

医药卫生

高效液相色谱法测定左卡尼汀注射液的含量

高立军 王涛 全东琴*

(军事医学科学院毒物药物研究所,北京 100850)

摘要 建立了高效液相色谱法测定左卡尼汀注射液含量。采用 Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 流动相为磷酸盐缓冲液 [取磷酸 11.5 mL 加水约 1800 mL, 用 1 mol/L 氢氧化钠溶液调节至 pH3.0, 加水至 2 000 mL) 加庚烷磺酸钠 1.1 g 振摇使溶解]-甲醇(95:5) 流速 1.0 mL · min⁻¹ 检测波长为 225 nm。结果表明,在 0.04 ~ 3.0 mg/mL 的范围内,浓度与峰面积之间呈现良好线性关系, $r^2 = 0.999 8$ ($n = 7$), 左卡尼汀注射液含量为标示量 98.46% ~ 100.9%, 平均回收率为 99.78% ($n = 9$)。该法简便、准确、专属,可用于该注射液的质量控制。

关键词 左卡尼汀注射液 反相高效液相色谱法 含量测定

中图分类号 R983.2; 文献标志码 B

左卡尼汀(Levocarnitine)注射液首先由美国 Sigma-Tan 制药研制生产,并于 1999 年 12 月通过 FDA 批准上市,用于治疗尿毒症治疗期的患者,补充左卡尼汀有提高病者的生活质量、延长生命。据统计我国现有 1 200 余万透析治疗患者,其中不足 1% 患者曾接受左卡尼汀的治疗,市场潜力巨大。本文在文献基础上^[1-3],建立了左卡尼汀注射液的反相高效液相色谱法,可用于该注射液的含量测定及质量控制。

1 仪器与试剂

日立 L-7100 型高效液相色谱仪;左卡尼汀对照品为美国药典标准品;左卡尼汀杂质 A 对照品为美国药典标准品;Zorbax SB-C₁₈ 柱 5 μm, Φ4.6 × 250 mm;日本岛津 160A 分光光度计;Orion 710 型 pH 计;德国 R200D Sartorius 电子天平;甲醇为色谱纯;氢氧化钠、磷酸、庚烷磺酸钠为分析纯;水为双蒸馏水。左卡尼汀对照品(纯度 99.5%)及注射液(规格 5 mL:1 g)由军事医学科学院毒物药物研究

所研制。对照药品为:左卡尼汀注射液(规格 5 mL:1 g,商品名雷卡):常州兰陵制药有限公司。批号:0802031。左卡尼汀注射液(规格 5 mL:1 g,商品名可益能):Sigma-tau industrie farmaceutiche Riunite s. p. a (Rome) Italy 公司。批号:080052、060524。

2 方法与结果

2.1 色谱分析条件

色谱柱为 Zorbax SB-C₁₈ 柱,5 μm, Φ4.6 × 250 mm;流动相为:磷酸盐缓冲液 [取磷酸 11.5 mL 加水约 1 800 mL,用 1 mol/L 氢氧化钠溶液调节至 pH3.0,加水至 2 000 mL) 加庚烷磺酸钠 1.1 g,振摇使溶解]-甲醇(95:5);检测波长 225 nm;流速 1.0 mL · min⁻¹;进样 20 μL。在该色谱条件下,对照品与杂质 A 的色谱图,见图 1。左卡尼汀的理论塔板数为 3 499,与最近的杂质 A 分离度 > 1.5。空白辅料及流动相在规定的时间内无杂质峰出现,对测定无干扰。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液的制备

精密吸取本品 1 mL,加水制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液作为供试品溶液。取 20 μL 注入液相色谱

2010年9月10日收到

* 通讯作者简介:全东琴。E-mail: qdqwb@163.com。

仪,记录色谱图。

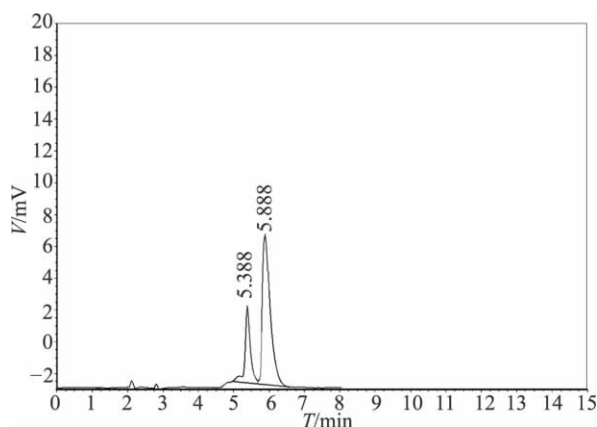


图1 左卡尼汀对照品与杂质 A 对照品的色谱图

2.2.2 对照品溶液的制备

取左卡尼汀对照品加水制成每 1 mL 约含 2 mg 的溶液作为对照品溶液。同法测定,按外标法峰面积计算,即得。

2.3 标准曲线

取左卡尼汀对照品约 250 mg,精密称定,置于 25 mL 量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度 (10 mg/mL),摇匀,精密吸取 0.04、0.1、0.5、1.0、2.0、2.5、3.0 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,分别取 20 μ L 注入液相色谱仪,以外标法测定,峰面积计算,各样品溶液色谱峰面积 A 与样品浓度 C 作图。标准曲线见图 2。经统计得回归方程 $Y = 3\,363.9x - 171.5$,相关系数 $r^2 = 0.999\,8$ ($n = 7$)。表明左卡尼汀在 0.04 ~ 3 mg/mL 的浓度范围内,线性良好。

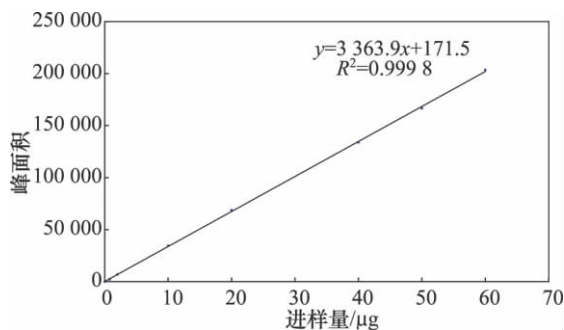


图2 左卡尼汀标准曲线

2.4 精密度试验

取左卡尼汀注射液 1.0 mL,加入流动相稀释制成 1.6、2.0、2.4 mg/mL 三种浓度样品,每天分别连续进样 5 次,得日内精密度;隔日分别进样 5 次,得日间精密度,结果见表 1、表 2。说明该方法的日内、日间精密度符合测定要求。

表 1 日内精密度试验结果

试验序号	峰面积(A)		
	低	中	高
1	107 351	132 333	158 922
2	107 125	131 008	158 817
3	108 279	131 632	157 127
4	107 359	134 910	158 307
5	107 754	133 306	158 667
平均值	107 574	132 638	158 368
RSD/%	0.42	1.15	0.46

表 2 日间精密度试验结果

试验序号	峰面积(A)		
	低	中	高
1	107 993	134 910	157 492
2	108 397	134 164	156 943
3	108 479	135 662	158 080
平均值	108 290	134 912	157 505
RSD/%	0.24	0.56	0.36

2.5 稳定性试验

取标准曲线试验项下的标准溶液,分别在 0 h、2 h、4 h、6 h 测定浓度,计算误差。 $RSD = 0.44\%$

表 3 样品溶液稳定性试验结果

时间/h	0	2	4	6	RSD%
峰面积 A	131 599	137 895	138 740	138 419	0.44

2.6 回收率试验

依法配制左卡尼汀 1.6、2.0、2.4 mg \cdot mL⁻¹低、中、高 3 种浓度溶液各 3 份,每份分别按每支的处方量加入辅料,混匀,滤过,依法测定,左卡尼汀平均回收率为 99.78% ($n = 9$),RSD% 为 0.29,结果表

明 辅料对测定无干扰,回收率完全。

表4 左卡尼汀回收率试验结果

加入值/(mg·mL ⁻¹)	测定值/(mg·mL ⁻¹)	回收率/%
1.6	1.59	99.73
1.6	1.59	99.51
1.6	1.61	100.5
2.0	1.96	99.58
2.0	1.94	98.58
2.0	1.95	99.05
2.4	2.36	100.4
2.4	2.36	100.3
2.4	2.36	100.40

($\bar{X} \pm SD$)/%; 99.78; RSD/%; 0.29

2.7 定量限

按照 $S/N = 10$ 计算左卡尼汀定量限为 $800 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 色谱图见图3。

表5 定量限考察结果

序号	1	2	3	4	5	6	RSD/%
峰面积 A	2 441	2 508	2 509	2 605	2 455	2 477	2.34

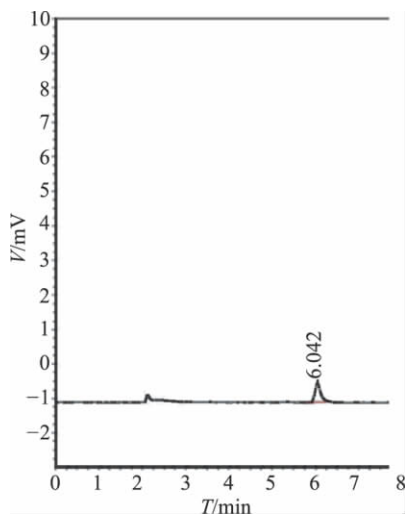


图3 左卡尼汀定量限

2.8 样品含量测定

精密吸取左卡尼汀三种注射液 1 mL 加水制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液作为供试品溶液,取 $20 \mu\text{L}$ 注入液相色谱仪,记录色谱图;另取左卡尼汀对照

品加水制成每 1 mL 约含 2 mg 的溶液作为对照品溶液。同法测定,按外标法峰面积计算,即得。经检测三批左卡尼汀注射液,含量为标示量 98.46% ~ 100.9%,见表6。

表6 左卡尼汀注射液含量测定结果 ($n=3$)

样品	含量/%
自制 20090101 批	100.6
自制 20090102 批	100.9
自制 20090103 批	98.46
雷卡	99.03
可益能	95.36

3 讨论

依法配制 $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的左卡尼汀对照品溶液,在 200 ~ 350 nm 处紫外扫描,其最大吸收波长为末端吸收,该法选择 225 nm 为检测波长。

取左卡尼汀标准曲线最低浓度,并配制成从高到低的溶液,在上述色谱条件下,分别进样 $20 \mu\text{L}$,取峰高为噪音 2 ~ 3 倍的浓度为最低检测浓度,本法能检出左卡尼汀最低量为 800 ng 。

该法简便、准确、专属,可用于该注射液的含量及稳定性分析,同时辅料及有关物质对测定无干扰,为左卡尼汀注射液的质量控制提供了依据。

参 考 文 献

- 1 The United States Pharmacopeial Convention. USP 24, (Vol 2). Washington, D. C: United States Pharmacopeial Cony-ention Inc, 2000: 961—963
- 2 Matsumoto K, Ichitani Y, Ogasawara N, et al. Precolumn fluorescence derivatization of ematine and acylcarnitines with 4-(2-aminoethylamino)-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole. J Chromatog A, 1994; 678: 241—247
- 3 De W P, Deias R, Muck S, et al. High-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis of L- and D-carnitine by precolumn diastereomeric derivatization. J Chromatog B, 1994; 57: 67—73

(下转第 7503 页)

A Comparative Study on the Properties of the Porous Mg / Al

HAO Gang-ling^{1,2}, HAN Fu-sheng², WANG Wei-guo¹

(College of Physics and Electronic Information , Yan' an University¹ , Yan' an 716000 , P. R. China;

Key Laboratory of Materials Physics , Institute of Solid State Physics , Chinese Academy of Sciences² , Hefei 230031 , P. R. China)

[Abstract] A comparative study was carried out on the damping property and compressive stress-strain behavior between porous Mg and porous Al. The results indicate that there exists a large difference between them due to the variance in damping and plastic property of their basal body. The porous Mg exhibits a higher damping capacity , a longer and lower stress plateau than porous Al , suggesting more superior energy absorption and damping properties.

[Key words] porous Al porous Mg damping compression

(上接第 7496 页)

A HPLC-method of Determination of Content of Levocarnitine Injection

GAO Li-jun , WANG Tao , QUAN Dong-qin

(Institute of Pharmacology and Toxicology , Academy of Military Medical Sciences , Beijing 100850 , P. R. China)

[Abstract] A method was established to determine the content of Levocarnitine injection by HPLC. The Zorbax SB-C₁₈ column(4.6 mm × 250 mm 5 μm) was used , phosphate buffer solution [(11.5 mL phosphoric acid was dissolved in 1 800 mL water adjusted to pH 3.0 with 1 mol · L⁻¹ sodium hydroxide solution , and bring up to full volume 2 000 mL with water) , 1.1 g sodium heptanesulfonate was added and dissolved by shaking]: methanol (95:5) as mobile phase , at a flow rate of 1.0 mL · min⁻¹ , at detection wavelength 225 nm. As a result , the linearity of peak area was good when the injected quantity of Levocarnitine was in the range of 0.04 ~ 3.0 mg · mL⁻¹ ($r = 0.9999$, $n = 6$). The recovery of the method was 99.78% , the content of Levocarnitine injection was 98.46% ~ 100.9% . It can be concluded that the method is specific , accurate and convenient , and can be used for quality control of the Levocarnitine injection.

[Key words] Levocarnitine injection HPLC content determination