

HPLC测定注射用呋布西林钠的含量及有关物质

张菁,王金龙,姜建国(河北省药品检验所,石家庄 050011)

摘要:目的 建立注射用呋布西林钠的含量及有关物质的 HPLC测定方法。方法 采用 C_{18} 柱;以磷酸盐缓冲液($0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾溶液,用磷酸调 pH 3.5):乙腈(80:20)为流动相 A;以磷酸盐缓冲液($0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾溶液,用磷酸调 pH 3.5):乙腈(75:25)为流动相 B,含量测定以流动相 B等度洗脱,有关物质采用线性梯度洗脱;流速 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;检测波长为 225 nm。结果 呋布西林钠的线性范围为 $0.022\ 56\sim0.902\ 4\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, r 为 0.999 9,平均加样回收率为 100.1%,RSD为 0.65%($n=9$)。结论 方法简便、准确、灵敏度高,可同时用于产品的产量控制及有关物质检查。

关键词:呋布西林钠;高效液相色谱法;含量;有关物质

中图分类号:R917.101;R917.795;R943.3 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2008)07-0640-02

注射用呋布西林钠为氨基青霉素的脲基衍生物,有较强的抗菌活性。目前,原料药及其制剂为卫生部药品标准抗生素药品(第一册)1989年版所收载(标准编号为WS1-C2-0021-89),其含量测定方法为剩余量酸碱滴定法,操作繁琐,专属性差。美国药典29版(USP29)、英国药典2007版(BP2007)、EP5.0版,日抗基,日本药局方15版均未收载。我们根据《中国药典》2005年版有关规定,参考有关文献^[1],建立了含量测定及有关物质检查高效液相色谱法。实验结果表明,该方法准确、可靠、灵敏度高,可作为本品的质控方法。

1 仪器与试剂

Agilent1100色谱系统;呋布西林对照品(由本所标定,批号:070301含量:90.2%)注射用呋布西林钠为国内药厂产品;乙腈为色谱纯;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 有关物质测定

2.1.1 可能的有关物质种类 根据生产工艺,在呋布西林原料中杂质可能会有反应初始物、工艺产生的杂质和呋布西林降解产物。由于对原辅料和生产工艺的中间体进行严格控制所以呋布西林在后处理和贮藏过程中的降解产物为主要杂质。

2.1.2 色谱条件的选择 呋布西林含量测定方法和有关物质检查方法均采用HPLC法,暂时没有药典等收录。为保证方法的通用性,采用 C_{18} 柱为实验用柱。参考本类物质HPLC法,在确保所有杂质峰与主峰完全分离的情况下,采用线性梯度洗脱(见表1);流动相A:磷酸盐缓冲液($0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾溶液,用磷酸调 pH 3.5):乙腈(80:20),流动相B:磷酸盐缓冲液:乙腈(75:25),流速为 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

2.1.3 测定法 取本品适量,加水溶解并稀释成每1 mL中含4.0 mg的溶液,作为供试品溶液,精密量取1.0 mL,置100 mL量瓶中,加水稀释至刻度,作为对照溶液。取供试品溶液和对照溶液各10 μL ,分别注入色谱仪,记录色谱图见图1。

2.1.4 样品测定 按上述供试品溶液制备方法制得样品溶液,依法测定。测定结果见表2。

表1 线性梯度运行时间表

Tab1 Linear gradient schedule		
时间 /min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	100	0
20	0	100
35	0	100
50	100	0

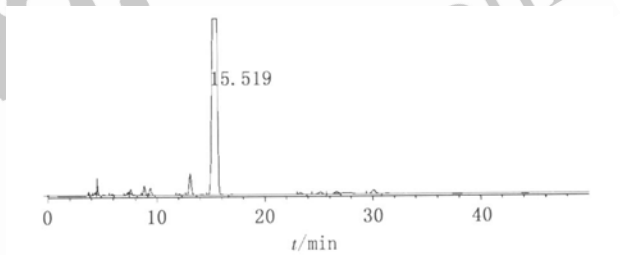


图1 有关物质色谱图

Fig 1 The chromatogram of related substance

表2 有关物质测定结果

Tab2 Test results for related substances			
厂 家	批 号	单一杂质 /%	杂质总量 /%
A厂	20061101	9.74	15.03
B厂	20060505	1.57	9.32
B厂	20050305	2.52	9.35

2.2 含量测定

2.2.1 溶液的制备 对照品溶液的制备 精密称取呋布西林对照品25 mg,置50 mL量瓶中,用水溶解并稀释至刻度。

供试品溶液的制备 精密称取本品25 mg,置50 mL量瓶中,用水溶解并稀释至刻度。

2.2.2 色谱条件 流动相B为流动相;流速为 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,检测波长225 nm。

2.2.3 线性范围 精密称取呋布西林对照品适量置量瓶中,用水制成一系列浓度0.02,0.04,0.09,0.22,0.44,0.9 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,在选定的条件下分别进样,记录各个浓度

的色谱峰面积,以浓度为自变量 (X),峰面积为因变量 (Y),进行直线回归,结果表明在 0.022 56 mg• mL⁻¹ ~ 0.902 4 mg• mL⁻¹范围内,供试品浓度与其峰面积呈良好的线性关系。回归方程为: A = 14 058.633 2 C + 76.626 954, r = 0.999 9。

2.2.4 回收率实验 精密称取已知含量的注射用呋布西林供试品 6份,分别精密加入近等量的呋布西林对照品。在选定的条件下测定,测得回收率结果为 100.1% RSD为 0.65%。结果见表 3。

表 3 回收率试验结果 (n = 9)

Tab 3 Results of recovery test(n = 9)					
取样量	加入量	测得量	回收率	平均回收	RSD / %
/mg	/mg	/mg	/%	率 / %	
25.04	25.12	22.61	99.8		
25.05	25.21	22.84	99.9		
25.15	25.32	22.74	99.5		
20.03	20.27	18.13	99.2		
20.04	20.17	18.35	100.4	100.1	0.65
20.12	20.48	18.53	100.3		
30.05	30.41	27.29	99.5		
30.06	30.25	27.50	100.3		
30.18	30.38	27.63	100.7		

2.2.5 日内重现性考察 用配制好的样品溶液在 0.1、2、3 h重复进样,以峰面积计算 RSD为 0.5%。

2.2.6 中间精密度 在不同日期、不同分析人员及不同设备,对同一批样品进行测试,精密度平均值 90.6% (n = 3), RSD = 0.4%。

2.2.7 检测限和定量限 取本品,用流动相溶解并稀释成一系列溶液,取 10 μL注入液相色谱仪,记录色谱图,计算信噪比 S/N≈ 3,最低检出限为 0.031 5 ng;计算信噪比 S/N≈ 10,最低定量限为 0.11 ng。

2.2.8 样品测定 按上述供试品溶液制备方法制得样品,依法测定,并与容量法测定结果进行比较。结果见表 4。

2.3 方法的耐用性试验

采用以上色谱条件,分别用 Hypersil C₁₈ (200 × 4.6 mm, 10 μm)色谱柱;大连依力特公司 Kromasil C₁₈ (200 × 4.6 mm,

5 μm)色谱柱;迪马公司钻石 C₁₈ (150 × 4.6 mm, 5 μm)色谱柱对同一样品进行了测定,结果表明,本法耐用性良好,符合测定要求。

表 4 样品测定结果

Tab4 Determination results of samples			
厂 家	批 号	HPLC法 / %	容量法 / %
A厂	20061101	85.4	94.8
B厂	20060505	90.6	92.7
B厂	20050305	89.8	93.7

3 讨论

3.1 检测波长的选择

呋布西林的紫外扫描结果表明在 272 nm 波长处有最大吸收,但呋布西林破坏后生成物多在 220 ~ 230 nm 处有吸收,对检查有关物质影响较大。分别选择检测波长为 225 nm、254 nm、272 nm 进行有关物质检查,发现在 225 nm 波长处检出的杂质峰较多,后两者不能很好的反映产品质量,故选用 225 nm 波长进行本品的有关物质检查及含量测定。

3.2 流动相中缓冲液的选择

分别选用磷酸盐缓冲液浓度为 0.1 mol• L⁻¹磷酸二氢钾溶液和 0.05 mol• L⁻¹磷酸二氢钾溶液,发现选用 0.1 mol• L⁻¹磷酸二氢钾溶液杂质峰的分离度较好;根据磷酸盐的 pKa值,选择了 pH 7.0、pH 5.0和 pH 3.5结果选择 0.1 mol• L⁻¹磷酸二氢钾溶液调节 pH 3.5使主峰和相邻杂质峰的分离度较好。

3.3 表 2结果说明不同批号样品的有关物质质量存在很大差异,本实验建立了 HPLC法测定注射用呋布西林钠的含量及有关物质的方法。对产品中的有关物质进行准确监控,方法简便、准确、灵敏度高。

参考文献

[1] Office of the British Pharmacopoeia Commission. British Pharmacopoeia 2007[M]. Publish on the recommendation of the Medicines Commission, 2007: 247

收稿日期: 2007-06-05