

·药学信息学·

高效液相色谱法测定呋塞米片的含量及含量均匀度

罗 媛, 胡泽锴

(成都市药品检验研究院化学室, 四川 成都 610045)

摘要:目的 建立 HPLC 法测定呋塞米片的含量及含量均匀度。方法 采用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 柱温 30 ℃, 流速 1.0 ml/min, 以水-四氢呋喃-冰醋酸(70:30:1)为流动相, 检测波长为 272 nm。结果 呋塞米的线性范围为 0.056~0.168 mg/ml ($R^2=0.9999$); 平均回收率为 100.1%(RSD 为 1.2%, $n=9$); 15 批次样品呋塞米含量在 97.4%~105.2%, 含量均匀度值(A+2.2S)在 3.1~12.1。结论 经方法学验证, 该方法准确、专属性强、重现性好, 可作为呋塞米片的含量及含量均匀度检测方法。

关键词:呋塞米片; 含量测定; 含量均匀度; 高效液相色谱法

中图分类号: R927.2

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2022.09.005

文章编号: 1006-1959(2022)09-0019-03

HPLC Determination of Furosemide Tablets and its Content Uniformity

LUO Yuan, HU Ze-kai

(Chemical Department, Chengdu Institute for Drug Control, Chengdu 610045, Sichuan, China)

Abstract: **Objective** To establish a HPLC method for the determination of furosemide tablets and its content uniformity. **Methods** The octadecylsilane bonded silica gel was used as the filler, the column temperature was 30 ℃, the flow rate was 1.0 ml/min, the mobile phase was water-tetrahydrofuran-glacial acetic acid (70:30:1), and the detection wavelength was 272 nm. **Results** The linear range of furosemide was 0.056 - 0.168 mg/ml ($R^2=0.9999$); the average recovery was 100.1% (RSD=1.2%, $n=9$); the content of furosemide in 15 batches of samples ranged from 97.4% to 105.2%, and the content uniformity (A+2.2S) ranged from 3.1 to 12.1. **Conclusion** The method is accurate, specific and reproducible, which can be used for the determination of content and content uniformity of furosemide tablets.

Key words: Furosemide tablets; Content determination; Content uniformity; High performance liquid chromatography

呋塞米化学名为 2-[(2-呋喃甲基)氨基]-5-(氨磺酰基)-4-氯苯甲酸, 于 1969 年在我国上市, 为利尿药, 其利尿作用快而短、疗效高、适应证广、副作用小, 多用于其它利尿药无效的严重病例^[1-4], 如心脏、肾脏、肝脏疾病所致水肿以及心力衰竭、心肌梗死合并心力衰竭等疾病^[5-7]。呋塞米片的现行质量标准为《中国药典》2020 版二部, 规格为 20 mg/片, 其含量测定为紫外分光光度法, 无含量均匀度检查项^[8-11]。本研究参考国内外药典收载的方法以及相关文献^[12-15], 建立呋塞米片含量及含量均匀度测定的高效液相色谱法, 并对 6 个国内制药厂家的产品进行考察, 现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 1260 高效液相色谱仪、Waters 2695-2998 高效液相色谱仪、梅特勒-MS205DU 电子天平(分度值: 1/10 万)、岛津 AEG220 电子天平(分度值: 1/10 000)。

1.2 试剂 呋塞米对照品(中国食品药品检定研究院, 批号 100544-201503, 含量 99.3%), 呋塞米杂质

A 对照品(USP REFERENCE STANDARD, 批号: 1287020, 含量为 98%), 乙腈、四氢呋喃为色谱纯, 水为实验室一级水, 其余试剂为分析纯。呋塞米片由国内 6 个厂家提供, 共 15 批, 规格均为 20 mg。辅料均由厂家提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: Agilent ZORBAX SB-C18 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 水-四氢呋喃-冰醋酸(70:30:1); 柱温: 30 ℃; 流速 1.0 ml/min; 检测波长: 272 nm; 进样量: 20 μl。混合溶剂: 取冰醋酸 22 ml, 加乙腈-水(1:1)至 1000 ml, 混匀。理论板数: 按呋塞米峰计算不低于 4000, 呋塞米峰与相对保留时间 1.15 倍峰的分离度应符合要求。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取呋塞米对照品 10 mg, 置 100 ml 量瓶中, 用混合溶剂溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 测定供试品溶液: 取样品 20 片, 精密称定, 研细, 精密称取适量(约相当于呋塞米 50 mg), 置 50 ml 量瓶中, 加混合溶剂适量, 超声使溶解并定容, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 5 ml, 加混合溶剂稀释至 50 ml, 摇匀即得。含量均匀度检查供试品溶液: 取样品 1 片, 置 50 ml 量瓶中, 加混合溶剂适量, 超声使溶解并定容, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 2.5 ml, 加混合溶剂稀释至 10 ml, 摇匀即得。

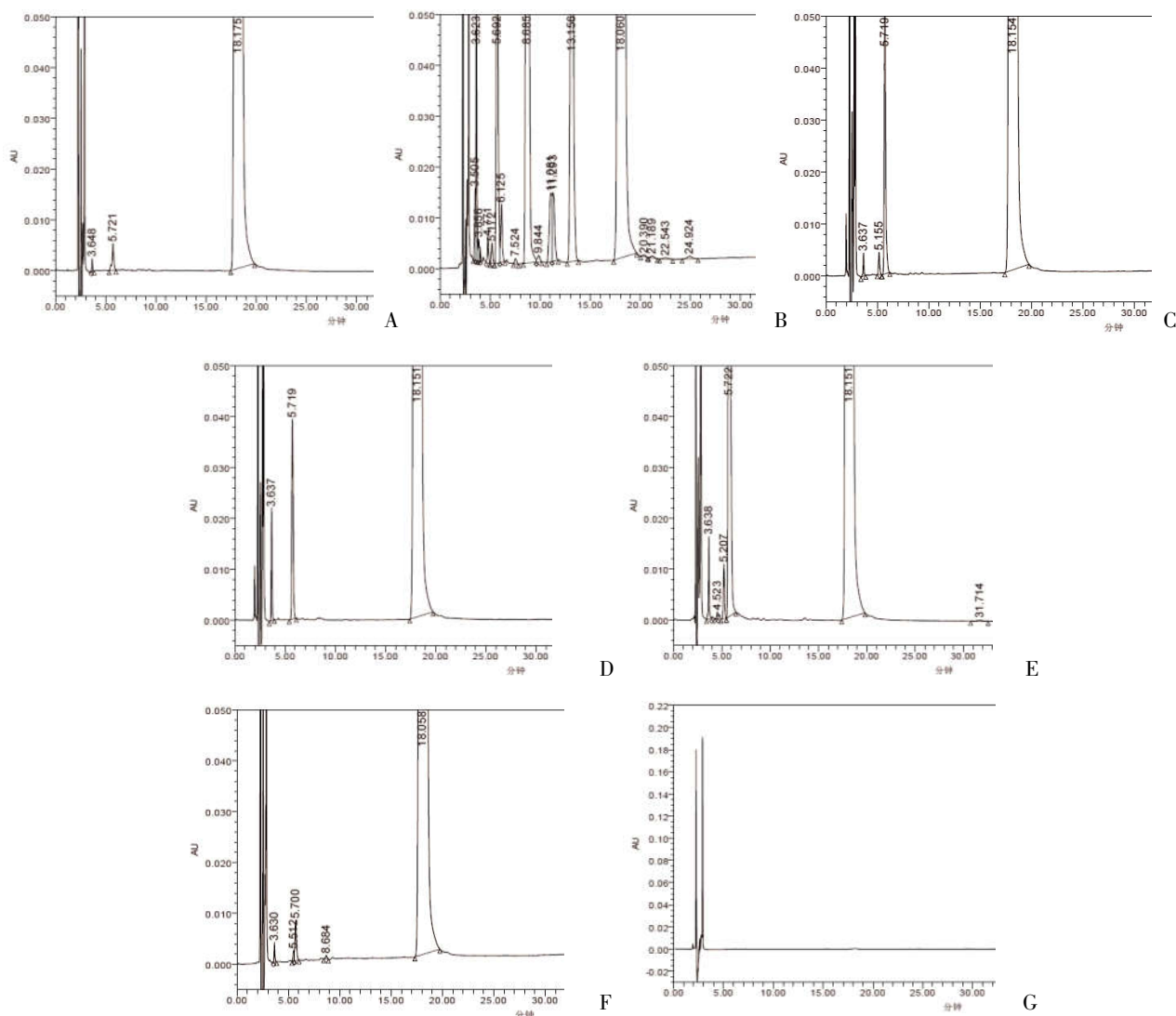
基金项目: 国家药典委员会药品标准制修订研究课题(编号: 2020H055)

作者简介: 罗媛(1982.11-), 女, 四川成都人, 硕士, 副主任药师, 主要从事药品及化妆品检验工作

通讯作者: 胡泽锴(1984.7-), 男, 四川成都人, 硕士, 高级工程师, 主要从事药品及化妆品检验工作

2.3 专属性试验 破坏试验:取其中 1 批样品,分别用 2 mol/L 盐酸溶液 1 ml,放置 18 h、2 mol/L 氢氧化钠溶液 1 ml,放置 18 h、30%过氧化氢溶液 1 ml,放置 18 h、80 ℃水浴加热 5 h、4000 lx 光照 5 h 进行破坏,按“2.1”项下的色谱条件进行测定,同时以二极管阵列检测器进行呋塞米峰纯度分析,可见光

破坏产生杂质较多,在上述色谱条件下呋塞米峰与相邻降解产物峰良好分离,见图 1。阴性干扰试验:将各厂家提供的辅料按各自处方比例混合,制成相应空白辅料溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,结果显示均不干扰呋塞米峰的检出。



注:A:样品未破坏;B:光破坏;C:酸破坏;D:碱破坏;E:热破坏;F:氧化破坏;G:空白辅料典型图谱

图 1 方法专属性考察图谱

2.4 线性关系考察 精密称取呋塞米对照品,配制为 0.06、0.78、0.11、0.15、0.17 mg/ml 的溶液,照“2.2”项下色谱条件试验,记录色谱图,以浓度 X(mg/ml)为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标,绘制标准曲线,结果显示呋塞米线性方程为 $Y = 7E + 07X + 28089$, $R^2 = 0.9999$,在 0.056~0.168 mg/ml 范围内与峰面积线性关系良好。

2.5 定量限 取“2.2.1”项下对照溶液用混合溶剂稀释进样,以呋塞米峰的信噪比约为 10 时为定量限,进样量为 0.8 ng。

2.6 精密度试验

2.6.1 进样精密度 取“2.2.1”项下对照溶液连续进样,峰面积 RSD 为 0.12%,结果良好。

2.6.2 中间精密度 对 08 批次样品进行中间精密度考察,RSD 为 0.86%,结果良好。

2.6.3 重复性试验 取上述批次样品平行制备 6 份含量测定供试品溶液进样检测,6 份样品结果 RSD 为 0.29%,结果良好。

2.7 回收率试验 精密称取 08 批次样品适量,共 9 份,分 3 组按 80%、100%、120%比例加入呋塞米对照品适量,按“2.2.2”项下含量测定供试品溶液制备

准确度供试品溶液,按拟定方法测定回收率,结果回收率分别为 97.77%、99.25%、100.97%、100.48%、101.23%、102.00%、99.81%、99.44%、99.72%,平均值为 100.08%,RSD 为 1.16%($n=9$)。

2.8 稳定性试验 取呋塞米对照品溶液及 08 批次含量供试品溶液,在 0、2、4、8、12、18、24 h 进样,结果显示对照品溶液主峰峰面积的 RSD 为 0.68%,供试品溶液主峰峰面积的 RSD 为 0.76%。

2.9 耐用性试验 不同流速、柱温和有机相比比例、不同色谱仪和色谱柱进行相同批次供试品的含量进行测定,结果显示 RSD 为 0.60%($n=10$)。

2.10 样品测定 取 6 个厂家共 15 批次样品按照拟定方法进行含量测定和含量均匀度检查,并与现行标准的含量测定方法的结果进行比较,结果见表 1。

表 1 样品测定结果

厂家	批号	现行质量标准紫外 分光光度法(%)	拟定质量标准液 相色谱法(%)	A+2.2S
A	01	100.97	101.63	6.8
	02	100.04	100.72	9.9
	03	98.84	100.02	10.0
B	04	96.66	97.41	10.6
	05	97.24	98.24	6.0
C	06	97.14	98.50	12.1
	07	103.45	104.27	7.8
D	08	98.27	99.55	6.6
	09	99.77	101.65	7.7
	10	97.89	98.93	8.8
E	11	99.33	99.96	7.2
	12	102.17	103.44	8.2
	13	104.25	105.61	6.0
F	14	101.90	101.75	3.1
	15	102.85	100.73	4.0

3 讨论

3.1 检测波长的选择 色谱条件中的流动相参考了 USP42,其检测波长为 254 nm。将呋塞米对照品进行 DAD 扫描,其在 254 nm 响应值处于低位。因在呋塞米片有关物质研究中对呋塞米杂质 A、呋塞米杂质 B 扫描后选择了整体检出杂质较多的波长 272 nm,且在《中国药典》2020 版二部中呋塞米注射液含量测定下也选择了 272 nm 的波长,为保持方法的延续性,将检测波长定为 272 nm。

3.2 系统适用性 杂质峰分离度的设定 USP42 和 BP2019 中对系统适用性溶液有配制要求,即将呋塞米对照品与呋塞米杂质 A 对照品混合配制为适宜浓度的溶液。但呋塞米杂质 A 对照品较难获得,如

若沿用,将为常规检验增加难度。本研究考察了拟定色谱条件下在不同色谱柱上 [Agilent ZORBAX SB-C18 柱 (4.6 mm×250 mm,5 μ m)、Thermo HY-PERSIL C18 柱 (4.6 mm×250 mm,5 μ m)、资生堂 TYPE MG II C18 柱 (4.6 mm×250 mm,5 μ m)] 呋塞米杂质 A 与呋塞米主峰的分离情况 (分别为 3.6、2.8、3.5) 及其相对保留时间 (分别为 1.15、1.13、1.15),可见呋塞米杂质 A 的相对保留时间较为稳定,分离度均符合要求,故在拟定标准中考察相对保留时间约为 1.15 处杂质峰与主峰的分离度。

参考文献:

- [1] 米平华.托拉塞米和呋塞米治疗脑出血后急性脑水肿的临床应用分析[J].现代诊断与治疗,2017,19(13):2434-2436.
- [2] 王京,高燕,张隽.托伐普坦联合多巴胺和呋塞米对顽固性心力衰竭患者心功能及各实验室指标的影响[J].药物评价研究,2020,43(1):91-94.
- [3] 郝斌,姚雪艳.早期应用小剂量多巴胺联合呋塞米治疗心力衰竭的有效性及安全性[J].中国老年学杂志,2013,4(33):1492-1494.
- [4] 杨春悦,张刚,贾露莎,等.大剂量呋塞米持续静脉泵入治疗老年重度心力衰竭患者的疗效分析[J].中国现代医学杂志,2021,31(10):4-8.
- [5] 汤学勤,武雪亮,项保利,等.呋塞米联合依那普利对慢性肺源性心脏病心力衰竭的临床研究[J].中国临床药理学杂志,2016,32(3):198-201.
- [6] 张红霞.小剂量多巴胺联合呋塞米治疗心力衰竭的疗效观察[J].中国农村卫生,2021,13(13):66-67.
- [7] 廖晓飞,甘菊文,赖文焘.人血白蛋白与呋塞米配合甘露醇治疗脑出血致脑水肿的临床疗效分析[J].江西医药,2020,55(12):1783-1786.
- [8] 岳志华,王志军,程奇蕾,等.《中国药典》2020 年版二部主要增修订内容介绍[J].中国药品标准,2020,21(4):285-289.
- [9] 王峰,陶巧凤.HPLC 法测定呋塞米注射液中的有关物质及含量[J].药物分析杂志,2012,32(6):1081-1084.
- [10] 么世英.呋塞米片质量标准提高研究[J].中国药业,2017,26(4):19-21.
- [11] 任璐彤,周刚,高佳丽.呋塞米片原研药与仿制药溶出曲线的研究[J].中国现代应用药学,2020,37(14):1681-1686.
- [12] 朱叶青.高效液相色谱法测定呋塞米片的含量[J].中国药业,2014,23(13):29-30.
- [13] 赵亚男,何念平,韩淑娟,等.呋塞米及其制剂中微量基因毒杂质的检测[J].药物分析杂志,2021,41(9):1534-1537.
- [14] 王秋桐,任璐彤,周刚,等.HPLC 法测定呋塞米片的溶出度[J].内蒙古医科大学学报,2019,41(4):379-382.
- [15] 谢娟,杨放,翟宇,等.HPLC 法测定注射用呋塞米中有关物质的含量[J].中国药房,2007,18(31):2454-2455.

收稿日期:2021-08-11;修回日期:2021-08-30

编辑/杜帆