, 30(2): 199-203.

收稿日期: 2010-08-02