

顶空气相色谱法测定盐酸溴己新原料药中4种有机溶剂的残留量

江月华^{1*}, 李俊^{2#}, 王英瑛²(1.浙江万邦药业股份有限公司, 浙江温岭 317500; 2.台州市食品药品检验所, 浙江台州 318000)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)25-2366-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.25.23

摘要 目的:建立测定盐酸溴己新原料药中4种有机溶剂(丙酮、乙醇、甲苯和乙酸)残留量的方法。方法:采用顶空气相色谱法分别测定。色谱柱均为HP-FFAP柱,检测器均为氢火焰离子化检测器,温度均为250℃;丙酮、乙醇、甲苯检测进样口温度为200℃,程序升温,顶空瓶平衡温度80℃,时间30min,以二甲基亚砜为溶解介质;乙酸检测进样口温度为150℃,柱温60℃,顶空瓶平衡温度60℃,时间20min,以甲醇为溶解介质,衍生化法检测。结果:在2种色谱条件下,各被测溶剂峰均分离良好,线性相关系数均大于0.999;丙酮、乙醇、甲苯和乙酸的回收率分别为104.4%、98.7%、105.7%、100.8%,RSD分别为2.3%、2.6%、2.7%、2.1%($n=3$);检测限分别为0.25、1.21、0.18、0.32 μg/ml。样品中只检出乙醇。结论:建立的方法准确、迅速,可用于检测盐酸溴己新原料药中残留的丙酮、乙醇、甲苯和乙酸。

关键词 顶空气相色谱法;盐酸溴己新原料药;有机溶剂;残留量测定

Residual Determination of 4 Kinds of Organic Solvents in Bromhexine Hydrochloride Raw Material by Headspace Gas Chromatography

JIANG Yue-hua¹, LI Jun², WANG Ying-ying²(1.Zhejiang Wanbang Pharmaceutical Co., Ltd., Zhejiang Wenling 317500, China; 2.Taizhou Institute for Food and Drug Control, Zhejiang Taizhou 318000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of 4 residual organic solvents in bromhexine hydrochloride raw material, such as acetone, ethanol, methylbenzene and acetic acid. METHODS: Headspace gas chromatography was adopted. The determination was performed on HP-FFAP column. FID detector was adopted with temperature of 250 °C. The inlet temperature was 200 °C for acetone, ethanol and methylbenzene, and column temperature was programmed temperature; vial equilibration temperature was 80 °C and maintained for 30 min; dimethyl sulfoxide was used as dissolution medium. The inlet temperature was 150 °C for acetic acid and column temperature was 60 °C; vial equilibration temperature was 60 °C and maintained for 20 min; methanol was used as dissolution medium for derivatization detection. RESULTS: All peaks could be separated from each other in chromatogram. The linearity of four solvents were fairly good ($r>0.999$). The average recovery of acetone, ethanol, toluene and acetic acid were 104.4% (RSD=2.3%, $n=3$), 98.7% (RSD=2.6%, $n=3$), 105.7% (RSD=2.7%, $n=3$) and 100.8% (RSD=2.1%, $n=3$), respectively. The limits of detection were 0.25, 1.21, 0.18, 0.32 μg/ml, respectively. Only ethanol was found in samples. CONCLUSIONS: The method is accurate and rapid for the determination of residual acetone, ethanol, methylbenzene and acetic acid in bromhexine hydrochloride raw material.

KEYWORDS Headspace gas chromatography; Bromhexine hydrochloride raw material; Organic solvent; Residual determination

盐酸溴己新是一种临床上常用的祛痰药,疗效确切,目前广泛用于慢性支气管炎、哮喘等引起的痰液黏稠不易咳出的患者。盐酸溴己新生产过程中使用了丙酮、乙醇、甲苯和乙酸等有机溶剂,根据2010年版《中国药典》(二部)要求^[1]及人用药品注册技术要求国际协调会(ICH)的有机溶剂残留量指导原则^[2],应对原料药中残留的有机溶剂加以控制。笔者参考有关文献^[3-5],建立了顶空气相色谱法测定盐酸溴己新原料药中有机溶剂残留量的方法,结果表明建立的方法灵敏、准确、迅速。

* 工程师。研究方向:药物分析与质量管理。E-mail:jyh661106@163.com

通信作者:副主任药师,硕士。研究方向:药物分析。电话:0576-88552731。E-mail:jlee7002@126.com

盐酸溴己新原料药合成中涉及有机溶剂使用的路线见图1。

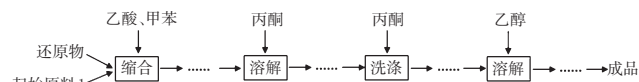


图1 盐酸溴己新合成路线图

Fig 1 Synthetic route of bromhexine hydrochloride

1 材料

1.1 仪器

配备氢火焰离子化检测器(FID)、G1888顶空进样器的6890N气相色谱仪(美国Agilent公司);BP221S型电子天平(德国Sartorius公司)。

1.2 药品与试剂

盐酸溴己新原料药(浙江万邦药业股份有限公司,批号:100613、100614、100615,纯度:99.6%、99.6%、99.7%);二甲亚砜(DMSO)、甲醇均为色谱纯,丙酮、乙醇、甲苯和乙酸均为分析纯(含量:均不低于99.5%)。

2 方法与结果

2.1 乙醇、丙酮和甲苯的测定

2.1.1 溶液配制。(1)对照品贮备液。分别精密称取丙酮、乙醇和甲苯各适量分置于3个50 ml量瓶中,分别加DMSO溶解并稀释制成每1 ml含丙酮约10 mg、乙醇约10 mg、甲苯约1.78 mg的溶液。分别量取10 ml置于同一个100 ml量瓶中,加DMSO稀释至刻度,摇匀,即得混合对照品贮备液。(2)对照品溶液。精密量取上述对照品贮备液5 ml,置于50 ml量瓶中,加DMSO稀释至刻度,摇匀,得混合对照品溶液。精密量取5 ml置于20 ml顶空瓶中,加盖,密封,即得。(3)供试品溶液。精密称取约0.1 g盐酸溴己新原料药置于顶空瓶中,精密加入5.0 ml DMSO,加盖密封,微加热,振摇使完全溶解,摇匀即得。

2.1.2 色谱条件及系统适用性试验。色谱柱为HP-FFAP毛细管色谱柱(30.0 m×0.53 mm, 1 μm);进样口温度为200 ℃,分流进样,分流比为1:1;FID检测器温度为250 ℃;载气为氮气,恒流模式,载气流速为2.0 ml/min;柱温采取程序升温模式:40 ℃保持5 min,然后以20 ℃/min的速率升温至200 ℃,保持4 min;顶空瓶平衡温度为80 ℃,平衡时间为30 min,进样量为1 ml。

在上述色谱条件下,对照品溶液色谱图中丙酮、乙醇和甲苯3个色谱峰相互间的分离度分别为24.82、24.90,理论板数分别为123 756、263 880、436 891。对照品溶液和空白溶剂(DMSO)色谱图见图1。

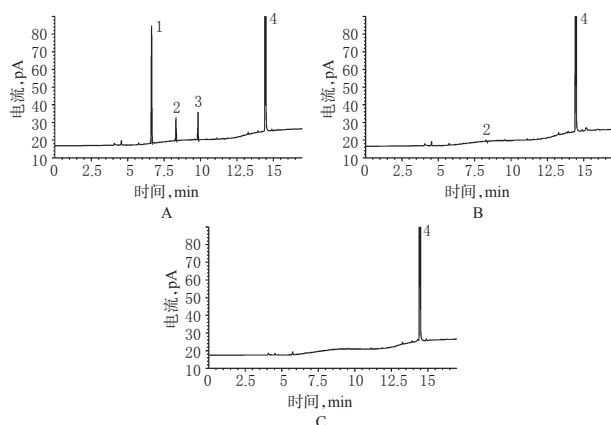


图2 丙酮、乙醇和甲苯的气相色谱图

A.对照品溶液;B.供试品溶液;C.空白溶剂;1.丙酮;2.乙醇;3.甲苯;4. DMSO

Fig 2 GC chromatograms of acetone, ethanol and toluene

A. substance control; B. test solution; C. blank solvent; 1.acetone; 2. ethanol; 3.toluene; 4. dimethyl sulfoxide

2.1.3 精密度试验。取“2.1.1”项下的对照品溶液连续进样5次,测得丙酮、乙醇和甲苯峰面积的RSD分别为0.8%、0.7%和0.7%(n=5),表明仪器的精密度符合要求。

2.1.4 检测限和定量限试验。精密量取各单溶剂对照品贮备液适量,用DMSO逐步稀释并按“2.1.2”项下的色谱条件分别进样测定。结果按信噪比为3测得丙酮、乙醇和甲苯的检测限分别为0.25、1.21、0.18 μg/ml,相当于检出供试品溶液中的量分别为0.001 2%、0.006%、0.000 9%;按信噪比为10测得丙酮、乙醇和甲苯的定量限分别为0.80、4.03、0.58 μg/ml,相当于检出供试品溶液中的量分别为0.004%、0.02%、0.003%。

2.1.5 线性关系考察。精密量取混合对照品贮备溶液0.5、1.0、2.5、5.0、7.5、10.0 ml分别置于50 ml量瓶中,分别加DMSO稀释至刻度,摇匀,即制成相当于混合对照品溶液10%、20%、50%、100%、150%、200%的线性系列测试溶液,另以各被测物的定量限质量浓度溶液作为各溶剂线性测试的最低点,按“2.1.2”项下的色谱条件分别进样测定,得到以峰面积(y)与质量浓度(x)进行回归后的方程分别为:丙酮 $y=0.300 6x-0.124 8$ ($r=0.999 8$);乙醇 $y=1.793 4x-1.950 9$ ($r=0.999 8$);甲苯 $y=1.775 1x-0.352 5$ ($r=0.999 8$)。表明丙酮、甲苯、乙醇的检测质量浓度线性范围分别为0.80~200.92、0.58~36.50、4.03~201.56 μg/ml。

2.1.6 重复性试验。分别精密称取盐酸溴己新原料药(批号:100613)6份,各约0.10 g,置于顶空瓶中,分别加入DMSO 5.0 ml,加盖密封,微加热,振摇使完全溶解,摇匀。进样测定,结果丙酮和甲苯未检出,乙醇的平均含量为0.011%,RSD=0.8%(n=6)。

2.1.7 回收率试验。精密称取盐酸溴己新原料药(批号:100613)9份,各0.10 g,分别加入5.0 ml“2.1.5”项下10%、100%、200%溶液,每个质量浓度3份,加盖密封,微加热,振摇使完全溶解,配制成10%、100%、200%的回收率测试溶液。进样测定,结果丙酮、乙醇和甲苯的平均回收率分别为104.4%、98.7%、105.7%,RSD分别为2.3%、2.6%、2.7%(n=3),均符合规定,表明本方法准确度好。

2.2 乙酸残留量的测定

2.2.1 溶液配制。(1)乙酸对照品贮备液:精密称取乙酸适量置于100 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释制成每1 ml含乙醇约1 mg的溶液。(2)对照品溶液:精密量取乙酸对照品贮备液5 ml,置于50 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得对照品溶液。精密量取乙酸对照品溶液5.0 ml置于20 ml顶空瓶中,精密加入1 ml硫酸-甲醇溶液(1:1),加盖,密封,摇匀即得。(3)供试品溶液:精密称取约0.1 g样品置于顶空瓶中,精密加入5.0 ml甲醇轻轻振摇,再精密加入1 ml硫酸-甲醇溶液(1:1),振摇使完全溶解,加盖密封,摇匀即得。

2.2.2 色谱条件及系统适用性试验。色谱柱为HP-FFAP毛细管色谱柱(30.0 m×0.53 mm, 1 μm);进样口温度为150 ℃,分流进样,分流比为5:1;FID温度为250 ℃;载气为氮气,恒流模式,载气流速为3.0 ml/min;柱温为60 ℃;顶空瓶平衡温度为60 ℃,平衡时间为20 min,进样量为1 ml。

在上述色谱条件下,乙酸对照品溶液进样后,乙酸衍生物色谱峰与相邻杂质峰之间的分离度为8.8,理论板数以乙酸计为72 981。对照品溶液和空白溶剂(甲醇)色谱图见图3。

2.2.3 精密度试验。精密量取“2.2.1”项下的对照品溶液进样5次,测得乙酸的RSD为1.2%(n=5),表明仪器的精密度符合

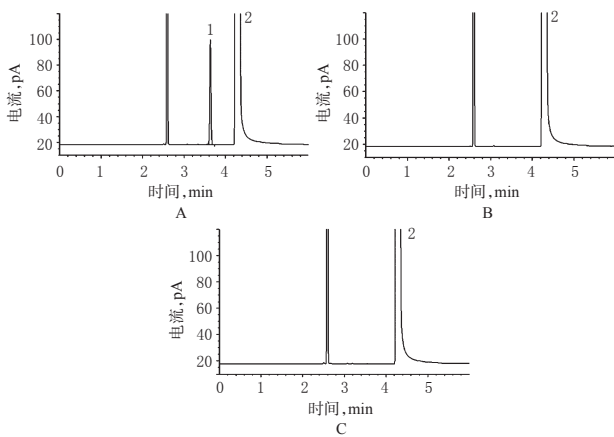


图3 乙酸气相色谱图

A.对照品溶液;B.供试品溶液;C.空白溶剂;1.乙酸;2.甲醇

Fig 3 GC chromatograms of acetic acid

A. substance control; B. test solution; C. blank solvent; 1. acetic acid; 2. methanol

要求。

2.2.4 检测限和定量限试验。精密量取乙酸对照品溶液适量,用甲醇逐步稀释并按对照品溶液同法处理,按“2.2.2”项下的色谱条件分别进样测定。结果按信噪比为3测得乙酸的检测限为0.32 μg/ml,相当于检出供试品溶液中的量为0.001 5%;按信噪比为10测得乙酸的定量限为1.06 μg/ml,相当于检出供试品溶液中的量为0.005%。

2.2.5 线性关系考察。精密量取乙酸对照品贮备溶液0.05、0.5、1.0、2.5、5.0、7.5、10.0 ml分别置于50 ml量瓶中,分别加甲醇稀释至刻度,摇匀,即制成相当于混合对照品溶液的1%、10%、20%、50%、100%、150%、200%的线性系列测试溶液,并按对照品溶液同法处理,按“2.2.2”项下的色谱条件分别进样测定,同“2.1.5”项下方法得到的回归方程为 $y=2.275 3x-0.755 4$ ($r=0.999 9$),表明乙酸检测质量浓度线性范围为1.06~212.80 μg/ml。

2.2.6 重复性试验。分别精密称取样品(批号:100613)6份,各约0.10 g,置于顶空瓶中,分别加入甲醇5.0 ml,再分别精密加入1 ml硫酸-甲醇溶液(1:1),振摇使完全溶解,加盖密封,摇匀,进样测定,结果乙酸未检出。

另取样品(批号:100613)6份,各约0.10 g,置于顶空瓶中,分别加入“2.2.3”项下100%的溶液5.0 ml,再分别精密加入1 ml硫酸-甲醇溶液(1:1),振摇使完全溶解,加盖密封,摇匀,进样测定,结果乙酸峰面积的RSD=0.7% ($n=6$)。

2.2.7 回收率试验。精密称取样品(批号:100613)9份,各0.10 g,分别加入5.0 ml“2.2.5”项下10%、100%、200%溶液,每个浓度3份,并按对照品溶液同法处理,按“2.2.2”的色谱条件进样测定,结果乙酸的平均回收率为100.8%,RSD=2.1% ($n=3$)。表明本方法准确度高。

2.3 样品中有机溶剂残留量测定

取盐酸溴己新样品,按“2.1.1”“2.2.1”的方法制备供试品溶液,进样测定,按面积外标法计算,测得批号为100613、

100614、100615的3批样品中乙醇残留量分别为0.011%、0.011%、0.018% ($n=2$),丙酮、甲苯和乙酸均未检出,色谱图见图2B、图3B(批号:100613)。

3 讨论

盐酸溴己新在水中极微溶解,但溶于DMSO,且丙酮、乙醇和甲苯3种待测有机溶剂也均能很好地溶于DMSO中,同时在选定的色谱条件下不干扰上述3种待测有机溶剂的出峰,故选用DMSO作为溶剂;采用HP-FFAP色谱柱,3种待测有机溶剂峰之间的分离度好,峰形也较好,柱效较高,因此选择HP-FFAP色谱柱;此外,3种有机溶剂沸点均较低,故采用顶空进样法测定,该法灵敏度高、重复性好,还能减少对色谱系统的污染。

笔者尝试采用顶空进样法同时测定4种有机溶剂,结果乙酸的灵敏度低,达不到分析的要求。一方面,由于乙酸沸点较高,难以挥发,且乙酸酸性较强,容易与样品的基团结合而不易解离,故灵敏度低;另一方面,乙酸的酸性可能会对色谱系统管路及色谱柱有损害,所以无论是采用顶空进样法还是直接测定法结果均不是很理想。笔者尝试采用衍生化法测定盐酸溴己新中乙酸的残留量,由于盐酸溴己新在甲醇中溶解,在甲醇中加入硫酸,微量的乙酸在硫酸存在的条件下与甲醇进行酯化生成乙酸甲酯,而乙酸甲酯的沸点只有58℃,挥发性非常强,经笔者试验,采用顶空进样法测定,灵敏度非常高;而且采用HP-FFAP色谱柱进行分析,分离度好,准确度和精密度均好,分析速度也快,非常适合盐酸溴己新中乙酸残留量的测定。但采用本方法测定时需要注意的是要排除样品未酯化前本身所含有的乙酸甲酯的干扰。

根据2010年版《中国药典》(二部)要求^[1],本研究将盐酸溴己新中丙酮、乙醇、甲苯和乙酸的限度确定为0.5%、0.5%、0.089%、0.5%。经过对3批样品的检测,丙酮、甲苯和乙酸均未检出,测得乙醇的含量结果也均符合上述限度要求。

经过上述试验验证,表明本文建立的方法系统适用性、检出限、定量限、线性、回收率和精密度均较好,可用于检测盐酸溴己新原料药中残留的丙酮、乙醇、甲苯和乙酸。

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:附录61.
- [2] ICH指导委员会.药品注册的国际技术要求:质量部分[M].周海均,译.北京:人民卫生出版社,2006:134-140.
- [3] 林平,傅晓钦,钱飞中,等.顶空气相色谱法测定枸橼酸托瑞米芬原料药中溶剂残留量[J].中国药房,2011,22(1):48.
- [4] 于生,单鸣秋,邵霞,等.毛细管气相色谱法测定甲磺酸伊马替尼原料药中有机溶剂残留量[J].中国药房,2013,24(9):838.
- [5] 吴琼诗,李光耀.西咪替丁原料药中有机溶剂残留量的测定[J].中国药房,2010,21(33):3150.

(收稿日期:2014-02-02 修回日期:2014-04-02)