

高效液相色谱法测定异烟肼注射液的含量

黎昌权

重庆市万州药品检验所,重庆 万州 404000

摘要 目的 探讨用高效液相色谱 (HPLC) 法测定异烟肼注射液的含量。方法 采用 Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水 (10:80), 检测波长为 263 nm, 流速为 1.0 mL/min。结果 进样量与峰面积的线性范围为 0.202 ~ 1.01 μg ($r = 0.9998$), 平均回收率为 99.53%, RSD 为 0.36% ($n = 6$)。结论 HPLC 法简便、准确、灵敏度高, 重现性好, 可用于异烟肼注射液的含量测定。

关键词 高效液相色谱法; 异烟肼注射液; 含量测定

中图分类号 R927.2; R978.3

文献标识码 A

文章编号 1006-4931(2008)08-0032-02

Content Determination of Isoniazid Injection by HPLC

Li Changquan

(Wanzhou Institute for Drug Control, Wanzhou, Chongqing, China 404000)

Abstract **Objective** To establish a method for the determination of Isoniazid Injection by HPLC. **Methods** Diamonsil C₁₈ 5μ column (250 mm × 4.6 mm) was used. The mobile phase was methanol-water (10:80). The detection wavelength was set at 263 nm, the flow rate was 1.0 mL/min. **Results** The linear range of hydrochloride was 0.202 ~ 1.01 μg ($r = 0.9998$), the average recovery rate was 99.53%, RSD was 0.36% ($n = 6$). **Conclusion** The method is simple, and accurate with higher sensitivity and good reproducibility. This method can be used for the content determination of Isoniazid Injection.

Key words HPLC; Isoniazid Injection; content determination

异烟肼注射液为临床常用的高效、低毒抗结核药物, 收载于 1989 年版《卫生部药品标准·化学药品及制剂 第一册》, 其定量方法为溴酸钾滴定法, 该方法易产生主观误差。为了更好地控制药品质量, 笔者用高效液相色谱 (HPLC) 法测定异烟肼注射液中异烟肼的含量, 获得了满意效果。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10ATVP 型高效液相色谱仪; Sartorius-CP224S 型电子天平 ($d = 0.1$ mg); Sartorius-ME215S 型电子天平 ($d = 0.01$ mg)。异烟肼对照品 [重庆迪康长江制药有限公司, 按 2005 年版《中国药典 (二部)》溴酸钾滴定法^[1]测定, 含量为 99.7%]; 异烟肼注射液 (市售, 规格为 0.1 g: 2 mL, A, B, C 厂产品批号分别为 060302, 051216, 060912); 冰醋酸, 溴酸钾 (分析纯); 甲醇 (色谱纯) 冰 重蒸馏水)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (10:80); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 263 nm; 进样量: 20 μL。

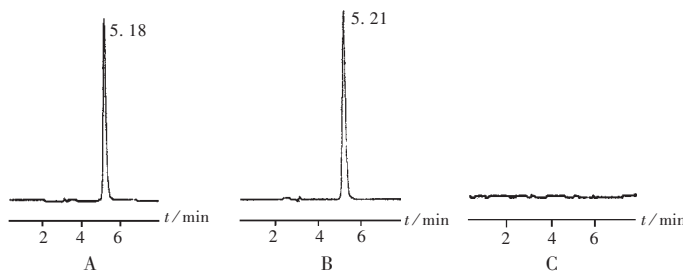
2.2 溶液制备

精密称取于 105℃ 干燥至恒重的异烟肼对照品 101.36 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液, 精密取贮备液 3 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀即得对照品溶液。精密取本品 2 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 精密取稀释液 3 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀即得供试品溶液。取不含异烟肼的空白制剂产品, 同法操作制成阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

系统适用性试验 分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 记录色谱图, 结果见图 1。可见, 其他成分对异烟肼的测定无干扰, 异烟肼的保留时间约为 5.2 min, 理论塔板数大于 5 000。

线性关系考察 精密量取对照品贮备液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 分别进样 20 μL



A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图 1 高效液相色谱图

测定, 记录峰面积, 以峰面积积分值 ($\bar{y}$) 对异烟肼对照品进样量 (μg) 进行线性回归。回归方程 $Y = 1.68 \times 10^6 X + 2.91 \times 10^3$, $r = 0.9998$ 。结果表明异烟肼进样量在 0.202 ~ 1.01 μg 的范围内与峰面积积分值线性关系良好。

精密度试验 精密吸取对照品溶液 20 μL, 重复进样 6 次。结果峰面积均值为 1 015 682, RSD 为 0.26%, 表明仪器精密度良好。

稳定性试验 取同一批号供试品溶液 20 μL, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 时进样, 记录色谱峰面积。结果峰面积均值为 1 015 576, RSD 为 0.56%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

重现性试验 取同一批号样品, 按供试品溶液制备方法制备 6 份待测溶液, 分别测定, 计算异烟肼含量。结果其平均含量 (标示量) 为 100.8%, RSD 为 0.62%, 表明方法重现性良好。

加样回收试验 精密量取已知含量的样品 (约相当于异烟肼 100 mg), 置 100 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 3 mL, 置 200 mL 量瓶中 (共 6 份), 再分别精密加入异烟肼对照品贮备液 2, 3, 4 mL (各 2 份), 加水稀释至刻度, 摇匀即得待测溶液。按上述色谱条件测定, 计算回收率, 结果见表 1。

2.4 样品含量测定 取 3 批样品, 按

表 1 异烟肼加样回收试验结果 ($n = 6$)

样品含量 (μg)	加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.302	0.202	0.504	100.00		
0.302	0.202	0.503	99.50		
0.302	0.303	0.603	99.01		
0.302	0.303	0.605	99.67	99.53	0.36
0.302	0.404	0.703	99.26		
0.302	0.404	0.705	99.75		

妇科止带片质量标准研究

岑淑姬, 陈学松, 林冬杰

广西壮族自治区梧州食品药品检验所, 广西 梧州 543002

摘要 目的 提高妇科止带片的质量标准。方法 用薄层色谱法鉴别椿皮、五味子, 用高效液相色谱 (HPLC) 法测定盐酸小檗碱含量。结果 方法平均回收率为 99.31%, RSD 为 1.00%。结论 定性、定量方法简便, 准确, 专属性强, 可以更有效地控制妇科止带片的质量。

关键词 妇科止带片 盐酸小檗碱 高效液相色谱法 薄层色谱法

中图分类号 R284.1; R286.0

文献标识码 A

文章编号 1006-4931(2008)08-0033-02

Study on Quality Standard of Fukezhidai Tablet

Cen Suji, Chen Xuesong, Lin Dongjie

(Wuzhou Institute for Food and Drug Control, Wuzhou, Guangxi, China 543002)

Abstract: Objective To develop the quality standard of Fukezhidai Tablet. Methods Using TLC to identify Cortex Ailanthi, schisandra chinensis; using HPLC to quantitate berberine hydrochloride. Results The average recovery rate was 99.31%, RSD = 1.00%. Conclusion The qualitative and quantitative method is simple, accurate and specific. The method can be used of the quality control for Fukezhidai Tablet.

Key words: Fukezhidai Tablet; berberine hydrochloride; HPLC; TLC

妇科止带片为《卫生部药品标准·中药成方制剂 第一册》载品种, 主要由椿皮、五味子、黄柏、龟板、茯苓、阿胶、山药七味中药组方, 具有清热燥湿、收敛止带的功能, 用于治疗慢性子宫颈炎、子宫内膜炎、阴道黏膜炎等引起的湿热型赤白带症。但原标准中无含量测定指标, 只有理化鉴别项, 专属性不强。为确保产品质量, 笔者采用薄层色谱 (TLC) 法对方中椿皮、五味子进行了定性鉴别, 同时应用高效液相色谱 (HPLC) 法测定方中黄柏的盐酸小檗碱含量, 结果令人满意, 该法可用于妇科止带片的质量控制。

1 仪器与试剂

岛津公司 LC-2010A HT 高效液相色谱仪。妇科止带片 (市售, 广西桂林安和药业有限公司) 阴性对照样品 (自制) 椿皮对照药材 (经广西中医药研究所鉴定为苦木科植物臭椿 *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle 的干燥根皮或干皮); 五味子乙素对照品 (批号为 110765-200205, 供含量测定用), 盐酸小檗碱对照品 (批号为 110713-200208, 供含量测定用), 甘氨酸对照品 (批号为 735-9001, 供含量测定用), 均由中国药品生物制品检定所提供。硅胶 G (青岛海洋化工厂); 乙腈 (色谱纯); 磷酸二氢钠等试剂 (均为 AR 级) 水 (重蒸馏水)。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

椿皮 取本品 5 片, 除去包衣, 研细, 加甲醇 30 mL, 水浴回流 30 min, 过滤, 滤液蒸干, 残渣用 20 mL 水溶解, 滤过, 滤液用乙醚振摇提取 2 次, 每次 20 mL, 弃去乙醚液, 水溶液用乙酸乙酯振摇提取 2 次, 每次 20 mL, 合并乙酸乙酯液, 蒸干, 残渣用甲醇 1 mL 溶解, 溶液作为供试品溶液。取除椿皮外其余各药按妇科止带片处方量投料, 制成阴性对照样品, 再按供试品溶液制备方法, 制备缺椿皮

的阴性对照品溶液。取椿皮对照药材 1.5 g, 加水煎煮 1 h, 过滤, 滤液浓缩至 30 mL, 自上述“用乙醚振摇提取 2 次”起同法制备对照药材溶液。照[2005 年版《中国药典 (一部)》附录 VI B]试验, 吸取上述 3 种溶液各 10 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯-甲酸 (6:4:1) 为展开剂展开, 取出晾干, 置紫外灯 (254 nm) 下检视。供试品溶液色谱中, 在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点, 阴性对照品溶液色谱则无此荧光斑点 (图 1 A)。

五味子 取本品 10 片, 除去包衣, 研细, 加甲醇 30 mL 回流 1 h, 放冷, 过滤, 滤液浓缩至 2 mL, 加 2 g 柱层析用硅胶, 拌匀, 蒸干, 置层析柱内 (ϕ = 1 cm) 用 20 mL 氯仿洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣用 1 mL 氯仿溶解, 溶液作为供试品溶液。取除五味子以外其余各药按妇科止带片处方量投料, 制成阴性对照样品, 再按供试品溶液制备方法, 制备缺五味子的阴性对照品溶液。取五味子乙素对照品, 用甲醇制成 1 mg/mL 的对照品溶液。照[2005 年版《中国药典 (一部)》附录 VI B]试验, 吸取上述 3 种溶液各 10 μ L, 分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上, 以石油醚 (60~90℃)-乙酸乙酯-甲酸 (5:2.5:0.5) 为展开剂展开, 取出晾干, 置紫外灯 (254 nm) 下检视。供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 阴性对照品溶液色谱中则无此斑点 (图 1 B)。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱 十八烷基硅烷键合硅胶柱 流动相 乙腈-用磷酸调 pH 至 3.0 的 0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液 (40:60) 流速 1.0 mL/min; 检测波长 270 nm 柱温: 室温, 进样量: 10 μ L。在此条件下, 理论板数按盐酸小檗碱峰计算应不低于 4 000, 色谱图见图 2。

时的情况。结果表明, 以甲醇-水 (40:60) 为流动相时理论塔板数高, 拖尾因子小。

3.2 HPLC 法测异烟肼注射液含量, 主客观因素的干扰较小, 且准确、简便、重现性好, 可作为异烟肼注射液的定量分析方法。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (二部) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 217.

收稿日期 2007-08-20 修回日期 2007-10-24

2.2 项下方法制备供试品溶液, 精密量取 20 μ L, 按外标法计算含量, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果 ($n=3$)		含量 (标示量的%)	
厂家	批号	HPLC 法	滴定法
A	060302	100.8	101.3
B	051216	98.6	99.2
C	060912	97.5	98.2

3 讨论

3.1 取样品溶液, 用二极

管检测器在 200~400 nm 波长范围内扫描。结果在 263 nm 波长处异烟肼的吸光强度最大, 故选 263 nm 作为检测波长。比较了不同比例的甲醇-水作为流动相