

离子色谱 – 直接电导法检测 盐酸二甲双胍药物中二甲胺的残留

李慧敏, 牛东攀, 陈晓光

(1. 长春工业大学人文信息学院, 长春 130122)

摘要 目的: 建立离子色谱 – 直接电导法测定盐酸二甲双胍药物中二甲胺残留的方法。方法: 盐酸二甲双胍药物用水溶解后直接进样, 采用 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲磺酸水溶液为淋洗液, 以 Dionex Ionpac CS12A ($4 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$) 色谱柱进行分离, 流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, CERS 500–4 mm 阳离子抑制器和电导检测器抑制并直接检测, 抑制电流 60 mA, 柱温 30°C , 进样体积 $25 \mu\text{L}$ 。结果: 二甲胺在 $0.1 \sim 10.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好 ($r=0.9994$), 方法的检测限为 $0.0328 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($S/N=3$), 方法的定量下限为 $0.12 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($S/N=10$), 平均回收率为 $97.6\% \sim 99.5\%$, RSD 均不超过 3% 。结论: 该方法操作简单、灵敏度高、重现性好, 可用于盐酸二甲双胍药物中二甲胺残留的检测。

关键词: 离子色谱; 直接电导法; 盐酸二甲双胍; 二甲胺; 甲磺酸; 抑制器; 电导检测器

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2017) 11-2043-05

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.11.19

Determination of dimethylamine residues in metformin hydrochloride substances by ion chromatography

LI Hui-min, NIU Dong-pan, CHEN Xiao-guang

(College of Humanities & Information, Changchun University of Technology, Changchun 130122, China)

Abstract Objective: To establish an ion chromatography method for the determination of dimethylamine residues in metformin hydrochloride substances. **Method:** After dissolved by water, the sample solution was loaded onto the instrument. The determination was performed on a Dionex Ionpac CS12A ($4 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$) column. The eluent was $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ methanesulfonic acid solution at a flow rate of $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Dimethylamine was detected by suppressed conductivity with a CERS 500–4 mm suppressor at a current of 60 mA, the column temperature was 30°C and the injection volume was $25 \mu\text{L}$. **Results:** The calibration curves showed good linearity in the range of $0.1 \sim 10.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9994$); the limit of detection (LOD) of the method was $0.0328 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($S/N=3$) and the limit of quantification (LOQ) of the method was $0.12 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($S/N=10$). The recovery of dimethylamine ranged from 97.6% to 99.5% with RSD not more than 3% . **Conclusion:** The method has the advantages of simple operation, high sensitivity, good reproducibility, and can be used for the detection of dimethylamine in metformin hydrochloride substances.

第一作者 Tel: 13843030568; E-mail: yishilfx@163.com

Keywords: ion chromatography; direct conductance; metformin hydrochloride; dimethylamine; methanesulfonic acid; suppressor; conductivity detector

盐酸二甲双胍化学名为 1,1-二甲基双胍盐酸盐,主要是以双胍胺和盐酸二甲胺反应合成所得^[1](合成路线见图 1),其可促进糖的无氧酵解和外周组织对葡萄糖的摄取及利用,进而保护已受损的胰岛功 β 细胞,使其免受进一步的损害,更有利于糖尿病的长期控制^[2-3]。盐酸二甲双胍的副作用非常小,可单独使用,也可与磺脲类或胰岛素合用,现已成为目前治疗非胰岛素依赖型糖尿病的首选药物^[4]。

二甲胺主要用作乙酰化催化剂,也可用作制药物、染料、杀虫剂和橡胶硫化促进剂的原料;但二甲胺的刺激作用较为强烈,长期接触液态二甲胺可引起皮肤坏死,不慎入眼后可引起角膜损伤、混浊等^[5],而盐酸二甲双胍在合成过程中主要以二甲胺盐酸盐为原料,因此必须严格控制二甲胺的残留量。目前国内检测二甲胺的方法主要有气相色谱^[6,7]、液相色谱法^[8,9]和离子色谱法^[10],但气相色谱法对色谱柱的损害较大,限制了其广泛使用;液相色谱法需先进行柱前衍生,操作较为复杂;而离子色谱在检测阳离子时具有灵敏度高、重复性好、方便快捷等优势,现已广泛运用于生命科学、食品检测、环境监测、医学、药学等领域^[11-18]。也有学者^[19]报道了离子色谱法测定甲磺酸伊马替尼中二甲胺的方法,但对于盐酸二甲双胍中二甲胺残留检测方法的报道却较少。

本文建立了离子色谱法直接测定盐酸二甲双胍药物中二甲胺盐酸盐残留的方法,该方法操作简单,灵敏度高、回收率好,能够对低浓度的二甲胺残留进行定量分析,填补了国内对盐酸二甲双胍药物中二甲胺残留检测研究的空白,利于对盐酸二甲双胍合成反应过程中二甲胺盐酸盐的残留进行有效监测。

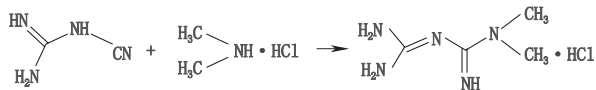


图 1 盐酸二甲双胍药物合成路线图

Fig. 1 Graphical synthetic routes of metformin hydrochloride

1 仪器与试剂

1.1 仪器

ICS-2100 离子色谱仪(美国赛默飞公司):配有 CERS-500 4 mm 阳离子抑制器和电导检测器;精

密分析天平(德国梅特勒 BT25S);超纯水仪(美国 Millipore 公司, Milli-Q);0.22 μm 水系滤膜(天津津腾)。

1.2 试剂与试药

二甲胺盐酸盐(阿拉丁公司,纯度 $\geq 99\%$);甲磺酸(阿拉丁公司,纯度 $\geq 99.5\%$);实验用水为 Milli-Q 超纯水(电阻率为 18.2 $\text{M}\Omega$);盐酸二甲双胍药品(自制)。阳离子交换色谱柱(型号: Ionpac CS12A,规格: 4 mm $\times$ 250 mm;戴安)

2 方法

2.1 对照品溶液的配制

准确称取二甲胺盐酸盐 16.56 mg(相当于二甲胺 10 mg)于 10 mL 量瓶中,加少量超纯水溶解,定容至刻度后配制成 1.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的标准储备液,4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。上机前利用超纯水配制成不同浓度的标准工作液,作为二甲胺的对照品溶液。

2.2 供试品溶液的配制

准确称取盐酸二甲双胍 10 mg 于 10 mL 玻璃容量瓶内,加超纯水溶解并定容至刻度。取二甲胺盐酸盐、盐酸二甲双胍适量,按供试品溶液配制方法配制成每 1 mL 含二甲胺 4 μg 、盐酸二甲双胍 1 mg 的溶液作为系统适用性溶液。所有溶液均需过 0.22 μm 水系滤膜后进色谱分析。

2.3 色谱条件

采用戴安 Ionpac CS12A(4 mm $\times$ 250 mm)阳离子交换柱作为色谱柱,以 20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲磺酸溶液作为流动相,流速为 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ 。检测方式为抑制电导检测, CERS 500-4 mm 型阳离子抑制器,抑制电流为 60 mA,电导池温度为 35 $^{\circ}\text{C}$;进样体积为 25 μL 。

3 结果与讨论

3.1 色谱条件的优化

为到达最好的分离效果,本文分别尝试了不同淋洗液浓度和不同流速作为色谱条件,考察了二甲胺峰与其他离子峰的分离度情况,发现以 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 流速、20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 淋洗液浓度作为色谱条件时,二甲胺与钠离子和钾离子的分离度最好。(不同流速和不同淋洗液浓度的色谱条件筛选结果见表 1)。

表 1 不同流速和不同淋洗液浓度的色谱条件筛选结果

Tab. 1 The select result of different flow rate and different eluent concentration

流速 (flow rate) / (mL · min ⁻¹)	淋洗液浓度 (eluent concentration) / (mmol · L ⁻¹)	与 Na ⁺ 分离度 (resol EP with Na ⁺)	与 K ⁺ 分离度 (resol EP with Na ⁺)
0.8	15	/ 重叠 (overlap)	2.05
	20	2.46	/ 重叠 (overlap)
	30	1.76	/ 重叠 (overlap)
1.0	15	/ 重叠 (overlap)	2.74
	20	3.42	2.82
	30	2.23	1.85
1.2	15	/ 重叠 (overlap)	2.42
	20	1.67	1.82
	30	2.35	/ 重叠 (overlap)

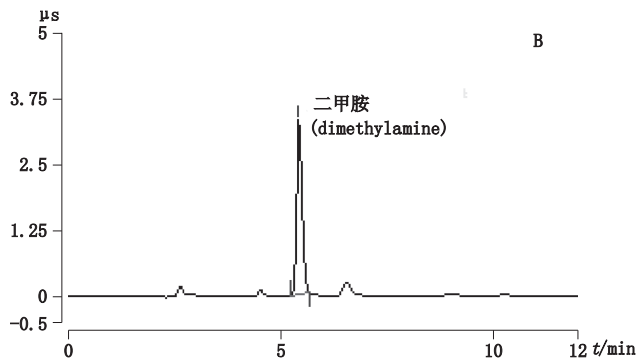
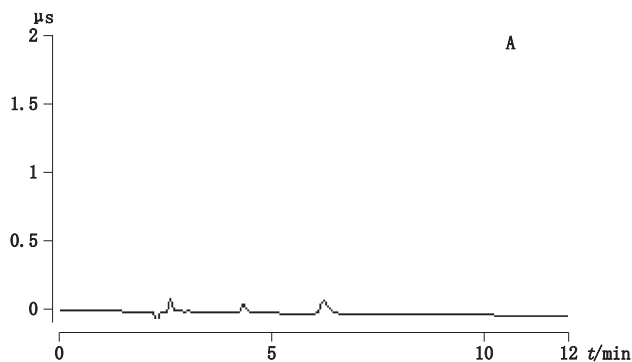


图 2 空白 (A) 及二甲胺对照品溶液 (B) 色谱图

Fig. 2 Chromatograms of blank (A) and dimethylamine (B)

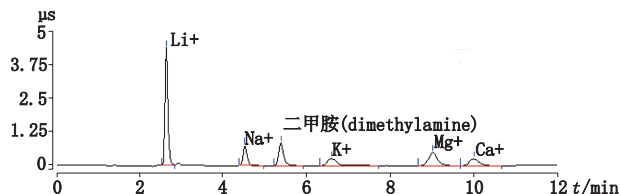


图 3 方法专属性

Fig. 3 Methods special properties

3.6 线性关系

分别配制 $0.10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $5.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $10.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度的二甲胺对照品溶液,照“2.3”项下的色谱方法注入

3.2 系统适用性试验

分别取空白水、二甲胺对照品溶液和系统适用性溶液,照“2.3”项下的色谱方法注入离子色谱仪,记录色谱图,发现二甲胺的峰型较好,出峰时间在 5.4 min 左右 (见图 2)。

3.3 专属性试验

考虑其他阳离子可能会影响二甲胺的出峰,将 Li^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 标准溶液与二甲胺混合后照“2.2”项下的色谱方法注入离子色谱仪,记录色谱图,发现二甲胺与其他离子峰的分度良好 (见图 3)。

3.4 检测限和定量限

精密称取二甲胺盐酸盐适量,加超纯水稀释并定容,逐步稀释,分别进样至信噪比 $S/N=3$ 时为检测限,信噪比 $S/N=10$ 时为定量限,方法检测限和定量限分别为 $0.0328 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.120 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

3.5 精密度试验

取二甲胺对照品溶液,照“2.3”项下的色谱方法注入离子色谱仪并记录色谱图,连续进样 6 次后计算峰面积的相对标准偏差 RSD 为 0.17%,见表 2:

离子色谱仪,记录色谱图,以峰面积对浓度作曲线,计算回归程与回归系数。线性回归方程为:

$$Y=0.825X-0.0361 \quad r=0.9994$$

二甲胺在 $0.1 \sim 10.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好。

3.7 回收率试验

采用不含二甲胺的盐酸二甲双胍药品为空白基质,分别添加 50%、100%、150% 限度浓度的二甲胺对照品溶液做回收率试验。结果发现,回收率良好,平均回收率为 97.6%~99.5%,结果见表 3。

表 3 回收率试验

Tab. 3 Recovery experiment

添加限度 (spiked limit) / %	添加量 (spiked) / μg	检出量 (measured) / (μg)	回收率 (recoveries) / %	RSD / %
50	32.71	32.42	99.1	0.33
	32.71	32.39	99.0	
	32.71	32.22	98.5	
100	60.89	59.40	97.6	0.19
	60.89	59.62	97.9	
	60.89	59.52	97.8	
150	89.48	88.43	98.8	0.37
	89.48	88.99	99.5	
	89.48	89.01	99.5	

3.8 应用

将所建方法应用于检测合成的盐酸二甲双胍小试、中试和工艺验证 3 个阶段共 9 批样品中, 检出 1 批含有二甲胺残留, 但不超过限量要求, 其他样品均未超过检出限。

4 结论

本文建立了离子色谱-直接电导法测定盐酸二甲双胍药物中二甲胺残留的方法, 并对方法的专属性、线性、定量限、回收率、重复性等进行了考察, 该方法的灵敏度高、分离度好, 回收率、重复性及定量限均能满足要求, 是检验盐酸二甲双胍药物中二甲胺残留的有效方法。本文将所建方法应用于盐酸二甲双胍合成药品中残留二甲胺的检测过程, 共检出 1 批含有二甲胺残留, 说明此方法能有效、准确的测定盐酸二甲双胍药物中二甲胺的残留, 利于指导和监督项目的研发过程。

参考文献

- [1] 倪生良, 鲍美叶, 胡晓斌. 盐酸二甲双胍合成工艺改进[J]. 内蒙古石油化工, 2005, 31(2): 12
NI SL, BAO MY, HU XB. Improvement of synthetic process of metformin hydrochloride[J]. Inner Mongolia Petrochem Ind, 2005, 31(2): 12
- [2] 王丽娟, 刘军英, 刘惠涛. 反相离子对 HPLC 法同时测定盐酸二甲双胍中双胍胺和三聚氰胺的含量[J]. 烟台大学学报: 自然科学与工程版, 2014, 27(4): 298
WANG LJ, LIU JY, LIU HT. Determination of cyanoguanidine and melamine in metformin hydrochloride by RP Ion-Pair HPLC[J]. J Yantai Univ: Nat Sci Eng, 2014, 27(4): 298
- [3] 赵灵芝, 赵柳, 苗延青, 等. 盐酸二甲双胍在不同电极上的电化学行为及其分析应用[J]. 分析实验室, 2015, 34(6): 654

- ZHAO LZ, ZHAO L, MIAO YQ, *et al.* Electrochemical behaviors of metformin hydrochloride at different electrodes and the application in bioanalysis[J]. Chin J Anal Lab, 2015, 34(6): 654
- [4] 张竞, 王雪芹. 盐酸二甲双胍缓释片中双胍胺及有关物质的测定[J]. 中国药房, 2015, 26(12): 1716
ZHANG J, WANG XQ. Determination of dicyandiamide and related substances in etformin hydrochloride sustained-release tablets[J]. China Pharm, 2015, 26(12): 1716
- [5] 白岚, 孙国云. 强致癌物质——N-亚硝基类化合物[J]. 农业与技术, 2002, 22(4): 98
BAI L, SUN GY. Strong carcinogenic N-nitroso compounds[J]. Agr Technol, 2002, 22(4): 98
- [6] 毛莹. 空气中微量甲胺类化合物的毛细管气相色谱法的测定[J]. 化工生产与技术, 2015, 22(6): 50
MAO Y. Determination of trace methyl amine compounds by capillary gas chromatography in the air[J]. Chem Prod Technol, 2015, 22(6): 50
- [7] 杨磊, 陈忠林, 沈吉敏, 等. 对水中痕量二甲胺传统检测方法的改进[J]. 中国给水排水, 2010, 26(8): 93
YANG L, CHEN ZL, SHEN JM, *et al.* The improvement of the traditional detection methods of trace two methylamine[J]. China Water Wastewater, 2010, 26(8): 93
- [8] 罗海英, 陈亚精, 林静佳, 等. 高效液相色谱法测定工作场所空气中的二甲胺[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(12): 1691
LUO HY, CHEN YJ, LIN JJ, *et al.* Determination of dimethylamine in the air of workplaces by high performance liquid chromatography[J]. Chin J Health Lab Technol, 2014, 24(12): 1691
- [9] 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, 24(10): 1191
FENG C, ZHANG YY, XU X, *et al.* Determination of N-methylmethanamine in metformin hydrochloride bulk drug using precolumn derivatization and RP-HPLC[J]. Chin J New Drugs, 2015, 24(10): 1191

- [10] 王博, 张雪冰, 梅宝贵. 草甘膦钠盐和二甲胺盐的离子色谱分析方法[J]. 农药, 2016, 55(2): 108
WANG B, ZHANG XB, MEI BG. Determination of sodium ion and dimethylamine salt ion in Glyphosate-sodium and Glyphosate-dimethylamine aqueous solution by ion chromatography [J]. Pesticides, 2016, 55(2): 108
- [11] 杨蕾, 侯英, 王保兴, 等. 梯度淋洗-离子色谱法对烟草及烟草制品中7种无机阴离子的快速测定[J]. 分析测试学报, 2010, 29(2): 164
YANG L, HOU Y, WANG BX, *et al.* Determination of seven inorganic anions in tobacco and tobacco products using gradient elution/ion chromatography [J]. J Instrum Anal, 2010, 29(2): 164
- [12] 张水峰, 林珍珍, 陈小珍, 等. 基于离子色谱-电导检测的全脂奶粉中硫氰酸盐污染物的测定及前处理方法研究[J]. 分析测试学报, 2012, 31(1): 85
ZHANG SF, LIN ZZ, CHEN XZ, *et al.* Pretreatment and determination of thiocyanate pollutant in whole milk powder by ion chromatography/conductivity detection [J]. J Instrum Anal, 2012, 31(1): 85
- [13] 曾雪灵, 叶明立, 陈永欣, 等. 加速溶剂萃取-离子色谱法测定肉制品中的硝酸根及亚硝酸根[J]. 分析测试学报, 2006, 25(3): 92
ZENG XL, YE ML, CHEN YX, *et al.* Accelerated solvent extraction-ion chromatography with conductivity detection for the extraction and determination of nitrate and nitrite in meat [J]. J Instrum Anal, 2006, 25(3): 92
- [14] 周传静, 宋玉平, 李玉双, 等. 离子色谱法测定盐酸托烷司琼中的三氟乙酸[J]. 药学研究, 2014, 33(11): 635
ZHOU CJ, SONG YP, LI YS, *et al.* Determination of trifluoroacetic acid in tropisetron hydrochloride by ion chromatography [J]. J Pharm Res, 2014, 33(11): 635
- [15] 冯顺卿, 李咏华, 李晓燕, 等. 离子色谱法测定酒石酸长春瑞滨中三氟乙酸残留[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(2): 289
FENG SQ, LI YH, LI XY, *et al.* Ion chromatography determination of free ammonium salt in glutathione and other drugs containing amide [J]. Chin J Pharm Anal, 2013, 33(2): 289
- [16] 李继, 李霞, 罗晶, 等. 离子色谱法测定托吡酯原药中氨基磺酸盐和硫酸盐[J]. 中国医药工业杂志, 2015, 46(2): 197
LI J, LI X, LUO J, *et al.* Determination of residual sulfamate and sulphate in topiramate by ion chromatography [J]. Chin J Pharm, 2015, 46(2): 197
- [17] 周长朋, 王东武, 郑文凤, 等. 离子色谱-直接电导法测定利格列汀药物中三氟乙酸残留[J]. 分析测试学报, 2015, 34(12): 1425
ZHOU CP, WANG DW, ZHENG WF, *et al.* Determination of trifluoroacetic acid (TFA) residues in linagliptin drugs by ion chromatography with direct conductance [J]. J Instrum Anal, 2015, 34(12): 1425
- [18] 闻宏亮, 赵敬丹, 秦峰, 等. 离子色谱法测定注射用氯唑西林钠中醋酸根离子含量[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(7): 1268
WENG HL, ZHAO JD, QIN F, *et al.* Determination of acetate ion in cloxacillin sodium for injection by ion chromatography [J]. Chin J Pharm Anal, 2016, 36(7): 1268
- [19] 嵇海澄, 李孝壁, 李琴, 等. 离子色谱法测定甲磺酸伊马替尼中残留的二甲胺[J]. 中国医药科学, 2015, 5(3): 57
JI HC, LI XB, LI Q, *et al.* Determination of dimethylamine in imatinib mesylate by ion chromatography [J]. China Med Pharm, 2015, 5(3): 57

(本文于2016年12月2日收到)