

紫外分光光度法测定硫唑嘌呤含量

方卫卫, 林加成, 陈松康, 林大荣 (浙江诚意药业有限公司, 浙江 洞头 325700)

摘要:目的 建立硫唑嘌呤含量测定方法。方法 在 280nm 处采用紫外分光光度法直接测定。结果 硫唑嘌呤在 2.5 ~ 12.5 μg/mL 浓度范围内线性良好, 平均回收率为 99.67 %, RSD = 0.36 % (n = 6)。结论 本方法简便, 快速, 准确, 可用于硫唑嘌呤含量的测定。

关键词: 紫外分光光度法; 硫唑嘌呤; 含量测定

中图分类号: R917.102 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2005)09-0868-02

UV determination of Azathioprine

FANG Wei-wei, LIN Jia-cheng, CHEN Song-kang, LIN Da-rong (Zhejiang Chengyi Pharmaceutical Co., Ltd. Dongtou Zhejiang 325700)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for determination of Azathioprine. **METHOD** Azathioprine was measured by ultraviolet spectrophotometric method at 280nm wavelength. **RESLUTS** The method of Azathioprine had a good Linear relationship in the range of 2.5 ~ 12.5 μg/mL. The average recovery was 99.67 %, and the relative standard deviation was 0.36 %. **CONCLUSION** This method is simple, rapid, reliable and suitable for assay of Azathioprine.

KEY WORDS: Ultraviolet spectrophotometric determination; Azathioprine; Determination of content

硫唑嘌呤 (AZP) 是目前临床上使用最广泛的免疫抑制剂, 系巯嘌呤 (6-mp) 的衍生物, 在体内分解为 6-mp 而起作用^[1]。硫唑嘌呤广泛用于器官移植, 组织存活, 自身免疫性疾病的治疗。传统测定硫唑嘌呤含量的方法用氢氧化四丁基铵非水滴定法^[2], 但此方法在测定中需防二氧化碳的吸收, 而且受温度和水分的影 响, 不易准确测定。中国药典 (2000 年 二部) 采用硫氰酸铵返滴定法^[3], 此法终点难控制。笔者利用其在 280nm 附近有最大吸收这一性质, 用紫外分光光度法 (外标法) 测定硫唑嘌呤含量。上述两种滴定法比较。其结果同两种滴定法测定的结果相当。因此采用紫外分光光度法 (外标法) 可作为测定硫唑嘌呤含量的一种常用方法。

1 试剂与仪器

UV-2501PC 型紫外分光光度仪 (日本岛津), DL53 电位自动滴定仪 (瑞士梅特勒), AE240 电子天平 (瑞士梅特勒), 硫唑嘌呤对照品 (USP REFERENCE STANDARD LOT G-1)。五批硫唑嘌呤 (浙江诚意药业有限公司 批号: 2004-0101, 2004-0102, 2004-0103, 2004-0104, 2004-0105)。所用试剂均为分析纯。

2 实验方法与结果

2.1 硫唑嘌呤贮备液制备

精密称取于 105℃ 干燥至恒重的硫唑嘌呤 (USP 对照品) 75mg 置 100mL 量瓶中, 加 10mL 二甲亚砜溶解, 再用盐酸溶 (9→1000) 稀释至刻度, 摇匀, 即得 0.75mg/mL 的硫唑嘌呤标准贮备液, 待用。

2.2 测定波长的选择

取硫唑嘌呤贮备液 1.0mL 置 100mL 量瓶中, 加盐酸溶液 (9→1000) 稀释至刻度摇匀, 用盐酸溶液 (9→1000) 作空白对照, 在 230 ~ 350nm 波长范围内扫描, 可见硫唑嘌呤在 280nm 吸收有最大吸收峰, 因此可在波长处测定硫唑嘌呤的含量。

2.3 标准曲线的制备

精密移取贮备液适量分别加盐酸溶液 (9→1000) 稀释成硫唑嘌呤浓度为 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5 μg/mL 标准对照溶液, 用盐酸溶液 (9→1000) 作空白参比液, 于 280nm 波长处测定不同浓度硫唑嘌呤溶液的吸光度。结果表明在所测浓度范围内吸光度与浓度呈良好线性关系, 其线性回归方程为 $A = 6.05 \times 10^{-2} C - 3.7 \times 10^{-3}$ (A 为吸光度, C 为浓度), $r = 1.0000$ 。

2.4 回收率试验

按高、中、低浓度精密称取对照品 6 份, 加二甲亚砜溶解, 用盐酸溶液 (9→1000) 配成一定浓度, 依本法进行含量测定, 并计算回收率, 结果见表 1。

表 1 回收试验结果 (n = 6)

Tab 1 Results of Recovery test						
编号	加入量 (μg/mL)	吸光度	测得量 (μg/mL)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	6.15	0.3656	6.11	99.35	99.67	0.36
2	6.24	0.3710	6.20	99.36		
3	7.51	0.4500	7.52	100.13		
4	7.49	0.4464	7.46	99.60		
5	9.27	0.5553	9.28	100.11		
6	8.98	0.5344	8.93	99.47		

2.5 稳定性试验

取上述(2.3)配制的硫唑嘌呤标准液(7.5μg/mL),放置2,4,6,8,10,12 和 24 小时,分别在 280nm 处测定吸收度,结果表明:24h 内硫唑嘌呤溶液稳定性良好(RSD =0.10%)。

2.6 精密度试验

取(2.3)配制的硫唑嘌呤标准液(7.5μg/mL)在 280nm 处连续测定 5 次吸收度,精密度 RSD =0.02%。

取一批硫唑嘌呤(批号为 2004-0101)精密称样品 5 份,按本法测定,其是间精密度为 RSD =0.03%,同法测定日间精密度为 RSD =0.06%。

2.7 三种方法测定结果比较

2.7.1 本法:取五个批号硫唑嘌呤(批号为 2004-0101, 2004-0102,2004-0103, 2004-0104, 2004-0105)和硫唑嘌呤 USP 对照品(LOT G-1)适量分别配成 7.5μg/mL 供试液和对照液,在 280nm 处测含量,并做三次平行,结果见表 2。

2.7.2 非水滴定法(USP 方法):精密称取硫唑嘌呤 300mg,用二甲基甲酰胺 80mL 混合液溶解,加 5 滴 1% 百里香酚蓝的二甲基甲酰胺溶液,用氢氧化四丁基铵滴定液(0.1mol/L)滴定至溶液颜色由黄色变为蓝色,作空白校正。每 1mL 氢氧化四丁基铵滴定液(0.1mol/L)相当于 27.73mg 的硫唑嘌呤。结果见表 2。

2.7.3 硫氰酸铵返滴定法(ChP2000 年 二部):取本品约0.6 g,精密称定,置 200mL 量瓶中,加稀氨溶液 20mL 使溶解,精密加入硝酸银滴定液(0.1mol/L)50mL,加水稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液 100mL,加硝酸(1→2)20mL,放冷

后,加硫酸铁铵指示液 2mL,用硫氰酸铵滴定液(0.1mol/L)滴定,并将滴定的结果用空白试液校正。每 1mL 硝酸银滴定液(0.1mol/L)相当于 27.73mg 的硫唑嘌呤。结果见表 2。

表 2 样品测定结果

Tab 2 The determination results of samples(% n = 2)

批号	非水滴定法 (USP 方法)	紫外法 (本法)	硫氰酸铵滴定法 (ChP2000 法)
2004-0101	100.2 %	100.1 %	99.8 %
2004-0102	99.9 %	100.0 %	100.1 %
2004-0103	100.0 %	99.8 %	99.9 %
2004-0104	100.0 %	99.8 %	99.6 %
2004-0105	100.2 %	100.1 %	99.9 %

3 讨论

鉴于美国药典 27 版非水测定所限条件,以及中国药典的硫氰酸铵返滴定法的终点难控制而言,用紫外分光光度法测定硫唑嘌呤含量操作简便、快速、准确,有其一定的优越性。

参考文献

[1] 陈新谦,金有豫. 新编药理学. 第十二版. 北京:人民卫生出版社,1985:641.
[2] 美国药典 27 版. 美国药典委员会,196-197.
[3] 中国药典 2000 年版二部. 中国药典委员会,852-853.

收稿日期:2005-04-30