

原子吸收测定磷霉素钙片中磷霉素钙的含量

李娜¹, 木其尔², 高毓涛^{2*}

(1. 辽宁绿丹药业有限公司, 辽宁 丹东 118002; 2. 丹东市药品检验检测中心, 辽宁 丹东 118002)

摘要: 采用火焰原子吸收分光光度标准曲线法测定磷霉素钙片中磷霉素钙(以 $C_3H_7O_4P$ 计)含量。当磷霉素钙浓度为 14.61~116.9 $\mu\text{g/mL}$, 浓度与吸光度线性关系良好, $r=0.999\ 0$, 平均回收率为 101.6% ($RSD=1.5\%$, $n=9$) 本法简便、快速、准确、重现性好, 适用于磷霉素钙片的质量控制。

关键词: 火焰原子吸收法; 磷霉素钙; 含量测定

中图分类号: R917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-4939 (2018) 02-0082-04

磷霉素是一种小分子抗生素, 能选择性作用于细菌细胞壁合成早期, 毒性低, 抗菌谱广, 对葡萄球菌属、大肠杆菌、沙雷菌属和志贺菌属等均有较高抗菌活性, 对绿脓杆菌、变形杆菌属、产气杆菌、肺炎杆菌、链球菌和部分厌氧菌也有一定抗菌作用, 而且和其他抗生素间不产生交叉耐药性。其口服固体制剂磷霉素钙片适用于敏感菌所致的皮肤软组织感染、尿路感染和肠道感染等。现行的药品质量标准^[1]采用微生物管碟法对磷霉素钙片进行含量控制, 该方法对环境要求高、检验周期长、操作繁琐、结果判断易产生误差, 因此有文献报道将热分析法^[2]、离子对-HPLC-ELSD法^[3]、HPLC-ELSD法^[4]等用于磷霉素钙的含量测定, 以期减少误差。本研究首次建立火焰原子吸收分光光度法(AAS)对磷霉素钙片进行含量控制, 该方法取样量少、简便、快速、准确、重现性好, 适用于磷霉素钙片的质量控制。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

岛津 AA-7000 原子吸收分光光度计(岛津企业管理(中国)有限公司), MilliQ plus 超纯水器(美国 Millipore), SK8200HP 超声波清洗仪(上海科导超声仪器有限公司), JJ500 型精密电子天平(常熟双杰测试仪器厂), Xs-205 十万分之一电子天平(METTLER TOLEDO)。

1.2 试剂

磷霉素钙标准品(一水合物)(辽宁华瑞联合制药有限公司提供, 批号: 201701012, 按无水物计, 1 mg 磷霉素钙效价相当于 722 磷霉素单位, 折合百分含量以磷霉素钙计为 92.08%, 以磷霉素 $C_3H_7O_4P$ 计为 72.20%), 磷霉素钙片(辽宁华瑞联合制药有限公司, 规格: 以 $C_3H_7O_4P$ 计 0.2 g/片, 批号: 1170120、1170324、1170325、1170827、1180115), 氯化镧(分析纯, 国药集团化学试剂

收稿日期: 2018-03-03

作者简介: 李娜(1981—), 女, 黑龙江双鸭山人, 工程师, 研究方向: 药物质量管理。

*通讯作者: 高毓涛(1979—), 男, 辽宁丹东人, 硕士, 主管药师, 研究方向: 药物质量管理。

有限公司), 硝酸 (优级纯, 哈尔滨试剂化工厂), 超纯水 (自制)。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

取本品 10 片, 研细, 精密称取细粉 0.484 1 g, 置 100 mL 量瓶中, 加水 50 mL, 超声 (功率 125W, 频率 53 kHz) 5 min 使溶解, 放冷至室温, 加水定容至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 1 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加 5% 氯化镧溶液 2.5 mL, 加水定容至刻度, 摇匀, 即得。

2.2 测定条件

测定波长 422.7 nm, 狭缝宽 0.7 nm, 灯电流 10 mA, 乙炔-空气 (乙炔流量 2.0 L/min, 空气流量 15.0 L/min)。

2.3 线性关系考察

精密称取已知含量的磷霉素钙标准品细粉 1.027 0 g, 置 100 mL 量瓶中, 加超纯水约 40 mL, 超声 5 min 使溶解, 放冷至室温, 加水至刻度, 摇匀, 即得磷霉素钙储备液 (10.27 mg/mL, 以 $C_3H_7O_4P$ 计为 6.727 mg/mL)。精密量取储备液 5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 即得磷霉素钙标准溶液 (1.027 mg/mL, 以 $C_3H_7O_4P$ 计为 0.672 7 mg/mL)。精密量取标准溶液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL, 分别置 25 mL 量瓶中, 精密加入 5% 氯化镧溶液 2.5 mL, 加水稀释至刻度, 摇匀, 同时做空白, 照原子吸收分光光度法^{[5]1584}测定, 于 422.7 nm 波长处测定吸收度, 结果见表 1。计算回归方程, $A=0.0086C+0.054$, $r=0.9990$ (以磷霉素钙浓度计), $A=0.0101C+0.054$, $r=0.9990$ (以 $C_3H_7O_4P$ 计)。

表 1 标准曲线结果

序号	1	2	3	4	5
标准溶液 /mL	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0
$C/(\mu\text{g/mL})$ 磷霉素钙	17.16	34.32	68.63	103.0	137.3
$C/(\mu\text{g/mL})C_3H_7O_4P$	14.61	29.22	58.44	87.67	116.9
吸收度 /A	0.183 9	0.359 7	0.653 2	0.945 9	1.221 4

2.4 精密度试验

取“2.3”项下浓度为 87.67 $\mu\text{g/mL}$ (以 $C_3H_7O_4P$ 计) 的对照品溶液, 重复进样 6 次, 其吸收度 RSD 为 0.8% ($n=6$); 另取“2.1”项下的供试品溶液, 重复进样 6 次, 其吸收度 RSD 为 0.6% ($n=6$)。

2.5 稳定性试验

取“2.1”项下的供试品溶液, 分别于 0、4、8、16、24 h 进行测定, 其吸收度 RSD 为 0.7% ($n=5$)。

2.6 重复性试验

精密称取同一批磷霉素钙片细粉 6 份, 按“2.1”的方法制备供试品溶液进行测定, 记录吸收度值, 按标准曲线法计算含量, 结果测得含量 (以 $C_3H_7O_4P$ 计) 为标示含量的 99.3%, RSD 为 0.6% ($n=6$)。

2.7 加样回收率试验

精密称取已知含量 (以 $C_3H_7O_4P$ 计 99.3%) 的磷霉素钙片 (批号: 1170324) 细粉 (以 $C_3H_7O_4P$ 计, 约 0.1 g) 9 份, 置 100 mL 量瓶中, 加水适量,

超声使溶解, 放冷至室温, 加水稀释至刻度, 摇匀, 滤过; 精密量取续滤液 1 mL, 置 25 mL 量瓶中, 精密加入 5% 氯化镧溶液 2.5 mL, 分别加入含磷霉素钙 (以 $C_3H_7O_4P$ 计) 269.1 $\mu\text{g/mL}$ 的标准品

溶液 3.0、4.0、5.0 mL 各 3 份, 加水稀释至刻度, 摇匀, 即得加样回收样品液。照原子吸收分光光度法测定, 磷霉素钙 (以 $C_3H_7O_4P$ 计) 的平均回收率为 101.6%, RSD 为 1.5% ($n=9$), 见表 2。

表 2 磷霉素钙 (以 $C_3H_7O_4P$ 计) 的回收率测定结果 ($n=9$)

序号	样品含量 / ($\mu\text{g/mL}$)	加入量 / ($\mu\text{g/mL}$)	测得量 / ($\mu\text{g/mL}$)	回收 / %	均值 / %	RSD /
1	40.11	32.29	72.85	101.12		
2	40.59	32.29	72.31	98.60		
3	40.20	32.29	73.17	101.69		
4	41.35	43.06	85.63	102.95		
5	40.27	43.06	84.27	102.33	101.6	1.5
6	40.81	43.06	83.56	99.24		
7	41.22	53.82	95.81	101.87		
8	40.64	53.82	94.37	99.78		
9	40.72	53.82	95.33	101.94		

2.8 结果

取本品 4 个批次的药品按“2.1”项下的方法制备供试品溶液, 照原子吸收分光光度法测定,

结果与抗生素微生物检定法^{[6] 160} (第一法) 比较见表 3。

表 3 样品测定结果 (以 $C_3H_7O_4P$ 计, 百分标示量, $n=6$)

批号	AAS 法		管碟法	
	含量 / %	RSD / %	含量 / %	RSD / %
1170120	98.7	0.4	98.1	0.9
1170325	99.3	0.6	99.1	1.0
1170827	100.1	0.5	99.5	1.1
1180115	99.7	0.6	98.9	0.8

3 讨论

火焰原子吸收法测定灵敏度高, 为避免杂质元素的引入和干扰, 所用玻璃仪器经 10% 硝酸溶液浸泡过夜并用去离子水反复冲洗后使用, 测定时做试剂空白校正。

参考相关文献^[6-7], 选择 5% 氯化镧溶液作为消电离剂, 抑制钙离子的电离, 使测量结果稳定。

磷霉素临床应用多以盐的形式存在, 如磷霉素钙、磷霉素钠、磷霉素氨丁三醇等。磷霉素钙分子中含有钙元素, 可凭借火焰原子吸收分光光度法测定钙元素含量来间接测定磷霉素钙含量。

本研究首次建立了利用火焰原子吸收分光光度法测定磷霉素钙片含量的方法, 并与微生物管碟法测定结果进行了比较, 无显著差异, 而原子吸收分光光度法操作更为简便, 结果更为直观, 灵敏度更高, 相对标准偏差较管碟法低, 能够克服微生物管碟法效价判断的误差, 结果更准确, 可用于磷霉素钙片的质量控制。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (2015年版二部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 1584.
- [2] VECCHIO S, RODANTE F, TOMASSETTI M. Thermal stability of disodium and calcium phosphomycin and the effects of the excipients evaluated by thermal analysis[J]. J Pharm Biomed Anal. 2001, 24 (5-6): 1111-1123.
- [3] 杨美成, 刘浩, 陈桂良, 等. 用离子对-HPLC法测定磷霉素钙及其有关物质的含量 [J]. 药学服务与研究, 2007, 7 (5): 343-346.
- [4] 袁红梅, 宋燕玲, 杨欣. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定注射用磷霉素钠含量 [J]. 药物分析杂志, 2006, 26 (11): 1678-1680.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (2015年版四部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [6] 吴昊, 李继, 徐长根, 等. 原子吸收分光光度法测定复方炔雌醇甲羟孕酮胶囊中葡萄糖酸钙的含量 [J]. 中国药品标准, 2013, 14 (17): 201-203.
- [7] 张新芹, 周礼玲. 火焰原子吸收分光光度法测定乳酸钙片中乳酸钙含量 [J]. 黑龙江医药, 2013, 26 (6): 970-971.

Determination of fosfomycin calcium in fosfomycin calcium tablets by flame atomic absorption spectrophotometry

LI Na¹, MU Qi-er², GAO Yu-tao²

(1. Liaoning Lyudan Pharmaceutical Co., Ltd., Dandong 118002, China; 2. Dandong City Drug Inspection Test Center, Dandong 118002, China)

Abstract: A flame atomic absorption spectrophotometry method to determine the fosfomycin calcium (calculated by $C_3H_7O_4P$) in fosfomycin calcium tablets was built. When the concentration of fosfomycin calcium was from 14.61 to 116.9 $\mu\text{g/mL}$, the concentration and absorbance demonstrate a good linear relationship, $r=0.9990$. The average recovery rate of fosfomycin calcium (calculated by $C_3H_7O_4P$) was 101.6% (RSD=1.5%, $n=9$). This method is simple, rapid, accurate and reproducible, which is suitable for the quality control of fosfomycin calcium in fosfomycin calcium tablets.

Key words: flame atomic absorption spectrophotometry; fosfomycin calcium tablets; calcium gluconate; content determination

(责任编辑: 鞠衍清)