

毛细管气相色谱法测定复方利福平片中异烟肼和吡嗪酰胺的含量

张 亮 杭太俊 毕宝英¹ (南京 210009 中国药科大学药物分析研究室; ¹ 本校 93 届毕业生)

摘要 目的:建立复方利福平片中异烟肼和吡嗪酰胺的含量测定方法。方法:毛细管气相色谱法,以乙酰苯胺为内标,色谱柱为弹性石英毛细管柱 $25\text{ m} \times 0.32\text{ mm} \times 0.52\text{ }\mu\text{m}$ (DB-1);柱温 $170\text{ }^{\circ}\text{C}$;气化室温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$;检测器温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$;载气为高纯氮。结果:异烟肼和吡嗪酰胺的线性范围分别是 $0.426 \sim 2.13\text{ mg/ml}$ 和 $1.23 \sim 6.13\text{ mg/ml}$;平均回收率分别为 99.81% 和 99.63% 。结论:方法简便,快速,准确,可作为该制剂的检测方法。

关键词 毛细管气相色谱法;异烟肼;吡嗪酰胺;含量测定

Determination of isoniazid and pyrazinamide in tablet of Lifuping compound by capillary gas chromatography

Zhang Liang(Zhang L) ,Hang Taijun(Hang TJ) ,Bi Baoying(Bi BY) (*Department of Pharmaceutical Analysis , China Pharmaceutical University , Nanjing 210009*)

中国现代应用药学杂志 1999 年 12 月第 16 卷第 6 期

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To determine isoniazid and pyrazinamide in tablet of Lifuping compound. **METHOD:** A capillary gas chromatography was employed. The internal standard reference was acetanilide. Operating conditions were: injector temperature 250 ℃, detector temperature 250 ℃, column temperature 170 ℃, FID detector. Fused-silica columns with dimension of 25 m × 0.32 mm ID was coated with chemically bonded SE 30. **RESULTS:** The calibration equations were linear in the range of 0.426 ~ 2.13 mg/ml for isoniazid and 1.23 ~ 6.13 mg/ml for pyrazinamide. The average recoveries were 99.81 % for isoniazid and 99.63 % for pyrazinamide. **CONCLUSION:** This method was found to be simple, quick and accurate for the determination of two constituents in tablet of Lifuping compound.

KEY WORDS capillary gas chromatography, isoniazid, pyrazinamide

复方利福平片含利福平、异烟肼和吡嗪酰胺三主药,临床主要应用于治疗结核病,目前,国内市场为进口制剂。关于该进口制剂中各组分的含量测定方法,文献报道有紫外分光光度法^[1]和液相色谱法^[2],本文采用毛细管气相色谱法建立了国产仿制药复方利福平片中异烟肼和吡嗪酰胺的含量测定方法。

1 仪器、药品和试剂

VARIAN 3400 气相色谱仪,氢火焰离子化检测器。异烟肼,吡嗪酰胺和利福平原料药(华裕制药有限公司),对照品(中国药品生物制品检定所),内标:乙酰苯胺为分析纯。

2 方法和结果

2.1 色谱条件

色谱柱:弹性石英毛细管柱 25 m × 0.32 mm × 0.52 μm (DB-1)。

色谱条件:柱温 170 ℃;气化室温度 250 ℃;检测器温度 250 ℃;载气为高纯氮,柱前压 10 psi;分流进样,分流比为 40:1。

2.2 干扰试验

按处方比配制异烟肼和吡嗪酰胺乙酸乙酯溶液 1 份,另取利福平及空白辅料乙酸乙酯溶液一份,分别取 1 ~ 3 μl 注入气相色谱仪,利福平和空白辅料对异烟肼和吡嗪酰胺测定无干扰。

2.3 标准曲线的制备

取乙酰苯胺适量,加乙酸乙酯溶解并稀释成每 1 ml 中含 6 mg 的溶液,摇匀,作为内标溶液,备用。另取异烟肼对照品和吡嗪酰胺对照品适量,置 100 ml 量瓶中,加乙酸乙酯溶解并稀释成每 1 ml 中含异烟肼 4 mg,吡嗪酰胺 12 mg 的对照品贮备液,另取上述贮备液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 和 5.0 ml,置 10 ml 量瓶中,加入内标溶液 2.0 ml,用乙酸乙酯稀释至刻度,摇匀,放置,取 2 μl 注入气相色谱仪,以对照品与内标的浓度比作为横坐标,峰面积比为纵坐标,进行回归分析,得回归方程异烟肼为: $Y = -0.2008 X + 0.5236$, $r = 0.9992$,线性范围为 0.426 ~ 2.13 mg/ml;吡嗪酰胺为: $Y = -0.0815 X + 0.6134$, $r =$

$= 0.9998$,线性范围为 1.23 ~ 6.13 mg/ml。

2.4 回收率试验

量取 2.3 项下对照品贮备液 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 和 3.5 ml,置 10 ml 量瓶中,加入内标溶液 2 ml,再加入按处方配比的利福平及空白辅料,用乙酸乙酯稀释至刻度,摇匀,取上清液 2 μl 注入气相色谱仪,按回归方程计算回收率,结果见表 1。

表 1 吡嗪酰胺回收率试验结果

	加入量 / mg	测得量 / mg	回收率 / %	平均回收 率/ %	RSD / %
1	18.47	17.91	99.97	99.63	1.8
2	24.62	24.53	99.63		
3	30.78	30.51	99.13		
4	36.93	37.62	101.87		
5	40.09	40.32	100.57		

表 2 异烟肼回收率试验结果

	加入量 / mg	测得量 / mg	回收率 / %	平均回收 率/ %	RSD / %
1	6.39	6.32	98.90	99.81	1.3
2	8.52	8.47	99.41		
3	10.65	10.64	99.91		
4	12.78	12.86	100.63		
5	14.91	15.20	100.00		

2.5 精密度及重现性试验

取模拟样品,按含量测定项下 2.6 方法进行精密度考察及重现性试验,结果异烟肼和吡嗪酰胺的日内误差和日间误差($RSD\%$, $n = 5$) 分别为 1.87, 2.10 和 0.43, 0.56。

2.6 含量测定

校正因子测定:取乙酰苯胺适量,加乙酸乙酯溶解并稀释成每 1 ml 中含 3.0 mg 的溶液,摇匀,作为内标溶液。另分别取异烟肼对照品约 20 mg,吡嗪酰胺对照品约 60 mg,精密称定,置 25 ml 量瓶中,精密加入内标溶液 10 ml,振摇使溶解,用乙酸乙酯稀释至刻度,摇匀,取 1

~ 3 μ l 注入气相色谱仪,计算校正因子。

测定法:取本品 10 片,精密称定,研细,精密称取适量(约相当于异烟肼 20 mg 或吡嗪酰胺 60 mg),置 25 ml 量瓶中,精密加入内标溶液 10 ml,振摇使溶解,用乙酸乙酯稀释至刻度,摇匀,静置;取 1 ~ 3 μ l 注入气相色谱仪,测定,计算,即得(见表 3)。

表 3 国产仿制产品测定结果

成 分	批 号	百分标示量/ $n = 2$
异烟肼	970103	97.40
	970104	99.69
	970105	96.21
吡嗪酰胺	970103	99.30
	970104	100.7
	970105	99.31

3 结果和讨论

复方利福平片含三主药,采用 HPLC 测定时,由于

利福平有较多杂质(杂质总量约 9%),且这些杂质不同程度地干扰利福平自身及异烟肼和吡嗪酰胺的测定。本文利用利福平和辅料在气相色谱条件下难以气化的性质,采用气相法测定时,异烟肼和吡嗪酰胺的测定不受干扰,方法学考察结果表明:该法回收率高,稳定,适于两主药的含量测定。

本文曾使用水为样品溶液,但当载气流速不合适时会出现双峰现象,改用乙酸乙酯即可避免。

参考文献

- 1 薛大权,谢云,高绪侠,等. P-矩阵紫外分光光度法测定复方利福平注射液的含量. 现代应用药学, 1997, 14(1): 38.
- 2 Chandrashekhar DG, Prita Vp. Rapid and sensitive estimation of isoniazid, pyrazinamide and rifampicin in combined dosage form by reversed-phase liquid chromatography. Drug Development and Industrial Pharmacy, 1991, 17(9): 1201.

收稿日期: 1998 - 10 - 12