

高效液相色谱法测定土霉素片的含量

陈 琪 张力增(龙岩 364000 福建省龙岩市药品检验所)

土霉素片是具有广谱抑菌作用的抗生素类药,是目前生产和临床应用最久的抗生素之一,卫生部药品标准收载的土霉素含量测定方法为中国药典规定的抗生素微生物检定法,该法误差较大,对在临界值旁的检品难以作出判定,本文采用高效液相色谱法测定其含量,得到了较好的峰形,结果满意。

1 仪器与试剂

仪器: Waters510 液相色谱仪, U6K 进样器, Waters 紫外检测器, Waters746 数据处理仪

试剂: N,N-二甲基酰胺为色谱纯, 超纯净水, 草酸铵, 磷酸氢二铵, 氨水为分析纯

对照品: 土霉素标准品(中国药品生物制品检定所)

2 色谱条件

色谱柱: 4.6mm×250 mm 不锈钢柱, 填充剂为十八烷基硅烷键合硅胶, 流动相: 0.05mol/L 草酸铵 - N,N-二甲基甲酰胺 - 0.2mol/L 磷酸氢二铵(76:19:5)用氨试液调节 pH 值至 8.0。流速 0.9ml/min, 检测波长 280nm。

3 实验方法

3.1 对照品溶液的制备。精密称取土霉素标准品 25mg, 置 50ml 量瓶中, 加 0.1mol/LHCl5ml 溶解后加流动相稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 2ml 置 25ml 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 制成 40ug/ml 的溶液。

3.2 供试品溶液的制备。土霉素片取 10 片精密称定, 研细, 精密称取约相当于土霉素 25mg, 其他处理同对照品溶液, 制成 40ug/ml 的溶液。

3.3 含量测定 分取上述对照品溶液和供试品溶液, 在上述色谱条件下进样, 进样量为 20ul, 用外标法以峰面积计算。保留时间约为 8 分钟。

4 实验结果

4.1 标准曲线的绘制

精密称取土霉素标准品 25mg, 置 50ml 量瓶中, 加 0.1mol/LHCl5ml 溶解后加流动相稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 5ml 至 50ml 量瓶中, 加流动相至刻度, 摇匀, 制成 0.1mg/ml 的溶液。分别量取 1, 2, 4, 6, 8, 9ml 至 10ml 量瓶中, 加流动相至刻度, 在上述条件下进样, 分析, 结果表明, 以进样量为

中国现代应用药学杂志 2002 年 9 月第 19 卷第 7 期

横坐标, 峰面积为纵坐标作图, 在进样量为 10~90ug/ml 之间, 呈良好的线性关系, 标准曲线的回归方程为 $Y=2.5682X-39.68$, 相关系数 $r=0.9998$ 。

4.2 稳定性试验: 取样品, 按法处理, 密闭保存, 每隔 2 小时进样, 记录峰面积, 计算结果(见表 1)

表 1 稳定性试验结果

时间	0	2	4	6	8	10
含量(%)	95.3	94.6	94.5	95.2	95.8	94.8

RSD= 0.025% 计算结果表明, 样品在 10 小时以内稳定

4.3 重复性试验: 取同一批号样品, 重复进行 8 次测定, 结果(见表 2)

表 2 重复性试验结果

样品号	1	2	3	4	5	6	7	8
含量(%)	95.8	96.3	95.2	96.6	96.8	95.0	96.1	96.3

平均含量 X= 96.0% RSD=0.043%

4.4 回收率试验: 精密称取已知含量的土霉素片粉(相当于土霉素 50mg), 加入对照品 10mg, 按含量测定方法操作, 记录色谱图, 按峰面积计算, 结果(见表 3)

表 3 回收率试验结果

称样量(mg)	加入对照品量(mg)	测定总量(mg)	计算量(mg)	回收率(%)
50.8	9.5	60.2	9.4	98.9
50.2	10.3	60.4	10.2	99.0
50.3	9.8	60.2	9.9	101.0
50.5	10.1	60.4	9.9	98.0
49.8	10.5	60.1	10.3	98.1
50.9	9.7	60.5	9.6	99.0

回收率平均值 X=99.0% RSD=0.030%

4.5 方法对照试验: 用本法和微生物检定法对 8 批样品进行含量测定, 结果二者无显著性差异(见表 4)

表 4 方法对照试验结果(%)

序号	1	2	3	4	5	6	7	8
高效液相色谱法	95.2	96.8	97.6	90.8	93.9	45.8	96.2	99.8
微生物法	95.5	96.2	97.5	91.2	93.2	46.3	96.8	99.5

两组数据进行 t 检验, 无显著性差异(P>0.05)

5 讨论

5.1 本方法以高效液相色谱法取代抗生素微生物法测定土

霉素片的含量,方法高效,准确,灵敏,更有利于药品质量的控制,适合于大批量样品的含量分析。

5.2 本方法中可适当调整流动相的比例以及流速,以使色谱主峰与相邻的杂质峰有良好的分离度。

参考文献

1 中华人民共和国卫生部药品标准,抗生素药品,1989。第一册:

1.

2 英国药典 1993 年版:471.

收稿日期:2001-07-30