

顶空气相色谱法测定苯甲酸阿格列汀原料药中3种有机溶剂残留量

谢嵩^{1*},徐济萍¹,杨磊²(1.山东大学附属省立医院药剂科,济南 250021;2.济南市皮肤病防治院,济南 250022)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)09-1269-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.09.42

摘要 目的:建立检测苯甲酸阿格列汀原料药中甲苯、正丁醇、乙醇残留量的方法。方法:采用顶空气相色谱法。采用氢火焰离子化检测器,色谱柱为6%氰丙基苯基-94%甲基聚硅氧烷毛细管柱,进样口温度为200℃,检测器温度为250℃,分流比为10:1,流速为1 ml/min,顶空进样,进样量为20 μl,程序升温;以外标法计算甲苯、正丁醇、乙醇的残留量。结果:3种有机溶剂在16 min内能完全分离,分离度均大于1.5;甲苯、正丁醇、乙醇的质量浓度分别在22.25~178、125~1 000、125~1 000 μg/ml范围内与各自峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 8$ 、 $0.999\ 6$ 、 $0.998\ 7$);精密度试验的RSD≤1.36%;甲苯、正丁醇、乙醇的平均加样回收率分别为98.2%、101.8%、98.90%,RSD分别为0.6%、0.7%、0.9%(n 均为9)。结论:该方法操作简便、结果准确,可用于苯甲酸阿格列汀原料药中有机溶剂残留量的控制。

关键词 苯甲酸阿格列汀;原料药;顶空气相色谱法;有机溶剂;残留量

Determination of 3 Residual Organic Solvents in Alogliptin Benzoate Raw Material by Headspace GC

XIE Song¹, XU Ji-ping¹, YANG Lei²(1.Dept. of Pharmacy, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, China; 2.Dermatology Treatment Centers of Jinan, Jinan 250022, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for detection of toluene, *N*-butanol and ethanol in alogliptin benzoate raw material. METHODS: Headspace gas chromatography (GC) and flame ionization detector (FID) detector were used. The column was 6% cyanopropyl phenyl -94% methyl polysiloxane capillary column, inlet temperature was 200 °C, detector temperature was 250 °C, split ratio was 10:1, flow rate was 1 ml/min with headspace and temperature programmed. The injection volume was 20 μl. The organic residual solvents (toluene, *N*-butanol and ethanol) were calculated by external standard method. RESULTS: Three organic solvents were completely separated within 16 min, and the separation rate was more than 1.5. The linear range were 22.25-178 μg/ml for toluene ($r=0.999\ 8$), 125-1 000 μg/ml for *N*-butanol ($r=0.999\ 6$), 125-1 000 μg/ml for ethanol ($r=0.998\ 7$). RSD of precision was lower than 1.36%. Average recovery rates were 98.2%, 101.8%, 98.9% (RSD were 0.6%, 0.7%, 0.9%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple and accurate. It can be used for the control of the residual solvents in alogliptin benzoate raw material.

KEYWORDS Alogliptin benzoate; Raw material; Headspace gas chromatography; Organic solvent; Residus

苯甲酸阿格列汀(Alogliptin benzoate)是由日本Takeda公司研发上市的降糖药,临床主要用于2型糖尿病的治疗,患者耐受性较好^[1-4]。阿格列汀能高度选择性地抑制丝氨酸蛋白酶二肽基肽酶IV(DPP-IV),从而维持体内胰高血糖素样肽1(GLP-1)和葡萄糖依赖性促胰岛素多肽(GIP)的水平,促进胰岛细胞产生胰岛素,同时降低胰高血糖素浓度,从而发挥降糖作用。

苯甲酸阿格列汀在制备过程中使用了甲苯、正丁醇、乙醇等有机溶剂^[5-6],这些有机试剂对人体有一定的危害性,故须确保产品中的残留量在规定的范围内。目前已有文献报道了苯甲酸阿格列汀片的含量测定^[7-8],但尚未见有关苯甲酸阿格列汀原料药中有机溶剂残留量检测方法的报道。为此,本研究建立了顶空毛细管气相色谱(GC)法测定苯甲酸阿格列汀原料药中甲苯、正丁醇、乙醇残留量的方法。

1 材料

1.1 仪器

6890型GC仪,包括氢火焰离子化(FID)检测器、色谱工作站及G1888自动顶空进样器(美国安捷伦公司);X205型分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

1.2 药品与试剂

苯甲酸阿格列汀原料(自制,批号:130801、130802、130803,纯度>99.0%);甲苯、正丁醇、乙醇、二甲基亚砜(DMSO)均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司,纯度≥99.0%);水为自制蒸馏纯化水。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

取苯甲酸阿格列汀原料约1.0 g,精密称定,置于20 ml顶空瓶中,精密加入DMSO 5.0 ml使溶解,密封,作为供试品溶液;精密称取甲苯、正丁醇、乙醇各适量,用DMSO定量稀释,制成每1 ml中约含甲苯0.089 mg、正丁醇0.5 mg、乙醇0.5 mg的溶液,精密量取5.0 ml,置于20 ml顶空瓶中,密封,作为对照品溶液。

2.2 色谱条件及系统适用性试验

* 主管药师,硕士。研究方向:临床药学。电话:0531-68777620

色谱柱:毛细管柱 Agilent DB-624 (30 m×0.53 mm, 3.00 μm);柱温:程序升温,起始温度 40 °C,保持 1 min,以 10 °C/min 的速率升至 150 °C,维持 1 min,以 20 °C/min 的速率升至 220 °C;载气:高纯度氮气;进样口温度:200 °C;检测器温度:250 °C;进样方式:分流进样,分流比为 10:1;流速:1 ml/min;进样量:20 μl。顶空瓶平衡温度:80 °C;平衡时间:30 min;进样体积:1.0 ml。理论板数以乙醇峰计应不低于 5 000,各峰间分离度不低于 1.5。色谱见图 1。

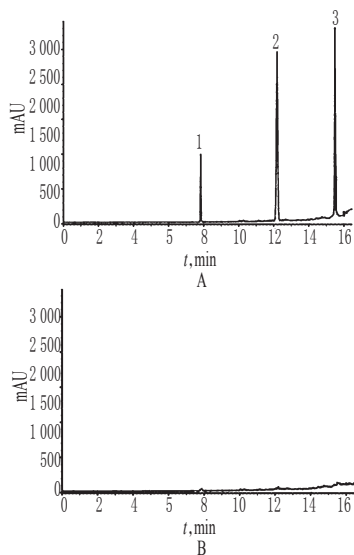


图1 气相色谱图

A.对照品;B.供试品;1.乙醇;2.正丁醇;3.甲苯

Fig 1 Gas chromatograms

A. reference substance; B. sample; 1. ethanol; 2. *N*-butanol; 3. toluene

2.3 线性关系考察

精密称取甲苯、正丁醇、乙醇各适量,置于同一量瓶中,用 DMSO 定量稀释,制成每 1 ml 中约含甲苯 0.89 mg、正丁醇 5.0 mg、乙醇 5.0 mg 的溶液,作为对照品贮备液。分别精密量取对照品贮备液 20.0、15.0、10.0、5.0、2.5 ml 至 100 ml 量瓶中,加 DMSO 稀释至刻度,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以对照品的质量浓度(x , μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标,进行线性回归。结果表明,各对照品的质量浓度均在各自线性范围内与其峰面积呈良好线性关系,详见表 1。

表1 回归方程和线性范围

Tab 1 Regression equations and linear range

残留溶剂	回归方程	r	线性范围, μg/ml
甲苯	$y=623\ 374x+7\ 401$	0.999 8	22.25~178
正丁醇	$y=101\ 763x+6\ 446$	0.999 6	125~1 000
乙醇	$y=48\ 512x-7\ 963$	0.998 7	125~1 000

2.4 精密度试验

精密量取对照品贮备液 1 ml,置于 10 ml 量瓶中,加 DMSO 稀释成质量浓度分别为甲苯 0.089 mg/ml、正丁醇 0.5 mg/ml、乙醇 0.5 mg/ml 的溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,重复 5 次。结果,甲苯、正丁醇、乙醇峰面积的 RSD 分别为 1.36%、1.13%、0.98% ($n=5$),表明仪器精密度良好。

2.5 检测限和定量限

精密称取甲苯、正丁醇、乙醇各适量,用 DMSO 定量稀释,制成每 1 ml 中约含甲苯 0.1 mg、正丁醇 0.5 mg、乙醇 0.02 mg 的溶液,分别稀释 400 倍和 2 000 倍,按“2.2”项下色谱条件进样

测定,记录色谱图。当信噪比>3 时,溶液中甲苯、正丁醇和乙醇的检测限分别为 0.05、0.25、0.01 μg/ml;当信噪比>10 时,溶液中甲苯、正丁醇和乙醇的定量限分别为 0.25、1.25、0.05 μg/ml。

2.6 加样回收率试验

精密称取样品 1.0 g,置于 20 ml 顶空瓶中,分别加入相当于对照品溶液质量浓度 80%、100%、120% 的溶液(每个质量浓度 3 份)各 5.0 ml,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按外标法计算含量,结果见表 2。

表2 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 2 Results of recovery test ($n=9$)

残留溶剂	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
甲苯	4.28	4.21	98.46	98.2	0.6
	4.28	4.22	98.69		
	4.28	4.22	98.69		
	4.99	4.87	97.52		
	4.99	4.90	98.12		
	4.99	4.91	98.32		
	6.10	6.01	98.56		
	6.10	5.99	98.23		
	6.10	5.91	96.92		
	6.10	5.91	96.92		
	6.10	5.91	96.92		
	6.10	5.91	96.92		
正丁醇	21.38	21.67	101.36	101.8	0.7
	21.38	21.95	102.67		
	21.38	21.91	102.48		
	24.97	25.41	101.76		
	24.97	25.39	101.68		
	24.97	25.04	100.28		
	30.49	31.04	101.80		
	30.49	31.25	102.49		
	30.49	31.11	102.03		
	30.49	31.11	102.03		
	30.49	31.11	102.03		
	30.49	31.11	102.03		
乙醇	20.76	20.67	99.57	98.9	0.9
	20.76	20.47	98.60		
	20.76	20.51	98.80		
	25.78	25.41	98.56		
	25.78	25.39	98.49		
	25.78	25.84	100.23		
	30.02	29.12	97.00		
	30.02	29.78	99.20		
	30.02	29.78	99.20		
	30.02	29.94	99.73		
	30.02	29.94	99.73		
	30.02	29.94	99.73		

2.7 样品中有机溶剂残留量的测定

取 3 批样品(批号:130801、130802、130803)各适量,按“2.1”项下方法制备供试品溶液和对照品溶液,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,以外标法计算有机溶剂的残留量。根据 2010 年版《中国药典》(二部)^[9],本试验所检测的正丁醇和乙醇属于三类溶剂,药物中此类溶剂残留量应小于 0.5%;甲苯属于二类溶剂,其残留量应小于 0.089%。本试验中 3 批样品均未检出残留溶剂,结果符合规定。

3 讨论

测定残留溶剂的方法多为 GC 法,进样方法有直接进样法和顶空进样法。采用顶空进样法时,苯甲酸阿格列汀不能挥发成气体进入 GC 柱,因此可排除主药对试验结果的干扰。为了选择合适的溶剂,笔者曾用水、二甲基甲酰胺作为溶剂溶解样品,效果都不如 DMSO 理想,因此最终选择了 DMSO。

综上所述,本研究建立的顶空 GC 法操作简便、结果准确,可以用于苯甲酸阿格列汀原料药中有机溶剂残留的控制。

RP-HPLC法测定氯霉素地砒软膏中3种主药的含量

曾玉梅*, 陈繁华(梅州市食品药品监督管理局, 广东梅州 514071)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)09-1271-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.09.43

摘要 目的:建立同时测定氯霉素地砒软膏中氯霉素、氯苯砒及地塞米松含量的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Agilent ZORBAX SB-C₁₈,流动相为0.1%庚烷磺酸钠溶液-甲醇(70:30, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为272 nm,柱温为30 ℃,进样量为20 μl。结果:氯霉素、氯苯砒和地塞米松的质量浓度分别在20.12~201.2、10.25~102.5、0.202 6~2.026 μg/ml范围内与各自峰面积呈良好线性关系($r=0.998\ 7$ 、 $0.999\ 9$ 、 $0.999\ 9$);精密性、重复性、稳定性试验的RSD≤1.19%;回收率分别为99.66%(RSD=0.34%, $n=9$)、99.84%(RSD=0.41%, $n=9$)与99.94%(RSD=0.49%, $n=9$)。结论:该方法操作简便快捷,可为氯霉素地砒软膏的质量控制提供参考。

关键词 氯霉素地砒软膏;反相高效液相色谱法;含量;氯霉素;氯苯砒;地塞米松

Content Determination of Three Main Drugs in Chloramphenicol Sulfone Ointment by HPLC

ZENG Yu-mei, CHEN Fan-hua (Meizhou Institute for Food and Drug Control, Guangdong Meizhou 514071, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of chloramphenicol, dapsone and dexamethasone in Chloramphenicol sulfone ointment (CSO). METHODS: RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent ZORBAX SB-C₁₈ column. The mobile phase was 0.1% sodium heptanesulfonate-methanol (70:30, V/V); the flow rate was 1.0 ml/min; the wavelength was 272 nm; the column temperature was 30 ℃; the injection volume was 20 μl. RESULTS: In the chromatography of test products, there was a good linear relationship of chloramphenicol, dapsone and dexamethasone in the range of 20.12-201.2, 10.25-102.5, 0.202 6-2.026 μg/ml, respectively (r were 0.998 7, 0.999 9, 0.999 9); RSDs of precision, reproducibility and stability test were lower than 1.19%. The recovery rate was 99.66% (RSD=0.34%, $n=9$), 99.84% (RSD=0.41%, $n=9$) and 99.94% (RSD=0.49%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, fast and can provide reference for the quality control of CSO.

KEYWORDS Chloramphenicol sulfone ointment; RP-HPLC; Content; Chloramphenicol; Dapsone; Dexamethasone

氯霉素地砒软膏为梅州市梅县慢性病防治站自制品,由2%(g/g)氯霉素、1%(g/g)氯苯砒、0.4%(g/g)地塞米松加基质组成。氯霉素属苯胺类抗菌药物^[1],具有广谱抗菌作用,对各种炎症引起的皮肤病均有一定疗效;氯苯砒具有较强的抗炎及免疫抑制作用,对疱疹样皮炎有显著疗效^[2];地塞米松

属肾上腺皮质激素,具有抗炎、抗过敏作用;三者合理配伍使用可对并发感染的湿疹、皮炎等瘙痒性皮肤病有显著疗效^[3-4]。该药原质量标准为医院制剂自制标准,但仅有鉴别方法。为了更好地控制该药的内在质量,保证用药的安全、有效,笔者参考有关文献^[5-8],采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)测定该

参考文献

- [1] 张淑芳.治疗糖尿病的新药NESINA获批在日本上市[J].中国执业药师,2010,12(6):54.
- [2] 周映红,黄文龙,张惠斌,等.GLP-1受体激动剂及DDP-IV抑制剂的研究进展[J].中国药科大学学报,2008,39(5):385.
- [3] 王珊,范鸣.抗2型糖尿病药物:Alogliptin[J].药学进展,2008,32(7):326.
- [4] 安富荣,崔岚,王勤.治疗2型糖尿病新药二肽基肽酶-4抑制药阿格列汀[J].中国药师,2012,15(1):116.

- [5] 赵兴旺,吴冰,赵临襄.阿格列汀:Alogliptin[J].中国药物化学杂志,2013,4(23):337.
- [6] 刘昭文,吴龙火,王恩军.苯甲酸阿格列汀的合成[J].海峡药学,2011,23(9):214.
- [7] 时春娟,赵春才,陆超,等.HPLC法测定苯甲酸阿格列汀片的含量[J].中国药房,2013,24(37):3 521.
- [8] 孙著叶,乔世琴,罗兆亮.HPLC法检查苯甲酸阿格列汀原料药的有关物质[J].中国药房,2014,25(33):3 141.
- [9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录31.

(收稿日期:2014-03-23 修回日期:2014-05-02)

(编辑:申琳琳)

* 主管药师。研究方向:药品质量分析与检验。电话:0753-2319612。E-mail:may011499@163.com