

· 研究报告 ·

盐酸利多卡因注射液质量标准提高研究

邓朝晖, 李爱红, 胡文军 (广州军区联勤部药品仪器检验所, 广东 广州 510500)

[摘要] 目的 提高盐酸利多卡因注射液的质量控制标准。方法 采用高效液相色谱法代替原容量分析法测定盐酸利多卡因注射液中盐酸利多卡因的含量。采用的色谱条件均以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以磷酸盐缓冲液-乙腈(50:50,用磷酸调节 pH 值至 8.0)为流动相;检测波长为 254 nm。结果 经方法学验证,该色谱条件可用于盐酸利多卡因注射液中有关物质的检查;盐酸利多卡因含量测定中,在浓度为 373.62~3 736.19 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内线性关系良好。盐酸利多卡因的回收率为 102.1%,RSD 为 0.9%。结论 提高后的质量标准可行。

[关键词] 盐酸利多卡因注射液;有关物质检查;含量测定;高效液相色谱法

[中图分类号] R917

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2016)01-0072-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.01.019

Improvement of quality control of lidocaine hydrochloride injection

DENG Zhaohui, LI Aihong, HU Wenjun (Drug and Instrument Control Institute of Guangzhou Military Command, Guangzhou 510500, China)

[Abstract] **Objective** To improve the quality control standard of lidocaine hydrochloride injection. **Methods** A method for determination of related substances in lidocaine hydrochloride injection was established. Lidocaine hydrochloride was assayed by HPLC. The chromatographic conditions: C₁₈ chromatographic column was used. The mobile phase was phosphate buffer and acetonitrile (50:50, adjusted to pH 8 with phosphoric acid). The detection wavelength was 254 nm. **Results** According to the result of method verification, related substances could be examined by HPLC. Lidocaine hydrochloride was assayed by HPLC, which showed excellent linearity at the range of 373.62-3 736.19 $\mu\text{g}/\text{ml}$. The average recoveries were 102.1% (RSD=0.9%). **Conclusion** The improved standard could be used to control the quality of lidocaine hydrochloride injection.

[Key words] lidocaine hydrochloride injection; related substances; assaying; HPLC

盐酸利多卡因注射液是《中国人民解放军医疗机构制剂规范》2002年版(简称《规范》)收载的制剂品种,具有局部麻醉作用和抗心律失常作用,临床用于浸润麻醉、表面局麻、神经传导阻滞、椎管内阻滞及快速型心律失常。其处方包括盐酸利多卡因、氯化钠,加注射用水适量配制而成。《规范》共收载 0.25%、0.5%、2% 3 个浓度规格,《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)2010年版已收载 2% 浓度规格,未收载 0.25%、0.5% 2 个浓度规格。由于军队医疗机构用药的特殊性,需保留这 2 个浓度规格,并拟收载于新版《规范》中。

《规范》收载的盐酸利多卡因注射液质量标准存

在一定的缺陷,如:①未进行有关物质检查;②采用容量分析法对盐酸利多卡因进行含量测定,专属性不够强,测定结果易受处方中其他组分的干扰^[1]。笔者按照《中国药典》2010年版的相关要求,对盐酸利多卡因注射液质量标准进行了修订和规范,并对 3 批次样品进行了检测,现将相关试验结果报道如下。

1 材料

1.1 仪器 Waters 2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);XS105 型分析天平(梅特勒公司);色谱柱:Grace Smart (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), Agilent Technologies (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)。

1.2 试药 盐酸利多卡因注射液(规格:10 ml:0.2 g、5 ml:25 mg、2 ml:5 mg,均为自制,每个规格均制备 3 个批号,分别为 130722-1、130722-2、130722-3);利多卡因对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100342-201003,供含量测定用,含量以

[基金项目] 军队医疗机构制剂标准提高科研专项课题(13ZJZ25)

[作者简介] 邓朝晖,本科,副主任药师,研究方向:药品监督检验。Tel:(020)88698353;E-mail:Dzhaohui99@163.com

[通讯作者] 胡文军,博士,副主任药师,研究方向:药品监督检验。Tel:(020)88698373;E-mail:stars3@sina.com

99.9%计);2,6-二甲基苯胺对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100868-201202,供HPLC法和GC法有关物质检查用,含量以99.9%计);乙腈为色谱纯,磷酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠等化学试剂均为分析纯,广州化学试剂厂生产。3个规格的阴性样品为依照处方比例,分别按《规范》制得。

2 方法与结果

2.1 有关物质检查^[2]

2.1.1 色谱条件 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以磷酸盐缓冲液(取1 mol/L磷酸二氢钠溶液1.3 ml和0.5 mol/L磷酸氢二钠溶液32.5 ml,置1 000 ml量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀)-乙腈(50:50)(用磷酸调节pH值至8.0)为流动相;检测波长为254 nm。理论塔板数按利多卡因峰计算不低于2 000。

2.1.2 检测波长的选择 参照《中国药典》2010年版二部盐酸利多卡因注射液中有物质检查项下,选用检测波长为254 nm。

2.1.3 系统适用性试验 在上述液相色谱条件下,精密量取利多卡因对照品溶液20 μ l,注入液相色谱仪,连续进样5次,记录色谱图。理论塔板数按利多卡因峰计算不低于2 000。符合《中国药典》2010年版二部盐酸利多卡因注射液的规定。

2.1.4 专属性试验 精密量取本品适量,用流动相定量稀释成每1 ml中约含盐酸利多卡因2 mg的溶液,作为供试品溶液;另取2,6-二甲基苯胺对照品适量,精密称定,用流动相稀释成每1 ml中约含0.8 μ g的溶液,作为对照品溶液。照上述色谱条件,分别注入空白溶液、供试品溶液、对照品溶液、阴性对照溶液及供试品+杂质对照品溶液各20 μ l,进行测定,结果表明,阴性无干扰。色谱图见图1。

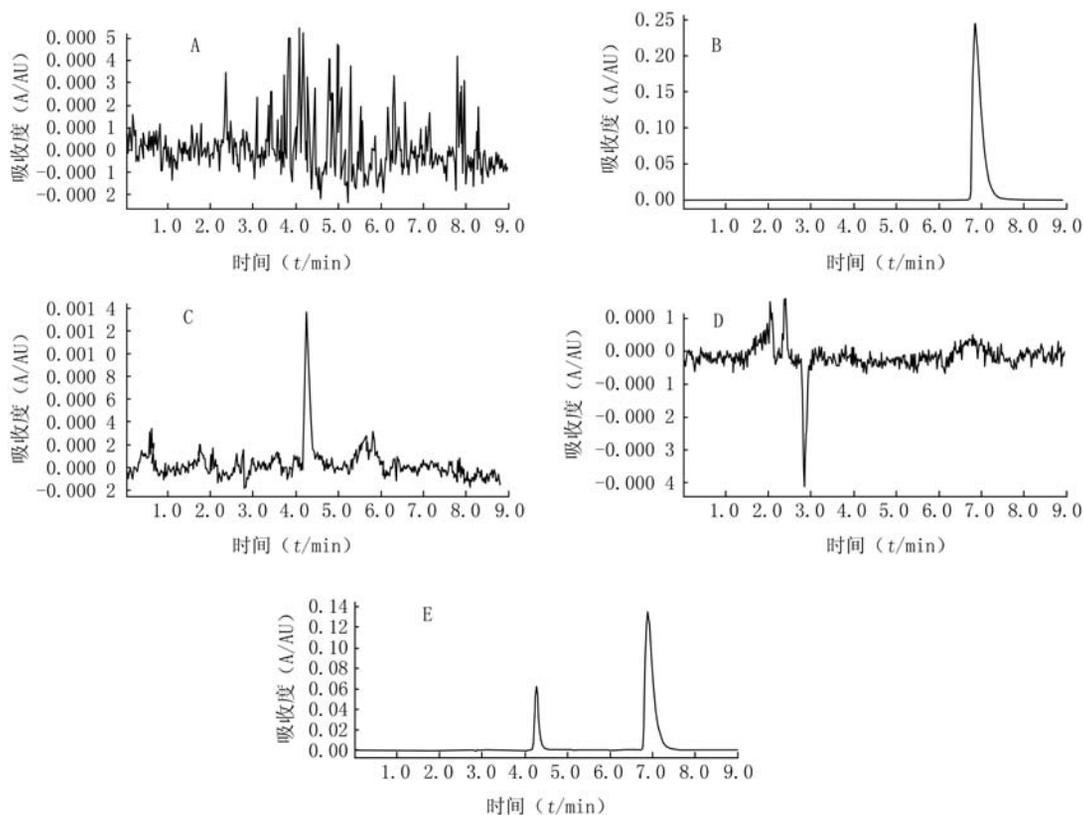


图1 专属性试验 HPLC 色谱图

A.空白溶液;B.供试品溶液;C.对照品溶液;D.阴性对照溶液;E.供试品+杂质对照品溶液

2.1.5 耐用性 为考察变动因素对杂质检测的影响,以“2.1.4”项下制成的供试品溶液,采用 Agilent Technologies、Grace Smart 2 种色谱柱(规格均为250 mm \times 4.6 mm,5 μ m)来考察色谱条件。结果显示,本实验方法耐用性良好。

2.1.6 检测限 精密称取利多卡因对照品适量,加

水制成每1 ml含8.5 μ g的利多卡因溶液。按上述色谱条件,进样10 μ l,记录色谱图。按信噪比3:1为标准,盐酸利多卡因注射液最低检测限为0.085 μ g。

2.1.7 样品测定 精密量取样品适量,用流动相定量稀释成每1 ml中约含盐酸利多卡因2 mg的溶液,

作为供试品溶液;精密量取供试品溶液(2 mg/ml) 1 ml,置 100 ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照溶液;另取 2,6-二甲基苯胺对照品适量,精密称定,用流动相稀释成每 1 ml 中约含 0.8 μg 的溶液,作为对照品溶液。照“2.1.1”项色谱条件,精密量取对照溶液 20 μl 注入液相色谱仪,调节检测灵敏度,使主成分色谱峰的峰高约为满量程的 20%;再精密量取上述 3 种溶液各 20 μl 分别注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的 3.5 倍,供试品溶液的色谱图中如有与 2,6-二甲基苯胺对照品溶液保留时间一致的色谱峰,其峰面积不得大于对照品溶液主峰面积(0.04%),其他单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积的 0.5 倍(0.5%),其他各杂质峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积(1.0%)。

检测结果显示,3 种浓度规格的样品均未检出 2,6-二甲基苯胺色谱峰,其他杂质均符合规定。

2.2 盐酸利多卡因的含量测定^[2,3]

2.2.1 色谱条件 同“2.1.1”项。

2.2.2 溶液的制备 ①对照品溶液:取利多卡因对照品约 85 mg,精密称定,置 50 ml 量瓶中,加 1 mol/L 的盐酸溶液 0.5 ml 使溶解,用流动相稀释至刻度,摇匀,即得。②供试品溶液:精密量取样品适量(约相当于盐酸利多卡因 100 mg),置 50 ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,即得。③阴性对照样品溶液:取缺盐酸利多卡因的阴性样品溶液,按供试品溶液制备方法制成阴性对照样品溶液。

2.2.3 专属性试验 见有关物质检查项下的“2.1.4 专属性试验”。

2.2.4 线性关系试验 精密称取利多卡因对照品 0.5 g 置 100 ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,制成 5 mg/ml 的溶液作为储备液。分别精密量取储备液 2、4、6、8、10、12、16、20 ml,置 25 ml 容量瓶中,加流动相稀释并制成浓度为 373.62、747.24、1 120.86、1 494.47、1 868.09、2 241.71、2 988.95、3 736.19 μg/ml 的溶液,按上述测定方法测定,以利多卡因浓度对色谱峰面积进行线性回归,回归方程为: $C=0.000\ 550\ 1\ A-47.015\ 6$, $r=0.999\ 1$,表明利多卡因在 373.62~3 736.19 μg/ml 范围内与峰面积有良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 取批号为 130722-1 的供试品溶液,按上述色谱条件连续进样 6 次,记录色谱图。结果显示,理论塔板数按利多卡因峰计算均不低于 2 000。计算利多卡因峰面积,RSD 为 0.2%。结果表明精密度良好。

2.2.6 重复性试验 精密量取批号为 130722-1 的样品适量,按“2.1.4”项下制备供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件测定,同法操作 6 份。测得盐酸利多卡因平均含量为标示量的 93.7%,RSD 为 0.5%。结果表明,本方法重复性良好。

2.2.7 回收率试验 按处方配制不含盐酸利多卡因的阴性对照样品。取阴性对照样品适量,分别精密加入盐酸利多卡因 747.24、934.05、1 120.86 μg,制成相当于标示量的 80%、100%、120% (以 10 ml:200 mg 规格计算),按“2.2.2”项下的方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件测定,结果见表 1,表明本方法具有良好的回收率。

表 1 盐酸利多卡因回收率试验结果

| 占标示量百分比 (%) | 加入量 (m/μg) | 测得量 (m/μg) | 回收率 (%) | 平均回收率 (%) | RSD (%) |
|-------------|------------|------------|---------|-----------|---------|
| 80 | 747.24 | 763.48 | 102.17 | 102.1 | 0.9 |
| | 747.24 | 761.89 | 101.96 | | |
| | 747.24 | 753.62 | 100.85 | | |
| 100 | 934.05 | 950.54 | 101.77 | | |
| | 934.05 | 962.34 | 103.03 | | |
| | 934.05 | 945.97 | 101.28 | | |
| 120 | 1 120.86 | 1 152.94 | 102.86 | | |
| | 1 120.86 | 1 160.05 | 103.50 | | |
| | 1 120.86 | 1 136.72 | 101.42 | | |

2.2.8 稳定性试验 取批号为 130722-1 的供试品溶液,分别在 0、3、6、12、24 h 进样,测定含量,结果盐酸利多卡因平均含量为标示量的 93.1%,RSD 为 0.6%,表明供试品在 24 h 内稳定性良好。

2.2.9 样品测定 精密量取本品适量(约相当于盐酸利多卡因 100 mg),置 50 ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,精密量取 20 μl 注入液相色谱仪,记录色谱图;另取利多卡因对照品约 85 mg,精密称定,置 50 ml 量瓶中,加 1 mol/L 的盐酸溶液 0.5 ml 使溶解,用流动相稀释至刻度,摇匀,同法测定。按外标法以峰面积计算,并乘以 1.156,即得。

按《规范》方法:精密量取本品适量(约相当于盐酸利多卡因 0.2 g),置分液漏斗中,加氨试液使成碱性。用氯仿提取 4 次,每次 10 ml,合并氯仿液,置水浴上蒸发至近干。精密加入硫酸滴定液(0.05 mol/L)15 ml,再置水浴上加热除去残留的氯仿,放冷。加甲基红-溴甲酚绿混合指示剂 2~3 滴,用氢氧化钠滴定液(0.1 mol/L)滴定至溶液由酒红色变为绿灰色。每 1 ml 硫酸滴定液相当于 27.08 mg 的 $C_{14}H_{22}N_2O \cdot HCl$ 。

采用以上2种方法,测定3个规格的各3批次样品,测定结果见表2。

表2 2种方法测定盐酸利多卡因注射液试验结果

| 规格 | 批号 | 新方法 | | 原《规范》方法 | |
|---------------|----------|------------|--------|------------|-----------|
| | | 占标示量百分比(%) | RSD(%) | 占标示量百分比(%) | 相对平均偏差(%) |
| 10 ml : 0.2 g | 130722-1 | 92.0 | 0.5 | 95.1 | 0.2 |
| | 130722-2 | 93.4 | 0.3 | 95.8 | 0.3 |
| | 130722-3 | 92.3 | 0.3 | 95.4 | 0.2 |
| 5 ml : 25 mg | 130722-1 | 91.5 | 0.2 | 94.7 | 0.4 |
| | 130722-2 | 91.4 | 0.1 | 94.7 | 0.2 |
| | 130722-3 | 91.4 | 0.1 | 94.5 | 0.2 |
| 2 ml : 5 mg | 130722-1 | 93.9 | 0.1 | 97.9 | 0.3 |
| | 130722-2 | 93.5 | 0.3 | 97.4 | 0.1 |
| | 130722-3 | 93.4 | 0.1 | 97.4 | 0.2 |

上述测定结果表明,此2种方法的测定结果有较大差异,原方法结果偏高,理由是:我们配制盐酸利多卡因注射液时,按处方投料加入盐酸利多卡因固体原料,而此固体原料实际上是含1个结晶水的盐酸利多卡因固体,每1g折算成盐酸利多卡应为: $1 \times 270.8 / 288.8 = 0.9377 \text{ g}$,即我们配成的盐酸利多卡因注射液理论含量约相当于标示量的93%左右,考虑原料在储存过程中可能吸潮等原因,实际含量可能更低(即实际投料量偏低)。

采用SPSS统计学软件中ONE Way ANOVA方差分析,比较二次测定结果,发现存在显著性差异($P < 0.05$)。采用t检验,比较新拟定方法的测定结果与理论标示量值93%之间的差异,结果无显著性差异($P > 0.05$);而比较原《规范》方法的测定结果与理论标示量值93%之间的差异,结果存在显著性差异($P < 0.05$)。根据以上结果分析可知,用HPLC法可准确测定盐酸利多卡因注射液中盐酸利多卡因的含量,而原《规范》方法的测定结果明显偏高。

3 讨论

3.1 有关物质的检查,参考了《中国药典》2010年版二部盐酸利多卡因注射液中有关物质检查的方法。经方法学验证,拟定的方法操作简单、快速可靠,可用于该制剂中有关物质的检查。

3.2 《规范》采用提取后剩余滴定法测定盐酸利多卡因的含量,方法烦琐,步骤复杂,测量误差较大,测定结果偏高,且试验中大量使用剧毒试剂氯仿。笔者采用HPLC法测定盐酸利多卡因的含量,方法操作简单,结果准确可靠,纠正了原方法使检测结果偏高的问题,建议采用HPLC法替代原方法来测定盐酸利多卡因注射液的含量。

3.3 含量测定的样品及对照品色谱图可用于盐酸利多卡因的专属性鉴别试验,列入质量标准中。

3.4 本文含量测定及2,6-二甲基苯胺杂质检查,均未采用强光照射、高温、高湿、酸碱水解或氧化的方法进行加速破坏试验,原因是本文考察的2,6-二甲基苯胺杂质为可获得的、有市售的对照品。根据《中国药典》2010年版附录关于药品质量标准分析方法验证指导原则规定,对于含量测定和杂质检查测定,在杂质可获得的情况下,对于含量测定,试样中可加入杂质或辅料,考察测定结果是否受干扰,并可与未加杂质或辅料的试样比较测定结果。对于杂质测定,也可向试样中加入一定量的杂质,考察杂质之间能否得到分离。专属性试验结果显示,杂质未对试验的测定结果产生干扰。

【参考文献】

- [1] 总后卫生部.中国人民解放军医疗机构制剂规范[S].北京:人民军医出版社,2002:298-299.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典2010年版二部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:709-710.
- [3] 王曙东,潘璟,方李,等.反相高效液相色谱法测定壳糖止血海绵中诺氟沙星和盐酸利多卡因的含量[J].药学实践杂志,2010,28(1):45-47.

[收稿日期] 2015-02-05 [修回日期] 2015-06-03

[本文编辑] 顾文华

(上接第43页)

- [7] Huang Y, Shi R, Gee W, et al. Regulated drug bioanalysis for human pharmacokinetic studies and therapeutic drug management[J]. Bioanalysis, 2012, 4(15):1919-1931.
- [8] Ye J, Wang Q, Zhou X, et al. Injectable actarit-loaded solid lipid nanoparticles as passive targeting therapeutic agents for rheumatoid arthritis[J]. Int J Pharm, 2008, 352(1-2):273-

279.

- [9] Loya P, Saraf MN. Determination of actarit from human plasma for bioequivalence studies[J]. Indian J Pharm Sci, 2010, 72(6):726-731.

[收稿日期] 2014-03-25 [修回日期] 2015-02-01

[本文编辑] 顾文华