

吡喹酮注射剂含量测定方法比较

刘 粉^{1,2}, 费陈忠², 薛飞群², 江善祥¹

(1. 南京农业大学动物医学院, 南京 210095; 2 中国农业科学院上海兽医研究所 农业部动物寄生虫学重点开放实验室, 中国农业科学院兽药安全评价与残留研究重点开放实验室 上海 200241)

[收稿日期] 2009 - 03 - 25 [文献标识码] A [文章编号] 1002 - 1280(2009)10 - 0056 - 03 [中图分类号] TQ460.72

[摘 要] 采用两种不同的色谱条件测定吡喹酮注射剂中吡喹酮的含量, 色谱柱为迪马 Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 柱, 流动相为甲醇 - 水及乙腈 - 水, 检测波长为 263 nm 及 210 nm, 流速 1 mL/min。结果显示, 在两个不同的检测范围内, 线性关系均良好 (分别为 $r=0.9998$ 和 $r=0.9996$), 吡喹酮的平均回收率为 100.38% 和 99.90%, $RSD=1.13\%$ 和 1.1% ($n=9$)。两种方法简便易行, 精密性、回收率、重现性均符合要求。结果表明, 两种方法均可用于吡喹酮注射剂的含量测定。

[关键词] 吡喹酮注射剂; 高效液相色谱法; 含量测定

Comparison on Determination of the Content of Praziquantel Injection

LU Fen^{1,2}, FEIChenzhong², XUE Fei-qun², JIANG Shan-xiang¹

(1. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095; 2 Shanghai Veterinary Research Institute, The Chinese Academy of Agricultural Sciences, The Key Open Laboratory for Animal Parasitology, Ministry of Agricultural/Key Open Laboratory of Veterinary Drug Safety Evaluation and Residues of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 200241; China)

Abstract: To establish two HPLC method for determining the content of PZQ in the injection. The DIKMA Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) Column was adopted. The mobile phase was V (methanol) V (water) and V (acetonitrile) V (water), the detective wavelength was 263 nm and 210 nm, the flow rate was 1 mL/min. The two methods were both linear within $r=0.9998/0.9996$. The mean recovery was 100.38% and 99.90%, $RSD=1.13\%$ and 1.1% ($n=9$). They turned out to be convenient method with good precision. These results showed that two methods both could be used to determine the content of PZQ in the injection.

Key words: PZQ injection; HPLC; determination of the content

吡喹酮 (Praziquantel, PZQ) 具有广谱的抗寄生虫作用, 是防治日本血吸虫病的首选药物, 其片剂已收载于《中国兽药典》。但该药物的片剂肝脏首过效应大, 生物利用度低, 药物在体内代谢快^[1-3], 给治疗效果带来严重的影响。鉴于吡喹酮现有剂型的这些缺陷, 研制安全有效、使用方便的吡喹酮注射剂就具有非常重要的意义^[4-6]。本文介绍两种

简单快速、专属性强、灵敏度高的反相高效液相色谱法测定制剂中吡喹酮含量的方法, 用于质量控制。

1 材料与方法

1.1 试药与仪器 吡喹酮对照品, 100%, 批号 100046 - 200504, 中国药品生物制品检定所提供; 20%吡喹酮注射剂 3批, 批号 20080415、20080416、20080418, 规格 100 mL, 中国农业科学院上海兽医

作者简介: 刘 粉 (1983年 -), 女, 河南获嘉人, 硕士研究生。E-mail: liufen023@126.com

通讯作者: 薛飞群, 博士生导师。E-mail: fqxue@shvri.ac.cn

研究所动物药化学室研制;甲醇、乙腈为色谱纯;a-细辛醚对照品,100%,批号 100298-200001,中国药品生物制品检定所;重蒸馏去离子水;Waters1525高效液相色谱仪;Waters2487紫外检测器;色谱柱Diamondsil C₁₈ (4.6 mm ×250 mm, 5 μm,);AE电子天平,梅特勒-托利多仪器有限公司。

1.2 色谱条件 详见表 1。

表 1 两种含量测定方法的色谱条件

色谱条件	方法 1	方法 2
流动相	甲醇-水 (80:20)	乙腈-水 (64:36)
流速	1.0 mL/min	1.0 mL/min
检测波长	263 nm	210 nm
进样量	20 μL	20 μL
标示	内标	外标

1.3 对照溶液的配制 精密称取内标品 a-细辛醚 0.020 0 g,置 100 mL 容量瓶中,甲醇溶解、定容,配成 0.2 mg/mL 的溶液。两种配制方法见表 2。

表 2 吡嗪酮对照品溶液的配制

方法 1	方法 2
分别精密称取吡嗪酮对照品 28, 30, 32, 35, 40, 45, 50 和 52 mg,置 10 mL 容量瓶中,各加入内标液 3 mL,甲醇溶解、定容。终浓度为分别 2.8, 3.0, 3.2, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.2 mg/mL。	精密称取吡嗪酮对照品 2.5 mg,置 25 mL 容量瓶中,甲醇溶解、定容,摇匀。从此溶液中分别精密量取 1.4, 1.7, 2.2, 2.3 和 2.6 mL,置 10 mL 容量瓶中,甲醇溶解、定容。终浓度分别为 14, 17, 20, 23, 26 μg/mL。

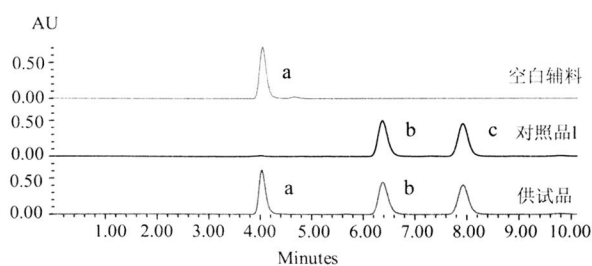
1.4 样品处理 样品溶液的配制详见表 3。

表 3 样品溶液的配制

方法 1	方法 2
量取 2 mL 供试品溶液至 10 mL 容量瓶中,加甲醇定容,混匀后,从中取 1 mL 至 10 mL 容量瓶中,加 3 mL 内标液,加甲醇定容。稀释 50 倍。0.45 μm 微孔滤膜过滤。终浓度为 4 mg/mL。	量取 1 mL 供试品溶液至 10 mL 容量瓶中,加甲醇定容,从此溶液中取 1 mL 至 10 mL 容量瓶中,加甲醇定容,如此稀释 10 000 倍。0.45 μm 微孔滤膜过滤。终浓度为 20 μg/mL。

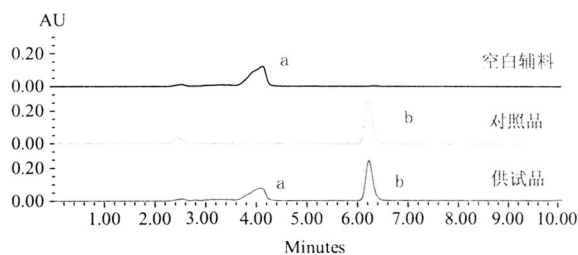
2 结果

2.1 方法的专属性 按上述色谱条件,分别测定对照品溶液、供试品溶液及空白溶剂溶液,供试品色谱图中,空白溶剂对照品溶液在此保留时间无干扰色谱峰。方法 1,对照品浓度为 4 mg/mL,方法 2 对照品浓度为 20 μg/mL,结果见图 1, 2。



(a: 辅料峰; b: PZQ 峰; c: 内标峰)

图 1 方法 1 PZQ 注射剂的 HPLC 图



(a: 溶剂峰; b: PZQ 峰)

图 2 方法 2 PZQ 注射剂的 HPLC 图

2.2 标准曲线 按 1.2 项下的色谱条件,分别测试两种方法配制的对照品溶液。方法 1 以浓度为横坐标,吡嗪酮峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标,绘制标准曲线,进行线性回归,得回归方程:

$A = 0.2513C + 0.033$, 线性 ($r = 0.9998$), 线性范围: 2.8 ~ 5.2 mg/mL

方法 2 以浓度为横坐标,吡嗪酮峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程:

$A = 114.478C - 12.652$, 线性 ($r = 0.9996$), 线性范围: 14 ~ 26 μg/mL

2.3 回收率和精密度 采用添加法,选取 3 种不同浓度,分别配制低、中、高浓度溶液 3 份,并加处方量溶剂与辅料。方法 1 平均回收率为 (100.0 ± 1.13)%, 日内 RSD = 0.47%。方法 2 平均回收率为 (99.90 ± 1.22)%, 日内 RSD = 0.38%。详见表 4 和表 5。

表 4 方法 1 的回收率试验结果

样品配制浓度 / (mg · mL ⁻¹)	实际测得浓度 / mg	回收率 / %	平均回收率 / %
32.05	32.37	101.0	101.2
32.05	32.62	101.8	
32.05	32.30	100.8	
39.91	39.94	100.1	100.8
39.91	40.30	101.0	
39.91	40.42	101.3	
48.03	47.59	99.1	99.1
48.03	47.93	99.8	
48.03	47.30	98.5	

方法 1 的精密度:按 1.4 项下方法 2 配制的同一份供试品溶液,重复进样 6 次,内标法测得的相应峰面积比值分别为 1.065, 1.064, 1.061, 1.058, 1.065, 1.058, 平均值为 1.063, $RSD = 0.47\%$,连续测定 3 d, 日间 $RSD = 0.64\%$ 。

表 5 方法 2 的回收率试验结果

样品配制浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	实际测得浓度 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)
16.27	16.52	101.5	100.96
16.27	16.41	100.8	
16.27	16.37	100.6	
20.34	19.98	98.23	99.6
20.34	20.14	99.0	
20.34	10.65	101.5	
24.38	24.22	99.2	99.2
24.38	24.28	99.5	
24.38	24.13	98.8	

方法 2 的精密度,按 1.4 项下方法 2 配制的同一份供试品溶液,重复进样 6 次,测得相应峰面分别为 2 330 935, 2 320 817, 2 327 523, 2 309 047, 2 309 717, 2 311 698, 平均值 2 318 290, $RSD = 0.38\%$ 。连续测定 3 d, 日间 $RSD = 0.75\%$ 。

2.4 样品测定 根据样品的配置方法,分别按内标法和外标法计算 3 批吡喹酮注射剂中 PZQ 含量。结果见表 6。

表 6 注射剂中吡喹酮含量

方法 1	PZQ 含量 / %	RSD / %
	100.02	0.303
	100.75	
	100.75	
方法 2	PZQ 含量 / %	RSD / %
	101.8	0.704
	100.65	
	100.50	

3 讨论

3.1 在各国药典和文献资料中,检测吡喹酮多采用高效液相色谱法^[7-8]。考虑到本实验室研究的药物为高浓度吡喹酮注射液,药物和使用的溶剂辅料的色谱行为有一定的相互干扰性,因此,我们根据这些特点调整了流动相配比等条件,该试验采用的方法 1 是调整流动相比例为甲醇-水(80:20),能够有效分离辅料、供试品及内标,峰形好,重复性好,准确度也高。且样品出峰时间比《中国兽药典(2005 版)》上规定的方法提前了 5 min 以上,节省了时间和流动相。

3.2 方法 2 主要是选择 210 nm 作为检测波长,检测的灵敏度提高了 200 倍,在此检测波长下,内标

无吸收,故采用外标法,流动相为乙腈-水,比例调整为(64:36),很好的分离了辅料和样品,辅料对样品的测定无干扰,样品峰重复性好。两种方法在一定的浓度范围内均有良好的线性关系,在两种色谱条件下 3 批供试品含量均在制剂的含量限度要求的范围内。

3.3 从上述数据可以看出,这两种方法无论是对于注射剂高中低不同浓度的回收率的测定,还是对其准确性、重现性的测定,包括对变异系数的计算,均符合化学药物制剂研究基本技术指导原则的要求。这两种方法测定的结果相差不大,均可用于注射剂的质量控制^[9-10]。

实验表明,两种方法专属性好,能排除溶剂和辅料的干扰,结果准确性、重现性和稳定性均好,是测定吡喹酮注射剂的较好方法。

参考文献:

- [1] Yu Y, Yan Sh. Advance in Research of Praziquantel in Therapy of Schistosomiasis[J]. Chongqing Med Univ J, 1990, 5(1): 82 - 87.
- [2] Heiko Meier, Gottfried Blaschke. Capillary Electrophoresis - mass Spectrometry, Liquid Chromatography - mass Spectrometry and Nanoelectrospray - mass Spectrometry of Praziquantel Metabolites[J]. Journal of Chromatography B, 2000: 221 - 231.
- [3] LI Jia, WANG Yulan, Alan Fenwick, et al. A High - performance Liquid Chromatography and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy - based Analysis of Commercially Available Praziquantel Tablets[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007, 45: 263 - 267.
- [4] 郑新生,姚宝安,王艳蕊,等. 高浓度吡喹酮注射剂的研制及对小鼠日本血吸虫病的治疗试验[J]. 华中农业大学学报, 2006, 25(1): 68 - 70.
- [5] Samanta C Mour, Paulo I Costa, Herida R N, et al. Improvement of Antischistosomal Activity of Praziquantel by Incorporation into Phosphatidylcholine - containing Liposomes[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2005: 157 - 162.
- [6] Wannee Hanpitakpong, Vick Banmaiurai, Benjamas Kanankom, et al. A High - performance Liquid Chromatographic Method for Determination of Praziquantel in Plasma[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2004, 36: 871 - 876.
- [7] 梁贵键,朱莉,钱厚海,等. 以扑米酮为内标物高效液相色谱法测定吡喹酮含量[J]. 空军总医院学报, 1994, 10(3): 142 - 143.
- [8] Ghoneima M M, M M Mabrouk, A Tawfik. Direct Determination of Praziquantel in Pharmaceutical Formulations and Human Plasma by Cathodic Adsorptive Stripping Differential - pulse Voltammetry[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2002, 30: 1311 - 1318.
- [9] 易跃能,杨华,叶樱,等. 尼扎替丁注射液含量测定的方法比较[J]. 中南药学, 2006, 4(1): 22 - 23.
- [10] 李玮,胡昌勤. 中国药典与美国药典中盐酸克林霉素有关物质及含量测定方法的比较[J]. 中国现代应用药学杂志, 2008, 20(4): 297 - 230.