

· 药物分析 ·

HPLC 法用于氯唑西林钠胶囊溶出度的测定

杨慧元, 乐健, 陈桂良(上海市药品检验所, 上海 200233)

摘要 目的:建立了氯唑西林钠胶囊溶出度的 HPLC 测定方法。**方法:**色谱条件:采用 Lichrospher C₁₈ 柱(250mm×4.0mm, 5μm), 以 0.02mol/L 磷酸二氢钾(用氢氧化钠试液调节 pH 值为 5.0)-乙腈(75:25)为流动相, 检测波长 225nm。**结果:**氯唑西林钠在 20.00~200.0μg/mL 范围内呈良好线性, $r=0.9999$, 平均加样回收率为 100.4% ($RSD=0.3%$)。溶出度方法参照中国药典 2000 年版二部。本法排除了胶囊壳与辅料的干扰, 数据准确合理。**结论:**该法精密准确、简单可行, 适用于氯唑西林钠胶囊体外溶出试验的质量控制。

关键词 氯唑西林钠胶囊; 高效液相色谱法; 溶出度

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2004)02-0083-03

Determination of dissolution of cloxacillin sodium capsule by HPLC

YANG Hui-yuan, LE Jian, CHEN Gui-liang(Shanghai Institute for Drug Control, Shanghai 200233, China)

ABSTRACT Objective: To establish a method for determine the dissolution of cloxacillin sodium capsule. **Methods:** Separations were performed on a Lichrospher C₁₈ (octadecyl silicane) column, using 0.02mol/L KH₂PO₄ solution (adjust to pH 5.0 with 8N sodium hydroxide)-acetonitrile(75:25) as the mobile phase, the detection wavelength was 225nm. **Result:** The method showed the good linearity within the concentration range of 20.00~200.0μg/mL ($r=0.9999$) in assay. The average recovery was 100.4% ($RSD=0.3%$). The method of dissolution complies with Chinese pharmacopeia (Vol II, 2000). **Conclusion:** The method is accurate and simple, and suitable for the quality control of dissolution of cloxacillin sodium capsule.

KEY WORDS cloxacillin sodium; HPLC; dissolution

氯唑西林钠(cloxacillin sodium)为半合成青霉素类抗生素,对酸较稳定,抗菌作用与青霉素相似,对耐青霉素 G 的金黄色葡萄球菌具有杀菌作用,主要用于葡萄球菌所致的败血症、肺炎、心内膜炎、骨髓炎及皮肤软组织感染等。氯唑西林钠胶囊在中国药典(CHP)2000年版二部、英国药典(BP)2001年版和美国药典(USP)24版均有收载,其中中国药典采用自身对照分光光度法进行溶出度测定^[1], USP 采用对照品分光光度法测定^[2],这两种方法中辅料和胶囊壳均有干扰。本文建立了氯唑西林钠胶囊溶出度的 HPLC 测定方法,由于 HPLC 有较高的专属性,排除了干扰,从而实现了氯唑西林钠胶囊溶出度更为准确可靠的质量控制。

1 仪器与试剂

美国 Agilent 1100 型高效液相色谱仪;乙腈为色谱纯,其它试剂为分析纯。氯唑西林钠对照品购自中国药品生物制品检定所,纯度 90.9%;氯唑西林钠原料及胶囊均由上海先锋药业公司提供,批号:原料 0302039, 胶囊 E03001(规格:0.25g)。

作者简介:杨慧元(1975-),男,药师。Tel:(021)64703139。

E-mail: yanghy03@hotmail.com.

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:德国默克 Lichrospher C₁₈ 柱(250mm×4.0mm, 5μm), 流动相:0.02mol/L 磷酸二氢钾(用氢氧化钠试液调节 pH 值为 5.0)-乙腈(75:25), 流速 1.1mL/min, 检测波长 225nm, 进样体积 20μL。溶出方法参照中国药典 2000 年版二部。

2.2 专属性

2.2.1 分离度试验 取氯唑西林及其结构类似物苯唑西林、氟氯西林和双氯西林适量,加水溶解并稀释成每 1mL 中各含 0.1mg 的溶液,结果见图 1。按上述色谱条件进样,各已知物质峰之间的分离度均大于 3.0,理论板数按氯唑西林峰计算大于 4000。溶剂对测定无干扰。

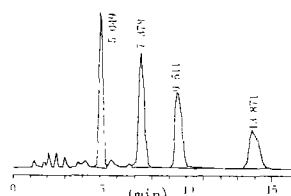


图 1 分离度 HPLC 图

1-苯唑西林(5.0min); 2-氯唑西林(7.4min);

3-氟氯西林(9.5min); 4-双氯西林(13.9min)

2.2.2 强破坏试验 取本品约 25mg, 置 25mL 量

瓶中,加 1mol/L 盐酸溶液 5mL 使溶解,置常温放置 2h,取出,加 1mol/L 氢氧化钠溶液 5mL 中和,加水稀释至刻度,摇匀,作为酸破坏溶液。

取本品约 25mg,置 25mL 量瓶中,加 1mol/L 氢氧化钠溶液 5mL 使溶解,置常温放置 10min,取出,加 1mol/L 盐酸溶液 5mL 中和,加水稀释至刻度,摇匀,作为碱破坏溶液。

取本品约 25mg,置 25mL 量瓶中,加 10% 过氧化氢溶液 5mL 使溶解,置常温放置 10min,取出,加水稀释至刻度,摇匀,作为氧化破坏溶液。

取已于紫外线照射约 24h 的样品约 25mg,置 25mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,作为光照破坏溶液。

取已于 110℃ 加热放置 11h 后的样品约 25mg,置 25mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,作为高热破坏溶液。

取上述溶液,按上述色谱条件进样,结果表明,各破坏条件下的降解产物峰对氯唑西林峰基本无干扰,分离效果良好,说明该法具有良好的选择性,可有效排除杂质干扰(见图 2)。

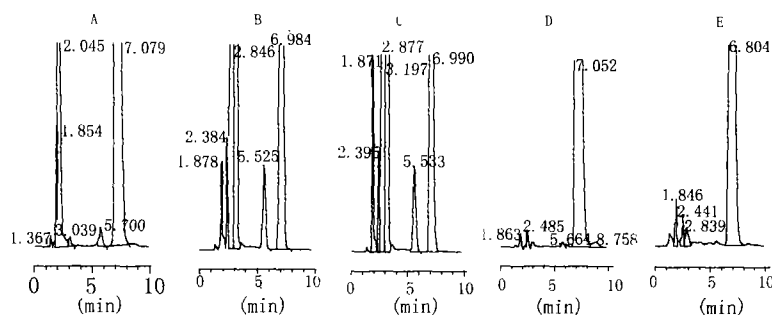


图 2 各破坏条件下的典型 HPLC 图

(A) 酸破坏; (B) 碱破坏; (C) 氧化破坏; (D) 高热破坏; (E) 光照破坏

氯唑西林钠胶囊的辅料主要为乳糖和硬脂酸镁。取辅料,加水制成每 1mL 约含 0.025mg/mL 的溶液(按处方配比,该浓度约为供试品溶液中辅料理论浓度的 1 600 倍),按上述色谱条件进样,结果表明辅料不干扰氯唑西林的测定(见图 3)。

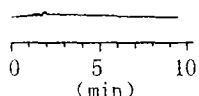


图 3 辅料 HPLC 图

本系统专属性良好。

2.3 耐用性 取系统适用性溶液,使用 3 根不同色谱柱,分别按上述色谱条件进样,色谱柱参数及所得结果见表 1。各色谱柱均可实现良好分离,说明本法具有较好的耐用性。

表 1 不同色谱柱参数及分离结果

柱编号	生产厂家	柱长 × 内径	填料名称	粒径	柱效	分离度	拖尾因子
1	德国默克	4.0 × 125mm	Lichrospher® 100 RP-18e	5 μm	3 307	4.17	1.82
2	日本 TOSOH	4.6 × 150mm	TSK-Gel ODS-80TM	5 μm	5 171	4.63	1.97
3	德国默克	4.0 × 250mm	Lichrospher® 100 RP-18e	5 μm	6 336	4.92	1.24

2.7 回收率 精密称取辅料(硬脂酸镁与乳糖 1:1 混匀)9 份,每份约 9mg;精密称取氯唑西林钠(批号:0302039,含量:91.58%)0.16、0.24 和 0.32g(每一水平各 3 份),取上述两种物质与 1 粒空胶囊壳置

2.4 线性 取浓度为 20.00 ~ 200.0 μg/mL 的对照品溶液,按上述色谱条件进样,以浓度 C 对峰面积 A 进行线性回归,得线性方程为 $A = 32.331 \times C + 29.773$, $r = 0.9999$,表明氯唑西林在 20.00 ~ 200.0 μg/mL 范围内呈良好线性。

2.5 精密度 取浓度为 99.99 μg/mL 的对照品溶液连续进样 6 次,平均峰面积为 3 286.3, RSD 为 0.1% ($n = 6$)。

2.6 稳定性 在对照品溶液配制后 20h 内,按上述色谱条件进样,测定结果见下表。实验结果表明:在供试品溶液配制后 20h 内,含量基本无变化,本品在水中稳定。

1 000mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,滤过,精密量取 10mL,置 25mL 量瓶中,加水稀释至刻度,作为供试品溶液;另取氯唑西林对照品适量,加水稀释成 0.1mg/mL 的溶液,作为对照溶液,照上述色谱条

件进样测定,回收率结果见下表。

表 2 氯唑西林稳定性测定结果

放置时间(h)	峰面积	RSD(%)
0.0	3 236.2	
4.0	3 242.8	
8.0	3 250.9	
12.0	3 257.0	0.3
16.0	3 246.3	
18.0	3 262.9	
20.0	3 260.3	
平均	3 250.9	

3 讨论

溶出方法参照中国药典 2000 年版二部进行,精密量取溶出液适量,分别加水稀释成 0.1mg/mL(按

标示量计)的溶液,作为供试品溶液;精密称取氯唑西林对照品适量,加水稀释成 0.1mg/mL 的溶液,作为对照溶液;分别取对照溶液和供试品溶液,照上述色谱条件对溶出结果进行测定,同时采用自身对照分光光度法(CHP 方法)和对照品分光光度法测定,三法测定结果比较如下。

表 4 氯唑西林三法测定结果比较

编号	对照品测定(%)	自身对照测定(%)	HPLC 法测定(%)
1	96.6	103.8	81.3
2	101.0	108.5	86.0
3	100.0	107.4	86.2
4	101.8	109.3	90.6
5	101.4	109.0	87.0
6	100.7	108.2	86.1

表 3 氯唑西林回收率试验结果

编号	辅料称量(g)	原料称量(g)	浓度($\mu\text{g}/\text{ml}$)	加样前浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$)	测得浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$)	回收率(%)	平均(%)	RSD(%)
1	0.008 2	0.162 4	64.96	59.49	60.11	101.0		
2	0.010 2	0.169 7	67.88	62.16	61.94	99.6		
3	0.009 2	0.164 5	65.80	60.26	60.13	99.8		
4	0.010 8	0.241 2	96.48	88.36	88.22	99.8		
5	0.009 3	0.248 9	99.56	91.18	92.29	101.2	100.2	0.6
6	0.009 8	0.241 9	96.76	88.61	88.53	99.9		
7	0.011 0	0.325 9	130.36	119.38	119.40	100.0		
8	0.007 6	0.328 7	131.48	120.41	120.33	99.9		
9	0.008 3	0.327 3	130.92	119.90	120.11	100.2		

分光光度测定法中,辅料和空胶囊壳的吸收度值分别为 0.002 和 0.021,故采用分光光度法测定的结果均高于高效液相色谱法,并且 CHP 中选择的波长 225nm 亦不是本品紫外吸收的最大吸收波长,紫外分光光度法的专属性较低,使得测定数据明显高于含量测定结果(为标示量的 90.6%),故其准确性较低。高效液相色谱法有较高的专属性与选择性,用

于溶出度检测,排除了辅料和空胶囊壳的干扰,故其测定数据和含量测定结果相比,较为真实合理。

参考文献:

- [1] 中国药典 2000 年版[S]. 二部 2000:917.
- [2] USP. 24Ed. 1999:456.

收稿日期:2003-08-21

HPLC 法测定复方草玉梅含片中甘草酸的含量

陈万里¹, 史 蕙¹, 任渝江² (1. 贵州省药品检验所, 贵州 贵阳 550004; 2. 中国人民解放军第 44 医院, 贵州 贵阳 550009)

摘要 目的:建立复方草玉梅含片的含量测定方法。方法:采用高效液相色谱法,反相 C_{18} 柱,以甲醇-0.2mol/L 醋酸铵溶液-冰醋酸(53:47:1)为流动相,流速:1.0mL/min;检测波长 250nm。结果:甘草酸单铵盐在 0.0520.468mg/mL 范围内具有良好的线性关系, $r=0.999 6$,精密度和回收率结果良好。结论:本法简单,方便,线性关系和重现性好,可有效地对本品进行质量控制。

作者简介:陈万里(1972-),男,汉族,主管药师。Tel:(0851)6807060-200.