

盐酸林可霉素有关物质测定方法的研究

朱建平, 张菁, 刘云(河北省药品检验所, 石家庄 050011)

摘要 目的: 建立高效液相色谱法测定盐酸林可霉素的有关物质。方法: 采用 DiamonsilTM C₁₈色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm), 流动相为 0.05 mol·L⁻¹ 硼砂溶液(用 85% 磷酸溶液调节 pH 值至 6.1)-甲醇(1:1), 紫外检测波长 214 nm。结果: 林可霉素与相邻杂质之间及各有关物质之间的分离度良好, 最低检出限为 20.16 ng 精密度为 0.15%。结论: 该方法简便、准确、快速、专属性强, 可用于盐酸林可霉素的质量控制。

关键词: 林可霉素; 高效液相色谱法; 有关物质

中图分类号: R927 文献标识码: A 文章编号: 1009-3656(2011)-1-54-3

Determination of Lincomycin Hydrochloride for Related Substances by HPLC

Zhu Jian-ping Zhang Jing Liu Yun(Hubei Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011)

Abstract Objective To establish an HPLC method for the determination of Lincomycin Hydrochloride for related substances by HPLC. **Methods** The DiamonsilTM C₁₈ (4.6 mm × 200 mm, 5 μm). The mobile phase 0.05 mol·L⁻¹ borax solution (adjusted to pH 6.1 with 85% phosphoric acid)-methanol (1:1). Detection wavelength is 214 nm. **Results** The resolution factor between peaks of lincomycin and the impurities complies with the related requirements and the LOD of Lincomycin Hydrochloride were 20.16 ng. **Conclusion** The method is simple and rapid with high resolution.

Key Words Lincomycin; HPLC; Related Substances

盐酸林可霉素是林可霉素的盐酸盐, 为抗生素类药, 对大多数革兰氏阳性菌有效, 临床上用于金黄色葡萄球菌、绿色链球菌、肺炎双球菌等引起的感染, 其特点是广泛分布到全身各组织, 所以对骨髓炎、脑膜炎的治疗有效。盐酸林可霉素在《中国药典》2005年版、《美国药典》31版、《欧洲药典》6.0版、《英国药典》2008版和日抗基 2000版、日本药局方第 15 版均对该品种有收载, 但均未对其有关物质进行检查方法进行研究。

1 仪器及试剂

美国 Agilent 公司 1200 型高效液相色谱仪; 硼砂为优级纯; 甲醇为色谱纯; 林可霉素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 130484-200502 含量 84.2%); 11 批不同厂家盐酸林可霉素原料。

2 色谱条件

色谱柱: DiamonsilTM C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为 0.05 mol·L⁻¹ 硼砂溶液(用 85% 磷酸溶液调节 pH 值至 6.1)-甲醇(5:5), 检测波长 214 nm, 进样量 10 μL。

3 试验方法与结果

3.1 测定波长的选择

参照《中国药典》2005年版含量测定方法选择检测波长为 214 nm。

3.2 流动相的选择

《中国药典》2005年版含量项下的流动相为 0.05 mol·L⁻¹ 硼砂溶液(用 85% 磷酸溶液调节 pH 值至 6.0)-甲醇(4:6), 为使盐酸林可霉素中的杂质分离完全, 经过试验, 将流动相调整为 0.05 mol·L⁻¹ 硼砂溶液(用 85% 磷酸溶液调节 pH 值至 6.1)-甲醇(1:1)时, 杂质分离较好。

0.05 mol·L⁻¹ 硼砂溶液 pH 值的选择《中国药典》2005年版含量项下的流动相 0.05 mol·L⁻¹ 硼砂溶液 pH 值为 6.0 经试验, pH 值较低时(pH 值低于 6.0), 林可霉素峰出现前延, pH 值在 6.0~6.3 之间, 峰型较好。

由于硼砂溶液和甲醇混合时, 产生大量热量, 致使流动相产生气泡, 进而导致检测系统的不稳定, 故, 流动相用前应混合均匀, 冷却至室温, 超声至少 15 min 脱气后使用。

3.3 系统适用性试验

称取林可霉素对照品 50 mg 置 25 mL 量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度。滤过进样 10 μL,记录色谱图。林可霉素峰与相邻杂质峰的分度应符合要求,理论板数按林可霉素峰计算应不低于 1 500 林可霉素峰与林可霉素 B 峰的分度应不小于 2.6。林可霉素 B 峰为林可霉素峰相对保留时间的 0.4~0.7,在本色谱条件下,林可霉素色谱图见图 1。

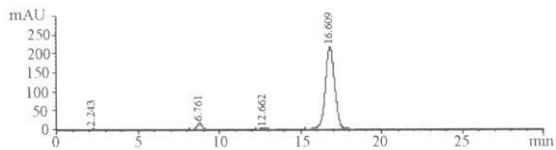


图 1 系统适用性实验色谱图

林可霉素峰与林可霉素 B 峰的分度为 10.8,林可霉素理论板数为 3 746 林可霉素峰与相邻杂质峰的分度为 4.0 林可霉素峰的拖尾因子为 1.00。

4 专属性试验

盐酸林可霉素室温下密闭贮存较稳定,在单纯加热、加碱、加酸或光照条件下,均不能有效破坏。经试验,在加酸、加碱后加热破坏时,能产生较多降解物;氧化亦能导致较大程度破坏。

4.1 碱降解实验

取本品,加水溶解,加入 5 mol·L⁻¹的氢氧化钠溶液 2 mL,在 100 °C 水浴中加热 40 min 后取出放冷至室温,加 5 mol·L⁻¹的盐酸溶液 2 mL 中和,加水稀释成每 1 mL 中约含 4.0 mg 的溶液,取 10 μL 注入色谱仪,记录色谱图,共产生 7 个杂质峰,各降解物之间及主成分峰相邻峰之间能有效分离,见图 2。

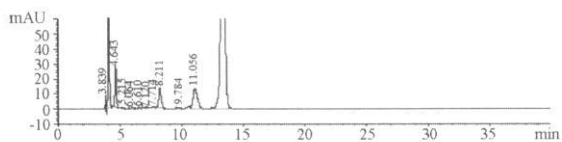


图 2 碱破坏色谱图

4.2 酸降解试验

取本品,加水溶解,加入 5 mol·L⁻¹的盐酸溶液 2 mL,在 100 °C 水浴中加热 15 min 后取出放冷至室温,加入 5 mol·L⁻¹的氢氧化钠溶液 2 mL 中和,加水稀释成每 1 mL 中约含 4.0 mg 的溶液,取 10 μL 注入色谱仪,记录色谱图,共产生 7 个杂质峰,各降解物之间及主成分峰相邻峰之间能有效分离,见图 3。

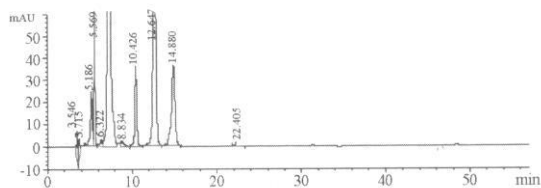


图 3 酸破坏色谱图

4.3 氧化试验

取本品,加流动相溶解,加入 10% 过氧化氢溶液 5 mL,放置 10 min 加流动相稀释成每 1 mL 中约含 4.0 mg 的溶液,取 10 μL 注入色谱仪,记录色谱图,共产生 5 个杂质峰,各降解物之间及主成分峰相邻峰之间能有效分离,见图 4。

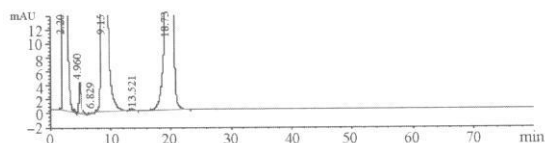


图 4 氧化色谱图

5 方法学验证

5.1 最低检出限

取林可霉素对照品,加流动相溶解并稀释成 4.032 5 mg·L⁻¹的溶液,取 5 μL 注入色谱仪,记录色谱图,计算信噪比 S/N ≈ 3 最低检出限为 20.16 ng。

5.2 精密度试验

取林可霉素对照品适量置容量瓶中,用流动相制成 40 mg·L⁻¹的溶液,按上述条件重复进样 6 次,结果主峰面积 RSD 为 0.15%,表明林可霉素进样精密度良好。

5.3 重复性试验

精密称取盐酸林可霉素原料 0.1 g 置 25 mL 量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液;精密量取供试品溶液 1 mL,加流动相稀释至 100 mL,作为对照溶液,依法配制 6 份溶液,按上述色谱条件分别测定,测定结果见表 1。

表 1 重复性实验结果

序号	1	2	3	4	5	6	RSD %
单一杂质 %	0.30	0.29	0.30	0.28	0.31	0.29	3.6
杂质总量 %	0.81	0.78	0.80	0.79	0.80	0.79	1.3

5.4 溶液的稳定性试验

取被测溶液,间隔 1 h 测定,共 8 h 测定结果: 8

h内,被测溶液所检出的杂质个数未增加,主峰面积的 RSD为 0.2%,无显著性差异。

6 有关物质测定方法

有关物质 照高效液相色谱法(《中国药典》2005年版二部附录IVD)测定。

色谱条件与系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硼砂溶液(用 85% 磷酸溶液调解 pH 值至 6.1)-甲醇(1:1)混合后为流动相;检测波长为 214 nm。林可霉素峰与相邻杂质峰的分离度应符合要求,理论板数按林可霉素峰计算应不低于 1500。林可霉素峰与林可霉素 B 峰的分离度应不小于 2.6。林可霉素 B 峰为林可霉素峰相对保留时间的 0.4~0.7。

测定法 取本品适量,用流动相制成每 1 mL 中约含林可霉素 4 mg 的溶液,作为供试品溶液;精密量取 1 mL,置 100 mL 量瓶中,用流动相定量稀释至刻度,摇匀,作为对照溶液。精密量取对照溶液 10 μL ,注入液相色谱仪,调节检测灵敏度,使主成分色谱峰的峰高约为满量程的 10%,精密量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有杂质峰,除林可霉素 B 峰外,其他单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积(1.0%),其他各杂质峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积的 2 倍(2.0%)(供试品溶液中任何小于对照溶液主峰面积 0.05 倍的峰可忽略不计)。

取 11 个不同厂家的盐酸林可霉素原料,按上述方法测定,结果见表 2。

表 2 不同厂家有关物质考察结果

生产厂家	批号	单一杂质质量 %	杂质总量 %
1	2008031451	0.4	0.8
2	080234	0.3	0.7
3	0803034	0.2	0.5
4	20070925	0.4	0.9
5	20071118	0.3	0.7
6	2007122093	0.3	0.8
7	080200070	0.7	1.5
8	2007123032	0.3	0.8
9	0803035	0.3	0.8
10	05-03-09	0.3	0.8
11	H920502	0.3	0.8

7 讨论

林可霉素有关物质在国外药典中均未控制。林可霉素在发酵、提炼及纯化过程中可能产生多种杂质,这些杂质的结构和毒理作用有待进一步确定和探讨,控制林可霉素的有关物质,对人民群众的用药安全非常必要。

该方法简便、灵敏、准确、专属性强,可用于林可霉素有关物质的控制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.《中国药典》.二部,2005:534.附录 X XA:172.

复方对乙酰氨基酚片中乙酰水杨酸含量测定方法的改进

李如栋¹,覃志高²,陈丽丽¹,卢珩¹(1 武警广西总队医院,530003;2 广西壮族自治区南宁食品药品检验所,南京 530001)

摘要 目的:改进复方对乙酰氨基酚片中乙酰水杨酸含量测定前处理方法。方法:通过增加每次萃取时三氯甲烷的量,使样品中乙酰水杨酸萃取、分离更加完全。结果:改进方法的含量测定结果更接近真实含量,精密度更高。结论:改进方法结果更真实、准确,可作为替代方法。

关键词:复方对乙酰氨基酚片;含量测定;乙酰水杨酸

中图分类号:R927 文献标识码:A 文章编号:1009-3656(2011)-1-56-2

Improvement of Determination Method of Acetylsalicylic Acid in Compound Paracetamol Tablet

Li Ru-dong¹, Qin Zhigao², Chen Lili¹, Lu Heng¹(1 Guangxi Provincial Hospital of Chinese People's Armed Police Force, Nanning 530003 China; 2 Nanning Institute for Food and Drug Control, Nanning 530001 China)

作者简介:李如栋,男,主管药师。学科及研究方向:药品管理工作。联系电话:13036861060。