

# GC 测定氧氟沙星和诺氟沙星中 N-甲基哌嗪和哌嗪的残留量

李俊, 王英瑛(浙江省台州市食品药品检验所, 浙江 台州 318000)

**摘要:** 目的 建立气相色谱法测定氧氟沙星和诺氟沙星中 N-甲基哌嗪和哌嗪的残留量的方法。方法 采用 Agilent HP CAM 毛细管色谱柱(30.0 m×0.25 mm, 0.25 μm); 进样口温度为 230 °C; FID 检测器温度为 280 °C; 柱温: 程序升温, 70 °C 保持 3 min, 然后以 40 °C·min<sup>-1</sup> 的速率升温至 180 °C, 保持 2 min; 以氮气为载气, 流速为 2.0 mL·min<sup>-1</sup>; 直接进样, 进样量为 0.2 μL; 以水为溶解介质, 以吡啶为内标, 测定了氧氟沙星和诺氟沙星中 N-甲基哌嗪和哌嗪的残留量。结果 N-甲基哌嗪、哌嗪与内标均能良好分离, 线性范围分别为 10.09~201.88 μg·mL<sup>-1</sup>(*r*=0.999 6), 10.08~201.60 μg·mL<sup>-1</sup>(*r*=0.999 5)。结论 该方法重复性良好, 回收率符合规定, 适用于氧氟沙星和诺氟沙星中 N-甲基哌嗪和哌嗪残留量的测定。

**关键词:** 气相色谱法; N-甲基哌嗪; 哌嗪; 氧氟沙星; 诺氟沙星

中图分类号: R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2013)03-0319-03

## Determination of N-Methyl Piperazine and Piperazine in Ofloxacin and Norfloxacin by GC

LI Jun, WANG Yingying(Zhejiang Taizhou Institute for Food and Drug Control, Taizhou 318000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a method for determination of N-methyl piperazine and piperazine in ofloxacin and norfloxacin. **METHODS** The determination was carried out with Agilent HP CAM capillary column (30.0 m×0.25 mm, 0.25 μm) and FID detector. The inlet temperature was 230 °C and the detector temperature was 280 °C. The column temperature rose by program: the initial temperature was 70 °C, maintained for 3 min, raised to 180 °C with a rate of 40 °C·min<sup>-1</sup>, maintained for 2 min, The carries gas was nitrogen and the flow rate of carries gas was 2.0 mL·min<sup>-1</sup>, the direct injection was used and the injection volume was 0.2 μL. The dissolved medium used was water and the internal standard was pyridine. **RESULTS** N-methyl piperazine and piperazine could be separated from internal standard in chromatogram obtained from system suitability test. The calibration curves were linear in the range of 10.09–201.88 μg·mL<sup>-1</sup>(*r*=0.999 6) for N-methyl piperazine, 10.08–201.60 μg·mL<sup>-1</sup>(*r*=0.999 5) for piperazine. **CONCLUSION** The repeatability and recovery met requirements, it can be applied in determination of N-methyl piperazine and piperazine in ofloxacin and norfloxacin.

**KEY WORDS:** GC; N-methyl piperazine; piperazine; ofloxacin; norfloxacin

哌嗪是重要的医药中间体, 可用于合成驱虫药磷酸哌嗪, 也可用于合成诺氟沙星、环丙沙星、依诺沙星、吡哌酸等喹诺酮类药物; N-甲基哌嗪是哌嗪的衍生物, 在医药领域也主要用于合成第三代喹诺酮类抗菌药物如氧氟沙星、左氧氟沙星、培氟沙星等<sup>[1]</sup>。目前未见国内文献报道药物中 N-甲基哌嗪和哌嗪残留量的检测, 因此为了保障药品质量和用药安全, 对这些药物中 N-甲基哌嗪和哌嗪残留量的检测十分必要。本实验对药物中 N-甲基哌嗪和哌嗪残留量的毛细管气相色谱分析方法进行了研究, 试验结果表明, 该方法专属性好、准确、可靠, 适用于氧氟沙星和诺氟沙星中 N-甲基哌嗪和哌嗪残留量的检测。

### 1 仪器与试剂

配备 FID 检测器的 Agilent 6890N 气相色谱仪

(美国安捷伦公司); BP221S 型电子天平(德国 Sartorius 公司)。氧氟沙星(浙江东亚药业有限公司, 批号: DC-0304H-1007005, DC-0304H-1007006, DC-0304H-1007007); 诺氟沙星(浙江新东港药业股份有限公司, 批号: 201008007, 201008008, 201008009); N-甲基哌嗪(Aladdin Chemistry Co. Ltd., 批号: 24443, 纯度为 98%); 无水哌嗪(上海润捷化学试剂有限公司, 批号: 20100726, 纯度 ≥99.0%); 吡啶为分析纯; 水为纯化水。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent CAM 弹性石英毛细管柱(30.0 m×0.25 mm, 0.25 μm); 进样口温度为 230 °C, 分流进样, 分流比为 10:1; FID 检测器, 检测器温度为 280 °C; 载气为氮气, 流速为 2.0 mL·min<sup>-1</sup>;

柱温：程序升温模式，70℃保持3 min，然后以40℃·min<sup>-1</sup>的速率升温至180℃，保持2 min；直接进样，进样量为0.2 μL。

## 2.2 溶液的制备

**2.2.1 内标溶液的配制** 精密称取吡啶适量，加水溶解并稀释制成每1 mL含0.25 mg的溶液。

**2.2.2 混合对照品储备液的配制** 分别精密称取N-甲基哌嗪、无水哌嗪各适量，加水溶解并稀释制成每1 mL含N-甲基哌嗪、哌嗪各约0.50 mg的溶液。

**2.2.3 混合对照品溶液的配制** 精密量取上述混合对照品储备液2 mL，置10 mL量瓶中，精密加入内标溶液2 mL，加水稀释至刻度，摇匀，即成每1 mL含N-甲基哌嗪、哌嗪各约100 μg的溶液。

**2.2.4 供试品溶液的制备** 精密称取氧氟沙星约0.10 g，置10 mL量瓶中，加入氨试液0.2 mL，再精密加入内标溶液2 mL，振摇样品使完全溶解，加水稀释至刻度，摇匀，即得。精密称取诺氟沙星约0.10 g，置10 mL量瓶中，加入氨试液1 mL，再精密加入内标溶液2 mL，振摇样品使完全溶解，加水稀释至刻度，摇匀，即得。

## 2.3 系统适用性试验

按“2.2”项下的方法制备混合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5.38，20.12，理论板数分别为123 763，230 974，158 125。

## 2.4 仪器精密度试验

精密量取“2.2.3”项下的混合对照品溶液作为仪器精密度测试溶液，依次进样5次，以被测物峰面积与内标物峰面积之比为考察对象，对色谱系统的精密度进行考察。结果测得N-甲基哌嗪与哌嗪的RSD分别为1.8%，2.3%，表明仪器的精密度符合中国药典2010年版对气相色谱法系统适用性的要求。

## 2.5 灵敏度试验

精密量取对照品储备液适量，用水逐步稀释并按“2.1”项下的色谱条件分别进样测定，结果按S/N=3测得N-甲基哌嗪与哌嗪的最低检出浓度分别为0.40，0.73 μg·mL<sup>-1</sup>，相当于检出供试品溶液中的量分别为0.04%，0.07%。

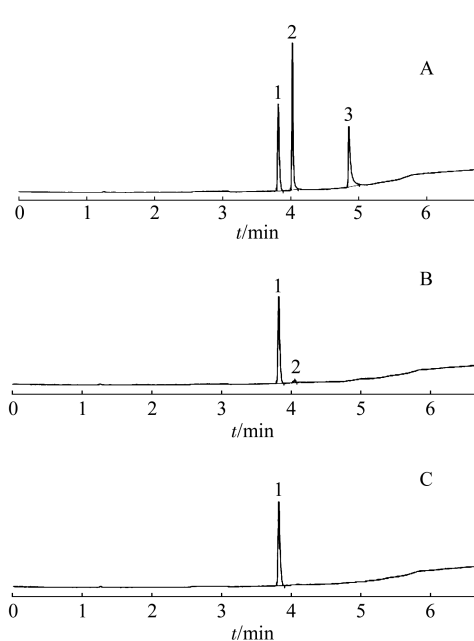


图1 气相色谱图

A—对照品溶液；B—氧氟沙星供试品溶液；C—诺氟沙星供试品溶液；1—吡啶；2—N-甲基哌嗪；3—哌嗪

Fig 1 Gas chromatograms

A—reference substance solution; B—ofloxacin sample solution; C—norfloxacin sample solution; 1—pyridine; 2—N-methyl piperazine; 3—piperazine

## 2.6 线性关系考察

精密量取混合对照品储备溶液0.2，0.4，1.0，2.0，3.0，4.0 mL，分别置10 mL量瓶中，各加内标液2 mL，分别加水稀释至刻度，摇匀，即制成相当于混合对照品溶液的10%，20%，50%，100%，150%，200%的线性系列测试溶液，按“2.1”项下色谱条件分别进样测定。以测试溶液的浓度为横坐标，被测物峰面积与内标峰面积之比为纵坐标，进行线性回归，得到N-甲基哌嗪与哌嗪的回归方程分别为： $Y=0.0144X-0.0523$ ， $r=0.9996$ ； $Y=0.0112X-0.0832$ ， $r=0.9995$ 。表明N-甲基哌嗪在10.09~201.88 μg·mL<sup>-1</sup>内、哌嗪在10.08~201.60 μg·mL<sup>-1</sup>内，峰面积比与浓度呈良好的线性关系。

## 2.7 重复性试验

取氧氟沙星(批号:DC-0304H-1007005)和诺氟沙星(批号:201008007)供试品各一批，分别精密称取6份，各约0.10 g，分置10 mL量瓶中，按“2.2.4”项下方法加入氨溶液适量，再分别加入混合对照品储备液与内标液各2 mL，使样品完全溶解，加水稀释至刻度，摇匀。按“2.1”项下色谱条件进样测定，计算被测物峰面积与内标物峰面积之比的RSD：N-甲基哌嗪为2.9%，哌嗪为

3.8%。

## 2.8 回收率试验

取氧氟沙星(批号:DC-0304H-1007005)和诺氟沙星(批号:201008007)供试品各一批,分别精密称取9份,各0.10 g,置10 mL量瓶中,按“2.2.4”项下方法加入氨溶液适量,精密加入内标液2 mL,再按每个浓度各3份,分别加入线性项下20%线性标准溶液0.4 mL,100%线性标准溶液2.0 mL,200%线性标准溶液4.0 mL,使样品完全溶解,加水稀释至刻度,摇匀。按“2.1”项下色谱条件进样测定,结果测得在氧氟沙星中N-甲基哌嗪和哌嗪的平均回收率分别为97.1%,94.0%,RSD分别为1.2%,2.0%;在诺氟沙星中N-甲基哌嗪和哌嗪的平均回收率分别为88.3%,85.7%,RSD分别为2.6%,4.3%,回收率均符合规定。结果表明,本方法对于N-甲基哌嗪与哌嗪的测定具有较好的准确性。

## 2.9 样品测定

取氧氟沙星(批号:DC-0304H-1007005,DC-0304H-1007006,DC-0304H-1007007)和诺氟沙星(批号:201008007,201008008,201008009)各3批,按“2.2”项下方法制备混合对照品溶液和供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,结果见表1。

表1 样品中N-甲基哌嗪和哌嗪的残留量测定结果(n=2)

Tab 1 The determination results of N-methyl piperazine and piperazine in samples(n=2)

样品名称	批号	N-甲基哌嗪/%	哌嗪/%
氧氟沙星	DC-0304H-1007005	0.07	未检出
	DC-0304H-1007006	0.06	未检出
	DC-0304H-1007007	0.06	未检出
诺氟沙星	201008007	未检出	未检出
	201008008	未检出	未检出
	201008009	未检出	未检出

## 3 讨论

### 3.1 色谱柱的选择

在本方法中,色谱柱的选择至关重要。文献[2]

采用HP-5色谱柱分析水中的N-甲基哌嗪,仅以峰高外标法进行定量,方法的准确性不够理想。笔者分别试用了HP-FFAP、DB-624、HP-5 3种不同的毛细管柱,结果发现N-甲基哌嗪和哌嗪在这3根色谱柱中均严重拖尾,无法得到较好的峰型。而HP CAM色谱柱专门分析胺类化合物,经过试验,N-甲基哌嗪和哌嗪在HP CAM色谱柱上均能得到较好的峰型,故选用HP CAM色谱柱。

### 3.2 溶剂的选择

氧氟沙星和诺氟沙星在水中的溶解度低,而在碱性溶液中易溶,其它溶剂均不能同时溶解氧氟沙星和诺氟沙星。经试验,氧氟沙星和诺氟沙星水溶液均显弱酸性,呈碱性的N-甲基哌嗪与哌嗪均易与酸反应而不易汽化,故在供试品水溶液中加入少量的氨水既增加了样品的溶解性,同时也调节了溶液的酸碱性,使被测物的回收率得到了提高。

### 3.3 测定方法的建立

N-甲基哌嗪与哌嗪的沸点均较高,难于用顶空进样法分析,故选用直接进样法。本方法中进样量为0.2 μL,是因为进样量小,峰的展宽小,能够得到更好的峰型和较高的柱效,同时采用了内标法定量,弥补了进样量小带来的定量准确性的问题,因此能够很好地对药物中N-甲基哌嗪与哌嗪进行定量检测。

氧氟沙星和诺氟沙星均为氟喹诺酮类药物,该方法的建立可作为其它氟喹诺酮类药物中N-甲基哌嗪和哌嗪的检测提供参考。

## REFERENCES

- [1] JIN W G. A Practical Technical Handbook of Pharmaceutical Intermediates Production(医药中间体生产实用技术手册)[M].Beijing: Chemical Industry Press, 2002: 395-396.
- [2] ZHANG X M, CHENG Y, XU C. Determination of N-methyl piperazine in water by direct injection GC- the emergency monitor analytic method [J]. Environmental Monitoring in China(中国环境监测), 2003, 19(4): 50-51.

收稿日期: 2012-05-08