

GC 测定枸橼酸坦度螺酮中的残留溶剂

张悦杨, 程智(四川省食品药品检验检测院, 成都 611730)

摘要: 目的 建立枸橼酸坦度螺酮原料药中甲醇、乙醇、异丙醇、乙酸乙酯、甲苯、*N,N*-二甲基甲酰胺残留量的测定方法。方法 采用顶空气相色谱法, DB-624 毛细管柱(30 m×0.32 mm, 1.80 μm), 柱温为 40 °C, 保持 5 min, 以 20 °C·min⁻¹ 升至 220 °C, 保持 2 min; 进样口温度为 200 °C; FID 检测器温度为 250 °C; 样品溶剂为二甲基亚砷。结果 6 种溶剂均达到完全分离; 在考察的浓度范围内线性关系良好, 精密度和回收率良好。结论 本方法能够准确测定枸橼酸坦度螺酮原料药中的残留溶剂。

关键词: 枸橼酸坦度螺酮; 气相色谱法; 顶空进样; 残留溶剂

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)06-0721-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.06.020

Determination of Residual Organic Solvents in Tandospirone Citrate by GC

ZHANG Yueyang, CHENG Zhi(Sichuan Institute for Food and Drug Control, Chengdu 611730, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a headspace GC method for the determination of residual organic solvents such as methanol, ethanol, iso-propyl alcohol, ethyl acetate, methylbenzene, *N,N*-dimethylformamide in tandospirone citrate. **METHODS** Headspace GC was adopted using a DB-624 column(30m×0.32mm, 1.80 μm), the column temperature was maintained at 40 °C for 5 min, then was raised to 220 °C at the rate of 20 °C·min⁻¹ and maintained at 220 °C for 2 min. The injection port temperature was 200 °C; the FID detector temperature was 250 °C; the sample was dissolved in DMSO. **RESULTS** Six residual solvents were separated completely. It was appeared to present a good linearity within the experimental concentration, and the precision and recoveries were good. **CONCLUSION** The method can be used for the determination of the residual solvents in tandospirone citrate.

KEY WORDS: tandospirone citrate; GC; headspace sampling; residual solvent

枸橼酸坦度螺酮是一类抗焦虑药物, 临床常用于各种神经症所致的焦虑状态以及原发性高血压、消化性溃疡等疾病伴随的焦虑状态。它的抗焦虑作用机制是可选择性作用于脑内 5-羟色胺受体亚型之一的 5-HT_{1A} 受体, 其对该受体的激动作用使 5-HT_{1A} 与 5-HT_{2A} 达到平衡而缓解焦虑的症状。同时枸橼酸坦度螺酮还能使 5-羟色胺能神经突触后膜的 5-HT₂ 受体密度下调而起到抗抑郁的作用。1996 年, 枸橼酸坦度螺酮在日本上市, 因其选择性高, 不良反应小的特点, 广泛应用于精神焦虑及躯体焦虑, 具有良好的疗效^[1]。

不同厂家的枸橼酸坦度螺酮生产工艺生产中所涉及的有机溶剂包括甲醇、乙醇、异丙醇、乙酸乙酯、甲苯、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)。这些有机溶剂在生产工艺过程很难被完全去除, 当原料中所含的残留溶剂水平高于安全值时, 会对人体或环境产生危害, 因此有必要对原料药中有机溶剂的残留量进行检测^[2]。参考中国药典 2010 年版

二部附录中残留溶剂测定指导原则及有关文献^[3-6]进行方法学试验及样品测定, 本实验采用顶空气相色谱法测定枸橼酸坦度螺酮原料药中的残留溶剂^[3]。

1 仪器与试剂

6890 气相色谱仪、7684E 顶空进样器(美国 Agilent 公司); 甲醇、乙醇、异丙醇、乙酸乙酯、甲苯均为分析纯, 购自成都科龙化工。DMF、二甲基亚砷(DMSO)均为色谱纯, 均购自 Fisher Scientific; 枸橼酸坦度螺酮原料(四川科瑞德凯华制药有限公司, 批号: 131201, 131202, 131203)。

2 方法和结果

2.1 溶液配制

2.1.1 对照品储备液 精密称取各待测溶剂适量, 加 DMSO 分别制成每 1 mL 均含甲醇 6 mg、乙醇 10 mg、异丙醇 10 mg、乙酸乙酯 10 mg、甲苯 1.78 mg、DMF 1.76 mg 的溶液作为对照品储备液。

2.1.2 对照品溶液 精密量取各对照品储备液

作者简介: 张悦杨, 女, 主管药师 Tel: (028)87877145 E-mail: 16055482@qq.com

1 mL, 置同一 20 mL 量瓶中, 加 DMSO 稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 1 mL 置 20 mL 顶空瓶中, 密封, 即得。

2.1.3 供试品溶液 取样品 0.1 g, 精密称定, 置 20 mL 顶空瓶中, 精密加入 DMSO 1 mL, 密封, 振摇使溶解, 即得。

2.2 色谱条件

色谱柱为 DB-624 毛细管色谱柱(30 m×0.32 mm, 1.8 μm)(固定相: 6%氰丙基苯基-94%二甲甲基硅氧烷聚合物); 载气为氮气, 载气流速 2.0 mL·min⁻¹; 程序升温: 初始温度为 40 °C, 保持 5 min, 再以 20 °C·min⁻¹ 的速率升温至 220 °C, 保持 2 min; 进样口温度 200 °C, 分流比为 10:1; FID 检测器, 温度 250 °C。顶空条件: 顶空瓶平衡温度为 90 °C, 进样针温度 100 °C, 传输线温度 110 °C, 顶空平衡时间 30 min, 进样体积 1 mL。

2.3 系统适用性试验

取“2.1”项下的空白溶剂、对照品溶液及供试品溶液按“2.2”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图见图 1。结果表明, 空白溶剂无干扰峰出现; 对照品溶液中各组分峰的理论板数均≥5 000, 相邻峰分离度均>5, 见表 1。供试品溶液检出乙醇峰, 无其他干扰或降解峰。

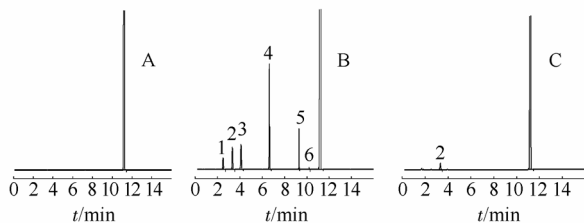


图 1 气相色谱图

A-空白溶剂; B-对照品溶液; C-供试品溶液; 1-甲醇; 2-乙醇; 3-异丙醇; 4-乙酸乙酯; 5-甲苯; 6-DMF。

Fig. 1 GC chromatogram

A-blank solution; B-mixed standard solution; C-sample solution; 1-methanol; 2-ethanol; 3-iso-propyl alcohol; 4-ethyl acetate; 5-methylbenzene; 6-DMF.

表 1 残留溶剂的系统适应性试验

Tab. 1 System suitability of residual organic solvents

溶剂	保留时间/min	理论板数	分离度
甲醇	2.493	9 069	/
乙醇	3.320	15 224	7.775
异丙醇	4.094	19 696	6.887
乙酸乙酯	6.640	134 174	26.875
甲苯	9.290	595 545	43.843
DMF	10.236	858 609	20.456

2.4 线性与检测限

精密量取“2.1”项下的对照品储备液 0.1, 0.3, 0.8, 1.0, 1.2, 1.5 mL 分别置 20 mL 量瓶中, 加 DMSO 稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 1 mL 置 20 mL 顶空瓶中, 密封, 按“2.2”项下色谱条件分别进样, 记录色谱图。以各组分浓度作为横坐标, 峰面积作为纵坐标, 绘制各组分标准曲线见表 2。

表 2 各组分回归方程与线性范围

Tab. 2 The linear correlations of the volatile solvents

组分	回归方程	r	线性范围/μg·mL ⁻¹
甲醇	y=0.848 2x+2.785 4	0.999 9	30.73~461.0
乙醇	y=1.066 1x+7.382 9	0.999 8	50.19~752.9
异丙醇	y=1.297 9x+11.376 0	0.999 7	50.73~761.0
乙酸乙酯	y=3.390 3x+45.012 7	0.999 3	50.32~754.8
甲苯	y=4.933 6x+10.580 9	0.999 5	50.32~754.8
DMF	y=0.123 8x+0.319 5	0.999 6	50.19~752.9

取“2.1”项下的对照品溶液, 通过逐步稀释, 按“2.2”项下色谱条件进行测定, 确定检测限(S/N=3), 结果甲醇、乙醇、异丙醇、乙酸乙酯、甲苯、DMF 测定的最低检测浓度分别为 0.45, 0.43, 0.46, 0.09, 0.04, 1.71 μg·mL⁻¹。

2.5 仪器精密度的考察

精密量取“2.1”项下的对照品溶液 1.0 mL, 共 6 份, 分别置 20 mL 顶空瓶中, 密封, 按“2.2”项下方法测定, 各组分峰面积的 RSD 分别为: 甲醇 0.3%, 乙醇 0.4%, 异丙醇 0.6%, 乙酸乙酯 1.4%, 甲苯 1.3%, DMF 3.5%。

2.6 重复性与回收率试验

取枸橼酸坦度螺酮(批号: 131201)按“2.1.3”项下方法平行配制 6 份供试品溶液, 按“2.2”项下方法进行测定, 检出的乙醇分别为 0.13%, 0.13%, 0.13%, 0.12%, 0.12%, 平均含量为 0.13%, RSD 为 1.9%。

分别精密量取各对照品储备溶液适量, 置 20 mL 量瓶中, 加 DMSO 稀释至刻度, 摇匀, 作为 3 个不同浓度的回收率溶液, 精密称取已测定残留溶剂含量的样品(批号: 131201)9 份, 置顶空瓶中, 精密加入回收率溶液各 1 mL(每个浓度各 3 份), 密封, 按“2.2”项下方法测定, 计算回收率, 结果见表 3。平均回收率均为 90%~110%, RSD 均<5%, 符合残留溶剂测定要求。

表 3 回收率试验结果

Tab. 3 The results of sample recovery test

物质	加入量/ mg	实测值/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
甲醇	0.245 8	0.259 8	105.7	104.6	1.83
	0.245 8	0.259 1	105.4		
	0.245 8	0.252 6	102.8		
	0.307 3	0.316 8	103.1	103.2	
	0.307 3	0.326 8	106.3		
	0.307 3	0.308 3	100.3		
	0.368 8	0.390 1	105.8	104.6	
	0.368 8	0.385 1	104.4		
	0.368 8	0.382 5	103.7		
乙醇	0.050 2	0.193 1	104.74	104.6	1.55
	0.050 2	0.186 8	106.69		
	0.050 2	0.193 8	102.51		
	0.401 5	0.571 6	107.36	105.3	
	0.401 5	0.558 0	105.80		
	0.401 5	0.554 6	102.68		
	0.602 3	0.781 8	105.66	105.4	
	0.602 3	0.775 6	105.12		
	0.602 3	0.771 7	105.56		
异丙醇	0.405 8	0.440 0	108.4	106.3	2.86
	0.405 8	0.430 4	106.1		
	0.405 8	0.423 6	104.4		
	0.507 3	0.522 8	103.1	103.8	
	0.507 3	0.552 0	108.8		
	0.507 3	0.504 4	99.4		
	0.608 8	0.659 5	108.3	106.8	
	0.608 8	0.648 9	106.6		
	0.608 8	0.642 9	105.6		
乙酸乙酯	0.402 6	0.424 7	105.5	103.3	3.20
	0.402 6	0.415 1	103.1		
	0.402 6	0.408 2	101.4		
	0.503 2	0.500 6	99.5	100.5	
	0.503 2	0.534 2	106.2		
	0.503 2	0.482 2	95.8		
	0.603 8	0.635 5	105.3	103.5	
	0.603 8	0.623 8	103.3		
	0.603 8	0.616 4	102.1		
甲苯	0.071 3	0.073 6	103.2	101.1	3.18
	0.071 3	0.072 0	100.9		
	0.071 3	0.070 6	99.0		
	0.089 1	0.087 1	97.8	98.6	
	0.089 1	0.092 9	104.3		
	0.089 1	0.083 7	93.9		
	0.106 9	0.110 1	103.0	101.3	
	0.106 9	0.107 9	101.0		
	0.106 9	0.106 8	99.9		
DMF	0.074 6	0.077 3	103.7	102.5	3.55
	0.074 6	0.078 2	104.8		
	0.074 6	0.073 9	99.1		
	0.093 3	0.092 6	99.2	98.8	
	0.093 3	0.095 5	102.3		
	0.093 3	0.088 6	95.0		
	0.112 0	0.119 8	106.9	104.4	
	0.112 0	0.116 5	104.0		
	0.112 0	0.114 7	102.4		

2.7 耐用性考察

耐用性试验中对进样口温度、检测器温度、初始柱温进行了考察, 比较各组分出峰在不同条件下的理论板数、拖尾因子及相邻峰的分度。试验得出当进样口温度、检测器温度发生较小变化时各组分色谱峰的变化不大, 但初始柱温过低时甲醇、乙醇峰形较差, 过高又会导致两峰分离度达不到要求。最后采用“2.2”项下的色谱条件为最优条件。

2.8 样品的测定

分别取 3 批枸橼酸坦度螺酮原料(批号: 131201, 131202, 131203)各 3 份配制供试品溶液, 按“2.2”项下的方法试验, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算检出的残留溶剂量, 结果见表 4。

表 4 样品中残留溶剂的测定结果(n=3)

Tab. 4 Determination results of the residual organic solvents in sample(n=3)

批号	%					
	甲醇	乙醇	异丙醇	乙酸乙酯	甲苯	DMF
131201	未检出	0.13	未检出	未检出	未检出	未检出
131202	未检出	0.15	未检出	未检出	未检出	未检出
131203	未检出	0.11	未检出	未检出	未检出	未检出
限值	0.3	0.5	0.5	0.5	0.089	0.088

3 讨论

3.1 进样方式的选择

枸橼酸坦度螺酮原国家标准 YBH34662005 中采用直接进样气相色谱法测定残留溶剂, 溶剂为水^[7]。日常检验中发现直接进样法会使样品及样品中含有的不挥发性组分一同注入气相色谱仪中, 这些物质会污染仪器的进样口、检测器等, 缩短色谱柱的使用寿命, 而且在下次进样前必须升高柱温将这些物质冲出色谱柱, 大大延长了分析时间。选用顶空进样法克服了直接进样的缺点, 样品本身及不挥发性组分不会进入气相色谱仪, 而待测的残留溶剂这些易挥发的物质会进入气相色谱进行分析。

3.2 溶剂的选择

原国家标准中以水作溶剂, 水在 FID 检测时没有溶剂峰, 无毒, 应为残留溶剂测定的首选溶剂。但根据样品的溶解性, 应该选择能使药品完全溶解的溶剂, 否则会使测定的结果偏低, 而且测定的精密度也很差。枸橼酸坦度螺酮在水中溶解性较低, 且待测组份中的甲苯不溶于水, 如果用水作溶剂会影响测定结果, 精密度也难以达到要求。而且用水作溶剂时, 对出峰时间较早的甲醇和乙醇峰形有影响。因此选用样品及待测组份都有较

好溶解性的 DMSO 这种高极性的有机溶剂。

3.3 色谱柱的选择

不同的企业生产工艺不同,由此引入的残留溶剂也不尽相同,建立的气相色谱方法应能尽量满足检测所有涉及的有机溶剂。本实验中涉及的 6 中待测溶剂,极性差异较大,既有极性较小的甲苯,也有极性较大的 DMF。因此选用中等极性的色谱柱 DB-624 能够有效分离各待测溶剂,峰形良好。在标准执行时,各企业可根据自身的情况测定相关的残留溶剂。

REFERENCES

[1] 孟凤华,李国兰,冷树东. 枸橼酸坦度螺酮治疗焦虑症状的

临床分析 [J]. 中国民康医学, 2010(3): 302.

- [2] 胡昌勤. 药物残留溶剂分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 8, 145.
- [3] 中国药典. 二部[S]. 2010 附录 VIII P.
- [4] ZHENG J Q, CHEN Y X, FU L L, et al. Determination of residual organic solvents in lumefantrine by headspace capillary gas chromatography [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(12): 1500-1502.
- [5] MA I, YAO To W. Determination of Residual Solvents in Fasudil Hydrochloride by Headspace GC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(12): 1122-1124.
- [6] WANG C, JU H. Determination of residual organic solvents in febuxostat bulks drug by headspace gas chromatography [J]. Drugs Clin(现代药物与临床), 2014, 29(1): 48-51.
- [7] 中华人民共和国国家药典委员会国家药品标准 YBH34662005[S]. 2005.

收稿日期: 2014-12-16

睡眠宝胶囊中非法掺入化学药品的检测方法研究

申兰慧¹, 彭耀文^{1,2}, 杨敏智¹ (1.江苏省无锡药品检验所, 江苏 无锡 214028; 2.江南大学药学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 目的 建立薄层色谱结合超高压液相色谱-质谱联用法快速筛查及鉴定睡眠宝胶囊中非法掺入的氯氮平、地西洋、艾司唑仑。方法 采用硅胶 GF₂₅₄ 板, 乙酸乙酯-无水乙醇-氨水(50:2:0.5)为展开剂, 在 254 nm 下检视。色谱条件为: Agilent ZORBAX SB C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 流动相 20 mmol·L⁻¹ 醋酸铵溶液-甲醇(50:50), 流速 0.3 mL·min⁻¹, 检测波长 225 nm, 柱温 35 °C, 正离子扫描检测。结果 睡眠宝胶囊非法掺入氯氮平、地西洋、艾司唑仑在 254 nm 下明显的斑点, 通过 UPLC-PDA-Q TOF MS 可进一步快速确证。结论 本方法操作简便, 结果可靠, 可用于快速筛查及确证睡眠宝胶囊中非法掺入氯氮平、地西洋及艾司唑仑。

关键词: 氯氮平; 地西洋; 艾司唑仑; 睡眠宝胶囊; 超高压液相色谱-质谱联用

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)06-0724-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.06.021

Study on Detection Method of Chemical Drugs Illegally Added in Shuimianbao Capsules

SHEN Lanhui¹, PENG Yaowen^{1,2}, YANG Minzhi¹ (1. Jiangsu Wuxi Institute for Drug Control, Wuxi 214028, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for detection of diazepam, estazolam and clozapine illegally added in Shuimianbao capsules by TLC combined with UPLC-MS. **METHODS** Silica gel(GF₂₅₄) TLC was used, a mixture of ethyl acetate-ethanol-ammonium hydroxide(50:2:0.5) as developer, detection under 254 nm. Agilent ZORBAX SB C₁₈ column (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) was used, and the mobile phase consisted of 20 mmol·L⁻¹ ammonium acetate solution-methanol(50:50), flow rate was 0.3 mL·min⁻¹; detection wavelength was 225 nm; column temperature was 35 °C, ESI⁺. **RESULTS** The diazepam, estazolam and clozapine illegally added in Shuimianbao capsules were displayed obvious dots under 254 nm. Then they were verified by UPLC-MS. **CONCLUSION** The method is simple and accurate. It can be used for rapid screening and rapid identification of diazepam, estazolam and clozapine illegally added in Shuimianbao capsules.

KEY WORDS: clozapine; diazepam; estazolam; Shuimianbao capsules; UPLC-MS

作者简介: 申兰慧, 硕士, 副主任药师 Tel: 13814236982

E-mail: slh205906@sina.com