离子色谱法测定氯化琥珀胆碱原料及注射液中的氯化胆碱和氯化琥珀酰单胆碱

张姮婕[1]，郑洪国[2]，杨梅[1]，陈红[1](1.成都市食品药品检验研究院，成都 610045；2.戴安中国有限公司应用技术研究中心，北京 100085)

摘要：目的 采用离子色谱法测定氯化琥珀胆碱原料及注射液中的氯化胆碱和氯化琥珀酰单胆碱。**方法** 采用 Dionex RFICTM Ionpac CS17 色谱柱(4 mm×250 mm)，以甲烷磺酸溶液为流动相进行梯度洗脱，流速为 1.0 mL·min^{-1}，采用抑制电导检测器进行测定。**结果** 氯化胆碱、氯化琥珀酰单胆碱浓度分别在 18.0~562.8 μg·mL^{-1}(r=0.999 9)和 14.4~449.8 μg·mL^{-1}(r=0.999 9)内线性关系良好，定量限均为 0.01 μg·mL^{-1}。原料中氯化胆碱、氯化琥珀酰单胆碱回收率分别为 103.4%~105.7%和 102.4%~107.1%；注射液中氯化胆碱、氯化琥珀酰单胆碱回收率分别为 95.6%~100.2%和 94.4%~103.5%。**结论** 该方法专属性强、准确、简便、快速，适用于氯化琥珀胆碱原料及制剂中的有关物质测定。

关键词: 氯化琥珀胆碱；氯化胆碱；氯化琥珀酰单胆碱；离子色谱法

中图分类号：R917　　**文献标志码**：B　　**文章编号**：1007-7693(2019)06-0710-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.06.013

引用本文: 张姮婕, 郑洪国, 杨梅, 等. 离子色谱法测定氯化琥珀胆碱原料及注射液中的氯化胆碱和氯化琥珀酰单胆碱[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(6): 710-713.

Determination of Choline Chloride and Succinylmono Choline in Succinycholine Chloride API and Its Injection by Ion Chromatography

ZHANG Hengjie[1], ZHENG Hongguo[2], YANG Mei[1], CHEN Hong[1](*1.Chengdu Institute for Food and Drug Control, Chengdu 610045, China; 2.Dionex Corporation China, Application and Research Center, Beijing 100085, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an ion chromatography method for determination of choline chloride and succinylmono choline in succinycholine chloride API and its injection. **METHODS** The Dionex RFICTM Ionpac CS17 column(4 mm×250 mm) was adopted. The mobile phase consisted of methanesulfonic acid with gradient elution. The flow rate was 1.0 mL·min^{-1}. The detection was performed by a conductivity detection mode. **RESULTS** The linear correlation coefficient of choline chloride and succinylmono choline were both 0.999 9 in the range of 18.0-562.8 μg·mL^{-1} and 14.4-449.8 μg·mL^{-1}, respectively. The limit of determination of choline chloride and succinylmono choline was 0.01 μg·mL^{-1}. The recoveries of choline chloride and succinylmono choline in API were 103.4%-105.7% and 102.4%-107.1%, respectively. The recoveries of choline chloride and succinylmono choline in its injection were 95.6%-100.2% and 94.4%-103.5%, respectively. **CONCLUSION** The method is specific, accurate, simple and quick for determination of choline chloride and succinylmono choline in succinycholine chloride API and its injection.

KEYWORDS: succinycholine chloride; choline chloride; succinylmono choline; ion chromatography

氯化琥珀胆碱为去极化型骨骼肌松弛药，1952 年 8 月 Sandoz Canada Inc 公司的氯化琥珀胆碱注射液被 FDA 批准在美国上市，商品名为 Anectine。其溶剂为水，由于氯化琥珀胆碱在水中容易水解，因此在 2~8 ℃保存。1955 年氯化琥珀胆碱注射液被批准在日本上市。我国于 1959 年开始生产氯化琥珀胆碱注射液，用于全身麻醉时气管插管和术中维持肌松。其在现有肌松药中起效最快，属于国家基本药物目录(2012 年版)品种，结构式见图 1。本品去极化阻滞不可被抗胆碱脂酶药拮抗，并可致血钾升高，肌纤维成束收缩，引起术后肌痛，眼压、胃内压及颅内压升高等不良反应。2009—2014 年间，共收到该品种不良反应/事件报告 71 例，其中 9 例为严重不良反应，62 例为一般不良反应。本品严重不良反应虽少见，但一旦发生可能致命，如恶性高热、心脏骤停、过敏性休克和中毒反应等。71 例不良反应/事件报告中发生次数最多的不良反应为肌肉骨骼损害(肌痛、肌颤、抽搐等，占比 29.1%)，其次为皮肤及其附件损害(红斑疹、皮疹、荨麻疹、潮红，占比 24.4%)，再次为全身反应(过敏反应、过敏性休克、变态反应、高热，占比 12.8%)，另外还有高血钾症(占比

作者简介：张姮婕，女，主管药师　Tel: (028)85362213　E-mail: magnolia.chang@hotmail.com

2.3%)、神经系统损害(占比 8.1%)、消化系统损害(占比 3.5%)、呼吸系统损害(占比 4.7%)、心血管系统损害(占比 8.1%)、视觉损害(占比 2.3%)、肝肾系统损害(占比 2.3%)、非预期药物失效(占比 2.3%)。

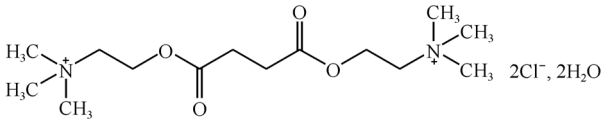

图 1 氯化琥珀胆碱结构式

Fig. 1 Structural formula of suxamethonium chloride

氯化琥珀胆碱不够稳定，经贮藏后易水解成氯化琥珀酰单胆碱和氯化胆碱；氯化琥珀酰单胆碱再分解成氯化胆碱与琥珀酸。因此，氯化胆碱和氯化琥珀酰单胆碱是氯化琥珀胆碱的 2 大降解杂质，但目前还没有关于检测这 2 个降解杂质的分析方法。本实验参考相关文献[1-4]建立了测定氯化琥珀胆碱原料及制剂中的有关物质的方法。

1 仪器与试药

ICS3000 离子色谱仪(美国 Thermofisher 公司)；氯化胆碱对照品(中国药品生物制品检定所，批号：100147-200302；含量：100%)；氯化琥珀酰单胆碱对照品(美国药典对照品，Sigma-Aldrich 公司，批号：H01364；含量：100%)；氯化琥珀胆碱原料(A 企业，批号：YE151102，YE160301，YE160302，C005-141201)；氯化琥珀胆碱注射液(B 企业，批号：AA141001，AA141101，AA141102，AA150501，AA150502，AA150601，AA151201，AA160401，AA160501，规格：2 mL∶100 mg)；甲烷磺酸为色谱纯；水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

2.1.1 色谱条件　采用 Dionex RFIC^{TM}Ionpac CS17 阳离子交换色谱柱(4 mm×250 mm)。以甲烷磺酸溶液为流动相，梯度洗脱程序为 0~13 min，5 mmol·L^{-1}；13~33 min，5→50 mmol·L^{-1}；33~40 min，50 mmol·L^{-1}；41~46 min 5 mmol·L^{-1}。检测器为电导检测器(CERS500)；检测方式为抑制电导检测；流速：1.0 mL·min^{-1}；柱温：30 ℃，进样量 10 μL。

2.1.2 系统适用性溶液的配制　取氯化琥珀胆碱对照品约 20 mg，加 0.1 mol·L^{-1}氢氧化钠 0.2 mL，室温放置 30 min，加 0.1 mol·L^{-1}盐酸 0.2 mL，加水稀释至 2 mL，摇匀，即得。

2.1.3 系统适用性试验　取系统适用性溶液，注入离子色谱仪，记录色谱图，琥珀胆碱峰的保留时间约为 27 min，胆碱峰(相对保留时间约为 0.3)、琥珀酰单胆碱峰(相对保留时间约为 0.5)与相邻杂质峰之间的分离度均应>1.5。

2.2 测定方法

2.2.1 氯化琥珀胆碱原料　精密称取供试品适量，加水稀释制成每 1 mL 中约含 10 mg 氯化琥珀胆碱的溶液，作为供试品溶液；精密称取氯化胆碱对照品适量，加水稀释制成每 1 mL 中约含氯化胆碱 0.05 mg 的溶液，作为对照品溶液。精密量取上述 2 种溶液各 10 μL，分别注入离子色谱仪，记录色谱图，供试品溶液的色谱图中如有杂质峰，胆碱峰、琥珀酰单胆碱峰(乘以校正因子 2.0)面积均不得大于对照品溶液中胆碱峰面积的 0.5%。

2.2.2 氯化琥珀胆碱注射液　用内容量移液管精密量取供试品适量(约相当于氯化琥珀胆碱 0.1 g)，置 10 mL 量瓶中，用水分次洗出移液管内壁的附着液，洗液并入量瓶，加水稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液；精密称取氯化胆碱对照品适量，加水稀释制成每 1 mL 中约含氯化胆碱 0.2 mg 的溶液，作为对照品溶液。精密量取上述 2 种溶液各 10 μL，分别注入离子色谱仪，记录色谱图。供试品溶液的色谱图中如有杂质峰，胆碱峰、琥珀酰单胆碱峰(乘以校正因子 2.0)面积均不得大于对照品溶液中胆碱峰面积的 2.0%。

2.3 专属性考察

取空白溶剂、“2.2”项下供试品溶液、对照品溶液和系统适用性溶液 10 μL，注入离子色谱仪，记录色谱图。结果表明，空白溶液无干扰，结果见图 2，说明所建方法专属性较好。

2.4 线性及定量限

精密称取氯化胆碱对照品 0.022 51 g，置 10 mL 量瓶中，用水溶解并稀释至刻度，摇匀，作为氯化胆碱线性储备液；依次精密量取适量氯化胆碱线性储备液，加水稀释制成每 1 mL 中分别含氯化胆碱 562.8，225.1，112.6，22.5，18.0 μg 的溶液，作为氯化胆碱线性系列溶液。另精密称取氯化琥珀酰单胆碱对照品 0.017 99 g，置 10 mL 量瓶中，用水溶解并稀释至刻度，摇匀，作为氯化琥珀酰单胆碱线性储备液；依次精密量取适量氯化琥珀酰单胆碱线性储备液，加水稀释制成每 1 mL 中分别含氯化琥珀酰单胆碱 449.8，179.9，

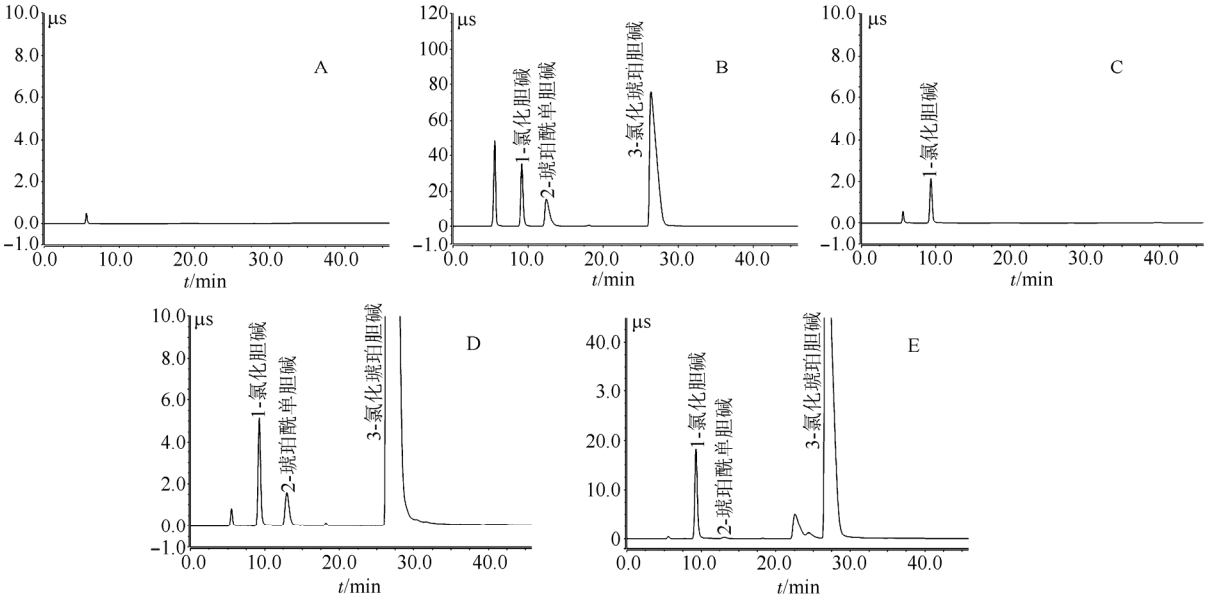

图 2 空白溶剂(A)、系统适用性溶液(B)、对照品(C)、原料样品(D)和制剂样品(E)的色谱图

Fig. 2 Chromatograms of blank adjuvant solution (A), system applicability solution (B), control solution(C), API(D) and sample(E)

90.0，18.0，14.4 μg 的溶液，作为氯化琥珀酰单胆碱线性系列溶液。精密量取上述线性系列溶液各 10 μL，分别注入离子色谱仪，记录色谱图。结果表明，氯化胆碱线性方程为 y=14.18x–0.045(r=0.999 9)，线性范围为 18.0~562.8 μg·mL^{-1}；氯化琥珀酰单胆碱线性方程为 y=7.250x–0.028(r=0.999 9)，线性范围为 14.4~449.8 μg·mL^{-1}。氯化胆碱与氯化琥珀酰单胆碱定量限均为 0.01 μg·mL^{-1}。

2.5 校正因子

低浓度的氯化琥珀胆碱溶液不稳定，不适合作为自身对照溶液使用。故以氯化胆碱为对照品，用外标法计算氯化胆碱与氯化琥珀酰单胆碱的含量。氯化琥珀酰单胆碱相对于氯化胆碱的校正因子为：14.182/7.250 8=2.0。

2.6 仪器精密度

取氯化琥珀胆碱原料(批号：C005-141201)适量，按“2.1”“2.2”项下方法重复测定 6 次，氯化胆碱含量一致(RSD=0.2%)，氯化琥珀酰单胆碱含量一致(RSD=0.3%)；另取氯化琥珀胆碱注射液(批号：AA141102)，重复测定 6 次，氯化胆碱含量一致(RSD=1.2%)，氯化琥珀酰单胆碱含量一致(RSD=0.9%)。说明所建方法精密度较好。

2.7 回收率

2.7.1 氯化琥珀胆碱原料 精密称取氯化琥珀胆碱原料(批号：C005-141201)约 20 mg，置 10 mL 量瓶中，用水溶解并稀释至刻度，作为氯化胆碱回收率溶液；分别在上述溶液中加入氯化胆碱对照品 0.052 65，0.105 3，0.157 95 mg 和氯化琥珀酰单胆碱对照品 0.052 85，0.105 7，0.158 55 mg，即在限度的 50%，100%，150% 3 个浓度水平进行加样回收，每个水平测定 3 份。结果表明，原料中氯化胆碱、氯化琥珀酰单胆碱回收率分别为 103.4%~105.7%和 102.4%~107.1%。结果见表 1。

2.7.2 氯化琥珀胆碱注射液 精密称取氯化琥珀胆碱注射液(批号：AA141102)约 50 mg，置 100 mL 量瓶中，用水溶解并稀释至刻度，作为氯化胆碱回收率溶液；分别在上述溶液中加入氯化胆碱对照品 0.052 65，0.105 3，0.157 95 mg 和氯化琥珀酰单胆碱对照品 0.052 85，0.105 7，0.158 55 mg，即在限度的 50%，100%，150% 3 个浓度水平进行加样回收，每个水平测定 3 份。结果表明，注射液中氯化胆碱、氯化琥珀酰单胆碱回收率分别为 95.6%~100.2%和 94.4%~103.5%。结果见表 2。

2.8 稳定性试验

取氯化琥珀胆碱原料(批号：C005-141201)适量，在 0，2，4，8 h 分别按“2.1”“2.2”项下方法测定，各杂质峰面积无明显变化(相对平均偏差均<3.0%)；另取氯化琥珀胆碱注射液(批号：AA141102)适量，在 0，2，6，8 h 分别按“2.1”“2.2”项下方法测定，各杂质峰面积无明显变化(相对平均偏差均<2.0%)，说明溶液在 8 h 内基本稳定，能够满足日常检测需求。

表 1 氯化琥珀胆碱原料回收结果

Tab. 1 Result of recovery of injection API %

编号	氯化胆碱			氯化琥珀酰单胆碱		
	50%浓度水平	100%浓度水平	150%浓度水平	50%浓度水平	100%浓度水平	150%浓度水平
1	105.7	104.5	103.7	105.1	102.3	105.5
2	104.8	104.6	105.0	106.2	106.1	106.4
3	104.4	103.6	103.4	105.0	107.1	102.4
均值	105.0	104.2	104.0	105.4	105.2	104.8
RSD	0.6	0.6	0.6	0.6	2.4	2.0

表 2 氯化琥珀胆碱注射液回收结果

Tab. 2 Result of recovery of injection %

编号	氯化胆碱			氯化琥珀酰单胆碱		
	50%浓度水平	100%浓度水平	150%浓度水平	50%浓度水平	100%浓度水平	150%浓度水平
1	98.1	95.6	98.1	98.2	97.0	99.3
2	100.2	99.9	98.4	102.2	100.2	98.0
3	97.3	99.6	99.7	99.4	103.5	94.4
均值	98.5	98.4	98.7	99.9	100.2	97.2
RSD	1.5	2.5	0.8	2.0	3.3	2.6

2.9 限度的制定

参照中国药典 2015 年版相关规定，暂将原料中氯化胆碱与氯化琥珀酰单胆碱的限度定为均不得过 0.5%；暂将注射液中氯化胆碱与氯化琥珀酰单胆碱的限度定为均不得过 2.0%。

2.10 样品测定

按“2.1”“2.2”项下方法检查样品中的氯化胆碱与氯化琥珀酰单胆碱，结果见表 3~4。

表 3 氯化琥珀胆碱原料样品测定结果(n=2)

Tab. 3 Determination result of API %

批号	氯化胆碱	氯化琥珀酰单胆碱
YE151102	1.6	1.5
YE160301	3.4	2.1
YE160302	3.1	2.0
C005-141201	0.2	0.3

表 4 氯化琥珀胆碱注射液样品测定结果(n=2)

Tab. 4 Determination result of injection %

批号	氯化胆碱	氯化琥珀酰单胆碱
AA141001	1.2	0.9
AA141101	1.3	1.0
AA141102	1.2	0.9
AA150501	1.7	1.1
AA150502	1.5	1.3
AA150601	1.3	1.1
AA151201	1.4	1.3
AA160401	1.1	1.0
AA160501	1.2	1.0

3 讨论

美国药典中有关物质使用 C_{18} 柱分离，电导检测器检测。但由于氯化胆碱极性较大，在 C_{18} 柱上基本无保留，需使用己烷磺酸作为离子对试剂，增加氯化胆碱的保留。笔者实验期间无法购买到己烷磺酸(供应商处只有己烷磺酸钠，己烷磺酸钠不能替代己烷磺酸使用，因为阳离子模式检测时，流动相中大量 Na^+会掩盖其他所有信号)，故改为离子色谱法检查，以羧酸基阳离子交换色谱柱为色谱柱，甲烷磺酸为流动相，电导检测器检测。

中国药典采用薄层色谱法来控制氯化胆碱，采用酸碱滴定法来控制氯化琥珀酰单胆碱，但这 2 种方法灵敏度较差，操作繁琐，实验人员之间存在着较大的操作误差。因此本法采用离子色谱，同时检测本品的 2 大降解杂质——氯化胆碱和氯化琥珀酰单胆碱，该法专属性强、灵敏度高、精密度好、简便快速，可用于本品的质量控制。

REFERENCES

[1] 郑洪国, 宁张磊, 梁立娜等. 离子色谱法检测氯化琥珀胆碱注射液中的氯化胆碱的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(12): 2147-2149.

[2] WU X F, JIN S D, SHEN J, et al. Determination of related substances in Suxamethonium Chloride injection [J]. Pharm J Chin PLA(解放军药学学报), 2009, 25(4): 355-357.

[3] JIANG M Z, CHENG X W, CHU J X. Progress on suxamethonium chloride analysis [J]. J Forensic Med(法医学杂志), 2013, 29(6): 451-453.

[4] CHEN X G, WANG S Z, LYU J Z, et al. Determination of choline chloride in biological samples by ion chromatography [J]. Forensic Sci Technol(刑事技术), 2010(6): 17-18.

收稿日期：2018-03-05

(本文责编：曹粤锋)