

2.5 精密性试验 取回收率试验下的对照品溶液,连续进样 5 次,计算 RSD。结果甲硝唑、克霉唑与醋酸氯己定 RSD 分别为 0.26%, 0.94%, 0.57%。

2.6 稳定性试验 取样品,按样品测定项下方法测定,于 0, 1, 2, 4, 6, 8 h 进样,以峰面积计算,结果甲硝唑、克霉唑与醋酸氯己定 RSD 分别为 0.40%, 1.12%, 0.66%, 供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取同一批号样品,精密称取 5 份,按样品测定项下方法测定 3 种组分的含量,结果甲硝唑、克霉唑与醋酸氯己定 RSD 分别为 0.20%, 0.91%, 0.35%。

2.8 样品测定 取本品 10 枚,去除载体,置小烧杯中,在 80 °C 水浴上加热熔融,在不断搅拌下冷却至室温,精密称取适量(约相当于甲硝唑 20 mg),至 100 mL 量瓶中,加流动相约 70 mL, 80 °C 水浴中振荡使充分溶解,放冷至室温,用流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液 20 μ L 注入液相色谱仪,记录峰面积和色谱图(图 1)。外标法计算 3 种成分含量,结果见表 1。

表 1 样品测定结果(标示量 %, $n=3$)

Tab 1 Determination results of samples (labelled amount %, $n=3$)

批号	甲硝唑		克霉唑		醋酸氯己定	
	含量/%	RSD/%	含量/%	RSD/%	含量/%	RSD/%
060619	101.46	0.68	99.73	1.34	100.53	0.79
060620	100.97	0.49	98.97	1.06	100.24	0.94
060621	101.32	0.87	99.89	1.81	100.07	1.16

3 讨论

3.1 检测波长的选择 在 200~400 nm 范围内进行紫外扫描,克霉唑与醋酸氯己定在 260 nm 附近有最大吸收,甲硝唑在 260 nm 附近有最小吸收,考虑到该制剂中醋酸氯己定含量较少,甲硝唑含量较大,故选用 260 nm 作为检测波长。

3.2 流动相的选择 采用醋酸盐(醋酸-醋酸钠)缓冲液(pH 3.6)^[1]体系,有机相与水相的比例对组分的保留时间及分离度都有影响。当甲醇比例高于 70% 时,分离效果不佳;而水相比例太高时,保留时间则太长。当甲醇比例为 70% 时,保留时间较适宜,各组分能完全分离。

3.3 流动相 pH 对样品色谱行为的影响 试验表明,pH 越高,组分保留时间越长。本法采用冰醋酸调节 pH 3.60 的流动相具有合适的保留时间和分离度。

3.4 溴化四丁基铵对样品色谱行为的影响 试验表明,10 mmol·L⁻¹ 四丁基溴化铵的加入有助于改善峰形,使峰的对称性增强。

3.5 干扰性试验 分别配制甲硝唑、克霉唑、醋酸氯己定与空白基质溶液,按照色谱条件进行试验,结果表明各组分之间均不互相干扰,见图 2。

3 种药物见光易分解,操作过程中应注意避光。

参考文献:

[1] 中国药典. 二部[S]. 2005:58-59. 附录 157.

[收稿日期]2007-10-15

高效液相色谱法测定注射用盐酸帕洛诺司琼的含量

李云兰,林志华,杨帆,李菲菲,李青山 (山西医科大学药学院,山西太原 030001)

[摘要] 目的:建立高效液相色谱法测定注射用盐酸帕洛诺司琼的含量。方法:采用 Shimadzu LC-10ATvp 液相色谱系统,色谱条件:Diamonsil ODS(4.6 mm×200 mm, 5 μ m) 色谱柱,以甲醇-磷酸盐缓冲液(45:55)为流动相,流速为 1.0 mL·min⁻¹,紫外检测波长 241 nm,柱温 25 °C。结果:在 16.8~151.2 mg·L⁻¹ 范围内峰面积与浓度呈良好的线性关系,回归方程为 $A=6\ 026.82C-10\ 143$, $r=0.999\ 9$ ($n=5$),方法精密度的 RSD 为 0.95% ($n=6$),稳定性的 RSD 为 0.56% ($n=9$),重复性的 RSD 为 0.90% ($n=9$),平均回收率为 100.7% ($n=9$, RSD 为 0.43%)。结论:该方法简便、灵敏、专属、准确,可用于测定注射用盐酸帕洛诺司琼制剂中盐酸帕洛诺司琼的含量。

[关键词] 注射用盐酸帕洛诺司琼;高效液相色谱法;含量测定

[中图分类号] R927.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-5213(2008)05-0404-02

盐酸帕洛诺司琼是一种新的 5-HT₃ 受体拮抗剂,用于预防和治疗中高度肿瘤化疗引起的急性和迟发性的恶心、呕吐,与目前存在的类似药物相比,具有较长的半衰期,在控制恶心和呕吐方面比昂丹司琼更有效^[1-2]。它最先由瑞士的 Helsinn Healthcare SA 公司开发,并由美国 Mgi 生物制药有限公司获美国和加拿大地区的销售权,2003 年 7 月首次在美国上市(国外商品名为 Aloxi),是第 4 个获准在美国上市的 5-HT₃ 受体抑制剂。剂型为冻干粉针和注射液,规格为 0.25 mg。本品已在国内外上市,国内已经申报临床。目前中国药典未收载其质量标准。本实验根据《新药(西药)临床前研究指导原则》^[3],结合国外上市药物进行含量测定。

1 材料

Shimadzu LC-10ATvp 高效液相色谱仪;Shimadzu SPD-10AD 紫外检测器;CTO-10A 柱温箱;N2000 色谱工作站;注射用盐酸帕洛诺司琼粉针剂(山西亚宝制药有限公司);对照品由原料药 3 次重结晶,含量 $\geq 99.0\%$;甲醇为色谱纯;其他试剂均为分析纯;磷酸盐缓冲液的配制:0.02 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠溶液(加 0.25% 三乙胺,用磷酸调节 pH 至 5.5)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil ODS(4.6 mm×200 mm, 5 μ m);流动相: 甲醇-磷酸盐缓冲液(45:55);流速: 1.0 mL·min⁻¹;检测波长: 241 nm;柱温: 25 °C;进样量: 20 μ L。对照品和样品的色谱图见图 1。

2.2 检测波长的确定 取本品,溶于流动相制成每 1 mL 中含有 10 μ g 的溶液,照分光光度法^[4]测定,紫外吸收光谱在 216, 241, 284, 339 nm 波长处有最大吸收,考虑到溶剂末端吸收的干扰,采用灵敏度较高的 241 nm 作为检测波长。

[作者简介] 李云兰,女,博士研究生,副教授,电话:0351-4135243, E-mail: Liyunlanrr@163.com [通讯作者] 李青山,男,博士,教授,电话:0351-4690322, E-mail: qingshanl@yahoo.com

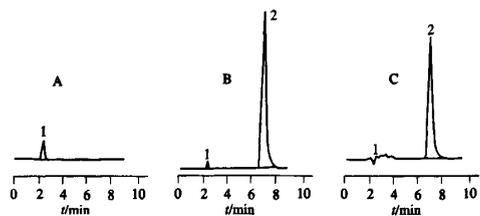


图 1 HPLC 色谱图

A. 空白辅料; B. 对照品; C. 样品; 1- 溶剂; 2- 盐酸帕洛诺司琼

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank; B. reference substance; C. sample; 1- solvent; 2- palonosetron hydrochloride

2.3 专属性考察 实验过程中考察了空白辅料对盐酸帕洛诺司琼的含量测定的影响, 结果见图 1。结果表明空白辅料和其他杂质不影响盐酸帕洛诺司琼的含量测定, 专属性高, 能够满足定量分析的要求。

2.4 线性关系试验 精密称取盐酸帕洛诺司琼对照品 8.4 mg 于 50 mL 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液 (168 mg·L⁻¹); 分别精密吸取上述对照品贮备液 1, 3, 5, 7, 9 mL 于 10 mL 量瓶, 流动相稀释至刻度, 摇匀。精密吸取上述溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图和峰面积。以样品峰面积对质量浓度 C(mg·L⁻¹) 进行线性回归, 回归方程为 $A = 6\ 026.82C - 10\ 143$, $r = 0.999\ 9$ ($n = 5$), 结果表明, 在 16.8~151.2 mg·L⁻¹ 范围内, 样品峰面积与浓度呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 精密吸取同一份样品溶液, 重复进样 6 次, 记录色谱峰, 测得盐酸帕洛诺司琼色谱峰面积的 RSD 为 0.95% ($n = 6$)。

2.6 重复性试验 取样品 (批号 20060306), 制成高、中、低 3 个不同浓度的样品溶液, 按回归方程计算供试品中盐酸帕洛诺司琼的含量。测定 3 次。测得 RSD 为 0.9% ($n = 9$)。

2.7 稳定性试验 同一份样品溶液, 每隔一定时间进样, 结果表明, 样品溶液在 24 h 内基本稳定 (RSD 为 0.56%, $n = 9$)。

2.8 回收率实验 精密称取已知含量样品适量, 置于 100 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 制得贮备液。依次取适量稀释成高、中、低 3 个质量浓度 (128, 64, 32 mg·L⁻¹)。照“含量测定”项下方法进行测定, 外标法计算含量和回收率, 平行测定 3 次, 结果见表 1。

表 1 回收率实验 ($n = 9$)

Tab 1 Recovery of the assay ($n = 9$)

已知样品量 /mg·L ⁻¹	测得样品量 /mg·L ⁻¹	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
32	31.6	98.8	100.7	0.43
	32.8	102.5		
	32.6	101.9		
64	63.6	99.4		
	64.6	100.9		
	64.2	100.3		
128	127.6	99.7		
	129.8	101.4		
	130.0	101.6		

2.9 样品含量测定 取盐酸帕洛诺司琼 16.5 mg, 精密称定, 置于 250 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀,

作为对照品溶液。另取装量差异项下细粉适量 (约相当于盐酸帕洛诺司琼 1.6 mg), 精密称定, 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和对照品溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。各批供试品依法平行测定 3 次, 按外标法以峰面积计算。结果见表 2。

表 2 供试品含量测定结果 ($n = 3$)

Tab 2 Determination results of samples ($n = 3$)

批号	含量 /%	平均含量 /%	相对平均偏差 /%
20060306	99.7	99.9	0.27
	99.8		
	100.2		
20060408	98.8	98.8	0.16
	99.0		
	98.7		
20060512	102	101.6	0.40
	101.2		
	101.6		

3 讨论

3.1 流动相的选择 选用甲醇与水、甲醇与磷酸盐缓冲液分别配成不同比例的流动相进行比较, 结果表明, 当甲醇-磷酸盐缓冲液 (45:55, pH 5.5) 时, 样品峰形和保留时间合适。

3.2 酸碱度的影响 pH 对色谱分析影响较大, 本实验考察了不同 pH (2, 2.5, 3, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 7, 8) 磷酸盐缓冲液下的色谱出峰情况, 当 pH 5.5 时样品峰形对称。

3.3 含量测定方法的选择 实验中对 HPLC 法同非水滴定法、UV 法进行了比较研究, 3 种方法的准确度和精密度的差异无显著性 ($P > 0.05$), 含量测定结果一致。但后 2 种方法专属性差, 灵敏度低, 对药物制剂的含量测定也有干扰, 本实验选用的 HPLC 法简单快速, 专属性强, 可同时测定制剂中的有关物质和含量。

参考文献:

[1] Kowalczyk BA. A short total synthesis of palonosetron using catalytic hydrogenation Heterocycles[J]. Heterocycles, 1996, 43(7): 1439-1446.
 [2] Meneses A, Hong E. Effect of fluoxetine on learning and memory involves multiple 5-HT system[J]. Pharmacol Biochem Behav, 1995, 52(2): 341-346.
 [3] 国家药品监督管理局药品审评中心主编. 新药(西药)临床前研究指导原则[S]. 2005 年.
 [4] 中国药典. 二部[S]. 2005.

[收稿日期] 2007-08-07

高效液相色谱法测定血浆中罗哌卡因的浓度

祝永明, 涂厉标, 杨毅, 李旭梅, 方达飞, 王真, 肖旺频 (嘉兴学院附属第二医院, 浙江 嘉兴 314000)

[摘要] 目的: 建立测定罗哌卡因血药浓度的高效液相色谱法。方法: 色谱柱为 Shim-pack C₁₈ (150 mm×6 mm, 5 μm) 柱; 流动相: 磷酸二氢钾缓冲液 (pH 3.0)-乙腈 (75:25); 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 210 nm; 柱温 25 °C; 以利多卡因

[基金项目] 浙江省嘉兴市科技局基金资助项目 (编号: 2005AY3026) E-mail: ymzhujx@hotmail.com

[作者简介] 祝永明, 男, 硕士, 副主任药师, 电话: 0573-82031907, E-mail: ymzhujx@hotmail.com