

# 抑制电导型离子色谱法测定多肽药物中残留哌啶

LC-462

**摘要：**本文采用岛津离子色谱仪建立了多肽药物中残留哌啶的测定方法。实验结果显示：哌啶线性良好，线性相关系数  $\geq 0.999$ ；对浓度  $0.05 \mu\text{g/mL}$  哌啶标准溶液连续分析 6 次，保留时间 RSD 为 0.46%，峰面积 RSD 为 1.21%；低、高浓度加标回收率均分别为 102.9%、103.8%，相对标准偏差  $< 2.64\%$ ，方法准确可靠；检出限为  $0.01 \mu\text{g/mL}$ ，定量限为  $0.04 \mu\text{g/mL}$ 。该方法重现性好，灵敏度高，满足多肽药物中残留哌啶的测定要求。

**关键词：**离子色谱 多肽 哌啶残留

## 技术特点：

- ❖ 该法灵敏度高，定量限可低至  $0.04 \mu\text{g/mL}$ ；
- ❖ 哌啶解离后具有较大的极性和吸附效应，使用普通阳离子交换柱难以被洗脱，Shim-pack IC-C4 色谱柱可在较低浓度的淋洗液条件下，实现快速洗脱。

哌啶 (Piperidine) 是一种碱性较强的有机化合物，在多肽合成过程中，可用来有效去除 Fmoc 基团，通常作为 Fmoc 保护基团的脱除剂使用，在多肽合成中发挥了重大作用。然而，哌啶具有一定的毒性，是一种升压剂，因此，控制多肽产品中哌啶的残留量对于确保药物的安全性至关重要。

哌啶的测定方法有顶空气相色谱法和液相离子

对色谱法，两种方式分离结果欠佳，检出限分别为  $16.1 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.545 \mu\text{g/mL}$ ，灵敏度无法满足要求，其 pKa 值为 11.1，可以用离子色谱进行阳离子分离，抑制电导检测。

本文使用 HIC-ESP 离子色谱仪，建立了多肽药物中残留哌啶的测定方法。该方法选择性强，灵敏度高，供相关行业参考。

## 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用 HIC-ESP 系统，具体配置为：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A <sub>3</sub>
输液泵：	LC-20AD <sub>SP</sub>	自动进样器：	SIL-20AC <sub>XR</sub>
检测器：	CDD-10A <sub>vp</sub>	抑制器：	SHY-C-5
柱温箱：	CTO-20AC	色谱工作站：	LabSolutions 5.118

### 1.2 分析条件

色谱柱：	Shim-pack IC-C4 色谱柱 (150 mm×4.6 mm I.D., 7 $\mu\text{m}$ , P/N: 228-41616-91, 岛津 (上海) 实验器材有限公司)		
流动相：	2 mmol/L 甲基磺酸	检测器：	43°C
抑制电流：	10 mA	流速：	1 mL/min
柱温：	40°C	进样量：	25 $\mu\text{L}$

### 1.3 样品前处理

样品：准确称取 0.1 g 样品，以去离子水定容到 50 mL。过滤膜待测。

#### 1.4 标准曲线制备

用去离子水配制 100 µg/mL 的哌啶储备液，以水逐级稀释成浓度分别为 0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、5.0、10.0 µg/mL 的标准工作溶液。

## ■ 结果与讨论

#### 2.1 标准谱图及校准曲线

标准溶液色谱图如图 1 所示。校准曲线信息见表 1。实验结果显示，哌啶线性相关性良好，线性相关系数 R 大于 0.999。

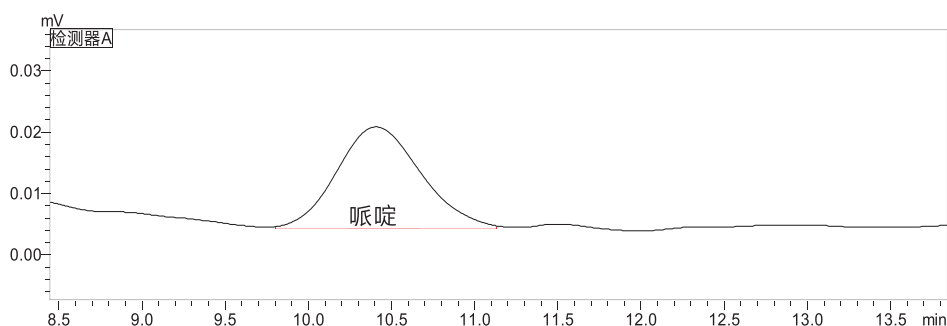


图 1 哌啶标准品 (0.2 µg/mL) 色谱图

表 1 哌啶校准曲线信息

名称	线性范围 (µg/mL)	线性方程	相关系数 R	准确度 (%)
哌啶	0.05~10	$Y = (3431.52)X + (-81.2511)$	0.9997	95.8-108.4

#### 2.2 重复性考察

对哌啶标准溶液 (0.05 µg/mL) 进行 6 次重复性实验，保留时间 RSD 为 0.46%，峰面积 RSD 为 1.21%，重复性良好。

#### 2.3 检出限和定量限

对于实际样品一般要求哌啶的残留量在 200 mg/kg 以下，结合样品前处理回算，仪器的定量限满足 0.4 µg/mL 即可满足实际样品分析的需求。对低点标准溶液 (0.05 µg/mL) 进样分析，分别以 3 倍信噪比 (S/N=3) 和 10 倍信噪比 (S/N=10) 计算其检出限和定量限，检出限为 0.01 µg/mL，定量限为 0.04 µg/mL，完全满足实际样品的定性、定量分析需求。

#### 2.4 实际样品测定及回收率考察

取多肽样品，按照“1.3 样品前处理”方法处理后上机分析。对样品进行低、高浓度的加标实验，每个浓度平行三份，并计算回收率，不同加标浓度下，哌啶的加标回收率在 102.9%-103.8% 之间，相对标准偏差不高于 2.64%。

表 2 样品测定结果及加标回收率结果 (n=3)

名称	样品浓度 (µg/L)	加标浓度 (µg/mL)	加标回收率 (%)	加标回收率 RSD (%)
哌啶	N.D.	0.05	102.9	0.95
		10	103.8	2.64

注：N.D. 代表未检出

## ■ 结论

本实验中使用岛津离子色谱仪搭载阳离子再生膜抑制器，建立了一种多肽药物中残留哌啶的测定方法。该方法校准曲线线性、仪器保留时间及峰面积的重现性、灵敏度均良好可以为定性、定量分析多肽药物中残留的哌啶提供准确、有效的检测方法。

岛津应用云

