

毛细管柱顶空进样程序升温气相色谱法检测单硝酸 异山梨酯缓释片中乙醇量

邵雪力^{1*}, 宋闫军², 谭洋³

(1. 周口市产品质量检验检测中心, 周口 466000; 2. 温县产品质量检验检测中心, 焦作 454000;
3. 濮阳市个体私营经济发展指导中心, 濮阳 457000)

摘要: 目的 建立毛细管柱顶空进样程序升温气相色谱法检测单硝酸异山梨酯缓释片中乙醇残留量。**方法** 采用6%氰丙基苯基-94%二甲基聚硅氧烷(或极性相近)为固定液的毛细管柱(30 m×0.320 mm, 0.25 μm), 起始温度为50°C, 维持6 min, 以每分钟50°C的速率升温至200°C, 维持3 min; 检测器温度为250°C; 进样口温度为200°C; 顶空瓶平衡温度为80°C, 平衡时间为30 min; 氮气流速为1 mL/min; 分流比为50:1。**结果** 在上述色谱条件下, 乙醇的保留时间为3 min, 乙醇浓度在0.43~10.8 μg/mL范围内质量浓度与峰面积呈良好的线性关系。方法的加标回收率为87.04%~94.45%之间, RSD=0.17%(n=6)。结论: 本法样品前处理简便、干扰少、重现性好、精度高, 可用于单硝酸异山梨酯缓释片中乙醇量的质量控制。

关键词: 单硝酸异山梨酯缓释片; 乙醇; 残留量; 毛细管柱顶空进样程序升温气相色谱法

Determination of ethanol content in Isosorbide Mononitrate Sustained-Release Tablets by gas chromatography

SHAO Xue-Li^{1*}, SONG Yan-Jun², TAN Yang³

(1. Zhoukou Product Quality Inspection and Testing Center, Zhoukou 466000, China; 2. Wen County Product Quality Inspection and Testing Center, Jiaozuo 454000, China; 3. Puyang Self-employed Private Economic Development Guidance Center, Puyang 457000, China)

ABSTRACT: Objective Establishment of a capillary column headspace sampling program for Gas chromatography determination of ethanol residue in Isosorbide Mononitrate sustained-release tablets. **Methods** A capillary column (30 m×0.320 mm, 0.25 μm) with 6% cyanopropylphenyl-94% dimethylpolysiloxane (or similar polarity) as stationary solution was used. The starting temperature was 50°C and maintained for 6 min, the temperature of the detector was 250°C, the temperature of the inlet was 200°C, the equilibrium temperature of the headspace bottle was 80°C, the equilibrium time was 30 min, the flow rate of nitrogen was 1 mL/min, and the temperature of the headspace bottle was 200°C. The shunt ratio was 50:1. **Results** Under the above chromatographic conditions, the retention time of ethanol was 3 min and the concentration of ethanol was in the range of 0.43~10.8 μg/mL. The recoveries were 87.04%~94.45%, RSD=0.17% (n=6). **Conclusion** The method is simple, accurate and can be used for the quality control of ethanol in Isosorbide Mononitrate Sustained-Release Tablets.

KEY WORDS: Isosorbide Mononitrate Sustained-Release Tablets, ethanol, residual content, temperature gas chromatography for headspace capillary injection

0 引言

单硝酸异山梨酯缓释片, 薄膜衣片, 除去包衣后显白色或

类白色。单硝酸异山梨酯缓释片用于冠心病的长期治疗、预防血管痉挛型和混合型心绞痛, 以及心肌梗死后的治疗及慢性心衰的长期治疗^[1]。在原料药合成工艺中, 选择适当的溶剂可提

*通信作者: 邵雪力, 副主任药师, 副主任, 研究方向: 药品、化妆品检验检测。E-mail: 2227989446@qq.com

*Corresponding author: SHAO Xue-Li, Deputy Chief Pharmacist, Deputy Director, Zhoukou Product Quality Inspection and Testing Center, Zhoukou 466000, China. E-mail: 2227989446@qq.com

高产量或决定药物的性质,如晶型、纯度、溶解速率等。但药品原料药或赋形剂的生产中,以及在制剂的制备过程中,使用的乙醇、氯仿等有机挥发性化合物,它们在工艺中不能完全除尽,由于残留溶剂可能增加药用辅料的毒副作用,改变某些药物晶型、增大药物吸潮作用,影响药物的稳定性。尤其是当药品所含的残留溶剂水平高于安全值时,就会对人体或环境产生危害,因此对残留溶剂的控制已越来越受到人们的关注,目前国家根据对残留溶剂对人体可能造成的危害程度,将残留溶剂分为应避免使用和应限量使用,比如将苯、四氯化碳列为应避免使用的溶剂;将乙腈、三氯甲烷列为应限制使用毒性试剂;将乙醇、丙酮等毒性低的溶剂,列为限量使用的溶剂。此类溶剂主要以PDE(允许日接触量)来计算,此类溶剂PDE控制在每日50 mg(即5000 ppm或0.5%)以下即可,属于限量使用,因此有必要对其残留量进行检测^[2]。《中华人民共和国药典》2020年版二部单硝酸异山梨酯缓释片检验标准中,未收录乙醇量的检测项目。测定药品中残留溶剂的方法有干燥失重测定法、分光光度法、气相色谱法^[3]。本文参考国内相关文献及中华人民共和国药典四部的相关规定,采用毛细管柱顶空进样程序升温气相色谱法检测其乙醇量。

1 材料与方法

1.1 仪器

安捷伦 7890A 气相色谱仪(安捷伦科技有限公司); Agilent 毛细管柱(30 m×0.320 mm, 0.25 μm); 92SM-202A 型普利赛斯电子分析天平(上海天美天平仪器有限公司)。

1.2 样品与试剂

乙醇为分析纯,生产单位为开封市芳晶化学试剂有限公司;水为纯化水;单硝酸异山梨酯缓释片三批,生产单位为乐普药业股份有限公司,批号 A230415F1、批号 A230416F1、批号 A230414F1。

1.3 乙醇量的测定

1.3.1 测定方法

1.3.2 样品预处理

取本品20片,研细,取细粉约0.5 g,精密称定,置顶空瓶中,精密量取水5 mL加入顶空瓶,密封。

1.3.3 色谱条件

采用6%氰丙基苯基-94%二甲基聚硅氧烷为固定液的毛细管柱(30 m×0.320 mm, 0.25 μm),起始温度为50℃,维持6分钟,以每分钟50℃的速率升温至200℃,维持3分钟;检测器温度为250℃^[4];进样口温度为200℃;顶空瓶平衡温度为80℃,平衡时间为30分钟;氮气流速为1 mL/min;分流比为50:1。

1.3.4 对照品溶液的制备

取乙醇0.1080 g,加水溶解并稀释制成每1 mL中约含0.5 mg的溶液,精密量取5 mL,置顶空瓶中,密封。

2 结果与分析

2.1 线性关系试验

标准系列溶液配制:取对照品0.1080 g,加水溶解并稀释制成每1 mL中浓度分别为0.43、0.54、2.16、1.08、4.32、

10.8 μg/mL 标准系列溶液。

采用6%氰丙基苯基-94%二甲基聚硅氧烷为固定液的毛细管柱(30 m×0.320 mm, 0.25 μm),起始温度为50℃,维持6分钟,以每分钟50℃的速率升温至200℃,维持3分钟;检测器温度为250℃;进样口温度为200℃;顶空瓶平衡温度为80℃,平衡时间为30分钟;氮气流速为1 mL/min;分流比为50:1,取上述标准系列溶液分别进样,进行色谱分析,以标准系列溶液浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,将峰面积(y)与浓度(x)作线性回归,得回归方程为 $y=110.92x+98.512$ ($r=0.99$)($n=5$)。结果表明,乙醇浓度线性范围为0.43~10.8 μg/mL。乙醇浓度标准曲线见图1。

检出限:在设定的色谱条件下,将标准溶液逐级稀释,直至其峰高约为噪声的3倍,以3倍的信噪比(S/N=3)确定检出限(LOD),以S/N=10确定定量限(LOQ),乙醇的检出限和定量限是0.2 μg/mL和1.0 μg/mL。

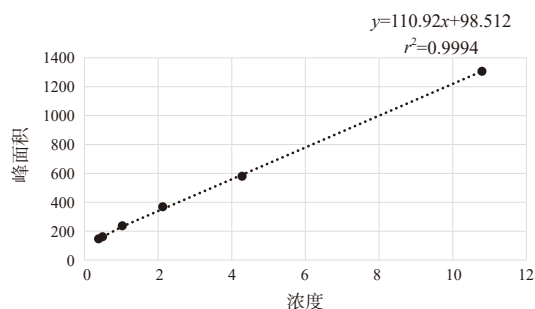


图1 乙醇浓度标准曲线图

Fig.1 Standard curve of ethanol concentration

2.2 精密性试验

精密称取批号A230415F1样品0.5114 g;置顶空瓶中,精密量取水5 mL加入顶空瓶,密封。采用6%氰丙基苯基-94%二甲基聚硅氧烷为固定液的毛细管柱(30 m×0.320 mm, 0.25 μm),起始温度为50℃,维持6分钟,以每分钟50℃的速率升温至200℃,维持3分钟;检测器温度为250℃;进样口温度为200℃;顶空瓶平衡温度为80℃,平衡时间为30分钟^[5];氮气流速为1 mL/min;分流比为50:1;色谱条件及测定方法进行,进样5次,记录峰面积90.07091、91.07304、90.57162、92.06702、91.13542。测得乙醇峰面积的RSD为2.6%。

2.3 回收率试验

精密称取批号A230415F1样品0.5 g,共6份。分别精密加入“2.2”标准储备溶液项下标准系列溶液浓度0.54 μg/mL各1 mL,置顶空瓶中,密封。采用1.3.3色谱条件进样测定。试验结果,回收率在87.04%~94.45%之间,RSD=0.17%($n=6$)。回收率测定结果见表1。

表1 回收率测定结果表($n=6$)

Table 1 The results of recovery rate determination table ($n=6$)

取样(g)	加入量(μg/mL)	原含量(%)	测定量(%)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
0.5114	0.54	0.38	0.89	94.44	91.98	0.17
0.5058	0.54	0.36	0.86	92.59		
0.5058	0.54	0.37	0.84	87.04		
0.5118	0.54	0.41	0.91	92.59		
0.5063	0.54	0.39	0.88	90.74		
0.5103	0.54	0.38	0.89	94.45		

2.4 样品中乙醇的测定结果

取供试品溶液 3 批, 与对照品溶液分别按 1.3.3 色谱条件顶空进样, 记录色谱图。按外标法以峰面积计算, 均检测出乙醇。3 批次样品乙醇残留量均符合限度要求。结果见表 2。

表 2 各批次乙醇结果
Table 2 Results of each batch of ethanol

编号	检品批号	取样(g)	乙醇(%)
1	A230415F1	0.5058	0.4
2	A230416F1	0.5057	0.4
3	A230414F1	0.5114	0.4

对照品与样品图谱如图 2、图 3。

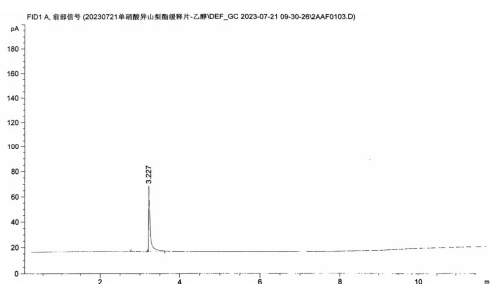


图 2 对照品色谱图

Fig.2 Chromatogram of reference substance

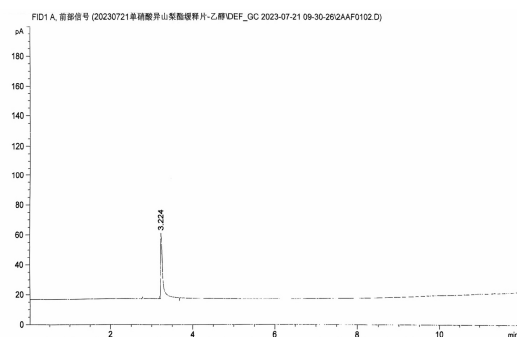


图 3 样品色谱图

Fig.3 Sample chromatogram

3 讨论与结论

3.1 讨论

(1) 方法的选择: 药品中的乙醇、氯仿、乙酸乙酯等残留溶剂在生产工艺过程中未能完全去除, 应根据该药品生产工艺的特点, 制定检测其残留量限度的方法, 使其符合产品规范、药品生产质量管理规范或其他基本的要求^[6]。测定药品中残留溶剂的方法有干燥失重测定法、分光光度法、气相色谱法。干燥失重法只能对其总量分析而无法对定性鉴别, 而且水分也会干扰残留溶剂的测定。分光光度法也通常利用特定溶剂和特定化学试剂的反应测定药品中的残留溶剂, 虽然专属性尚可, 但灵敏度较低。气相色谱法是一种常见检测残留溶剂的方法, 不但具有良好的分离能力和高灵敏度, 特别是和药品中残留溶剂的复杂样品的分析。可以分为毛细管柱顶空进样法、毛细管柱顶空进样程序升温法和溶液直接进样法^[7]。溶液直接进样法一般用于沸点高的甲酰胺、乙二醇等。溶液直接进样法容易造成进样器和色谱柱污染, 会在色谱柱上出现死吸附。乙醇沸点

78.4°C, 沸点低, 根据供试品中残留溶剂的沸点选择顶空平衡温度, 对沸点高的残留溶剂一般选择较高的平衡温度^[8]。本法采用毛细管柱顶空进样程序升温法, 顶空进样程序升温法可以通过加热, 将样品中挥发性成分在顶空瓶上部富集, 不仅可以避免药物的影响, 而且可以保护色谱柱, 效果较好^[9]。

(2) 顶空进样条件的选择: 主要是顶空平衡温度和顶空平衡时间。乙醇沸点低, 为了提高灵敏度, 选择顶空瓶平衡温度为 80°C, 以保证供试品溶液的气-液两相有足够的时间达到平衡^[10]。顶空平衡时间一般为 30~45 min, 本方法平衡时间为 30 min, 平衡时间过长, 可能引起顶空瓶的气密性变差, 导致定量准确性降低。

3.2 结论

目前药品原料中的残留量研究较多, 而忽视了对制剂中残留量的研究, 药品所含的残留溶剂增加药用辅料的毒副作用, 会对人体或环境产生危害, 因此对残留溶剂的控制已越来越受到人们的关注。早期测定药品中残留溶剂的方法有干燥失重法, 分光光度法, 目前残留溶剂方法被气相色谱法取代。气相色谱法分离能力好, 灵敏度高, 特别适合药品中残留溶剂复杂样品的分析。乙醇属于第三类溶剂(药品 GMP 或其他质量要求限制使用), 限度要求 0.5%, 本文采用毛细管柱顶空进样程序升温气相色谱检测法, 3 批样品残留溶剂均符合规定。结果显示, 该检测方法样品前处理简便、操作性强、检测成本低, 可用于单硝酸异山梨酯缓释片中乙醇残留量的检测。

参考文献

- [1] 张培根, 宋豪, 朱天宇, 等. 单硝酸异山梨酯缓释胶囊治疗冠心病、心绞痛临床综合评价[J]. 沈阳药科大学学报, 2024, (03): 356-368.
- [2] 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.
- [3] 中国药典委员会. 中国药典分析检测技术指南[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2017.
- [4] 杨萍, 罗猛. 单硝酸异山梨酯缓释胶囊残留溶剂的气相色谱法测定[J]. 黑龙江科技信息, 2012, (06): 23-24.
- [5] 伍乃英, 邓明, 冯友龙. 顶空毛细管气相色谱法测定单硝酸异山梨酯中 7 种有机溶剂的残留量[J]. 首都医药, 2008, 15(12): 50-51.
- [6] 王守箐. 气相色谱法测定单硝酸异山梨酯氯仿、乙酸乙酯的残留量[J]. 化学与生物工程, 2005, (08): 55-56.
- [7] 张敏, 徐浩. 药品中残留溶剂的测定及控制[J]. 科学技术创新, 2019, (16): 42-43.
- [8] 成海平. 化学药品残留溶剂质量标准制定的原则与要求[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(20): 92-94.
- [9] 王琪, 黄霖. 顶空毛细管气相色谱法测定氨苄西林原料中 5 种有机溶剂残留量[J]. 药品评价, 2021, (18): 1105-1107.
- [10] 张靖. 顶空毛细管气相色谱法测定盐酸美金刚中有机溶剂的残留量[J]. 海峡药学, 2021, 33(03): 82-84.

作者简介

邵雪力, 副主任药师, 副主任, 研究方向: 药品、化妆品检验检测。