高效液相色谱法测定阿弗菌素含量

邵 赟 胡凤祖 师治贤

(中国科学院西北高原生物研究所 西宁 810001)

提 要 采用反相高效液相色谱法测定了阿弗菌素片中阿弗菌素的含量。色谱柱为TSK-GEL C₁₈, 流动相为甲醇 水(75 25), 检测波长 245mm, 可得到满意的分离效果。

关键词 高效液相色谱法, 阿弗菌素

分类号 O 658/R9

1 前言

阿弗菌素(avemictin)是 70 年代问世的一类新型广谱驱虫药,对家畜和野生动物的寄生虫有很强的驱杀作用,属于大环内脂类抗生素。其结构为 16 环内脂的衍生物,按结构分为 A 类和 B 类同系物, B la和 B lb是这类药物的有效活性成分[1]。我们采用反相高效液相色谱法测定阿弗菌素片中阿弗菌素的含量,分离效果令人满意,精密度高,为阿弗菌素片的生产及质量控制提供了科学依据。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

美国Waters 公司高效液相色谱仪, 600E 溶剂输送系统, U6K 进样阀, 486 可调波长紫外检测器, 746 色谱数据处理机, 美国Millipore 公司溶剂过滤系统。

阿弗菌素标准品(浙江兽药监察所提供), 甲醇 (优级纯)。

2.2 色谱条件

色谱柱: TSK-GEL C_{18} 柱, 5μ m, 250mm × 4.6mm, 流动相为甲醇-水(75 25, V/V), 用前经M illipore 溶剂过滤系统(使用 0.5μ m 滤膜)过滤, 流速 1.0mL/m in, 检测波长 245nm, 灵敏度 0.010A ufs, 柱温为室温、进样量 20μ L。

2.3 样品处理

取阿弗菌素片 10 片, 研细, 准确称取 0.060 0g 置于 25mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 在室温下放置 2h, 经 $0.5\mu m$ 有机相微孔滤膜过

滤后备用。

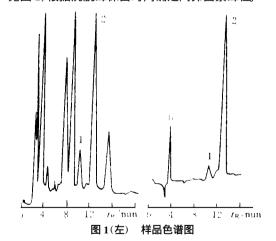
3 结果与讨论

3.1 检测波长

测定了浓度为 20 m g/L 阿弗菌素标准溶液的紫外吸收光谱, 可知 $\lambda_{\text{nax}} = 245 \text{nm}$ 。

3.2 色谱峰的鉴定

阿弗菌素样品的色谱图见图 1, 标准品的色谱图见图 2, 根据洗脱峰保留时间确定阿弗菌素峰位.



 $Fig.\ 1(L)$ Chromatogram of the sample $\begin{tabular}{ll} $\Bbb S$ 2(右) & 标准品色谱 \begin{tabular}{ll} $\Bbb S$ & $\Bbb S$ &$

Fig 2(R) Chromatogram of standards 0. 溶剂峰(solvent peak), 1.B_{1b}, 2.B_{1ao}

3.3 标准溶液的配制与线性实验

准确称取阿弗菌素标准品 0.010 0g 置于 25mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 此溶液浓度为

 $1\ 000 \text{mg/L}$ 。 经逐级稀释后配成浓度分别为 10, 20, 30, 40, 50 mg/L 的阿弗菌素标准溶液系列, 按上述色谱条件每次进样 20μ L,以峰面积 (Y) 对标准溶液浓度 (X) 进行线性回归分析, 得回归方程 $Y=1.105\ 3$ × $10^5 X-1.956\ 6 \times 10^3$,相关系数 $r=0.999\ 8\ (n=5)$,表明在 $10^{\sim}50 \text{mg/L}$ 浓度范围内线性良好。

3.4 精密度实验

在上述色谱条件下, 用浓度为 30 m g/L 的阿弗菌素标准溶液各进样 6 次, 每次 $20 \mu\text{L}$, 分别测定各次的峰面积A 和保留时间 α , 其相对标准偏差 RSD 分别为 2.56% 和 1.31%。

3.5 样品分析结果

准确吸取已制备好的试样溶液 20μ L, 注入高效液相色谱仪中, 用外标法定量, 以标准品的 $B_1 = B_{1a} + B_{1b}$ 含量作为对照, 结果见表 1。

表 1 样品测定结果

Table 1 Analytical resu	Its of the sample
样品批号 Series No. of product	含量 Content(%)
940803	0 54
951203	0 54
951205	0 57
951110	0 69
粉剂	1. 09

参考文献

1 郭仁民. 青海畜牧兽医杂志, 1995, 25(2): 37~39

W ettable pow der

2 中国兽药典编委会.中华人民共和国兽药典.北京:农业出版社,1990.24~25

Determination of Avermictin in Avermictin Tablet by High Performance Liquid Chromatography

Shao Yun, Hu Fengzu and Shi Zhixian

(N orthwest P lateau Institute of B iology, the Chinese A cadeny of Sciences, X ining, 810001)

Abstract A method for the separation and determination of avermictin in avermictin tablet by reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) was developed. Operating conditions were as follows: TSK-GEL C_{18} column, 250mm × 4.6mm i d , MeOH-H2O (75 25, V/V) mobile phase with a flow rate of 1.0mL/m in, and UV detection at 245nm. The results showed that the active constituents avermictin B_{1a} and B_{1b} can by separated effectively. The relative standard deviations were 2 56% and 1.31%, respectively (n=6). The method is accurate, rapid and simple, and provides a scientific basis for industrial production and quality control of avermictin tablet

Key words high performance liquid chromatography, avermictin