



(10) 授权公告号 CN 115436541 B

(45) 授权公告日 2024. 04. 26

(21) 申请号 202211197871.8

CN 112656758 A, 2021.04.16

(22) 申请日 2022.09.29

CN 114705768 A, 2022.07.05

(65) 同一申请的已公布的文献号

US 2002119483 A1, 2002.08.29

申请公布号 CN 115436541 A

程慧玲. 水合氯醛栓剂的研制. 《中国优秀硕士学位论文全文数据库》. 2022, (第06期), B016-591.

(43) 申请公布日 2022.12.06

(73) 专利权人 成都施贝康生物医药科技有限公司

唐城等. 高效液相色谱法测定水合氯醛口服溶液含量. 《中国药品标准》. 2021, 第22卷(第2期), 第182-186页.

地址 611730 四川省成都市高新区天宇路2号26栋1单元1号

审查员 李颢

(72) 发明人 徐霞 张海 陆瑶

(51) Int. Cl.

G01N 30/06 (2006.01)

G01N 30/74 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 110161156 A, 2019.08.23

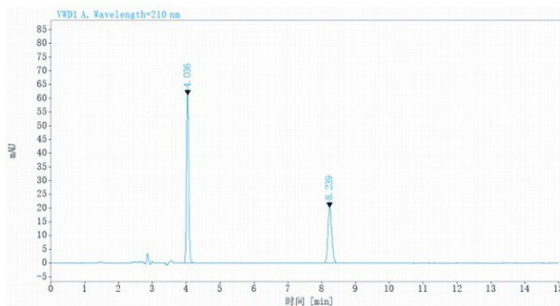
权利要求书1页 说明书8页 附图1页

(54) 发明名称

一种水合氯醛的含量检测方法

(57) 摘要

本发明涉及药物检测分析领域,具体涉及一种水合氯醛的含量检测方法。本发明的检测方法采用高效液相色谱法,采用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以偏酸性pH值的盐溶液和乙腈的混合溶液为流动相,紫外检测器,检测波长 $210 \pm 5\text{nm}$ 。本发明提供的检测方法专属性好、灵敏度和准确度高,适合用于水合氯醛及其制剂的药品注册质量研究。



1. 一种水合氯醛及苯甲酸钠的含量检测方法,采用高效液相色谱法,其特征在于,所述方法包括如下步骤:

精密称取水合氯醛制剂适量,用溶剂稀释制成供试品溶液;

将供试品溶液注入高效液相色谱仪中,按照色谱条件检测;

对照品溶液:取苯甲酸钠、水合氯醛对照品适量,加流动相溶解并稀释制成混合对照溶液;

将对照品溶液注入高效液相色谱仪,按照色谱条件检测;

所述色谱条件包括:用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,采用紫外检测器,以偏酸性pH值的盐溶液和乙腈的混合溶液为流动相,检测波长为 $210\text{nm} \pm 2\text{nm}$,柱温为 $10 \sim 40^\circ\text{C}$,流速为 $0.5 \sim 2.0\text{ml/min}$,进样量为 $5 \sim 20\mu\text{l}$;

所述盐溶液的盐选自磷酸二氢钾、磷酸二氢钠、磷酸二氢铵或醋酸铵;

所述盐溶液的pH值为 $5.0 \sim 7.0$;所述盐溶液的pH值采用pH调节剂,且所述pH调节剂选自碱性pH调节剂;所述pH调节剂选自氢氧化钠、氢氧化钾、氨水或三乙胺;

所述流动相中盐溶液和乙腈的体积比为 $(65 \sim 98) : (35 \sim 2)$;

所述制剂为包括水合氯醛或其盐与药学上可接受的辅料组成的药物组合物,所述药学上可接受的辅料包括苯甲酸钠。

2. 根据权利要求1所述的检测方法,其特征在于,所述溶剂包含流动相、水或乙腈。

3. 根据权利要求1所述的检测方法,其特征在于,所述盐溶液的浓度为 $5 \sim 100\text{mmol/L}$ 。

4. 根据权利要求1所述的检测方法,其特征在于,所述供试品的每 1ml 中含有水合氯醛 $0.1\text{mg} \sim 5\text{mg}$ 。

5. 根据权利要求4所述的检测方法,其特征在于,所述供试品的每 1ml 中含有水合氯醛 0.5mg 。

6. 根据权利要求1所述的检测方法,其特征在于,所述制剂包含糖浆、口服溶液、灌肠液、栓剂或待灌液。

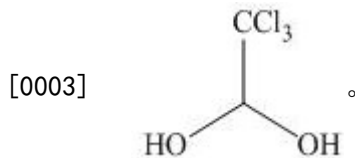
一种水合氯醛的含量检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及药物检测分析领域,具体涉及一种水合氯醛的含量检测方法。

背景技术

[0002] 水合氯醛,一款催眠和抗惊厥药,其化学名为:2,2,2-三氯-1,1-乙二醇,结构如下:



[0004] 水合氯醛易于在热、氧化、光照等条件下降解,性质不稳定,尤其是在水溶液中稳定性很差。目前国内外临床上水合氯醛多为其糖浆剂或者口服溶液,因产品中辅料的存在对水合氯醛的检测干扰很大,因此药典规定的滴定方法已无法保证水合氯醛检测结果的准确性,也即传统的滴定方法不再适用于水合氯醛的产品检测。此外,为了防止水合氯醛的降解,一般会在制剂中采用防腐剂等功能性辅料,如苯甲酸钠等;而公知,对于药品质量研究,功能性辅料的质量研究是产品质量研究不可缺少的部分;因此,相比于普通产品,使用了功能性辅料的水合氯醛产品的质量研究复杂性进一步加大。

[0005] 目前,关于水合氯醛的含量检测方法较少,尤其采用高效液相色谱法的报道极少。现有技术CN110161156A虽然公开了一种高效液相色谱法检测水合氯醛,但因其峰型较差等原因不适用。

[0006] 因此,能否开发更科学精准的高效液相色谱法,并一次性解决水合氯醛及其功能性辅料的质量研究,以减轻该品种质量研究负担,是目前该药品质量研究期待解决的技术问题。

发明内容

[0007] 为解决现有技术存在的技术问题,本发明提供一种水合氯醛含量的检测方法。该方法采用高效液相色谱法,能够一次性检测水合氯醛及其功能性辅料,且方法专属性好、峰型好、准确度和精密度高,为水合氯醛品种的质量研究提供高效便捷的方法。

[0008] 本发明提供一种水合氯醛含量的检测方法,所述检测方法采用高效液相色谱法,并包括如下步骤:

[0009] (1)精密称取水合氯醛或其制剂适量,用溶剂稀释制成供试品溶液;

[0010] (2)将供试品溶液注入高效液相色谱仪中,按照色谱条件检测。

[0011] 进一步地,上述色谱条件包括:用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,采用紫外检测器,以偏酸性pH值的盐溶液和乙腈的混合溶液为流动相,检测波长为 $210\text{nm} \pm 5\text{nm}$ 。

[0012] 进一步地,上述检测波长为 $210\text{nm} \pm 2\text{nm}$ 。

[0013] 进一步地,上述溶剂包含流动相、水或乙腈。

- [0014] 进一步地,上述盐溶液的盐包括磷酸二氢钾、磷酸二氢钠、磷酸二氢铵、醋酸铵、醋酸钠或醋酸钾。
- [0015] 进一步地,上述盐溶液的浓度为5~100mmol/L;优选为5~60mmol/L;更优选为20~45mmol/L。
- [0016] 进一步地,上述流动相中盐溶液和乙腈的体积比为(65~98):(35~2)。
- [0017] 优选地,上述流动相中盐溶液和乙腈的体积比为(75~95):(25~5);更优选地,上述流动相中盐溶液和乙腈的体积比为(80~90):(20~10)。
- [0018] 进一步地,上述盐溶液的pH值为5.0~7.0;优选为6.0。
- [0019] 进一步地,上述盐溶液的pH值采用pH调节剂,且所述pH调节剂选自碱性pH调节剂。
- [0020] 进一步地,上述pH调节剂包含碳酸氢钠、碳酸氢钾、碳酸钠、碳酸钾、氢氧化钠、氢氧化钾、碳酸氢三钠、氨水、三乙胺、柠檬酸钾、柠檬酸一钠或柠檬酸钠。
- [0021] 优选地,上述pH调节剂包含氢氧化钠、氢氧化钾、氨水或三乙胺。
- [0022] 进一步地,上述色谱条件的柱温为10℃~40℃;优选35℃。
- [0023] 进一步地,上述色谱条件的流速为0.5~2.0ml/min;优选1.0ml/min。
- [0024] 进一步地,上述色谱条件的进样量为5 μ l~20 μ l;优选10 μ l。
- [0025] 进一步地,上述供试品的每1ml中含有水合氯醛0.1~5mg;优选0.5mg。
- [0026] 进一步地,上述水合氯醛的制剂包括水合氯醛或其盐与药学上可接受的辅料组成的药物组合物;优选地,所述制剂包含糖浆剂、口服溶液、灌肠液、栓剂或待灌液。
- [0027] 有益效果:本发明的水合氯醛含量检测方法的峰型对称拖尾因子均小于1.2,各峰无杂质干扰,方法专属性好、灵敏度、准确度和精密度高,符合质量分析检测要求,适合本品的含量检测和质量研究。

附图说明

- [0028] 图1:混合对照溶液色谱图。

具体实施方式

[0029] 下面将结合试验例和实施例对本发明的方案进行解释。本领域技术人员将会理解,下面的各例仅用于说明本发明,而不应视为限定本发明的范围。各例中未注明的具体技术或条件的,按照本领域内的文献所描述的技术或条件或者按照产品说明书进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为通过市购获得的常规产品。

[0030] 以下试验例和实施例所用的水合氯醛对照品:购自LGC,纯度99.4%;供试品:水合氯醛糖浆,自制,批号:5201101;苯甲酸钠对照品:购自中国食品药品检定研究院,纯度99.7%。

[0031] 供试品(批号:5201101)处方及制备方法:参见专利CN 112656758 A实施例5的水合氯醛糖浆处方和制备方法(配液温度为25℃)。

[0032] 试验例1:水合氯醛含量检测方法的方法学考察

[0033] 1. 溶液配制和计算方法

[0034] 对照品溶液:取苯甲酸钠、水合氯醛对照品适量,加流动相溶解并稀释制成每1ml约含苯甲酸10 μ g、水合氯醛0.5mg的混合对照溶液。

[0035] 供试品溶液:取小儿水合氯醛糖浆适量,加流动相稀释并制成每1ml约含水合氯醛0.5mg的供试溶液。

[0036] 空白辅料溶液:按供试品溶液配制方法同法配制空白辅料溶液。

[0037] 测定法:精密量取各溶液,分别注入液相色谱仪中,记录色谱图。

[0038] 计算方法:按外标法以峰面积计算。

[0039] 2. 色谱条件

[0040] (1) 波长选择

[0041] 取水合氯醛适量,加水或乙腈溶解并稀释制成每1ml含水合氯醛0.5mg的溶液,照紫外-可见分光光度法(《中国药典》2020年版通则0401)在190nm~400nm波长内扫描,记录色谱图,检测结果见表1-1。

表 1-1 水合氯醛在不同溶剂下的紫外扫描结果

化合物	溶剂	最大吸收波长
[0042] 水合氯醛	水	190nm
水合氯醛	乙腈	190nm

[0043] 由上表及图谱可见,采用不同溶剂稀释的水合氯醛溶液均只有末端吸收;查阅文献可知,苯甲酸的最大吸收波长分别在245,220nm,为同时满足水合氯醛及苯甲酸分析,初步确定本品及苯甲酸的检测波长为210nm。

[0044] (2) 方法筛选

[0045] 根据水合氯醛、苯甲酸的结构及性质,我们进行了一系列的色谱条件筛选,其中较为典型的色谱条件见表1-2。

表 1-2 色谱条件筛选过程

条件	流动相	流动相比例	试验结果
条件 1	CN110161156A 实施例 1 色谱条件: 其中, 流动相为乙腈: 水=10: 90		水合氯醛峰型较差
条件 2	流动相 A: 水 (pH6.0) 流动相 B: 乙腈	A: B=85: 15	水合氯醛峰型差
[0046] 条件 3	流动相 A: 30mmol/L 磷酸二氢钾溶液 (磷酸调节 pH 为 3.8) 流动相 B: 乙腈	A: B=82: 18	水合氯醛峰型较差
条件 4	流动相 A: 30mmol/L 磷酸二氢钾溶液 (三乙胺调节 pH 为 6.0) 流动相 B: 乙腈	A: B=85: 15	分离度远大于 1.5, 水合氯醛、苯甲酸拖尾因子均小于 1.2。

[0047] 经过色谱条件筛选发现,水相中添加盐并调节pH值至6.0左右能显著改善峰型,如上述色谱条件4在能够保证水合氯醛与苯甲酸分离度的同时亦能保证色谱峰峰型。

[0048] 因此初步拟定的色谱条件如下:

[0049] 色谱柱:十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;

[0050] 流动相:30mmol/L磷酸二氢钾溶液(三乙胺调节pH为6.0)-乙腈(85:15);

[0051] 稀释剂:流动相;

[0052] 柱温:35℃;流速:1.0ml/min;UV检测器(检测波长210nm),进样体积:10 μ l。

[0053] (3)流动相中水相pH值的选择

[0054] 在上述初步拟定色谱条件基础上,在其他条件不变的情况下,选择四种流动相A的pH进行试验,pH1(4.0)、pH2(5.0)、pH3(7.0)、pH4(8.0),pH调节剂采用氢氧化钠、氨水、三乙胺中的任意一种。采用上述条件,分别进样检测上述各溶液,采集色谱图。

[0055] 结果说明:上述pH值条件下,水合氯醛和苯甲酸均能有效分离,但pH为4.0的条件下水合氯醛峰型依然不好,而pH为8.0的条件下水合氯醛的峰型也较差。因此,可以初步确定本色谱条件下的流动相中水相pH值的选择是影响峰型的关键,其中pH值为5.0~7.0改善峰型效果显著。

[0056] (4)流动相水相的选择

[0057] 在上述初步拟定色谱条件基础上,在其他条件不变的情况下,在水相中添加不同的盐,如磷酸二氢钾、磷酸二氢钠、磷酸二氢铵、醋酸铵、醋酸钠或醋酸钾等,分别进样检测上述各溶液,采集色谱图。

[0058] 结果说明:上述不同盐的色谱条件下,苯甲酸和水合氯醛均能有效分离,拖尾因子均小于1.2,各峰峰型好。证明水相中使用盐的种类对检测结果无影响。

[0059] (5)柱温的选择

[0060] 在上述初步拟定色谱条件基础上,在其他条件不变的情况下,选择四种色谱柱温度进行试验,柱温1(10℃)、柱温2(20℃)、柱温3(30℃)、柱温4(40℃)。采用上述四种条件,分别进样检测上述各溶液,采集色谱图。

[0061] 结果说明:四种柱温条件下,苯甲酸和水合氯醛均能有效分离,拖尾因子均小于1.2,各峰峰型好。表明柱温对测定结果无影响。

[0062] (6)流速的选择

[0063] 在上述初步拟定色谱条件基础上,在其他条件不变的情况下,选择三种色谱流速进行试验,流速1(0.5ml/min)、流速2(1.0ml/min)、流速3(2.0ml/min)。采用上述三种条件,分别进样检测上述各溶液,采集色谱图。

[0064] 结果说明:三种流速条件下,苯甲酸和水合氯醛均能有效分离,拖尾因子均小于1.2,各峰峰型好。表明流速对有关物质测定结果无影响。

[0065] 试验例2:方法验证

[0066] 本试验下所用溶液及其配制同试验例1,色谱条件同试验例1初步拟定的色谱条件。

[0067] 1. 专属性

[0068] 取各溶液在拟定的色谱条件下检测,试验结果见表2-1,混合对照溶液的谱图见图1。

表 2-1 专属性试验结果

[0069] 化合物	混合对照溶液		供试溶液		空白辅料溶液	
	保留时间 min	分离度	保留时间 min	分离度	保留时间 min	是否存在干扰
苯甲酸钠	4.036	-	4.027	-	-	否
水合氯醛	8.239	26.56	8.238	26.46	-	否

[0070] 试验结果表明:在拟定的色谱条件下,溶剂与空白辅料均不干扰水合氯醛及苯甲酸的测定,苯甲酸钠与水合氯醛之间的分离度大于2.0,方法专属性良好。

[0071] 2.线性

[0072] 取苯甲酸钠、水合氯醛对照品适量,精密称定,用流动相溶解并稀释制成一系列不同浓度的溶液,精密量取上述各溶液10 μ l,注入液相色谱仪,记录各浓度的苯甲酸及水合氯醛的峰面积,以浓度为横坐标、待测物的峰面积为纵坐标作线性回归,结果见表2-2。

表 2-2 苯甲酸与水合氯醛线性试验结果

成分名称	浓度(μ g/ml)	峰面积	线性方程	相关系数
苯甲酸	4.3463	135.311	$y = 30.1377 x + 3.1564$	1
	8.6926	263.351		
	10.4311	318.503		
	13.0388	395.177		
	21.7314	658.662		

水合氯醛	251.9790	78.204	$y = 0.3032 x + 1.8971$	1
	503.9580	154.814		
	604.7496	185.535		
	856.7286	261.261		
	1007.9160	307.752		

[0074] 结果表明苯甲酸浓度在4.3463 μ g/ml ~ 21.7314 μ g/ml范围内,水合氯醛浓度在251.9790 ~ 1007.9160 μ g/ml范围内,与峰面积呈良好的线性关系。

[0075] 3.进样精密度

[0076] 取“线性”项下线性溶液3,连续进样6次,记录色谱图,考察进样精密度,其结果见表2-3。

表 2-3 进样精密度试验结果

名称	峰面积						平均	RSD
	1	2	3	4	5	6		
苯甲酸	267.353	264.644	265.424	265.664	265.947	265.715	265.791	0.3%
水合氯醛	154.304	153.398	153.007	153.872	155.236	154.960	154.130	0.6%

[0078] 以上结果显示,连续进样6次,苯甲酸及水合氯醛的峰面积RSD值均小于2.0%,精密度符合药典要求。

[0079] 4.溶液稳定性

[0080] 将本品测定苯甲酸钠与水合氯醛混合对照品溶液在室温条件下放置一定时间,精密量取对照品溶液10 μ l,注入液相色谱仪,记录色谱图。试验结果见表2-4。

表 2-4 对照品溶液稳定性试验结果

室温放置时间 (h)	峰面积	
	苯甲酸钠	水合氯醛
0	264.752	153.662
[0081] 1	264.990	153.443
4	267.353	154.304
9.5	264.563	154.970
26	264.158	151.977
平均峰面积	265.163	153.671
RSD (%)	0.5%	0.7%

[0082] 由上表可知,对照品溶液在室温条件下考察26h,苯甲酸及水合氯醛峰面积无明显变化,RSD<2%,表明溶液在26h内稳定,满足日常检测需要。

[0083] 5.重复性

[0084] 平行制备6份供试品溶液,照拟定的色谱条件检测供试品溶液含量,按外标法以峰面积计算。结果见表2-5。

表 2-5 重复性试验结果

名称	含量						平均	RSD
	1	2	3	4	5	6		
[0085] 苯甲酸	0.15%	0.16%	0.15%	0.15%	0.15%	0.15%	0.15%	1.4%
水合氯醛	99.19%	102.88%	100.09%	99.44%	100.12%	100.57%	100.38%	1.3%

[0086] 由实验结果可知,6份样品测定,苯甲酸平均含量为0.15%,6份样品RSD值为1.4%;水合氯醛平均含量为100.38%,6份样品RSD值为1.3%,表明该方法重复性好。

[0087] 6.准确度

[0088] 为了验证含量及苯甲酸检测方法的准确性,采用了空白辅料加样回收的方式进行考察。

[0089] 取空白辅料适量,按拟定方法制备供试品溶液,在供试品溶液中分别加入限度浓度80%、100%、120%的苯甲酸钠及水合氯醛后进样测定,计算回收率。试验结果见表2-6和表2-7。

表 2-6 苯甲酸回收率试验结果

待测物	样品	原有量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率 (%)	RSD (%)
[0090] 苯甲酸	80%样 1	0	0.3477	0.3444	99.05%	99.1	0.6
	80%样 2	0	0.3477	0.3457	99.42%		
	80%样 3	0	0.3477	0.3429	98.61%		
	100%样 1	0	0.4346	0.4325	99.51%		
	100%样 2	0	0.4346	0.4325	99.51%		
	100%样 3	0	0.4346	0.4347	100.01%		
	120%样 1	0	0.5216	0.5126	98.28%		
	120%样 2	0	0.5216	0.5145	98.65%		
	120%样 3	0	0.5216	0.5145	98.65%		

表 2-7 水合氯醛回收率试验结果

待测物	样品	原有量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率 (%)	RSD (%)
[0091] 水合氯 醛	80%样 1	0	20.1600	20.2050	100.22%	99.8	0.7
	80%样 2	0	21.6200	21.6054	99.93%		
	80%样 3	0	20.0800	19.9527	99.37%		
	100%样 1	0	26.1500	26.0336	99.55%		
	100%样 2	0	26.9100	27.1780	101.00%		
	100%样 3	0	25.5200	25.7214	100.79%		
	120%样 1	0	30.2300	30.0012	99.24%		
	120%样 2	0	30.6000	30.3892	99.31%		
	120%样 3	0	31.3200	31.0534	99.15%		

[0092] 由上表可知,苯甲酸回收率在98.28%~100.01%之间;水合氯醛回收率在99.15%~101.00%之间,且各已知杂质与主成分回收率RSD均小于2%,说明拟定的检测方法准确度良好。

[0093] 7.耐用性

[0094] 为了验证拟定的液相条件发生微小变动时,测定结果的准确性不受影响的程度,对拟定色谱条件的耐用性进行了考察。

[0095] 取上述各溶液,按拟定色谱条件进行测定。

[0096] 试验结果表明,当检测波长、流速、柱温、色谱柱、流动相发生微小变动时,如检测波长变化 $\pm 2\text{nm}$ 、流速变化 $\pm 0.2\text{ml/min}$ 、柱温变化 $\pm 5^\circ\text{C}$ 、变换不同型号色谱柱(填料不变)、流动性A的pH值变化 ± 1 、流动相A的比例变化 ± 5 ,在各条件下,水合氯醛和苯甲酸的检测结果无显著差异,且溶剂和辅料不干扰样品中水合氯醛和苯甲酸的测定。

[0097] 实施例:

[0098] 实施例1~8的色谱条件见表3-1。

表 3-1 实施例 1~8 的色谱条件

实施例	相对实验例 2 变化条件	其它条件
实施例 1	流动相采用氨水调节 pH 至 5.0	同实验例 2 色谱条件
实施例 2	流动相采用氢氧化钠调节 pH 值至 7.0	同实验例 2 色谱条件
实施例 3	流动相中的盐为 5mmol/L 磷酸二氢钾	同实验例 2 色谱条件
实施例 4	流动相中的盐为 100mmol/L 磷酸二氢钾	同实验例 2 色谱条件
实施例 5	流动相中水相与乙腈的比例为 65:35	同实验例 2 色谱条件
实施例 6	流动相中水相与乙腈的比例为 98:2	同实验例 2 色谱条件
实施例 7	流动相中水相与乙腈的比例为 75:25	同实验例 2 色谱条件
实施例 8	流动相中的盐为 30mmol/L 醋酸铵	同实验例 2 色谱条件

[0100] 测定:将各溶液注入各色谱系统,采集色谱图。

[0101] 数据统计和总结:汇总试验例2“专属性项下”和上述实施例1~8的色谱图,统计峰面积、保留时间和分离度,结果显示:(1)各对照品溶液色谱图中:各峰的峰型好,各水合氯醛峰、苯甲酸峰、溶剂峰以及其它杂质峰等之间的分离度均在2.0以上,均大于1.5,各峰之间分离度较好,各方法专属性好,符合质量分析要求。(2)各供试品溶液色谱图中:各水合氯醛和苯甲酸峰,按外标法以峰面积计算,水合氯醛和苯甲酸的含量与试验例2的差值均在0.1%以内,表明各实施例的测定方法准确度高、重现性良好。

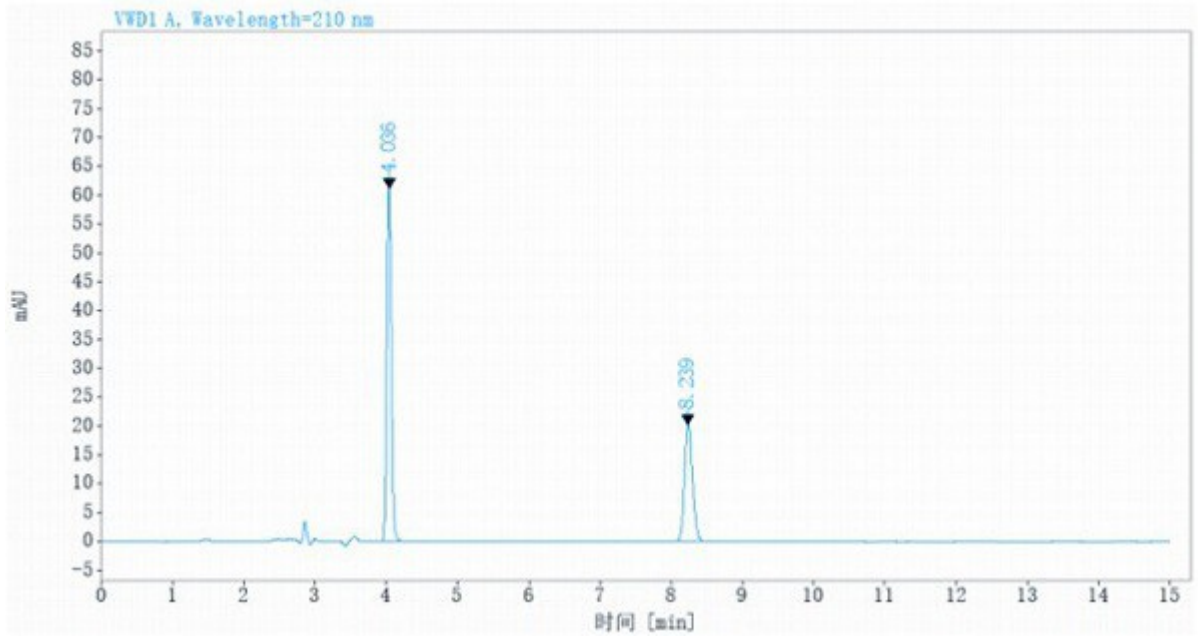


图1