

## HPLC - ELSD 法测定 1,4 - 丁二磺酸腺苷蛋氨酸中 1,4 - 丁二磺酸阴离子的含量

张劲松<sup>1</sup>, 吴薇<sup>1</sup>, 俞建生<sup>2</sup>, 姚黎栋<sup>2</sup>

(1. 浙江省药品检验所, 杭州 310004; 2. 浙江震元制药有限公司, 绍兴 312000)

**摘要** 目的: 建立 1,4 - 丁二磺酸腺苷蛋氨酸中 1,4 - 丁二磺酸阴离子含量的测定方法。方法: 采用高效液相 - 蒸发光散射检测方法。色谱柱: Supelcosil LC - SCX (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 0.5 mol · L<sup>-1</sup> 甲酸铵溶液 (pH 2.8), 流速: 0.4 mL · min<sup>-1</sup>; ELSD 漂移管温度: 105 °C, 载气流速: 3.5 L · min<sup>-1</sup>。结果: 最低检测限为 0.8 μg; 最低定量限为 1.6 μg; 线性范围为 2.1 ~ 21.5 μg ( $r = 0.9999$ ); 平均加样回收率为 98.5%, RSD = 2.2% ( $n = 9$ )。结论: 该方法简便、快速、结果准确、重现性好。

**关键词:** HPLC - ELSD; 1,4 - 丁二磺酸腺苷蛋氨酸; 1,4 - 丁二磺酸阴离子

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793(2008)04 - 0616 - 02

## HPLC - ELSD determination of 1,4 - butanedisulfonate anion in ademetonine 1,4 - butanedisulfonate

ZHANG Jin - song<sup>1</sup>, WU Wei<sup>1</sup>, YU Jian - sheng<sup>2</sup>, YAO Li - dong<sup>2</sup>

(1. Zhejiang Provincial Institute for Drug Control, Hangzhou 310004, China; 2. Zhejiang Zhenyuan Pharmaceutical Co. Ltd, Shaoxing 312000, China)

**Abstract Objective:** To develop a method for the determination of 1,4 - butanedisulfonate anion in ademetonine 1,4 - butanedisulfonate. **Methods:** The content of 1,4 - butanedisulfonate anion in ademetonine 1,4 - butanedisulfonate was determined by HPLC - ELSD. The separation was carried out on a Supelcosil LC - SCX column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of ammonium formate solution (pH 2.8) at a flow rate of 0.4 mL · min<sup>-1</sup>; The temperature of the drift tube was set at 105 °C, the flow rate of gas at 3.5 L · min<sup>-1</sup>. **Results:** The limit of detection was 0.8 μg; the limit of quantification was 1.6 μg; The linear range was 2.1 - 21.5 μg ( $r = 0.9999$ ); The average recovery rate was 98.5%, with RSD = 2.2% ( $n = 9$ ). **Conclusion:** The method is simple and rapid, the result is accurate and good reproducible.

**Key words:** HPLC - ELSD; ademetonine 1,4 - butanedisulfonate; 1,4 - butanedisulfonate anion

1,4 - 丁二磺酸腺苷蛋氨酸是由 Knool 公司首研药品, 于 1993 年在意大利以 Transmetil (思美泰) 商品名上市, 用于治疗胆汁郁积。其活性成分为腺苷蛋氨酸阳离子, 1,4 - 丁二磺酸作为阴离子与其配对达到稳定其结构的作用, 不具有药理活性。但 1,4 - 丁二磺酸阴离子在分子量中所占比例影响其稳定性<sup>[1]</sup>, 因此有必要对阴离子含量进行控制, 国外检测该项采用 HPLC 法, 需用电导检测器, Dionex 公司生产的专利离子色谱柱及所配套的抑制器。这些设备国内难以购置, 且 1,4 - 丁二磺酸无紫外吸收, 因此我们采用蒸发光散射检测器进行检测。

### 1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪, Alltech 2000 蒸发光散射检测器。

1,4 - 丁二磺酸腺苷蛋氨酸原料和 1,4 - 丁二磺酸钠对照品 (纯度大于 99%) 均由浙江震元制药有限公司提供。

### 2 色谱条件与分离效果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: Supelcosil LC - SCX 强阳离子交换色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 0.5 mol · L<sup>-1</sup> 甲酸铵溶液 (用甲酸调节 pH 2.8), 流速: 0.4 mL · min<sup>-1</sup>; 柱温: 35 °C; ELSD 漂移管温度: 105 °C, 载气 (氮气) 流速: 3.5 L · min<sup>-1</sup>; 进

第一作者 Tel: (0571) 86458914; E - mail: zjsonly@hotmail.com

样量:20  $\mu\text{L}$ 。

**2.2 分离效果** 在上述色谱条件下,对照品中1,4-丁二磺酸阴离子和钠离子、样品中1,4-丁二磺酸阴离子和腺苷蛋氨酸阳离子均能完全分离。对照品与样品色谱图见图1。

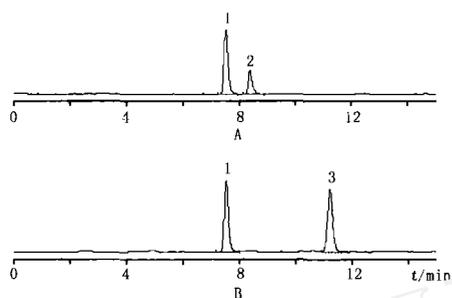


图1 1,4-丁二磺酸钠对照品(A)、样品(B)色谱图  
Fig 1 HPLC chromatograms of 1,4-butanedisulfonate (A), sample (B)  
1. 1,4-丁二磺酸阴离子(1,4-butanedisulfonate anion) 2. 钠离子( $\text{Na}^+$ ) 3. 腺苷蛋氨酸阳离子(ademetionine cation)

### 3 溶液的配制

**3.1 对照品溶液** 精密称取1,4-丁二磺酸钠对照品适量,加水制成每1 mL中分别含1,4-丁二磺酸阴离子0.4,0.5,0.6 mg的溶液。

**3.2 供试品溶液** 精密称取供试品适量,加水制成每1 mL中约含1,4-丁二磺酸腺苷蛋氨酸1.0 mg的溶液。

### 4 方法与结果

**4.1 线性关系考察** 精密称取1,4-丁二磺酸钠对照品适量,加水制成每1 mL含1,4-丁二磺酸阴离子约1.0 mg的溶液作为储备液,分别吸取储备液1.0,3.0,5.0,7.0,9.0 mL于10 mL量瓶中,加水至刻度,进样20  $\mu\text{L}$ ,按“2.1”项下的色谱条件测定,用进样质量对数值和峰面积对数值进行线性回归,回归方程为:

$$Y = 2.0 + 1.5X \quad r = 0.9999$$

结果表明:1,4-丁二磺酸阴离子进样量在2.1~21.5  $\mu\text{g}$ 范围内,进样质量对数值和峰面积对数值呈良好的线性关系。

**4.2 检测限和定量限** 以信噪比3:1为检测限,信噪比10:1为定量限,检测限和定量限分别为0.8  $\mu\text{g}$ 和1.6  $\mu\text{g}$ 。

**4.3 进样精密度试验** 取对照品浓度为0.5  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,连续进样6份,测定峰面积,结果RSD( $n=6$ )为0.6%。

**4.4 重复性试验** 取同一份供试品平行测定6次,结果RSD( $n=6$ )为1.9%。

**4.5 加样回收率试验** 精密称取已知含量的供试品100 mg,共9份,分别精密加入1,4-丁二磺酸钠对照品40 mg,50 mg,60 mg,各3份,按“3.1”项下溶液的配制方法操作,照“2.1”项下的色谱条件进行测定。结果低、中、高3个浓度的加样回收率( $n=3$ )分别为96.4%,100.3%,98.7%;RSD分别为1.1%,1.7%,1.4%。总平均加样回收率( $n=9$ )为98.5%,RSD为2.2%。

**4.6 样品测定** 分别精密量取对照品溶液与供试品溶液各20  $\mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪,计算1,4-丁二磺酸阴离子含量。3批样品测定结果( $n=2$ )分别为47.1%,46.9%,47.3%。

### 5 讨论

**5.1 对照品的选择** 由于1,4-丁二磺酸为溶液,确定其浓度有些复杂,而1,4-丁二磺酸钠为固体,精制的纯度在99%以上,且在色谱图中1,4-丁二磺酸阴离子与钠离子分离良好(其中钠离子峰可用氯化钠溶液进行确证),因此采用1,4-丁二磺酸钠作为对照品比较合适。

**5.2 色谱条件的选择** 经试验采用阳离子交换色谱柱比 $\text{C}_{18}$ 柱样品出峰时间大大缩短,理论板数也较高。流动相采用0.5  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸铵溶液(pH 2.8),可以使供试品中各杂质能和供试品主峰分离良好。ELSD参数主要有漂移管温度与载气流速,设定原则是为了得到高信噪比的结果,本试验条件下,最终确定ELSD漂移管温度:105  $^{\circ}\text{C}$ ,载气(氮气)流速:3.5  $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

**5.3 1,4-丁二磺酸腺苷蛋氨酸中1,4-丁二磺酸阴离子理论值为47.0%,3批样品测定结果为46.9%~47.3%,因此认为采用此方法测定结果基本准确。本文采用HPLC-ELSD法测定1,4-丁二磺酸腺苷蛋氨酸中1,4-丁二磺酸阴离子的含量代替用Dionex离子色谱测定,有一定的实用指导意义。**

### 参考文献

- 1 LIN Shui-yu(林水玉),XU Bi-yu(徐碧玉),JIN Zhi-qiang(金志强). Development in S-adenosyl-L-methionine(S-腺苷蛋氨酸研究进展). *Life Sci Res*(生命科学杂志),2005,9(4):37

(本文于2006年10月8日收到)