

RP-HPLC 法测定异长春花碱注射液的含量

刘 放 陈璇英 胡金余¹(杭州 310013 浙江省医学科学院药物研究所;¹永康 321300 浙江永康市红十字会医院)

摘要 目的:建立了 RP-HPLC 法分离和测定异长春花碱注射液的含量。方法:Spherisorb C₁₈柱,流动相 0.05mol/L KH₂PO₄(用 H₃PO₄ 调 pH 为 4.0)-乙晴(60:40),检测波长:268nm。结果:异长春花碱的线性范围为 0~100μg/ml, $r = 0.9999$,平均回收率为 100.98% ($n = 6$),RSD = 3.73%。结论:该法不需经提取分离,稀释后直接进样,简便,准确,适于生产中使用。

关键词 异长春花碱,异长春花碱注射液,反相高效液相色谱法

Separation and Determination of Vinorelbine in Vinorelbine Injection by RP-HPLC

Liu Fang(Liu F), Cheng Aiyong(Cheng AI), Hu Jinyu(Hu JY)(*Institute of Materil Medica Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou, 310013*)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a RP-HPLC method for separation and determination of vinorelbine in vinorelbine injection. **METHOD:** Spherisorb C₁₈ Column(4.6 × 250mm, 10μm) was used with a mobile of acetonitrile and 0.05mol/L potassium dihydrogen(pH was addested to 4.0 with phosphoric acid) and UV detector at 268nm. **RESULTS:** The linear range of vinorelbine was 0~100μg/ml, $r = 0.9999$. The average recovery rate was 100.98% (RSD = 3.73, $n = 6$). **CONCLUSION:** The method is simple, rapid and reliable.

KEY WORDS vinorelbine, vinorelbine injection, RP-HPLC

异长春花碱(Navelbine, Vinorelbine, NVB 或 VRB)又称去甲去氢长春花碱(Nor-delydro-vinbla-stine),是一种半合成的长春碱,其抗肿瘤机理与长春花碱(Vintlastine, VLB),长春新碱(Vincristine, Oncovin, VCR)相似,但它在低浓度时就能破坏分裂细胞的微管,此浓度并不影响其它细胞的微管(如轴索微管),故神经毒性较其它长春碱低而成为新一代长春碱类并用于临床,其对非小细胞肺癌的疗效较好受注意。关于异长春花碱的分析方法,国内尚未见报道,作者参考有关

文献^[1-5],建立了异长春花碱注射液的 RP-HPLC 分析方法,获得了满意的结果,现报道如下。

1 仪器和试剂

LC-6A 高效液相色谱仪(日本岛津), Shimadzu UV-2100 紫外分光光度计, 1810 型石英自动纯水器(上海玻璃一厂), 乙晴(HPLC 试剂, 一级, 浙江省临海市有机化工厂)其余试剂均为分析纯, 水为双蒸水(自制), 异长春花碱对照品, 异长春花碱注射液均由浙江某药厂提供。

2 色谱条件和系统适用性试验

用 Spherisorb C₁₈ 柱(4.6 × 250mm, 10μm) 为填充剂, 0.05mol/L KH₂PO₄ (称取 KH₂PO₄ 6.8g, 溶于 800ml 水中, 加三乙胺 10ml, 用 H₃PO₄ 调 pH = 4.0, 再加水至 1000ml, 摇匀) - 乙腈(60:40) 为流动相, 检测波长: 268nm, 流速: 1ml/min, 柱温: 30℃, 纸速: 2mm/min, 灵敏度: 0.02AUFS, 计算数次重复进样结果, 其 RSD 不得过 2.0%, 理论塔板数按异长春花碱峰计算应不低于 1000, 杂质与异长春花碱的分离度应大于 1.5 以上。

3 方法与结果

3.1 异长春花碱最大吸收波长测定: 取异长春花碱对照品适量, 用流动相制成 20μg/ml 的溶液, 在波长 200 ~ 400nm 处扫描, 结果异长春花碱最大吸收波长为 267 ± 1nm。

3.2 线性范围: 取异长春花碱对照品 25mg, 置 25ml 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀(1mg/ml); 取此液适量用流动相分别稀释成为 5, 10, 20, 25, 50, 75 和 100μg/ml 的溶液, 分别精密量取上述溶液各 20μl, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 量取峰面积, 以进样浓度为横坐标, 相应峰面积为纵坐标进行线性回归, 得直线方程 $Y = 6752.44X - 76.04$, $r = 0.9999$ 。

3.3 精密度考察: 取同一浓度(20μg/ml)的异长春花碱对照品溶液, 在上述色谱条件下, 重复进样 10 次, 测得异长春花碱峰面积 RSD = 1.15% (n = 10)。

3.4 回收试验: 取本品 1ml, 置 10ml 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀; 精密量取 1ml 置 50ml 量瓶中(共吸 5 份), 分别添加一定量的异长春花碱对照品, 再用水稀释至刻度, 摇匀, 分别精密量取 20μl, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 经计算求出加样回收率, 结果平均回收率为 100.98%, RSD = 3.73%。

3.5 供试品溶液制备与含量测定: 精密量取本品适量, 用水稀释成每 1ml 约含异长春花碱 20μg 的溶液, 作为供试品溶液, 精密量取 20μl, 注入液相色谱仪, 记录色谱图; 另取异长春花碱对照品适量, 同法测定, 按外标法以峰面积计算, 即得。结果见表 1 和图 1。

表 1 供试品测定结果(n = 3)

批号	相当于异长春花碱标示量(%)	RSD(%)
990306	104.46	1.16
990316	107.70	0.92
990326	109.24	0.88
990402	104.80	1.24
990406	108.90	1.06
990410	107.57	1.32

3.6 重现性试验: 取同一批号的异长春花碱注射液适量, 用水稀释成每 1ml 约含异长春花碱 20μg 的溶液, 共 6 份, 按拟定的色谱条件, 分别进样 20μl 测定, 结果异长春花碱峰面积 RSD = 1.05% (n = 6)。

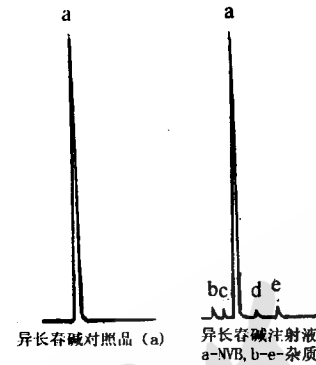


图 1 对照品和供试品 HPLC 图谱

4 讨论

4.1 曾比较了磷酸缓冲液 - 乙腈不同比例的分离效果, 发现随着流动相中乙腈比例的升高, 异长春花碱的 t_R 逐渐缩短, 峰形变锐, 但分离度降低; 经过对比试验, 最终选择磷酸盐缓冲液 - 乙腈(60:40) 为流动相, 异长春花碱与杂质能达到基线分离($R > 1.5$)。

4.2 流动相的 pH 值: 降低流动相的 pH 值, 能使异长春花碱的峰形变锐, 但考虑到一般 HPLC 色谱柱所允许的流动相 pH 值使用范围为 2.0 ~ 7.5, 过高的流动相 pH 值, 可使固定相中作为载体的硅胶溶解, 使色谱柱寿命缩短; 而低 pH 值对色谱柱不利。因此, 本文在保持最佳分离前提下, 将流动相 pH 控制在 4 左右, 以保护色谱柱的使用寿命及保持色谱系统的重现性。

4.3 本文建立的异长春花碱的 HPLC 分析方法具有简便, 快速和准确的优点, 可作为长春花碱及其制剂的含量分析方法。

参考文献

- 1 张和顺, 吴长利, 马腾壤, 等. HPLC 法检测耐药细胞逆转前后细胞内长春新碱药物浓度及其临床意义. 天津医药, 1997, 25(1): 36.
- 2 王却, 胡琴, 田南奔, 等. 硫酸长春地辛原料药纯度检测方法研究. 药物分析杂志, 1995, 15(6): 8.
- 3 蔡勇, 刘向东, 刘志强. 硫酸长春新碱和硫酸长春碱的反相离子对 HPLC 法测定. 浙江医科大学学报, 1993, 22(6): 250.
- 4 陈珏, 黄宗玉. 硫酸长春地辛及其注射剂含量测定方法改进. 中国医药工业杂志, 1998, 29(8): 365.
- 5 黄宗玉, 龚青, 林履基, 等. 长春碱类药物的 RP - HPLC 法测定. 中草药, 1992, 23(4): 185.