

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.10.010

顶空气相色谱法测定硫酸莨菪碱原料药中有机溶剂残留量

刘冬梅¹, 郭成林², 官倩倩², 宋 军¹, 杨慈海^{1△}

(1. 湖北省荆门市食品药品监督管理局, 湖北 荆门 448124; 2. 湖北百科亨迪药业有限公司, 湖北 荆门 448000)

摘要:目的 建立测定硫酸莨菪碱原料药中有机溶剂残留量的顶空气相色谱法。方法 色谱柱为 DB-624 气相色谱柱(30 m×0.53 mm, 3.0 μm), 检测器为火焰离子化检测器, 程序升温, 检测器温度 250 ℃, 进样器温度 160 ℃, 柱流速 1.0 mL/min, 空气流速 400 mL/min, 氢气流速 40 mL/min, 氮气流速 30 mL/min, 分流比 10:1, 顶空瓶平衡温度 100 ℃, 平衡时间 30 min。结果 乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯质量浓度分别在 0.40~199.60 μg/mL ($r=0.9996$)、0.40~199.32 μg/mL ($r=0.9997$)、0.21~106.56 μg/mL ($r=0.9995$)、0.40~198.36 μg/mL ($r=0.9998$) 范围内与峰面积线性关系良好, 精密度试验的 RSD 均小于 2% ($n=6$), 平均加样回收率分别为 95.59%, 99.29%, 101.59%, 98.39%, RSD 分别为 0.8%, 3.5%, 0.9%, 1.8% ($n=6$)。结论 该方法操作简便, 专属性、精密度好, 可用于检测硫酸莨菪碱原料药中有机溶剂残留量。

关键词: 硫酸莨菪碱; 原料药; 有机溶剂残留量; 顶空气相色谱法; 质量控制

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)10-0028-03

Content Determination of Residual Solvents in the Active Pharmaceutical Ingredient of Hyoscyamine Sulfate by Headspace Gas Chromatography

LIU Dongmei¹, GUO Chenglin², GUAN Qianqian², SONG Jun¹, YANG Cihai¹

(1. Jingmen Institute for Food and Drug Control, Jingmen, Hubei, China 448124; 2 Hubei Biocause Heilen Pharmaceutical Co., Ltd., Jingmen, Hubei, China 448000)

Abstract: Objective To establish a headspace gas chromatography (HP-GC) method for the content determination of residual solvents in the active pharmaceutical ingredient (API) of hyoscyamine sulfate. **Methods** The column was DB-624 gas chromatographic column (30 m×0.53 mm, 3.0 μm), the detector was flame ionization detector (FID), and the column temperature was programmed temperature, the temperature of detector was 250 ℃, the temperature of injector was 160 ℃, the flow rate of column was 1.0 mL/min, the flow rate

第一作者: 刘冬梅, 女, 大学本科, 副主任药师, 研究方向为药品检验, (电话)0724-8885078(电子信箱)2751249315@qq.com。

△通信作者: 杨慈海, 男, 大学本科, 主任中药师, 研究方向为药物分析, (电话)0724-8885050(电子信箱)1447558970@qq.com。

紫外吸收强度良好, 故本方法检测波长采用 265 nm, 主峰为盐酸小檗碱, 分离度及峰形良好, 样品的其他物质不会干扰测定。

3.4 提取方法选择

供试品溶液提取方法的研究中比较了以甲醇^[11]、甲醇-盐酸^[12]、乙腈-0.1%磷酸溶液(50:50, V/V)^[13]为溶剂进行超声提取的效果, 结果以流动相乙腈-0.1%磷酸溶液(50:50, V/V)为溶剂时超声提取效果最好, 最终采用该流动相作为提取溶剂。

3.5 方法评价

本研究中建立的方法操作简便, 精密度高, 重复性和稳定性好, 可用于肠炎灌肠液的质量控制。

参考文献:

- [1] 葛曼青, 李五生. 溃疡性结肠炎临床治疗新进展[J]. 实用中西医结合临床, 2014, 14(11): 92-94.
- [2] 徐 红, 吕灵仪, 陈晓辉, 等. 5-氨基水杨酸肠溶片治疗慢性肠炎的疗效[J]. 中国医药科学, 2013, 3(4): 68-69.
- [3] 李 茜. 左氧氟沙星联合甲硝唑和山莨菪碱治疗慢性肠炎的临床观察[J]. 甘肃医药, 2013, 32(12): 892-893.
- [4] 余腾江, 陈卫东, 李五生, 等. 白头翁汤联合康复新液灌肠治

疗湿热型溃疡性结肠炎 43 例临床观察[J]. 云南中医中药杂志, 2017, 38(6): 52-53.

- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 374-376.
- [6] 李彩虹, 周克元. 黄连活性成分的作用及机制研究进展[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(2): 466-468.
- [7] 陈阳峰, 钟晓红. 黄柏的药理作用及其活性成分提取[J]. 作物研究, 2015, 29(5): 564-568.
- [8] 陈 良. 黄金膏中盐酸小檗碱的定性鉴别与含量测定[J]. 中国药房, 2015, 26(30): 4262-4263.
- [9] 李茂森. 复方黄连素片中盐酸小檗碱含量测定方法改进[J]. 中国药业, 2013, 22(14): 68-69.
- [10] 刘 佳, 陆雪萍. HPLC 测定止泻保童颗粒中盐酸小檗碱的含量[J]. 云南中医学院学报, 2016, 39(2): 37-39.
- [11] 李 静, 钱 江. 高效液相色谱法同时测定复方黄连素片中芍药苷和盐酸小檗碱含量[J]. 中国药业, 2016, 25(7): 61-63.
- [12] 彭晶玲, 李芳平. 高效液相色谱法测定糖肾康丸中盐酸小檗碱含量[J]. 亚太传统医药, 2016, 12(7): 29-31.
- [13] 梁凤娟. 高效液相色谱法测定尿酸胶囊中盐酸小檗碱的含量[J]. 临床和实验医学杂志, 2007, 6(8): 32-33.

(收稿日期: 2018-10-18)

of air was 400 mL/min, the flow rate of hydrogen gas was 40 mL/min, the flow rate of nitrogen was 30 mL/min, the shunt ratio was 10 : 1, the equilibrium temperature of headspace bottle was 100 °C, and the equilibrium time was 30 min. **Results** Ethanol, acetone, dichloromethane and ethyl acetate showed good relationship in the ranges of 0.40 – 199.60 µg/mL ($r=0.999\ 6$), 0.40 – 199.32 µg/mL ($r=0.999\ 7$), 0.21 – 106.56 µg/mL ($r=0.999\ 5$), 0.40 – 198.36 µg/mL ($r=0.999\ 8$), respectively. The RSD of precision test was less than 2% ($n=6$), and the average recovery rates were 95.59%, 99.29%, 101.59% and 98.39%, respectively. RSDs were 0.8%, 3.5%, 0.9%, 1.8% ($n=6$). **Conclusion** The method is simple, has good specificity and precision, which can be used for the content determination of residual solvents in the API of hyoscyamine sulfate.

Key words: hyoscyamine sulfate; active pharmaceutical ingredient; residual solvents; headspace gas chromatography; quality control

莨菪碱为副交感神经抑制剂^[1-2], 药理作用类似阿托品, 但水溶性不佳, 为满足制剂需求, 将莨菪碱制成硫酸盐后增加了溶解性但不改变药理作用。硫酸莨菪碱具有止痛解痉功能, 对坐骨神经痛有较好疗效, 有时也用于治疗癫痫、晕船等。由于其生产过程中用到乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯 4 种有机溶剂, 根据 2015 年版《中国药典(四部)》通则 0861 残留溶剂测定法^[3]的规定, 二氯甲烷为二类溶剂, 限度为 0.06%, 乙醇、丙酮、乙酸乙酯均属三类溶剂, 限度均为 0.50%。本研究中参考 2015 年版《中国药典(四部)》^{[3]64-65}和相关文献^[4-11], 采用顶空气相色谱法测定硫酸莨菪碱中 4 种有机溶剂的残留量, 可为药品生产过程的质量控制提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

TRACE1300 型气相色谱仪, TRIPLUS300 型自动顶空进样器(美国 Thermo Electron 公司); BP211D 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司)。

1.2 试药

硫酸莨菪碱(湖北百科亨迪药业有限公司, 批号分别为 318-180406, 318-170505, 318-170502); 二甲基亚砜为色谱纯, 乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯均为分析纯, 水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 气相色谱条件

色谱柱: DB-624 气相色谱柱(30 m × 0.53 mm × 3.0 µm); 检测器: 火焰离子化检测器, 程序升温(35 °C 保持 10 min, 以 35 °C/min 的速率升温至 180 °C, 保持 6 min; 以 40 °C/min 的速率升温至 200 °C, 保持 10 min); 检测器温度: 250 °C; 进样器温度: 160 °C; 柱流速: 1.0 mL/min; 空气流速: 400 mL/min; 氢气流速: 40 mL/min; 氮气流速: 30 mL/min; 分流比: 10 : 1; 顶空瓶平衡温度: 100 °C, 平衡时间 30 min; 顶空瓶体积: 20 mL; 样品体积: 5 mL。顶空定量环体积: 1 mL, 加热箱温度: 100 °C, 定量环温度: 110 °C, 传输线温度: 200 °C; 进样时间: 0.5 min, 循环时间: 33 min, 样品瓶平衡时间: 30 min, 压力平衡时间: 0.5 min。

2.2 溶液制备

称取乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯各适量, 精密称定, 分置装有二甲基亚砜的 10 mL 容量瓶中, 加二甲基亚砜定容, 作为 I, II, III, IV 号母液, 各取适量, 置同一 100 mL 容量瓶中, 制成乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯质量浓度分别为 0.998 0, 0.996 6, 0.532 8, 0.991 8 mg/mL 的混合溶液。精密量取 5 mL, 置 50 mL 容量瓶中, 加二甲基亚砜定容, 摇匀; 再精密量取 10 mL, 置 50 mL 容量瓶中, 加二甲基亚砜定容, 作为混合对照品溶液。取 I, II, III, IV 号母液各适量, 分别置 4 个容量瓶中, 加二甲基亚砜稀释, 制成乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯质量浓度分别为 99.80, 99.88, 52.80, 98.52 µg/mL 的定位溶液。取样品约 0.2 g, 精密称定, 置顶空瓶中, 精密加二甲基亚砜 5 mL 使溶解, 作为供试品溶液。以二甲基亚砜作为空白溶液。

2.3 方法学考察

专属性试验: 取 2.2 项下对照品溶液、供试品溶液、定位溶液、空白溶液各适量, 按 2.1 项下条件进样测定, 记录色谱图(见图 1)。结果空白溶液在与对照品溶液色谱图中相同保留时间处无干扰峰, 表明专属性良好。

线性关系考察: 精密量取 2.2 项下混合对照品溶液 0.5, 5.0, 10.0 mL, 各置 50 mL 容量瓶中, 加二甲基亚砜定容, 量取 2 mL, 各置 50 mL 容量瓶中, 加二甲基亚砜定容, 即得 1~3 号线性溶液; 精密量取 2.2 项下混合对照品溶液 2, 5, 10 mL, 各置 50 mL 容量瓶中, 加二甲基亚砜定容, 即得 4~6 号线性溶液。精密量取 1~6 号线性溶液各 5 mL, 置顶空瓶中, 按 2.1 项下条件进样测定, 记录峰面积。以待测成分质量浓度(X , µg/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归。结果见表 1。

检测限测定: 分别精密量取 2.2 项下混合对照品溶液适量, 倍比稀释, 并按 2.1 项下气相色谱条件进样测定, 以信噪比(S/N)3 : 1 计算检测限。结果见表 1。

精密度试验: 取 2.2 项下混合对照品溶液适量, 按 2.1 项下条件连续进样 6 次, 记录峰面积。结果乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯峰面积的 RSD 分别为 1.1%, 1.6%, 0.9%, 0.8% ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

加样回收试验: 取已知含量样品(批号为 318-

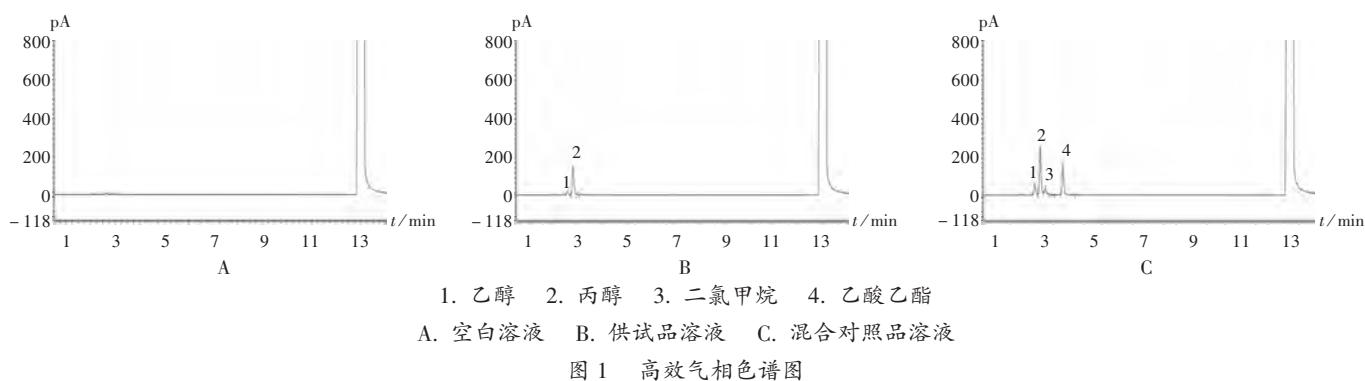


表1 回归方程、线性范围与检测限

成分	回归方程	r	线性范围($\mu\text{g/mL}$)	检测限($\mu\text{g/mL}$)
乙醇	$Y=0.0817X-0.4573$	0.9996	0.40~199.60	0.2146
丙酮	$Y=0.2766X+0.5610$	0.9997	0.40~199.32	0.2497
二氯甲烷	$Y=0.0311X+0.0037$	0.9995	0.21~106.56	0.2100
乙酸乙酯	$Y=0.2232X-0.4652$	0.9998	0.40~198.36	0.2956

表2 加样回收试验结果($n=6$)

成分	样品含量 ($\mu\text{g/mL}$)	加入量 ($\mu\text{g/mL}$)	测得量 ($\mu\text{g/mL}$)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
乙醇	10.00	19.96	29.08	95.59	0.8
丙酮	27.20	19.93	46.99	99.29	3.5
二氯甲烷	0	10.66	10.83	101.59	0.9
乙酸乙酯	0	19.84	19.52	98.39	1.8

180406)0.2 g,共6份,分别加入低、中、高质量浓度的混合对照品溶液,依法制备供试品溶液,按2.1项下条件进样,记录峰面积,并计算回收率,结果见表2。

2.4 样品中有机溶剂残留量测定

取3批样品各适量,分别按2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.1项下条件进样测定,平行测定3次,记录峰面积,并计算含量。结果批号为318-180406,318-170505,318-170502的样品中乙醇含量分别为0.025%,0.014%,0.018%,丙酮含量分别为0.068%,0.092%,0.053%,其他2种成分未检出。

3 讨论

3.1 进样方式选择

硫酸苄砒碱生产过程中用到的乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯,根据2015年版《中国药典(四部)》通则和药用药品注册技术规定国际协调会议(ICH)规则,应作为控制溶剂^{[3]105-109}。二氯甲烷为二类控制溶剂,采用顶空进样法测定可避免样品溶液对色谱柱的污染及样品基质的干扰,也无需对样品进行前处理,进样量大,可提高有机溶剂残留量的检测力度。

3.2 溶剂选择

硫酸苄砒碱在二甲基亚砜中易溶,选择二甲基亚砜有利于残留溶剂的检出。开始使用分析纯二甲基亚砜,

结果乙醇、丙酮有干扰峰存在;后又选择了色谱纯二甲基亚砜,结果消除了干扰峰。

3.3 分析条件选择

采用程序升温,开始以25℃/min的速率直接升温到200℃,保持10 min,柱流速2.5 mL/min,结果乙醇和丙酮峰重叠,分离度达不到要求;后改为以35℃/min的速率升温至180℃,保持6 min,再以40℃/min的速率升温至200℃,保持10 min,柱流速1.0 mL/min,乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯均能达到良好分离,重复性好,测定结果准确。

综上所述,该方法操作简便,专属性、精密度好,可用于硫酸苄砒碱原料药中有机溶剂残留量的控制。

参考文献:

- [1] 肖培根. 新编中药志:第三卷[M]. 北京:化学工业出版社, 2001:402-406.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:378.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015.
- [4] 杜碧莹. 顶空气相色谱法检测环戊丙酸雌二醇原料药中5种残留溶剂[J]. 中国药业,2017,26(7):24-26.
- [5] 李培,董青. 顶空气相色谱法检测血塞通分散片中有机溶剂残留量[J]. 中国药业,2017,26(9):29-32.
- [6] 李超. 顶空毛细管气相色谱法测定克林霉素磷酸酯中甲酸残留量[J]. 中国药业,2017,26(14):14-16.
- [7] 李伟强,李继,王荪璇,等. 顶空毛细管气相色谱法测定硫酸特布他林有机溶剂残留[J]. 中国药业,2017,26(18):22-24.
- [8] 杨龙华,宿洁,陈涛,等. 顶空气相色谱法同时测定疏辛酸中8种残留溶剂含量[J]. 中国药业,2016,25(3):49-52.
- [9] 杨本霞,黄珊,李杨. 顶空气相色谱法盐酸克林霉素中有机溶剂残留量[J]. 中国药师,2014,17(10):1784-1785.
- [10] 杨琪,刘延新,纪红英,等. 顶空气相色谱法测定盐酸厄洛替尼中有机溶剂残留量[J]. 中国药师,2016,19(6):1198-1200.
- [11] 海乐,龙海燕. 顶空气相色谱法测定依地酸二钠中甲醛残留量[J]. 中国药师,2018,21(3):530-532.

(收稿日期:2018-09-29)