

表 1 样品含量测定结果.%, n = 3

Tab 1 Determination result of samples.%, n = 3

| 样品名称 | 批号 | HPLC | | | | UV | |
|----------|-----------|-------|-----|---------|-----|-------|---------|
| | | 甲硝唑 | RSD | 葡萄糖酸氯己定 | RSD | 甲硝唑 | 葡萄糖酸氯己定 |
| 复方氯己定含漱液 | 200101070 | 99.0 | 0.3 | 88.1 | 0.6 | 103.5 | 96.5 |
| | 20011203 | 98.7 | 0.4 | 95.1 | 0.4 | 102.8 | 101.2 |
| 甲硝唑氯己定洗剂 | 991101 | 101.8 | 0.7 | 96.8 | 0.3 | 105.0 | 101.3 |
| | 20010902 | 99.8 | 0.4 | 98.5 | 0.4 | 103.4 | 104.2 |

3.1 用流动相将甲硝唑和醋酸氯己定对照品分别稀释成浓度为 $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液在 200~350 nm 波长范围内进行扫描。甲硝唑和醋酸氯己定在 295 nm 波长处均有 UV 吸收, 考虑到末端吸收的影响以及排除样品处方中其它成分 UV 吸收的干扰, 故选用 295 nm 波长做为测定波长。

3.2 我们先后选用了几种流动相做试验: ①甲醇-水, 醋酸氯己定不出峰; ②甲醇-水-三乙胺(47:53:0.1) pH 2.5, 醋酸氯己定保留时间太长; ③甲醇-水-三乙胺(56:44:0.1) pH 值大于 3.5, 醋酸氯己定严重拖尾; ④甲醇-水-三乙胺(56:44:0.1) pH 3.0, 甲硝唑与醋酸氯己定两组分分离效果较好, 两峰的分离度和保留时间较合理, 因此选用此流动相系统做为测定用流动相。

3.3 由测定结果可以看出, 原方法的测定结果偏高, 而本方法则消除了样品中其它成分的干扰, 使测定结果更准确、可

靠。

3.4 通过比较实验说明, 本样品的贮藏时间对甲硝唑的含量基本无影响, 但对葡萄糖酸氯己定的含量影响较大。

3.5 醋酸氯己定和葡萄糖酸氯己定在紫外吸收光谱中, 能够产生吸收带的官能团主要是氯己定, 所以通过换算系数可以用醋酸氯己定代替葡萄糖酸氯己定的含量测定。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药品标准 新药转正标准, 1998 年版, 第十五册[S]. 1998: 59.
- [2] 中华人民共和国卫生部药品标准 新药转正标准, 1997 年版, 第十一册[S]. 1997: 79.
- [3] 韩俊, 曾焕俊, 唐宏锋. 高效液相色谱法测定康泰唑冲洗液中甲硝唑、醋酸氯己定和硝酸咪康唑的含量[J]. 药物分析杂志, 1997, 17(1): 9.

(收稿日期: 2002-05-13)

高效液相色谱法测定复方替加氟胶囊含量及其溶出度

吴毅彦, 左文坚 (天津市药品检验所, 天津 300070)

摘要:目的 建立一种高效液相色谱法测定复方替加氟胶囊含量及其溶出度。方法 采用 Diamonsil C₁₈ 柱(5 μm , 4.6 mm \times 250 mm), 用冰醋酸调节甲醇-2 mmol \cdot L⁻¹ 庚烷磺酸钠溶液(10:90) pH 值至 3.50, 抽滤后, 每 1 000 mL 溶液加乙醚 2 mL 为流动相, 流速为 1.0 mL \cdot min⁻¹, UV 检测波长为 280 nm。结果 此方法线性关系良好, 替加氟与尿嘧啶的平均回收率为 100.0%, 100.7%, RSD 为 0.21%, 0.98% (n = 9)。结论 本方法简单、快速、结果准确可靠, 为控制复方替加氟胶囊的质量提供了依据。

关键词: 高效液相色谱法; 复方替加氟胶囊; 含量测定; 溶出度

中图分类号: R927 文献标识码: A 文章编号: 1001-2494(2003)07-0534-04

Studies on dissolution of compound tegafur capsules by means of HPLC assay

WU Yi-yan, ZUO Wen-jian (Tianjin Municipal Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE A HPLC method was established for the determination of tegafur and uracil in compound tegafur capsules and its dissolution. **METHODS** The chromatographic condition was as following: Diamonsil C₁₈ column (5 μm , 4.6 mm \times 250 mm); methanol and 2 mmol \cdot L⁻¹ sodium sulphate heptane solution (10:90, adjusted pH to 3.50 by acetic acid), with 2 mL diethyl ether to 1 000 mL solution as the mobile phase. The flow rate was 1.0 mL \cdot min⁻¹. The wavelength of detection was 280 nm. **RESULTS** The mean recoveries of tegafur and uracil were 100.0% and 100.7% with RSD 0.21% and 0.98% (n = 9) respectively. **CONCLUSION** The proposed method appeared to be simple, rapid, accurate and reliable.

作者简介: 吴毅彦, 女, 药师 Tel: (022) 23374074; Fax: (022) 23374071

复方替加氟胶囊为一种新型复方抗癌制剂,具有选择性强、疗效高、毒性低的优点。本制剂口服后是否及时显效与溶出度有关,原质量标准^[1]中没有规定溶出度的检查方法,故我们对其溶出度的测定方法进行了研究。原含量测定的方法复杂,步骤繁琐,专属性差,故将其方法改进为高效液相色谱法,可快速准确分离两组分,并同时进行了溶出度测定,检测结果满意。

1 实验材料

Toyama NTR-6100型药物溶出仪,岛津 LC-10A 高效液相色谱仪,双泵,SPD-10A 紫外检测器,CTO-10A 柱温箱,C-R7A 数据处理机。

复方替加氟胶囊与其两主成分对照品:替加氟,色谱纯度 99.78%;尿嘧啶,色谱纯度 99.59% 及辅料(天津太河制药有限公司);庚烷磺酸钠(山东省禹王实业总公司化学制剂厂);甲醇和乙醚均为分析纯;冰醋酸为分析纯;试验用水为 2 次重蒸水。

2 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;甲醇-庚烷磺酸钠溶液(10:90)用冰醋酸调节 pH 值至 3.50,抽滤后,每 1 000 mL 溶液加乙醚 2 mL 为流动相;检测波长为 280 nm,理论塔板数按替加氟峰计算,应不低于 9 000,尿嘧啶峰与替加氟峰的分度应不低于 18。色谱图见图 1。

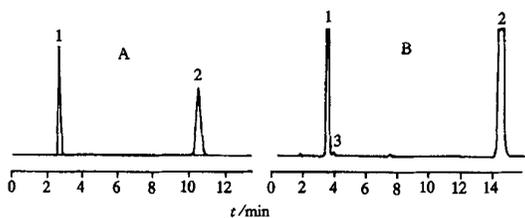


图 1 高效液相色谱图

A- 对照品; B- 样品; 1- 尿嘧啶; 2- 替加氟; 3- 杂质峰

Fig 1 HPLC chromatograms of compound tegafur capsules

A- reference; B- sample; 1- uracil; 2- tegafur; 3- impurity

3 含量测定试验方法与结果

3.1 线性试验

精密称取替加氟与尿嘧啶对照品适量,置同一量瓶中,加 10% 甲醇溶解并定量稀释制成每 1 mL 中含替加氟 0.1 mg,尿嘧啶 0.224 mg 的溶液(复方替加氟胶囊中尿嘧啶的投药量是替加氟的 2.24 倍,故试验中尿嘧啶浓度均为替加氟的 2.24 倍,以下不再说明)作为对照品溶液,分别进样 10, 20, 30 μ L。精密量取上述溶液 5 mL 置 10 mL 量瓶中,加 10% 甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,分别进样 3, 5, 10 μ L, 记录色谱图。结果表明替加氟浓度在 0.145~ 2.901 μ g \cdot mL⁻¹ 范围内与其峰面积呈良好线性关系,其线性方程为 $Y = 67\,088X + 54\,933$, $r = 0.999\,9$ ($n = 6$), 尿嘧啶浓度在 0.331 4~ 6.627 μ g \cdot mL⁻¹ 范围内与其峰面积呈良好线性关系,其线性方程为 $Y = 21\,598X + 3\,155.1$, $r = 0.999\,0$ ($n = 6$)。

3.2 稳定性试验

取对照品溶液与供试品溶液于室温下立即测定与放置 4, 8, 12, 24 h 测定,其峰面积值几乎无变化。对照品溶液替加氟峰面积积分值的 RSD 为 0.25% ($n = 4$)、尿嘧啶峰面积积分值的 RSD 为 0.29% ($n = 4$), 供试品溶液替加氟峰面积积分值的 RSD 为 0.07% ($n = 4$)、尿嘧啶峰面积积分值的 RSD 为 0.07% ($n = 4$)。说明本品的测定溶液在 24 h 内稳定。

3.3 精密度试验

取对照品溶液与供试品溶液,测得峰面积,对照品溶液中替加氟与尿嘧啶的 RSD 分别为 0.12% 和 0.14% ($n = 6$), 供试品溶液中替加氟与尿嘧啶的 RSD 分别为 0.10% 和 0.08% ($n = 6$)。

3.4 重复性试验

精密称取同一批号(020101)的样品 6 份,按“3.6”项下的方法对样品测定,结果替加氟与尿嘧啶的含量平均值分别为 101.9% 和 94.76%, RSD 分别为 0.80% 和 0.21% ($n = 6$)。

3.5 加样回收试验

分别精密称取替加氟对照品 6, 8, 10 与 12 mg 和尿嘧啶对照品 14.7, 17.9, 22.4 与 26.9 mg(每个浓度称取 3 份)分别置 100 mL 量瓶中,加 10% 甲醇溶液适量,使溶解,分别量取辅料溶液(按处方量精密称取混合辅料 300 mg,置 100 mL 量瓶中,加 10% 甲醇溶液适量,超声 10 min 使溶解,加 10% 甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液,即得)0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mL,按处方比例分别加入上述量瓶中,加 10% 甲醇溶液稀释至刻度,摇匀。分别进样 10 μ L,另取替加氟对照品与尿嘧啶对照品适量,加 10% 甲醇溶液制成每 1 mL 中含替加氟 0.10 mg 与尿嘧啶 0.224 mg 的溶液,作为对照品溶液,同法测定。按外标法以峰面积计算,即得。测定结果:尿嘧啶平均回收率为 100.1%, RSD = 1.02% ($n = 12$), 替加氟平均回收率为 100.0%, RSD = 0.21% ($n = 12$)。

3.6 样品含量测定

取 3 批样品,分别精密称取适量(约相当于替加氟 8 mg),置 100 mL 量瓶中,加 10% 甲醇溶液 80 mL,超声 10 min 后,再振摇 10 min 使替加氟与尿嘧啶溶解,用 10% 甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,精密量取 10 μ L,注入液相色谱仪,记录色谱图;另精密称取替加氟对照品 8 mg 与尿嘧啶对照品 18 mg 置同一量瓶中,加 10% 甲醇溶液 80 mL,同法测定。按外标法以峰面积计算,即得。3 批样品用本方法和文献法^[1]测定结果比较见表 1。

4 溶出度试验方法与结果

4.1 溶剂及测定波长的选择

替加氟^[2]在水中微溶,尿嘧啶溶于热水和碱性溶液,经试验选用水作为溶剂。精密称取替加氟与尿嘧啶对照品适量,分别加水溶解并定量稀释制成每 1 mL 中含替加氟 10 μ g 的溶液和含尿嘧啶 22.4 μ g 的溶液。在 200~ 400 nm 的波长

表 1 样品含量测定结果.%, n = 3

Tab 1 Content determination of samples.%, n = 3

| 批号 | 尿嘧啶 | | 替加氟 | |
|--------|------|------|-------|-------|
| | 本方法 | 文献法 | 本方法 | 文献法 |
| 020101 | 96.0 | 95.5 | 99.8 | 100.5 |
| 020102 | 96.2 | 93.3 | 101.6 | 100.7 |
| 020103 | 97.3 | 93.5 | 101.8 | 100.7 |
| RSD | 0.73 | 1.29 | 1.09 | 0.11 |

范围内扫描其紫外吸收光谱。两溶液的等吸收波长为 279 nm, 故选用 280 nm 为测定波长。

4.2 线性试验

精密称取替加氟与尿嘧啶对照品适量, 置同一量瓶中, 加水溶解并定量稀释制成每 1 mL 中含替加氟 50 μg, 尿嘧啶 112 μg 的溶液。精密量取上述溶液 2, 5, 10, 15, 20 μL 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图。结果表明替加氟浓度在 0.1 ~ 1.0 μg 范围内与其峰面积呈良好线性关系, 其线性方程为 $Y = 68.211X + 70.4$, $r = 0.9999$ ($n = 6$), 尿嘧啶浓度在 0.224 ~ 2.24 μg 范围内与其峰面积呈良好线性关系, 其线性方程为 $Y = 24.186X + 933.87$, $r = 0.9991$ ($n = 6$)。

4.3 稳定性试验

取对照品溶液与供试品溶液于室温下立即测定与放置 2, 4, 8, 15, 21 h 测定, 结果表明 2 种溶液均在 15 h 内稳定, 21 h 时供试品溶液尿嘧啶主峰后出现一替加氟分解峰, 说明样品已不稳定。对照品溶液替加氟峰面积积分值的 RSD 为 0.43%、尿嘧啶峰面积积分值的 RSD 为 0.53%。供试品溶液替加氟峰面积积分值的 RSD 为 0.61%、尿嘧啶峰面积积分值的 RSD 为 0.54% ($n = 6$)。

4.4 精密度试验

取对照品溶液与供试品溶液, 测得峰面积, 对照品溶液中替加氟与尿嘧啶的 RSD 分别为 0.06% 和 0.05% ($n = 6$), 供试品溶液中替加氟与尿嘧啶的 RSD 分别为 0.14% 和 0.17% ($n = 6$)。

4.5 溶出度曲线试验

取本品 6 粒, 照溶出度测定法第 1 法, 以水 1 000 mL 为溶剂, 转速为 $75 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 依法操作, 分别在 5, 10, 20, 30, 60 min 时取样 5 mL, 同时补入 5 mL, 滤过, 精密量取滤液 10 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图。另精密称取替加氟与尿嘧啶对照品适量, 加水溶解并定量稀释制成每 1 mL 中含替加氟、尿嘧啶 50, 112 μg 的溶液, 同法测定。计算出每点溶出量并绘制溶出曲线, 同样操作 6 次, 进行均匀性试验, 结果见图 2 ($n = 6$)。

4.6 加样回收试验

精密称取替加氟对照品 8, 10, 12 mg, 尿嘧啶对照品 17.9, 22.4, 26.9 mg 与辅料溶液(精密称取混合辅料 300 mg 置 100 mL 量瓶中, 加 10% 甲醇溶液适量, 超声 10 min 使溶解, 加 10% 甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 弃去初滤液取续滤液, 即得)0.8, 1.0, 1.2 mL 分别置 200 mL 量瓶中, 加水溶解并定量稀释至刻度, 摇匀。进样 10 μL, 另取替加氟对照品 10 mg 与尿嘧啶对照品 22.4 mg, 精密称定, 同法测定。按外标法以峰面积计算, 即得。测定结果: 替加氟平均回收率

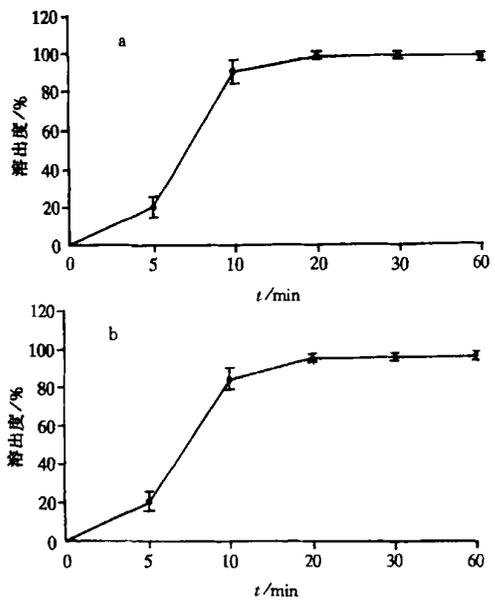


图 2 复方替加氟胶囊溶出曲线

a- 替加氟; b- 尿嘧啶

Fig 2 Dissolution curves of compound tegafur capsules

a- tegafur; b- uracil

($n = 9$) 为 100.2%, RSD = 0.28%, 尿嘧啶平均回收率($n = 9$) 为 99.63%, RSD = 1.30%。

4.7 样品溶出度测定

取本品 6 粒, 照溶出度测定法第一法, 以水 1 000 mL 为溶剂, 转速 $75 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 依法操作, 经 20 min 时, 取溶液 15 mL, 滤过, 弃去初滤液 10 mL, 精密量取续滤液 10 μL, 照溶出度曲线试验自“注入液相色谱仪”起依法测定, 结果见表 2。

表 2 溶出度测定结果.%, n = 3

Tab 2 Results of dissolution.%, n = 3

| 批号 | 样品 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|--------|-----|------|-------|------|-------|------|-------|
| 020101 | 替加氟 | 88.9 | 88.3 | 92.8 | 94.9 | 96.5 | 92.5 |
| | 尿嘧啶 | 88.0 | 86.5 | 90.9 | 92.5 | 93.3 | 89.3 |
| 020102 | 替加氟 | 99.2 | 97.3 | 91.9 | 96.4 | 94.7 | 103.0 |
| | 尿嘧啶 | 97.9 | 96.9 | 91.4 | 95.3 | 93.3 | 99.8 |
| 020103 | 替加氟 | 96.1 | 104.2 | 98.7 | 100.9 | 99.2 | 100.7 |
| | 尿嘧啶 | 96.1 | 101.2 | 97.3 | 98.4 | 97.0 | 96.6 |

5 讨论

5.1 在流动相的选择中, 分别进行了庚烷磺酸钠溶液不同浓度的选择 (1, 2, 3, 4 mmol · L⁻¹), 流动相 pH 值的选择 (3.0, 3.5, 4.0) 以及流动相中甲醇比例的选择 (5%, 10%, 15%)。结果表明: 调节庚烷磺酸钠浓度可改善替加氟峰的拖尾, 加入 2% 乙醚消除了主峰前的倒峰, pH 值的大小及甲醇比例的多少对分离度影响较大, 故实验中应加以注意。

5.2 溶出度方法经转篮法和桨法的比较试验, 其结果表明桨法溶出过快, 选用转篮法更为合理, 转速比较了 50 和 $75 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 结果 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 在 60 min 时未达到全溶出, 故选择 $75 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 作为本法的转速。做了溶剂、辅料、空胶囊及滤膜的干扰试验, 结果表明均无干扰。

5.3 本实验提出的方法简便、灵敏、准确、线性关系良好, 回收率替加氟为 100.2%, RSD = 0.28%; 尿嘧啶为 99.63%,

RSD= 1.30%,说明本法可行。采用本法对3批样品进行溶出度考查,20 min 取样测定时,溶出量均不低于80%。含量测定中回收率替加氟为100.0%,RSD= 0.21%;尿嘧啶为100.1%,RSD= 1.02%。本方法测得的含量结果与原方法基本一致,但准确度更高。

5.4 实验中发现,样品在热水浴中加热10 min,尿嘧啶主峰的后边有一分解峰,经试验证明为替加氟降解的未知杂质峰(图1);样品在溶解时,超声时间过长或测定溶液(溶出度)放置20 h以上时(因含量测定所用溶剂与溶出度不同,故在稳定性方面有差别,含量测定溶液在24 h内稳定),也会出现此

杂质峰,此峰的保留时间与尿嘧啶峰的保留时间相差较小,如果将其分离,分析时间较长,因杂质峰所占比例较小(0.1%),故可忽略不计。但放置24 h以后或加热时间过长会加速替加氟的分解,如分解峰过大则影响分离。因此规定含量测定中样品与对照品的溶解为超声处理10 min 后再振摇10 min 使其溶解完全,以防止降解杂质峰的产生,同时溶出度测定应在20 h内完成。

参考文献

- [1] 天津地方暂行标准.第十四册[S].1995.
- [2] 中国药典2000版.二部[S].2000:805.

(收稿日期:2002-06-11)

HPLC同时测定人血清中4种非苯二氮 类镇静催眠药物

莫斌斌¹,张毕奎¹,孙银香²,王峰¹,李焕德^{1*},冯军³,毛名扬⁴(1.中南大学湘雅二医院临床药学研究室,湖南长沙410011;2.湘潭市江南机械厂职工医院,湖南湘潭411207;3.湖南江华县人民医院药剂科,湖南永州425500;4.安徽省铜陵市人民医院,安徽铜陵244000)

摘要:目的 建立一种同时测定多种非苯二氮 类镇静催眠药物的方法,用于临床中毒的定性与定量分析。方法 血样用乙醚一步萃取,二极管阵列检测器检测,波长为254 nm,采用外标法,对血样中的佐匹克隆、扎莱普隆、唑吡坦、甲喹酮进行定性与定量分析。结果 血浆中0.1~2 μg·mL⁻¹浓度范围内具有良好的线性关系,血浆回收率均大于90%,日内、日间RSD均小于10%。结论 本方法简单、灵敏、准确、干扰小,适用于低浓度生物样品的测定。

关键词 高效液相色谱;佐匹克隆;扎莱普隆;唑吡坦;甲喹酮

中国分类号:R917.101

文献标识码:A

文章编号:1001-2494(2003)07-0537-03

Simultaneous determination of four none-benzodiazepines in human serum by means of HPLC

MO Bin-bin¹,ZHANG Bi-kui¹,SUN Yin-xiang²,WANG Feng¹,LI Huan-de^{1*},FENG Jun³,MAO Ming-yang⁴(1. Clinical Pharmacy Research Laboratory, The Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, China; 2. Affiliated Hospital of Jiangnan Mechanical Factory, Xiangtan 411207, China; 3. People's Hospital of Jianghua, Yongzhou 425500, China; 4. People's Hospital of Tongling, Anhui Province, Tongling 244000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method to simultaneously determine various ataractic hypnagogues known as none benzodiazepines for clinical qualitative and quantitative analysis. **METHODS** Blood samples were extracted by ether and tested with diode detector, with the detection wavelength of 254 nm. Qualitative and quantitative analysis was carried out with external standardization.

RESULTS Good linear relation was obtained over the range from 0.1 to 2 μg·mL⁻¹. The average recovery of the assay exceeded 90 percent. And the within-day and between-day RSD was less than 10 percent. **CONCLUSION** This method is simple, ingenious and accurate with little interference. It is applicable to the determination of some biological samples in low concentrations.

KEY WORDS HPLC; zopiclone; zaleplon; zolpidem; methaqualone

随着社会的发展,人们生存压力的加大,失眠症患者的增加,世界各地对于镇静催眠药的需求量也日益增加。随之而来,药物滥用的现象也日益突出,临床药物中毒与急救事件中,由于过量服用、滥用镇静催眠药所致的中毒占有相当

大的比例^[1]。而这类药物的中毒如果能及时确诊及抢救,完全可以避免不良严重后果的出现。近年来,笔者所在单位在镇静催眠药物中毒分析方面开展了大量的工作,建立一系列快速灵敏准确的分析方法^[2-5],为临床正确及时处理镇静催

作者简介:莫斌斌,女,大学本科,主管药师 Tel: (0731) 5516481 E-mail: mlbmjj@hotmail.com

* 通讯作者:李焕德,男,主任药师,教授,硕士生导师 Tel: (0731) 4436720; Fax: (0731) 4436720 E-mail: dlhuan de@hotmail.com