

HPLC 法测定盐酸米诺环素缓释微丸胶囊中的米诺环素和有关物质

夏丽文, 李大维, 姚丽娜

哈药集团制药六厂, 黑龙江 哈尔滨 150056

摘要: 目的 建立反相 HPLC 法测定盐酸米诺环素缓释微丸胶囊中米诺环素的量和有关物质。方法 Diamonsil C₁₈ 柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为醋酸铵缓冲溶液 (pH 6.0)-乙腈-甲醇 (80:15:5), 检测波长为 280 nm, 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温为 25℃, 进样量为 20 μL。结果 米诺环素在 0.05~1 mg/mL 线性关系良好 ($r=0.9997$), 方法精密度 RSD 为 0.6%, 平均回收率为 99.46%, RSD 为 0.8%, 各杂质峰与主峰分离良好。结论 该方法简便, 专属性强, 准确可靠, 可用于测定盐酸米诺环素缓释微丸胶囊中的米诺环素及有关物质。

关键词: HPLC; 盐酸米诺环素; 缓释微丸; 定量测定; 有关物质

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2012)02-0117-03

Determination of minocycline hydrochloride and its related substances in sustained-release pellets capsules by HPLC

XIA Li-wen, LI Da-wei, YAO Li-na

Harbin Pharmaceutical Group Sixth Pharm Factory, Harbin 150056, China

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the determination of minocycline hydrochloride and its related substances in minocycline hydrochloride sustained-release pellets capsules. **Methods** HPLC was performed on a Diamonsil C₁₈ column (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) using ammonium acetate (pH 6.0)-acetonitrile-methanol (80:15:5) as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was 280 nm and the column temperature was 25 °C. **Results** The linear range of minocycline was 0.05—1 mg/mL ($r = 0.9997$), precision RSD = 0.6%, and the average recovery was 99.46% (RSD = 0.8%). **Conclusion** The established method is simple, accurate, and specific, and could be used for the quality control of minocycline hydrochloride sustained-release pellets capsules.

Key words: HPLC; minocycline hydrochloride; sustained-release pellets; content determination; related substances

米诺环素 (minocycline, 二甲胺四环素) 是长效高效的半合成四环素, 其抗菌谱和四环素相近, 抗菌作用为四环素类中最强, 对四环素耐药的金黄色葡萄球菌、链球菌和大肠杆菌对本品仍敏感。不良反应与其他四环素类基本相同, 可引起可逆性前庭反应, 包括恶心、呕吐及运动失调等^[1]。盐酸米诺环素缓释微丸胶囊可降低血药峰谷浓度差, 减少不良反应的发生, 提高患者的顺应性。本实验采用 HPLC 法测定米诺环素缓释微丸胶囊中主药及有关物质, 结果表明方法操作简便, 专属性强, 结果准确可靠, 可有效控制缓释微丸胶囊的质量。

1 仪器与材料

日本岛津 LC—10A 高效液相色谱仪 (配 SPD—10 紫外可见检测器、CK chrom 色谱工作站),

BP211D 电子天平 (赛多利斯), pH S—3C 精密酸度计 (上海虹益仪器仪表有限公司)。盐酸米诺环素 (华北制药有限公司, 批号 20070302), 米诺环素对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号 130514-200601), 盐酸米诺环素缓释微丸胶囊 (自制, 规格 90 mg/粒, 批号 100701、100702、100703)。甲醇、乙腈 (色谱纯, 迪马公司), 醋酸铵等其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验

色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为醋酸铵缓冲溶液 (pH 6.0)-乙腈-甲醇 (80:15:5), 检测波长为 280 nm, 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温为 25 °C, 进样量为 20 μL。

收稿日期: 2011-12-27

作者简介: 夏丽文 Tel: (0451) 55601872 E-mail: xia_liwen@126.com

在此色谱条件下, 供试品中盐酸米诺环素峰能达到基线分离, 理论板数按盐酸米诺环素峰计应不低于 3 000。

2.2 溶液的制备

精密称取米诺环素对照品 15.0 mg, 加流动相溶解, 定容至 50 mL 量瓶中, 制成质量浓度为 0.25 mg/mL 的米诺环素对照品溶液。

取盐酸米诺环素缓释微丸胶囊 20 粒, 倾出内容物, 研细, 精密称取适量 (约相当于米诺环素 25 mg), 置于 100 mL 量瓶中, 加流动相充分溶解并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

按处方比例精密称取适量辅料, 置于 100 mL 量瓶中, 加流动相充分溶解并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为空白辅料溶液。

精密移取供试品溶液 1 mL, 加流动相稀释并定容至 100 mL 量瓶中, 得到有关物质对照溶液。

2.3 专属性试验

取盐酸米诺环素缓释微丸 (批号 100701) 粉末 5 份, 每份约相当于米诺环素 25 mg, 分别置于 100 mL 量瓶中。每份处理如下: ①酸破坏: 加 1 mol/L 盐酸溶液 1 mL, 置 85 °C 水浴中加热 1 h, 取出冷却后加入适量 1 mol/L 氢氧化钠溶液中和, 加流动相超声处理 10 min, 稀释至刻度, 摇匀, 滤过; ②碱破坏: 加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 1 mL, 置 85 °C 水浴中加热 1 h, 取出冷却后加入适量 1 mol/L 盐酸溶液中和, 加流动相超声处理 10 min, 稀释至刻度, 摇匀, 滤过; ③氧化破坏: 加 10% 过氧化氢溶液 1

mL, 置 85 °C 水浴中加热 1 h, 取出冷却后加流动相超声处理 10 min, 并稀释至刻度, 摇匀, 滤过; ④高温破坏: 置 105 °C 烘箱中加热 6 h, 取出冷却后加流动相超声处理 10 min, 并稀释至刻度, 摇匀, 滤过; ⑤光照破坏: 置光照强度 $(4\,500\pm 500)$ lx 条件下光照 2 d, 取出加流动相超声处理 10 min, 并稀释至刻度, 摇匀, 滤过。取上述溶液作为各破坏方法的有关物质供试品溶液。精密量取对照品溶液、供试品溶液、各有关物质破坏性的供试品溶液与有关物质对照溶液 20 μ L, 分别进样, 记录色谱图至主成分峰保留时间的 3 倍, 色谱图见图 1。结果表明主峰和降解产物能达到基线分离, 空白溶剂与辅料对主峰和降解产物测定无干扰, 表明此方法专属性强。

2.4 线性关系考察

取米诺环素对照品 250 mg, 精密称定, 置于 100 mL 容量瓶中, 流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成对照品贮备液。精密吸取贮备液 0.2、0.5、1、1.5、2、4 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 制成系列浓度的标准溶液, 分别吸取 20 μ L 进样, 记录峰面积, 以米诺环素质量浓度 (X) 为横坐标, 峰面积 (Y) 为纵坐标, 进行线性回归, 得回归方程 $Y=56\,891X-1\,561.2$ ($r=0.999\,7$)。结果表明在 0.05~1 mg/mL, 米诺环素的质量浓度与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取米诺环素对照品溶液连续进样 6 次, 记录峰面积, RSD 为 0.6%。

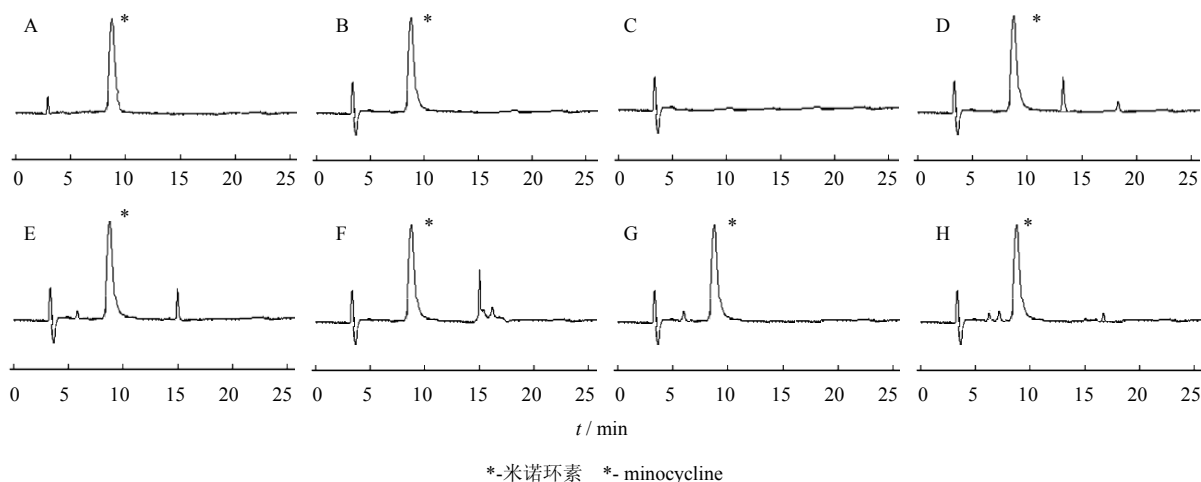


图 1 对照品 (A)、供试品 (B)、空白辅料 (C)、酸破坏样品 (D)、碱破坏样品 (E)、氧化破坏样品 (F)、高温破坏样品 (G)、强光破坏样品 (H) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substance (A), test sample (B), blank control (C), acid destruction sample (D), alkaline destruction sample (E), oxidative damage sample (F), heat damage sample (G), and light destruction sample (H)

2.6 稳定性试验

取供试品溶液分别在 0、1、2、4、8 h 进样测定, 记录峰面积, 表明供试品溶液 4 h 内无显著变化, 超过 4 h 米诺环素明显下降, 因此, 供试品溶液应现用现配, 最好在 4 h 内使用。

2.7 重复性试验

取同一批次盐酸米诺环素缓释微丸胶囊(批号 100701) 供试品 6 份, 按“2.2.2”项下方法制备 6 份供试品溶液, 分别进样测定, 记录峰面积, 结果米诺环素的平均标示量为 99.4%, RSD 为 0.5%。

2.8 加样回收率试验

取盐酸米诺环素缓释微丸胶囊 20 粒, 倾出内容物, 研细, 精密称取适量(约相当于米诺环素 12 mg), 置于 100 mL 量瓶中, 精密量取米诺环素对照品贮备液(2.5 mg/mL) 4、5、6 mL, 分别加入上述量瓶中, 加流动相充分溶解并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。每个浓度平行制备 3 份, 进样测定, 并计算回收率, 结果平均回收率为 99.46%, RSD 为 0.8%。

2.9 样品测定

取 3 批盐酸米诺环素缓释微丸胶囊, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 分别进样测定, 记录峰面积, 结果 3 批样品分别为 100.5%、99.7%、99.2%。

2.10 有关物质的检查

取“2.9”项下供试品溶液作为有关物质的供试品溶液; 取有关物质对照溶液进样, 调节检测灵敏度, 使主峰峰高为满量程的 20%; 再精密量取 20 μ L

进样, 记录色谱至主成分峰保留时间的 3 倍。结果表明, 3 批样品中的有关物质的峰面积总和分别为 0.59%、0.55%、0.58%, 均小于 1%。

3 讨论

参考文献[2-4]方法, 调整了流动相的比例和 pH, 最终确定了盐酸米诺环素缓释微丸胶囊定量测定及有关物质的色谱条件。盐酸米诺环素在水中极微溶解, 样品溶液的配制, 加流动相均要超声处理 10 min, 使主药充分溶解, 测定准确。

制剂中有关物质检查是控制成品质量的一个重要指标。本研究采用 HPLC 法测定盐酸米诺环素缓释微丸胶囊与有关物质, 考察了制剂工艺中可能存在的中间体杂质及酸、碱、氧化、高温、强光破坏的降解产物与主药的分离, 并建立了准确、灵敏、可靠的有关物质检查方法, 为保证产品质量提供依据。

参考文献

- [1] 任韵清, 杨 森, 张学军. 米诺环素应用新进展 [J]. 中华皮肤科杂志, 2005, 17(12): 777-778.
- [2] 兰恭赞, 齐 靖, 蒋海松, 等. 米诺环素亲水凝胶型缓释骨架片的制备及体外释放度考察 [J]. 中国药房, 2009, 20(31): 2444-2446.
- [3] 王 荣, 马志伟, 王晓娟, 等. 可生物降解的盐酸米诺环素微球凝胶的研制及其含量测定方法 [J]. 中国新药杂志, 2008, 17(7): 586-590.
- [4] 贾 睿, 王汉杰, 常 津, 等. 盐酸米诺环素复合微球的制备及其性能检测 [J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2010, 20(7): 382-385.