

· 药品检验 ·

毛细管气相色谱法测定多潘立酮中 9 种有机溶剂的残留量

易路遥, 熊蔚, 程奇珍

(江西省食品药品检验所, 江西南昌 330046)

摘要:目的 提出了顶空毛细管气相色谱法测定多潘立酮中甲醇、乙醇、二氯甲烷、四氢呋喃、甲基异丁基酮、N,N-二甲基甲酰胺、甲苯和二甲苯的残留量与直接进样毛细管气相色谱法测定三氯甲烷的残留量。方法 8 种溶剂测定法:以 DB-1 毛细管柱为色谱柱, FID 检测器, 采用程序升温; 三氯甲烷测定法: 以 DB-624 毛细管柱为色谱柱, ECD 检测器, 采用程序升温。结果 定量测定的 9 种有机溶剂峰面积与进样浓度呈良好线性关系, 相关系数均大于 0.999 0; 加标回收率在 91.09% ~ 104.44% 之间。结论 本法准确、快速, 可用于多潘立酮 9 个有机溶剂残留量的质量控制。

关键词:多潘立酮; 有机溶剂残留; 气相色谱法

中图分类号:R927.11 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-7738(2011)03-0134-03

Determination of nine residual organic solvents in Domperidone by capillary gas chromatography

YI Lu-yao, XIONG Wei, CHENG Qi-zhen

(Jiangxi Institute for Food and Drug Control, Nanchang 330046, China)

Abstract: Objective A headspace capillary gas chromatography method was proposed for determination of residual organic solvents methanol, ethanol, dichloromethane, tetrahydrofuran, methyl isobutyl ketone, N, N-dimethylformamide, toluene, xylene in Domperidone and a capillary gas chromatography method was proposed for determination of residual organic solvents chloroform in Domperidone. **Methods** Determination of eight organic solvents: DB-1 capillary column was used with temperature of programmed control, FID detector was adopted in the determination; Determination of chloroform: DB-624 capillary column was used with temperature of programmed control, ECD detector was adopted in the determination. **Results** The content of nine solvents showed good linearity in a detected concentration rang ($r > 0.999 0$), the average were ranged from 91.09% ~ 104.4%. **Conclusion** The method was accurate and rapid, and can be used for the quality control of residual organic solvents methanol in Domperidone.

Key words: Domperidone; Residual Organic Solvents; Gas Chromatography

多潘立酮为一种作用较强的多巴胺受体拮抗剂, 结构与丁酰苯类似, 适用于由胃排空延缓、胃食道反流、食道炎引起的消化不良症。该原料药目前国内有三家生产企业, 各生产企业因生产工艺的不同所涉及使用的溶剂也各不相同, 表现在各自执行的检测^[1]标准中溶剂残留的检查项不论是溶剂的种类还是检测方法都有差异, 故根据现有的各生产企业标准中涉及的所有溶剂建立统一的有机溶剂残留检测方法。

本方法参考《中国药典》2010 年版(二部)附录 VIII P“残留溶剂测定法”^[1]及英国药典 2009 年版附录 III B 和附录 VIII L 建立, 其中有 8 个溶剂残留测定建立了顶空进样气相色谱法, 而另外三氯甲烷由于对检测器要求特殊, 单独将三氯甲烷建立了直接进样气相色谱法, 使用 ECD 检测器检测。方法简单快速, 准确可靠、专属性强等特点。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂 美国 Agilent 7890 型气相色谱仪, 配有 FID 检测器和 ECD 检测器, Agilent G1888 顶空进样器。

甲醇、乙醇、二氯甲烷、三氯甲烷、四氢呋喃、N,N-二甲基甲酰胺及甲苯为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器的工作条件 8 种溶剂测定的色谱条件: DB-1 毛细管柱(30 m × 0.53 mm × 1.5 μm)为色谱柱, FID 检测器, 进样口温度 200 °C, 检测器温度 250 °C, 柱温 40 °C, 保持 9 min, 再以 8 °C · min⁻¹ 的速率升至 120 °C, 保持 2 min, 再以 20 °C · min⁻¹ 的速率升至 160 °C, 柱流速 2.5 mL · min⁻¹, 分流比 1:1, 顶空瓶平衡温度 100 °C, 平衡 30 min。

三氯甲烷测定的色谱条件: DB-624 毛细管柱(30 m × 0.53 mm × 1.0 μm)为色谱柱, ECD 检测器, 进样口温度 200 °C, 检测器温度 300 °C, 柱温采用程序升温(60 °C 保持 6 min, 再以 20 °C · min⁻¹ 的速率升至 200 °C, 保持 4 min), 流速 4.5 mL · min⁻¹, 分流比 15:1。

1.3 试验方法 ①对照品溶液的配制(8 种溶剂): 分别精密称取甲醇、乙醇、二氯甲烷、四氢呋喃、甲基异丁基酮、N,N-二甲基甲酰胺、甲苯与二甲苯各适量, 用二甲基亚砜配成

含甲醇 892.52 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、乙醇 920.37 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、二氯甲烷 319.28 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、四氢呋喃 276.75 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、甲基异丁基酮 243.94 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、N,N-二甲基甲酰胺 953.56 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、甲苯 204.55 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 与二甲苯 1038.54 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品储备液,精密量取该混合对照品储备液 1 mL 置 5 mL 量瓶中,用二甲基亚砒定容,得混合对照品溶液。

对照品溶液的配制(三氯甲烷):精密称取三氯甲烷适量,用二甲基亚砒配成含三氯甲烷 13.18 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照储备液,精密量取该对照储备液 1 mL 置 5 mL 量瓶中,用二甲基亚砒定容,得三氯甲烷对照溶液。

②样品溶液的配制(8种溶剂残留测定):取多潘立酮原料 0.200 0 g,精密称定,置 20 mL 顶空瓶中,精密加入二甲基亚砒 2 mL,超声使得溶解,封瓶,得供试品溶液。

供试品溶液的配制(三氯甲烷残留测定):取多潘立酮原料 0.200 0 g,精密称定,置 5 mL 容量瓶中,加二甲基亚砒使溶解并稀释至刻度,摇匀,得供试品溶液。

按照色谱条件对对照品溶液和供试品溶液进样分析。

2 结果与讨论

2.1 系统适用性与精密度试验 精密量取混合对照品溶液 2 mL,置 20 mL 顶空瓶中,封瓶,平行移取 6 份,顶空进样,注入气相色谱仪中,8 种溶剂均达到良好分离,见图 1,各个峰之间最小分离度为 1.63。平行 6 份混合对照品溶液的各溶剂峰面积相对标准偏差均小于 2.0%,精密度良好。

精密吸取三氯甲烷对照溶液 1.0 μL ,注入气相色谱仪器,重复进样 6 次,记录色谱图(见图 2),灵敏度高,专属性良好。平行进样 6 次三氯甲烷峰面积相对标准偏差 1.1%,精密度良好。

2.2 线性关系考察以及检测限试验 分别精密称取混合对照品储备液 0.2 mL、0.5 mL、1 mL、2 mL、3 mL 置 5 mL 量瓶中,用二甲基亚砒定容,制成系列浓度混合对照溶液,各精密量取 2 mL,置 20 mL 顶空瓶中,封瓶,顶空进样,按色谱条件进样分析,以峰面积为纵坐标,浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)为横坐标绘

制标准曲线,计算回归方程,结果见表 1,同时逐步稀释储备液,进样至信噪比 3 左右即为检测限。

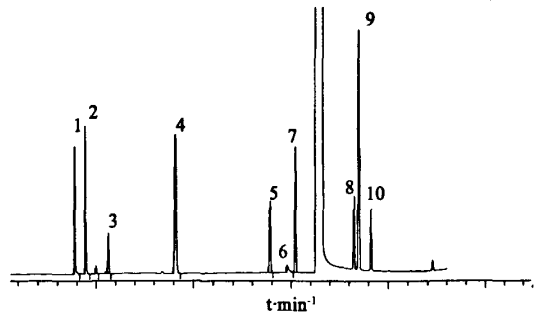


图 1 8 种有机溶剂的色谱图

- 1. 甲醇 (Methanol) 2. 乙醇 (Ethanol) 3. 二氯甲烷 (Dichloromethane)
- 4. 四氢呋喃 (Tetrahydrofuran) 5. 甲基异丁基酮 (Methylisobutyl ketone)
- 6. N,N-二甲基甲酰胺 (N,N-dimethylformamide) 7. 甲苯 (Toluene)
- 8, 9, 10. 二甲苯 (Xylene)

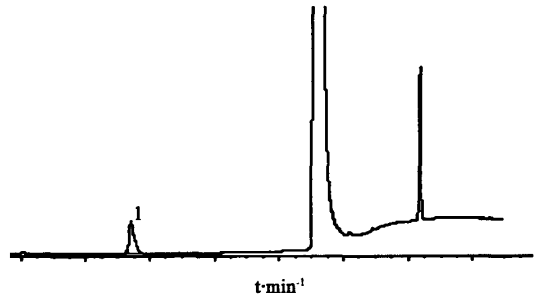


图 2 三氯甲烷的色谱图 1. 三氯甲烷 (Chloroform)

精密移取三氯甲烷对照储备液 0.2 mL、0.5 mL、1 mL、2 mL、3 mL 置 5 mL 量瓶中,用二甲基亚砒定容,制成系列浓度对照溶液,各精密吸取 1.0 μL ,按色谱条件进样分析,以峰面积为纵坐标,浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)为横坐标绘制标准曲线,计算回归方程,结果见表 1。同时逐步稀释储备液,进样至信噪比 3 左右即为检测限。

表 1 线性回归方程、线性范围和检测限

| 溶剂 | 线性浓度范围 | 线性回归方程 | 相关系数 | 检出限 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) |
|------------|--|----------------------------|--------|--|
| 甲醇 | 35.7 ~ 892.52 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ | $Y = 1.1403X - 10.077$ | 0.9993 | 1.0 |
| 乙醇 | 36.81 ~ 920.37 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ | $Y = 1.3325X - 10.554$ | 0.9996 | 1.0 |
| 二氯甲烷 | 12.77 ~ 319.28 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ | $Y = 1.1588X - 0.3305$ | 1.0000 | 1.4 |
| 四氢呋喃 | 11.07 ~ 276.75 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ | $Y = 7.3985X + 2.1768$ | 1.0000 | 0.6 |
| 甲基异丁基酮 | 9.76 ~ 243.94 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ | $Y = 3.3652X + 1.0275$ | 1.0000 | 0.5 |
| N,N-二甲基甲酰胺 | 38.14 ~ 953.56 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ | $Y = 0.1558X - 4.6338$ | 0.9997 | 38.1 |
| 甲苯 | 8.18 ~ 204.55 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ | $Y = 6.4658X + 4.4357$ | 0.9999 | 2.3 |
| 二甲苯 | 41.54 ~ 1038.54 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ | $Y = 3.7635X + 14.235$ | 0.9994 | 0.5 |
| 三氯甲烷 | 0.527 ~ 13.18 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ | $Y = 4900.0604X - 44.4354$ | 1.0000 | 0.013 |

2.3 回收率试验 精密称取已知各溶剂残留量的样品 9 份各 0.2 g,置顶空瓶中,分别精密加入相当于混合对照品溶液浓度 80%、100%、120% 的甲醇(142.80, 178.50, 214.20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、乙醇(147.26, 184.07, 220.88 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、二氯甲烷(51.09, 63.86, 76.63 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、四氢呋喃(44.28, 55.

35, 66.42 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、甲基异丁基酮(39.03, 48.79, 58.55 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、N,N-二甲基甲酰胺(152.57, 190.71, 228.85 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、甲苯(32.73, 40.91, 49.09 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)和二甲苯(166.17, 207.71, 249.25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)溶液 2 mL,各 3 份,封瓶,超声使供试品溶解,顶空进样,按色谱条(下转第 138 页)

表2 样品中的黄芪甲苷含量

| 批号 | 080301 | 080302 | 080303 | 080304 | 080305 |
|----------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 结果(mg/袋) | 0.75 | 0.78 | 0.75 | 0.78 | 0.76 |

3 讨论

本文参照了文献报道的有关黄芪甲苷的含量测定方法,根据黄芪甲苷的溶解性和实际试验结果,改为水浴上回流提取,增加了提取次数,从而使得样品中含有的黄芪甲苷提取完全。

以黄芪甲苷的含量作为指标,分别考察了加热回流0.5、1.2 h,对黄芪甲苷含量测定结果的影响,试验结果表明加热回流1 h时黄芪甲苷提取基本完全。

参照“乙肝宁颗粒”项下含量测定条件,以乙腈和水为流动相,分别考察了不同比例的流动相①乙腈-水(38:62),流动相②乙腈-水(25:75)和流动相③乙腈-水(34:66),结果表明,流动相②③的对称因子均符合要求,但②的保留时间适中,故选择流动相②作为本方法的流动相。

由于不同生产厂家不同牌号的色谱柱存在填料及性能上的差异,为考察拟订方法的可行性及通用性,分别考察了色谱柱①Dikma Inertsil C₁₈, 5 μm, 4.6 mm × 15 mm, 色谱柱②Dikma Kromasil C₁₈, 5 μm, 4.6 mm × 25 mm 和色谱柱③Sepax

Amethyst C₁₈, 5 μm, 4.6 mm × 20 mm, 结果表明,供试品色谱均可获得满意的分离,峰形均较好,理论板数分别为16 022、7 002、11 361,表明拟订方法通用性较广。

黄芪甲苷在0.415 2 ~ 12.456 μg 范围内进样量的自然对数和峰面积自然对数线性关系均良好。线性方程为 $Y = 1.359X + 6.7659, r = 0.9996$, 平均回收率为100.0%, RSD为1.5%。

本文建立了采用高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定复芪止汗颗粒中黄芪甲苷含量的方法,该法准确可靠,重现性好,可用于复芪止汗颗粒的质量控制。本方法已经被《中国药典》2010年版收录。

参考文献:

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂[S]. 第十册. 北京:人民卫生出版社,1995:120.
 [2] 刘元元,戴稼禾,陈亮钊. 黄芪苷IV对损伤的人血白细胞变形能力的影响[J]. 上海:上海医科大学学报,1998,25(5):361.
 [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典2005年版(一部)[S]. 北京:化学工业出版社,2005:290.

(上接第135页)件进样分析,按外标法计算得各有机溶剂的平均回收率分别为91.09%、95.07%、104.44%、93.38%、95.35%、96.79%、93.18%和92.43%。

另精密称取已知各溶剂残留量的样品9份各0.2 g,置5 mL量瓶中,分别精密加入三氯甲烷对照品溶液(5.272 μg · mL⁻¹)2 mL、2.5 mL、3.0 mL,各3份,再加二甲亚砜定容至刻度,摇匀,精密吸取1.0 μL,按色谱条件进样分析,按外标法计算得三氯甲烷的平均回收率为97.99%。

2.4 样品测定 取对照品溶液与样品溶液分别进样测定,按外标法计算3批样品中有机溶剂残留量,结果见表2。

表2 样品测定结果

| 批号 | 甲醇 (%) | 乙醇 (%) | 二氯甲烷 (%) | 三氯甲烷、四氢呋喃、甲基异丁基酮、N,N-二甲基甲酰胺、甲苯、二甲苯 |
|----|--------|--------|----------|------------------------------------|
| 1 | 0.04 | 0.01 | 0.01 | |
| 2 | 0.04 | 0.01 | 0.04 | 均未检出 |
| 3 | 0.04 | 0.01 | 0.03 | |

2.5 讨论

2.5.1 顶空进样与溶液法直接进样相比具有色谱柱污染少

和灵敏度高的优点,故试验选择顶空进样的方式。顶空进样的平衡温度在摸索试验中,分别比较了60、80、100、110℃作为顶空瓶加热温度,平衡30 min后测定,结果显示,随着温度的升高,各溶剂的峰面积逐渐增大,灵敏度随之提高,其中N,N-二甲基甲酰胺的峰面积响应是所有溶剂中最小的,温度的提高对其灵敏度的提高有很大的意义,但是到了110℃以后,没有明显的变化,而且平衡温度过高易引起顶空瓶的耐压和气密性等温度,最后试验选择100℃作为平衡温度。

2.5.2 在摸索试验中9种溶剂残留均采用顶空气相色谱法分离,FID检测器检测,9个峰的分尚可,但是三氯甲烷的峰响应太低,检测限几乎只能做到《中国药典》2010年版(二部)附录VIII P“残留溶剂测定法”中规定的三氯甲烷限度浓度,故将三氯甲烷单独建立一个色谱系统,改用专属性强的ECD检测器检测,结果灵敏度大大提高,准确可靠。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典2010年版(二部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010.