

高效离子交换色谱法测定埃本膦酸钠

胡名扬, 周杏琴, 王博诚

(江苏省原子医学研究所核医学国家重点实验室, 江苏 无锡 214063)

摘要: 采用高效离子交换色谱法, 在流动相中加入二价铜离子, 利用埃本膦酸钠通过流动相时与铜离子能形成紫外吸收的络合物的性质, 在 240nm 波长下检测, 所用柱为 DEAE 离子交换柱。方法的最低检测质量浓度为 6mg/L 线性回归系数为 0.9989。方法简便, 重现性好。同时考察了 pH 及有机溶剂对平衡分配的影响。

关键词: 高效离子交换色谱法; 埃本膦酸钠; 络合物

中图分类号: O658; R9

文献标识码: B

文章编号: 1000- 8713(2000)03- 0254- 02

1 前言

埃本膦酸钠(简称 BM)是一种二膦酸盐化合物, 是防治骨质疏松症的国家一类新药。因其结构中缺少发色基团, 且不具备电化学特性, 不能用紫外、荧光或电化学方法检测, 给药物分析带来了一定的困难。曾有文献报道某些类似的二膦酸盐用高效离子色谱与柱后钼-抗坏血酸盐反应相结合进行检测^[1], 单柱离子色谱间接紫外检测^[2], 或采用离子电导检测器检测^[3]、火焰光度检测器检测^[4]、电感耦合等离子体检测器检测^[5]。对 BM 的分析至今未见报道。本文采用离子交换色谱法直接测定 BM。

吸收, 最大吸收波长为 238nm。选择 240nm 作为 BM 的检测波长。BM 的色谱图见图 1。

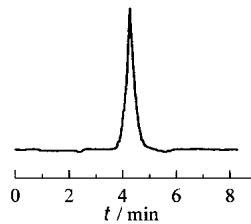


图 1 BM 的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of BM

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

高效液相色谱系统: MODEL 2800 溶剂系统, BIO- DIMENSION UV/VIS 检测器, 7125 手动进样器, Bio- Rad HPLC 积分软件。水为二次去离子水, 其余试剂为分析纯, 所有试剂和样品均经过 0.45 μ m 过滤器过滤并脱气。样品由本室提供。

2.2 色谱条件

固定相为 Bio- Gel DEAE- 5PW 离子交换柱 (75mm 7.5mm i.d.), 连接有 Bio- Gel HPHT Guard 柱 (50mm \times 4.0mm i.d.); 流动相为甲醇-水溶液(体积比为 10: 90, 内含 5 μ mol/L 硝酸铜, pH 约为 2.5)。灵敏度为 0.01 AUFS 柱温为室温, 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 240 nm。

3.1.2 pH 值对保留时间的影响 在离子交换达到平衡时, 保留值决定于平衡常数 K , 同时也依赖于溶质的解离常数 pK_a , 和流动相的 pH。DEAE 为弱碱性阴离子交换剂, pH 值对弱酸性或弱碱性的交换剂有较大的影响; BM 为弱酸性化合物, pH 约为 4.6, 它首先与流动相中铜离子形成络合物, 然后参与离子交换竞争。调节不同的 pH 值试验, 保留时间与 pH 值的关系见图 2。

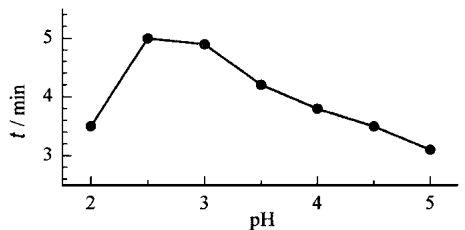


图 2 流动相的 pH 对保留时间的影响

Fig 2 The effects of mobile phase pH on retention time

3 结果与讨论

3.1 色谱条件的选择

3.1.1 波长的选择 将 BM 用水溶解, 以含硝酸铜的甲醇水溶液为流动相, 采用二极管阵列检测器在 200~ 300nm 内扫描, 发现 BM 在 215, 238nm 处有强

3.1.3 有机溶剂对容量因子的影响 在水溶液作为流动相的离子交换体系中, 添加少量有机溶剂能

收稿日期: 1999- 05- 14; 修回日期: 1999- 07- 16

基金项目, 国家“九五”攻关项目(批准号 96- 906- 05- 05)

作者简介: 胡名扬(1965-), 男, 硕士, 副研究员, 电话: (0510)5516244, E-mail: jsnm@public1.w.x.js.cn.

明显影响平衡分配。在洗脱液中加入甲醇能加快其洗脱速度, 但当 α (甲醇) 增加到一定值时, 对峰形有较大的影响。当 α (甲醇) 大于 50% 时峰形变宽并扩散。选择体积分数为 10% 的甲醇水溶液作流动相, BM 有适宜的保留时间和较好的峰形。图 3 显示了在流动相中添加不同的甲醇量对容量因子的影响。

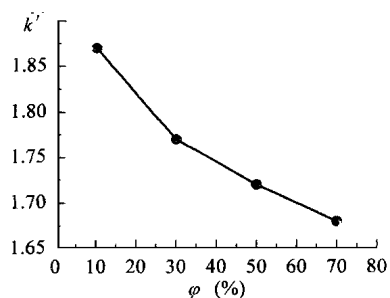


图 3 甲醇的体积分数对 k' 的影响
Fig. 3 The effects of methanol volume fraction on k'

3.2 线性范围

精确称取干燥恒重的 BM 75 mg, 用水溶解在 50 mL 的容量瓶内, 定容, 作为贮备液。精确量取 2, 4, 6, 8, 10 mL 贮备液在 10 mL 容量瓶内定容, 用峰面积(y)对质量浓度 P (mg/L) 作图, 其线性回归方程为 $y = 12.535P - 428.263$, 相关系数为 0.9989, 在 300~1500 mg/L 范围内呈良好的线性关系。

3.3 检测极限

用浓度稀释法在信噪比为 2:1 时, 测得最低检测质量浓度为 6 mg/L, 最低检测量为 0.06 μ g。

3.4 重复性试验

取 600 mg/L 的 BM 溶液重复进样 6 次, 积分面积分别为 7180.019, 7125.292, 7153.595, 7193.817,

7158.426, 7117.163, RSD 为 0.8%。

3.5 样品测定

取 5 个批号的 BM 在相同条件下测定, 得 ω (BM) 值分别为 99.7%, 99.5%, 97.6%, 98.5% 和 99.5%。

3.6 片剂测定

取 BM 片剂 9 片, 分别置于 9 个 5 mL 容量瓶内, 用水溶解, 定容。将不溶物过滤除去。取 20 μ L 进样, 则编号 1~9 的片剂的测定量依次是标示量的 95.5%, 97.4%, 103.2%, 100.6%, 99.8%, 109.1%, 110.4%, 96.4% 和 105.9%。

3.7 结语

在洗脱液中加入一定浓度的铜离子, 能与 BM 有效地络合, 其络合物具有较强的紫外吸收, 不需进行柱后衍生反应, 或用特殊的检测器检测。在作片剂测定时, 对其主要添加剂进行了考察, 片剂中的不溶物为硬酯酸镁、乳糖、微晶纤维素等对检测无影响。回收率接近 100%, 重复性好, 结果令人满意。

参 考 文 献

- Hirai Y, Yoza N, Ohashi S. J Chrom atogr, 1981, 206, 501- 509
- Thompson R, Grinberg N, Perpall H et al. J Liquid Chrom atogr, 1994, 17(11): 2511-2531
- Tsai E, IP D P, Brooks M. J Chrom atogr, 1992, 596; 217- 224
- Chester T, Lewis C, Benedict J et al. J Chrom atogr, 1981, 225: 17- 25
- Forbes K, Vecchiarelli J, Uden P et al. Advances in ionchrom atography. Franklin: Century Int. Inc., 1989. 487-502

Determination of Ibandronate by High Performance Ion Exchange Chromatography

HU Ming- yang, Zhou Xing- qin, WANG Bo- cheng
(National Laboratory of Nuclear Medicine, Jiangsu Institute of Nuclear Medicine, Wuxi 214063, China)

Abstract: A method for the determination of Ibandronate by high performance ion exchange chromatography is reported. Ibandronate can form a complex compound with the copper ion added in the mobile phase. The complex can be detected at UV 240 nm. The effects of pH of mobile phase and concentration of methanol to the retention time were studied. Concentration of 10% methanol and pH 2.5 were suitable for the detection in less than 5 min. The flow rate was 1.0 mL/min. The relative standard deviation of peak area was 0.8%. The linear correlation was observed from 300 mg/L to 1500 mg/L of Ibandronate ($r = 0.9989$). The lowest detectable concentration of Ibandronate was 6 mg/L. The method is simple, rapid and reproducible.

Key words: high performance ion exchange chromatography; Ibandronate; complex