

# GC 柱前衍生化法测定盐酸二甲双胍和 0.5% 硬脂酸镁中硬脂酸镁的含量

戴学东<sup>1</sup>, 董莉<sup>2</sup> (1. 大连市食品检验所, 116630 大连; 2. 大连市药品检验所, 116021 大连)

**摘要 目的:** 建立柱前衍生化气相色谱法测定盐酸二甲双胍+0.5%硬脂酸镁中硬脂酸镁的含量。**方法:** 以 12%三氟化硼甲醇溶液作为衍生化试剂, 在 50 °C 水浴振荡器中加热 15 min 的反应条件, 采用不饱和脂肪酸甲酯化方法, 使其生成棕榈酸甲酯和硬脂酸甲酯, 以菲作为内标, 用 TG-WAXMS 石英毛细管柱 (聚乙二醇-20M 为固定液), 起始温度为 190 °C, 以 4 °C · min<sup>-1</sup> 的升温速率升温至 220 °C, 维持 15 min, 进样口温度 250 °C, FID 为检测器, 检测器温度 250 °C。**结果:** 硬脂酸镁浓度在 0.125 ~ 1.00 mg · mL<sup>-1</sup> 与峰面积呈良好的线性关系, 平均回收率为 100.01%, RSD 为 0.45%。**结论:** 本方法灵敏、准确、可靠, 可用于对原料药中加入的极少量硬脂酸镁进行质量控制。

**关键词:** GC; 柱前衍生化; 盐酸二甲双胍; 硬脂酸镁; 含量测定

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2017)05-0555-05

doi:10.16153/j.1002-7777.2017.05.016

## Determination of the Content of Magnesium in Metformin Hydrochloride and 0.5% Magnesium Stearate by Pre-column Derivatization GC Method

Dai Xuedong<sup>1</sup>, Dong Li<sup>2</sup> (1. Institute for Food Control of Dalian City, Dalian 116630, China; 2. Institute for Drug Control of Dalian City, Dalian 116021, China)

**Abstract Objective:** To establish a pre-column derivatization GC method for the determination of content of magnesium in metformin hydrochloride and 0.5% magnesium stearate. **Methods:** Unsaturated fatty acid methylester method was used to generate methyl palmitic acid and stearic acid methylester with 12% boron trifluoride methanol solution as derivative reagent, and heated to 50 °C with water bath shake for 15 minutes. Phenanthrene was used as internal standard. The determination was conducted by TG-WAXMS silica capillary column mixed with polyethylene glycol-20M as stationary liquid. The initial temperature was 190 °C; and then it was raised to 220 °C at the rate of 4 °C · min<sup>-1</sup> and maintained for 15 minutes. Both the inlet and FID detector temperature were 250 °C. **Results:** The magnesium stearate showed a good liner relationship with the peak area in the range of 0.125-1.00 mg · mL<sup>-1</sup>. The average recovery was 100.01%, RSD was 0.45%. **Conclusion:** The method is sensitive, accurate, reliable and suitable for quality control of tiny amounts of magnesium stearate in active ingredients.

**Keywords:** GC; pre-column derivatization; metformin hydrochloride; magnesium stearate; content determination

硬脂酸镁, 分子式为 $C_{36}H_{70}MgO_4$ 。它是目前用得最多的一种抗结剂, 有润滑性强, 抗粘性好, 质量轻, 比容大, 且与颗粒混合后分布均匀, 附着力好而不易分开等优点<sup>[1]</sup>。主要用作润滑剂、抗粘剂、助流剂<sup>[2-3]</sup>。硬脂酸镁特别适宜油类、浸膏类药物的制粒, 制成的颗粒具有很好的流动性和可压性。据美国食品和药品管理局(FDA)报道, 硬脂酸镁是目前制药行业应用最为广泛的一种润滑剂<sup>[4-6]</sup>。本品是将0.5%硬脂酸镁加在盐酸二甲双胍原料药中, 如何检验并严格控制硬脂酸镁的量, 成为此类制剂(预混物)的难点。盐酸二甲双胍是应用最为广泛的有效治疗II型糖尿病的口服双胍类药物, 临床应用已超过数十年时间<sup>[7]</sup>, 它可以有效降低血糖及血脂<sup>[8-9]</sup>。除此之外, 研究表明它还具有抗动脉粥样硬化<sup>[10-11]</sup>和减少II型糖尿病患者发生肿瘤<sup>[11-12]</sup>等作用。近年来, 柱前衍生化法已被证明了其在成分测定中的有效性<sup>[13-15]</sup>, 是常用的检测方法之一。参考相关资料<sup>[16-20]</sup>, 本研究建立了GC柱前衍生化法测定硬脂酸镁的含量, 为严格控制此类制剂中硬脂酸镁的量提供了依据。

## 1 仪器与试剂

岛津GC-2010 plus气相色谱仪, FID为检测器, SPBq全自动空气源。盐酸二甲双胍+0.5%硬脂酸镁(批号: C17751、C17747、C17748D)、硬脂酸镁对照品(批号: C315614, 含量100.0%)、盐酸二甲双胍对照品(批号: 17252, 含量100.0%), 均由法国MERCK SANTE CALAIS提供; 菲为内标物(批号: #J1421070, 由阿拉丁中国公司提供), 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

## 2 衍生化条件及色谱条件

### 2.1 衍生化条件

衍生化试剂: 12%三氟化硼甲醇溶液; 反应温度: 50℃, 反应时间: 15 min。

### 2.2 色谱条件

色谱柱: TG-WAXMS石英毛细管柱(30 m × 0.53 mm), 聚乙二醇-20M为固定液, FID为检测器, SPB-3全自动空气源, 进样口温度250℃, 检测器温度250℃, 起始温度190℃, 以4℃·min<sup>-1</sup>的速率升温至220℃, 维持15 min, 载气为氮气,

进样体积1 μL。

## 3 含量测定方法

### 3.1 内标溶液的制备

取菲适量, 用正庚烷溶剂稀释制成每1 mL含1 mg的溶液。

### 3.2 供试品溶液的制备

取本品2 g, 精密称定, 置50 mL的具塞锥形瓶中, 加12%三氟化硼甲醇溶液15 mL, 在50℃水浴振荡器加热15 min, 放冷, 精密加入正庚烷10 mL, 密塞, 强力振摇10 min, 静置分层, 取上层液作为供试品储备液。

### 3.3 对照品溶液的制备

取盐酸二甲双胍对照品2 g和硬脂酸镁对照品10 mg, 精密称定, 置同一50 mL的具塞锥形瓶中, 按“3.2”节方法操作, 制备对照品储备液。

### 3.4 样品的测定

精密量取对照品储备液和供试品储备液各5 mL, 分别置10 mL量瓶中, 精密加入内标溶液2 mL, 用正庚烷稀释至刻度, 分别作为对照品溶液和供试品溶液。精密量取上述溶液各1 μL, 注入气相色谱仪, 记录色谱图(见图1), 计算棕榈酸甲酯和硬脂酸甲酯峰面积之和, 按内标法以峰面积计算, 即可测得硬脂酸镁的含量。

### 3.5 线性关系考察

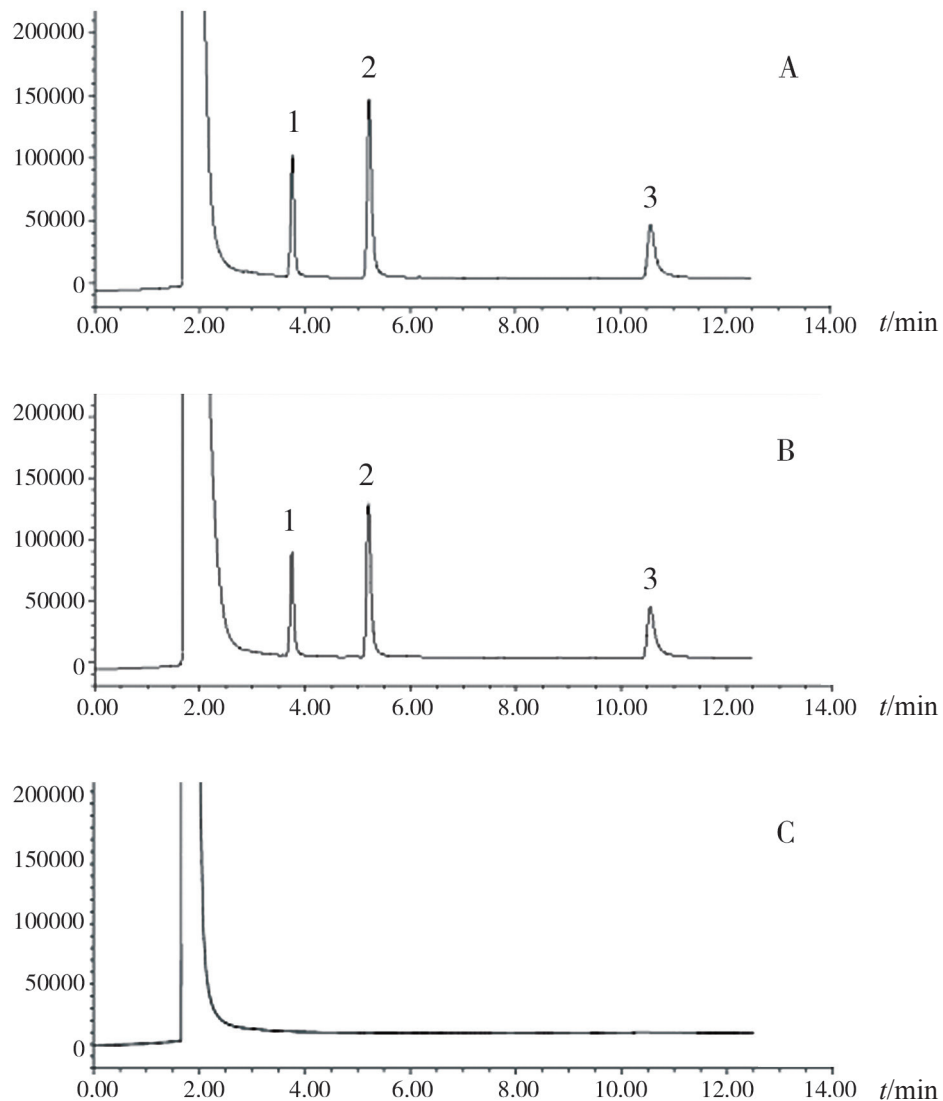
取盐酸二甲双胍对照品0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 g, 分别加入硬脂酸镁对照品2.5、5、10、15、20 mg, 精密称定, 分别置50 mL具塞锥形瓶中, 按“3.2”节方法操作, 制备对照品系列溶液。按上述色谱条件, 采用内标法, 以硬脂酸镁浓度为横坐标, 棕榈酸甲酯和硬脂酸甲酯峰面积之和与内标峰面积之比为纵坐标, 绘制标准曲线, 求得线性回归方程:

$$Y=0.3152X-0.03056 \quad r=0.9996$$

硬脂酸镁浓度在0.125~1.00mg·mL<sup>-1</sup>与峰面积呈良好的线性关系。

### 3.6 精密度试验

以同一供试品溶液连续重复进样5次, 记录色谱图, 以棕榈酸甲酯和硬脂酸甲酯峰面积之和与内标峰面积之比计算, 其RSD为1.0%。



A. 对照品; B. 供试品; C. 空白溶剂; 1. 棕榈酸甲酯; 2. 硬脂酸甲酯; 3. 内标。

图1 GC 色谱图

### 3.7 稳定性试验

取同一供试品溶液,按上述色谱条件,于配制后每隔4 h进样测定,共测定6次,结果表明:供试品溶液在24 h内稳定,棕榈酸甲酯和硬脂酸甲酯峰面积之和与内标峰面积之比的RSD为1.3%。

### 3.8 定量限和检出限

采用“3.5”节中对照品系列溶液逐级稀释,

按上述色谱条件,进样分析,按信噪比为3确定最低检测限(LOD)为 $15 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,按信噪比为10确定最低定量限(LOQ)为 $45 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

### 3.9 回收率试验

采用“3.5”节中溶液作为供试品溶液,按上述色谱条件测定,计算回收率,平均回收率为100.01%,RSD为0.45% ( $n=5$ ),结果见表1。

表1 回收率试验结果

盐酸二甲双胍 投入量 /g	硬脂酸镁 投入量 /mg	硬脂酸镁 回收量 /mg	硬脂酸镁 回收率 /%	硬脂酸镁 平均回收率 /%	硬脂酸镁 RSD/%
0.2007	2.40	2.41	100.42		
1.0422	5.59	5.55	99.28		
2.0047	10.11	10.12	100.10	100.01	0.45
1.4831	15.07	15.12	100.33		
1.5974	20.35	20.33	99.90		

## 4 讨论

### 4.1 反应原理及效果

硬脂酸镁是硬脂酸经皂化后，加硫酸镁溶液进行复分解反应，所得沉淀经离心干燥所得。系以硬脂酸镁（ $C_{36}H_{70}MgO_4$ ）与棕榈酸镁（ $C_{32}H_{62}MgO_4$ ）为主要成分的混合物。50℃水浴振荡器中加热15 min，与12%三氟化硼甲醇溶液在一定条件下反应，采用不饱和酸甲酯化方法使其生成棕榈酸甲酯和硬脂酸甲酯，从而降低了沸点，用非作内标，计算棕榈酸甲酯和硬脂酸甲酯峰面积之和，达到检测并计算硬脂酸镁含量的目的。在该色谱条件下，棕榈酸甲酯峰和硬脂酸甲酯峰及内标峰的分离度达到10以上，理论板数不低于15000，效果满意。

### 4.2 衍生化反应条件的优化

参考有关资料，选用不同温度（40℃、50℃、60℃）和回流时间（10 min、15 min、20 min、30 min）及不同浓度的衍生化试剂进行多次试验，最终确定50℃水浴振荡器中加热15 min，甲酯化反应比较完全。由于该预混物中99.5%是盐酸二甲双胍，所以，在试验中分别做了阴性对照及阳性对照，结果表明：在大量的盐酸二甲双胍存在情况下，不影响脂肪酸衍生化反应；用三氟化硼作为衍生化试剂，其甲酯化反应较为快捷，且试验稳定性及精密度良好；衍生化产物棕榈酸甲酯和硬脂酸甲酯选择正庚烷提取，峰面积均比较稳定。

### 参考文献：

[1] 邱颖姮. 硬脂酸中棕榈酸和硬脂酸的GC法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2010, (8): 599-600, 614.

- [2] 刘芳, 张亦红, 陈凤春, 等. 气相色谱法测定硬脂酸镁中硬脂酸和棕榈酸的含量[J]. 解放军预防医学杂志, 2015, (1): 33-34.
- [3] 姚崇林, 牡丹, 佟威. 食品中硬脂酸镁气相色谱法测定[J]. 中国公共卫生, 2006, (2): 244.
- [4] 王涛. 硬脂酸镁在直接压片工艺中产生的软化效应[J]. 药学实践杂志, 2014, (1): 19-22.
- [5] 郭仁庭, 覃忠富, 傅长明, 等. 硬脂酸镁的性质、应用及市场前景综述[J]. 企业科技与发展, 2011, (7): 15-17.
- [6] 伍善根. 压片工艺中润滑剂技术的研究和进步[C]//中国制药装备行业协会. 第41届(2011年春季)全国制药机械博览会论文集, 2011: 10.
- [7] Witters L A. The Blooming of the French Lilac[J]. Journal of Clinical Investigation, 2001, 108(8): 1105-1107.
- [8] Shaw R J, Lamia K A, Vasquez D, et al. The Kinase LKB1 Mediates Glucose Homeostasis in Liver and Therapeutic Effects of Metformin[J]. Science, 2005, 310(5754): 1642-1646.
- [9] 杨婧, 齐宪荣. 盐酸二甲双胍缓释片释放度及体内体外相关性研究[J]. 中国药理学杂志, 2011, (22): 1727-1730.
- [10] Giacchi M, Vatti R. Inhibitory Effect of Metformin on the Development of Cholesterol Atherosclerosis in the Rabbit: Observations on the Coronary Vessels[J]. Bollettino Della Società Italiana Di Biologia Sperimentale, 1981, 57(5): 552-555.
- [11] 陆祖谦. 双胍类降糖药物对2型糖尿病治疗价值的重新认识[J]. 临床药物治疗杂志, 2010, (4): 33-38.
- [12] Landman G W, Kleefstra N, van Hateren K J, et al.

- Metformin Associated With Lower Cancer Mortality in Type 2 Diabetes: ZODIAC-16[J]. Diabetes Care, 2010, 33 (2): 322.
- [13] 冯超, 张友谊, 徐雪, 等. 柱前衍生化RP-HPLC法测定盐酸二甲双胍原料中有关物质二甲胺[J]. 中国新药杂志, 2015, (10): 1191-1196.
- [14] 杨斯超, 张慧, 汪俊涵, 等. 柱前衍生化-气相色谱-质谱法定量测定食品中丙烯酰胺的含量[J]. 色谱, 2011, (5): 404-408.
- [15] 谭亮, 杨洋, 张琦, 等. 柱前衍生化GC法测定旱芹非淀粉多糖中各单糖组分含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2011, (1): 40-46.
- [16] BP [S]. 2006: 1858.
- [17] USP 30 [S]. 2007: 2194.
- [18] 中国药典: 四部[S]. 2015:586.
- [19] 陈锋, 张宝砚, 毕诗文, 等. 溶剂浮选-气相色谱法测定铝酸钠溶液中的硬脂酸钠[J]. 分析化学, 2006, (2): 213-215.
- [20] 张玫, 袁耀佐, 范青峰, 等. HPLC柱前衍生化法测定硫酸依替米星的含量[J]. 药学进展, 2004, (7): 314-317.

(收稿日期 2016年11月14日 编辑 王雅雯)