

HPLC - ELSD 法测定盐酸乙胺丁醇片的含量及溶出度

柳小秦, 吴少平, 李霞, 李继, 宋燕玲

(陕西省药品检验所, 西安 710061)

摘要 目的: 采用 HPLC - ELSD 法建立了盐酸乙胺丁醇片含量及溶出度的测定方法。方法: 采用 Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相: 乙腈 - 水 (50: 50), 流速: 0.6 mL · min⁻¹, 柱温: 20 °C。蒸发光散射检测器条件为: 撞击器状态: 关, 漂移管温度: 105 °C, 载气流速: 2.6 L · min⁻¹。结果: 盐酸乙胺丁醇浓度在 64 ~ 640 μg · mL⁻¹ 的范围内呈良好的线性关系 ($r = 0.9992$); 平均加样回收率 ($n = 6$) 为 99.4%, RSD 为 0.7%。结论: 本方法操作简便、准确、稳定, 灵敏度高, 适用于盐酸乙胺丁醇片质量控制。

关键词: HPLC - ELSD; 盐酸乙胺丁醇片; 含量测定; 溶出度

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254 - 1793 (2008) 05 - 0804 - 03

HPLC - ELSD determination of content and dissolution of ethambutol hydrochloride tablets

LIU Xiao - qin, WU Shao - ping, LI Xia, LI Ji, SONG Yan - ling

(Shaanxi Institute for Drug Control, Xi'an 710061, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC - ELSD method for determination of content and dissolution of ethambutol hydrochloride tablets. **Methods:** The chromatographic condition was as follows: Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was composed of acetonitrile - water (50: 50), flow rate was 0.6 mL · min⁻¹, column temperature was 20 °C; The condition of ELSD was as follows: impactor was off, drift tube was at 105 °C, flow rate was 2.6 L · min⁻¹. **Results:** The calibration curves showed good linearity in the range of 64 - 640 μg · mL⁻¹ ($r = 0.9992$); The average recovery rate ($n = 6$) was 99.4% (RSD = 0.7%). **Conclusion:** The method is good in the aspect of reproducibility and sensitivity. It can be applied for the quality control of ethambutol hydrochloride tablets.

Key words: HPLC - ELSD; ethambutol hydrochloride tablets; content; dissolution

盐酸乙胺丁醇 (ethambutol hydrochloride) 是抗结核药, 具有抑制结核杆菌蛋白与核酸合成的作用。其片剂质量标准收载于中国药典 2005 年版 (二部)^[1], 含量测定采用经有机溶剂多次提取的非水滴定法, 其中有机溶剂的大量使用易对人体造成危害, 在滴定过程中使用醋酸汞试液会给环境带来污染, 并且因过滤方法的不同可导致结果有 10% 左右的误差^[2], 不易得到平行结果; 其溶出度采用酸性染料比色法, 操作烦琐。目前文献报道盐酸乙胺丁醇的测定方法有气相色谱法^[3]、衍生化液相色谱法^[4]、旋光法^[5]等。本文采用 HPLC - ELSD 法同时测定盐酸乙胺丁醇片的含量及溶出度, 该方法简单, 结果准确可靠, 可用于该品种的质量控制。

1 仪器及试剂

Waters Breeze 1525 - 717 HPLC 色谱系统; Empower 2002 Waters 工作站; Alltech ELSD 2000D 蒸发光散射检测器; Sartorius ME235S 型全自动电子天平; DL - 800S 型溶出度仪。

盐酸乙胺丁醇对照品 (购自中国药品生物制品检定所, 10165 - 0103); 盐酸乙胺丁醇片 (规格: 0.25 g · 片⁻¹), 3 批样品为市售; 乙腈为色谱纯, 水为超纯水。

2 溶液的制备

2.1 对照品溶液 精密称取盐酸乙胺丁醇对照品 32 mg, 置 50 mL 量瓶中, 用水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得对照品储备液。精密量取对照品储备液 20 mL

置 50 mL 量瓶中,用水并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2 供试品溶液 取本品 10 片,精密称定,研细,精密称取细粉适量(约相当于盐酸乙胺丁醇 50 mg),置于 200 mL 量瓶中,用水溶解并稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 滤膜过滤,即得含量测定用溶液;取本品,照溶出度测定法(中国药典 2005 年版二部附录 X C 第一法),加水 900 mL 为溶剂,转速为 100 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$,依法操作,经 5, 10, 20, 30, 45, 60 min 时,取溶液 5 mL,用 0.45 μm 滤膜过滤,即得溶出度测定用溶液,同时补足溶出介质。

3 色谱条件

色谱柱:十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, Kromasil C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(50:50), 流速:0.6 mL $\cdot$ min $^{-1}$, 柱温:20 $^{\circ}\text{C}$, 进样量:10 μL 。Alltech ELSD 2000D 蒸发光散射检测器条件为撞击器状态:关,漂移管温度:105 $^{\circ}\text{C}$, 载气流速:2.6 L $\cdot$ min $^{-1}$ 。

按上述色谱条件测定含量及溶出度, 色谱图见图 1, 理论塔板数:5000。

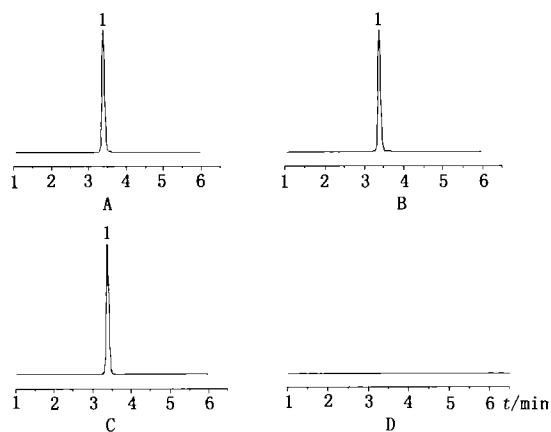


图 1 盐酸乙胺丁醇对照品(A)、含量测定样品(B)、溶出度测定样品(C)和空白辅料(D)的色谱图

Fig 1 Chromatograms of ethambutol hydrochloride reference substance (A), sample of content (B), sample of dissolution (C) and sample of blank (D)

1. 乙胺丁醇(ethambutol)

4 线性关系的考察

分别精密量取对照品储备液 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 mL 于 10 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,按上述色谱条件将以上对照品溶液分别进样 10 μL ,以峰面积 X 为横坐标,浓度 Y ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 为纵坐标进行线性回归,得回归方程:

$$Y = 3.473 \times 10^{-4} X + 53.67 \quad r = 0.9992$$

表明盐酸乙胺丁醇在 64 ~ 640 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的范围内具有良好的线性关系。

5 进样精密性、重复性及稳定性试验

取同一对照品溶液,分别重复进样 5 次,记录色谱图,结果峰面积的 RSD 为 0.8%。

按样品测定方法,对同一批次样品进行 6 次平行试验,测得含量的 RSD 值为 1.1%,说明本方法的重复性良好。

取对照品溶液,按上述色谱条件在 0, 2, 4, 8, 12, 16, 24 h 测定,记录色谱图,结果峰面积的 RSD 为 1.2%,说明供试品溶液在室温下放置 24 h 的稳定性良好。

6 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品适量(约相当于盐酸乙胺丁醇 18.6 mg)共 6 份,分别精密加入盐酸乙胺丁醇对照品溶液($64 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)各 100 mL,振摇,滤过,按上述色谱条件测定,以外标法计算回收率,结果平均回收率分别为 99.4%, RSD 为 0.7%。

7 定量限的考察

精密量取对照品储备液 15.0 mL 于 200 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,按上述色谱条件进样 10 μL ,信噪比约为 10:1,定量限为 48 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

8 方法耐用性

更换型号为 Capcell Pak C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) 的色谱柱同条件测定,重现性良好。在试验过程发现,柱温对峰形有影响,柱温 20 $^{\circ}\text{C}$ 时,峰形良好,柱温升至 40 $^{\circ}\text{C}$ 时,有拖尾现象。

9 样品含量及溶出度测定

取市售样品 3 批,按上述方法处理测定,含量测定结果见表 1。

表 1 盐酸乙胺丁醇片剂含量测定结果(% , $n=3$)

批号(Lot No.)	本法(this method)	药典法(official method)
061008	97.2(0.7)	96.8(1.6)
061025	99.7(0.3)	98.6(2.5)
061123	95.3(0.9)	96.4(1.9)

注(note):括号内为 RSD 值(RSD in the parenthesis, %)

取市售样品 3 批,按上述方法处理测定,溶出度结果见图 2,与药典法测定结果一致,无显著性差异。

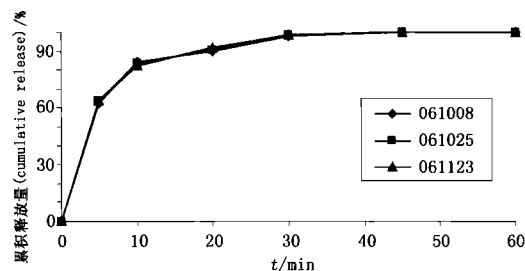


图 2 3 批盐酸乙胺丁醇片溶出度的测定结果

Fig 2 The cumulative release of ethambutol hydrochloride tablets

10 讨论

10.1 ELSD 检测器的漂移管温度对基线水平的影响没有明显规律,而流动相组成不同时对峰响应值有较大的影响,一般来说,在一定的范围内,流动相流速越低,流动相完全挥发所需的载气流速越低,形成的溶质颗粒越大,对激光散射能力越强,相应的响应信号越强。所以最佳载气流速是在可接受的噪音基础上,产生最大检测响应时的最低流速。经试验,在上述色谱条件时,信噪比高,噪音最小。

10.2 英国药典^[8]采用加入铜铵试液以提高样品比旋度的方法测定盐酸乙胺丁醇的含量,测定过程要求使用 Hg 灯($\lambda = 436 \text{ nm}$)旋光仪,而 Hg 灯旋光仪价格昂贵,未经普及。也有文献报道使用衍生化-HPLC 法测定盐酸乙胺丁醇的含量,其衍生化过程需氮气流吹干,操作烦琐,还会因为反应的复杂性及衍生物的稳定性影响测定结果。

10.3 盐酸乙胺丁醇无紫外吸收,不能用紫外检测器进行分析,而 ELSD 检测器是一种质量型通用检测器,其原理是应用溶质颗粒在检测器中散射从激光光源发出的光,经过光电倍增管收集来输出检测信号^[6,7]。本文采用 HPLC-ELSD 法测定了盐酸乙胺丁醇片的含量及溶出度,简便准确,灵敏度高。适用于盐酸乙胺丁醇片的质量控制。

参考文献

- 1 ChP(中国药典). 2005. Vol II(二部):456
- 2 LIU Jun-Kang(刘君康), GUO Tuo-yun(郭拓云), Ayiguli(阿依古丽). Effect of different filtered method on determination for ethambutol hydrochloride tablets(不同过滤方法对盐酸乙胺丁醇片含量测定的影响). *Drug Stand China*(中国药品标准), 2003, 4(4):46
- 3 QIU Han(邱涵), CHEN Su-jian(陈素俭), LI Ling-ling(李玲玲), et al. GC-FID determination of the content of ethambutol hydrochloride tablet(气相色谱法测定盐酸乙胺丁醇片中盐酸乙胺丁醇的含量). *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2003, 38(8):575
- 4 SUN Jin(孙进), SONG Hong-tao(宋洪涛), ZHANG Tian-hong(张天虹). Determination of contents and dissolution of ethambutol hydrochloride in fixed dose combinations for anti-Tuberculosis drugs by high performance liquid chromatography with pre-column derivatization(柱前衍生化高效液相色谱法测定固定剂量复方抗结核制剂中盐酸乙胺丁醇的含量和溶出度). *Chin J Chromatogr*(色谱), 2006, 24(2):164
- 5 LI Jun(李君), WANG Yu-lan(王玉兰). Determination of ethambutol hydrochloride tablet by polarimetry(旋光法测定盐酸乙胺丁醇片的含量). *Drug Stand China*(中国药品标准), 2003, 4(3):34
- 6 Andrzej Stolyhwo, Henry Colin, Michel Martin. Study of the qualitative and quantitative properties of the light scattering detector. *J Chromatogr*, 1984, 288:253
- 7 WANG Qiao-e(王巧娥), DING Ming-yu(丁明玉). Progress on evaporative light-scattering detection(蒸发光散射检测技术研究进展). *J Instrum Anal*(分析测试学报), 2006, 25(6):126
- 8 BP. 2007. Vol I:806

(本文于 2007 年 5 月 31 日修改回)