

气相色谱法测定联苯乙酸原料药中5种有机溶剂残留量

曹翠^{1*}, 卢洁², 阎君¹, 林子琦¹(1.吉林修正药业新药开发有限公司, 长春 130021; 2.长春师范学院初等教育学院, 长春 130031)

中图分类号 R927.11; R971[·]1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)41-3923-02
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.41.30

摘要 目的:建立联苯乙酸原料药中5种有机溶剂(甲醇、乙酸乙酯、三氯甲烷、冰醋酸和吗啡)残留量的测定方法。方法:采用气相色谱直接进样法。色谱柱为Agilent DB-624毛细管柱,程序升温,载气为氮气,氢火焰离子化检测器,进样口温度为200℃,检测器温度为250℃。结果:5种溶剂在建立的色谱条件下完全分离,在所考察的线性范围内具有良好的线性关系(r 为0.999 1~0.999 8),平均回收率为97.5%~100.2%,RSD为0.25%~1.39%($n=3$)。3批样品中只检出甲醇,且其残留量<0.3%。结论:建立的方法简便、准确,适用于联苯乙酸原料药中有机溶剂残留量的测定。

关键词 气相色谱法;联苯乙酸原料药;有机溶剂;残留量测定

Content Determination of 5 Kinds of Residual Organic Solvents in Felbinac Raw Material by GC

CAO Cui¹, LU Jie², YAN Jun¹, LIN Zi-qi¹(1.Jilin Xiuzheng Pharmaceutical Group Pharma Tech Co., Ltd., Changchun 130021, China; 2.School of Elementary Education, Changchun Normal University, Changchun 130031, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the determination of 5 residual organic solvents as methanol, acetic ether, chloroform, glacial acetic acid and morpholine in felbinac raw material. METHODS: Gas chromatography was adopted. The determination was performed on Agilent DB-624 capillary column by temperature programming using nitrogen gas as carrier gas. Flame ionization detector was used. The injector temperature was 200 °C and the detector temperature was 250 °C. RESULTS: 5 kinds of solvents were completely separated and determined with a good linearity ($r=0.999$ 1-0.999 8). The average recoveries were 97.5%-100.2%, and RSDs were 0.25%-1.39% ($n=3$). Only methanol were detected in 3 batches of samples, and residual amount of it was lower than 0.3%. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and suitable for the determination of residual solvents in felbinac raw material.

KEY WORDS Gas chromatography; Felbinac raw material; Residual solvent; Residual determination

联苯乙酸(Felbinac)是一种新型的非甾体抗炎药,也是合成联苯乙酸乙酯、联苯乙酰吡啶等中间体的原料^[1]。其是非甾体抗炎药芬布芬的活性代谢物,具有很强的抗炎、镇痛作用和良好的透皮性能;用于治疗关节炎和肌肉疼痛,具有速效和安全等特点,如3%联苯乙酸凝胶软膏外用对于变形性关节炎、肩周炎、腱鞘炎、肌肉痛及外伤后肿胀等疾病具有良好的镇痛和消炎作用^[2]。在本公司联苯乙酸原料药的合成工艺中使用了甲醇、乙酸乙酯、三氯甲烷、冰醋酸和吗啡等5种有机溶剂,2010年版《中国药典》(二部)对上述溶剂均规定了残留限度^[3]。为此,本文建立了直接进样法^[4]测定联苯乙酸原料药中5种有机溶剂残留量的气相色谱法,结果表明建立的方法具有简便、准确等特点,可满足联苯乙酸原料药中有机溶剂检测的要求。

1 材料

GC-2010气相色谱仪、氢火焰离子化检测器(FID)、GC工作站(日本岛津公司);GHL-300氢气发生器(北京汇佳精仪工贸有限公司);双量程分析天平[梅特勒-托利多(上海)仪器有限公司]。

联苯乙酸原料药(吉林修正药业新药开发有限公司药物研究室合成,批号:20120501、20120502、20120503,纯度:99.2%、99.6%、99.5%);甲醇、乙酸乙酯、三氯甲烷、冰醋酸、吗啡、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)均为分析纯(含量:均≥99.0%)。

*助理工程师,硕士。研究方向:化学药物合成及质量标准。电话:0431-85161453。E-mail:cao_cui1129@163.com

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent DB-624毛细管柱(30 m×0.53 mm×1.5 μm),6%氰丙基苯基-94%二甲基聚硅氧烷为固定液;柱温:程序升温,初始温度40℃,以4℃/min升温至100℃,再以20℃/min升温至180℃,保持2 min;进样口温度:200℃;FID检测器温度:250℃;分流比:30:1;载气:高纯氮气;压力:100 kPa;进样量:2 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液。精密称取甲醇0.680 0 g、乙酸乙酯0.483 2 g、冰醋酸0.285 3 g、吗啡0.408 1 g,分别置于50 ml量瓶中;另取三氯甲烷0.162 4 g,置于25 ml量瓶中。分别加入适量DMF溶解并稀释至刻度,充分摇匀,作为对照品贮备液;精密移取甲醇贮备液1.0 ml、乙酸乙酯贮备液2.5 ml、三氯甲烷贮备液0.5 ml、冰醋酸贮备液4.5 ml和吗啡贮备液2 ml,置于同一50 ml量瓶中,以DMF稀释至刻度,充分摇匀,作为混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液。精密称取联苯乙酸原料药1.0 g,置于10 ml量瓶中,加DMF溶解并稀释至刻度,充分摇匀,即得。

2.3 系统适用性试验

移取混合对照品溶液进样测定,记录色谱图。结果,甲醇、乙酸乙酯、三氯甲烷、冰醋酸和吗啡的保留时间分别为1.296、3.689、3.962、8.670和9.872 min,各相邻色谱峰的分离度除乙酸乙酯和三氯甲烷为1.1外,其余均大于1.5,理论板数均不低于10 000,系统适用性较好,详见图1。

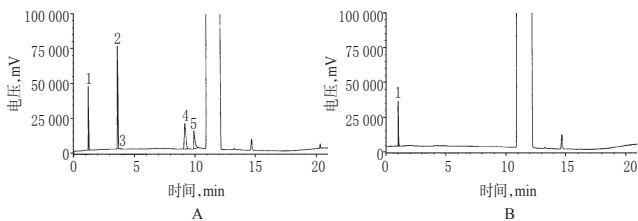


图1 气相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; 1. 甲醇; 2. 乙酸乙酯; 3. 三氯甲烷; 4. 冰醋酸; 5. 吗啉

Fig 1 GC chromatograms

A. substance control; B. test sample; 1. methanol; 2. acetic ether; 3. chloroform; 4. glacial acetic acid; 5. morpholine

2.4 线性关系试验

精密移取上述对照品贮备液适量,置于同一50 ml量瓶中,加入DMF溶解并稀释至刻度,各对照品的取样量见表1(表中溶剂均指其对照品贮备液)。

表1 线性试验中各对照品溶液的制备

Tab 1 Preparation of substance control in linear tests

溶液	甲醇,ml	乙酸乙酯,ml	三氯甲烷,ml	冰醋酸,ml	吗啉,ml
对照品溶液 I	0.25	1.0	0.35	1.5	1.0
对照品溶液 II	0.50	1.5	0.40	2.5	1.5
对照品溶液 III	0.75	2.0	0.45	4.0	2.0
对照品溶液 IV	1.00	2.5	0.50	4.5	2.5
对照品溶液 V	1.50	3.5	0.60	5.0	3.5

取表1中制备好的对照品溶液 I~V 各2 μ l 进样,测得峰面积,分别以峰面积(y)对质量浓度(x)进行线性回归,各溶剂的线性方程及相关结果见表2。

表2 各溶剂线性关系试验结果

Tab 2 Linear ranges of solvents

溶剂	线性范围, μ g/ml	回归方程	r
甲醇	68.00~408.00	$y=352\ 558x+3\ 060.0$	0.999 1
乙酸乙酯	193.78~676.48	$y=534\ 373x-1\ 667.6$	0.999 3
三氯甲烷	45.47~77.95	$y=266\ 590x-143.25$	0.999 8
冰醋酸	171.18~570.60	$y=269\ 425x+4\ 937.6$	0.999 7
吗啉	163.24~571.34	$y=513\ 591x-57\ 978.1$	0.999 1

2.5 精密度试验

取混合对照品溶液2 μ l,连续进样5次,计算各混合对照品溶液中甲醇、乙酸乙酯、三氯甲烷、冰醋酸、吗啉的峰面积的RSD分别为0.6%、4.9%、4.3%、4.3%、4.6%(n=5)。结果表明,各溶剂峰面积的RSD均小于5%(n=5),精密度较好。

2.6 重复性试验

精密称取同一批号的样品,分别制备成1.0 g/ml的供试品溶液6份,进样分析,记录色谱图,按外标法计算残留溶剂的含量。结果甲醇含量的RSD=1.6%(n=6),其他溶剂均未检出,表明方法重复性良好。

2.7 检测限和定量限试验

取各对照品贮备液,逐级进行稀释进样,记录色谱图。以信噪比为3计算检测限,以信噪比为10计算定量限。结果,甲醇、乙酸乙酯、三氯甲烷、冰醋酸、吗啉的检测限分别为0.816、1.598、0.773、12.855、1.712 μ g/ml,定量限分别为2.72、5.25、3.09、36.73、5.71 μ g/ml。

2.8 回收率考察

精密称取样品1.0 g,置于10 ml量瓶中,精密移取对照品贮备液,制得相当于各溶剂限度80%、100%、120%的溶液。根据峰面积计算回收率,测得5种溶剂的平均回收率为97.5%~100.2%,RSD为0.25%~1.39%,均小于5%(n=3),

结果见表3。

表3 回收率试验结果(n=3)

Tab 3 Results of recovery tests(n=3)

溶剂	回收率, %			平均回收率, %	RSD, %
	低	中	高		
甲醇	100.1	98.3	102.3	100.2	0.67
乙酸乙酯	93.6	97.1	101.7	97.5	1.39
三氯甲烷	97.5	96.4	99.2	97.7	0.48
冰醋酸	100.3	99.6	98.8	99.6	0.25
吗啉	95.9	100.7	98.6	98.4	0.82

2.9 稳定性试验

取混合对照品溶液,于室温下放置0、2、4、8、12 h后分别进样,结果甲醇、乙酸乙酯、三氯甲烷、冰醋酸、吗啉在12 h内测得的峰面积的RSD分别为3.8%、2.2%、3.4%、1.5%、0.6%(n=5),表明本溶液在室温放置12 h内稳定。

2.10 样品中有机溶剂残留量的测定

量取混合对照品溶液和3批供试品溶液各2 μ l进样,记录气相色谱图。按外标法以峰面积计算样品中残留溶剂的含量。结果表明,样品中只检出甲醇,且残留量均<0.3%,其他溶剂均未检出。

3 讨论

3.1 溶剂的选择

气相色谱的常用溶剂有水、乙醇、DMF、二甲基亚砜(DMSO)等,因联苯乙酸不溶于水,因此选择DMF作为溶剂。结果证明,DMF不但可以很好地溶解联苯乙酸,且对5种待测溶剂无干扰。

3.2 色谱柱的选择

考虑到冰醋酸的残留,本试验初期选择了极性柱HP-FFAP^[9],但由于甲醇和乙酸乙酯的极性相近,经改变柱温、分流比、载气流速等条件仍很难分开。按2010年版《中国药典》(二部)附录VIII P^[3]方法,采用气相色谱法分离甲醇和乙酸乙酯,在极性色谱柱中二者的保留时间也仅相差0.2 min。因此尝试用中等极性的色谱柱Agilent DB-624^[9],结果在本文设定的色谱条件下,采用该色谱柱能将5种有机溶剂较好地分离。

3.3 5种残留溶剂限度的确定

甲醇、乙酸乙酯、三氯甲烷、冰醋酸和吗啉均是生产过程中引入的对人体有害的有机溶剂。《中国药典》^[3]规定,甲醇、三氯甲烷均为第二类毒性试剂,其限度分别为0.3%和0.06%;乙酸乙酯、冰醋酸均为第三类毒性试剂,其限度为0.5%;而吗啉尚未收入《中国药典》中,故本试验参考文献^[10]中甲醇的限度,将其限度定为0.3%。

参考文献

- [1] 陈芬儿.有机药物合成法[M].北京:中国医药科技出版社,1999:365-367.
- [2] 沙静姝.解热消炎镇痛药研究进展[J].国外医药合成药、生化药、制剂分册,1989,10(3):143.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:63.
- [4] 李子静.顶空气相色谱法测定托伐普坦原料药中的4种残留溶剂[J].中国药房,2012,23(41):3 916.
- [5] 范毅颖,于海龙,崔振辉.头孢唑钠钠残留溶剂的气相色谱测定[J].黑龙江医药,2007,20(2):105.
- [6] 陈汝红,杨春巧,张轶华.顶空气相色谱法检测苯星青霉素原料药中的5种残留溶剂[J].中国药房,2012,23(45):4 287.

(收稿日期:2013-03-04 修回日期:2013-04-22)