

DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯的液相色谱分析

戴郁菁, 顾晓天

(南京师范大学 分析测试中心, 江苏 南京 210097)

[摘要] 建立乙酰高半胱氨酸内酯含量测定的 HPLC 方法. 采用 C18 柱, 流动相为甲醇-水 (10:90), 在 237 nm 下检测, 流速为 1.0 mL/min, 平均回收率为 99.5%. 说明使用该方法测定 DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯, 简便快捷, 结果准确, 适用于原料及制剂的质量控制.

[关键词] DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯, 高效液相色谱法, 药品检验

[中图分类号] O657.7+2 [文献标识码] B [文章编号] 1672-1292(2008)03-0047-03

Analysis of DL-N-Acetyhomocysteine Thiolactone by HPLC

Dai Yujing Gu Xiaotian

(Analysis and Testing Center, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

Abstract An HPLC method was developed to determine the content of DL-N-acetyhomocysteine thiolactone. A C18 column was used. The mobile phase consisted of 10% methanol and 90% water. The detection was 237 nm and the flow rate was 1.0 mL/min. The average recovery of DL-N-acetyhomocysteine thiolactone was 99.5%. Therefore, this method was easy, quick and accurate, and can be used to control the quality of DL-N-acetyhomocysteine thiolactone in raw materials and the related products.

Key words DL-N-acetyhomocysteine thiolactone; HPLC; medicine analysis

DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯是以乙酰半胱氨酸酐为主要原料, 经环合、重结晶等工艺制得, 是医药产品的中间体, 也是乙酰半胱氨酸类药物的一个重要品种. 该产品是防治肝坏死和脂肪增多的有效药, 也可用于因射线照射或中毒而致过敏性皮炎的治疗^[1, 2]. DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯含量的检测方法尚未见报道^[3-5]. 本文用反相液相色谱法测定 DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯, 方法简便快捷, 结果重现性好, 定量准确, 适用于原料及制剂的质量控制.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

仪器: HP1100 型高效液相色谱仪.

试剂: DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯 (Sigma 公司); 甲醇 (色谱纯); 水 (高纯水).

1.2 色谱操作条件

色谱柱: Zorbax SB C₁₈ (4.6 mm ID × 150 mm), 5 μm; 流动相: 甲醇-水 (体积比) 为 10:90; 流速: 1.0 mL/min; 紫外检测器; 柱温: 30 °C; 进样量: 8 μL.

1.3 溶液的配制

1.3.1 标准溶液的配制

准确称取 DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯标准品 20 mg (准确至 0.0001 g), 置于 100 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀.

1.3.2 样品溶液的配制

准确称取 DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯样品 20 mg (准确至 0.0001 g), 置于 100 mL 容量瓶中, 用甲醇定

收稿日期: 2007-06-12

通讯联系人: 戴郁菁, 讲师, 研究方向: 仪器分析和表面化学. E-mail: daiyujing@njnu.edu.cn

容至刻度, 摇匀.

1 4 分析测定

在上述色谱条件下待仪器系统平衡稳定后按照标准溶液、样品溶液顺序进行分析测定, 色谱图见图 1.

1 5 计算

DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯的质量分数 (X)按式 (1) 计算:

$$X = \frac{S_2}{S_1} \frac{M_1}{M_2} P \quad 100\%.$$
 (1)

式中, S_1 为标准品溶液中 DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯色谱峰面积; S_2 为试样溶液中 DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯色谱峰面积; M_1 为标准品的称样量 (g); M_2 为试样的称样量 (g); P 为标准品的百分含量.

2 结果与讨论

2 1 分析方法的线性关系

取对照品 20 mg 置 100 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀作为溶液 A. 精确吸取上述溶液 A 0.5、1、2、5 mL 分别置于 10 mL 量瓶中, 制成系列浓度的标准溶液 B、C、D、E. 各精确量取上述标准溶液 10 L, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 数据见表 1.

以峰面积 (S)对溶液浓度 (C)做直线回归如图 2 所示, 得回归方程为 $S = 14.3C - 4.468$ $r = 0.9999$. 结果表明, 乙酰高半胱氨酸内酯浓度在 10.8 g/mL ~ 216 g/mL 范围内, 其峰面积与浓度呈良好的线性关系.

2 2 回收率试验

配浓度为 108 g/mL 样品 1 000 mL, 取 100 mL 共 6 份, 按照表 2 的加入量分别精确加入对照品, 进样 10 L, 按上述色谱条件进样分析.

从表 2 结果分析得到, DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯样品的回收率范围为 98.6% ~ 100.2%, 平均回收率 ($n = 6$) 为 99.5%, RSD 为 0.55%.

2 3 重复性试验

取样品各 5 份, 配置成相应浓度的溶液, 按上述色谱条件进样 10 L 测定含量.

表 2 样品浓度与回收率关系

Table 2 The relationship between sample concentration and recovery				
样品	加样量 /mg	总浓度 / (g/mL)	测定浓度 / (g/mL)	回收率 /%
空白	0	108	108	
1	9.0	198	197.8	99.8
2	9.0	198	197.3	99.2
3	11.2	220	220.2	100.2
4	11.3	221	220.5	99.6
5	13.2	240	238.1	98.6
6	13.0	238	237.5	99.6

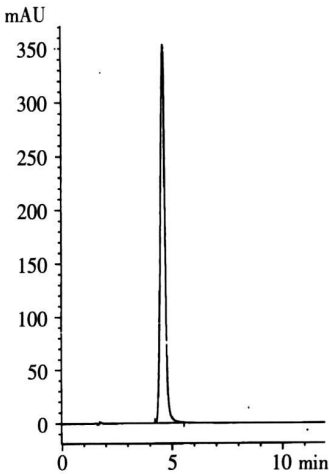


图 1 DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯的色谱图
Fig.1 HPLC chromatogram of DL-N-acetylhomocysteine

表 1 标准品溶液与浓度关系

Table 1 The concentration of standard sample			
溶液编号	浓度 / (g/mL)	进样量 / L	峰面积
2	10.8	10	151.6
3	21.6	10	304.8
4	54	10	767.0
5	108	10	1538.4
1	216	10	3086.5

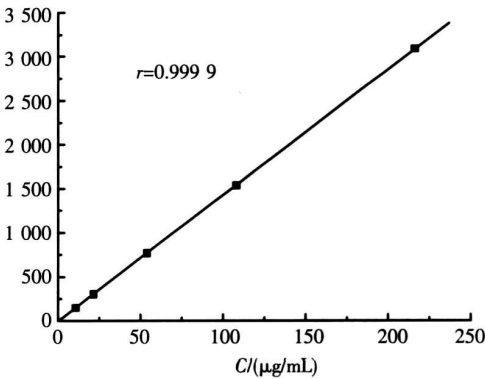


图 2 DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯的标准曲线图
Fig.2 Standard line of DL-N-acetylhomocysteine

表 3 样品浓度与含量关系

Table 3 The relationship between sample contents and concentration			
样品	称样量 /mg	测定浓度 / (g/mL)	含量 /%
1	21.6	20.44	94.63
2	22.9	21.89	95.59
3	21.8	20.73	95.09
4	21.2	20.19	95.24
5	22.3	21.24	95.25

从表 3的结果可以得到,平均含量 ($n= 5$)为 95 16%, RSD = 0 37% .

2 4 精密度试验

取标准品一份, 重复进样 6次, 以峰面积计算, 结果如表 4 所示.

从表 4结果可得, 平均峰面积为 304 6 0 5Q RSD 值为 0 16% .

2 5 稳定性试验

取测定液一份, 分别在 0 1 2 4 6 12 24 h按上述色谱条件进行测定, 以峰面积计算, 结果如表 5所示.

从表 5结果可得, 平均峰面积为 222 7 0 16 RSD= 0 07%, 表明本品溶液在 24 h内稳定.

2 6 最低检测限

在选定的色谱条件下, 按信噪比为 2对最低检测量进行测定. 结果表明, DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯的最低检出浓度为 1 06 g/mL.

2 7 样品测定结果

取自制的 3批样品按上述方法进行含量测定, 结果见表 6 3批样品含量测定结果分别为 98 84%、99 01%和 98 92%。

3 结论

3 1 色谱条件

本文试验了多种流动相系统, 其中甲醇 水 (10 90)系统的保留时间约为 5m in 为最佳. 并且在此流动相系统下, 主峰与杂质峰完全分离.

3 2 测定波长的选择

237 nm 是 DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯的最大吸收波长, 在此波长有明显的紫外吸收峰.

3 3 方法意义

DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯主要用于制造医药中间体, 但是对于它含量的测定方法尚未见报道. 本文采用高效液相色谱法测定 DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯的含量, 结果表明方法简便、准确、可靠, 适用于 DL-N-乙酰高半胱氨酸内酯的质量控制.

表 4 重复进样得到的峰面积值

Table 4 The peak areas of different injection

进样次数	峰面积
1	304 2
2	304 1
3	304 3
4	305 3
5	305 0
6	304 9

表 5 同一样品在不同时间进样得到的峰面积值

Table 5 The peak areas of the same sample in different injection

时间 /h	峰面积
0	222 6
1	222 8
2	222 6
4	222 5
6	222 7
12	222 7
24	223 0

表 6 样品含量检测结果 ($n= 3$)

Table 6 The contents of determination

样品标号	含量测定 /%
1	98 84
2	99 01
3	98 92

[参考文献] (References)

[1] De Viries N, De Fbra S N-Acetyl-L-Cysteine[J]. J Cell Biochem, 1993 51(17A): 271
[2] 韩晓捷, 黄哲苏, 李海生, 等. 反相离子对色谱法测定乙酰半胱氨酸注射液含量及有关物质的方法研究[J]. 天津药学, 2005 17(6): 7.
Han Xiaojie, Huang Zhesu, Li Haisheng et al Determination of acetylcysteine and its related substances in injection by reversed phase ion pair chromatography[J]. Tianjin Pharmacy, 2005 17(6): 7 (in Chinese)
[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (二部) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000 5-6
China Pharmacopoeia Committee Chinese Pharmacopoeia() [M]. Beijing Chemical Industry Press, 2000 5-6 (in Chinese)
[4] 英国药典委员会. 英国药典 [M]. 伦敦: 英国文书局, 2003 2069.
British Pharmacopoeia Commission British Pharmacopoeia[M]. London Stationery Office, 2003 2069. (in Chinese)
[5] 美国药典委员会. 美国药典 [M]. 芝加哥: 美国药学会出版社, 2000 24
United States Pharmacopoeia Commission US Pharmacopoeia[M]. Chicago The Pharmaceutical Press, 2000 24 (in Chinese)

[责任编辑: 严海琳]