

ZHONGGUO YIYAO GONGYE ZAZHI

ISSN 1001-8255

CN 31-1243/R

ZYGZEA

中国医药工业杂志

Chinese Journal of Pharmaceuticals

- 中国中文核心期刊
- 中国生物医学核心期刊
- 中国期刊方阵入选期刊
- 中国科技核心期刊
- 中国科学引文数据库来源期刊
- 中国药学会系列期刊

本期导读：

磺丁基醚- β -环糊精在药物制剂中的应用及安全性研究进展

王若男, 钱仪敏, 李 华, 马 琛

白及多糖作为纳米药物递送系统的分子设计及其应用进展

郭婷婷, 朱峻霄, 杨 野, 崔秀明, 王承潇



微信号: cjph-cjph



主 办
上海医药工业研究院
中国药学会
中国化学制药工业协会

9

2019年9月

第50卷

Vol.50 No.9

ISSN 1001-8255



9 771001 825190



0 9 >

中国医药工业杂志

二〇一九年

第五十卷

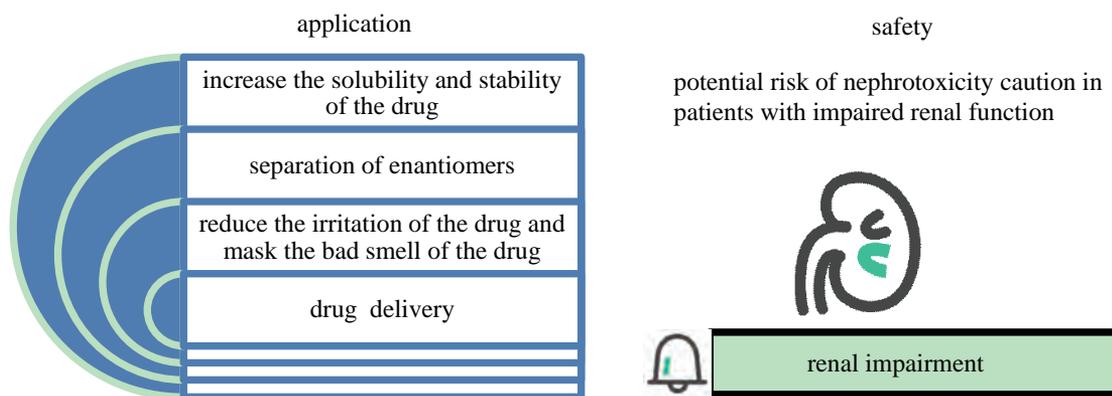
第九期

第 949 - 1084 页

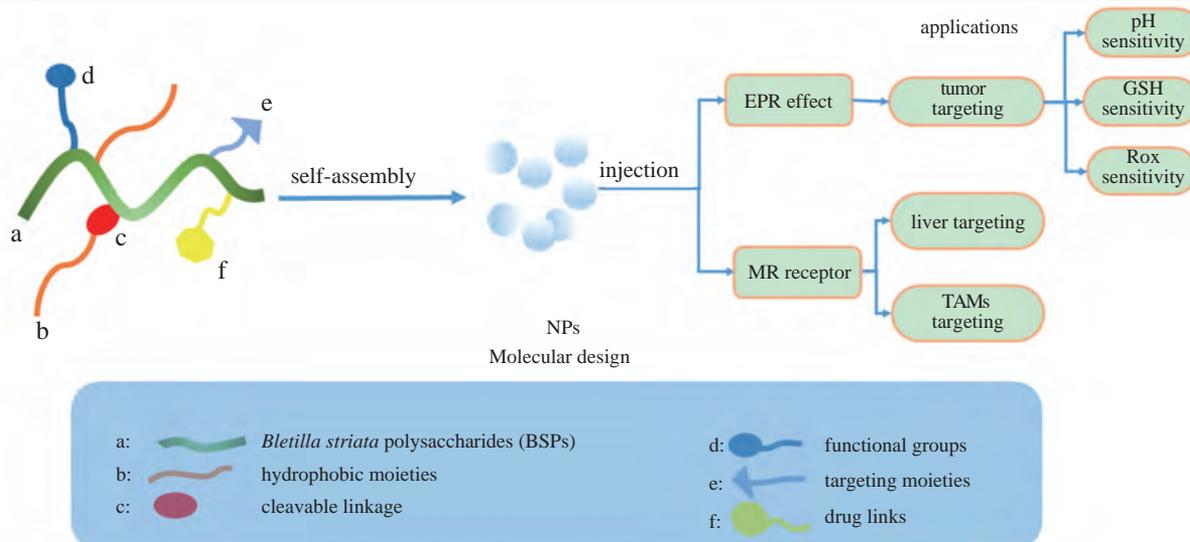
· 专论与综述 (Perspectives & Review) ·

- 949** 磺丁基醚-β-环糊精在药物制剂中的应用及安全性研究进展.....王若男, 钱仪敏, 李华*, 马璟
 Application and Safety Study of Sulfobutyl Ether-β-cyclodextrin in Pharmaceutical Preparations
WANG R N, QIAN Y M, LI H*, MA J
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.001

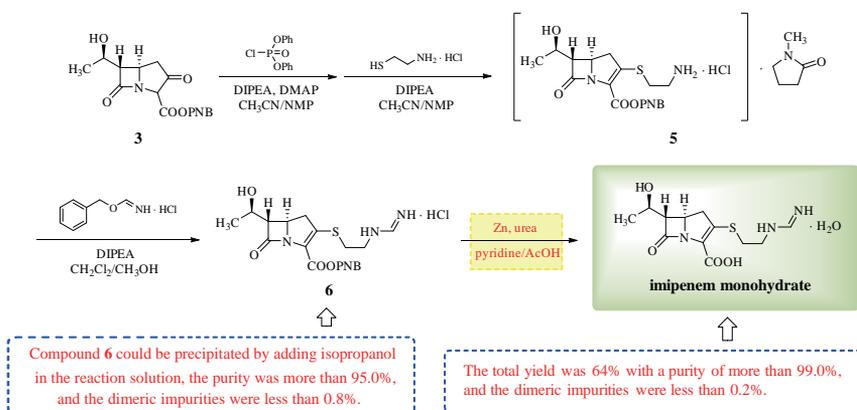
Sulfobutyl ether-β-cyclodextrin is an anionic high water-soluble cyclodextrin derivative.



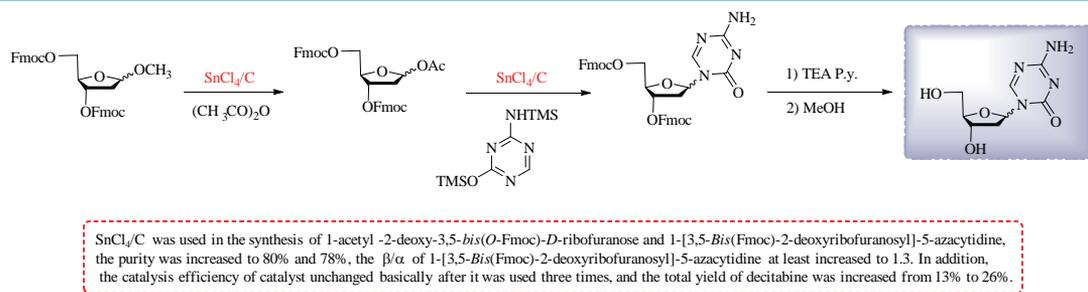
- 958** 白及多糖作为纳米药物递送系统的分子设计及其应用进展.....郭婷婷, 朱峻霄, 杨野, 崔秀明, 王承潇*
 Progress in the Construction and Application of Nano Drug Delivery Systems Based on *Bletilla striata* Polysaccharides.....GUO T T, ZHU J X, YANG Y, CUI X M, WANG C X*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.002



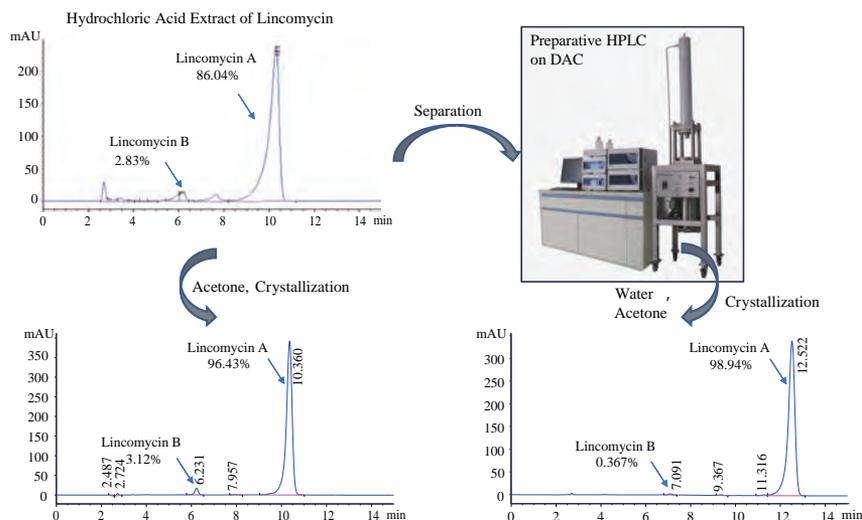
- 968 亚胺培南一水合物生产工艺改进.....于成彬, 段良兴, 张乃华, 王秀娟, 张贵民*
 Synthetic Process Improvement of Imipenem Monohydrate.....
YU C B, DUAN L X, ZHANG N H, WANG X J, ZHANG G M*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.003



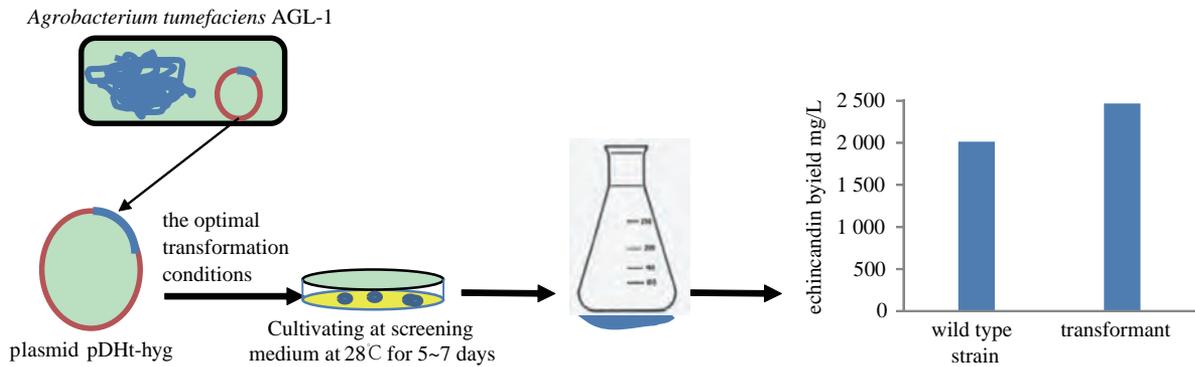
- 972 地西他滨合成工艺优化.....赵桂芳, 白文钦, 郑 艺, 孙秀玲, 张贵民*
 Optimized Synthetic Process of Decitabine.....
ZHAO G F, BAI W Q, ZHENG Y, SUN X L, ZHANG G M*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.004



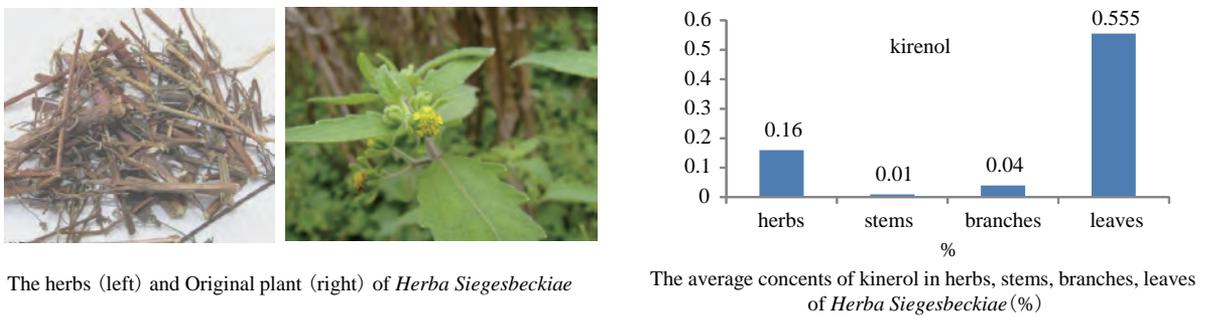
- 976 高效液相制备色谱降低 B 组分含量的林可霉素纯化工艺.....
吴海波, 薛兴亚, 李奎永, 周永正
 Lincomycin Purification Process for Reducing Component B Content by Preparative High Performance Liquid Chromatography.....
WU H B, XUE X Y, LI K Y, ZHOU Y Z
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.005



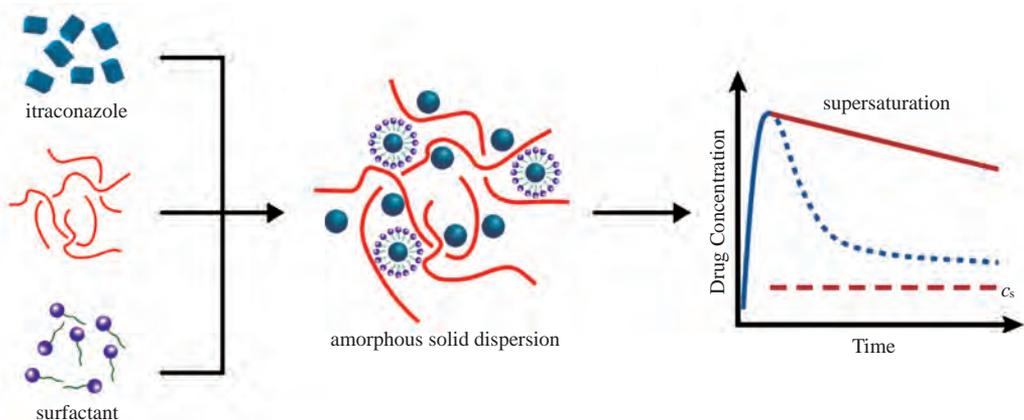
981 棘白菌素 B 高产菌株 *Aspergillus delacroxii* 转化体系的构建与优化..... 闵涛玲, 高 苹, 熊 磊, 陈昌发, 胡海峰*
 Establishment and Optimization of Transformation System for an Echinocandin B Overproduction Strain of *Aspergillus delacroxii*..... *MIN T L, GAO P, XIONG L, CHEN C F, HU H F**
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.006



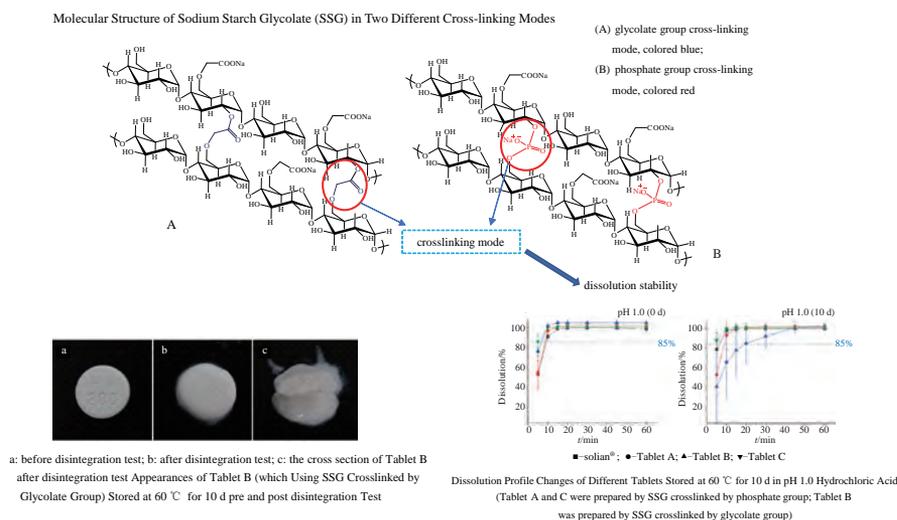
987 豨莶草茎、枝、叶的化学成分比较分析..... 郝五四, 范自全, 奚健强, 程志红*
 A Comparative Analysis of the Chemical Composition of the Stem, Branch and Leaf from *Herba Siegesbeckiae*..... *HAO W S, FAN Z Q, XI J Q, CHENG Z H**
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.007



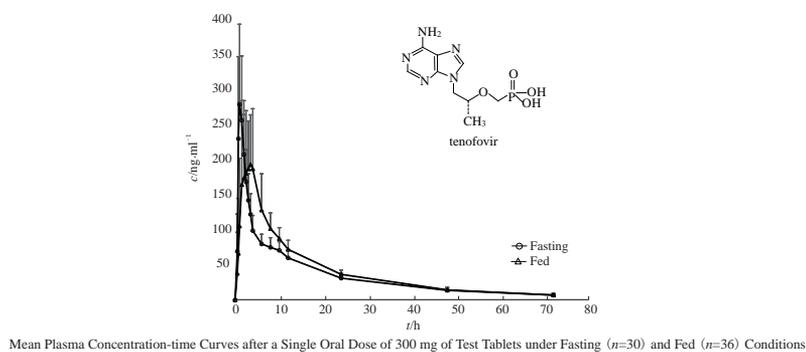
993 聚合物-表面活性剂二元体系抑制难溶性药物固体分散体的胃肠道析晶..... 杨蓓蓓, 冯地桑, 潘 昕, 权桂兰*, 吴传斌
 Polymer-surfactant Binary System Inhibits the Crystallization of Amorphous Solid Dispersions of Insoluble Drug in Gastrointestine..... *YANG B B, FENG D S, PAN X, QUAN G L*, WU C B*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.008



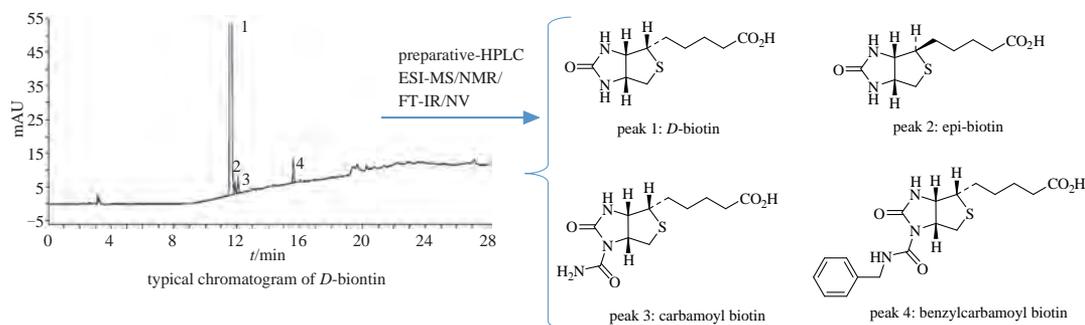
1005 不同厂家型号羧甲基淀粉钠对氨磺必利片溶出的影响.....黄 日, 彭俊清*, 陆 竞, 沈广青, 聂倩兰
 Effects of Different Types of Sodium Starch Glycolate from Different Manufacturers on Dissolution of Amisulpride Tablets.....HUANG R, PENG J Q*, LU J, SHEN G Q, NIE Q L
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.009



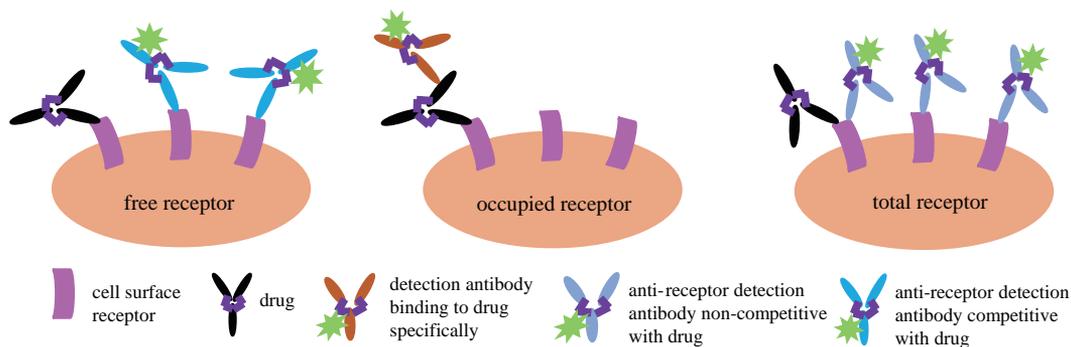
1011 人血浆中替诺福韦的 LC-MS/MS 测定法及其药动学应用.....马 欢, 周 臻, 方百欢, 李 周, 葛庆华*
 Determination of Tenofovir in Human Plasma by LC-MS/MS and Pharmacokinetic Study.....MA H, ZHOU Z, FANG B H, LI Z, GE Q H*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.010



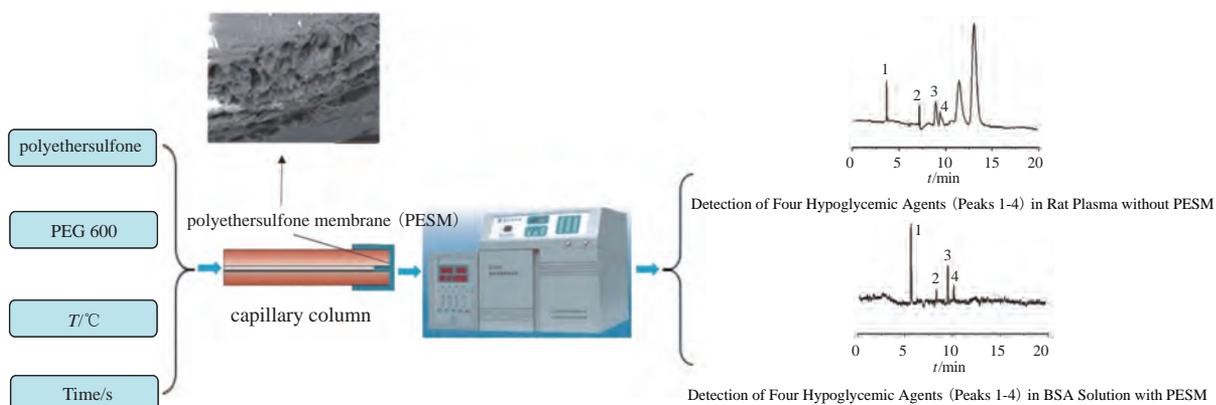
1017 生物素中有关物质的分离与结构鉴定.....顾立新, 徐旭巍, 吴旭锋*
 Isolation and Structure Identification of Related Substances from D-Biotin.....G U L X, X U X W, W U X F*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.011



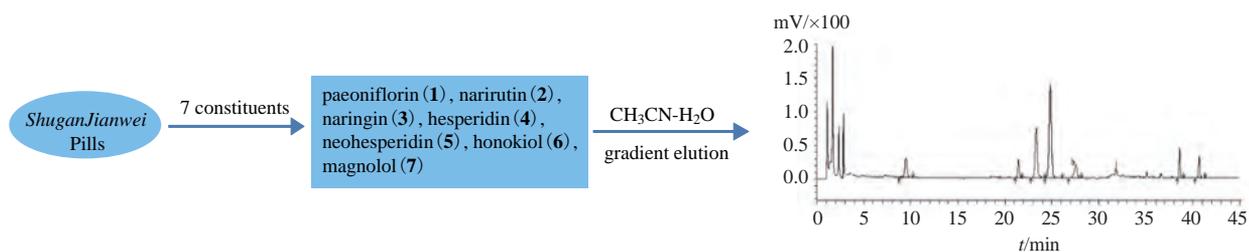
1024 基于流式细胞技术的受体占有率检测方法的建立及验证内容探讨.....孙晓卉, 陈亚会, 陈巨冰, 朱 晰, 马 璟*
 Discussion of Assay Development and Method Validation for Receptor Occupancy Study Based on Flow Cytometry.....SUN X H, CHEN Y H, CHEN J B, ZHU X, MA J*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.012



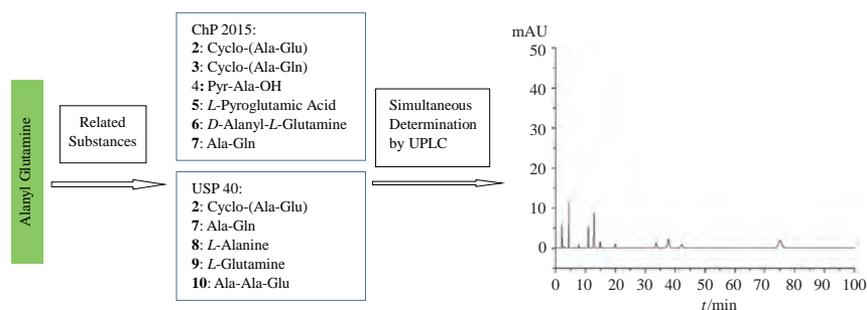
1029 毛细管柱内聚醚砜膜的制备及其对生物样品中 4 种降糖药的初步分离.....李海鹰, 陈彭月, 薛玉菡, 崔 颖, 杨文智*
 Preparation of Polyethersulfone Membrane in Capillary Column and the Preliminary Separation of Hypoglycemic Agents in Biological Samples.....LI H Y, CHEN P Y, XUE Y H, CUI Y, YANG W Z*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.013



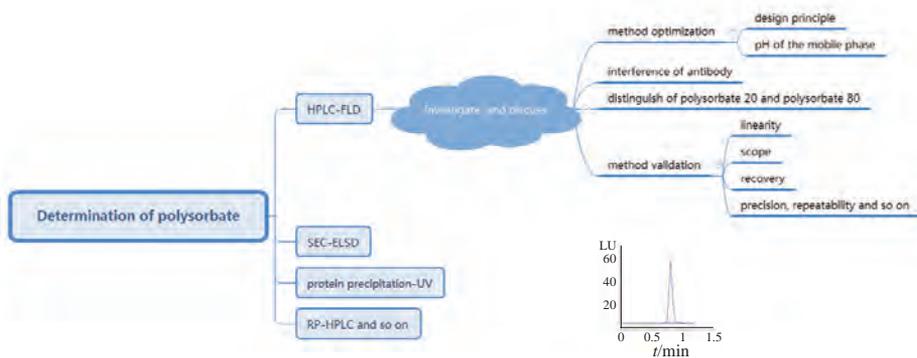
1038 HPLC 法同时测定舒肝健胃丸 7 种成分的含量.....崔庆德, 李海燕, 业艳芬
 Simultaneous Determination of Seven Constituents in *ShuganJianwei* Pills by HPLC.....
CUI Q D, LI H Y, YE Y F
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.014



1042 丙氨酰谷氨酰胺 9 个有关物质的 UPLC 法测定·····吴 琼, 宋丽丽
 Simultaneous Determination of Nine Related Substances in Alanyl Glutamine by UPLC·····
 ······WU Q, SONG LL
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.015



1047 HPLC-荧光法测定单抗药物中聚山梨酯的含量·····徐明明, 程 菁, 吴利红, 邵 泓, 陈 钢*
 Determination of the Content of Polysorbate in Monoclonal Antibody Formulation by HPLC-
 Fluorescence·····XU M M, CHENG J, WU L H, SHAO H, CHEN G*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.016



· 药学管理与信息 (Pharmaceutical Management & Information) ·

1052 我国公立医院推行 DRGs-PPS 支付方式改革的评价与思考—基于北京市 2011—2018 年试点
 推行数据的实证分析·····丁锦希, 张 静, 陈 烨, 李佳明, 李 伟
 Evaluation and Thinking of the Reform of DRGs-PPS in Public Hospitals in China—Based on
 Empirical Analysis of Beijing 2011-2018 Pilot Implementation Data·····
 ······DING J X, ZHANG J, CHEN Y, LI J M, LI W
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.017

1059 国际药品检查组织 (PIC/S) 申请加入程序及对我国的启示·····郑永侠, 杜 婧, 杨 悦, 董江萍
 Procedures for Accession to PIC/S and Its Enlightenment to China·····
 ······ZHENG Y X, DU J, YANG Y, DONG J P
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.018

1065 关于体外溶出实验在仿制药一致性评价中的应用与思考.....程晓昆, 仇俊新, 王娅莉, 马苗锐, 刘月, 王会娟*
Application and Thinking of *in vitro* Dissolution in Consistency Evaluation for Generics.....
.....CHENG X K, QIU J X, WANG Y L, MA M R LIU Y, WANG H J*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.019

1072 发达国家药品质量管理特点研究和启示.....胡骏, 薛礼浚, 邵蓉*
Research and Enlightenment of Drug Quality Management Characteristics in Developed Countries
.....HU J, XUE L J, SHAO R*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.020

1079 欧盟药品条件上市许可政策及效果分析.....李轩, 杨婷婷, 周斌*
An Analysis on the Policies of Conditional Marketing Authorisation for Medicine and Its
Implementation Effects in EU.....LI X, YANG T T, ZHOU B*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.021

· 其他 ·

广告索引(1058)

中国医药工业杂志

ZHONGGUO YIYAO GONGYE ZAZHI

(月刊, 1970年11月创刊)

2019年第50卷 第9期 9月10日出版

版权所有



Monthly (Founded in 1970)

Vol.50 No.9 September 10, 2019

©All Rights Reserved

主管	上海医药工业研究院	Director	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry
主办	上海医药工业研究院 中国药学会 中国化学制药工业协会	Sponsor	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Chinese Pharmaceutical Association China Pharmaceutical Industry Association
协办	浙江海正集团有限公司 上海数图健康医药科技有限公司 山东罗欣药业集团股份有限公司 楚天科技股份有限公司 鲁南制药集团股份有限公司 广东东阳光药业有限公司	Assist Sponsor	Zhejiang Hisun Group Co., Ltd. China Pharmadl (Shanghai) Co., Ltd. Shandong Luoxin Pharmaceutical Group Stock Co., Ltd. Truking Technology Limited Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd. Sunshine Lake Pharma Co., Ltd., HEC Pharma Group
总编辑	周伟澄	Managing Editor	ZHOU Weicheng
副总编辑	黄志红, 刘玲玲	Associate Managing Editor	HUANG Zhihong, LIU Lingling
责任编辑	刘玲玲	Executive Editor	LIU Lingling
出版单位	《中国医药工业杂志》编辑部	Editor by	Editorial Board of <i>Chinese Journal of Pharmaceuticals</i>
编辑部地址	上海市北京西路1320号(200040)	Address for Foreign Subscriber	1320 Beijing Road (W), Shanghai 200040, China
电话	021-62793151	Tel	0 086-21-62793151
传真	021-62473200	Fax	0 086-21-62473200
电子邮件	cjph@pharmadl.com	E-mail	cjph@pharmadl.com
网址	www.cjph.com.cn www.pharmadl.com	Web Site	http://www.cjph.com.cn http://www.pharmadl.com
广告发行联系			
电话	021-62126987, 62473200	Tel	021-62126987, 62473200
传真	021-62473200	Fax	021-62473200
电子邮件	ouyy@pharmadl.com	E-mail	ouyy@pharmadl.com
印刷	上海欧阳印刷厂有限公司	Printed by	Shanghai Ouyang Printing Co., Ltd.
发行范围	公开发行		
国内发行	上海市报刊发行局	Domestic Distributed by	Local Post Office
国外发行	中国国际图书贸易集团有限公司 (北京399信箱, 100044)	Abroad Distributed by	China International Book Trading Corporation (P.O.Box 399, Beijing 100044, China)
国内订阅	全国各地邮政局		

* 通信联系人: 如为第一作者则不加“*”号。征稿简则刊登于当年第1期 *To whom correspondence should be addressed

[期刊基本参数] CN 31-1243/R *1970*m*A4*136*zh*P*20.00* *21*2019-09

2019年版权归《中国医药工业杂志》编辑部所有, 除非特别声明, 本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会的观点。

ISSN 1001-8255

国内邮发代号 4-205

CN 31-1243/R

国外邮发代号 M6070

CODEN: ZYGZEA

国内定价: 每册 20.00 元



微信号: cjph-cjph



微博: weibo.com/cjph

丙氨酰谷氨酰胺 9 个有关物质的 UPLC 法测定

吴 琼¹, 宋丽丽²

(1. 山东中医药大学, 山东济南 250014; 2. 山东罗欣药业集团股份有限公司, 山东临沂 276017)

摘要: 建立超高效液相色谱法测定丙氨酰谷氨酰胺(1) 原料药中有关物质环-(L-丙氨酰-L-谷氨酰胺)(2)、环-(L-丙氨酰-L-谷氨酸)(3)、L-焦谷氨酰-L-丙氨酸(4)、L-焦谷氨酸(5)、D-丙氨酰-L-谷氨酰胺(6)、L-丙氨酰-L-谷氨酸(7)、L-丙氨酸(8)、L-谷氨酰胺(9) 和丙氨酰丙氨酰谷氨酰胺(10)。采用 Inertsil 酰胺柱, 流动相为乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾缓冲液(用磷酸调至 pH 4.5)(72 : 28), 检测波长 205 nm。结果 1~10 分别在 0.20~2.00、0.50~5.00、0.02~0.20、0.25~2.50、0.30~3.00、0.10~1.00、0.40~4.00、0.10~1.00、0.05~0.50 和 0.10~1.00 μg/ml 范围内线性关系良好($r > 0.999$)。有关物质 2~10 的平均回收率($n=9$) 分别为 99.5%、97.3%、98.1%、97.9%、98.8%、97.7%、96.8%、96.5% 和 97.7%, RSD 分别为 2.30%、2.47%、2.01%、2.13%、1.92%、1.83%、2.27%、2.63% 和 2.23%。2~10 的检出限分别为 0.01、0.005、0.02、0.01、0.01、0.02、0.02、0.01 和 0.01 μg/ml, 定量限分别为 0.03、0.015、0.06、0.03、0.03、0.06、0.06、0.03 和 0.03 μg/ml。方法准确可靠、重现性好、精密度高, 可同时检测 1 中 9 种有关物质, 为其质量控制提供依据。

关键词: 丙氨酰谷氨酰胺; 有关物质; 超高效液相色谱; 含量测定

中图分类号: R977.4; O657.7²; TQ460.7² 文献标志码: A 文章编号: 1001-8255(2019)09-1042-05

DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.09.015

Simultaneous Determination of Nine Related Substances in Alanyl Glutamine by UPLC

WU Qiong¹, SONG Lili²

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014; 2. Shandong Luoxin Pharmaceutical Group Stock Co., Ltd., Linyi 276017)

ABSTRACT: An UPLC method was established for the determination of the following related substances: Cyclo-(Ala-Glu) (2), Cyclo-(Ala-Gln) (3), Py-Ala-OH (4), L-Pyroglutamic Acid (5), D-Alanyl-L-Glutamine (6), Ala-Gln (7), L-Alanine (8), L-Glutamine (9) and Ala-Ala-Glu (10) in alanyl glutamine (1). An Inertsil amide column was used, with the mobile phase of acetonitrile-0.05 mol/L potassium dihydrogen phosphate buffer (previously adjusted to pH 4.5 with phosphoric acid) (72 : 28) at the detection wavelength of 205 nm. It was linear for 1-10 in the range of 0.20-2.00, 0.50-5.00, 0.02-0.20, 0.25-2.50, 0.30-3.00, 0.10-1.00, 0.40-4.00, 0.10-1.00, 0.05-0.50 and 0.10-1.00 μg/ml ($r > 0.999$). The average recoveries of 2-10 were 99.5%, 97.3%, 98.1%, 97.9%, 98.8%, 97.7%, 96.8%, 96.5% and 97.7%, with RSDs of 2.30%, 2.47%, 2.01%, 2.13%, 1.92%, 1.83%, 2.27%, 2.63% and 2.23%, respectively. The detection limit of 2-10 were 0.01, 0.005, 0.02, 0.01, 0.01, 0.02, 0.02, 0.01 and 0.01 μg/ml, and the quantitation limit were 0.03, 0.015, 0.06, 0.03, 0.03, 0.06, 0.06, 0.03 and 0.03 μg/ml. The method is accurate, reliable, reproducible, and suitable for the simultaneous determination of nine related substances in alanyl glutamine, which provides a reliable method for the quality control of alanyl glutamine.

Key Words: alanyl glutamine; related substance; UPLC; content determination

丙氨酰谷氨酰胺 (alanyl glutamine, 1) 是临床常用的氨基酸类药物, 具有补充营养必需氨基酸、

维持体内酸碱平衡、增强机体免疫力等功能^[1-2]。目前国内有 12 个原料药生产批准文号, 42 个注射剂生产批准文号^[3]。1 收载于《中华人民共和国药典》2015 年版 (ChP 2015) 二部, 在美国药典 40 版 (USP 40) 中也有收载。

对 ChP 2015 与 USP 40 中 1 的有关物质检验

收稿日期: 2019-03-11

作者简介: 吴 琼 (1977—), 女, 主管中药师, 从事药理学研究工作。

Tel: 13705392126

E-mail: 1208784403@qq.com

项目进行比较,发现两个标准中有关物质检验的 HPLC 条件基本相同,但是,检验的有关物质存在较大差别。ChP 2015 中检验的有关物质分别为环-(*L*-丙氨酰-*L*-谷氨酰胺)[Cyclo-(Ala-Glu), 2]、环-(*L*-丙氨酰-*L*-谷氨酸)[Cyclo-(Ala-Gln), 3]、*L*-焦谷氨酰-*L*-丙氨酸(Pyr-Ala-OH, 4)、*L*-焦谷氨酸(*L*-pyroglutamic acid, 5)、*D*-丙氨酰-*L*-谷氨酰胺(*D*-alanyl-*L*-glutamine, 6)、*L*-丙氨酰-*L*-谷氨酸(Ala-Gln, 7); USP 40 中检验的有关物质分别为 2、7、*L*-丙氨酸(*L*-alanine, 8)、*L*-谷氨酰胺(*L*-glutamine, 9)、丙氨酰丙氨酰谷氨酰胺(Ala-Ala-Glu, 10)。笔者按照标准中 HPLC 条件进行检验时,发现以下问题:①有关物质 5 与 8 色谱峰完全重合,5 与 8 分别收载于两个标准中,而同一个色谱峰在两个标准中被认定为 2 个不同的有关物质;②有关物质 8 与 9 色谱峰分离度较差;③供试品溶液中 1 的浓度较大,色谱峰拖尾,严重影响了有关物质 10 的检验。本研究对标准中的检验方法进行改进,采用超高效液相色谱(UPLC)技术,并对流动相的色谱条件进行优化,可以同时检验 ChP 2015 和 USP 40 中的 9 种有关物质,该方法专属性好、耐用性强、灵敏度高,可为 1 原料药的质量控制提供参考。

1 仪器与试剂

1290 型超高效液相色谱仪,配有在线真空脱气装置、四元梯度泵、自动进样器、柱温箱以及 DAD 检测器(美国 Agilent 公司)。

1(含量 99.7%,批号 140702-201704)、2(含量 98.5%,批号 140761-201903)、3(含量 96.5%,批号 140766-201702)、4(含量 97.3%,批号 140762-201702)、5(含量 100.0%,批号 140763-201602)、6(含量 89.5%,批号 140764-201702)、7(含量 91.3%,批号 140765-201702)、8(含量 100.0%,批号 140680-201604)和 9(含量 99.5%,批号 140705-201804)对照品均购自中国食品药品检定研究院;10 对照品(BACHEM 公司,含量 100%,批号 1034612);1 原料药(自制^[4],批号 190301-1、190301-2、190301-3),乙腈为色谱纯,磷酸二氢钾为优级纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱 Inertsil Amide 酰胺柱(4.6 mm×250 mm, 3 μm);流动相 乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾缓冲液(用磷酸调至 pH 4.5)(72 : 28);流速 0.5 ml/min;检测波长 205 nm;柱温 35 °C;进样量 5 μl。

2.2 溶液配制

对照品贮备溶液:精密称取 1~10 对照品适量,各置 50 ml 量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,制得浓度 /μg·ml⁻¹ 分别为 1 200、2 500、3 20、4 250、5 300、6 100、7 400、8 100、9 50、10 100 的对照品贮备溶液。

供试品溶液:精密称取 1 原料药 100 mg,置 100 ml 量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,过滤,制得浓度为 1.0 mg/ml 的供试品溶液。

系统适用性试验溶液:精密量取 1~10 对照品贮备溶液各 0.1 ml,置同一 100 ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为系统适用性试验溶液。

2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下供试品溶液与系统适用性试验溶液,按“2.1”色谱条件分别进样测定,同时记录色谱图(图 1)。结果显示,在该色谱条件下,各有关物质色谱峰与主峰分离度均大于 1.5,各有关物质色谱峰之间的分离度均大于 1.5,理论板数以 1 峰计大于 10 000。

2.4 专属性试验

称取本品 5 份,各约 100 mg,置 100 ml 量瓶中,分别进行下列试验。①酸破坏试验:精密加入 1 mol/L 盐酸溶液 1 ml,室温放置 15 min,精密加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液 1 ml 中和,用流动相稀释至刻度,摇匀;②碱破坏试验:精密加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液 1 ml,室温放置 15 min,精密加入 1 mol/L 盐酸溶液 1 ml,用流动相稀释至刻度,摇匀;③氧化破坏试验:精密加入 30% 双氧水 1 ml,室温放置 1 h,用流动相稀释至刻度,摇匀;④高温破坏试验:将样品平铺于扁形称量瓶中,于 100 °C 加热 12 h,用流动相溶解后转移至 100 ml 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀;⑤光照破坏试验:将样品溶

液倒入石英吸收皿中，置紫外光灯（245 nm）下放置 24 h。按照“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图（图 2）。结果显示，1 在光照和高温条件下较为稳定，而在酸、碱和氧化条件下不稳定，也产生了较多的未知杂质。1 经酸、碱、氧化、高温和光照破坏试验后，各有关物质峰之间以及与新产生的杂质峰之间均能完全分离。

2.5 线性试验

精密量取 1~10 对照品贮备溶液各 1 ml，置 100 ml 量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀，分别精密量取 1、2、4、6、8、10 ml，置 10 ml 量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀，制得标准系列溶液。进样测定，记录色谱图。以溶液浓度 $c(\mu\text{g/ml})$ 为横坐标，峰面积 Y 为纵坐标，进行线性回归，得标准曲线方程。1~10 的标准曲线方程、相关系数

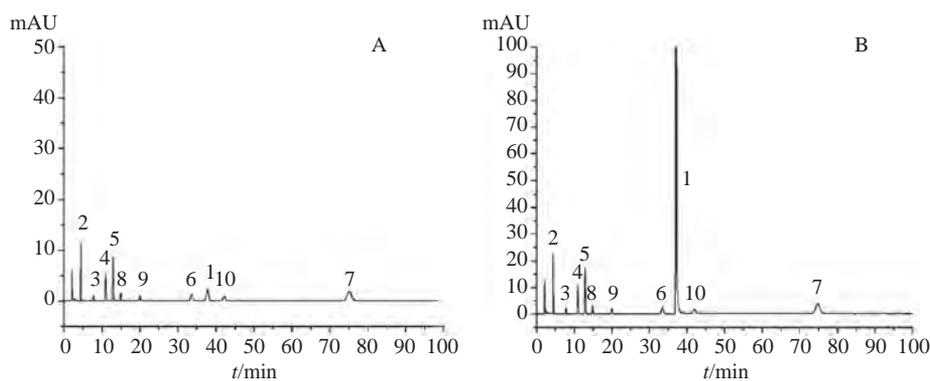
(r) 和相对校正因子 (RF) 结果见表 1。取最低浓度系列溶液，用流动相逐步稀释，按“2.1”项下色谱条件测定，以 $S/N=10$ 求得 1~10 的定量限 (LOQ)，以 $S/N=3$ 求得 1~10 的检测限 (LOD)。结果见表 1。

2.6 回收率试验

精密称取 1 原料药（批号 190301-1）50 mg，共 9 份，各置 100 ml 量瓶中，分别精密加入各有关物质对照品贮备溶液 80、100、120 μl ；配制成含各有关物质低、中、高 3 种浓度的回收率试验溶液，各 3 份，分别进样测定。结果 2~10 的平均回收率/%分别为 99.5、97.3、98.1、97.9、98.8、97.7、96.8、96.5 和 97.7，RSD/%分别为 2.30、2.47、2.01、2.13、1.92、1.83、2.27、2.63 和 2.23。

2.7 精密度、稳定性和重复性试验

取系统适用性试验溶液，连续进样 6 次，记录



A：系统适用性试验溶液，B：供试品溶液

1-1；2-2；3-3；4-4；5-5；6-6；7-8；8-8；9-9；10-10

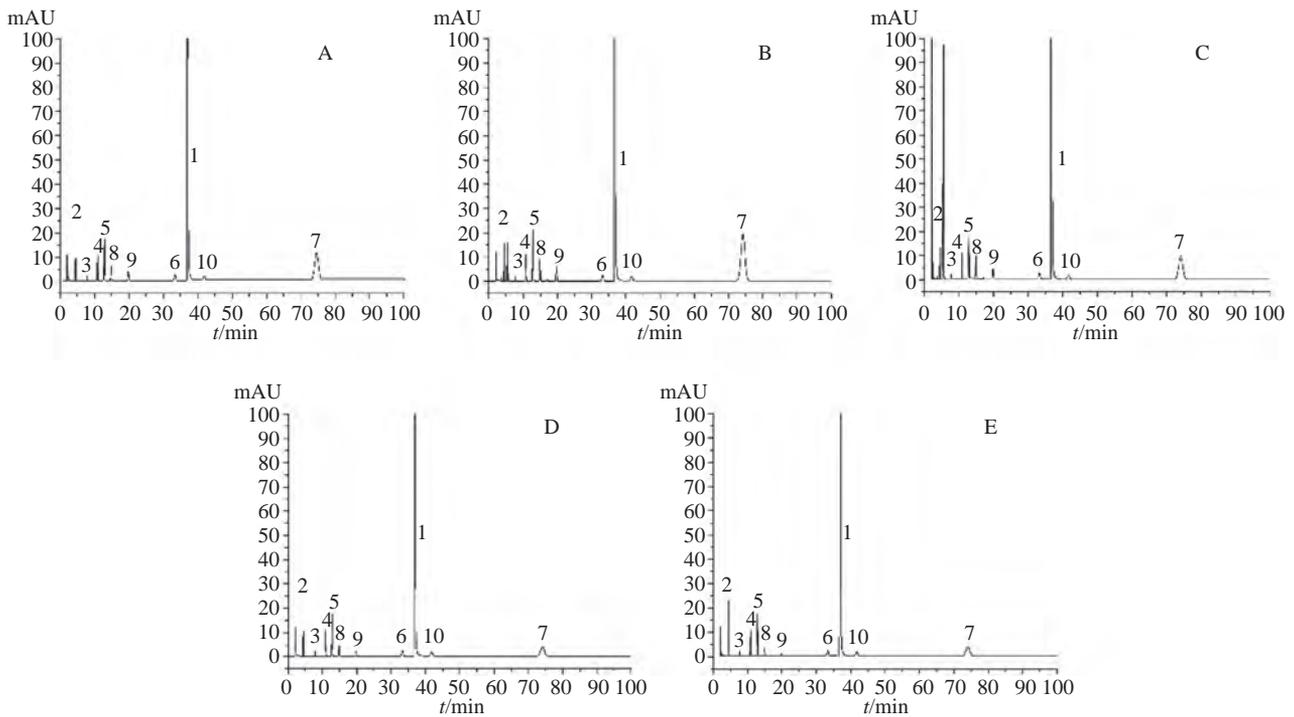
图 1 典型色谱图

Fig.1 Typical Chromatograms

表 1 线性试验、LOD、LOQ 及 RF 结果

Tab.1 Results of Linearity Test, LODs, LOQs and RFs

化合物	标准曲线方程	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	r	LOD/ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	RF
1	$Y=94.795c-1.288$	0.20~2.00	0.9999	0.02	0.06	-
2	$Y=22.548c+0.918$	0.50~5.00	0.9999	0.01	0.03	4.20
3	$Y=99.164c+0.103$	0.02~0.20	0.9996	0.005	0.015	0.96
4	$Y=50.181c+0.416$	0.25~2.50	0.9993	0.02	0.06	1.89
5	$Y=84.726c+0.225$	0.30~3.00	0.9998	0.01	0.03	1.12
6	$Y=90.090c+0.603$	0.10~1.00	0.9992	0.01	0.03	1.05
7	$Y=78.890c-0.507$	0.40~4.00	0.9998	0.02	0.06	1.20
8	$Y=100.530c-0.072$	0.10~1.00	0.9991	0.02	0.06	0.94
9	$Y=39.386c+0.225$	0.05~0.50	0.9998	0.01	0.03	2.41
10	$Y=83.279c-0.044$	0.10~1.00	0.9999	0.01	0.03	1.14



A: 酸破坏试验, B: 碱破坏试验, C: 氧化破坏试验, D: 高温破坏试验, E: 光照破坏试验
1-1; 2-2; 3-3; 4-4; 5-5; 6-6; 7-7; 8-8; 9-9; 10-10

图 2 破坏试验色谱图

Fig.2 Chromatograms of Destruction Test

色谱图, 结果 1~10 峰面积的 RSD 均小于 1.5%。

取 1 原料药 (批号 190301-1), 按“2.2”项下方法配制供试品溶液, 室温放置 0、2、4、8 和 12 h 后进样, 记录色谱图, 结果 2~10 有关物质峰面积的 RSD 均小于 2.0%。表明供试品溶液在室温放置 12 h 内稳定。

取 1 原料药 (批号 190301-1), 按“2.2”项下方法配制供试品溶液, 共 6 份, 分别进样测定, 记录色谱图, 结果 2~10 有关物质含量的 RSD 均小于 2.0%。表明该方法重复性良好。

2.8 耐用性试验

取系统适用性溶液分别进样, 以各色谱峰的分度为指标, 分别考察了不同型号色谱柱 (Polaris NH₂ 和 Ultimate XB NH₂)、柱温 (30、35 和 40 °C)、检测波长 (203、205 和 207 nm)、流速 (0.4、0.5 和 0.6 ml/min) 等条件变化对检测结果的影响。结果表明当以上条件发生变化时, 各色谱峰均可以满足系统适用性试验的要求。

2.9 样品测定

取 1 原料药 3 批, 按“2.2”项下方法分别配制供试品溶液, 按照杂质对照品外标法进样测定, 记录色谱图, 计算各供试品中 2~10 有关物质含量, 结果见表 2。同时采用 ChP 2015 中色谱条件对化合物 2、3、4、6、7 进行检测。由于在 ChP 2015 中色谱条件下, 化合物 5 与 8 色谱峰完全重合, 9 色谱峰与 8 色谱峰分离度很差, 10 色谱峰受主成分色谱峰托尾影响严重, 均不能准确定量, 因此, 仅对化合物 2、3、4、6、7 进行定量检测。结果见表 2 所示, 其检测结果与本文新建立方法完全一致, 表明本文新建立方法是可靠的。

3 讨论

本试验分别比较了 C₁₈ 柱、氨基色谱柱和酰胺基色谱柱, 由于各化合物均为离子型化合物, 极性较大, 在反相色谱柱上保留很弱, 不宜采用 C₁₈ 柱。同时, 参考 ChP 2015 和 USP 40 中方法, 选用氨基色谱柱时, 系统的耐用性很差, 流动相比例稍有变

表 2 有关物质测定结果¹⁾/mg·g⁻¹(n=3)
Tab.2 Determination Results of Related Substances/mg·g⁻¹(n=3)

批号	2	3	4	5	6	7	8	9	10
190301-1	1.01 (1.01)	0.04 (0.04)	0.52 (0.52)	0.61	0.23 (0.22)	0.79 (0.79)	0.19	0.10	0.21
190301-2	1.02 (1.02)	0.04 (0.04)	0.51 (0.51)	0.59	0.20 (0.20)	0.75 (0.76)	0.22	0.11	0.25
190301-3	1.01 (1.02)	0.04 (0.04)	0.51 (0.52)	0.59	0.21 (0.21)	0.79 (0.78)	0.20	0.13	0.20

注：括号内数值为采用ChP 2015色谱条件检测结果

化, 各有关物质色谱峰保留时间产生较大的变化, 并且氨基色谱柱存在需要平衡时间长, 色谱峰保留时间漂移等问题。酰胺基色谱柱是采用高纯硅胶为基质, 键合烷基酰胺基, 对高极性化合物具有强保留能力的亲水性色谱柱^[5-6]。本试验选用的酰胺基色谱柱对各有关物质均有较强的保留能力, 同时克服了氨基色谱柱耐用性差的问题。采用超高效液相色谱仪, 选用 3 μm 粒径色谱柱, 显著提高了柱效和各化合物的分离度, 使得在普通液相色谱仪和常规色谱柱上不能分开的化合物色谱峰实现了完全分离。

由于各化合物均没有特征性紫外吸收, 本试验利用各化合物的末端吸收进行检测。ChP 2015 和 USP 40 采用 215 nm 作检测波长, 为了提高检测的灵敏度, 本试验采用 205 nm 作检测波长, 各化合物的紫外吸收响应值显著增强。采用乙腈-磷酸盐缓冲溶液作流动相, 乙腈的截止波长较低, 对各化合物的紫外吸收没有影响。

本试验考察了流动相比比例对各化合物色谱峰的分离情况。结果发现, 化合物 8 和 9 对流动相比比例变化非常敏感, 通过调整流动相比比例, 可使得化合物 5 和 8 之间、8 和 9 之间均实现完全分离, 化合物 1 和 10 之间的分离度也进一步增加。本试验选用超高效液相色谱仪, 降低了供试品溶液的浓度和进样量, 改善了化合物 1 的色谱峰拖尾, 使得化合物 10 的检测不再受到 1 的影响。

由于各化合物均为离子型化合物, 流动相的 pH 值对各化合物的保留行为产生较大影响。ChP 2015 中规定磷酸盐缓冲液 pH 4.0, USP 40 中并没有规定磷酸盐缓冲液的 pH 值, 但实际测得 pH 4.3。本试验分别考察了 pH 4.0、pH 4.3、pH 4.5 和 pH 4.8

时, 各化合物色谱峰的峰形和分离度。当 pH 4.5 时, 各化合物的峰形正态, 且分离度较大。

本文按照新建的方法对 9 种有关物质进行检测, 同时按照加校正因子的主成分自身对照法进行了检测, 并采用配对 t 检验, 表明 2 种方法所测结果没有显著性差异 ($P > 0.05$)。

ChP 2015 和 USP 40 采用相似的液相色谱条件, 共检测 9 种有关物质。ChP 2015 标准中有关物质 5 和 USP 40 标准中有关物质 8 色谱峰保留时间完全一致, 而且有关物质 8 和 9 分离度较差, 有关物质 10 色谱峰受 1 拖尾影响严重, 这是 ChP 2015 和 USP 40 标准存在的严重问题。本研究对 2 个标准进行仔细阅读, 并通过试验对原方法进行改善, 建立的方法可以同时检测 9 种有关物质, 且方法准确可靠、灵敏度高, 为 1 原料药中 9 种有关物质的检测提供参考。

参考文献:

- [1] 周健, 司继刚. 丙氨酰谷氨酰胺的临床应用进展[J]. 中国药房, 2016, 27(26): 3739-3741.
- [2] 韩海燕. 丙氨酰谷氨酰胺对危重症患者肠屏障功能及免疫功能的影响研究[J]. 中国全科医学, 2013, 16(18): 1607-1609.
- [3] 李梓盟, 张佳彦, 李菲, 等. 丙氨酰谷氨酰胺用药合理性评价与探讨[J]. 临床合理用药, 2019, 12(4A): 3-5.
- [4] 唐果, 赵玉芬, 许鹏翔, 等. N²-L-丙氨酰-L-谷氨酰胺二肽合成方法: 中国, 1683391 [P]. 2005-10-19.
- [5] 洪小翔, 石莹, 宋雪洁, 等. 液相色谱柱进展及其在药品标准中的应用[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(2): 191-201.
- [6] 林宏琳, 陈华峰, 林国斌. 酰胺基亲水作用色谱-高效液相色谱-紫外法测定DHA颗粒中的磷脂酰丝氨酸[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(11): 1962-1966.