

右倍他米松磷酸钠注射液含量测定的方法比较

李健和,黎银波,彭词艳,万小敏,崔巍,彭六保(中南大学湘雅二医院药剂科,长沙 410011)

摘要:目的 比较右倍他米松磷酸钠注射液含量测定的两种不同方法。方法 分别采用高效液相色谱法及紫外分光光度法测定右倍他米松磷酸钠注射液的含量。结果 两种方法测定右倍他米松磷酸钠的线性关系均良好,其平均回收率分别为 98.8%和 99.2%,RSD分别为 0.60%和 0.39%。结论 两种方法均可作为右倍他米松磷酸钠的含量测定方法,但高效液相色谱法专属性强、灵敏度高,测定结果更为准确。

关键词:右倍他米松磷酸钠注射液;含量测定;高效液相色谱法;紫外分光光度法

中图分类号:R927.2;R977.11 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2008)03-0227-03

Method Comparison of the Determination of Dexamethasone Sodium Phosphate Injection

LI Jian-he, LI Yin-bo, PENG Ci-yan, WAN Xiao-min, CUI Wei, PENG Liu-bao (The Second XiangYa Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To compare two methods for the determination of dexamethasone sodium phosphate injection.

METHODS The contents were determined by HPLC method and UV spectrophotometric method. **RESULTS** The linear correlation were well for the two methods. The recovery and RSD for the two methods were 98.8% and 0.60%; 99.2% and 0.39%, respectively.

CONCLUSION Both methods can be used for the determination of dexamethasone sodium phosphate injection, but the HPLC method is much more exclusive, sensitive and accurate.

KEY WORDS: dexamethasone sodium phosphate injection; determination; HPLC; UV spectrophotometry

右倍他米松磷酸钠为一种人工合成的长效糖皮质激素类药物,为地塞米松的差向异构体,其最早由美国 Pritec 公司、英国 Glaxo 公司研制上市,近年来国内也研制成功,生产工艺已达到国外同等水平。本品具有抗炎、抗过敏和抑制免疫等多种药理作用;其抗炎作用较地塞米松略强,且作用迅速;其 0.5 mg 疗效与地塞米松 0.75 mg、泼尼松 5 mg 或可的松 25 mg 相当^[1]。目前临床上主要用于过敏性与自身免疫性炎症性疾病。现多用于活动性风湿病、类风湿性关节炎、红斑狼疮、严重支气管哮喘、严重皮炎、急性白血病等,也用于某些感染的综合治疗。我们在研究开发右倍他米松磷酸钠注射液时,为有效控制其质量,分别采用 HPLC 法和 UV 法进行含量测定,并对 2 种测定方法进行比较,现报道如下。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10ATvp 型高效液相色谱仪,SPD-10Avp 紫外检测器;北京瑞利 UV-1200 型紫外分光光度计。右倍他米松磷酸钠对照品(中国药品生物制品检定所,批号:0180-9401,含量:99.6%);右倍他米松磷酸钠注射液(规格为 1 mL:2.63 mg,批号:20051010,20051011,20051012,中南大学湘雅二医院药剂科研制);内标对羟基苯甲酸乙酯(广东台山新宁制药厂,批号:20040404,含量:99.9%)。

2 方法与结果

2.1 高效液相色谱法

2.1.1 色谱条件和系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(Hypersil ODS2 柱,250×4.6 mm,5 μm);以甲醇-0.05 mol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液(1:1)为流动相;检测波长为 254 nm^[2]。理论板数按右倍他米松磷酸钠峰计算不低于 2 000,右倍他米松磷酸钠峰与内标物峰的分离度应符合要求。

2.1.2 空白辅料溶液的制备 取按处方比例制备不含右倍他米松磷酸钠的空白辅料溶液适量,以水为溶剂,配制相当于含右倍他米松 0.032 mg·mL⁻¹的溶液,备用。

2.1.3 内标溶液的制备 取对羟基苯甲酸乙酯适量,加甲醇制成每 1 mL 中约含 0.1 mg 的溶液,摇匀,备用。

2.1.4 空白辅料干扰试验 精密量取上述空白辅料溶液 20 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图,结果见图 1。结果空白辅料对右倍他米松磷酸钠含量测定无干扰。

2.1.5 线性试验 精密称取右倍他米松磷酸钠对照品约 21 mg,置 100 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀;分别精密量取上述溶液 1.0,1.5,2.0,2.5,3.0 mL 置 10 mL 量瓶中,再分别精密量取内标溶液 2 mL 加入其中,然后加水稀释

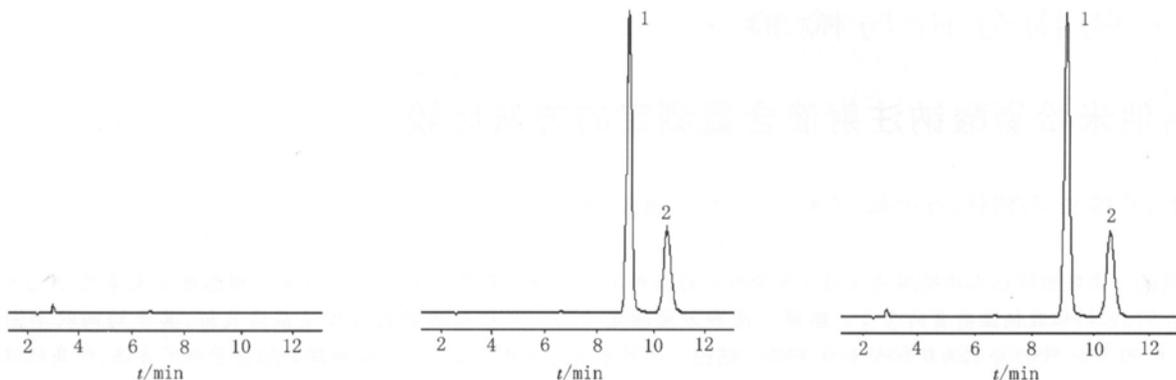


图 1 HPLC 色谱图

A. 空白; B. 对照品; C. 样品 1. 内标物 2. 右倍他米松磷酸钠

Fig 1 HPLC chromatogram

A. blank; B. reference; C. sample 1. internal standard 2. dexamethasone sodium phosphate

至刻度, 摇匀, 取 20 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 以右倍他米松磷酸钠对照品浓度 (X) 为横坐标, 右倍他米松磷酸钠与内标峰面积比值 (Y) 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程为: $Y = 0.0093X - 0.0176$, $r = 0.9998$ 。结果表明: 右倍他米松磷酸钠浓度在 $20.0 \sim 60.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内与右倍他米松磷酸钠和内标峰面积比值呈良好线性关系。

2.1.6 进样精密度试验 取同一份供试品溶液分别连续进样 6 次, 测定其峰面积, 结果右倍他米松磷酸钠和内标的平均峰面积分别为 1 185 306 和 2 693 123; 其 RSD 分别为 0.29% 和 0.14%, 表明其进样精密度良好。

2.1.7 溶液稳定性试验 取同一份供试品溶液分别于 0, 2, 4, 8, 24 h 测定其峰面积, 结果在考察的 24 h 内右倍他米松磷酸钠和内标的平均峰面积分别为 1 183 068 和 2 690 929, 其 RSD 分别为 0.68% 和 0.23%, 表明待测溶液 24 h 内稳定。

2.1.8 回收率试验 精密称取右倍他米松磷酸钠原料药适量 (约高 12.6 mg, 中 10.5 mg, 低 8.4 mg, 各 3 份), 分别置 50 mL 量瓶中, 加入按处方比例制备不含右倍他米松磷酸钠注射液的空白辅料溶液适量, 加水稀释至刻度, 摇匀, 即得供试品溶液。精密量取上述供试品溶液和内标溶液各 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 取 20 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图; 另取右倍他米松磷酸钠对照品适量, 精密称定, 加水溶解并定量稀释制成每 1 mL 中约含 0.21 mg 的溶液, 精密量取该溶液与内标溶液各 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 同法测定, 记录色谱图, 按内标法以峰面积计算, 即得。测定结果见表 1。

2.1.9 重复性试验 取批号为: 20050312 的右倍他米松磷酸钠注射液, 照上述溶液制备项下的有关方法分别配制 6 份供试品溶液, 按上述含量测定项下的方法进行测定, 结果其标示百分含量平均值为 101.5%, RSD 为 0.20%。该方法的重复性良好。

2.1.10 含量测定 精密量取本品适量, 用水稀释制成含右倍他米松 $0.16 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液, 然后从中精密量取 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 精密加入浓度约为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对羟基苯甲酸乙酯内标溶液 5 mL, 用水稀释至刻度, 摇匀, 取 20

表 1 回收率试验结果 ($n = 9$) (HPLC)

Tab 1 Results of recovery test by HPLC ($n = 9$)

编号	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	12.26	12.10	98.7	98.8	0.60
2	12.21	12.09	99.0		
3	12.23	12.09	98.9		
4	10.78	10.65	98.8		
5	10.77	10.64	98.8		
6	10.69	10.65	99.6		
7	8.11	7.92	97.6		
8	8.19	8.08	98.6		
9	8.08	8.05	99.6		

μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图; 另精密称取右倍他米松磷酸钠对照品适量, 加水溶解并定量稀释制成每 1 mL 中约含右倍他米松磷酸钠 0.21 mg 的溶液, 精密量取该溶液与内标溶液各 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 同法测定。按内标法以峰面积计算, 即得。测定结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果 ($n = 3$)

Tab 2 Determination results of samples ($n = 3$)

批号	标示百分含量 /%	
	HPLC法	UV法
20050310	103.4	102.9
20050311	101.4	102.1
20050312	101.5	102.1

2.2 紫外-可见分光光度法

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取右倍他米松磷酸钠对照品适量 (约相当于右倍他米松 20 mg), 加甲醇溶解并稀释制成每 1 mL 中约含右倍他米松 0.4 mg 的溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密量取本品适量 (约相当于右倍他米松 20 mg), 置小烧杯中, 在水浴上蒸干, 残渣用甲醇溶解并移至 50 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过。

2.2.3 测定波长及溶剂的选择 精密量取上述供试品溶液与对照品溶液各 1 mL, 分别置 25 mL 量瓶中, 各精密加异烟肼溶液 (异烟肼 75 mg, 盐酸 0.1 mL, 加甲醇溶解并稀释至 100 mL) 20 mL, 摇匀, 至 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中保温 1 h, 冷却, 加甲醇

稀释至刻度,摇匀,照紫外-可见分光光度法(中国药典 2005 年版二部附录 IV A),在 600~200 nm 的波长范围内扫描测定,结果在 420 nm 的波长处有最大吸收,故选择 420 nm 的波长为测定波长。

2.2.4 空白辅料干扰试验 取右倍他米松磷酸钠注射液的空白辅料溶液适量,按“2.2.2”和“2.2.3”项下方法配制成测定溶液,照紫外-可见分光光度法,在 600~200 nm 的波长范围内扫描测定,结果在 420 nm 的波长处空白辅料溶液无吸收,不干扰样品测定。

2.2.5 反应温度和时间的选择 精密量取上述供试品溶液与对照品溶液各 1 mL,分别置 25 mL 量瓶中,各精密加异烟肼溶液 20 mL,摇匀,共 8 份,然后取其中的 2 份分别置 60℃ 水浴中保温 0.5, 1, 1.5, 2.0 h,冷却,加甲醇稀释至刻度,摇匀,照紫外-可见分光光度法(中国药典 2005 年版二部附录 IV A),在 420 nm 的波长处测定吸光度,结果 0.5, 1, 1.5, 2.0 h 的平均吸光度分别为 0.525, 0.538, 0.540, 0.537,可见本品在 60℃ 水浴中保温 1 h 可使吸光度达到稳定值,故选择反应的温度和时间均为 60℃ 水浴中保温 1 h。

2.2.6 线性试验 精密称取右倍他米松磷酸钠对照品适量(约相当于右倍他米松 50 mg),置 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得每 1 mL 中约含倍他米松 2.0 mg 的溶液。分别精密量取上述溶液 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度。然后从中精密量取上述对照品溶液各 1 mL,分别置 25 mL 量瓶中,各精密加异烟肼溶液 20 mL,摇匀,至 60℃ 水浴中保温 1 h,冷却,加甲醇稀释至刻度,摇匀,照紫外-可见分光光度法,在 420 nm 的波长处测定吸光度,以吸光度(A)为横坐标,右倍他米松磷酸钠浓度(C)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为: $A = 1.2848C - 0.0014$, $r = 0.9999$ 。结果右倍他米松磷酸钠浓度在 0.21~0.63 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内与吸光度呈良好线性关系。

2.2.7 溶液稳定性试验 取上述线性试验测定项下浓度为 0.42 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液分别于 0, 1, 2, 4, 8 h 测定吸光度,结果待测溶液在考察的 8 h 内的平均吸光度为 0.536, RSD 为 0.50%,其稳定性良好。

2.2.8 回收率试验 精密称取右倍他米松磷酸钠原料药适量(约高 31.6 mg,中 26.3 mg,低 21.0 mg,各 3 份),分别置小烧杯中,加入按处方比例制备不含右倍他米松磷酸钠注射液的空白辅料溶液适量,在水浴上蒸干,残渣用甲醇溶解并移至 50 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,作为供试品溶液。精密称取右倍他米松磷酸钠对照品适量(约相当于右倍他米松 20 mg),加甲醇溶解并稀释制成每 1 mL 中约含倍他米松 0.4 mg 的溶液,作为对照品溶液。精密量取上述供试品溶液与对照品溶液各 1 mL,分别置 25 mL 量瓶中,各精密加上上述异烟肼溶液 20 mL,摇匀,至 60℃ 水浴中保温 1 h,冷却,加甲醇稀释至刻度,摇匀,照紫外-可见分光光度法,在 420 nm 的波长处分别测定吸光度,计算,即得。测定结果见表 3。

2.2.9 重复性试验 取批号为:20050312 的右倍他米松磷酸钠注射液,照上述溶液制备项下的有关方法分别配制 6 份

表 3 回收率试验结果 ($n = 9$) (UV 法)

Tab 3 Results of recovery test by UV ($n = 9$)

编号	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收 率 /%	RSD /%
1	21.20	21.12	99.6		
2	21.18	21.06	99.4		
3	21.35	21.01	98.4		
4	26.41	26.33	99.7		
5	26.58	26.32	99.0	99.2	0.39
6	26.59	26.37	99.2		
7	31.82	31.60	99.3		
8	31.90	31.60	99.0		
9	31.75	31.52	99.3		

供试品溶液,按上述含量测定项下的方法进行测定,结果其标示百分含量平均值为 102.1%, RSD 为 0.19%。结果表明:该方法的重复性良好。

2.2.10 含量测定 精密称取右倍他米松磷酸钠对照品适量(约相当于右倍他米松 20 mg),加甲醇溶解并稀释制成每 1 mL 中约含倍他米松 0.4 mg 的溶液,作为对照品溶液。精密量取本品适量(约相当于右倍他米松 20 mg),置小烧杯中,在水浴上蒸干,残渣用甲醇溶解并移至 50 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,作为供试品溶液。精密量取上述供试品溶液与对照品溶液各 1 mL,分别置 25 mL 量瓶中,各精密加异烟肼溶液(异烟肼 75 mg,盐酸 0.1 mL,加甲醇溶解并稀释至 100 mL) 20 mL,摇匀,至 60℃ 水浴中保温 1 h,冷却,加甲醇稀释至刻度,摇匀,照紫外-可见分光光度法(中国药典 2005 年版二部附录 IV A),在 420 nm 的波长处分别测定吸光度,计算,即得。测定结果见表 2。

3 讨论

本品为右倍他米松磷酸钠的灭菌水溶液,参照右倍他米松磷酸钠原料药及注射液的含量测定方法及相关文献资料^[2-4],分别建立了 HPLC 和 UV 法测定右倍他米松磷酸钠注射液中右倍他米松的含量,结果表明:这两种方法测定结果相差不大,均稳定可靠,可用于该品种的质量控制,UV 法操作简便,但 HPLC 专属性强,灵敏度高,测定结果更为准确,操作也较为简便,故建议在质量标准中拟订采用 HPLC 测定本品含量。

REFERENCES

- [1] State food and drug administration center for evaluation, Sichuan MCDEX medicine and drug software research Co., Ltd. Clinical drug reference (药物临床信息参考) [M]. Vol 1. Sichuan: Sichuan Science and Technology Press, 2004: 681-682.
- [2] Ch. P (2005) Vol III (中国药典 2005 年版, 二部) [S]. 2005: 620.
- [3] WS-10001-(HD-1598)-2003. Dexamethasone Sodium Phosphate Injection. National Drug Standard (右倍他米松磷酸钠注射液国家药品标准) [S].
- [4] JIN W, WANG J. Simultaneous HPLC determination of betamethasone sodium phosphate and betamethasone dipropionate in compound betamethasone injection [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2004, 37(1): 48.

收稿日期: 2007-06-29