

离子色谱法对唑来膦酸药物的方法学研究

刘红¹ 王小树¹ 孙焕² 李涛²

(1 海南锦瑞制药股份有限公司,海口 5702082;2 瑞士万通中国有限公司 中心实验室,北京 100192)

摘要 采用离子色谱低压梯度淋洗及电导检测的方法对唑来膦酸药物进行了方法学研究,并对药物中的杂质成分磷酸和亚磷酸进行了分析。采用 Metrohm A Supp 5-100 色谱柱分离,唑来膦酸与其它相关离子的分离良好,磷酸和亚磷酸的定量限分别为 36.6 和 25.8 $\mu\text{g/L}$,回收率分别为 99.2%~100.9%,99.5%~100.9%。方法简单快速,灵敏度高,重复性好,可用于唑来膦酸药物的测定和质量评价。

关键词 唑来膦酸;离子色谱;低压梯度

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 前言

唑来膦酸(zoledronic acid)是新型的双磷酸类(Bisphosphonates,BPs)药物,为一种特异性的作用于骨的二磷酸化合物,唑来膦酸的结构示意图如图1所示。该结构与骨质中的羟磷灰石呈高亲和力,并能与钙、铁等金属离子结合,形成可溶性或不可溶性复合物^[1]。唑来膦酸能抑制因破骨活性增加而导致的骨吸收,降低血清钙和尿液中的钙排泄量。

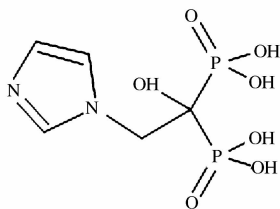


图1 唑来膦酸的分子结构

唑来膦酸的无机类杂质与药品临床使用的安全性密切相关,如果药品中存在的杂质未能通过有效的方法加以检出、控制,将给临床安全造成直接或潜在的危害。因此,制订合理、有效的药品杂质检测方法,控制药品中的杂质是一项非常重要的工作。研究中选取磷酸、亚磷酸两种在唑来膦酸药物生产过程中容易产生的杂质为研究对象。

虽然有报道可以用高效液相色谱法在线火焰分光光度法、折光率法、质谱法、电感耦合等离子体法

等检测技术分析唑来膦酸药物,但这些直接的检测技术也只是应用于少数特殊双磷酸类药物的含量测定,由于双磷酸类药物大多没有可直接应用紫外检测器检测的生色团,因此往往都需要进行衍生反应才能分析检测,过程繁琐,并且无法对其有关物质(磷酸、亚磷酸)进行研究。利用离子对色谱分离配以电导检测器,既解决了双磷酸类药物的保留问题,又解决了其检测问题,为该类药品提供了有效可靠的分析手段。

2 实验部分

2.1 主要仪器

850 离子色谱仪(瑞士 Metrohm 公司);配备电导检测器、英蓝超滤系统、MagIC Net 工作站);色谱柱:METROSEP A Supp5-100 阴离子色谱柱(100 mm \times 4.0 mm \times 5 μm);BT 224S 型电子天平(Sartorius 公司);超纯水仪(英国 Elga 公司)。

2.2 主要试剂

磷酸、亚磷酸、唑来膦酸、 F^- 、 Cl^- 、 Br^- 、 NO_2^- 、 NO_3^- 、 PO_3^{2-} 、 SO_4^{2-} 、 PO_4^{3-} 标准样品,购于国药集团化学试剂有限公司;碳酸钠(优级纯);氢氧化钠(优级纯);实验用水为超纯水(电阻率 $\geq 18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$);

标准溶液 A 配制:称取 45.7 mg 磷酸溶解后,定容至 50 mL 容量瓶,量取 4 mL,置于 50 mL 量瓶中,加超纯水至刻度,制成含磷酸盐为 73.12 $\mu\text{g/mL}$

的溶液。

标准溶液 B 配制:称取 64.4 mg 亚磷酸溶解后,定容至 50 mL 容量瓶,量取 2 mL,置于 50 mL 量瓶中,加超纯水至刻度,制成含亚磷酸盐为 51.52 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液。

A 和 B 等体积混合后,分别取 0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL 混合液,定容至 10 mL,制得 PO_4^{3-} 梯度标准溶液浓度分别为 0.7312、1.828、3.656、7.312、10.97、14.62 $\mu\text{g/mL}$; PO_3^{3-} 梯度标准溶液浓度分别为 0.5152、1.288、2.576、5.152、7.728、10.30 $\mu\text{g/mL}$ 。

3 结果与讨论

3.1 实验条件

离子色谱分析中,淋洗液的种类和浓度对分离和检测灵敏度的影响较大。实验使用低压梯度,当柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$,淋洗液 A[Na_2CO_3 (32 mmol/L) + NaOH (32 mmol/L)]与淋洗液 B(H_2O)的梯度条件为:0~8 min, A:B=10:90;8~20 min, A:10%~50%, B:90%~50%;20~24 min, A:B=10:90。 F^- 、 Cl^- 、 Br^- 、 NO_2^- 、 NO_3^- 、 PO_3^{3-} 、 SO_4^{2-} 、 PO_4^{3-} 8 种混合标准溶液分离谱图如图 2 所示, PO_3^{3-} 、 PO_4^{3-} 、唑来膦酸的分离谱图如图 3 所示。由图可知,各种离子能达到基线分离。

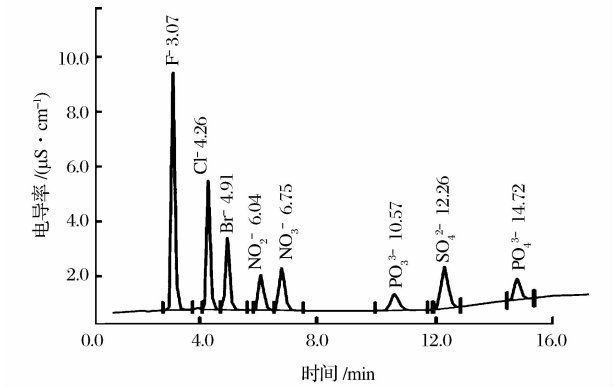


图 2 混合标准溶液分离谱图

3.2 精密度实验

取对照品溶液稀释 10 倍,重复进样 6 次,结果如表 1。

3.3 检测限实验

当磷酸根、亚磷酸根的混合标液浓度分别为 3.656、2.576 $\mu\text{g/mL}$ 时,峰高 H 分别为 1.847、0.932 $\mu\text{S/cm}$,噪音为 0.000 040 $\mu\text{S/cm}$ 。当 3 倍信噪比时,磷酸根的检出限为 0.238 $\mu\text{g/L}$,亚磷酸根

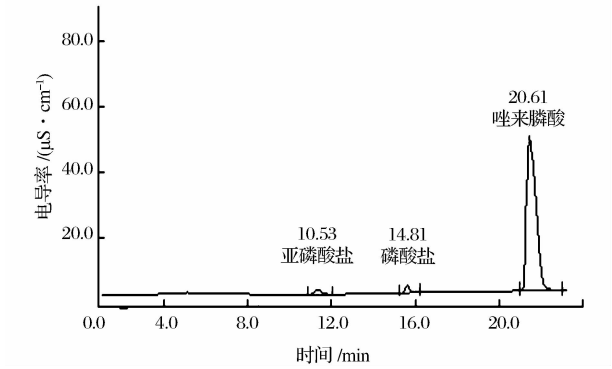


图 3 PO_3^{3-} 、 PO_4^{3-} 、唑来膦酸的分离谱图

的检出限为 0.332 $\mu\text{g/L}$ 在样品中,亚磷酸根的定量限为 25.8 $\mu\text{g/L}$;磷酸根的定量限为 36.6 $\mu\text{g/L}$ 。

表 1 精密度实验结果

序列号	亚磷酸根 峰面积	磷酸根 峰面积	亚磷酸根 RSD/%	磷酸根 RSD/%
1	0.700	0.790	1.2	1.9
2	0.688	0.798		
3	0.703	0.805		
4	0.702	0.821		
5	0.714	0.829		
6	0.706	0.819		

3.4 回收率实验

分别称取磷酸、亚磷酸标准样品 0.25、0.312、0.375 g(精确到 0.0001 g)各 3 份,置于 100 mL 容量瓶中,加纯净水溶解并稀释至刻度,摇匀,各准确量取 0.1 mL,分别置于 25 mL 容量瓶中,加纯净水稀释至刻度,摇匀,作为各样品溶液;再准确量取 1 mL,分别置于 5 mL 容量瓶中,各加本底样品母液 2 mL,加超纯水稀释至刻度,摇匀,按实验方法测定。结果见表 2。

表 2 加标回收实验结果 /%

平均值	磷酸根 回收率	RSD	平均值	亚磷酸根 回收率	RSD
	100.2			100.7	
99.9	100.0	0.53	100.2	99.5	0.51
	99.9			100.4	

由实验结果可知,磷酸回收率为 99.9%~100.2%,相对标准偏差为 RSD 为 0.53%;亚磷酸回收率为 99.5%~100.7%,相对标准偏差 RSD 为 0.51%,回收率均较好,能够满足样品中磷酸和亚磷酸的测定要求。

参考文献

[1] 刘东刚,王杰军. 双膦酸盐类药物的发展[J]. 中国肿瘤临床,2003,30(9):22-24.