

毛细管气相色谱法测定二氟泼尼酯原料药中5种有机溶剂的残留量^Δ

冯光玲^{1,2*},冯爱国³,丁文娟³,孔祥雨^{1,2},刘宪华^{1,2}(1.山东省医药工业研究所,济南 250101;2.山东省化学药物重点实验室,济南 250101;3.山东临沂动植物园,山东临沂 276037)

中图分类号 R927.2;R977.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)29-2750-02
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.29.22

摘要 目的:建立了测定二氟泼尼酯原料药中甲苯、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯与乙醇残留量的方法。方法:采用毛细管气相色谱法。色谱柱:HP-5毛细管柱;柱温:35℃保持5min,再以50℃/min的速率升温至200℃,保持5min;氢火焰离子化检测器温度:250℃;载气:高纯氮气,流速:30ml/min;进样口温度:200℃,分流比:10:1,顶空进样;以*N,N*-二甲基甲酰胺为溶剂。结果:甲苯、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯与乙醇在检测质量浓度范围内*r*值均≥0.9990,平均回收率分别为95.2%(RSD=1.07%)、96.7%(RSD=1.76%)、94.9%(RSD=1.98%)、96.1%(RSD=1.95%)、96.1%(RSD=1.12%),定量限分别为0.445、0.36、0.116、0.5、0.125ng,检测限分别为0.178、0.06、0.029、0.15、0.04ng。3批样品中只检出乙酸乙酯。结论:建立的方法灵敏、准确,可用于二氟泼尼酯原料药中5种有机溶剂的残留量测定。

关键词 二氟泼尼酯;有机溶剂;毛细管气相色谱;残留量测定

Determination of 5 Kinds of Residual Organic Solvents in Difluprednate Crude Drug by Capillary GC

FENG Guang-ling^{1,2}, FENG Ai-guo³, DING Wen-juan³, KONG Xiang-yu^{1,2}, LIU Xian-hua^{1,2}(1.Shandong Institute of Pharmaceutical Industry, Jinan 250101, China; 2.Shandong Provincial Key Laboratory of Chemical Drug, Jinan 250101, China; 3.Shandong Linyi Botanical Garden, Shandong Linyi 276037, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of residual methylbenzene, dichloromethane, *n*-hexane, acetic ether and alcohol in difluprednate crude drug. METHODS: Capillary gas chromatography method was adopted. The determination condition was as follows: HP-5 capillary column; column temperature of 35℃ at 5 min, increasing to 200℃ at rate of 50℃/min, maintaining for 5 min; flame ionization detector temperature of 250℃; high purity nitrogen as carrier gas; flow rate of 30 ml/min; injector temperature of 200℃; split ratio of 10:1; headspace sampling; *N,N*-dimethylformamide as solvent. RESULTS: The *r* in linear ranges of methylbenzene, dichloromethane, *n*-hexane, acetic ether and alcohol were all ≥0.9990; average recovery were 95.2% (RSD=1.07%), 96.7% (RSD=1.76%), 94.9% (RSD=1.98%), 96.1% (RSD=1.95%) and 96.1% (RSD=1.12%), respectively. The limits of quantitation were 0.445, 0.36, 0.116, 0.5 and 0.125 ng, and detection limits were 0.178, 0.06, 0.029, 0.15 and 0.04 ng. Only the acetic ether was detected in 3 batches of samples. CONCLUSIONS: The established method is sensitive and accurate for the residual determination organic solvents in difluprednate crude drug.

KEY WORDS Difluprednate; Organic solvents; Capillary gas chromatography; Residual determination

二氟泼尼酯(Difluprednate)又名醋酸丁酸二氟强的松龙,是一种泼尼松龙的二氟化衍生物,具有强效抗炎活性。该原料药国内正处于在研状态。其分子式为C₂₇H₃₄F₂O₇,相对分子质量为508.56,结构与其他皮质激素类药物相似,氟化在C-6位和C-9位。该化合物在合成工艺中使用了甲苯、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯和乙醇等有机溶剂(所用溶剂由山东省医药工业研究所合成室依据合成路线提供),为保证用药安全,应对这5种有机溶剂残留量进行控制。由于气相色谱法具有分析速度快、分离效率高、灵敏度高的优点,被广泛用于药物中有机溶剂残留量的测定。为此,笔者建立了以*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)为溶剂(本品极微溶于水),采用毛细管气相色谱

法^[1]测定二氟泼尼酯原料药中5种有机溶剂残留量的方法,结果表明,建立的方法灵敏、准确。

1 材料

6890气相色谱仪、7694E自动顶空进样器(美国Agilent公司)。

二氟泼尼酯原料药(山东省医药工业研究所合成室提供,批号:120602、120604、120606,纯度:99.79%、99.81%、99.83%);甲苯、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、乙醇和DMF均为分析纯,含量均≥99%。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:HP-5毛细管柱(5%苯基-95%甲基聚硅氧烷为固定液);柱温:35℃保持5min,再以50℃/min的速率升温至200℃,保持5min;氢火焰离子化检测器,检测器温度:250℃;载气:高纯氮气,流速:30ml/min;进样口温度:200℃;分流

^Δ 基金项目:山东省科学技术发展计划项目资助(No.2011GSF12106)

* 副主任药师。研究方向:新药研发。电话:0531-81213291。
E-mail:jnfengguangling@163.com.cn

比:10:1。

采用顶空进样法测定,顶空进样条件:加热温度:100℃,加热时间:45 min,进样量:2 ml(顶空气体进样)。

2.2 溶液配制及系统适用性试验

空白溶液:精密量取DMF 2 ml,置于顶空进样瓶中,作为空白溶液。

标准溶液贮备液:称取甲苯约89 mg、二氯甲烷约60 mg、正己烷约29 mg、乙酸乙酯约500 mg、乙醇约500 mg,加入有适量DMF的100 ml量瓶中,充分振摇使溶解,加DMF稀释至刻度,摇匀,作为标准溶液贮备液。

标准溶液:精密量取上述贮备液5 ml,置于50 ml量瓶中,加DMF至刻度,摇匀,精密量取2 ml置于顶空进样瓶中,作为标准溶液。

供试品溶液:精密称取二氟泼尼酯原料药0.2 g,置于顶空进样瓶中,精密加入DMF 2 ml,作为供试品溶液。

取标准溶液进行分析,色谱见图1A。由图1A可见,各溶剂分离良好,空白溶剂无干扰。

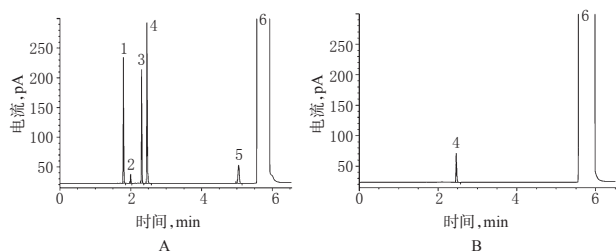


图1 毛细管气相色谱图

A. 标准溶液; B. 供试品溶液; 1. 乙醇; 2. 二氯甲烷; 3. 正己烷; 4. 乙酸乙酯; 5. 甲苯; 6. DMF

Fig 1 Capillary GC chromatograms

A. standard solutions; B. test samples solutions; 1. alcohol; 2. dichloromethane; 3. *n*-hexane; 4. acetic ether; 5. methylbenzene; 6. DMF

2.3 标准曲线的制备

分别精密量取标准溶液贮备液0.50、0.75、1.00、1.25、1.50 ml,置于10 ml量瓶中,加DMF稀释至刻度,摇匀。精密量取上述各溶液2 ml,分别置于顶空进样瓶中,按“2.1”项下色谱条件分别进样。分别以甲苯、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯和乙醇质量浓度(c)为横坐标、峰面积(A)为纵坐标绘制标准曲线,得甲苯: $A=0.896 1c-1.076$ ($r=0.999 5$);二氯甲烷: $A=0.253 2c-0.465 8$ ($r=0.999 5$);正己烷: $A=6.387 5c-6.932 2$ ($r=0.999 9$);乙酸乙酯: $A=0.732 9c-23.4$ ($r=0.999 2$);乙醇: $A=0.451 7c-16.71$ ($r=0.999 0$)。结果表明,甲苯、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、乙醇检测质量浓度线性范围分别为44.53~133.59 $\mu\text{g/ml}$ 、30.03~90.08 $\mu\text{g/ml}$ 、14.51~43.52 $\mu\text{g/ml}$ 、250.1~750.3 mg/ml 、250.4~751.2 mg/ml 。

2.4 精密度试验

取标准溶液适量,按“2.1”项下色谱条件,连续进样6次,记录色谱图,计算RSD。结果甲苯RSD为3.93%、二氯甲烷

RSD为2.37%、正己烷RSD为3.83%、乙酸乙酯RSD为2.89%、乙醇RSD为3.22%。表明精密度符合要求。

2.5 回收率试验

精密称取样品(批号:120602)0.2 g,共10份,其中1份精密加入2 ml DMF,作为空白溶液;分别配制低(80%)、中(100%)、高(120%)3种浓度的对照溶液,精密量取上述不同浓度的对照溶液2 ml,加入盛有样品的顶空进样瓶中。以“2.2”项下的标准溶液作为对照,分别进样。得甲苯、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯和乙醇的低、中、高浓度的回收率分别为94.4%、95.7%、95.9%、95.6%、95.3%、96.7%、95.5%、93.8%、95.6%、96.3%、95.7%、96.8%、95.1%、95.9%、97.4%,平均回收率分别为95.2% (RSD=1.07%)、96.7% (RSD=1.76%)、94.9% (RSD=1.98%)、96.1% (RSD=1.95%)、96.1% (RSD=1.12%),表明本法准确度符合要求。

2.6 定量限、最低检测限试验

将标准溶液逐级稀释,分别精密量取2 ml,置于顶空进样瓶中,分析、记录色谱图,直至信噪比为10:1和3:1,即得定量限和检测限。结果甲苯、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯和乙醇的定量限分别为0.445、0.36、0.116、0.5、0.125 ng,检测限分别为0.178、0.06、0.029、0.15、0.04 ng。

2.7 样品中有机溶剂残留量测定

精密量取标准溶液和供试品溶液适量,分别进样测定,以外标法计算。结果,3批样品的乙酸乙酯残留量平均值分别为0.20%、0.19%和0.19%,均未检出甲苯、二氯甲烷、正己烷和乙醇。其中批号为120602的样品色谱图见图1B。

3 讨论

本试验测定的5种有机溶剂沸点有差异,选用非极性柱或弱极性柱可以进行分离,但一般的填充柱达不到检测要求,故选用毛细管柱。

本试验采用程序升温的方法,先在35℃保持5 min,使低沸点的溶剂有效分离,然后以50℃/min的速率升温至200℃,保持5 min,使DMF加快出峰,以改善峰形。

为了保证用药的安全性,根据2010年版《中国药典》^[2]的要求,将二氟泼尼酯中甲苯、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯和乙醇的限度定为0.089%、0.06%、0.029%、0.5%和0.5%。

经过验证,本文建立的方法线性、精密度、回收率、定量限、检测限以及系统适用性均较好,能够准确、迅速地检测出二氟泼尼酯原料药中残留的甲苯、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯和乙醇。

参考文献

- [1] 周研,刘波平,罗香,等.顶空毛细管气相色谱法测定非那雄胺中有机溶剂的残留量[J].分析测试学报,2007,26(1):131.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录63.

(收稿日期:2012-10-09 修回日期:2013-01-06)

《中国药房》杂志——《国际药学文摘》(IPA)收录期刊,欢迎投稿、订阅