

反相高效液相色谱法测定注射用盐酸溴己新的含量及有关物质

岳昌林¹,毛黎静²(1.浙江九旭药业有限公司,浙江金华 321016;2.浙江九康药业有限公司,浙江浦江 322200)

摘要:目的 反相高效液相色谱法测定注射用盐酸溴己新含量及有关物质。方法 采用 SHIMADZU VP-ODS 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm),以甲醇:乙腈 (40:60)为流动相,流速为 0.8 mL·min⁻¹,检测波长为 249 nm,柱温为 30℃。结果 盐酸溴己新在 20 μg·mL⁻¹ ~ 70 μg·mL⁻¹ 浓度范围内,峰面积与浓度呈良好的线性关系, $r=0.9998$,平均回收率为 99.0% ~ 99.8%, RSD 为 0.55% ~ 0.64%。结论 该方法操作简便、快速、准确,适用于注射用盐酸溴己新的含量及有关物质的测定。
关键词:反相高效液相色谱法;注射用盐酸溴己新;含量测定;有关物质
中图分类号: R917.101 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2007)08-0708-02

Study on RP-HPLC Determination for Content and Related Compounds of Bromhexine Hydrochloride for Injection

YUE Chang-lin¹, MAO Li-jing² (1. Zhejiang Jiuxu Pharmaceutical Co., Ltd, Jinhua 321016, China; 2. Zhejiang Jiukang Pharmaceutical Co., Ltd, Pujiang 322200, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE A RP-HPLC method was developed to determine the content and related compounds of Bromhexine Hydrochloride for Injection. **METHODS** A SHIMADZU C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm) was used. The mobile phase used were methanol-acetonitrile (40:60) at a flow rate of 0.8 mL·min⁻¹, and detected at 249 nm. The column temperature was controlled at 30℃. **RESULTS** The calibration curve was linear in the concentration range of 20 μg·mL⁻¹ ~ 70 μg·mL⁻¹ ($r=0.9998$). Average was 99.0% ~ 99.8% ($n=9$). **CONCLUSION** The method is simple, rapid and accurate, it can be used for determining the content and the related compounds of Bromhexine Hydrochloride for Injection.
KEY WORDS: RP-HPLC; Bromhexine Hydrochloride for Injection; determination; related compounds

注射用盐酸溴己新是本公司开发生产的新药,为黏痰溶解药,有关文献表明盐酸溴己新注射液^[1]含量测定采用紫外吸收系数法;中国药典 2000 年二部^[2]的盐酸溴己新有关物质项下采用的是薄层法,本试验对注射用盐酸溴己新的含量测定和杂质检验方法进行了系统研究,利用反相高效液相色谱法,考察了方法的专属性、耐用性,结果表明本法简便快速、准确、可用于该药的含量测定和有关物质检查。

1 仪器与试剂

岛津 LC-2010A 高效色谱仪; UV-1700 型紫外分光光度计。

甲醇、乙腈均为色谱纯,其余试剂均为分析纯;注射用盐酸溴己新,批号:20040101、20040102、20040103,规格:4 mg,本公司生产。盐酸溴己新(纯度 99.5%)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:SHIMADZU VP-ODS (150 mm × 4.6 mm) C₁₈柱;流动相:甲醇:乙腈 = 40:60;检测波长:249 nm;流速:1.0 mL·min⁻¹;柱温:30℃;进样量:10 μL;理论塔板数以盐酸溴己新计不低于 2000。

2.2 系统适用性试验

精密称取盐酸溴己新对照品适量,加甲醇制成 40 μg·mL⁻¹的溶液,进样 10 μL,记录色谱图。在上述色谱条件下,主峰与相邻峰之间达到基线分离,分离度大于 1.5,理论塔板数以盐酸溴己新计在 2000 以上。

2.3 方法的专属性考察

2.3.1 空白辅料干扰试验 取辅料配制空白溶液,依法测定,辅料不干扰主药的测定。

2.3.2 破坏试验 取本品 1 瓶,各加水 2 mL 溶解,通过对注射用盐酸溴己新进行高温(80℃,4 h)、碱破坏(0.1 mol·L⁻¹氢氧化钠溶液,4 h)和酸(0.1 mol·L⁻¹盐酸,4 h)破坏考察;图 1 显示,主峰的分离度分别为 5.71,13.75,4.97;结果表明采用 RP-HPLC 测定注射用盐酸溴己新有关物质的方法专属性良好。

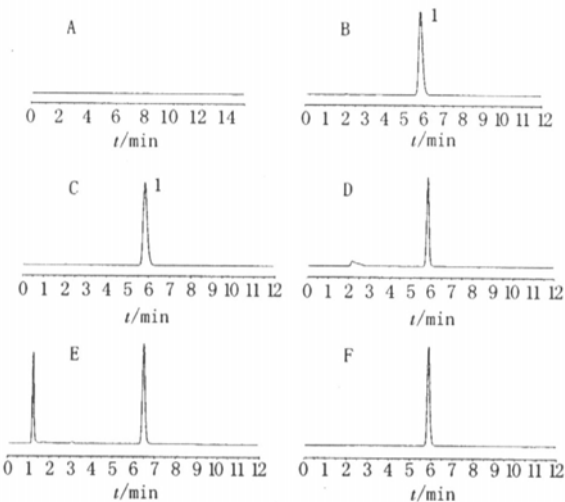


图 1 液相色谱图谱
A.对照品;B.样品;C.空白;D.酸降解;E.碱降解;F.高温降解;1. 盐酸溴己新

Fig 1 HPLC chromatograms
A. reference substance; B. sample; C. blank; D. acid hydrolysis; E. alkaline hydrolysis; F. high temperature hydrolysis; 1. Bromhexine Hydrochloride

2.4 检测限

取本品 1 瓶加水 2 mL 溶解,用水转移至 50 mL 量瓶中,振摇,混匀。将此溶液稀释 400 倍,进样 10 μL,记录图谱,以进样量计,最低检测限为 0.19 ng。

2.5 线性关系的考察

取盐酸溴己新 12.5 mg,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加乙醇溶解并定容至刻度,摇匀;精密量取 2,3,4,5,7,8 mL 分别置 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀。取 10 μL 注入高效液相色谱仪,记录色谱图,以 6 次测定的峰面积平均值作线性回归,结果如下。

$$A = 1.6343 \times 10^7 C - 8621, r = 0.9998$$

实验结果表明在 20 ~ 70 μg·mL⁻¹ 范围内,峰面积与测定浓度呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验

取供试品溶液 10 μL,连续进样 6 次,以峰面积考察其日间精密度。结果 RSD 分别为 0.57%。

2.7 方法重复性试验

精密称取同一批号的 6 份,照含量测定项下的方法,同法操作,结果 RSD 为 0.56%。

2.8 方法的稳定性考察

取供试品溶液,于 0,2,4,6,8 h 各测定一次,每次取 10 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图。RSD 为 0.79%,即样品溶液至少在 8 h 内稳定。

2.9 回收率试验

取本品 9 瓶,用水溶解,分别转移至 200 mL 量瓶,按处方比精密加入 80%,100%,120% 盐酸溴己新对照品,按样品测定项制备供试品溶液和对照品溶液。精密量取供试液与对照液 10 μL 注入液相色谱仪,记录峰面积。按外标法计算含量,低、中、高加入量平均回收率分别为 99.8%,99.1%,99.0%;RSD 分别为 0.64%,0.66%,0.55%。结果表明该方法具有良好的回收率。

2.10 样品含量测定

取本品 10 瓶分别加水制成每 mL 含盐酸溴己新 0.04 mg 的溶液;另取对照品加甲醇制成每 mL 含盐酸溴己新 0.04 mg 的溶液,分别进样 10 μL,记录色谱图,用外标法计算含量。

2.11 样品有关物质的测定

取本品 5 瓶的内容物混匀,精密称取样品适量,加水制成每 mL 含盐酸溴己新 0.4 mg 的溶液;精密移取样品溶液 5 mL 置量瓶中,加水定容至 100 mL。精密吸取对照溶液和样品溶液各 10 μL,分别注入色谱仪,记录色谱图至主峰保留时间的 2 倍,样品溶液的色谱图中各杂质峰面积的和不得大于对照溶液的主峰面积(5.0%)。3 批样品测定结果见表 1。

表 1 注射用盐酸溴己新含量及有关物质测定结果

批号	标示量 /%	有关物质 /%
20040101	101.2	1.21
20040102	100.7	1.23
20040103	100.9	1.20

3 讨论

3.1 波长的选择

取本品适量,加水溶解,在 200 ~ 400 nm 波长范围扫描,结果在 249 nm 波长处有最大吸收,HPLC 法得到得 PDA 色谱图显示,最大吸收波长为 249 nm,故选择 249 nm 作为测定波长,并且杂质峰在此波长处有较大吸收,对盐酸溴己新主成分峰的纯度分析结果表明盐酸溴己新为单一峰。

3.2 流动相选择

选用甲醇为流动相,但峰形不好,加入一定比例的乙腈,当两者的比例为 40:60 时,主峰的出峰时间适中,与小峰的分度良好。

参考文献

[1] WS-10001-(HD-0565)-2002
[2] Ch. P(2005) Vol II (中国药典 2005 年版.二部). 2005: 585.

收稿日期: 2006-05-26