

毛细管气相色谱法测定司替戊醇原料药中5种有机溶剂残留量

孙晋瑞^{1,2*}, 伊星璐¹, 刘宜辉¹, 任业明¹(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)

中图分类号 R927.11 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)33-3150-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.33.28

摘要 目的: 建立测定司替戊醇原料药中5种有机溶剂(乙醇、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯与异丙醇)残留量的方法。方法: 采用毛细管气相色谱法, 固定液为(5%)苯基-(95%)甲基聚硅氧烷, 毛细管柱为InertCap 5MS/NP; 柱温: 30℃保持6 min, 再以50℃/min的速率升温至180℃, 保持10 min; 氢火焰离子化检测器, 检测器温度: 250℃; 载气: 高纯氮气; 采用顶空进样法测定, 加热温度: 90℃, 加热时间: 35 min。结果: 乙醇、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯与异丙醇在各自的检测质量浓度线性范围内 r 为0.999 6~0.999 8, 平均回收率分别为99.9%~100.3% (RSD为0.99%~2.01%, $n=3$), 定量限分别为0.145、0.176、0.089、0.448、0.445 ng; 3批样品中只检出异丙醇。结论: 建立的方法简便、准确度高, 可有效控制司替戊醇原料药中残留的5种有机溶剂。

关键词 司替戊醇; 原料药; 有机溶剂; 残留量; 毛细管气相色谱法; 测定

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

SUN Jin-rui^{1,2}, YI Xing-lu¹, LIU Yi-hui¹, REN Ye-ming¹(1. Shandong Institute of Pharmaceutical Industry, Jinan 250101, China; 2. Shandong Provincial Key Laboratory of Chemical Drug, Jinan 250101, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for residual organic solvents in stiripentol crude drug, such as ethanol, dichloromethane, n-hexane, acetic ether and isopropanol. METHODS: Capillary gas chromatography was used. The determination condition was as follows: (5%) phenyl-(95%) methylpolysiloxane as fixation fluid; InertCap 5MS/NP capillary column at 30℃ for 6 min, increased to 180℃ with rate of 50℃/min, maintaining 10 min; flame ionization detector with the temperature of 250℃; high purity nitrogen as carrier gas; headspace sampling, heating temperature of 90℃, heating time of 35 min. RESULTS: The r in linear ranges of ethanol, dichloromethane, n-hexane, acetic ether and isopropanol were 0.999 6-0.999 8; average recovery rates were 99.9%-100.3% (RSD=0.99%-2.01%, $n=3$); the limits of quantitation were 0.145, 0.176, 0.089, 0.448 and 0.445 ng, respectively; only the isopropanol was detected in 3 batches of samples. CONCLUSIONS: The established method is simple and accurate, and it can be used for the control of 5 residual solvents in stiripentol crude drug.

KEY WORDS Stiripentol; Crude drug; Organic solvents; Residual; Capillary GC; Determination

司替戊醇(Stiripentol)由法国Biocodex公司研制, 2008年1月在德国上市, 随后于2010年7月在丹麦、芬兰、挪威、瑞典同时上市。该药是一种细胞色素P₄₅₀抑制剂, 其作用机制是阻滞神经元对 γ -氨基丁酸(简称GABA)的再摄取或更新, 临床上用于各型癫痫发作。研究^[1]表明, 司替戊醇与其他抗癫痫药物合用时具有协同作用, 并可降低这些药物的副作用。其上市剂型目前有胶囊(每粒250、500 mg)和混悬剂(每瓶250、500 mg)。司替戊醇在国内处在注册上市前的研究阶段, 笔者在参照国内外文献^[2-8]的基础上, 进行了司替戊醇原料药的合成工艺路线设计, 制备出符合新药注册标准的产品。在合成过程中由于使用了乙醇、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯与异丙醇等有机溶剂, 因此在制订质量标准时必须考察该原料药中有机溶剂残留量问题。本文按照2010年版《中国药典》(二部)残留溶剂测定法指导原则^[9], 采用毛细管气相色谱法对5种有机溶剂进行测定和验证, 结果表明建立的方法简便、准确度高, 可有效控制司替戊醇原料药中残留的5种有机溶剂, 并为该药品

质量标准的修订提供了科学依据。

1 材料

Agilent6890型气相色谱仪, 包括7694E自动顶空进样器(美国Agilent公司)。

司替戊醇原料药(山东省医药工业研究所合成室提供, 批号: 121201、121202、121203, 纯度: 99.87%、99.86%、99.73%); 乙醇、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、异丙醇、*N,N*-二甲基酰胺(DMF)均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: 固定液为(5%)苯基-(95%)甲基聚硅氧烷, InertCap 5MS/NP毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μ m); 柱温: 30℃保持6 min, 再以50℃/min的速率升温至180℃, 保持10 min; 氢火焰离子化检测器, 检测器温度: 250℃; 载气: 高纯氮气, 流速: 10 ml/min; 进样口温度: 200℃, 分流比: 20:1; 采用顶空进样法测定, 加热温度: 90℃, 加热时间: 35 min, 进样瓶装量: 3 ml(顶空气体进样)。

* 副主任药师。研究方向: 新药研发。电话: 0531-81213291。
E-mail: sjrcxl@126.com

2.2 溶液配制与系统适用性试验

空白溶液:精密量取DMF 3 ml,置于顶空进样瓶中,作为空白溶液。

对照品贮备液:称取乙醇约500 mg、二氯甲烷约60 mg、正己烷约29 mg、乙酸乙酯约500 mg、异丙醇约500 mg,置于加入适量DMF的100 ml量瓶中,充分振摇使溶解,加DMF稀释至刻度,摇匀,即得。

对照品溶液:精密量取对照品贮备液10 ml,置于100 ml量瓶中,加DMF至刻度,摇匀,即得。

供试品溶液:精密称取司替戊醇0.3 g,置于顶空进样瓶中,加DMF 3 ml,充分振摇使溶解,即得。

取对照品溶液和供试品溶液进样分析,结果各溶剂分离良好,空白溶液对待测成分无干扰。色谱图见图1。

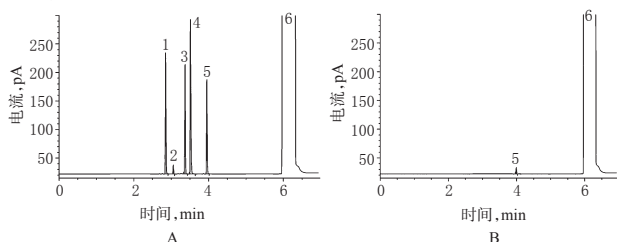


图1 毛细管气相色谱图

A.对照品溶液;B.供试品溶液;1.乙醇;2.二氯甲烷;3.正己烷;4.乙酸乙酯;5.异丙醇;6.DMF

Fig 1 Capillary GC chromatogram

A. solution control; B. test solution; 1. ethanol; 2. dichloromethane; 3. n-hexane; 4. acetic ether; 5. isopropanol; 6. DMF

2.3 线性关系试验

分别精密量取对照品贮备液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。各取上述溶液3 ml,置于顶空进样瓶中,按“2.1”项下色谱条件分别进样。分别以乙醇、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯与异丙醇的质量浓度(c)为横坐标、峰面积(A)为纵坐标绘制标准曲线,其线性关系见表1。

表1 5种有机溶剂的线性关系试验结果

Tab 1 Linear relationship of 5 residual solvents

有机溶剂	质量浓度线性范围	线性关系方程	r
乙醇	250.6~749.5 mg/ml	$A=1.2178c-98.51$	0.999 6
二氯甲烷	28.99~90.88 μ g/ml	$A=0.2768c-0.55$	0.999 8
正己烷	12.51~38.02 μ g/ml	$A=18.8811c-26.99$	0.999 7
乙酸乙酯	251.5~751.3 mg/ml	$A=2.2567c-127.6$	0.999 8
异丙醇	255.5~959.3 mg/ml	$A=0.4941c+0.79$	0.999 6

2.4 精密度试验

取对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件,连续进样6次,记录色谱图,计算RSD。结果分别为乙醇0.11%、二氯甲烷0.12%、正己烷0.18%、乙酸乙酯0.33%、异丙醇0.28%,均符合要求。

2.5 回收率试验

精密称取样品(批号:121201)0.3 g,共10份,其中1份加入3 ml DMF,作为待试溶液。另分别配制低(80%)、中(100%)、高(120%)3种质量浓度的对照品溶液。分别取上述不同质量浓度的对照品溶液3 ml,加入盛有样品的顶空进样瓶中。以“2.2”项下的对照品溶液作为对照,分别进样,计算回收率,结

果均符合要求,详见表2。

表2 5种有机溶剂的回收率试验结果(% , $n=3$)

Tab 2 Results of recovery tests of 5 residual solvents (% , $n=3$)

有机溶剂	回收率			平均回收率	RSD
	80%溶液	100%溶液	120%溶液		
乙醇	100.1	100.3	99.9	100.1	1.12
二氯甲烷	99.9	100.1	99.8	99.9	1.12
正己烷	100.2	100.4	100.2	100.3	1.06
乙酸乙酯	100.3	100.5	99.9	100.2	2.01
异丙醇	100.0	100.1	99.8	100.0	0.99

2.6 定量限、检测限试验

将对照品溶液逐级稀释后分别取3 ml,置于顶空进样瓶中,进样,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。结果乙醇、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、异丙醇的定量限分别为0.145、0.176、0.089、0.448、0.445 ng,检测限分别为0.042、0.054、0.029、0.147、0.142 ng。

2.7 重复性试验

取同一批(批号:121201)样品6份,每份约0.3 g,精密称定,按“2.2”项下方法制备供试品溶液并测定。结果异丙醇平均含量为0.022%,RSD=0.87%,表明方法重复性良好。

2.8 样品中有机溶剂残留量测定

精密量取对照品溶液和供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件分别进样测定,以外标法计算有机溶剂残留量。结果3批样品的异丙醇残留量平均值分别为0.029%、0.021%、0.019%,均未检出乙醇、二氯甲烷、正己烷与乙酸乙酯。

3 讨论

虽然水廉价易得且对色谱柱、检测器和环境均无污染,但是司替戊醇不溶于水,易溶于沸点较高的DMF,加之DMF不干扰其他溶剂的检测,故选择DMF为溶剂。

由于顶空进样法可以避免将样品中的难挥发性物质引入色谱柱,减少对色谱柱的污染,因此本文采用顶空进样法。考虑到待测有机溶剂的沸点,比如乙醇、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、异丙醇的沸点均小于90 $^{\circ}$ C,因此笔者将顶空进样瓶加热温度定为90 $^{\circ}$ C。同时在此条件下,对顶空进样瓶的加热时间进行筛选,结果发现加热时间在35 min后,峰面积基本不再改变,因此选择在90 $^{\circ}$ C平衡温度条件下加热35 min。

由于乙醇、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯与异丙醇的沸点范围较窄(39~83 $^{\circ}$ C),笔者曾分别选择柱温为25、30、35 $^{\circ}$ C进行试验。结果在30 $^{\circ}$ C时,乙醇、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯与异丙醇分离较好,25、35 $^{\circ}$ C时出峰过慢或过快、分离度差。故选择30 $^{\circ}$ C作为初温,保持6 min,待5种溶剂完全出峰后,再升高至180 $^{\circ}$ C,使DMF出峰。

药品中有机溶剂残留种类因生产工艺不同而不同。根据人用药品注册的国际技术要求^[10]及2010年版《中国药典》的相关规定^[9],本研究暂将司替戊醇原料药中乙醇、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯与异丙醇的限度定为0.5%、0.06%、0.029%、0.5%和0.5%。

经过验证,笔者建立的方法线性、精密度、回收率、定量限、检测限、系统适用性试验等均较好,能够准确、迅速地检测出司替戊醇原料药中残留的乙醇、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙

阿莫西林胶囊中高分子聚合物测定方法的改进

蒋婷*,袁明勇,郑玲利(成都医学院第一附属医院,成都 610500)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)33-3152-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.33.29

摘要 目的:改进2010年版《中国药典》中阿莫西林胶囊中高分子聚合物的测定方法。方法:采用反相高效液相色谱法,使用高效凝胶色谱柱TSK-GEL G2000SWXL代替SephadexG-10凝胶柱,流动相用0.005 mol/L磷酸盐缓冲液(pH值7.0)-乙腈(等度洗脱)代替pH 8.0磷酸盐缓冲液-水(梯度洗脱),进样量由20 μ l代替100~200 μ l,柱温为25 $^{\circ}$ C,检测波长为254 nm。结果:阿莫西林主峰与高分子聚合物峰实现完全基线分离,分离度大于1.5,分析时间为20 min左右,理论板数不低于2 000;阿莫西林检测质量浓度线性范围为1.528~21.388 μ g/ml($r=0.999\ 9$),重复性试验RSD=1.27%($n=5$),检测限为6.012 ng。而原方法理论板数不低于700,分析时间约为50 min。结论:改进后方法比原方法柱效高、峰形对称,重复性更好,进样量更小,分析时间更短,操作更简便快捷,且结果可靠。

关键词 阿莫西林胶囊;高分子聚合物;反相高效液相色谱法;分子排阻色谱法;TSK-GEL G2000SWXL色谱柱;含量测定

Improvement of the Determination Method for High-molecular Polymer in Amoxicillin Capsules

JIANG Ting, YUAN Ming-yong, ZHENG Ling-li (The First Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To improve the determination method for the high-molecular polymer in Amoxicillin capsules in *Chinese Pharmacopoeia* (2010 edition). METHODS: RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on TSK-GEL G2000SWXL column replacing SephadexG-10 gel column with mobile phase consisted of 0.005 mol/L phosphate buffer solution (pH 7.0)-acetonitrile (isocratic elution) replacing phosphate buffer solution (pH 8.0)-water (gradient elution). The sample size was 20 μ l instead of 100-200 μ l, and the column temperature was 25 $^{\circ}$ C. The detection wavelength was set at 254 nm. RESULTS: The peak of high-molecular polymer was completely separated from the main peak of amoxicillin; separation rate was higher than 1.5, and separation time was 20 min around; the number of the theoretical plate was no less than 2 000. The linear range of amoxicillin was 1.528-21.388 μ g/ml ($r=0.999\ 9$). The RSD of repeatability test was 1.27% ($n=5$), and the limit of detection was 6.012 ng. The number of the theoretical plate of primary method was no less than 700, and analysis time was 50 min around. CONCLUSIONS: The new method is of higher column efficiency, more symmetrical peak type, smaller sample size, shorter analysis time, simpler operation and more reliable results, compared to primary method.

KEY WORDS Amoxicillin capsules; High-molecular polymer; RP-HPLC; Molecular exclusion chromatography; TSK-GEL G2000SWXL column; Content determination

酯与异丙醇。

参考文献

- [1] 陈玲,邹栩.司替戊醇[J].中国药科大学学报,2008,39(5):481.
- [2] Madelmont JC, Dupuy JM, Rapp M, et al. Marquage par 14 C et 3 H du 4,4-dimethyl-1-(methylenedioxy-3,4-phenyl)-1-pentene-3-ol ou stiripentol[J]. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, 1992, 31 (11): 961.
- [3] Vallet FM. 1-(3,4-methylenedioxy-phenyl)-4,4-dimethyl-1-en-3-ol:US,3910959[P].1975-10-07.
- [4] Casta LR, Hillier K. Stiripentol[J]. *Drugs Fut*, 1980, 5(8): 413.
- [5] Astolin J. Action of new ethylenic alcohols on the central nervous system[J]. *Eur J Med Chem-Chim Ther*, 1978, 13 (1):41.
- [6] 刘松,何源.高纯度洋茉莉醛生产工艺:中国,2009 10191127.5[P].2012-10-14.
- [7] 杜玉民,张恺,方瑜.一种司替戊醇的制备方法:中国,201110417419.3[P].2011-12-14.
- [8] 胡艾希,伍智林,叶姣.一种司替戊醇的制备方法:中国,201210200284.X[P].2012-06-18.
- [9] 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61-63.
- [10] 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,2000:82-89.

* 药师,硕士研究生。研究方向:药物分析。E-mail:405445347@qq.com

(收稿日期:2013-05-07 修回日期:2013-05-28)