

# HPLC-ELSD 测定泊洛沙姆中聚丙二醇残留量

LC-399

**摘要：** 本文采用岛津高效液相色谱建立了泊洛沙姆中聚丙二醇（PPG2000）的定量方法。该方法中，PPG2000 在 20~1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  线性范围内线性良好，线性相关系数为 0.9993。精密度实验中，50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  标准溶液保留时间 RSD 为 0.27%，峰面积 RSD 为 3.90%，重复性佳。空白样品加标实验中，PPG2000 和泊洛沙姆基质实现基线分离，1.25 和 12.5  $\mu\text{g}/\text{mg}$  加标回收率分别为 102.5% 和 94.1%，回收率高。实验结果表明，该方法能快速准确地定量分析泊洛沙姆中聚丙二醇含量。

**关键词：** 泊洛沙姆 PPG2000 ELSD-LT III

## 特点描述：

- ❖ 通过优化液相方法，PPG2000 峰形尖锐平滑，泊洛沙姆基质对 PPG2000 无干扰。
- ❖ 本方法采用 ELSD-LT III 检测 PPG2000，线性良好，重复性佳，加标回收率高。

泊洛沙姆是一种高分子非离子表面活性剂，是优良的药物制剂新辅料，通常用作基质、增溶剂、稳定剂、乳化剂、吸收促进剂、固体分散体载体等，用来控制药物释放，提高药物的稳定性，增加难溶性药物的溶解度。泊洛沙姆是聚氧乙烯-聚氧丙烯-聚氧乙烯的共聚物，其中聚氧丙烯又被称之为聚丙二醇（PPG），是泊洛沙姆合成过程的中间体，游离的 PPG 的存在可能影响泊洛沙姆在药物中的作用，所以检测泊洛沙姆中游离的 PPG 是非常有必要的。

PPG 一般是不同聚合度的混合物，在色谱中可能会出现多个峰或峰展宽、分叉的现象。并且泊洛沙姆和 PPG 性质接近，在色谱分离中，泊洛沙姆基质可能会干扰 PPG。本实验测定的是 PPG2000，采用反相离子对色谱，通过优化流动相，使 PPG2000 峰形尖锐平滑，且不受泊洛沙姆基质的干扰。另外，PPG 没有显著的紫外吸收基团，所以采用蒸发光散射检测器 ELSD-LT III 进行检测，此解决方案供相关从业人员参考。

## 实验部分

### 1.1 仪器

高效液相色谱仪 LC-40B XR，配置信息如下：

系统控制器：	CBM-40lite	自动进样器：	SIL-40C XR
脱气机：	DGU-403	柱温箱：	CTO-40C
输液泵：	LC-40B XR	检测器：	ELSD-LT III
色谱工作站：	Labsolutions Ver. 5.114		

### 1.2 分析条件

色谱柱：	ShimNex WP C18-S (250 mm×4.6 mm I.D., 5 $\mu\text{m}$ ), (岛津(上海)实验器材有限公司, P/N 380-01234-87)		
流动相：	A-10 mM 三乙胺乙酸水溶液 (pH=7) B-10 mM 三乙胺乙酸异丙醇溶液 (pH=7)		
进样体积：	10 $\mu\text{L}$	流速：	1.0 mL/min
检测器：	ELSD-LT III	柱温：	40 $^{\circ}\text{C}$
增益：	Wide	漂移管温度：	40 $^{\circ}\text{C}$

雾化气压力：360 KPa

洗脱方式：梯度洗脱，B相起始浓度为50%，时间程序如表1所示。

表1 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值 (%)
1	泵	B.Conc	50
4	泵	B.Conc	100
8	泵	B.Conc	100
8.1	泵	B.Conc	50
15	控制器	Stop	

### 1.3 标准品及样品配制

标准品储备液：称取标准品 PPG2000 适量，用甲醇溶解稀释成 10 mg/mL；

标准溶液：取适量标准品储备液，用超纯水逐级稀释，配制浓度为：20、50、100、200、500、1000  $\mu\text{g/mL}$  的标准溶液。

样品溶液制备：准确称取样品 200 mg 至离心管中，加入 5 mL 甲醇 / 超纯水溶液 (V/V=1/1)，涡旋至完全溶解，过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜后上机分析。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 方法优化

PPG2000 的重均分子量  $M_w$  为 2000 Da，是含有不同聚合度的 PPG 混合物，在色谱分离时可能会出现多个峰或峰展宽的现象。当流动相 B 相为 10 mM 三乙胺乙酸甲醇溶液 (pH=7) 时，PPG2000 出现峰展宽，且出现分叉现象，更换不同极性的色谱柱峰形均没有很好的改善。峰展宽且分叉会导致分离度差、灵敏度低等问题，最终影响实际样品中 PPG2000 残留量的定量分析。当将流动相 B 相调整为 10 mM 三乙胺乙酸异丙醇溶液 (pH=7) 后，PPG2000 在异丙醇溶液中的空间结构发生变化，且异丙醇的洗脱能力强于甲醇，最终 PPG2000 形成一个尖锐且平滑的色谱峰，具体色谱图对比如图 1 所示。

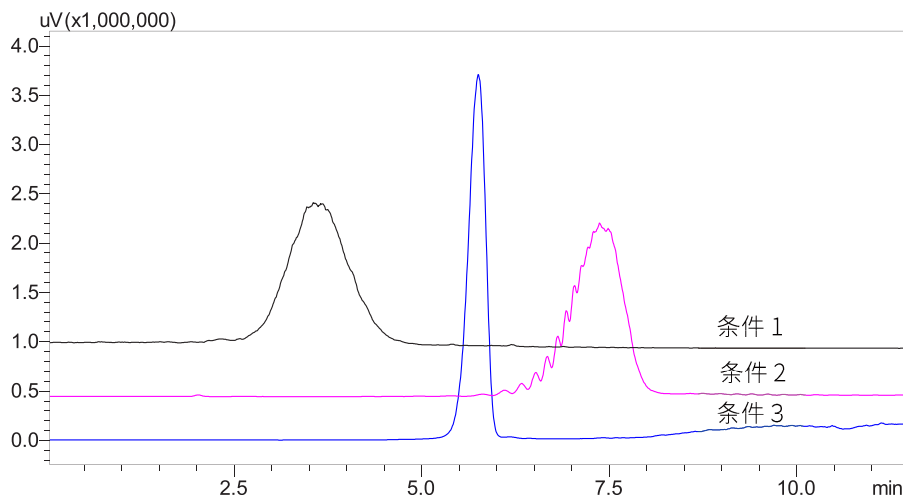


图1 不同条件下 PPG2000 标准溶液 (浓度：1000  $\mu\text{g/mL}$ ) 色谱图对比

(条件 1：色谱柱 -C4 +B 相 -10 mM 三乙胺乙酸甲醇溶液 (pH=7)；条件 2：色谱柱 -C18 +B 相 -10 mM 三乙胺乙酸甲醇溶液 (pH=7)；条件 3：色谱柱 -C18 +B 相 -10 mM 三乙胺乙酸异丙醇溶液 (pH=7) )

## 2.2 标准溶液色谱图

PPG2000 保留时间为 5.785 min，校准曲线最低点 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  信噪比为 17，20~1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  标准溶液色谱图如图 2 所示。

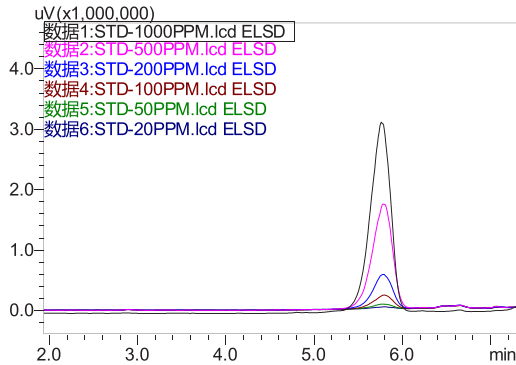


图 2 PPG2000 色谱图 (浓度 20~1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

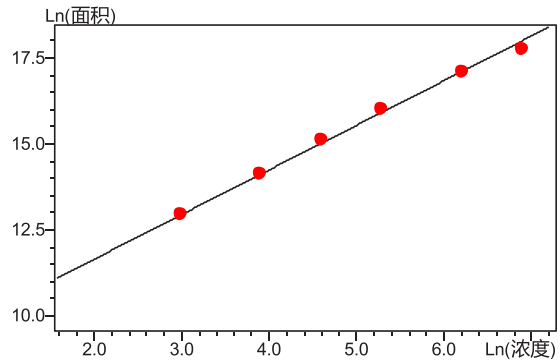


图 3 PPG 校准曲线

## 2.3 校准曲线

按 1.2 中的分析条件测定标准溶液，浓度为 20、50、100、200、500、1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，以浓度的对数为横坐标，峰面积的对数为纵坐标，采用外标法建立校准曲线，校准曲线如图 3 所示，线性关系为  $\text{Ln } Y = 1.24194 \times \text{Ln } X + 9.29136$ ，线性相关系数  $r$  为 0.9993，准确度为 89.5~110.2%。

## 2.4 精密度实验

按照 1.2 分析条件，将浓度为 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准溶液重复分析 6 次，计算得到 PPG2000 保留时间 RSD 为 0.27%，峰面积 RSD 为 3.90%。6 次重复分析得到的色谱图如图 4 所示。

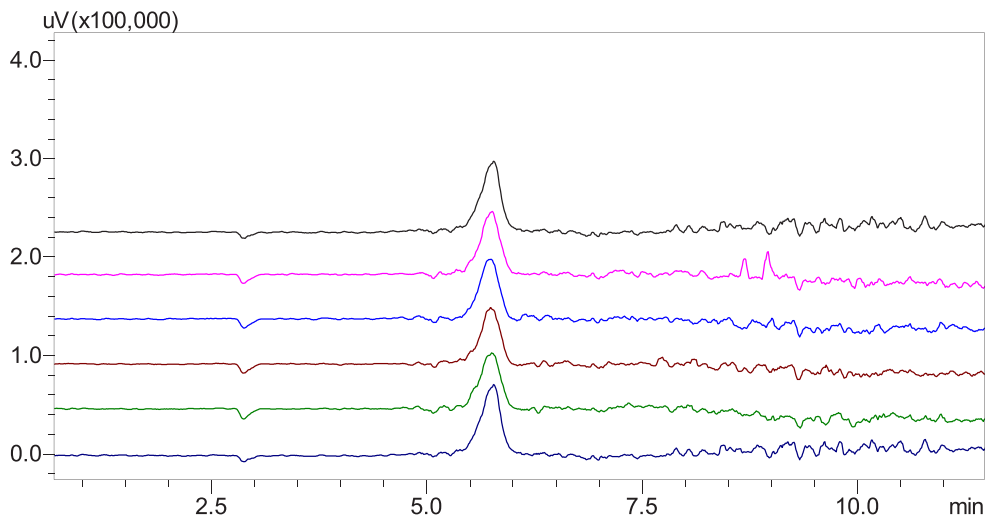


图 4 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准溶液色谱图 ( $n=6$ )

## 2.5 样品含量测定

按照 1.3 中前处理方法对泊洛沙姆样品进行处理，上机分析，样品中未检测到 PPG2000。对空白样品进行加标实验，加标量为 1.25 和 12.5  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ，样品及加标后色谱图如图 5 所示，从图可知，泊洛沙姆基质对 PPG2000 无干扰。重复实验 3 次，加标回收率结果如表 2 所示。

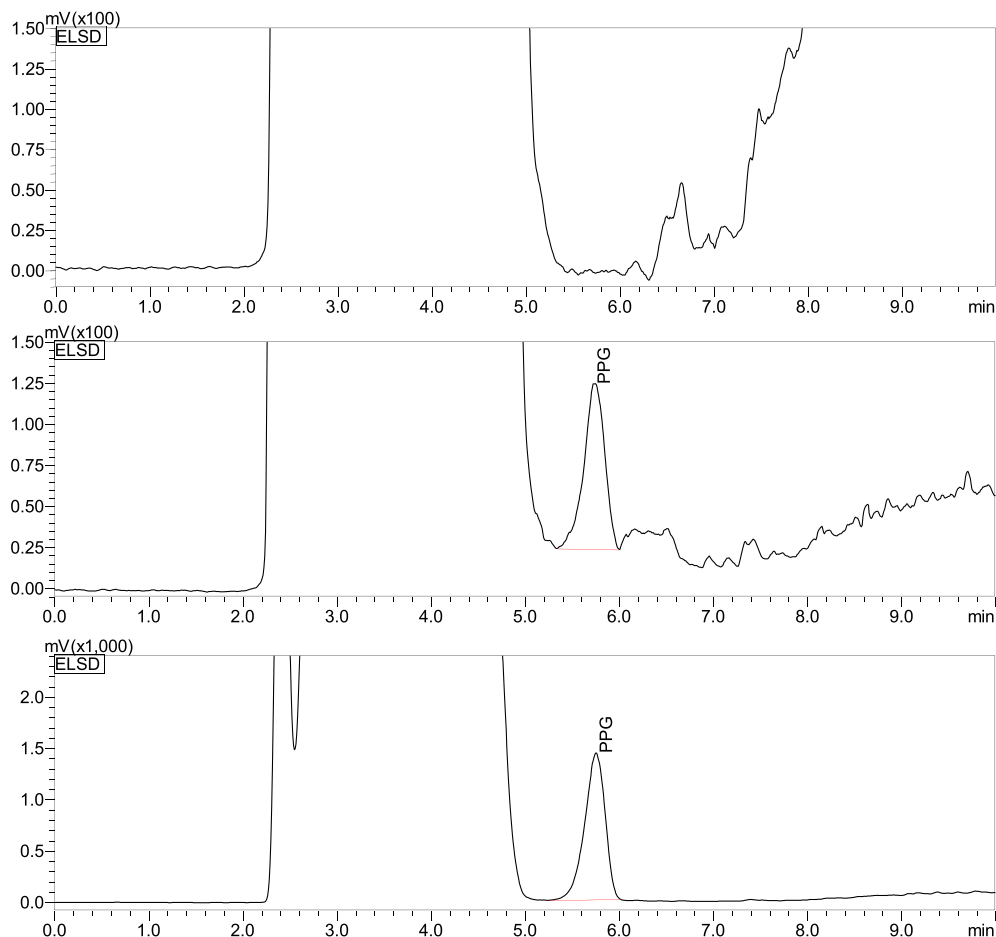


图5 样品及加标后色谱图  
(上：实际样品色谱图；中：1.25 µg/mg 样品加标后色谱图；下：12.5 µg/mg 样品加标后色谱图)

表2 样品及加标样品定量结果 (n=3)

No.	化合物	样品中浓度 (µg/g)	加标量 (1.25 µg/mg)		加标量 (12.5 µg/mg)	
			回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%
1	PPG2000	N.D.	102.5	1.58	94.1	2.36

## ■ 结论

本文采用岛津高效液相色谱仪联合蒸发光散射检测器 ELSD-LT III 建立了泊洛沙姆中聚丙二醇 (PPG2000) 定量方法。该方法中, PPG2000 峰形尖锐平滑, 20~1000 µg/mL 浓度范围内, 线性相关系数为 0.9993。样品加标实验中, 基质对目标化合物无干扰, 1.25 和 12.5 µg/mg 加标回收率分别为 102.5% 和 94.1%, 回收率高。

岛津应用云

