

毛细管气相色谱法同时测定埃索美拉唑镁原料药中8种有机溶剂的残留量

郭 阳*, 冯 敏, 陈玉洁[石药集团中奇制药技术(石家庄)有限公司, 石家庄 050035]

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)36-5160-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.36.32

摘要 目的:建立同时测定埃索美拉唑镁原料药中乙醇、乙酸乙酯、异丙苯、甲醇、甲苯、2-苯基-2-丙醇、二氯甲烷、乙腈8种有机溶剂残留量的方法。方法:采用毛细管气相色谱法。色谱柱为HP-1,程序升温,进样口温度220℃,检测器为氢火焰离子化检测器,检测器温度为250℃,载气为氮气,流速为4.0 mL/min,分流比为10:1,进样量为1 μL。结果:乙醇、乙酸乙酯、异丙苯、甲醇、甲苯、2-苯基-2-丙醇、二氯甲烷、乙腈检测质量浓度线性范围分别为45.2~904 μg/mL($r=0.9997$)、45.5~909 μg/mL($r=0.9997$)、9.0~180 μg/mL($r=0.9998$)、27.1~542 μg/mL($r=0.9998$)、8.7~174 μg/mL($r=0.9997$)、9.1~183 μg/mL($r=0.9994$)、5.8~115 μg/mL($r=0.9994$)、3.7~74 μg/mL($r=0.9994$);定量限分别为4.5、3.0、1.4、2.7、0.6、3.0、3.9、2.8 ng,检测限分别为2.2、1.0、0.4、1.4、0.3、1.0、2.0、1.4 ng;精密度试验的RSD<2.0%,重复性试验中只检出乙醇、甲醇、甲苯,其峰面积的RSD均<2.0%;加样回收率分别为95.6%~104.9%(RSD=3.3%, $n=9$)、98.7%~102.0%(RSD=1.1%, $n=9$)、100.0%~103.1%(RSD=1.1%, $n=9$)、95.7%~104.4%(RSD=3.0%, $n=9$)、99.3%~104.4%(RSD=1.7%, $n=9$)、95.6%~102.2%(RSD=2.6%, $n=9$)、95.1%~103.3%(RSD=2.6%, $n=9$)、97.5%~103.3%(RSD=1.7%, $n=9$)。结论:该方法灵敏度高、操作简单,适用于埃索美拉唑镁原料药中8种有机溶剂残留量的同时测定。

关键词 埃索美拉唑镁;原料药;有机溶剂;残留;毛细管气相色谱法

Simultaneous Determination of 8 Residual Organic Solvents in Esomeprazole Magnesium Raw Material by Capillary GC

GUO Yang, FENG Min, CHEN Yujie(CSPC Zhongqi Pharmaceutical Technology (Shijiazhuang) Co., Ltd, Shijiazhuang 050035, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a method for simultaneous determination of 8 residual organic solvents in esomeprazole magnesium raw material, including ethanol, ethyl acetate, isopropylbenzene, methanol, methylbenzene, 2-phenyl-2-propanol, dichloromethane and acetonitrile. METHODS: Capillary GC was adopted. The determination was performed on HP-1 column by programmed temperature. The temperature of injector port was 220 °C, with flame ionization detector at temperature of 250 °C, using nitrogen as carrier gas, at the flow rate of 4.0 mL/min, with split ratio of 10:1 and injection volume of 1 μL. RESULTS: The linear ranges of ethanol, ethyl acetate, isopropylbenzene, methanol, methylbenzene, 2-phenyl-2-propanol, dichloromethane and acetonitrile were 45.2-904 μg/mL($r=0.9997$), 45.5-909 μg/mL($r=0.9997$), 9.0-180 μg/mL($r=0.9998$), 27.1-542 μg/mL($r=0.9998$), 8.7-174 μg/mL($r=0.9997$), 9.1-183 μg/mL($r=0.9994$), 5.8-115 μg/mL($r=0.9994$), 3.7-74 μg/mL($r=0.9994$), respectively. The quantitation limits were 4.5, 3.0, 1.4, 2.7, 0.6, 3.0, 3.9, 2.8 ng, and the limits of detection were 2.2, 1.0, 0.4, 1.4, 0.3, 1.0, 2.0, 1.4 ng, respectively. RSDs of precision tests were all lower than 2.0%. Only ethanol, methanol and methylbenzene were detected in reproducibility test, RSDs of their peak area were lower than 2.0%. The recoveries were 95.6%-104.9%(RSD=3.3%, $n=9$), 98.7%-102.0%(RSD=1.1%, $n=9$), 100.0%-103.1%(RSD=1.1%, $n=9$), 95.7%-104.4%(RSD=3.0%, $n=9$), 99.3%-104.4%(RSD=1.7%, $n=9$), 95.6%-102.2%(RSD=2.6%, $n=9$), 95.1%-103.3%(RSD=2.6%, $n=9$), 97.5%-103.3%(RSD=1.7%, $n=9$), respectively. CONCLUSIONS: The method is sensitive and simple, and it is suitable for simultaneous determination of 8 residual organic solvents in esomeprazole magnesium raw material.

KEYWORDS Esomeprazole magnesium; Raw material; Organic solvent; Residual; Capillary GC

埃索美拉唑镁(Esomeprazole Magnesium)商品名为耐信(Nexium),是奥美拉唑的(S)-型异构体,是全球首个治疗胃溃疡方面的质子泵抑制剂(PPI),通过特异性抑制胃壁细胞质子泵减少胃酸分泌^[1],其主要用于治疗食管反流病、幽门螺杆菌(Hp)阳性的消化性溃疡

等疾病;其特点为口服后的首关效应少,生物利用度和血药浓度较奥美拉唑或其(R)-型异构体高。研究表明,埃索美拉唑镁疗效明显优于奥美拉唑、兰索拉唑、雷贝拉唑以及泮托拉唑等^[2]。埃索美拉唑镁在合成工艺中使用了乙醇、乙酸乙酯、异丙苯、甲醇、甲苯、2-苯基-2-丙醇、二氯甲烷和乙腈等有机溶剂,为有效控制该原料药质量,保证用药安全,必须对上述有机溶剂残留量进行

* 工程师,硕士。研究方向:药物质量控制。电话:0311-67808907。E-mail:953736257@qq.com

有效控制。鉴于此,笔者参考相关文献^[3-5],采用毛细管气相色谱法建立了同时测定埃索美拉唑镁原料药中上述8种有机溶剂残留量的方法,以期为该原料的质量控制提供依据。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 7890A型气相色谱仪,包括自动进样器、氢火焰离子化检测器、色谱工作站(美国Agilent公司);XS105 DualRange型电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司)。

1.2 药品与试剂

埃索美拉唑镁原料药[石药集团中奇制药技术(石家庄)有限公司,批号:20160101、20160102、20160103];乙醇对照品(天津市光复科技发展有限公司,批号:20161110)、乙酸乙酯对照品(国药集团化学试剂有限公司,批号:20140929)、异丙苯对照品(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号:G1530023)、甲醇对照品(ACS Chemicals Supply,批号:63Y1706TE)、甲苯对照品(天津市致远化学试剂有限公司,批号:20161019)、2-苯基-2-丙醇对照品[萨恩化学技术(上海)有限公司,批号:EA180093]、二氯甲烷对照品(天津市致远化学试剂有限公司,批号:20161110)、乙腈对照品(RCI Labscan Limited,批号:16010307),纯度均>97%;二甲基亚砜为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:HP-1(60 m×0.53 mm,5.00 μm);升温程序:初始温度为40℃,保持6 min,以20℃/min升温至160℃,保持3 min,以20℃/min升温至210℃,保持5 min;进样口温度:220℃;检测器:氢火焰离子化检测器;检测器温度:250℃;载气:氮气;流速:4.0 mL/min;分流比:10:1;进样量:1 μL。

2.2 溶液的准备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取乙醇对照品500 mg、乙酸乙酯对照品500 mg、异丙苯对照品500 mg、甲醇对照品300 mg、甲苯对照品89 mg、2-苯基-2-丙醇对照品89 mg、二氯甲烷对照品60 mg、乙腈对照品41 mg,置于同一100 mL量瓶中,加二甲基亚砜定容,摇匀,即得混合对照品贮备液。精密量取上述混合对照品贮备液5 mL,置于50 mL量瓶中,加二甲基亚砜定容,摇匀,即得。

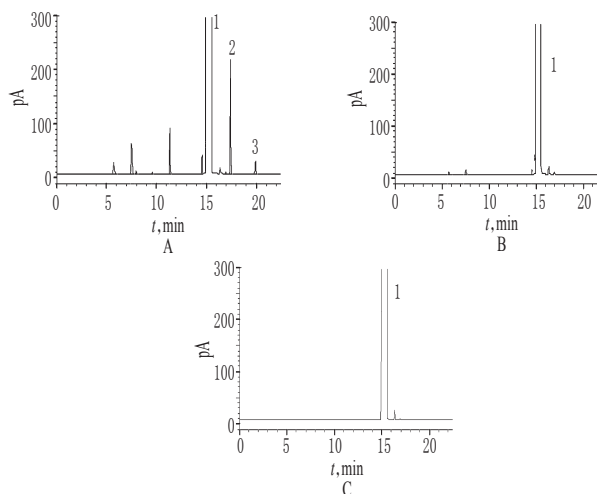
2.2.2 供试品溶液 精密称取样品0.9 g,置于10 mL量瓶中,加二甲基亚砜溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 空白对照溶液 取二甲基亚砜适量作为空白对照溶液。

2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液和空白对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。由图1可知,在该色谱条件下,各

成分均能达到基线分离,分离度>1.5;理论板数以乙醇峰计为40 000,保留时间为7.5 min。结果表明,其他成分对测定无干扰。



A.混合对照品;B.供试品;C.空白对照;1.二甲基亚砜;2.异丙苯;3.2-苯基-2-丙醇

A. mixed control; B. test sample; C. blank control; 1. dimethyl sulfoxide; 2. cumene; 3. 2-phenyl-2-propanol

图1 气相色谱图

Fig 1 GC chromatograms

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下混合对照品贮备液0.5、1.0、2.5、5.0、7.5、10.0 mL,分别置于50 mL量瓶中,加二甲基亚砜定容,摇匀,即得系列混合对照品溶液。取上述系列混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测有机溶剂质量浓度(x , μg/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,回归方程与线性范围见表1。

表1 回归方程与线性范围

Tab 1 Regression equations and linear ranges

待测有机溶剂	回归方程	r	线性范围, μg/mL
乙醇	$y=0.653 0x-5.475 0$	0.999 7	45.2~904
乙酸乙酯	$y=0.632 2x-1.291 4$	0.999 7	45.5~909
异丙苯	$y=1.675 3x-0.680 8$	0.999 8	9.0~180
甲醇	$y=0.441 7x-1.461 8$	0.999 8	27.1~542
甲苯	$y=1.501 3x-0.260 8$	0.999 7	8.7~174
2-苯基-2-丙醇	$y=0.111 6x+0.653 7$	0.999 4	9.1~183
二氯甲烷	$y=0.177 2x+0.653 7$	0.999 4	5.8~115
乙腈	$y=0.593 4x-0.666 8$	0.999 4	3.7~74

2.5 定量限(LOQ)与检测限(LOD)考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。当信噪比为10:1时,得LOQ;当信噪比为3:1时,得LOD。结果,乙醇、乙酸乙酯、异丙苯、甲醇、甲苯、2-苯基-2-丙醇、二氯甲烷、乙腈的LOQ分别为4.5、3.0、1.4、2.7、0.6、3.0、3.9、2.8 ng; LOD分别为2.2、1.0、0.4、1.4、0.3、1.0、2.0、1.4 ng。

2.6 精密度试验

精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液1 μL,按

“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,乙醇、乙酸乙酯、异丙苯、甲醇、甲苯、2-苯基-2-丙醇、二氯甲烷、乙腈峰面积的RSD分别为1.0%、1.0%、1.0%、1.0%、1.2%、1.0%、1.3%、1.4% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验

取样品(批号:20160101)适量,共6份,按“2.2.2”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,只检出乙醇、甲醇、甲苯,其残留量的平均值分别为0.08%、0.06%、0.02%;RSD分别为1.8%、1.4%、1.5% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取样品(批号:20160101)适量,共9份,每份约0.9 g,分别置于10 mL量瓶中,各加入低、中、高质量的待测有机溶剂对照品,按“2.2.2”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 tests ($n=9$)

待测有机溶剂	取样量, mg	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	900.1	0.72	2.26	2.95	98.7	101.0	3.3	
	900.2	0.72	2.26	2.91	96.9			
	900.4	0.72	2.26	2.88	95.6			
	900.8	0.72	4.51	5.22	99.8			
	900.7	0.72	4.51	5.33	102.2			
	900.5	0.72	4.51	5.35	102.7			
	900.1	0.72	6.77	7.80	104.6			
	900.6	0.72	6.77	7.82	104.9			
	900.4	0.72	6.77	7.71	103.2			
	乙酸乙酯	900.1	0	2.28	2.25	98.7	100.8	1.1
		900.2	0	2.28	2.29	100.4		
		900.4	0	2.28	2.31	101.3		
		900.8	0	4.56	4.57	100.2		
		900.7	0	4.56	4.55	99.8		
		900.5	0	4.56	4.65	102.0		
		900.1	0	6.84	6.90	100.9		
		900.6	0	6.84	6.95	101.6		
		900.4	0	6.84	6.97	101.9		
异丙苯		900.1	0	2.26	2.26	100.0	101.5	1.1
		900.2	0	2.26	2.26	100.0		
		900.4	0	2.26	2.30	101.8		
		900.8	0	4.52	4.57	101.1		
		900.7	0	4.52	4.59	101.5		
		900.5	0	4.52	4.65	102.9		
		900.1	0	6.79	6.89	101.5		
		900.6	0	6.79	6.93	102.1		
		900.4	0	6.79	7.00	103.1		
	甲醇	900.1	0.54	1.53	2.06	99.3	100.9	3.0
		900.2	0.54	1.53	2.08	100.7		
		900.4	0.54	1.53	2.03	97.4		
		900.8	0.54	3.05	3.46	95.7		
		900.7	0.54	3.05	3.64	101.6		
		900.5	0.54	3.05	3.69	103.3		
		900.1	0.54	4.58	5.31	104.1		

续表2

Continued tab 2

待测有机溶剂	取样量, mg	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, %	
甲苯	900.6	0.54	4.58	5.32	104.4			
	900.4	0.54	4.58	5.21	101.9			
	900.1	0.18	0.45	0.65	104.4	101.7	1.7	
	900.2	0.18	0.45	0.64	102.2			
	900.4	0.18	0.45	0.63	100.0			
	900.8	0.18	0.90	1.12	104.4			
	900.7	0.18	0.90	1.09	101.1			
	900.5	0.18	0.90	1.10	102.2			
	900.1	0.18	1.36	1.57	102.2			
	900.6	0.18	1.36	1.58	102.9			
	900.4	0.18	1.36	1.53	99.3			
	2-苯基-2-丙醇	900.1	0	0.45	0.44	97.8	99.5	2.6
		900.2	0	0.45	0.43	95.6		
		900.4	0	0.45	0.43	95.6		
		900.8	0	0.90	0.89	98.9		
		900.7	0	0.90	0.89	98.9		
		900.5	0	0.90	0.90	100.0		
		900.1	0	1.34	1.36	101.5		
900.6		0	1.34	1.37	102.2			
900.4		0	1.34	1.37	102.2			
二氯甲烷		900.1	0	0.30	0.31	103.3	100.1	2.6
		900.2	0	0.30	0.31	103.3		
		900.4	0	0.30	0.30	100.0		
		900.8	0	0.61	0.58	95.1		
		900.7	0	0.61	0.60	98.4		
		900.5	0	0.61	0.61	100.0		
		900.1	0	0.91	0.91	100.0		
		900.6	0	0.91	0.93	102.2		
		900.4	0	0.91	0.90	98.9		
	乙腈	900.1	0	0.20	0.20	100.0	100.5	1.7
		900.2	0	0.20	0.20	100.0		
		900.4	0	0.20	0.20	100.0		
		900.8	0	0.40	0.39	97.5		
		900.7	0	0.40	0.40	100.0		
		900.5	0	0.40	0.41	102.5		
		900.1	0	0.61	0.62	101.6		
		900.6	0	0.61	0.63	103.3		
		900.4	0	0.61	0.61	100.0		

2.9 样品有机溶剂残留量测定

取3批样品各适量,按“2.2.2”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,记录峰面积并计算样品有机溶剂残留量,结果见表3(表中“-”表示未检出)。

表3 样品有机溶剂残留量测定结果($n=3$, %)

Tab 3 Results of residual organic solvents in samples ($n=3$, %)

样品批号	乙醇	乙酸乙酯	异丙苯	甲醇	甲苯	2-苯基-2-丙醇	二氯甲烷	乙腈
20160101	0.08	-	-	0.06	0.02	-	-	-
20160102	0.08	-	-	0.07	0.02	-	-	-
20160103	0.08	-	-	0.07	0.02	-	-	-

3 讨论

3.1 色谱柱的选择

笔者尝试使用DB-WAX色谱柱进行试验,结果乙醇

HPLC-MS/MS法测定桑菊感冒丸中3种成分的含量

刘世军^{1*},孙克明¹,刘宪勇¹,张敏¹,谷雨¹,王岩¹,毕文超¹,魏玮^{2#}(1.武警山东省总队医院药剂科,济南250014;2.解放军第81医院,南京210002)

中图分类号 R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)36-5163-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.36.33

摘要 目的:建立同时测定桑菊感冒丸中芦丁、连翘苷和桔梗皂苷D含量的方法。方法:采用高效液相色谱-串联质谱法。色谱柱为Waters Atlantis C₁₈,流动相为乙腈-0.1%甲酸溶液(梯度洗脱),流速为0.2 mL/min,柱温为35℃,进样量为10 μL。离子源为电喷雾离子源,采用多反应监测扫描模式和正离子检测模式,干燥气和雾化气均为高纯氮气,干燥气温度为270℃,干燥气流量为25 L/min,鞘气流量为10 L/min,毛细管电压为4 500 V,喷嘴电压为2 000 V,扫描时间为0.1 s。结果:芦丁、连翘苷和桔梗皂苷D检测质量浓度线性范围分别为0.010 82~2.164 μg/mL($r=0.999\ 7$)、0.010 18~2.036 μg/mL($r=0.999\ 4$)、0.010 27~2.054 μg/mL($r=0.999\ 7$);定量限分别为1.250、0.260、2.720 ng/mL,检测限分别为0.380、0.078、0.820 ng/mL;精密性、稳定性、重复性试验的RSD<3.0%;加样回收率分别为97.88%~99.88%(RSD=0.72%, $n=6$)、98.48%~103.13%(RSD=1.91%, $n=6$)、98.79%~101.41%(RSD=1.05%, $n=6$)。结论:该方法操作简便,精密性、稳定性、重复性好,可用于桑菊感冒丸中芦丁、连翘苷和桔梗皂苷D含量的同时测定。

关键词 高效液相色谱-串联质谱法;桑菊感冒丸;芦丁;连翘苷;桔梗皂苷D;含量

Content Determination of 3 Components in Sangju Ganmao Pills by HPLC-MS/MS

LIU Shijun¹, SUN Keming¹, LIU Xianyong¹, ZHANG Min¹, GU Yu¹, WANG Yan¹, BI Wenchao¹, WEI Wei² (1. Dept. of Pharmacy, Armed Police Shandong Corps Hospital, Jinan 250014, China; 2. No. 81 Hospital of PLA, Nanjing 210002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for simultaneous determinations of rutin, forsythoside and platycodin D in Sangju ganmao pills. METHODS: HPLC-MS method was adopted. The determination was performed on Waters Atlantis C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% formic acid (gradient elution) at the flow rate of 0.2 mL/min. The column temperature was set 35℃, and sample size was 10 μL. The ionization mode was electrospray ion, and the reaction mode was multi-reaction monitoring. By positive ion detection mode, the drying gas and nebulizer gas were all high purity nitrogen. The drying gas tem-

与二氯甲烷不能有效分离,调整升温程序及载气流速分离效果均不佳;后选用HP-1色谱柱,结果乙醇与二氯甲烷分离度较好,且其他有机溶剂均分离适宜,因此选择HP-1为本试验的色谱柱。

3.2 氮气流速的选择

在方法优化过程中逐渐提升载气流速,结果显示,流速越高色谱峰越尖锐,灵敏度也越高,并且可缩短分析时间;但是流速过高,柱压增加,相邻溶剂峰分离度会变差,综合考虑,本试验选择氮气流速为4.0 mL/min。

3.3 进样口温度的选择

为了使样品更快更好地气化,综合考虑样品对热稳定的特性、溶剂二甲基亚砜的沸点(189℃)以及待测有机溶剂的沸点,最终本试验选择进样口温度为220℃。

3.4 稳定性试验

因供试品溶液浓度较高,溶剂二甲基亚砜熔点低于

20℃,在低温环境下易结冰,因此供试品溶液宜现配现用,本文亦不做稳定性试验。

综上所述,本方法灵敏度好,操作简单,适用于埃索美拉唑镁原料药中8种有机溶剂残留量的同时测定。

参考文献

- [1] Koch TR, Petro A, Darrabie M, *et al.* Effects of esomeprazole magnesium on nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy[J]. *Dig Dis Sci.*, 2005, 50(1):86-93.
- [2] 陈华,王晓蕙,金伟华.耐信[J]. *中国新药杂志*, 2003, 12(6):478-479.
- [3] 李淑丽,韦林洪,殷义平.埃索美拉唑钠残留溶剂苯的测定[J]. *化学研究与应用*, 2016, 28(3):366-369.
- [4] 冯光玲,丁文娟,冯爱国,等.毛细管气相色谱法测定阿莫曲坦原料药中8种有机溶剂残留量[J]. *中国药房*, 2014, 25(5):453-455.
- [5] 国家药典委员会. *中华人民共和国药典:二部*[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社, 2015:127-128.

(收稿日期:2017-03-11 修回日期:2017-07-14)

(编辑:刘柳)

* 主任药师。研究方向:临床药学及药物检定。电话:0531-83197332。E-mail: Lsj60j@126.com

通信作者:主任药师。研究方向:中药药理、药事管理。电话:025-80864189。E-mail: ww864189@163.com