华西药学杂志
W C J • P S 2005, 20(6): 546~ 547

HPLC 检测长春西汀葡萄糖注射液中降解产物 5- 羟甲基糠醛

黄循明
(海南天涯制药厂, 海南 海口 571159)

摘要: 目的 建立测定长春西汀葡萄糖注射液中降解产物 5- 羟甲基糠醛(5- HMF)含量的方法。方法 采用HPLC 法, 色谱柱为 Kromasil ODS- 1 C_{18}(4.6 mm× 250 mm); 流动相为 0.2% 磷酸- 甲醇(75: 25); 流速 1 ml• min^{-1}; 检测波长 284 nm。以外标法测定 5- HMF 的含量。结果 在 1.0~ 20.0 μg• ml^{-1}范围内, 对照品峰面积与浓度的线性关系良好(r= 0.9999), 加样平均回收率为 99.5%, *RSD*= 1.0% (n= 5), 最低检测浓度为 7.7 ng• ml^{-1}。结论 所用方法简便、准确、重复性好, 可用于长春西汀葡萄糖注射液中降解产物 5- HMF 的检测。

关键词: 5- 羟甲基糠醛; 长春西汀葡萄糖注射液; 高效液相色谱法; 降解产物
中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1006- 0103(2005)06- 0546- 02

Determination of degradation product 5- HMF in Vinpocetine and Glucose injection by HPLC

HUANG Xun- ming
(Hainan Tianya Pharmaceutical Factory, Haikou 571159, China)

Abstract: OBJECTIVE To establish a method for determination of the degradation product 5- HMF in Vinpocetine and Glucose injection. **METHODS** An HPLC method was adopted with Kromasil ODS- 1 C_{18} column(4.6 mm× 250 mm). 0.2% phosphoric acid - methanol (75: 25) as mobile phase was used, with flow rate of 1.0 ml• min^{-1}, and the detective wavelength was set at 284 nm. The external standard method was adopted for the assay of 5- HMF. **RESULTS** The calibration curve of 5- HMF was linear within the range of 1.0- 20.0 μg• ml^{-1}(r= 0.9999). The average recovery of 5- HMF was 99.5% with *RSD* of 1.0% (n= 5). The concentration of detection limit was 7.7 ng• ml^{-1}. **CONCLUSION** The method is simple, reliable, accurate and it can be applied to determination of degradation product 5- HMF in Vinpocetine and Glucose injection.

Key words: 5- HMF; Vinpocetine and Glucose injection; HPLC; Degradation product
CLC number: R927.2 **Document code:** A **Article ID:** 1006- 0103(2005)06- 0546- 02

长春西汀葡萄糖注射液在配制和放置过程中会产生降解产物 5- 羟甲基糠醛(5- HMF), 5- HMF 的检测方法还未见报道。由于主药长春西汀在 284 nm 处的紫外吸收有较大干扰, 故建立 HPLC 法对注射液中 5- HMF 进行检测, 操作简便、准确、重复性好。

1 实验部分

1.1 仪器与试药

HPLC 仪器包括岛津 LC- 10AT 色谱泵, SPD- 10A 紫外检测器和 N 2000 色谱工作站(日本岛津)。蒸馏水(自制); 5- HMF 对照品(美国 Fluka 公司); 甲醇 HPLC 级; 注射用长春西汀(东北制药总厂); 长春西汀葡萄糖注射液(市售, 批号: 20030302、040506、20040615、20040807、041003)。

1.2 方法与结果

1.2.1 *色谱条件与系统适用性* 色谱柱为 Kromasil ODS- 1 C_{18}(4.6 mm× 250 mm, 5 μm), 以 0.2% 磷酸- 甲醇(75: 25) 为流动相, 流速 1 ml• min^{-1}, 检测波长 284 nm。在此色谱条件下, 取 5- HMF 对照品溶液、供试品溶液及阴性对照液各 20 μl 注入色谱仪, 记录色谱图(图 1), 由图可见阴性对照无干扰。

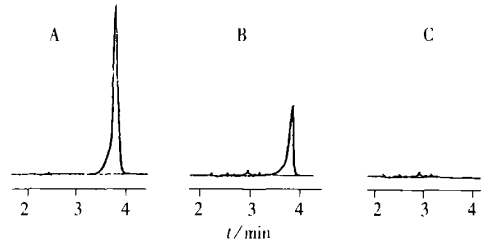

图 1 5- HMF 对照品溶液(A)、供试品溶液(B)和阴性对照溶液(C)的 HPLC 图

Fig 1 HPLC chromatograms of 5- HMF solution (A), sample solution (B) and blank solution(C)

1.2.2 *测定方法* 精密称取 5- HMF 对照品适量, 加水溶解并稀释成 10 μg• ml^{-1}的对照品溶液; 取长春西汀葡萄糖注射液直接作为供试品溶液。分别取两种溶液各 20 μl 注入色谱仪, 记录色谱图, 若供试品溶液显 5- HMF 峰, 其面积不得大于对照品溶液。

1.2.3 *线性关系的考察* 精密称取 5- HMF 对照品 25 mg, 置于 25 ml 量瓶中, 用水定容。精密量取

作者简介: 黄循明(1973-), 男, 海南文昌, 助理研究员, 工程师, 从事药物研发。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

0.1、0.5、1.0、1.5、2.0 ml 分别置 5 个 100 ml 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 即得不同浓度的对照品溶液(1、5、10、15、20 μg·ml^{-1}), 在"1.2.1"项色谱条件下进样, 测得峰面积; 以浓度对峰面积进行线性回归, 得回归方程为: $Y = 1.506 \times 10^5 X - 4.455 \times 10^3$ ($r = 0.9999$, $n = 5$)。结果表明, 浓度在 1.0~ 20.0 μg·ml^{-1}范围内与峰面积的线性关系良好。

1.2.4　进样精密度实验　取对照品溶液重复进样 6 次, 每次 20 μl, 记录色谱图。其峰面积的 *RSD* = 0.1%($n = 6$), 表明进样精密度较好。

1.2.5　重复性实验　取同一批号样品 6 份, 按照"1.2.2"项下方法记录峰面积, 按外标法计算 5- HMF 的含量。含量的 *RSD* = 0.2%($n = 6$), 表明方法精密度较好。

1.2.6　回收率实验　精密量取同一批号样品 5 ml, 共 5 份, 分别置 5 个 10 ml 量瓶中; 再分别精密加入 5- HMF 对照品水溶液(2.4 μg·ml^{-1}) 1、2、3、4、5 ml, 加水定容。照"1.2.9"项下方法测定含量, 再计算回收率(表 1)。结果表明, 方法回收率较好。

表 1　回收率试验结果(μg·ml^{-1}, $n = 5$)

Table 1　The results of recovery test (μg·ml^{-1}, $n = 5$)

Original	Added	Detected	Recovery/%	$\bar{X}$/%	*RSD*/%
1.04	0.24	1.28	100.0	99.5	1.0
1.04	0.48	1.51	97.9		
1.04	0.72	1.76	100.0		
1.04	0.96	1.99	99.0		
1.04	1.20	2.25	100.8		

1.2.7　最低检测限试验　精密量取"1.2.6"项下对照品溶液(2.4 μg·ml^{-1}) 1 ml, 置 100 ml 量瓶中, 加水稀释至刻度, 依法测定, 结果噪音峰高为 30。按 S/N = 3计, 则最低检测限峰高应为 90, 计算得 5- HMF 的最低检测浓度为 7.7 ng·ml^{-1}。

1.2.8　稳定性试验　精密吸取同一供试品溶液 20 μl, 分别于 0、2、4、6、8、12 h 进样, 记录 5- HMF 峰面积, 其 *RSD* = 0.2%($n = 6$), 说明供试品溶液 12 h 内稳定。

1.2.9　样品降解产物 5- HMF 的测定　取不同厂家生产的不同批号样品, 经高温试验(60 ℃) 10 d, 加速试验(40 ℃ ±2 ℃, RH 75% ±5%) 90 d, 室温放置(25 ℃ ±2 ℃, 湿度 60% ±10%) 90 d, 依法测定峰面积, 按外标法计算 5- HMF 的含量, 结果见表 2。

表 2　样品降解产物 5- HMF 的测定结果(μg·ml^{-1})

Table 2　Results of determination of 5- HMF in samples (μg·ml^{-1})

Batch No.	0 d	Hot test in the 10th day	Accelerated stability test in the 90th	Room temperature test in the 90th
040506	1.03	6.83	3.67	1.18
041003	1.56	6.97	4.01	1.91
040615	2.09	8.15	5.91	2.46
040807	2.05	8.02	5.74	2.23

2　讨论

曾考虑用 UV 法于 284 nm 处测定注射液中降解产物 5- HMF, 其限度根据 1% 的葡萄糖供试液于 284 nm 处紫外吸收不得大于 0.32[1], 结合样品主要成分长春西汀有本底吸光度约为 0.21, 定为不得大于 0.53(即 0.32+ 0.21)。实际上, 样品中长春西汀本底吸光度往往不等于 0.21, 故用 UV 法不能准确控制 5- HMF 的含量。

照 UV 法[1] 于 284 nm 处测定 5- HMF 溶液吸光度, 计算得吸光度 0.32 时浓度应为 2.0 μg·ml^{-1}; 根据《中国药典》2000 年版二部葡萄糖注射液标准中的 5- HMF 测定标准, 即 1% 的葡萄糖供试液于 284 nm 处紫外吸收不得大于 0.32。因样品配制时是以 5% 葡萄糖溶液调节等渗, 故确定 5- HMF 含量限度为 10 μg·ml^{-1}。

实验发现长春西汀葡萄糖注射液室温放置产生降解产物 5- HMF 较少, 而在高温和加速破坏条件下则较多, 因此, 放置和使用中应避免高温。

参考文献:

[1]　中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典[S]. 二部. 北京: 化学工业出版社, 2000 816, 附录 26

收稿日期: 2005- 04

《世界科学技术- 中医药现代化》2006 年征订启事

《世界科学技术- 中医药现代化》是在科技部农村与社会发展司、国家中医药管理局科教司、中科院生命科学与生物技术局等部门支持下, 面向海内外发行的国家级刊物。2005 年 6 月, 被科技部评为"中国科技核心期刊"。

主要栏目有专论、药学前沿、中医药现代化、人体系统数字化、知识产权运用与保护、产经研究、综述、博士论坛、高技术应用、基础研究、思路与方法、工业工程技术、争鸣园地、药物分析与鉴定、药物生产技术、学术进展与动态、市场评述与展望、科研管理、药材生产与建设等。

本刊为双月刊, 刊号: CN 11- 1733/N, ISSN 1003- 1898, 邮发代号: 2- 534, 每期 24 元。

地址: 北京市海淀区中关村东路 55 号　中科院基础园思源楼 532 室(100080)

电话: 010- 62616352　传真: 010- 62652762　E- mail: wst@mail.casipm.ac.cn　联系人: 刘　萍

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net