

分子排阻色谱法测定马罗匹坦注射液中磺丁倍他环糊精钠的含量

于晓辉, 赵富华, 董玲玲, 马秋冉, 杨星, 杨秀玉* (中国兽医药品监察所化学药品检测室, 北京 100081)

摘要 [目的] 建立马罗匹坦注射液中磺丁倍他环糊精钠的含量测定方法。[方法] 采用分子排阻色谱法, 以 0.1 mol/L 硝酸钾溶液-甲醇(65:35)为流动相, 采用分子排阻色谱法检测马罗匹坦注射液中磺丁倍他环糊精钠的含量。[结果] 磺丁倍他环糊精钠与相邻峰的分度均大于 3.0; 在 6~180 μg 范围内峰面积与浓度呈良好的线性关系($r=0.999\ 9, n=8$); 在 80%、100%、120% 3 种添加水平下的平均回收率分别为 95.96% ($RSD=0.5\%, n=3$)、98.41% ($RSD=0.4\%, n=3$)、97.77% ($RSD=0.5\%, n=3$)。[结论] 该方法专属性强、准确度高、适应范围宽, 可作为马罗匹坦注射液中磺丁倍他环糊精钠的含量测定方法。

关键词 磺丁倍他环糊精钠; 马罗匹坦注射液; 分子排阻色谱法

中图分类号 S859.79 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)21-154-03

Assay of SBECD in Maropitant Injection by Size Exclusion Chromatography

YU Xiao-hui, ZHAO Fu-hua, DONG Ling-ling, YANG Xiu-yu* et al (Chemical Detection Room, China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081)

Abstract [Objective] To develop a size exclusion chromatography method for the determination of SBECD in Maropitant injection. [Method] The size exclusion chromatography was used with 0.1 mol/L potassium nitrate solution-methanol (65: 35) as mobile phase and size exclusion chromatography was used to detect SBECD content in Maropitant injection. [Result] The resolution between SBECD and other peaks was more than 3.0. The linearity range was 6–180 μg ($r=0.999\ 9, n=8$) and under 80%, 100%, 120% level of accession, the average recoveries of SBECD were respectively 95.96% ($RSD=0.5\%, n=3$), 98.41% ($RSD=0.4\%, n=3$), 97.77% ($RSD=0.5\%, n=3$). [Conclusion] The method is characterized by good specificity and accuracy with wide adaptive range. It can be used as a quality control method for the SBECD in Maropitant injection.

Key words SBECD; Maropitant injection; Size exclusion chromatography

马罗匹坦是 1 型神经激肽(NK1)的受体拮抗剂, 可通过抑制 P 物质(引起呕吐的关键性神经递质)而作用于中枢神经系统。马罗匹坦注射液可以用于预防和治疗犬的急性呕吐。

磺丁倍他环糊精钠(SBECD)作为赋形剂添加于马罗匹坦注射液中, 由于其对含氮类药物具有特殊的亲和力和包容性, 因此主要用于提高药物的溶解性和生物利用度。但是, 有研究发现重复给药时容易出现肾脏蓄积, 因此需要对制剂中 SBECD 的含量进行准确控制。笔者采用分子排阻色谱法测定了马罗匹坦注射液中 SBECD 的含量, 并对其进行了方法学考察。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂。磺丁倍他环糊精钠对照品, 纯度 95.8%, 购自美国辉瑞公司; 马罗匹坦注射液购自美国辉瑞公司; 甲醇, 色谱纯; 水为超纯水; 其他试剂均为分析纯。

1.1.2 主要仪器。高效液相色谱仪, 2695 型, 配有 410 示差折光检测器和 EmpowerII 工作站, 为美国 Waters 公司产品; 电子分析天平, AE240 型, 为瑞士 METTLER-TOLEDO 公司产品。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件。色谱柱为 YMC-Diol-60 (8.0 mm $\times$ 300 mm, 5 μm), 柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$; 流动相为 0.1 mol/L 硝酸钾溶液-甲醇(65:35), 流速 2.0 ml/min; 示差折光检测器, 检测器温

度为 35 $^{\circ}\text{C}$; 进样量为 10 μL 。

1.2.2 溶液制备。

1.2.2.1 SBECD 对照品储备液。取 SBECD 对照品约 600 mg, 精密称量, 置于 10 ml 量瓶中, 加入流动相使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得浓度约为 60 mg/ml 的对照品储备液。

1.2.2.2 样品溶液。精密量取马罗匹坦注射液 1 ml, 置于 10 ml 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得样品溶液。

1.2.2.3 阴性样品溶液。按照马罗匹坦注射液的处方, 配制不含有 SBECD 的阴性样品; 按照“1.2.2.2”中样品溶液的制备方法, 配制阴性样品溶液。

1.2.3 方法学考察。

1.2.3.1 专属性考察。精密量取对照品储备液 1 ml, 置于 10 ml 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 即得对照品溶液。精密量取对照品溶液和阴性样品溶液各 10 μL , 按照“1.2.1”中的色谱条件进行测定, 记录色谱图。

1.2.3.2 线性关系考察。精密量取对照品储备液 0.1、0.2、0.3、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0 ml, 分别置于 10 ml 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得到浓度分别为 0.6、1.2、1.8、3.0、6.0、9.0、12.0、18.0 mg/ml 的对照品溶液。按照“1.2.1”中的色谱条件, 进样测定, 记录色谱图, 以浓度 X (mg/ml) 对峰面积 Y 作图, 并进行统计学处理。

1.2.3.3 精密度试验。精密量取对照品储备液 1 ml 置于 10 ml 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得到浓度约为 6 mg/ml 的对照品溶液, 按照“1.2.1”中的色谱条件进样测定, 连续进样 6 次, 计算 SBECD 峰面积的 RSD 。

1.2.3.4 稳定性试验。取制备的样品溶液, 分别于 0、8、16、24、32、48 h 按照“1.2.1”中的色谱条件进样测定, 计算 SBECD 峰面积的 RSD 。

作者简介 于晓辉(1980-), 女, 辽宁大连人, 助理研究员, 硕士, 从事兽药检测工作。* 通讯作者, 研究员, 博士, 从事兽药检测及标准制订工作。

收稿日期 2015-05-26

1.2.3.5 加样回收率试验。按照“1.2.1”中的色谱条件,对马罗匹坦注射液中 SBECD 的含量进行测定,结果其含量为 62.13 mg/ml。

精密量取马罗匹坦注射液 0.5 ml,共量取 9 份,分别置于 10 ml 量瓶中;每 3 份为 1 组,将上述 9 份样品分为 3 组,每组分别精密加入 SBECD 对照品储备液 0.4、0.5、0.6 ml,用流动相稀释至刻度,摇匀,即得到添加水平约为 80%、100% 和 120% 的 3 组样品,按照“1.2.1”中的色谱条件分别进样测定,计算加样回收率。

1.2.3.6 检出限和定量限。按照“1.2.2”中对照品储备液的配制方法制备不同浓度的 SBECD 对照品溶液,按照“1.2.1”中的色谱条件进样测定,计算信噪比。信噪比为 3 和 10

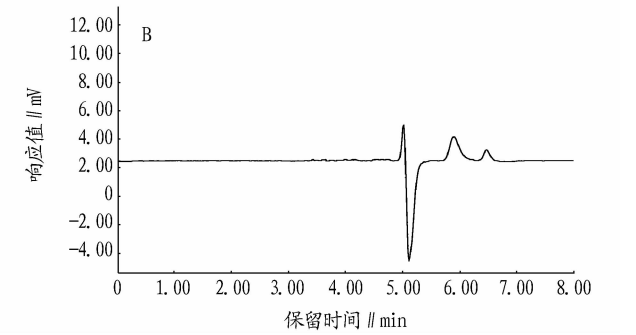
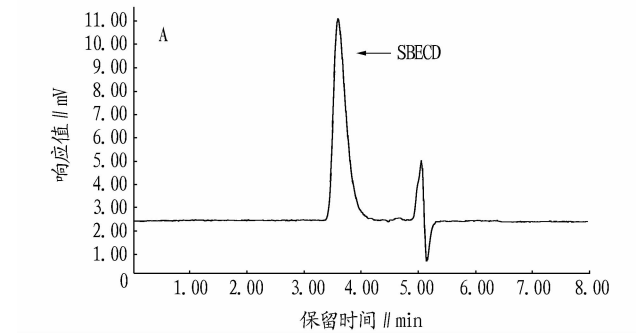
时的浓度即分别为 SBECD 的检出限和定量限。

1.2.4 样品含量的测定。按照“1.2.2”中对照品储备液的配制方法,制备浓度约为 6 mg/ml 的 SBECD 对照品溶液,精密吸取样品溶液和对照品溶液各 10 μl,按照“1.2.1”中的色谱条件进行测定,记录色谱图,按照外标法以峰面积计算马罗匹坦注射液中 SBECD 的含量。

2 结果与分析

2.1 方法学考察

2.1.1 专属性考察。从图 1 可以看出,阴性样品在 SBECD 色谱峰位置处无吸收峰,表明样品中的其他成分对 SBECD 的测定结果无干扰。



注:A. 对照品;B. 阴性样品。

图1 SBECD 对照品和阴性样品的色谱图谱

2.1.2 SBECD 的标准曲线。从图 2 可以看出,在 0.6 ~ 18.0 mg/ml 的范围内,SBECD 浓度 X 与峰面积 Y 之间呈良好的线性关系。回归方程 $Y = 23\,119X - 1\,685.5$ ($r = 0.999\,9, n = 8$)。

2.1.3 精密度试验。连续进样 6 次,SBECD 峰面积的 $RSD = 0.3\%$ ($n = 6$),结果表明该方法的精密度良好。

2.1.4 稳定性试验。稳定性试验结果表明,48 h 内 SBECD 峰面积的 RSD 为 0.2% ($n = 6$),表明样品溶液在 48 h 内稳定。

2.1.5 加样回收率。由表 1 可知,在 80% ~ 120% 的添加水平下,SBECD 的回收率为 95% ~ 98%。

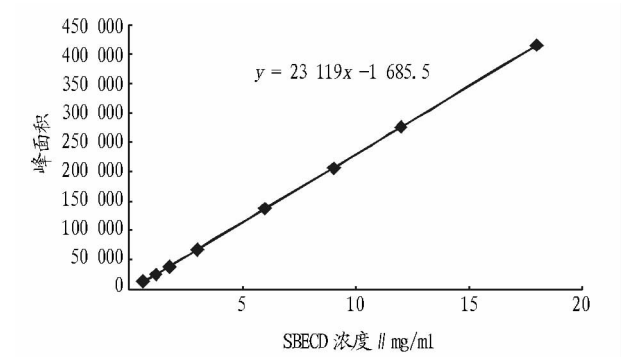


图2 SBECD 的标准曲线

表1 加样回收率的测定结果

添加水平	样品中 SBECD 量 mg	添加量 mg	测定值 mg	回收率 %	平均回收率 %	RSD (n = 3)
80%	31.065	24.213	54.433	96.51	95.96	0.5%
			54.272	95.85		
			54.196	95.53		
			60.822	98.32		
100%	30.266		60.974	98.82	98.41	0.4%
			60.753	98.09		
			66.644	97.96		
120%	36.319		66.358	97.18	97.77	0.5%
			66.724	98.18		

2.1.6 检出限和定量限。当 SBECD 浓度为 0.3 mg/ml 时,信噪比为 13.2;当 SBECD 浓度为 0.1 mg/ml 时,信噪比为 4.6。因此,该方法的检出限约为 0.1 mg/ml,定量限约为 0.3

mg/ml。

2.2 样品含量 应用笔者建立的方法对马罗匹坦注射液中的 SBECD 含量进行测定,结果见表 2。从图 3 可以看出,SB-

ECD 峰与其他峰的分度良好,结果准确可靠,说明该方法可作为马罗匹坦注射液中 SBECD 含量的测定方法。

表 2 样品含量的测定结果

测定次数	含量	平均含量	RSD (n=4) // %
	mg/ml	mg/ml	
1	61.94	62.13	0.3
2	62.32		

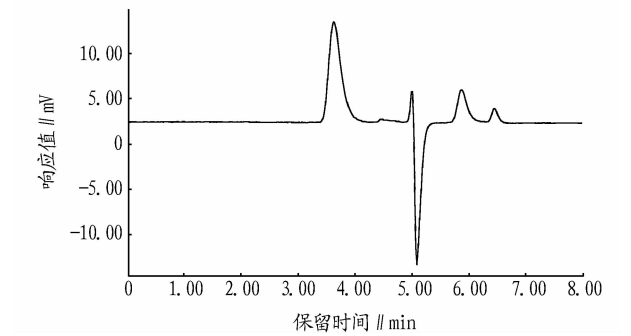


图 3 样品色谱图谱

3 讨论

为了获得最佳的测定效果,笔者还对其他 4 种色谱条件进行了比较。条件①^[1]:流动相为 0.1 mol/L 硝酸钾水溶液 - 乙腈(65:35),其他色谱条件同“1.2.1”;条件②^[2]:流动相为水 - 甲醇(95:5),其他色谱条件同“1.2.1”;条件③^[3]:流动相为水 - 甲醇(85:15),色谱柱为 XTerra RP18(150 mm × 4.6 mm,5 μm),其他色谱条件同“1.2.1”;条件④:流动相为 0.1 mol/L 硝酸钾水溶液 - 甲醇(45:55),其他色谱条件同“1.2.1”。试验发现,条件①中 SBECD 峰与相邻峰的分度

小于 1.5,且溶剂峰影响显著;条件②中 SBECD 峰会受到枸橼酸马罗匹坦峰干扰,二者几乎同时出峰;条件③中 SBECD 峰在色谱柱上几乎无保留,出峰时间约为 1.1 min,且紧邻溶剂峰;条件④中 SBECD 峰与相邻峰分度尚可,但该条件的耐用性较差,当在一定范围内变化流动相的比例时,SBECD 峰与相邻峰的分度变化较大,甚至无法实现基线分离。

为了比较条件④与“1.2.1”中色谱条件的耐用性,笔者在 ±5% 的范围内变化流动相的比例,并考察了 SBECD 峰与相邻峰的分度。结果发现,在 ±5% 的范围内变化条件④的流动相比例,即 0.1 mol/L 硝酸钾水溶液 - 甲醇的比例分别为 40:60、45:55、50:50 时,SBECD 峰与相邻峰的分度分别为 1.5、2.5、1.3;当在 ±5% 的范围内变化“1.2.1”中色谱条件的流动相比例,即 0.1 mol/L 硝酸钾水溶液 - 甲醇的比例分别为 60:40、65:35、70:30 时,SBECD 峰与相邻峰的分度分别为 3.7、4.2、3.6。通过比较发现,“1.2.1”的色谱条件下,SBECD 峰与相邻峰的分度优于条件④,而且当在一定范围内变化流动相的比例时 SBECD 峰仍能与相邻峰实现良好的分离。

4 小结

笔者建立的方法专属性强、准确度好、适用范围宽,可作为马罗匹坦注射液中 SBECD 的含量测定方法。该研究也为类似制剂中 SBECD 的质量控制提供了研究资料。

参考文献

[1] 李闻新. 新型药用辅料磺丁基醚-β-环糊精的质量控制方法研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2013:91-106.
[2] 毛勇,邓媛,李皎. 高效液相色谱法测定混合环糊精中 α-环糊精的含量[J]. 中国食品添加剂,2010(3):237-239.
[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:二部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010.

(上接第 84 页)

身的遗传变异有关^[12]。不同居群阳春砂种子的含水量无显著性差异,而含水量太高易引起种子的霉变,含水量太低则不易种子的后熟,因此含水量保持在一定范围。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:236.
[2] 刘军民,徐鸿华. 阳春砂规范化栽培技术[M]. 广州:广东科技出版社,2003:38.
[3] 张丹雁,徐志东,欧阳霞妮,等. 不同播种期阳春砂种子的发芽实验研究[J]. 广州中医药大学学报,2009,26(4):391-393.
[4] 刘艳,杨锦芬,何瑞,等. 不同发芽条件对阳春砂种子发芽的影响[J]. 广州中医药大学学报,2010,27(4):399-402.
[5] 张丹雁,欧阳霞妮,徐志东,等. 不同浸种处理对阳春砂种子发芽的影

响[J]. 广州中医药大学学报,2010,27(1):62-64.
[6] 阮英恒,刘军民,孙林霞,等. 道地产区阳春砂种子的品质检验及其贮藏特性的研究[J]. 中药新药与临床药理,2014,25(2):222-226.
[7] 臧埔,王亚星,邵玉钢,等. 西洋参种子质量标准研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(8):4546-4547.
[8] 张丹雁,刘军民,熊清平,等. 阳春砂资源调查与分析[J]. 广州中医药大学学报,2008,25(1):77-80.
[9] 孙云波,陈垣,郭凤霞. 掌叶大黄种子质量分级标准研究[J]. 甘肃农业大学学报,2014,49(4):33-39.
[10] 王栋,李安平,王玉龙,等. 蒙古黄芪种子质量分级标准研究[J]. 中国现代中药,2014,16(9):745-754.
[11] 罗光明,董艳凯,王晓云,等. 栀子种子质量标准研究[J]. 湖北农业科学,2014,53(19):4628-4631.
[12] 赵鑫,凯撒,苏来曼,等. 新疆阿魏种子质量分级标准研究[J]. 中药材,2010,33(9):1366-1367.