

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.11.016

氯化琥珀胆碱注射液不同溶剂中降解杂质的检测

马延, 陈涛, 卢伍党, 赵妮, 李斐

(西安力邦医药科技有限责任公司, 陕西 西安 710065)

摘要:目的 检测氯化琥珀胆碱注射液采用不同溶剂而降解产生的不同杂质。方法 用高效液相色谱(HPLC)法检测主要降解杂质, 色谱柱为Shimadzu GL柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为缓冲盐-乙腈(95:5), 检测波长为214 nm, 流速为1.0 mL/min, 进样量为50 μL, 柱温为30℃。结果 氯化琥珀胆碱注射液中的各降解杂质均能被有效分离和检测。结论 HPLC法能检测不同溶剂中氯化琥珀胆碱降解产生的不同杂质。

关键词:氯化琥珀胆碱; 高效液相色谱法; 降解杂质; 溶剂

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)11-0053-03

Detection of Degradation Impurities in Different Solvents of Suxamethonium Chloride Injection

MA Yan, CHEN Tao, LU Wudang, ZHAO Ni, LI Fei

(Xi'an Libang Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Xi'an, Shaanxi, China 710065)

Abstract: Objective To detect the different impurities degraded by different solvents in Suxamethonium Chloride Injection. **Methods** HPLC method was used to detect the main degradation impurities. The chromatographic column was Shimadzu GL column(250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was phosphate buffer-acetonitrile(95:5), the detection wavelength was 214 nm, the flow rate was 1.0 mL/min, the sample size was 50 μL, and the column temperature was 30℃. **Results** The degradation impurities in Suxamethonium Chloride Injection could be effectively separated and detected. **Conclusion** HPLC method can detect different impurities produced by degradation of Suxamethonium Chloride Injection in different solvents.

Key words: suxamethonium chloride; HPLC; degradation of impurities; solvents

氯化琥珀胆碱是一种用于静脉给药的超短效去极化骨骼肌松弛剂, 通用名为琥珀胆碱、司可林, 化学名为二氯化2', 2-[(1, 4-二氧代-1, 4-亚丁基)双(氧)]双[N, N, N-三甲基乙胺]二水合物。氯化琥珀胆碱可替代乙酰胆碱, 与胆碱能受体的运动终板结合产生去极化, 肌松(弛缓性麻痹)作用起效很快(静脉注射后1 min内起效), 单剂量给药大约可持续4~6 min。氯化琥珀胆碱起效快, 肌松完全, 代谢迅速, 临床得以广泛应用, 目前尚无一种非去极化肌松药能完全具备其优点。氯化琥珀胆碱能提供较满意的气管内插管条件, 已成为使用时间最长的肌松药, 是目前困难插管和紧急插管时唯一被选用的肌松药^[1-7]。但由于本品结构中含有酯键, 不稳定, 易发生水解反应。氯化琥珀胆碱在水溶液中主要水解产生琥珀酸、氯化胆碱和氯化琥珀单胆碱, 在丙二醇溶液中主要水解杂质与丙二醇发生反应, 产生新的降解杂质。氯化琥珀胆碱中降解杂质文献[8-9]有报道, 但杂质检测不全。美国药典委员会(USP)收载的标准中未检测注射液中的杂质, 原料药标准中对主要降解杂质琥珀酸、氯化琥珀单胆碱和氯化胆碱进行检测。氯化琥珀胆碱注射液的国内报道文献和标准中, 仅对降解杂质氯化胆碱进行了检测。本研究中参照 USP 标准^[9], 采用高效液相色谱(HPLC)法检测氯化琥珀胆碱在不同溶剂注射液中的主要降解杂质。现报道如下。

1 仪器与试剂

仪器: Thermo Ultimate 3000 型高效液相色谱仪, Chromeleon 色谱工作站(Thermo Fisher Scientific), Sartorius BS210S 型电子天平(德国赛多利斯)。

试剂: 乙腈(色谱纯, Merck 公司, 批号为20160824); 戊烷磺酸钠(批号为20161028)、氯化钠(批号为20160824)、硫酸(批号为20160504)均为分析纯, 购自国药集团化学试剂有限责任公司; 氯化琥珀胆碱对照品(USP Reference standard, 批号为H01364); 琥珀酸对照品(Dr. Ehrenstorfer GmbH, 批号为91511); 氯化琥珀胆碱对照品(USP Reference standard, 批号为R071NO)氯化琥珀胆碱注射液(西安汉丰药业有限责任公司, 水溶剂, 批号为1701101; 丙二醇溶剂, 批号为1701161, 规格为每支2 mL: 100 mg)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Shimadzu GL 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 缓冲盐(取戊烷磺酸钠3.85 g, 氯化钠2.9 g, 2 mol/L 的硫酸溶液10 mL, 置1 000 mL 水中, 溶解, 摇匀)-乙腈(95:5); 检测波长: 214 nm; 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 50 μL; 柱温: 30℃。

2.2 溶液制备

称取琥珀酸对照品约12.5 mg, 精密称定, 置25 mL

容量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,作为贮备液;再各称取氯化琥珀单胆碱对照品和氯化琥珀胆碱对照品约 20 mg,精密称定,置 10 mL 容量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,作为贮备液;分别精密量取贮备液各 1 mL,置同一 10 mL 容量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。精密吸取氯化琥珀胆碱注射液 2 mL,置 10 mL 容量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.3 样品杂质测定

取样品,按 2.2 项下方法配制对照品溶液和供试品溶液,分别进样,并进样空白溶剂。结果,空白溶剂不干扰杂质测定,各杂质与主峰分离度良好,不同溶剂的氯化琥珀胆碱注射液降解产生不同的杂质。详见图 1。

2.4 结构解析

USP 标准中仅给出降解杂质琥珀酸和氯化琥珀单胆碱。氯化琥珀胆碱注射液(水溶剂)均检出 2 个杂质,为琥珀酸和氯化琥珀单胆碱,无未知杂质检出;氯化琥珀胆碱注射液(丙二醇溶剂)未检出琥珀酸和氯化琥珀单胆碱,检出 2 个含量较高的未知杂质,对其进行结构确认。经液相色谱质谱联用(LC-MS)检测,采用 ESI 离子源,正离子模式进行扫描。在正离子模式下,出现质荷比(m/z)为 262.3 碎片峰,减少相对分子质量 35,推测失去 Cl^- ;出现 m/z 为 197.2 碎片峰,推测为氯化胆碱酯键断裂后的 $[\text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}_5 + \text{Na} - \text{H}]^+$ 碎片; m/z 为 297 和 299 处有 M 峰和 M^+ 峰的分子离子峰,丰度比为 3:1,符合 Cl^- 特征峰。因此该杂质的相对分子质量为 297,与杂质 A 的相对分子质量一致。在正离子模式下,出现 m/z 为 197.1 碎片峰,为单酯断裂的 $[\text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}_5 + \text{Na} - \text{H}]^+$ 碎片峰;同时出现对称的 m/z 为 139.1 和 255.0 碎片峰,分别为对称 2 个酯键断裂的碎片峰,因此该杂

质的相对分子质量为 234,与杂质 B 一致。

2.5 强制降解

取样品(批号为 1701101),按拟订色谱条件进行强制降解试验。

未降解:取样品 5 支,混匀,移取 2.0 mL,置 10 mL 容量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,进样测定。

酸降解:取样品 5 支,混匀,移取 2.0 mL,置 10 mL 容量瓶中,加 1.0 mol/L 盐酸溶液 1 mL,放置 0.5 h,再加 1.0 mol/L 氢氧化钠溶液 1 mL 中和,加流动相稀释至刻度,摇匀,进样测定。

碱降解:取样品 5 支,混匀,移取 2.0 mL,置 10 mL 容量瓶中,加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 0.5 mL,放置 10 min,再加 0.1 mol/L 盐酸溶液 0.5 mL 中和,加流动相稀释至刻度,摇匀,进样测定。

氧化降解:取样品 5 支,混匀,移取 2.0 mL,置 10 mL 容量瓶中,加 30% 双氧水 1 mL,室温放置 1 h,加流动相稀释至刻度,摇匀,进样测定。

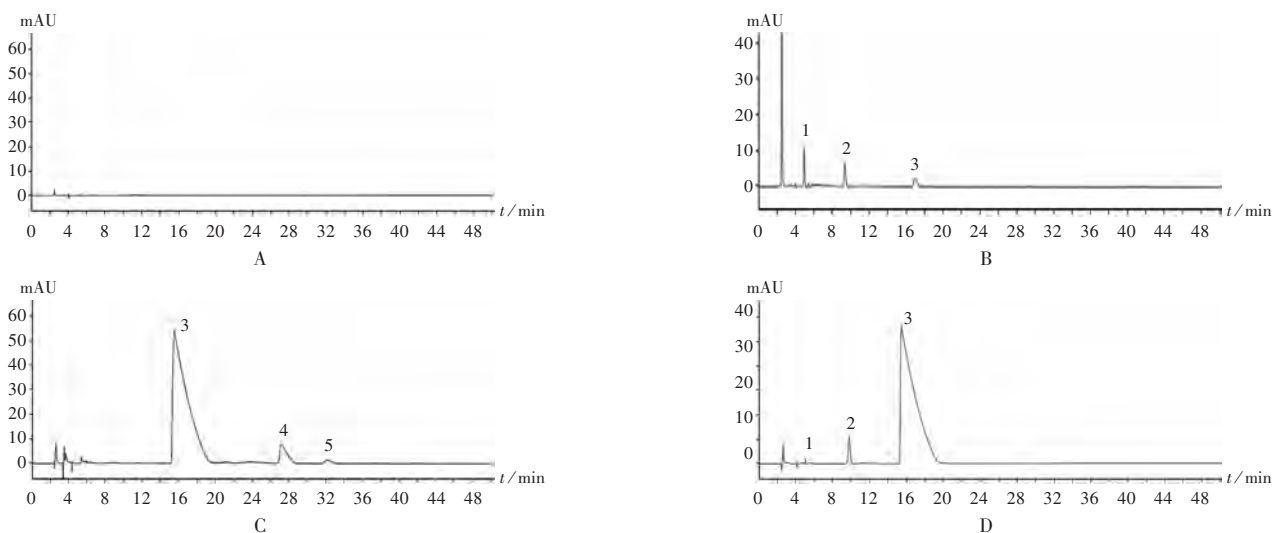
光照降解:取光照样品(4 500 lx, 72 h)5 支,混匀,移取 2.0 mL,置 10 mL 容量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,进样测定。

高温降解:取高温样品(40 °C, 1 个月)5 支,混匀,室温放置,移取 2.0 mL 置 10 mL 容量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,进样测定。

由试验结果(图 2)可见,样品(水溶剂)中,氯化琥珀单胆碱和琥珀酸主要在酸碱及高温条件下降解产生,且均为主要降解杂质,是由本品结构中的酯键断裂形成。其他条件下,几乎无杂质降解产生。在各降解条件下,杂质之间及杂质与主峰之间的分离度良好。

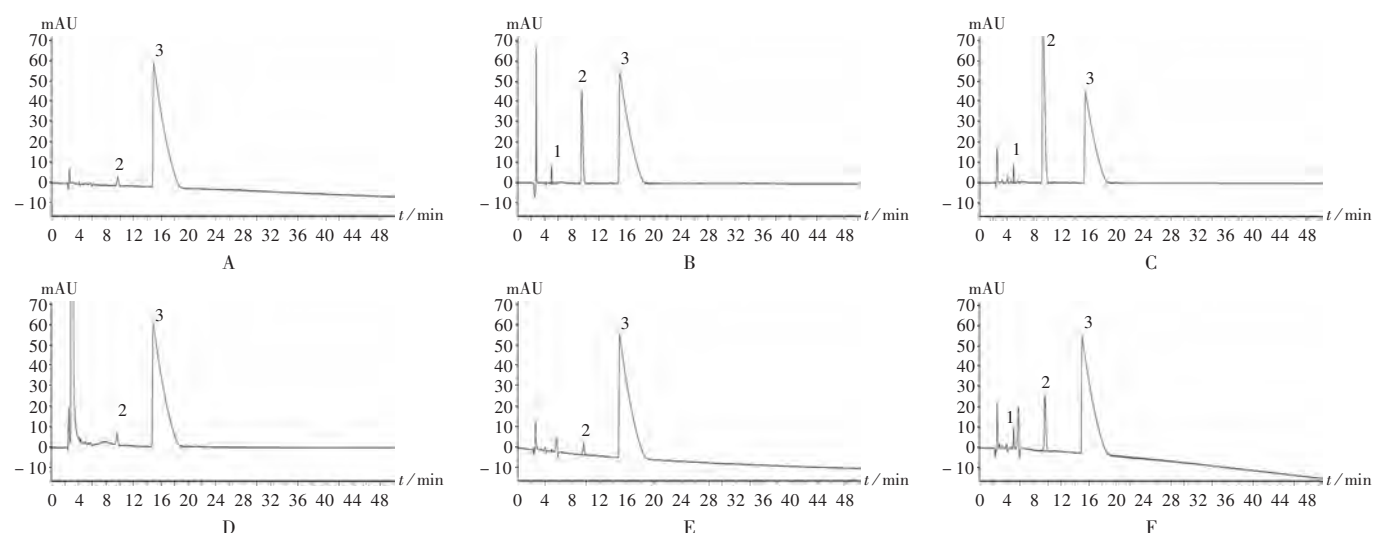
2.6 重复性试验

取样品(批号为 1701101)5 支,混匀,移取 2 mL,置



1. 琥珀酸 2. 氯化琥珀单胆碱 3. 氯化琥珀胆碱 4. 杂质 A 5. 杂质 B
A. 空白溶剂 B. 对照品溶液 C. 供试品溶液(丙二醇溶剂) D. 供试品溶液(水溶剂)

图 1 高效液相色谱图



1. 琥珀酸 2. 氯化琥珀单胆碱 3. 氯化琥珀胆碱

A. 未降解 B. 酸降解 C. 碱降解 D. 氧化降解 E. 光照降解 F. 高温降解

图2 供试品溶液(水溶剂)强制降解高效液相色谱图

10 mL 容量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液,平行配制6份,精密吸取50 μ L,进样,记录色谱图,按外标法计算杂质质量。结果供试品溶液中,琥珀酸含量平均为0.06%,氯化琥珀单胆碱平均含量为1.83%,RSD为0.21%($n=6$),表明方法重复性良好。

2.7 稳定性试验

取样品(批号为1701101)5支,混匀,移取2 mL,置10 mL 容量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液,放置室温条件下,分别于0,2,4,6,8 h时进样,记录色谱图,外标法计算各杂质含量。结果供试品溶液随着放置时间的延长,琥珀酸的含量均保持在0.05%,氯化琥珀单胆碱含量逐渐水解增大,在8 h内由1.88%增长至1.93%,增长了0.05%。提示供试品溶液8 h内不稳定,需临用新制。

3 讨论

琥珀酸和氯化琥珀单胆碱的检测中,改变流动相中2 mol/L 硫酸溶液的加入量,分别加入10,8,0 mL,不改变其他色谱条件,分别测定流动相的pH,结果为3.09,3.20,4.90。取对照品溶液,分别在不同流动相条件下进样,结果加入硫酸溶液为0 mL时各杂质不能检出,加入10,8 mL时各杂质均有较好的分离度。根据预强制降解试验,样品溶液在酸性条件下稳定性较好,故选择加入2 mol/L 硫酸溶液的量10 mL,流动相pH约为3.1。

杂质A与杂质B为氯化琥珀胆碱注射液(丙二醇溶剂)特有的未知杂质,氯化琥珀单胆碱中的羧基与丙二醇中的醇羟基缩合得到新的杂质(杂质A);琥珀酸中的羧基继续与两分子丙二醇反应,得到新的降解杂质(杂质B)。因此,在氯化琥珀胆碱注射液(丙二醇溶剂)中未检出琥珀酸与氯化琥珀单胆碱,降解产生的琥珀酸与氯化琥珀单胆碱继续参与反应,与丙二醇溶剂脱水得

到杂质A和杂质B。氯化琥珀胆碱在体内经水解酶水解后,代谢产生琥珀酸与氯化琥珀单胆碱^[10],为体内代谢产物,其安全性可预知。杂质A与杂质B为丙二醇溶剂与降解杂质的反应产物,无相关文献报道其体内的代谢途径与安全性。以丙二醇为溶剂的注射液,临床安全性较低^[11]。氯化琥珀胆碱注射液(水溶剂)的产品质量优于氯化琥珀胆碱注射液(丙二醇溶剂)。

参考文献:

- [1] 欧阳葆怡,余 革,董庆龙. 罗库溴铵和琥珀胆碱临床药效比较[J]. 中华麻醉学杂志,1997,17(11):656-659.
- [2] 贾英萍. 罗库溴铵与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.
- [3] 武向锋,靳守东,向 娟. 氯化琥珀胆碱注射液中有物质的检查[J]. 解放军药学学报,2009,25(4):355-357.
- [4] 乔文涛,黄彬宴,黄克建. 离子色谱法结合红外光谱法检验氯化琥珀胆碱[J]. 化学分析计量,2014,23(z1):32-34.
- [5] 马 明. 不同剂量琥珀胆碱复合丙泊酚用于无抽搐电休克治疗的临床观察[J]. 中国药房,2015,26(6):767-769.
- [6] 张 帅,安 芸. 保留呼吸气管插管全身麻醉在颅脑手术中的临床应用研究[J]. 临床医药文献杂志,2015,C2(27):5617.
- [7] 杜保伦. 不同剂量琥珀胆碱联合依托咪酯在无抽搐电休克治疗中的应用[J]. 中国实用神经疾病杂志,2015,18(13):120-121.
- [8] 郑洪国,宁张磊,梁立娜. 离子色谱法检测氯化琥珀胆碱注射液中氯化胆碱的含量[J]. 药物分析杂志,2009,29(12):2147-2149.
- [9] The United States Pharmacopieial Convention. USP36-NF31[M]. Rockviue: The United States Convention, 2013:5201-5202.
- [10] 闻大翔,欧阳葆怡,杭燕南,等. 肌肉松弛药[M]. 上海:图书世界出版社,2007:34-42.
- [11] 吕秋军. 药用辅料的不良反应及其安全管理[J]. 药物不良反应杂志,2010,12(6):410-414.

(收稿日期:2018-08-29)