

外,其余 4 批均测定了含量。实验表明,本方法较部颁标准中雷公藤多甙片所采用的薄层扫描法在稳定性、重现性及灵敏度方面均明显提高,可以作为常规检验方法。

参考文献

- [1] 湖南省卫生厅: 湖南省中药材标准 1993 年版, 湖南科学技术出版社
- [2] 上海市卫生局: 上海市中药材标准
- [3] 云南省卫生厅: 云南药品标准, 1994 年版
- [4] 广西壮族自治区卫生厅: 广西中药材标准(第二版), 1996
- [5] 卫生部药典委员会: 卫生部药品标准中药成方制剂

HPLC-ELSD 法测定硫酸阿米卡星的含量

吴宏伟 王 珑(厦门市药品检验所 厦门 361012)

摘要 目的: 用 HPLC-ELSD 法测定硫酸阿米卡星的含量。方法: 采用 Agilent Extend C₁₈ 色谱柱(250 × 4.6mm, 5μm), 以水-氨水-冰醋酸(96:3.6:0.4)(调节 pH 为 10.0~10.2) 为流动相, 流速 1.0ml·min⁻¹, 柱温: 30℃。ELSD 参数: 漂移管温度 110℃, 氮气流速 3.0ml·min⁻¹。结果: 阿米卡星在 0.5mg·ml⁻¹~1.5mg·ml⁻¹ 的范围内, 峰面积的自然对数与浓度的自然对数呈良好的线性关系($r=0.9991$, $n=5$), 平均回收率为 99.1% (RSD=0.21%)。结论: 该方法准确, 重现性好, 为阿米卡星提供了一种液相色谱的检测方法。

关键词 HPLC; ELSD; 阿米卡星; 含量; K₂₉

中图分类号: 921.2 文献标识码: A 文章编号: 1009-3656(2007)-3-34-2

HPLC-ELSD Determination of Amikacin Sulfate for Injection

Wu Hongwei, Wang Long (Xiamen Institute for Drug Control, Xiamen 361012)

Abstract Objective: To establish an HPLC-ELSD method for the determination of Amikacin Sulfate. **Method:** HPLC system consisting of an Agilent Zorbax Extend C₁₈ Column (250mm × 4.6mm, 5μm) and a mixture of water-ammonia solution-glacial acetic acid (96:3.6:0.4) (adjusted pH from 10.0 to 10.2) as mobile phase was adapted with flow rate of 1.0ml·min⁻¹; And the column temperature was at 30℃. The ELSD detector temperature was 110℃ and the flow rate of N₂ was 3.0ml·min⁻¹. **Result:** Amikacin showed a good linearity ($r=0.99996$, $n=5$) in the range of 0.5~1.5mg·ml⁻¹. The average recovery was 99.1% with RSD 0.21%. **Conclusion:** This method possesses merits of good accuracy and reproducibility. It may provide a new method of HPLC-ELSD determination for Amikacin Sulfate.

Key words HPLC; ELSD; Amikacin; Content; K₂₉

阿米卡星^[1]是以卡那霉素为原料的半合成氨基糖甙类抗生素药品, 其中杂质除可能含有卡那霉素外, 还有在合成后氢解产生的几个异构体。其中异构体 K₂₉ 是最易产生的杂质, 其活力很低。中国药典载此品种, 采用抗生素微生物效价法测定含量, 但杂质却无法分离。由于阿米卡星不具有紫外吸收, 因此本文采用蒸发光散射检测器测定阿米卡星的含量, 并能准确分离杂质与主成分。此法准确, 方便。

通过测定三批硫酸阿米卡星制剂表明, 此方法准确可行。

一、仪器与试剂

1. 仪器 Agilent 1100 series 液相色谱仪; Alltech ELSD 2000 蒸发光散射检测器;

METTLER AE240 电子天平

2. 试剂 氨水(分析纯)、冰醋酸(分析纯); 对照品阿米卡星、卡那霉素、卡那霉素 B 均由中国药品生物制品检定所提供, 对照杂质 K₂₉ 为浙江省药品检验所提供; 样品: 注射用硫酸阿米卡星两批(分别为 050601、051215)、硫酸阿米卡星注射液一批(060535), 均为本所留样。

二、方法与结果

1. 色谱条件 色谱柱: Agilent Zorbax Extend C₁₈ 柱(250mm × 4.6mm, 5μm); 流动相: 水-氨水-冰醋酸(96:3.6:0.4)(在 10.0~10.2 范围内调节 pH 至主峰与杂质峰完全分开), 流速 1.0ml·min⁻¹, ELSD 参数: 漂移管温度 110℃, 氮气压力为 3.0ml

作者简介: 吴宏伟, 女, 副主任药师。学科及研究方法: 药品检验, 联系电话: 0592-5619833。

$\cdot \text{m} \cdot \text{in}^{-1}$; 柱温: 30°C ^[2]; 进样量: $20\mu\text{l}$

2. 分离度试验: 分别称取阿米卡星、 K_{29} 杂质、卡那霉素、卡那霉素B四种对照品适量, 各用水制成 $0.5\text{mg} \cdot \text{m}^{-1}$ 的溶液。分别进样确定峰位后, 再将四种对照溶液混合后进样。阿米卡星与 K_{29} 的分离度为5.5。与卡那霉素B的分离度为7.9。见图谱1。

3. 线性关系考察 精密称取阿米卡星对照品 0.3516g , 置 50m^1 的量瓶中, 用水溶解并稀释至刻

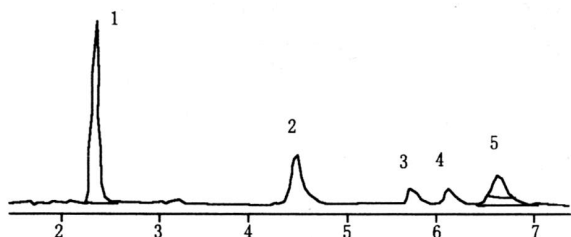


图1 阿米卡星与 K_{29} 、卡那霉素、卡那霉素B混合溶液色谱分离图

1. 硫酸盐 2. 阿米卡星 3. K_{29} 4. 卡那霉素 5. 卡那霉素B

度, 摇匀。精密量取 $2.2, 2.5, 3, 4, 5\text{m}^1$ 分别置 25m^1 的量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀。各精密量取 $20\mu\text{l}$ 注入高效液相色谱中, 测定峰面积, 以对照品溶液浓度 $C(\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-1})$ 的自然对数为横坐标, 峰面积 A 的自然对数作为纵坐标, 绘制标准曲线, 经回归处理得回归方程为:

$$\text{Log}A = 1.2216 \text{Log}C - 0.2181 \quad r = 0.9991$$

结果表明: 阿米卡星在 $0.5\text{mg} \cdot \text{m}^{-1} \sim 1.5\text{mg} \cdot \text{m}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系。

4. 稳定性试验 取浓度为 $1\text{mg} \cdot \text{m}^{-1}$ 的样品溶液分别于 $0, 1, 2, 3, 5\text{h}$ 进样, 测定峰面积, RSD 为 0.73% 。

5. 精密度试验 取浓度为 $1\text{mg} \cdot \text{m}^{-1}$ 的阿米卡星对照品溶液, 连续进样6次, RSD 为 0.21% 。

6. 加样回收率试验 精密称取样品适量(相当于阿米卡星约 12.5mg), 置 25m^1 量瓶中, 再分别精密加入阿米卡星的对照品贮备液 ($2.5\text{mg} \cdot \text{m}^{-1}$) 各 $3, 5, 7\text{m}^1$, 用水稀释至刻度, 摇匀, 每份浓度制备3份。按外标法以峰面积和浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-1}$) 的自然对数值计算, 平均回收率 ($n=9$) 为 99.1% , RSD 为 1.1% 。

7. 重复性试验 取同一批的样品平行制备5份浓度为 $1\text{mg} \cdot \text{m}^{-1}$ 的溶液, 分别测定, 其含量的 RSD 为 0.8% 。

8. 样品测定 样品与阿米卡星对照品分别精密

称定, 用水溶解并定量稀释制成 $1\text{mg} \cdot \text{m}^{-1}$ 的溶液, 精密量取样品溶液与对照溶液各 $20\mu\text{l}$ 进样, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积和浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-1}$) 的自然对数计算, 按标准曲线法测定含量。同时按微生物检定法测定含量, 两者对比的结果见表1。

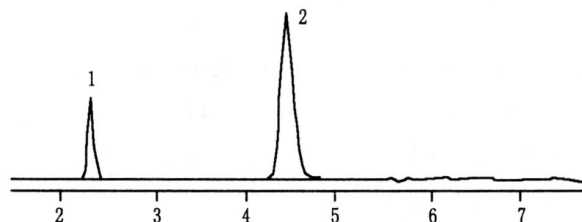


图2 注射用硫酸阿米卡星样品色谱图

1. 硫酸盐 2. 阿米卡星

表1 硫酸阿米卡星含量测定结果

批号	蒸发光散射法	微生物检定法
	含量(%)	含量(%)
050601	96.8%	103.6%
051215	96.5%	102.8%
060535	93.4%	99.7%

三、讨论

1. 在实验中, 流动相的 pH 值对样品主峰与杂质的分离起决定性的作用, 可根据实际的色谱系统情况, 在 pH 值 $10.0 \sim 10.2$ 范围内调节, 使主成分阿米卡星与杂质峰完全分开。

2. 由于液相色谱系统中的流动相碱度过高, 因此在选用色谱柱时要注意其适用范围, 且尾端封闭的色谱柱分离效果更好。

3. 在计算含量时发现, 以外标法计算时, 浓度单位按 $\text{mg} \cdot \text{m}^{-1}$ 的自然对数值计算的含量值与按 $\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-1}$ 的自然对数值计算的含量值不一样, 为了避免由于浓度单位的不同而造成计算误差, 在蒸发光散射的液相色谱计算中, 最好采用标准曲线法计算样品的含量。

4. 蒸发光散射检测器的型号不同, 则 ELSD 的参数也不同。检测器的参数设置主要是漂移管温度与载气流速^[3]。设定原则是力求得到高的信噪比。但考虑到噪音过大对基线的影响, 故该仪器参数的 Gain 值设定为4。

参考文献

- [1] 胡昌勤, 刘炜主编. 抗生素微生物检定法及其标准操作[M]. 第一版. 气象出版社, 2004年: 145~149
- [2] BP2004 Volume II[S]. 2004: 108~109
- [3] 王明娟, 胡昌勤, 金少鸿. 采用HPLC-ELSD法分析小诺霉素及其有关物质[J]. 药物分析杂志, 2002, 22(3): 205~208
- [4] 中国药典2005年版二部. 2005: 737~738