

HPLC测定异福双释胶囊中的有关物质

陈新菊, 利家平, 孙国泉, 余华 (江西省药物研究所, 南昌 330029)

摘要:目的 建立异福双释胶囊中的有关物质测定方法。方法 采用 Lichrospher100 RP-8 柱, 以甲醇-乙腈-0.075 mol·L⁻¹磷酸二氢钾-1.0 mol·L⁻¹枸橼酸 (30:30:36:4) 为流动相, 检测波长为 254 nm。结果 各种杂质与异烟肼、利福平能够很好的分离, 其中酞式利福平的回收率为 98.88%, N-氧化利福平的回收率为 100.14%, 3-甲酰利福霉素 SV 的回收率为 97.08%。结论 本方法快速、灵敏、准确, 可用于异福双释胶囊的质量控制。

关键词: 异福双释胶囊; 利福平; 异烟肼; 有关物质; HPLC

中图分类号: R917.101; R917.4 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2008)05-0422-03

Determination of Impurity of Yifu Shuangshi Capsules by HPLC

CHEN Xin-ju, LI Jia-ping, SUN Guo-quan, YU Hua (Institute of Materia Medica of Jiangxi Provincial, Nanchang 330029, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the determination of impurity of Yifu Shuangshi capsules. **METHODS** Lichrospher100 RP-8 column was used in HPLC with mobile phase of methanol-acetonitrile-0.075 mol·L⁻¹ potassium dihydrogen phosphate-1.0 mol·L⁻¹ citric acid monohydrate (30:30:36:4). The detection wavelength was 254 nm. **RESULTS** Impurities could be separated from isoniazid and rifampin in capsules. The average recoveries of quinoid rifampicin, rifampicin N-oxid and 3-formylrifamycin were 98.88%, 100.14% and 97.08%, respectively. **CONCLUSION** This method is rapid, sensitive and accurate. It can be used of quality control of Yifu Shuangshi capsules.

KEY WORDS: Yifu Shuangshi capsules, isoniazid, rifampin, impurity, HPLC

异福双释胶囊是由利福平和异烟肼组成的复方制剂, 为抗结核二联药, 临床上主要用于结核病短程化疗的巩固期 (4 个月) 治疗^[1]。异福双释胶囊具有“速释”、“缓释”双重释放功能, 可避免普通制剂明显的“峰”-“谷”波动的新制剂。同类产品异福片和异福胶囊均无有关物质的测定报道, 在此, 我们参考中国药典 2005 年版中有关利福平制剂中的有关物质测定方法^[2], 对本品进行了有关物质的测定研究, 以对本品进行更有效的内在质量控制。

1 仪器与试剂

Waters 600 色谱仪, Waters 2996 检测器, M³² 色谱工作站 (美国 Waters 公司)。

甲醇、乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为重蒸水。

利福平对照品 (130496-200001, 纯度 99.0%), 异烟肼对照品 (100578-200401, 供含量测定用), 酞式利福平对照品 (130413-200303, 检查用), N-氧化利福平对照品 (130522-200301, 供系统适用性用), 3-甲酰利福霉素 SV (0414-8702, 检查用), 均由中国药品生物制品检定所提供。

2 实验与结果

2.1 色谱条件的选择

本方法采用 Lichrospher100 RP-8 柱, 以甲醇-乙腈-0.075 mol·L⁻¹磷酸二氢钾-1.0 mol·L⁻¹枸橼酸 (30:30:36:4) 为流动相, 检测波长为 254 nm。用乙腈作溶剂。

2.2 系统适用性试验

取异烟肼、利福平、酞式利福平、N-氧化利福平和 3-甲酰利福霉素 SV 对照品适量, 用乙腈制成混合溶液, 在上述色谱条件下测定, 分离度较好, 结果见表 1 和图 1。

表 1 分离状况

Tab 1 State of separation

名称	保留时间 /min	分离度	对称因子	理论板数
异烟肼	2.4	0	1.08	291 400
酞式利福平	6.6	18.8	1.05	316 500
未知物	7.6	1.96	0.999	106 700
利福平	8.6	3.60	1.08	1 192 000
N-氧化利福平	11.0	5.17	1.06	475 700
3-甲酰利福霉素 SV	20.3	11.37	1.33	521 000

2.3 专属性试验

基金项目: 863 计划, 编号: 2004AA223312

作者简介: 陈新菊, 女, 研究员

Tel: (0791) 8100735

E-mail: jxchenxinju@yahoo.com.cn

取本品,经酸(1 mol·L⁻¹)、碱(1 mol·L⁻¹)、氧化(H₂O₂)破坏和高温、高湿、光照破坏后,用乙腈制成溶液,在上述色谱条件下测定,结果经各种破坏的样品都有分解产物产生,在本方法中都能被检出。

取空白辅料同法检测,在2 min左右有个很小的峰,基本上不干扰样品的检测,见图1。

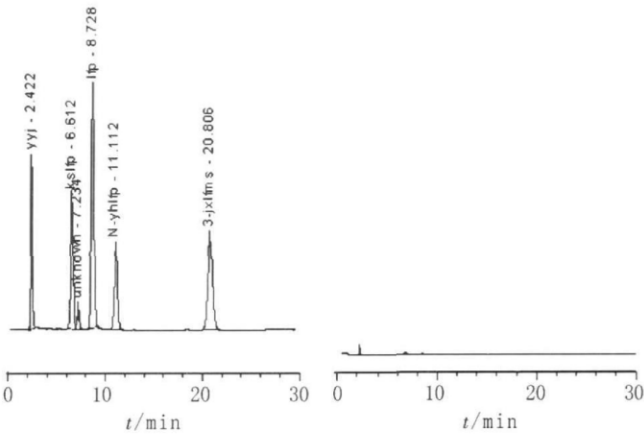


图1 各种杂质与样品的分离状况的色谱图和空白辅料的色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of impurities and blank accessories

2.4 校正因子的测定

本方法是采用利福平对照计算其他的杂质质量,经测定已知物质峰面积与利福平峰面积的校正系数:利福平、酞式利福平、N-氧化利福平、3-甲酰利福霉素SV分别为1.142, 1.64, 1.07。

2.5 标准曲线的绘制

取利福平对照品,用乙腈配成0.02 mg·mL⁻¹的溶液,进不同的量,测定峰面积,以峰面积与进样量绘成标准曲线,在0.02~0.3 μg内呈一直线,回归方程为Y=2141.320X-17.090, r=0.999(n=6)。

2.6 检测限的测定

取利福平、酞式利福平、N-氧化利福平和3-甲酰利福霉素SV对照品,用乙腈配成适当的浓度注入适量样,以信噪比为3时计算最低量,结果利福平、酞式利福平、N-氧化利福平和3-甲酰利福霉素SV的最低检测限分别为1.257, 2.004, 2.038和2 ng。

2.7 定量限的测定

取利福平对照品溶液稀释到一定浓度,重复进样多次,计算其准确度和精密度,测定结果为:最低定量限为0.022 2 μg, RSD为2.73%。

2.8 测定溶液的稳定性试验

取本品的乙腈溶液,在不同的时间点0.1, 2 h进行测定,结果为酞式利福平和3-甲酰利福霉素SV的量随着时间的延长不断增加,说明本品溶液不够稳定。

2.9 重复性试验

取同一批号的样品,按测定量的80%, 100%, 120%浓度,各取3份,共9份,制备成供试品溶液,按上法测定,分别计算各杂质的平均值和RSD,结果见表2。

表2 有关物质测定中的重复性试验结果(%)

Tab 2 Repeatability determination result of impurities

编号	称样量/mg	酞式利福平量	N-氧化利福平量	3-甲酰利福霉素SV量	其它杂质质量	总杂质质量
1	201.7	1.525	0.653	0.701	0.678	3.56
2	202.8	1.572	0.691	0.699	0.629	3.59
3	209.9	1.538	0.641	0.711	0.762	3.65
4	251.1	1.532	0.686	0.727	0.694	3.64
5	251.0	1.558	0.686	0.778	0.692	3.71
6	250.2	1.567	0.711	0.666	0.693	3.64
7	301.1	1.543	0.685	0.696	0.691	3.62
8	301.2	1.541	0.689	0.672	0.696	3.60
9	301.6	1.526	0.705	0.687	0.679	3.60
平均值		1.547	0.683	0.704	0.690	3.62
RSD/%		1.09	3.30	4.74	4.92	1.25

2.10 回收率试验

取本品(已知杂质质量)一定量,共9份,加入已知杂质对照品酞式利福平、N-氧化利福平、3-甲酰利福霉素SV对照品不同的量,进行测定,计算平均回收率,结果:酞式利福平、N-氧化利福平和3-甲酰利福霉素SV分别为:98.88%, 100.14%和97.08%; RSD分别为3.59%, 5.17%和5.18%。

2.11 样品测定

照上述方法,对多批样品进行测定,结果见表3。

3 讨论

3.1 经采用Zorbax SB-CN柱,以0.01 mol·L⁻¹庚烷磺酸钠液(pH 2.2)-乙腈为流动相进行试验,用乙腈作溶剂峰型不好,用流动相作溶剂溶液很不稳定。

表3 样品中有关物质的测定结果

Tab 3 Determination result of samples

批号	酞式利福平量/%	N-氧化利福平量/%	3-甲酰利福霉素SV量/%	其它杂质质量/%
050131	0.87	0.97	1.14	2.02
050132	1.00	1.10	1.23	2.15
050104	0.51	0.72	0.75	2.04
050217	1.53	0.75	0.93	0.69
050219	1.53	0.75	0.95	0.70
050704	0.58	0.86	0.51	1.43

3.2 采用Lichrospher 100 RP-8柱,以甲醇-乙腈-0.075 mol·L⁻¹磷酸二氢钾-1.0 mol·L⁻¹枸橼酸(30:30:36:4)为流动相,用流动相作溶剂,样品溶液很不稳定,3-甲酰利福霉素SV迅速增加。用乙腈作溶剂,样品溶液比较稳定,峰形及分离度均符合要求。

3.3 本品溶液稳定性不够好,在测定时,建议临用新配,即时检测。

3.4 异烟肼的分解产物没有紫外吸收,因此在本法中不能检测,异烟肼和利福平在水溶液中长期放置,会生成共生物AF-INH,在本法中可较好的被检测,保留时间约为3 min,本

品在检测时未发现此物。

3.5 本法经试验,表明灵敏度高,准确度高,可作为为异福双释胶囊的内在质量控制。

REFERENCES

[1] LI M. Progress on the fixed-dose combinations of antituberculous

medications[J]. Chin J Chin Pharmacol. (中国临床药理学杂志), 1998, 14(4): 239-243.

[2] Ch. P(2005) Vol II (中国药典 2005年版.二部) [S]. 2005: 265-267.

收稿日期: 2007-12-18