

高效液相色谱法测定去氧氟尿苷含量及其有关物质

郝万红¹, 孙红梅²

(1. 山东万杰高科技股份有限公司制药厂, 山东 淄博 255213; 2. 山东淄博万杰医院, 山东 淄博 255213)

摘要: 目的 用高效液相色谱法(HPLC法)测定去氧氟尿苷的含量及其有关物质。方法 采用 Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm 5 μm), 流动相为乙腈-水(1:1), 检测波长为 269 nm, 流速为 0.8 mL/min。结果 去氧氟尿苷质量浓度在 10.0~200.4 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好, $r=0.9999$ ($n=5$), 平均回收率为 100.2%, $RSD=0.14\%$ 。结论 HPLC 法简便、准确, 专属性好, 灵敏度高, 可用于去氧氟尿苷含量及有关物质的测定。

关键词: 去氧氟尿苷; 含量测定; 有关物质; 高效液相色谱法

中图分类号 R927.1+2

文献标识码 A

文章编号 1006-4931(2007)01-0029-02

Determination of the Content of Doxifluridine and Its Related Substances by HPLC

Hao Wanhong¹, Sun Hongmei²

(1. Pharmaceutical Factory, Shandong Wanjie High Tech. Stock Co., Ltd., Zibo, Shandong, China 255213;

2. Wanjie Hospital of Zibo, Shandong Province, Zibo, Shandong, China 255213)

Abstract Objective To establish HPLC method for determination of doxifluridine content and its related substances. **Methods** The column was Diamonsil-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm 5 μm). The mobile phase was acetonitrile-water (1:1). The detection wavelength was 269 nm. The flow rate was 0.8 mL/min. **Results** There was a good linear relationship with the range of 10.0~200.0 μg/mL for determination of the doxifluridine's content, $r=0.9999$ ($n=5$). The average recovery rate was 100.2%, $RSD=0.14\%$. **Conclusion** The method is simple, accurate, sensitive and can be used to determine the content and the related substances of doxifluridine.

Key words: doxifluridine; content determination; related substances; HPLC

去氧氟尿苷^[1](doxifluridine, 5'-DFUR)是 5-氟尿嘧啶(5-FU)的衍生物, 属抗代谢类抗肿瘤药。去氧氟尿苷合成过程中可能引入的杂质是中间体 5'-脱氧-2', 3'-O-异丙基-5-氟尿苷(中间体 A), 笔者采用高效液相色谱法(HPLC法)对去氧氟尿苷含量及已知的有关物质进行了测定。

1 仪器与试剂

日立高效液相色谱仪(日本日立), 包括 L-2130 型泵, L-2400 型紫外检测器, N2000 色谱工作站(浙大智达)。去氧氟尿苷(本厂自制), 去氧氟尿苷对照品(批号为 0404901, 山东省药品检验所标定, 含量按干燥品计为 99.6%); 中间体 A 对照品(批号为 20051102, 江阴市永达化工有限公司, 含量为 99.6%); 乙腈为 HPLC 级, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm 5 μm); 流动相: 乙腈-水(1:1); 检测波长: 269 nm; 流速: 0.8 mL/min; 进样量: 20 μL; 柱温: 室温。

2.2 检测波长选择

分别取去氧氟尿苷与中间体 A 对照品适量, 用流动相溶解并稀释成质量浓度为 10 μg/mL 的溶液, 在 190~400 nm 波长范围内

扫描, 二者均在 269 nm 波长处有最大吸收, 故选择 269 nm 作为测定波长。

2.3 专属性试验

分别取去氧氟尿苷与中间体 A 对照品约 20 mg, 精密称定, 用流动相溶解并稀释成质量浓度为 10 μg/mL 的溶液, 将 2 种溶液分别进样及等比例混合后进样, 各 20 μL, 记录色谱图(图 1)。去氧氟尿苷的保留时间为 3.6 min, 中间体 A 的保留时间为 6.9 min。可见在此色谱条件下两者能够完全分离。

2.4 线性关系考察

取去氧氟尿苷对照品约 25 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得去氧氟尿苷对照品溶液。精密量取对照品溶液适量, 用流动相稀释, 配制成质量浓度为 10.0, 20.0, 50.1, 100.2, 200.4 μg/mL 的系列

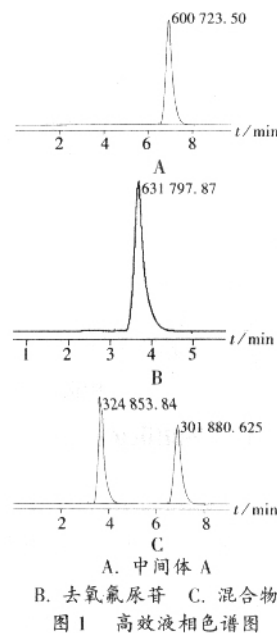


图 1 高效液相色谱图

轻身茶样品中槲皮素的含量, 结果批号为 040911, 040918, 041021, 041030, 041113 的降脂轻身茶中槲皮素的含量分别为 0.107 2, 0.104 5, 0.085 6, 0.101 7, 0.100 3 mg/g。

3 讨论

3.1 食凉茶系浙江省丽水地区畲族习用药材, 其主要成分为黄酮类和生物碱类。

3.2 经试验比较, 在新选的几种流动相中甲醇-水-磷酸系统的峰形最好, 故确定以甲醇-水-磷酸(55:45:0.2)为流动相。以此为溶剂, 发现槲皮素在 254 nm 波长处有最大吸收, 因而确定 254 nm 为检测波长。

3.3 供试品溶液的最佳制备方法最终确定为加盐酸, 并以甲醇为提取溶剂, 超声提取 30 min。

参考文献:

- [1] 王宝. 中成药质量标准与标准物质研究[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1994: 23-30.
- [2] 边清泉, 杨振萍. RP-HPLC 测定槐角丸中槲皮素和染料木素的含量[J]. 中成药 2005; 27(7): 766-769.
- [3] 虞金宝, 吕武清. HPLC 测定田基黄注射液槲皮素含量[J]. 中成药, 2005; 27(1): 100-101.

(收稿日期 2006-05-10; 修回日期 2006-07-18)

溶液。分别进样 20 μL , 记录色谱图。以峰面积(Y)对浓度(X)进行线性回归, 回归方程为 $Y = 56\,530X - 23\,258$, $r = 0.9999$ ($n = 5$)。结果表明, 去氧氟尿苷质量浓度在 10.0 ~ 200.4 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

2.5 精密度试验

分别取专属性试验中的去氧氟尿苷与中间体 A 对照品溶液各 20 μL , 连续进样 5 次。结果峰面积的 RSD 分别为 0.48% 和 0.54%, 表明两种溶液进样精密度良好。

2.6 溶液稳定性试验

分别取专属性试验中的去氧氟尿苷与中间体 A 对照品溶液, 分别在 0, 1, 2, 3, 4 h 时各进样 20 μL 。结果峰面积的 RSD 分别为 0.72% 和 0.90%, 表明两种溶液在 4 h 内均稳定。

2.7 回收率试验

取线性关系考察项下对照品溶液 20.0, 50.0, 100.0 $\mu\text{g/mL}$ 3 种质量浓度及其峰面积, 以 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度为中值, 计算相邻两点的回收率。结果为 100.1% 和 100.3%, 平均值为 100.2%, $RSD = 0.14\%$ 。

2.8 最小检测限确定

取线性关系考察中对照品溶液, 稀释, 以基线噪声的 3 倍对最小检测限进行检测。经测定, 去氧氟尿苷的最小检测限为 0.002 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.9 样品含量测定

取去氧氟尿苷约 10 mg, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 再精密量取 5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 作为供试品溶液; 另取经减压干燥至恒重的去氧氟尿苷对照品约 10 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 再精密量取 5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至

刻度, 作为对照品溶液。分别量取上述两种溶液 20 μL , 注入高效液相色谱仪, 测定峰面积, 按外标法以峰面积计算含量。结果 3 批样品中去氧氟尿苷含量分别为 98.9%, 99.0% 和 99.6%。

2.10 样品中有关物质检测

取去氧氟尿苷约 20 mg, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液; 精密量取供试品溶液 1 mL, 置 100 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为对照溶液; 另精密称取中间体 A 对照品适量, 用流动相溶解并稀释至 2 $\mu\text{g/mL}$, 作为对照品溶液。取对照溶液 20 μL , 注入液相色谱仪, 调节检测灵敏度, 使主成分色谱峰的峰高为满量程的 10% ~ 20%; 另精密量取供试品溶液、对照溶液、对照品溶液各 20 μL , 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图至主成分峰保留时间的 2 倍。在供试品溶液色谱图中, 如有与对照品溶液主峰相应的杂质峰, 则将其峰面积与对照品溶液主峰面积进行比较, 将其他各杂质峰面积之和与对照溶液主峰面积进行比较。

3 讨论

中间体 A 结构中含异丙基, 极性较去氧氟尿苷小, 若采用乙腈-水(1:1)为流动相, 则去氧氟尿苷与中间体 A 均能被检出, 两个峰能完全分离, 且峰形较好。笔者曾采用 HPLC 法对去氧氟尿苷中有关物质的检查方法进行过研究, 现采用同一方法对其含量进行测定, 结果准确, 操作简单, 故可以用本方法同时对去氧氟尿苷原料药含量及有关物质进行检测。

参考文献:

- [1] 王 惠. 抗恶性肿瘤新药——去氧氟尿苷[J]. 中国临床药理学杂志, 1996, 5(3): 126-127.

(收稿日期 2006-02-17; 修回日期 2006-05-13)

强力脑清素片中五味子、鹿茸的薄层鉴别

李明军, 肖 静

(山西亚宝药业集团股份有限公司, 山西 芮城 044602)

摘要: 目的 探讨强力脑清素片(五味子、鹿茸)的质量标准。方法 建立处方中五味子、鹿茸的薄层鉴别方法。结果 薄层图谱斑点清晰, 阴性对照无干扰。结论 方法可靠, 操作简便, 适用于该制剂的质量控制。

关键词: 五味子; 鹿茸; 薄层鉴别; 强力脑清素片

中图分类号 R284.1 R286

文献标识码 A

文章编号 1006-4931(2007)01-0030-02

TLC Identification of *Fructus Schisandrae chinensis* and *Cornu Cervi Pantotrichum* in Qiangli Naoqingsu Tablets

Li Mingjun, Xiao Jing

(Shanxi Yabao Pharmaceutical Co., Ltd., Ruicheng, Shanxi, China 044602)

Abstract Objective To study the quality standard of Chinese drug in compound Qiangli Naoqingsu tablets (*Fructus Schisandrae chinensis*, *Cornu Cervi Pantotrichum*). **Methods** To set up the thin layer chromatogram differentiation method for *Fructus Schisandrae chinensis*, *Cornu Cervi Pantotrichum*. **Results** TLC spots developed were fairly clear, and the blank test showed no interference. **Conclusion** The method is fast, simple and can be used for quality control of Qiangli Naoqingsu tablets.

Key words: *Fructus Schisandrae chinensis*; *Cornu Cervi Pantotrichum*; thin layer identification; Qiangli Naoqingsu tablets

强力脑清素片由刺五加浸膏、五味子流浸膏、鹿茸精、甘油磷酸钠按处方配比加适量辅料混匀、低温干燥、压片、包薄膜衣制得^[1], 具有补肾健脾、养血安神的功效, 用于治疗脾肾两虚、心神失养引起的心悸失眠、食欲不振、神疲乏力、尿频阳痿、神经衰弱, 非器质性性功能衰退及妇女更年期综合征见上述症状者。原标准中定性鉴别仅有刺五加而无五味子、鹿茸^[1]。为控制产品内在质量, 确保临床疗效, 笔者建立了产品中五味子、鹿茸的薄层鉴别方法, 现报道如下。

1 仪器与试剂

ZF-2 型三用紫外仪(上海安亭仪器厂); AS3120 型及 SB3200 型超声处理器, FA1004 型电子天平, 101C-2 型烘箱, 均由上海实验仪器厂生产; 常规玻璃仪器, 硅胶 G 和硅胶 GF254 薄层板(青岛海洋化工厂); 甲酸(化学纯, 北京红星化工厂); 其他试剂均为分析纯(天津市博迪化工有限公司); 五味子乙素对照品(批号为 110765-200205, 供含量测定用); 五味子对照药材(批号为 110922-200505)均由中国药品生物制品检定所提供; 强力脑清素片(山西亚宝药业集团股份有限公司, 批号为 20040506)。

2 方法与结果