

咖啡因各 38mg, 分别置 100ml 量瓶中, 用上述溶剂溶解并稀释至刻度摇匀。精密量取咖啡因液 10ml 置 100ml 量瓶中, 用溶剂稀释至刻度摇匀。按二因素五水平均匀设计^[5], 精密量此溶液 6.7, 7.4, 6.3, 7.0, 7.8ml 置 100ml 量瓶中, 再分别精密量取氨基比林溶液 2.70, 2.85, 3.00, 3.15, 3.30ml 置上述量瓶中, 用溶剂稀释置刻度摇匀。分别在 228, 256, 276, 285.7 和 286nm 波长处测定吸收度, 按测定氨基比林及咖啡因的各自波长组合由式(1)计算 ΔA , 分别代入各自的回收方程。氨基比林的平均回收率 99.1%, RSD 为 0.4%, 咖啡因的平均回收率 99.7%, RSD 为 1.9%。

三、讨论

由于所选的波长不可避免地吸收峰两端陡

处, 操作时波长选择要准确, 否则要引起较大误差; 由于处方中咖啡因与氨基比林的比例较小, 用此比例浓度建立工作曲线时 A_1 、 A_2 、 A_3 均小于 0.2, 误差较大, 而用高浓度建立的工作曲线较好, 只要认真操作将结果代入此方程亦能取得满意的结果。

参考文献

- [1] 黑龙江省药品标准. 1986. 447
- [2] 安登魁主编. 药物分析. 1992. 935. 1157
- [3] 胡育筑等. 南京药学院学报, 1982(2): 19
- [4] 罗国安等. 南京药学院学报, 1982(2): 25
- [5] 郭 涛等. 药学情报通讯, 1993(2): 64

THREE WAVELENGTH SPECTROPHOTOMETRY OF AMINOPHENAZONE AND CAFFEINE IN AMINOPHENAZONE AND CAFFEINE TABLETS

Zhang keliang Liu Zhuqing Zhang Xiaoning

(The Harbin Institute For Drug Control, Harbin 150076)

Abstract Aminophenazone and Caffeine in Aminophenazone and Caffeine Tablets were dissolved with Hydrochloric Acid Solution (9 → 1000), were determined with three wavelength spectrophotometry method. The determination wavelengths of Aminophenazone were at 228, 256, 285.7nm, recovery was 99.1%, RSD was 0.4%. The determination wavelengths of Caffeine were at 256, 276, 286nm, recovery was 99.7%, RSD was 1.9%. The method is accurate, simple and convenient, without any preliminary separation.

Key words Three wavelength spectrophotometry; Aminophenazone; Caffeine

亚叶酸钙及其制剂的高效液相色谱法测定

韩加怡^① 方滢芝^②

摘要 目的: 用高效液相色谱法测定亚叶酸钙及其制剂的含量。方法: 以 VP-ODS(4.6×150mm) 为分析柱, 乙睛-磷酸盐缓冲液(20:80) 为流动相, 柱温 40℃。检测波长为 282nm。结果: 亚叶酸钙在 20.3~232.3μg/ml 范围内呈良好线性, 原料药平均回收率为 100.5%(n=9), RSD=0.78; 片剂平均回收率为 99.52%(n=9), RSD=0.81%。结论: 本方法专属性强, 结果准确、可靠, 也可用于生产时质量控制。

关键词 亚叶酸钙; 高效液相色谱法

①浙江省药品检验所 杭州 310004
②浙江省邵逸夫医院 杭州 310016

亚叶酸钙作为临床基本抗肿瘤药物叶酸拮抗剂的解毒剂, 预防过量叶酸拮抗剂(如甲氨蝶呤)引起

的毒性反应,在国内外临床上已广泛使用。目前,《中国药典》1995 年版二部、U. S. P. 23 版、B. P. 97 增补本及欧洲药典 1996 年版均已收载原料药标准;国内,连云港、广东、浙江等数家药厂也已合成原料药并生产制剂,部分厂家原料药还出口。《中国药典》1995 年版二部采用紫外 E 值法测定含量,专属性差,结果偏高。本文采用高效液相色谱法测定亚叶酸钙的含量,并考察不同厂家产品,专属性强,数据可靠,可用于亚叶酸钙及其制剂的质量控制,并给生产工艺的改进以参考。

一、仪器与试药

Beckman-125 高效液相色谱仪,166 紫外检测器,Gold 软件。

亚叶酸钙对照品:用进口制剂制备,含量经归一化测定为 99.54%。亚叶酸钙原料及片剂分别由中检所及 A、B、C、D 等四厂家提供。

磷酸二氢钾为分析纯,四丁基氢氧化铵水溶液(10%)为化学纯,甲醇为色谱纯,水为重蒸水。

二、色谱条件

色谱柱:Shim-Pach VP-ODS (4.6 × 150mm);流动相:乙睛-磷酸盐缓冲液(1.5ml 四丁基氢氧化铵水溶液及 2.8g 磷酸二氢钾,用水稀释至 1000ml,用 2mol/L 氢氧化钾溶液调节 pH 至 7.0)(20:80);柱温:40℃,检测波长为 282nm,进样量 20μl。

三、实验方法与结果

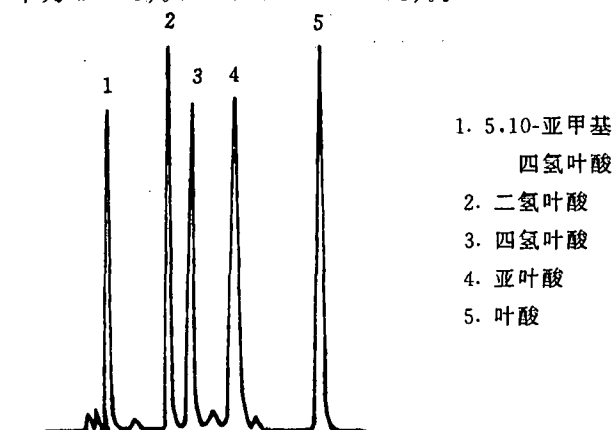
1. 色谱行为 亚叶酸钙的水溶液在 282nm 的波长处有最大吸收,故选用 282nm 为检测波长,其

中间体杂质(如四氢叶酸等),在相同波长处有较大响应,可同时检测杂质。色谱图见附图。亚叶酸钙与各杂质峰分离良好。

2. 线性关系 取亚叶酸钙对照品适量,精密称定,用水溶解并制成每 1ml 中约含 2mg 的溶液,作为对照品溶液。精密量取此溶液 1,2,3,4,5,6,10ml 置 100ml 量瓶中,用水稀释至刻度,按上述色谱条件测定,得回归方程为: $Y = 23.2032X - 0.2618$ $Y = 0.99997$,亚叶酸钙在 20.3~232.3μg/ml 范围内呈良好的线性关系。

3. 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液,重复进样 5 次,计算,峰面积积分值的 RSD 为 0.62%。

4. 原料药回收率试验 精密称取已知含量的亚叶酸钙约 10mg,各加入上述对照品溶液 5.0ml,用水溶解并制成每 ml 中约含 80、100、120μg 的溶液,照上述色谱条件测定,按外标法计算,平均回收率为 100.5%(n=9),RSD=0.78%。



附图 亚叶酸钙及各杂质 HPLC 图谱

5. 片剂回收率试验 精密称取对照品适量,按

表 1 亚叶酸钙原料药含量测定结果(n=9)

厂家	中检所	A	B	C	D
批号	9501	990730 980921	980501	980118	990618
含量%	75.3	97.7 88.8	75.5	80.9	70.3

处方量加入辅料,照 4、方法试验,量取峰面积,计算回收率 99.52%(n=9),RSD=0.81%。

6. 片剂空白辅料干扰试验 不加主药,按 5、试验方法操作,结果,无辅料峰出现。

7. 亚叶酸钙原料药的含量测定 取亚叶酸钙对照品及原料药适量,分别用水溶解并定量制成每 1ml 中含 100μg 的溶液,照上述色谱条件测定,按外标法以峰面积计算,结果见表 1。

8. 亚叶酸钙片的含量测定 取亚叶酸钙片 20 片,精密称定,研细,精密称取适量(约相当于亚叶酸

钙 15mg,加水适量溶解并制成每 1ml 中约含 100μg 的溶液,滤过,照上述色谱条件,取续滤液 20μl 注入液相色谱仪,对照品同法测定,计算含量,与按《中国药典》1995 年版二部方法测得结果比较,结果见表 2。

表 2 亚叶酸钙片含量测定结果(n=2)

方法	HPLC 法	UV 法
批号	(%)	(%)
980207(5mg)	88.3	105.7
980912(15mg)	87.4	98.1
980501(15mg)	72.5	98.4

四、讨 论

1. 从表 1 可见,我国部分厂家生产的亚叶酸钙原料含量偏低。各生产厂的合成工艺不同,且尚未成熟,而生产中间体或降解产物如四氢叶酸、叶酸等在 282nm 波长处也有较大吸收,用 UV 法测定含量偏高。本方法能有效地测定各杂质,为改善生产工艺,提高质量提供帮助。

2. 实验发现,亚叶酸钙在水溶液中对光不稳定,但暗置 6 小时峰面积积分值基本不变(RSD 为 0.5%),故测定过程需避光。

3. 本品在酸或碱性条件下均不稳定,所以流动

相 pH 值选择中性或近中性。实验证明,本法分离度好,柱效高,按亚叶酸钙峰计算,理论板数约为 2000。

参 考 文 献

[1] F. M. Sirotak, R. C. Donsbach. Biochemical and Pharmacokinetic Effects of Leucovorin after High-Dose Methotrexate in a Murine Leukemia, Cancer Research 36, 1976

[2] Youcef M, Rustum. PHD. Toxicity and Antitumor Activity of 5-Fluoracil in Combination with Leucovorin. Cancer March 15 Supplement, 1989

[3] 中国药典. 1995. 二部: 206

[4] 张仁斌, 徐修容等. 高效液相色谱. 上海科学技术出版社, 1983

DETERMINATION OF CACIUM FOLINATE AND ITS PROPARATIONS BY HPLC

Han Jiayi

(Zhejiang Institute for Drug Control, Hangzhou 310004)

Fang Yingzhi

(Sir Run Run Hospital, Hangzhou 310016)

Abstract Obstract: This paper describes a HPLC method for determination of Calcium Folate and its preparations. **Methods:** Calcium Folate was determined by HPLC using a VP-ODS columne (4.6 × 150mm, 5μm), the mobile phase is a mixture of acetonitrile-phosphate buffer (20:80) and the wavelength of detection is at 282nm. **Results:** The calibration curve was in a good linearity over the concerntration of 20.3 ~ 232.3 μg/ml. The average recovery of Caciium Folate and its preparations were 100.5% and 99.52% (n=9). **Conclusion:** The method is accurate, reliable and suitable for the quality control in production.

Key words Caciium Folate; HPLC

落后的医药小企业将被淘汰

今年,我国医药行业有 600 家左右落后的小药厂、1500 家左右落后的小商业批发企业将遭强制性淘汰。

据悉,该项工作由国家经贸委牵头协调,并会同有关部门负责监督、检查,各省、自治区、直辖市人民政府负责组织实施。对应予淘汰的落后小企业,药品监管部门依法吊(注)销其许可证;工商管理部门对逾期不申请注销登记的要吊(注)销其营业执照;环保部门要吊销其排污许可证;电力部门停止提供生产电力;银行停止提供贷款。凡不按规定淘汰落后小企业的地区,国家有关部门和各省、自治区、直辖市一律停止审批该地区新药厂开办、新药注册、GMP 认证和医药企业技改、基建项目。

——编辑部供稿