

甲醇沉淀不及乙腈完全, 所以选用乙腈作为蛋白沉淀剂。

实验中发现, 当缓冲液 pH 值越大, MTX 峰的保留时间越大, 当 pH 值在 6.6 时, MTX 峰的保留时间适中, 峰型较好, 且与其他内源性物质峰、MTX 代谢产物峰、溶剂峰等互不干扰。提取色谱峰的紫外扫描光谱, 发现 MTX 的最大吸收波长为 306 nm。在选择内标物时, 曾用阿魏酸、甲硝唑等实验, 发现其保留时间分别在 5 min 和 7 min, 与内源性物质峰叠加。后发现茶碱在 254 nm 处有最大吸收, 且不受其他物质干扰, 利用 DAD 检测器的特点, 将检测波长选为 MTX 306 nm 和茶碱 254 nm, 提高了检测灵敏度, 结果满意。

大剂量 MTX 配合四氢叶酸钙片解救是目前骨肉瘤化疗中最重要的方案之一。大剂量 MTX 在提高疗效的同时, 化疗不良反应也随之增加, 有文献^[7]报道大剂量 MTX 的化疗致死率接近 6%。文献^[2]指出, MTX 的浓度如 24 h $>10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、48 h $>1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、72 h $>0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 有可能出现不可逆的不良反应。因此, 在大剂量 MTX 化疗过程中应采取一些必要措施以尽可能减少不良反应的发生。四氢叶酸钙片解救是降低大剂量 MTX 不良反应的重要手段。笔者建议, 在大剂量 MTX 静滴结束后 18 h 开始分次给予四氢叶酸钙片解救, 解救剂量一般为 q6h 口服 15 mg。对 MTX 用药后 24, 48, 72 h

血药浓度进行检测, 若大于安全值, 则增加四氢叶酸钙片的解救次数及剂量, 必要时改为静脉滴注, 直至 MTX 浓度降至较安全范围内, 同时进行碱化尿液, 使尿 pH 值 >7 以促进 MTX 排泄, 防止 MTX 在体内蓄积造成不可逆的不良反应。

REFERENCES

- [1] BI S J, WANG A L, GUO X J. High-dose methotrexate chemotherapy adverse reactions of observation and prevention [J]. China Health Innov(中国医疗前沿), 2012, 7(16): 84-85.
- [2] FOTOHI K, SKARBY T, SODERHALL S, et al. Interference of 7-hydroxymethotrexate with the determination of methotrexate in plasma samples from children with acute lymphoblastic leukemia employing routine clinical assays [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2005, 817(2): 139-144.
- [3] LI J H. Method and Application of Clinical Therapeutic Drug Monitoring(临床治疗药物监测的方法和应用) [M]. Vol 1. Beijing: People's Medical Press, 2003: 119-120, 123-124.
- [4] XIE J P, FENG L L, KUANG X. Determination of high-dose methotrexate in patients with blood drug concentration by HPLC [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2010, 16(11): 69-71.
- [5] ZHOU J Y, SUN Z X, ZHANG Q F. Determine of methotrexate concentration in human plasma by HPLC [J]. China Pharm(中国药师), 2011, 14(3): 373-374.
- [6] MAO Y L, WANG F. Determine of methotrexate concentration in human plasma by HPLC [J]. Cent South Pharm(中南药学), 2008, 6(6): 678-680.
- [7] JIANG Z J, ZHANG Z Y, HUANG HY, et al. Modern Oncology(现代肿瘤学) [M]. Vol 2. Shanghai: Shanghai Medical University Press, 2000: 1369-1370.

收稿日期: 2013-11-21

格列齐特片(II)含量测定和有关物质检测方法改进

黄朝辉¹, 蔡丹丹², 周征¹(1.宁波市药品检验所, 浙江 宁波 315048; 2.宁波戒毒研究中心, 浙江 宁波 315010)

摘要: 目的 解决中国药典 2010 年版收载的格列齐特片(II)药品标准中含量测定和有关物质检测方法中供试溶液不稳定的问题。方法 以乙腈取代 40%乙腈水溶液为溶剂配制供试品溶液, 采用 C₁₈ 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm), 流动相为水-乙腈-三乙胺-三氟醋酸(60:40:0.1:0.1), 流速为 1.5 mL $\cdot\text{min}^{-1}$, 柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$, 检测波长为 235 nm, 样品盘温度为室温。结果 格列齐特片(II)含量测定和有关物质检测项下各供试溶液在 24 h 内稳定。含量测定在 20~500 mg $\cdot\text{L}^{-1}$ 内线性关系良好, r 值为 0.999 9, 加样回收率为 100.1%, 分析方法的定量下限为 0.5 mg $\cdot\text{L}^{-1}$, 检测限为 0.1 mg $\cdot\text{L}^{-1}$ 。结论 该方法解决了原标准中供试溶液极不稳定的弊端, 提高了检测结果的可信度和检测效率。

关键词: 格列齐特片(II); 含量测定; 有关物质

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)06-0741-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.06.026

Improvement in the Methods for Content and Related Substances Determination of Glielazide Tablets(II)

HUANG Zhaohui¹, CAI Dandan², ZHOU Zheng¹(1.Ningbo Institute for Drug Control, Ningbo 315048, China; 2.Ningbo Drug Research Center, Ningbo 315010, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To improve the methods for content and related substances determination of Glielazide tablets(II)
METHODS The test solutions were made by acetonitrile instead of 40% acetonitrile aqueous solution. Chromatography was carried on a C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) with the column temperature at 35 °C, using water-acetonitrile-triethylamine-tirfluoroacetic acid(60 : 40 : 0.1 : 0.1) as mobile phase at a flow rate of 1.5 mL·min⁻¹. The detective wavelength was set at 235 nm. The sample tray was at room temperature. **RESULTS** The test solutions of Glielazide tablets(II) were stable in 24 h. The method had good linear relationships in 20–500 mg·L⁻¹(*r*=0.999 9), average recovery was 100.1%. The limits of quantitation and detection were 0.5 mg·L⁻¹ and 0.1 mg·L⁻¹, respectively. **CONCLUSION** The method improves the efficiency and reliability of test by resolving the problem of instability in the original standard.
KEY WORDS: Glielazide tablets(II); content determination; related substance

格列齐特为第2代磺酰脲类口服降糖药,格列齐特片(II)收载于中国药典2010年版二部^[1],该标准含量测定和有关物质检查项下供试品溶液稳定性差,均要求临用新制,造成检测效率低下,实验条件苛刻,实验失败风险较大。本实验通过改变配制供试品溶液所用溶剂,提高了供试品溶液的稳定性,解决了原标准中这一严重缺陷。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), 色谱柱为 Agilent C₁₈ 键合硅胶柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); SB-5200DTN 超声波清洗器(宁波新芝生物科技股份有限公司); R200 D 型电子分析天平(德国赛多利斯公司)。

乙腈(HPLC 级, 默克公司); 三乙胺(色谱纯, TEDIA 公司); 三氟乙酸(色谱纯, TEDIA 公司); 水为超纯水; 格列齐特对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 100269-201004, 纯度: 99.9%), 格列齐特片(II)2 批(天津华津制药有限公司, 批号: 2J720T, 2J723T)。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

取格列齐特对照品 20 mg, 精密称定, 置 20 mL 量瓶中, 加乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液。

2.2 供试品溶液制备

2.2.1 含量测定供试品溶液的制备 取供试品 0.2 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加乙腈 40 mL, 超声提取 15 min, 放冷至室温, 用乙腈稀释至刻

度, 摇匀, 滤过; 精密量取 5.0 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加乙腈稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 备用。

2.2.2 有关物质检查供试品溶液的制备 取供试品 0.2 g, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加乙腈 80 mL, 超声提取 15 min, 放冷至室温, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 备用。

2.3 色谱条件及系统适用性试验

色谱柱: Agilent C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 水-乙腈-三乙胺-三氟醋酸(60 : 40 : 0.1 : 0.1), 流速为 1.5 mL·min⁻¹, 柱温为 35 °C, 样品盘未控温, 进样量: 20 μL。

2.4 线性关系考察和定量下限的确证

分别精密量取对照品储备液 5.0, 2.0, 1.0, 0.5, 0.2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用乙腈定容至刻度, 摇匀, 得到系列对照品溶液, 按“2.3”项下色谱条件进行测定。以对照品浓度(mg·L⁻¹)为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 计算回归方程为 $Y=24.459X-36.504$, 格列齐特在 20~500 mg·L⁻¹ 内线性关系良好, *r*=0.999 9。定量下限为 0.5 mg·L⁻¹ (*n*=6, RSD=1.0%), 检测限为 0.1 mg·L⁻¹。

2.5 仪器精密度试验

精密吸取对照品溶液(浓度为 50 mg·L⁻¹)20 μL, 按“2.3”项下色谱条件, 连续进样 5 次, 测定峰面积, 计算 RSD(*n*=5)为 0.90%, 表明该实验条件下具有良好的仪器精密度。

2.6 稳定性试验

2.6.1 含量测定供试品溶液稳定性试验 取“2.2.1”项下制备的含量测定供试品溶液 1 份,

分别于制备后 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样, 测定化合物峰面积, 计算 RSD($n=6$)为 1.5%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.6.2 有关物质检查供试品溶液稳定性试验 取“2.2.2”项下制备的供试品溶液, 同时按照药典标准制备有关物质检查供试品溶液, 考察二者的稳定性。按照原标准配制的供试溶液, 在样品盘不控温和柱温为 35 °C 时, 2 h 后即产生降解产物, 24 h 后该降解产物峰非常明显, 而用乙腈制备的供试品溶液则在 24 h 内稳定。结果见图 1。

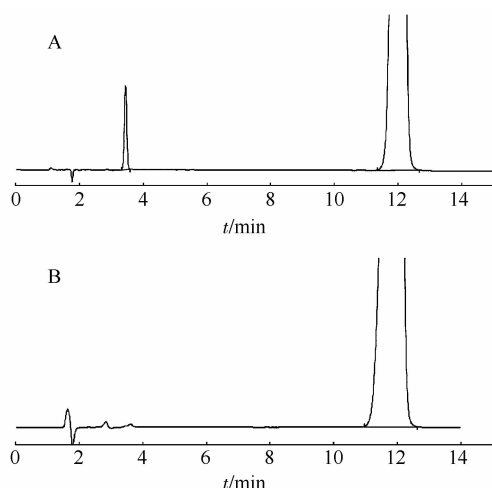


图 1 2 种溶剂所配制供试品溶液 24 h 后液相色谱图

A-40%乙腈溶液; B-乙腈

Fig 1 HPLC chromatograms of two solutions 24 h after fomulation with different solvent

A-40% acetonitrile aqueous solution; B-acetonitrile

实验还考察了不同浓度乙腈溶液配制的供试品溶液在不同温度放置不同时间对有关物质的影响, 结果见表 1。

表 1 不同条件下有关物质检查结果

Tab 1 Results of related substances on different conditions

放置 时间/h	有关物质含量/%							
	40%乙腈		60%乙腈		80%乙腈		100%乙腈	
	15 °C	35 °C	15 °C	35 °C	15 °C	35 °C	15 °C	35 °C
0	0.04	0.04	0.04	0.03	0	0	0	0
2	0.06	0.28	0.07	0.33	0.06	0.31	0	0
4	0.08	0.40	0.08	0.46	0.07	0.45	0	0
8	0.15	0.62	0.14	0.65	0.15	0.18	0	0
24	0.22	1.10	0.20	1.20	0.19	1.05	0	0

2.7 回收率试验

取供试品细粉 0.02 g, 共取 9 份, 分别置 50 mL 量瓶中, 分为 3 批, 每批 3 份, 各分别加入对照

对照品 8, 10 和 12 mg, 加乙腈 40 mL, 超声提取 15 min, 放冷至室温, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀, 滤过。分别精密吸取 20 μ L, 依法测定。3 个水平的回收率分别为 98.5%, 99.2%, 102.5%, 平均回收率为 100.1%。

2.8 样品测定

取供试品 0.2 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 分别按照药典标准和“2.2.1”项下方法制得供试品溶液。按“2.3”项下的色谱条件测定。结果见表 2。

表 2 2 种方法含量测定结果

Tab 2 Results of content of two methods

方法	含量/%	回收率/%	柱效	对称性
原方法	100.1	100.5	4 200	0.64
新方法	101.4	100.1	4 150	0.82

3 讨论

在日本药局方^[2]和欧洲药典^[3]收载的格列齐特原料药以及英国药典^[4]收载的格列齐特片的检测标准中, 都是先用乙腈溶解样品, 然后用乙腈的水溶液配制成最终的供试溶液, 且均要求临用前新配。中国药典 2010 年版收载的格列齐特片(II)检测标准基本沿用了英国药典的标准。

格列齐特在有水存在条件下对热不稳定, 会水解生成对甲苯磺酰胺^[5]。原标准所配制的供试品溶液在室温下不稳定, 给实验工作造成很大困扰。究其原因, 就在于配制溶液使用的是 40%乙腈水溶液。实验发现, 使用某国产色谱纯乙腈制备的供试品溶液也检出杂质峰, 且峰面积随时间增加很快。该乙腈经过无水硫酸钠干燥过夜处理后制备的供试品溶液则接近达到用默克公司色谱纯乙腈制备的供试品溶液的稳定性。

其实, 格列齐特及其杂质都具有较好的脂溶性, 在乙腈或甲醇中的溶解度比在水中大, 因此, 样品制备过程中完全不必要加入水。

原标准因为选用配制溶剂不科学严谨, 导致供试溶液不稳定, 需要临用新制, 造成检测效率低下, 并增加了实验失败的风险。

本实验从原理上探讨了原标准中的不足之处, 建立了稳定的供试品溶液配制方法, 提高了检测效率和检测结果可信度, 完善了格列齐特片(II)质量控制方法。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2010)Vol II(中国药典 2010 年版. 二部)[S]. 2010: 810.
[2] JP XVI [S]. 2011: 883
[3] EP 7.0 [S]. 2011: 2096-2097
[4] BP.2012 [S]. 2012 Vol III: 2869
[5] WANG G A. Investigation of the impurities of glielazide listed in the European Pharmacopoeia [J]. Ningbo Chem Ind J(宁波化工), 2006(3/4): 16.

收稿日期: 2013-09-11

“天保宁杯”药品未注册用法有奖征文活动通知

药品未注册用法(unlabeled uses, off-label uses, out-of label usage or outside of labeling), 是指药品使用的适应症、给药方法或剂量不在药品监督管理部门批准的说明书之内的用法, 其具体含义包括给药剂量、适应人群、适应症或给药途径等与药品说明书不同的用法。目前, 我国尚未就“药品未注册用法”立法, 关于“药品未注册用法”的文献报道极少, 也很少有指南帮助区分有证据支持的超说明书用药和无证据支持的超说明书用药。但是, 由于药物使用过程中不断有新的经验积累与发现, 加之药物临床试验和药品说明书更新滞后, 超说明书用药在医疗行为中不可避免。国外一项对普通成人用药情况进行的调查资料显示, 20%的处方存在未注册用法用药情况。“药品未注册用法”具有其存在的合理性和不可替代性, 全球有 6 个国家已经对其立法, 包括美国、德国、意大利、日本、荷兰和新西兰。

为促进我国“药品未注册用法”的使用规范, 推动合理的“药品未注册用法”的工作开展, 进一步探索门诊和临床的合理用药, 《中国现代应用药学》杂志将开设“药品未注册用法”专栏, 并与浙江康恩贝医药销售有限公司联合举办“天保宁杯”药品未注册用法有奖征文活动, 对 2014 年 5 月 1 日—2015 年 4 月 30 日刊登于本刊“药品未注册用法”专栏的银杏叶相关优秀论文进行奖励。

一、征文内容

1. 关于“药品未注册用法”的调查研究;
2. 关于“药品未注册用法”具有深度的分析和思考;
3. “药品未注册用法”的具体案例分析和研究;
4. “药品未注册用法”的立法或规范研究;
5. “药品未注册用法”存在的问题剖析和应对方法;
6. 中成药如何鉴定“药品未注册用法”的探讨;
7. 中成药在“药品未注册用法”方面的特殊性和适用性研究;
8. 中成药“药品未注册用法”的具体案例分析和研究;
9. 其他有关“药品未注册用法”的研究。

二、征文要求

1. 应征论文未在国内公开发行的期刊或媒体上发表过, 论文的设计和撰写符合《中国现代应用药学》杂志的征稿简则;

2. 在《中国现代应用药学》投稿网站上进行投稿, 并备注为“药品未注册用法”征文;
3. 论文字数在 5000 字以内为宜, 应附中英文摘要。

三、征文评奖办法

由《中国现代应用药学》杂志编辑部、国内著名专家组成的“药品未注册用法”专栏评审委员会, 对所刊登的征文进行公开、公正的评审, 奖项设置为:

- 一等奖论文 1 篇, 每篇 5000 元奖金或同等价值物品;
- 二等奖论文 2 篇, 每篇 3000 元奖金或同等价值物品;
- 三等奖论文 5 篇, 每篇 1000 元奖金或同等价值物品。