

HPLC 法测定盐酸多沙普仑葡萄糖注射液的含量

薛志红,王盛豪,潘世茹(安徽新华学院药学院,安徽 合肥 230088)

[摘要] 目的 建立盐酸多沙普仑葡萄糖注射液的高效液相色谱含量测定方法。方法 采用 COSMOSIL C₁₈(150 mm × 4.6 mm 5 μm) 色谱柱,以 0.82 μg/L 醋酸钠溶液(用冰醋酸调 pH 值为 4.5) -乙腈 = 70 : 30 为流动相,检测波长为 214 nm。结果 盐酸多沙普仑浓度在 13 ~ 91 μg/ml 范围内呈良好的线性关系($r = 0.999\ 8$)。平均加样回收率为 99.3% ,RSD 为 0.81% ($n = 9$)。结论 此方法简便、准确、灵敏度高、专属性强。

[关键词] 高效液相色谱法;盐酸多沙普仑;含量测定

[中图分类号] R927 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006 - 0111(2013)01 - 0064 - 03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2013.01.019

Determination of doxapram hydrochloride glucose injection by HPLC

XUE Zhi-hong ,WANG Sheng-hao ,PAN Shi-ru(School of Pharmacy ,Anhui Xinhua University ,Hefei 230088 China)

[Abstract] **Objective** To establish an HPLC method for determination of doxapram hydrochloride glucose injection. **Methods** COSMOSIL C₁₈(150 mm × 4.6 mm 5 μm) column was adopted. The mobile phase consisted of 0.82 μg/L CH₃COONa(using Glacial acetic acid adjust to pH 4.5) -acetonitrile(70:30) . The detection wavelength was 214 nm. **Results** The linearity of doxapram hydrochloride concentration was in the range of 13 ~ 91 μg/ml($r = 0.999\ 8$) . The average recovery was 99.3% ,RSD = 0.81% ($n = 9$) . **Conclusion** The method was simple accurate and sensitive with high specificity.

[Key words] HPLC; doxapram hydrochloride; determination

盐酸多沙普仑为非特异性呼吸兴奋药,临床上可作为全麻术后催醒药物,具有呼吸兴奋作用,用于治疗术后寒战和急性中毒等^[1]。中国药典 2010 年版二部分别采用滴定法和紫外分光光度法对盐酸多沙普仑原料和注射液进行含量测定^[2]。欧洲药典第 7 版采用 HPLC 法对盐酸多沙普仑原料进行含量测定^[3]。本文采用 HPLC 法对盐酸多沙普仑葡萄糖注射液进行含量测定,结果表明:该方法简便、结果准确、专属性强,适用于对盐酸多沙普仑葡萄糖注射液的质量控制,尚未见国内文献报道。

1 仪器与试剂

SHIMADZU LC-40AT 泵(日本岛津公司),SPD-10A 检测器,浙大 N2000 色谱工作站。色谱柱为 COSMOSIL C₁₈(150 mm × 4.6 mm 5 μm);AE240 型电子分析天平(METTER 公司)。

对照品盐酸多沙普仑(中国药品生物制品检定所,批号 00689701);盐酸多沙普仑葡萄糖注射液

(批号:100815,100816,100817;规格:100 ml:盐酸多沙普仑 0.1 g 与葡萄糖 5 g)。乙腈为色谱纯,醋酸钠、冰醋酸为分析纯,试验用水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: COSMOSIL C₁₈(150 mm × 4.6 mm 5 μm);流动相: 0.82 g/L 醋酸钠溶液(用冰醋酸调 pH 值为 4.5) -乙腈 = 70 : 30;流速: 1.0 ml/min;检测波长 214 nm;柱温 30 °C。

2.2 溶液的制备

2.2.1 样品溶液 取样品适量加流动相稀释,制成每 1 ml 约含盐酸多沙普仑 50 μg 的供试品溶液,用于含量测定。

2.2.2 对照品溶液 精密称取盐酸多沙普仑对照品适量,用流动相溶解并稀释制成每 1 ml 中各含盐酸多沙普仑 50 μg 的对照品溶液,用于含量测定。

2.3 专属性试验 取样品 2 ml,共 4 份,分别加流动相、强酸沸水浴(1 mol/L 盐酸)、强碱沸水浴(1 mol/L 氢氧化钠)、30% 过氧化氢溶液沸水浴破坏处理,中和后,加流动相稀释至 10 ml 摇匀,即得。

取日光下照射 6 h 的样品溶液 2 ml 和 105 °C 下破坏 6 h 的样品溶液 2 ml,分别置 10 ml 容量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得。

[基金项目] 安徽省高等学校省级教学质量与教学改革工程项目(20101142)。

[作者简介] 薛志红(1974-),男,讲师。Tel: 13966677631 ,E-mail: 506911639@qq.com。

精密量取上述溶液各 20 μl 注入液相色谱仪, 记录色谱图。结果表明, 样品在强光、高温、酸条件下, 相对较稳定, 在碱及氧化条件下略有降解。在此色谱条件下, 盐酸多沙普仑的保留时间为 6.62 min,

峰型良好, 主成峰与杂质、降解产物均能达到基线分离, 分离度均大于 1.5, 空白样品也没有干扰, 说明该流动相可用于该样品的含量测定。样品及破坏样品的色谱图见图 1。

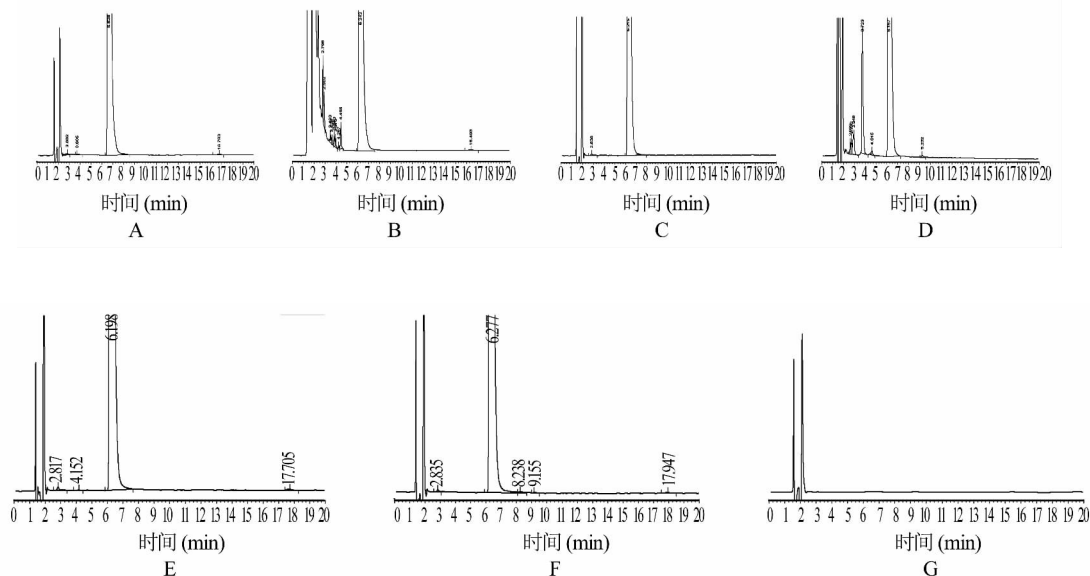


图 1 盐酸多沙普仑样品及其破坏性试验的 HPLC 图

A-样品; B-碱破坏; C-酸破坏; D-氧化破坏; E-热破坏; F-光破坏; F-空白样品

2.4 线性范围 精密称取盐酸多沙普仑对照品 13.24 mg 置 50 ml 容量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取 0.5、1.0、2.0、3.0、3.5 ml 分别置 10 ml 容量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。照上述条件分别进样, 记录各个浓度的色谱峰面积, 取峰面积(A)作为纵坐标, 浓度(C)作为横坐标, 进行线性回归, 回归方程为: $A = 57936C + 42465$, $r = 0.9998$; 结果表明进样浓度在 13.04 ~ 91.30 μg/ml 范围内, 与多沙普仑色谱峰面积呈良好的线性关系。

取上述对照品储备液适量, 以流动相逐渐稀释后, 进样测定, 以 $S/N \geq 10$ 计算盐酸多沙普仑的定量限为 1 ng; 以信噪比 $S/N \geq 3$ 计算盐酸多沙普仑的最小检出限为 0.26 ng。

2.5 重复性试验 取“2.2”项下的对照品溶液分别取 20 μl 注入液相色谱仪, 连续进样 6 次, 记录峰面积。测得盐酸多沙普仑峰面积的 RSD 为 0.60%, 由此可得, 本法测定重复性良好。

2.6 重现性试验 取同批样品(100815) 6 份, 按“2.2”项下的方法以流动相配制成浓度为 50 μg/ml 的溶液, 精密量取 20 μl 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 以外标法计算含量, 测定盐酸多沙普仑 RSD 为 0.78%, 由此可得, 本法测定重现性良好。

2.7 溶液稳定性 取“2.2”项下的样品溶液, 分别

于 0、2、4、8、12 h 进样测定, 记录峰面积。测得盐酸多沙普仑峰面积的 RSD 为 0.74%, 由此可得, 该样品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.8 回收率试验 精密称取盐酸多沙普仑对照品适量, 按处方比例加入葡萄糖, 用流动相制成每 1 ml 含盐酸多沙普仑分别为 40、50、60 μg/ml 的溶液(各 3 份), 分别量取 20 μl 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 根据盐酸多沙普仑的测得量计算回收率和 RSD, 测得盐酸多沙普仑平均回收率为 99.3%, RSD 为 0.81% ($n = 9$), 由此可得, 辅料对本法测定样品含量基本无影响, 回收率良好, 准确度高。

2.9 样品测定 取“2.1”项下的对照品溶液、供试品溶液, 分别量取 20 μl 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算含量。3 批样品的含量测定结果如表 1。

表 1 样品中盐酸多沙普仑含量测定结果

批号	100815	100816	100817
含量(%)	101.4	100	98.6

3 讨论

3.1 色谱条件的选择 参照欧洲药典第 7 版中测定盐酸多沙普仑的色谱条件, 在实验过程中我们先后

采用多种流动相分离盐酸多沙普仑葡萄糖注射液,经反复实验,确定用 0.82 g/L 醋酸钠溶液(用冰醋酸调 pH 值为 4.5) - 乙腈 = 70 : 30,在此条件下盐酸多沙普仑色谱峰形较理想,而且空白对照实验无干扰。本实验流动相简单,易于冲洗。

3.2 从线性、回收率、重复性、重现性等实验结果可以看出,用 HPLC 法测定盐酸多沙普仑葡萄糖注射液的含量,准确性高,重现性好,且操作方法简便可行。

(上接第 23 页)

使用其他药物可能会降低甲氨蝶呤消除或取代甲氨蝶呤从血浆蛋白结合位点从而促进组织摄取有关。肝脏生化检查结果是正常或非特异性的。现在很少见到严重的并发症(门脉高压、食管静脉曲张破裂出血、肝癌等)发生。

3 小结

随着老龄化社会的到来,老年人药物性肝病越来越得到重视,对发病机制的研究也越来越深入,治疗手段也越来越多,在治疗药物性肝损害方面取得了一定的疗效。同时,从理论上讲,每个药物对肝脏都会有不同程度的损害,有关药物方面尤其是中药,对肝细胞损害的发病机制了解还不够全面,有待于进一步深入研究。积极预防控制老年人的基础疾病,加强药物尤其是中药的质量管理、熟悉中药的药理特性,对老年人的药物性肝损害的预防、治疗有着重要意义。

【参考文献】

- [1] 付 静,李志军. 药物性肝病的发病机制及治疗新进展[J]. 天津医药, 2009, 37(4): 333.
- [2] 王 文,于 红. 61 例药物性肝病临床特点与转归分析[J]. 实用肝病学杂志, 2008, 11(3): 191.
- [3] Chang CY, Schiano TD. Drug hepatotoxicity[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2007, 25: 1135.
- [4] Hayes BD, Klein-Schwartz W, Barrueto Jr F. Polypharmacy and the geriatric patient[J]. Clin Geriatr Med, 2007, 23: 371.
- [5] Onji M, Fujioka S, Takeuchi Y, et al. Clinical characteristics of drug-induced liver injury in the elderly[J]. Hepatol Res, 2009, 39: 546.
- [6] Tajiri K, Shimizu Y. Practical guidelines for diagnosis and early management of drug-induced liver injury[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14: 6774.
- [7] Nathwani RA, Kaplowitz N. Drug hepatotoxicity[J]. Clin Liver Dis, 2006, 10: 207.
- [8] Hussaini SH, Farrington EA. Idiosyncratic drug-induced liver in-

【参考文献】

- [1] 王 乐. 应用拮抗药多沙普仑临床观察[J]. 中国医师杂志, 2004, 10(增刊): 257.
- [2] 中国药典 2010 版. 二部[S]. 2010: 629.
- [3] 欧洲药典[S]. 第 7 版. 1893.

[收稿日期]2012-04-06

[修回日期]2012-05-17

- [9] Taggart HM, Alderdice JM. Fatal cholestatic jaundice in elderly patients taking benoxaprofen[J]. BMJ, 1982, 284: 1372.
- [10] 马 琳,刘 波. 85 例老年药物型肝炎患者临床分析[J]. 实用肝病杂志, 2011, 14(1): 45.
- [11] 王 林,张人凤,金 鸿,等. 药物性肝损害 90 例临床分析[J]. 临床荟萃, 2011, 26(2): 162.
- [12] 徐列明,林庆勋. 正确认识中药的肝毒性[J]. 中华肝病杂志, 2007, 15(7): 534.
- [13] Lucena MI, Andrade RJ, Fernández MC, et al. Determinants of the clinical expression of amoxicillin-clavulanate hepatotoxicity: a prospective series from Spain[J]. Hepatology, 2006, 44: 850.
- [14] Kaplowitz N. Idiosyncratic drug hepatotoxicity[J]. Nat Rev Drug Discov, 2005, 4: 489.
- [15] Chien RN, Yang LJ, Lin PY, et al. Hepatic injury during ketoconazole therapy in patients with onychomycosis: a controlled cohort study[J]. Hepatology, 1997, 25: 103.
- [16] Stricker BH, Blok AP, Claas FH, et al. Hepatic injury associated with the use of nitrofurans: a clinicopathological study of 52 reported cases[J]. Hepatology, 1988, 8: 59.
- [17] Raul J Andrade, Paul M, Tulkens J. Hepatic safety of antibiotics used in primary care[J]. J Antimicrob Chemother, 2011, 66: 1431.
- [18] Hagley MT, Hulisz DT, Burns CM. Hepatotoxicity associated with angiotensin-converting enzyme inhibitorset[J]. Ann Pharmacother, 1993, 27: 228.
- [19] Andrade RJ, Lucena MI, Fernández MC, et al. Cholestatic hepatitis related to use of irbesartan: a case report and a literature review of angiotensin II antagonist-associated hepatotoxicity[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2002, 14: 887.
- [20] Farmer JA, Torre-Amione G. Comparative tolerability of the HMG-CoA reductase inhibitors[J]. Drug Saf, 2000, 23: 197.
- [21] Laine L, Goldkind L, Curtis SP, et al. How common is diclofenac-associated liver injury? Analysis of 17 289 arthritis patients in a long-term prospective clinical trial[J]. Am J Gastroenterol, 2009, 104: 356.
- [22] Lewis JH, Schiff ER. Methotrexate-induced chronic liver injury: guidelines for detection and prevention[J]. Am J Gastroenterol, 1988, 88: 1337.

[收稿日期]2012-04-25

[修回日期]2012-11-12