

取)、灯盏花素原料、灯盏花素注射液有关物质检查的色谱图(图2)可见,原料和注射液中的有关物质峰均在药材提取物的色谱图上找到归属。将原料药谱图与市售灯盏花素注射液图谱比较,注射液只有两个主要杂质峰同原料药中的两个杂质峰相对应,其余杂质峰的保留时间均不一致,可能为注射液所用原料与实验所用原料不一致造成(如灯盏花药材的来源及提取、纯化工艺不同等)。再将用此原料药自制的灯盏花素注射液与原料图谱比较,发现有基

本相同的杂质峰,只是峰面积略有差异,可能是生产过程中原料药发生水解、氧化所产生,因此应严格控制生产工艺条件。为进一步了解灯盏花素注射有关物质的情况,实验用二极管阵列检测器对其杂质峰进行光谱采集,其主要杂质峰的光谱图见图3。这些杂质峰的光谱图近似,均在284 nm和335 nm附近有最大吸收,具备黄酮类化合物的典型吸收特征,可初步判断为黄酮类化合物。因此,选择335 nm作为有关物质检查的波长是合理的。

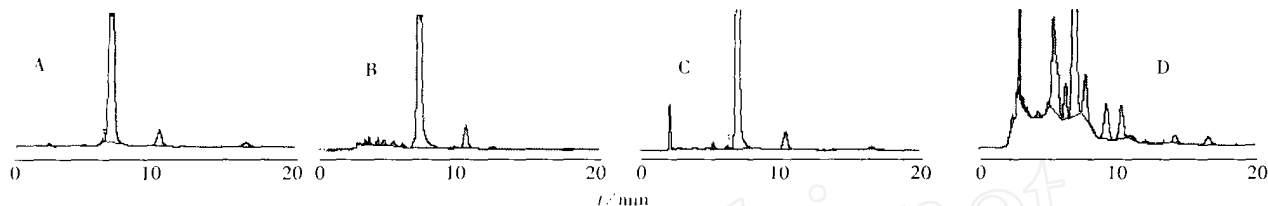


图2 灯盏花素原料药(A)、自制(B)和市售灯盏花素注射液(C)和药材提取物(D)溶液的色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms of raw material (A), injection (B), injection (C) and extract (D)

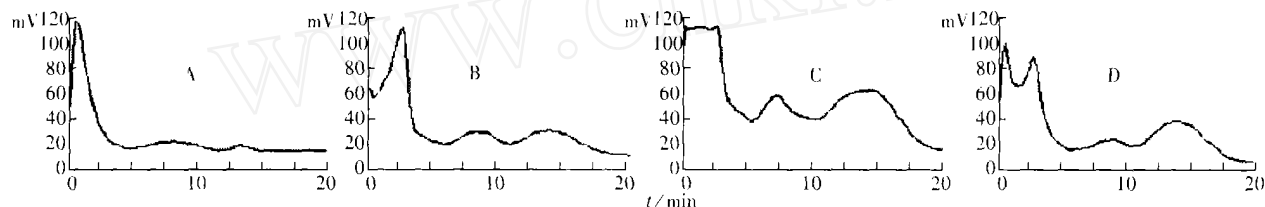


图3 灯盏花素注射液有关物质(A~D)的紫外光谱图

Fig 3 UV- spectra of related substances (A- D) in Dengzhanhua Su injection

参考文献:

[1] 中华人民共和国国家药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准 中药成方制剂(第二十册) [S]. 北京:人民卫生出版社,2003. 105

[2] 赵新杰,夏华玲. 灯盏花的研究进展[J]. 时珍国医国药,2002,13(9):567

[3] 杨文字,张艺,段俊国. 高效液相色谱法测定灯盏细辛中灯盏乙素的含量[J]. 成都中医药大学学报,2001,24(3):37

收稿日期:2004-10

HPLC 测定注射用葡醛酸钠的含量及有关物质

仇丽颖,张 丹*,赵 曦,汤 南,孙文霞

(四川大学华西药学院,四川 成都 610041)

摘要: 目的 建立测定注射用葡醛酸钠中葡醛酸钠含量及其有关物质的检查方法。方法 采用 HPLC 法 Hypersil C₁₈ 色谱柱, 10 mmol L⁻¹ 磷酸盐缓冲液(6 mmol L⁻¹ NaH₂PO₄ + 4 mmol L⁻¹ Na₂HPO₄) - 甲醇(98:2, 磷酸调 pH 6) 为流动相, 检测波长 225 nm, 流速 0.8 ml min⁻¹。结果 葡醛酸钠在 0.1~2 mg ml⁻¹ 范围内, 峰面积与浓度线性关系良好($r=0.9999$), 高、中、低 3 种浓度的平均加样回收率为 100.0%~100.3%, RSD 为 0.44%~0.82%, 有关物质检查的限量为 1.0%。结论 所用方法准确、简便、快速, 适用于注射用葡醛酸钠的质量控制。

关键词: 葡醛酸钠; 高效液相色谱法; 有关物质

中图分类号: R927.2

文献标识码: A

文章编号: 1006-0103(2005)02-0149-03

Determination of the contents and related substances in Sodium glucuronic acid injection by HPLC

QIU Li - ying, ZHANG Dan *, ZHAO Xi, TANG Nan, SUN Wen - xia

(West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

作者简介: 仇丽颖,女,辽宁,正攻读药物分析专业的硕士学位。

*通讯作者(Correspondent author), E-mail: zddshy@163.com

Abstract : OBJECTIVE To determine the contents and related substances in Sodium glucuronic acid injection. **METHODS** HPLC method was adopted. Hypersil C₁₈ column (250 mm ×4.6 mm, 10 μm) with UV detection at 225 nm, mobile phase consisted of phosphate buffer (6 mmol L⁻¹ NaH₂PO₄ + 4 mmol L⁻¹ Na₂HPO₄) and methyl alcohol (98 : 2, adjusted to pH 6.00 ±0.02 with phosphoric acid) were used, the flow rate was 0.8 ml · min⁻¹. **RESULTS** The calibration curve was linear ($r = 0.9999$) within the range of 0.1 - 2 mg · ml⁻¹ for sodium glucuronic acid, with the average recovery from 100.0 % to 100.3 % for three different levels of the amount of sodium glucuronic acid, and RSD from 0.44 % to 0.82 %. **CONCLUSION** This method is simple, quick, accurate and effective to test related substances and content in sodium glucuronic acid injection for quality control.

Key words : Sodium glucuronic acid; HPLC; Related substances

CLC number : R927.2

Document code : A

Article ID : 1006 - 0103(2005)02 - 0149 - 03

注射用葡醛酸钠为葡醛内酯在碱性条件下水解所得的无菌冻干粉,是一种治疗急慢性肝炎的辅助用药,可与体内某些毒物或药物结合成葡萄糖醛酸苷而起解毒作用^[1]。有关药理、分析方面有少量报道^[2,3],而其质量控制未见报道。为此,建立了注射用葡醛酸钠含量测定及有关物质检查的 RP-HPLC 法。方法简便、快速、准确,适用于注射用葡醛酸钠的质量控制。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

高效液相色谱仪包括 LC-3A 高压泵、SPD-10Avp 型紫外检测器、Sage DataSystem 色谱工作站(日本岛津);Rheodyne 7725 型液相色谱进样器(美国)。葡醛酸钠对照品(美国 Acros 公司,99 %);注射用葡醛酸钠(四川天台山制药有限公司,批号:030101、030102、030103);水为重蒸馏水;甲醇为色谱纯;其余试剂为分析纯。

1.2 色谱条件与系统适用性试验

Hypersil C₁₈柱(250 mm ×4.6 mm, 10 μm);流动相为 10 mmol · L⁻¹ 的磷酸盐缓冲液(6 mmol · L⁻¹ NaH₂PO₄ + 4 mmol · L⁻¹ Na₂HPO₄) - 甲醇(98 : 2, H₃PO₄ 调 pH 6.00);流速 0.8 ml · min⁻¹;检测波长 225 nm;柱温 20℃。理论板数按葡醛酸钠峰计不低于 800。

1.3 含量测定

1.3.1 测定方法 取装量差异项下的内容物,混匀,精密称取适量,加流动相制成 1 mg · ml⁻¹ 的溶液,作为供试品溶液。另取葡醛酸钠对照品适量,加流动相制成 1 mg · ml⁻¹ 的溶液,作为对照品溶液。取供试品和对照品溶液各 10 μl 注入液相色谱仪,记录色谱图,按外标法以峰面积计算葡醛酸钠(C₆H₉NaO₇ · H₂O)的含量。

1.3.2 专属性考察 分别取“1.3.1”项下的供试品、对照品溶液及流动相各 10 μl 注入液相色谱仪,记录色谱图。结果流动相在葡醛酸钠峰处无干扰,葡醛酸钠峰与相邻杂质峰的分离度符合要求。

1.3.3 线性关系及线性范围 取葡醛酸钠对照品

适量,精密称定,用流动相制成 0.1、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 mg · ml⁻¹ 的溶液,分别精密吸取 10 μl 注入液相色谱仪,记录色谱图。以峰面积 Y 对葡醛酸钠浓度 X (mg · ml⁻¹) 进行线性回归,得回归方程为: $Y = 7.854 \times 10^{-4} X - 2.130 \times 10^2$ ($r = 0.9999$, $n = 6$),葡醛酸钠浓度与色谱峰面积在 0.1 ~ 2 mg · ml⁻¹ 范围内线性关系良好。

1.3.4 精密度试验 精密称取葡醛酸钠对照品适量,用流动相制成含葡醛酸钠 0.5、1.0、1.5 mg · ml⁻¹ 的溶液,分别精密吸取 10 μl 注入液相色谱仪,重复进样 5 次。各浓度峰面积的 RSD 分别为 1.1 %、0.35 %、0.63 %,表明仪器精密度(进样与峰面积检测精密度)良好。

1.3.5 重复性试验 取同一批样品(批号:030101),按“1.3.1”项下平行制备 6 份,测得平均含量(标示量 %)为 99.5 %,RSD = 0.75 % ($n = 6$),表明分析方法精密度良好。

1.3.6 回收试验 在已知含量的供试品溶液中,分别加入一定量的葡醛酸钠对照品,配成高、中、低 3 种浓度溶液(0.9、1.0、1.1 mg · ml⁻¹),按“1.3.1”项下方法测得回收率分别为 100.0 %、100.3 %、100.3 %,RSD 分别为 0.44 %、0.46 %、0.82 % ($n = 3$)。

1.3.7 供试品溶液的稳定性考察 按“1.3.1”项下方法制备供试品溶液,置室温下于 1、2、3、4、6、8 h 分别进样 10 μl,结果峰面积的 RSD = 0.82 %,表明供试品溶液在 8 h 内基本稳定。

1.3.8 样品的含量测定 3 批样品照“1.3.1”项下方法测定,结果葡醛酸钠的标示量百分率分别为 99.4 %、100.5 %、100.1 %。

1.4 有关物质的检查

1.4.1 检查方法 取样品适量,精密称定,加流动相制成 25 mg · ml⁻¹ 的溶液,作为供试品溶液。精密量取适量,加流动相稀释制成 0.25 mg · ml⁻¹ 的溶液,作为对照溶液。取对照溶液 10 μl 注入液相色谱仪,调节灵敏度,使主成分峰高约为满量程的 20 % ~ 25 %;再取供试品溶液和对照溶液各 10 μl,分别注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的

3 倍。供试品溶液色谱图中如显示杂质峰,各杂质峰面积总和不得大于对照溶液主峰的面积(1.0%)。对3批样品进行有关物质检查,结果各批样品的有关物质含量分别为0.048%、0.048%、0.049%。

1.4.2 专属性考察 验证分析方法对相关降解产物检查的专属性。

酸解产物 取本品2.5g,加8ml 0.1mol L⁻¹盐酸溶解,室温放置2h,用稀NaOH中和至中性,加流动相至50ml,离心,照“1.4.1”项下试验,在保留时间为6.7、8.4、14.1min处有杂质峰,与主成分峰能达到基线分离。

碱解产物 取本品2.5g,加8ml 0.1mol L⁻¹氢氧化钠溶解,室温放置2h,用稀盐酸中和至中性,加流动相至50ml,离心,照“1.4.1”项下试验,在保留时间为5.9、6.6、14.0min处有杂质峰,均与主成分峰能达到基线分离。

高温分解产物 取本品2.5g,在60℃下放置10d,照“1.4.1”项下试验,在保留时间为5.1、6.8、8.2min时有杂质峰,与主成分峰能达到基线分离。

强光照射分解产物 取本品2.5g,在强光(照射度为4500±500lx)下照射10d。照“1.4.1”项下试验。在保留时间为5.1、6.9min处,各有一个杂质峰,与主成分峰能达到基线分离。

高湿度条件下分解产物 取本品2.5g,在湿度为95%的环境下放置10d,照“1.4.1”项下试验,在保留时间为5.0、6.8min处,各有一个杂质峰,与主成分峰能达到基线分离。

由上述试验可知,所建方法对相关降解产物检

查的专属性较好。

1.4.3 检测限 精密称定葡萄糖酸钠对照品适量,用流动相制成0.1mg ml⁻¹的溶液,精密吸取5μl注入液相色谱仪,信噪比约为3,检测限为0.5μg。

1.4.4 进样精密度 取“1.4.1”项下对照溶液进样5次,每次10μl,主峰面积的RSD=0.65%。

1.4.5 重复性试验 取本品,按“1.4.1”项下方法平行测定6次,杂质峰面积的RSD=3.06%。

2 讨论

葡萄糖酸钠分子结构中虽无强吸光基团,但含有羧基和多个羟基,能产生n→σ*跃迁,在200nm附近有吸收,可采用灵敏度高、专属性强的HPLC-UV法对其进行测定。通过对用流动相配制的样品溶液紫外扫描可知,葡萄糖酸钠低于230nm才有较明显吸收。随着波长降低,虽然检测灵敏度提高,但流动相的干扰增强。考虑到葡萄糖酸钠极性大,出峰早,为避免流动相的干扰,除选用225nm作检测波长外,还使用随行流动相作为配制样品的溶剂,即可消除流动相对样品含量测定和有关物质检查的干扰。

参考文献:

- [1] 李杰滨,李学彬.肝泰乐注射液对小鼠体内对乙酰氨基酚代谢作用的研究[J].黑龙江医药科学,2002,25(4):4
- [2] Nakano Miyako, Oda Yasuo. Analysis of glucuronolactone and glucuronic acid in pharmaceutical preparations by high performance liquid chromatography[J]. Chromatography, 1997, 18(4):246
- [3] 李厚恩,王荣恩.肝泰乐注射液的处方筛选及变色稳定性研究[J].中国药科大学学报,1995,26(2):75

收稿日期:2004-10

比浊法测定硫酸卡那霉素注射液的效价

范兵,刘耀,赵萍

(云南省药品检验所,云南昆明650011)

摘要:目的 建立测定硫酸卡那霉素效价的方法。方法 采用比浊法,并与管碟法相比较。结果 比浊法线性范围为2~10U ml⁻¹,线性方程:A=1.1040-1.2659logC(r=0.9925);平均回收率为97.11%(n=4)。结论 比浊法与管碟法的测定结果无显著性差异,可作为硫酸卡那霉素的效价测定方法之一,且更快捷、方便。

关键词:微生物效价测定;管碟法;比浊法;硫酸卡那霉素注射液

中图分类号:R917

文献标识码:A

文章编号:1006-0103(2005)02-0151-03

Determination of Kanamycin sulfate injection by turbidimetric method

FAN Bing, LIU Yao, ZHAO Ping

(Institute for Drug Control of Yunnan Province, Kunming 650011, China)

Abstract: OBJECTIVE To develop a turbidimetric method to determine Kanamycin sulfate injection. METHOD Turbidimetric method was

作者简介:范兵,男,云南昭通,副主任药师,从事抗生素药品检验及生物检定工作。