

· 药物分析和鉴定 ·

高效液相色谱法测定法莫替丁及其稳定性溶液的选择

第三军医大学新桥医院临床药理学室

徐传福 李松林 吴瑞芸 尚福堂

法莫替丁 (Famotidine, MK-208, YM-11170) 系一种新型的组胺 H_2 受体阻滞剂。临床主要用于治疗消化性溃疡及 Zollinger-Ellison 综合症, 以控制胃酸的大量分泌。其抑制胃酸分泌的作用比西米替丁强20倍, 比雷尼替丁强7.5倍, 并具有长效、低毒之特点⁽¹⁾。国内最近已仿制成功。

为研究新药的药代动力学, 在测试临床生化样本的同时, 发现本品在某些溶剂中不够稳定。本文在建立法莫替丁的反相高效液相色谱测定方法的基础上, 对筛选出的三种溶剂进行了稳定性考察。其结果表明, 置5℃的贮存条件下, 以水或甲醇作溶剂, 本品至少可以稳定7天以上。

实 验

一、药品与试剂

1. 法莫替丁标准品: 由西南制药一厂合成提供, 经多次精制纯化而得。

2. 磷酸 (AR): 武汉无机盐化工厂。

进后, 经四级过滤后的药液、已无菌生长, 而消毒方法改进前的药液在四个分段均有细菌生长。其原因由于消毒方法改进后对过滤系统的管道及多种滤器、滤材分别采用双氧水、乙醇浸泡处理, 高压消毒, 新鲜蒸馏水冲洗等措施, 保证了整个过滤系统在洁净室内呈无菌状态, 同时药液通过过滤时经活性炭吸附及二次微孔滤膜的截留, 大大降低了药液中的含菌数甚至达到了无菌程度。从本实验中可表明, 四级过滤系统对该系统的消毒灭菌处理方法, 对改善药液中的微粒及消除细菌无疑提供了可靠的条件。

3. 对我院洁净室的空气采样培养, 按细菌分类学分类, 污染的细菌有: 霉菌、

3. 乙腈 (AR): 北京化工厂。

4. 甲醇 (AR): 成都化学试剂厂。

二、仪器及色谱条件

1. 仪器: GILSON 高效液相色谱仪、数据微处理机、UV 检测器等 (法国产)。

2. 色谱条件: 色谱柱 ODS (5 μ m); 4.6mm ID \times 25cm; 流动相, 0.019M 磷酸: 乙腈 (9:1); 流速, 1 ml/min 恒速; 纸速, 5 mm/min; UV 检测器测试波长, 266nm; 灵敏度, 0.2 a.u.f.s。

三、标准溶液

精密称取干燥至恒重的法莫替丁约 5 mg 置 100ml 容量瓶中, 以甲醇适量溶解并稀释至刻度, 摇匀, 于 5℃ 冷藏备用。

结 果 与 分 析

一、色谱图

按本实验摸索的色谱条件进样所获得的色谱图 (图 1)。

枯草杆菌、表皮葡萄球菌, 假单胞产碱杆菌、不动杆菌、金黄色葡萄球菌、八叠球菌等菌种。主要的 (即菌落多少而言) 为霉菌、表皮葡萄球菌、枯草杆菌等。而药液中污染的细菌有: 枯草杆菌、表皮葡萄球菌、产硷杆菌、霉菌、不动杆菌等菌种, 主要的是枯草杆菌、表皮葡萄球菌、产硷杆菌。

4. 对洁净室空气细菌培养, 采用双碟法 (9 cm) 采样时间一般是 20 分钟, 而 GM P (82 年) 规定为 30 分钟, 经笔者实验表明, 双碟法暴露 20 分钟和 30 分钟采样的菌粉, 经统计学处理、 $P > 0.05$, 无显著差异。为节约采样时间, 一般可采用暴露 20 分钟进行采样即可。

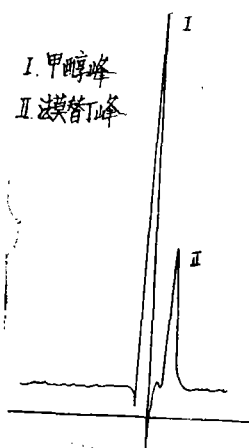


图1 法莫替丁甲醇液色谱

二、标准曲线绘制

精密吸取标准溶液0.10、0.25、0.40、0.55、0.70和0.85ml分别置于1ml容量瓶中，以甲醇稀释至刻度，其浓度分别为4.84、12.10、19.36、26.62、33.88和41.14 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，各进样15 μl ，经微机积分处理，峰面积结果见表1。以浓度为横座标，峰面积为纵座标绘制标准曲线见图2。

标准曲线的回归方程： $Y = 715.52x - 359.21$ $r = 0.9997$ 。法莫替丁在浓度范围为5~40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时，其线性关系良好。

表1 不同浓度法莫替丁的测试数据

		标准液浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)					
		4.84	12.10	19.36	26.62	33.88	41.14
峰面积 ($\mu\text{v}/\text{s}$)	第1次	2859	8524	13701	18042	24042	28262
	第2次	2917	8495	13810	18588	24063	29774
	平均值	2893	8510	13756	18315	24053	29018

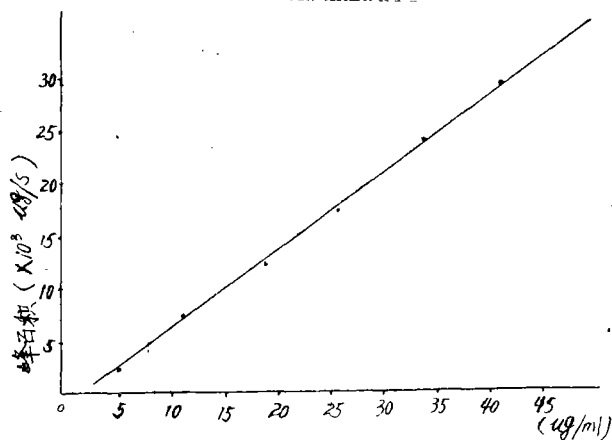


图2 法莫替丁甲醇液标准曲线

三、回收率试验

取5份已知不同浓度的法莫替丁甲醇溶液，分别用外标法测定，各进样15 μl ，求得本品的回收率见表2。

四、重复性试验

取3份不同浓度的法莫替丁甲醇溶液，依法测试，各进样5次，测试结果见表3。

五、稳定性试验

在测试法莫替丁生化样品含量时，经筛选其标准溶液以水、甲醇和0.019M磷酸；乙

表2 法莫替丁的回收率实验数据*

编号	投入量($\mu\text{g/ml}$)	峰面积($\mu\text{v/s}$)	实测量($\mu\text{g/ml}$)	回收率(%)
1	7.26	4667	7.02	96.75
2	14.52	9512	13.80	95.04
3	21.78	15283	21.86	100.37
4	29.04	20655	29.37	101.13
5	36.30	25312	35.88	98.88
平均回收率98.43%		SD = 2.53	CV = 2.57%	

*数据为二次测试的均值。

表3 法莫替丁的重复性实验数据

编 号	1	2	3
5次测试的 峰面积 ($\mu\text{v/s}$)	33208	25058	19660
	32135	25237	19479
	33065	24083	19696
	32792	25083	20049
	33770	25202	19758
\bar{x}	32994	24933	19728
SD	598.27	480.99	207.12
CV (%)	1.81	1.93	1.05

睛(9:1)三种溶剂比较适宜,为考察其稳定时限,分别取贮存于5℃的三种溶液,每天测试1次,连续测试1周的结果见表4及图3。

表4 三种溶剂中法莫替丁稳定性实验数据

溶 剂	不同间隔天数的峰面积($\mu\text{V/S}$)					
	1	2	3	4	5	6(天)
甲 醇	29018	—	—	28025	27897	28144
蒸馏水	84446	85399	86214	83096	83442	83261
流动相 Δ	73705	72851	70142	68049	65012	63429

数据为二次测试之均值

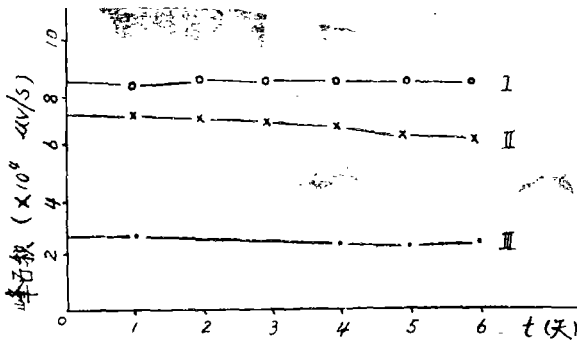
 Δ 流动相为0.019M磷酸;乙睛(9:1)

讨 论

一、由图3可见,法莫替丁的甲醇溶液和水溶液,贮存于5℃条件下,至少可稳定1周。而在流动相0.019M磷酸;乙睛(9:

1)中稳定性较差。由于法莫替丁在水中溶解度小⁽²⁾,溶解速度也慢,故选用甲醇作溶剂最为适宜。

二、文献报道⁽³⁾生物液中法莫替丁的



溶剂: I蒸馏水 II 0.019M磷酸:乙醇(9:1) III 甲醇

图3 法莫替丁在三种不同溶剂中的稳定性

液相色谱测定中采用RP-8色谱柱, 本文使用了国内常用的 ODS C₁₈ 色谱柱, 並改变了色谱条件, 同样取得了较好的分离分析效果。

参 考 文 献

[1] Campoli-Richards DM and Clissald sp; Drugs 1986; 32: 197
 [2] Vincek WC; J Chromatogr 1985; 338: 438
 [3] 川井龙太郎; 应用药理(日)1984; 27(1): 73

血中萘普生高效液相色谱测定方法研究

上海市徐汇区中心医院 洪有采 余琛

〔摘要〕 本文采用反相高效液相色谱法测定血清中萘普生的含量、以消炎痛(Indomethacin)为内标。检测限为0.03μg/ml 日内回收率为100.35%±3.4, 日间回收率为100.7%±3.2。在4~100μg/ml 血清浓度范围内的线性良好(r=0.9997)。

* * * *

萘普生(Naproxen, Methoxypropionicin)系新型非甾体消炎镇痛药, 属芳基烷酸类, 其消炎镇痛作用显著, 临床应用日益广泛。萘普生血液测定方法常见有标记同位素法、荧光分光光度法、气相色谱法、高效液相色谱法、高效薄层层析法等。其中高效液相色谱法最为常用。本文采用反相高效液相色谱法测定血清中萘普生的浓度, 具有简便, 可靠, 采血量少的特点。现将方法叙述如下, 并作讨论。

实验方法与结果

一、试 药

标准液: 500μg/ml 萘普生无水乙醇溶液(萘普生系上海五洲药厂提供)。

内标液: 800μg/ml 消炎痛无水乙醇溶液(消炎痛系上海第十七制药厂提供)。

醋酸—醋酸钠缓冲液: 无水醋酸钠3.6g, 冰醋酸3.3ml, 超纯水稀释至1000ml。pH=4.4~4.5。

甲醇、冰醋酸、无水醋酸钠、乙醚等试剂均为分析纯。

超纯水由上海测试技术研究所供应。

二、仪器及测定条件

仪器: 贝克曼334HPLC系统, 包括110B泵、340进样阀(20μl)。

柱: L11trasphere-ODS柱, 250×4.6mm, 5N、(N=10800), 室温操作。

检测器: 163可变波长紫外检测器, λ=331nm, 灵敏度=0.01AUF。

流动相: 甲醇: 醋酸—醋酸钠缓冲液=70:30。

流速: 1ml/min。

记录: 427积分仪, 低速=0.1cm/分。

三、血样提取