

【药物分析】

HPLC法测定阿莫西林双氯西林钠胶囊含量

洪建文¹, 魏雪芳², 余彩娣*

(1. 广东省药品检验所, 广东 广州 510180; 2. 广东省药品审评认证中心, 广东 广州 510080)

摘要:目的 建立阿莫西林双氯西林钠胶囊中阿莫西林和双氯西林钠的含量测定方法。方法 采用 Shimadzu VP-ODS 色谱柱, 流动相为 0.008 mol/L 十二烷基硫酸钠(用磷酸调节至 pH4.5)-甲醇(体积比 68:32), 检测波长 225 nm。结果 阿莫西林和双氯西林在该色谱条件下均有合适的保留, 测定可在 10 min 内完成。阿莫西林在 0.0050 ~ 1.0000 mg/mL, 双氯西林在 0.0025 ~ 0.5036 mg/mL 质量浓度范围内与峰面积呈良好的线性关系。阿莫西林和双氯西林钠平均回收率($n=9$)分别为 99.4% ($RSD=1.0%$) 和 99.1% ($RSD=0.97%$)。结论 该方法准确、重复性好、灵敏度高, 可用于该产品的质量控制。

关键词:阿莫西林双氯西林钠胶囊; 高效液相色谱法; 阿莫西林; 双氯西林

中图分类号:R927.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1006-8783(2006)05-0624-03

Analysis of amoxicillin and dicloxacillin by HPLC

HONG Jian-wen¹, WEI Xue-fang², YU Cai-di*

(1. Guangdong Institute for Drug Control, Guangzhou, Guangdong 510180, China; 2. Guangdong Center for Drug Evaluation and Certification, Guangzhou, Guangdong 510080, China)

Abstract: **Objective** To establish an HPLC method for simultaneously assaying of amoxicillin and dicloxacillin in capsules. **Methods** The separation was performed on a Shimadzu VP-ODS column. The mobile phase was 0.008 mol/L sodium lauryl sulphate (adjusted with phosphoric acid to pH4.5) - methanol (68:32). The detection wavelength was 230 nm. **Results** Amoxicillin and dicloxacillin had suitable retention time, which could be separated within 10 min. The standard curves of amoxicillin and dicloxacillin were all linear over the concentrations of 0.0050 ~ 1.0000 mg/mL ($r=0.9999, n=7$) and 0.0025 ~ 0.5036 mg/mL ($r=0.9999, n=7$), respectively. The average recoveries of amoxicillin and dicloxacillin were 99.4% ($RSD 1.0%$) and 99.1% ($RSD 0.97%$), respectively. **Conclusion** This method is simple, sensitive, accurate and reproducible, which can be used for the quality of amoxicillin-dicloxacillin capsule.

Key words: amoxicillin; dicloxacillin; HPLC

阿莫西林、双氯西林属 β -内酰胺类抗生素, 阿莫西林对需氧革兰氏阳性菌及部分革兰氏阴性菌具抗菌活性, 双氯西林具耐酸、耐酶等特点, 对葡萄球菌和革兰阳性菌具抗菌活性。研究表明, 阿莫西林—双氯西林对常见的病原菌具良好抗菌作用, 对伤寒沙门菌也具有良好抗菌作用, 可作为治疗呼吸道感染、单纯性皮肤软组织感染和伤寒等的首选药物之一^[1]。该品种目前在中国药典、美国药典、日抗基和英国药典均未收载。文献[2-4]采用 HPLC 法同时测定阿莫西林、双氯西林的含量, 以磷酸盐缓冲液和乙腈为流动相。但是阿莫西林和双氯西林的极性相差较大, 两者的保留时间相差较大, 在该色谱条件下为了保证双氯西林有适宜的保留时间, 阿莫西林往往在溶剂峰左右出峰, 几乎没有保留。本文

经优化色谱条件, 改用离子对试剂和甲醇为流动相的 RP-HPLC 法, 使两者均具有适宜的色谱保留时间, 可用于阿莫西林和双氯西林制剂的含量测定。

1 仪器和试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪, Sartorius BP211D 万分之一电子天平。

甲醇(色谱纯, 天津四友生物医学技术有限公司出品, 批号: 051221101); 十二烷基硫酸钠(广州市医药公司进口分装, 批号: 980503); 阿莫西林对照品(中国药品生物制品检定, 批号: 130409-200208, 质量分数: 86.2%); 双氯西林对照品(Bright Future Pharm. Fty, 批号: B4520042, 质量分数: 91.4%); 阿莫西林双氯西林钠胶囊(香港澳美制药厂提供, 规格: 0.375 g); 实验用水为超纯水。

* 广东药学院 2006 届毕业实习生

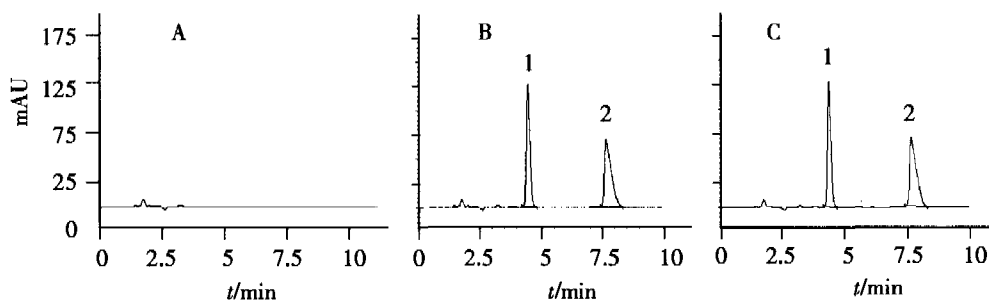
作者简介:洪建文(1972-), 女, 硕士, 副主任药师, 主要从事药物分析。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Shimadzu VP-ODS (250 mm × 4.6

mm); 流动相: 0.008 mol/L 十二烷基硫酸钠(用磷酸调节 pH 值至 4.5)-甲醇(体积比 68:32); 流速 1 mL/min; 检测波长 225 nm; 进样量 20 μL。色谱图见图 1。



A 空白品 B 对照品 C 样品 1. 双氯西林 2. 阿莫西林

图1 双氯西林和阿莫西林的 HPLC 色谱图

Fig.1 HPLC chromatograms of amoxicillin and dicloxacillin

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的配制

取阿莫西林、双氯西林对照品适量,精密称定,加 0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液制成每 1 mL 含阿莫西林 50 μg、含双氯西林 25 μg 的混合液,作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的配制

取供试品 20 粒,除去囊壳,均匀研细并混合,精密称取适量(约相当于阿莫西林 200 mg,双氯西林 100 mg),置 200 mL 容量瓶中,加 0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液溶解并稀释至刻度,摇匀,精密吸取 1 mL,置 20 mL 容量瓶中,加 0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.3 专属性考察

取阿莫西林双氯西林钠胶囊内容物,分别用药物光照试验仪强光照射 24 h 和高温 95 °C 进行 24 h 强力破坏,分别取样品适量,精密称定,加流动相溶解并稀释成含阿莫西林 2 mg/mL 和双氯西林 1 mg/mL 的溶液,用 0.45 μm 滤膜滤过,精密量取续滤液 20 μL,按“2.1”项的色谱条件进样测定。试验结果表明,杂质峰与两主峰均有较好的分离,不影响测定。

2.4 线性范围的确定

分别取阿莫西林、双氯西林对照品适量,精密称定,用流动相溶解并稀释制成含阿莫西林为 0.005 0 ~ 1.000 0 mg/mL 和双氯西林为 0.002 5 ~ 0.503 6 mg/mL 的溶液,按“2.1”项下的色谱条件进行测定,

以峰面积(A)为纵坐标,以质量浓度(ρ)为横坐标,得阿莫西林和双氯西林的线性回归方程分别为: $A = 27\ 989\rho - 26.88, r = 0.999\ 9 (n = 7)$; $A = 46\ 883\rho - 48.554, r = 0.999\ 9 (n = 7)$ 。结果表明,阿莫西林在 0.005 0 ~ 1.000 0 mg/mL,双氯西林在 0.002 5 ~ 0.503 6 mg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

2.5 精密度试验

取阿莫西林、双氯西林对照品适量,精密称定,用 0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液稀释溶解并制成含阿莫西林 60、50、40 μg/mL 和双氯西林 30、25、20 μg/mL 的混合溶液,按“2.1”项下的色谱条件进行测定,每种浓度重复进样 3 次。测定的峰面积 RSD 为 0.1% ($n = 3$),表明试验精密度良好。

2.6 溶液稳定性试验

取同一批号供试品溶液于 0、2、4、6、8 h 内依法测定,结果阿莫西林及双氯西林的峰面积 RSD 分别为 1.0% 和 1.3% ($n = 5$),表明溶液在 8 h 内稳定。

2.7 重复性试验

取同一批号样品 6 份,分别按“2.2.2”项平行制备溶液,进样测定,外标法计算阿莫西林和双氯西林的含量 RSD 分别为 0.6% 和 0.8% ($n = 6$),表明试验的重复性良好。

2.8 干扰试验

取阴性空白样品液,依法进行测定。结果表明空白辅料对样品测定无干扰,色谱图见图 1。

2.9 加样回收率试验

取已知浓度的供试品溶液加入不同浓度的对照液,制成含阿莫西林标示量的 80%、100%、120% 的

溶液,按含量测定项下的方法进行试验,考察其加样回收率。阿莫西林的回收率为 99.4%,RSD 为

1.0%;双氯西林的回收率为 99.1%,RSD 为 0.970%。见表 1。

表 1 阿莫西林双氯西林钠胶囊回收率

Tab.1 Recovery test of amoxicillin and dicloxacillin sodium

No.	阿莫西林				双氯西林			
	$m_{\text{样品中的量}}/\mu\text{g}$	$m_{\text{加入量}}/\mu\text{g}$	$m_{\text{测得量}}/\mu\text{g}$	回收率/%	$m_{\text{样品中的量}}/\mu\text{g}$	$m_{\text{加入量}}/\mu\text{g}$	$m_{\text{测得量}}/\mu\text{g}$	回收率/%
1	510.3	323.6	833.8	99.98	251.3	152.3	403.1	99.7
2	510.3	313.2	823.6	100.03	251.3	154.6	403.8	98.65
3	510.3	320.8	825.4	98.23	251.3	150.2	400.0	98.98
4	510.3	516.3	1 023.8	99.46	251.3	250.6	499.4	99.02
5	510.3	520.6	1 028.5	99.53	251.3	258.6	505.3	98.24
6	510.3	514.8	1 010.8	97.23	251.3	254.3	498.8	97.32
7	510.3	708.3	1 218.7	100.01	251.3	350.7	603.3	100.36
8	510.3	712.6	1 219.8	99.56	251.3	356.2	605.4	99.42
9	510.3	710.6	1 222.5	100.22	251.3	353.2	605.3	100.23

2.9 样品测定

取样品 3 批,按“2.2.2”项方法制备,依法测定,按外标法计算。结果见表 2。

表 2 阿莫西林和双氯西林的含量测定($n=3$)

Tab.2 Contents of amoxicillin and dicloxacillin sodium

批号	阿莫西林		双氯西林	
	标示量/%	RSD/%	标示量/%	RSD/%
50801	100.4	0.5	103.6	0.6
50901	100.3	0.4	103.8	0.4
51116	100.2	0.3	103.4	0.4

3 讨论

3.1 检测波长的选择

取供试品溶液适量,加流动相溶解并稀释,在波长 200~600 nm 之间进行紫外扫描,结果阿莫西林和双氯西林在 225 nm 下均有较高的响应。参照美国药典 24 版中双氯西林钠 HPLC 法测定的检测波长 225 nm^[5],选择 225 nm 为本法的检测波长。

3.2 离子对浓度的选择

实验中考察了不同离子对浓度(0.005 mol/L、0.006 mol/L、0.007 mol/L、0.008 mol/L、0.01 mol/L)对分离的影响,发现浓度低于 0.007 mol/L 时,离子对不起作用,0.008 mol/L 时保留适宜,分离效果好,而当浓度大于 0.01 mol/L 时,流动相浊度较大,且长链离子对浓度过高容易形成胶束,可使溶质的 k 值出现极大值的现象,另外可能对柱效有一定的影响。实验证明,采用 0.008 mol/L 的浓度可保证柱效、峰型及保留时间均较好。

3.3 流动相 pH 值的选择

对流动相的 pH 值进行考察,流动相 pH 值低于 4.0,阿莫西林及双氯西林的保留均加强,不易洗脱;pH 值大于 6.0 时,峰变形。经考察,pH 值在 4.5 时阿莫西林及双氯西林的峰型最好,且柱效最佳。

3.4 耐用性考察

分别使用国内外不同品牌十八烷基键合硅胶色谱柱,不同品牌的高效液相色谱仪,对同一批样品进行测定,其结果基本一致。表明该方法耐用性较好。

3.5 方法的优点

本法使极性相差较大的阿莫西林和双氯西林在同样的色谱条件下均有适宜的保留,可在 10 min 内完全被洗脱。可用于阿莫西林和双氯西林不同制剂的含量测定。

参考文献

- [1] 朱德妹,张婴元. 阿莫西林—双氯西林的体外抗菌作用研究[J]. 中国抗感染化疗杂志,2005,5(5):260-265.
- [2] 陈红,张丹. RP-HPLC 法测定阿莫西林和双氯西林的含量[J]. 药物分析杂志,2003,(23):51.
- [3] 陈悦. HPLC 离子对梯度洗脱法同时测定注射用阿莫西林钠/氟氯西林钠的含量和有关物质[J]. 中国抗生素杂志,2004,29(1):15-18.
- [4] 张丹,陈红. RP-HPLC 法对双氯西林钠及其有关物质的测定研究[J]. 中国抗生素杂志,2002,27(10):596-598.
- [5] United States Pharmacopoeial Convention Inc. The United States Pharmacopoeia ZZ IV [S]. Philadelphia: The Board of Trustees,2000;584.

(收稿日期:2006-09-04;修回日期:2006-11-25)