

注射用二丁酰环磷腺苷钙含量高效液相测定法

★ 饶印保 (江西中医学院科技学院 南昌 330006)

★ 郑金芳 (深圳同安药业 深圳 518103)

关键词:注射用二丁酰环磷腺苷钙;反相高效液相法

中图分类号:TQ 460.7⁺2 文献标识码:B

二丁酰环磷腺苷钙是一种新型的核苷酸类衍生物,目前含量测定法为纸色谱法,本文采用反相高效液相法测定,方法灵敏、准确。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(岛津 LC-10AT_{vp} 液相色谱仪与岛津 SPD-10Avp 紫外-可见检测器)配有 Alltech 色谱工作站。试剂:二丁酰环磷腺苷钙对照品(中国药品生物制品检定所);乙腈(色谱纯,上海化学试剂研究所);水为滤过重蒸馏水;其余试剂为分析纯;注射用二丁酰环磷腺苷钙(深圳同安药业开发部;批号:050501,050502,050503)。

2 色谱条件的选择

2.1 色谱柱 Alltima C₁₈(4.6 mm×250 mm)。

2.2 检测波长的初步选择 取二丁酰环磷腺苷钙适量,加水溶解并稀释制成每 1 mL 中含 20 μg 的溶液,照分光光度法(中国药典 2005 年版二部附录 IV A)在 200~400 nm 的波长范围内扫描,结果本品在 272.6 nm 的波长处有最大吸收,将检测波长暂定为 273 nm。

2.3 流动相 采用 0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(内含 0.01 mol/L 四丁基溴化铵)-乙腈(72:28)(用三乙胺调节 pH 值至 7.0),结果分离度为 10.615,理论板数为 9873,拖尾因子为 1.104,均符合要求。

3 实验方法

3.1 对照品溶液的制备 取以五氧化二磷为干燥剂,经 100℃减压干燥至恒重的二丁酰环磷腺苷钙对照品,精密称定,加水溶解并稀释制成每 1 mL 含 0.1 mg 的溶液,即得。

3.2 供试品溶液的制备 取装量差异检查项下内容物适量(约相当于二丁酰环磷腺苷钙 10 mg),精密称定,加水溶解并稀释制成每 1 mL 含 0.1 mg 的溶液,即得。

3.3 测定方法 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液各 20 μL 注入液相色谱仪,测定,即得。

3.4 干扰性试验 分别以对照品液、供试品液、辅料空白液,注入液相色谱仪,记录色谱图。实验表明,在二丁酰环磷腺苷钙色谱峰相应的保留时间处,辅料空白样品无色谱峰,不存在干扰。

3.5 溶液的稳定性试验 取本品适量(约相当于二丁酰环磷腺苷钙 10 mg),置 100 mL 量瓶中,精密称定,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,在 25℃条件下放置,经 0、1、2、3、4 小时,

于不同时间点取样 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图,量取峰面积,考察本品在水溶液中的稳定性,结果本品在水溶液中在 25℃条件下放置 4 小时,主峰峰面积变化不大,稳定性良好。

3.6 线性关系的考察 取以五氧化二磷为干燥剂,经 100℃减压干燥至恒重的二丁酰环磷腺苷钙对照品约 50 mg,置 50 mL 量瓶中,精密称定,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,分别取上述溶液 2.5、4.0、5.0、6.0、7.5 mL,置 50 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,分别取上述溶液各 20 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图,量取峰面积。以二丁酰环磷腺苷钙的峰面积(A)为纵坐标(Y),以对照品的浓度(C,mg/mL)为横坐标(X),绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 4\,769\,752X + 1\,554.6$,相关系数 $r = 0.999\,91$,表明二丁酰环磷腺苷钙在 0.05~0.15 mg/mL 浓度范围内,浓度与其峰面积线性关系良好。

3.7 精密度试验 取本品适量(约相当于二丁酰环磷腺苷钙 8、10、12 mg),精密称定,置 100 mL 量瓶中,分别加水溶解并稀释至刻度,摇匀,分别取 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图,量取峰面积。每个样品重复测定 3 次,计算 RSD%,结果本品在 0.08、0.10、0.12 mg/mL 3 个浓度梯度上的 RSD(%)分别为 0.4、0.5、0.3,精密度良好。

3.8 回收率试验 取二丁酰环磷腺苷钙对照品适量(约相当于二丁酰环磷腺苷钙 48、60、72 mg)各三份,精密称定,按处方量加入辅料,分别加水溶解并稀释制成 0.08、0.10、0.12 mg/mL 的溶液,摇匀,作为供试品溶液;另取以五氧化二磷为干燥剂,经 100℃减压干燥至恒重的二丁酰环磷腺苷钙对照品约 50 mg,同法测定,按外标法以峰面积计算出二丁酰环磷腺苷钙的含量,计算回收率,结果平均回收率为 99.8%,RSD=0.6%。表明二丁酰环磷腺苷钙在 0.08、0.10、0.12 mg/mL 3 个浓度梯度上回收率良好。

3.9 样品含量测定 按上述色谱条件测定,用外标法计算含量,3 批样品中二丁酰环磷腺苷钙的含量测定结果见表 1。

表 1 含量测定结果

样品批号	含量(%)
050501	98.3
050502	100.3
050503	99.6

(收稿日期:2006-01-05)