

## 离子对高效液相色谱法测定多库酯钠的含量

蔡立荣<sup>1,2\*</sup>, 舒海平<sup>3</sup>, 肖莎<sup>3</sup>, 谭跃<sup>3</sup>, 郑金凤<sup>1</sup>, 李昌亮<sup>1</sup>, 刘雁鸣<sup>1\*\*</sup>

(<sup>1</sup> 湖南省药品检验检测研究院, 国家药监局药用辅料工程技术研究重点实验室, 长沙 410001; <sup>2</sup> 国家药监局药物制剂及辅料研究与评价重点实验室, 南京 211198; <sup>3</sup> 湖南华纳大药厂股份有限公司, 长沙 410006)

**摘要** 为降低对高载碳量色谱柱的依赖, 优化并建立了多库酯钠含量测定的新型离子对高效液相色谱法 (IP-HPLC)。采用四丙基氯化铵为离子对试剂, 乙腈-10 mmol/L 四丙基氯化铵水溶液 (66:34) 为流动相, 用 0.1% 磷酸溶液调 pH 至 6.5, 流速为 1.5 mL/min, 检测波长为 214 nm, 柱温为 35 °C, 进样量为 25 μL, 外标法测定。结果表明该方法专属性良好, 主峰拖尾因子为 1.34; 在 0.02~0.40 mg/mL 范围内线性关系良好, 相关系数  $r=0.9999$ ; 重复性结果良好, 加样回收率 97.0%~98.2% ( $n=6$ ) ; 定量限为 3.31 μg/mL; 检测限为 2.76 μg/mL。总体来看, 新方法耐用性好、线性范围宽、灵敏度高, 适合用于测定多库酯钠的含量。

**关键词** 多库酯钠; 离子对; 高效液相色谱法; 高载碳量色谱柱

中图分类号 R917 文献标志码 A

文章编号 1000-5048(2025)02-0183-05

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.2024081002

引用本文 蔡立荣, 舒海平, 肖莎, 等. 离子对高效液相色谱法测定多库酯钠的含量 [J]. 中国药科大学学报, 2025, 56(2): 183 – 187.

Cite this article as: CAI Lirong, SHU Haiping, XIAO Sha, et al. Determination of docusate sodium by ion-pair high-performance liquid chromatography[J]. J China Pharm Univ, 2025, 56(2): 183 – 187.

## Determination of docusate sodium by ion-pair high-performance liquid chromatography

CAI Lirong<sup>1,2\*</sup>, SHU Haiping<sup>3</sup>, XIAO Sha<sup>3</sup>, TAN Yue<sup>3</sup>, ZHENG Jinfeng<sup>1</sup>, LI Changliang<sup>1</sup>, LIU Yanming<sup>1\*\*</sup>

<sup>1</sup>Hunan Institute for Drug Control, NMPA Key Laboratory for Pharmaceutical Excipients Engineering Technology Research, Changsha 410001; <sup>2</sup>NMPA Key Laboratory for Research and Evaluation of Pharmaceutical Preparation and Excipients, Nanjing 211198; <sup>3</sup>Hunan Warrant Pharmaceutical Co., Ltd, Changsha 410006, China

**Abstract** To reduce the dependency on high-carbon-load chromatographic columns, a new method has been established for the determination of the content of docusate sodium using ion-pair high-performance liquid chromatography (IP-HPLC). Tetrapropylammonium chloride was used as the ion-pair reagent with a mobile phase, composition of acetonitrile:10 mmol/L tetrapropylammonium chloride solution = 66:34, adjusting pH to 6.5 with 0.1% phosphoric acid solution, flow rate of 1.5 mL/min, detection wavelength of 214 nm, column temperature of 35 °C, and an injection volume of 25 μL, and quantified by an external standard method. The main peak of docusate sodium exhibited a tailing factor of 1.34. The method showed good linearity within the range of 0.02 mg/mL to 0.40 mg/mL, with a correlation coefficient ( $r$ ) of 0.999 9. It also demonstrated good repeatability, with recovery ranging from 97.0% to 98.2% ( $n=6$ ). The quantification limit was 3.31 μg/mL, and the detection limit was 2.76 μg/mL. In summary, the new method shows good durability, a wide linear range, and high sensitivity, it is suitable for the determination of docusate sodium.

**Key words** docusate sodium; ion-pair; high performance liquid chromatography; high-carbon-load chromatographic column

收稿日期 2024-08-10 通信作者 \*Tel: 0731-89912568 E-mail: iamcailirong@163.com

\*\*Tel: 0731-82275838 E-mail: 380852839@qq.com

基金项目 湖南省自然科学基金科药联合基金项目 (2023JJ60106); 国家药监局药物制剂及辅料研究与评价重点实验室开放课题 (PPE2023008)

This study was supported by the Hunan Provincial Natural Science Foundation of China(2023JJ60106) and the NMPA Key Laboratory for Research and Evaluation of Pharmaceutical Preparation and Excipients Foundation(PPE2023008)

多库酯钠化学名称为磺基琥珀酸 1,4-二(2-乙基己基)酯钠盐,是一种阴离子型表面活性剂。在美国和欧洲作为食品添加剂、原料药及药用辅料使用。作为原料药使用时可作为润湿剂在临幊上用于治疗慢性功能性便秘,起到大便软化的作用,作为药用辅料中的增溶剂、润湿剂使用,可用来改善BCSII类药物的溶出。多库酯钠已收录于欧洲药典EP<sup>[1]</sup>、美国药典USP<sup>[2]</sup>、《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)2020版第一增补本<sup>[3]</sup>中。

文献中已报道的多库酯钠含量的测定方法主要有化学滴定法和高效液相色谱法,其中化学滴定法包括直接两相滴定法和酸碱滴定法,直接两相滴定法是一种通用的表面活性剂中阴离子含量检测的方法<sup>[4]</sup>,它通过离子对在两相中的迁移前后显色不同来判定滴定终点,USP中多库酯钠原料药即采用这种方法,酸碱滴定法先用碱水解多库酯钠,然后用酸滴定剩余的碱,根据多库酯钠水解过程所消耗碱的含量来计算多库酯钠的含量,《中国药典》2020版第一增补本即采用这种方法。液相色谱法主要采用离子对色谱法测定多库酯钠含量,USP收载的多库酯钠制剂中多库酯钠的含量均采用这种方法,该方法为离子对高效液相色谱法,均以磷酸氢四丁基铵为离子对试剂,以载碳量高达30%的C<sub>18</sub>柱作为分离柱,以乙腈-水(66:34)为流动相进行分离。此外,USP早期也有用离子交换色谱方法测定多库酯钠含量的报道<sup>[5]</sup>。

目前多库酯钠含量测定方法普遍存在适用性问题,其中滴定法专属性较差不能区分多库酯钠和多库酯钠的水解物;两相滴定法需使用有毒溶剂三氯甲烷;酸碱滴定可能存在水解不完全问题;基于反向离子对的液相色谱法虽然专属性更强,但已知的USP液相法须使用高载碳量(载碳量30%)的色谱柱,该色谱柱价格昂贵且不耐用,不符合检验经济性要求。

为解决以上问题,本研究以USP液相色谱法为基础通过色谱条件的优化,得到了一个新的离子对液相色谱方法,并通过了方法学验证并应用在多库酯钠原料药含量测定中,与《中国药典》2020版第一增补本和USP液相方法相比,新方法专属性更强,适用性更广,具有很好的应用前景。

## 1 材 料

### 1.1 药品与试剂

多库酯钠样品(国产公司A,批号211106;国

产公司B,批号T202111YC02;进口公司A,批号WS21F0803);多库酯钠对照品(批号:R069R0,美国药典对照品,含量98.7%);乙腈(色谱纯,德国Merck公司);四丁基磷酸二氢铵(纯度97%)、四丙基氯化铵(纯度98%)(上海麦克林生化科技股份有限公司);其他试剂均为市售分析纯。

### 1.2 仪 器

Waters e2695高效液相色谱(美国Waters公司);MS304S电子天平、RS220酸度计(瑞士Mettler Toledo公司);Hypersil GOLD(4.6 mm×250 mm, 5 μm美国赛默飞公司);Ultracarb ODS(30)(4.6 mm×250 mm, 5 μm,美国Phenomenex公司)。

## 2 方 法

### 2.1 溶液的配制

2.1.1 供试品溶液 取本品适量,精密称量,加溶剂(乙腈-水,1:1)溶解(必要时可以加热),稀释制成每1 mL约含0.1 mg的溶液,作为供试品溶液。

2.1.2 对照品溶液 精密称取对照品50 mg置50 mL量瓶中,加溶剂(乙腈-水,1:1)溶解并稀释至刻度,摇匀,制成每1 mL约含1 mg的贮备液。

取贮备液1 mL置10 mL量瓶中,加溶剂(乙腈-水,1:1)溶解并稀释至刻度,摇匀,制成每1 mL约含0.1 mg的对照品溶液。

### 2.2 分析方法

色谱柱为Hypersil GOLD(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相为乙腈-水(10 mmol/L氯化四丙基铵)(用0.1%磷酸溶液调至pH 6.5)(66:34);流速为1.5 mL/min;检测波长为214 nm;柱温为35 °C;进样体积为25 μL。

## 3 结 果

### 3.1 色谱条件优化

USP2023多库酯钠胶囊含量测定方法<sup>[6]</sup>(以下简称USP方法)采用反向离子对高效液相色谱法,色谱柱为载碳量30%的C<sub>18</sub>柱,流动相组成为乙腈:10 mmol/L磷酸氢四丁基铵水溶液(66:34)。新方法以USP方法为基础,经过pH、离子对、色谱柱等条件的研究,最终采用普通C<sub>18</sub>色谱柱,流动相组成为乙腈-10 mmol/L氯化四丙基铵水溶液(66:34),pH为6.5,柱温为35 °C的色谱条件。

3.1.1 pH选择 照“2.1.1”项下配制供试品溶液,

按照以下条件测定。

流动相溶液: 乙腈-10 mmol/L 氯化四丁基铵水溶液(66:34), 用 0.1% 磷酸溶液调节 pH 分别为 3.61、4.50、5.51、6.48 和 7.51。根据色谱结果对比(图 1)可知, pH 对多库酯钠的保留时间和峰形均有较大影响, 在 pH 6.48 时, 峰高最高, 对称性最好, 峰形最尖锐。在综合考虑分离效果及柱子寿命及适用性之后, 确定方法 pH 为 6.5。

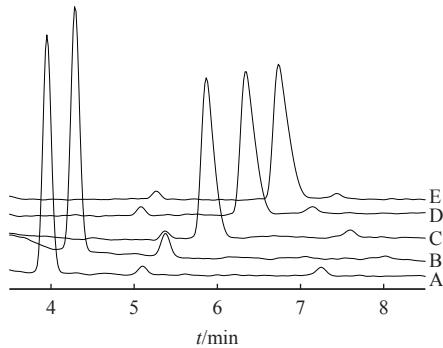


Figure 1 Chromatograms and retention behavior at different pH conditions

A: pH 7.51; B: pH 6.48; C: pH 5.51; D: pH 4.50; E: pH 3.61

3.1.2 离子对试剂选择 照“2.1.1”项下配制供试品溶液, 以乙腈-水(66:33)为流动相, 其中水相中加入 6 种不同的离子对试剂, 分别为四甲基氯化铵、

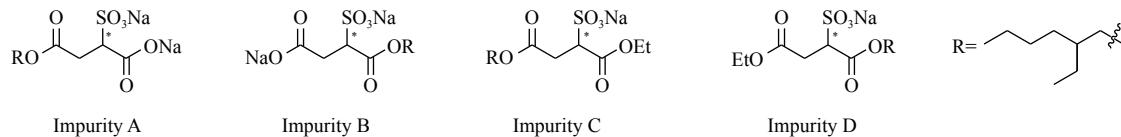


Figure 2 Reported ionic impurities in docusate sodium

强制降解实验结果(表 2)表明, 多库酯钠在高温、光照条件下相对稳定, 与对照未破坏组比较, 主峰及杂质含量未见明显变化; 在酸破坏及氧化破坏条件下, 杂质 A 含量略有升高; 在碱破坏条件下, 主成分含量明显下降, 杂质 A 含量明显升高, 各强制

Table 2 Results of forced degradation testing

Conditions	Peak area ratio/%					
	Main peak	Impurity A	Impurity B	Impurity C	Impurity D	Others
Untreated	98.08	1.76	/	0.16	/	/
High temperature	98.29	1.53	/	0.18	/	/
Light exposure	97.36	2.49	/	0.15	/	/
Strong acid	97.08	2.92	/	/	/	/
Strong alkali	86.01	13.99	/	/	/	/
Oxidation	96.16	3.84	/	/	/	/

/Not detected

四乙基氯化铵、四丙基氯化铵、三丁基甲基氯化铵、四丁基氯化铵、四戊基氯化铵, 离子对试剂浓度均为 10 mmol/L, pH 均调节至 6.5。分析结果可知(表 1), 离子对试剂的种类对多库酯钠的保留行为有显著影响, 随着季铵离子碳链的增长, 多库酯钠的保留时间及塔板数均增大, 综合考虑分离效果及离子对试剂的可及性, 选用四丙基氯化铵作为离子对试剂。

Table 1 Effect of ions pair type on the separation performance

Ion pair type	$t_R$ /min	Peak area	Plate number	Symmetry factor
Tetramethylammonium chloride	3.03	50 050	643	1.49
Tetraethylammonium chloride	4.65	45 173	454	1.14
Tetrapropylammonium chloride	5.21	47 084	1 637	1.50
Tributylmethylammonium chloride	6.50	48 425	2 112	1.47
Tetrabutylammonium chloride	7.40	57 387	1 585	1.18
Tetrapentylammonium chloride	14.15	31 807	2 705	1.27

### 3.2 方法学验证

3.2.1 专属性 有报道显示多库酯钠中可能存在离子型杂质 A、B、C、D<sup>[7]</sup>(图 2)。本研究通过强制降解试验考察了多库酯钠的强制降解稳定性以及强制降解条件下该含量测定方法的专属性。

破坏条件下, 各杂质对多库酯钠峰无明显干扰, 表明方法专属性良好。

3.2.2 线性与范围 精密吸取适量“2.1.2”项下对照品溶液贮备液, 配制成 0.02、0.05、0.1、0.15、0.2、0.3、0.4 mg/mL 系列标准线性浓度溶液。按“2.2”项下色谱条件进样检测, 以相应的色谱图峰面积( $A$ )为纵坐标, 质量浓度( $c$ , mg/mL)为横坐标进行线性回归分析, 目标物在此范围内线性关系良好,  $r$  为 0.9999, 回归方程为  $A=516453c-784.41$ 。

3.2.3 定量限与检测限 取“2.1.2”项下对照品溶液, 加溶剂(乙腈-水, 1:1)稀释, 稀释至 10 倍信噪比, 此溶液浓度作为本方法的定量限浓度, 继续稀释至 3 倍信噪比得到本方法的检出限浓度, 计算得方法检测限为 2.79  $\mu$ g/mL, 定量限为 3.35  $\mu$ g/mL。

3.2.4 准确度 采用加样回收法。精密称取已知含量的样品, 用溶剂稀释得到合适浓度的样品溶

液, 向样品溶液中加入适量的对照品贮备液, 得到样品加标溶液, 使样品加标溶液中多库酯钠的总浓度约为对照品溶液浓度的 110%。平行制备 6 份, 按“2.2”项下色谱条件进样检测, 计算回收率。结果显示, 平均回收率为 97.5%, 相对标准偏差(RSD)为 0.50%, 方法准确度良好。

### 3.2.5 精密度

仪器精密度和重复性: 取对照品溶液重复进样 6 次, 按“2.2”项下色谱条件进样检测, 以峰面积的 RSD 表示仪器精密度, 6 次对照品进样峰面积 RSD 为 0.27%。另取样品 6 份, 按“2.1.1”项下方法平行配制 6 份供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件进样检测并按外标法计算多库酯钠含量, 含量平均值为 96.0%, RSD 为 1.50%, 结果表明该方法重复性良好。

中间精密度: 不同人员分别按“2.1.1”项下方法各配制 6 份供试品溶液, 以 12 份样品含量的 RSD 考察方法的中间精密度。结果表明, 12 份样品多库酯钠的含量平均值为 96.1%, 12 份样品含量的 RSD 为 1.31%, 结果表明该方法精密度良好。

3.2.6 耐用性 按“2.1”项下方法配制对照品溶液、供试品溶液, 考察方法对柱温、流速、流动相组成、pH 变动的耐用性, 以各色谱条件下与正常色谱条件下的含量的 RSD 考察方法的耐用性。结果显示, 柱温、流速、流动相组成、pH 等微小变动导致含量测定结果的 RSD 的范围为 0.5%~1.3%, 表明方法耐用性良好。

### 3.3 方法对比

3.3.1 与《中国药典》2020 年版第一增补本方法对比 取不同厂家的 3 批样品分别按照新方法以及《中国药典》2020 年版第一增补本方法<sup>[3]</sup>进行测试, 每批样品每个方法平行测定两次, 结果表明(表 3), 新方法除多库酯钠主成分外还能检出少量杂质, 方法专属性更强, 而《中国药典》2020 年版第一增补本滴定法由于无法区分多库酯钠及其他离子型杂质, 含量测定的结果比新方法普遍偏高, 因

Table 3 HPLC results and titration results for samples from three manufacturers

Manufacturer	Batch No.	New method		ChP2020(1st Suppl.) method
		Main component	Total impurity	
Domestic Company A	211106	96.8%	0.5%	97.2%
Domestic Company B	T202111YC02	92.7%	0.9%	94.8%
Import Company A	WS21F0803	95.6%	3.7%	97.5%

此较第一增补本的滴定方法, 新方法专属性更强, 准确性更好。

3.3.2 与 USP 方法对比 取“2.1.1”项下的供试品溶液, 采用载碳量不同的 4 根 C<sub>18</sub> 色谱柱(表 4, 载碳量 10%~30%)分别对比新方法和 USP 方法对色谱柱载碳量的依赖情况。结果(图 3, 图 4)显示两种方法下多库酯钠的保留行为存在较大差异, 在保留时间方面, 使用 USP 方法时, 不同色谱柱多库酯钠的保留时间漂移更大(1.25~16.1 min), 且在载碳量 15% 的色谱柱中与溶剂共洗脱(图 3-B), 新方法在不同色谱柱上均能较好保留且保留时间更集中, 漂移更小(4.44~12.9 min); 在峰面积响应上, USP 方法在不同色谱柱中峰面积响应的相对标准偏差(RSD)高达 38.8%, 新方法不同色谱柱峰面积相应的 RSD 仅为 3.3%; 此外, 新方法检测限与定量限更低, 色谱峰拖尾因子更小, 峰型更美观, 对比结果表明新方法适用于不同载碳量(10%~30%)的色谱柱, 对色谱柱载碳量的依赖性更低, 方法适用性更强。

Table 4 Column type specifications

No.	Brand	Type	Carbon loading/%
A	Thermo	Hypersil GOLD, 250 mm×4.6 mm, 5 μm	10
B	GL Sciences	ODS-3, 250 mm×4.6 mm, 5 μm	15
C	Waters	Symmetry C <sub>18</sub> , 250 mm×4.6 mm, 5 μm	20
D	Phenomenex	Ultracarb, 150 mm×4.6 mm, 5 μm	30

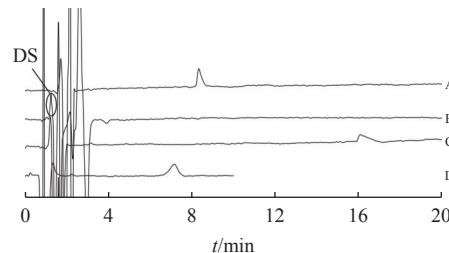


Figure 3 Chromatographic performance results of the USP method in different loading columns(DS:Docusate sodium)

A:Thermo Hypersil GOLD; B:GL Sciences ODS-3; C:Waters Symmetry C<sub>18</sub>; D:Phenomenex Ultracarb ODS(30)60 Å

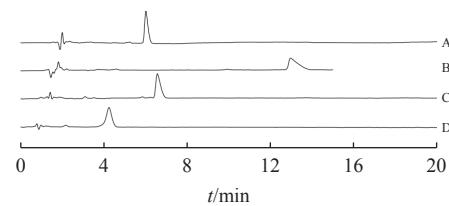


Figure 4 Chromatographic performance results of the new method in different loading columns

A:Thermo Hypersil GOLD; B:GL Sciences ODS-3; C:Waters Symmetry C<sub>18</sub>; D:Phenomenex Ultracarb ODS(30)60 Å

## 4 分析与讨论

### 4.1 分析

本研究从 USP 方法出发, 通过色谱条件优化发现 pH 和离子对试剂是影响多库酯钠保留行为的重要因素, 通过正交试验设计及验证得到了新的液相方法, 新方法采用四丙基氯化铵作为离子对试剂, pH 为 6.5, 经过方法学验证, 结果表明新方法强制降解条件下的专属性良好, 在 0.02~0.4 mg/mL 范围内线性良好、准确度、精密度、耐用性均能满足应用要求, 同时将新方法与《中国药典》2020 年版第一增补本滴定方法及 USP 方法对比, 均具有明显的优势, 总的来看, 新方法具有更好的应用前景。

### 4.2 讨论

离子对色谱法广泛应用于药品质量控制中<sup>[8]</sup>, 通常认为溶质离子的保留是中性离子对与固定相的疏水作用及溶质离子与固定相中配对离子的静电作用协同作用的结果<sup>[9,10]</sup>, 本研究通过研究多库酯钠在离子对色谱中的保留行为验证了这一发现, 改变流动相中离子对类型和 pH 对保留能力有明显影响, 推测可能是由于不同离子对试剂中配对离子与固定相和待分离离子的结合能力不同, 导致流动相中形成离子对的能力以及配对离子在固定相中的保留均发生改变, 从而同时改变流动相与固定相之间的离子交换静电作用和离子对疏水作用的平衡, 另外 pH 及离子对试剂中非对离子的不同也能通过离子竞争作用影响离子对的平衡<sup>[11]</sup>, 通过 USP 方法对色谱柱的依赖规律也可看出, 通过单纯增加固定相的载碳量并不总是有利的, 高的载碳量能增加对流动相中配对离子的保留, 从而通过静电离子作用增加溶质中待测离子的保留, 但强的配对离子保留对色谱柱的损耗及对溶质离子造成的横向展宽均不利于方法应用。反之, 适当地降低固定相载碳量后, 虽然固定相中配对离子保留变弱, 但可以通过调节流动相中离子强度(pH、配对离子种类及浓度、非配对离子种类)的方法提高流动相中中性离子对的比例, 从而增强与固定相的疏水作用达到意想不到的分离效果, 本研究证明了采用液相法检测多库酯钠含量时, USP 方法中规定的 30% 高载碳量 C<sub>18</sub> 色谱柱的条件并非必需, 开发了新的方法, 扩大了方法的适用性, 同时为离子对色谱法的方法优化提供了新思路。

## References

- [1] The European Pharmacopoeia Commission. The European Pharmacopoeia: 11.0thEd[S]. Strasbourg: Council of Europe, 2022: 2584-2585.
- [2] The United States Pharmacopeial Convention. *USP-NF*[S/OL]. Docusate sodium, 2018, [2023-08-01]. [https://doi.org/10.31003/USPNF\\_M27920\\_03\\_01](https://doi.org/10.31003/USPNF_M27920_03_01).
- [3] Chinese Pharmacopoeia Commission, China Pharmacopoeia 2020 edition first supplement(中华人民共和国药典 2020 版第一增补本)[S]. Beijing: China Medical Science Press, 2023: 688-689.
- [4] State Administration for Market Regulation, National Standardization Administration. GB/T 5173—2018, Surface active agents-detergents-determination of anionic-active matter content-Direct two-phase titration procedure(表面活性剂洗涤剂阴离子活性物含量的测定直接两相滴定法)[S]. Beijing: China Standard Press, 2018.
- [5] The United States Pharmacopeial Convention. The United States Pharmacopeial 20-The National Formulary 15(美国药典 20-国家处方集 15)[S]. U. S. Pharmacopeial Convention: Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 1980: 262.
- [6] The United States Pharmacopeial Convention, *USP-NF*[S/OL]. Docusate Sodium Capsules, 2013 [2023-08-01]. [https://doi.org/10.31003/USPNF\\_M27930\\_01\\_01.1](https://doi.org/10.31003/USPNF_M27930_01_01.1).
- [7] Zeng DR, He JG, Study on the determination of sorbitol and docusate sodium related impurity[D]. Guangzhou: Sun Yat-sen University, 2009.
- [8] Gao Q, Zhao M. Determination of mesalazine and gentisic acid in pentasa rectal suspension by RP-HPLC[J]. *J China pharm Univ*(中国药科大学学报), 1999, **30**(5): 370-372.
- [9] Shi PJ, Wu J, Xin ZQ, et al. Influence of sodium alkyl sulfonate ion-pair reagents on retention behavior of alkaloids in Arecae Semen[J]. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2023, **43**(6): 975-981.
- [10] Chen LG, Zhou JH, Sun WZ, et al. The changing rules of the retention characteristics of an ion exchange column and countermeasures[J]. *J Instrument Anal*(分析测试学报), 2008, **27**(2): 203-205.
- [11] Liu XL, GaoW, Liang C, et al. Effects of buffer salt types and non-counter ions of ion-pair reagents on the retention behavior of strongly ionized acid compounds in ion-pair reversed-phase liquid chromatography[J]. *Chin J Chromatogr*(色谱), 2021, **39**(9): 1021-1029.