

表 2 样品测定结果, n= 6

Tab 2 Analytical results of samples. n= 6

样品	CZE 法		UV 法 ^[4]	TLC ^[5]
	氯霉素/ %	二 醇 物/ %	(氯 霉 素 + 二 醇 苷)	二 醇 物/ %
	相对于氯霉素		/ %	
000708	90. 2	5. 9	102. 8	< 8
000414	99. 1	6. 9	110. 2	< 8
000416	100. 2	6. 2	111. 1	< 8
200005242	82. 0	17. 3	105. 1	> 8
200011152	102. 6	2. 4	108. 3	< 8

4. 1 试验条件的筛选

4. 1. 1 pH 值的选择 我们曾选择不同 pH 值 (4. 0, 5. 0, 6. 0, 7. 0, 8. 0, 9. 0) 的缓冲液进行试验, 发现 pH 碱性条件时, 氯霉素较稳定, 二 醇 物 则 容 易 进 一 步 分 解, 且 pH 越 大, 二 醇 物 越 不 稳 定。在 pH 为 酸性 时, 二 醇 物 稳 定, 氯 霉 素 则 容 易 发 生 变 化, 且 峰 型 变 钝, 使 测 定 的 结 果 RSD 增 大。同时考虑到各峰之间的分离度, 我们选择了 pH6. 0 的条件。

4. 1. 2 离子强度的选择 考察了一系列离子强度的溶液, 发现随着离子强度的增大, 各峰之间的分离度在增大, 增大到一定浓度时, 分离度不再改变, 而且随着离子强度的增大, 在相同的电压下, 运行电流的强度也在增大, 这就影响到样品的稳定性。综合上述条件, 选择了 0. 05 mol·L⁻¹ 的磷酸盐缓冲液。

4. 2 在紫外分光光度分析中, 氯霉素的 最大 吸 收 在 278 nm, 二 醇 物 的 最 大 吸 收 在 271 nm, 而且两者的峰形完全相同。在测定氯霉素时, 由于二 醇 物 的 存 在, 使 氯 霉 素 的 最 大 吸 收 发 生 改 变, 再 由 于 赋 形 剂 的 存 在, 干 扰 了 氯 霉 素 的 测 定, 使 氯 霉 素 的 含 量 普 遍 偏

高。采用 CZE 法可排除干扰, 并能够同时对氯霉素和二 醇 物 进 行 含 量 测 定 和 控 制 有 关 物 质 的 限 量。

4. 3 从表 2 不难看出, 用紫外分光光度法测定含 量, 不能区别氯霉素和二 醇 物。测得的为两者的混 合物, 与实际氯霉素的含量不一致。这样的制剂会 直接影响临床的治疗效果。而且有的含量已经低于 标示量的 85%, 为不合格产品。

4. 4 氯霉素制剂的不稳定性是一个普遍的难题。 从我们实验所得结果看, pH 值偏酸性一些, 氯霉素 分解减慢, 故制剂的 pH 值最好控制在 6. 0 以下, 并 应低温、避光保存。中国药典 2000 年版重新规定氯 霉素滴眼液的有效期仅为一年, 也证明了不稳定性的 存在。另外, 在生产过程中操作不严格, 也会造成 分解产物的增加, 使药品在出厂时, 含量已不符合规 定了。由于氯霉素滴眼液以及类似制剂的广泛应用, 保障质量, 保障用药的安全、有效是我们当前应该 认真注意和解决的问题。

参考文献

[1] 王宝树, 黄桂林, 陈世馨. 永停滴定法检测氯霉素滴眼液的含 量[J]. 江西中医学院学报, 1995, (7): 340.
[2] 唐蕾. 紫外分光光度法测定半成品氯霉素滴眼液的含量[J]. 中国医院药学杂志, 1999, 19(9): 566.
[3] 刘志邦, 梁君, 余谨发. 双波长紫外分光光度法测定复方氯霉 素醇溶液的含 量[J]. 药学实践杂志, 1996, 14(4): 241.
[4] 林朝仙. 旋光法测定氯霉素眼药水中氯霉素含量[J]. 汕头大 学医学院学报, 1997, 10(4): 77.
[5] 中国药典. 2000 年版. 二部[S]. 2000: 931.
[6] BP. 2000 年版. III[S]. 2000: 101.
[7] USP. 23 版. I [S]. 2000: 375.

(收稿日期: 2001-04-09)

枸橼酸莫沙必利及其制剂的 HPLC 测定

邵泓 (上海市药品检验所, 上海 200233)

摘要: 目的 建立枸橼酸莫沙必利及其颗粒和片剂含量测定的 HPLC, 为原料和制剂的质量控制提供有效的分析手段。方法 色 谱 柱: Diamonsil C₁₈ 柱; 流动相: 甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(600: 400: 0. 5: 1); 检测波长: 274 nm。结果 制剂中辅料和有关物 质 对 主 药 无 干 扰, 枸 橼 酸 莫 沙 必 利 在 浓 度 39. 62~ 356. 6 μg·mL⁻¹ 范 围 内 线 性 关 系 良 好, 相 关 系 数 r = 0. 999 9 (n = 5); 颗 粒 与 片 剂 的 平 均 回 收 率 (n = 6) 分 别 为 100. 2% (RSD = 0. 70%), 100. 9% (RSD = 1. 1%)。结论 本法专属性强, 准确, 简便。

关键词: 枸橼酸莫沙必利; 原料; 制剂; 高效液相色谱法

中图分类号: R917. 01, R974 文献标识码: A 文章编号: 1001- 2494(2002) 05- 0367- 04

Determination of mosapride citrate and its preparations by HPLC

SHAO Hong (Shanghai Institute for Drug Control, Shanghai 200233, China)

作者简介: 邵泓, 女, 主管药师 Tel: (021) 64703139

ABSTRACT: OBJECTIVE In order to control the quality of mosapride citrate and its preparations, a method for the determination of mosapride citrate and its content in granules and tablets was developed. **METHOD** The chromatographic column of Diamonsil C₁₈ was used. The mobile phase was consisted of methanol-water-acetic acid-glacial triethylamine (600: 400: 0.5: 1). The detection wavelength was at 274 nm. **RESULTS** Mosapride citrate and the other components in the samples were separated completely. The relationship between response and the concentration over the range of 39.62~356.6 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ was linear with the correlation coefficient of 0.999 9. The average recoveries ($n=6$) of mosapride citrate granules and tables were 100.2% ($RSD=0.70\%$) and 100.9% ($RSD=1.1\%$), respectively. **CONCLUSION** The method was specific, accurate and simple.

KEY WORDS: mosapride citrate; raw material; preparation; HPLC

枸橼酸莫沙必利为5-羟色胺(5-HT₄)受体激动剂,刺激乙酰胆碱释放,增强胃及十二指肠运动,为新型安全有效的消化道动力药^[1]。中国药典和国外药典均未收载。厂方标准中枸橼酸莫沙必利原料采用高氯酸非水滴定法测定含量,其颗粒剂和片剂则均采用紫外分光光度法测定含量,迄今采用HPLC测定含量的方法笔者尚未见报道。笔者考察了制剂中辅料和有关物质对主药色谱分离的影响情况,发现在本实验建立的HPLC方法中,上述组分与主药均能完全分离,方法专属性强,准确,方便。

1 仪器与试剂

HP 1100 高效液相色谱仪,1100VWD 紫外可见检测器,1100 自动进样器,HP 化学工作站(美国惠普)。

枸橼酸莫沙必利(批号:105,111,112);枸橼酸莫沙必利颗粒(规格:1g:10 mg;批号07302,09101,08201);枸橼酸莫沙必利片(规格:5 mg;批号08201,08402,09101);枸橼酸莫沙必利对照品(纯度:99.7%)均由大日本制药株式会社提供;甲醇为色谱纯;冰醋酸、三乙胺、氢氧化钠、盐酸和过氧化氢均为分析纯。

2 实验方法

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相: 甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(600: 400: 0.5: 1);流速: 1.5 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$;检测波长: 274 nm;进样量: 10 μL ;理论板数按枸橼酸莫沙必利峰计算为3970。典型色谱图见图1。

2.2 对照品溶液的制备

取枸橼酸莫沙必利对照品约50 mg,精密称定,置50 mL量瓶中,加甲醇适量使溶解并稀释至刻度,作为对照品贮备液($1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$),精密量取对照品贮备液适量,用甲醇定量稀释制成每1 mL中含0.2 mg的溶液,作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

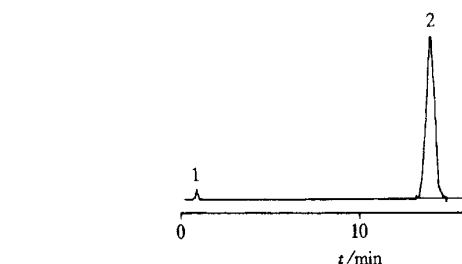


图1 典型色谱图

1- 溶剂; 2- 枸橼酸莫沙必利

Fig 1 Typical chromatogram

1- solvent; 2- mosapride citrate

原料: 取本品适量,精密称定,加甲醇溶解并定量稀释制成每1 mL中约含0.2 mg的溶液,作为供试品溶液。

颗粒剂: 精密称取本品适量(约相当于枸橼酸莫沙必利10 mg),置50 mL量瓶中,加甲醇适量,超声15 min,放冷,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过。取续滤液作为供试品溶液。

片剂: 取本品20片,精密称定,研细,精密称取细粉适量(约相当于枸橼酸莫沙必利10 mg),置50 mL量瓶中,加甲醇适量,振摇15 min,放冷,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过。取续滤液作为供试品溶液。

3 结果

3.1 专属性考察

取枸橼酸莫沙必利适量,分别加0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸甲醇溶液和3%过氧化氢甲醇溶液,制成每1 mL中含10 mg的溶液,避光放置,于12和24 h时取样,分别加甲醇稀释成每1 mL中含1 mg的溶液,作为酸性介质中的分解产物的溶液和氧化性介质中的分解产物的溶液。另取枸橼酸莫沙必利适量,加甲醇制成每1 mL中含10 mg的溶液,于紫外光灯(254 nm)下放置,于12和24 h取样,加甲醇稀释成每1 mL中含1 mg的溶液,作为光照分解产物的溶液。另取经80℃加热10 h的枸橼酸莫沙必利适量,加甲醇稀释成每1 mL中含1 mg的溶液,作

为加热分解产物的溶液。色谱图分别见图 2~ 5。在所选色谱条件下主成分与生成的分解产物均能完全分离。

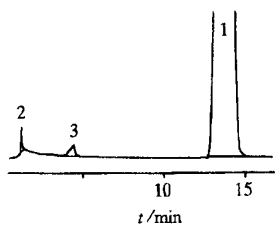


图 2 酸性介质中的分解产物(24 h)的色谱图
1- 枸橼酸莫沙必利; 2- 溶剂; 3- 未知分解产物

Fig 2 Chromatogram of degradation products by acid hydrolysis

1- mosapride citrate; 2- solvent; 3- unknown degradation product

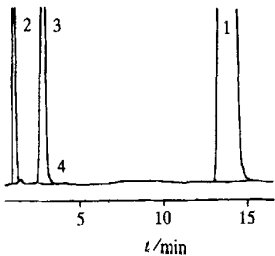


图 3 氧化性介质中的分解产物(24 h)的色谱图
1- 枸橼酸莫沙必利; 2- 溶剂; 3, 4- 未知分解产物

Fig 3 Chromatogram of degradation products by oxidation
1- mosapride citrate; 2- solvent; 3, 4- unknown degradation products

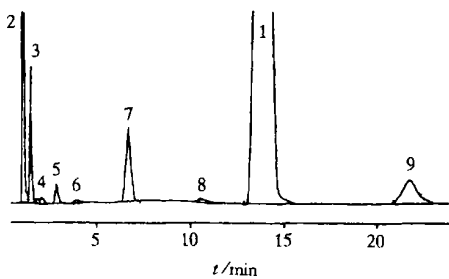


图 4 光照后的分解产物(24 h)的色谱图
1- 枸橼酸莫沙必利; 2- 枸橼酸; 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9- 未知分解产物

Fig 4 Chromatogram of degradation products by light

1- mosapride citrate; 2- citrate; 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9- unknown degradation products

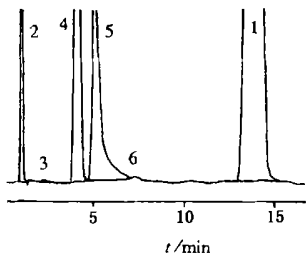


图 5 80℃加热 10 h 的分解产物的色谱图
1- 枸橼酸莫沙必利; 2- 枸橼酸; 3, 4, 5, 6- 未知分解产物

Fig 5 Chromatogram of degradation products by heating
1- mosapride citrate; 2- citrate; 3, 4, 5, 6- unknown degradation products

3.2 有关物质的测定

取原料、颗粒剂和片剂细粉适量, 加甲醇溶解并

定量稀释成每 1 mL 中约含枸橼酸莫沙必利 1 mg 的溶液(颗粒剂和片剂经滤膜滤过), 取该溶液 10 μ L, 注入液相色谱仪, 按面积归一化法计算有关物质的量, 见色谱图 6。从图中可见, 样品中辅料和有关物质与主药分离完全, 不影响测定, 结果见表 1。

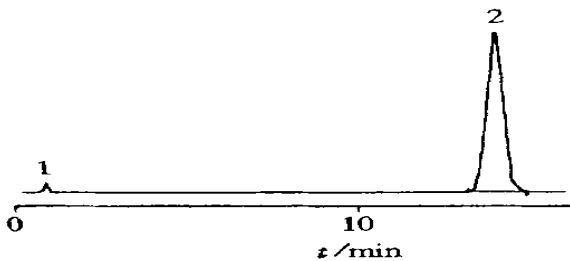


图 6 有关物质测定色谱图(片剂)

1- 溶剂; 2, 3, 5- 未知杂质; 4- 枸橼酸莫沙必利

Fig 6 Chromatogram of related substances(tablets)

1- solvent; 2, 3, 5- unknown impurities; 4- mosapride citrate

表 1 有关物质测定结果, %, n = 2

Tabl examination of related substances, %, n = 2

剂型	批号	有关物质/ %	剂型	批号	有关物质/ %
原料	105	0.02	片剂	08201	0.15
	111	0.02		08201	0.86
	112	0.02		08402	0.82
颗粒	07302	0.11		09101	0.86
	09101	0.12			

3.3 线性范围

精密量取“2. 2”项下对照品贮备液 1, 3, 5, 7, 9 mL, 分别置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 进行线性考察。结果表明, 在浓度为 39. 62~ 356. 6 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 范围内, 枸橼酸莫沙必利峰面积与浓度的线性关系良好, 回归方程为: $A = - 2. 990 9 + 10 431. 81 c$, $r = 0. 999 9$ 。

3.4 精密度试验

精密量取对照品溶液 10 μ L, 重复进样 6 次, 测定各次枸橼酸莫沙必利峰面积值, 结果 RSD 为 0. 44%。对同一批号的 6 份样品进行平行测定考察重复性, 结果原料(批号为 105)含量的平均值为 99. 8%, RSD 为 0. 13%; 颗粒剂(批号为 07302)含量的平均值为 96. 8%, RSD 为 0. 98%; 片剂(批号为 08201)含量的平均值为 99. 0%, RSD 为 0. 51%。

3.5 溶液稳定性试验

取对照品溶液在 0, 2, 5, 10, 20, 26 h 进行试验, 枸橼酸莫沙必利峰面积平均值为 2 030. 89, RSD 为 0. 66% (n = 6), 表明该溶液较稳定。

3.6 回收率试验

精密称取已知含量的颗粒或片剂粉末适量(约相当枸橼酸莫沙必利 5 mg), 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 分别精密加入对照品贮备液 4, 5, 6 mL, 超

声 15 min, 加甲醇稀释至刻度(相当标示量的 80%, 100%, 120%), 滤过。精密量取续滤液 10 μ L, 注入液相色谱仪, 按外标法以峰面积计算, 结果颗粒剂的平均回收率为 100.2%, *RSD* 为 0.70% (*n* = 6); 片剂的平均回收率为 100.9%, *RSD* 为 1.1% (*n* = 6)。

3.7 含量测定

精密量取“2.2”项下对照品溶液和“2.3”项下供试品溶液 10 μ L, 注入液相色谱仪, 按外标法以峰面积计算, 并与原厂标方法进行了比较, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果, %, *n* = 2

Tab 2 Determination of sample, %, *n* = 2

剂型	批号	HPLC	厂标方法	剂型	批号	HPLC	厂标方法
原料	105	99.9	99.6	片剂	08201	99.2	100.0
	111	99.7	99.7		08201	97.9	100.6
	112	99.8	99.6		08402	98.2	99.4
颗粒	07302	97.2	96.5		09101	97.7	99.8
	09101	97.9	98.4				

4 讨论

4.1 检测波长的选择 在 200~350 nm 的波长范围内进行紫外扫描, 枸橼酸莫沙必利在 274 nm 和 308 nm 波长处均有最大吸收, 但 274 nm 波长处的响应值比 308 nm 波长处的响应值大, 故检测波长选择为 274 nm。

4.2 流动相的选择: 曾选择流动相为甲醇-水(600:400)和甲醇-水-冰醋酸(600:400:1), 结果出峰很快, 主药在色谱柱中几乎无保留, 峰形极其不对称, 前拖尾。由于枸橼酸莫沙必利结构中含酰胺基, 故在流动相中加入改性剂三乙胺, 但当流动相为甲醇-水-三乙胺(600:400:1)时, pH 值约为 10.9, 太偏碱, 对色谱柱寿命有影响, 比较流动相为甲醇-水-冰

醋酸-三乙胺(600:400:1:1)和甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(600:400:0.5:1)时, 发现后者柱效更高, 峰对称性更好, 色谱条件最佳, 故流动相选择为甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(600:400:0.5:1)。

4.3 从色谱图 2~5 中可见, 原料经酸性介质、氧化性介质以及光照和加热破坏后所产生的有关物质与主药分离完全, 同时在建立的色谱条件下对原料及颗粒剂、片剂的有关物质进行了测定, 结果辅料和有关物质对主药无干扰, 片剂中的杂质质量最大。从以上图谱中亦可见紫外光照对本品影响较大, 故样品应避光保存。

4.4 从表 1, 表 2 可见, 颗粒剂中杂质较少, 其 HPLC 测定的含量结果同厂检标准中 UV 结果基本一致, 而片剂中杂质近 1%, 其 HPLC 测定的含量结果均低于 UV。笔者曾将经紫外照射 12 h 的溶液分别用 HPLC 和 UV 做了含量测定, 结果三批样品(105, 111, 112)的 HPLC 测定结果分别为 97.8%, 98.7%, 95.9%; UV 测定结果分别为 100.7%, 100.5%, 99.7%, 明显高于前者的测定值, 从而进一步说明了用 UV 不能真实地反映本品的含量, 而 HPLC 专属性强, 能对含量准确地加以测定。

4.5 在本色谱条件下, 也可以按内标法以峰面积计算含量, 内标物可选择苯甲酸乙酯, 理论板数按枸橼酸莫沙必利峰和内标峰计分别为 3905, 4544, 两者的分离度为 9.01。

致谢 本文得到侯美琴主任药师的指导 和帮助。

参考文献

[1] 王振华. 新型消化道动力药——莫沙必利(贝络钠)[J]. 中国新药与临床杂志, 2000, 19(1): J1.

(收稿日期: 2001-11-01)

高效液相色谱法测定仙茅中仙茅苷的含量

潘馨¹, 郭素华²(1. 福建省药品检验所, 福建 福州 350003; 2. 福建中医学院, 福建 福州 350003)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法测定仙茅中仙茅苷的含量。方法 Nova-pakC₁₈(250 mm $\times$ 4.6 mm, 10 μ m) 色谱柱, 流动相为甲醇-水(40:60), 流速为 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹, 检测波长为 275 nm。结果 仙茅苷在 0.348 5~2.788 μ g 范围内呈良好的线性关系, 回归方程为 $Y = 2 \times 10^6 X + 34\ 221$ ($r = 0.999\ 9$), 平均回收率为 100.07%, *RSD* 为 0.83%。结论 本法简便、快速、灵敏、准确, 重现性好, 可作为仙茅的质量标准。

关键词: 高效液相色谱法; 仙茅; 仙茅苷; 含量测定

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1001-2494(2002)05-0370-03

基金项目: 福建省卫生厅科研基金课题(99-1-04) 作者简介: 潘馨, 女, 副主任药师 Tel: (0591) 7512074; E-mail: ppanx@163.net