

顶空毛细管气相色谱法测定非那甾胺原料药中有机溶剂残留量

郭文献*, 辜鹏程, 李勤耕[#](重庆医科大学药学院, 重庆 400016)

中图分类号 R927.2;R983 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)17-1604-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.17.26

摘要 目的:建立测定非那甾胺原料药中甲醇、丙酮、三氯甲烷及甲苯4种有机溶剂残留量的方法。方法:采用顶空毛细管气相色谱法。色谱柱为Phenomenex ZB-624毛细管柱,二甲亚砜为溶剂,柱温采用程序升温,进样口温度为200℃,氢火焰离子化检测器检测口温度为250℃,载气为N₂,分流比为5:1,顶空进样,平衡温度为80℃,平衡时间为45 min。结果:4种有机溶剂实现基线分离,甲醇、丙酮、三氯甲烷及甲苯的线性范围分别12.0~1 200、10.0~1 000、1.20~120、1.78~178 μg/ml(r 为0.999 6~0.999 8);平均方法回收率为94.7%~97.5%,RSD<2.1%;检测限为0.021 6~10.93 μg/ml。5批样品中4种有机溶剂残留量均符合2010年版《中国药典》要求。结论:该方法灵敏、重复性好,可用于非那甾胺原料药中有机溶剂残留量的测定。

关键词 顶空毛细管气相色谱法;非那甾胺;原料药;有机溶剂;残留量

Determination of Residual Organic Solvents in Finasteride Raw Materials by Headspace Capillary Gas Chromatography

GUO Wen-xian, GU Peng-cheng, LI Qin-geng (College of Pharmacy, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the determination of 4 residual organic solvents in finasteride raw materials, i.e. methanol, acetone, chloroform and methylbenzene. METHODS: Headspace gas chromatography was adopted. The residual organic solvents were separated on Phenomenex ZB-624 capillary column using dimethyl sulfoxide as solvent by temperature programming. FID was used as detector with a temperature of 250 °C. The inlet temperature was 200 °C. N₂ was used as carrier gas with split ratio of 5:1. With headspace sampling, equilibrium temperature was 80 °C and equilibrium time was 45 min. RESULTS: The linear ranges of methanol, acetone, chloroform and methylbenzene were 12.0-1 200, 10.0-1 000, 1.20-120 and 1.78-178 μg/ml ($r=0.999\ 6\sim 0.999\ 8$), respectively. Recovery rates were 94.7%-97.5% (RSD<2.1%); the detection limits were in the range of 0.021 6 to 10.93 μg/ml. Residual amount of 4 organic solvents in 5 batches of samples were in line with the requirements of *Chinese Pharmacopeia* (2010 edition). CONCLUSIONS: The method is sensitive and reproducible. It can be applied for the determination of the residual organic solvents in finasteride raw materials.

KEY WORDS Headspace capillary gas chromatography; Finasteride; Raw materials; Organic solvent; Residual

非那甾胺属4-氮甾体激素类化合物,是首个特异性的5 α -还原酶抑制剂,口服有效;主要用于治疗良性前列腺增生,可使增大的前列腺减小,改善尿流等症状及雄激素性脱发^[1-3];其相对分子质量仅为373,为脂溶性。

药物中的残留溶剂系指在原料药或辅料的生产中,以及在制剂制备过程中使用或产生而又未能完全去除的有机溶剂。由于很多有机溶剂对环境、人体都有一定的危害,因此,为保障药物的质量和用药安全以及保护环境,控制残留溶剂量具有重要意义。非那甾胺在合成过程中,使用了甲醇、丙酮、三氯甲烷及甲苯等4种有机溶剂,但关于其有机溶剂残留的研究,国内尚未见文献报道。笔者根据人用药物注册技术要求国际协调会(ICH)^[4]颁布的残留溶剂研究指导原则和2010年版《中国药典》的相关规定^[5],并参考有关文献^[6-8],采用顶空气相色谱法,以二甲亚砜(DMSO)为溶剂,同时测定上述4种有机溶剂残留量。结果表明,该方法简便、灵敏、重复性好,

可用于非那甾胺原料药中有机溶剂残留量的测定。

1 材料

6890气相色谱仪、氢火焰离子化检测器(FID)、7694E顶空进样器(美国Agilent公司);ME2355型电子天平(德国Sartorius公司)。

非那甾胺原料药(重庆医科大学医药研究所提供,批号:101201、110306、110325、110404、110512,纯度分别为:99.5%、99.2%、99.1%、99.4%、99.2%);甲醇、三氯甲烷、丙酮和甲苯均为色谱纯,DMSO为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为Phenomenex ZB-624毛细管柱(30 m \times 0.32 mm \times 1.8 μm);DMSO为溶剂;柱温采用程序升温:初始温度50℃,保持20 min,并以10℃/min的速率升至200℃,保持20 min;进样口温度:200℃;FID检测口温度:250℃;载气:N₂,流速:1.0 ml/min;分流比:5:1;顶空进样,平衡温度:80℃,平衡时间:45 min,进样时间:1 min,定量环温度:100℃,传输线温度:110℃。

2.2 对照品溶液的制备

* 硕士研究生。研究方向:药物合成与分析。电话:023-62805128。E-mail:guowx82@163.com

[#] 通信作者:教授。研究方向:药物合成与分析。电话:023-68485161。E-mail:vafge2001@163.com

精密称取甲醇 150 mg、丙酮 250 mg、三氯甲烷 30 mg、甲苯 44.5 mg,置于同一 50 ml 量瓶中,用 DMSO 溶解,并稀释至刻度,摇匀即得对照品贮备液。精密量取对照品贮备液 2.5 ml,置于 25 ml 量瓶中,用 DMSO 稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。测定时精密量取对照品溶液 5 ml,置于 20 ml 顶空进样瓶中,密封,摇匀。

2.3 供试品溶液的制备

精密称取供试品约 0.1 g,置于 20 ml 顶空进样瓶中,精密加入 DMSO 5 ml,密封,振摇使溶解,即得。

2.4 系统适用性试验

取“2.2”、“2.3”项下的对照品溶液和供试品溶液,按“2.1”项下的色谱条件进行分析,记录色谱。结果,4种溶剂分离良好,理论板数均不低于 5 000,详见图 1。

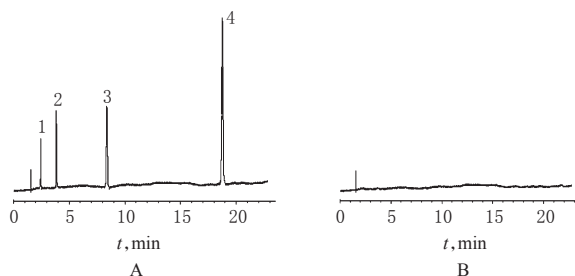


图 1 气相色谱图

A. 对照品溶液; B. 供试品溶液; 1. 甲醇; 2. 丙酮; 3. 三氯甲烷; 4. 甲苯

Fig 1 GC chromatograms

A. reference substances solution; B. sample solution; 1. methanol; 2. acetone; 3. chloroform; 4. methylbenzene

2.5 线性关系考察

精密称取甲醇 300 mg、丙酮 250 mg、三氯甲烷 30 mg、甲苯 44.5 mg,置于同一个 50 ml 量瓶中,用 DMSO 溶解,并稀释至刻度,摇匀,作为标准曲线贮备溶液。精密量取 10 ml,置于 50 ml 量瓶中,加 DMSO 稀释至刻度,摇匀;再分别精密量取 0.5、1.0、2.5、7.5、12.5、10.0 ml 分别置于 50、50、50、50、50、10 ml 量瓶中,分别用 DMSO 溶解并稀释至刻度,摇匀,得标准工作溶液 a、b、c、d、e、f。

分别精密量取 5 ml 上述不同质量浓度的标准工作溶液,分别置于 20 ml 顶空进样瓶中,密封,摇匀,按“2.1”项下的色谱条件进行测定,记录色谱图,通过积分确定峰面积。以峰面积(A)为纵坐标,以各溶剂相应质量浓度(c)为横坐标,进行线性回归,得回归方程及检测质量浓度线性范围,结果见表 1。

表 1 各溶剂回归方程及检测质量浓度线性范围(n=6)

Tab 1 Regression equation and linear range of each solvent (n=6)

溶剂名称	回归方程	线性范围, $\mu\text{g/ml}$	r
甲醇	$A=0.3497c+0.9045$	12.0~1 200	0.999 6
丙酮	$A=2.3059c+1.4884$	10.0~1 000	0.999 6
三氯甲烷	$A=7.0225c+2.2595$	1.20~120	0.999 8
甲苯	$A=61.99c+1.7627$	1.78~178	0.999 7

2.6 精密度试验

分别精密量取对照品溶液 5 ml,置于 6 个 20 ml 顶空进样瓶中,依次进样,结果 4 种溶剂峰面积值的 RSD 均小于 4.5%,表明本方法精密度良好。

2.7 回收率试验

精密称取同一批号原料药(批号:101201)各约 0.1 g,置于 9 个 20 ml 顶空进样瓶中,分为低、中、高水平 3 组(n=3),每组分别精密加入标准工作溶液 b、d、f 各 5 ml,进样测定,计算平均回收率。结果平均方法回收率为 94.7%~97.5%,RSD<2.1%(n=3),详见表 2。

表 2 回收率试验结果(n=3)

Tab 2 Results of recovery rate tests (n=3)

溶剂名称	回收率, %			平均回收率, %	RSD, %
	低水平	中水平	高水平		
甲醇	93.62	95.02	101.32	96.7	1.5
丙酮	87.62	93.94	102.67	94.7	2.1
三氯甲烷	90.49	97.42	103.16	97.0	1.1
甲苯	99.41	99.56	99.41	97.5	1.9

2.8 检测限试验

用逐步稀释法进行测定,以信噪比约为 3 时计算检出限。结果甲醇、丙酮、三氯甲烷、甲苯的检测限分别为 10.93、0.788、0.355、0.021 6 $\mu\text{g/ml}$ 。

2.9 样品中有机溶剂残留量测定

取 5 批样品,按“2.3”项下的方法制备供试品溶液,按“2.1”项下的色谱条件进行分析,以外标法计算 4 种有机溶剂的含量。结果 5 批样品中均未检出甲醇、丙酮、三氯甲烷、甲苯。

3 讨论

非那甾胺易溶于 DMSO、丙酮等有机溶剂,而在水中难以溶解。基于此,在选择溶剂时,N,N-二甲基甲酰胺(DMF)和 DMSO 都可作为溶剂。但 DMF 稳定性较差,易产生杂质,故选择 DMSO 为溶剂,效果较好,能满足试验要求。

ICH^[3]和 2010 年版《中国药典》^[4]都规定,在药品中甲醇、三氯甲烷、甲苯均属于第 2 类限制性残留溶剂,限度分别为 0.3%、0.06%、0.089%;丙酮属于第 3 类低毒性残留溶剂,应控制其残留量,限度为 0.5%。本试验 5 批样品中甲醇、丙酮、三氯甲烷、甲苯均未检出,符合规定。

一般对含卤素的溶剂采用电子捕获检测器(ECD)进行检测,以获得更高的响应值,周妍等^[7]建立的测定非那雄胺中的二氯甲烷和三氯甲烷 2 种有机溶剂残留量的方法中就是使用 ECD。但因为三氯甲烷的限度为 0.06%,FID 的灵敏度已能满足检测要求;另外从生产工艺控制上来说,同时完成甲醇、丙酮、三氯甲烷及甲苯这 4 种溶剂的检测,仅采用 FID 的方法更简便、经济,因此,本方法选择 FID。

由于合成工艺的不同、所用溶剂不同,非那甾胺原料药中可能残留的有机溶剂不同。刘继华等^[8]综合 5 家药厂的合成工艺,建立了同时测定非那雄胺中 11 种有机溶剂残留量的方法。本研究中需要检测的非那甾胺原料药在合成过程中主要使用了甲醇、丙酮、三氯甲烷及甲苯等这 4 种有机溶剂,因此建立了检测非那甾胺原料药中这 4 种有机溶剂残留量的方法。

本方法 4 种有机溶剂的检测限为 0.021 6~10.93 $\mu\text{g/ml}$,灵敏度可以满足非那甾胺原料药中有机溶剂残留量测定的需要。

参考文献

[1] Gormley GJ. Finasteride: a clinical review[J]. *Biomed Pharmacother*, 1995, 49(7/8):319.

激光散射法测定阿维A原料药粒度

吴芸*,孙小路(重庆华邦制药有限公司,重庆 401121)

中图分类号 R917;R986 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)17-1606-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.17.27

摘要 目的:建立测定阿维A原料药的粒度及其分布的方法。方法:采用 Malvern Mastersizer 2000 激光粒度分析仪、Hydro 2000 MU 湿法进样器,以《中国药典》粒度和粒度分布测定法中的光散射法进行阿维A原料药的粒度分析并进行方法学考察,泵速为 1 500 r/min,遮光比为 5%~15%,背景与样品的扫描时间为 5 s,样品折射率为 1.569,样品吸光率为 0.01。结果:方法学考察结果 $d(0.5)$ 的 RSD 均 < 3%, $d(0.1)$ 和 $d(0.9)$ 的 RSD 均 < 5%;4 批阿维A原料药的 $d(0.1)$ 均小于 5 μm , $d(0.5)$ 均小于 10 μm , $d(0.9)$ 均小于 20 μm ,符合《中国药典》相关要求。结论:该方法简便、准确、重复性好,适用于阿维A原料药的粒度控制。

关键词 粒度分析;激光粒度分析仪;阿维A原料药

Determination of Particle Size of Acitretin Crude Drug by Laser Light Scattering Method

WU Yun, SUN Xiao-lu (Chongqing Huapont Pharm. Co., Ltd., Chongqing 401121, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of particle size and distribution for acitretin crude drug. METHODS: Malvern Mastersizer 2000 laser size analyzer, Hydro 2000 MU wet autosampler were used, the light scattering method for the determination of particle size and distribution of *Chinese Pharmacopeia* was adopted to analyze the particle size of acitretin crude drug and then methodological study was carried out. The conditions of determination were: pump speed: 1 500 r/min, obscuration: 5%-15%, measurement time of background and sample: 5 s, sample RI: 1.569, sample AI: 0.01. RESULTS: RSD of methodological study $d(0.5)$ was lower than 3%, and that of $d(0.1)$ and $d(0.9)$ were lower than 5%. All the $d(0.1)$ of 4 batches of acitretin drug substance were less than 5 μm , the $d(0.5)$ were less than 10 μm and the $d(0.9)$ were less than 20 μm , which were all in line with the requirements of *Chinese Pharmacopeia*. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and producible, which is suitable for the particle size control of acitretin crude drug.

KEY WORDS Analysis of particle size; Laser size analyzer; Acitretin crude drug

阿维A(Acitretin)属于第2代维A酸类衍生物,其活性成分为依曲替酸,具有清除迅速、体内不易蓄积的特点;在临床上主要用于治疗严重银屑病和角化异常性皮肤病^[1-2],也可用于皮脂腺和汗腺相关疾病的治疗,并在皮肤肿瘤治疗和预防上也显示有一定的应用价值。阿维A是一种难溶性药物(在水中几乎不溶)^[3],其粒度的大小直接影响药物的溶出速度,因此粒度为其质量控制的重要指标之一。本研究经过一系列探索,建立以光散射法(所用仪器为激光粒度分析仪)测定阿维A

原料药粒度的方法,结果表明该方法操作简便、准确、快速,适用于药品生产中原料药粒度分布的测定。

1 材料

Malvern Mastersizer 2000 激光粒度分析仪、Hydro 2000 MU 湿法进样器(英国 Malvern 公司);LE225D 分析天平(德国 Sartorius 公司);KB-400B 超声波清洗机(巩义市英峪仪器有限公司)。

阿维A原料药(重庆华邦制药有限公司,批号:110601、

- [2] Keith D, Kaufman MD, Elise A, et al. Finasteride in the treatment of men with androgenital alopecia[J]. *J Am Acad Dermatol*, 1998, 39(4):578.
- [3] 周海钧.药品注册的国际技术要求:质量部分[M].北京:人民卫生出版社,2001:343.
- [4] 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204-206.
- [5] 吴春丽,张俊霞,史云涛,等.顶空毛细管气相色谱法测定来曲唑原料药中有机溶剂残留量[J].中国药房,2010,21

(17):1 601.

- [6] 姜建国,宋更申,张西如,等.顶空气相色谱法测定洛伐他汀原料药中的有机溶剂残留量[J].中国药房,2011,22(17):1 607.
- [7] 周妍,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.
- [8] 刘继华,刘屹,李慧义,等.气相色谱法测定非那雄胺中11种有机溶剂残留量[J].药物分析杂志,2009,29(3):475.

* 工程师,硕士。研究方向:药物分析。电话:023-67886740。E-mail:wuyun55@yahoo.com.cn

(收稿日期:2012-07-23 修回日期:2012-09-01)