

顶空毛细管气相色谱法测定苄达赖氨酸原料药中4种有机溶剂残留量

郎晓东^{1,2*}, 徐宏祥³, 胡正国⁴, 傅应华^{5#}(1.平湖市食品药品监督管理局, 浙江 平湖 314200; 2.山东大学药学院, 济南 250012; 3.嘉兴市食品药品检验所, 浙江 嘉兴 314001; 4.浙江莎普爱思药业股份有限公司, 浙江 平湖 314200; 5.嘉兴学院医学院, 浙江 嘉兴 314001)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)13-1220-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.13.24

摘要 目的:建立同时测定苄达赖氨酸原料药中乙二醇二甲醚、乙醇、二甲苯、氯苯4种有机溶剂残留量的分析方法。方法:采用顶空进样气相色谱法。色谱柱为HP-INNOWAX键合聚乙二醇石英毛细管柱,程序升温,进样口温度为200℃,氢火焰离子化检测器检测口温度为250℃,不分流进样,顶空平衡温度为85℃,平衡时间为30min,进样时间为1min。结果:乙二醇二甲醚、乙醇、二甲苯、氯苯在各自的质量浓度范围内线性关系良好(r 为0.997 2~0.998 9, $n=6$),检测限分别为0.1、0.01、0.3、0.5 μg/ml,定量限分别为0.3、0.03、0.8、1.5 μg/ml,平均加样回收率分别为105.6%、103.4%、103.0%、109.4%,RSD分别为1.9%、2.4%、5.4%、5.4% ($n=6$)。结论:本方法灵敏、重复性好、准确度高,适用于苄达赖氨酸原料药实际生产中的有机溶剂残留量控制。

关键词 苄达赖氨酸原料药;有机溶剂残留量;顶空进样;毛细管气相色谱法

Determination of 4 Kinds of Residual Organic Solvents in Bendazac Lysine Raw Material by Head-space Capillary Gas Chromatography

LANG Xiao-dong^{1,2}, XU Hong-xiang³, HU Zheng-guo⁴, FU Ying-hua⁵(1.Pinghu Food and Drug Administration, Zhejiang Pinghu 314200, China; 2.College of Pharmacy, Shandong University, Jinan 250012, China; 3.Jiaxing Institute for Food and Drug Control, Zhejiang Jiaxing 314001, China; 4.Zhejiang SHAPU AISI Pharmacy Co., Ltd., Zhejiang Pinghu 314200, China; 5.Medical School of Jiaxing College, Zhejiang Jiaxing 314001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of residual organic solvents, ie. ethylene glycol dimethyl ether, ethanol, xylene and chlorobenzene in bendazac lysine raw material. METHODS: Head-space GC was used. The separation was carried on HP-INNOWAX bonded with polyethylene glycol silici capillary column by temperature programming. Temperature of inlet was 200 °C and that of FID was 250 °C, by splitless injection. The head-space vials were balanced at 85 °C for 30 min, and injection time was 1 min. RESULTS: The linear relationship was obtained for 4 residual solvents. ie. ethylene glycol dimethyl ether, ethanol, xylene and chlorobenzene in their respective concentration ranges ($r=0.997\ 2-0.998\ 9$, $n=6$). LODs were 0.1, 0.01, 0.3 and 0.5 μg/ml, and LOQs were 0.3, 0.03, 0.8, 1.5 μg/ml, respectively. The average recoveries were 105.6% (RSD=1.9%), 103.4% (RSD=2.4%), 103.0% (RSD=5.4%) and 109.4% (RSD=5.4%), respectively ($n=6$). CONCLUSIONS: The developed method is sensitive, reproducible and accurate for the control of residual organic solvents in bendazac lysine raw material.

KEY WORDS Bendazac lysine raw material; Residual organic solvents; Head-space sampling; Capillary gas chromatography

苄达赖氨酸(Bendazac lysine)原料药为白色或类白色结晶性粉末,无臭、味苦,在水中溶解,在乙醇和三氯甲烷中几乎不溶。其为醛糖还原酶(AR)抑制剂,对晶状体AR有抑制作用,所以临床上用苄达赖氨酸滴眼液抑制眼中AR的活性,达到预防或治疗白内障的目的。由于该原料药在制备过程中使用了有机溶剂乙二醇二甲醚、无水乙醇(以下简称乙醇)、二甲苯、氯苯,这些溶剂均被列为药品必须限制的第二、三类有机溶剂。依据2010年版《中国药典》(二部)^[1]规定,生产和制备过程中涉及到有机溶剂使用的原料药和制剂均应严格限制有机溶剂残留量。由于各厂家原料药合成工艺不同,所用有机溶剂的种类不同,导致药典标准无法统一制订残留溶剂检测方法。而苄达赖氨酸滴眼液为无菌制剂,且用于易受有机溶剂损伤的眼黏膜部位,存在一定的安全隐患。为保证药品质量和用药安全,故对该原料药进行有机溶剂残留量检测就显得尤其重要。苄达赖氨酸原料药中有机溶剂残留量的检测尚未

见文献报道。随着顶空进样技术的不断发展,采用顶空进样检测药物中有机溶剂残留量的毛细管气相色谱法已经越来越受到人们的重视^[2-5]。本试验采用毛细管气相色谱法配以顶空进样方式,系统地研究了影响苄达赖氨酸原料药中有机溶剂残留量检测的各种因素。结果表明,所建立的方法简单、灵敏、重复性好、准确度高,适用于苄达赖氨酸原料药实际生产中的有机溶剂残留量控制。

1 材料

6890N型气相色谱仪(带氢火焰离子化检测器FID)及ChemStation色谱数据工作站、7694E顶空进样器(美国Agilent公司);BP211D型电子天平(北京赛多利斯公司)。

苄达赖氨酸原料药(浙江莎普爱思药业股份有限公司,共13个批次样品,批号分别为:101001、101002、101101、110801、110802、1110803、110804、110805、110806、110901、110902、10903、110904,纯度分别为:99.2%、99.1%、99.1%、99.7%、99.5%、98.9%、99.2%、99.5%、99.5%、100.5%、100.4%、102.5%、100.8%);乙二醇二甲醚、乙醇、二甲苯、氯苯对照品均为分析纯,二甲基甲酰胺为色谱纯(国药集团化学试剂有限公司),水为蒸馏水。

* 主管药师,硕士研究生。研究方向:药品质量控制。电话:0573-85061675。E-mail:langxiaodong@pinghu.gov.cn

通信作者:副教授。研究方向:药物制剂与质量标准。电话:0573-83643848。E-mail:yaoji6217@sohu.com

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:HP-INNOWAX 键合聚乙二醇石英毛细管柱(30 m×0.320 mm×0.25 μm);进样口温度:200 °C,FID检测口温度:250 °C;载气:高纯氮(99.999%),流量:1.0 ml/min;不分流进样;程序升温:50 °C(保持10 min),以20 °C/min的速率升至180 °C(保持3 min);顶空平衡温度:85 °C,平衡时间:30 min,进样时间:1 min。取“2.2.2”项下对照品溶液和“2.2.3”项下供试品溶液(批号:101002)进样分析,结果乙二醇二甲醚、乙醇、二甲苯(包括4种异构体间二甲苯、对二甲苯、乙苯、邻二甲苯)、氯苯峰的分离度均符合要求(>1.5),保留时间分别为乙二醇二甲醚4.332 min、乙醇4.462 min、二甲苯(其中间二甲苯9.847 min、对二甲苯10.226 min、乙苯10.508 min、邻二甲苯11.844 min)、氯苯16.207 min,色谱见图1。

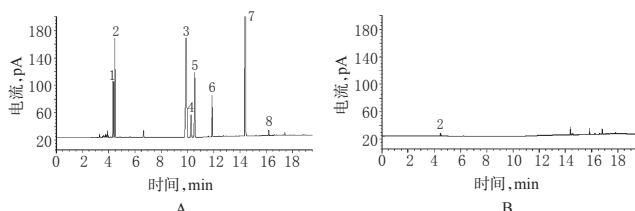


图1 气相色谱图

A.对照品溶液;B.供试品溶液;1.乙二醇二甲醚;2.乙醇;3.间二甲苯;4.邻二甲苯;5.乙苯;6.对二甲苯;7.溶剂(二甲基甲酰胺);8.氯苯

Fig 1 GC chromatograms

A. substance control; B. test samples; 1. ethylene glycol dimethyl ether; 2. ethanol; 3. m-xylene; 4. o-xylene; 5. ethylbenzene; 6. p-xylene; 7. solvent (dimethylformamide); 8. chlorobenzene

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品贮备液。精密称取对照品乙二醇二甲醚97.4 mg、乙醇106.7 mg、二甲苯102.3 mg、氯苯100.9 mg,分别置于10 ml量瓶中,用二甲基甲酰胺稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 对照品溶液和测定溶液。精密量取对照品贮备液适量,用水(必要时可加适量二甲基甲酰胺)稀释制成每1 ml中含乙二醇二甲醚0.2 mg、乙醇0.5 mg、二甲苯0.217 mg和氯苯0.036 mg的溶液,作为对照品溶液。另精密称取经105 °C干燥至恒质量的供试品0.1 g,置于10 ml顶空瓶中,再精密加入上述溶液1 ml,加盖密封,振摇溶解,作为测定溶液。

2.2.3 供试品溶液。取供试品0.1 g,精密称定,置于10 ml顶空瓶中,精密加入水1 ml,加盖密封,振摇溶解,即得。

2.3 线性试验

各精密量取对照品贮备液1 ml,置于10 ml量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,再用水逐级稀释得上述4种残留溶剂的质量浓度均为1、0.5、0.25、0.1、0.05、0.025 mg/ml的溶液。另精密称取经105 °C干燥至恒质量的苡达赖氨酸原料药(批号:101001)0.1 g,共6份,分别置于10 ml顶空瓶中,各精密加入上述溶液1 ml,加盖密封,作为系列标准溶液,分别进样,测定峰面积。其中二甲苯以间二甲苯、邻二甲苯、乙苯、对二甲苯峰面积之和计算。以各溶剂峰面积(y)对其各自的质量浓度(x)作线性回归,得到4种有机溶剂的线性方程及其相关系数;再将上述4种有机溶剂质量浓度均为0.025 mg/ml的溶液依次用水稀释,并进样测定,以信噪比为3计算检测限(LOD),以信噪比为10计算定量限(LOQ),结果见表1。

2.4 精密度试验

取“2.2.2”项下测定溶液,共6份,各进样分析6次,计算乙二醇二甲醚、乙醇、二甲苯、氯苯平均峰面积的RSD分别为

表1 4种有机溶剂的线性关系、检测限和定量限

Tab 1 Linear range, LOD and LOQ of 4 organic solvents

溶剂	线性方程	r	线性范围,mg/ml	LOD, μg/ml	LOQ, μg/ml
乙二醇二甲醚	$y=8.006 \times 10^3 x + 42.661$	0.998 3	0.024 4~0.974	0.1	0.3
乙醇	$y=4.181 \times 10^3 x + 18.748$	0.997 2	0.026 8~1.067	0.01	0.03
二甲苯	$y=2.792 \times 10^3 x - 60.657$	0.998 9	0.025 5~0.512	0.3	0.8
氯苯	$y=1.487 \times 10^3 x + 3.622$	0.996 1	0.025 0~1.009	0.5	1.5

3.2%、2.9%、6.5%、3.3%,表明进样精密度良好。

2.5 回收率试验

准确称取已于105 °C干燥至恒质量的苡达赖氨酸原料药(批号:101002)0.1 g,共6份,置于10 ml顶空瓶中,各精密加入对照品溶液1 ml,加盖密封,作为供试品溶液;另取已于105 °C干燥至恒质量的苡达赖氨酸原料药(批号:101001),准确称取0.1 g,共3份,置于10 ml顶空瓶中,各定量加入对照品溶液1 ml,加盖密封,作为对照品溶液。进样分析,计算平均加样回收率,结果乙二醇二甲醚、乙醇、二甲苯、氯苯的平均回收率分别为105.6%、103.4%、103.0%、109.4%,RSD分别为1.9%、2.4%、5.4%、5.4%(n=3)。

2.6 溶液稳定性试验

取对照品溶液,在室温放置0、1、2、4、8 h后分别精密吸取1 ml,置于已盛有经105 °C干燥至恒质量的苡达赖氨酸原料药(批号:101001)0.1 g的10 ml顶空瓶中,进样分析5次。结果乙二醇二甲醚、乙醇、二甲苯、氯苯平均峰面积的RSD分别为4.1%、4.7%、7.3%、6.2%(n=5),表明溶液在8 h内稳定。

2.7 样品中有机溶剂残留量测定

采用本试验建立的方法对13批次的供试样品进行了检测,每个样品各分析3次,平均值结果见表2(表中“ND”表示未检出)。

表2 样品中4种有机溶剂残留量的分析结果(mg/g,n=3)

Tab 2 Analytical results of 4 residual organic solvents in samples(mg/g,n=3)

批号	乙二醇二甲醚	乙醇	二甲苯	氯苯
101001	ND(未检出)	ND	ND	ND
101002	ND	ND	ND	ND
101101	ND	ND	ND	ND
110801	ND	0.24	ND	ND
110802	ND	0.45	ND	ND
110803	ND	ND	ND	ND
110804	ND	ND	ND	ND
110805	ND	0.19	ND	ND
110806	ND	0.38	ND	ND
110901	ND	0.28	ND	ND
110902	ND	0.24	ND	ND
110903	ND	ND	ND	ND
110904	ND	0.44	ND	ND

3 讨论

3.1 溶解介质的选择

苡达赖氨酸在有机溶剂中不溶,在水中有较好的溶解性,故样品制备时选择水作溶剂。由于二甲苯与氯苯均不溶于水,在对照品溶液制备时需用二甲基甲酰胺、二甲亚砜或二氧六环等作为溶剂先溶解后,再用水逐级稀释。经试验考察发现,二甲亚砜和二氧六环与二甲苯4个同系物不能达到完全分离,而二甲基甲酰胺与二甲苯能达到完全分离。故选择二甲基甲酰胺作为制备对照品贮备液的溶剂。

3.2 样品基质影响考察

前期试验结果表明,采用顶空进样,因二甲苯、氯苯沸点较高,以水为介质时,存在进样精密度、线性关系均差的问

气相色谱法测定盐酸氮芥酞含量

李 洁*(河南省食品药品检验所, 郑州 450003)

中图分类号 R927.2;R986 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)13-1222-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.13.25

摘要 目的:建立测定盐酸氮芥酞含量的方法。方法:采用气相色谱法,并与原标准方法(滴定法)结果进行比较。色谱柱为DB-225毛细管,氢火焰离子化检测器温度为250℃,采用程序升温,载气为氮气,分流进样,进样口温度为200℃,进样量为1μl。结果:盐酸氮芥检测质量浓度线性范围为0.05~1.00 mg/ml($r=0.9999$),检测限为0.01 μg,平均回收率为101.0%,RSD为0.81%。效期内的4批样品两种方法含量测定结果一致,10批样品两种方法测得含量RSD分别为0.54%、0.69%。结论:本方法操作简便,结果准确可靠。

关键词 盐酸氮芥酞;气相色谱法;含量测定

Content Determination of Chlormethine Hydrochloride Tincture by Gas Chromatography

LI Jie(Henan Institute for Food and Drug Control, Zhengzhou 450003, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of Chlormethine hydrochloride tincture. METHODS: Gas chromatography was used and compared with previous method (titration method). DB-225 capillary column was used and FID detector temperature was 250 °C by temperature programmed. N₂ was carrier gas with split sampling, inlet temperature of 200 °C and injection volume of 1 μl. RESULTS: The linear ranges of chlormethine hydrochloride were 0.05-1.00 mg/ml ($r=0.9999$). The limit of detection was 0.01 μg, and average recovery rate was 101.0% (RSD=0.81%). Results of content determination of 4 batches of samples in expiration date were same between 2 methods; the average RSDs of 10 batches of samples were 0.54%, 0.69%, respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reliable.

KEY WORDS Chlormethine hydrochloride tincture; GC; Content determination

题。另外,氯苯加样回收率只有50%左右,表明样品基质对氯苯影响显著。为了解决这一问题,经过反复摸索,通过在对照品溶液中加入等量的苄达赖氨酸样品,可消除样品基质对氯苯回收率的干扰,对二甲苯、氯苯的检测起到稳定作用。同时,比较研究了苄达赖氨酸加入量对二甲苯、氯苯的影响,确定以1 ml对照品溶液中含苄达赖氨酸0.1 g为宜;并比较取1 ml与5 ml对照品溶液进行顶空进样后的分析效果,结果以取1 ml为佳。综合各项考察结果,以取0.1 g样品、加对照品溶液1 ml作为测定溶液,二甲苯、氯苯进样精密度、线性关系均好,氯苯的加样回收率较好。

3.3 分离条件的选择

前期试验考察了3种不同极性的毛细管色谱柱(HP-5、HP-INNOWAX,规格均为30 m×0.320 mm×0.25 μm;DB-624,规格为50 m×0.53 mm×3.0 μm)对4种有机溶剂的分离效果。结果发现,HP-INNOWAX对对照品与苄达赖氨酸原料药中各有机溶剂分离效果最佳。采用程序升温方法,能使对照品与样品中4种有机溶剂达到完全分离,尤其对二甲苯中的间二甲苯、对二甲苯、乙苯、邻二甲苯的分离良好,可以做到准确定量。因此,最终选用HP-INNOWAX色谱柱作为分析柱。

3.4 顶空平衡温度的选择

依据2010年版《中国药典》(二部)^[1]以水作溶剂顶空加热温度的要求,本试验固定顶空平衡时间30 min,比较了各有机溶剂在平衡温度70、75、80、85、90℃下的的色谱响应值(峰面积)。结果表明,随着平衡温度升高,各溶剂色谱响应值增大,但在平衡温度90℃时,氯苯色谱响应值不增反降,其余溶剂色谱响应值趋于平缓。考虑到水的沸点是100℃,增加温度使水膨胀导致压力升高,易引起顶空瓶耐压和仪器气密性等问题,

而且水汽增大还会缩短聚乙二醇色谱柱的使用寿命,影响测定。故试验选择85℃作为平衡温度。

3.5 顶空平衡时间的选择

平衡时间取决于被测组分子从样品基质到气相的扩散速度。平衡温度不同,平衡所需时间也不同。本试验固定平衡温度为85℃,对平衡时间分别为10、20、30、40、50 min的各溶剂色谱响应值(峰面积)进行了考察。结果表明,当平衡时间超过30 min时,各溶剂响应值基本不再增加,说明在30 min时,各组分在气液两相间达到平衡。故本试验选择30 min作为顶空平衡时间。

本文对苄达赖氨酸原料药中4种有机溶剂残留量检测方法进行了系统研究,通过在对照液中加入样品以消除样品基质的干扰,使所建立的溶剂残留检测方法简便、准确、有效,能够满足实际样品检测的需要。本法适用于生产企业及其有关检验机构对苄达赖氨酸原料药进行质量控制,也为其他生产企业不同合成工艺路线检测有机溶剂残留提供了参考。

参考文献

- [1] 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, 2010:306,307、附录61.
- [2] 孙悦,王卫,唐素芳. 顶空气相色谱法测定盐酸帕罗西汀中残留的有机溶剂及基质效应考察[J]. 药物分析杂志, 2010,30(5):963.
- [3] 许莉勇. 顶空气相色谱法测定咪唑莫特中有机溶剂残留量[J]. 药物分析杂志, 2010,30(6):1084.
- [4] 叶海青,傅应华. 毛细管气相色谱法测定丙酸倍氯米松中3种有机溶剂残留量[J]. 中国药房, 2010,21(13):235.
- [5] 孙红亚,朱琦峰,傅应华. 顶空毛细管气相色谱法测定长春西汀中的残留溶剂[J]. 中国药房, 2011,22(45):4278.

(收稿日期:2012-05-23 修回日期:2012-07-23)

* 副主任药师。研究方向:化学药物分析。电话:0371-63388290。
E-mail:zhanglujieliying@sina.com