

图1 川芎样品的毛细管电泳图

1. 内标 12.90min; 2. 阿魏酸 16.13min

表1 日内和日间精密度

浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	RSD% (n=3)	
	日内	日间
10	1.45	1.88
50	1.40	1.50
100	0.62	1.08

表明测定方法的重现性良好。其加样回收率结果见表2。

表2 加样回收率结果

样品	加入量(mg)	回收率(%)	RSD%(n=3)
川芎	0.8	101.57	1.58

(三) 样品测定

利用所建立的分离测定方法对川芎中的阿魏酸进行了测定,测定结果见表3,令人满意。

表3 样品的测定结果

川芎	含量(%)	RSD%(n=3)
样品1	0.082	1.47
样品2	0.119	1.37

参考文献

- [1] 罗国安和王义明. 色谱, 1995, 13(4): 254
- [2] Renata J. O., Danuta R., Piotr K. et al. J. chromatogr. a, 1995, 709: 197
- [3] Sheu S. J. and Lu C. F. J. High resol. chromatogr., 1995, 18: 269
- [4] 中国药典. 二部. 1995: 30
- [5] 钱芳, 燕恩慈. 中成药, 1990; 12(4): 9
- [6] 戴忠, 钱忠直, 侯钦云. 中成药, 1997; 19(7): 9

HPLC 法测定两性霉素 B 含量

罗东 马文秀 代青 刘松青

(第三军医大学西南医院药剂科 重庆 400038)

摘要 目的: 用高效液相色谱法测定两性霉素 B 含量。方法: 外标法定量, 色谱柱为 μ -Bondapak C 柱 (10 μm , 3.9mm \times 300mm); 流动相为乙腈-磷酸盐缓冲液 (pH6.20) (55:45, v/v), 其中含 0.02mol/L 四丁基溴化铵; 流速 1.2ml/min; 检测波长 405nm。结果: 两性霉素 B 浓度在 3.0-21.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内线性关系良好, 其相关系数 $r=0.9997$, 本方法的平均回收率为 $102.94 \pm 2.17\%$, 日内和日间相对标准偏差分别平均为 2.80% 和 5.25%。结论: 该方法简便、快速、准确、重现性好。

关键词 两性霉素 B; 含量测定; HPLC

两性霉素 B (Amphotericin B) 为多烯类抗深部真菌感染药物。临床上应用已有 30 余年。虽然新的抗真菌药物如唑类抗真菌药物

不断被开发应用。但两性霉素 B 仍作为许多真菌感染的首选药物广泛用于临床^[1]。中国药典和美国药典对两性霉素 B 的含量测

定均采用抗生素微生物检定法^[2,3],但该方法操作繁琐,费时。本文建立 HPLC 法测定两性霉素 B 含量的方法,该方法快速、简便,专属性强,重现性好。

一、仪器与试剂

(一) 仪器

Waters 810 液相色谱系统(包括 510 泵、484 可变波长紫外检测器、U6K 型进样器、Baseline 计算机控制及处理系统),Φ21 型 pH 计(美国贝克曼),H66025 超声波清洗机(无锡市超声电子设备厂)。

(二) 试剂

两性霉素 B 对照品(中国药品生物制品检定所)。两性霉素 B 粉针剂(25mg/支,上海先锋药业公司)。

乙腈为色谱纯;磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、四丁基溴化铵、二甲基亚砜均为分析纯。

二、实验方法与结果

(一) 色谱条件

色谱柱:μ-Bondapak C₁₈ 柱(3.9mm × 300mm, 10μm);流动相:乙腈-磷酸盐缓冲液(pH6.20)(55:45, v/v),其中加入 0.02mol/L 四丁基溴化铵,经超声脱气处理,流速:1.2ml/min;柱温:35 ± 1℃,检测波长:405nm;灵敏度:0.05AUFs;进样量:20μl。在此色谱条件下的色谱图见图 1。

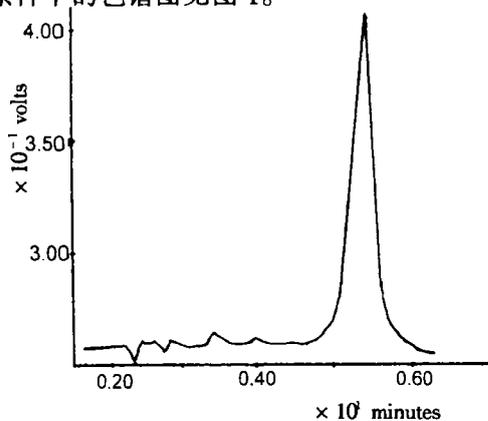


图 1 两性霉素 B 色谱图

(二) 标准溶液的配制

精密称取两性霉素 B 对照品 30mg 于量

瓶中,加二甲基亚砜溶解配成含两性霉素 B 0.3mg/ml 的标准溶液备用。

(三) 标准曲线制备

精密量取标准液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7ml 分别置 10ml 量瓶中,加蒸馏水稀释至刻度,混匀,进样 20μl,连续进样 3 次,计算峰面积 A 与浓度 C 的关系。其回归方程为: $C = 2.024 \times 10^{-4} A - 0.1142$, $r = 0.9997$ 线性范围为 3.0μg/ml ~ 21.μg/ml。

(四) 回收率及精密度

配制 3 份不同浓度的两性霉素 B 溶液,每个浓度进样 3 次,测得峰面积代入回归方程计算浓度,得两性霉素 B 的回收率,结果见表 1。

表 1 两性霉素 B 的回收率试验结果(n=3)

投入量 (mg/ml)	测得量 (mg/ml)	回收率 (%)	平均回收率 $\bar{x} \pm SD$	RSD (%)
10.0	10.55	105.48		
15.0	15.19	101.29	102.94 ± 2.23	2.17
20.0	20.41	102.06		

配制 2 份不同浓度的两性霉素 B 溶液,在一日内连续进样 10 次,测得日内相对标准偏差;每天测定一次连续测定 5 天,得日间相对标准偏差,结果见表 2。

表 2 两性霉素 B 的精密度测定结果

加入量 (mg/ml)	日内(n=10)		日间(n=5)	
	测得量 (mg/ml)	RSD (%)	测得量 (mg/ml)	RSD (%)
12.0	11.80 ± 0.44	3.73	12.14 ± 0.22	6.30
18.0	17.69 ± 0.33	1.87	17.40 ± 0.24	4.21

(五) 两性霉素 B 的含量测定 测定 3 个不同批号的两性霉素 B,其含量分别为 25.72、24.98、25.24mg/ml,分别为标示量的 102.87%、99.93%、100.98%。

三、讨论

流动相的选择:观察两性霉素 B 在 5 种不同流动相中的色谱特点,选择了乙腈-磷酸盐缓冲液作为流动相。调整流动相中各组分比例发现,当缓冲液比例较大时,两性霉素 B 出峰时间延长,且峰加宽,反之,缓冲液比例较小时,出峰时间缩短。流动相的 pH

值改变对两性霉素 B 的容量因子 K' 影响较大,当流动相中磷酸盐缓冲液 $\text{pH} < 6$ 时, pH 值越小, K' 增大, pH 值增大时 K' 随 pH 值的增大而呈下降趋势;当磷酸盐缓冲液 pH 调至 6.20 时,其两性霉素 B 的 K' 变化相对稳定。故选定乙腈 - 磷酸盐缓冲液 ($\text{pH} 6.20$) (55:45, v/v) 作流动相,此时两性霉素 B 峰形对称,柱效高,保留时间短(为 5.4min),且能与分解物及杂质峰分开,测定样品周期为 6.5min。由于两性霉素 B 具多烯、多羟基结构,且碳链较长,这可能是造成两性霉素 B 出峰时间及峰形不很稳定的原因,加入 0.02mol/L 四丁基溴化铵,可使两性霉素 B 的出峰时间和峰形相对稳定,有利于样品的

测定。

样品的稳定性;将测定样品在室温避光与不避光放置,每 1h 测一次含量,其结果为避光的样品在 5h 内含量与 0h 相比变化 $< 1\%$,而不避光的样品含量下降 $> 6\%$,故本实验要求在避光条件下进行,并在 4h 内完成样品测定为最佳。

参考文献

- [1] Gallis HA, Drew RH, Pickard WW. Amphotericin B: 30 year of clinical experience. *Rev Infect Dis*, 1990; 12: 308 ~ 29
- [2] 中国药典. 1995 年版. 二部: 272 ~ 3
- [3] USP XXIV. 1995, I: 105
- [4] Mechinski W, Schaffner C. Separation of polyene antifungal antibiotics by highspeed liquid chromatography. *J Chromatogr*. 1974; 99: 619

一阶导数光谱法测定泻立宁合剂中诺氟沙星的含量

程 宓 韩福鹏 徐世清

(丹东空军医院 丹东 118008)

摘要 本文采用一阶导数光谱法测定泻立宁合剂中诺氟沙星的含量,不受辅料和其它成分的干扰,简便、快速。平均回收率为 99.95%, RSD 为 0.88%。

关键词 诺氟沙星; 一阶导数光谱法; 含量测定

泻立宁是我院自行研制的一种抗菌、止泻的药物,是由诺氟沙星、硫酸庆大霉素、陈皮酊、颠茄酊、复方樟脑酊等组成的复方制剂。其主要成分诺氟沙星含量按资料^[1]方法测定,在紫外区受到其它组分的干扰,本文采用一阶导数光谱法,不经分离直接测定诺氟沙星的含量,获得满意的结果。

一、仪器与试剂

UV-2401PC、UVPC37 软件(日本岛津); 486 微机; EXce17.0(美国微软公司); pHs-4 型酸度计(杭州亚美电子仪器厂); 诺氟沙星(沈阳第六制药厂,批号 9705142); 硫酸庆大霉素、陈皮酊、颠茄酊、樟脑酊、聚山梨酯-80、冰醋酸等(均符合中国药典九五年版各药

项下的有关规定)。

二、实验方法与结果

(一) 处方

诺氟沙星 6.0g, 硫酸庆大霉素 2.4g, 陈皮酊 100ml, 颠茄酊 30.0ml, 复方樟脑酊 150ml, 聚山梨酯-80 20.0ml, 冰醋酸适量, 蒸馏水加至 3000ml。

(二) 制法

甲液: 将诺氟沙星溶于适量冰醋酸中, 硫酸庆大霉素溶于适量蒸馏水中, 两液混匀。乙液: 取陈皮酊、复方樟脑酊、颠茄酊与聚山梨酯-80 混匀, 缓缓加入适量蒸馏水中, 搅匀。将甲液缓缓加入乙液中随加随搅拌, 调至 pH 值 4.0 ~ 5.0, 加水使至全量, 分装为