

二维超高效液相色谱-飞行时间质谱联用技术鉴定氯化琥珀胆碱原料药中的杂质

陈红^{1*}, 杨梅¹, 张姮婕¹, 袁铭², 廉向金¹[1.成都市食品药品检验研究院, 成都 610045; 2.沃特世科技(上海)有限公司, 上海 201206]

中图分类号 R954.2; R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)07-0941-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.07.19

摘要 目的:建立鉴定氯化琥珀胆碱原料药中杂质的方法。方法:采用二维超高效液相色谱-飞行时间质谱联用技术。一维色谱柱为 Hypersil GOLD C₁₈,以缓冲液(含22 mmol/L 戊烷磺酸钠+50 mmol/L 氯化钠+5 mmol/L 硫酸)为流动相A,以乙腈为流动相B,流动相A、B的体积比为95:5,柱温为40℃,流速为1.0 mL/min,检测波长为214 nm;二维色谱柱为 ACQUITY UPLC BEH C₁₈,以0.1%氨水为流动相A,以乙腈为流动相B,采用梯度洗脱,柱温为30℃,流速为0.4 mL/min;离子化模式为ESI+,毛细管电压为2.5 kV,离子源温度为120℃,雾化气温度为450℃,雾化气流速为900 L/h,采集模式为MS^E。结果:通过一维液相色谱在氯化琥珀胆碱原料药中检出琥珀酸、琥珀酰氯(工艺中间体)及吡啶(试剂)等杂质;另有4个比较明显的未知杂质,分别命名为杂质1、杂质2、杂质3、杂质4,其中尤以杂质2的表观含量最高。通过二维液相色谱质谱联用法推断杂质2为脱氢琥珀酰单胆碱,杂质4为氯化琥珀酰单胆碱,杂质1、杂质3在质谱中均未被检测到信号。结论:本研究建立了鉴定氯化琥珀胆碱原料药中杂质的方法,其研究结果可用于评价氯化琥珀胆碱原料药的质量。

关键词 氯化琥珀胆碱;原料药;杂质;二维超高效液相色谱-飞行时间质谱联用技术

Identification of Impurities in Succinylcholine Chloride Raw Material by Two-dimensional UPLC-QTOF-MS

CHEN Hong¹, YANG Mei¹, ZHANG Hengjie¹, YUAN Ming², LIAN Xiangjin¹[1.Chengdu Institute of Food and Drug Control, Chengdu 610045, China; 2.Waters Technologies(Shanghai)Co., Ltd., Shanghai 201206, China]

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the identification of impurities in succinylcholine chloride raw material. METHODS: Two-dimensional UPLC-QTOF-MS was adopted. One dimension chromatographic condition was Hypersil GOLD C₁₈ column using buffer solution (22 mmol/L sodium pentanesulfonate+50 mmol/L sodium chloride+5 mmol/L sulphuric acid) as mobile phase A and acetonitrile as mobile phase B, volume ratio of mobile phase A to mobile phase B 95:5, column temperature of 40℃, flow rate of 1.0 mL/min, detection wavelength of 214 nm. Two-dimension chromatographic condition was ACQUITY UPLC BEH C₁₈ column using 0.1% ammonia as mobile phase A and acetonitrile as mobile phase B (gradient elution) with column temperature of 30℃ at flow rate of 0.4 mL/min. Ionization mode was ESI+ with capillary voltage of 2.5 kV, source temperature of 120℃, temperature of atomizing gas at 450℃, flow rate of atomizing gas at 900 L/h, acquisition mode of MS^E. RESULTS: The succinic acid, succinyl chloride (intermediate), pyridine (reagent) and other impurities were detected in succinylcholine chloride by one dimensional method of HPLC. Other 4 obvious unknown impurities were named impurity 1, impurity 2, impurity 3 and impurity 4, among which the apparent content of impurity 2 was the highest. Two-dimensional method of HPLC-QTOF-MS deduced that the impurity 2 was dehydrogenate succinylcholine chloride and impurity 4 was succinylcholine chloride. The impurity 1 and impurity 3 were not detected in mass spectrum. CONCLUSIONS: Establish method for the identification of impurity in succinylcholine chloride raw material, and the results of research are used for the evaluation of the quality of the succinylcholine chloride raw material.

KEYWORDS Succinylcholine chloride; Raw material; Impurity; Two-dimensional UPLC-QTOF-MS

氯化琥珀胆碱属于去极化型肌松药。1952年氯化琥珀胆碱注射液被批准在美国上市,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。氯化琥珀胆碱注射液在临床上用于全身麻醉时气管插管术中维持肌松^[1-7],在现有肌松类药物中起效最快^[8],属于国家基本药物目录(2012年版)品种。氯化琥珀胆碱引起肌纤维去极化时使细胞内钾离子迅速流至细胞外,可致血钾水平升高、肌纤维成束收

缩,常见不良反应有术后肌痛及眼压、胃内压、颅内压升高等^[9-15],临床上现已较少使用本品作为全麻快速诱导插管常规用药。鉴于不良反应与药品中杂质存在关系,且2015年版《中国药典》(四部)未收载该原料药杂质的鉴定方法,故本研究拟建立一种对其杂质进行鉴定的方法。

1 材料

1.1 仪器

ACQUITY 2D 超高效液相色谱(UPLC)仪、Xevo G2-XS 飞行时间质谱(QTOF)仪(美国 Waters 公司); AE240 电子分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司); Mil-

* 主任药师,硕士。研究方向:药品质量控制。电话:028-85362213。E-mail:redchen333@sohu.com

li2Q去离子水发生器(美国Millipore公司)。

1.2 药品与试剂

氯化琥珀胆碱原料药(A厂,批号:YE151102);氯化琥珀胆碱[《美国药典》(USP)对照品,批号:L1M438,纯度:以无水物计为98.1%];琥珀酰单胆碱(USP对照品,批号:H01364,纯度:100%);戊烷磺酸钠(山东禹王实业有限公司化工分公司,批号:2014091401,色谱纯);氨水、乙腈为色谱纯,其余试剂为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 氯化琥珀胆碱概述

氯化琥珀胆碱化学名:二氯化2,2'-(1,4-二氧代-1,4-亚丁基)双(氧)双[N,N,N-三甲基乙铵]二水合物,英文名:Succinylcholine chloride,分子式: $C_{14}H_{30}N_2O_4 \cdot 2H_2O$,分子量为397.34。氯化琥珀胆碱为白色或类白色的结晶性粉末,无臭,在水中极易溶解,在乙醇或三氯甲烷中微溶,在乙醚中不溶,结构式见图1。

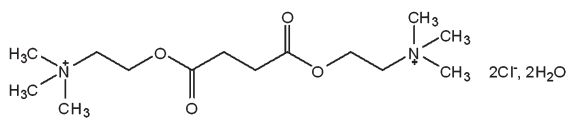
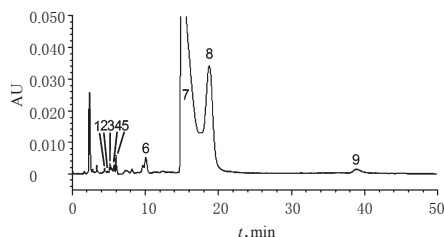


图1 氯化琥珀胆碱结构式

Fig 1 Structure of succinylcholine chloride

根据氯化琥珀胆碱的理化性质,故参照USP40氯化琥珀胆碱项下有关物质检查法(即“1D法”)的色谱条件对杂质进行初步分析,再采用二维色谱-质谱联用法对其他未知杂质进行分析,结果见图2。



注:1.吡啶杂质1;2.琥珀酰氯;3.琥珀酸;4.吡啶杂质2;5.杂质1;6.杂质4;7.琥珀胆碱;8.杂质2;9.杂质3

Note: 1. pyridine impurity 1; 2. succinyl chloride; 3. succinic acid; 4. pyridine impurity 2; 5. impurity 1; 6. impurity 4; 7. succinylcholine; 8. impurity 2; 9. impurity 3

图2 氯化琥珀胆碱有关物质检查色谱图(一维)

Fig 2 Chromatogram of related substances in succinylcholine chloride (one-dimensional)

2.2 方法

2.2.1 液相色谱(LC)/UPLC色谱条件(一维法,1D) 色谱柱:Hypersil GOLD C_{18} (250 mm×4.6 mm, 5 μ m);柱温:40 $^{\circ}$ C;检测波长:214 nm;流速:1.0 mL/min;流动相A:缓冲液(含22 mmol/L戊烷磺酸钠+50 mmol/L氯化钠+5 mmol/L硫酸),流动相B:乙腈,流动相A、B的体积比为95:5。

2.2.2 LC/UPLC色谱条件(二维法,2D) 色谱柱:ACQUITY UPLC BEH C_{18} (50 mm×2.1 mm, 1.7 μ m);柱温:30 $^{\circ}$ C;流速:0.4 mL/min;流动相A:0.1%氨水,流动相

B:乙腈。洗脱程序:待吡啶杂质2出峰后,B相在3 min内由2%上升到60%。

2.2.3 质谱(MS)条件 离子化模式:电喷雾正离子化(ESI+);毛细管电压:2.5 kV;离子源温度:120 $^{\circ}$ C;雾化气温度:450 $^{\circ}$ C;雾化气流速:900 L/h;采集模式:全信息串联质谱(MS^F)。

2.2.4 样品溶液的制备 取氯化琥珀胆碱原料药约100 mg,置于10 mL量瓶中,加乙腈-水(50:50, V/V)使溶解并稀释至刻度,摇匀。

2.2.5 测定法 取“2.2.4”项下的溶液适量,按“2.2.1”项下方法进样50 μ L,待吡啶杂质2出峰后按“2.2.2”项下色谱系统进行分离,同时将多个杂质峰按“2.2.3”项下进行质谱分析和结构确认。

2.3 结果

2.3.1 一维法(1D)实验结果 氯化琥珀胆碱为季铵盐,极性很强,在普通反相液相色谱中基本无保留,需在流动相中加入离子对试剂,以增加组分保留,达到更好的分离效果,结果见图2。检出琥珀酸、琥珀酰氯(工艺中间体)及吡啶(试剂)等杂质;另有4个比较明显的未知杂质,分别命名为杂质1、杂质2、杂质3、杂质4,按面积归一化法计算,其中尤以杂质2的表观含量最高。

2.3.2 二维法(2D)与质谱联用实验结果 由于“1D”流动相含离子对试剂及不挥发的盐,无法直接与MS连接进行杂质的鉴定,因此使用“2D”UPLC-QTOF系统来完成。考虑到氯化琥珀胆碱及其杂质极性很强,不易在普通色谱柱中保留,因此采用离子对试剂作为流动相(“1D”法),使杂质与主成分基本分离后,再将待测杂质切入“2D”UPLC-QTOF系统进行检测分析。

为找到氯化琥珀胆碱杂质二级质谱的裂解规律,先对主成分氯化琥珀胆碱质谱图进行分析,其一、二级质谱图见图3。二级质谱图中主要碎片离子峰 m/z 为128.95、145.05、164.92、197.02,氯化琥珀胆碱质谱信号表现为琥珀胆碱部分,即 $[C_{14}H_{30}N_2O_4]^{2+}$, m/z 为145,二级质谱碎片离子解析结果见图4。

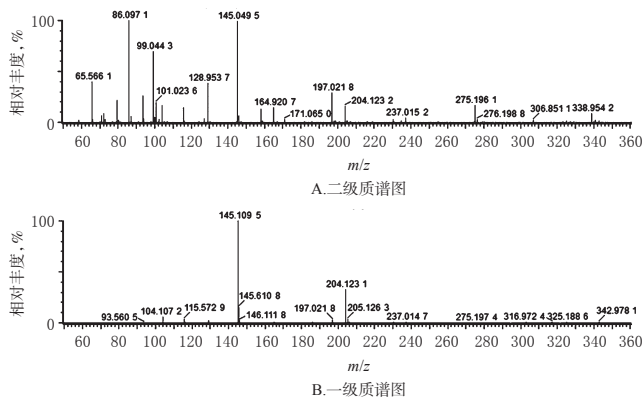


图3 氯化琥珀胆碱的一、二级质谱图

Fig 3 First-level and second-level mass spectrum of succinylcholine chloride

杂质4的保留时间约为10 min,分子离子峰 m/z 为204.123 5,通过软件计算其分子式为 $[C_8H_{16}NO_4]^+$,其一、

4个厂家83批复方桔梗麻黄碱糖浆(Ⅱ)的质量分析

谭菊英*,朱荣,孙煜,曾庆花,黄慧,杨娜,甘永琦,朱建萍#,卢日刚(广西壮族自治区食品药品检验所, 南宁 530021)

中图分类号 R927.11 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)07-0944-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.07.20

摘要 目的:通过对4个厂家83批复方桔梗麻黄碱糖浆(Ⅱ)的国家评价性抽验结果进行分析,评价其质量。方法:采用法定检验方法和探索性研究进行样品检测,统计分析并评价。探索性研究内容包括采用高效液相色谱法测定防腐剂苯甲酸等的含量和盐酸麻黄碱的含量,处方抑菌效力检查研究,溶液pH值测定;采用旋光光度法测定蔗糖的含量,氯化铵含量与微生物污染之间联系的研究,采用顶空气相色谱法同时测定薄荷脑和乙醇的含量,采用薄层色谱法对桔梗流浸膏进行鉴别研究。结果:法定检验结果显示,在83批样品中,80批合格,3批不合格,合格率为96.4%。不合格项目分别为装量、微生物限度及氯化铵含量、氯化铵含量。法定检验联合探索性研究结果表明,本品存在处方抑菌效力不符合规定、部分原辅料未按处方量投料、产品质量不均等情况。建议修订本品质量标准:增加桔梗薄层色谱鉴别、pH值测定、防腐剂含量测定、薄荷脑含量测定;将盐酸麻黄碱含量测定方法修订为高效液相色谱法等。结论:复方桔梗麻黄碱糖浆(Ⅱ)样品总体质量较差,部分厂家的生产工艺及质量控制存在较大缺陷,质量标准有待提高。

关键词 复方桔梗麻黄碱糖浆(Ⅱ);质量分析;评价性抽验;探索性研究

Quality Analysis of 83 Batches of Compound Jiegeng Mahuangjian Syrup (Ⅱ) from 4 Manufacturers

TAN Juying, ZHU Rong, SUN Yu, ZENG Qinghua, HUANG Hui, YANG Na, GAN Yongqi, ZHU Jianping, LU Rigang (Guangxi Institute for Food and Drug Control, Nanning 530021, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To analyze the results of national evaluation inspection for 83 batches of Compound jiegeng mahuangjian syrup (Ⅱ) from 4 manufacturers, and to evaluate their quality. METHODS: Legal inspection method and exploratory research were adopted to test, analyze and evaluate sample statistically. The contents of exploratory research included HPLC method was used to determine the contents of preservative benzoic acid and ephedrine hydrochloride; antibacterial efficacy examination of formulation was studied; pH value of solution was determined; the content of sucrose was determined by polarimetry photometry; the relationship of the content of ammonium chloride with microbial contamination was studied; headspace GC method was used to determine the contents of menthol and ethanol; *Platycodon grandiflorum* extractum was identified and studied by TLC. RESULTS: Results of legal inspection showed that among 83 batches of sample, 80 batches were qualified and 3

学杂志,2011,27(5):394.

[3] 方俊杰,秦明,韩志杰,等.氯化琥珀胆碱弩箭杀人的法医学鉴定3例[J].刑事技术,2013(3):64-65.

[4] 张云峰,赵森,王炯,等.超高效液相色谱-质谱法分析人全血中的氯化琥珀胆碱[J].中国法医学杂志,2013,28(6):475-477.

[5] 马克兢,陈方园,张杰,等.氯化琥珀胆碱飞镖致死1例[J].法医学杂志,2016,32(1):77.

[6] 张延波,郑伟明,罗郁风,等.注射氯化琥珀胆碱杀人后自杀1例[J].法医学杂志,2016,32(1):75-76.

[7] 邱波,胡振旭,董娟,等.氯化琥珀胆碱中毒损伤程度鉴定1例[J].中国法医学杂志,2014,29(6):600-601.

[8] 贾英萍.罗库溴铵与氯化琥珀胆碱在支气管异物取出术中应用效果的比较[J].实用儿科临床杂志,2010,25(10):769-770.

[9] 冒理雄,叶光华,范琰琰,等.注射氯化琥珀胆碱致人死亡1例[J].中国法医学杂志,2014,29(3):272-273.

[10] 胡浩浪,裴茂清,施文兵.氯化琥珀胆碱致人死亡1例[J].广东公安科技,2014(1):75-76.

[11] 蒋明哲,程向炜,褚建新.氯化琥珀胆碱分析测定的研究进展[J].法医学杂志,2013,29(6):451-453.

[12] 武向锋,靳守东,沈娟,等.氯化琥珀胆碱注射液中有关注物质的检查[J].解放军药学报,2009,25(4):355-357.

[13] 李卫东,马新莲,何俊华,等.利多卡因对丙泊酚与琥珀胆碱麻醉时电休克脑电的影响[J].中国医学创新,2016,13(10):50-53.

[14] 黄权才,游学兴.依托咪酯脂肪乳复合氯化琥珀胆碱诱导用于无抽搐电休克治疗的评价[J].中国处方药,2015,13(4):85-86.

[15] 杨希亭,陈汉春.尼古丁及氯化琥珀胆碱对皮肤细胞增殖的影响[J].实验室研究与探索,2014,33(2):54-56.

(收稿日期:2018-01-02 修回日期:2018-02-12)
(编辑:余庆华)