

二维离子色谱法测定厄贝沙坦中叠氮化物含量

LC-369

摘要：本文参考 2020 版《中国药典》厄贝沙坦中叠氮化物含量测定要求，使用岛津 IC-16 搭建了二维离子色谱系统并建立对应离子色谱分析方法。该方法在 0.04–1.00 mg/L 浓度范围内叠氮化物线性关系良好，相关系数 r 大于 0.999。将低、中、高浓度对照品重复进样 6 次，保留时间 RSD 值在 0.016%–0.031% 之间，峰面积 RSD 值在 0.425%–1.062% 之间，仪器精密度良好。准确度在 90.7%–95.0% 之间。实验结果表明，该方法能稳定、准确地测定厄贝沙坦中叠氮化物含量。

关键词：二维离子色谱 阀切换在线基体消除法 厄贝沙坦 叠氮化物

技术特点：

- ❖ 使用阀切换基体消除法，去除样品基质同时富集痕量待测杂质离子。
- ❖ 采用岛津 SAG-1000 淋洗液发生器，轻松进行梯度洗脱。

厄贝沙坦 (irbesartan)，用于治疗原发性高血压，合并高血压的 2 型糖尿病肾病的治疗。沙坦类降压药具有降压效果明确、心肾作用好、不良反应少等特点，是一种被广泛应用的降压药。2021 年 4 月 29 日，欧洲药品监督管理局 (European Medicine, EQA) 宣布含四唑环沙坦类原料药中可能含有叠氮化杂质，该毒性杂质有引起细胞 DNA 突变的危险，厄贝沙坦也在其中。

叠氮化物是药品合成中常用的物质之一，与亚硝基杂质相比，叠氮杂质具有更高的毒性。体外研究显示叠

氮化物有抑制相关生物酶、阻断体内氧气及血红蛋白的形成，以及黏膜刺激性、中枢神经损伤等毒性。因此，在药物生产和质量控制过程中应严格对叠氮化物杂质含量进行检测。2020 版《中国药典》中，厄贝沙坦原料药中叠氮化物含量采用离子色谱法进行检测，通过阀切换基体消除法对供试品溶液进样后进行在线处理。

本实验使用岛津 IC-16 搭建二维离子色谱分析系统，参照 2020 版《中国药典》，建立了二维离子色谱法测定厄贝沙坦中叠氮化物的含量。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津 IC-16 二维离子色谱系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-20Alite	淋洗液发生器：	SAG-1000
输液泵：	LC-16i x 2	自动进样器：	SIL-16i
柱温箱：	CTO-20AC	检测器：	CDD-10A _{VP}
抑制器：	AS-1000	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.109

1.2 分析条件

第一维预处理柱：	Shim-pack Scepter C18-120 (50 mm x 2.1 mm I.D., 3 μ m, 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-31073-01)		
第一维富集柱：	Shodex IC SI-90G (10 mm x 4.6 mm I.D., 9 μ m, 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: F6709620)		
第一维流动相：	A-ACN	A 相流速：	0.5 mL/min
	B-H ₂ O	B 相流速：	0.5 mL/min
第二维分离柱：	阴离子交换色谱柱，固定相为烷基季铵基 (250 mm x 4.0 mm I.D., 5.5 μ m)		
第二维流动相：	KOH 溶液	流速：	0.7 mL/min
洗脱方式：	梯度洗脱，初始淋洗液浓度为 9 mM，时间程序见表 1。		
进样体积：	100 μ L	柱温：	15°C
抑制器电流：	56 mA	阀切换程序：	阀切换时间程序见表 2。

表 1 淋洗液梯度程序设置

Time (min)	Concentration (mM)
0	9
26	9
26.1	40
32	40
32.1	9
45	9

表 2 阀切换时间程序设置

Time (min)	Module	Command	Value
3	柱温箱	CTO.RVR	1
3	泵	SV(Pump B)	A
40	泵	SV(Pump B)	B
43	柱温箱	CTO.RVR	0
45	控制器	Stop	

备注：一维泵的初始状态为 100%B；流路切换阀的初始状态为“0”号位。

■ 样品前处理

供试品溶液：取厄贝沙坦样品，精密称定，加 90% 甲醇溶液溶解并定量稀释制成每 1 ml 中约含 20 mg 的溶液。

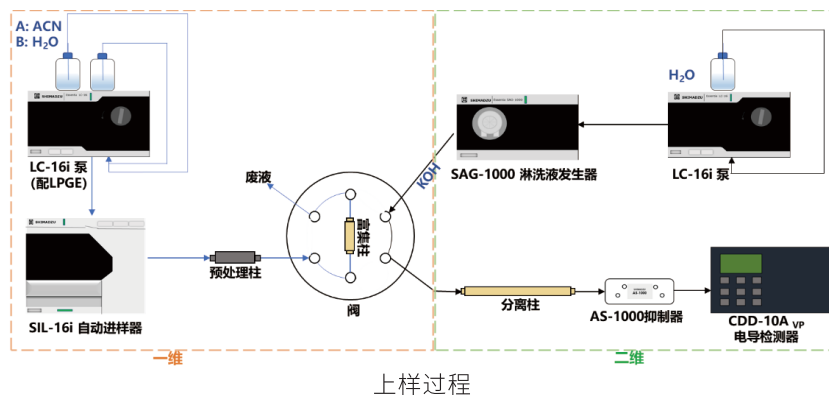
对照品溶液：取叠氮化钠对照品，精密称定，加 90% 甲醇溶液溶解并定量稀释制成 0.04、0.10、0.20、0.50、0.80、1.00 mg/L 的叠氮化钠对照品溶液，其中 0.20 mg/L 叠氮化钠对照品溶液为药典中规定的对照品浓度。

系统适用性溶液：取溴化钾、叠氮化钠和硝酸钾各适量，加 90% 甲醇溶液溶解并稀释制成每 1 ml 中各约含 0.2 μg 的混合溶液。

■ 结果与讨论

3.1 岛津 IC-16 二维离子色谱系统原理介绍

岛津 IC-16 二维离子色谱阀切换系统工作流程如图 1 所示。样品分析从样品取样开始，样品由自动进样器取样。带有低压梯度比例阀的输液泵（LC-16）设置为输送水相，当厄贝沙坦样品随超纯水进入预处理柱时，厄贝沙坦被保留，在预处理柱上无保留的叠氮根及其他杂质离子随超纯水进入富集柱。六通阀位置切换，进行分离测定。采用岛津 SAG-1000 淋洗液发生器，对保留在富集柱上的叠氮根及其他杂质离子进行梯度洗脱分离，同时另一侧将超纯水切换为乙腈对预处理柱进行清洗。通过六通阀的切换，在去除样品基质的同时富集痕量待测离子，提高了样品的分析准确性。



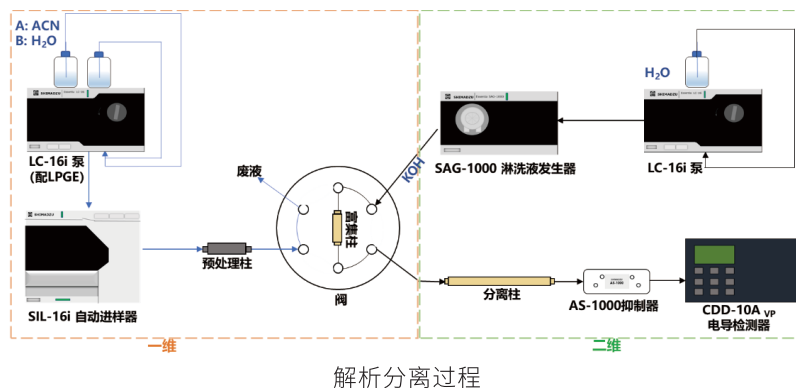


图 1 阀切换系统流路图

3.2 系统适用性及专属性

系统适用性溶液色谱图中，连续进样五针，叠氮根与溴离子及硝酸根的分离度均大于 1.5，符合系统适用性溶液要求。叠氮根出峰时间为 24.9 min，与其他杂质互不干扰。

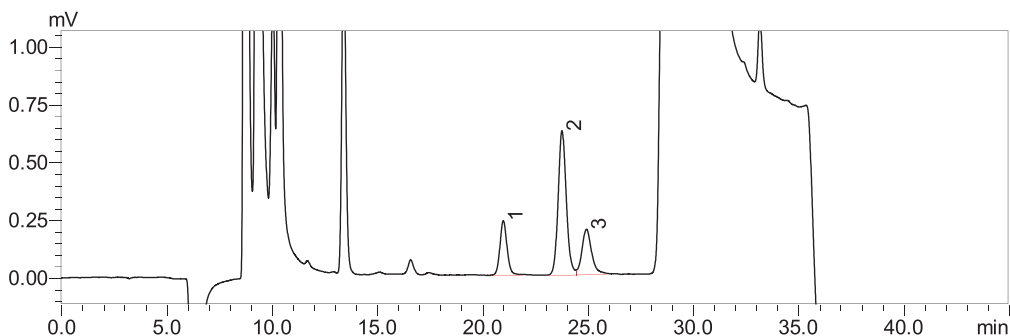


图 2 系统适用性溶液色谱图（1，溴离子；2，硝酸根；3，叠氮根）

表 3 叠氮根对照品系统适用性试验结果 (n=5)

峰号	化合物	保留时间 (min)		峰面积		分离度 (USP)	理论塔板数
		平均	RSD%	平均	RSD%		
3	叠氮根	24.942	0.015	5794	1.278	1.540	15617

3.3 线性

将配制的 0.04、0.10、0.20、0.50、0.80、1.00 mg/L 校准曲线点溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法制作校准曲线，叠氮根校准曲线方程、相关系数见图 3。所得校准曲线线性关系良好，相关系数大于 0.999，准确度在 94.0%-104.7% 之间。

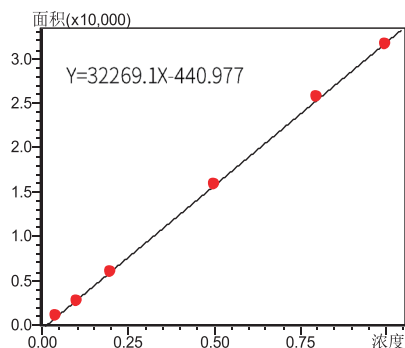


图 3 叠氮根校准曲线

3.4 精密度

将浓度分别为 0.04、0.20、1.00 mg/L 的低、中、高三种水平叠氮根对照品溶液进行精密度测试，分别连续进样 6 次。结果显示，叠氮根保留时间 RSD 值在 0.016%–0.031% 之间，峰面积 RSD 值在 0.425%–1.062% 之间，精密度良好。

表 4 重复性测试保留时间及峰面积 RSD 值

化合物	浓度 mg/L	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%
叠氮根	0.04	0.037	0.610
	0.20	0.020	1.062
	1.00	0.016	0.425

3.5 加标回收率

对 20.0 mg/mL 厄贝沙坦供试品溶液进行分析，未检出叠氮根离子。按叠氮根离子限度的 50%、100%、150% 浓度分别进行回收率试验，回收率在 90.7% 到 95.0% 之间。

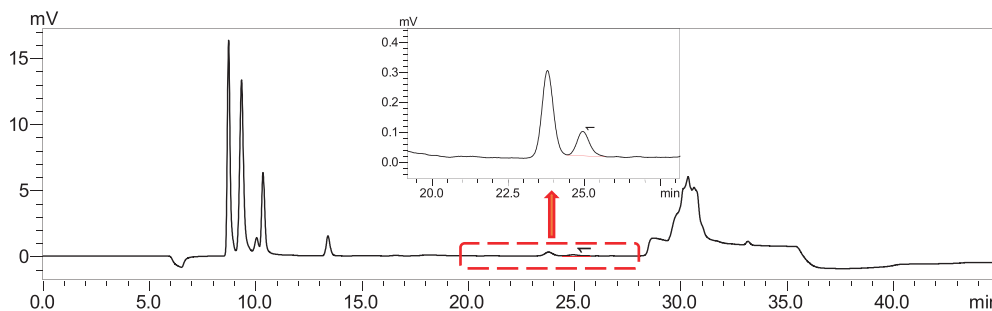


图 4 50% 加标溶液色谱图

表 5 厄贝沙坦供试品加标回收率结果

化合物	加标比例	加标浓度 (mg/L)	实测浓度 (mg/L)	回收率 %
叠氮根	50%	0.100	0.950	95.0
	100%	0.200	0.189	94.5
	150%	0.300	0.272	90.7

■ 结论

采用岛津公司 IC-16 离子色谱仪，参考 2020 版《中国药典》建立了二维离子色谱法测定厄贝沙坦中叠氮根含量的方法。该方法线性关系良好，相关系数 r 大于 0.999，精密度、准确度均符合标准，可以为厄贝沙坦中叠氮根杂质含量测定提供参考。

岛津应用云

