

顶空气相色谱法同时测定比沙可啶原料药中2种溶剂残留量

姜建国*, 孙 婷, 郭永辉, 韩学静, 苗会娟(河北省药品检验研究院, 石家庄 050011)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)30-4297-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.30.39

摘 要 目的:建立同时测定比沙可啶原料药中二氯甲烷和乙酸乙酯残留量的方法。方法:采用顶空气相色谱法。色谱柱为以6%氰丙基苯基-94%二甲基聚硅氧烷(DB-624)为固定液的毛细管柱,程序升温,进样口温度为220℃,检测器为氢火焰离子化检测器,温度为250℃,载气为高纯氮气,载气流速为3.0 ml/min,分流比为1:10,顶空加热温度为70℃,平衡时间为30 min,顶空瓶装样量为5 ml,顶空进样量为1 ml。结果:二氯甲烷和乙酸乙酯检测质量浓度线性范围分别为6~120 μg/ml($r=0.999\ 9$)、50~1 000 μg/ml($r=0.999\ 9$);定量限分别为0.2、1.7 μg,检测限分别为0.06、0.5 μg;精密度、稳定性、重复性试验的RSD≤3%;加样回收率分别为100.30%~102.00%(RSD=0.63%, $n=9$)、100.10%~101.30%(RSD=0.44%, $n=9$)。结论:该方法操作简便、结果准确,可用于同时测定比沙可啶原料药中二氯甲烷和乙酸乙酯的残留量。

关键词 比沙可啶;顶空气相色谱法;溶剂残留量;二氯甲烷;乙酸乙酯

Simultaneous Residual Determination of Two Organic Solvents in Bisacodyl Raw Material by Head-space GC

JIANG Jianguo, SUN Ting, GUO Yonghui, HAN Xuejing, MIAO Huijuan(Hebei Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous residual determination of dichloromethane and ethyl acetate in bisacodyl raw material. METHODS: Head-space GC was performed on the capillary column of 6% cyanopropyl phenyl-94% dimethyl polysiloxane (DB-624) by temperature programming, the temperature of injector was 220℃, detector was flame ionization detector with temperature of 250℃, carrier gas was high purity nitrogen with the flow rate of 3.0 ml/min, split ration was 1:10, headspace heating temperature was 70℃, equilibration time was 30 min, volume of headspace vial was 5 ml, and the injection volume was 1 ml. RESULTS: The linear range was 6-120 μg/ml for dichloromethane ($r=0.999\ 9$) and 50-1 000 μg/ml for ethyl acetate ($r=0.999\ 9$); the limit of quantitation was 0.2, 1.7 μg, limit of detection was 0.06, 0.5 μg; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were no higher than 3%; recoveries were 100.30%-102.00% (RSD=0.63%, $n=9$) and 100.10%-101.30% (RSD=0.44%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple and accurate, and can be used for the simultaneous residual determination of dichloromethane and ethyl acetate in bisacodyl raw material.

KEYWORDS Bisacodyl; Head-space GC; Residual determination; Dichloromethane; Ethyl acetate

比沙可啶,是德国20世纪50年代末上市且目前仍在临床上广泛使用的接触性缓泻剂^[1-3]。在该原料药的合成过程中,使用了二氯甲烷和乙酸乙酯^[4],其中乙酸乙酯残留可导致患者恶心、呕吐、腹痛、腹泻、倦睡、昏迷甚至死亡等;二氯甲烷属于二类残留溶剂且具有一定的毒性。该原料药收载于2015年版《中国药典》(二部)^[5],但该标准并未对二氯甲烷和乙酸乙酯的残留量作具体要求;且目前尚未见测定比沙可啶原料药中有机溶剂残留量的报道。因此,为保证药品质量和用药安全,笔者采用顶空气相色谱法同时测定比沙可啶原料药中二氯甲烷和乙酸乙酯的含量。

1 材料

1.1 仪器

Trace1310型气相色谱仪,包括TriPlusRSH型自动顶空进样器、氢火焰离子化检测器(FID)和CHROMLETEON 6色谱工作站(美国Thermo Fisher Scientific公司);XS105型十万分之一电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司);MCM36型百万分之一电子分析天平(德国Sartorius公司);KQ5200B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率:200 W,频率:40

kHz);GWA-UN2-C30型超纯水器(北京普析通用仪器有限责任公司)。

1.2 药品与试剂

比沙可啶原料药(A公司,编号:201301A;B公司,编号:201302B);二氯甲烷对照品(批号:M1550000,纯度:98%)、乙酸乙酯对照品(批号:209-686-8,纯度:99%)均购自美国药典委员会;*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)为色谱纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:以6%氰丙基苯基-94%二甲基聚硅氧烷(DB-624)为固定液的毛细管柱(30.00 m×0.32 mm,1.80 μm);程序升温:初始温度40℃,保持9 min,以40℃/min升温至200℃,保持10 min;进样口温度:220℃;检测器:FID;温度:250℃;载气:高纯氮气;载气流速:3.0 ml/min;分流比:1:10;顶空加热温度:70℃;平衡时间:30 min;顶空瓶装样量:5 ml;顶空进样量:1 ml。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取二氯甲烷、乙酸乙酯对照品各300、2 500 mg,置于同一50 ml量瓶中,加DMF溶解并定容,作为混合对照品贮备液。取上述混合对照品贮备液适量,置于50 ml量瓶中,加DMF溶解并定容,摇匀,制得二氯甲烷

* 主任药师,硕士。研究方向:药物分析。电话:0311-85212009。E-mail:122547652@qq.com

的质量浓度为 60 μg/ml、乙酸乙酯的质量浓度为 500 μg/ml 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取样品适量,精密称定,置于 50 ml 量瓶中,加 DMF 溶解并定容,摇匀,即得。

2.2.3 空白对照溶液 取 DMF 作为空白对照溶液。

2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液和空白对照溶液各适量,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,分离度>2.0;理论板数以乙酸乙酯峰计为 10 000,保留时间为 13.5 min。结果表明,其他成分对测定无干扰。

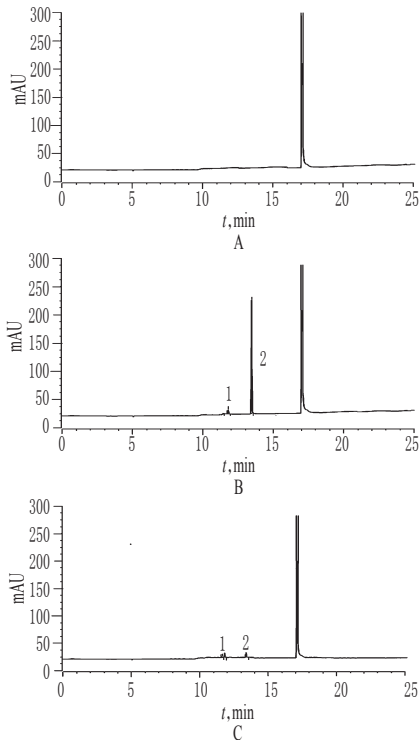


图 1 气相色谱图

A.空白对照;B.混合对照品;C.供试品;1.二氯甲烷;2.乙酸乙酯
Fig 1 GC chromatograms
A. blank control; B. mixed reference substance; C. test sample; 1. dichloromethane; 2. thyl acetate

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液 0.1、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 ml,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, μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得二氯甲烷的回归方程为 y=0.036x+0.001(r=0.999 9)、乙酸乙酯的回归方程为 y=0.855x-0.025(r=0.999 9)。结果表明,二氯甲烷和乙酸乙酯检测质量浓度线性范围分别为 6~120、50~1 000 μg/ml。

2.5 定量限与检测限考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,等倍逐步稀释,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。当信噪比为 10:1 时,得二氯甲烷和乙酸乙酯的定量限分别为 0.2、1.7 μg;当信噪比为 3:1 时,得二氯甲烷和乙酸乙酯的检测限分别为 0.06、0.5 μg。

2.6 精密度试验

精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,二氯甲烷和乙酸乙酯峰

面积的 RSD 分别为 3.0%、2.6%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

精密量取“2.2.2”项下供试品溶液(编号:201301A)适量,分别于室温下放置 0、2、4、6、8、10 h 时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,二氯甲烷和乙酸乙酯峰面积的 RSD 分别为 3%、2.3%(n=6),表明供试品溶液在室温下 10 h 内基本稳定。

2.8 重复性试验

取样品(编号:201301A)适量,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。结果,二氯甲烷和乙酸乙酯峰面积的 RSD 分别为 2.3%、2.1%(n=6),表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品(编号:201301A)适量,共 9 份,每份约 500 mg,置于 50 ml 量瓶中,分别加入低、中、高质量的二氯甲烷和乙酸乙酯对照品,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 tests(n=9)							
残留溶剂	取样量, mg	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, %
二氯甲烷	500.000 0	0.150 0	0.270 0	0.425 4	102.00	101.02	0.63
	500.000 0	0.150 0	0.270 0	0.423 7	101.37		
	500.000 0	0.150 0	0.270 0	0.424 6	101.70		
	500.000 0	0.150 0	0.300 0	0.451 8	100.60		
	500.000 0	0.150 0	0.300 0	0.454 1	101.37		
	500.000 0	0.150 0	0.300 0	0.452 3	100.77		
	500.000 0	0.150 0	0.330 0	0.480 5	101.52		
	500.000 0	0.150 0	0.330 0	0.482 9	100.88		
	500.000 0	0.150 0	0.330 0	0.481 0	100.30		
乙酸乙酯	500.000 0	0.100 0	2.250 0	2.377 0	101.20	100.81	0.44
	500.000 0	0.100 0	2.250 0	2.365 7	100.70		
	500.000 0	0.100 0	2.250 0	2.370 2	100.90		
	500.000 0	0.100 0	2.500 0	2.627 5	101.10		
	500.000 0	0.100 0	2.500 0	2.632 5	101.30		
	500.000 0	0.100 0	2.500 0	2.630 0	101.20		
	500.000 0	0.100 0	2.750 0	2.866 5	100.60		
	500.000 0	0.100 0	2.750 0	2.852 7	100.10		
	500.000 0	0.100 0	2.750 0	2.855 5	100.20		

2.10 样品中残留溶剂测定

取 2 批样品各适量,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,记录峰面积并计算二氯甲烷和乙酸乙酯的残留量。结果,2 批样品(编号:201301A、201302B)乙酸乙酯中的残留量分别为 0.2%、0.3%(n=3);1 批样品(编号:201301A)二氯甲烷的残留量为 0.03%(n=3),而另外 1 批样品则未检出。

3 讨论

3.1 气相色谱方法的选择

二氯甲烷和乙酸乙酯均为中、低沸点的有机挥发性溶剂^[6-11]。顶空气相色谱法的原理是通过加热装置将样品中可挥发组分烘出收集,使用该方法测定时可避免挥发性成分的损失,又可降低提取物引起的噪声;与液-液萃取和固相萃取相比,灵敏度更高、分析速度更快,可消除样品基质的潜在干扰。因此,本试验选择顶空气相色谱法进行二氯甲烷和乙酸乙酯残留量的测定。

3.2 提取溶剂的选择

HPLC法同时测定益肤丸中香豆素类化合物的含量

李小玲^{1*},刁娟娟²,李新霞^{2#}(1.新疆医科大学第二附属医院药剂科,乌鲁木齐 830028;2.新疆医科大学中心实验室分析测试中心,乌鲁木齐 830011)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)30-4299-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.30.40

摘要 目的:建立同时测定益肤丸中香豆素类化合物含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Inertsil ODS-3,流动相为乙腈-水(49:51, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为320 nm,柱温为30 ℃,进样量为20 μl。结果:蛇床子素、异欧前胡素和二氢欧山芹醇当归酸酯检测质量浓度线性范围分别为5.16~206.4 μg/ml($r=0.999\ 9$)、37.40~1 495.89 μg/ml($r=0.999\ 9$)、9.95~318.34 μg/ml($r=0.999\ 9$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD<3.0%;加样回收率分别为96.05%~103.19%(RSD=2.18%, $n=9$)、96.90%~103.09%(RSD=2.07%, $n=9$)、95.50%~103.57%(RSD=2.15%, $n=9$)。结论:该方法操作简便,精密度、稳定性、重复性较好,可用于益肤丸中香豆素类化合物含量的同时测定。

关键词 益肤丸;蛇床子素;异欧前胡素;二氢欧山芹醇当归酸酯;含量测定;高效液相色谱法

Simultaneous Determination of Coumarin Compounds in Yifu Pill by HPLC

LI Xiaoling¹, DIAO Juanjuan², LI Xinxia²(1.Dept. of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830028, China; 2.Analysis and Testing Center of Central Laboratory, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of coumarin compounds in Yifu pill. METHODS: HPLC was performed on the column of Inertsil ODS-3 with mobile phase of acetonitrile-water (49:51, V/V) at a flow rate was 1.0 ml/min, the detection wavelength was 320 nm, column temperature was 30 ℃, injection volume was 20 μl. RESULTS: The linear range was 5.16-206.4 μg/ml for osthole ($r=0.999\ 9$), 37.40-1 495.89 μg/ml for isoimperatorin ($r=0.999\ 9$) and 9.95-318.34 μg/ml for columbianadin ($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 3.0%; recoveries were 96.05% -103.19% (RSD=2.18%, $n=9$) for osthole, 96.90% -103.09% (RSD=2.07%, $n=9$) for isoimperatorin, 95.50% -103.57% (RSD=2.15%, $n=9$) for columbianadin. CONCLUSIONS: The method is simple with good precision, stability and reproducibility, and can be used for the simultaneous determination of coumarin compounds in Yifu pill.

KEYWORDS Yifu pill; Osthole; Isoimperatorin; Columbianadin; Content determination; HPLC

由于比沙可啶不溶于水^[5],且采用顶空气相色谱法测定样品时,一般使用二甲亚砜和DMF作为提取溶剂^[12]。结果,二甲亚砜作为提取溶剂时,样品在二甲亚砜中的溶解性较差且对其他峰干扰较大;DMF作为提取溶剂时,二氯甲烷和乙酸乙酯在DMF中的溶解性较好,且DMF沸点高,对其他峰的干扰较小。因此,笔者采用DMF作为本试验的提取溶剂。

综上所述,本方法操作简便、结果准确,可用于同时测定比沙可啶原料药中二氯甲烷和乙酸乙酯的残留量。

参考文献

[1] 王卉,杜春波,沈立,等.RP-HPLC法测定比沙可啶片剂含量及有关物质[J].药学进展,2005,29(12):565.
[2] 张奕华,侯秀清,黄赐福.比沙可啶合成工艺研究[J].中国药师,1999,2(1):7.
[3] 李颖,刘世宽,郝志刚.结肠定位给药制剂:比沙可啶速释片的研制[J].山东医药工业.2000,19(3):7.
[4] 张军辉,刘英华,李金岭,等.比沙可啶的合成工艺研究[J].精细化工中间体,2012,42(2):30.
[5] 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,2015:74.
[6] 祝波,赵鲁青,陈安珍,等.顶空采样-毛细管气相色谱法分析格列美脲原料药中的溶剂残留[J].色谱,2009,27(6):755.
[7] 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.
[8] 冯敏,王森,王曦,等.顶空气相色谱法测定西尼地平原料药中残留的三乙胺和哌啶[J].华西药学杂志,2014,29(5):596.
[9] 汪斌,郑璐,姚仲青,等.顶空气相色谱法测定胡黄连苷Ⅱ原料药中7种有机溶剂残留量[J].中国药房,2015,26(27):3 859.
[10] 谷央丽,沈丽娟,傅应华.顶空毛细管气相色谱法测定头孢克肟颗粒中乙醇残留量[J].中国药师.2013,16(1):63.
[11] 吴朝华,王秀梅,顾保明,等.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.
[12] 张晶蓉.顶空气相色谱法测定富马酸喹硫平的残留溶剂[J].天津药学,2015,27(5):17.

(收稿日期:2016-01-11 修回日期:2016-08-18)
(编辑:刘 柳)

* 主管药师。研究方向:中成药质量标准。电话:0991-4609105。
E-mail:lixiaoling008@sohu.com
通信作者:教授,博士生导师。研究方向:新药研发。电话:0991-4365034。E-mail:LXX6668@163.com