高效液相色谱法测定青霉素 V 钾片中主药的含量

金建平*(安徽芜湖市药品检验所,芜湖市 241000)

中图分类号 R927.2 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2005)17-1338-02

摘 要 目的:建立以高效液相色谱法测定青霉素 V 钾片中主药含量的方法。方法:色谱柱为 Diamonsil C_{18},流动相为乙腈-0.02mol/L 醋酸钠(70∶30),流速为 1.0ml/min,检测波长为 268nm,灵敏度为 0.01AUFS,柱温为(26±1)℃,进样量为 20μl。结果:青霉素 V 钾检测浓度在 10.0~120.0μg/ml 范围内与峰面积呈良好的线性关系(r=0.9999,n=5);平均加样回收率为 100.2%(RSD=0.42%)。结论:本方法快速、简便、准确,可用于青霉素 V 钾片的质量控制。

关键词 高效液相色谱法;青霉素 V 钾;含量

Content Determination of the Principal Agent in Phenoxymethylpenicillin Potassium Tablets by HPLC

JIN Jianping(Anhui Wuhu Institute of Drug Control, Wuhu 241000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish HPLC method for the determination of the principal agent in phenoxymethylpenicillin potassium tablets. METHODS: The determination was performed on Diamonsil C_{18} column with column temperature at (26±1)℃. The mobile phase consisted of acetonitrile-0.02mol/L sodium acetate(70∶30) with a flow rate at 1.0ml/min. The detection wavelength was set at 268nm; the sensitivity was 0.01AUFS and the sample size was 20μl. RESULTS: Good linear correlation with peak area was noted when the detection concentration range was 10.0~120.0μg/mL for phenoxymethylpenicillin potassium(r=0.9999, n=5). The average recovery was 100.2% (RSD=0.42%). CONCLUSION: The method was rapid, simple and accurate and it can be used to determine the content of the principal agent in phenoxymethylpenicillin potassium tablets.

KEY WORDS HPLC; Phenoxymethylpenicillin potassium; Content

青霉素 V 钾系青霉素 V(即苯甲氧基青霉素)的钾盐,为口服易吸收青霉素类抗生素,其抗菌谱与青霉素相同,对多数革兰阳性菌、革兰阴性球菌及个别革兰阴性杆菌(如嗜血杆菌属)、螺旋体和放线菌均有抗菌活性,具有疗效好、不良反应发生率低的优点。2000 年版《中国药典》(二部)[1]中对青霉素 V 钾片的含量测定采用的是咪唑催化-汞盐形成的分光光度法,而其原料用的是以铂电极作为指示电极、汞-硫酸亚汞电极为参比电极的电位滴定法。另有文献报道[2],这两种方法测得的含量均偏高,原因是受青霉素 V 钾中诸多杂质的干扰等。现笔者建立的高效液相色谱(HPLC)法测定青霉素 V 钾片主药含量的方法,不仅能有效排除干扰,而且方法快速、简便、准确,可用于青霉毒 V 钾片的质量控制。

1 仪器与试药

1.1 仪器

LC-6A 高效液相色谱仪,包括 SPD-10A 紫外检测器(日本岛津公司);N2000 色谱工作站(浙江大学)。

1.2 试药

青霉素 V 钾对照品(中国药品生物制品检定所,含量:99.5%,批号:130490-200102);青霉素 V 钾片(华北制药股份有限公司,批号:0209104、0308206;昆明积大制药有限公司,批号:030902;长春今来药业集团有限公司,批号:20040101、20040301、20040601);乙腈为色谱纯,醋酸钠为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C_{18}(150mm×4.6mm,5μm);流动相:乙腈-0.02mol/L 醋酸钠(70∶30);流速:1.0ml/min;检测波长:268nm;灵敏度:0.01AUFS;柱温:(26±1)℃;进样量:20μl。理论塔板数按峰青霉素 V 计算应大于 2 500。

2.2 对照品溶液的制备

取青霉素 V 钾对照品约 25mg,准确称定,置于 25ml 容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取该溶液 10ml,置于 100ml 容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备

取青霉素 V 钾片 10 片,准确称定,研细,混合均匀,准确称取适量(约相当于青霉素 V 钾 25mg),置于 50ml 容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,过滤。精密量取续滤液 10ml,置于 50ml 容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得。

2.4 线性关系考察

准确称取青霉素 V 钾对照品 50mg,置于 10ml 容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,配成含青霉素 V 钾浓度为 5mg/ml 的溶液作为贮备液。分别精密吸取该贮备液 0.2、0.4、0.8、1.2、1.6、2.4ml,各置于 100ml 容量瓶中,用水稀释至刻度,即得系列对照品溶液。分别按“2.1”项下色谱条件精密吸取各溶液 20μl 进样测定,记录峰面积,色谱详见图 1。以浓度(C)对峰面积(A)进行回归,得回归方程为 $C=1.4866\times10^{-4}A+0.2106$($r$=0.9999,n=5)。结果表明,青霉素 V 钾检测浓度在 10.0~120.0μg/ml 时,峰面积与浓度呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

分别精密吸取“2.4”项下浓度分别为 20.0、50.0、100.0μg/ml 的青霉素 V 钾对照品溶液进行 3h 和 8h 精密度试验。结果,在“2.1”项色谱条件下连续进样 6 次,记录峰面积积分值,得峰面积积分值的相对标准差均小于 1.0%,表明青霉素 V 钾溶液进样精密度良好。

2.6 重现性试验

分别准确称取青霉素 V 钾对照品约 10mg,置于 100ml 容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度。按“2.2”项下方法配制 6 份,

* 副主任药师。研究方向:抗生素药品检验。电话:0553-5852117。E-mail:jjp1002@yahoo.com.cn

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

丹参的化学成分及其制剂的指纹图谱与质量标准研究进展*

曹 冬#, 黄喜茹△, 王建华, 刘伟娜, 侯海妮(河北医科大学药学院, 石家庄市 050017)

中图分类号 R282.5 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2005)17-1339-03

丹参为唇形科植物丹参(Salvia miltiorrhiza bge)的干燥根及根茎, 主要产于四川、山西、河北、江苏、安徽等省。其始载于《神龙本草经》, 被列为上品。中医理论认为, 丹参性味苦, 微寒, 归心、肝经, 具有祛淤止痛、活血通经、清心除烦之功效。丹参及其制剂对治疗心、脑血管疾病, 癌症、中风、肝炎等疾病及抗衰老均有良好的效果[1]。近年来, 国内、外学者对丹参的化学成分、药效学、药理学、药动学等方面进行了大量研究。本文拟对丹参的化学成分及其制剂的指纹图谱与质量标准研究等方面的进展作一综述, 以为其深入研究提供参考。

1 化学成分

丹参的化学成分主要分为2类: 脂溶性二萜醌类和水溶性酚酸类[2]。

1.1 丹参脂溶性成分

丹参脂溶性成分是丹参的主要有效成分, 且含量较高, 有较强的生理活性, 该类化合物主要有: 丹参酮Ⅰ、丹参酮ⅡA、丹参酮ⅡB、隐丹参酮、丹参酸甲酯、丹参新酮、二氢丹参酮Ⅰ、次

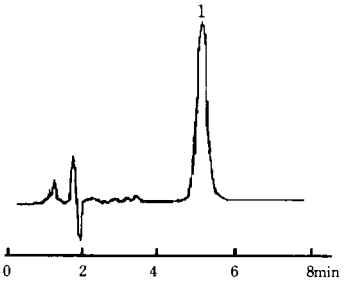

图1 高效液相色谱

1. 青霉素V钾

Fig 1 HPLC

1. phenoxymethylpenicillin potassium

并按"2.1"项下色谱条件进样测定, 结果RSD=0.93%。

2.7 稳定性试验

取"2.6"项下青霉素V钾溶液, 分别于室温下放置0、2、4、6、8、10h后按"2.1"项下色谱条件进样, 结果发现在8h后, 主峰面积趋于下降, 而杂质峰增多。表明青霉素V溶液在8h内稳定。

2.8 回收率试验

取已知含量的片剂(批号: 0209104)细粉适量(约相当于青霉素V钾12mg), 置于50ml容量瓶中, 共3份, 分别准确加入一定量青霉素V钾对照品, 按"2.3"项下方法操作, 配成约相当于样品测定浓度80%、100%、120%的溶液, 各按"2.1"项下色谱条件进样20μl测定, 记录峰面积, 结果详见表1。

表1 回收率试验结果

Tab 1 Results of recovery test

样品量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{x}$	RSD(%)
12.24	10.09	22.31	100.3		
12.11	13.26	25.49	99.8	100.2	0.42
12.16	18.51	30.64	100.6		

2.9 样品含量测定

取"2.2"、"2.3"项下溶液各20μl, 按"2.1"项下色谱条件进样测定, 记录色谱峰面积。按外标法计算供试品中青霉素V钾的含量, 并与咪唑催化-汞盐形成的分光光度法(简称咪唑法)比较, 结果详见表2。

表2 样品含量测定结果

Tab 2 Content determination results of samples

厂家	批号	HPLC法(标示量, %)	咪唑法(标示量, %)
华北	0209104	97.5	100.8
华北	0308206	98.2	103.6
积大	030902	100.6	104.0
今来	20040101	97.3	100.5
今来	20040301	97.9	103.5
今来	20040601	98.0	104.9

3 讨论

2000年版《中国药典》(二部)收载的青霉素V钾片的含量测定方法中, 所用的咪唑溶液配制较为繁琐且不稳定, 在放置数日后, 其紫外吸收度往往超过0.05。

青霉素V钾中有诸多杂质存在, 如合成中的副产物对羟基青霉素V、放置过程中的降解产物青霉素V噻唑酸等。在电位滴定法和咪唑法中都很难排除这些物质的干扰, 往往有含量偏高造成结果误差大的现象。运用HPLC法对青霉素V钾进行含量测定时, 不但操作简便, 同时还能排除以上所述干扰因素, 结果更为准确可靠, 可用于青霉素V钾片的质量控制。

取青霉素V钾对照品适量, 加水溶解并稀释成约浓度为100μg/ml的溶液, 于200nm~400nm波长范围内扫描, 结果在268nm及274nm有最大吸收, 故选择268nm检测可提高检测灵敏度。

参考文献

[1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(二部)[S]. 2000年版. 北京: 化学工业出版社, 2000: 353、354.

[2] 胡昌勤. 高效液相色谱法在抗生素质控分析中的应用(下册)[M]. 北京: 气象出版社, 2001: 4.

(收稿日期: 2004-10-17 修回日期: 2005-03-04)

* 河北省卫生厅资助项目(04102)

硕士研究生。研究方向: 药物分析研究。电话: 0311-6265623。

△通讯作者: 教授, 硕士生导师。研究方向: 中西药物分析研究。电话: 0311-6265623。E-mail: huangxr@hebmu.edu.cn

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net