

顶空气相色谱法检测原料药氯沙坦钾中的残留溶剂

陈盼盼¹, 刘璇¹, 王丹华², 王宏亮¹ (1. 临海市食品药品检验检测中心, 浙江 台州 317000; 2. 台州职业技术学院, 浙江 台州 318000)

摘要: 目的 建立顶空气相色谱法测定氯沙坦钾原料药有机残留溶剂的方法。方法 选用 Agilent 7890 气相色谱仪, 配备 7697 顶空进样器, DB-624 毛细管色谱柱作为分析柱, FID 检测器, 外标法测定; 并对分析方法建立进行研究。结果 甲醇、异丙醇、乙酸乙酯、环己烷、甲苯分别在 0.122~90.2, 0.28~151.3, 0.03~61.4, 0.22~76.4, 0.035~26.8 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 线性关系良好 ($r>0.999$); 各组分检测限分别为 0.037, 0.090, 0.009, 0.070, 0.012 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 各组分平均回收率为 90.0%~110.0%。**结论** 该方法简单、可靠、准确, 可用于原料药氯沙坦钾有机残留溶剂的测定。

关键字: 气相色谱法; 顶空; 原料药; 氯沙坦钾; 残留溶剂

中图分类号: R917

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2017)07-1015-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.07.018

引用本文: 陈盼盼, 刘璇, 王丹华, 等. 顶空气相色谱法检测原料药氯沙坦钾中的残留溶剂[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(7): 1015-1017.

Determination of Residual Solvents in Losartan Potassium by Head Space Gas Chromatography

CHEN Panpan¹, LIU Xuan¹, WANG Danhua², WANG Hongliang¹ (1. The Inspection Testing Center of Food and Drug in Linhai, Taizhou 317000, China; 2. Taizhou Vocational & Technical College, Taizhou 318000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a head space gas chromatography method for determination of residual solvents in active pharmaceutical ingredients of losartan potassium. **METHODS** Agilent 7890 gas chromatography with 7697 head space sampling and FID detector was selected. And DB-624 capillary column was used as analytical column. External standard method was used to determine the content. The analytical method was also explored. **RESULTS** A good linear correlation of methanol, isopropanol, ethyl acetate, cyclohexane and toluene were showed at the range of 0.122~90.2, 0.28~151.3, 0.03~61.4, 0.22~76.4 and 0.035~26.8 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ with $r>0.999$, respectively. Detection limit of each components was 0.037, 0.090, 0.009, 0.070, 0.012 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively; Recovery range was 90.0%~110.0%. **CONCLUSION** The method is simple, reliable and accurate, can be used for determination of preservatives and sweeteners in oral liquid preparation.

KEY WORDS: gas chromatography; head space; active pharmaceutical ingredients; losartan potassium; residual solvents

氯沙坦钾(losartan potassium, ARBs)由美国默克公司开发, 为常用的抗高血压药之一, 是第一个非肽类血管紧张素 II (Ang II)受体拮抗剂, 可选择性地拮抗 AT1 受体, 对其他受体系统基本无影响^[1-3]。ARBs 与血管紧张素转换酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitor, ACEI)相比, ARBs 对肾素-血管紧张素系统(rein-angiotensin system, RAS)的抑制作用更全面, 与 ACEI 合用可使疗效协同增强。同时 ARBs 可阻滞产生于全身循环或局部组织的 Ang II 的有害作用^[4-9]。ARBs 是一种作用持续稳定、耐受性良好、安全的治疗轻、中度原发性高血压的药物。其在合成中引入了甲醇、环己烷、甲苯、异丙醇等溶剂。残留溶剂, 又称有机挥发性杂质, 既无防治作用, 又可能对人体的健康造成一定的危害。根据 ICH 指导原则要求, 应对 ARBs 生产或纯化中使用的溶剂进行检

测。但 ARBs 中有机溶剂残留量的测定尚未见文献报道。本实验首次建立毛细管气相色谱法配以顶空进样, 对 ARBs 原料药中有机溶剂残留量分析进行了系统性的研究与确认, 为 ARBs 的质量控制提供参考数据。

1 仪器与试剂

Agilent 7890 气相色谱仪, Agilent 7697 顶空进样器, Agilent DB-624 毛细管色谱柱(30 m×0.53 mm, 3 μm)(Agilent 公司); XS205DH 电子天平(梅特勒-托利多公司)。

甲醇、异丙醇、乙酸乙酯、环己烷、甲苯(国药集团化学试剂有限公司, 批号分别为 20161127, 20150608, 20141216, 20150819, 20160521, 含量均为 99.9%); DMSO(分析纯, 美国默克公司, 批号: 20160548); 纯化水(密理博制水器自制)。

作者简介: 陈盼盼, 女, 硕士生, 工程师 Tel: (0576)85179986

E-mail: 442044271@qq.com

2 方法与结果

2.1 色谱条件

进样口温度: 150 °C; 检测器温度: 250 °C; 柱温: 50 °C; 分流比: 1:1; 载气: 氮气; 载气压: 45 kPa; 顶空瓶温度: 85 °C; LOOP 管温度: 105 °C; TR LINE 温度: 105 °C; 顶空瓶保温时间: 40 min; 循环时间: 30 min; 加压时间: 0.50 min; 进样体积: 1 mL。

2.2 溶液配制

2.2.1 空白溶液 移取 5.0 mL 纯化水于 20 mL 顶空瓶中, 密封得空白溶液。

2.2.2 对照品储备溶液 准确称取 60 mg 甲醇、100 mg 乙酸乙酯、40 mg 环己烷、50 mg 异丙醇、17.8 mg 甲苯, 置于 100 mL 量瓶中, 先加入 5 mL DMSO 使溶解, 再用纯化水稀释至刻度, 摇匀, 备用(甲醇: $600 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 乙酸乙酯: $1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 环己烷: $400 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 异丙醇 $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 甲苯: $178 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

2.2.3 对照品溶液 准确量取 10.0 mL 对照品储备溶液, 置于 100 mL 量瓶中, 用纯化水稀释至刻度, 摇匀, 备用(甲醇: $60 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 乙酸乙酯: $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 环己烷: $40 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 异丙醇 $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 甲苯: $17.8 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

2.2.4 供试品溶液 精密称取 0.1 g 供试品, 置于 20 mL 顶空瓶中, 加 5 mL 纯化水使溶解, 密封, 振摇即得供试品溶液。

2.3 系统适用性试验考察

按“2.2”项下的方法制备对照品溶液和供试品溶液, 按“2.1”项下的色谱条件分别进样分析, 色谱图见图 1。结果色谱图中各被测物色谱峰相互间的分离度均符合要求, 其分离度分别为 9.85, 11.85, 2.76, 24.40。

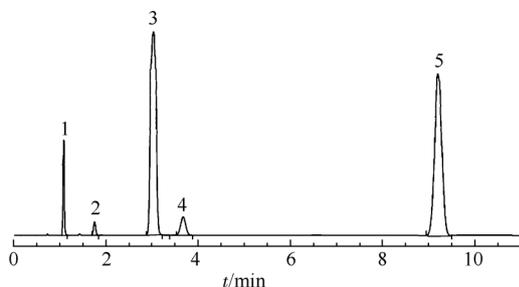


图 1 标样色谱图

1-甲醇; 2-异丙醇; 3-乙酸乙酯; 4-环己烷; 5-甲苯。

Fig. 1 The chromatogram of standard sample

1-methanol; 2-isopropanol; 3-ethyl acetate; 4-cyclohexane; 5-toluene.

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.2”项下对照品储备溶液 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0, 15.0 mL, 分别置于 100 mL 量瓶中, 加纯化水稀释至刻度, 摇匀, 即制成相当于对照品溶液的 20%, 60%, 80%, 100%, 120%, 150% 的线性系列测试溶液, 另以各被测物的定量限浓度溶液作为各溶剂线性测试的最低点, 按“2.1”项下色谱条件分别进样测定。以线性测试溶液的浓度为横坐标, 被测物峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 回归方程见表 1。

表 1 线性回归方程及相关系数

Tab. 1 Linear regression equation and correlation coefficient

组分	回归方程	相关系数 r	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
甲醇	$Y=1.0931X+1.8541$	0.9999	0.122~90.2
异丙醇	$Y=0.9162X+1.0704$	0.9992	0.28~151.3
乙酸乙酯	$Y=1.6543X+0.6432$	0.9999	0.03~61.4
环己烷	$Y=1.0985X-0.2443$	0.9993	0.22~76.4
甲苯	$Y=0.9855X-0.0587$	0.9999	0.035~26.8

2.5 仪器精密度考察

精密量取“2.2.3”项下混合对照品溶液 5 份, 各 5.0 mL, 置顶空瓶中, 作为精密度试验用测试溶液, 按“2.1”项下色谱条件分别进样测定。以各被测溶剂峰面积对仪器精密度进行考察。测得甲醇、异丙醇、乙酸乙酯、环己烷、乙酸乙酯的 RSD 分别为 1.9%, 2.3%, 3.1%, 3.3%, 1.0%。

2.6 重复性试验

按“2.2.3”项下方法配制对照品溶液 5 份, 按“2.1”项下色谱条件设置顶空和气相色谱仪参数, 待仪器稳定后, 分别进样 1 次, 测定峰面积, 结果测得甲醇、异丙醇、乙酸乙酯、环己烷和甲苯的 RSD 分别为 2.1%, 3.2%, 1.8%, 3.3% 和 1.4%。

2.7 稳定性考察

精密称取 0.1 g 供试品, 加入“2.2.3”项下对照品溶液 5 mL 使溶解, 密封, 摇匀, 同法配制 6 份。分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 取上述 6 份溶液按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱峰面积。结果甲醇、异丙醇、乙酸乙酯、环己烷和甲苯的 RSD 分别为 2.1%, 2.2%, 1.2%, 3.6% 和 1.9%。

2.8 回收率考察

以“2.4”项下的 80%, 100%, 120% 线性测试溶液分别作为回收率测试的低、中、高 3 个浓度的对照品溶液。精密称取已知溶剂含量的 ARBs 供试品 9 份, 其中 3 份精密加入 80% 对照品溶液 5 mL, 3 份精密加入 100% 对照品溶液 5 mL, 另 3

份精密加入 120%对照品溶液 5 mL, 振摇使样品完全溶解, 摇匀, 按“2.1”项下色谱条件分别进样测定。计算各溶剂的回收率, 结果甲醇、异丙醇、乙酸乙酯、环己烷和甲苯的平均回收率分别为 96.7%, 94.7%, 97.9%, 96.7%和 97.5%, RSD 分别为 2.1%, 3.8%, 1.9%, 3.5%和 1.2%。

2.9 检测限和定量限考察

取对照品溶液, 逐级稀释, 分别进样, 以信噪比为 3 左右计算检测限, 以信噪比为 10 左右计算定量限。结果甲醇、异丙醇、乙酸乙酯、环己烷和甲苯的检测限分别为 0.037, 0.090, 0.009, 0.070, 0.012 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 相当于样品的检测限分别为 1.8×10^{-6} , 4.5×10^{-6} , 0.45×10^{-6} , 3.5×10^{-6} , 0.60×10^{-6} $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; 甲醇、异丙醇、乙酸乙酯、环己烷和甲苯定量限分别为 0.12, 0.28, 0.03, 0.22, 0.035 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 相当于样品定量限分别为 6.1×10^{-6} , 14×10^{-6} , 1.5×10^{-6} , 11×10^{-6} , 1.7×10^{-6} $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

2.10 样品测定

分别精密称取 3 批样品各 0.1 g, 按“2.2.4”项下方法制备, 按“2.1”项下色谱条件进行检测, 结果见表 2。

表 2 样品检测结果

ARBs 批号	甲醇	异丙醇	乙酸乙酯	环己烷	甲苯
M20161224	未检出	16.51×10^{-6}	未检出	未检出	未检出
M20161225	未检出	11.86×10^{-6}	未检出	未检出	未检出
M20161226	未检出	10.65×10^{-6}	未检出	未检出	未检出

3 讨论

3.1 溶剂选择

ARBs 是一种含有碱金属的药物, 经查询化合物溶解性表, 钾盐均溶于水, 并且在选定的色谱条件下, 各溶剂残留均能达到良好的分离且无干扰样品的测定, 故选用纯化水为溶剂。

3.2 顶空条件的选择

3.2.1 顶空保温温度的选择 顶空装置中的保温温度与饱和蒸气压有关。温度越高, 饱和蒸气压越高, 顶空气体的浓度越高, 检测灵敏度就越高。因此可以通过提高温度来提高灵敏度。本实验使用的溶剂为水, 沸点为 100 $^{\circ}\text{C}$, 继续升高温度, 会导致水蒸气膨胀, 压力升高, 引起顶空瓶的爆裂和仪器气密性等问题, 影响测定, 故本实验选择 85 $^{\circ}\text{C}$ 作为保温温度。

3.2.2 顶空保温时间的选择 保温时间取决于被

测组分分子从样品溶液到蒸气的扩散速度。保温温度不同, 保温所需的时间也不同。本实验以保温温度为 85 $^{\circ}\text{C}$, 对各溶剂在平衡时间为 5, 10, 20, 30, 40, 60 min 时的色谱峰面积进行了实验。实验证明当保温时间 > 40 min 时, 其色谱峰面积基本不再增加, 证明在 40 min 时, 各待测组分气液两相已经平衡, 且无杂质峰干扰, 故本实验选择 40 min 作为顶空保温时间。

本实验建立气相色谱仪配备顶空进样器, 测定 ARBs 原料药中的有机残留溶剂甲醇、异丙醇、乙酸乙酯、环己烷、甲苯。并对方法的系统适用性、精密度、线性关系、检出限与定量限、回收率等进行了考察, 根据中国药典 2015 年版四部通则 0861 要求, 甲醇、异丙醇、乙酸乙酯、环己烷、甲苯限量分别不得过 0.3%, 0.5%, 0.5%, 0.388%, 0.089%^[10]。上述结果表明, 这 3 批 ARBs 中的 5 种溶剂残留符合我国药典中的相关限度标准, 证明本方法能够满足药典中相应残留溶剂的限量标准要求, 可以为 ARBs 残留溶剂的药典标准制定提供依据, 并为 ARBs 产品残留溶剂检测项目提供技术参考。

REFERENCES

- [1] SUBRAMANIAN N H, MANIGANDAN P, JEEVAN R G. Ion chromatographic determination of residual phase transfer catalyst in active pharmaceutical ingredient [J]. *J Chromatogr Sci*, 2009, 47(7): 540-544.
- [2] 李明. 氯沙坦钾的合成工艺研究[D]. 黑龙江: 佳木斯大学, 2009.
- [3] 林静, 梁坤. 抗高血压药物概述[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2007, 15(4): 320-324.
- [4] LARSEN R D, KING A O, CHEN C Y, et al. Efficient synthesis of losartan, a nonpeptide angiotensin II receptor antagonist [J]. *J Org Chem*, 1994, 59(21): 6391-6394.
- [5] CHEN F J, LI Y, LI J W, et al. Determination of the contents of drugs and related substances in losartan potassium-hydrochlorothiazide dispersible tablets by HPLC [J]. *J Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报)*, 2009, 26(6): 461-465.
- [6] CHEN P P, WANG H L. Determination of residual tetrabutyl ammonium bromide in losartan potassium by ion chromatography [J]. *China Pharm(中国药事)*, 2016, 30(7): 670-674.
- [7] ZOU X H, WANG S H, HU G X, et al. Rapid determination of Losartan and its metabolite by UPLC-MS/MS [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2014, 31(6): 727-731.
- [8] SONG M W, XIN Z H. Assay and test for related substances of Losartan potassium by HPLC [J]. *West China J Pharm Sci(华西药理学杂志)*, 2005, 20(5): 431-433.
- [9] LIN S, PAN P P, HU G X. Effect of glipizide and glibenclamide on the pharmacokinetics of losartan [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2017, 34(1): 85-88.
- [10] 中国药典. 四部[S]. 2015: 通则 105-109.

收稿日期: 2017-01-06

(本文责编: 李艳芳)