

量的 LC-MS 检测方法,该方法专属性强、准确度高、专属性好、耐用性强,为其他药物中樟脑磺酸酯类的含量测定提供参考。

### 参 考 文 献

- 1 徐国强,黄欲雁.阿司匹林联合硫酸氢氯吡格雷口服治疗脑梗塞的临床分析[J].中西医结合心血管病电子杂志,2020,8(14):57-58
- 2 李梦洁,陈莉莉,刘伟,等.氮杂环类抗凝血药的有关物质分析方法研究进展[J].药学与临床研究,2017,25(6):505-510
- 3 杨熠,何小云,赵专友,等.硫酸氯吡格雷的药理作用研究[J].中国新药杂志,2000,9(10):712-714
- 4 黄韵.硫酸氢氯吡格雷联合阿司匹林治疗脑梗死效果观察[J].临床合理用药,2020,13(5):23-24
- 5 郭海波,郭旭光,查岭.HPLC法测定硫酸氢氯吡格雷中有关物质含量[J].广州化工,2013,41(13):151-153

- 6 陈子明,杜玉民,鲍春和,等.氯吡格雷合成路线图解[J].中国医药工业杂志,2002,33(4):206-208
- 7 储刚,刘守志,林辉. I 晶型硫酸氢氯吡格雷的合成[J].中国新药杂志,2013,22(5):590-592
- 8 钱建钦,张云峰,王建,等. UHPLC-MS 法测定 2 种硫酸氢氯吡格雷晶型中的基因毒性杂质对甲苯磺酸甲酯[J].药物分析杂志,2017,37(11):1994-1999
- 9 张静雯,伍蔚萍. HPLC 法测定硫酸氢氯吡格雷中的左旋樟脑磺酸杂质的含量[J].北方药学,2016,13(7):12-13
- 10 李海霞,白培锋,刘娜,等.卡非佐米中基因毒性杂质和马琳乙酸的 LC-MS/MS 法测定[J].中国医药工业杂志,2016,47(11):1308
- 11 Raman N, Reddy KR, Prasad A, et al. Development and validation of GC-MS method for the determination of methyl and ethyl camphorsulfonates in esomeprazole magnesium [J]. Chromatographia, 2008, 68(78): 675-678

(2021-04-06 收稿 2021-09-17 修回)

## 离子色谱法测定富马酸比索洛尔原料中的异丙胺

张蕾 刘峰 程智 谢华 (四川省药品检验研究院/国家药品监督管理局药物制剂体内外相关性技术研究重点实验室 成都 611731)

**摘要** 目的:采用离子色谱法测定富马酸比索洛尔原料中的异丙胺。方法:采用 IonPac<sup>®</sup> CS17 型阳离子色谱柱(250 mm×4 mm),以 5 mmol·L<sup>-1</sup> 甲基磺酸溶液为淋洗液 A,60 mmol·L<sup>-1</sup> 甲烷磺酸溶液为淋洗液 B,梯度洗脱,流速为 1.0 ml·min<sup>-1</sup>,采用抑制电导检测器进行测定。结果:异丙胺浓度在 0.099~123.750 μg·ml<sup>-1</sup>(*r*=0.999 8)内线性关系良好。平均回收率为 99.64%(*RSD*=0.66%,*n*=9)。不同国产原料中异丙胺的含量约为 0.001%。结论:该方法准确、简便、快速,适用于富马酸比索洛尔原料中异丙胺的测定。

**关键词** 离子色谱法;富马酸比索洛尔;异丙胺

中图分类号:R927.1 文献标识码:A 文章编号:1008-049X(2021)12-2271-03

DOI:10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2021.12.027

### Determination of Isopropylamine in Bisoprolol Fumarate by Ion Chromatography

Zhang Lei, Liu Feng, Cheng Zhi, Xie Hua (Sichuan Institute for Drug Control, National Medical Products Administration Key Laboratory of Drug Preparation *in vitro* and *in vivo* Correlation Technology, Chengdu 611731, China)

**ABSTRACT Objective:** To establish an ion chromatography method for the determination of isopropylamine in bisoprolol fumarate. **Methods:** An IonPac<sup>®</sup> CS17 (250 mm×4 mm) column was adopted. The mobile phase A consisted of 5 mmol·L<sup>-1</sup> methanesulfonic acid, and the mobile phase B consisted of 60 mmol·L<sup>-1</sup> methanesulfonic acid with gradient elution. The flow rate was 1.0 ml·min<sup>-1</sup>. The detection was performed in a conductivity detection mode. **Results:** The linear correlation coefficient of isopropylamine was 0.999 8 within the range of 0.099-123.750 μg·ml<sup>-1</sup>. The mean recovery of isopropylamine was 99.64% (*RSD*=0.66%,*n*=9). The contents of isopropylamine in bisoprolol fumarate from different enterprises were about 0.001%. **Conclusion:** The method is accurate, simple and quick for the determination of isopropylamine in bisoprolol fumarate.

**KEY WORDS** Ion chromatography; Bisoprolol fumarate; Isopropylamine

富马酸比索洛尔(bisoprolol fumarate)是一种具有高选择性的长效 β 受体阻断药,化学名称为(±)1-[4-[[2-(1-甲基乙氧基)乙氧基]甲基]-苯氧基]-3-[(1-甲基乙基)胺基]-2-丙醇富马酸盐,临床用于治疗高血压、心绞痛、心律不齐等疾病。该品种由德

国 Merck 公司于 1978 年研究开发,此后在包括中国在内的全球二十几个国家和地区上市销售。

目前文献报道的富马酸比索洛尔合成方法主要是以对羟基苯甲醇为起始原料,分别依次与异丙氧基乙醇、环氧氯丙烷、异丙胺反应,再与富马酸成盐四步

合成目标产物。另据文献报道,还有以4-异丙氧基乙氧基甲酚、4-甲基苯酚、4-羟基苯甲醛等为起始物的不同合成路径<sup>[1]</sup>。以上合成路线中均引入了异丙胺,文献报道异丙胺经口摄取和黏膜吸收有中等毒性,半数致死量(大鼠,经口)为 $820 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ <sup>[2,3]</sup>,控制富马酸比索洛尔中异丙胺的含量能体现原料合成工艺的优劣,且能有效保证制剂的安全性。

## 1 仪器与试药

ICS6000 离子色谱仪(美国 Dionex 公司);XA205DU 十万分之一电子天平(梅特勒-托利多);异丙胺(成都市科隆化学品有限公司,批号:2020042301,含量99.0%);富马酸比索洛尔原料药(市售,批号:160901、181202、190601);富马酸比索洛尔原料药(德国 Merck KGaA,批号:9351059、9351061);氯化钠、氯化铵、氯化钾均为分析纯,水为超纯水;甲基磺酸为色谱纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

采用阳离子交换色谱柱 RFICTM IonPac<sup>®</sup> CG17 (50 mm×4 mm)、CS17(250 mm×4 mm),淋洗液 A 为 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  甲基磺酸溶液,淋洗液 B 为 $60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  甲基磺酸溶液,按表 1 梯度洗脱程序洗脱,流速 $1.0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ ,柱温 $30^\circ\text{C}$ ,进样体积 $25 \mu\text{l}$ ;检测器为电导检测器(带抑制器 CERS 500,4 mm),抑制器电流 $176 \text{ mA}$ 。

表 1 梯度洗脱程序

时间(min)	淋洗液 A(%)	淋洗液 B(%)
0~10	100	0
10~10.1	100~0	0~100
10.1~20	0	100
20~20.1	0~100	100~0
20.1~35	100	0

### 2.2 溶液的制备

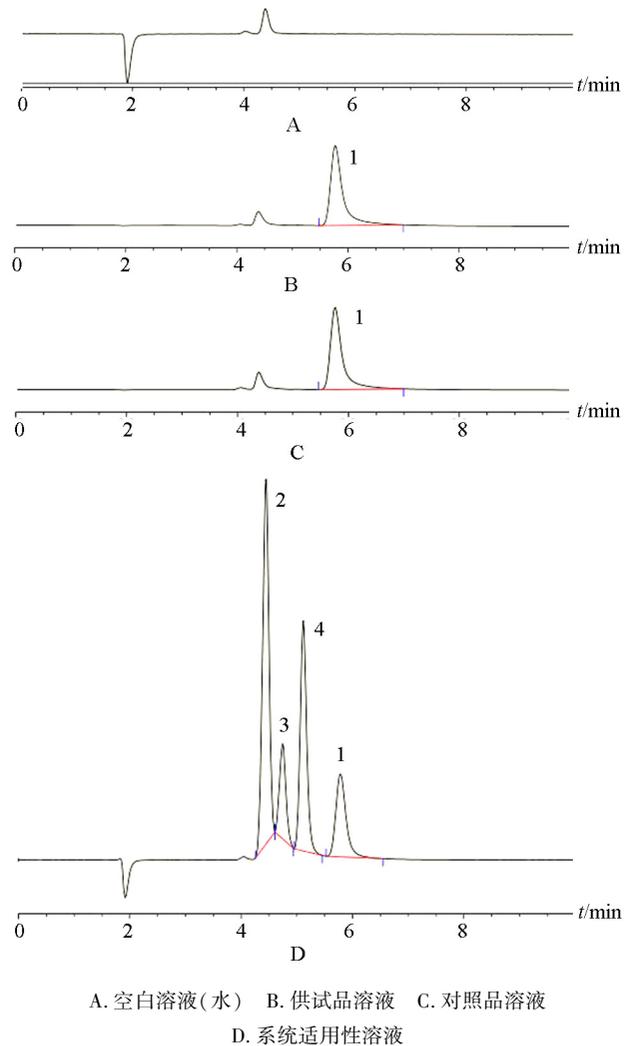
2.2.1 系统适用性溶液 取氯化钠、氯化铵、氯化钾和异丙胺各适量,加水制成 $100 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的贮备液,精密取上述 4 种贮备液各 1 ml,置 10 ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得含钠离子、氨离子、钾离子、异丙胺离子各 $10 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的系统适用性溶液。

2.2.2 对照品溶液 取异丙胺约 0.1 g,加水制成 $1.2375 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的对照品贮备液,精密取 1 ml,置 100 ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得 $12.38 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液 取供试品约 0.1 g,置 10 ml 量瓶中,加水充分振摇使溶解并稀释至刻度,摇匀,即得含富马酸比索洛尔 $10 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的供试品溶液。

### 2.3 专属性考察

取水作为空白溶液、“2.2”项下供试品溶液、对照品溶液和系统适用性溶液 $25 \mu\text{l}$ ,注入离子色谱仪,记录色谱图。结果空白溶液无干扰,对照品及供试品溶液中无其他杂质峰干扰,异丙胺离子峰的理论板数大于 3 000,钠离子、氨离子、钾离子、异丙胺离子依次洗脱,异丙胺离子与相邻钾离子峰之间的分离度大于 1.5,见图 1。



A. 空白溶液(水) B. 供试品溶液 C. 对照品溶液  
D. 系统适用性溶液  
1. 钠离子 2. 氨离子 3. 钾离子 4. 异丙胺离子

图 1 离子色谱图

### 2.4 线性关系与定量限的考察

分别精密量取“2.2.2”项下对照品贮备液 $0.008, 0.1, 0.5, 1, 2, 5, 10 \text{ ml}$ ,置 100 ml 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,作为线性系列标准溶液。精密量取上述线性系列标准溶液各 $25 \mu\text{l}$ ,注入离子色谱仪,记录色谱图。以异丙胺离子峰面积( $Y$ )对其浓度( $X, \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ )进行线性回归,得线性方程为 $Y = 0.076 5X + 0.093 1$ ( $r = 0.999 8$ ),线性范围为 $0.099 \sim 123.750 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。以信噪比( $S/N$ )为 $10:1$ 计,定量限为 $0.099 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ (线性系列溶液的起点)。

## 2.5 精密度、稳定性的考察

精密量取 25  $\mu\text{l}$  对照品溶液,连续进样分析 6 次,记录色谱图,计算得异丙胺离子峰面积的  $RSD$  为 0.51% ( $n=6$ ),说明方法的进样精密度良好。精密量取同一份对照品溶液,分别于 0, 1, 2, 10, 20 h 进样,记录色谱图,计算得异丙胺离子峰面积的  $RSD$  为 0.84% ( $n=5$ ),说明对照品溶液在 20 h 内基本稳定,能满足检测需求。

## 2.6 回收率试验

参考中国药典 2020 年版二部富马酸比索洛尔残留溶剂项<sup>[4]</sup>,异丙胺的限度为 0.1%,由供试品溶液浓度计算得限度浓度为 10  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ,以此作为回收 100% 浓度水平设计试验。称取富马酸比索洛尔原料(批号:9351061)约 0.1 g,置 10 ml 量瓶中,分别精密加入“2.2.2”项下对照品贮备液 0.08, 0.1, 0.12 ml,加水溶解并稀释至刻度,摇匀作为回收率试验 80%, 100%, 120% 的供试品溶液,每个水平测定 3 份。结果平均回收率为 99.64%,  $RSD = 0.66\%$  ( $n=9$ ),本法准确度良好。

## 2.7 重复性考察

照“2.6”项下方法制备 6 份 100% 浓度水平的供试品溶液,按“2.1”方法进样分析 6 次,测定异丙胺含量,计算平均含量为 12.34  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ,  $RSD$  为 0.38% ( $n=6$ ),结果表明方法的重复性良好。

## 2.8 耐用性试验

取“2.6”项下 100% 浓度水平的供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件,分别保持原条件(1.0 ml  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ )及改变流速(1.1、0.9 ml  $\cdot$  min<sup>-1</sup>),改变温度(柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ ),进样测定,计算得样品中异丙胺的平均含量为 12.30  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ,  $RSD = 0.15\%$  ( $n=4$ ),表明方法的耐用性良好。

## 2.9 样品的测定

取 3 批市售国产富马酸比索洛尔原料药,2 批进口富马酸比索洛尔原料药,按“2.1”项下色谱条件依法分别进样记录色谱图,按外标法以峰面积计算样品中异丙胺的含量,结果见表 2。

表 2 各企业富马酸比索洛尔原料药中异丙胺测定结果 ( $n=2$ )

企业	批号	异丙胺含量 (%)
国产 A	160901	0.001
国产 B	181202	0.001
国产 C	190601	0.001
进口	9351059	未检出
进口	9351061	未检出

## 3 讨论

### 3.1 不同测定方法的比较

参照中国药典 2020 年版二部富马酸比索洛尔品种残留溶剂项<sup>[4]</sup>,以气相色谱法直接进样检测。取市售国产富马酸比索洛尔原料药制成 0.1 g  $\cdot$  ml<sup>-1</sup> 的供试品溶液,同法制备 0.1 mg  $\cdot$  ml<sup>-1</sup> 的异丙胺对照品溶液,进样检测。结果对照品溶液浓度较高,异丙胺峰拖尾严重,供试品溶液色谱图中异丙胺峰极小,无法准确定量。另取富马酸比索洛尔原料药 0.1 g,精密加入 1 ml 异丙胺对照品溶液,摇匀使溶解制成限度浓度水平 100% 的加样回收供试品溶液,同法测定,以外标法计算加样回收率为 55.4%。以上结果表明,现行标准方法无法准确检测富马酸比索洛尔原料中的异丙胺,所建立的离子色谱法准确、简便、可靠。

### 3.2 离子色谱条件的优化

方法建立之初,参考文献,考虑以单一淋洗液等度洗脱的方式,先后尝试 20, 8, 5 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 甲基磺酸溶液为淋洗液等度洗脱<sup>[5,6]</sup>。结果显示,系统适用性溶液色谱图中,异丙胺离子与相邻离子峰均能有效分离,但进样分析达到一定次数后,异丙胺离子的保留均发生漂移,其原因可能是富马酸比索洛尔在色谱柱上未能洗脱,从而影响系统的稳定性。尝试以 5 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 甲基磺酸溶液为淋洗液 A, 60 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 甲基磺酸溶液为淋洗液 B,梯度洗脱,较好解决了这个问题,最终建立适用的方法。

### 3.3 样品测定结果的评估

由表 2 可见,市售几批次的国产富马酸比索洛尔原料中均有异丙胺的检出,结果约为 0.001%,进口原料则未检出,提示该方法对企业成品或中间品的质量控制具有重要的指导意义,可作为法定标准在异丙胺检测方面的有效补充。

## 参 考 文 献

- 马志佳.富马酸比索洛尔的合成工艺研究[D].济南:济南大学硕士学位论文,2016
- 赵静.工作场所空气中异丙胺测定方法研究[D].北京:首都经济贸易大学硕士学位论文,2013
- 唐庆红.异丙胺[J].农药译丛,1996,18(6):58-59
- 中国药典[S].2020年版.二部.1703-1704
- 顾爱国,包素萍,王莉,等.离子色谱法鉴别检测草甘膦盐类除草剂[J].江苏农业科学,2015,43(10):374-376
- 孙剑英,汪列敏,谭头云,等.离子色谱法测定草甘膦异丙胺盐水中的异丙胺根[J].农药,2013,52(5):349-350

(2021-05-12 收稿 2021-07-30 修回)