

· 医院药学 ·

以扑米酮为内标物高效液相色谱法 测定吡喹酮制剂含量¹

梁贵健 朱 莉 钱厚海 王幼珍 吕 敏

(空军总医院药剂科 北京, 100036)

摘要 采用反相高效液相色谱系统, 在Lichrosorb RP-C₁₈色谱柱上, 甲醇-水(68:32)为流动相, 215 nm为检测波长, 并以扑米酮为内标物, 对吡喹酮进行了含量测定。在所测20~100 μg/ml浓度范围内线性良好, $r = 0.9997$ 。

关键词 吡喹酮 扑米酮 药物分析 HPLC法

吡喹酮(Praziquantel)为一广谱抗 蠕 虫 药, 主要用于日本、埃及和曼氏三种血吸虫病, 其特点是剂量小, 疗程短, 疗效好, 代谢快, 毒性低, 也可用于华支睾吸虫病、绦虫病、肺吸虫病等。国内于80年代正式生产本品^[1]。中国药典(1985)采用紫外分光光度法, 但本品吸收系数小, 灵敏度低, 精密度亦差, 且杂质在264 nm处有吸收, 对含量测定影响很大, 往往导致含量偏高, 说明此法专属性不强。中国药典(1990)和USP (XXII)均改用HPLC法^[2,3], 中国药典采用甲醇-水(100:40)流动相, α-细辛醚为内标物, 而美国药典采用乙腈-水(60:40)作为洗脱剂。本文的工作主要是选择215 nm作为检测波长, 以增加检测的灵敏度, 同时以扑米酮作内标, 流动相的组成为甲醇-水(68:32)。

实验部分

1 仪器与试剂

仪器: LC-4A 高效液相色谱仪(日本 SHIMADZU公司), SPD-2AS型紫外检测器, SIL-2AS型自动进样器, C-R2A型数据处理机, UV-2201紫外分光光度计(日本 SHIMADZU公司)。

试剂: 甲醇(北京化工厂)优级纯, 扑米酮和吡喹酮对照品、(北京第三药厂), 吡喹酮片(南京制

药厂)。α-细辛醚对照品(中国药品生物制品检定所), 蒸馏水为多次重蒸馏, 新鲜使用。

2 色谱条件

色谱柱固定相 Lichrosorb RP-18 5 μm(4.0 × 150 mm), 流动相: 甲醇-水(68:32), 使用前以氮气脱气15 min, 流速: 1.0 ml/min, 柱温: 室温, 检测波长: 215 nm, 衰减: 4, 纸速: 3 mm/min。扑米酮为内标物, 计算方法采取标准曲线法。HPLC 色谱图见图 1。

3 吡喹酮对照品和内标物溶液的配制

精密称取经干燥至恒重的吡喹酮和扑米酮各 25 mg, 分别用适量甲醇溶解, 置于两个 25 ml 量瓶中, 用流动相稀释定容至刻度, 摇匀即得吡喹酮对照品和内标物贮备液。从吡喹酮对照品贮备液中分别准确吸取 0.20、0.40、0.60、0.80 和 1.00 ml 于五个 10 ml 量瓶中, 再各加入内标液 0.40 ml, 用流动相定容至刻度, 摇匀, 即得 5 个浓度梯度工作液。

4 峰面积与浓度的线性关系 按规定的色谱条件, 进样 25 μl, 在所测 20~100 μg/ml 范围内, 峰面积之比(A)与吡喹酮浓度(C)呈良好的线性关系, 其相关系数 $r = 0.9997$, 线性回归方程 $A = 0.00212 + 0.07983C$ 。

5 重复性试验 结果为日内误差 RSD = 1.16%

¹ 国家自然科学基金资助项目

($n = 8$), 日间误差 $RSD = 1.64\%$ ($n = 6$)。

6 回收率试验 精密称取已知含量的吡唑酮片细粉适量, 加入适量吡唑酮对照品溶液和内标溶液, 用流动相配成适当浓度, 过滤, 弃去初滤液, 取续滤液进样, 结果见表1。从回收率结果可见, 赋形剂对测定基本上无干扰。

表1 回收率试验结果

加入量 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	实测量 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	回收率 (%)	平均回收率 $\bar{x} \pm s$
5.0	4.99	99.80	
10.0	9.92	99.20	$99.01 \pm 0.8\%$
20.0	19.61	98.05	

7 样品溶液的制备和测定

取吡唑酮20片, 精密称定, 研细, 精密称取适量(约相当吡唑酮20 mg), 置25 ml量瓶中, 用适量甲醇溶解, 加流动相稀释至刻度, 从中精密吸取0.50 ml于10 ml量瓶中, 加内标溶液0.40 ml, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 弃去初滤液, 取续滤液25 μl 进样。三批样品吡唑酮含量测定结果与药典法相比较, 见表2。

表2 两种方法测定吡唑酮片含量的比较*

批号	本法	药典法
910412	97.32 ± 1.27	97.65 ± 0.94
910706	96.54 ± 0.99	97.03 ± 1.24
920503	96.31 ± 1.16	96.76 ± 1.03

*相当于工药物标示量的百分含量 $\bar{x} \pm s$ ($n = 3$)

讨论

1 紫外检测波长的选择

在UV-2201紫外分光光度计上作扫描时注意到, 吡唑酮在254-270 nm的吸光系数很小, 其 λ_{max} 在200 nm左右, 参照USP (XXII)的方法选215 nm处作为检测波长进行研究, 大大地提高了吡唑酮的检测灵敏度, 比文献^[4]在263 nm检测的方法灵敏50倍以上。从二个不同浓度吡唑酮溶液的UV谱图上可见, 254 nm为吡唑酮紫外吸收峰的谷底, 灵敏度低。

2 流动相的优化

根据吡唑酮的化学结构和色谱行为, 选择最简单实用的甲醇-水体系作为中性流动相, 即可解决适

宜的保留时间和良好的峰形, 避免使用缓冲盐, 有利于对柱子和仪器的保养。吡唑酮和 α -细辛醚的 $k' - C\%$ 曲线见图2。

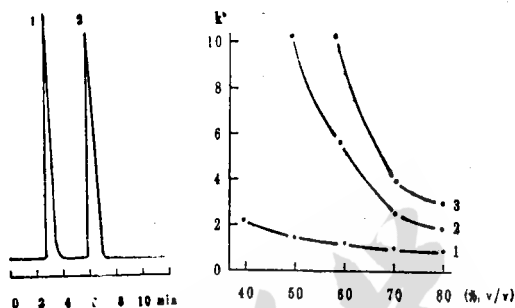


图1 HPLC色谱图 图2 甲醇浓度对 k' 的影响
1. 内标 2. 吡唑酮 3. α -细辛醚

3 内标物的选择

α -细辛醚是从传统中药石菖蒲根茎中得到的挥发油^[5,6], 纯化多次亦难除净蓝色荧光物质, 且稳定性差, 在放置中易分解, 除了有来源上的困难外, 也有与吡唑酮紫外光谱相差较大的缺陷。前者的吸收系数约为后者的吸收系数的50倍, 内标的加入和稀释的准确操作对含量测定的准确度影响很大。故中国药典规定, 将内标溶液作为溶解和稀释标准品和样品的溶剂, 以减少误差。但这给内标物的配制及操作带来烦琐。经过反复比较化学结构、光学性质、色谱行为等诸多因素后, 我们选择了扑米酮作为吡唑酮的内标物。扑米酮在正常条件下, 性质稳定, 未发现有降解产物生成^[7], 这是优于 α -细辛醚的另一原因。

参考文献

- 1 袁锡炳. 吡唑酮的质量考察. 药物分析杂志, 1982; 2: 356
- 2 中国药典1990, 二部, 223页
- 3 USP (XXII), 1125
- 4 林力行等. 吡唑酮的高效液相色谱分析. 药学学报, 1985 20(3): 224
- 5 林力行, 朱顺兰. 细辛醚检验方法探讨. 药物分析杂志, 1983; 3: 107.
- 6 杨峻山, 何芝义, 陈玉武等. 石菖蒲挥发油成分的研究. 中草药通讯, 1979; 4: 148
- 7 Flory, K., Analytical Profiles of Drug Substances vol.2, p.409, Academic Press, New York, 1978.

收稿日期: 1994-09-12

RP-HPLC Determination of Praziquantel using Primidone as Internal Standard

Liang gujian Zhu Li Qian Houhai Wan Youzhen Li Min

(General Hospital of Air Force, Beijing 100036)

Abstract A reversed-phase HPLC method for quantitative determination of praziquantel was described in this paper. The stainless steel column was 1.50×4.6mm LD, packed with Lic-hrosorb RP-C₁₈ (particle size 5 μm). The Mobile phase was a mixture of methanol-water (62:38). Chromatography was performed using primidone as internal standard and with ultraviolet detector at 215 nm. Linear calibration curve for praziquantel was measured within the range of 20 to 100 μg/ml with the correlation coefficient of 0.9997.

Key words Praziquantel HPLC

(on page 29)