

HPLC 测定氯碘羟喹的含量及有关物质

张西如, 高燕霞, 姜建国, 孙婷(河北省药品检验所, 石家庄 050011)

摘要: 目的 建立氯碘羟喹的含量及有关物质的 HPLC 测定方法。方法 采用 C_8 柱, 以乙二胺四醋酸二钠缓冲液-甲醇 (35 : 65) 为流动相; 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 检测波长为 254 nm。结果 氯碘羟喹的线性范围为 $3 \sim 60 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9999$), 平均回收率为 99.8%, RSD 为 0.13% ($n=9$)。结论 方法简便、准确, 专属性强, 可作为产品的含量及有关物质的检测。

关键词: 氯碘羟喹; 高效液相色谱法; 有关物质

中图分类号: R943.3

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2009)10-0844-03

Determination of Clioquinol and Its Related Substances by HPLC

ZHANG Xiru, GAO Yanxia, JIANG Jianguo, SUN Ting(Hebei Provincial Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for content determination of clioquinol and related substances in clioquinol raw material. **METHODS** A C_8 column was used with the mobile phase of the buffer solution-methanol (35 : 65). The flow rate was $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ and the detection wavelength was 254 nm. **RESULTS** The calibration curves of clioquinol was linear in the range of $3\text{--}60 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9999$), and the average recoveries was 99.8%, RSD was 0.13% ($n=9$). **CONCLUSION** The method is rapid, accurate and reliable for determining the content and related substances in clioquinol raw material.

KEY WORDS: clioquinol; HPLC; related substances

氯碘羟喹系抗阿米巴病药物, 原国家药品质量标准中含量测定方法采用氧瓶燃烧-电位滴定法^[1], 该方法操作繁琐, 专属性差, 实验误差大。本研究建立了高效液相色谱法测定氯碘羟喹的含量及有关物质, 方法简便、快速、准确, 可作为氯碘羟喹含量及有关物质的有效测定方法。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱仪、二极管阵列检测器(美国安捷伦公司); 氯碘羟喹对照品(由本所标定, 纯度: 96.5%, 批号: 080601); 氯碘羟喹为国内药厂产品(批号: 0802010, 0802011, 0802012); 甲醇为色谱纯, 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 有关物质测定

2.1.1 色谱条件的选择 Agilent Zorbax C_8 柱 ($4.6 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$); 流动相: 乙二胺四醋酸二钠缓冲液(取乙二胺四醋酸二钠盐 0.5 g, 加水 400 mL, 振摇使溶解, 加三乙胺 4 mL, 用磷酸调节 pH 值至 3.0)-甲醇(35 : 65), 检测波长: 254 nm; 流速: $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样量: $20 \mu\text{L}$ 。

供试品溶液分别经高温、强酸、强碱、氧化、

光照破坏后进样测定, 在上述色谱条件下, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 主峰与杂质峰分离良好, 保留时间适宜。结果表明在选定的色谱条件下, 主峰与各杂质峰均能有效分离。

2.1.2 测定法 精密称取氯碘羟喹 12 mg, 置 250 mL 量瓶中, 加乙二醇甲醚-水(4 : 1)80 mL, 振摇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。精密量取 1 mL, 置 100 mL 量瓶中, 用上述溶剂稀释至刻度, 作为对照溶液。取供试品溶液和对照溶液各 $20 \mu\text{L}$, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 见图 1。

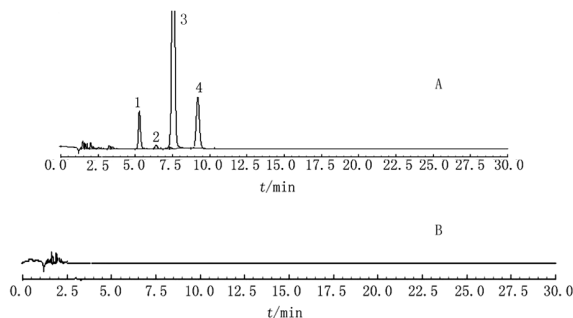


图 1 高效液相色谱图

A-有关物质; B-空白溶剂; 3-主峰; 1, 2, 4-杂质峰

Fig 1 HPLC chromatogram

A-related substance; B-blank solvent; 3-main peak; 1, 2, 4-impurity peak

2.1.3 样品测定 按“2.1.2”项下供试品溶液制备方法制得样品溶液，依法测定。按主成分自身对照法计算结果，结果见表1。

表1 有关物质测定结果($n=3$)

Tab 1 Test results for related substances ($n=3$)

批号	最大杂质/%	杂质总和/%
0802010	13.67	21.52
0802011	14.18	22.03
0802012	13.56	21.37

2.2 含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取氯碘羟喹对照品约 25 mg，置 50 mL 量瓶中，加乙二醇甲醚-水(4:1)溶液适量，振摇使溶解并稀释至刻度，精密量取 3 mL，置 50 mL 量瓶中，用上述溶液稀释至刻度，摇匀，作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取氯碘羟喹约 25 mg，按“2.2.1”项下方法操作，摇匀，作为供试品溶液。

2.2.3 色谱条件 同“2.1.1”。

2.2.4 线性范围 精密称取氯碘羟喹对照品适量，加流动相分别制成含氯碘羟喹 3, 7.5, 15, 30, 45, 60 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液，分别进样测定。以峰面积对浓度线性回归，得回归方程为： $A=148.82C+50.478$, $r=0.999\ 9$ ，结果表明，氯碘羟喹在 3~60 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

2.2.5 回收率试验 精密称取已知含量的氯碘羟喹原料(含量 76.3%)约 12.5 mg，9 份，均分为 3 组，分别加入氯碘羟喹对照品 10, 12.5, 15 mg，置 50 mL 量瓶中，加乙二醇甲醚-水(4:1)适量使溶解并稀释至刻度，摇匀，精密量取 3 mL，置 50 mL 量瓶中，用上述溶液稀释至刻度，摇匀，制得低、中、高 3 种浓度的溶液，进样测定，计算平均回收率为 99.8%，RSD 为 0.13%。结果见表 2。

表2 氯碘羟喹加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 2 Results of recovery test ($n=9$)

取样量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
12.53	10.06	9.68	99.8		
12.48	10.03	9.66	99.8		
12.52	10.10	9.71	99.6		
12.46	12.55	12.10	99.9		
12.57	12.42	11.98	100.0	99.8	0.13
12.52	12.53	12.08	99.9		
12.49	15.06	14.49	99.7		
12.55	15.04	14.50	99.9		
12.59	15.10	14.56	99.9		

2.2.6 仪器精密度、重复性和稳定性试验

2.2.6.1 仪器精密度 取对照品溶液，连续测定 5 次，测得峰面积的 RSD 为 0.12%，结果表明本方法

的仪器精密度较好。

2.2.6.2 重复性 取同一批样品，平行 6 份，按“2.2.2”项下方法处理，进样测定，结果样品含量的 RSD 为 0.15%，表明方法重复性良好。

2.2.6.3 稳定性 取同一份供试品溶液，分别在室温遮光放置 0, 2, 4, 8 h 后进样测定，计算氯碘羟喹峰面积的 RSD 为 0.20%，表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.2.7 耐用性试验 取同一份供试品溶液和对照品溶液，分别选用 LUNA C₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)和 Agilent Zorbax C₈ 柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm)测定，各杂质峰之间，杂质峰与主峰之间均有较好分离，含量测定结果基本一致。

2.2.8 样品测定 按中国药典 2005 版二部收载的氯碘羟喹含量测定方法操作：取本品约 40 mg，精密称定，照氧瓶燃烧法(附录 VII C)进行有机破坏，以氢氧化钠溶液(1→100)100 mL 与二氧化硫饱和溶液 2 mL 为吸收液，使生成的烟雾完全吸收后，转移至烧杯中，用缓冲液(取醋酸钠 13.61 g，加水 50 mL 使溶解，再加冰醋酸 6 mL，加水至 100 mL)分 4 次洗涤燃烧瓶，5 mL·次⁻¹，洗液并入烧瓶中，加丙酮 25 mL 与聚乙二醇 4000 少许，照电位滴定法(附录 VII A)，用银-玻璃电极，以 0.101 3 mol·L⁻¹ 的硝酸银滴定液滴定，第 1 次突跃点为碘的消耗量，第 2 次突跃点为氯的消耗量。按 1 mL 硝酸银滴定液(0.1 mol·L⁻¹)相当于 3.545 mg 的氯，相当于 30.55 mg 的氯碘羟喹计算含量，并与按上述 HPLC 制得的供试品溶液测定结果比较，结果见表 3。

表3 样品测定结果($n=3$)

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

批号	HPLC/%	原方法/%
0802010	76.3	93.5
0802011	76.7	93.1
0802012	76.5	93.4

3 讨论

氯碘羟喹除日本药局方未收载外，英国药典 2008 年版、欧洲药典 6.0 版和美国药典 31 版均有收载。其中英国药典 2008 年版和欧洲药典 6.0 版含量采用非水滴定法，并用 HPLC 检查其有关物质；美国药典 31 版采用硅烷化试剂进行衍生化后用气相色谱法(内标法)测定含量，但标准中无有关物质检查项。相比较而言，中国药典 2005 年版二部收载的氯碘羟喹含量测定方法明显滞后，除含量方法

操作繁琐、测定误差大外，其质量标准很难控制药品的质量。因此，为了保证人民群众用药安全有效，有必要对其含量测定方法乃至质量标准进行修订。

从 2 种含量测定方法结果可知，容量分析方法测得的结果与 HPLC 测得的结果相比明显偏高，表明原标准分析方法专属性较差，其测定结果不能反

映样品的真实质量，进一步说明了有关部门修订氯碘羟喹质量标准的必要性。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2005)Vol II (中国药典 2005 年版.二部)[S]. 2005: 775.

收稿日期: 2009-03-26