

HPLC-ECD 法测定盐酸多巴胺预灌装注射液的含量

黄娟^a, 朱全刚^b, 张玲娟^a, 曹洁^a (第二军医大学长海医院 a. 护理部; b. 药学部, 上海 200433)

[摘要] 目的 建立测定盐酸多巴胺预灌装注射液含量的 HPLC-ECD 方法。方法 采用 Diamonsil-C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm 5 μm), 以 0.11% 庚烷磺酸钠溶液(含 0.1 mmol/L EDTA-2Na 及 5% 冰醋酸, 用 1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 值至 3.4)-甲醇(70:30 v/v) 为流动相, 玻碳电极为工作电极, 银/氯化银电极为参比电极, 工作电位为 +0.65 V, 流速 1.0 ml/min, 柱温 20 °C。结果 盐酸多巴胺在 0.05 ~ 5 μg/ml 浓度范围内线性关系良好($r=0.9999$, $n=5$), 平均加样回收率为(99.19 ± 4.03)% ($n=3$), 日内及日间 RSD 均小于 4% ($n=3$); 3 批样品中盐酸多巴胺的平均含量相当于标示量的(102.97 ± 1.11)%。结论 该方法准确、快速、灵敏度高, 能够用于盐酸多巴胺预灌装注射液的含量测定。

[关键词] 盐酸多巴胺; 预灌装注射器; 高效液相色谱-电化学法

[中图分类号] R927 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2013)02-0113-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2013.02.008

Determination of dopamine hydrochloride in prefilled syringe by HPLC-ECD

HUANG Juan^a, ZHU Quan-gang^b, ZHANG Ling-juan^a, CAO Jie^a (Changhai Hospital, Second Military Medical University, a. Department of Nursing; b. Department of Pharmacy, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To establish a HPLC-ECD method for determination of dopamine hydrochloride in prefilled syringe. **Methods** The determination was performed on a Diamonsil-C₁₈ analytical column (250 mm × 4.6 mm 5 μm) with the mobile phase consisting of methanol-0.11% sodium heptanesulfonate solution (containing 0.1 mmol/L EDTA-2Na and 5% glacial acetic acid, adjusting to pH 3.4 with 1 mol/L NaOH). The silver/silver chloride electrode was used as reference electrode and the glassy carbon electrode was used as the working electrode at the potential of +0.65 V. The flow rate was 1.0 ml/min and column temperature was 20 °C. **Results** The calibration curve of dopamine hydrochloride were linear in the concentration range of 0.05 ~ 5 μg/ml ($r=0.9999$, $n=5$). The average recovery rate of dopamine hydrochloride was (99.19 ± 4.03)% ($n=3$). RSD of intra-day and inter-day were less than 4% ($n=3$). The contents of dopamine hydrochloride in three batches of samples were(102.97 ± 1.11)%. **Conclusion** The method was accurate, rapid and high sensitivity, which was suitable for the determination of dopamine hydrochloride in prefilled syringe.

[Key words] dopamine hydrochloride; prefilled syringe; HPLC-ECD method

盐酸多巴胺是儿茶酚类神经传递物质,用于心肌梗死、创伤、内毒素败血症、心脏手术、肾功能衰竭、充血性心力衰竭等引起的休克综合征的抢救^[1],但目前临床应用的市售注射液属于安瓿剂,常需折断数支安瓿将药液吸入注射器进行静脉注射,既占用宝贵的抢救时间,又容易造成微粒、细菌等污染及剂量误差,因此临床急需能够显著缩短给药时间、提高剂量准确性的新型药品包装形式。预灌装注射器(prefilled syringe, PFS)作为近年正在悄然兴起的一种新型、实用的药品包装形式,系将药液直接无菌灌装在可带注射针头的玻璃注射器中,注

射器和药液包装容器合二为一,使用时无需反复抽吸、安装针头等操作,具有使用方便、剂量准确、减少污染等优势^[2],比使用安瓿节省一半的时间,从而为战创伤、灾害救治及临床一线抢救危重病人争取宝贵时间,因此研制盐酸多巴胺预灌装注射液具有重要临床意义。本研究采用国产预灌装注射器制备盐酸多巴胺预灌装注射液,建立盐酸多巴胺预灌装注射液含量测定的 HPLC-ECD 方法,从而更好地控制产品质量。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 LD-10ADVP 高效液相色谱仪,包括 LC-10ADvp 泵、CLASSvp 色谱工作站、CBM-20A 系统控制器、SIL-10ADvp 自动进样器、L-ECD-6A 电化学检测器、CTO-10ACvp 柱温箱、C-R8A 记录仪(日本岛

[基金项目] 第二军医大学灾害医学专项课题(08HZ22)。

[作者简介] 黄娟(1983-)女,硕士研究生,药师。E-mail: huangjuan83@hotmail.com.

[通讯作者] 张玲娟。E-mail: lindazhang_cn@hotmail.com.

津制作所); FA-2004 电子天平(万分之一, 上海天平仪器厂); 预灌封注射器组合件(山东威高集团医用高分子制品股份有限公司, 批号 111122); SDJ-ZS 生物超净工作台(上海淀山湖净化设备厂)。

1.2 药品和试剂 多巴胺对照品(99.7%, 中国食品药品检定研究院, 批号 100154-2011-04); 盐酸多巴胺注射液(上海禾丰制药有限公司, 批号 110605); 甲醇(色谱纯, 美国 Tedia 公司); 水为重蒸馏水(第二军医大学长海医院药学部自制); 乙二胺四乙酸二钠盐(上海凌峰化学试剂有限公司, 批号 20100201); 冰醋酸(上海凌峰化学试剂有限公司, 批号 20100903); 庚烷磺酸钠(上海安谱科学仪器有限公司, 批号 CAEQ-4-020007-0100)。

2 方法和结果

2.1 预灌封注射剂的制备 分别取盐酸多巴胺注射液(规格 2 ml : 20 mg)、预灌封注射器组合件, 脱去外包装后置于生物超净工作台; 在无茵条件下将注射液灌装入玻璃针管, 将活塞压入, 将药液密封, 然后加装推杆, 进行包装。室温、避光保存。

2.2 溶液制备

2.2.1 供试品溶液制备 精密量取预灌封注射剂适量(约相当于多巴胺 0.5 mg), 置 50 ml 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 制成浓度约 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的供试品储备液; 精密量取供试品储备液 1 ml, 置 10 ml 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液制备 精密称取多巴胺对照品 10.0 mg, 置 100 ml 量瓶中, 加流动相溶解稀释至刻度, 摇匀, 制成 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的对照品储备液; 精密量取对照品储备液 0.05、0.25、0.5、1、5 ml, 分别置 100 ml 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 即得浓度分别为 0.05、0.25、0.5、1、5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的系列对照品溶液。

2.3 色谱条件 Diamonsil-C₁₈ 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.11% 庚烷磺酸钠溶液(含 0.1 mmol/L 乙二胺四乙酸二钠盐及 5% 冰醋酸, 用 1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 值至 3.4) - 甲醇(70 : 30 v/v); 采用电化学检测器, 玻碳电极为工作电极, 银/氯化银电极为参比电极, 工作电位为 +0.65 V; 柱温 20 $^{\circ}\text{C}$, 流速 1.0 ml/min, 取浓度 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的供试品和对照品, 进样量 20 μl 。供试品溶液、对照品溶液中的多巴胺色谱峰均不受干扰, 见图 1。

2.4 线性关系考察 精密取各浓度对照品溶液分别进样 20 μl , 按 2.3 项下色谱条件分析测定, 以浓度 C ($\mu\text{g}/\text{ml}$) 为横坐标, 峰面积 A 为纵坐标, 进行线

性回归, 得回归方程为 $A = 1.46 \times 10^5 + 1.56 \times 10^6 C$ ($r = 0.9999$, $n = 5$)。结果表明在盐酸多巴胺 0.05 ~ 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度范围内线性关系良好。

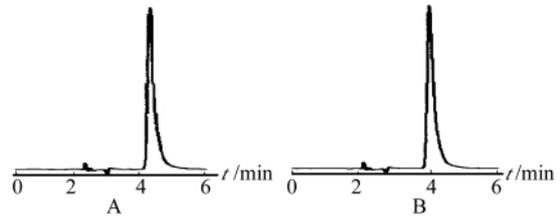


图1 盐酸多巴胺预灌封注射剂的 HPLC-ECD 色谱图

A-对照品溶液; B-供试品溶液

2.5 精密度实验 分别精密取低、中、高(0.05、0.5、5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 3 组浓度的对照品溶液各 20 μl , 按 2.3 项下色谱条件, 重复进样 3 次, 日内精密度每次进样间隔时间为 4 h, 日间精密度每次进样间隔时间为 24 h。记录峰面积, 计算峰面积变异系数。日内 RSD 分别为 2.94%、2.32% 和 2.49% ($n = 3$), 日间 RSD 分别为 3.22%、1.04% 和 2.40% ($n = 3$), 表明实验方法的日内、日间精密度满足测定要求。

2.6 重复性实验 取供试品溶液(批号 1202136 份) 进样, 按 2.3 项下色谱条件测定峰面积并计算含量, RSD 为 2.03% ($n = 6$)。

2.7 稳定性实验 精密取 2.2.1 项下的供试品溶液 20 μl , 分别于 0、2、4、6、8、12 h 按 2.3 项下色谱条件进样测定峰面积并计算含量, RSD 为 2.60% ($n = 6$), 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.8 加样回收率实验 精密量取低、中、高 3 个浓度的地塞米松磷酸注射液标准品加入浓度已知的样品溶液中, 进行测定, 计算回收率。结果见表 1。

表1 盐酸多巴胺预灌装注射液加样回收率试验结果

样品含量 (μg)	加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.5	0.125	0.627	101.60		
0.5	0.125	0.628	102.40		
0.5	0.125	0.631	104.80		
0.5	0.5	0.983	96.60		
0.5	0.5	1.021	104.20	99.19	4.03
0.5	0.5	0.984	96.80		
0.5	2.5	2.889	95.56		
0.5	2.5	2.892	95.68		
0.5	2.5	2.876	95.04		

2.9 样品含量测定 分别精密取 3 批预灌封注射剂(批号为 120213、120214、120215) 的供试品溶液各 20 μl , 按 2.3 项下色谱条件进样测定峰面积, 代

入线性回归方程计算多巴胺含量,并求算其相当于标示量的百分比。3批样品中盐酸多巴胺的含量分别为(104.25 ± 1.06)%、(102.43 ± 1.08)%、(102.24 ± 2.73)% ,平均含量为标示量的(102.97 ± 1.11)% ,均在标示量的93.0% ~ 107.0% ,符合2010版《中华人民共和国药典》盐酸多巴胺注射液项下要求^[3]。

3 讨论

盐酸多巴胺的含量测定方法有高氯酸滴定法、分光光度法^[1]、高效液相色谱法^[3,4]等,其注射液的含量测定在2010版中国药典中采用高效液相色谱法^[3],以紫外检测为手段,灵敏度低,需较大进样量,易造成色谱柱容量过载。鉴于多巴胺是具有电活性的酚类物质,本研究根据文献报道^[5]选用ECD为检测手段,灵敏度显著提高,足以满足常规检测需要。

多巴胺为极性化合物,在非极性色谱柱上保留较弱。在酸性流动相条件中加入离子对试剂后,多巴胺作为一种有机胺类物质,能与庚烷磺酸钠形成离子对,在固定相上保留增强,从而实现有

效分离。研究过程中还考察了工作电位对灵敏度的影响,发现在酸性条件下以工作电位+0.65V处灵敏度大、峰形佳,因此本研究采用+0.65V为工作电位。

经方法学研究表明,本研究所建立的HPLC-ECD方法准确快速、灵敏度高、重现性好且不受预灌装注射器的材质干扰,能用于盐酸多巴胺预灌装注射液的含量测定。

【参考文献】

- [1] 潘自红,贺国旭,胡小明,等. 分光光度法测定盐酸多巴胺的含量[J]. 分析试验室, 2011, 30(11): 89.
- [2] Nishiyama J, Suzuki T, Murata T, et al. A questionnaire survey on operability of syringe pumps for prefilled syringes [J]. Tokai J Exp Clin Med, 2010, 35(3): 95.
- [3] 中国药典2010版. 二部[S]. 2010: 688.
- [4] 吴燕琼,梁洁雯. HPLC测定盐酸多巴胺注射液的含量[J]. 广东药学, 2005, 15(3): 15.
- [5] 宋才勇,余莉,李雪艳,等. 微透析活体取样与高效液相色谱-电化学检测法联用测定帕金森大鼠脑中神经递质[J]. 分析试验室, 2011, 30(8): 80.

[收稿日期]2012-05-08

[修回日期]2012-07-24

(上接第89页)

- [22] Wilhelm M, Zhao CL, Wang YC, et al. Poly(styrene-ethylene oxide) block copolymer micelle formation in water: a fluorescence probe study[J]. Macromolecules, 1991, 24: 1033.
- [23] Chen Y, Sone M, Fuchise K, et al. Structural effect of a series of block copolymers consisting of poly(Nisopropylacrylamide and poly(N-hydroxyethylacrylamide) on thermoresponsive behavior [J]. React Funct Polym, 2009, 69: 463.
- [24] Cho YW, Lee J, Lee SC, et al. Hydrotropic agents for study of in vitro paclitaxel release from polymeric micelles [J]. J Control Release, 2004, 97: 249.
- [25] Maeda H. The enhanced permeability and retention (EPR) effect in tumor vasculature, the key role of tumor selective macromolecular drug targeting [J]. Adv Enzyme Regul, 2001, 41: 189.
- [26] Acharya S, Sahoo SK. PLGA nanoparticles containing various anticancer agents and tumour delivery by EPR effect [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2011, 63: 170.
- [27] Torchillin VP, Iakubov LZ, Estrov Z. Therapeutic potential of antinuclear autoantibodies in cancer [J]. Cancer Ther, 2003, 1: 179.
- [28] Knock E, Deng L, Krupenko N, et al. Susceptibility to intestinal tumorigenesis in folate-deficient mice may be influenced by variation in one-carbon metabolism and DNA repair [J]. J Nutr Biochem, 2011, 22: 1022.

- [29] Hagelucken A, Grunbaum L, Numberg B, et al. Lipophilic beta-adrenoceptor antagonist and local anaesthetics are effective direct activators of G-proteins [J]. Biochem Pharmacol, 1994, 47: 1789.
- [30] Dharap SS, Qiu B, Williams GC, et al. Molecular targeting of drug delivery systems to ovarian cancers by BH3 and LHRH peptides [J]. J Control Release, 2003, 91: 61.
- [31] Lee AL, Yong W, Cheng HY, et al. The co-delivery of paclitaxel and Herceptin using cationic micellar nanoparticles [J]. Biomaterials, 2009, 30: 919.
- [32] Rijcken CJ, Snel CJ, Schiffelers RM, et al. Hydrolysable core-crosslinked thermosensitive polymeric micelles: synthesis, characterisation and in vivo studies [J]. Biomaterials, 2007, 28: 5581.
- [33] Mannaris C, Averkiou MA. Investigation of microbubble response to long pulses used in ultrasound-enhanced drug delivery [J]. Ultrasound Med Biol, 2012, 38: 681.
- [34] Wei A, Zhou D, Ruan J, et al. Anti-tumor and anti-angiogenic effects of Macrothelypteris viridifrons and its constituents by HPLC-DAD/MS analysis [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 139: 373.

[收稿日期]2012-05-05

[修回日期]2012-10-09