

性回归方程为 $y = -0.0115 + 0.7174x$,
 $r = 0.9999$ 。

二、配制含小檗碱 $3.698 \mu\text{g}/\text{ml}$, $10.884 \mu\text{g}/\text{ml}$ 的血浆样品作批间日内精密度和批间日间精密度的试验。结果见表一。日内平均精密密度为 1.79% , 日间平均精密密度为 3.66% 。

表1 精密密度试验

| 加样量 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 日内 (n=6) | | 日间 (n=3) | |
|------------------------------------|-----------------------|-----------|-----------------------|-----------|
| | 测定量 ($X \pm SD$) | CV (%) | 测定量 ($X \pm SD$) | CV (%) |
| 3.268 | 3.2916 ± 0.066 | 1.99 | 3.280 ± 0.118 | 3.59 |
| 10.884 | 9.936 ± 0.518 | 1.59 | 9.960 ± 0.372 | 3.73 |
| | | 1.79 | | 3.66 |

表2 回收率试验 (n=5)

| 加样量 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 测定量 ($X \pm SD$) | 回收率 ($X \pm SD$) | 平均回收率 (%) |
|------------------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------|
| 1.814 | 1.811 ± 0.037 | 99.82 ± 2.06 | 95.03 |
| 3.628 | 3.308 ± 0.144 | 91.19 ± 3.97 | |
| 5.442 | 5.147 ± 0.112 | 94.58 ± 2.05 | |
| 7.256 | 6.878 ± 0.137 | 94.78 ± 1.89 | |
| 9.070 | 8.680 ± 0.117 | 95.71 ± 1.29 | |
| 10.884 | 10.256 ± 0.283 | 94.23 ± 2.60 | 95.03 |
| 12.698 | 12.081 ± 0.069 | 95.14 ± 0.54 | |
| 14.511 | 13.757 ± 0.168 | 94.80 ± 1.16 | |

精密配制含小檗碱 $1.814 \sim 14.511 \mu\text{g}/\text{ml}$ 的无水乙醇溶液, 依法进行二阶导数光谱测

定。以小檗碱乙醇溶液的测定值为 100% , 考察健康人血浆中加入小檗碱标准液后的回收率, 结果见表2。平均回收率为 95.03% 。

三、小檗碱的乙醇溶液在 267nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 769), 347nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 580), 426nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 125) 处分别具有最大吸收⁽⁵⁾。经无水乙醇直接沉淀蛋白后由上清液在 300nm 以下的基线干扰十分强烈, 故测定波长范围选用 $300 \sim 400 \text{nm}$ 。空白血浆由二阶导数光谱表明, 血浆样品基本上不干扰小檗碱的定量测定。

四、利用本法亦可对组织匀浆中的小檗碱的含量进行定量测定, 为检测生物样品中高浓度的小檗碱提供了方便。同时也可为进一步筛选生物样品中小檗碱的分离、净化与富集的方法提供一个简便、迅速、可靠的检测手段。

参 考 文 献

1. 古冢敏夫: 大取医科大学杂志, 17 (1): 19 (1957)
2. Koualewski Zdzislaw, et al: CA V37 5043
3. Bhide MB, et al: Ind Jour Med Res 57 (11): 2128, 1969
4. Miyazaki Hiroshi et al: J Chromatogr 152 (1): 79 1978
5. 沈克温等: 实用药物分离鉴定手册 第一版 北京人民军医出版社 1986; 266

高效液相色谱法测定复方新诺明片的含量

上海医科大学仪器分析中心室

刘德林 胡 斯* 丁秦雯

提要: 本文用高效液相色谱法, 采用国产填料 YWGC18 装填的色谱柱, 甲醇: 醋酸- NH_3 水缓冲液 (45:55) 为流动相, 非那西丁为内标, 对复方新诺明片中的磺胺甲基异恶唑和甲氧苄氨嘧啶进行含量测定, 并做线性关系和回收率测定, 方法简便、快速准确, 可作为复方新诺明片含量测定方法。

*上海医科大学药学专业90届夜大毕业生。

复方新诺明片含磺胺甲基异恶唑(SMZ)、甲氧苄氨嘧啶(TMP)。复方新诺明片的含量测定,中国药典(1985版)⁽¹⁾规定,磺胺甲基异恶唑,照永停滴定法,用亚硝酸钠液滴定,甲氧苄氨嘧啶用分光光度法测定,美国药典(1985版)⁽²⁾,用高效液相色谱法测定,前者操作繁冗,分析时间长,后者用乙腈—1%醋酸为流动相,保留时间长且乙腈毒性较大,价格昂贵,作者参考了有关文献⁽³⁾,采用国产填料YWG18装填的反相柱,改用甲醇—缓冲液为流动相,非那西丁为内标,设计了较好的色谱条件,方法简便,快速,结果较满意。

一、标准品、样品、试剂

标准品:磺胺甲基异恶唑(SMZ),甲氧苄氨嘧啶(TMP)(上海药品检验所提供),非那西丁(内标)为有机分析标准试剂。

样品:复方新诺明片(市售品)

试剂:甲醇为AR级试剂,并经微孔滤膜过滤。冰醋酸、氨水为分析纯,蒸馏水为三次重蒸馏。

缓冲液:冰醋酸1ml,加蒸馏水至400ml,用氨水调节pH为7。

二、仪器及色谱条件

仪器:Waters高效液相色谱仪,包括510型输液泵,490型多功能可变波长检测器,U6K进样阀,840型数据处理机,岛津记录仪。

色谱条件:不锈钢柱(15)×4.6mm id),填料YWG18,10 μ m(天津化学试剂二厂)。
流动相:甲醇:缓冲液(pH7)=45:55,
流速:1.5ml/min, **纸速:**5mm/min, **检测波长:**240nm, **吸收度范围:**0.1AUFS, **室温。**

三、测定方法和结果

1. 线性关系

标准溶液配制:精密称取磺胺甲基异恶唑约100mg,甲氧苄氨嘧啶约20mg,置50ml

量瓶中,加甲醇振荡溶解,并稀释至刻度,摇匀。浓度:磺胺甲基异恶唑约为2mg/ml,甲氧苄氨嘧啶约为0.4mg/ml。

内标溶液配制:精密称取非那西丁约50mg,置50ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,浓度约为1mg/ml。

测定方法:精密量取标准溶液0.25、0.50、0.75、1.0、1.25、1.50、1.75、2.0ml。分别置于50ml量瓶中,各精密加入内标溶液2ml,用流动相稀释至刻度,摇匀。照上述色谱条件,进样10 μ l进行测定,以浓度比为横座标,峰面积比为纵座标绘图,其数据经直线回归,线性关系及精密度均好,结果见表1,图1。

表1 SMZ, TMP 标准线性关系

| 取样量 | SMZ | | TMP | |
|------|-------------|--------|-------------|--------|
| | Ci/Cs | Ai/As | Ci/Cs | Ai/As |
| 0.25 | 0.2498 | 0.1324 | 0.0499 | 0.0316 |
| 0.50 | 0.4995 | 0.2652 | 0.0998 | 0.0649 |
| 0.75 | 0.7493 | 0.4104 | 0.1497 | 0.1040 |
| 1.00 | 0.9990 | 0.5545 | 0.1996 | 0.1479 |
| 1.25 | 1.2488 | 0.6997 | 0.2496 | 0.1836 |
| 1.50 | 1.4985 | 0.8462 | 0.2994 | 0.2269 |
| 1.75 | 1.7483 | 0.9734 | 0.3493 | 0.2620 |
| 2.00 | 1.9980 | 1.1159 | 0.3992 | 0.3036 |
| | r = 0.99989 | | r = 0.99967 | |
| | A = -0.0116 | | A = -0.0118 | |
| | B = 0.5662 | | B = 0.7870 | |

2. 回收率测定

精密称取磺胺甲基异恶唑约100mg,甲氧苄氨嘧啶约20mg,并按处方规定的配比,加入淀粉,硬脂酸镁等辅料,置50ml量瓶中,加甲醇30ml振荡,超声波处理5分钟,用甲醇稀释至刻度,摇匀,取溶液适量,离心,精密量取上清液1.5ml,置50ml量瓶中,精密加入非那西丁(内标)2ml,用流动相稀释至刻度,摇匀,进样10 μ l进行测定,结果见表2。

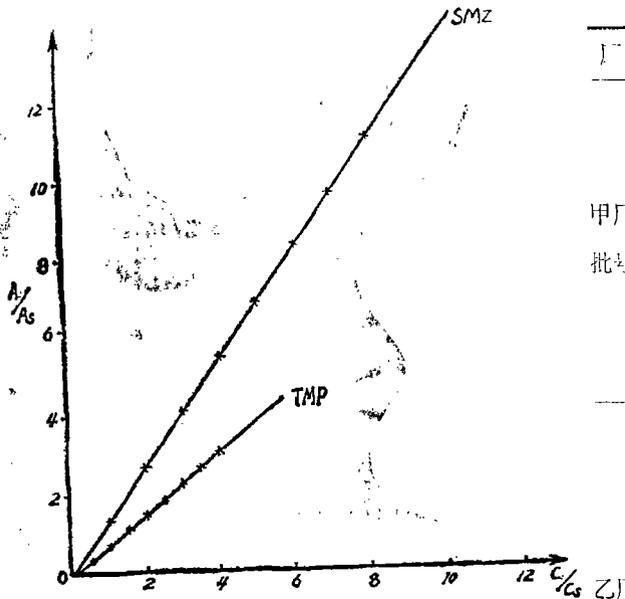


图1 SMZ, TMP标准曲线

表2 SMZ, TMP 回收率测定结果

| 组分 | 样品号 | 配制浓度 (μg/ml) | 回收率 (%) | 平均值 (%) | 相对标准偏差 (%) |
|-----|-----|--------------|---------|---------|------------|
| SMZ | 1 | 60.12 | 99.96 | 99.89 | 0.36 |
| | 2 | 60.12 | 99.58 | | |
| | 3 | 60.06 | 99.83 | | |
| | 4 | 60.06 | 100.45 | | |
| | 5 | 60.24 | 99.60 | | |
| TMP | 1 | 12.12 | 100.02 | 100.68 | 0.93 |
| | 2 | 12.12 | 99.21 | | |
| | 3 | 12.06 | 101.73 | | |
| | 4 | 12.06 | 101.20 | | |
| | 5 | 12.00 | 100.64 | | |

3. 样品测定

取复方新诺明片10片,精密称定,研细,精密称取细粉适量(约相当于SMZ100mg、TMP20mg)置50ml量瓶中,照回收率项下方法测定,结果见表3

四、讨论

1. 检测波长选择:复方新诺明片,每片含磺胺甲基异恶唑400mg,甲氧苄氨嘧啶80mg,两组分配比为5:1,含量相差较大。甲氧苄氨嘧啶在223nm波长处有最大吸

表3 复方新诺明片含量测定结果

| 厂别 | 批号 | 名称 | 标示量 (%) | 平均值 (%) | 相对标准偏差 (%) |
|----|--------|-----|---------|---------|------------|
| 甲厂 | 890518 | SMZ | 100.84 | 100.70 | 0.13 |
| | | | 101.20 | | |
| | | | 100.16 | | |
| | | | 100.60 | | |
| | | | 100.60 | | |
| | | TMP | 99.13 | | |
| | | | 99.25 | | |
| | | | 99.57 | | |
| | | | 99.50 | | |
| | | | 99.36 | | |
| 乙厂 | 881201 | SMZ | 102.14 | 101.21 | 0.87 |
| | | | 101.09 | | |
| | | | 101.92 | | |
| | | | 99.92 | | |
| | | | 100.98 | | |
| | | TMP | 100.25 | | |
| | | | 99.32 | | |
| | | | 100.41 | | |
| | | | 100.43 | | |
| | | | 101.15 | | |
| 丙厂 | 881202 | SMZ | 98.00 | 99.84 | 0.70 |
| | | | 98.54 | | |
| | | | 99.52 | | |
| | | | 99.28 | | |
| | | | 98.60 | | |
| | | TMP | 98.03 | | |
| | | | 97.40 | | |
| | | | 98.13 | | |
| | | | 98.47 | | |
| | | | 98.47 | | |
| 丁厂 | 891002 | SMZ | 100.89 | 101.02 | 0.99 |
| | | | 102.02 | | |
| | | | 100.08 | | |
| | | | 98.63 | | |
| | | | 99.08 | | |
| | | TMP | 99.08 | | |
| | | | 98.41 | | |
| | | | 97.53 | | |
| | | | 98.41 | | |
| | | | 97.53 | | |

收峰,选用223nm进行检测,提高了检测甲氧苄氨嘧啶的灵敏度,但对检测器和溶剂的要求较高,若用254nm(美国药典采用)或269nm磺胺甲基异恶唑的最大吸收波长进行检测,两组分的峰面积或峰高相差悬殊,影响定量分析的准确性。选用240nm作为检测

波长, 甲氧苄氨嘧啶的峰型变窄, 峰增高, 提高其检测的灵敏度, 兼顾了两组分的含量测定, 有利于两组分的定量分析, 见图2。

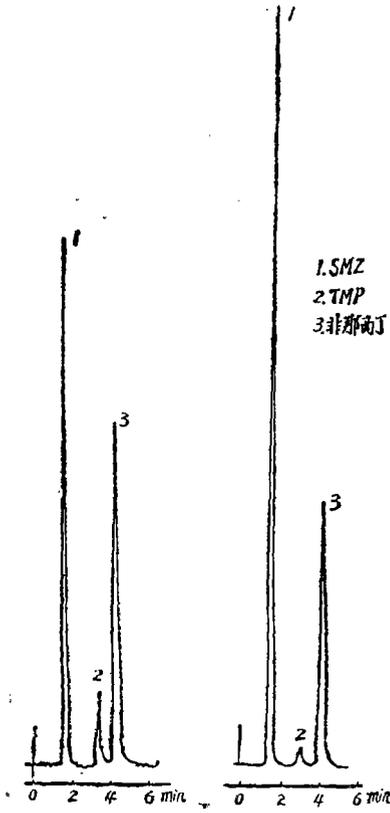


图2 波长240nm色谱图 波长254nm色谱图

2. 文献报道, 用反相高效液相色谱测定磺胺甲基异恶唑, 甲氧苄氨嘧啶, 选用的流动相有甲醇—磷酸盐缓冲液、乙腈—10%醋酸, 本实验采用甲醇—醋酸—氨水缓冲液 (pH=7), 配制极为方便, 分离所得的色谱峰又较理想。

3. 测定磺胺甲基异恶唑、甲氧苄氨嘧啶, 文献报道的内标有磺胺甲氧嗪、磺胺噻唑、磺胺脒、非那西丁 (美国药典采用)。在前述色谱条件下, 非那西丁为内标物, 保留时间适中, 且能与磺胺甲基异恶唑, 甲氧苄氨嘧啶完全分离开, 见图2 (1), 保留时间、磺胺甲基异恶唑1.60分、甲氧苄氨嘧啶3.38分、非那西丁 (内标) 4.23分。

4. 本文所拟订的方法, 选用国产填料 YWGC18 装填的色谱柱, 用非那西丁为内标, 线性关系, 回收率均好, 方法简便、快速、准确、适用复方新诺明片中磺胺甲基异恶唑、甲氧苄氨嘧啶的同时含量测定。

参 考 文 献

1. 中国药典 (二部), 299页, 1985
2. U. S. P 995页, 1985
3. Vree T. B et al; J. chromatogr, 146 (1978) 103~112

20%甘露醇注射液六种含量测定方法之比较

解放军第401医院 许自明 朱宝玉

摘要 通过对20%甘露醇注射液六种测定方法的研究和回收实验, 证实旋光 I 法和旋光 II 法差异不显著; 旋光 II 法、中国药典法和英国药典法较准确; 比重法、折光法误差较大, 但经设校正系数后, 与中国药典法测定结果基本一致, 故均可用于20%甘露醇注射液含量测定。实验还证实旋光法的测定结果不受加热和放置时间的影响, 故在实验操作时可略去加热和放置等步骤。

20%甘露醇注射液是临床常用输液之一, 其含量测定有多种, 中国与英国药典系

用高碘酸钠法, 医院则多采用折光法、旋光法和比重法作快速测定。高碘酸钠法结果准