

顶空气相色谱法同时测定艾司奥美拉唑镁原料药中6种有机溶剂的残留量^Δ

姜鹰雁*,耿志鹏,刘 燕,索 栋,杨海霞^Δ(山东省药科学院生物药物重点实验室,济南 250101)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)15-2093-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.15.22

摘 要 目的:建立同时测定艾司奥美拉唑镁原料药中甲醇、异丙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯6种有机溶剂残留量的方法。方法:采用顶空气相色谱法。色谱柱为DB-624毛细管柱,程序升温,进样口温度为200℃,检测器为氢火焰离子化检测器,检测器温度为250℃,载气为氮气,氮气流速为2.0 mL/min,分流比为5:1,顶空进样量为1 mL,顶空平衡温度为80℃,平衡时间为20 min。结果:甲醇、异丙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯检测质量浓度线性范围分别为12.56~628.00 μg/mL($r=0.999\ 7$)、20.22~1 011.20 μg/mL($r=0.999\ 9$)、1.96~97.76 μg/mL($r=0.999\ 7$)、3.10~154.88 μg/mL($r=0.999\ 8$)、20.69~1 034.56 μg/mL($r=0.999\ 8$)、3.53~176.72 μg/mL($r=0.999\ 8$);定量限分别为1.00、0.91、0.47、0.93、0.41、0.35 μg/mL,检测限分别为0.31、0.30、0.14、0.31、0.12、0.11 μg/mL;精密性、稳定性、重复性试验的RSD<3%;加样回收率分别为94.53%~101.29%(RSD=2.15%, $n=9$)、97.78%~103.42%(RSD=1.77%, $n=9$)、96.99%~105.76%(RSD=2.59%, $n=9$)、96.83%~102.05%(RSD=1.86%, $n=9$)、97.98%~101.13%(RSD=0.88%, $n=9$)、97.80%~102.40%(RSD=1.41%, $n=9$)。结论:该方法灵敏、准确,可用于艾司奥美拉唑镁原料药中甲醇、异丙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯6种有机溶剂残留量的同时测定。
关键词 艾司奥美拉唑镁;顶空气相色谱法;有机溶剂;残留量;甲醇;异丙醇;乙腈;二氯甲烷;乙酸乙酯;甲苯

Simultaneous Determination of 6 Residual Organic Solvents in Omeprazole Magnesium by Headspace GC
JIANG Yingyan, GENG Zhipeng, LIU Yan, SUO Dong, YANG Haixia (Key Laboratory of Biopharmaceuticals, Shandong Academy of Pharmaceutical Science, Jinan 250101, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of 6 kinds of residual organic solvents in Omeprazole magnesium, such as methanol, isopropanol, acetonitrile, dichloromethane, ethyl acetate and toluene. METHODS: Headspace GC was adopted. The determination was performed on the column of DB-624 column by temperature programming. The inlet temperature was 200℃, and hydrogen flame ionization detector was adopted with the temperature of 250℃; nitrogen gas was used as carrier gas with flow rate of 2.0 mL/min; the splitting-ratio was 5:1, and sample size was 1 mL; the headspace temperature was 80℃ and the equilibrium time was 20 min. RESULTS: The linear range were 12.56-628.00 μg/mL for methanol ($r=0.999\ 7$), 20.22-1011.20 μg/mL for isopropanol ($r=0.999\ 9$), 1.96-97.76 μg/mL for acetonitrile ($r=0.999\ 7$), 3.10-154.88 μg/mL for dichloromethane ($r=0.999\ 8$), 20.69-1034.56 μg/mL for ethyl acetate ($r=0.999\ 8$), and 3.53-176.72 μg/mL for toluene ($r=0.999\ 8$); the limits of quantitation were 1.00, 0.91, 0.47, 0.93, 0.41 and 0.35 μg/mL respectively; the limits of detection were 0.31, 0.30, 0.14, 0.31, 0.12 and 0.11 μg/mL respectively; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 3%; the recoveries were 94.53%-101.29% (RSD=2.15%, $n=9$), 97.78%-103.42% (RSD=1.77%, $n=9$), 96.99%-105.76% (RSD=2.59%, $n=9$), 96.83%-102.05% (RSD=1.86%, $n=9$), 97.98%-101.13% (RSD=0.88%, $n=9$) and 97.80%-102.40% (RSD=1.41%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is sensitive and accurate, can be used for the simultaneous determination of 6 kinds of residual organic solvents in Omeprazole magnesium, such as methanol, isopropanol, acetonitrile, dichloromethane, ethyl acetate and toluene.
KEYWORDS Omeprazole magnesium; Headspace GC; Organic solvent; Residual; Methanol; Isopropanol; Acetonitrile; Dichloromethane; Ethyl acetate; Toluene

艾司奥美拉唑镁是奥美拉唑的S异构体的镁盐^[1],是一种弱碱性物质,临床主要用于胃食管反流性疾病、十二指肠溃疡、消化性食管炎等相关疾病的治疗^[2-3]。艾

司奥美拉唑镁与奥美拉唑相比,其肝脏的首关效应更低,不良反应发生率更低,临床治疗效果更好^[4-6]。艾司奥美拉唑镁质量标准收载于《美国药典》(USP)、《欧洲药典》(EP)、《英国药典》(BP)等国外药典^[7-9],但均未对其残留溶剂检测方法作出规定。而人用药品注册技术要求国际协调会议(ICH)对药品中残留溶剂的种类和限度有明确规定^[10]。艾司奥美拉唑镁在合成工艺中使用了甲醇、异丙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯6种有

Δ 基金项目:“重大新药创制”科技重大专项(No.2009ZX09301-013)
* 工程师,硕士。研究方向:药物分析。电话:0531-81213067。
E-mail:yyjiang2009@163.com
通信作者:高级工程师,硕士。研究方向:药物分析。电话:0531-81213065。E-mail:hxyangxu@163.com

机溶剂,为有效控制该制剂质量,保证用药安全,必须对上述有机溶剂残留量进行有效控制^[11]。鉴于此,本课题组参考相关文献^[12-15],首次采用顶空气相色谱法建立了同时测定艾司奥美拉唑镁原料药中甲醇、异丙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯6种有机溶剂残留量的方法,以期艾司奥美拉唑镁原料药的质量控制提供依据。

1 材料

1.1 仪器

7890B型气相色谱仪,包括氢火焰离子化检测器(FID)、色谱工作站及7697A顶空进样器(美国Agilent公司);XS-205型电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司)。

1.2 药品与试剂

艾司奥美拉唑镁原料药(山东省药学科学院生物药物重点实验室自制,批号:20140301、20140302、20140303);甲醇对照品(批号:130308,纯度:≥99.5%)、异丙醇对照品(批号:121220,纯度:≥99.5%)、乙腈对照品(批号:130913,纯度:≥99.5%)均购自天津市康科德科技有限公司;二氯甲烷对照品(批号:130731,纯度:≥99.5%)、乙酸乙酯对照品(批号:130701,纯度:≥99.5%)均购自西陇化工股份有限公司;甲苯对照品(莱阳经济技术开发区精细化工厂,批号:20110308,纯度:≥99.5%);N,N-二甲基乙酰胺为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:DB-624毛细管柱(30 m×0.53 mm,3.0 μm);升温程序:初始温度50℃,保持5 min,以3℃/min升温至100℃,再以30℃/min升温至230℃,保持3 min;进样口温度:200℃;检测器:FID;检测器温度:250℃;载气:氮气;氮气流速:2.0 mL/min;分流比:5:1;顶空进样量:1 mL;顶空平衡温度:80℃;平衡时间:20 min。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取甲醇对照品78.50 mg、异丙醇对照品126.40 mg、乙腈对照品12.22 mg、二氯甲烷对照品19.36 mg、乙酸乙酯对照品129.32 mg、甲苯对照品22.09 mg,置于同一50 mL量瓶中,加适量N,N-二甲基乙酰胺定容,摇匀,作为混合对照品贮备液。精密量取5 mL混合对照品贮备液,置于50 mL量瓶中,加N,N-二甲基乙酰胺定容,摇匀,即得。

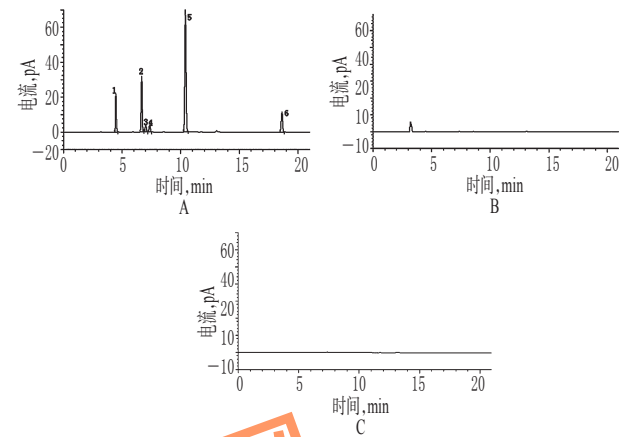
2.2.2 供试品溶液 取样品约0.25 g,精密称定,置于顶空瓶中,精密加N,N-二甲基乙酰胺5 mL,密封,振摇,使溶解,即得。

2.2.3 空白对照溶液 精密量取N,N-二甲基乙酰胺5 mL,置于顶空瓶中,密封,即得。

2.3 专属性及系统适用性试验

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,各待测有机溶剂峰均能达到基线分离,分离度均>1.5;甲醇、异丙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯的保留时间分别为4.47、6.66、7.00、7.35、10.40、18.63 min,理论板数以各待测有机溶剂峰计均>5 000。结果表明,其他成分对测定无干扰。



A.混合对照品;B.供试品;C.空白对照;1.甲醇;2.异丙醇;3.乙腈;4.二氯甲烷;5.乙酸乙酯;6.甲苯
A.mixed control; B.test sample; C.blank control solution; 1.methanol; 2.isopropanol; 3.acetonitrile; 4.dichloromethane; 5.ethyl acetate; 6.toluene

图1 气相色谱图

Fig 1 GC Chromatograms

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下混合对照品贮备液0.4、1.0、2.5、5.0、6.0、20 mL,分别置于50 mL量瓶中,加N,N-二甲基乙酰胺定容,摇匀,即得系列混合对照品溶液。取上述系列混合对照品溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以各待测有机溶剂质量浓度(x, μg/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,回归方程与线性范围见表1。

表1 回归方程与线性范围

Tab 1 Regression equations and linear ranges

待测有机溶剂	回归方程	r	线性范围, μg/mL
甲醇	y=1.645 4x+2.932 1	0.999 7	12.56~628.00
异丙醇	y=1.688 4x-4.289 4	0.999 9	20.22~1 011.20
乙腈	y=2.112 0x+1.100 9	0.999 7	1.96~97.76
二氯甲烷	y=1.169 2x+1.817 8	0.999 8	3.10~154.88
乙酸乙酯	y=3.834 3x-3.344 2	0.999 8	20.69~1 034.56
甲苯	y=3.975 1x+1.764 1	0.999 8	3.53~176.72

2.5 定量限(LOQ)与检测限(LOD)考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。当信噪比为10:1时,得LOQ;当信噪比为3:1时,得LOD,结果见表2。

2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,甲醇、异

表2 LOQ与LOD测定结果

Tab 2 Determination results of LOQ and LOD

待测有机溶剂	LOQ, $\mu\text{g/mL}$	LOD, $\mu\text{g/mL}$
甲醇	1.00	0.31
异丙醇	0.91	0.30
乙腈	0.47	0.14
二氯甲烷	0.93	0.31
乙酸乙酯	0.41	0.12
甲苯	0.35	0.11

丙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯峰面积的RSD分别为2.22%、2.18%、0.97%、1.09%、1.19%、1.20% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取“2.2.1”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,甲醇、异丙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯峰面积的RSD分别为2.35%、2.05%、1.22%、1.27%、1.62%、1.08% ($n=5$),表明混合对照品溶液在室温下放置12 h内稳定性良好。

2.8 重复性试验

精密称取样品(批号:20140301)约0.25 g,共6份,分别置于顶空瓶内,分别精密加入“2.2.1”项下混合对照品溶液5 mL,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,甲醇、异丙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯峰面积的RSD分别为2.29%、2.05%、1.39%、1.40%、1.30%、1.05% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

取样品(批号:20140301)适量,共9份,分别置于50 mL量瓶中,分别加入低、中、高质量的各待测有机溶剂对照品,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3。

2.10 样品有机溶剂残留量测定

取3批样品(批号:20140301、20140302、20140303)各适量,分别按“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,记录峰面积并计算有机溶剂残留量。结果,3批样品中均未检出残留溶剂。

3 讨论

3.1 色谱柱的选择

本课题组曾采用Agilent HP-5(30 m $\times$ 0.32 mm, 0.25 μm)、DB-1(30 m $\times$ 0.32 mm, 1 μm)、DB-624(30 m $\times$ 0.53 mm, 1.8 μm)等毛细管柱对6种待测有机溶剂进行分离。结果,采用HP-5、DB-1毛细管柱时,混合对照品溶液各主成分峰对称因子较差,且个别待测有机溶剂峰与其他峰重合,不能完全将6种待测有机溶剂分离;采用DB-624毛细管柱可使6种待测有机溶剂达到基线分离。进一步研究了DB-624毛细管柱填料内径分别为(30 m $\times$ 0.32 mm, 1.8 μm)及(30 m $\times$ 0.53 mm, 3.0 μm)时6

表3 加样回收率试验结果($n=9$)Tab 3 Results of recovery test($n=9$)

待测有机溶剂	取样量, g	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
甲醇	0.250 62	0	628.00	621.01	98.89	97.91	2.15
	0.250 32	0	628.00	607.16	96.68		
	0.250 74	0	628.00	619.81	98.70		
	0.251 22	0	785.00	753.53	95.99		
	0.251 10	0	785.00	742.08	94.53		
	0.250 36	0	785.00	757.74	96.53		
	0.249 96	0	942.00	954.11	101.29		
	0.251 03	0	942.00	932.42	98.98		
	0.250 11	0	942.00	938.15	99.59		
	0.250 62	0	1 011.20	1 008.48	99.73		
	0.250 32	0	1 011.20	1 030.70	101.93		
异丙醇	0.250 74	0	1 011.20	988.73	97.78	100.92	1.77
	0.251 22	0	1 264.00	1 307.20	103.42		
	0.251 10	0	1 264.00	1 272.33	100.66		
	0.250 36	0	1 264.00	1 298.25	102.71		
	0.249 96	0	1 516.80	1 543.59	101.77		
	0.251 03	0	1 516.80	1 533.09	101.07		
	0.250 11	0	1 516.80	1 504.39	99.18		
	0.250 62	0	97.76	99.02	101.29		2.59
	0.250 32	0	97.76	101.69	104.02		
	0.250 74	0	97.76	103.39	105.76		
	0.251 22	0	122.20	120.38	98.51		
乙腈	0.251 10	0	122.20	122.81	100.50		
	0.250 36	0	122.20	124.26	101.69		
	0.249 96	0	146.64	148.78	101.46		
	0.251 03	0	146.64	147.56	100.63		
	0.250 11	0	146.64	142.22	96.99		
	0.250 62	0	154.88	157.39	101.62	99.35	1.86
	0.250 32	0	154.88	152.94	98.75		
	0.250 74	0	154.88	156.58	101.10		
	0.251 22	0	193.60	189.35	97.80		
	0.251 10	0	193.60	189.35	97.80		
	0.250 36	0	193.60	192.59	99.48		
	0.249 96	0	232.32	237.09	102.05		
	0.251 03	0	232.32	229.41	98.75		
	0.250 11	0	232.32	224.96	96.83		
乙酸乙酯	0.250 62	0	1 034.56	1 035.95	101.13	99.34	0.88
	0.250 32	0	1 034.56	1 030.42	99.60		
	0.250 74	0	1 034.56	1 028.10	99.38		
	0.251 22	0	1 293.20	1 267.03	97.98		
	0.251 10	0	1 293.20	1 273.72	98.49		
	0.250 36	0	1 293.20	1 300.72	100.58		
	0.249 96	0	1 551.84	1 555.47	100.23		
	0.251 03	0	1 551.84	1 537.08	99.49		
	0.250 11	0	1 551.84	1 531.03	98.66		
	0.250 62	0	176.72	177.51	100.45	100.43	1.41
	0.250 32	0	176.72	180.96	102.40		
甲苯	0.250 74	0	176.72	175.66	99.40		
	0.251 22	0	220.90	220.16	99.67		
	0.251 10	0	220.90	221.52	100.28		
	0.250 36	0	220.90	222.87	100.89		
	0.249 96	0	265.08	259.24	97.80		
	0.251 03	0	265.08	270.95	102.21		
	0.250 11	0	265.08	267.25	100.82		

种待测有机溶剂的分离情况,发现当采用DB-624毛细管柱(30 m $\times$ 0.53 mm, 3.0 μm)时,各待测有机溶剂峰相

对于前者对称因子较好,理论板数较高,且保留时间较适宜,分离度较高。因此,本试验选择 DB-624 毛细管柱(30 m×0.53 mm, 3.0 μm)测定样品中的有机溶剂残留量。

3.2 顶空平衡温度与平衡时间的选择

当平衡时间为 20 min 时,本课题组分别考察了顶空平衡温度为 70、80、90 ℃ 时各待测有机溶剂的色谱峰峰面积,结果表明随着顶空平衡温度的升高,色谱峰峰面积增加,灵敏度也随之提高,考虑到溶剂的沸点会对检测结果产生影响^[16-17],且当平衡温度为 80 ℃ 时各待测有机溶剂已有较好的响应,满足检测要求,最终选择 80 ℃ 作为顶空平衡温度。当顶空平衡温度为 80 ℃ 时,分别对平衡时间 10、20 和 30 min 进行比较,结果表明当平衡时间达到 20 min 与 30 min 时各待测有机溶剂峰面积没有明显变化,且均高于 10 min 时,说明 20 min 时已经达到气液平衡。故本试验选择顶空平衡时间为 20 min。

综上所述,本方法灵敏、准确,可用于艾司奥美拉唑镁原料药中甲醇、异丙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯 6 种有机溶剂残留量的同时测定。

参考文献

[1] 郭述金,孙玲,温庆辉,等.埃索美拉唑临床安全性分析[J].中国药物评价,2016,33(1):36-39.

[2] 张培培,王永庆,龚晓健,等.质子泵抑制剂研究新进展[J].药学进展,2011,35(11):487-495.

[3] Pastoris O, Verri M, Boschi F, et al. Effects of esomeprazole on glutathione levels and mitochondrial oxidative phosphorylation in the gastric mucosa of rats treated with indomethacin[J]. *N-S Arch Pharmacol*, 2008, 378(4): 421-429.

[4] 张岚.埃索美拉唑和奥美拉唑治疗反流性食管炎的比较[J].中国中医药现代远程教育,2008,6(8):839-840.

[5] 余勤,向瑾,郑莉,等.埃索美拉唑肠溶胶囊人体生物等效

性试验[J].华西医学,2012,27(7):971-974.

[6] 孙洁,张海宁,朱国卿.埃索美拉唑的临床应用[J].实用药物与临床,2008,11(5):314-315.

[7] The United States Pharmacopeial Convention. *USP38-NF33* [S].2015.

[8] European Directorate for Quality Medicines. *Healthcare European Pharmacopoeia: Voume II* [S].2014.

[9] British Pharmacipoeia Commission Office. *British Pharmacipoeia*[S].2015.

[10] International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. *In Q3C(R4) impurities: guidelines for residual solvents*[S].2009.

[11] 成海平.化学药物残留溶剂质量标准制定的原则与要求[J].中国新药杂志,2008,17(20):1814-1816.

[12] 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,2015:127-128.

[13] 韩薇,赵丽云,燕强勇,等.顶空气相色谱法测定埃索美拉唑钠中溶剂残留量[J].沈阳药科大学学报,2012,29(4):276-279.

[14] 朱永琴,王志远,杨东菁,等.顶空气相色谱法测定酒石酸罗格列酮原料药中 4 种有机溶剂残留量[J].中国药房,2014,25(27):3518-3520.

[15] 仲海洁,胡军华,王晓娇,等.气相色谱法测定六味地黄苷糖原料药中 7 种残留溶剂[J].中国药房,2016,27(6):797-800.

[16] 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,2015:105-109.

[17] 胡慧廉.顶空气相色谱法测定氟尼辛葡甲胺原料药中有有机溶剂残留量[J].色谱,2012,30(1):99-102.

(收稿日期:2016-08-09 修回日期:2016-12-12)

(编辑:刘 柳)

《中国药房》杂志——中文核心期刊,欢迎投稿、订阅