

三氯化铁分光光度法 测定药物中亚甲基二膦酸

王 宁, 陈孟毅, 付 博, 宋志浩, 张蕴瀚, 胡 骥*

原子高科股份有限公司, 北京 102413

摘要: 通过三氯化铁与亚甲基二膦酸形成络合物, 采用分光光度法, 建立了注射用亚锡亚甲基二膦酸盐冻干药盒中亚甲基二膦酸含量的测定方法。结果表明, 亚甲基二膦酸质量浓度在 0.02~0.08 g/L 范围内与吸光度 A 呈良好线性关系, 线性回归方程 $y=14.61x+0.0297$, 线性相关系数 $r=0.9991$ 。加标回收率为 98.8%~102.0%, 相对标准偏差为 0.97% ($n=6$)。该方法可用于快速准确地测定注射用亚锡亚甲基二膦酸盐冻干药盒中亚甲基二膦酸的含量。

关键词: 分光光度法; 三氯化铁; 亚甲基二膦酸

中图分类号: O657.32 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-9950(2020)02-0111-05

doi: 10.7538/hhx.2019.YX.2018108

Spectrophotometric Determination of Methylene Diphosphonate in Pharmaceutical Samples via Complex Formation With Iron(Ⅲ) Chloride

WANG Ning, CHEN Meng-yi, FU Bo, SONG Zhi-hao, ZHANG Yun-han, HU Ji*

HTA. CO. LTD., Beijing 102413, China

Abstract: A novel spectrophotometric method for the determination of methylene diphosphonate in a stannous methylene diphosphonate kit via complex formation with iron(Ⅲ) chloride was established. The results show that the absorbance of complex obeys the Lambert-Beer law in the range of methylene diphosphonate mass concentration of 0.02-0.08 g/L, and the linear regression equation is $y=14.61x+0.0297$, with the correlation coefficient of 0.9991. The recoveries are 98.8%-102.0%, and the relative standard deviation is 0.97% ($n=6$). The proposed method is rapid, simple and sensitive, and therefore can be applied for routine analyses and quality control of methylene diphosphonate in its lyophilized kit.

Key words: spectrophotometric; iron(Ⅲ) chloride; methylene diphosphonate

亚甲基二膦酸(MDP)是二膦酸类药物,是注射用亚锡亚甲基二膦酸盐冻干药盒的主要成

分。MDP经 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -标记后的锝[$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$]亚甲基二膦酸盐注射液主要用于全身或局部骨显像,诊

收稿日期:2018-12-04;修订日期:2019-05-06

作者简介:王 宁(1988—),男,河南郑州人,助理研究员,从事放射性药物研究,E-mail: wangning@circ.com.cn

* 通信联系人:胡 骥(1966—),男,安徽休宁人,研究员,从事放射性药物研究,E-mail: huji@circ.com.cn

断骨关节疾病、原发或转移性骨肿瘤病等^[1-3]；经⁹⁹Tc标记后的锝^{[99}Tc]亚甲基二膦酸盐注射液为类风湿性关节炎治疗药物，具有消炎、镇痛等作用^[4-5]。2015版药典收录的MDP含量分析方法^[6]是一种间接测定方法，先将有机磷转变为无机磷后，进行无机磷含量测定，再用总无机磷量减去转化前的无机磷量后计算得到，操作繁琐，耗时长。因此，开发简单、准确、快速的MDP含量测定方法对药品生产中质量控制具有重要意义。

MDP结构中无生色团，极性较强，在反相柱上很难保留。同时，冻干药盒中的氯化亚锡具有较强的还原性和紫外吸收，易干扰MDP的含量测定。双膦酸类药物的质量控制方法有重量分析法^[7]、酸碱滴定法^[8]、电位滴定法^[9-10]、分光光度法^[11-12]、柱前或柱后衍生反相高效液相色谱法^[13-14]、离子交换高效液相色谱法^[15]、离子色谱法^[16]、反相离子对高效液相色谱法^[17-19]等方法。其中重量分析、滴定方法操作繁琐，准确度不足，且结果易受共存物影响；现有的分光光度法多需要进行多步的处理或长时间的络合反应，不够简单快速；高效液相色谱法具有同时分离MDP相关物质的优点，但设备昂贵，对仪器、操作要求较高。本研究根据三氯化铁与MDP形成络合物的现象^[20]，研究利用分光光度法测定MDP含量的方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

UV2700紫外可见分光光度计，日本岛津公司；MS105电子天平，精度0.01 mg，梅特勒托利多公司。

亚甲基二膦酸标准品，欧洲委员会，欧洲药典参考标准；注射用亚锡亚甲基二膦酸盐，原子高科股份有限公司；六水合三氯化铁，分析纯，国药集团药业股份有限公司；高氯酸，北京化工厂，纯度70%~72%；所用水为纯化水。

2 mol/L高氯酸溶液：使用25 mL移液管精密量取高氯酸16.24 mL溶解于100 mL水。20 mmol/L六水合三氯化铁的高氯酸溶液：精密称定六水合三氯化铁0.54 g，用2 mol/L高氯酸溶液溶解定容于100 mL容量瓶。1 g/L MDP标准品溶液：取20 mg MDP标准品，10.00 mL水溶解，取5.00 mL定容于10 mL容量瓶。

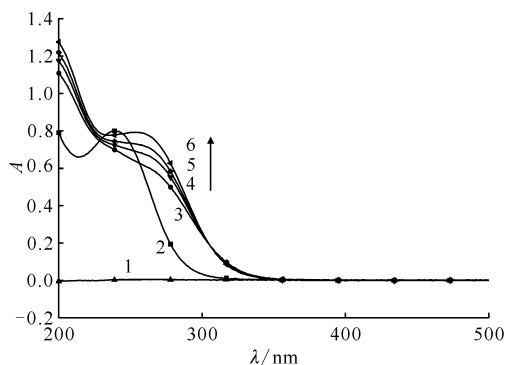
1.2 实验方法

取0.25 mL 1 g/L MDP标准溶液，加入0.50 mL三氯化铁的高氯酸溶液，定容至5 mL。以试剂为空白，使用10 mm光程、3.5 mL标准比色皿，于波长300 nm处测定吸光度。

2 结果与讨论

2.1 吸收光谱

以高氯酸溶液为空白，波长范围200~500 nm，对MDP溶液、三氯化铁的高氯酸溶液及MDP与三氯化铁高氯酸溶液混合液进行吸收光谱扫描，结果示于图1。由图1看出，MDP无吸收，三氯化铁在239 nm处有最大吸收，三氯化铁与MDP络合物在260 nm处最大吸收。300 nm处络合物吸收峰受三氯化铁吸收影响较小，选择300 nm为测定波长。



1——MDP, 2——三氯化铁高氯酸溶液,
3——0.1 mmol/L MDP+0.2 mmol/L FeCl₃,
4——0.4 mmol/L MDP+0.2 mmol/L FeCl₃,
5——0.6 mmol/L MDP+0.2 mmol/L FeCl₃,
6——1.0 mmol/L MDP+0.2 mmol/L FeCl₃

图1 MDP溶液、三氯化铁溶液及
不同浓度混合样品溶液吸收光谱

Fig. 1 Absorption spectra of MDP, FeCl₃ and
mix samples of different concentrations

2.2 络合物化学计量比、稳定常数及三氯化铁用量的选择

保持三氯化铁浓度恒定为0.2 mmol/L，MDP浓度分别为0、0.02、0.03、0.05、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30 mmol/L时测量混合样品溶液在300 nm处的吸收，结果示于图2。由图2结果得到，三氯化铁与MDP反应的摩尔比约为1:1，在实际测量样品中MDP浓度为0.2~0.3 mmol/L，为保持三氯化铁过量，并减小三氯

化铁浓度对测定结果的影响,选择三氯化铁浓度为 2 mmol/L。同时,为防止 Fe^{3+} 水解,在溶液中加入高浓度的高氯酸。

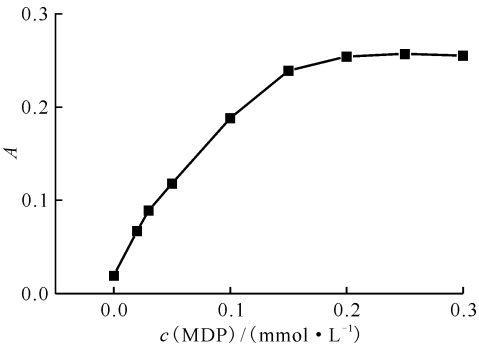


图2 MDP 浓度对吸光度的影响

Fig. 2 Effect of MDP molarity on absorbance

保持三氯化铁与 MDP 浓度之和恒定为 1 mmol/L, $c(\text{Fe}^{3+})/(c(\text{MDP}) + c(\text{Fe}^{3+}))$ 为 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9 时测定混合样品溶液的吸光度值,结果示于图 3。根据 Job's plot 法测定络合物稳定常数,解离度 $\alpha = \frac{A_{\max} - A}{A_{\max}}$, 稳定常数 $K = \frac{1 - \alpha}{c(\text{MDP-Fe}^{3+})\alpha^2}$, 计算得到稳定常数 $K = 1.89 \times 10^5 \text{ L/mol}$, 表明 Fe^{3+} 与 MDP 形成的络合物具有较好的稳定性。

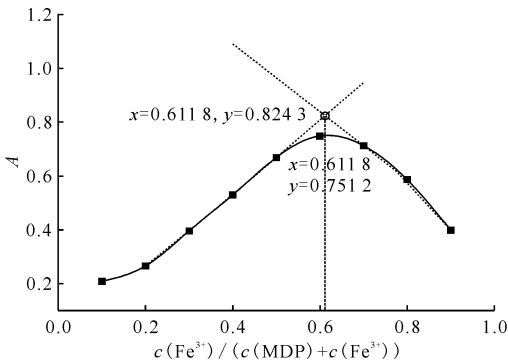


图3 在 0.2 mol/L 高氯酸中 MDP-Fe³⁺ 络合物等摩尔溶液的约伯曲线

Fig. 3 Job's curve of equimolar solutions

for MDP- Fe^{3+} complex in 0.2 mol/L perchloric acid

2.3 工作曲线

注射用亚锡亚甲基二膦酸盐样品 100 mL 水溶解后,MDP 质量浓度约为 0.05 g/L,选择 MDP 质量浓度分别为 0.02、0.04、0.05、0.06、0.08 g/L 时建立标准曲线。在 5 个容量瓶中分

别加入 0.50 mL 20 mmol/L 三氯化铁溶液,分别加入 0.10、0.20、0.25、0.30、0.40 mL 1 g/L MDP 标准品溶液,定容至 5 mL。以 0.2 mol/L 高氯酸溶液为空白,在波长 300 nm 处测定吸收值,建立标准曲线,结果示于图 4。

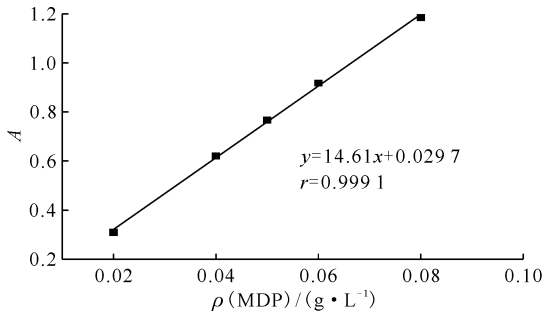


图4 工作曲线

Fig. 4 Standard calibration curve for determination of MDP

由图 4 结果可知,线性方程 $y = 14.61x + 0.0297$, 相关系数 $r = 0.9991$, 结果表明 MDP 质量浓度在 0.02~0.08 g/L 范围内具有良好的线性。

2.4 注射用亚锡亚甲基二膦酸盐中其他组分的影响

按实验方法考察了冻干药盒中其他组分扩大 10 倍对测定结果的影响。结果列于表 1。由表 1 可知,在注射用亚锡亚甲基二膦酸盐样品中,氯化亚锡、抗坏血酸、氯化钠的量扩大 10 倍时 MDP 回收率为 99.3%~100.7%,测定结果相对误差均在 $\pm 3\%$ 以内。

表1 除 MDP 外其他组分扩大 10 倍的测定结果
Table 1 Determination results of other components after tenfold increase

No.	$c(\text{MDP})/(\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$		回收率/%
	加入值	测量值	
1	0.284	0.286	100.7%
2	0.284	0.282	99.3%
3	0.284	0.284	100.0%

2.5 体系的稳定性

0.05 g/L MDP 与三氯化铁混合后放置 90 min 进行测定,结果表明体系在 90 min 内稳定。

2.6 回收率

配制 MDP 标准品质量浓度为 0.04、0.05、0.06 g/L 的注射用亚锡亚甲基二膦酸盐全组分

样品,按本实验方法测定 MDP 含量,并与药典方法^[6]对照,结果列于表 2。表 2 结果表明,本方法

测得的 MDP 回收率在 98.8%~102.0%之间,药典法的回收率为 103.9%~108.9%。

表 2 MDP 标准品加标回收实验
Table 2 Recovery of MDP by standard additions

No.	加入量/(g·L ⁻¹)	MDP			
		本方法		药典方法	
		测得值/(g·L ⁻¹)	回收率/%	测得值/(g·L ⁻¹)	回收率/%
1	0.04	0.039 8	99.6	0.042 9	107.4
2	0.04	0.040 5	100.0	0.043 3	108.4
3	0.04	0.039 5	98.8	0.043 5	108.9
4	0.05	0.051 2	102.0	0.053 6	107.1
5	0.05	0.050 8	101.7	0.052 0	103.9
6	0.05	0.050 5	101.0	0.052 8	105.5
7	0.06	0.061 0	101.7	0.063 0	105.0
8	0.06	0.060 8	101.4	0.062 8	104.7
9	0.06	0.060 7	101.1	0.062 8	104.7

2.7 样品测定

取注射用亚锡亚甲基二膦酸盐 6 瓶,分别用 5 mL 水溶解,按照实验方法进行测定,并与药典方法测定值进行比较,结果列于表 3。表 2 和表 3 实验结果表明,两种方法测定结果基本一致,但本实验方法($s_r=0.97\%$, $n=6$)较药典方法($s_r=3.93\%$, $n=6$)大大缩短了测定时间和操作步骤,且具有更高的准确度和精密度。

表 3 本方法与药典方法比较($n=6$)
Table 3 Comparison of results between this method and pharmacopoeia method($n=6$)

方法名称	$m(\text{MDP})/\text{mg}(\text{以瓶计})$		$s_r/\%$
	标示量	测定平均含量	
药典法	5	4.94	3.93
本实验方法	5	4.86	0.97

3 结 论

本工作建立的分光光度法测定亚甲基二膦酸盐的分析方法,样品仅需一次混合即可直接进行测定,相较于其他测定方法,特别是药典法,大大地缩短了测定时间和操作步骤,具有快速准确、操作简单、成本低等优点,可用于注射用亚锡亚甲基

二膦酸中 MDP 含量的快速、准确测定。

参考文献:

[1] Silov G, Erdoğan Z, Erdoğan M, et al. Tc-99m MDP bone SPECT/CT findings of a patient detected with a new mutation in LEMD3 gene: a case of osteopoikilosis[J]. Molecular Imaging and Radionuclide Therapy, 2018, 27(1): 48-51.

[2] Cha H, Park S B, Kim H J. Focal increased Tc-99m MDP uptake in the nutrient foramen of the femoral diaphysis on bone SPECT/CT[J]. Nucl Med Mol Imaging, 2018, 52(2): 1-4.

[3] 田珈瑜,荣晓凤. 锝^[99Tc]亚甲基二膦酸盐注射液联合 DMARDs 治疗晚期类风湿关节炎的临床观察[J]. 中国药房,2017,28(2):240-242.

[4] 刘莎,张志毅,宫笑微,等. 免疫抑制剂配合锝亚甲基二膦酸盐注射液治疗 64 例类风湿关节炎临床研究[J]. 中外医学研究,2017,15(29):60-61.

[5] 周东明,刘德国,侯振海. ⁹⁹锝亚甲基二膦酸盐注射液治疗老年骨质疏松性骨折和骨关节炎的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志,2017,33(19):1882-1885.

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:1596.

[7] 邢玉仁,刘金荣. HEDP 含量测定的研究[J]. 山东医药工业,1997,16(2):17.

[8] 包光林,李康龄,王守良,等. 羟基乙叉二磷酸的直

- 接滴定分析[J]. 化学试剂, 1991, 13(1): 59-60.
- [9] 杨敏, 胡名扬. 酸碱电位滴定法测定阿仑膦酸钠的含量[J]. 国外分析仪器技术与应用, 2000(4): 65-67.
- [10] 蒋晔, 张晓青, 徐智儒, 等. 唑来膦酸的电位滴定法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2005, 36(1): 37-38.
- [11] 张彦凯, 樊淑彦. 分光光度法测定阿仑膦酸钠片剂含量[J]. 分析化学, 2000, 28(9): 1181.
- [12] 尹光荣. 注射用亚锡亚甲基二膦酸盐冻干品中磷含量的快速测定[J]. 同位素, 2008, 32(3): 169-172.
- [13] 王毓, 杨婧, 王海鹏, 等. 大鼠尿液中阿仑膦酸钠的柱前衍生化 HPLC-UV 测定法及药动力学应用[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(5): 832-838.
- [14] 戴河双, 陈琴华, 张燕, 等. 衍生化高效液相色谱-紫外检测法测定阿仑膦酸钠和电喷雾离子阱质谱法分析其衍生物[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(1): 61-65.
- [15] Peng S X, Dansereau S M. Ion-exchange liquid chromatographic analysis of bisphosphonates by on-line post-column photometric reaction and spectrophotometric detection[J]. J Chromatogr A, 2001, 914: 105.
- [16] 黄进宝, 葛高飞, 吴涛. 离子色谱法测定伊班膦酸钠注射液主成分的方法探讨[J]. 安徽农业大学学报, 2017, 44(4): 744-748.
- [17] 赵秀岩, 王晓静, 付博, 等. 高效液相色谱法测定亚甲基二膦酸含量[J]. 同位素, 2012, 25(1): 33-36.
- [18] 蒋晔, 张晓青, 徐智儒, 等. 反相离子对色谱/蒸发光散射检测器分离唑来膦酸及其有关物质[J]. 分析化学, 2005(10): 1455-1458.
- [19] 张立峰, 刘灿仿. 离子对 RP-HPLC 法测定利塞膦酸钠原料药及其制剂的含量[J]. 中国药房, 2013(41): 3912-3914.
- [20] Kuljanin J, Janković I, Nedeljković J, et al. Spectrophotometric determination of alendronate in pharmaceutical formulations via complex formation with Fe(III) ions[J]. J Pharm Biomed Anal, 2002, 28(6): 1215-1220.