

离子色谱法测定药物 Sevelamine 的磷酸盐结合率

王玉芹¹ 霍世欣²

(1 上海大学 化学系, 上海 200444; 2 瑞士万通中国有限公司, 上海 200335)

摘要 建立了用离子色谱法研究药物对磷酸盐结合率的方法。色谱条件: Metrosep A Supp 5—150/4.0 mm 色谱柱, 淋洗液: Na_2CO_3 (3.2 mmol/L) + NaHCO_3 (1.0 mmol/L) + 乙腈 (10%) 水溶液, 电导检测器; 流速: 0.7 mL/min; 柱温: 30 °C。方法简便、快速、准确。

关键词 离子色谱; 磷酸盐; 结合率;

中图分类号: O657.7⁺5; TH833

文献标识码: A

文章编号: 2095-1035(2012)S0-0000-00

1 引言

人体正常血清磷生化值为 27~47 mg/L, 一般在肾丝球过滤率 (GFR) 小于 25 mL/min 的病人容易产生高磷酸血症, 血清磷浓度大于 45 mg/L 即为高磷酸血症。临床表现症状为骨痛、痉挛等^[1]。Sevelamine 是一种新型的磷酸盐结合剂药物^[2], 该药物分子上的大量的氨基 ($-\text{NH}_2$) 可以和磷酸盐进行螯合作用, 从而降低血液中的磷酸盐浓度。实验研究了药物 Sevelamine 的磷酸盐结合能力。

2 实验部分

2.1 仪器

882 Compact 离子色谱仪 (瑞士万通中国有限公司), Millipore 超纯水机 (电阻率 $>18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$)

2.2 试剂和样品

BES(N,N-双(2-羟乙基)-2-氨基乙磺酸), 含量 $\geq 99\%$, 购于萨恩化学技术(上海)有限公司; 磷酸二氢钾 (优级纯), 购于德国 Merck 公司; 氯化钠 (分析纯)、硫酸 (分析纯)、氢氧化钠 (分析纯), 购于国药集团化学试剂有限公司。

2.3 色谱条件

分离柱: Metrosep A Supp 5—150/4.0 mm; 保护柱: Metrosep 4/5 Guard; 淋洗液: Na_2CO_3 (3.2

mmol/L) + NaHCO_3 (1.0 mmol/L) + 乙腈 (10%) 水溶液; 流速: 0.7 mL/min; 柱温: 30 °C; 检测器: 电导检测器; 进样体积: 20 μL 。

2.4 标准溶液的制备

磷酸二氢钾标准储备溶液 (20 mmol/L): 称取 2.7200 g 磷酸二氢钾、21.330 0 g BES、4.680 0 g 氯化钠于 1 000 mL 容量瓶, 加入约 900 mL 超纯水溶解后, 用的氢氧化钠溶液 (1.0 mol/L) 调节溶液的 pH 等于 7, 再用超纯水定容至刻度, 摇匀;

磷酸二氢钾标准工作溶液 (14 mmol/L): 取 70 mL 磷酸盐标准储备溶液于 100 mL 容量瓶, 用超纯水定容至刻度, 摇匀; 再把稀释后的标准液溶稀释 100 倍, 进到离子色谱仪测定。

2.5 样品的制备

准确称取 0.1 g 的样品 (精确至 0.0001 g) 于 100 mL 容量瓶, 用磷酸盐标准储备溶液定容至刻度, 搅拌 15 min, 过 0.2 μm 过滤膜后, 把上层溶液稀释 100 倍, 用离子色谱测定。

2.6 计算公式

未结合磷酸盐 (mmol/L) = 样品峰面积 ($\mu\text{s} \cdot \text{min}/\text{cm}$) / 标准工作液峰面积 ($\mu\text{s} \cdot \text{min}/\text{cm}$) $\times 14 \text{ mmol/L}$ 。

磷酸盐结合率 (mmol/g) = $[20 \text{ mmol/L} - \text{未结合磷酸盐 (mmol/L)}] \times 0.1 \text{ L} / \text{样品质量 (g)}$

3 结果与讨论

3.1 磷酸盐结合实验的 pH 值

根据文献^[3]报道,Sevelamine 在 pH=7 条件下,对磷酸盐的结合能力最强,磷结合药物的磷酸盐结合率一般 pH 值在 5~6。实验选择在 pH=7 的条件下进行。

3.2 色谱柱选择

实验比较了 Metrosep A Supp 4-250/4.0 mm 和 Metrosep A Supp 5-150/4.0 mm 两种色谱柱的分离效果,稀释后的磷酸盐标准溶液在两种色谱柱上的分离色谱图见图 1 和图 2。可以看出磷酸根在 Metrosep A Supp 5-150/4.0 mm 的色谱峰对称,而在 Metrosep A Supp 4-250/4.0 mm 上的色谱峰明显拖尾,影响峰面积定量。实验选择 Metrosep A Supp 5-150/4.0 mm 色谱柱。

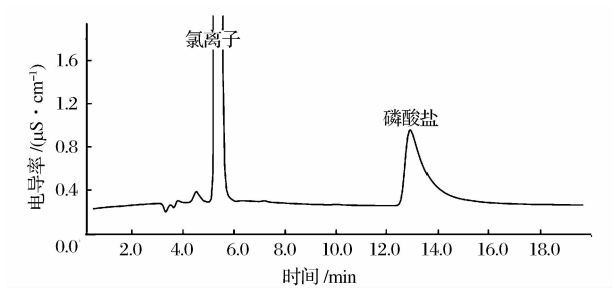


图 1 磷酸盐标准溶液在 Metrosep A Supp 4-250/4.0 mm 色谱柱上的图谱

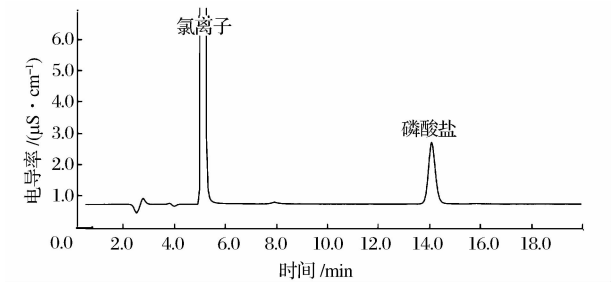


图 2 磷酸盐标准溶液在 Metrosep A Supp 5-150/4.0mm 色谱柱上的图谱

3.3 精密度实验

在选定色谱条件下,磷酸盐标准工作溶液重复进样 5 次,磷酸盐峰面积的相对标准偏差小于 0.5%。

3.4 准确度实验

氯离子可以看做内标物质,标准工作溶液中氯离子的峰面积与吸附后待测溶液中氯离子的峰面积之比为 0.689,理论值为 0.7,回收率为 98.4%。

3.5 实验结果

样品按 2.5 样品制备过程进行处理,然后通过离子色谱仪测定磷酸盐的峰面积。根据 2.6 计算公式,先计算出未结合磷酸盐,再计算得到磷酸盐结合率。该样品的磷酸盐的结合率为 5.45 mmol/g,结果与文献数据相符。实验结果见表 1。

表 1 磷酸盐结合率

样品名称	称样量/ g	标准工作液 PO ₄ ³⁻ 峰面积	样品溶液 PO ₄ ³⁻ 峰面积	未结合磷酸盐 /(mmol·L ⁻¹)	磷酸盐结合率 /(mmol·g ⁻¹)
Sevelamine. HCl	0.1180	0.6314	0.6120	13.57	5.45

4 结语

方法可以简便快速测定磷酸盐结合剂药物的结合率,选择 Metrosep A Supp 5-150/4.0 mm 色谱柱,色谱峰性对称,分析测定时间小于 15 min。

参考文献

[1] 沈磊. 抗高磷酸血症新药碳酸镧[J]. 药学进展,2005

(6):286-287.
[2] 曹菊. Sevelamer 在高磷酸血症中的应用物有所值[J]. 国外药讯,2008(9):37-38.
[3] Swearingen Ronald A, Chen Xi, Petersen John S, et al. Determination of the Binding Parameter Constants for Renagel(R) Using the Langmuir approximation at various pH by ion chromatography[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,2002,29:195-201.