

# 顶空毛细管GC法测定盐酸苯海拉明原料药中乙醇、甲苯的残留量

谈学惠<sup>1\*</sup>, 漆秋兰<sup>2</sup>, 刘国强<sup>2</sup>, 傅应华<sup>2#</sup>(1.湖州市南浔区人民医院, 浙江湖州 313009; 2.嘉兴学院医学院, 浙江嘉兴 314001)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)18-2563-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.18.39

**摘要** 目的:建立测定盐酸苯海拉明原料药中乙醇、甲苯残留量的方法。方法:采用顶空毛细管气相色谱法,以丁酮为内标。色谱柱为Agilent DB-624弹性石英毛细管柱,进样口温度为200℃,氢火焰离子化检测器温度为250℃,载气为高纯氮气,流速为3.0 ml/min,柱温为程序升温,进样方式为分流进样,分流比为20:1,顶空平衡温度为80℃,平衡时间为30 min,进样时间为1 min。结果:在该色谱条件下,乙醇、甲苯与内标峰能得到良好分离;乙醇、甲苯的检测质量浓度线性范围均为0.02~0.8 mg/ml( $r=0.999\ 8$ 、 $0.999\ 4$ );精密性、稳定性、重复性试验的RSD<3%,乙醇、甲苯的加样回收率分别为95.50%~103.50%、96.91%~103.74%,RSD分别为2.6%、2.2%( $n=9$ )。结论:该方法简单、灵敏、准确,可用于盐酸苯海拉明原料药中乙醇、甲苯残留量的测定。

**关键词** 顶空毛细管气相色谱法;盐酸苯海拉明原料药;残留溶剂;乙醇;甲苯

## Determination of Ethanol and Toluene Residual Solvent in Diphenhydramine Hydrochloride Raw Material by Headspace Capillary Gas Chromatography

TAN Xuehui<sup>1</sup>, QI Qiulan<sup>2</sup>, LIU Guoqiang<sup>2</sup>, FU Yinghua<sup>2</sup>(1.Nanxun District People's Hospital of Huzhou, Zhejiang Huzhou 313009, China; 2.College of Medicine, Jiaxing University, Zhejiang Jiaxing 314001, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the determination of residual solvent of ethanol and toluene in diphenhydramine hydrochloride raw material. METHODS: Headspace capillary gas chromatography and butanone as internal standard were used. The column was Agilent DB-624 capillary column, inlet temperature was 200 °C, hydrogen flame ionization detector was 250 °C, the carried gas was high purity nitrogen, flow rate was 3.0 ml/min with temperature programmed, the splitting-ratio was 20:1, the containers of headspace injector were in equilibrium at 80 °C for 30 min, and the injection time was 1 min. RESULTS: With this chromatographic condition, ethanol, toluene and internal standard peak were well separated; there was a good linear relationship of ethanol and toluene in the range of 0.02-0.8 mg/ml ( $r=0.999\ 8$  and  $r=0.999\ 4$ ); RSDs of precision and stability test were lower than 3%; recoveries were 95.50%-103.50% (RSD=2.6%,  $n=9$ ) and 96.91%-103.74% (RSD=2.2%,  $n=9$ ). CONCLUSIONS: The method is simple, sensitive and accurate, and can be used for the determination of residual solvent of ethanol and toluene in diphenhydramine hydrochloride raw material.

**KEYWORDS** Headspace capillary gas chromatography; Diphenhydramine hydrochloride raw material; Residual solvent; Ethanol; Toluene

盐酸苯海拉明是一种抗组胺药,其原料药为《中国药典》2015年版(二部)收载品种<sup>[1]</sup>,制剂有片剂和注射剂<sup>[1]</sup>。由于难以统一各生产厂家的工艺流程和溶剂种类,国家药典标准原则上不制定统一的原料药残留溶剂测定方法,盐酸苯海拉明原料药质量标准中亦未涉及相关内容。为有效控制该原料药质量,保证相关药品安全、有效,笔者对其中的残留溶剂测定方法进行了研究。而在该原料药制备工艺中使用了乙醇、甲苯两种溶剂,乙醇为三类溶剂,甲苯为二类溶剂,均需要在产品质量检验中加以控制。目前,有关残留溶剂测定有直接进样法<sup>[2]</sup>和顶空进样法<sup>[3-9]</sup>两种。为了提高检测灵敏度和准确度,笔者根据《中国药典》2015年版(四部)残留溶剂测定法<sup>[9]</sup>的要

求,采用顶空毛细管气相色谱(GC)法,以丁酮为内标建立了测定盐酸苯海拉明原料药中乙醇、甲苯残留量的方法。

### 1 材料

#### 1.1 仪器

6890N毛细管GC仪,包括HP7694E自动顶空进样器、氢火焰离子化检测器(FID)、ChemStation色谱数据工作站(美国Agilent公司);BP211D电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司,精度:±0.01 mg)。

#### 1.2 药品与试剂

盐酸苯海拉明原料药(由A药厂提供,批号:20110504、130205、130806,含量:99.1%、99.6%、100.1%);乙醇(无水乙醇)(分析纯,国药集团化学试剂有限公司,批号:20140518,纯度≥99.7%);甲苯(分析纯,杭州化学试剂有限公司,批号:20101108,纯度≥99.5%);丁酮(分析纯,杭州双林化工试剂厂,批号:20080215,纯度≥99.5%);二甲基甲酰胺为色谱纯,

\* 主管药师。研究方向:医院药学。电话:0572-3037215。E-mail:1243130262@qq.com

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

水为纯化水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Agilent DB-624 弹性石英毛细管柱(固定液为6% 氰丙基苯基-94% 聚二甲基硅氧烷, 30 m×0.535 mm×3.00 μm); 柱温: 程序升温, 初始温度70 ℃, 保持6 min, 并以20 ℃/min 速率升温至150 ℃, 保持5 min; 载气: 高纯氮气, 流速: 3.0 ml/min; 进样口温度: 200 ℃; FID 检测器温度: 250 ℃; 进样方式: 分流进样, 分流比: 20:1; 顶空平衡温度: 80 ℃; 平衡时间: 30 min; 进样时间: 1 min。在上述色谱条件下, 乙醇、甲苯与内标丁酮峰分离良好, 分离度均>1.5, 理论板数分别为16 932、26 160、207 182。色谱见图1。

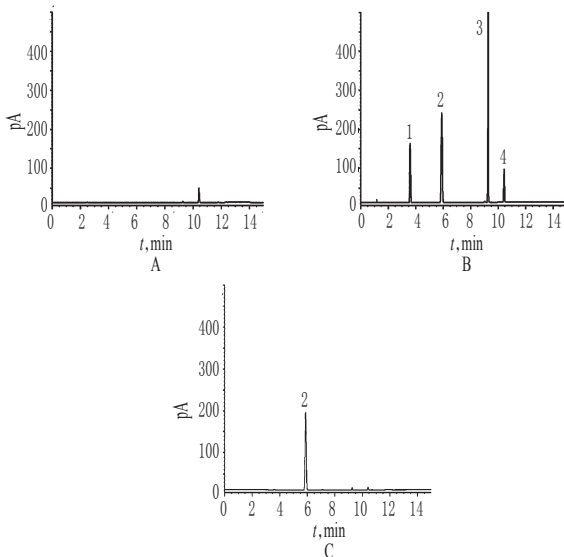


图1 毛细管气相色谱图

A. 空白溶液; B. 混合对照品溶液; C. 供试品溶液; 1. 乙醇; 2. 丁酮(内标); 3. 甲苯; 4. 二甲基甲酰胺

Fig 1 GC chromatograms

A. blank solution; B. mixed standard solution; C. test sample solution; 1. ethanol; 2. butanone (internal standard); 3. toluene; 4. *N,N*-dimethylformamide

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 内标贮备液和内标溶液 精密称取丁酮适量, 用水稀释制成2 mg/ml 的溶液, 作为内标贮备液。精密量取上述内标贮备液5 ml, 置于50 ml 量瓶中, 用水稀释至刻度, 作为内标溶液。

2.2.2 乙醇对照品贮备液 精密称取乙醇(无水乙醇)250.6 mg, 置于25 ml 量瓶中, 用水稀释至刻度, 即得。

2.2.3 甲苯对照品贮备液 精密称取甲苯250.2 mg, 置于25 ml 量瓶中, 加二甲基甲酰胺溶解并稀释至刻度, 即得。

2.2.4 混合对照品溶液 精密量取乙醇对照品贮备液5 ml、甲苯对照品贮备液0.89 ml 和内标贮备液10 ml, 置于同一100 ml 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 精密量取1 ml, 置于10 ml 顶空瓶中, 加盖密封, 即得。

2.2.5 供试品溶液 取样品约0.1 g, 精密称定, 置于10 ml 顶空瓶中, 精密加入内标溶液1 ml, 加盖密封, 振摇使溶解, 即得。

2.2.6 空白溶液 精密量取二甲基甲酰胺0.89 ml, 加水定容至100 ml, 摇匀, 精密量取1 ml, 置于10 ml 顶空瓶中, 加盖密

封, 即得。

### 2.3 线性关系考察

精密量取“2.2”项下乙醇、甲苯对照品贮备液各5 ml, 置于同一50 ml 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 精密量取0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、8.0 ml, 分别置于10 ml 量瓶中, 各精密加入“2.2.1”项下内标贮备液1 ml, 加水稀释至刻度, 摇匀, 再精密量取各1 ml, 分别置于10 ml 顶空瓶中, 加盖密封, 作为系列对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以待测成分质量浓度( $x$ , mg/ml)为横坐标、峰面积与内标物峰面积之比( $y$ )为纵坐标进行线性回归, 得乙醇回归方程为 $y=0.942 0x+0.002 87$ ( $r=0.999 8$ )、甲苯回归方程为 $y=60.848x-1.055$ ( $r=0.999 4$ )。结果表明, 乙醇、甲苯的检测质量浓度线性范围均为0.02~0.8 mg/ml。

### 2.4 检测限与定量限考察

取“2.2.4”项下混合对照品溶液适量, 用水逐级稀释, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 按信噪比为3:1 计算检测限, 得乙醇为0.5 μg/ml、甲苯为0.1 μg/ml; 按信噪比为10:1 计算定量限, 得乙醇为1.8 μg/ml、甲苯为0.3 μg/ml。

### 2.5 精密度试验

取“2.2.4”项下混合对照品溶液适量, 按“2.1”项下色谱条件重复进样测定6次, 记录峰面积。结果, 乙醇、甲苯的峰面积与内标物峰面积之比的RSD 分别为1.88%、2.90%( $n=6$ ), 表明仪器精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

取“2.2.4”项下混合对照品溶液适量, 分别于室温下放置0、2、4、6、12 h 时按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 乙醇、甲苯的峰面积与内标物峰面积之比的RSD 分别为2.53%、2.72%( $n=5$ ), 表明对照品溶液在室温下放置12 h 内稳定性较好。

### 2.7 重复性试验

精密称取样品(批号: 130205)0.1 g, 置于10 ml 顶空瓶中, 共6份, 分别精密加入“2.2.4”项下混合对照品溶液1 ml, 加盖密封, 振摇使溶解, 按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算乙醇、甲苯的含量。结果, 乙醇、甲苯的平均含量分别为0.499 2、0.088 5 mg/ml, RSD 分别为2.3%、2.7%( $n=6$ ), 表明本方法重复性良好。

### 2.8 加样回收率试验

精密称取样品(批号: 130205)0.1 g, 置于10 ml 顶空瓶中, 共9份, 分别精密加入相当于“2.2.4”项下混合对照品溶液质量浓度80%、100%、120%的溶液(每个质量浓度3份)各1.0 ml, 加盖密封, 振摇使溶解, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积并按内标法以峰面积之比计算加样回收率, 结果见表1。

### 2.9 样品中残留溶剂测定

精密称取3批样品各0.1 g, 按“2.2.5”项下方法制备供试品溶液, 照《中国药典》2015年版(四部)残留溶剂测定法<sup>[9]</sup>, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 另取“2.2.4”项下混合对照品溶液同法测定作对照, 并按内标法以峰面积之比计算乙醇、甲苯的含量, 结果见表2。

表1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery test(n=9)

残留溶剂	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,%			
乙醇	0	0.400 0	0.389 0	97.25	99.9	2.6			
	0	0.400 0	0.395 0	98.75					
	0	0.400 0	0.382 0	95.50					
	0	0.500 0	0.501 0	100.20					
	0	0.500 0	0.491 0	98.20					
	0	0.500 0	0.509 0	101.80					
	0	0.600 0	0.613 0	102.17					
	0	0.600 0	0.621 0	103.50					
	0	0.600 0	0.608 0	101.33					
	甲苯	0	0.071 3	0.070 6			99.02	100.3	2.2
		0	0.071 3	0.069 8			97.90		
		0	0.071 3	0.069 1			96.91		
		0	0.089 1	0.089 9			100.90		
		0	0.089 1	0.090 2			101.23		
		0	0.089 1	0.091 0			102.13		
0		0.107 0	0.111 0	103.74					
0		0.107 0	0.106 0	99.07					
0		0.107 0	0.109 0	101.87					

表2 样品中残留溶剂测定结果(n=3,%)

Tab 2 Determination results of residual solvent in samples(n=3,%)

批号	乙醇	甲苯
20110504	未检出	未检出
130205	未检出	未检出
130806	未检出	0.003

### 3 讨论

#### 3.1 溶剂的选择

盐酸苯海拉明可溶于水与二甲基甲酰胺,经比较水和二甲基甲酰胺两种溶剂,结果表明,采用水作为溶剂,样品中乙醇、甲苯的检测灵敏度大大提高,同时考虑到二甲基甲酰胺为有机溶剂,毒性大。故选取水作为制备供试品溶液的溶剂。

#### 3.2 内标物和色谱柱的选择

笔者曾考察了采用丙酮、正丙醇、乙酸乙酯作为内标,经试验发现丙酮、正丙醇、乙酸乙酯与乙醇均较难分离。改用丁酮作内标,在选定的色谱条件下,丁酮与乙醇、甲苯能很好的分离,保留时间较为适宜,柱效高,进样重复性好。故最终采用丁酮作内标。笔者还曾考察了采用HP-INNOWax、HP-5和DB-624这3种色谱柱进样时的系统适用性,结果表明以DB-624柱最优。在DB-624(30 m×0.535 mm×3.00 μm)柱上乙醇、甲苯与内标峰分离良好,乙醇、甲苯、内标峰峰形对称,保留时间分别为3.594、5.898、9.266 min,分离度分别为17.95、29.59、13.81,柱容量因子分别为0.77、1.90、3.56,理论板数分别为16 932、26 160、207 182。故最终选择DB-624为色谱柱。

#### 3.3 顶空平衡温度和平衡时间的选择

取“2.2.4”项下混合对照品溶液适量,共3份,分别在70、

80、85℃下加热平衡30 min后进样测定,结果表明,乙醇和内标丁酮的峰面积均随平衡温度升高而增大,而甲苯在80和85℃加热平衡下峰面积随温度升高而变小。故综合考虑选择加热温度为80℃。另取“2.2.4”项下混合对照品溶液适量,共3份,分别在80℃下加热10、20、30 min后进样测定,结果表明,乙醇和内标丁酮的峰面积随平衡时间延长而增大,而甲苯在平衡20和30 min时峰面积随时间延长而变小。故综合考虑选择加热时间为20 min。采用顶空进样法,可大大提高乙醇、甲苯的检测灵敏度,同时还可减少样品对色谱柱的污染,延长柱子的使用寿命。采用程序升温,先在低温下完成乙醇与内标丁酮的分离,再提高柱温,使高沸点的甲苯和二甲基甲酰胺溶剂快速出峰,从而达到快速分析的目的。

#### 3.4 结果分析

《中国药典》2015年版(四部)<sup>[9]</sup>规定的乙醇残留量限度不得过0.5%,甲苯残留量限度不得过0.089%。本试验结果表明,批号为130806样品检出甲苯残留量为0.003%,其余两批样品均未检出乙醇、甲苯,3批样品检测结果均符合规定。

综上所述,本方法简单、灵敏、准确,可用于盐酸苯海拉明原料药中乙醇、甲苯残留量的测定。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:1 000.
- [2] 苏畅,赵云丽,孙婷,等.毛细管气相色谱法检查盐酸美普他酚原料药中10种残留溶剂[J].中国药房,2012,23(33):3 140.
- [3] 颜敏,黄海萍,喻亮宇.顶空气相色谱法测定灯盏花滴丸中残留溶剂[J].药物分析杂志,2012,32(1):100.
- [4] 刘明理,魏宁漪,周颖,等.顶空气相色谱法测定托拉塞米原料药中残留溶剂[J].中国新药杂志,2012,21(16):1 872.
- [5] 吴朝华,王秀梅,顾保明.顶空毛细管气相色谱法测定盐酸丁卡因原料药中的残留溶剂[J].药物分析杂志,2011,31(6):1 188.
- [6] 吴鸳鸯,颜琳琦,罗金文.保健品固体制剂中10种残留溶剂GC分析及GC-MS确证[J].中国现代应用药学,2014,31(4):465.
- [7] 陆焯,夏宇沁,昌军,等.毛细管气相色谱法测定13种有机溶剂残留[J].复旦学报:医学版,2013,40(2):222.
- [8] 王嫦鹤,雷琨,王荪璇.顶空毛细管气相色谱法测定乌拉地尔原料药的溶剂残留量[J].中国医院药学杂志,2013,33(3):218.
- [9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:105.

(收稿日期:2015-07-14 修回日期:2016-05-11)

(编辑:周 箐)

《中国药房》杂志——WHO西太平洋地区医学索引(WPRIM)收录期刊,欢迎投稿、订阅