

# 高效液相色谱法测定利福肼片的含量

孙国明, 王海红 (杭州市第一人民医院, 浙江 杭州 310006)

**[摘要]** 目的: 建立高效液相色谱(HPLC)法测定利福肼片含量的方法。方法: HPLC法, 以岛津 C<sub>18</sub>(4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为 0.02 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸氢二钠溶液(磷酸调节 pH 4.5)- 甲醇(25: 75, v/v), 检测波长为 254 nm。结果: 线性范围及回归方程: 利福平: 10~ 250 mg·L<sup>-1</sup>, Y = 6.121X - 1.756 2 (r = 0.999 0); 异烟肼: 5~ 125 mg·L<sup>-1</sup>, Y = 4.261 24X - 2.382 6 (r = 0.999 7); 平均回收率: 利福平: 99.08%, RSD 为 1.02% (n = 6); 异烟肼: 99.75%, RSD 为 1.17% (n = 6)。结论: 本法专属性强, 准确, 灵敏, 可作为利福肼片含量测定的方法。

**[关键词]** 利福肼片; 高效液相色谱法; 含量测定

**[中图分类号]** R927 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-5213(2006)12-1579-02

利福肼片(rifampin and isonizid tablets)是利福平与异烟肼按一定比例组成的抗结核药, 在结核病的化疗中为减少和预防耐药性的产生, 必须联合用药, 复合剂联用能提高化疗水平, 坚持合理用药和规范用药, 这对结核病的化疗成败与否至关重要。该品种已在 USP24 版<sup>[1]</sup> 收载, 其含量测定的方法利福平为 HPLC 法, 异烟肼为用氯仿多次提取的溴量法测定, 此法提取过程极易出现乳化, 操作费时, 误差大。本文探讨了用 HPLC 法测定其含量, 样品处理简单, 且可一次测得利福平和异烟肼的含量, 结果满意。

## 1 材料

日本岛津 LC-10ATVP 泵, SPD10 A 紫外检测器, GR6A 积分仪; 利福肼片(无锡华裕制药有限公司); 利福平(USP 对照品); 利福平相关物质对照品(中国药品生物制品检定所); 异烟肼对照品(无锡华裕制药有限公司, 含量 99.8%); 甲醇为色谱纯, 磷酸氢二钠为分析纯, 水为二次纯化水。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件与系统适用性试验** 色谱柱: 岛津 C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 0.02 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸氢二钠溶液(用磷酸调节至 pH 4.5)- 甲醇(25: 75, v/v); 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长: 254 nm; 进样量: 20 μL。在该色谱条件下, 理论板数按利福平峰计算为 1 489, 利福平峰与异烟肼峰之间的分离度为 3.7, 两主峰与各杂质峰之间能达到基线分离, 见图 1。

**2.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取利福平对照品 12.50 mg, 异烟肼对照品 6.25 mg, 置 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液。精密量取 4 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

**2.3 线性关系** 精密量取上述对照品储备液 0.5, 1, 2, 4, 7, 10 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度。精密量取

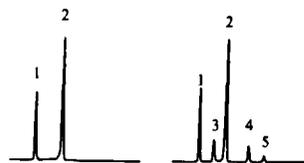


图 1 HPLC 色谱图

A. 对照品; B. 样品; 1- 异烟肼; 2- 利福平; 3, 4, 5 为降解产物

Fig 1 HPLC Chromatograms

A. reference substance; B. testing sample; 1- isonizid; 2- rifampin; 3, 4, 5- degradation products

20 μL, 分别进样, 按对照品峰面积(Y)对浓度(X)进行回归, 得回归方程: Y(利福平) = 6.121 61X - 1.756 2 (r = 0.999 0); Y(异烟肼) = 4.261 24X - 2.382 6 (r = 0.999 7)。线性范围: 利福平为 10~ 250 mg·L<sup>-1</sup>, 异烟肼为 5~ 125 mg·L<sup>-1</sup>。

**2.4 专属性试验** 取片剂辅料按样品测定项下方法处理后进样, 结果在上述色谱条件下未出峰, 说明辅料对测定无干扰。在该色谱条件下, 利福平不仅与异烟肼较好分离, 而且两个主成分与利福平相关物质均能达到基线分离, 方法的专属性较好, 见图 2。

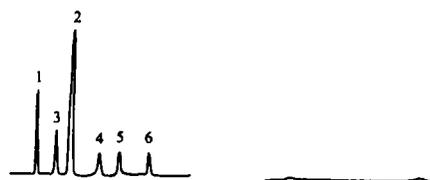


图 2 对照品的混合溶液色谱图

A. 异烟肼、利福平对照品和相关物质; B. 辅料; 1- 异烟肼; 2- 利福平; 3- 醌式利福平; 4, 3- 甲酰利福霉素 5, 6- 未知杂质

Fig 2 The chromatograms of mixed solution

A. isonizid and rifampin references and its related substances; B. excipients; 1- isonizid; 2- rifampin; 3- rifampin quinone; 4, 3- Formyl rifamycin; 5, 6- unknown impurities

**2.5 溶液稳定性试验** 取利福平, 异烟肼对照品按含量测定项下的方法进行试验, 溶液在室温放置, 每隔 1 h 进样一次, 共进样 6 次。结果表明, 利福平在 4 h 内测定结果稳定, 6 h 后含量有所下降, 故本品宜及时测定。

**2.6 精密性与重复性试验** 取 5 份样品, 照含量测定项下的方法测定, 结果: 利福平日内 RSD 为 0.9%, 日间 RSD 为 1.5%, 异烟肼日内 RSD 为 1.2%, 日间 RSD 为 1.3%, 表明方法重现性好。

**2.7 回收率试验** 按处方的 80%~ 120% 分别精密称取利福平, 异烟肼对照品适量, 按处方比例加入辅料, 加适量甲醇, 超声溶解, 按含量测定项下的方法测定, 计算回收率, 测定结果见表 1。

**2.8 样品的测定** 取利福肼片 10 片, 精密称定, 研细, 精密称取适量(约相当于利福平 25 mg), 加甲醇适量, 超声使溶解, 加甲醇稀释制成每 1 mL 中含利福平 0.1 mg, 异烟肼 0.05 mg 的溶液, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图; 另取利福平和异烟肼对照品适量, 同法测定, 按外标法以峰面积计算, 结果见表 2。

[作者简介] 孙国明, 男, 副主任药师, 电话: 0571-87065701, 13906506341

表1 回收率测定结果

Tab 1 Results of recoveries

样品	加入量	测得量	回收率	平均回收率	RSD
	/mg	/mg	/%	/%	/%
利福平	19.22	18.98	98.75	99.08	1.02
	21.58	21.04	97.50		
	23.24	23.14	99.57		
	24.28	24.46	100.74		
	26.48	26.34	99.47		
	28.93	28.48	98.44		
异烟肼	9.54	9.38	98.32	99.75	1.17
	10.68	10.56	98.89		
	11.28	11.36	100.71		
	12.36	12.28	99.36		
	13.66	13.86	101.46		
	14.48	14.62	100.97		

表2 样品含量测定结果(%)

Tab 2 Results of sample determination(%)

样品编号	利福平(相当标示量)		异烟肼(相当标示量)	
	USP法	HPLC法	USP方法	HPLC法
1	100.34	100.15	100.12	99.64
2	99.76	99.68	100.71	99.92
3	101.35	101.13	99.47	98.79

3 讨论

利福平片中由于利福平不稳定,含量测定的溶液应临时配制,以确保测定结果的准确性。

流动相中缓冲液的pH值对分离度有较大的影响,随着流动相中缓冲液的pH值降低,主成分与杂质之间的分离越好,但对色谱柱的损坏较大,随着流动相中缓冲液的pH值的升高,则分离度下降,经试验当缓冲液的pH为(4.5±0.1)时,对柱子的损坏不大,且分离度较好。

本文建立的方法与USP24版收载的方法比较,操作简便,方法误差小,重现性好并且结果可靠,可以用作利福平的含量测定。

参考文献:

[1] USP24版[S]. 1999: 1487-1488.

[收稿日期] 2006-08-22

高效液相色谱法测定布洛芬颗粒的含量

戴静波<sup>1</sup>, 吴翠莉<sup>2</sup>, 叶红<sup>1</sup> (1. 浙江医药高等专科学校, 浙江 宁波 315100; 2. 李惠利医院, 浙江 宁波 315010)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱(HPLC)法测定布洛芬颗粒剂中布洛芬含量的方法。方法: ODS<sub>2</sub>-C<sub>18</sub>柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.2%磷酸三乙胺(50:300, 1.0, v/v), 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长: 225 nm; 外标法定量(r=0.9999)。结果: 布洛芬溶液检测线性范围在1.0~400 mg·L<sup>-1</sup>, 平均回收率为99.5%, RSD为0.6%。结论: 该方法简便、可靠、准确, 可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 布洛芬; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R927 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213 (2006) 12-1580-02

布洛芬是非甾体抗炎镇痛药, 适用于解热、减轻轻度至中度疼痛, 如关节痛、神经痛、肌肉痛、感冒及流感等症状。由于在布洛芬紫外吸收峰处, 按处方比配制的空白辅料溶液有明显吸收, 故中国药典2005年版采用酸碱滴定法测定布洛芬及其制剂的含量而不采用紫外分光光度法<sup>[1]</sup>。本文参照文献<sup>[2]</sup>建立了利用高效液相色谱法分离测定布洛芬颗粒剂中布洛芬的方法, 排除辅料的干扰。该方法快速、简单、准确、灵敏, 可有效控制制剂质量。

1 材料

日本岛津LC-10A 高效液相色谱仪(SPD-10Avp 紫外检测器), CR-6A 积分仪。

布洛芬对照品(中国药品生物制品检定所, 批号0179-9501); 布洛芬颗粒(浙江康恩贝制药股份有限公司, 批号050510); 所用试剂均为色谱纯或分析纯试剂, 水为纯化水。

2 方法

2.1 色谱条件 色谱柱: Hypersil ODS<sub>2</sub>C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.2%磷酸三乙胺(50:300, 1.0, v/v); 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长: 225 nm; 柱温: 室温; 进样量: 20 μL。

2.2 溶液配制

2.2.1 对照品溶液 取布洛芬对照品适量, 精密称定, 用流动相溶解制成每1 mL中含布洛芬约为200 μg的溶液, 作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取本品细粉适量(约相当于布洛芬10 mg), 精密称定, 置50 mL量瓶中, 加流动相溶解制成每1 mL中含布洛芬约为200 μg的溶液, 过滤, 滤液作为供试品溶液。

2.2.3 降解产物溶液的制备 取本品适量, 加1 mol·L<sup>-1</sup>氢氧化钠溶液制成每1 mL中含布洛芬约为200 μg的溶液, 高温长时间加热破坏后, 作为降解产物溶液。

2.2.4 阴性供试品溶液 取空白辅料, 按供试品溶液的配制方法同法配制, 得阴性供试品溶液。

2.3 对照品、供试品、降解产物、阴性供试品溶液的色谱行为 按上述色谱条件分别吸取各液20 μL, 注入高效液相色谱仪进行分析, 结果见图1。结果表明, 阴性供试品中辅料对布洛芬的HPLC测定无干扰。

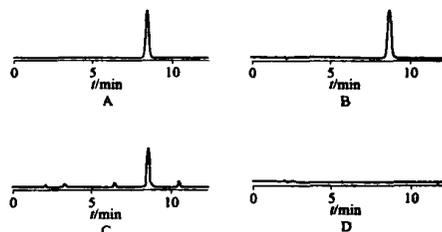


图1 HPLC 色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 降解产物; D. 阴性供试品

Fig 1 HPLC chromatograms

A. reference substance; b. sample; C. degradation product; D. regar tive sample

3 结果

3.1 标准曲线的建立 取布洛芬对照品约20 mg, 精密称定, 置50 mL量瓶中, 以流动相溶解, 制成每1 mL中含布洛

[作者简介] 戴静波, 女, 讲师, 电话: 0574 88222079, E-mail: daijb@mail.zphc.net