

毛细管GC法测定氟比洛芬酯原料药中两种溶剂残留量

郭云程*,李雪,钟玲[#](重庆药友制药有限责任公司,重庆 401121)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)21-2988-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.21.35

摘要 目的:建立测定氟比洛芬酯原料药中1,1-乙二醇二乙酸酯和乙酸残留量的方法。方法:采用毛细管气相色谱法。色谱柱为DB-FFAP毛细管柱,柱温采用程序升温,进样口温度为150℃,检测器为氢火焰离子化检测器,检测器温度为290℃,载气为氮气,流速为1.0 ml/min,进样量为1.0 μl,分流比为5:1。结果:1,1-乙二醇二乙酸酯与乙酸能得到很好的分离;两种成分检测质量浓度线性范围分别为0.78~19.55、7.69~64.11 μg/ml($r=0.9997$ 、 0.9993);两种成分检测限分别为0.23、2.56 μg/ml,定量限分别为0.78、7.69 μg/ml;精密度、重复性试验的RSD<3%,稳定性试验的RSD<5%;加样回收率分别为97.6%~100.4%、93.6%~100.4%,RSD分别为0.94%、2.20%($n=9$);3批样品中两种溶剂残留量测定结果均符合规定。结论:该方法简便、灵敏、可靠,可用于氟比洛芬酯原料药中1,1-乙二醇二乙酸酯和乙酸的残留量测定。

关键词 氟比洛芬酯原料药;毛细管气相色谱法;1,1-乙二醇二乙酸酯;乙酸;残留量

Determination of Two Kinds of Residual Solvents in Flurbiprofen Axetil by Capillary Gas Chromatography

GUO Yuncheng, LI Xue, ZHONG Ling (Chongqing Yaoyou Pharmaceutical Co., Ltd., Chongqing 401121, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of 1,1-ethanediol diacetate and acetic acid in flurbiprofen axetil. METHODS: Capillary gas chromatography was performed on the column of DB-FFAP capillary column by temperature programmed, the inlet temperature was 150 °C, flame ionization detector was chosen, detector temperature was 290 °C, carrier gas was nitrogen at a flow rate of 1.0 ml/min, injection volume was 1.0 μl, and split ratio was 5:1. RESULTS: 1,1-ethanediol diacetate and acetic acid were well-separated; and the linear ranges was 0.78-19.55 g/ml ($r=0.9997$) and 7.69-64.11 μg/ml ($r=0.9993$), respectively; the limits of quantification were 0.78 μg/ml and 7.69 μg/ml, and limits of detection were 0.23 μg/ml and 2.56 μg/ml for 1,1-ethanediol diacetate and acetic acid respectively; RSDs of precision and reproducibility tests were lower than 3%, and stability test was lower than 5%; recoveries were 97.6%-100.4% (RSD=0.94%, $n=9$) and 93.6%-100.4% (RSD=0.94%, $n=9$); and the test results for 3 batches of flurbiprofen axetil were met the specification. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reliable, and can be used for the determination of 1,1-ethanediol diacetate and acetic acid in flurbiprofen axetil.

KEYWORDS Flurbiprofen axetil; Capillary gas chromatography; 1,1-ethanediol diacetate; Acetic acid; Residual

氟比洛芬酯为氟比洛芬的前体药物,其主要剂型为脂微球注射液,临床用于手术后及各种癌症的镇痛。其药效强、起效迅速、作用持续时间长,且不易引起胃黏膜损伤等不良反应,没有中枢抑制作用,不影响处于麻醉状态患者的苏醒,可在术后立即使用^[1-3]。在氟比洛芬酯原料药的合成中,要用到1,1-乙二醇二乙酸酯和乙酸两种溶剂。根据《中国药典》2015年版(四部)通则0861“残留溶剂测定法”及人用药品注册技术规范国际协调会议(ICH)指导原则^[4-5]的规定,上述两种溶剂残留量限度分别定为0.15%、0.5%。通过文献调研^[6-8],目前国内还未见氟比洛芬酯原料药中相关残留溶剂检测方法的报道。本研究根据1,1-乙二醇二乙酸酯和乙酸的性质,采用毛细管气相色谱法(GC),建立了测定氟比洛芬酯原料药中两种溶剂残留量的方法,并进行了方法学验证。

1 材料

1.1 仪器

6890 GC仪,配有氢火焰离子化检测器(FID)(美国安捷伦公司);XS205电子分析天平(精度:0.000 01 g,瑞士梅特勒-托利多公司)。

*工程师。研究方向:药物分析。E-mail: guoyc@yaopharma.com

[#]通信作者:工程师。研究方向:药物分析。E-mail: zhongling@yaopharma.com

1.2 药品与试剂

氟比洛芬酯原料药(重庆凯林制药有限公司自制的中试样品,批号:FA5-201411002V、FA5-201412001V、FA5-201412-002V,纯度均>99.0%);1,1-乙二醇二乙酸酯[梯希爱(上海)化成工业发展有限公司,批号:DNJ2G-QI,纯度:98.9%];乙腈为色谱纯,冰乙酸为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:DB-FFAP毛细管柱(30 m×0.32 mm, 1.0 μm);升温程序:起始温度60℃,保持2 min,以15℃/min速率升至210℃,保持5 min;进样口温度:150℃;检测器:FID;检测器温度:290℃;载气:氮气(高纯氮);流速:1.0 ml/min;进样量:1.0 μl;分流比:5:1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品贮备液 分别精密称取1,1-乙二醇二乙酸酯197.67 mg、乙酸641.07 mg,置于同一含有适量乙腈的50 ml量瓶中溶解,加乙腈稀释至刻度,摇匀,再精密量取1 ml,置于50 ml量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 对照品溶液 精密称取对照品贮备液2 ml,置于20 ml量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 供试品溶液 称取样品约100 mg,精密称定,置于20 ml量瓶中,用乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.4 空白对照溶液 取乙腈作为空白对照溶液。

2.3 专属性试验

精密吸取“2.2”项下的对照品溶液、供试品溶液和空白对照溶液各 1.0 μl, 分别注入 GC 仪, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱, 详见图 1。结果显示, 样品中 1, 1-乙二醇二乙酸酯色谱峰的保留时间为 9.917 min, 乙酸色谱峰的保留时间为 10.640 min, 二者分离度为 15.79, 且乙腈和其他杂质均不干扰二者的检测。

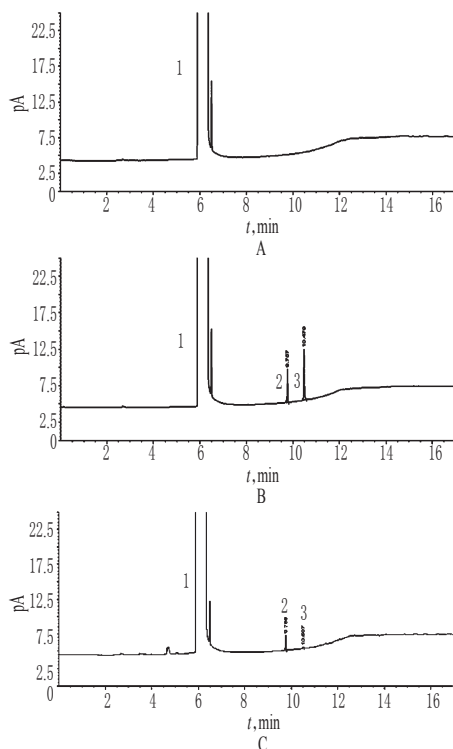


图 1 毛细管气相色谱图

A. 空白对照; B. 对照品; C. 供试品; 1. 乙腈; 2. 1, 1-乙二醇二乙酸酯; 3. 乙酸

Fig 1 Capillary GC chromatograms

A. blank control; B. reference substance; C. test samples; 1. acetonitrile; 2. 1, 1-ethanediol diacetate; 3. acetic acid

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下的对照品贮备液 0.2、0.6、1.2、3、5 ml, 置于 20 ml 量瓶中, 加乙腈至刻度, 稀释制成不同质量浓度的系列对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件分别进样测定, 记录峰面积。以待测成分峰面积(y)为纵坐标、质量浓度(x , μg/ml)为横坐标进行线性回归, 得 1, 1-乙二醇二乙酸酯和乙酸回归方程分别为 $y=1.101x-0.131$ ($r=0.9997$)、 $y=0.621x-2.948$ ($r=0.9993$)。结果表明, 两种成分检测质量浓度线性范围分别为 0.78~19.55、7.69~64.11 μg/ml。

2.5 检测限与定量限考察

取“2.2.2”项下对照品溶液适量, 用乙腈逐级稀释, 然后分别进样, 记录色谱。直至 1, 1-乙二醇二乙酸酯和乙酸的信噪比分别为 3:1 和 10:1, 测得两种成分的检测限分别为 0.23、2.56 μg/ml, 定量限分别为 0.78、7.69 μg/ml。

2.6 精密度试验

取“2.2.2”项下对照品溶液 1.0 μl, 按“2.1”项下色谱条件进样, 连续测定 6 次, 记录峰面积。结果, 1, 1-乙二醇二乙酸酯和乙酸峰面积的 RSD 分别为 1.49%、2.56% ($n=6$), 说明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下对照品溶液适量, 分别于室温下放置 0、1、2、4、6、8 h 时精密吸取 1.0 μl, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 1, 1-乙二醇二乙酸酯和乙酸峰面积的 RSD 分别为 1.60%、3.62% ($n=6$), 说明对照品溶液在室温放置 8 h 内稳定性良好。

2.8 重复性试验

精密称取样品 (批号: FA5-201412001V) 约 100 mg, 共 6 份, 分别按“2.2.3”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并计算两种溶剂的残留量。结果, 1, 1-乙二醇二乙酸酯未检出, 乙酸平均含量为 0.04%, RSD=2.02% ($n=6$), 说明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

精密称取已知两种溶剂残留量的样品 (批号: FA5-201412001V) 100 mg, 共 9 份, 分别置于 20 ml 量瓶中, 加入“2.2.1”项下对照品贮备液各 1、2、3 ml, 各平行操作 3 份, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液, 以“2.2.2”项下的对照品溶液作为对照, 分别按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算加样回收率, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果 ($n=9$)

Tab 1 Results of recovery test ($n=9$)

残留溶剂	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, %			
1, 1-乙二醇二乙酸酯	0	0.078 2	0.077 8	99.5	99.0	0.94			
	0	0.078 2	0.077 2	98.7					
	0	0.078 2	0.078 4	100.2					
	0	0.156 4	0.153 7	98.3					
	0	0.156 4	0.152 6	97.6					
	0	0.156 4	0.155 6	99.5					
	0	0.234 6	0.231 6	98.7					
	0	0.234 6	0.230 6	98.3					
	0	0.234 6	0.235 5	100.4					
	乙酸	0.040 1	0.256 4	0.284 7			95.4	97.8	2.20
		0.035 7	0.256 4	0.275 7			93.6		
		0.040 0	0.256 4	0.288 2			96.8		
0.037 8		0.512 9	0.543 0	98.5					
0.035 4		0.512 9	0.537 5	97.9					
0.038 2		0.512 9	0.546 5	99.1					
0.037 7		0.769 3	0.810 1	100.4					
0.041 1		0.769 3	0.801 9	98.9					
0.043 4	0.769 3	0.811 2	99.8						

2.10 样品中残留溶剂测定

取 3 批样品各适量, 分别按“2.2.3”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 1, 1-乙二醇二乙酸酯, 且乙酸残留量均低于《中国药典》和 ICH 的有关限度规定, 详见表 2。

表 2 样品中残留溶剂测定结果 ($n=3$, %)

Tab 2 Results of residual determination in sample ($n=3$, %)

残留溶剂	FA5-201411002V	FA5-201412001V	FA5-201412002V	规定限度
1, 1-乙二醇二乙酸酯	未检出	未检出	未检出	0.15
乙酸	0.03	0.04	未检出	0.5

3 讨论

本研究曾选用了不同极性的毛细管柱 DB-624、DB-WAX 和 DB-FFAP 进行比较, 结果发现采用 DB-FFAP 毛细管柱峰形对称、分离效果最好, 可以很好地分离 1, 1-乙二醇二乙酸酯与乙酸。由于 DB-FFAP 色谱柱填料聚乙二醇经过修饰后, 相对

HPLC法同时测定桑叶药材及其炮制品中绿原酸、芦丁和异槲皮苷的含量

程聪梅^{1*}, 毛菊华², 余乐²(1. 龙泉市中医院, 浙江龙泉 323700; 2. 丽水市食品药品检验所, 浙江丽水 323000)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)21-2990-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.21.36

摘要 目的: 建立同时测定桑叶药材及其炮制品炒桑叶、蜜桑叶中绿原酸、芦丁和异槲皮苷含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈, 流动相为乙腈-0.2% 磷酸(梯度洗脱), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 350 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 10 μl。结果: 绿原酸、芦丁、异槲皮苷的检测质量浓度线性范围分别为 8.20~82.01 μg/ml($r=0.999\ 9$)、2.76~27.60 μg/ml($r=0.999\ 9$)、4.74~47.39 μg/ml($r=0.999\ 9$); 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD<2%; 加样回收率分别为 98.58%~100.91% (RSD=1.02%, $n=6$)、99.19%~101.00% (RSD=0.82%, $n=6$)、98.41%~101.51% (RSD=1.08%, $n=6$)。结论: 该方法操作简便, 稳定性、重复性好, 可用于桑叶药材及其炮制品中绿原酸、芦丁和异槲皮苷含量的同时测定。

关键词 桑叶; 炮制品; 绿原酸; 芦丁; 异槲皮苷; 高效液相色谱法

Simultaneous Determination of Chlorogenic Acid, Rutin and Isoquercitrin in *Morus alba* and Its Processed Products by HPLC

CHENG Congmei¹, MAO Juhua², YU Le²(1. Longquan Hospital of TCM, Zhejiang Longquan 323700, China; 2. Lishui Institute for Food and Drug Control, Zhejiang Lishui 323000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous contents determination of chlorogenic acid, rutin and isoquercitrin in *Morus alba*, fried *M. alba* and honeyed *M. alba*. METHODS: HPLC was performed on the column of Agilent Zorbax SB-C₁₈ with mobile phase of acetonitrile -0.2% phosphoric acid (gradient elution) at a flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 350 nm, the column temperature was 30 ℃, and injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range was 8.20-82.01 μg/ml for chlorogenic acid ($r=0.999\ 9$), 2.76-27.60 μg/ml for rutin ($r=0.999\ 9$) and 4.74-47.39 μg/ml for isoquercitrin ($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recoveries were 98.58%-100.91% (RSD=1.02%, $n=6$), 99.19%-101.00% (RSD=0.82%, $n=6$) and 98.41%-101.51% (RSD=1.08%, $n=6$), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple with good stability and reproducibility, and can be used for the simultaneous determination of chlorogenic acid, rutin and isoquercitrin in different processed drugs of *M. alba*.

KEYWORDS *Morus alba*; Processed products; Chlorogenic acid; Rutin; Isoquercitrin; HPLC

桑叶为桑科植物桑 *Morus alba* L. 的干燥叶, 性味甘、苦、寒, 归肺、肝经, 具疏散风热、清肺润燥、清肝明目的功效, 主要

用于风热感冒、肺热燥咳、头晕头痛、目赤昏花等证的治疗^[1]。桑叶中含多种类型的化学成分^[2-3], 其中黄酮类为其重要活性

于 DB-WAX 更适用于分析挥发性的有机酸, 故本研究最终选择了 DB-FFAP 色谱柱。

氟比洛芬酯易溶于乙腈, 且乙腈不干扰 1, 1-乙二醇二乙酸酯与乙酸的分离, 因此本研究选用乙腈作为溶剂。

综上所述, 本方法简便、灵敏、可靠, 可用于氟比洛芬酯原料药中 1, 1-乙二醇二乙酸酯和乙酸的残留量测定。

参考文献

- [1] 韩斌, 赵国胜. 氟比洛芬酯的临床应用进展[J]. 中国误诊学杂志, 2011, 11(7): 1 529.
- [2] 常潘, 张瑞芹. 氟比洛芬酯抗炎及免疫保护研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2013, 27(10): 937.
- [3] 丁冬, 屠伟峰. 氟比洛芬酯注射液用于术后镇痛的研究进展[J]. 实用医学杂志, 2007, 23(11): 1 603.

- [4] 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: 通则 0861 105-109.
- [5] 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, 2000: 82-89.
- [6] 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.
- [7] 刘瑞萍, 邢军, 刘文娟, 等. 毛细管气相色谱法测定盐酸头孢卡品酯原料药中残留溶剂[J]. 药学研究, 2014, 33(6): 339.
- [8] 李园, 于捷飞, 徐箐, 等. 毛细管气相色谱法测定盐酸吉西他滨中 5 种有机溶剂残留量[J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(14): 1 199.

(收稿日期: 2015-12-09 修回日期: 2016-06-06)

(编辑: 周 箐)

* 主管中药师。研究方向: 中成药、中药材(饮片)质量。电话: 0578-7220537。E-mail: 659633482@qq.com