经验交流

文章编号:1000-5404(2008)10-0992-01

HPLC法测定新鱼腥草素钠注射液的含量

孙 燕,付桂英 (中国人民解放军307医院药剂科,北京 100071)

新鱼腥草素钠(sodium new houttuyfonte)的化学名为十二酰乙醛亚硫酸氢钠,为天然鱼腥草的有效成分鱼腥草素(葵酰乙醛)同系列的亚硫酸氢钠加成物[1]。我国现行的标准中采用重量法进行新鱼腥草素钠注射液的含量测定[WS-10001-(HD-0391)-2002][2]。本研究建立了测定新鱼腥草素钠含量的液相色谱条件,适用于新鱼腥草素钠注射液的质量控制。

1 材料与方法

1.1 仪器与试药

高效液相色谱仪购自日本岛津,新鱼腥草素钠对照品(纯度为99.5%)由济南地维医药科技有限公司提供,新鱼腥草素钠注射液为自制(批号040811、040813、040815),甲醇为色谱纯试剂,四丁基氢氧化铵等为分析纯试剂。

1.2 色谱条件

色谱柱:Zorba extent-C_{18}柱(5 μm, 4.6 mm×250 mm);流动相:甲醇-水-四丁基氢氧化铵(70∶30∶0.3);检测波长:286 nm;进样量:20 μl。

1.3 溶液制备

对照品溶液:取新鱼腥草素钠对照品50 mg,精密称定,置100 ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取2 ml,置100 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀、滤过,取续滤液作为对照品溶液。供试品溶液:精密称取新鱼腥草素钠注射液适量,加流动相稀释成每1毫升中含约新鱼腥草素钠10 μg的溶液,摇匀、滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2 结果

2.1 系统适用性试验及专属性考察

在上述色谱条件下,分别取对照品溶液、供试品溶液和空白样品溶液各20 μl注入液相色谱仪,记录色谱图,表明辅料无干扰。

2.2 线性关系及检测限的确定

取新鱼腥草素钠对照品20 mg,精密称定,置100 ml量瓶中,加流动相振摇使溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取0.33、1.0、3.0、5.0、7.0、10.0 ml置100 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀。精密量取20 μl注入色谱仪,以峰面积计算,浓度为0.603~20.1 μg/ml,对照品浓度(C)与峰面积(A)呈良好线性关系,回归方程(n=6)为:A = 1.478 14C − 43.737,r = 0.999 7。线性范围为0.603~20 μg/ml,检测限为8 ng。

2.3 精密度试验

取本品,精密配制样品溶液(含新鱼腥草素钠10 μg/ml)5份,分别精密量取20 μl注入液相色谱仪,计算含量,RSD为1.63%,精密度良好。

2.4 重复性试验

取同一批号(040818)样品,按1.3的方法平行制备6份溶液,分别进样20 μl。测得新鱼腥草素钠的RSD为1.76%。

2.5 回收率试验

按样品处方进行回收率试验。取对照品适量,精密称定,分别加入其模拟辅料中,按1.3方法配制高、中、低3种浓度溶液,测定、计算回收率及RSD。测定结果见表1。

表1 新鱼腥草素钠的回收率试验结果

加入量(μg/ml)	测得量(μg/ml)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
8.0	8.03	100.4		1.04
10	9.89	98.9	99.93	1.22
12	12.06	100.5		1.13

2.6 溶液稳定性试验

取对照品溶液,分别于1、2、3、5 h时,精密量取20 μl注入液相色谱仪,记录峰面积,考察溶液的稳定性,结果新鱼腥草素钠的峰面积RSD为1.6%。杂质峰面积无明显变化,即对照品溶液至少在5 h内性质稳定。

2.7 样品测定

取3个批号样品,照1.3方法制备样品溶液与对照品溶液。精密量取各溶液20 μl注入液相色谱仪,记录峰面积,计算含量。3批样品(批号040811、040813、040815)含量分别为97.3%、98.6%、96.8%。

3 讨论

3.1 检测波长的选择

分别将新鱼腥草素钠及辅料用流动相配制成浓度适宜的溶液,于200~400 nm进行紫外扫描,新鱼腥草素钠在286 nm波长处有最大吸收;辅料在200~400 nm范围内无明显吸收,对测定不产生干扰。所以选择最大吸收峰286 nm作为高效液相色谱法的测定波长。

3.2 流动相pH的选择

试验表明,加入1%的四丁基氢氧化铵pH值约为11,如将pH值调整到10以下,峰形变宽且拖尾严重。所以使用耐碱的色谱柱,以减少流动相对色谱柱的损害。

3.3 流动相比例的选择

以四丁基氢氧化铵溶液与甲醇的混合物为流动相,调整二者比例,可获得不同分离效果及保留时间。增加水相比例,新鱼腥草素钠出峰较晚,拖尾严重;减少水相比例,峰形好且出峰较快。采用1%四丁基氢氧化铵溶液-甲醇(30∶70)作为流动相,得到的峰形、峰位都相对较好(保留时间约为5 min)。

关键词:新鱼腥草素钠;注射剂;高效液相色谱法
中图法分类号:R927 **文献标识码**:B

参考文献:

[1] 邵 兰,于庆海,黄 晴,等. 合成鱼腥草素对脾切除动物细胞免疫功能的影响[J]. 中国药理学通报,2001,17(1):51-54.
[2] 国家药品监督管理局. 新鱼腥草素钠注射液国家药品标准[S]. WS-10001-(HD-0391)-2002.

作者简介:孙 燕,女,吉林省四平市人,药师,主要从事医院制剂方面的研究。电话:(010)66947264

收稿日期:2008-05-02;**修回日期**:2008-05-08

(编辑 冷怀明)