

# HPLC-ELSD法测定美格鲁特胶囊的含量

包汝泼\*,李开刚,徐 骥(宁波市天衡制药有限公司,浙江宁波 315201)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)37-3523-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.37.25

**摘要** 目的:建立测定美格鲁特胶囊含量的方法。方法:采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器法。色谱柱为MN Nucleosil 100-5 C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>苯基柱,流动相为乙腈-水(0.1%三氟醋酸)(5:95, V/V),流速为1.0 ml/min,柱温为30 ℃;蒸发光散射检测器漂移管温度为40 ℃,载气(空气)流速为2.8 L/min。结果:美格鲁特检测质量浓度线性范围为0.100 2~1.002 0 mg/ml( $r=0.999 1$ ),平均回收率为98.95%,RSD=1.40%( $n=9$ )。结论:该方法灵敏、准确,可用于美格鲁特胶囊的含量测定。

**关键词** 美格鲁特胶囊;高效液相色谱法;蒸发光散射检测器;含量测定

## Content Determination of Miglustat Capsules by HPLC-ELSD

BAO Ru-po, LI Kai-gang, XU Ji(Ningbo Team Pharmaceutical Co., Ltd., Zhejiang Ningbo 315201, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To develop a method for the content determination of Miglustat capsules. METHODS: HPLC-ELSD was adopted. The determination was performed on MN Nucleosil 100-5 C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> phenyl column with mobile phase consisted of acetonitrile-water(0.1% trifluoroacetic acid)(5:95, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was 30 ℃. The drift tube temperature of ELSD detector was 40 ℃ and the flow rate of carrier gas (air) was 2.8 L/min. RESULTS: The linear range of miglustat was 0.100 2-1.002 0 mg/ml ( $r=0.999 1$ ) with an average recovery of 98.95% (RSD=1.40%,  $n=9$ ). CONCLUSIONS: The method is sensitive, accurate, and suitable for content determination of Miglustat capsules.

**KEY WORDS** Miglustat capsules; HPLC; ELSD; Content determination

美格鲁特是一种葡萄糖苷酰鞘氨醇合成酶抑制剂,治疗因葡萄糖酶脑苷酯酶活性降低所引起的I型戈谢氏病的药物,由美国Actelion Pharms公司研制,2003年7月获得美国FDA批准上市<sup>[1]</sup>,目前尚未进入中国市场。本公司正在研制该药物,因未见有关含量测定的公开文献报道,笔者拟尝试采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)法建立一种简单易行、专属性强、灵敏高的检测方法,以用于该制剂的质量控制和标准建立。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1260型HPLC仪(美国安捷伦科技公司);SEDEX LT 85型ELSD(法国Sedere公司);XS205分析天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

美格鲁特对照品(宁波市天衡制药有限公司合成室,批号:110805,纯度:99.4%);美格鲁特胶囊(宁波市天衡制药有限公司,批号:20130304、20130408、20130421,规格:每粒100 mg);微晶纤维素、微粉硅胶等辅料均购自湖州展望药业有限公司;三氟醋酸(TFA)和乙腈等试剂均符合色谱要求。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱为MN Nucleosil 100-5 C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>苯基柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-水(含0.1%TFA)(5:95, V/V),流速为1.0 ml/min,柱温为30 ℃,进样量为20 μl,ELSD漂移管温度为40 ℃,载气(空气)流速为2.8 L/min。

### 2.2 溶液的制备

\* 工程师,硕士。研究方向:新药研发。电话:0574-86686031。E-mail:brp168@163.com

2.2.1 对照品溶液的制备。精密称取美格鲁特对照品50.10 mg置于50 ml量瓶中,加流动相适量超声15 min溶解后稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液。精密量取对照品贮备液5 ml置于10 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备。取美格鲁特胶囊20粒,取出内容物混合均匀,精密称取样品细粉适量(约相当于美格鲁特50 mg),置于100 ml量瓶中,加流动相20 ml,超声15 min溶解,加流动相稀释至刻度,摇匀,经0.22 μm滤膜滤过,取续滤液即得。

2.2.3 空白辅料溶液的制备。称取不含美格鲁特的处方辅料适量,置于100 ml量瓶中,加流动相20 ml,超声15 min溶解,加流动相稀释至刻度,摇匀,经0.22 μm滤膜滤过,取续滤液即得。

### 2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下3种溶液按“2.1”项下色谱条件进样。结果,对照品和供试品主峰保留时间相近,峰形较好,空白辅料无干扰,理论板数按美格鲁特峰计应不低于5 000。色谱见图1。

### 2.4 线性关系考察

分别精密量取美格鲁特对照品贮备液0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 ml置于5 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,即含美格鲁特0.100 2、0.200 4、0.300 6、0.400 8、0.501 0 mg/ml,再加上1.002 0 mg/ml对照品贮备液共6个质量浓度,分别进样20 μl,记录各自峰面积,然后求出各溶液质量浓度的自然对数值分别为-2.300 6、-1.607 4、-1.202 0、-0.914 3、-0.691 2、0.002 0,相应的峰面积自然对数值分别为5.235 4、6.284 5、6.902 3、7.405 2、7.827 8、9.011 8。以溶液质量浓度自然对数值( $X, X=\ln C$ )为横坐标,以峰面积的自然对数值( $Y, Y=\ln A$ )为纵坐标,进行线性回归得方程: $Y=1.644 1X+8.950 8$ ( $r=0.999 1, n=6$ ),表明美格鲁特检测质量浓度线性范围为0.100 2~1.002 0 mg/ml。

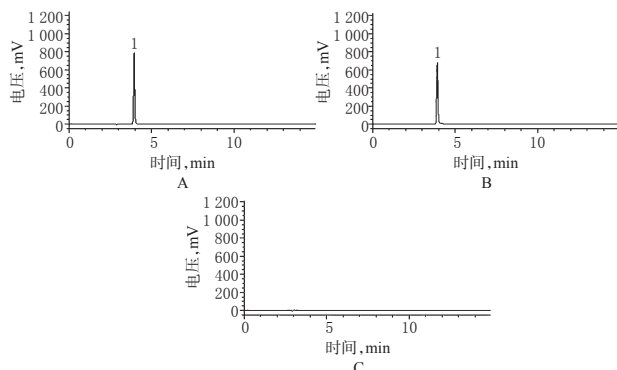


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 空白辅料; 1. 美格鲁特

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test samples; C. blank excipients; 1. miglustat

### 2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下制备的美格鲁特对照品溶液(0.501 0 mg/ml) 20  $\mu$ l, 连续进样6次, 测定峰面积, 计算RSD=0.97% ( $n=6$ ), 表明测定仪器精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

取样品(批号:20130304), 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 于室温下放置0、1、2、4、8、12、24 h时进样, 测定峰面积, 计算RSD=0.72% ( $n=7$ ), 表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

### 2.7 重复性试验

取美格鲁特对照品适量, 精密称定, 分别加流动相溶解并定量稀释制成约含美格鲁特1.0、0.25 mg/ml的溶液, 作为对照品溶液a和b。精密取这两种溶液各20  $\mu$ l注入色谱仪, 记录色谱图, 将对照品溶液质量浓度与相应的峰面积分别取自然对数值, 由两点确定方程 $Y=1.647 5X+8.959 6$ 。然后取样品(批号:20130304)20粒, 按“2.2.2”项下所述方法制备供试品溶液, 分别进样20  $\mu$ l, 记录各自的色谱图和峰面积, 重复测定6次, 将样品峰面积求自然对数值后代入上述两点确定的方程, 计算出 $X$ 后, 再取反对数算出样品溶液质量浓度, 最终计算每次含量。结果求得平均含量为99.45%, RSD=0.83% ( $n=6$ ), 表明方法重复性良好。

### 2.8 回收率试验

分别精密称取美格鲁特对照品适量, 与空白辅料混合配制成为标准质量浓度80%、100%和120%的溶液各3份(共9份), 进样, 分别测定并计算回收率, 结果见表1。

表1 回收率试验结果( $n=9$ )

Tab 1 Results of recovery tests( $n=9$ )

加入量, mg	测得量, mg	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
20.08	20.43	101.72		
19.90	19.53	98.14		
20.31	19.96	98.28		
25.28	24.58	97.23		
24.98	24.82	99.37	98.95	1.40
25.07	24.67	98.40		
29.65	29.75	100.35		
29.86	29.62	99.21		
30.05	29.42	97.89		

### 2.9 样品含量测定

取3批美格鲁特胶囊样品各20粒, 按“2.2.2”项下所述方法制备供试品溶液, 分别进样20  $\mu$ l, 记录各自的色谱图和峰面积, 将样品峰面积求自然对数值后代入“2.7”项下a、b对照品溶液确定的方程 $Y=1.647 5X+8.959 6$ , 计算出 $X$ 后, 再取反对数计算出样品溶液质量浓度, 最终算出含量。每批样品取双样, 各进样2次, 共4次, 结果3批样品含量分别为97.68%、99.32%、98.26%, RSD分别为1.52%、0.96%、1.09% ( $n=4$ )。

## 3 讨论

### 3.1 检测器条件的选择

美格鲁特原料药和制剂质量标准目前尚未被任何药典收载, 国内、外有关检测报道也仅限于液质联用分析血液样品<sup>[2]</sup>, 但质谱使用成本昂贵、操作难度高, 不适合生产企业的常规检验。本研究最初尝试用紫外检测器测定含量, 根据全波长扫描发现其在210 nm波长处有弱吸收, 但由于在紫外末端吸收, 基线噪音大, 重现性差。而ELSD这种检测器具有高通用性, 不受物质本身化学结构限制等优点<sup>[3-4]</sup>, 试验后发现其灵敏度与紫外检测器相当, 分析的基线噪音小, 色谱峰响应也较为合适, 可用于本成分含量检测用。

### 3.2 流动相及色谱柱选择

美格鲁特分子极性较强, 出峰时间比较早, 容易受杂质的干扰, 本试验在参考类似结构化合物的文献<sup>[5-7]</sup>报道基础上, 对流动相系统进行了优化, 比较了乙腈-水溶液、乙腈-水溶液(0.1% TFA)和乙腈(0.1% TFA)-水(0.1% TFA)等多种组合流动相, 每组流动相中也试过乙腈20%、10%、5%和1%等比例, 最后发现流动相中加入0.1% TFA、乙腈比例占5%时美格鲁特峰在色谱图上的保留时间、峰形及分离效果最佳。通过色谱柱考察发现Kromasil C<sub>8</sub>柱在该系统条件下基线不稳、峰宽较大, 而采用MN Nucleosil 100-5 C<sub>8</sub>H<sub>5</sub>苯基柱后保留时间合适、柱效较高、峰形好, 因此将其确定为本试验用色谱柱。

### 3.3 载气流速和漂移管温度优化

笔者在初步确定流动相的组成和流速后, 曾进行过载气流速和漂移管温度优化, 先设置漂移管温度为40  $^{\circ}$ C, 空气流速分别设置2.4、2.8、3.2 L/min。结果载气流速为2.4 L/min时, 基线噪音很大; 3.2 L/min时, 基线平稳, 但峰面积较小; 2.8 L/min时信噪比合适, 峰面积也较大, 因此选此数据为载气流速。同理确定漂移管温度40  $^{\circ}$ C时信噪比最大且噪声小。

### 3.4 含量计算方法

根据ELSD的原理, 一般样品质量与检测器响应之间呈指数关系, 经对数转换两者可呈线性, 其线性方程截距并不为零, 为了减少试验误差, 应采用外标两点法对数方程计算含量<sup>[8-9]</sup>。本试验结果也是如此, 分别取样品质量浓度和峰面积的自然对数后进行回归可以获得良好的线性关系; 如果在线性范围内进行对照品溶液两点法校正和含量计算, 则可以获得准确的测定结果。

另经作者的初步试验, 本法除可用于测定美格鲁特胶囊的含量外, 亦可应用于美格鲁特原料药的含量测定。

## 参考文献

- [1] FDA. ZAVESCA<sup>®</sup> label[EB/OL]. (2010-11-23)[2013-07-31]. <http://www.fda.gov/Drugs/>.
- [2] Elke S, Winfried WR, Jasper D. Validated LC-MS/MS method for the quantitative determination of the glucosylceramide synthase inhibitor miglustat in mouse plasma

# 4种HPLC法检查注射用头孢地嗪钠中有关物质的比较

李 兰<sup>1,2\*</sup>, 刘雁鸣<sup>1,2#</sup>, 龙海燕<sup>2</sup>, 彭 琳<sup>2</sup>, 廖 彬<sup>2</sup>, 陈得雨<sup>2</sup>(1.中南大学药学院,长沙 410013;2.湖南药用辅料检验检测中心,长沙 410014)

中图分类号 R927.11 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)37-3525-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.37.26

**摘要** 目的:建立一种较易操作并可有效控制注射用头孢地嗪钠中有关物质的HPLC方法。方法:采用4种不同色谱条件的HPLC法研究3个厂家的注射用头孢地嗪钠的杂质谱。方法1、2均为等度洗脱法,分别为日本药局方法和现行版《中国药典》法,方法3为梯度洗脱法,方法4系在方法2基础上改变检测波长建立的方法。结果:方法1~4分别能检测出3、4、9、4种杂质,4种方法检查的3个厂家的样品杂质谱一致;方法4较方法3易于操作,较方法1各杂质峰响应值明显大且灵敏,较方法2基线噪音小。结论:建立的方法4更简便、准确,适用于注射用头孢地嗪钠的有关物质检查。

**关键词** 高效液相色谱法;注射用头孢地嗪钠;杂质谱;有关物质;检查

## Comparison of the Determination of the Related Substances in Cefodizime Sodium for Injection by 4 Kinds of HPLC

LI Lan<sup>1,2</sup>, LIU Yan-ming<sup>1,2</sup>, LONG Hai-yan<sup>2</sup>, PENG Lin<sup>2</sup>, LIAO Bin<sup>2</sup>, CHEN De-yu<sup>2</sup>(1.School of Pharmacy, Central South University, Changsha 410013, China;2.Hunan Pharmaceutical Excipients Testing and Inspection Center, Changsha 410014, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish an HPLC method easier to operate and more effective to control related substances in Cefodizime sodium for injection. METHODS: HPLC under 4 kinds of chromatogram condition were adopted to study the impurity profiles of Cefodizime sodium for injection from 3 manufactories. Methods 1 and 2 were isocratic elution methods from Japanese Pharmacopoeia and Chinese Pharmacopoeia. Method 3 was gradient elution. The detection wavelength of method 4 was adjusted on the basis of method 2. RESULTS: 4 methods were able to identify 3, 4, 9 and 4 kinds of impurities, respectively. The impurity profiles of samples from 3 manufactories by 4 methods were consistent. The method 4 was easier to operate than method 3; response values of its each impurity peak were obviously larger and more sensitive than method 1; its baseline noise was smaller than method 2. CONCLUSIONS: The method 4 is simpler and more accurate than other 3 methods, and it is suitable for the impurity detection of Cefodizime sodium for injection.

**KEY WORDS** HPLC; Cefodizime sodium for injection; Impurity profiles; Related substances; Determination

头孢地嗪钠(Cefodizime sodium)为第3代半合成头孢类抗生素,系由德国Hoest公司与Russell公司合作开发,已先后在日本、德、美、中等国家上市。与其他第3代头孢类药物相比,该产品的优点是对 $\beta$ -内酰胺酶稳定,安全长效,抗菌谱广<sup>[1]</sup>。药物

中的杂质可影响产品纯度,杂质增多甚至会影响稳定性,从而使药物疗效降低,因此,杂质的限量必须符合规定的要求。应建立有效的方法测定药品中杂质的含量以控制产品质量。为控制头孢地嗪钠产品质量,2010年版《中国药典》<sup>[2]</sup>和XVI版

and human plasma and its application to a pharmacokinetic study[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 59(5):123.

[3] 赵韶华,刘敏彦,王玉峰,等.HPLC-ELSD法同时测定连翘叶中齐墩果酸和熊果酸[J]. *食品科学*, 2012, 33(2):224.

[4] 刘苇,金城,孔维军,等.高效液相色谱-蒸发光散射法测定牛黄中多种有效成分含量及其质量相关性研究[J]. *分析化学*, 2010, 38(4):522.

\* 药师,硕士研究生。研究方向:药品质量分析。电话:0731-89919748。E-mail:407374244@qq.com

# 通信作者:主任药师,硕士。研究方向:药品质量分析。电话:0731-89912188

[5] 朱小红,高海,孟新芳.HPLC-ELSD法测定托吡酯及其制剂的含量[J]. *药物分析杂志*, 2006, 26(4):514.

[6] 伍良涌,邱娟.HPLC测定米格列醇片的含量[J]. *中国现代应用药学*, 2012, 29(4):359.

[7] 黄伟华.载米格列醇聚电解质复合药物纳米粒子的制备、表征及筛选的初步研究[D].上海:复旦大学,2009:21.

[8] 潘柏良,刘霞.HPLC-ELSD法测定盐酸氨基葡萄糖胶囊中主成分的含量[J]. *中国药房*, 2012, 23(16):1517.

[9] 邵磊.蒸发光散射检测器计量性能验证[J]. *上海计量测试*, 2012(227):47.

(收稿日期:2013-07-11 修回日期:2013-07-31)