

HPLC法测定泊沙康唑滴眼液的含量^Δ

吴伟*,何梅凤#,郭泽莉,钟建文(中山大学中山眼科中心,广州 510060)

中图分类号 R927.2;R988.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)25-2367-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.25.23

摘要 目的:建立测定泊沙康唑滴眼液含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Diamonsil C₁₈,流动相为乙腈-水(60:40),流速为1.0 ml/min,检测波长为262 nm,柱温为25℃。结果:泊沙康唑检测质量浓度线性范围为8.181~81.81 μg/ml($r=0.9999$),平均回收率为99.4%,RSD=0.77%($n=9$)。结论:本方法简便、快速,结果准确,可用于泊沙康唑滴眼液的质量控制。

关键词 高效液相色谱法;泊沙康唑;滴眼液;含量测定

Content Determination of Posaconazole Eye Drops by HPLC

WU Wei, HE Mei-feng, GUO Ze-li, ZHONG Jian-wen (Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of Posaconazole eye drops. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Diamonsil C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile - water (60:40) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 262 nm and column temperature was 25℃. RESULTS: The calibration curve of posaconazole was linear within the concentration range of 8.181-81.81 μg/ml ($r=0.9999$) with an average recovery of 99.4% (RSD=0.77%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, rapid and accurate, and it can be used for the quality control of Posaconazole eye drops.

KEY WORDS HPLC; Posaconazole; Eye drops; Content determination

泊沙康唑(Posaconazole)是新一代三唑类抗真菌药,具有广谱抗真菌作用,用于难治性疾病或对目前常用抗真菌药耐药的某些严重真菌感染的治疗^[1],在眼科的应用研究已取得一定进展^[2-3]。但现有剂型只有口服混悬剂,而眼局部感染的全身用药安全性需要引起关注。另外,有文献^[4]报道,由于血眼屏障,某些角膜炎病例口服某些三唑类抗真菌药在角膜难以达到有效浓度。Klont RR^[5]认为,局部滴眼对全身给药治疗是一种有益的补充。Sponsel WE等^[6]首先报告了1例对两性霉素B和那他霉素耐药的茄病镰刀菌角膜炎患者用泊沙康唑口服和滴眼联合治疗后获得良好效果。鉴于目前尚未有泊沙康唑眼局部用药剂型上市,而作为眼科最常用剂型,滴眼液在有效、安全、方便和经济等方面具有优势。为此,本课题组制备了泊沙康唑滴眼液,并进行了相关研究,建立了测定其含量的

高效液相色谱(HPLC)分析方法。结果表明建立的方法操作简便、快速、结果准确,可有效地控制该产品的质量。

1 材料

Agilent 1100 HPLC仪,包括G1314A紫外检测器、G1316A柱温箱、G1329A带温控自动进样器、G1311A四元泵、G1322A真空脱气机、1100化学工作站(美国Agilent公司);UV-2450紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);电子分析天平(德国Sartorius公司)。

泊沙康唑对照品(湖北兴银河化工有限公司,批号:cmw-pos-20111018,纯度:99%);泊沙康唑滴眼液(自制,批号:130107、130115、130201,规格:100 mg:10 ml);乙腈为色谱纯,水为注射用水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

试验表明结果是可靠的。用凯氏定氮法检测其他样品总氮时,同样要控制好消化时间,时间过短(不足40 min),则样品未完全消化,致使结果偏低;时间过长(超过90 min),结果也会偏低,这可能是因为少部分氮随水蒸汽一起逸出引起的。

蒸馏过程中,加入氢氧化钠是否足量,常常影响整个测定的顺利进行。当氢氧化钠足量时,溶液呈黑色(氧化铜);当氢氧化钠不足时,溶液呈淡蓝色,所以溶液颜色变化是判断氢氧化钠是否足量的标志。

Δ基金项目:广东省医院药学研究基金资助项目(No.2012A18)

*副主任药师。研究方向:药品质量控制。电话:020-87331543。

E-mail: zocww@163.com

#通信作者:副主任药师。研究方向:医院药学。电话:020-87330540。E-mail: zochmf@163.com

参考文献

- [1] 尹鲁生.中药土鳖虫中氨基酸的分析[J].中药通报,1987,20(6):46.
- [2] 石钺.药用土鳖虫的化学成分及药理作用[J].中草药,1997,28(A10):134.
- [3] 王凤霞,吉爱国.药用土鳖虫化学成分及药理作用研究进展[J].中国生化药物杂志,2009,30(1):61.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录53.
- [5] 中国食品药品检定研究院.中国药品检验标准操作规范[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:181-183.

(收稿日期:2012-09-06 修回日期:2013-04-07)

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(60:40), 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 262 nm; 柱温: 25 ℃; 进样量: 10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品贮备液的制备。精密称取对照品约20 mg, 置于25 ml量瓶中, 加乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液, 于4 ℃保存。

2.2.2 供试品溶液的制备。精密量取泊沙康唑滴眼剂1 ml, 加流动相稀释至25 ml; 取稀释液1 ml, 置于10 ml量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 即得。

2.2.3 阴性样品溶液的制备。照处方配比制备不含泊沙康唑的阴性滴眼剂, 按“2.2.2”项下方法操作, 制成阴性样品溶液。

2.3 系统适用性试验

分别取阴性样品溶液、对照品溶液以及供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件, 进样测定。结果, 泊沙康唑的保留时间约为7.5 min, 理论板数为14 000, 泊沙康唑峰尖而对称, 与其他峰分离度为18, 表明其他成分对目标成分无干扰, 该方法可行。色谱图见图1。

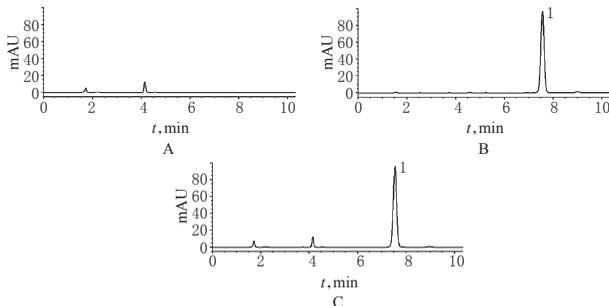


图1 高效液相色谱图

A. 阴性样品; B. 对照品; C. 供试品; 1. 泊沙康唑

Fig 1 HPLC chromatograms

A. negative blank; B. reference substance; C. test sample; 1. posaconazole

2.4 线性关系考察

精密量取对照品贮备液5 ml, 置于25 ml量瓶中, 加流动相稀释至刻度; 再分别精密量取稀释液0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml, 置于10 ml量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 制备成含泊沙康唑质量浓度为8.181、16.36、32.72、49.09、65.45、81.81 μg/ml的对照品溶液。每个浓度平行进样测定3次, 采用峰面积(A)对其质量浓度(c)作标准曲线。结果, 泊沙康唑的线性回归方程为: $A=0.0427c+0.2747$ ($r=0.9999$)。结果表明, 泊沙康唑检测质量浓度线性范围为8.181~81.81 μg/ml。

2.5 精密度试验

精密量取对照品溶液, 重复进样6次。结果, 泊沙康唑峰面积测量值的RSD=0.18%, 表明方法精密度好。

2.6 重复性试验

精密量取同一批号样品6份, 照“2.10”项下方法测定其含量并计算。结果, 泊沙康唑含量的RSD=0.22%, 表明方法重复性良好。

2.7 回收率试验

按本品制剂处方, 配制高(120%)、中(100%)、低(80%)含量模拟内容物, 每个水平各量取3份, 分别测定其含量, 并计算回收率。结果, 泊沙康唑回收率为98.5%~100.9%, 平均回收率为99.4%, RSD=0.77%, 表明本法准确度良好, 详见表1。

表1 回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery test(n=9)

水平	加入量, mg	测得量, mg	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
低	8.26	8.15	98.7	99.4	0.77
	8.26	8.14	98.5		
	8.26	8.28	100.2		
中	10.32	10.27	99.5		
	10.32	10.20	98.8		
	10.32	10.23	99.1		
高	12.38	12.29	99.3		
	12.38	12.49	100.9		
	12.38	12.35	99.8		

2.8 检测限试验

用流动相逐级稀释对照品溶液, 当信噪比为3时, 测得泊沙康唑检测限为80 ng/ml。

2.9 溶液稳定性考察

取对照品溶液, 每间隔2 h测定1次, 连续测定6次。结果, 泊沙康唑峰面积的RSD=0.53%, 表明对照品溶液在10 h内稳定。

2.10 样品含量测定

分别取3批泊沙康唑滴眼液, 每批平行试验3份, 照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项所述色谱条件分别进样测定。根据回归方程计算, 3批供试品中含泊沙康唑分别为标示量的101.1%、101.5%、99.2%, RSD分别为0.26%、0.30%、0.41%。

3 讨论

3.1 泊沙康唑的测定方法

目前, 国内尚未见测定泊沙康唑含量的文献报道。国外文献报道泊沙康唑的检测方法有HPLC法^[7]、超HPLC法^[8]、液相色谱-质谱联用^[9]以及毛细管电泳技术^[10]等。这些方法主要用于生物样品的测定, 因药物浓度较低, 干扰成分复杂, 因此需要对样品进行预处理。本研究根据制剂含量测定的特点, 建立了泊沙康唑滴眼液的HPLC检测方法, 结果表明本方法简便、准确、重复性好, 可用于该产品的质量控制。

3.2 色谱条件的确定

3.2.1 检测波长的选择。采用紫外-可见分光光度计, 在波长200~600 nm范围内对含泊沙康唑的流动相溶液进行扫描, 结果发现其在262 nm波长处有最大吸收; 而不含泊沙康唑的流动相在该波长的背景吸收很低, 因而选定262 nm为检测波长。

3.2.2 流动相的选择。本研究考察了以乙腈-水、乙腈-磷酸盐缓冲液以及乙腈-醋酸铵溶液等为流动相的分离效果。结果, 以乙腈-水为流动相具有组成成分简单、操作方便、峰形好、对仪器损害小的特点, 故首先确定流动相组成。再进一步考察了二者不同比例(乙腈-水之比为40:60、50:50、60:40、70:30)对分离效果的影响, 结果发现乙腈-水(60:40)能达到分析要求; 降低有机相比例, 则峰形较差, 且保留时间推迟。因此本试验选择乙腈-水(60:40)作为流动相。

3.2.3 流速的选择。分别考察了流速为1.2、1.0、0.8 ml/min时的分离效果, 综合考虑分离度、保留时间、峰形和柱压等因素, 最终选择流动相的流速为1.0 ml/min。

参考文献

[1] Schiller DS, Fung HB. Posaconazole: An extended-spectrum triazole antifungal agent[J]. *Clinical Therapeutics*,

HPLC法同时测定苯磺酸氨氯地平原料药及片剂中8种已知有关物质的含量

王全洪*, 吴丹, 王玉和[#](遵义医学院附属医院药剂科, 贵州遵义 563099)

中图分类号 R927.2; R972*.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)25-2369-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.25.24

摘要 目的: 建立一种能同时测定苯磺酸氨氯地平原料药及其片剂中8种已知有关物质(杂质A~H)的方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为Agilent Eclipse XDB-C₁₈, 流动相A为0.05 mol/L的磷酸二氢钠溶液-甲醇(90:10, pH 3.0), 流动相B为0.02 mol/L的磷酸二氢钠溶液-甲醇(10:90), 梯度洗脱, 流速为1.0 ml/min, 检测波长为237 nm, 柱温为30 ℃。结果: 主成分及8种有关物质检测质量浓度线性范围均为0.5~15 μg/ml ($r > 0.999$), 检测限为0.5~3.2 ng/ml, 定量限为2.0~6.6 ng/ml, 精密度RSD均 < 0.5%。各厂家样品中的有关物质主要为杂质C、D和H, 且片剂与原料药中杂质含量基本一致。结论: 该方法具有重复性好、灵敏度高等特点, 可用于控制苯磺酸氨氯地平原料药及片剂的有关物质。

关键词 苯磺酸氨氯地平; 片剂; 原料药; 有关物质; 高效液相色谱法; 含量测定

Determination of 8 Known Related Substances in Crude Drug and Tablet of Amlodipine Besylate by HPLC

WANG Quan-hong, WU Dan, WANG Yu-he (Dept. of Pharmacy, The Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Guizhou Zunyi 563099, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of 8 known related substances (impurity A-H) in crude drug and tablet of amlodipine besylate. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent Eclipse XDB-C₁₈ column with 0.05 mol/L NaH₂PO₄-methanol (90:10, pH 3.0) as mobile phase A and 0.02 mol/L NaH₂PO₄-methanol (10:90) as mobile phase B (gradient elution) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 237 nm, and the column temperature was 30 ℃. RESULTS: The linear ranges of main component and 8 related substances were 0.5-15 μg/ml ($r > 0.999$). The detection limits were 0.5-3.2 ng/ml. The quantitation limits were 2.0-6.6 ng/ml. RSD of precision test was lower than 0.5%. Related substance of manufacturers mainly were impurity C, D and H, and the contents of impurity in the tablet were similar to those in the crude drug. CONCLUSIONS: This method is reproducible and sensitive, and can be used for the quality control of crude drug and tablet of amlodipine besylate.

KEY WORDS Amlodipine besylate; Tablet; Crude drug; Related substances; HPLC; Content determination

- 2007, 29(9):1 862.
- [2] Rutar T, Cockerham KP. Periorbital zygomycosis (mucormycosis) treated with posaconazole[J]. *Am J Ophthalmol*, 2006, 142(1):187.
- [3] Tu EY, McCartney DL, Beatty RF, et al. Successful treatment of resistant ocular fusariosis with posaconazole (SCH-56592)[J]. *Am J Ophthalmol*, 2007, 143(2):222.
- [4] Durand ML, Kim IK, Amico DJ, et al. Successful treatment of Fusarium endophthalmitis with voriconazole and Aspergillus endophthalmitis with voriconazole plus caspofungin[J]. *Am J Ophthalmol*, 2005, 140(3):552.
- [5] Klont RR, Eggink CA, Rijs AJMM, et al. Successful treatment of Fusarium keratitis with corneal transplantation and topical and systemic voriconazole[J]. *Clin Infect Dis*, 2005, 40(12):e110.
- [6] Sponsel WE, Graybill JR, Nevarez HL, et al. Ocular and systemic posaconazole (SCH-56592) treatment of invasive Fusarium solani keratitis and endophthalmitis[J]. *Br J Ophthalmol*, 2002, 86(7):829.
- [7] Neubauer W, König A, Bolek R, et al. Determination of the antifungal agent posaconazole in human serum by HPLC with parallel column-switching technique[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2009, 877(24):2 493.
- [8] Wissen CP, Burger DM, Verweij PE, et al. Simultaneous determination of the azoles voriconazole, posaconazole, isavuconazole, itraconazole and its metabolite hydroxyitraconazole in human plasma by reversed phase ultra-performance liquid chromatography with ultraviolet detection [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2012, 887/888:79.
- [9] Shen JX, Krishna G, Hayes RN. A sensitive liquid chromatography and mass spectrometry method for the determination of posaconazole in human plasma[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2007, 43(1):228.
- [10] Liao HW, Lin SW, Wu UI, et al. Rapid and sensitive determination of posaconazole in patient plasma by capillary electrophoresis with field-amplified sample stacking[J]. *Journal of Chromatography A*, 2012(1 226):48.

(收稿日期:2013-03-07 修回日期:2013-04-02)

* 主管药师。研究方向: 医院药学。电话: 0852-8608428。E-mail: wqh1127@163.com

[#] 通信作者: 主任药师。研究方向: 医院药学、药剂学。E-mail: wangyuhe11@163.com