

离子色谱法测定注射用酒石酸吉他霉素中酒石酸含量及成盐率合理性评价

钱建钦¹, 刘贵君², 梁键谋¹, 陈丹丹¹, 祝丽欣¹, 王建^{1,2*} (1.浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310052; 2.浙江工业大学, 杭州 310014)

摘要: 目的 建立离子色谱法测定注射用酒石酸吉他霉素中酒石酸含量, 通过酒石酸成盐率与 pH 值、澄清度的相关性研究, 评价样品成盐率的合理性。方法 离子色谱法采用 IonPac AS19 阴离子交换色谱柱(4.0 mm×250 mm, 7.5 μm)和 IonPac AS19 保护柱(4.0 mm×50 mm), 检测器为抑制电导检测器, 以 20 mmol·L⁻¹ 氢氧化钾溶液为流动相, 流速 1.1 mL·min⁻¹。吉他霉素原料药与不同质量比的酒石酸进行配伍试验, 探讨酒石酸比例与溶液 pH 值、澄清度的关系。结果 酒石酸浓度为 1.0~50.0 μg·mL⁻¹, 峰面积与其浓度呈良好的线性关系($r=0.999\ 8$, $n=6$); 定量限为 1.0 μg·mL⁻¹; 平均回收率为 99.5%(RSD=1.6%, $n=9$)。测定了 2 个厂家共 10 批样品, pH 值 4.2~4.3, 酒石酸含量 10.9%~11.4%, 无显著统计学差异。配伍试验表明, 溶液澄清时的酒石酸含量为 8.8%~16.1%, 溶液澄清时的 pH 范围为 3.4~5.0。结论 本离子色谱法可用于注射用酒石酸吉他霉素中酒石酸含量的测定, 2 家企业的成盐工艺较为合理。

关键词: 离子色谱法; 酒石酸; pH 值; 澄清度

中图分类号: R927.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2020)12-1489-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.12.016

引用本文: 钱建钦, 刘贵君, 梁键谋, 等. 离子色谱法测定注射用酒石酸吉他霉素中酒石酸含量及成盐率合理性评价[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(12): 1489-1492.

Determination of Tartaric Acid in Kitasamycin Tartrate for Injection by Ion Chromatography and the Evaluation of the Salt-forming Rate

QIAN Jianqin¹, LIU Guijun², LIANG Jianmou¹, CHEN Dandan¹, ZHU Lixin¹, WANG Jian^{1,2*} (1.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310052, China; 2.Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an ion chromatography method for determination of tartaric acid in kitasamycin tartrate for injection, through the correlation study of tartaric acid salt-forming rate with pH value and clarity, evaluated the rationality of the salt-forming rate. **METHODS** The chromatographic separation was performed on an IonPac AS19 anion exchange column(4.0 mm×250 mm, 7.5 μm) and IonPac AS19 guard column(4.0 mm×50 mm), using suppressed conductivity detector. An isocratic eluent of 20 mmol·L⁻¹ KOH was chosen as mobile phase, flow rate was 1.1 mL·min⁻¹. Binary mixture of kitasamycin and tartaric acid prepared in different mass ratios was performed to explore the possible correlation between the salt-forming rate and pH value and clarity. **RESULTS** A good linear relationship was observed within the range of 1.0–50.0 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 8$, $n=6$). The limit of quantification was 1.0 μg·mL⁻¹. The average spiked recovery was 99.5% at three concentration levels with RSD of 1.6%($n=9$). Ten batches of samples from 2 manufactures were tested using this validated method, the percentage content of tartaric acid was between 10.9%–11.4%, and no significant difference was found between the samples from 2 manufactures. The pH value were all around 4.2–4.3. The compatibility test showed that the clarity of sample solution could only be achieved when the percentage content of tartaric acid was between 8.8% and 16.1%, meanwhile the pH value was around 3.4–5.0 under this condition. **CONCLUSION** This method is accurate and reliable to determine the content of tartaric acid in kitasamycin tartrate for injection. The salt-forming rate of kitasamycin and tartaric acid in the samples of kitasamycin tartrate for injection is reasonable and qualified.

KEYWORDS: ion chromatography; tartaric acid; pH value; clarity

酒石酸吉他霉素是吉他霉素与酒石酸成盐后形成的无定型粉末, 属于多组分大环内酯类抗菌药物^[1]。注射用酒石酸吉他霉素为酒石酸吉他霉素的无菌粉末。吉他霉素在水中极微溶解, 通过与酒石酸成盐, 其在水中溶解度显著提高, 在水中

极易溶解, 可制成注射用粉针剂。因此, 酒石酸的成盐比例与酒石酸吉他霉素的溶解性、澄清度、pH 值等质量指标密切相关。目前, 国外药典标准中仅日本药典^[2]和日本药局方收录了酒石酸吉他霉素, 但日本药典标准中无酒石酸含量的检查项。

作者简介: 钱建钦, 男, 博士, 主管药师 Tel: (0571)87180340
任药师 Tel: (0571)87180340 E-mail: wangjianhw2000@aliyun.com

E-mail: qianjianqin@zjyj.org.cn *通信作者: 王建, 男, 博士, 主

当前,注射剂一致性评价已全面展开,国家药品监督管理局药品审评中心发布了“已上市化学仿制药(注射剂)一致性评价技术要求(征求意见稿)”,明确了注射剂一致性评价中关键质量属性(critical quality attributes, CQA)包括溶液澄清度、颜色、pH/酸碱度、复溶时间等项目^[3]。胡昌勤等^[4-5]报道了国内早期生产的注射用头孢曲松钠澄清度不合格率较高、并且临床使用中存在起效较慢的问题,其中一个可能的原因为国内产品与原研产品相比,钠离子的成盐率较低。因此,成盐率的高低是影响注射用粉针剂质量和疗效的关键影响因素之一,有必要研究注射用酒石酸吉他霉素中酒石酸的成盐比例及其与部分 CQA 的关系。

离子色谱法是无机离子、有机小分子离子检测的常用方法,具有分析快速、灵敏度高、专属性好、结果准确可靠等特点,广泛用于药物质量控制和分析^[6-12]。本研究建立离子色谱-电导检测器法测定注射用酒石酸吉他霉素中酒石酸的含量,并通过配伍试验探讨酒石酸含量与 pH 值、溶液澄清度的关系,为酒石酸成盐率的合理性评价提供数据基础。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

ICS 5000+离子色谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)配有 AERS-500 型电导检测器; XPE205 电子分析天平、S210-K 台式 pH 计(瑞士梅特勒-托利多公司); Advantage A10 超纯水系统(法国 Millipore 公司); TL2350 浊度仪(美国哈希公司); YB-2 型澄明度检测仪(中国天大天发科技有限公司)。

1.2 试剂

L-(+)-酒石酸(国药集团化学试剂有限公司,批号:20100926;含量:99.5%); 吉他霉素原料药(浙江普洛康裕制药有限公司,批号:KB-KT-1604024); 注射用酒石酸吉他霉素样品(哈药集团制药总厂,批号:B1711003-1, B1712004-1, B1801002-1, B1804001-1, B1804002-1; 瑞阳制药有限公司,批号:17022701, 17042301, 17042601, 17122901, 18010201)。

1.3 统计学分析

用 SPSS 16.0 统计学软件对数据进行分析,组间比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Dionex IonPac AS19 阴离子交换色谱柱(4.0 mm×250 mm, 7.5 μm)和 IonPac AS19 保护柱(4.0 mm×50 mm)。检测器为电导检测器,检测方式为抑制电导检测。以 20 mmol·L⁻¹ 氢氧化钾溶液为流动相,等度洗脱,流速 1.1 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,进样量为 20 μL。

2.2 溶液配制

2.2.1 系统适用性溶液 取浓硫酸 1.0 mL 置 100 mL 量瓶中,用纯化水稀释至刻度,摇匀,取 1.0 mL 置 100 mL 量瓶中,加 L-(+)-酒石酸 20.0 mg,用纯化水稀释至刻度,摇匀,取 1.0 mL 置 20 mL 量瓶中,用纯化水稀释至刻度,摇匀。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取 L-(+)-酒石酸约 100.0 mg 置 100 mL 量瓶中,加纯化水溶解并稀释至刻度,摇匀,作为储备液。精密量取储备液适量,分别用纯化水稀释制成每 1 mL 中含 L-(+)-酒石酸 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0 μg 的溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取注射用酒石酸吉他霉素供试品约 160 mg 置 200 mL 量瓶中,加纯化水溶解并稀释至刻度,摇匀,取 5.0 mL 置 50 mL 量瓶中,用纯化水稀释至刻度,摇匀。

2.3 专属性试验

取空白溶剂(超纯水)、“2.2.1”项下系统适用性溶液各 20 μL 注入离子色谱仪,记录色谱图。结果表明,空白溶剂不干扰酒石酸的检测,系统适用性溶液中硫酸根离子与酒石酸根离子的分离度 > 2.0,符合要求,表明方法专属性较好,见图 1。

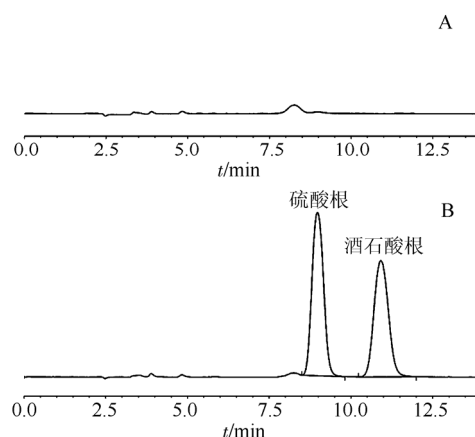


图 1 空白溶剂(A)、系统适用性溶液(B)离子色谱图

Fig. 1 Ion chromatograms of blank solution(A) and system suitability solution(B)

2.4 线性和定量限考察

精密量取“2.2.2”项下浓度为 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 L-(+)-酒石酸对照品溶液各 20 μL 注入离子色谱仪, 记录色谱图。结果表明, L-(+)-酒石酸在 1.0~50.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好, 峰面积(A)与浓度(C, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的线性回归方程为 $A=0.0673C+0.0066$, 相关系数 $r=0.9998$ 。L-(+)-酒石酸定量限为 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (信噪比 S/N 为 13)。

2.5 进样精密度试验

精密量取 10.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 L-(+)-酒石酸对照品溶液 20 μL , 注入离子色谱仪, 记录色谱图, 见图 2A, 连续测定 6 次, 峰面积 RSD 为 1.7%, 表明方法的进样精密度较好。

2.6 加样回收率试验

分别精密称取 L-(+)-酒石酸约 9.0, 18.0, 27.0 mg 置 200 mL 量瓶中, 再精密称取注射用酒石酸吉他霉素供试品(瑞阳制药有限公司, 批号: 17022701)约 160 mg 置上述 200 mL 量瓶中, 加超纯水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 取 5.0 mL 置 50 mL 量瓶中, 用超纯水稀释至刻度, 摇匀, 制成低(50%)、中(100%)、高(150%) 3 个质量浓度的加样回收率试验供试品溶液, 每个浓度水平配制 3 份。精密称取 L-(+)-酒石酸约 18 mg 置 200 mL 量瓶中, 加超纯水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 取 5.0 mL 置 50 mL 量瓶中, 用超纯水稀释至刻度, 摇匀, 作为加样回收率试验对照品溶液。取供试品溶液和对照品溶液各 20 μL 注入离子色谱仪, 记录色谱图, 结果见表 1, 酒石酸的平均加样回收率为 99.5%, RSD 为 1.6%($n=9$), 表明方法回收率良好。

表 1 酒石酸加样回收率测定结果

Tab. 1 Results of the recovery test of tartaric acid

组别	样品含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	加入量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
低浓度	8.684	4.617	13.239	98.66	97.95	0.79
	8.738	4.562	13.169	97.12		
	8.787	4.637	13.334	98.06		
中浓度	8.885	9.059	17.859	99.05	99.33	0.54
	8.706	8.880	17.581	99.95		
	8.798	9.084	17.792	99.00		
高浓度	8.885	13.497	22.728	102.56	101.34	1.05
	8.673	13.502	22.258	100.61		
	8.700	13.393	22.205	100.84		

2.7 样品测定

按“2.1”“2.2”项下方法测定了 2 家生产企

业共 10 批注射用酒石酸吉他霉素样品中酒石酸的百分含量, 结果见图 2 和表 2。2 个生产企业的样品中酒石酸含量无统计学差异。同一生产企业的不同批次间酒石酸含量差异均较小, 表明生产工艺较稳定。

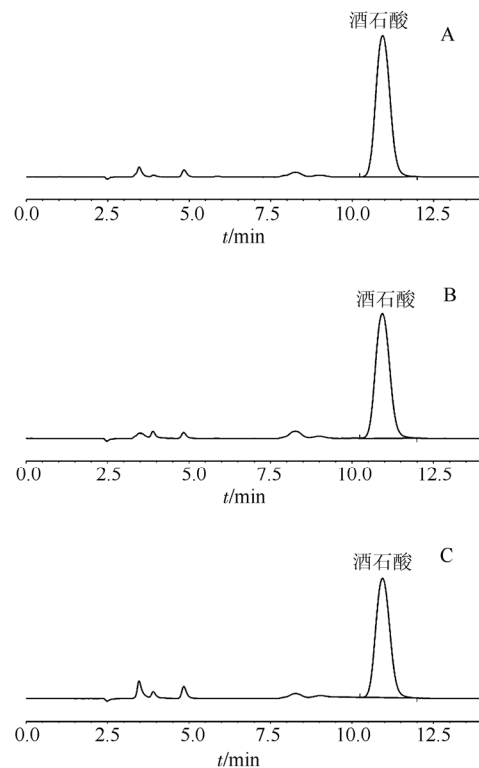


图 2 酒石酸对照品溶液、注射用酒石酸吉他霉素供试品溶液色谱图

A-酒石酸对照品溶液; B-供试品溶液(批号: B1712004-1); C-供试品溶液(批号: 18010201)。

Fig. 2 Chromatograms of tartaric acid reference standard solution and kitasamycin tartrate for injection

A-tartaric acid reference standard solution; B-sample solution(batch: B1712004-1); C-sample solution(batch: 18010201).

表 2 注射用酒石酸吉他霉素样品中酒石酸含量测定结果($n=2$)

Tab. 2 Content determination result of tartaric acid in kitasamycin tartrate for injection($n=2$)

生产厂家	批号	含量/%	平均含量/%	RSD/%
哈药集团 制药总厂	B1711003-1	11.39	11.24	1.5
	B1712004-1	11.36		
	B1801002-1	11.34		
	B1804001-1	11.12		
	B1804002-1	11.01		
瑞阳制药 有限公司	17022701	10.89	10.99	1.2
	17042301	10.95		
	17042601	10.90		
	17122901	11.20		
	18010201	11.02		

2.8 成盐比例与 pH 值、浊度的关系

为进一步探讨吉他霉素与酒石酸成盐比例和终产品 pH 值、浊度的关系,设计如下实验:称取 130.0 mg 吉他霉素原料若干份,再分别称取 25.0, 22.0, 18.8, 15.0, 12.5, 10.0, 7.5, 5.0 mg 酒石酸与之配伍,加水 5.0 mL 振摇使溶解,常温下放置 2 h 后测定 pH 值和浊度,并观察溶液澄清度,测定结果见表 3。配伍溶液澄清时酒石酸的成盐比例范围为 8.8%~16.1%,配伍溶液澄清时的 pH 范围为 3.4~5.0。因此酒石酸成盐比例应 \geq 8.8%,以免造成澄清度不合格。

此外,王建等^[13-15]报道了交沙霉素、罗红霉素等大环内酯类抗菌药物在酸性条件下极不稳定,易产生降解产物,鉴于吉他霉素与交沙霉素、罗红霉素结构相近,推测吉他霉素同样易发生酸降解。因此,酒石酸吉他霉素中酒石酸的含量不宜过高,当溶液的 pH<3.0 时可能造成溶液稳定性下降,易产生降解产物。综上,酒石酸吉他霉素中酒石酸的合理范围应为 8.8%~16.1%。

实测 2 个生产企业共 10 批样品(批号见表 2),pH 值均在 4.2~4.3,表明 2 个生产企业的样品 pH 值合理。

表 3 成盐比例与 pH 值、溶液澄清度关系考察试验结果
Tab. 3 Results of the relationship of the salt-forming rate with pH value and clarity

配伍比例		pH 值	浊度	澄清度
酒石酸/mg	吉他霉素/mg			
25.0	130.0	3.40	0.123	澄清
22.0	130.0	3.57	0.140	澄清
18.8	130.0	3.79	0.144	澄清
15.0	130.0	4.19	0.147	澄清
12.5	130.0	4.96	0.147	澄清
10.0	130.0	5.92	3.36	浑浊
7.5	130.0	6.11	77.1	浑浊
5.0	130.0	6.22	108	浑浊

3 讨论

本研究报道了离子色谱-电导检测器法测定注射用酒石酸吉他霉素中酒石酸含量,该方法灵敏度高,准确度高。此外,通过酒石酸与吉他霉素的配伍试验,表明酒石酸成盐率与 pH 值、澄清度直接相关。2 个生产厂家的样品中酒石酸含量较为合理。以上结果对于了解国内生产企业的注射用酒石酸吉他霉素产品的成盐情况,指导企业提高产品质量具有一定的指导意义和实用价值。

REFERENCES

- [1] CHENG Z P, ZHANG X Y, YANG F, et al. Study on physico-chemical properties of kitasamycin tartrate [J]. Chin J Antibiot(中国抗生素杂志), 1994, 19(6): 423-426.
- [2] Japanese Pharmacopoeia 17th edition [S]. 2016: 1128-1129.
- [3] LIU X D, HE J, ZHANG J C, et al. Brief discussion on key points for quality consistency evaluation of injections for generic drugs [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2018, 49(7): 999-1005.
- [4] HU C Q. Rethought on quality consistency evaluation/re-evaluation for domestic antibiotic injections [J]. Chin J Antibiot(中国抗菌药物杂志), 2019, 44(3): 281-288.
- [5] LI Y P, XUE J, YANG Z H, et al. Determination of the content of sodium and salt-forming rate in ceftriaxone sodium for injection by an HPLC-ELSD method using a new type of mixed-mode ion exchange column [J]. Chin J Antibiot(中国抗生素杂志), 2013, 38(7): 524-530.
- [6] ZHANG H J, ZHENG H G, YANG M, et al. Determination of choline chloride and succinylmono choline in succinylcholine chloride API and its injection by ion chromatography [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2019, 36(6): 710-713.
- [7] ZHANG C Y, ZHANG X D, NING B M, et al. Determination of hydrochloride salt content in the chemical reference standards by Ion chromatography [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2018, 38(6): 1005-1008.
- [8] YU H Y, LI J J, WANG X B, et al. Analysis of calcium ion and magnesium ion in calcium and magnesium tablets by ion chromatography method [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2017, 37(4): 644-648.
- [9] JIN J H, YE M L. Determination of chloride and trifluoroacetate in water-insoluble Pharmaceuticals by valve switch-ion chromatography [J]. Chin J Chromatogr(色谱), 2016, 34(10): 960-963.
- [10] FANG L M, HU M, CHEN A L, et al. Determination of the residual dimethylamine in arbidol hydrochloride by ion chromatography [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2016, 36(10): 1852-1856.
- [11] YUAN S Y, YANG Y, YANG L X, et al. Determination of free polysaccharides in the AC-Hib conjugate vaccine using high performance anion-exchange chromatography [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2018, 27(8): 874-881.
- [12] YAO P, XU L X, LUO J, et al. Determination of succinic acid content in succinylated gelatin injection by ion chromatography [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2016, 25(3): 352-356.
- [13] LIU G J, XU Y, SANG J, et al. Characterization of a new component and impurities in josamycin by trap-free two-dimensional liquid chromatography coupled to ion trap time-of-flight mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2019, 33(12): 1058-1066.
- [14] WANG J, ZENG H X, HONG L Y. Solubility, oil/water partition coefficient and stability of roxithromycin in gastrointestinal medium, and the dissolution behavior of original tablets [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2013, 33(10): 1787-1791.
- [15] ZENG H X, ZHANG F M, WANG J. Development of the HPLC methods of the production for the degradation product in roxithromycin granules and roxithromycin for suspension and discussion on the cause of degradation products [J]. Chin J Antibiot(中国抗生素杂志), 2013, 38(11): 834-839.

收稿日期: 2019-07-15

(本文责编: 沈倩)