

分析测试

HPLC 测定盐酸格拉司琼葡萄糖注射液中 盐酸格拉司琼含量及有关物质

李江, 郭永, 赵建国, 赵璐, 张丽华

(山西大同大学 化学与环境工程学院, 山西 大同 037009)

摘 要: 采用氰基硅烷键合硅胶柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以 0.05 mol/L 醋酸钠缓冲液 [含 0.25% (mL/mL) 三乙胺, 用冰醋酸调节 pH 值至 6.0] - 甲醇 (50:50) 为流动相; 在 0.8 mL/min 的流速和 302 nm 的检测波长下用高效液相色谱方法测定盐酸格拉司琼葡萄糖注射液中盐酸格拉司琼含量及有关物质。结果表明, 盐酸格拉司琼在 19.8~46.2 μg/mL 浓度范围内呈现出良好线性关系, 线性相关系数为 0.999 6, 平均回收率是 98.18%, RSD 是 1.32%, 且 5-羟甲基糠醛在 4~14 μg/mL 浓度范围内呈现出良好线性关系, 线性相关系数为 0.999 8, 检出限为 1 ng。同时, 各杂质均可与盐酸格拉司琼主峰良好分离。该方法简便、快速、准确、专属性强及灵敏度高。

关键词: 盐酸格拉司琼; 测定; 有关物质; 高效液相色谱法

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 1671-3206(2011)04-0711-03

Determination of granisetron hydrochloride and its related substances in granisetron hydrochloride and glucose injection by HPLC

LI Jiang, GUO Yong, ZHAO Jian-guo, ZHAO Lu, ZHANG Li-hua

(School of Chemistry and Environmental Engineering, Shanxi Datong University, Datong 037009, China)

Abstract HPLC was applied to determine granisetron hydrochloride and its related substances in granisetron hydrochloride and glucose injection. The chromatographic column was cyanosilane bonded silica gel column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of 0.05 mol/L sodium acetate buffer (contain 0.25% triethylamine, glacial acetic acid to adjust pH value of 6.0) and methanol. The flow rate was 0.8 mL/min and the detection wavelength was 302 nm. The results show that the linear range of granisetron hydrochloride was 19.8~46.2 μg/mL, $r = 0.9996$, the average recovery was 98.18%, and RSD was 1.32%, the linear range of 5-HMF was 4.0~14.0 μg/mL, $r = 0.9998$, LOD = 1 ng. Meanwhile, the peaks between granisetron hydrochloride and impurities were separated well. This method had a wide linear range, low relative standard deviation, high precision and obtained satisfactory results.

Key words granisetron hydrochloride; determination; related substances; HPLC

盐酸格拉司琼葡萄糖注射液是一种无色或几乎无色的澄明液体, 为已有国家标准药品, 其主要成分是盐酸格拉司琼。盐酸格拉司琼业已成为当今首选的抗呕吐药物, 是一种高选择性的 5-HT₃ 受体拮抗剂, 对因放疗、化疗及手术引起的恶心和呕吐具有良好的预防和治疗作用^[1-5]。目前, 盐酸格拉司琼含量分析已有报道^[6-8], 而盐酸格拉司琼葡萄糖注射液含量及有关物质分析检测尚未见国内报道, 其中有关物质主要以 5-羟甲基糠醛 (5-HMF) 为主。本文对盐酸

格拉司琼葡萄糖注射液中盐酸格拉司琼和 5-HMF 的含量进行了测定, 获得满意结果。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

盐酸格拉司琼对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 100558-200301); 盐酸格拉司琼葡萄糖注射液 (福建天泉药业股份有限公司, 批号: 090216-090221, 090225); 5-羟甲基糠醛对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 111626-200804); 甲醇, 色谱纯;

收稿日期: 2011-02-24 修改稿日期: 2011-03-05

基金项目: 国家自然科学基金项目 (21073113); 山西省高校优秀青年学术带头人支持计划

作者简介: 李江 (1982-), 男, 山西大同人, 山西大同大学助教, 硕士, 从事分析化学研究。电话: 15935232627, E-mail: possum le@126.com

三乙胺 (TEA)、冰醋酸、无水乙酸钠均为分析纯; 二次蒸馏水。

伍丰 LC-UV 100 高效液相色谱仪; PE-Lambda 35 紫外-可见分光光度计。

1.2 样品配制

1.2.1 供试品溶液的配制 直接取本品。

1.2.2 盐酸格拉司琼对照品的配制 取盐酸格拉司琼对照品 30 mg 置 100 mL 容量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

1.2.3 5-羟甲基糠醛对照品的配制 取 5-羟甲基糠醛对照品 10.02 mg 置 100 mL 容量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 5 mL, 置 50 mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 即得。

1.2.4 空白辅料溶液的制备 按盐酸格拉司琼葡萄糖注射液规格, 取辅料适量, 加水溶解, 滤过。取滤液, 作为辅料溶液。

1.3 色谱条件

色谱柱为氟基硅烷键合硅胶柱 (5 μm , 250 mm \times 4.6 mm); 流动相为 0.05 mol/L 醋酸钠缓冲液 [含 0.25% (mL/mL) 三乙胺, 用冰醋酸调节 pH 值至 6.0] - 甲醇 (50:50); 检测波长 302 nm; 流速 0.8 mL/min; 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ 。

2 结果与讨论

2.1 系统适用性实验

分别取各溶液 100 μL , 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 见图 1~图 3。

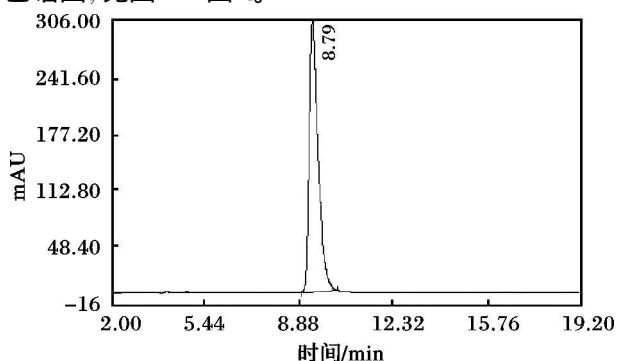


图 1 盐酸格拉司琼对照品色谱图

Fig 1 Chromatogram of reference standard solution of granisetron hydrochloride

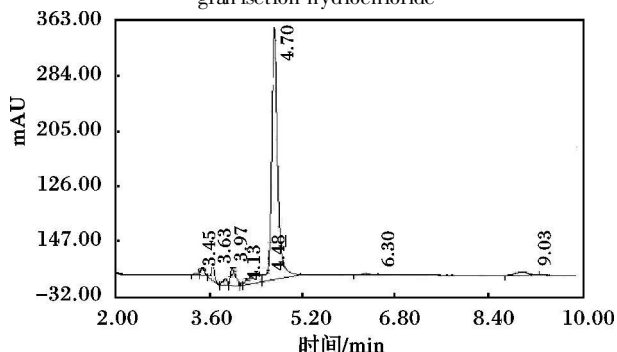


图 2 5-羟甲基糠醛对照品色谱图

Fig 2 Chromatogram of 5-HMF reference

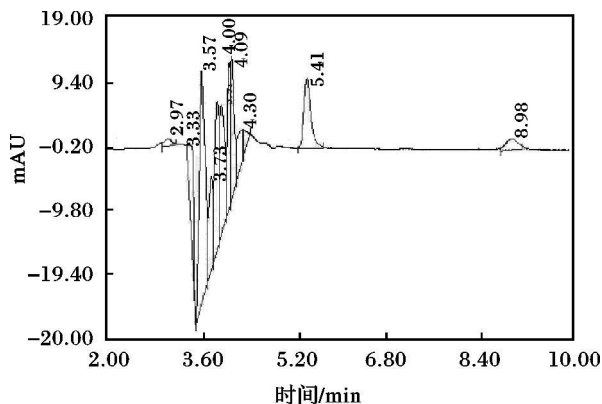


图 3 空白辅料溶液色谱图

Fig 3 Chromatogram of blank

单标实验结果表明, 在该色谱条件下, 盐酸格拉司琼色谱峰的保留时间为 8.790 min 与系统适用性实验中供试品溶液的相应峰的保留时间基本一致; 其理论塔板数为 3670.04。在该色谱条件下, 5-羟甲基糠醛色谱峰的保留时间为 4.703 min, 其理论塔板数为 9482.71。可见盐酸格拉司琼 (见图 1) 与 5-羟甲基糠醛 (见图 2) 分离良好, 注射液中空白辅料均对分析不产生干扰 (见图 3)。

2.2 专属性检查

在实验条件下, 主药和辅料在酸、碱、光、热及氧化等破坏条件下, 盐酸格拉司琼和有关破坏产物能有效分离, 辅料和 5-羟甲基糠醛对其测定不产生干扰, 表明该色谱条件适用于本品的分析测定, 证明了本方法的可靠性。

2.3 线性关系

2.3.1 盐酸格拉司琼含量测定 精密称取盐酸格拉司琼对照品 16.5 mg 置 50 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀; 精密量取 3.4, 5.6, 7 mL, 分别置 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀; 分别精密量取上述各溶液 20 μL , 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 量取峰面积, 以峰面积 A 为纵坐标, 以盐酸格拉司琼浓度 C 为横坐标进行线性回归, 得方程 $A = 4.6726x + 2.4207$ ($r = 0.9996$), 检出限为 0.15 ng。

2.3.2 有关物质含量测定 精密称取 5-羟甲基糠醛对照品 10.0 mg 置 100 mL 容量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀; 分别精密量取 2.3, 5.6, 7 mL, 置 50 mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀; 分别精密量取上述各溶液 100 μL , 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 量取峰面积, 以峰面积 A 为纵坐标, 以 5-羟甲基糠醛浓度 C 为横坐标进行线性回归, 得方程为 $A = 26.635C + 6.6759$ ($r = 0.9998$), 其检出限为 1 ng。

2.4 精密度实验

直接取本品, 作为供试品溶液, 按照上述色谱条件下测定, 连续进样 6 次, 每次进样 20 μL , 平均峰

面积 $A = 163\ 389\ 6$ 其 $RSD\% = 0\ 12$ 。

取 5 羟甲基糠醛对照溶液, 作为供试品溶液, 按照上述色谱条件进行测定, 连续进样 6 次, 每次进样 $100\ \mu\text{L}$, 平均峰面积 $A = 218\ 973\ 7$, 其 $RSD\% = 0\ 4$ 。

结果表明, 本方法含量测定精密度良好。可以满足本品中盐酸格拉司琼的含量测定要求。

2.5 稳定性实验

取精密度实验项下供试品溶液, 在 $25\ ^\circ\text{C}$ 条件下放置, 经 $0\ 1\ 2\ 4\ 6\ 8\ \text{h}$, 于不同时间点取样 $20\ \mu\text{L}$ 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 测定其峰面积, 考察其稳定性, 平均峰面积 $A = 168\ 062\ 5$ 其 $RSD\% =$

$0\ 63$ 表明盐酸格拉司琼样品溶液在室温条件下 $8\ \text{h}$ 内稳定。

2.6 回收率实验

精密称取盐酸格拉司琼原料 $2\ 6\ 3\ 3\ 4\ 0\ \text{mg}$ 分别置 $100\ \text{mL}$ 量瓶中, 按处方加入葡萄糖, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液, 每个浓度配制 3 份。取各溶液 $20\ \mu\text{L}$, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 测定其峰面积, 按外标法求得样品中盐酸格拉司琼含量, 再根据样品的投入量, 计算其回收率, 结果见表 1。由表 1 可知, 本方法回收率良好。

表 1 盐酸格拉司琼含量测定回收率实验结果

Table 1 Recoveries determination of granisetron hydrochloride

浓度 /%	序号	投入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 /%	RSD /%
80	1	2.6	2.56	98.46	98.18	1.32
	2	2.6	2.56	98.46		
	3	2.6	2.56	98.46		
100	1	3.3	3.29	99.70		
	2	3.3	3.29	99.70		
	3	3.3	3.27	99.09		
120	1	4.0	3.85	96.25		
	2	4.0	3.87	96.75		
	3	4.0	3.87	96.75		

2.7 样品含量的测定

取含量供试溶液 $20\ \mu\text{L}$ 进样, 记录色谱图, 3 批样品含量测定结果见表 2。

表 2 盐酸格拉司琼的含量测定结果

Table 2 Content determination of granisetron hydrochloride

批号	含量 /%
090216	99.7
090221	99.4
090225	99.8

2.8 5 羟甲基糠醛含量的测定

采用上述色谱方法测定三批样品 (090216, 090221, 090225), 结果显示 3 批样品中的 5 羟甲基糠醛含量均小于 $1\ 0\%$ 。

3 结论

本品在 $19\ 8\sim 46\ 2\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内与色谱峰面积线性良好, 含量测定回收率高, 辅料和有关物质对主峰不形成干扰, 主峰与相邻杂质峰的分离度符合要求。采用本法能够准确进行盐酸格拉司琼葡萄糖注射液中主药和有关物质的测定, 具有专属性强, 干扰少, 分析速度快等特点。

参考文献:

- [1] 竺红远, 凌树森. 格拉司琼的研究进展 [J]. 中国临床药理学杂志, 1999, 15(5): 374-376
- [2] 杜迎翔, 刘文英, 张晶雪. 反相高效液相色谱法测定格拉司琼片中主药的含量 [J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21(2): 71-73
- [3] Olivia W, Susan E, Georgios K. Additive antiemetic efficacy of prophylactic ondansetron with droperidol in outpatient gynecological laparoscopy [J]. Can J Anaesth, 2000, 47(6): 529-536
- [4] Fuji Y, Tanaka H, Toyooka H. Prevention of postoperative nausea and vomiting with granisetron: A randomized, double-blind comparison with droperidol [J]. Can J Anaesth, 1995, 42(10): 852-856
- [5] Leslie R A, Reynolds D J, Andrews P L, et al. Evidence for presynaptic 5-hydroxytryptamine 3 recognition sites on vagal afferent terminals in the brainstem of the ferret [J]. Neuroscience, 1990, 38(5): 667-673
- [6] 古卓良, 周国华, 章杰兵, 等. 高效液相色谱法测定盐酸格拉司琼含量 [J]. 江苏药学与临床研究, 2003, 11(3): 12-14
- [7] 夏保云, 吴强, 何广卫. HPLC 法测定盐酸格拉司琼片的含量 [J]. 药物分析杂志, 2001, 20(4): 2571-2573
- [8] 夏保云, 吴强, 何广卫, 等. 用 HPLC 法测定盐酸格拉司琼口服液的含量 [J]. 安徽化工, 2000(2): 48-49