

顶空毛细管气相色谱法测定福尔可定原料药中5种有机溶剂的残留量

刘胜春^{1*}, 赵学刚², 冯雅慧², 康海霞², 滑千里², 王乃浩²(1.河北省中医院, 石家庄 050011; 2.河北奥星集团药业有限公司, 石家庄 050700)

中图分类号 R927.11 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)29-2768-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.29.29

摘要 目的:建立测定福尔可定原料药中甲醇、乙醇、苯、丁醇、甲苯5种有机溶剂残留量的方法。方法:采用顶空毛细管气相色谱法,色谱柱为DB-624毛细管柱,载气为氮气,柱温采用程序升温,氢火焰离子化检测器,检测器温度为250℃,进样口温度为200℃,以0.25 mol/L硫酸溶液为介质。结果:甲醇、乙醇、苯、丁醇、甲苯检测质量浓度线性范围分别为60.46~423.25、100.19~701.32、0.042~0.30、100.36~702.35、17.71~123.94 μg/ml($r=0.997\ 7\sim 0.999\ 9$),平均回收率为97.0%~105.5%(RSD=4.50%~6.59%),定量限为0.02~0.5 μg/ml;3批样品中5种溶剂的残留量均符合2010年版《中国药典》的相关要求。结论:本方法快速、灵敏、准确,可用于福尔可定原料药中有机溶剂残留量的测定。

关键词 福尔可定原料药;顶空毛细管气相色谱法;有机溶剂;残留量

Determination of 5 Residual Organic Solvents in Pholcodine Crude Drug by Headspace Capillary GC

LIU Sheng-chun¹, ZHAO Xue-gang², FENG Ya-hui², KANG Hai-xia², HUA Qian-li², WANG Nai-hao²(1.Hebei Provincial Hospital of TCM, Shijiazhuang 050011, China; 2.Hebei Aoxing Pharmaceutical Co., Ltd., Shijiazhuang 050700, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of 5 residual organic solvents, methanol, ethanol, benzene, butanol and toluene in pholcodine crude drug. METHODS: Headspace capillary GC was adopted. DB-624 capillary column was used with nitrogen as carrier gas; column temperature was programmed temperature, and FID was used as detector. The detector temperature was 250 °C, the inlet temperature was 200 °C, using 0.25 mol/L sulfuric acid solution as medium. RESULTS: The linear ranges of methanol, ethanol, benzene, butanol and methylbenzene were 60.46-423.25 μg/ml, 100.19-701.32 μg/ml, 0.042-0.30 μg/ml, 100.36-702.35 μg/ml, 17.71-123.94 μg/ml ($r=0.997\ 7\sim 0.999\ 9$). The average recoveries were 97.0%-105.5% (RSD=4.50%-6.59%), and the limits of quantification were 0.02-0.5 μg/ml; residual concentrations of 5 kinds of solvent in 3 batches of samples were in line with the requirements of *Chinese Pharmacopoeia* (2010 edition). CONCLUSIONS: The method is rapid, sensitive and accurate, and can be used for the determination of residual solvents of pholcodine crude drug.

KEY WORDS Pholcodine crude drug; Headspace capillary gas chromatography; Organic solvent; Residual

福尔可定是中枢性镇咳药,与磷酸可待因具有相似的中枢性镇咳作用,也有镇静和镇痛作用,但成瘾性较磷酸可待因弱,常用于剧烈干咳和中度疼痛。临床上已有的制剂有福尔可定片、复方福尔可定糖浆、复方福尔可定口服溶液。新生儿和儿童易于耐受此药,不会引起便秘和消化不良^[1]。根据河北奥星集团药业有限公司提供的福尔可定及其合成起始原料的工艺路线得知,福尔可定原料药在合成过程中使用了甲醇、乙醇、苯、丁醇、甲苯5种有机溶剂,这些溶剂对人体健康和环境可造成危害。为了保证药品的安全,笔者建立了福尔可定原料药中5种有机溶剂残留量的检查方法。笔者根据2010年版《中国药典》(二部)^[2]的相关规定和人用药品注册技术规范的国际协调会(ICH)指导原则^[3],同时参考文献^[4]方法以0.25 mol/L硫酸溶液为介质,采用顶空毛细管气相色谱法,同时测定上述5种有机溶剂的残留量。结果表明,建立的方法快速、灵敏、准确,可用于福尔可定原料药中有机溶剂残留量的测定。

1 材料

1.1 仪器

6890N气相色谱仪、7694E顶空进样器(美国Agilent公司);CPA225D电子天平(德国Sartorius公司)。

*主管中药师。研究方向:药品质量。电话:0311-66792700

1.2 药品与试剂

福尔可定原料药(河北奥星集团药业有限公司,批号:061101、061102、061103,纯度:99.87%、99.88%、99.87%);甲醇、乙醇、苯、丁醇、甲苯均为分析纯(含量:均>99%),水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:DB-624毛细管柱(30 m×530 μm, 3 μm);柱温:80℃维持7 min,以15℃/min的速率升至120℃,维持10 min;检测器:氢火焰离子化检测器(FID),检测器温度:250℃;分流进样,分流比:1:1;进样口温度:200℃;载气:氮气,流速:3.0 ml/min;顶空进样,平衡温度:85℃,平衡时间:30 min,顶空瓶加压时间:0.2 min,进样时间:1 min,定量环体积:1 ml,定量环温度:95℃,传输线温度:105℃。

2.2 专属性试验

分别取甲醇、乙醇、苯、丁醇、甲苯、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)制备成单独的对照品溶液和“2.3.2”项下的对照品混合溶液,分别按“2.1”项下条件顶空进样,记录色谱图。结果,出峰顺序依次为甲醇、乙醇、苯、丁醇、甲苯、DMF;取福尔可定原料药约0.5 g,精密称定,置于20 ml顶空瓶中,精密加入0.25

mol/L 硫酸溶液 5 ml,密封,振摇使溶解,作为供试品溶液。顶空进样,记录色谱图。结果各有机溶剂间的分离良好,专属性良好。6种有机溶剂的色谱图见图 1A,混合溶液色谱图见图 1B,供试品溶液色谱图见图 1C。

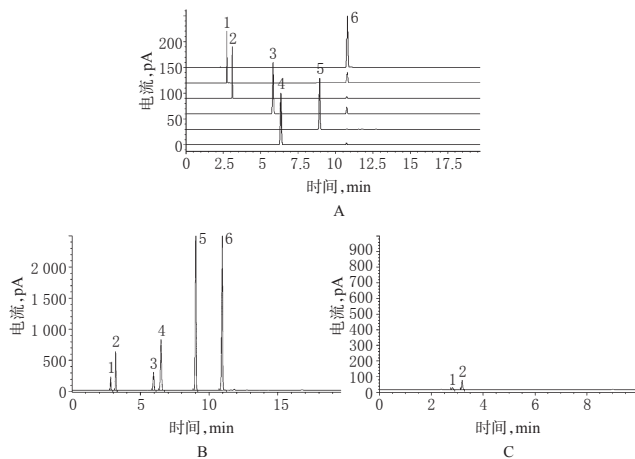


图 1 专属性试验气相色谱图

A. 溶剂对照品溶液; B. 对照品混合溶液; C. 供试品溶液; 1. 甲醇; 2. 乙醇; 3. 苯; 4. 丁醇; 5. 甲苯; 6. DMF

Fig 1 GC chromatograms of specificity test

A. control solutions; B. mixed control solutions; C. test samples solution; 1. methanol; 2. ethanol; 3. benzene; 4. butanol; 5. toluene; 6. DMF

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品混合贮备液。精密称取甲醇 3 000 mg、乙醇 5 000 mg、丁醇 5 000 mg、苯 2 mg、甲苯 890 mg,置于同一 100 ml 量瓶中,加入体积分数 50% 的 DMF 水溶液溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取上述溶液 5 ml,置于 50 ml 量瓶中,用 0.25 mol/L 硫酸溶液稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3.2 对照品混合溶液。精密量取对照品混合贮备液 5 ml,置于 50 ml 量瓶中,用 0.25 mol/L 硫酸溶液稀释至刻度,摇匀,即得。

2.4 线性关系考察

精密量取对照品混合贮备液 1、2、4、5、6、7 ml,分别置于 50 ml 量瓶中,用 0.25 mol/L 硫酸溶液稀释至刻度,摇匀。进样分析,以峰面积(y)为纵坐标、样品质量浓度(x)为横坐标,进行线性回归,结果见表 1。

表 1 各溶剂线性关系

Tab 1 Linear relationship of each solvents

溶剂	线性方程	线性范围, $\mu\text{g/ml}$	r
甲醇	$y=0.193x+0.1285$	60.46~423.25	0.9999
乙醇	$y=0.0627x+0.1746$	100.19~701.32	0.9997
苯	$y=3.1497x+1.6717$	0.042~0.30	0.9996
丁醇	$y=0.0242x+0.0383$	100.36~702.35	0.9990
甲苯	$y=0.0081x+3.4227$	17.71~123.94	0.9977

2.5 精密度试验

精密量取对照品混合溶液 5 ml,置于 20 ml 顶空瓶中,共 6 份,密封;进样分析,计算甲醇、乙醇、苯、丁醇、甲苯的峰面积的 RSD 值分别为 4.59%、4.01%、3.49%、3.57%、4.01%,均小于 10%,表明精密度良好。

2.6 回收率试验

取样品约 0.5 g,精密称定,置于 20 ml 顶空瓶中,共 9 份;分别精密量取对照品混合贮备液 0.8、1.0、1.2 ml,各 3 份,置于 10

ml 量瓶中,再用 0.25 mol/L 硫酸溶液稀释至刻度,摇匀。分别精密量取 9 份溶液各 5 ml,分别置于上述 20 ml 顶空瓶中,密封,分析、测定。结果表明,测定方法准确可靠,详见表 2。

表 2 回收率试验结果($n=3$)

Tab 2 Results of recovery tests($n=3$)

溶剂	样品中含 量,mg	加入量, mg	测得量, mg	平均回收率, %	RSD, %
甲醇	0.100	1.209	1.277	99.1	5.21
	0.105	1.512	1.682		
	0.101	1.814	1.837		
乙醇	0.276	2.004	2.200	97.8	5.83
	0.289	2.505	2.878		
	0.277	3.006	3.099		
苯	0	0.00084	0.00086	105.5	4.58
	0	0.00106	0.00116		
	0	0.00127	0.00133		
丁醇	0	2.007	1.924	97.0	6.59
	0	2.508	2.578		
	0	3.010	2.783		
甲苯	0	0.354	0.340	100.6	4.50
	0	0.443	0.463		
	0	0.531	0.538		

2.7 稳定性试验

精密量取对照品混合溶液 5 ml,分别置于 20 ml 顶空瓶中,密封,于室温下放置 0、1、4、8、12 h,进样分析,记录色谱图。结果,甲醇、乙醇、苯、丁醇、甲苯在 12 h 测定的峰面积的 RSD 分别为 1.43%、1.36%、3.29%、1.21%、2.69%,表明溶液均在 12 h 内稳定。

2.8 定量限试验

取对照品混合溶液逐步稀释,然后顶空进样,以峰高为基线噪声的 10 倍计算,结果甲醇、乙醇、苯、丁醇、甲苯的定量限分别为 0.5、0.5、0.02、0.08、0.5 $\mu\text{g/ml}$ 。

2.9 耐用性试验

将对照品混合溶液按照改变柱温起始温度($\pm 5^\circ\text{C}$)、载气柱流速($\pm 1.0\text{ ml/min}$),分别顶空进样分析,记录色谱图,分别考察甲醇、乙醇、苯、丁醇、甲苯在不同条件下的分离度。结果表明分离度均符合方法学要求,耐用性良好。

2.10 样品有机溶剂残留量测定及限度的确定

取 3 批样品制备成供试品溶液,按外标法计算 5 种有机溶剂的含量。结果 3 批样品中甲醇的残留量均为 0.02%,乙醇的残留量均为 0.05%,苯、丁醇、甲苯均未检出。

根据 ICH 指导原则和 2010 年版《中国药典》(二部)残留溶剂限度和样品的实测结果,将甲醇、乙醇、苯、丁醇、甲苯的检查均纳入质量标准之中,限度分别为 0.3%、0.5%、0.0002%、0.5%、0.089%。

3 讨论

3.1 进样方法的选择

笔者根据残留溶剂测定的推荐方法,首选毛细管色谱柱-顶空进样系统,首先因为顶空分析法操作简单,只取气相部分进行分析,因此大大减少了样品基质对分析的干扰;其次,顶空分析有不同模式,可以通过优化操作参数而适合于各种样品;第三,顶空分析的灵敏度能满足方法学的要求;最后,顶空气相色谱完全能够进行准确的定量分析。

3.2 介质的选择

因为福尔可定略溶于水,为了使样品完全溶解,笔者选用

复方硫磺洗剂微生物限度检查方法的建立

王海华*(南宁食品药品检验所, 南宁 530001)

中图分类号 R927.11;R986 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)29-2770-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.29.30

摘要 目的:建立复方硫磺洗剂微生物限度检查方法。方法:采用平皿法、培养基稀释法及薄膜过滤法并在冲洗液中加入增溶剂聚山梨酯80,通过比较回收率来确定适宜的检查方法。结果:采用平皿法、培养基稀释法、薄膜过滤法(冲洗液中不含增溶剂),枯草芽孢杆菌的回收率均低于70%;采用薄膜过滤法(在冲洗液中加入增溶剂),回收率达85%以上。控制菌采用培养基稀释法可检出试验菌。结论:建立的方法可考虑作为复方硫磺洗剂的常规微生物限度检查方法。
关键词 复方硫磺洗剂;微生物限度检查;薄膜过滤法;增溶剂

Establishment of Method for Microbial Limit Test of Compound Sulfur Lotion

WANG Hai-hua(Nanning Institute for Food and Drug Control, Nanning 530001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for microbial limit test of Compound sulfur lotion. METHODS: The plating method, media dilution method and membrane filtration method were used and the solubilizer polysorbate-80 was added into the solution. The optimal test method was obtained by comparing the recovery rates of test organisms. RESULTS: By plating method, media dilution method and membrane filtration method (solubilizer wasn't added into the solution), the recovery rate of *Bacillus subtilis* was less than 70%; however, by membrane filtration method (the solubilizer was added into the solution), the recovery rate was more than 85%. The test organisms were successfully detected in the control bacteria test by media dilution method. CONCLUSIONS: The method can be considered for microbial limit test of Compound sulfur lotion.

KEY WORDS Compound sulfur lotion; Microbial limit test; Membrane filtration method; Solubilizer

复方硫磺洗剂处方由升华硫、硫酸锌、樟脑酯、甘油、甲基纤维素等组成,制剂中硫磺与皮肤分泌物作用生成硫化物,能使表皮软化,并有脱脂、杀菌、止痒以及抑制角质形成作用;硫酸锌具有轻度杀菌以及收敛作用;樟脑具有局部止痛、止痒的效果。该洗剂可用于治疗疥疮、体癣、手足癣、脚气等,为外用药。

在对具有抗菌活性的药品进行微生物限度检查时,应首先消除其抗菌活性,并通过试验验证是否彻底去除抗菌活性,以保证检验结果的有效性。薄膜过滤法是消除药品中抗菌活性的最有效方法,但由于复方硫磺洗剂处方中升华硫不溶于

水,使得无法简单地采用水溶液作为冲洗剂去除抗菌活性。笔者在试验中发现,在薄膜过滤法中以聚山梨酯80作为增溶剂,可有效去除复方硫磺洗剂的抑菌作用。据此,笔者建立了通过薄膜过滤结合在冲洗液中加入聚山梨酯80的方法,对复方硫磺洗剂进行了微生物限度检查;并按2010年版《中国药典》(二部)规定的方法^[1]对复方硫磺洗剂微生物限度检查方法进行了验证,以确定该制剂所用微生物限度检查方法的有效可行。

1 材料

1.1 仪器

了无挥发性的硫酸溶液为介质(顶空进样中不能使用挥发性的酸,对色谱柱有损害);并且对硫酸溶液的浓度进行筛选,确定最低浓度为0.25 mol/L。

3.3 色谱柱的选择

笔者先后考察了HP-5、FFAP、DB-624等不同极性的色谱柱,结果以在DB-624色谱柱上的峰形和分离度最佳,因此最终选择DB-624色谱柱作为本次试验的色谱柱。

3.4 顶空温度的选择

参照2010年版《中国药典》(二部)附录ⅧP残留溶剂测定法项下内容^[2],并参考ICH指导原则,考察了不同的顶空平衡温度对样品测定的影响,结果详见表3。

表3结果表明,随着温度的升高,苯和甲苯的峰面积减少,甲醇、乙醇、丁醇峰面积则增大。为了提高检测灵敏度,同时考虑到甲苯的响应值过大也会影响检测的准确性,因此选择85℃作为顶空平衡温度。

表3 平衡温度考察结果

Tab 3 Results of equilibrium temperature inspection

平衡温度,℃	峰面积				
	甲醇	乙醇	苯	丁醇	甲苯
80	425.955	1 327.676	34.008	3 528.580	13 533.997
85	519.118	1 627.355	33.183	4 336.247	13 227.914
90	730.876	2 274.542	31.940	5 837.678	12 637.909

参考文献

- [1] 陈新谦,金有豫,汤光.新编药理学[M].17版.北京:人民卫生出版社,2007:427.
- [2] 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,2010:1 092、附录61-65.
- [3] 周海钧.药品注册的国际技术要求:质量部分[M].北京:人民卫生出版社,2007:126.
- [4] 陈宁,陈朝艳.顶空气相色谱法测定头孢替坦二钠中的残留溶剂[J].中国抗生素杂志,2010,36(11):849.

(收稿日期:2012-10-10 修回日期:2012-12-05)

*副主任中药师。研究方向:药品检验。电话:0771-3132340