

HS-GC法测定消旋酮异亮氨酸钙原料药中的4种残留溶剂

唐翎*,张婷#(中南大学湘雅医院药学部,长沙 410008)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)21-2998-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.21.39

摘要 目的:建立测定消旋酮异亮氨酸钙原料药中4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,柱温采用程序升温,检测器为FID,进样口温度为200℃,检测器温度为250℃,载气为氮气,流速为1.0 ml/min,进样体积为1 ml,进样方式为顶空进样,顶空平衡温度为70℃,顶空平衡时间为30 min。结果:甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃检测质量浓度线性范围分别为120.04~480.16、200.21~800.83、204.05~816.19、28.35~113.39 μg/ml($r=0.997\ 8, 0.998\ 5, 0.999\ 2, 0.998\ 9$);检测限分别为6.002、50.05、51.01、7.087 μg/ml;精密度试验的RSD<3%;加样回收率分别为95.0%~105.6%、97.5%~106.4%、98.1%~105.9%、88.8%~99.2%,RSD分别为3.95%、3.67%、3.16%、3.79%($n=9$);3批样品中4种残留溶剂均未检出。结论:该方法操作简单,结果准确、可靠,可用于消旋酮异亮氨酸钙原料药中的残留溶剂测定。

关键词 顶空气相色谱法;消旋酮异亮氨酸钙原料药;残留溶剂

Determination of 4 Kinds of Residual Solvents in Racemic Ketoisoleucine Calcium by Headspace Gas Chromatography

TANG Ling, ZHANG Ting (Dept. of Pharmacy, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of 4 kinds of residual solvents in racemic ketoisoleucine calcium. METHODS: Headspace gas chromatography was performed on the column of DB-624 capillary column by temperature programmed, detector was FID, inlet temperature was 200℃, detector temperature was 250℃, carrier gas was nitrogen, flow rate was 1.0 ml/min, injection volume was 1 ml by headspace sampling, equilibrium temperature was 70℃ and equilibrium time was 30 min. RESULTS: The linear range was 120.04-480.16 μg/ml for methanol ($r=0.997\ 8$), 200.21-800.83 μg/ml for ethanol ($r=0.998\ 5$), 204.05-816.19 μg/ml for ethyl acetate ($r=0.999\ 2$), 28.35-113.39 μg/ml for tetrahydrofuran ($r=0.998\ 9$); detection limits were 6.002 μg/ml, 50.05 μg/ml, 51.01 μg/ml and 7.087 μg/ml; RSD of precision was lower than 3%; recoveries were 95.0%-105.6% (RSD=3.95%, $n=9$), 97.5%-106.4% (RSD=3.67%, $n=9$), 98.1%-105.9% (RSD=3.16%, $n=9$) and 88.8%-99.2% (RSD=3.79%, $n=9$), respectively; 4 kinds of residual solvents were not detected. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reliable, and can be used for the determination of residual solvents in racemic ketoisoleucine calcium.

KEYWORDS Headspace gas chromatography; Racemic ketoisoleucine calcium; Residual solvent

异亮氨酸为人体8种必需氨基酸之一。消旋酮异亮氨酸钙在体内利用非必需氨基酸的氮转化为异亮氨酸而发挥作用,临床主要用于补充营养、降低血氨、纠正氨基酸代谢失衡及用于慢性肾衰竭和急性慢性肝炎的辅助治疗等。药品中的残留溶剂是指在合成原料、辅料或制剂生产过程中使用或产生的挥发性有机化学物质,其在生产过程中未能被全部清除,服用后对人体有毒性或致癌作用。而消旋酮异亮氨酸钙合成过程中使用甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃作为溶剂。为此,本试验根据《中国药典》2015年版^[1]的相关规定和人用药品注册技术规范国际协调会议(ICH)^[2]的要求,建立了以顶空气相色谱法(HS-GC)测定消旋酮异亮氨酸钙原料药中4种残留溶剂的方法。

1 材料

1.1 仪器

6890型GC仪,配有7679A型顶空自动进样装置、氢火焰离子化检测器(FID)和色谱工作站(美国安捷伦公司);XP205

*主管药师,硕士。研究方向:临床药学、药物制剂质量标准。电话:0731-84327455。E-mail:tangling82@126.com

#通信作者:副主任药师,硕士。研究方向:药物制剂质量标准。电话:0731-84327265。E-mail:850326813@qq.com

型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

1.2 试剂

消旋酮异亮氨酸钙原料药(中南大学药学院药化教研室自制,批号:141027、141028、141029);甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、二甲基甲酰胺(DMF)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(30.0 m×0.32 mm×1.80 μm);检测器:FID;进样口温度:200℃;检测器温度:250℃;柱温:起始温度40℃,维持5 min,以10℃/min升至180℃,维持2 min;载气:氮气;流速:1.0 ml/min;进样体积:1 ml;进样方式:顶空进样;顶空平衡温度:70℃;顶空平衡时间:30 min。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品贮备液 分别精密称取甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃各适量,加DMF溶解并定量稀释制成每1 ml约含甲醇3 mg、乙醇5 mg、乙酸乙酯5 mg、四氢呋喃0.7 mg的混合对照品贮备液。

2.2.2 混合对照品溶液 精密量取“2.2.1”项下混合对照品贮备液5 ml,置于50 ml量瓶中,加DMF稀释至刻度,摇匀,即得

混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液 精密称取样品约0.1 g,置于顶空瓶中,精密加入1 ml DMF使样品溶解,摇匀,密塞,即得。

2.3 系统适用性试验

取空白溶剂和“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱,详见图1。结果显示,各待测溶剂成分色谱峰的分离度分别为25.97、52.79、6.85,理论板数分别为217 833、232 062、435 134、423 339,待测溶剂成分色谱峰与DMF色谱峰之间分离良好。

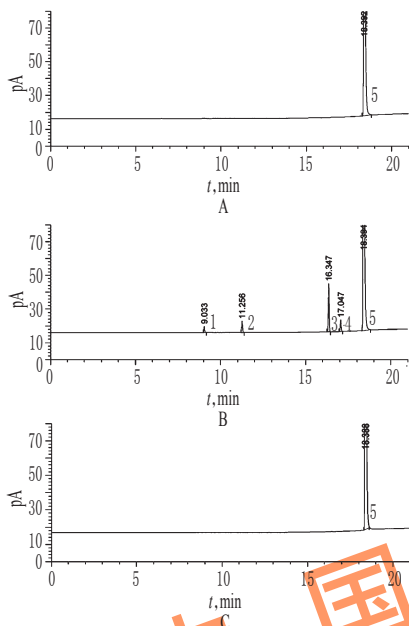


图1 气相色谱图

A.空白溶剂;B.混合对照品溶液;C.供试品溶液;1.甲醇;2.乙醇;3.乙酸乙酯;4.四氢呋喃;5.DMF

Fig 1 Gas chromatograms

A.blank solution;B.mixed reference substance solution;C.test sample solution; 1.methanol; 2.ethanol; 3.ethyl acetate; 4.tetrahydrofuran; 5.DMF

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2、3、4、5、6、7、8 ml,置于不同的50 ml量瓶中,加DMF稀释至刻度,摇匀,制成系列线性工作溶液①~⑦,分别按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积。以待测溶剂成分峰面积(y)为纵坐标、质量浓度(x, μg/ml)为横坐标进行线性回归,回归方程和线性范围如表1所示。

表1 回归方程和线性范围

Tab 1 Regression equations and linear ranges

溶剂	回归方程	线性范围, μg/ml	r
甲醇	$y=0.0415x-1.1154$	120.04~480.16	0.9978
乙醇	$y=0.0504x-1.9786$	200.21~800.83	0.9985
乙酸乙酯	$y=0.2259x-2.1636$	204.05~816.19	0.9992
四氢呋喃	$y=0.4228x-0.3164$	28.35~113.39	0.9989

2.5 检测限考察

取“2.2.2”项下混合对照品溶液适量,用DMF逐级稀释,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,当信噪比为3:1时测得甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃的检测限分别为6.002、50.05、51.01、7.087 μg/ml。

2.6 精密度试验

取“2.2.2”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、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃峰面积的RSD分别为1.72%、1.84%、2.06%、1.92% (n=6),表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验

取批号为141027的样品适量,分别按“2.2.3”项下方法平行制备6份供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算含量。结果,甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃均未检出。

2.8 加样回收率试验

取批号为141027的样品共9份,每份约0.1 g,精密称定,置于顶空瓶中,3份为一组分别精密加入“2.4”项下③、④、⑤号线性工作溶液各1ml,溶解,摇匀,分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,用外标法以峰面积计算加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 2 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, %			
甲醇	0	12.004	12.264	102.2	100.2	3.95			
	0	12.004	12.451	103.7					
	0	12.004	11.409	95.0					
	0	15.005	14.912	99.4					
	0	15.005	14.639	97.6					
	0	15.005	14.327	95.5					
	0	18.006	19.013	105.6					
	0	18.006	18.859	104.7					
	0	18.006	17.725	98.4					
	乙醇	0	20.021	21.056			105.2	101.5	3.67
		0	20.021	19.521			97.5		
		0	20.021	19.851			99.2		
		0	25.026	24.533			98.0		
		0	25.026	25.102			100.3		
		0	25.026	26.357			105.3		
		0	30.031	29.273			97.5		
		0	30.031	31.947			106.4		
		0	30.031	31.325			104.3		
乙酸乙酯		0	20.405	20.144	98.7	102.3	3.16		
		0	20.405	20.017	98.1				
		0	20.405	21.452	105.1				
		0	25.506	25.011	98.1				
		0	25.506	26.431	103.6				
		0	25.506	27.012	105.9				
		0	30.607	31.201	101.9				
		0	30.607	31.773	103.8				
		0	30.607	32.305	105.5				
	四氢呋喃	0	2.835	2.615	92.2			94.4	3.79
		0	2.835	2.667	94.1				
		0	2.835	2.517	88.8				
		0	3.544	3.176	89.6				
		0	3.544	3.368	95.0				
		0	3.544	3.453	97.4				
		0	4.252	4.101	96.4				
		0	4.252	4.124	97.0				
		0	4.252	4.219	99.2				

2.9 样品中残留溶剂的测定

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并按外标法以峰面积计算含量。结果,3批样品中均未检出甲醇、乙醇、乙酸乙酯和四氢呋喃。

3 讨论

消旋酮异亮氨酸钙、乙酸乙酯的水溶性较差,而其在DMF

脉康合剂的质量标准研究

申琳^{1*}, 曲佳^{2#}, 孙永跃³ (1. 天津中医药大学第二附属医院, 天津 300150; 2. 天津市药品检验所, 天津 300070; 3. 天津理工大学化学化工学院, 天津 300384)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)21-3000-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.21.40

摘要 目的: 建立脉康合剂的质量标准。方法: 采用薄层色谱法(TLC)对制剂中白芍、当归、川芎、黄芪、五味子、麦冬进行定性鉴别。采用高效液相色谱法测定制剂中五味子醇甲的含量: 色谱柱为Kromasil C₁₈, 流动相为甲醇-水(60:40, V/V), 流速为1.0 ml/min, 检测波长为254 nm, 柱温为40 ℃, 进样量为20 μl。结果: 白芍、当归、川芎、黄芪、五味子、麦冬TLC图斑点清晰, 分离度好。五味子醇甲检测质量浓度线性范围为1~50 μg/ml ($r=0.999\ 9$); 精密度、稳定性、重复性试验的RSD<2%; 加样回收率为97.01%~98.58% (RSD=0.56%, $n=6$)。结论: 该研究所建标准可用于脉康合剂的质量控制。

关键词 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 五味子醇甲; 质量控制

Study on the Quality Standard for Maikang Mixture

SHEN Lin¹, QU Jia², SUN Yongyue³ (1. The Second Affiliated Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin 300150, China; 2. Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China; 3. College of Chemistry and Chemical Engineering, Tianjin University of Technology, Tianjin 300384, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard for Maikang mixture. METHODS: TLC was used for the qualitative identification of *Paeonia lactiflora*, *Angelica sinensis*, *Ligusticum chuanxiong*, *Astragalus membranaceus*, *Schisandra chinensis* and *Ophiopogon japonicus*. HPLC was used for the content determination of schisandrin: the column was Kromasil C₁₈ with mobile phase of methanol-water (60:40, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 254 nm, column temperature was 40 ℃, and the injection volume was 20 μl. RESULTS: *P. lactiflora*, *A. sinensis*, *L. chuanxiong*, *A. membranaceus*, *S. chinensis* and *O. japonicus* showed clear spots and well separated. The linear range of schisandrin was 1-50 μg/ml ($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recovery was 97.01%-98.58% (RSD=0.56%, $n=6$). CONCLUSIONS: The established standard can be used for the quality control of Maikang mixture.

KEYWORDS TLC; HPLC; Schisandrin; Quality control

中均能很好地溶解,且DMF不干扰4种待测溶剂成分的测定,故选用DMF作为溶剂。

采用HS-GS法测定样品中残留溶剂,可以消除基质的潜在干扰,且仪器污染少,可有效保护色谱柱。预试验曾考察了不同顶空平衡温度(60、65、70、75、80 ℃)、相同顶空平衡时间30 min下各待测溶剂成分的色谱峰面积。结果显示,随着顶空平衡温度升高,各待测溶剂成分色谱峰面积增大,但从70 ℃升到80 ℃时峰面积基本不变,故选择70 ℃为顶空平衡温度。顶空平衡时间取决于待测溶剂成分分子从样品基质到气相的扩散速度。预试验进一步考察了70 ℃顶空平衡温度、不同顶空平衡时间(10、20、30、40 min)下各待测溶剂成分的色谱峰面积。结果显示,顶空平衡时间超过30 min后有机溶剂峰面积基本不变,故选择30 min为顶空平衡时间。

检测样品中的残留溶剂时采用程序升温方法,可使各待测溶剂成分色谱峰的分度度更大,同时可消除基质效应^[3-7]。经预试验,最终确定升温程序为:40 ℃为初始温度,维持5 min,再以10 ℃/min的速率升温至180 ℃,维持2 min。在此条

件下,各待测成分理论板数高,分离效果好。

综上所述,本方法操作简单,结果准确、可靠,可用于消旋酮异亮氨酸钙原料药中的残留溶剂测定。

参考文献

- [1] 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 105-109.
- [2] ICH指导委员会. 周海钧主译. 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: 134-136.
- [3] 郑金琪, 岑予欣, 付利娜, 等. 顶空毛细管气相色谱法测定本苄醇中多种残留溶剂[J]. 中国现代应用药学, 2014, 31(12): 1500.
- [4] 池舒耀, 伍迪科, 孙晋红, 等. 顶空气相色谱法同时测定人工牛黄中7种残留溶剂[J]. 色谱, 2014, 32(5): 553.
- [5] 张秉华, 马雯霞, 王发. 气相色谱法测定硝酸咪康唑原料的残留溶剂[J]. 西北药学杂志, 2014, 29(4): 368.
- [6] 李颖颖, 李京, 王悦, 等. 低分子肝素残留溶剂检测方法建立[J]. 中国药学杂志, 2014, 49(15): 1350.
- [7] 沈艳丽, 刘建平. 毛细管顶空GC法测定阿加曲班中的残留溶剂[J]. 食品与药品, 2014, 16(4): 282.

(收稿日期: 2015-07-31 修回日期: 2016-06-08)

(编辑: 周 箐)

* 主管药师, 硕士。研究方向: 临床药学、中药学。电话: 022-23513806。E-mail: 59368539@qq.com

通信作者: 主管药师, 硕士。研究方向: 中药和中成药质量分析。电话: 022-23513806。E-mail: qj4599@sina.com