

气相色谱法测定单硝酸异山梨酯注射液中的三种残留溶剂

于小童, 丁晓爽, 王 丽*

(淄博市食品药品检验研究院, 淄博 255086)

摘要: **目的** 采用气相色谱法同时测定单硝酸异山梨酯注射液制剂中乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷 3 种残留溶剂的含量。**方法** 使用 DB-624 毛细管柱 (30 m×530 mm, 3.0 μm), 氢火焰离子化 (FID) 检测器, 直接进样方式, 采用程序升温, 初始温度 80℃ 维持 4 min, 以 10℃/min 的升温速率升至 230℃, 维持 8 min, 以 10℃/min 的升温速率升至 240℃, 维持 10 min, 检测器温度为 300℃, 进样口温度为 250℃, 载气流速 3 mL/min, 分流比 10:1, 进样量 1 μL, 溶剂为 N,N-二甲基甲酰胺。使用本方法考察了线性关系、定量限、检出限、精密性、稳定性以及加标回收率。**结果** 本方法用于测定 3 种残留溶剂, 分离度较好, 乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷分别在 8.70~87.04 μg/mL、9.07~90.72 μg/mL、30.20~302.00 μg/mL 浓度范围内与峰面积线性关系良好 ($r \geq 0.999$), 平均回收率分别为 99.83%、98.62%、96.57%, RSD 分别为 1.86%、1.97%、1.93% ($n=9$)。**结论** 本方法操作简便, 重现性及准确性良好, 可快速、准确地测定乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷 3 种残留溶剂的含量, 为单硝酸异山梨酯注射液应用提供数据支持, 增加临床用药安全保障。

关键词: 单硝酸异山梨酯; 气相色谱法; 残留溶剂

0 引言

随着当代社会的高速发展, 生活水平的提高, 人们的饮食和生活习惯都在发生巨大的变化。高油脂、高热量、高糖等食品的过量摄入, 熬夜、运动缺乏等不良生活习惯, 使身患肥胖、高血脂人群比例越来越高, 而这一原因也直接导致冠心病、心绞痛等心血管疾病的发病率不断攀升^[1-4]。治疗心血管疾病的临床用药也引起人们的广泛关注, 常见的有硝酸酯类、钙通道阻滞剂、β受体阻滞剂等药物^[5], 其中硝酸酯类药物单硝酸异山梨酯具有较好的临床效果^[6-12], 它作为硝酸异山梨酯活性代谢产物, 可以通过扩张血管、松弛血管平滑肌等机理, 达到改善心肌缺血的情况, 治疗心血管疾病。单硝酸异山梨酯注射液作为处方药, 可以更精准地调节临床用药剂量, 使药物进入体内快速达到较好治疗效果, 改善患者病情不适, 提高生活质量。

单硝酸异山梨酯原料药生产合成过程中使用到乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷 3 种溶剂^[13-14]。《中华人民共和国药典(2020 年四部)》^[15]中说明, 乙醇、乙酸乙酯为三类残留溶剂, 限度规定为 0.5%, 三氯甲烷为二类残留溶剂, 限度规定为 0.06%。有文

章^[16]指出, 三类残留溶剂毒性较低, 在规定的限度范围内对身体危害较小, 但超过规定范围仍需控制其含量。二类残留溶剂为限制使用类残留溶剂, 可能存在导致不可逆毒性反应的杂质, 其控制含量也相对三类残留溶剂较低。所以为保证药物安全性, 控制残留溶剂的含量很有必要。乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷均为具有挥发性的有机溶剂, 在一定温度范围内有较强的挥发性, 而气相色谱法具有能使多种挥发性成分在同一个色谱柱上分离的特点^[17], 因此本实验采用气相色谱直接进样的方法同时测定单硝酸异山梨酯注射液制剂中乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷 3 种残留溶剂的含量, 为单硝酸异山梨酯注射液的制备工艺优化和临床用药风险提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器

7890B 气相色谱仪(美国 Agilent)、CP225D 电子天平(北京赛多利斯)。

1.2 试药

乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷、N-N 二甲基甲酰胺均为色谱

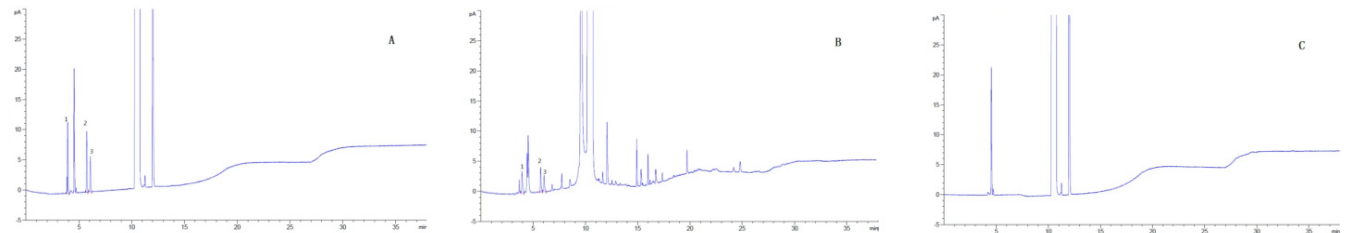
第一作者: 于小童, 本科, 主管中药师, 研究方向为药品质量分析。

*** 通信作者:** 王丽, 副主任药师, 研究方向为药品质量分析。E-mail: zbwanglizb@163.com

纯, 厂家均为天津科密欧; 单硝酸异山梨酯注射液来自 A、B、C 三个厂家(规格: 5 mL: 20 mg、1 mL: 10 mg)。

1.3 色谱条件

色谱柱为 DB-624 毛细管柱(30 m×530 mm, 3.0 μm), FID 检测器, 采用程序升温, 初始温度 80℃ 维持 4 min, 以 10℃/min 的升温速率升至 230℃, 维持 8 min, 以 10℃/min 的升温速率升至 240℃, 维持 10 min, 检测器温度为 300℃, 进样口温度为 250℃, 分流比为 10 : 1, 进样量: 1 μL。



注: 1. 乙醇; 2. 乙酸乙酯; 3. 三氯甲烷

1.4 溶液的配制

精密称取乙醇、乙酸乙酯各 90 mg 分别置 50 mL 容量瓶中, 用 N,N- 二甲基甲酰胺(DMF)稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液(1)(2), 精密称取三氯甲烷 60 mg 置 100 mL 容量瓶中, 精密量加入对照品贮备液(1)(2)各 10 mL, 用 DMF 稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液。取单硝酸异山梨酯注射液作为供试品溶液。

分别精密量取上述两种溶液, 按 1.3 项下的色谱条件进样, 记录色谱图(图 1)。

图 1 对照品溶液(A)、供试品溶液(B)、空白溶液(C)

2 结果与分析

2.1 方法学考察

线性关系考察: 精密量取对照品贮备液 1.0、3.0、4.0、5.0、10.0 mL 分别置 20 mL 容量瓶中, 用 DMF 稀释至刻度,

摇匀, 得到 5 个浓度的线性系列对照品溶液(1~5), 按“线项下的色谱条件”进样, 记录色谱图, 以溶液浓度(μg/mL)为横坐标, 测得的峰面积为纵坐标, 算得线性回归方程。结果表明, 乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷分别在相应浓度范围内线性关系良好。结果见表 1。

表 1 3 种有机溶剂的标准曲线方程、相关系数、线性范围、定量限及检测限

化合物名称	线性回归方程	相关系数	线性范围(μg/mL)	定量限(μg/mL)	检出限(μg/mL)
乙醇	$y=0.9961x+0.9595$	0.9996	8.70~87.04	1.74	0.348
乙酸乙酯	$y=0.8447x+1.249$	0.9999	9.07~90.72	1.81	0.603
三氯甲烷	$y=0.1721x+0.6623$	0.9999	30.20~302.00	12.1	2.42

定量限及检出限考察: 取对照品贮备液用 DMF 逐级稀释, 并按 1.3 项下的色谱条件进样, 得到信噪比为 10 : 1 的溶液浓度为该成分定量限, 得到信噪比为 3 : 1 的溶液浓度为该成分检出限。结果见表 1。

精密度考察: 取线性系列对照品溶液 2, 在 1.3 项下的色谱条件进样, 重复进行 6 次, 得乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷的峰面积的 RSD% 分别为 4.29%、1.09%、1.66%, 说明本方法精密度高。

稳定性考察: 取线性系列对照品溶液 2, 在 1.3 项下的色谱条件进样, 分别在 0、1、2、4、8、12、24 h 进样, 得乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷在 24 h 内的峰面积 RSD% 分别为 3.50%、2.89%、2.07%, 说明乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷在 24 h 内稳定性良好。

加标回收考察: 取同一批次单硝酸异山梨酯注射液 9 份,

每份各 5 mL 分别置于 10 mL 容量瓶中, 分成三组, 每组三份, 分别在三组溶液中精密加入对照品贮备液 1.2、1.5、1.8 mL, 用 DMF 稀释至刻度, 摇匀, 在 1.3 项下的色谱条件进样, 记录色谱图, 得乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷的平均回收率为 99.83%、98.62%、96.57%, RSD% 为 1.86%、1.97%、1.94%, 回收率在 96.0%~100.0% 之间, RSD% 均低于 2.0%, 说明本方法用于乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷的测定是准确、可行的。结果见表 2。

2.2 样品测定

取 3 个批次单硝酸异山梨酯注射液, 按“批次单硝项下的色谱条件进样, 三批样品中测得乙醇含量分别为 0.02‰、0.02‰、0.02‰, 乙酸乙酯均为未检出, 三氯甲烷含量分别为 0.01‰、0.01‰、0.01‰。结果均符合《中华人民共和国药典(2020 年版四部)》^[15] 关于残留溶剂限度规定。

表 2 加标回收考察结果						
化合物名称	样品含量(μg/mL)	对照品加入量(μg/mL)	测得量(μg/mL)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
乙醇	8.394	8.704	17.16	100.71	99.83	1.86
	8.394	8.704	17.064	99.61		
	8.394	8.704	16.875	97.44		
	8.394	10.88	19.346	100.66		
	8.394	10.88	19.156	98.92		
	8.394	10.88	19.271	99.97		
	8.394	13.056	21.511	100.47		
	8.394	13.056	21.892	103.39		
乙酸乙酯	8.394	13.056	21.1	97.32	98.62	1.97
	0	9.072	9.053	99.79		
	0	9.072	9.307	102.59		
	0	9.072	8.764	96.60		
	0	11.34	11.298	99.63		
	0	11.34	11.002	97.02		
	0	11.34	11.208	98.84		
	0	13.608	13.44	98.77		
三氯甲烷	0	13.608	13.33	97.96	96.57	1.93
	0	13.608	13.12	96.41		
	5.718	30.2	35.843	99.75		
	5.718	30.2	35.046	97.11		
	5.718	30.2	34.612	95.68		
	5.718	37.75	42.637	97.80		
	5.718	37.75	41.385	94.48		
	5.718	37.75	42.017	96.16		
	5.718	45.3	49.524	96.70		
	5.718	45.3	50.042	97.85		
	5.718	45.3	48.112	93.58		
	5.718	45.3				

3 讨论与结论

本实验在色谱柱选择时,尝试了弱极性色谱柱 DB-624 及强极性色谱柱 PEG-20M。使用 PEG-20M 色谱柱时,三个目标峰出峰时间较晚,与溶剂峰及供试品中辅料峰分离效果不理想,最终选择了出峰时间及分离度更合理的弱极性色谱柱 DB-624。由于测试样品为注射液,因此选择了直接进样方式,避免了样品在配制过程中可能造成的溶剂挥发使结果偏离。在溶剂的选择上尝试使用二甲亚砜(DMSO),但其出峰时间与乙醇出峰时间接近,分离不理想,最终使用溶剂峰保留时间靠后的 DMF 作为溶剂。本方法待测溶剂乙醇沸点为 78℃,乙酸乙酯沸点为 77℃,三氯甲烷沸点为 61℃^[15],沸点均较低,因此梯度升温程序选择较低的初始温度,并且以较慢的速度升温,提高 3 种残留溶剂之间的分离度。

乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷在药品生产领域被广泛应用。本文通过建立 3 种残留溶剂的含量测定方法,对单硝酸异山梨

酯注射液中 3 种残留溶剂进行测定,经过线性关系、稳定性、加标回收率等方法学验证试验,说明建立的方法可快速、准确地测定乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷 3 种残留溶剂的含量,保障了单硝酸异山梨酯注射液的用药安全。

参考文献

[1] 马懿,范咏诗,穆晓燕,等.心血管疾病病人积极度的研究进展[J].全科护理,2024,22(23):4401-4404.

[2] 梁芳,叶艺,彭琳,等.心血管疾病高危人群发病风险感知现状及其影响因素研究[J].军事护理,2024,41(11):49-52.

[3] 徐美兰,廖丽青,刘美琴.单硝酸异山梨酯缓释片治疗心绞痛的临床效果[J].临床合理用药,2021,14(06):45-47.

[4] 魏济民,常静,王娜,等.单硝酸异山梨酯缓释片联合体外反搏治疗不稳定型心绞痛疗效观察[J].海南医学,2019,30(09):1107-1110.

[5] 武莹.活瘀强心疏通丸治疗冠心病心绞痛的临床研究[J].罕见疾病杂志,2024,31(03):53-55.

[6] 付宝莲.单硝酸异山梨酯缓释片治疗心绞痛的疗效分析[J].中国现代药物应用,2021,15(03):93-95.

[7] 别海浩.增强型体外反搏联合单硝酸异山梨酯治疗冠心病的临床观察[J].实用中西医结合临床,2024,24(20):12-14,41.

[8] 刘文涛,闫寒冰,何晖.单硝酸异山梨酯联合中药治疗冠状动脉粥样硬化性心绞痛疗效进展[J].贵州医药,2024,48(07):1041-1043.

[9] 胡苑芬,刘锡坚,卢锐锋.单硝酸异山梨酯片治疗心绞痛中的效果观察[J].医药前沿,2022,12(10):8-10.

[10] 张少华,迟光远,黄斐斐.单硝酸异山梨酯静脉滴注对老年冠心病患者临床治疗作用的分析[J].中外医疗,2024,43(11):133-136.

[11] 于培.单硝酸异山梨酯注射液治疗心血管病进展分析[J].黑龙江医学,2021,45(15):1676-1677.

[12] 王旭伟.单硝酸异山梨酯治疗冠心病心绞痛的临床效果及副作用分析[J].临床医学研究,2021,9(11):71-73.

[13] 郑朝孟.单硝酸异山梨酯的制备[J].海峡药学,1996,8(04):78.

[14] 徐春丽,吴海燕,汪静,等.单硝酸异山梨酯李药合成及其性能研究[J].中国药学杂志,2009,44(08):634-636.

[15] 国家药典委员会.中华人民共和国药典 2020 年版四部[M].北京:中国医药科技出版社,2020:116-120.

[16] 刘颖,王志军,董欣,等.药品中残留溶剂的控制理念及测定方法的应用[J].中国新药杂志,2017,26(17):2040-2045.

[17] 鲍群.气相色谱技术在化工分析中的应用[J].化工设计通讯,2024,50(11):31-33.