

3.5 讨论

手性拆分是药物开发的一个热点。据预测,2013 年全球手性药物销售额将达到 5 850 亿美元,占全部药物市场的 60%以上,手性药物的研究与评价业内非常关注^[8]。为充分保证手性药物的质量可控,需分别从起始原料、工艺过程与终产品的质量标准等各个方面对手性药物的光学纯度进行全程的监控^[9]。近年来,在手性化合物光学异构体的分离技术中,发展最快、应用最广的分离技术是手性色谱分离技术,其中最简便、最有效的分离技术就是高效液相色谱手性固定相法^[10-11]。其中常用多糖苯基氨基甲酸酯类手性固定相,依靠高分子聚合物所形成的高度有序的螺旋结构与含芳环的溶质通过氢键作用、偶极作用等不同而分离。笔者尝试在 Chiralpak AD-H 手性固定相上,用正相色谱分离体系,对硼替佐米光学异构进行拆分,研究了流动相中不同体积百分数的异丙醇和/或乙醇,异丙醇与乙醇的比例对硼替佐米异构体手性拆分的规律性,同时研究了柱流速和柱温对拆分的影响,筛选使 2 对对映异构体均获基线拆分的最佳色谱体系,为该药品后期质量标准建立和质量控制体系研究提供了重要的科学依据。

4 结论

在 Chiralpak AD-H 手性柱上正相条件下,以正己烷为流动相,用异丙醇和乙醇作流动相极性改性剂,硼替佐米异构体的 2 对对映体都能得到基线拆分。最佳拆分条件为正己烷-异丙醇-乙醇=86:6:8,流速为 0.6 mL·min⁻¹,柱温为 30℃,此法拆分分析时间短,分离效果好,可有效检出各异构体杂质。

REFERENCES

- [1] LI Z, MAO H, ZHONG J F. Graphical synthetic routes of bortezomib [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2012, 43(5): 393-395.
- [2] ZHU Y X, LI T Y, WANG J, et al. Effects of bortezomib on multiple myeloma stem cells [J]. Acta Univ Med Nanjing(Nat Sci)(南京医科大学学报:自然科学版), 2013, 33(2): 182-185.
- [3] WANG Z F, MENG X L, ZHAO E F. Clinical analysis of 15 patients about adverse effects in the treatment of multiple myeloma with bortezomib combined regimen [J]. Mod Oncol(现代肿瘤医学), 2013, 21(3): 641-643.
- [4] VENKATARAMANNA M, K SUDHAKAR B, ANWAR S K C. A validated stability-indicating HPLC method for bortezomib in the presence of degradation products and its process-related impurities [J]. Int J Life Sci Pharm Res, 2012, 2(1): 135-146.
- [5] IVANOV A S, SHISHKOV S V, ZHALNINA A A. Synthesis and characterization of organic impurities in bortezomib anhydride produced by a convergent technology [J]. Sci Pharm, 2012, 80(1): 67-75.
- [6] KASA S, MOPIDEVI N N, KADABOINA R, et al. Development and validation of a stability indicating LC method for the assay and related substances determination of a proteasome inhibitor bortezomib [J]. Chromatogr Res Int, 2012: 1-13.
- [7] SUN L, YANG Y N, YAN J. Stereoselectivity pharmacokinetics of chiral drugs [J]. Chin J Med Chem(中国药物化学杂志), 2009, 19(16): 498-501.
- [8] LUAN Y, DA H Y, WANG Q L. Clear separation of purpose & established early detection method [N]. Chinese Medicine News, 2012-11-22(07).
- [9] LI X M, HUANG X L. Quality control study of chiral drugs [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2009, 18(18): 1709-1712.
- [10] XIE H S, QIU M J, LIU W L. Application of chromatography in the resolution of chiral drug [J]. Asia-Pacific Tradit Med(亚太传统医药), 2011, 7(4): 158-160.
- [11] SHI X B, SHAN L N, GUO B, et al. Determination of ibuprofen enantiomers in plasma by HPLC-chiral stationary phase [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(3): 316-318.

收稿日期: 2013-06-18

氢溴酸山莨菪碱注射液有关物质及含量测定研究

凌霄, 赵海云, 王国金, 徐志洲, 史国生^{*}(山东省食品药品检验所, 济南 250101)

摘要: 目的 建立氢溴酸山莨菪碱注射液有关物质及含量测定的方法。方法 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Intersil ODS-3 C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 以 0.01 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(含 0.15% 三乙胺, 用磷酸调节 pH 值至 6.5)-甲醇(70:30)为流动相, 柱温为 35℃, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 220 nm。结果 氢溴酸山莨菪碱与阿托品、托品酸及其他强制破坏产生的降解产物峰分离度良好; 氢溴酸山莨菪碱在 0.25~2.5 mg·mL⁻¹(r=1.000)、托品酸及阿托品在

基金项目: 国家药典委员会国家药品标准提高研究项目(国药典综发[2010]210 号)

作者简介: 凌霄, 女, 博士, 副主任药师 Tel: (0531)81216551 E-mail: alanna_ling@hotmail.com ^{*}通信作者: 史国生, 男, 主管药师 Tel: (0531)81216588 E-mail: sgshzfda@163.com

1~100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.999$) 内线性关系良好; 氢溴酸山莨菪碱检出限为 0.2 ng, 阿托品及托品酸均为 0.05 ng; 氢溴酸山莨菪碱定量限为 0.7 ng, 阿托品及托品酸均为 0.17 ng。氢溴酸山莨菪碱、阿托品、托品酸高、中、低 3 种浓度的平均回收率均在 99.5%~100.8% 内, $\text{RSD}<0.8\%$ 。结论 建立的液相色谱法快速、准确、专属性强, 可用于氢溴酸山莨菪碱注射液的含量测定和有关物质检查。

关键词: 氢溴酸山莨菪碱注射液; 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)04-0452-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.04.017

Study on the Determination and Related Substances of Anisodamine Hydrobromide Injection

LING Xiao, ZHAO Haiyun, WANG Guojin, XU Zhizhou, SHI Guosheng* (*Institute for Food and Drug Control of Shandong Province, Jinan 250101, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method to determine the content and related substances of anisodamine hydrobromide injection. **METHODS** The analysis was performed on an Intersil ODS-3 C_{18} column (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) and the mobile phase consisted of 0.01 mol $\cdot\text{L}^{-1}$ potassium dihydrogen phosphate solution (with 0.15% triethylamine, adjust pH to 6.5 with phosphoric acid) and methanol (70 : 30). The flow rate was 1.0 mL $\cdot\text{min}^{-1}$. The column temperature kept at 35 $^{\circ}\text{C}$, and the detection wavelength was 220 nm. **RESULTS** Main peak, atropine acid, atropine and other individual impurity peaks were separated. The anisodamine hydrobromide was linear in the range of 0.25–2.5 mg $\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=1.000$), atropine and tropic acid were linear in the range of 1–100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.999$). The average recoveries of anisodamine hydrobromide, atropine and tropic acid were 99.5%–100.8% during tests in their high, middle and low concentrations. The anisodamine hydrobromide's detection limit was 0.2 ng and the limit of quantification was 0.7 ng. The atropine and tropic acid's detection limit were 0.15 ng and the limit of quantification was 0.17 ng. **CONCLUSION** The method is rapid, accurate, sensitive and reliable for content determination of anisodamine hydrobromide injection and its related substances.

KEY WORDS: anisodamine hydrobromide injection; content determination; related substances

氢溴酸山莨菪碱是由茄科植物山莨菪 *Scopolia tangutica* Maxim 根中提取得到的一种生物碱的氢溴酸盐, 是作用于 M-胆碱受体的抗胆碱药, 有明显外周抗胆碱作用, 主要用于感染中毒性休克、解救有机磷农药中毒、缓解平滑肌痉挛、眩晕症^[1]。该品种收载于中国药典 2010 年版二部^[2], USP、BP、EP 及 JP 均未收载。该品种的有关物质及含量测定研究尚未见报道。现行质量标准中缺少有关物质、细菌内毒素等安全性质控项目, 含量测定采用酸性染料(离子对)比色法, 测定中无法排除其他生物碱的影响, 现行质量标准明显低于目前国家对注射剂安全性的要求。本实验根据国家药典委员会国药典综发[2010]210 号的要求, 对氢溴酸山莨菪碱注射液质量标准进行再研究, 建立 HPLC 测定氢溴酸山莨菪碱注射液有关物质及含量。经方法学研究, 本方法精密度、专属性、线性、回收率及耐用性均较好, 适用于氢溴酸山莨菪碱注射液有关物质与含量测定, 利于该药的质量控制。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公

司); 氢溴酸山莨菪碱注射液(成都第一药业有限公司, 批号: 120601, 120602, 120603, 规格: 1 mL : 10 mg)。氢溴酸山莨菪碱及硫酸阿托品对照品(中国食品药品检定研究院, 批号分别为 100051-201105、100040-201011, 含量分别为 99.4% 和 96.5%)。甲醇为色谱纯, 托品酸、磷酸二氢钾、三乙胺与磷酸均为分析纯, 水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Intersil ODS-3 C_{18} (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm), 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$; 流动相: 0.01 mol $\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾溶液(含 0.15% 三乙胺, 用磷酸调节 pH 值至 6.5)-甲醇(70 : 30); 流速: 1 mL $\cdot\text{min}^{-1}$; 检测波长: 220 nm; 进样量: 20 μL 。理论板数按氢溴酸山莨菪碱峰计算应 $\geq 2\ 000$, 氢溴酸山莨菪碱与阿托品及托品酸的分离度应 >2.5 , 与相邻杂质峰的分离度应符合规定。

2.2 溶液制备

2.2.1 系统适用性溶液 分别称取氢溴酸山莨菪碱、托品酸及硫酸阿托品对照品各适量, 精密称定, 用流动相溶解并定量稀释制成每 1 mL 含氢溴

酸山莨菪碱 0.5 mg、托品酸 10 μg 和阿托品 10 μg 的混合溶液, 作为系统适用性溶液。

2.2.2 有关物质 取本品适量, 加流动相稀释制成每 1 mL 中含氢溴酸山莨菪碱 2.0 mg 的溶液, 作为供试品溶液; 另取托品酸与硫酸阿托品对照品适量, 加流动相溶解并定量稀释制成每 1 mL 中约含托品酸与阿托品均为 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液; 精密量取供试品溶液与对照品溶液各 1 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为对照溶液。

2.2.3 含量测定 精密量取本品适量, 加流动相稀释制成每 1 mL 中含氢溴酸山莨菪碱 0.5 mg 的溶液, 摇匀, 作为供试品溶液; 另取氢溴酸山莨菪碱对照品, 精密称定, 加流动相溶解并定量稀释制成每 1 mL 中约含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。

2.3 专属性试验

2.3.1 酸破坏试验 取氢溴酸山莨菪碱 20 mg, 加 1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 5 mL, 置热水浴中, 加热 30 min, 取出, 放冷, 用 1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液调节 pH 值, 加流动相稀释制成每 1 mL 中含 2 mg 的溶液, 按“2.1”项下的色谱条件进样 20 μL , 结果见图 1A。

2.3.2 碱破坏试验 取氢溴酸山莨菪碱 20 mg, 加 1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液 5 mL, 置热水浴中, 加热

30 min, 取出, 放冷, 用 1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液中和, 加流动相稀释制成每 1 mL 中含 2 mg 的溶液, 按“2.1”项下的色谱条件进样 20 μL , 结果见图 1B。

2.3.3 氧化破坏试验 取氢溴酸山莨菪碱 20 mg, 加 30%过氧化氢溶液 5 mL, 放置 1 h, 取出, 加流动相稀释制成每 1 mL 中含 2 mg 的溶液, 按“2.1”项下的色谱条件进样 20 μL , 结果见图 1C。

2.3.4 加热破坏试验 取氢溴酸山莨菪碱适量, 加流动相溶解并稀释制成每 1 mL 中含 2 mg 的溶液, 置 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中, 加热 2 h, 取出, 放至室温, 按“2.1”项下色谱条件进样 20 μL , 结果见图 1D。

2.3.5 光破坏试验 取氢溴酸山莨菪碱适量, 置紫外灯下, 照射 24 h, 称取 20 mg, 精密称定, 加流动相溶解并稀释制成每 1 mL 中含 2 mg 的溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样 20 μL , 结果见图 1E。

根据企业提供的制剂处方及工艺, 制备空白辅料样品, 按“2.1”项下色谱条件进样 20 μL , 结果见图 1F。

取系统适用性溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样 20 μL , 结果见图 1G。

结果显示, 建立的 HPLC 能有效检测本品经酸、碱、氧化、高温、光照破坏后产生的降解产物及阿托品等其他生物碱, 氢溴酸山莨菪碱峰与各分解产物峰分离良好, 说明本法专属性强。

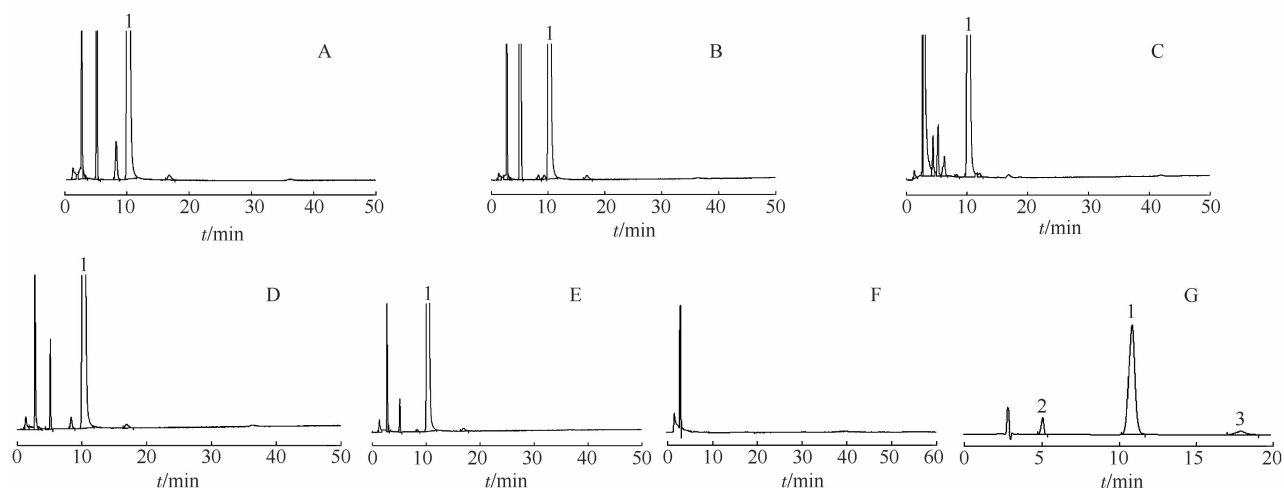


图 1 专属性考察高效液相色谱图

A-酸破坏; B-碱破坏; C-氧化破坏; D-高温破坏; E-光照破坏; F-空白辅料溶液; G-系统适用性溶液; 1-氢溴酸山莨菪碱; 2-托品酸; 3-阿托品

Fig 1 Chromatograms of the specificity validation

A-degradation products in acid medium; B-degradation products in alkaline medium; C-degradation products in oxidation medium; D-degradation products under high temperature; E-degradation products under strong light; F-excipient blank solution; G-System suitability solution; 1-anisodamine hydrobromide; 2-tropic acid; 3-atropine

2.4 检出限及定量限

取“2.2.1”项下系统适用性溶液适量,梯度稀释,制备不同浓度的混合溶液,按“2.1”项下色谱条件,注入液相色谱仪测定,按 $S/N=3$ 计算检出限,氢溴酸山莨菪碱为0.2 ng,阿托品及托品酸均为0.05 ng;按 $S/N=10$ 计算定量限,氢溴酸山莨菪碱为0.7 ng,阿托品及托品酸均为0.17 ng。

2.5 线性关系

取“2.2.1”项下系统适用性试验溶液,按“2.1”项下色谱条件分别取2, 10, 20, 40, 60, 80, 100 μL 注入液相色谱仪测定。以氢溴酸山莨菪碱、阿托品及托品酸浓度和相应色谱峰峰面积作线性回归方程,所得的线性方程分别为:氢溴酸山莨菪碱 $Y=524.3X+1.254, r=1.000$,阿托品 $Y=1452X-0.307, r=0.999$,托品酸 $Y=1747X-2.102, r=0.999$ 。

结果表明,氢溴酸山莨菪碱在0.25~2.5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、托品酸及阿托品在1~100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内线性关系良好。

2.6 仪器精密度试验

取“2.2.1”项下系统适用性试验溶液,按“2.1”项下色谱条件,注入液相色谱仪测定,连续进样6次,氢溴酸山莨菪碱峰面积的RSD为0.12%,阿托品面积的RSD为0.86%,托品酸面积的RSD为0.27%。结果表明,仪器精密度良好。

2.7 重复性试验

取批号为120601的样品,分别按“2.2.2”及“2.2.3”项下方法制备有关物质及含量测定供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件,分别连续测定6次,各杂质及含量测定RSD<1.0%。

2.8 回收率试验

根据制剂处方配制空白溶液。取氢溴酸山莨菪碱、硫酸阿托品及托品酸适量,精密称定,加流动相溶解并定量稀释制成每1 mL含氢溴酸山莨菪碱1.0 mg、托品酸及阿托品均为20 μg 的回收率试验储备液。分别精密量取储备液6.0, 5.0, 4.0 mL置10 mL量瓶中(相当于浓度为120%、100%及80%,每一浓度组3份平行样品),加空白溶液稀释至刻度,摇匀,作为回收率试验的供试品溶液。按“2.1”项下色谱条件,分别取回收率试验溶液20 μL 注入液相色谱仪测定,计算回收率。结果氢溴酸山莨菪碱、阿托品、托品酸高、中、低3

种浓度的平均回收率均在99.5%~100.8%之间,RSD<0.8%,说明方法回收率良好。

2.9 稳定性考察

取“2.2.1”项下系统适用性溶液,按“2.1”项下色谱条件,分别于0, 2, 4, 6, 8, 12 h注入液相色谱仪测定,氢溴酸山莨菪碱峰面积的RSD为0.10%,阿托品面积的RSD为0.37%,托品酸面积的RSD为0.27%。试验结果表明,氢溴酸山莨菪碱、阿托品及托品酸至少在12 h内稳定。

2.10 耐用性试验

取拟定质量标准中系统适用性溶液,按“2.1”项下色谱条件,考察不同仪器、色谱柱及试验条件如流速、柱温、pH值等发生变化时,氢溴酸山莨菪碱、阿托品及托品酸理论板数、分离度等的变化情况。分别采用2台Agilent高效液相色谱仪,色谱柱Agilent Eclipse Plus C_{18} (4.6 mm $\times$ 100 mm, 3.5 μm)和色谱柱:Thermo ODS HYPERSIL C_{18} (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm)进行检验,同时考察不同流速(0.8, 1.0, 1.2 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$)、不同柱温(30, 35, 40 $^{\circ}\text{C}$)、不同流动相pH值(6.45、6.50和6.55)等试验条件,结果表明在上述不同试验条件下,氢溴酸山莨菪碱、阿托品及托品酸峰的理论板数及分离度均符合规定,说明该方法的耐用性较好。

3 有关物质考察

取本品3批,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液、对照品溶液及对照溶液,按“2.1”项下色谱条件,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约为满量程的10%;再精密量取供试品溶液与对照溶液各20 μL ,分别注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分保留时间的5倍。按外标法以峰面积计算供试品中阿托品及托品酸含量,按测得氢溴酸山莨菪碱注射液含托品酸0.4%、阿托品0.2%;按主成分自身对照法计算,含其他杂质0.2%。色谱图见图2A。

中国药典2010年版二部氢溴酸山莨菪碱原料药质量标准^[2]采用TLC检查其他生物碱。为防止其他生物碱的漏检,对拟定的HPLC与上述TLC测定结果进行比较,氢溴酸山莨菪碱注射液有关物质检查TLC图谱见图2B。2种方法测定结果见表1。

表 1 样品有关物质测定结果(n=3)

Tab 1 Results of samples' related substances(n=3)

批号	HPLC 法				TLC 法			
	阿托品/%	托品酸/%	其他单个杂质/%	其他杂质总和/%	阿托品/%	托品酸/%	其他生物碱/%	其他杂质总和/%
120601	0.2	0.4	0.2	0.2	/	/	/	/
120602	0.3	0.3	0.2	0.3	/	/	/	/
120603	0.2	0.4	0.2	0.2	/	/	/	/

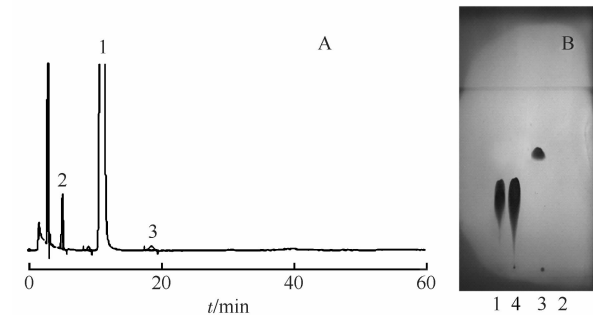


图 2 有关物质测定色谱图

A-液相色谱图; B-薄层色谱图; 1-氢溴酸山莨菪碱; 2-托品酸; 3-阿托品; 4-氢溴酸山莨菪碱注射液(批号: 120601)

Fig. 2 Chromatograms of sample's related substances

A-liquid Chromatograms; B-thin layer chromatography; 1-anisodamine hydrobromide; 2-tropic acid; 3-atropine; 4-anisodamine hydrobromide injection(120601)

4 含量测定

取本品 3 批样品, 按“2.2.3”项下制备供试品溶液和对照品溶液、按“2.2.1”项下制备系统适用性溶液, 按“2.1”项下色谱条件试验, 测定含量, 结果 3 批样品含量均在 99.2%~99.5%。色谱图见图 3。

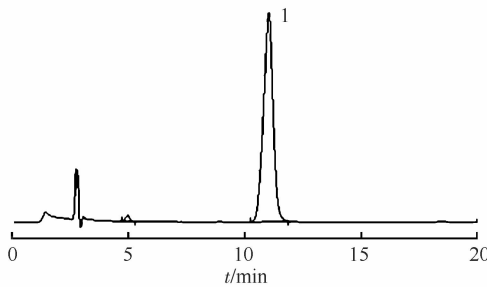


图 3 含量测定色谱图

1-氢溴酸山莨菪碱

Fig 3 Chromatograms of assay

1-anisodamine hydrobromide

5 讨论

氢溴酸山莨菪碱注射液最初收载于中国药典 1995 年版二部, 此后各版药典均有收载, 但质量标准未再进行提高、修订。氢溴酸山莨菪碱注射液现行质量标准中缺少有关物质等安全性指标, 质控项目的设置及限度与目前国家对注射剂的质

量控制要求存在一定差距, 根据药典会的要求, 对其质量标准中的有关物质及含量测定方法进行研究。

5.1 波长选择

取系统适用性溶液, 按“2.1”项下色谱条件, 注入液相色谱仪, 采用二极管阵列检测器, 在 200~400 nm 内, 采集氢溴酸山莨菪碱、阿托品、托品酸光谱图, 结果显示, 氢溴酸山莨菪碱及 2 种主要杂质阿托品及托品酸均在 220 nm 处有较大吸收, 而在其他波长处无明显紫外吸收, 因此将 220 nm 作为有关物质及含量测定的检测波长。

5.2 方法筛选及建立

除氢溴酸山莨菪碱外, 中国药典 2010 年版二部收载的其他莨菪碱类品种包括氢溴酸东莨菪碱原料及其制剂^[2]、丁溴东莨菪碱原料及其制剂^[2]以及消旋山莨菪碱及其制剂^[2]。上述 3 个品种与氢溴酸山莨菪碱的共同之处在于结构中均含有不同取代的托品酸酯, 不同之处在于, 氢溴酸山莨菪碱是从茄科植物山莨菪碱 *Scopolia tangutica* Maxim 根中提取得到的一种生物碱的氢溴酸盐, 而其他 3 种莨菪碱类化合物均通过化学合成制得, 因此, 氢溴酸山莨菪碱有着与其他几种莨菪碱不同的杂质谱, 主要包括提取过程中可能残留的其他生物碱, 如阿托品及降解产生的托品酸。因此, 在方法建立中, 首先制备了氢溴酸山莨菪碱、阿托品及托品酸混合溶液, 分别采用氢溴酸东莨菪碱、丁溴东莨菪碱及消旋山莨菪碱有关物质检查及含量测定色谱条件, 以混合溶液中氢溴酸山莨菪碱等 3 个化合物间的分离度、理论板数及拖尾因子等为考察参数, 筛选、优化适宜的色谱条件, 再经过方法学验证, 并参考已有的盐酸消旋山莨菪碱及其注射液的研究结果^[3], 建立有关物质检查及含量测定色谱条件。

5.3 有关物质检查

氢溴酸山莨菪碱系由莨菪块经提取、母液浓缩、结晶得山莨菪碱粗品, 再与氢溴酸成盐、结

晶得氢溴酸山莨菪碱,根据上述工艺及相关文献^[4]氢溴酸山莨菪碱中可能含有其他生物碱,如阿托品。阿托品及山莨菪碱水解均可生成托品酸,因此在拟定质量标准中增订阿托品及托品酸为已知杂质,按外标法以峰面积计算阿托品及托品酸含量,参照 BP2012^[5]记载的与氢溴酸山莨菪碱结构类似的异丙托溴铵注射液中托品酸的限度规定(不得过 0.5%),确定本品中阿托品及托品酸的限度均不得过 0.5%;按照主成分自身对照法计算其他单个杂质及除阿托品及托品酸外其他杂质总和,限度均不得过 0.5%。

分别采用建立的 HPLC 及氢溴酸山莨菪碱原料药 TLC 法对有关物质测定结果进行比对研究,表 1 结果显示,拟定的 HPLC 可同时检出阿托品及托品酸(图 2A),但由 TLC 图谱(图 2 B)可见,托品酸对照品溶液在薄层板上无斑点,说明现行氢溴酸山莨菪碱原料质量标准用 TLC 无法检出托品酸;阿托品对照品在薄层板上有斑点,但因供试品中阿托品含量较少,因此采用 HPLC 时供试品中检出阿托品,但采用 TLC 时无法检出。

通过上述比对试验说明,建立的 HPLC 具有更好的灵敏度及杂质检出效能。

5.4 含量测定

现行质量标准含量测定采用酸性染料(离子对)比色法。方法原理^[6]为在适当 pH 的介质中,生物碱类药物[B]与氢离子结合成翁阳离子(BH⁺),某些水溶性酸性染料在此条件下解离为阴离子[In⁻],而上述盐基的阳离子定量地结合成有色化合物,即离子对。



此离子对可定量地被某些有机溶剂提取,测定有机溶剂的吸收度,即可测定生物碱的含量。离子对氯仿溶液的最大吸收在 418.2 nm 处,故测定波长为 420 nm。

该方法成功的关键在于提取是否完全,这与水相的 pH 值、酸性染料的浓度、提取时间等有关,因此酸性染料(离子对)比色法影响因素较多,且除山莨菪碱外的其他生物碱也可发生此反应,因此专属性较差。本实验建立的 HPLC 具有较好的专属性,提高测定的准确度。

根据上述研究结果,本实验拟定的有关物质检查方法可有效检出氢溴酸山莨菪碱中的其他主要生物碱及降解产物,提高产品的安全性;拟定的含量测定方法专属性及准确度均高于原标准方法,利于产品的有效性控制。

REFERENCES

- [1] YUAN H, WUANG Y, LIU Y. Advances on pharmacological effects of anisodamine [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med(现代中西医结合杂志), 2004, 13(16): 2210-2211.
- [2] ChP(2010)Vol II (中国药典 2010 年版.二部) [S]. 2010: 22-23, 556-557, 559-560, 866-868.
- [3] LING X, XU Z Z. HPLC determination of raceanisodamine hydrochloride injection and its related substances [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2011, 31(10): 1947-1949.
- [4] DEPARTMENT OF PHYTOCHEMISTRY, INSTITUTE OF MATERIA MEDICA, CHINESE ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES INSTITUTE OF MEDICAL SCIENCES, CHINGHAI. Chemical studies on anisodamine [J]. Acta Chim Sin(化学学报), 1976, 34(1): 39-44.
- [5] BP(2012) [S]. 2012: 1172
- [6] LIU W Y. Pharmaceutical Analysis(药物分析) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House(人民卫生出版社), 2001: 179.

收稿日期: 2013-10-16

残留溶剂二甲苯测定用对照品对测定结果的影响

金立, 金宏, 陶巧凤(浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310004)

摘要: 目的 探讨残留溶剂二甲苯的测定用对照品对测定结果的影响。方法 使用二甲苯中 4 个组分各自的对照品对 5 个二甲苯样品进行测定。结果 5 个二甲苯样品中的 4 个组分的比例(乙基苯、对二甲苯、间二甲苯和邻二甲苯)是不同的, 用 4 个组分的对照品分别计算二甲苯得到不同的含量结果。结论 使用二甲苯作对照品测定溶剂残留量可能存在偏差。

关键词: 二甲苯; 乙基苯; 对二甲苯; 间二甲苯; 邻二甲苯

中图分类号: R927.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)04-0457-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.04.018

作者简介: 金立, 男, 硕士, 药师 Tel: (0571)86462314 E-mail: jl808225@126.com