

# HPLC法测定左卡尼汀注射液中有关物质2(5H)-呋喃酮的含量

李沫\*,于明,李尚颖,蒋丹丹,刘美辰,孙苓苓\*(辽宁省药品检验检测院,沈阳 110036)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)36-5162-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.36.39

**摘要** 目的:建立测定左卡尼汀注射液中有关物质2(5H)-呋喃酮含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为APS-2 Hypersil,流动相为0.05 mol/L磷酸盐缓冲液(pH4.7)-乙腈(35:65, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为205 nm,柱温为30 ℃,进样量为20 μl。结果:2(5H)-呋喃酮检测质量浓度线性范围为0.001 974~0.987 mg/ml( $r=0.999\ 9$ );定量限为4.0 ng,检测限为1.2 ng;精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2%;加样回收率为97.04%~103.36%(RSD=0.24%, $n=9$ )。结论:该方法简便、灵敏度高、重复性好,适用于左卡尼汀注射液中有关物质2(5H)-呋喃酮的含量测定。

**关键词** 左卡尼汀注射液;有关物质;2(5H)-呋喃酮;高效液相色谱法

## Determination of the Related Substance in Levocarnitine Injection

LI Mo, YU Ming, LI Shangying, JIANG Dandan, LIU Meichen, SUN Lingling (Liaoning Institute for Drug Control, Shenyang 110036, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the determination of 2(5H)-Furanone in Levocarnitine injection. METHODS: HPLC was performed on the column of APS-2 HYPERSIL with mobile phase of 0.05 mol/L potassium dihydrogen phosphate buffer solution (pH4.7)-acetonitrile (35:65, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 205 nm, column temperature was 30 ℃, and injection volume was 20 μl. RESULTS: The linear range of 2(5H)-Furanone was 0.001 974-0.987 mg/ml; the limit of quantitation was 4.0 ng, the limit of detection was 1.2 ng; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recovery was 97.04%-103.36% (RSD=0.24%, $n=9$ ). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate, sensitive and reproducible, and suitable for the content determination of 2(5H)-Furanone in Levocarnitine injection.

**KEYWORDS** Levocarnitine injection; Related substance; 2(5H)-Furanone; HPLC

左卡尼汀是哺乳动物能量代谢所必需的天然物质,其注射液临床上主要用于左卡尼汀缺乏引起的脂肪代谢紊乱<sup>[1]</sup>。经查询,全国共有10家左卡尼汀注射液生产企业,产品规格均为5 ml:1 g;左卡尼汀注射液在《中国药典》中没有收载,现行标准共有5个,其中1个为部颁标准,4个为企业的注册标准,而现行标准中均没有对有关物质2(5H)-呋喃酮作相关要求。因此,笔者在参考《欧洲药典》8.0版<sup>[2]</sup>中左卡尼汀原料药有关物质检测方法及其他参考文献<sup>[3-5]</sup>的基础上,采用高效液相色谱法(HPLC)建立了测定左卡尼汀注射液中有关物质2(5H)-呋喃酮含量的方法,以期控制该制剂的质量提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

e2695型HPLC仪,包括2489型紫外检测器和2998型二极阵列检测器(美国Waters公司);XP205型百万分之一电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);Orion 3-Star型酸度计(美国Thermo Fisher公司)。

### 1.2 药品与试剂

左卡尼汀注射液(国内A、B、C、D 4家企业的62批样品);左卡尼汀对照品(中国食品药品检定研究院,批号:101041-201302,纯度:99.9%);2(5H)-呋喃酮对照品(美国

Alfa Aesar公司,批号:10172668,纯度:98%);乙腈(色谱纯,美国Tedia公司);其他试剂均为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:APS-2 Hypersil(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.05 mol/L磷酸盐缓冲液(pH4.7)-乙腈(35:65, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:205 nm;柱温:30 ℃;进样量:20 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取2(5H)-呋喃酮对照品10.11 mg,置于200 ml量瓶中,用流动相溶解并定容,摇匀,得质量浓度为0.05 mg/ml的对照品贮备液。精密量取上述贮备液5 ml,置于50 ml量瓶中,用流动相定容,摇匀,即得质量浓度为5 μg/ml的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密量取样品5 ml,置于100 ml量瓶中,用流动相定容,摇匀,即得质量浓度为10 mg/ml的供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液 按样品的处方比例及制备工艺制备不含左卡尼汀的阴性样品,并按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液。

### 2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。由图1可知,在该色谱条件下,各成分均能达到基线分离,各相邻成分峰的分离度>1.5;理论板数以左卡尼汀峰计≥3 000。结果表明,其他成分对测定无干扰。

\* 主管药师,硕士。研究方向:化学药品质量标准。电话:024-31266303。E-mail:lemonbz@163.com

# 通信作者:主任药师,博士。研究方向:药品标准。电话:024-31266505。E-mail:sunll@vip.163.com

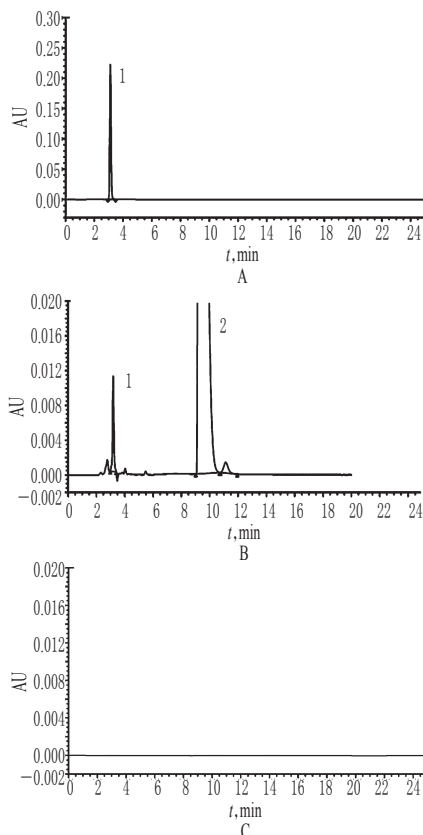


图1 系统适用性试验高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 2(5H)-呋喃酮; 2. 左卡尼汀

### Fig 1 HPLC chromatograms of system suitability test

A. reference substance; B. test sample; C. negative control; 1. 2(5H)-Furanone; 2. levocarnitine

## 2.4 破坏性试验

按如下方法制备各破坏溶液: (1)光破坏溶液。取样品适量,在照度为4 500 lx的条件下照射5 h,精密量取2.5 ml,置于50 ml量瓶中,用流动相定容,摇匀,即得。(2)高温破坏溶液。取样品适量,置于烘箱中,于121 ℃加热30 min,精密量取2.5 ml,置于50 ml量瓶中,用流动相定容,摇匀,即得。(3)酸破坏溶液。精密量取样品2.5 ml,置于50 ml量瓶中,加2 mol/L 盐酸溶液1 ml,于60 ℃水浴中加热15 min后放冷至室温,用2 mol/L 氢氧化钠溶液调节至中性,用流动相定容,摇匀,即得。(4)碱破坏溶液。精密量取样品2.5 ml,置于50 ml量瓶中,加2 mol/L 氢氧化钠溶液1 ml,于60 ℃水浴中加热15 min后放冷至室温,用2 mol/L 盐酸溶液调节至中性,用流动相定容,摇匀,即得。(5)氧化破坏溶液。精密量取样品2.5 ml,置于50 ml量瓶中,加30%过氧化氢溶液0.5 ml,于60 ℃水浴中加热15 min后放冷至室温,用流动相定容,摇匀,即得。取上述溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图2。由图2可知,样品在光破坏条件下较稳定,2(5H)有关物质-呋喃酮的含量只有少量增加;经高温、酸、碱、氧化破坏后,2(5H)-呋喃酮的含量增加较为明显。根据文献[6]报道,左卡尼汀溶液在pH2~8、温度110~130 ℃的条件下能产生2(5H)-呋喃酮,结合破坏性试验结果亦可见,样品在碱性和高温条件下有关物质2(5H)-呋喃酮增加最明显。

## 2.5 线性关系考察

分别精密称取左卡尼汀对照品和2(5H)-呋喃酮对照品适量,用流动相溶解并稀释制成质量浓度均为2 mg/ml的混合对

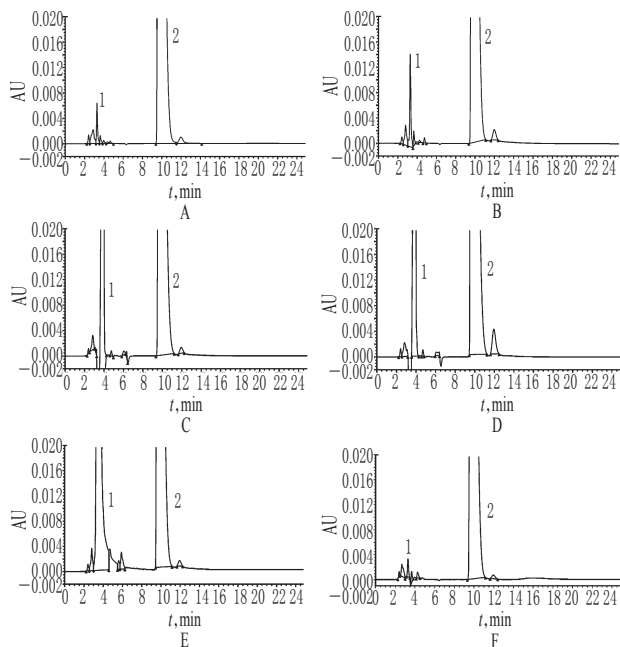


图2 破坏性试验高效液相色谱图

A.光破坏;B.高温破坏;C.酸破坏;D.碱破坏;E.氧化破坏;F.未破坏;1. 2(5H)-呋喃酮;2.左卡尼汀

### Fig 2 HPLC chromatograms of destructive test

A. destroyed by light; B. destroyed by temperature; C. destroyed by acid; D. destroyed by alkali; E. destroyed by oxidant; F. not destroyed; 1. 2(5H)-Furanone; 2. levocarnitine

照品贮备液。取上述贮备液适量,用流动相稀释制成质量浓度分别为0.002、0.01、0.05、0.2、1 mg/ml的系列混合对照品溶液。分别精密量取上述溶液各20 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以2(5H)-呋喃酮质量浓度(x, mg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=130\ 400.843\ 1x+1\ 768.424\ 3$ ( $r=0.999\ 9$ )。结果表明,2(5H)-呋喃酮检测质量浓度线性范围为0.001 974~0.987 mg/ml。

## 2.6 定量限与检测限考察

精密量取“2.5”项下质量浓度为2 mg/ml的混合对照品贮备液适量,等倍逐步稀释,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。当信噪比为10:1时,得定量限为4.0 ng;当信噪比为3:1时,得检测限为1.2 ng。

## 2.7 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,2(5H)-呋喃酮峰面积的RSD=0.16%( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

## 2.8 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:21405260)适量,于室温下放置0、4、8、12、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,2(5H)-呋喃酮峰面积的RSD=0.73%( $n=5$ ),表明供试品溶液在室温下放置24 h稳定性良好。

## 2.9 重复性试验

取同一批样品(批号:21405260)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。结果,2(5H)-呋喃酮的平均含量为0.003%,RSD=1.94%( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

## 2.10 加样回收率试验

精密量取已知含量的样品(批号:21405260)5 ml,置于10 ml量瓶中,用流动相定容,摇匀,作为供试品贮备液。精密量

取供试品贮备液5 ml,共9份,分别置于50 ml量瓶中,分别精密加入低、中、高质量的2(5H)-呋喃酮对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery test(n=9)

取样量, ml	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
5	0.015 0	0.040 4	0.056 2	101.98		
5	0.015 0	0.040 4	0.056 3	102.22		
5	0.015 0	0.040 4	0.055 4	100.00		
5	0.015 0	0.050 6	0.064 1	97.04		
5	0.015 0	0.050 6	0.067 3	103.36	100.52	0.24
5	0.015 0	0.050 6	0.066 7	102.17		
5	0.015 0	0.060 7	0.076 5	101.32		
5	0.015 0	0.060 7	0.074 1	97.36		
5	0.015 0	0.060 7	0.075 2	99.18		

### 2.11 样品有关物质测定

取62批样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算2(5H)-呋喃酮的含量,结果见表2。

表2 样品有关物质测定结果(n=3, %)

Tab 2 Results of related substance in samples(n=3, %)

序号	生产企业	样品批号	2(5H)-呋喃酮		其他杂质总和
			自身对照法	外标法	
1	A	21405030	0.52	0.003	0.10
2	A	21405260	0.52	0.003	0.09
3	A	21405210	0.72	0.004	0.12
4	A	21405020	0.54	0.003	0.10
5	A	21405210	0.71	0.004	0.12
6	A	21404241	0.49	0.003	0.10
7	A	21405220	0.73	0.004	0.12
8	A	21405270	0.72	0.004	0.12
9	A	21404181	0.55	0.003	0.10
10	A	21404251	0.67	0.004	0.11
11	A	21404252	0.63	0.004	0.11
12	A	21405030	0.64	0.004	0.11
13	A	21404251	0.57	0.003	0.10
14	A	21406030	0.69	0.004	0.12
15	A	21404241	0.58	0.003	0.11
16	A	21406030	0.70	0.004	0.12
17	A	21405310	0.63	0.004	0.11
18	A	21405220	0.73	0.005	0.11
19	A	21404082	0.43	0.003	0.09
20	A	21404252	0.63	0.004	0.10
21	A	21404242	0.62	0.004	0.10
22	A	21405260	0.56	0.004	0.09
23	A	21405200	0.75	0.005	0.12
24	A	21405240	0.43	0.003	0.09
25	A	21404251	0.60	0.004	0.10
26	A	21403270	0.49	0.003	0.09
27	A	21405310	0.68	0.004	0.11
28	A	21404241	0.52	0.003	0.10
29	A	21405020	0.57	0.004	0.10
30	A	21405200	0.71	0.004	0.12
31	A	21404241	0.53	0.003	0.10
32	A	21404251	0.62	0.004	0.10
33	A	21405260	0.53	0.003	0.09
34	A	21405270	0.75	0.005	0.11
35	B	8150205-1	0.40	0.002	0.08

续表2

Continued tab 2

序号	生产企业	样品批号	2(5H)-呋喃酮		其他杂质总和
			自身对照法	外标法	
36	B	8141109-3	0.45	0.003	0.09
37	B	8150220-2	0.36	0.002	0.07
38	B	8141112-3	0.51	0.003	0.10
39	B	8150122-1	0.34	0.002	0.07
40	B	8150234-3	0.37	0.002	0.07
41	B	8140615-2	0.33	0.002	0.07
42	B	8141217-3	0.39	0.002	0.08
43	B	8150111-2	0.32	0.002	0.06
44	B	8150211-1	0.34	0.002	0.07
45	B	8141005-1	0.31	0.002	0.07
46	B	8150410	0.22	0.001	0.07
47	B	8150108-1	0.37	0.002	0.08
48	B	8140903-3	0.31	0.002	0.08
49	B	8150225-3	0.33	0.002	0.06
50	B	8150228-3	0.35	0.002	0.06
51	B	8150705	0.29	0.002	0.06
52	B	8150706	0.25	0.002	0.05
53	B	8150313-1	0.26	0.002	0.06
54	B	8150204-3	0.32	0.002	0.07
55	B	8141201-1	0.37	0.002	0.07
56	B	8150506	0.25	0.003	0.05
57	B	8150415	0.23	0.003	0.05
58	B	8150527	0.34	0.002	0.06
59	C	150122	0.25	0.001	0.05
60	C	150121	0.19	0.001	0.03
61	D	ZB20150601	0.31	0.002	0.05
62	D	ZB20150605	0.32	0.002	0.05

### 3 讨论

在样品质量评价过程中,笔者曾采用国家药品标准中左卡尼汀注射液的含量测定条件<sup>[7]</sup>(C<sub>18</sub>柱、225 nm检测波长)测定其有关物质并与本试验中的色谱条件进行比较。结果,在色谱柱的选择方面,由于左卡尼汀极性较大,在C<sub>18</sub>柱上保留时间较短,色谱峰拖尾严重,与有关物质不能得到有效分离,而采用APS-2 Hypersil柱时,左卡尼汀与有关物质均能达到有效分离,因此本试验采用APS-2 Hypersil柱进行分析;在检测波长的选择方面,笔者采用二极管阵列检测器在190~400 nm波长范围内进行扫描,发现左卡尼汀及其主要有关物质均在紫外末端处有最大吸收,干扰测定,而在205 nm波长下进行检测各色谱峰分离度均较好,因此本试验选择205 nm作为检测波长。

本试验采用外标法与自身对照法分别计算了样品中2(5H)-呋喃酮的含量,由“2.11”项结果可知两种计算方法所得含量结果的差异较大。这是因为在本试验的色谱条件下,2(5H)-呋喃酮与左卡尼汀的响应值相差154倍,若采用自身对照法计算会放大2(5H)-呋喃酮的真实含量,因此建议在采用本检测方法时,用外标法进行含量计算。

综上所述,本方法简便、灵敏度高、重复性好,适用于左卡尼汀注射液中有关系物质2(5H)-呋喃酮的含量测定。

### 参考文献

- [1] 刘孟娟,周陈西.左卡尼汀的临床应用进展[J].中国药师,2011,14(1):127.
- [2] Council of Europe Strasbourg. *European Pharmacopoeia*: 8.0 [S]. 2013: 2 607-2 608.
- [3] 李红英.左卡尼汀注射液的质量评价[J].北方药学,2014,



# 华中五味子不同部位中10种金属元素的含量测定

方振峰\*, 刘欣, 张丽, 张涛(江汉大学医学院药理学系, 武汉 430056)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)36-5165-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.36.40

**摘要** 目的: 建立华中五味子不同部位中10种金属元素含量的测定方法。方法: 采用氢化物-原子吸收光谱法(HG-AAS)测定药材中砷(As)、铅(Pb)、汞(Hg)的含量; 采用火焰原子吸收光谱法(FAAS)测定药材中镉(Cd)、铜(Cu)、锰(Mn)、锌(Zn)、铁(Fe)、镁(Mg)、钙(Ca)的含量。结果: As、Pb、Hg、Cd、Cu、Mn、Zn、Fe、Mg、Ca检测质量浓度线性范围分别为0.000 12~0.015  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.999\ 8$ )、0.000 10~0.002 5  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.999\ 4$ )、0.000 068~0.005  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.999\ 3$ )、0.000 28~0.040  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.998\ 7$ )、0.009 8~2.0  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.999\ 8$ )、0.009 6~10.0  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.999\ 6$ )、0.002 4~5.0  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.999\ 8$ )、0.098 7~5.0  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.999\ 5$ )、0.001 8~1.5  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.999\ 6$ )、0.035 8~20.0  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.999\ 7$ ); 精密度、稳定性、重复性试验的RSD $\leq 5.4\%$ ; 加样回收率在92.5%~107.9%范围内, RSD $\leq 5.1\%$  ( $n=9$ )。结论: 该方法操作简便、灵敏、准确, 可用于华中五味子不同部位中10种金属元素的含量测定。华中五味子藤茎中Cu、Mn、Zn、Ca含量均高于果实; 样品中亦检出微量As、Pb、Hg、Cd, 但均未超标。

**关键词** 氢化物-原子吸收光谱法; 火焰原子吸收光谱法; 华中五味子; 金属元素

## Contents Determination of 10 Kinds of Inorganic Elements in Different Parts of *Schisandra sphenanthera*

FANG Zhenfeng, LIU Xin, ZHANG Li, ZHANG Tao (Dept. of Pharmacy, School of Medicine, Jiangnan University, Wuhan 430056, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for contents determination 10 kinds of inorganic elements in different parts of *Schisandra sphenanthera*. METHODS: Hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS) was used to determine the contents of As, Pb and Hg; flame atomic absorption spectrometry (FAAS) was used to determine the contents of Cd, Cu, Mn, Zn, Fe, Mg and Ca. RESULTS: The linear range was 0.000 12-0.015  $\mu\text{g/ml}$  for As ( $r=0.999\ 8$ ), 0.000 10-0.002 5  $\mu\text{g/ml}$  for Pb ( $r=0.999\ 4$ ), 0.000 068-0.005  $\mu\text{g/ml}$  for Hg ( $r=0.999\ 3$ ), 0.000 28-0.040  $\mu\text{g/ml}$  for Cd ( $r=0.998\ 7$ ), 0.009 8-2.0  $\mu\text{g/ml}$  for Cu ( $r=0.999\ 8$ ), 0.009 6-10.0  $\mu\text{g/ml}$  for Mn ( $r=0.999\ 6$ ), 0.002 4-5.0  $\mu\text{g/ml}$  for Zn ( $r=0.999\ 8$ ), 0.098 7-5.0  $\mu\text{g/ml}$  for Fe ( $r=0.999\ 5$ ), 0.001 8-1.5  $\mu\text{g/ml}$  for Mg ( $r=0.999\ 6$ ) and 0.035 8-20.0  $\mu\text{g/ml}$  for Ca ( $r=0.999\ 7$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were no higher than 5.4%; recovery was 92.5%-107.9% (RSD $\leq 5.1\%$ ,  $n=9$ ). CONCLUSIONS: The method is simple, sensitive, accurate, and can be used for the contents determination 10 kinds of inorganic elements in different parts of *S. sphenanthera*. The contents of Cu, Mn, Zn, Ca in vine and stem are higher than that in the fruits; As, Pb, Hg and Cd are also detected in sample, but the detected contents are all in the limit of the standard.

**KEYWORDS** HG-AAS; FAAS; *Schisandra sphenanthera*; Inorganic elements

金属元素尽管在人体内含量极少, 但其在人体内的作用已逐渐引起了医学界和营养学界的重视。微量金属元素通过与蛋白质和其他有机分子结合形成了酶、激素、维生素等生物大分子, 发挥着重要的生理生化功能, 对维持人体中的一些决定性的新陈代谢是十分必要的, 一旦含量降低, 人体就会出现疾病, 甚至危及生命<sup>[1-2]</sup>。中药中含有丰富的微量金属元素, 随着现代分析技术的发展, 人们开始认识到中药中的金属元素与其药效之间存在着一种必然的联系<sup>[3-5]</sup>。

华中五味子 *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils. 为木兰科五味子属植物, 具有收敛固涩、益气生津、补肾宁心等功效,

常用于治疗梦遗滑精、久嗽虚喘、遗尿尿频、久泻不止、盗汗、自汗、津伤口渴、短气脉虚、心悸失眠、内热消渴等证<sup>[6]</sup>。现代药理研究表明, 五味子具有明显的抗肝脏损伤、抗氧化作用<sup>[7]</sup>。华中五味子常以果实入药, 其藤茎一般丢弃不用, 造成大量浪费。目前, 对华中五味子果实及藤茎中金属元素的研究鲜有文献报道。故笔者采用原子吸收光谱法对华中五味子不同部位中10种金属元素的含量进行测定, 以期从微量金属元素角度考察其临床入药部位(果实)与非入药部位(藤茎)的差异, 从而为深入开发利用该传统中药材提供参考依据。

### 1 材料

11(12):17.

[4] 王丽君, 王静, 王一奇. 左卡尼汀注射液的制备及质量控制[J]. 药物研究, 2013, 30(5):269.

[5] 闵翠娥, 陆媛, 江少仪, 等. HPLC法测定左卡尼汀注射液含量及有关物质[J]. 广东药学院学报, 2009, 25(6):588.

[6] 毛超旭, 汪朝阳, 谭越河, 等. 金属催化的2(5H)-咪唑酮反应研究进展[J]. 有机化学, 2011, 31(9):1377.

[7] 国家食品药品监督管理局. 国家药品标准 WS1-(X-023)-2005Z[S]. 2005:61-221.

(收稿日期:2016-05-26 修回日期:2016-07-08)

(编辑:刘柳)

\* 讲师, 博士。研究方向: 天然产物活性成分及中药质量控制。  
电话:027-84225149. E-mail: zhenfengfang@163.com