



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117310008 A

(43) 申请公布日 2023. 12. 29

(21) 申请号 202310861404.9

(22) 申请日 2023.07.13

(71) 申请人 深圳市中核海得威生物科技有限公司

地址 518118 广东省深圳市坪山区坑梓街道金沙社区卢田路5号

(72) 发明人 詹传红 魏翠雯

(74) 专利代理机构 深圳市韦恩肯知识产权代理有限公司 44375

专利代理师 欧阳骁宇

(51) Int. Cl.

G01N 30/02 (2006.01)

G01N 30/06 (2006.01)

G01N 30/86 (2006.01)

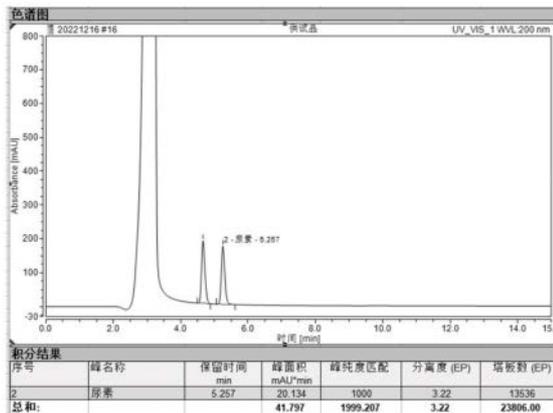
权利要求书1页 说明书6页 附图4页

(54) 发明名称

一种呼气试验用药品中尿素^[13C]含量的测定方法

(57) 摘要

本发明涉及一种呼气试验用药品中尿素^[13C]含量的测定方法,至少包括以下步骤:S1、分别配制标准溶液、样品溶液;S2、采用高效液相色谱法对所述标准溶液、样品溶液进行分析;S3、整理分析结果;步骤S2中,所述高效液相色谱法的检测条件为:色谱柱:CAPCELL PAK SCX UG80S5(4.6mm×250mm);流速:0.4~0.8mL/min;二极管阵列检测器检测波长:195nm~205nm;柱温:20~35℃;进样量:10~30μL;总运行时间:10~30min。



1. 一种呼气试验用药品中尿素 [^{13}C] 含量的测定方法, 其特征在于, 至少包括以下步骤:

S1、分别配制标准溶液、样品溶液;

S2、采用高效液相法对所述标准溶液、样品溶液进行分析;

S3、整理分析结果;

步骤S2中, 所述高效液相法的检测条件为:

色谱柱: CAPCELL PAK SCX UG80S5 (4.6mm × 250mm);

流速: 0.4 ~ 0.8 mL/min;

二极管阵列检测器检测波长: 195nm ~ 205nm;

柱温: 20 ~ 35°C;

进样量: 10 ~ 30 μL ;

总运行时间: 10 ~ 30min。

2. 根据权利要求1所述的一种呼气试验用药品中尿素 [^{13}C] 含量的测定方法, 其特征在于, 所述样品溶液采用以下制备方法得到, 精密称定所述呼气试验用药品, 置于量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 弃去初滤液, 取续滤液作为所述样品溶液。

3. 根据权利要求1所述的一种呼气试验用药品中尿素 [^{13}C] 含量的测定方法, 其特征在于, 所述检测条件中的流动相包括水、乙腈中的任意一种。

4. 根据权利要求3所述的一种呼气试验用药品中尿素 [^{13}C] 含量的测定方法, 其特征在于, 所述水与乙腈的体积比为 (1:9) - (9:1)。

5. 根据权利要求3所述的一种呼气试验用药品中尿素 [^{13}C] 含量的测定方法, 其特征在于, 所述流动相为水。

6. 根据权利要求1所述的一种呼气试验用药品中尿素 [^{13}C] 含量的测定方法, 其特征在于, 所述呼气试验用药品中单片片剂的规格为 25mg、50mg、85mg。

7. 根据权利要求1所述的一种呼气试验用药品中尿素 [^{13}C] 含量的测定方法, 其特征在于, 所述呼气试验用药品中的辅料为柠檬酸和甘露醇。

8. 根据权利要求1所述的一种呼气试验用药品中尿素 [^{13}C] 含量的测定方法, 其特征在于, 所述高效液相法的检测条件为:

色谱柱: CAPCELL PAK SCX UG80S5 (4.6mm × 250mm);

流动相: 水;

流速: 0.6 mL/min;

二极管阵列检测器检测波长: 200nm;

柱温: 25°C;

进样量: 20 μL ;

总运行时间: 15min。

一种呼气试验用药品中尿素^[13C]含量的测定方法

技术领域

[0001] 本发明涉及医药制剂领域,特别涉及一种呼气试验用药品中尿素^[13C]含量的测定方法。

背景技术

[0002] 尿素^[13C]呼气检测试剂用于尿素^[13C]呼气试验,能够快速、无损伤性地检测胃部幽门螺杆菌,尿素^[13C]呼气试验克服了侵入性检测方法所存在的依赖胃镜、具有操作风险、依从性差等缺点。美国药典收载有尿素^[13C]原料药含量测定的高效液相色谱法,但是该方法以及已有的分析方法不适用于尿素^[13C]制剂的含量测定,因为该制剂中添加了大量的辅料,如甘露醇、柠檬酸等物质,该种检测方法无法将尿素^[13C]与辅料分开,且尿素^[13C]保留时间短、基线噪音大,难以对尿素^[13C]制剂中尿素^[13C]的含量进行准确测定。

发明内容

[0003] 针对现有技术的不足,本发明提出了一种呼气试验用药品中尿素^[13C]含量的测定方法,从而建立了一种专属性强、灵敏度高、准确可靠的测定尿素^[13C]制剂含量的方法,对呼气试验用药品中尿素^[13C]的含量进行有效监管。

[0004] 为解决上述技术问题,本发明的目的是提供一种呼气试验用药品中尿素^[13C]含量的测定方法,其特征在于,至少包括以下步骤:

[0005] S1、分别配制标准溶液、样品溶液;

[0006] S2、采用高效液相法对所述标准溶液、样品溶液进行分析;

[0007] S3、整理分析结果;

[0008] 步骤S2中,所述高效液相法的检测条件为:

[0009] 色谱柱:CAPCELL PAK SCX UG80S5(4.6mm×250mm);

[0010] 流速:0.4~0.8mL/min;

[0011] 二极管阵列检测器检测波长:195nm~205nm;

[0012] 柱温:20~35℃;

[0013] 进样量:10~30μL;

[0014] 总运行时间:10~30min进一步地,所述样品溶液采用以下制备方法得到,精密称定所述呼气试验用药品,置于量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液作为所述样品溶液。

[0015] 进一步地,所述流动相为水、乙腈中的任意一种。

[0016] 进一步地,所述水与乙腈的体积比为(1:9)-(9:1)。

[0017] 进一步地,所述呼气试验用药品中单片片剂的规格为25mg、50mg、85mg。

[0018] 进一步地,所述呼气试验用药品中的辅料为柠檬酸和甘露醇。

[0019] 优选的,所述高效液相法的检测条件为:

[0020] 色谱柱:CAPCELL PAK SCX UG80S5(4.6mm×250mm);

- [0021] 流动相:水;
[0022] 流速:0.6mL/min;
[0023] 二极管阵列检测器检测波长:200nm;
[0024] 柱温:25℃;
[0025] 进样量:20μL;
[0026] 总运行时间:15min。
[0027] 综上所述,本发明具有以下有益效果:

[0028] 本发明所公开的测定方法,呼气试验用药品中的主成分尿素^[13C]保留较好,峰形对称,与溶剂峰、辅料峰和已知杂质的分离度良好,同时基线平稳、背景噪音小,且该种测定方法所用的流动相优选为水,其不含缓冲盐,不会对色谱柱和检测仪器造成损伤,因此,该种测定方法可以对呼气试验用药品中尿素^[13C]含量进行准确测定。

附图说明

[0029] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图示出的结构获得其他的附图。

- [0030] 图1为标准溶液的色谱图。
[0031] 图2为样品溶液的色谱图。
[0032] 图3为标准曲线图。
[0033] 图4为对比例1的色谱图。
[0034] 图5为对比例2的色谱图。
[0035] 图6为对比例3的色谱图。
[0036] 图7为对比例4的色谱图。
[0037] 图8为对比例5的色谱图。
[0038] 图9为对比例6的色谱图。
[0039] 图10为对比例8的色谱图。
[0040] 本发明目的的实现、功能特点及优点将结合实施例,参照附图做进一步说明。

具体实施方式

[0041] 下面将结合本发明实施例,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明的一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0042] 下述实施例中的实验方法,如无特殊说明,均为常规方法。下述实施例中所用的试验材料和试剂等,如无特殊说明,均可从商业途径获得。以下实施例中的定量试验,均设置三次重复实验,数据为三次重复实验的平均值或平均值±标准差。

[0043] 另外,全文中的“和/或”包括三个方案,以A和/或B为例,包括A技术方案、B技术方案,以及A和B同时满足的技术方案;另外,各个实施例之间的技术方案可以相互结合,但是

必须是以本领域普通技术人员能够实现为基础,当技术方案的结合出现相互矛盾或无法实现应当认为这种技术方案的结合不存在,也不在本发明要求的保护范围之内。

[0044] 本发明实施例中所使用的样品为呼气试验用药品(规格为25mg)。

[0045] 实施例1

[0046] 一种呼气试验用药品中尿素 $[^{13}\text{C}]$ 含量的测定方法,至少包括以下步骤:

[0047] S1、分别配制空白辅料溶液、标准溶液、待测样品溶液

[0048] 空白辅料溶液:精密称定空白辅料(空白辅料为柠檬酸与甘露醇的混合物,柠檬酸与甘露醇的质量比为5:1)2.0g,置于100mL量瓶中,加流动相溶解并定量稀释至刻度,摇匀,即得。

[0049] 标准溶液:精密称定尿素 $[^{13}\text{C}]$ 对照品125mg,置于25mL量瓶中,加入流动相溶解并定量稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液。之后分别准确移取0.5mL、0.8mL、0.9mL、1.0mL、1.1mL和1.2mL对照品贮备液至10mL量瓶中,用流动相定容至刻度,摇匀,制成系列标准工作溶液。

[0050] 样品溶液:将样品研磨得到细粉,精密称定样品(约相当于尿素 $[^{13}\text{C}]$ 50mg),置于100mL量瓶中,加入流动相溶解并定量稀释至刻度,摇匀,用 $0.45\mu\text{m}$ 滤膜过滤掉3mL后,取续滤液作为样品溶液。

[0051] 空白溶液:流动相。

[0052] S2、利用高效液相色谱仪分别对空白辅料溶液、标准溶液和样品溶液进行检测分析,色谱条件为:

[0053] 色谱柱:CAPCELL PAK SCX UG80S5(4.6mm \times 250mm);

[0054] 流动相:纯化水;

[0055] 流速:0.6mL/min;

[0056] 二极管阵列检测器检测波长:200nm;

[0057] 柱温:25 $^{\circ}\text{C}$;

[0058] 进样量:20 μL ,

[0059] 总运行时间:15min。

[0060] S3、结果分析

[0061] (1) 专属性试验

[0062] 将配制好的空白溶液、空白辅料溶液、标准溶液、样品溶液分别取20 μL 进样分析,标准溶液、样品溶液的色谱图分别如图1和图2所示。如图2所示,样品溶液的色谱图中尿素 $[^{13}\text{C}]$ 峰与相邻峰的分度为3.22,峰纯度为1000,说明方法专属性良好。

[0063] (2) 线性关系考察:

[0064] 将配制的不同浓度的系列标准工作溶液分别取20 μL 进样分析,以标准工作溶液的浓度为横坐标,以目标峰峰面积为纵坐标,建立标准曲线,得到线性回归方程为 $y = 37.451x + 0.9305$,相关系数R为0.9996,其标准曲线图如图3所示。

[0065] (3) 样品准确度试验

[0066] 分别在空白辅料中加入低中高三个不同浓度的标准溶液进行加标回收率考察,每份溶液分别测定3次,根据测定结果计算该方法中尿素 $[^{13}\text{C}]$ 的加标回收率和回收率的相对标准偏差,结果如表1所示。

[0067] 表1尿素¹³C的回收率

序号	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均值(%)	RSD(%)
[0068] 1	40.61	40.97	100.9	99.5	1
2	40.77	41.09	100.8		
3	41.12	41.39	100.6		
[0069] 4	50.61	50.30	99.4		
5	50.85	50.58	99.5		
6	50.77	50.47	99.4		
7	60.22	59.15	98.2		
8	60.35	59.22	98.1		
9	60.65	59.59	98.3		

[0070] 结果表明,在低中高三个加标水平上,测得主成分尿素¹³C的回收率范围为98.1%~100.9%,平均回收率为99.5%,回收率的RSD值为1%。表明本发明的测定方法的准确度较高,重复性较好。

[0071] 对比例1与实施例1的区别在于,色谱条件的不同,不同的色谱条件如下:

[0072] 色谱柱:ZORBAX SB-C8(4.6×150mm,5 μ m);

[0073] 流动相:乙腈和水的混合溶液,乙腈与水的体积比为5:95;

[0074] 对比例1的色谱图如图4所示。如图4可知,使用普通反相色谱柱对样品进行分离时,尿素峰较难保留,且与溶剂峰、辅料峰难以分离,无法满足尿素含量的测定要求。

[0075] 对比例2与实施例1的区别在于,色谱条件的不同,不同的色谱条件如下:

[0076] 色谱柱:太玮科技JADE-PAK® HILIC(4.6×150mm,5 μ m);

[0077] 流动相:乙腈和水的混合溶液,乙腈与水的体积比为90:10;

[0078] 流速:0.8mL/min。

[0079] 对比例2的色谱图如图5所示。如图5可知,该条件下尿素峰峰形差且基线波动较大。

[0080] 对比例3与对比例2的区别在于,色谱条件的不同,不同的色谱条件如下:

[0081] 流动相:乙腈和水的混合溶液,乙腈与水的体积比为7:3;

[0082] 对比例3的色谱图如图6所示。如图6可知,该条件下尿素主峰与辅料峰重叠。

[0083] 对比例4与实施例1的区别在于,色谱条件的不同,不同的色谱条件如下:

[0084] 色谱柱:赛默飞水系柱Hypersil GOLD™ aQ(250×4.6mm,5 μ m);

[0085] 流动相:乙腈和水的混合溶液,乙腈与水的体积比为50:50;

[0086] 对比例4的色谱图如图7所示。如图7可知,该条件下尿素主峰与辅料峰重叠。

[0087] 对比例5与对比例4的区别在于,色谱条件的不同,不同的色谱条件如下:

[0088] 流动相:乙腈和水的混合溶液,乙腈与水的体积比为20:80;

[0089] 对比例5的色谱图如图8所示。如图8可知,该条件下尿素主峰与辅料峰重叠。

[0090] 对比例6与实施例1的区别在于,色谱条件的不同,不同的色谱条件如下:

[0091] 色谱柱:Shodex Asahipak NH2P-50 4E(250×4.6mm,5 μ m);

[0092] 流动相:乙腈和水的混合溶液,乙腈与水的体积比为80:20;

[0093] 流速:0.8mL/min;

[0094] 运行时间:25min。

[0095] 对比例6的色谱图如图9所示。如图9可知,该条件下专属性无法满足测试要求,空白辅料对供试品的测定有干扰,同时基线噪音较大。

[0096] 对比例7与实施例1的区别在于,色谱条件的不同,不同的色谱条件如下:

[0097] 流动相:乙腈和0.1%磷酸溶液的混合溶液,乙腈与0.1%磷酸溶液的体积比为75:25;

[0098] 总运行时间:30min。

[0099] (2)在该色谱条件下,为了考察空白溶液、空白辅料对主成分的测定是否有干扰及加标回收率情况,采用添加空白辅料溶液和标准溶液样品溶液(即加标样品溶液)为检测对象,结果如表2所示。

[0100] 表2加标回收率试验结果

样品名	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)
80%加标样品溶液	10.81	11.16	103.3
100%加标样品溶液	12.31	12.48	101.4
120%加标样品溶液	15.23	15.72	103.2

[0102] 由表2可知,空白辅料对主峰的测定有干扰,加标回收率偏高。

[0103] 对比例8与实施例1的区别在于,色谱条件的不同,不同的色谱条件如下:

[0104] 流动相:乙腈和乙酸铵的混合溶液,乙腈与乙酸铵的体积比为40:60;

[0105] 总运行时间:30min。

[0106] 对比例8的色谱图如图10所示。如图10可知,该条件下尿素峰与辅料峰的分度度无法满足要求。

[0107] 对比例9与实施例1的区别在于,色谱条件的不同,不同的色谱条件如下:

[0108] 流动相:5%乙腈-水;

[0109] 总运行时间:30min。

[0110] 对比例10与对比例9的区别在于,流动相为0.2mol/L磷酸二氢铵。

[0111] 对比例9与对比例10的实验结果如表3所示。

[0112] 表3

流动相	尿素与相邻辅料峰的分度度	与已知杂质缩二脲的分度度
5%乙腈-水	3.06	3.01
0.2mol/L磷酸二氢铵	3.52	3.96
实施例1	3.40	3.65

[0114] 由表3可知,在0.2mol/L磷酸二氢铵体系下,样品中尿素峰与相邻辅料峰的分度度最好,但考虑到0.2mol/L磷酸二氢铵浓度较大,会对色谱柱和相应的色谱仪造成损伤,因此弃用。

[0115] 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合,为使描述简洁,未对上述实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述,然而,只要这些技术特征的组合不存

在矛盾,都应当认为是本说明书记载范围。

[0116] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式,其描述较为具体和详细,但不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。

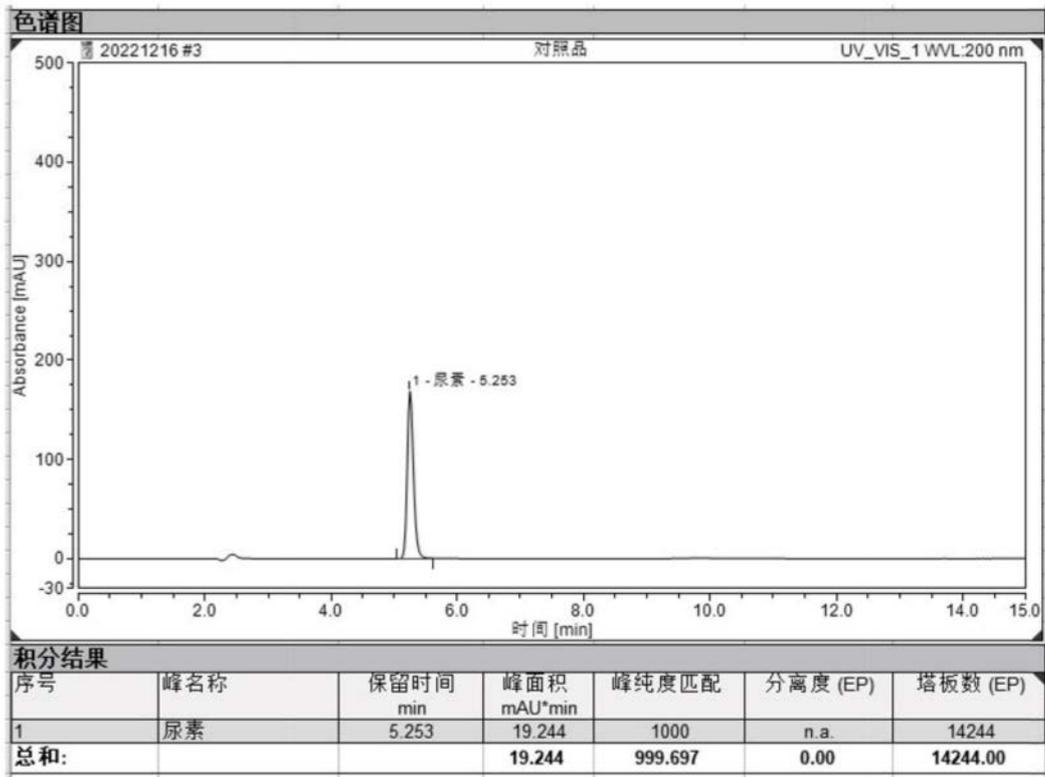


图1

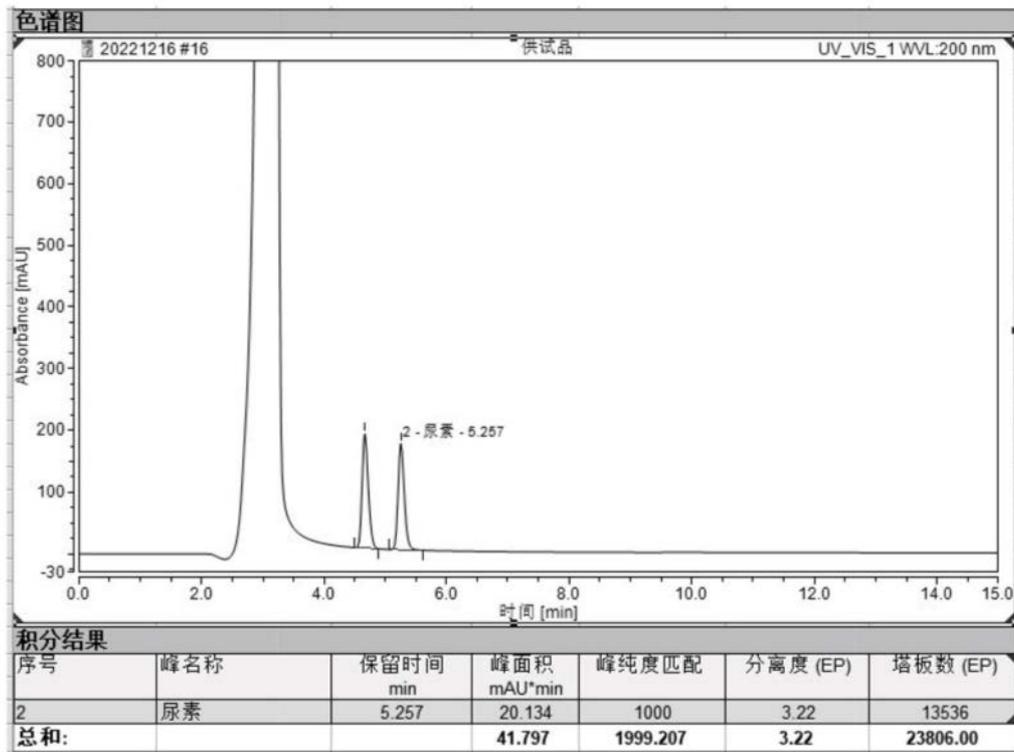


图2

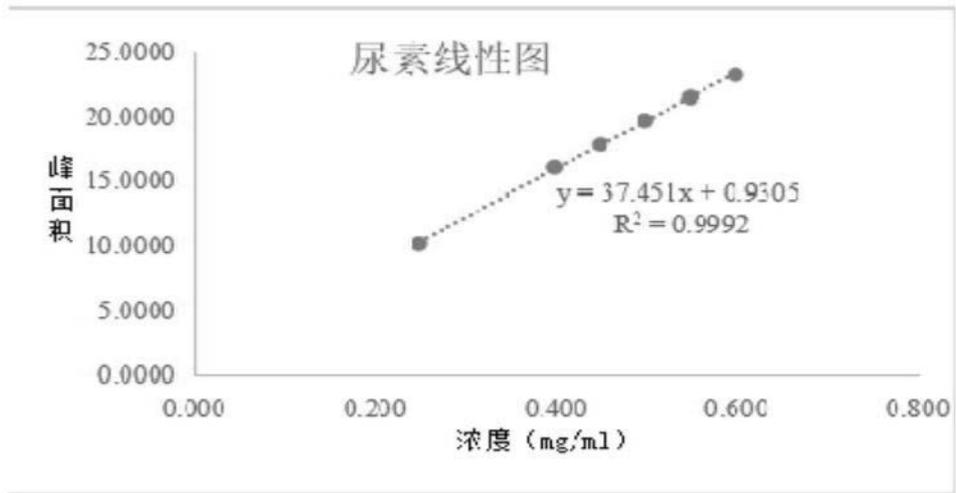


图3

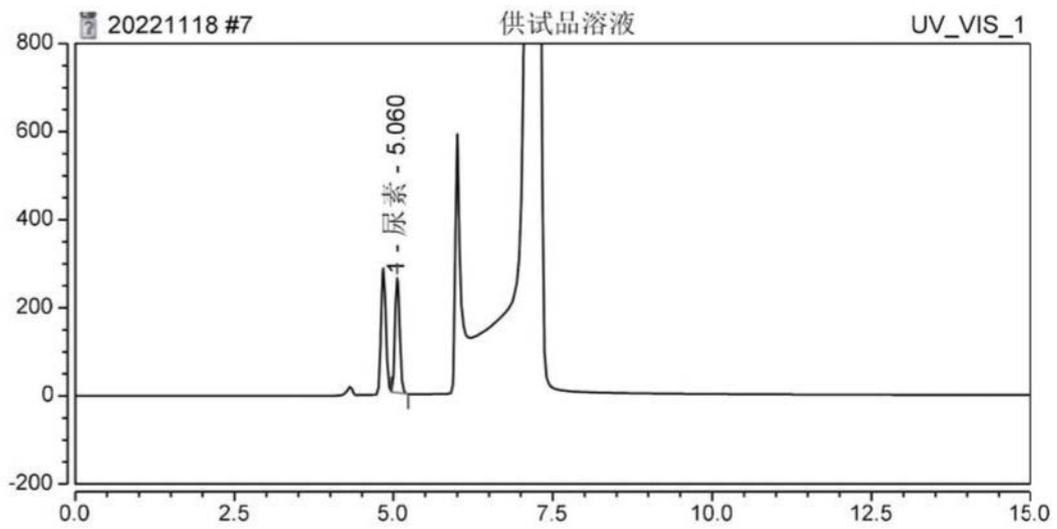


图4

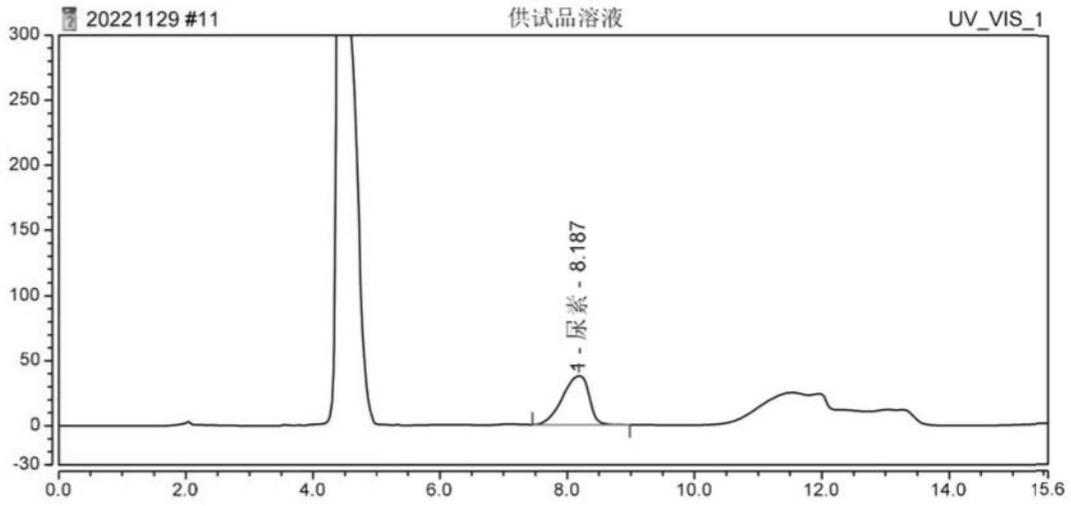


图5

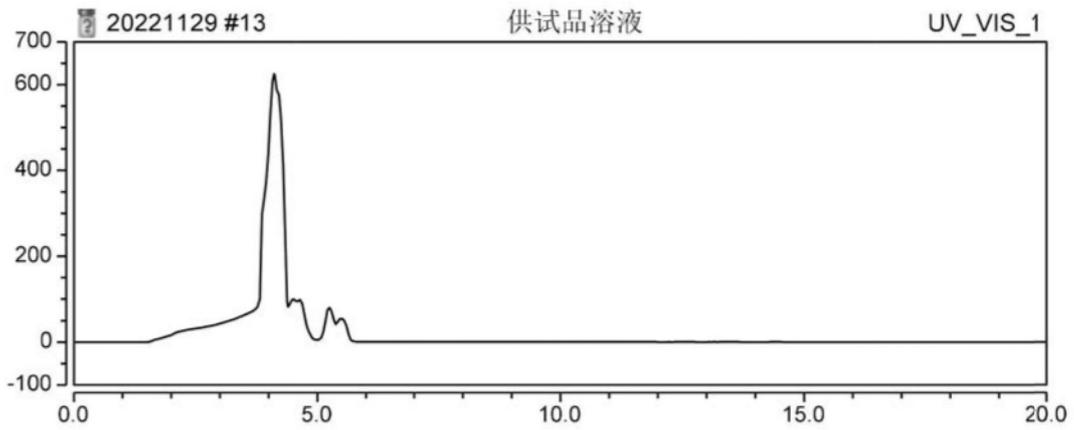


图6

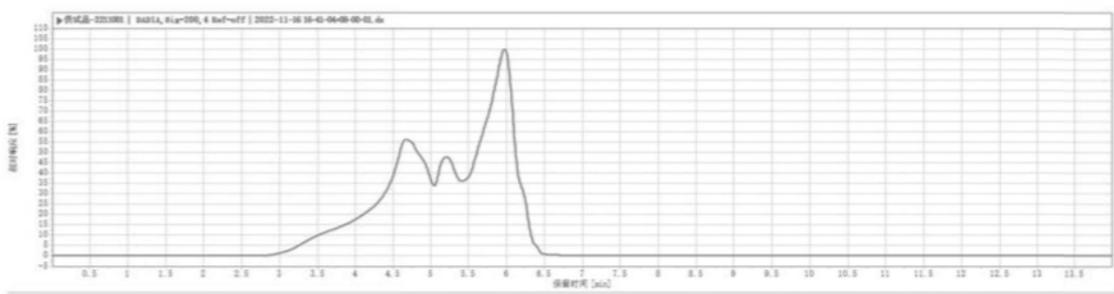


图7

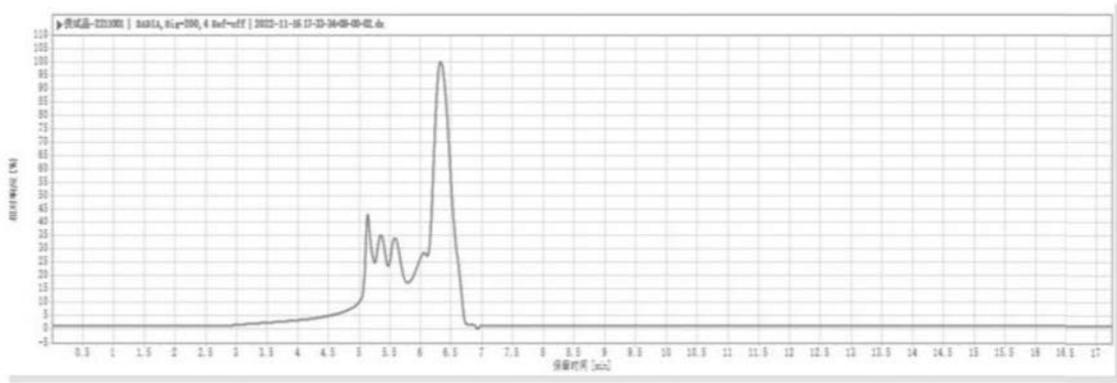


图8

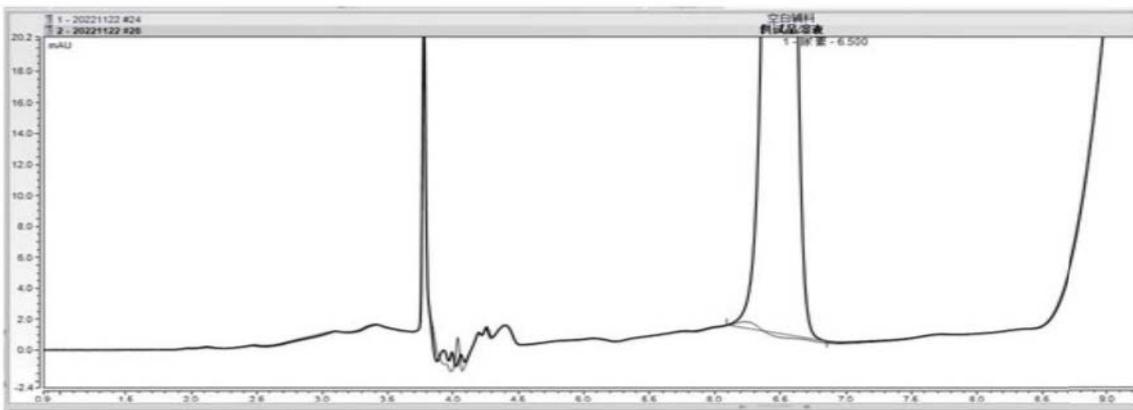


图9

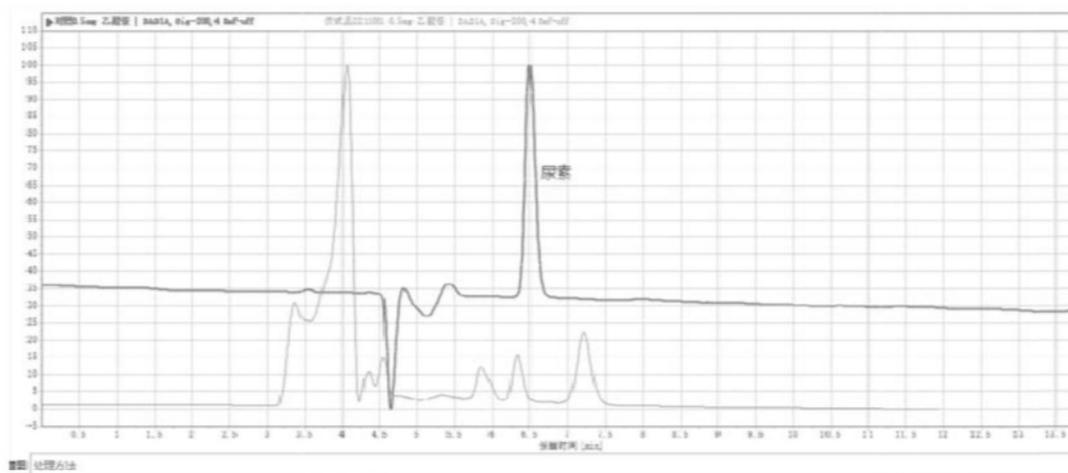


图10