

HPLC 法测定注射用盐酸阿糖胞苷含量

王娟 周薇美 (广州市第一人民医院药剂科, 广州 510180)

摘要 用反相高效液相色谱法测定注射用盐酸阿糖胞苷含量。以阿糖腺苷为内标, 用 ODS 柱, 梯度洗脱。流动相为 0~7 min, 95% 醋酸盐缓冲液; 5% 甲醇, 流速 0.8 ml/min; 7~12 min, 80% 醋酸盐缓冲液; 20% 甲醇, 流速 1.2 ml/min。检测波长 278 nm。线性范围 1.006~10.06 $\mu\text{g/ml}$ (r , 0.9995); 方法平均回收率 100.25%; 天内 RSD<1.9%; 日间 RSD<1.9%。测定了三个批号的制剂, 结果良好。用于血浆中阿糖胞苷的测定, 内源性杂质无干扰。

关键词 盐酸阿糖胞苷 高效液相色谱法含量测定

盐酸阿糖胞苷是目前治疗急性粒性白血病的首选药物之一, 也用于治疗急性淋巴性白血病。中国药典采用 UV 法测其含量^[1], 国外也有报道用

HPLC 法测其在体液中的浓度^[2,4], 但方法都较繁琐, 本文采用 HPLC 法, 梯度洗脱测其制剂含量, 与国外方法相比, 较为简便, 同时也可用于血浆中

阿糖胞苷的测定, 内源性杂质无干扰。

1 仪器、试剂及样品

仪器: Bio-Rad 400 型高效液相色谱仪(美国), Bio-Rad 1706 型紫外检测器(美国) 岛津 UV-2201 型分光光度计(岛洗公司)市售 386 型电脑。

试剂及样品: 盐酸阿糖胞苷对照品(北京医科大学实验药厂); 阿糖腺苷(广东省药物研究所); 醋酸、醋酸铵、甲醇(均为市售、AR 级)。

2 色谱条件

色谱柱: Bio-Sil ODS-5S 色谱柱, 250×4 mm (Bio-Rad 公司); 流动相: 梯度洗脱, A 液: 0.5 mol 醋酸铵加 6 mol 醋酸溶液调 pH 至 6.5; B 液: 甲醇。0~7 min; 95% A + 5% B, 流速 0.8 ml/min; 7~12 min, 80% A + 20% B, 流速 1.2 ml/min。检测波长 278 nm; 柱温为室温。

3 实验结果

3.1 线性范围: 精密称取盐酸阿糖胞苷及内标阿糖腺苷适量, 分别加甲醇溶解, 最后稀释成每 1 ml 含阿糖胞苷 1.006、2.012、4.024、6.036、8.048、10.06 μ g 和内标阿糖腺苷 30 μ g 的溶液, 摇匀, 取 50 μ l 进样, 进行色谱分析, 结果阿糖胞苷及内标的保留时间分别为 4.5 min, 7.9 min。峰型及分离效果良好。以阿糖胞苷与内标的峰面积比值为纵坐标, 浓度为横坐标, 得回归方程式: $y = 0.1612x - 0.0139$ 。($r = 0.9995$, $n = 3$)。

3.2 天内精密度($n = 5$)按 1 所述方法配制含阿糖胞苷 1.006、6.036、10.06 μ g/ml 的溶液, 按选定的色谱条件测定, RSD% 分别为: 1.9、1.3、1.3。

3.3 日间精密度($n = 5$) 上述浓度的阿糖胞苷日间 RSD% 分别为 1.9、1.5、1.5。

3.4 方法回收率($n = 5$) 2 中所述浓度的溶液, 测定阿糖胞苷与内标峰面积比值, 代入标准曲线计

算方法回收率, 结果分别为 100.9%、99.31%、100.5%, 平均为 100.2%。

3.5 本法与药典方法测定样品结果比较 对不同厂家、不同批号的注射用盐酸阿糖胞苷 50 mg 按本法及药典规定的紫外法进行测定, 结果如下表。

厂 家	批号	紫外法测得 百分标示量 ($n = 5$)	本法测得 百分标示量 ($n = 5$)
北医大药厂	921105-1	100.22 $\pm$ 0.397	99.38 $\pm$ 1.0
北医大药厂	900917-1	101.14 $\pm$ 0.372	101.22 $\pm$ 1.5
上海第十二制药厂	930901	99.06 $\pm$ 0.388	98.34 $\pm$ 1.3

4 小结

为注射用盐酸阿糖胞苷的测定, 采用本法与药典的紫外法相比无显著性差异(经 t 检验 $P > 0.05$) 可做为该药测定的另外一种参考方法。

本文采用内标法, 为了使阿糖胞苷与内标充分分离而保留时间又不致过长, 故采用梯度洗脱。

本法曾试用于血浆中阿糖胞苷的测定, 结果内源性杂质无干扰, 分离度及峰型都良好, 可进一步研究用于血药浓度的监测。

参 考 文 献

- 1 中国药典二部. 493.
- 2 Wermeling, JR. et al. Clin. Chem. 1989, 35(6):1011
- 3 Riccardi, A. et al. J. Chromatogr. 1989, 497:302.
- 4 Sinkule, JA. et al. J Chromatogr. 1983, 274:87.

收稿日期: 1995-06-15