

差示扫描量热法测定磺胺类化学对照品的纯度

张雅军, 吴先富*, 肖新月* (中国食品药品检定研究院, 北京 102629)

摘要: 目的 采用差示扫描量热法(differential scanning calorimetry, DSC)测定磺胺类化学对照品纯度。方法 采用优化 DSC 实验参数, 载气流速 50 mL·min⁻¹, 升温速率 3 °C·min⁻¹, 称样量 1.3~2.0 mg, 对 7 种磺胺类化学对照品进行纯度分析。结果 DSC 测得磺胺噻唑纯度为 99.9%, 磺胺甲二唑为 99.9%, 磺胺甲氧唑为 99.8%, 磺胺嘧啶为 99.8%, 磺胺甲噁唑为 99.9%, 磺胺多辛为 99.5%和磺胺二甲嘧啶为 99.9%, 其结果与质量平衡法测定结果基本一致。结论 DSC 简便、快捷、无需标准物质, 为磺胺类化学对照品纯度测定提供了新的检测方法。

关键词: 差示扫描量热法; 磺胺类; 化学对照品

中图分类号: R917 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2022)01-0093-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.01.016

引用本文: 张雅军, 吴先富, 肖新月. 差示扫描量热法测定磺胺类化学对照品的纯度[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(1): 93-96.

Determination of the Purity of Sulfonamide Chemical Reference Materials by Differential Scanning Calorimetry

ZHANG Yajun, WU Xianfu*, XIAO Xinyue* (National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the purity of sulfonamide chemical reference substances by differential scanning calorimetry(DSC). **METHODS** The purity of 7 sulfonamide chemical reference substances was determined by optimizing DSC parameters, carrier gas flow rate was 50 mL·min⁻¹, heating rate was 3 °C·min⁻¹ and weighing amount was 1.3–2.0 mg. **RESULTS** The purity determined by DSC were 99.9%(sulfathiazole), 99.9%(sulfamethizole), 99.8%(sulfamethoxypridazine), 99.8%(sulfadiazine), 99.9%(sulfamethoxazole), 99.7%(sulfadoxine), and 99.9%(sulfadimidine), respectively. The results of purity determination by DSC method were basically consistent with those by mass balance method. **CONCLUSION** DSC is a simple, rapid method, and does not need standard substance. It provides a new method for the purity determination of sulfonamide chemical reference substances.

KEYWORDS: differential scanning calorimetry; sulfonamides; chemical reference substances

磺胺类药物为人工合成抗菌药, 如长期不合理服用, 对人体健康会造成威胁^[1-2], 所以磺胺类药物在动物性食品和饲料残留检测^[3-4]已成为动物性食品安全监测的重要内容。本实验中涉及的磺胺类药物在动物性食品中的国家标准^[5]均有收载, 其含量测定方法为高效液相色谱法。

差示扫描量热法(differential scanning calorimetry, DSC)是研究应用最广泛的热分析技术之一, 由于 DSC 试样用量少、操作简单、重现性好、不需溯源的标准物质就可测得物质的绝对纯度等优点, 被广泛应用到药物分析的各个领域^[6-10], 已成为化学对照品纯度测定不可或缺的分析方法。DSC 测定是依据范霍夫方程(Van't Hoff Equation), 通过测定物质熔融 DSC 曲线计算杂质含量, 从而实现有机化合物的纯度分析^[11-13]。

目前化学对照品定值通常采用质量平衡法^[14], 即测得主成分的含量加上有机杂质、水分、残留溶剂和无机杂质(灰分)之和应为 100%。而质量平衡法最重要的环节是有机杂质分析, 而有机杂质测定通常为色谱分析, 当样品中含有未知杂质时, 由于不同物质响应值差异或分离的影响, 无法准确测定有机杂质含量, 可能会导致质量平衡法结果产生偏差, 需要其他分析方法进行佐证。本实验用 DSC 对 7 种磺胺类化学对照品进行纯度测定, 结果与质量平衡法有较好的一致性, 该方法的建立可以为磺胺类化学对照品纯度测定和质量监测提供更加简便、快速的分析方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Q200 型差示扫描量热仪(温度范围为-90~

作者简介: 张雅军, 女, 副主任药师 E-mail: zyj95860@126.com
肖新月, 女, 研究员 E-mail: xiaoxy@nifdc.org.cn

*通信作者: 吴先富, 男, 博士, 副研究员 E-mail: wuxf99@163.com

550 °C, 美国 TA); Mx5 型电子天平(称量精度 1 μg, 瑞士 Mettler Toledo); 标准铝制密封坩埚(美国 TA)。

1.2 试药

磺胺多辛(批号: F4H227; 含量: 99.9%)、磺胺甲噁唑(批号: J1F148; 含量: 99.8%)和磺胺甲二唑(批号: G0J273; 含量: 99.2%)均购自美国药典委员会(USP)。磺胺噻唑(批号: 510091-201401)、磺胺甲二唑(批号: 510084-201401)、磺胺甲氧噻(批号: 510085-201401)、磺胺嘧啶(批号: 100026-201404)、磺胺甲噁唑(批号: 100025-201505)、磺胺多辛(批号: 510119-201501)、磺胺二甲嘧啶(批号: 100411-201501)和磺胺间甲氧嘧啶(批号: 510093-201401)均由中国食品药品检定研究院提供。

2 方法

精密称取样品约 1.3~2.8 mg, 升温速率 3 °C·min⁻¹, 置标准 40 μL 铝制坩埚中, 加盖, 用冲压模将坩埚密封, 放入差示扫描量热仪中, 以标准 40 μL 铝制空坩埚作为参比, 进行测定, 记录 DSC 曲线, 用美国 TA Instrument Universal V4.5A 分析软件计算样品纯度。

3 结果与讨论

3.1 测定条件优化

选用 3 种 USP 有赋值的对照品, 通过考察升温速率和称样量等不同因素的影响, 选择最佳的 DSC 测定条件。

3.1.1 氮气流速的影响 量热池内通入氮气的主要作用是消除样品分解而产生的有害气体, 氮气流速对测定准确度的影响不是关键因素, 故选择仪器默认值 50 mL·min⁻¹。

3.1.2 坩埚的选择 磺胺类样品不具腐蚀性, 选用铝质坩埚能满足要求; 为了防止样品熔融状态时样品挥发, 因此使用密封坩埚。

3.1.3 升温速率的影响 升温速率是影响测定结果准确性最重要的因素, 升温速率过快会导致样品内部温度分布不均匀, 温度梯度增大, 峰形变宽, 使测定结果准确性降低。通过选用不同的升温速率(0.7, 1, 2, 3, 4, 5, 10 °C·min⁻¹), 分别对 3 种 USP 磺胺类对照品进行测定, 采用无重复双因素方差分析对实验条件进行优化。实验结果表明, 升温速率 0.7~10 °C·min⁻¹ 对含量测定结果有显著影响($P<0.05$), 而选用升温速率 2~4 °C·min⁻¹ 时对含量测定结果无显著影响, 综合分析确定升温速率为 3 °C·min⁻¹, 结果见表 1~2。以升温速率 0.7, 1, 2, 3, 4, 5, 10 °C·min⁻¹(称样量 1.3~1.8 mg)为例, DSC 曲线见图 1。

3.1.4 称样量的影响 样品量大小对于测定结果的灵敏度及准确性有一定影响。样品量较大时, 样品内部传热慢, 温度梯度大, 导致峰形扩大, 分辨率下降; 样品量较小热量传递迅速, 峰形小, 分辨率高, 但灵敏度下降, 结果重复性可能受到影响。本实验采用百万分之一电子天平, 可以避免因样品称量而产生的误差。选取 3 个水平条件的样品量(1.3~1.8 mg, 2.0~2.3 mg, 2.5~2.8 mg)测定, 通过对 3 种 USP 对照品测得结果的方差分析, 样品量在 1.3~2.8 mg 对含量测定虽然无太大影响, 但随着样品量增大对 DSC 曲线的峰温和峰形产生很大影响, 容易造成结果的不准确性。根据上述实验结果, 最后确定样品量为 1.3~2.0 mg, 结果见表 1~2。

3.2 线性关系考察

分别精密称取磺胺多辛、磺胺甲噁唑和磺胺甲二唑对照品 1.3~2.0 mg, 按“2”项下方法测定, 以样品量为横坐标(x), 测得吸热峰面积为纵坐标(y), 绘制标准曲线, 计算回归方程。结果表明磺

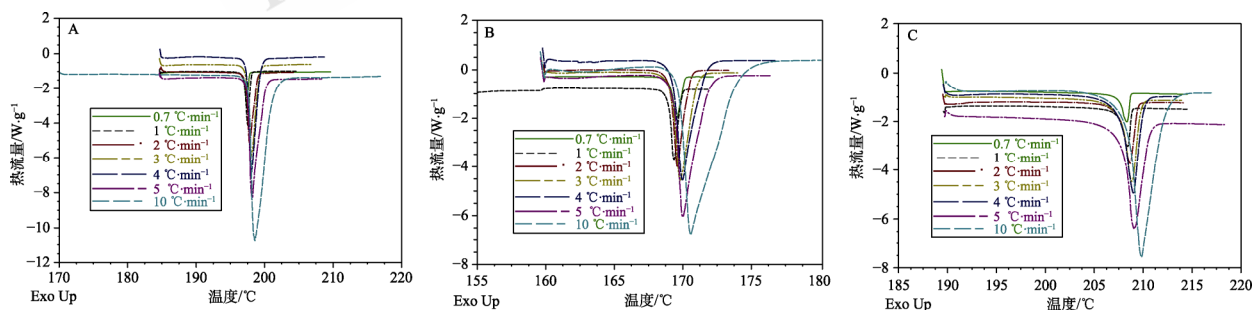


图 1 不同升温速率 DSC 曲线图

A-磺胺多辛; B-磺胺甲噁唑; C-磺胺甲二唑。

Fig. 1 DSC curve of different heating rates

A-sulfadoxine; B-sulfamethoxazole; C-sulfamethizole.

表 1 升温速率及称样量对测定结果影响

Tab. 1 Effect of heating rate and sample weight on determination results

升温速率/ ℃·min ⁻¹	磺胺多辛			磺胺甲噁唑			磺胺甲二唑		
	1.3~1.8 mg	2.0~2.3 mg	2.5~2.8 mg	1.3~1.8 mg	2.0~2.3 mg	2.5~2.8 mg	1.3~1.8 mg	2.0~2.3 mg	2.5~2.8 mg
0.7	99.78	99.80	99.78	99.76	99.84	99.80	99.50	99.56	99.54
1	99.81	99.84	99.81	99.89	99.83	99.94	99.42	99.45	99.41
2	99.87	99.90	99.88	99.86	99.88	99.87	99.35	99.39	99.27
3	99.89	99.91	99.88	99.84	99.82	99.81	99.25	99.28	99.31
4	99.91	99.91	99.92	99.83	99.84	99.76	99.32	99.36	99.31
5	99.81	99.71	99.61	99.83	99.79	99.81	99.38	99.28	99.36
10	99.50	99.44	99.28	99.36	99.38	99.38	99.50	99.47	99.49

表 2 升温速率及称样量的方差分析结果

Tab. 2 Analysis of variance of heating rate and sample weight

化合物	升温速率/ ℃·min ⁻¹	称样量/mg	方差分析						
			差异源	SS	df	MS	F	P 值	F crit
磺胺多辛	0.7~10	1.3~2.8	升温速率	5.61×10 ⁻¹	6	9.35×10 ⁻²	33.25	8.45×10 ⁻⁷	3.00
			称样量	1.40×10 ⁻²	2	7.00×10 ⁻³	2.49	0.12	3.89
			误差	3.37×10 ⁻²	12	2.81×10 ⁻³			
			总计	6.08×10 ⁻¹	20				
	2~4	1.3~2.8	升温速率	1.40×10 ⁻³	2	7.00×10 ⁻⁴	5.25	0.076	6.94
			称样量	4.67×10 ⁻⁴	2	2.33×10 ⁻⁴	1.75	0.28	6.94
			误差	5.33×10 ⁻⁴	4	1.33×10 ⁻⁴			
			总计	2.40×10 ⁻³	8				
磺胺甲噁唑	0.7~10	1.3~2.8	升温速率	5.62×10 ⁻¹	6	9.37×10 ⁻²	77.90	6.6×10 ⁻⁹	3.00
			称样量	2.86×10 ⁻⁵	2	1.43×10 ⁻⁵	0.012	0.99	3.89
			误差	1.44×10 ⁻²	12	1.20×10 ⁻³			
			总计	5.77×10 ⁻¹	20				
	2~4	1.3~2.8	升温速率	5.96×10 ⁻³	2	2.98×10 ⁻³	4.87	0.085	6.94
			称样量	2.02×10 ⁻³	2	1.01×10 ⁻³	1.65	0.30	6.94
			误差	2.44×10 ⁻³	4	6.11×10 ⁻⁴			
			总计	1.04×10 ⁻²	8				
磺胺甲二唑	0.7~10	1.3~2.8	升温速率	1.57×10 ⁻¹	6	2.61×10 ⁻²	16.76	3.39×10 ⁻⁵	3.00
			称样量	7.52×10 ⁻⁴	2	3.76×10 ⁻⁴	0.24	0.79	3.89
			误差	1.87×10 ⁻²	12	1.56×10 ⁻³			
			总计	1.76×10 ⁻¹	20				
	2~4	1.3~2.8	升温速率	5.76×10 ⁻³	2	2.88×10 ⁻³	1.63	0.30	6.94
			称样量	3.62×10 ⁻³	2	1.81×10 ⁻³	1.03	0.44	6.94
			误差	7.04×10 ⁻³	4	1.76×10 ⁻³			
			总计	1.64×10 ⁻²	8				

胺多辛、磺胺甲噁唑和磺胺甲二唑的 DSC 具有良好的线性关系, 结果见表 3。

3.3 仪器精密性考察

分别精密称取磺胺多辛、磺胺甲噁唑和磺胺甲二唑 USP 对照品各 5 份(1.3~2.0 mg), 按“2”项下方法测定其纯度, 结果 RSD 分别为 0.01%, 0.03%, 0.04%, 表明 DSC 法测定纯度具有良好的精密性。

表 3 回归方程

Tab. 3 Regression equations

USP 对照品	回归方程	r ²
磺胺多辛	y=131.16x+1.082 7	0.999 5
磺胺甲噁唑	y=117.35x-1.610 5	0.999 5
磺胺甲二唑	y=115.64x-16.19 4	0.999 6

3.4 DSC 测得纯度与质量平衡法结果比较

精密称取样品 1.3~2.2 mg, 按“2”项下方法测

定,同时对 DSC 曲线求一阶导数确定样品在熔融峰中无隐藏的干扰峰为测定条件,对 7 种磺胺类化学对照品进行纯度测定,结果表明,DSC 与质量平衡法结果基本一致,结果见表 4。

表 4 DSC 法和质量平衡法含量测定结果

Tab. 4 Determination of content by DSC method and mass balance method

样品	DSC/%(n=2)	质量平衡法/%
磺胺噻唑	99.9	100.0
磺胺甲二唑	99.9	99.8
磺胺甲氧嘧啶	99.8	99.8
磺胺嘧啶	99.8	99.7
磺胺甲噁唑	99.9	99.6
磺胺多辛	99.5	99.2
磺胺二甲嘧啶	99.9	99.9

3.5 DSC 法对样品的测定要求

美国材料与试验协会^[15]明确要求,热稳定性好、纯度>98.5(摩尔比)的物质较适合 DSC 纯度测定,样品纯度高,测得准确性也越高。试验中发现熔融分解和多晶型样品不适合 DSC 测定,而纯度偏低的样品也不适合用 DSC 进行纯度分析,如磺胺间甲氧嘧啶(批号:51093-201401)质量平衡法与定量核磁共振法测得结果分别为 97.5%和 97.2%,而 DSC 测得纯度为 98.3%,结果有些偏离,这也有效地验证了 DSC 纯度测定适用于高纯度的样品。杂质含量越大,与 Van't Hoff 方程成立的理想状态偏离越大,结果偏差也大^[16]。另外 DSC 测定时要使用干燥的样品,水分的存在对 DSC 曲线和纯度测定有一定的影响,在实验过程中尽量使样品平铺在坩埚底部,样品可以在热传递中均匀,使重现性好。

4 小结

本实验用 DSC 对几种磺胺类药物纯度分析进行探讨,虽然 DSC 存在一定局限性,但具有样品用量少、分析快速、可直接测定物质绝对纯度等独特优势,可与其他分析方法相互验证,使化学对照品的赋值更加准确可靠,从而使热分析技术在该类化学对照品分析中得到很好的应用。

REFERENCES

- [1] 白明水. 磺胺类药物及其增效剂的临床使用价值[J]. 中国社区医师: 医学专业半月刊, 2008, 10(24): 10.
- [2] GUO L T, WANG C Q, YANG X, et al. Study of relation between drug resistance against sulfamethoxazole and streptomycin in *Gallibacterium* and resistant genes[J]. China Poult(中国家禽), 2009, 31(18): 22-24.
- [3] KE Q Q, LI S Y, BEI Y J, et al. Simultaneous determination of sulfonamides and quinolones residues in aquatic animal feeds by HPLC-Q-TOF/MS[J]. J Zhejiang Agric Sci(浙江农业科学), 2019, 60(1): 129-133, 136.
- [4] MAO M Z, ZHANG Y. Determination of 10 residual sulfonamides in pork by HPLC[J]. Pharm Today(今日药学), 2018, 28(2): 95-97.
- [5] GB 29694-2013, 食品安全国家标准. 动物性食品中 13 种磺胺类药物多残留的测定: 高效液相色谱法[S]. 2013-09-16.
- [6] WANG J J, LI Y F, LI P, et al. Application of differential scanning calorimetry in pharmaceutical qualitative analysis[J]. Drugs Clin(现代药物与临床), 2013, 28(5): 815-818.
- [7] LIU J, YANG L, FANG G. Applications and advances of differential scanning calorimetry in pharmaceuticals[J]. Chin J Pharm(中国药理学杂志), 2017, 15(5): 119-128.
- [8] CHEN J, LI M H, YU K Z, et al. Identification of pearl powder and conch powder from different origins by differential scanning calorimetry[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2015, 40(8): 1459-1462.
- [9] ZHU J, WU J M, HUANG H W, et al. Research progress of differential scanning calorimetry in drug testing[J]. Chin Pharm Aff(中国药事), 2018, 32(2): 210-215.
- [10] LIU Y, WU J M, LU J, et al. Application of differential scanning calorimetry in the purity analysis of chemical reference substances[J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2017, 26(10): 1115-1118.
- [11] ZHOU J Y, HUANG Y J, BAI Y C, et al. Determination of purity of Lindane by differential scanning calorimetry and mass balance[J]. J Food Saf Qual(食品安全质量检测学报), 2018, 9(15): 3932-3937.
- [12] JI L, SUN Z S, WANG Y, et al. Determination of purity of inositol by DSC method[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2002, 22(2): 110-112.
- [13] ZHANG Y Z, CUI X L. Determination of escitalopram oxalate purity by differential scanning calorimetry method[J]. Chem Anal Meter(化学分析计量), 2014, 23(1): 57-60.
- [14] WU Y, HE Y, HE W, et al. Application of quantitative ¹H NMR for the calibration of protoberberine alkaloid reference standards[J]. J Pharm Biomed Anal, 2014(90): 92-97.
- [15] ASTM E928-08, Standard Test Method for Purity by Differential Scanning Calorimetry[S]. 2008.
- [16] WU R, LIU Z X, HUANG H W, et al. Discussion on the applicable regularity of DSC purity for chemical reference substances[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2020, 40(8): 1494-1502.

收稿日期: 2020-11-30

(本文责编: 曹粤锋)