

HPLC - ELSD测定硫酸依替米星氯化钠注射液中依替米星的含量

周文威¹, 席时东² (1. 宁波市第二医院, 浙江 宁波 315010; 2. 宁波市药品检验所, 浙江 宁波 315040)

摘要: 目的 建立高效液相色谱 - 蒸发光散射检测法测定硫酸依替米星氯化钠注射液中依替米星含量的方法。方法 采用 ZORBAX SB C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 以 0.2 mol·L⁻¹ 三氟乙酸-甲醇 (84:16) 为流动相, SEDEX75 蒸发光散射检测器, 流速: 0.6 mL·min⁻¹, 柱温: 室温, 柱压: 93 bar, 检测器蒸发温度: 41 °C, 载气压力: 3.5 bar, Gain: 6, 进样量: 20 μL。结果 本方法能分离依替米星及相关物质, 依替米星浓度在 0.06 ~ 1.0 mg·mL⁻¹ 内呈良好的线性关系, $r=0.9997$ ($n=5$), 平均回收率为 (100.6 ± 1.1)% ($n=9$)。结论 本方法灵敏度高、专属性好, 可用于硫酸依替米星氯化钠注射液中依替米星含量的测定。

关键词: 依替米星; 高效液相色谱 - 蒸发光散射检测法

中图分类号: R917.101; R927.2; R978.27 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2008)08-0713-02

Determination of Etimicin Content in the Etimicin Sulfate Sodium Chloride Injection by HPLC-ELSD

ZHOU Wen-wei¹, XI Shi-dong² (1. The Second Hospital of Ningbo, Ningbo 315010, China; 2. Ningbo Institute for Drug Control, Ningbo 315040, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop an HPLC-ELSD method for the determination of etimicin content in the etimicin sulfate sodium chloride injection. **METHODS** The separation was performed on a ZORBAX SB C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with 0.2 mol·L⁻¹ trifluoroacetic acid-methanol (84:16) as mobile phase. The flow rate was set at 0.6 mL·min⁻¹. Column temperature was room temperature, inlet heater was 41 °C, gas pressure was 3.5 bar, Gain: 6. **RESULTS** The linear range for the content of etimicin was 0.06 ~ 1.0 mg·mL⁻¹, $r=0.9997$ ($n=5$). The recovery of etimicin was (100.6 ± 1.1)% ($n=9$). **CONCLUSION** The method is good sensitive and suitable for the determination of etimicin content.

KEY WORDS: etimicin; HPLC-ELSD

硫酸依替米星是我国自行研制开发的国家一类新药, 为硫酸庆大霉素 Cla 的乙基衍生物, 具有广泛的抗菌性质^[1]。目前, 国外药典均未收载, 2005年版中国药典为增订品种^[2]。我们参照 2005年版中国药典做依替米星含量的测定, 获得了满意的结果。

1 仪器与试剂

Agilent HPL1100 高效液相色谱仪, SEDEX75 蒸发光散射检测器; 奈替米星标准品 (中国药品生物制品检定所, 0355-20001); 依替米星对照品 (中国药品生物制品检定所, 130551-200501 58.7%)。硫酸依替米星氯化钠注射液 (宁波天衡制药有限公司, 规格: 100 mL: 0.2 g, 批号 20061101, 20061102, 20061103); 三氟乙酸和甲醇均为色谱纯 (美国 TEDIA 公司)。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的配制

精密称取依替米星对照品 22.23, 22.12, 22.38, 22.54, 10.76 mg 分别置 500, 200, 100, 50, 10 mL 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 配成约含 0.05, 0.1, 0.25, 0.5,

1.0 mg·mL⁻¹ 的溶液。

2.2 色谱条件

色谱柱: ZORBAX SB C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 0.2 mol·L⁻¹ 三氟乙酸-甲醇 (84:16); SEDEX75 蒸发光散射检测器, 流速: 0.6 mL·min⁻¹, 柱温: 室温, 进样量: 20 μL。

2.3 系统适用性试验

分别称取依替米星对照品、奈替米星标准品 3.45 mg, 4.30 mg 置 10 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 依替米星、奈替米星分离度 $R=2.72$ (应不小于 1.2)。奈替米星连续五次进样峰面积分别为 4769.8, 4757.8, 4730.7, 4788.6, 4734.7。RSD = 0.5% (规定应不大于 2.0%)。理论塔板数按依替米星峰计不低于 11291。

2.4 线性范围

分别取精密配置的各浓度对照溶液, 按上述色谱条件进行测定, 以对照品溶液浓度的对数值对相应的峰面积的对数值作线性回归, 得回归方程为 $y=0.7684x-3.4345$, $r=0.9997$ 。线性范围为 0.06 ~ 1.0 mg·mL⁻¹。

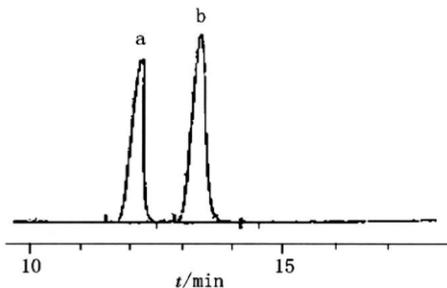


图 1 奈替米星标准品和依替米星对照品的色谱图

a- 奈替米星标准品; b- 依替米星对照品

Fig 1 HPLC figure of netilmicin standard and etimicin reference substance

a- Netilmicin standard b- Etimicin reference substance

2.5 重复进样精密度试验

取浓度为 $0.5292 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的依替米星对照品溶液, 按照“2.2”色谱条件连续重复进样 5 次, 结果其平均峰面积为 $13052.0 \pm 184 (n=5)$ 。表明仪器精密度良好。

2.6 溶液稳定性试验

取浓度为 $0.5292 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的依替米星对照品溶液, 按照“2.2”色谱条件连续重复进样 5 次, 每次相隔 2 h 结果其平均峰面积为 $13069 \pm 137 (n=5)$ 。

2.7 加样回收率试验

取已知含量的同一批硫酸依替米星氯化钠注射液样品 9 份, 分别加入高、中、低不同量的对照品, 依含量测定法, 测定其含量并计算回收率, 结果其平均回收率为 $(100.6 \pm 1.1)\%$ ($n=9$)。

2.8 重复性试验

精密量取同一批硫酸依替米星氯化钠注射液, 取用量分别相当于含量测定取用量的 80%、100%、120%, 各 3 份, 依含量测定法, 测定其含量, 结果其平均标示含量为 $(100.9 \pm 0.3)\%$ ($n=9$), 表明重复性好。

2.9 样品含量测定

精密量取样品适量, 加流动相稀释成每 1 mL 中约含 0.4 mg 的溶液, 摇匀, 得供试品溶液。分别取对照品和供试品溶液进样, 按外标法以峰面积对数值计算硫酸依替米星氯化钠注射液中依替米星的含量, 结果见表 1。

表 1 样品含量测定结果 ($n=3$)

Tab 1 Assay results of sample ($n=3$)

批号	标示量 %	RSD %
20061101	96.3	0.53
20061102	95.6	0.41
20061103	95.4	0.17

3 讨论

3.1 本实验由于流动相酸性较强, pH 为 0.9 左右, 所以须用能耐低 pH 的色谱柱, 否则会引起柱流失。

3.2 三氟乙酸试剂用进口 TEDIA 公司生产的色谱纯, 如果用国产三氟乙酸试剂, 流动相本底较高, 超出了检测器的检测范围。

3.3 蒸发光散射检测器是通用型检测器, 在本次实验中蒸发光散射检测器的响应值和样品浓度不呈线性关系, 而是二者对数值呈线性关系, 故本次实验计算过程均要做对数转换。

3.4 采用的 HPLC-ELSD 外标法, 专属性强, 灵敏度高, 适合于依替米星的质量控制。

参考文献

- [1] 陈新谦. 新编药理学 [M]. 第 15 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 202
- [2] Ch P (2005) Vol II (中国药典 2005 年版. 二部) [S]. 2005: 740-742

收稿日期: 2007-07-24