

顶空毛细管气相色谱法测定盐酸洛哌丁胺中残留溶剂

胡猛慎,洪志玲,黄剑英(厦门市药品检验所,福建 厦门 361012)

[摘要] 目的 建立了顶空毛细管气相色谱法测定盐酸洛哌丁胺中残留溶剂的方法。方法 以氮气为载气,氢火焰离子化检测器(FID)检测,色谱柱为DB-624毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm),采用程序升温,顶空进样,顶空平衡温度为100℃,平衡时间25 min。对盐酸洛哌丁胺中甲醇、异丙醇、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、氯仿、甲基异丁酮、甲苯、苯这9种有机溶剂残留进行检测。结果 在试验条件下实现了各组分的分离。甲醇、异丙醇、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、氯仿、甲基异丁酮、甲苯、苯在所考察的浓度范围内,线性关系、精密度均良好。各组分平均回收率95.2%~102.3%,RSD 0.8%~2.9%。结论 该方法简便、准确,可用于盐酸洛哌丁胺中残留溶剂的测定。

[关键词] 顶空气相色谱法;盐酸洛哌丁胺;残留溶剂测定

[中图分类号] R927 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2012)06-0454-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2012.06.017

Determination of residue organic solvents in Loperamide Hydrochloride by head-space capillary gas chromatography

HU Meng-shen ,HONG Zhi-ling ,HUANG Jian-ying(Xiamen Institute for Drug Control , Xiamen 361012 , China)

[Abstract] **Objective** To develop a method of headspace capillary gas chromatography for determining residual organic solvents in loperamide hydrochloride. **Methods** The carrier gas was nitrogen and FID as detector. The nine organic solvents including methanol , isopropanol , n-hexane , ethyl acetate , tetrahydrofuran , chloroform , methyl isobutyl ketone , toluene , benzene were separated on a DB-624 capillary column(30 m×0.32 mm×0.25 μm) by programmable increased temperature and headspace gas chromatography. **Results** The nine organic solvents were separated and each of them showed linear relationship in the concentration range measured. The recoveries and RSDs were in range from 95.2% to 102.3% and 0.8% to 2.9% , respectively. **Conclusion** The method was simple , accurate and reproducible.

[Key words] head-space gas chromatography; Loperamide hydrochloride , determination of residual solvents

盐酸洛哌丁胺(loperamide hydrochloride) ,化学名为N,N-二甲基- α , α -二苯基-4-(对氯苯基)-4-羟基-1-哌啶丁酰胺盐酸盐,是一种抗腹泻药,有胶囊剂、颗粒剂等制剂,临床用于各种非感染性腹泻有很好的疗效且副作用较低,是一种安全有效的口服止泻药^[1]。由于该原料药在合成过程中使用到甲醇、异丙醇、甲基异丁酮等多种有机溶剂,曾有文献报道气相色谱法分析其中4种有机溶剂的残留^[2]。本文采用顶空毛细管气相色谱法同时对盐酸洛哌丁胺中甲醇、异丙醇、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、氯仿、甲基异丁酮、甲苯、苯9种溶剂残留进行检测,结果表明方法简便准确。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 岛津GC2010AF气相色谱仪(配有FID

检测器);岛津色谱工作站;PE TurboMatrix40自动顶空进样器;Hitachi BEBICON空压机;SPH-300氢气发生器;AL-204-IC万分之一分析天平。

1.2 试剂 盐酸洛哌丁胺供试品(批号:10091011、10091012、10091013,由某药企提供);氮气为高纯氮;二甲亚砜(DMSO)、甲醇、异丙醇、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、氯仿、甲基异丁酮、甲苯、苯均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与顶空条件 色谱柱:DB-624毛细管柱,规格30 m×0.32 mm×0.25 μm;载气:高纯氮;流速:2.0 ml/min;柱温:程序升温,初始温度35℃维持16 min,以每分钟5℃升温至50℃,维持2.5 min,再以每分钟40℃升温至120℃,维持3 min,再以每分钟40℃升温至200℃,维持1 min;进样器温度为200℃;分流比1:1;检测器为氢火焰离子化检测器(FID)检测器温度为250℃,氢气40 ml/min,空气

[作者简介] 胡猛慎(1985-),女,药师。Tel:(0592)5619836,E-mail:hushen523@sina.com.cn

[通讯作者] 洪志玲,E-mail:xmyjh_lwtx@163.com

400 ml/min 尾吹 30 ml/min。顶空瓶加热温度 100 °C 加热时间 25 min 进样环 110 °C ,传输线 120 °C ,进样时间 0.12 min。

2.2 对照品溶液的配制 分别精密称取 0.266 2 g 三氯甲烷、0.011 0 g 苯置 100 ml 量瓶中,用 DMSO 稀释至刻度;另分别精密称取 0.027 2 g 甲醇、0.051 3 g 异丙醇、0.012 4 g 正己烷、0.071 5 g 乙酸乙酯、0.020 9 g 四氢呋喃、0.010 3 g 甲基异丁酮、0.011 3 g 甲苯于 100 ml 量瓶,加入适量 DMSO 稀释,再精密移取前述 100 ml 量瓶中溶液 2.0 ml 至该量瓶中,以 DMSO 稀释至刻度,摇匀,作为残留溶剂对照储备

液。精密移取对照储备液 5.0 ml 于 50 ml 量瓶中,用 DMSO 稀释至刻度,摇匀,精密量取 5.0 ml,置顶空瓶中,密封,作为混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的配制 精密称取盐酸洛哌丁胺样品 0.5 g,置 20 ml 顶空瓶中,精密加入二甲亚砜 5 ml,密封,作为供试品溶液。

2.4 专属性试验 分别取 DMSO 和混合对照品溶液,按上述色谱条件进行顶空分析,结果见图 1,表明溶剂 DMSO 中的少量杂质不干扰残留溶剂的分析,且各组分峰之间分离度符合规定,理论塔板数均大于 5 000。

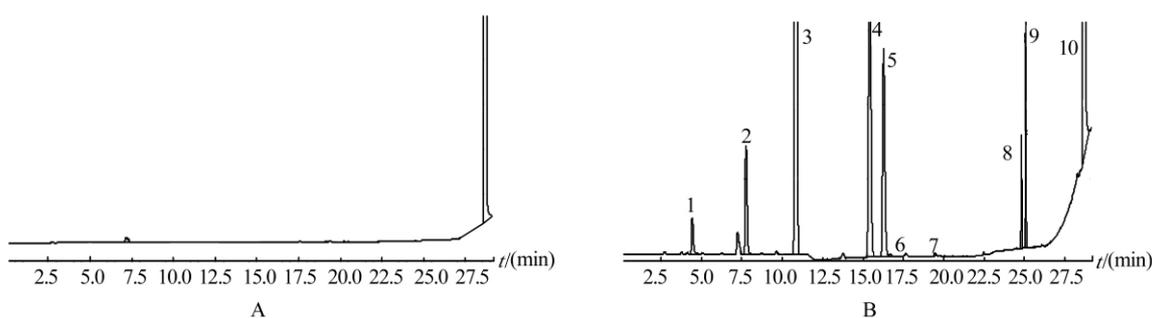


图 1 空白溶剂(A)和混合对照品溶液(B)气相色谱图

1-甲醇(4.4 min);2-异丙醇(7.8 min);3-正己烷(10.9 min);4-乙酸乙酯(15.4 min);5-四氢呋喃(16.3 min);
6-三氯甲烷(16.7 min);7-苯(19.4 min);8-甲基异丁酮(24.8 min);9-甲苯(25.1 min);10-二甲亚砜(28.7 min)。

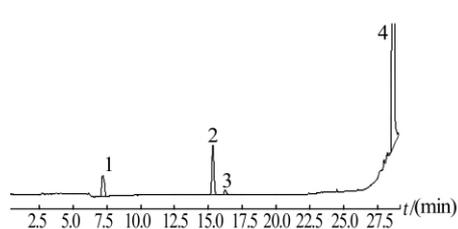


图 2 供试品溶液气相色谱图

1、4-溶剂峰(7.3 min 28.7 min);2-乙酸乙酯(15.4 min);
3-四氢呋喃(16.3 min)

2.5 线性关系 分别精密移取 2.2 项下的残留溶剂对照储备液 1.0、3.0、5.0、7.0、10.0 ml 于 50 ml 量瓶中,用 DMSO 稀释至刻度,摇匀,作为 1~5 号浓度系列对照品溶液,各精密量取 5.0 ml 置顶空瓶中,密封,作为工作对照品溶液,在上述顶空气相色谱条件下分析,测定各溶剂的峰面积,以各溶剂峰面积 Y 对浓度 X ($\mu\text{g/ml}$) 绘制标准曲线,结果各组分在对应浓度范围内均呈良好线性,见表 1。

表 1 残留溶剂组分的线性方程与范围

组分	回归方程	r	线性范围($\mu\text{g/ml}$)
甲醇(methanol)	$Y = 712.15X + 198.49$	0.999 9	5.44 ~ 54.4
异丙醇(isopropanol)	$Y = 1\ 208X - 1\ 118.1$	0.999 8	10.26 ~ 102.6
正己烷(n-hexane)	$Y = 64\ 003X - 63\ 940$	0.997 5	2.48 ~ 24.80
乙酸乙酯(ethyl acetate)	$Y = 3\ 489.6X - 10\ 220$	0.999 2	14.3 ~ 143.0
四氢呋喃(tetrahydrofuran)	$Y = 6\ 094.9X + 6\ 190.1$	0.999 9	4.18 ~ 41.8
三氯甲烷(chloroform)	$Y = 302.3X - 195.87$	0.997 9	3.19 ~ 10.65 ¹⁾
苯(benzene)	$Y = 7\ 151X + 277.68$	0.993 2	0.13 ~ 0.44 ¹⁾
甲基异丁酮(methyl isobutyl ketone)	$Y = 2\ 224.7X - 385.51$	0.999 8	2.06 ~ 20.60
甲苯(toluene)	$Y = 4\ 812X - 1\ 407.6$	0.999 7	2.26 ~ 22.60

注: ¹⁾ 三氯甲烷与苯线性舍去第一点。

2.6 精密度试验 取混合对照品溶液按上述色谱条件平行进样 6 次,结果甲醇、异丙醇、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、三氯甲烷、苯、甲基异丁酮、甲苯峰面积的 RSD 分别为 0.9%、0.8%、2.6%、0.8%、0.5%、2.5%、3.2%、0.8%、0.6%,均符合《中国药典》2010 年版二部规定的残留溶剂外标法精密度的要求 (RSD 不大于 10%)^[3] 表明方法重现性良好。

2.7 回收率试验 精密称取批号为 10091013 的供试品 9 份 (其中含乙酸乙酯 0.01%、四氢呋喃 0.001%、未检出其他溶剂) 置 20 ml 顶空瓶,每份 0.5 g,分 3 组,每组 3 份,分别精密加入“2.5”线性项下的 2、3、4 号浓度对照品溶液 5.0 ml,按上述色谱条件分析,计算各组分回收率,结果平均回收率 ($n=9$) 甲醇为 96.0% (RSD = 1.2%)、异丙醇为 97.4% (RSD = 0.8%)、正己烷为 95.2% (RSD = 2.6%)、乙酸乙酯为 99.4% (RSD = 1.7%)、四氢呋喃为 97.6% (RSD = 1.8%)、三氯甲烷为 96.2% (RSD = 2.9%)、苯为 102.3% (RSD = 2.8%)、甲基异丁酮为 98.5% (RSD = 0.9%)、甲苯为 95.9% (RSD = 0.8%)。

2.8 检测限 逐步稀释混合对照品溶液,按上述色谱条件进样,结果甲醇、异丙醇、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、三氯甲烷、苯、甲基异丁酮、甲苯的最低检测限 ($S/N=3$) 分别为 0.326、0.616、0.007、0.086、0.0502、3.19、0.132、0.124、0.136 $\mu\text{g/ml}$ 。

2.9 样品测定 取 3 批盐酸洛哌丁胺供试品按“2.3”项下制备供试品溶液进行顶空进样分析,结果见表 2。

3 小结

本文选用中等极性的 DB-624 毛细管柱^[4-6] 采

用程序升温可使 9 种有机溶剂到完全分离,提高效率,可用于盐酸洛哌丁胺中残留溶剂的控制。

表 2 3 批盐酸洛哌丁胺样品残留溶剂的分析结果 ($n=2$)

组分	10091011	10091012	10091013
甲醇	/	/	/
异丙醇	/	/	/
正己烷	/	/	/
乙酸乙酯	0.02%	$\leq 0.01\%$ ¹⁾	$\leq 0.01\%$ ¹⁾
四氢呋喃	$\leq 0.004\%$ ¹⁾	$\leq 0.004\%$ ¹⁾	$\leq 0.004\%$ ¹⁾
三氯甲烷	/	/	/
苯	/	/	/
甲基异丁酮	/	/	/
甲苯	/	/	/

注: ¹⁾ 浓度低于线性第一点。

三氯甲烷与苯的规定限度较低且在检测器中响应值较弱。鉴于残留溶剂为限度检查,方法学中未考察定量限。

【参考文献】

- [1] 陶 寅,蔡锡明. 盐酸洛哌丁胺的合成[J]. 四川化工, 1996, 17(3): 22.
- [2] 谷高强,周 坤,黄淑萍,等. 气相色谱法测定盐酸洛哌丁胺中四种有机溶剂残留量[J]. 中国医药, 2009, 4(7): 528.
- [3] 中国药典 2010 年版. 二部[S]. 2010: 附录 61.
- [4] 戴寿洋,陈贵斌,陈 悦. 顶空毛细管气相色谱法测定注射用头孢哌酮舒巴坦钠中残留溶剂[J]. 海峡药学, 2012, 24(2): 53.
- [5] 姚 静,吴建敏,高家敏,等. 顶空 GC 测定缙沙坦原料有机溶剂残留量[J]. 中国药事, 2009, 23(7): 681.
- [6] 龚爱琴. 顶空毛细管气相色谱法测定氟苯尼考中残留溶剂[J]. 海峡药学, 2011, 23(7): 79.

[收稿日期]2012-03-18

[修回日期]2012-07-06

(上接第 432 页)

综上所述,本合成通过吡咯酮 5 位苯环上取代基团对活性影响的研究,从中发现了一个活性高于阳性对照药 5 倍以上的衍生物 4e,值得进一步深入研究其体内外抗肿瘤活性。

【参考文献】

- [1] Moll UM, Petrenko O. The MDM2-p53 Interaction [J]. Mol Cancer Res, 2003, 1: 1001.
- [2] Kussie PH, Gorina S, Marechal V, et al. Structure of the MDM2 oncoprotein bound to the p53 tumor suppressor transactivation domain [J]. Science, 1996, 274: 948.
- [3] Garcia-Echeverria C, Chene P, Blommers MJJ. Discovery of potent antagonists of the interaction between human double minute

2 and tumor suppressor p53 [J]. J Med Chem, 2000, 43: 3205.

- [4] Baek S, Kutchukian PS, Verdine GL, et al. Structure of the stapled p53 peptide bound to Mdm2 [J]. J Am Chem Soc, 2012, 134: 103.
- [5] Lyubomir T, Vassilev BT, Bradford G, et al. In vivo activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2 [J]. Science, 2004, 303: 844.
- [6] Yu S, Qin D, Shangary S, et al. Potent and orally active small-molecule inhibitors of the MDM2-p53 interaction [J]. J Med Chem, 2009, 52: 7970.
- [7] Marugan JJ, Leonard K, Raboisson P, et al. Enantiomerically pure 1,4-benzodiazepine-2,5-diones as MDM2 antagonists [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2006, 16: 3115.

[收稿日期]2012-05-11

[修回日期]2012-06-20