

克拉霉素缓释片含量测定方法研究

马越峰, 苏春胜, 谢元德, 孙忠涛(浙江可立思安制药有限公司, 浙江 玉环 317600)

中图分类号: R917.4

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2005)07-0642-02

克拉霉素是国内外应用非常广泛的一种新型大环内酯类抗生素。克拉霉素制剂此前只有片剂、胶囊、颗粒剂等普通制剂。克拉霉素缓释片是一新剂型, 未见文献报道其含量测定方法。由于缓释片其辅料的特殊性, 因此其含量测定方法不能完全套用普通制剂的含量测定方法。为有效监控药品质量, 建立良好的含量测定方法, 我们对其方法学进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料

克拉霉素缓释片由浙江可立思安制药有限公司研制, 克拉霉素标准品购自中华人民共和国药品生物制品检定所。对羟基苯丁酸甲酯(分析纯), 磷酸二氢铵(分析纯), 甲醇(色谱纯), 乙腈(色谱纯)均市场购得。

1.2 仪器

岛津 LC-10A TVP 液相色谱仪, 包括紫外检测器等。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件: 色谱柱型号: Kromasil-C₁₈, 5 μ m, 4.6mm $\times$ 150mm; 柱温: 室温; 流速: 1mL/min。

1.3.2 溶液的制备: 内标溶液的制备 精密称取对羟基苯甲酸丁酯 15mg 置 250mL 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀即得。标准品溶液的制备 精密称取克拉霉素标准品约 20mg, 置 100mL 容量瓶中, 加入 5mL 内标溶液, 用流动相溶解并稀释到刻度, 摇匀即得。供试品溶液的制备 取克拉霉素缓释片 10 片精密称重, 研细。取细粉约 400mg, 精密称定, 置 50mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声 30min, 用甲醇稀释到刻度。摇匀, 滤过, 取续滤液 2.5mL 置 50mL 量瓶内, 加内标溶液 2.5mL, 用流动相稀释到刻度, 摇匀即得。

2 方法与结果

克拉霉素普通制剂含量测定方法文献报道有三种:中国药典采用生物检定法^[2];美国药典^[1]采用 HPLC 法,国内也有不少论文^[5-9]采用 HPLC 法测定克拉霉素制剂含量。另外,还有报道采用硫酸显色法^[3]。本文选定 HPLC 内标法作为克拉霉素缓释片含量的测定方法。

2.1 测定波长的确定

根据克拉霉素的紫外吸收曲线并参考有关文献,选择 210nm 作为测定波长。

2.2 流动相的确定

文献^[5-8]报道:克拉霉素普通制剂含量测定 HPLC 法流动相有以下几种:1、0.067 mol/L KH_2PO_4 和甲醇;2、0.067 mol/L KH_2PO_4 —甲醇—乙腈;3、0.025 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$)—乙腈。由于乙腈本底吸收较甲醇小,可提高检测灵敏度。所以选用 0.025 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ —乙腈作为流动相。

2.2.1 流动相 pH 值的选择:文献报道流动相 pH 值不同,克拉霉素和内标物的保留时间及峰形均不同。因此,对流动相 pH 值进行筛选。取不同 pH 值的磷酸盐缓冲液,均以 60:40 与乙腈混合作流动相,考察克拉霉素与内标物的分离情况及峰形。结果以 pH 为 7.0 时最好。

2.2.2 流动相比比的选择:将 pH 值为 7 的磷酸盐缓冲液以 65:35、60:40、58:42 及 55:45 四种比例混合作为流动相,考察克拉霉素与内标物的分离情况及峰形。结果以 60:40 时最好。因此选定本法所用流动相为 0.025 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 缓冲液 (pH = 7.0) 与乙腈按 60:40 的比例混合的混合液。

2.3 辅料影响的考察

取辅料空白试液和溶剂空白溶液各 20 μL 分别进样,记录色谱图,考察辅料对测定的影响。结果辅料空白试液与溶剂空白试液所得图谱相同,说明辅料对测定无干扰。

2.4 检测限的测定

将供试品溶液逐步稀释进样,测定在信噪比为 3 时,最低检测浓度并根据最低检测浓度计算最小检测量。结果:最低检测浓度为 9 $\mu\text{g}/\text{mL}$,最小检测量为 0.18 μg 。

2.5 供试品溶液稳定性的考察

按 1.3.2 项下供试品溶液的制备方法,将制得的 1 份供试品溶液在 0、1、2、4、8、24 和 48h 时重复进样,记录色谱图,考察供试品溶液的稳定性。结果七次进样的样品与内标物峰面积比的 RSD 为 0.22%,表明溶液稳定。

2.6 标准曲线的绘制

精密称取克拉霉素标准品 0.1685g 到 50mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释到刻度。取克拉霉素标准品溶液 1、3、5、7、9、11、12mL 置 100mL 量瓶中分别加内标溶液 5mL,用流动相稀释到刻度。按上述条件进样测定,以浓度为横坐标,样品

与内标物峰面积比为纵坐标,作标准曲线,计算回归方程。结果表明克拉霉素浓度在 33.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~ 404.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内呈线性,回归方程 $y = 0.0040X - 0.0024$, $r = 0.9999$ ($n = 7$)。

2.7 精密度与准确度试验

2.7.1 同一溶液的重复性试验:取标准品和内标物适量,配成浓度为含克拉霉素 0.2359mg/mL,含内标物 2.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液,重复进样,记录色谱图,计算标准品与内标物峰面积比值的 RSD。结果为 1.09%,表明重复性好。

2.7.2 不同溶液的重复性试验:取克拉霉素缓释片粉末,分别约为测定用量的 80%、100% 和 120% 各 3 份,精密称定,按 1.3.2 项下供试品溶液的制备方法制得相应供试品溶液进行测定,计算标示量,进行重复性试验。结果为标示量平均值为 100.34%,RSD 为 0.86%。

2.7.3 回收率试验:精密称取 9 份克拉霉素标准品适量,加入处方量的辅料,分别置 100mL 量瓶中,用流动相超声溶解,加入 5.0mL 的内标物,再用流动相稀释至刻度,摇匀,按上述条件测定,进行回收率试验。结果平均回收率为 100.15%,RSD 为 0.67%。

2.8 样品的测定

按上述确定的色谱条件,检测波长及流动相。分别将供试品溶液(三批)和对照品溶液各 20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图。按内标法以峰面积计算含量。三批样品的含量分别为 100.73%,99.93% 和 100.29%。

3 结论

本方法用于测定克拉霉素缓释片的含量,重现性和准确度均好,已做为本品质量标准草案上报。

参考文献

- [1] USP 24th, PP424-426.
- [2] 中国药典 2000 年版二部, PP270-272.
- [3] 张彦,陈雅,何凤慈. 克拉霉素胶囊质量控制标准[J]. 中国药业, 1999,8(11):11.
- [4] 彭建和,涂家生,盛龙生. LC/MS 分析克拉霉素降解产物[J]. 中国药科大学学报, 1998, 29(5):374.
- [5] 俞永进. HPLC 内标法测定克拉霉素含量[J]. 中国药房, 1999,10(3):137.
- [6] 关倩明. HPLC 法测定克拉霉素含量[J]. 中国现代应用药学, 1997,14(4):37.
- [7] 李青翠,常俊兰,李芙蓉. 克拉霉素胶囊的高效液相色谱测定法[J]. 中国抗生素杂志. 1999, 24(6):464.
- [8] 冯玉欢. HPLC 法测定克拉霉素片中克拉霉素的含量[J]. 广东药学院学报. 1999, 15(4):280.
- [9] 郭琴,韩彩鸿,随伟民. HPLC 法测定克拉霉素片的含量[J]. 山东医药工业, 2001, 20(2):13.

收稿日期:2005-04-30