

高效液相色谱法测定注射用布美他尼含量

彭东明,黄可龙,刘艳飞,刘璐璐(中南大学化学化工学院功能材料化学研究所,长沙 410083)

摘要:目的 建立注射用布美他尼含量测定方法。方法 采用高效液相色谱法。Kromasil ODS-1 (5 μ m, 4.6mm \times 200mm)为色谱柱;甲醇-水(60:40)(磷酸调 pH值至 2.5)为流动相,流速为 1.0mL/min,检测波长为 220nm。结果 注射用布美他尼在 0.013 ~ 0.13mg/mL的范围内,线性关系良好 ($r=0.9999$),平均回收率为 100.2% (RSD为 0.90%)。结论 建立的方法简便、准确、专属性好,可用于注射用布美他尼的质量控制。

关键词:高效液相色谱法;注射用布美他尼;含量测定

中图分类号:R917.700.1 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2006)05-0404-03

Determination of bumetanide for injection by HPLC

PENG Dong-ming, HUANG Ke-long, LIU Yan-fei, LIU Lu-lu (Institute of Material and Chemistry, College of Chemistry and Engineering, Central South University, Changsha 410083, China)

作者简介:彭东明(1963),男,副研究员,在读博士,主要从事新药研究。Tel: 0731-5151098 E-mail: pengdmf@public.cs.hn.cn

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method to determine the content of bumetanide for injection. **METHODS** An HPLC assay was developed. Chromatographic assay was performed on a Kromasil ODS-1 (5 μ m, 4.6 \times 200mm) column using the mobile phase of methanol/water (60:40 adjusted to pH 2.5 with phosphoric acid) at the detection wavelength of 220 nm with the flow rate of 1.0 mL/min. **RESULTS** The calibration curve was linear in the range of 0.013~0.13 mg/mL ($r=0.9999$). The average was 100.2% with RSD of 0.90%. **CONCLUSION** The method had the advantage of simplicity, accuracy and reliability, and it may be used for the quantitative determination of bumetanide for injection.

KEY WORDS HPLC; bumetanide for injection; determination of content

布美他尼 (bumetanide, 化学名为 5-正丁氨基-4-苯氧基-3-氨基磺酰基苯甲酸), 是一种强效利尿药, 临床上主要用于水肿性疾病、高血压、急性药物中毒、高钾血症、高钙血症、预防急性肾功能衰竭等^[1-2]。中国药典 2000 年版二部用紫外分光光度法测定其制剂 (片剂、注射液) 的含量^{[3]120}, 笔者参考文献^[4-5], 经试验, 建立高效液相法测定注射用布美他尼的含量, 方法分离度好、灵敏度高、专属性强、简便, 可用于注射用布美他尼质量控制方法。

1 仪器与试剂

Waters 515 高效液相色谱仪, 2487 紫外检测器, 7725 手动进样器, TL9900 色谱工作站。

布美他尼对照品、注射用布美他尼供试品 (批号: 030310、030312、030314) 均由湖南五洲通药业有限责任公司提供; 甲醇为色谱纯, 水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Kromasil ODS-1, 5 μ m, 4.6mm \times 200mm; 流动相: 甲醇-水 (60:40) (磷酸调 pH 值至 2.5); 检测波长: 220nm; 流速: 1.0mL/min; 柱温: 室温; 进样量: 20 μ L。

2.2 溶液的配制

对照品溶液: 精密称取布美他尼对照品适量, 加流动相溶解并稀释制成每 1mL 中含布美他尼约为 0.01mg 的溶液, 即得。

样品溶液: 取注射用布美他尼 (批号: 030310) 适量, 加流动相溶解并稀释制成每 1mL 中含布美他尼约为 0.01mg 的溶液, 即得。

空白溶液: 称取处方量的空白辅料, 同样品溶液配置方法稀释, 得空白溶液。

2.3 系统适用性试验

取上述溶液 20 μ L, 按上述色谱条件, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 见图 1。试验结果表明: 此分离条件可行。

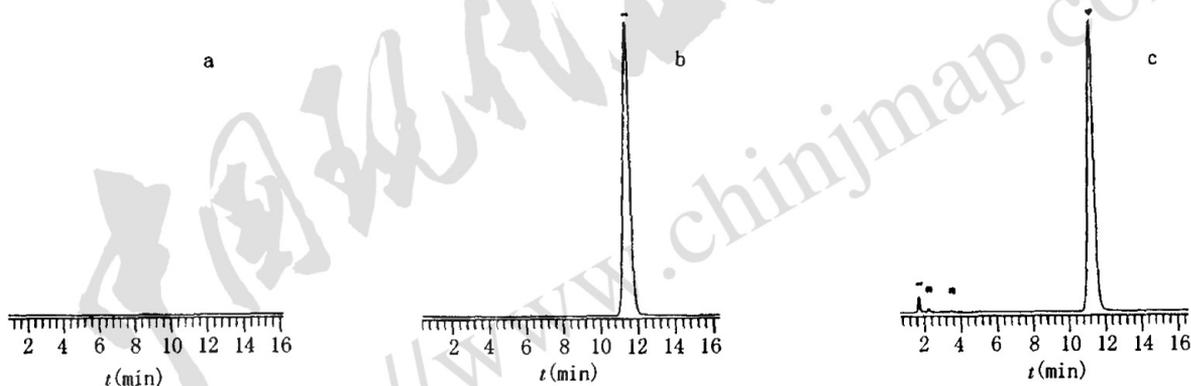


图 1 空白溶液 (a)、对照品溶液 (b) 与样品溶液 (c) 色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of solution of blank solution (a) and solution of reference substance (b) and sample solution (c)

2.4 线性关系试验

精密称取布美他尼对照品 12.5mg 置 250mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 精密量取 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 3.5, 5.0mL 分别置 10mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。精密量取上述溶液各 20 μ L, 分别进样, 记录峰面积。以浓度 C 为横坐标, 峰面积 A 为纵坐标, 进行线性回归, 得线性方程: $A = 10.23C + 0.001601$, $r = 0.9999$, 线性范围为 0.013~0.13mg/mL。

2.5 精密度试验

取对照品溶液适量, 按上述色谱条件, 连续进样 8 次, 其峰面积的 RSD 为 0.12%。

2.6 溶液的稳定性试验

取样品溶液适量, 分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12h 进样, 主峰

面积的 RSD 为 0.14%。

2.7 定量限和检测限以信噪 10:1 为指标, 测定布美他尼定量限为 0.6ng 以信噪 3:1 为指标, 测定布美他尼的最低检出限为 0.2ng。

2.8 重复性试验

取本品 (批号: 030310) 内容物适量 6 份, 精密称定, 按样品测定法 (HPLC 法) 测定, 结果 RSD 为 0.75% ($n=6$)。

2.9 回收率试验

精密称取对照品以及相当于主药处方量的空白辅料适量, 分别用流动相稀释制成相对含量测定浓度的 80%, 100%, 120% 的溶液, 各三份, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 按样品测定法 (HPLC 法) 测定。结果表明平均回收率为 100.2%, RSD 为 0.90%, 可见本方法的准确度高, 方法可行。

3 样品测定

3.1 UV法

精密称取本品内容物适量(相当于布美他尼 2.5 mg),置 25 mL量瓶中,加磷酸盐缓冲液(pH 7.4)溶解并稀释至刻度,摇匀,照分光光度法^{[3]26},在 328 nm的波长处测定吸收度,按 $C_{17}H_{20}N_2O_5S$ 的吸收系数为 98.5 计算,即得。结果见表 1。

3.2 HPLC法

精密称取本品内容物适量,加流动相溶解并稀释制成每 1 mL中含布美他尼约为 0.01 mg的溶液,精密量取 20 μ L,注入液相色谱仪,记录色谱图;另取布美他尼对照品适量,同法测定,按外标法以峰面积计算,即得。结果见表 1。

表 1 样品含量测定结果(标示量%, $n=3$)

Tab 1 The content results of samples (labeled amount%, $n=3$)

批号	UV法		HPLC法	
	含量(%)	RSD(%)	含量(%)	RSD(%)
030310	101.2		99.8	
030312	103.0	0.92	100.9	0.55
030314	102.6		100.3	

4 讨论

4.1 方法的比较

试验结果表明,高效液相色谱法和紫外分光光度法的含量测定结果相差约为 2%,且 RSD 值相差较大。这是由于布美他尼的吸收系数较小,采用紫外分光光度法灵敏度不高,故应改用灵敏度高的高效液相色谱法测定含量。

4.2 检测波长的选择

精密称取本品适量,加流动相稀释制成每 1 mL中约含布美他尼 10 μ g的溶液,另称取相当于处方量的空白辅料,同法配置空白溶液,照分光光度法测定^{[3]26},在 200 ~ 500 nm 波长范围内扫描。试验结果表明,本品在 220.90, 335.30 nm 波长处有较大吸收,空白辅料在 200 ~ 500 nm 波长范围内无吸收,而本品在 220.90 nm 处的吸收强度远大于 335.30 nm 处的吸收强度,故选择 220 nm 作为本品含量测定的检测波长,以提

高本品含量测定的检测灵敏度。

4.3 流动相的选择

为了得到良好的色谱图形和适宜的出峰时间,我们比较了不同组成的流动相。以醋酸钠缓冲液(pH 为 3.0)甲醇(40:60)为流动相时,发现此条件下的噪声太大,基线不平;以醋酸钠缓冲液(pH 为 3.0)甲醇(60:40)为流动相时,则主峰保留时间太长;而以甲醇-水(60:40)为流动相时,色谱图基线平稳,主峰峰形良好且保留时间适宜,故采用此流动相进行实验。

4.4 流动相 pH 的影响

将流动相甲醇-水(60:40)的 pH 分别用磷酸调至 2.0, 2.5, 3.0, 考察色谱行为,结果在 pH 为 2.5 时,拖尾因子最小,分离度最好。

参考文献

- [1] THE EDITORIAL COMMITTEE OF CHINA MEDICINE COLLECTION. China Medicine Collection (western medicine volume) (中国药物大全·西药卷)[M]. Beijing: People's Medical Press, (北京:人民卫生出版社), 2000: 161.
- [2] TIANXIAOQING, GONGYALIN, XUQUNFEN. The Stability Examination of Bumetanide Injection matched with 4 kinds of transfusion [J]. China Pharm J (中国药师), 2003, 6(9): 550-551.
- [3] ChP (2000) Vol II (中国药典 2000 年版·二部)[S]. 2000: 120, 26-27.
- [4] RUIZ-ANGEL MJ, TORRES-LAPASÍ JR, GARCIA-ALVAREZ-COQUE MC. Effects of pH and the presence of micelles on the resolution of diuretics by reversed-phase liquid chromatography [J]. J Chromatogr A, 2004, 1022: 51-65.
- [5] CARDA-BROCH S, TORRES-LAPASÍ JR, ESTEVE-ROMERO JS, et al. Use of a three-factor interpretive optimization strategy in the development of an isocratic chromatographic procedure for the screening of diuretics in urine samples using micellar mobile phases [J]. J Chromatogr A, 2000, 893: 321-337.

收稿日期: 2005-05-09