

毛细管气相色谱法同时测定盐酸普萘洛尔原料药中5种有机溶剂残留量

张佳莉^{1*}, 顾冬飞², 武维新¹, 汤金春², 狄斌^{1,3}, 苏梦翔^{1,3#}(1.中国药科大学药学院, 南京 210009; 2.常州康普药业有限公司, 江苏常州 213172; 3.中国药科大学药物质量与安全预警教育部重点实验室, 南京 210009)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)06-0831-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.06.39

摘要 目的:建立同时测定盐酸普萘洛尔原料药中乙醇、异丙胺、环氧氯丙烷、三乙胺和二甲苯残留量的方法。方法:采用毛细管气相色谱法。色谱柱为WondaCap-1毛细管柱,氢火焰离子化检测器,载气为氮气,流速为3 ml/min,进样口温度为180 ℃,检测器温度为250 ℃,程序升温,直接进样,进样量为1 μl,以*N,N*-二甲基甲酰胺为溶剂,采用外标法计算溶剂残留量。结果:5种有机溶剂均能得到良好分离;各溶剂在所考察的质量浓度范围内与峰面积线性关系良好($r=0.993\ 8\sim 0.999\ 8$);精密度试验的RSD≤4.07%;平均加样回收率为98.31%~103.75%(RSD=0.12%~3.66%, $n=3$)。结论:该方法简便、准确、可靠,可用于盐酸普萘洛尔原料药中多种有机溶剂残留量的同时测定。

关键词 盐酸普萘洛尔;毛细管气相色谱;有机溶剂;残留量测定

Simultaneous Determination of 5 Kinds of Residual Organic Solvents in Propranolol Hydrochloride by Capillary GC

ZHANG Jia-li¹, GU Dong-fei², WU Wei-xin¹, TANG Jin-chun², DI Bin^{1,3}, SU Meng-xiang^{1,3}(1.School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 2. Changzhou Kangpu Pharmaceutical Co., Ltd., Jiangsu Changzhou 213172, China; 3. Key Laboratory of Drug Quality Control and Pharmacovigilance, Ministry of Education, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of residual ethanol, isopropylamine, epichlorohydrin, triethylamine and xylene in propranolol hydrochloride. METHODS: Capillary GC method was adopted. The determination was performed on WondaCap-1 capillary column with FID detector. Nitrogen was the carrier gas at the flow rate of 3 ml/min. The injector temperature was 180 ℃ and the detector temperature was 250 ℃ by temperature programming with direct sampling. The Sample size was 1 μl. The residual organic solvents were determined by external standard method using *N,N*-dimethylformamide as solvent. RESULTS: The five residual organic solvents were completely separated. Good linearity of the five organic solvents were obtained ($r=0.993\ 8\sim 0.999\ 8$). RSD of precision was lower than 4.07%. The average recoveries were ranged from 98.31% to 103.75% (RSD=0.12%~3.66%, $n=3$). CONCLUSIONS: The established method is simple, accurate and reliable which can be used for the determination of multiple residual organic solvents in propranolol hydrochloride simultaneously.

KEYWORDS Propranolol hydrochloride; Capillary GC; Organic solvents; Residual determination

盐酸普萘洛尔为临床上常用的β肾上腺素受体阻滞药,主要用于防治心率失常、心绞痛、高血压、心肌梗死等多种疾病^[1],在使用过程中发现该药有不少新用途,如可以治疗肝硬化、血管瘤、焦虑症、偏头痛、甲状腺机能亢进等^[2-7]。常州康普药业有限公司开发了盐酸普萘洛尔原料药,合成路线见图1。其在制

备过程中共使用了5种挥发性有机溶剂:乙醇、异丙胺、环氧氯丙烷、三乙胺和二甲苯。其中,环氧氯丙烷为步骤1起始原料/溶剂,三乙胺为步骤1催化剂,异丙胺为步骤2起始原料,二甲苯为步骤2溶剂,乙醇为步骤3结晶溶剂,在制备工艺过程中均可能会有残留。当残留溶剂水平高于安全值时,会对人体

[5] 田国祥,魏万林,张灵.后华法林时代口服抗凝新秀:达比加群、利伐沙班、阿哌沙班[J].中国循证心血管医学杂志,2011,5(3):403.

[6] 高雅莉,徐莉英.阿哌沙班[J].中国药物化学杂志,2013,23(3):251.

* 硕士。研究方向:药物分析。电话:025-83271269。E-mail: zhangjialiyx@163.com

通信作者:讲师,博士。研究方向:药物分析。电话:025-83271269。E-mail: sumengxiang@cpu.edu.cn

[7] 周建光,周颖奇.新型口服抗凝药的特点和临床研究[J].临床药物治疗杂志,2013,11(5):8.

[8] 赵文丽.阿哌沙班Ⅲ期临床试验结果与华法林一致[J].国际药学研究杂志,2013,6(40):764.

[9] 陶海燕,米斌,郭国贤,等.阿哌沙班的合成工艺研究[J].中国药物化学杂志,2013,23(5):385.

(收稿日期:2014-12-03 修回日期:2015-01-12)

(编辑:周 箫)

或环境产生危害,故必须确保产品中溶剂残留量在规定的范围内^[8]。本文参考2010年版《中国药典》(二部)中附录VIII P的要求与“富马酸比索洛尔”的残留溶剂测定方法^[9],以及人用药品注册技术要求国际协调会(ICH)关于有机溶剂残留量的指导原则^[10],采用毛细管气相色谱法同时测定了该原料药中上述5种有机溶剂的残留量,报道如下。

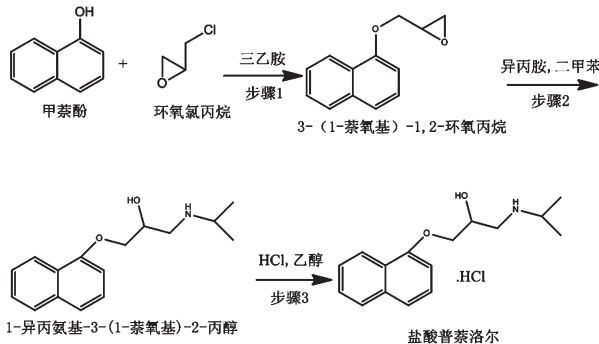


图1 盐酸普萘洛尔合成路线

Fig 1 Synthetic routes of propranolol hydrochloride

1 材料

6890N型气相色谱仪,包括氢火焰离子化检测器、7683B自动进样器(美国安捷伦公司);BS215电子天平(德国Sartorius公司)。

盐酸普萘洛尔原料药(常州康普药业有限公司,批号:20121001、20121101、20121102、1307001、1307002、1307003,纯度:99.88%、99.90%、99.91%、99.91%、99.88%、99.87%);*N,N*-二甲基甲酰胺、无水乙醇、三乙胺、异丙胺、环氧氯丙烷和二甲苯均为分析纯(纯度均≥99.0%),水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:固定液为100%二甲基聚硅氧烷毛细管柱(岛津WondaCap-1,30 m×530 μm×1.5 μm);载气:氮气;流速:3 ml/min;柱温:起始温度为40℃,维持3 min,然后以10℃/min的速率升温至100℃,维持5 min;进样口温度:180℃;检测器温度:250℃;进样方式:直接进样;分流比:20:1;进样量:1 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取无水乙醇500 mg、异丙胺100 mg、环氧氯丙烷50 mg、三乙胺100 mg和二甲苯217 mg,精密称定,置于同一100 ml量瓶中,加*N,N*-二甲基甲酰胺溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液。量取对照品贮备液1.0 ml,置于10 ml量瓶中,以*N,N*-二甲基甲酰胺稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 供试品溶液 取盐酸普萘洛尔原料药约1.0 g,精密称定,置于10 ml量瓶中,加*N,N*-二甲基甲酰胺溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 空白溶液 空白溶液为*N,N*-二甲基甲酰胺。

2.3 专属性试验

取“2.1”项下空白溶液、对照品溶液和供试品溶液(批号:20121001)各适量,在“2.1”项下色谱条件下分别进样,记录色谱,详见图2。结果显示,空白溶剂不影响测定,各溶剂峰间分离度良好,均大于2.0;乙醇、异丙胺、环氧氯丙烷、三乙胺和二甲苯的理论板数分别为101 212、1 248、165 374、14 956、175 518。

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下对照品贮备液0.25、0.5、1.0、1.5、2.0

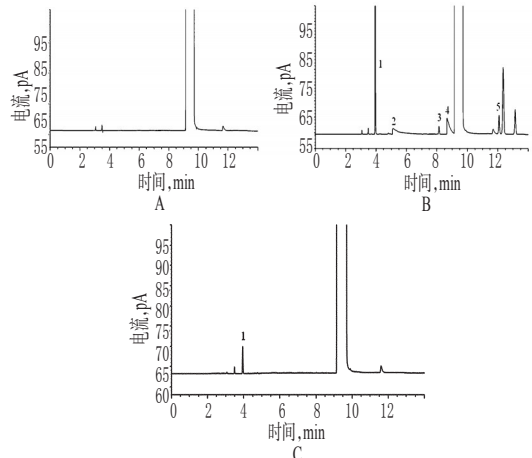


图2 气相色谱图

A.空白溶液;B.对照品溶液;C.供试品溶液;1.乙醇;2.异丙胺;3.环氧氯丙烷;4.三乙胺;5.二甲苯

Fig 2 GC chromatograms

A.blank solution; B. reference substance solution; C.sample solution; 1. ethanol; 2. isopropylamine; 3. epichlorohydrin; 4. triethylamine; 5. xylene

ml,分别置于10 ml量瓶中,加*N,N*-二甲基甲酰胺稀释至刻度,摇匀,按“2.1”项下色谱条件进样分析。以待测物质量浓度(x , μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标,进行线性回归,结果各有机溶剂在各自进样质量浓度范围内与峰面积线性关系良好,详见表1。

表1 线性关系考察试验结果

Tab 1 Linear relation of organic solvents

有机溶剂	回归方程	r	线性范围, μg/ml
乙醇	$y=0.3654x+3.5099$	0.9998	123.23~985.80
异丙胺	$y=0.4756x-5.7920$	0.9989	25.45~203.60
环氧氯丙烷	$y=0.1482x+0.4542$	0.9992	12.58~100.60
三乙胺	$y=0.5917x-3.0517$	0.9938	24.60~196.80
二甲苯	$y=0.8068x-2.1204$	0.9991	53.38~427.00

2.5 检测限和定量限

将“2.2.1”项下的对照品溶液用*N,N*-二甲基甲酰胺逐级稀释进样,当信噪比约为3时,测得检测限;当信噪比约为10时,测得定量限。结果,乙醇、异丙胺、环氧氯丙烷、三乙胺和二甲苯的检测限分别为2.465、5.090、6.288、1.230、2.669 μg;定量限分别为6.161、12.725、12.575、2.460、5.338 μg。

2.6 精密度的试验

取“2.2.1”项下的对照品溶液适量,按“2.1”项下的色谱条件重复进样分析6次。结果,乙醇、异丙胺、环氧氯丙烷、三乙胺和二甲苯的峰面积的RSD分别为0.75%、3.22%、2.16%、4.07%、1.04%($n=6$),表明该方法精密度的良好。

2.7 加样回收率试验

精密称取已测定乙醇、异丙胺、环氧氯丙烷、三乙胺和二甲苯含量的盐酸普萘洛尔供试品(批号:20121001)约1.0 g,共9份,分别置于10 ml量瓶中,分别精密加入“2.2.1”项下的对照品贮备液0.8、1.0、1.2 ml,各3份,再分别加入*N,N*-二甲基甲酰胺溶解并稀释至刻度,摇匀,即得低、中、高质量浓度(80%、100%、120%)的加样回收率样品溶液。按“2.1”项下色谱条件进样分析,按外标法以峰面积计算加样回收率,结果见表2。

2.8 样品测定

表2 加样回收率试验结果(n=3)

Tab 2 Results of recovery tests(n=3)

有机溶剂	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	0.352 4	3.943 2	4.346 0	101.28	100.46	0.70
	0.352 2	4.929 0	5.282 3	100.02		
	0.352 0	5.914 8	6.272 2	100.09		
异丙胺	-	0.814 4	0.858 6	105.43	103.42	3.66
	-	1.018 0	1.008 3	99.05		
	-	1.221 6	1.292 2	105.78		
环氧氯丙烷	-	0.402 4	0.410 1	101.91	98.31	3.29
	-	0.503 0	0.489 6	97.34		
	-	0.603 6	0.577 5	95.68		
三乙胺	-	0.787 2	0.805 3	102.30	103.75	1.44
	-	0.984 0	1.035 9	105.27		
	-	1.180 8	1.224 2	103.68		
二甲苯	-	1.708 0	1.740 5	101.90	101.79	0.12
	-	2.135 0	2.170 4	101.66		
	-	2.562 0	2.608 0	101.80		

注:“-”表示未检出

Note:“-” means undetected

取盐酸普萘洛尔原料药6批,照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定,记录色谱,按外标法以峰面积计算有机溶剂残留量。结果,6批原料药中均未检出异丙胺、环氧氯丙烷、三乙胺和二甲苯,乙醇残留量均低于规定限度,详见表3。

表3 盐酸普萘洛尔原料药中有机溶剂残留量测定结果(%)

Tab 3 Determination results of residual organic solvents in propranolol hydrochloride(%)

有机溶剂	批号					
	20121001	20121101	20121102	1307001	1307002	1307003
乙醇	0.04	0.04	0.04	0.05	0.08	0.05
异丙胺	-	-	-	-	-	-
环氧氯丙烷	-	-	-	-	-	-
三乙胺	-	-	-	-	-	-
二甲苯	-	-	-	-	-	-

注:“-”表示未检出

Note:“-” means undetected

3 讨论

3.1 限度的确定

根据2010年版《中国药典》(二部)附录VIII P的要求以及ICH关于有机溶剂残留量的指导原则规定,乙醇和二甲苯的限度分别为0.5%和0.217%,但两者均未规定环氧氯丙烷、三乙胺和异丙胺的限度。参考2010年版《中国药典》(二部)中“富马酸比索洛尔”标准中的限度规定^[9]:环氧氯丙烷不超过0.05%,异丙胺不超过0.1%。此外,三乙胺为反应催化剂,用量不大(投料比为0.01),故按一般杂质限度0.1%处理。从6批样品检测结果看,异丙胺、环氧氯丙烷、三乙胺和二甲苯均未检出,仅有乙醇残留在终产品中,6批样品的乙醇残留量均在0.1%以下,小于指导原则规定的限度0.5%。

3.2 色谱柱的选择

笔者在条件摸索过程中尝试了不同极性的色谱柱,发现使用强极性的HP-INNOWAX色谱柱,环氧氯丙烷和异丙胺的分离度不好,且三乙胺和异丙胺色谱峰拖尾严重;使用中等极性的DB-624色谱柱和WondaCAP-17色谱柱,前者使异丙胺与

乙醇不易分离,后者易使异丙胺拖尾;弱极性色谱柱DB-1不能分离乙醇与异丙胺。2010年版《中国药典》在指导原则中推荐用弱极性的色谱柱分析含氮碱性化合物^[9],故最终采用了非极性毛细管柱WondaCap-1(100%二甲基聚硅氧烷固定液),再经过优化起始温度、升温程序、载气流速和分流比,可以实现各组分的有效分离。虽然异丙胺和三乙胺仍存在一定的拖尾现象,但与使用中等极性和强极性色谱柱时比较,拖尾明显减轻,且经方法学验证表明,该方法能准确定量,并具有满足要求的检测限。

3.3 溶剂的选择

笔者曾尝试使用二甲基亚砜作为溶剂,但发现其不能溶解盐酸普萘洛尔;盐酸普萘洛尔易溶于水,但以水为溶剂时,发现环氧氯丙烷和二甲苯不溶,因此二甲基亚砜和水均不适合作为本品的溶剂残留检查溶剂。而试验发现,N,N-二甲基甲酰胺可以很好地溶解盐酸普萘洛尔和5种有机残留溶剂,且与各有机溶剂分离度良好,不影响有机溶剂残留量的测定,故最终选择N,N-二甲基甲酰胺作为溶剂。

3.4 柱温的优化

由于各有机溶剂之间的沸点差别比较大,采用等温洗脱时各组分得不到良好的分离,故考虑采用程序升温。参照富马酸比索洛尔标准^[9],选择40℃(10 min)→80℃(2 min)→200℃(10 min)的升温程序。研究过程中发现,升高柱温,有利于提升异丙胺柱效,但起始温度过高,三乙胺色谱峰易变形。最终选择40℃(3 min)→100℃(5 min)的升温程序,各组分均达到基线分离。

综上所述,本试验建立的方法专属性强、重复性好、准确度高,且操作简便,适用于盐酸普萘洛尔原料药中多种有机溶剂残留量的同时测定。

参考文献

- [1] 蒋龙,夏正君,荆小燕,等.盐酸普萘洛尔有关物质的合成[J].中国医药工业杂志,2008,39(7):485.
- [2] 张薇薇,袁学华,袁选举,等.盐酸普萘洛尔、安体舒通联合安络化纤丸治疗代偿期肝炎肝硬化60例临床观察[J].临床消化病杂志,2010,22(1):52.
- [3] 殷炜,黄志见,周生儒.口服普萘洛尔治疗婴儿型血管瘤的效果观察[J].中国现代医药杂志,2013,15(10):5.
- [4] 张成书,毛艳,袁德品,等.普萘洛尔治疗血管瘤的作用及其机制分析[J].中国医学工程,2014,22(11):20.
- [5] 张国富,任彩丽.普萘洛尔对焦虑症的辅助治疗作用[J].临床精神医学杂志,2010,20(3):196.
- [6] 周国栋,曾德志,周红.普萘洛尔治疗儿童偏头痛临床观察[J].临床荟萃,2011,26(12):1 075.
- [7] 张娟红,徐丽婷,王荣,等.普萘洛尔构象研究与临床应用进展[J].中国药房,2014,25(28):2 680.
- [8] 刘颖,胡昌勤.药物残留溶剂测定知识库及其应用[J].药物分析杂志,2007,27(12):1 938.
- [9] 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61-65、1 050.
- [10] 陈立亚,于宝珠,赵慧芳,等.ICH指导原则与各国现行药典药品的残留溶剂分析方法概述[J].中国药事,2005,19(9):542.

(收稿日期:2014-06-24 修回日期:2014-08-05)

(编辑:申琳琳)