

# HPLC 法测定癸氧喹酯固体分散体有关物质及其含量

肖 芳,周 霁,严少康,黎璐平,刘永琼\*

(武汉工程大学化工与制药学院,绿色化工过程省部共建教育部重点实验室,  
湖北省新型反应器与绿色化学工艺重点实验室,湖北 武汉 430074)

**摘 要:**采用高效液相色谱(HPLC)法测定癸氧喹酯固体分散体的有关物质及含量,用 C<sub>18</sub> 色谱柱(Dionex 5  $\mu$ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm),以无水甲醇为流动相,流动相速度为 1.0 mL/min,柱温为 30  $^{\circ}$ C,检测波长为 265 nm. 结果发现癸氧喹酯固体分散体在 1.0~50 mg/mL 浓度范围内呈良好线性关系( $R^2=0.999\ 8$ );平均回收率为 101.3%;RSD 为 0.84%;检测线为 0.05 mg/mL. 结果表明:本法可快速、准确地测定癸氧喹酯固体分散体的含量和有关物质,适用于产品的质量控制在。

**关键词:**高效液相色谱法;癸氧喹酯固体分散体;有关物质;定量分析

**中图分类号:**R927.2

**文献标识码:**A

**doi:**10.3969/j.issn.1674-2869.2011.08.014

## 0 引 言

癸氧喹酯(decoquinate)为喹啉类抗球虫病药,能阻断虫体线粒体电子传递链中辅酶 Q<sub>10</sub> 与细胞色素 b 之间的电子转运,抑制柔嫩艾美耳球虫的呼吸作用,使球虫不能正常发育,从而起到抗球虫的作用. 癸氧喹酯常用于防治鸡的柔嫩、毒害、堆型、巨型、变位和布氏艾美耳球虫等引起的球虫病,另外,癸氧喹酯对隐孢子虫引起的动物腹泻也可以起到缓解和治疗作用<sup>[1-2]</sup>. 由于癸氧喹酯不溶于水和大多数有机溶剂,目前国内市场上销售的制剂品种只有癸氧喹酯的预混剂. 本文通过药物制剂新技术将难溶性的癸氧喹酯制成固体分散体可改善其在水中的溶解度,从而提高其生物利用度. 为了制定其科学合理的质量控制方法,参照相关文献<sup>[3-6]</sup>,建立了高效液相色谱法对癸氧喹酯固体分散体中的有关物质及含量进行分离、测定.

## 1 实验部分

### 1.1 仪器

高效液相色谱仪(DIONEX, P680 HPLC PUMP); 色 谱 柱 (C<sub>18</sub> 5 $\mu$ m, 4.6  $\times$  250mm, Dionex); UV-VIS8500 型紫外可见分光光度计(上海天美科学仪器有限公司); KQ5200DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); SZ-93 自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂); 台

式干燥箱(中外合资重庆四达实验仪器有限公司); 电热鼓风干燥箱(重庆银河试验仪器有限公司).

### 1.2 材料与试剂

癸氧喹酯原料药(浙江新三和动物保健品有限公司提供,批号:20080501,质量分数 98.00%); 癸氧喹酯对照品(本实验室精制,质量分数 99.20%); 癸氧喹酯固体分散体(自制,批号:20080517,20080519,20080521); 药用铝箔袋(昆山市天地包装材料有限公司); 甲醇(色谱纯,国药集团化学试剂有限公司); 二氯甲烷(分析纯,天津市福晨化学试剂厂); 氯化钙(分析纯,天津博迪化工有限公司); 娃哈哈纯净水.

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

2.1.1 溶剂的制备 二氯甲烷-无水甲醇(1:6)溶液(每 1 000 mL 溶剂加入 10 g 氯化钙).

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取样品适量(约相当于癸氧喹酯 40 mg)置于 100 mL 容量瓶,加少量溶剂超声使之完全溶解,用溶剂稀释至刻度,精密量取 10 mL 于 100 mL 容量瓶,用溶剂定容即得(质量浓度 40  $\mu$ g/mL).

2.1.3 对照品溶液的制备 精密称取约 40 mg 癸氧喹酯对照品置于 100 mL 容量瓶,加少量溶剂超声使完全溶解,用溶剂稀释至刻度,精密量取 10 mL 于 100 mL 容量瓶,用溶剂定容,即制成质

收稿日期:2011-05-08

作者简介:肖芳(1987-),女,湖北荆州人,硕士研究生.研究方向:药物制剂与天然药物.

指导老师:刘永琼,女,教授,硕士研究生导师.研究方向:药物合成、药物制剂与天然药物.\*通信联系人

量浓度为 40  $\mu\text{g/mL}$  的对照品溶液。

2.2 色谱条件

用十八烷基键合硅胶为填充剂;以无水甲醇为流动相;流速为 1.0 mL/min;柱温为 30  $^{\circ}\text{C}$ ;进样量为 20  $\mu\text{L}$ ;检测波长为 267 nm;理论塔板数不低于 1 500。

2.3 方法学考察

2.3.1 空白溶剂及空白辅料的干扰实验 在

色谱条件 2.2 下,分别测定空白溶剂、对照品溶液、空白辅料溶液、供试品溶液的高效液相色谱图(图 1~4)。由图 1 可知空白溶剂的保留时间为 2.8 min,不干扰样品测定。由图 2 可知:癸氧喹酯的保留时间为 4.8 min,用面积归一化法测定癸氧喹酯对照品含量为 99.23%,理论塔板数 $>1\,500$ 。由图 3、4 可知溶液中辅料及其他杂质与癸氧喹酯可完全分离,不干扰样品测定。

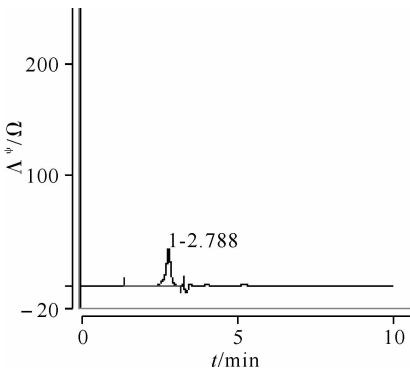


图 1 空白溶剂 HPLC 色谱图  
Fig. 1 HPLC graph of blank solvent

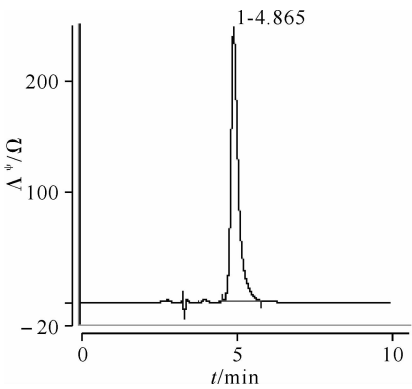


图 2 对照品溶液 HPLC 色谱图  
Fig. 2 HPLC graph of standard solution

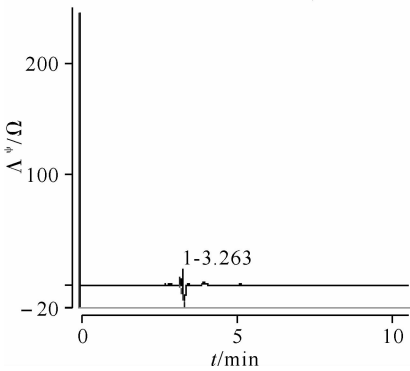


图 3 空白辅料 HPLC 色谱图  
Fig. 3 HPLC graph of blank material

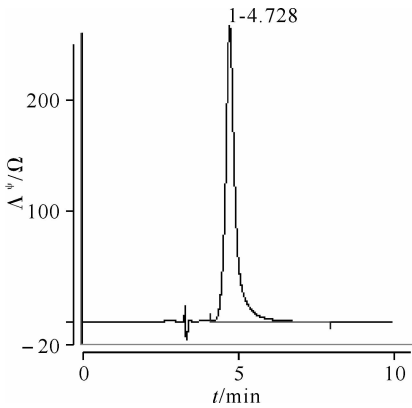


图 4 供试品溶液 HPLC 色谱图  
Fig. 4 HPLC graph of sample solvent

2.3.2 检测线 取癸氧喹酯对照品溶液,逐级稀释,分别取样 20  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪,直至主峰峰高为基线噪音的 3 倍,结果表明,最低检测限为 0.05  $\mu\text{g/mL}$ 。

2.3.3 专属性实验 a. 酸破坏实验. 酸溶液的配制:取 5 mL HCl 和 5 mL 的无水乙醇混匀配制成体积分数 50%浓盐酸乙醇溶液作为酸溶液。

精密称取样品(批号:20080517)适量(约相当于癸氧喹酯 50 mg)置于 100 mL 容量瓶,加少量溶剂超声溶解后溶剂定容,然后用移液管移取 2 mL 于 25 mL 容量瓶中,加 2 mL 酸溶液,静置,避光放置 24 h,溶剂定容,取 20  $\mu\text{L}$  进样,照 2.2 项色谱条件测定,结果见图 5。

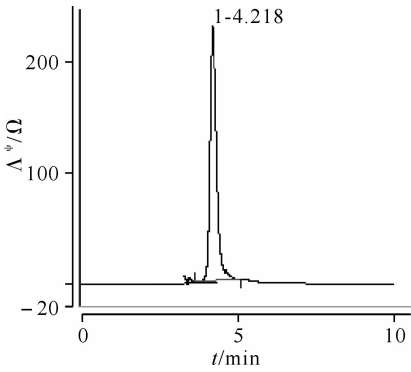


图 5 酸破坏实验  
Fig. 5 Experiment of acid destruction

b. 碱破坏实验. 碱溶液的配制:取适量 NaOH 溶于无水乙醇中,配置成过饱和 NaOH 溶液作为

碱溶液。

精密称取样品(批号:20080517)适量(约相当于癸氧喹酯 50 mg)置于 100 mL 的容量瓶,加少量溶剂超声溶解后溶剂定容,然后用移液管移取 2 mL 于 25 mL 容量瓶中,加 2 mL 碱溶液,静置,避光放置 24 h,溶剂定容,取 20  $\mu$ L 进样,照 2.2 项色谱条件测定,结果见图 6。

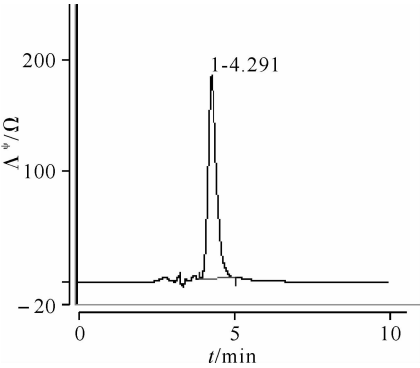


图 6 碱破坏实验

Fig. 6 Experiment of alkali destruction

c. 高温破坏实验. 精密称取样品(批号:20080517)适量(约相当于癸氧喹酯 50 mg)置于 100 mL 的容量瓶中,加少量溶剂超声溶解后溶剂定容,然后用移液管移取 1 mL 于 25 mL 容量瓶中,置于(105 $\pm$ 1)  $^{\circ}$ C 下 4 h,再用溶剂定容,取 20  $\mu$ L 进样,照 2.2 项色谱条件测定,结果见图 7。

图 2~7 表明:癸氧喹酯对酸、碱、热较稳定,降解产物与癸氧喹酯分离良好,说明该色谱条件能较好的对本品进行有关物质检查。

2.3.4 线性关系考察 精密量取适量的癸氧喹

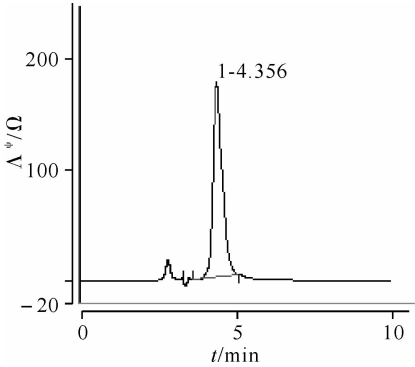


图 7 高温实验

Fig. 7 High-temperature experimen

酯对照品,以二氯甲烷和甲醇的混合溶液(比例为 1:6,每 1 000 mL 加入 10 g 氯化钙)为溶剂,配成系列浓度的标准品溶液(1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50  $\mu$ g/mL),分别进样 20  $\mu$ L,照 2.2 项色谱条件测定,以样品浓度(C)为横坐标,峰面积(A)为纵坐标进行线性回归,其方程为: $A=1.647\ 9C-0.354$  ( $R^2=0.999\ 8,n=11$ ). 表明癸氧喹酯的含量在 1.0~50 mg/mL 之间具有良好的线性关系。

2.3.5 回收率与精密度实验

a. 回收率实验. 按照癸氧喹酯固体分散体的处方比例,配制对照品和辅料溶液,混匀,用溶剂配成含癸氧喹酯质量浓度为 10、20、30  $\mu$ g/mL 的溶液,每次进样 20  $\mu$ L,每种质量浓度的溶液进样三次,测定结果见表 1. 由表 1 结果计算其回收率分别为 101.8%、101.2%、100.9%,在 98%~102%之间,表明此法准确度高,符合定量分析的要求。

表 1 回收率实验结果

Table 1 The results of percent recovery experiment

进样质量浓度 ( $\mu$ g/mL)	第一次 进样峰面积/ (mAU $\cdot$ min)	第二次 进样峰面积/ (mAU $\cdot$ min)	第三次 进样峰面积/ (mAU $\cdot$ min)	平均峰面积/ (mAU $\cdot$ min)	质量浓度/ ( $\mu$ g/mL)
10	16.483	16.348	16.508	16.446	10.184
20	32.760	32.928	33.365	33.018	20.247
30	49.096	49.848	49.679	49.541	30.274

b. 精密度实验. 精密量取适量的癸氧喹酯对照品,以二氯甲烷和甲醇的混合溶液(比例为 1:6,每 1 000 mL 加入 10 g 氯化钙)为溶剂,配制质量浓度为 20 mg/mL 的溶液,进样量为 20 mL,注入液相色谱仪中,进样 6 次,照 2.2 项色谱条件测定,由表 2 结果计算其标准偏差  $S=0.177\ 607$  ( $n=6$ )和相对标准偏差  $RSD=0.84\%$  ( $n=6$ ),由  $RSD=0.84\%<2\%$ <sup>[7]</sup>,知精密度良好。

表 2 精密度实验结果

Table 2 Date of experimental precision

峰面积/ (mAU $\cdot$ min)	34.871	34.773	34.894	34.355	34.237	34.871
质量浓度/ ( $\mu$ g/mL)	21.372	21.312	21.386	21.058	20.987	21.372

2.4 样品含量测定

取三批放大样品(批号:20080517;20080519;

20080521)适量,加二氯甲烷和甲醇(1:6)的混合溶液(1 000 mL 加入 10 g 氯化钙)适量使之溶解,稀释成约 40 μg/mL 的溶液,取样 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的 2 倍,以外标法计算癸氧喹酯固体分散体的含量.测定结果见表 3.

表 3 含量测定实验结果

Table 3 the results of content determination

批次	20080517	20080519	20080521
质量分数/%	99.8	100.6	99.4
RSD/%	0.6		

注:含量(%)为标示量的百分含量.

结果表明,本品三批样品的含量均在标示量的 95%~105%范围之内.

3 结 语

a. 方法学考察结果说明在建立的色谱条件下,系统适用性良好,线性、溶液稳定性、精密度、回收率均好.

b. 建立的高效液相色谱法对癸氧喹酯固体分散体中的有关物质及含量进行分离、测定,能准确检测样品中的有关物质,辅料无干扰,且操作简便、方法可行、准确度高.不同批号的癸氧喹酯固体分散体样品测定结果表明,癸氧喹酯含量稳定,

可用于质量控制.

c. 由专属性结果显示,降解产物与癸氧喹酯分离良好,说明该色谱条件能较好的对本品进行有关物质检查.

参考文献:

[1] 都业良. 癸氧喹酯对 AA 肉鸡感染 Eimeria tenella 疗效的研究[J]. 中国农学通报,2009,25(4):6-9.

[2] Williams R B. Tracing the emergence of drug-resistance in coccidia (Eimeria spp.) of commercial broiler flocks medicated with decoquinate for the first time in the United Kingdom[J]. Vet Parasitol, 2006, 135:1-14.

[3] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典[M]. 北京:中国农业出版社,2005:附录 97,225.

[4] 周玉武,栾明娜,徐福亮,等. 高效液相色谱法测定癸氧喹酯溶液的含量[J]. 中国兽药杂志,2009,43(2):32-34.

[5] 李嘉宇,戴正琳. HPLC 法测定非诺贝特软胶囊的有关物质及含量[J]. 武汉工程大学学报,2009(12):21-23.

[6] 祁雯雯,李俊杰,刘永琼,等. 妥曲珠利固体分散物的制备[J]. 中国兽药杂志,2009,43(4):34-37.

[7] 刘文英. 药物分析[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社,2006:80-83.

Determination of decoquinate dispersions of solid by HPLC method

XIAO Fang,ZHOU Ji,YAN Shao-kang,LI Lu-ping,LIU Yong-qiong\*

(School of Chemical Engineering & Pharmacy,Wuhan Institute of Technology,

Key Laboratory for Green Chemical Process of Ministry of Education,

Hubei Key Laboratory of Novel Chemical Reactor & Green Chemical Technology,Wuhan 430074,China)

**Abstract:** Established a method for determination of decoquinate disperisions of solid with high performance liquid chromatography (HPLC). The HPLC method was carried on C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm,5 μm) column using anhydrous methanol as mobile phase. The flow rate was 1 mL/min. The column temperature was 30 °C and detection wavelength was 265 nm. The result showed the calibration curve for decoquinate dispersions of solid was linear in the range of 1.0-50 mg/mL( $R^2=0.9998$ ). The average recovery of decoquinate dispersions of solid was 101.3%, with RSD 0.84%,the detected limit was 0.05 mg/mL. The method which was rapid, simple, accurate and suitable for the quality control of the drug was found in the research.

**Key words:** HPLC; decoquinate dispersions of solid;related matter;quantitative analysis

本文编辑:张瑞