

HPLC 测定吡罗昔康注射液含量及有关物质

刘洪海(德州市食品药品检验检测中心, 山东 德州 253015)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法测定吡罗昔康注射液含量及有关物质。方法 色谱柱为 Inertsil ODS-SP(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.5%冰乙酸溶液(60:40); 流速为 0.8 mL·min⁻¹; 检测波长为 338 nm; 柱温为 30 ℃。结果 吡罗昔康在 0.016~158.7 μg·mL⁻¹ 内呈良好线性关系, $r=0.999\ 8(n=6)$ 。高、中、低 3 个浓度总的平均回收率为 99.13%, 仪器精密度 RSD 为 0.19%。结论 本方法方便、简单、准确, 适于吡罗昔康注射液含量及有关物质的测定。

关键词: 吡罗昔康注射液; 含量测定; 有关物质; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)09-1125-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.09.024

Determination of the Content and the Related Substances of Piroxicam Injection by HPLC

LIU Honghai(Dezhou Food and Drug Inspection Center, Dezhou 253015, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for determination of the content and the related substances of Piroxicam injection. **METHODS** Inertsil ODS-SP(4.6 mm×250 mm, 5 μm) column was adopted with methanol-5% glacial acetic acid (60:40) as the mobile phase at the flow rate of 0.8 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 338 nm and the column temperature was 30 ℃. **RESULTS** The linear range was 0.016–158.7 μg·mL⁻¹, $r=0.999\ 8(n=6)$; the average recovery was 99.13%, RSD was 0.19%. **CONCLUSION** The method is simple, accurate, sensitive and reliable for determination of Piroxicam injection.

KEY WORDS: Piroxicam injection; content determination; related substance; HPLC

吡罗昔康是一种非甾体类抗炎药物, 又名炎痛喜康, 用于类风湿、风湿性关节炎和急性肌肉骨骼疾患等。中国药典 2010 年版采用提取容量法测定含量^[1]。吡罗昔康片剂、注射剂、复方擦剂及中药非法添加西药制剂中吡罗昔康的 HPLC 测定均有报道^[2-5], 但 HPLC 测定吡罗昔康注射液的有关物质尚未见报道。本研究采用 HPLC 同时测定吡罗昔康注射液的含量及其有关物质。

1 仪器与试剂

XS205 型电子天平(瑞士梅特勒公司, 精密度为 0.01 mg); LC-20A 高效液相色谱仪(日本岛津, LabSolution(Lab 工作站))。

吡罗昔康对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 100177-200603, 含量: 100%); 吡罗昔康注射液(无锡华裕制药有限公司, 规格为 2 mL: 20 mg); 二甲替甲酰胺(AR, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 甲醇(色谱纯, 山东禹王实业有限公司化工分公司); 冰乙酸(AR, 天津市东区红岩试剂厂); 水(超纯水, 自制)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Inertsil ODS-SP(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.5%冰乙酸溶液(60:40), 流速为 0.8 mL·min⁻¹, 检测波长为 338 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 20 μL。

2.2 专属性试验

精密称取吡罗昔康对照品 19.79 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加 2 mL 二甲替甲酰胺, 振摇使溶解, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液。精密量取储备液 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 测得色谱图; 同时测定空白辅料和样品的色谱图, 见图 1。可见在该色谱条件下, 吡罗昔康能达到基线分离且峰形稳定, 理论板数>3 406, 分离度>2.4, 拖尾因子为 1.07。试剂及辅料不影响吡罗昔康含量测定。

2.3 线性关系考察

精密量取“2.2”项下储备液适量, 用甲醇稀释至系列浓度为 0.016, 1.587, 15.87, 63.48, 120.96,

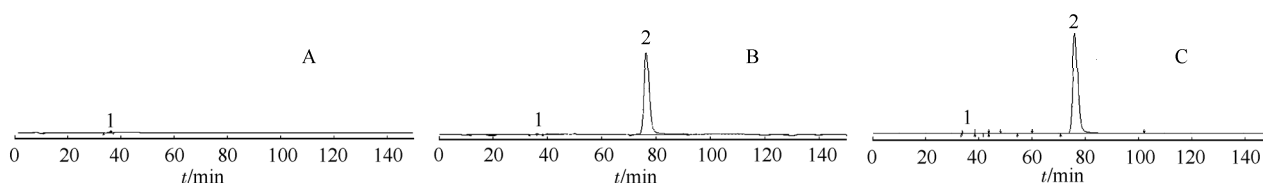


图1 空白辅料、对照品及样品的色谱图

A-空白辅料; B-对照品; C-样品; 1-空白辅料; 2-吡罗昔康。

Fig. 1 HPLC chromatograms of blank material, the reference solution and sample solution

A-blank material; B-the reference solution; C-sample solution; 1-blank material; 2-piroxicam.

$158.7 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 分别测定。以吡罗昔康对照品浓度 $x(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ 为横坐标, 峰面积 y 为纵坐标绘制标准曲线。线性范围为 $0.016\sim 158.7 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 回归方程为 $y=66\ 704x-20\ 016$, $r=0.999\ 8(n=6)$, 表明吡罗昔康浓度在 $0.016\sim 158.7 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内呈良好的线性关系。

2.4 仪器精密度的试验

精密量取储备液 10 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀后测定 6 次; 峰面积的 RSD 为 0.19%($n=6$)。

2.5 稳定性试验

取“2.4”项下溶液, 在 0, 2, 4, 6, 12, 24 h 分别测定, 记录峰面积, 峰面积的 RSD 为 0.5%, 稳定性良好。

2.6 回收率试验

按处方比例(80%, 100%, 120%)模拟吡罗昔康注射液, 精确配制 200 mL, 混合均匀。精密量取 2 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加 2 mL 二甲替甲酰胺, 振摇使溶解, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀。精密量取 10 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀后测定, 将所得峰面积代入回归方程计算回收率(每个浓度做 3 份), 3 种浓度总的平均回收率为 99.13%, RSD 为 0.24%($n=9$)。

2.7 重复性试验

取样品, 按“2.6”项下方法制备测试液, 测得平均含量为 98.7%, RSD 为 0.21%($n=3$)。

2.8 最低检出限及定量限考察

采用信噪比法, 取阴性空白溶液和线性关系考察所用对照品溶液, 以逐级稀释法(1:10)制得系列对照品溶液, 分别测定, 测得最低检出限为 $4.2 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (信噪比按 $S/N=3$), 定量限为 $13.9 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (信噪比按 $S/N=10$), 检出灵敏, 定量准确, 回收率高。

2.9 样品含量的测定

精密量取吡罗昔康注射液 2 mL, 置 100 mL

量瓶中, 按“2.6”项下方法操作, 测得色谱图见图 1, 计算含量($n=3$)。与中国药典 2010 年版中的方法比较, 测得结果基本一致, 结果见表 1。

2.10 有关物质的测定

2.10.1 供试品溶液的制备 取样品 4 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加 2 mL 二甲替甲酰胺, 振摇使溶解, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 取 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 既得。

2.10.2 对照品溶液的制备 精密量取供试品溶液 1 mL, 置 100 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.10.3 阴性空白试验 按处方配制吡罗昔康的阴性空白溶液, 依法测定。

2.10.4 专属性试验 将本品置不同条件下进行加速破坏, 考察破坏后的产物与主药的色谱分离情况。取吡罗昔康储备液 5 mL, 置 4 500 Lx 光强度下 10 d 后, 加甲醇至 10 mL, 作为光破坏样品溶液; 取吡罗昔康储备液 5 mL, 水浴加热 30 min, 放冷后加甲醇至 10 mL, 作为热破坏样品溶液; 取吡罗昔康储备液 5 mL, 加入 $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液, 放置 1 h 后, 加 $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氢氧化钠溶液 1 mL 中和, 加甲醇至 10 mL, 作为酸破坏样品溶液; 取吡罗昔康储备液 5 mL, 加入 $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氢氧化钠溶液 1 mL, 放置 1 h 后, 加 $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸溶液 1 mL 中和, 加甲醇至 10 mL, 作为碱破坏样品溶液; 取吡罗昔康储备液 5 mL, 加入 3% 双氧水溶液 2 mL, 水浴 30 min 后, 放冷, 加甲醇至 10 mL, 作为氧化破坏样品溶液。

取上述破坏性试验所得溶液, 分别测定, 记录色谱图至主成分峰保留时间的 3 倍, 结果表明, 在酸、碱、热、光照和氧化条件下均有不同程度的降解, 各降解产物峰与主成分峰均能达到较好的分离。光破坏时间越长, 有关物质越多, 主成分越少; 热破坏生成的有关物质数量多; 强氧化剂 3% 双氧水可以把吡罗昔康氧化为更多有关物质。结果见图 2。

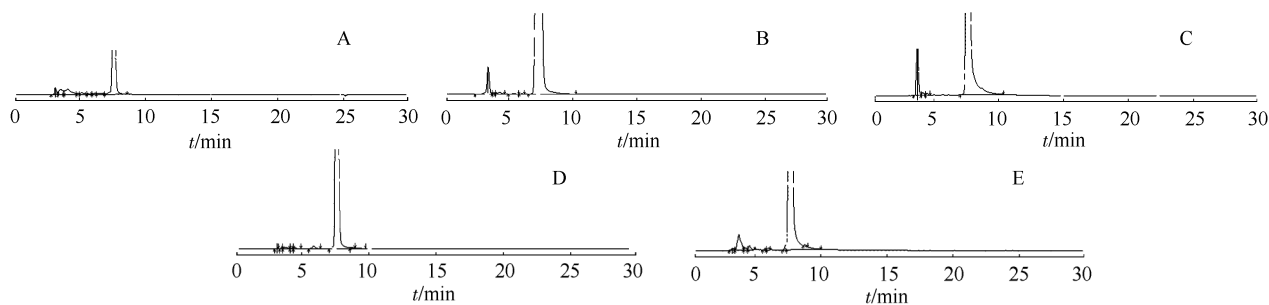


图2 专属性考察色谱图

A-10 d 4 500 Lx 光破坏; B-高温破坏; C-3%双氧水破坏; D-碱破坏; E-酸破坏。

Fig. 2 The exclusion inspection of detective method

A-10 d 4 500 Lx destroyed by light; B-destroyed by heat; C-destroyed by 3% H₂O₂; D-destroyed by alkali; E-destroyed by acid.

2.10.5 样品中吡罗昔康有关物质检查 取供试品溶液和对照溶液各 20 μ L, 分别测定。记录供试品溶液的色谱图至主成分峰保留时间的 3 倍, 调节检测灵敏度使对照溶液所得色谱图中吡罗昔康的峰高为满量程的 20%~25%, 以自身对照法计算杂质含量, 结果见表 1。

表1 含量及有关物质测定结果(n=3)

Tab. 1 Detemination results of content and related substances(n=3)

批号	本方法		中国药典 2010 年版中方法		有关物质含量/%
	样品含量/%	RSD/%	样品含量/%	RSD/%	
20131015	98.7	0.21	99.1	0.36	0.53
20140109	100.0	0.29	99.8	0.41	0.45
20140227	101.2	0.37	100.7	0.27	0.42

3 讨论

本研究在测定条件建立过程中试验了乙酸铵水溶液(0.01 mol·L⁻¹)-甲醇(80:20), 甲醇-含 0.25% 辛烷磺酸钠的 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠(用磷酸调节 pH=2.5)(65:35)以及甲醇-0.5%冰乙酸溶液(60:40)3 种流动相, 结果表明甲醇-0.5%冰乙酸溶液

(60:40)作为流动相理论板数较高, 分离度较好, 灵敏度较高。

在选定的色谱条件下, 吡罗昔康的最大吸收波长为 338 nm, 加速降解所得有关物质的最大吸收也在 338 nm 附近, 故选择 338 nm 波长同时测定吡罗昔康注射液的含量和有关物质。

吡罗昔康易被热、光、酸、碱和氧化物质破坏, 储存宜密封避光。本法简便、快速, 专属性强, 灵敏度高, 结果准确可靠。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 二部[S]. 2010: 340.
- [2] 仲平, 陈珍珊, 李云. RP-HPLC 法测定吡罗昔康片的含量[J]. 临床医学, 2002, 22(7): 51-52.
- [3] 曹玲, 唐树荣, 万嵘. HPLC 法测定吡罗昔康注射液的含量[J]. 药物分析杂志, 2001, 21(1): 47-48.
- [4] WAN Y F, LI A H. Determination of three constituents in compound ketoconazole liniment by RP-HPLC [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2013, 33(7): 1263-1266.
- [5] ZHAO Y, FU Y M, LI B J, et al. Determination of piroxicam adding illegally in Guci Xiaotong capsules by HPLC [J]. Chin Pharm Aff(中国药事), 2009, 23(2): 159-161.

收稿日期: 2014-12-16

UPLC-MS/MS 测定复方甘草口服溶液中 4 种生物碱含量

方雪其, 黄朝辉(宁波市药品检验所, 浙江 宁波 315048)

摘要: 目的 采用超高效液相色谱-质谱联用方法同时测定复方甘草口服溶液中吗啡、可待因、罂粟碱和可卡因的含量。方法 采用 Waters BEH C₁₈(50 mm×2.1 mm, 1.7 μ m)色谱柱, 流动相为含 0.1%甲酸的 0.02 mol·L⁻¹ 乙酸铵溶液(A)-甲醇(B), 梯度洗脱(0~1.5 min, 92%A; 1.5~2.0 min, 92%A→60%A; 2.0~4.5 min, 60%A; 4.5~4.6 min, 60%A→92%A; 4.6~5.0 min, 92%A), 流速为 0.2 mL·min⁻¹, 柱温为 35 $^{\circ}$ C; 质谱采用电喷雾离子源, 多反应监测模式(正离子)。结果 吗啡、可待因、

作者简介: 方雪其, 男, 主管药师 Tel: (0574)87529932 E-mail: 563579544@qq.com