

盐酸沙格雷酯有机溶剂残留量的 GC 法测定

陈小青¹, 朱侃¹, 陈华明², 李钢¹

(1 南京师范大学分析测试中心, 江苏 南京 210046)

(2 南京康然医药科技有限公司, 江苏 南京 210028)

[摘要] 为了建立气相色谱法测定盐酸沙格雷酯中丙酮、乙醇、四氢呋喃、乙腈、甲苯 5 种有机溶剂残留的方法, 采用内壁涂有 PEG-20M 的毛细管柱为色谱柱, 氢火焰离子化 (FID) 检测器为检测器, 载气为氮气, 柱温 70℃, 汽化室 150℃, 检测器 250℃。在以上色谱条件下, 丙酮、乙醇、四氢呋喃、乙腈、甲苯均能得到良好的分离, 溶剂对测定无影响, 在测试浓度范围内, 峰面积与浓度线性关系良好 ($r > 0.991$), 进样精密度实验的 RSD 值均小于 5.0%, 丙酮、乙醇、四氢呋喃、乙腈、甲苯最低检测限分别为 0.3 $\mu\text{g/mL}$ 、0.4 $\mu\text{g/mL}$ 、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 、0.4 $\mu\text{g/mL}$ 、0.9 $\mu\text{g/mL}$ 。本方法简单、准确、灵敏度高, 重现性好, 可用于该药的有机溶剂残留的测定。

[关键词] 盐酸沙格雷酯, 溶剂残留, 气相色谱法

[中图分类号] R927.11 [文献标志码] A [文章编号] 1001-4616(2011)02-0060-04

Determination of Residue Organic Solvents in Crude Drug of Sarpogrelate Hydrochloride by GC

Chen Xiaoqing¹, Zhu Kan¹, Chen Huaming², Li Gang¹

(1 Analysis & Testing Center, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China)

(2 Chen'an Pharmtech Co., Ltd., Nanjing 210028, China)

Abstract To establish a method of gas chromatography (GC) for the determination of residual organic solvents in sarpogrelate hydrochloride, the residue organic solvents in sarpogrelate hydrochloride were separated by PEG-20M capillary column with an FID detector. The carried gas was nitrogen, the column temperature was 70℃, the vaporizer temperature and the detector temperature were controlled at 150℃ and 250℃ respectively. The detected solvents were separated completely. The calibration curve of each solvent showed a good linear relationship ($r > 0.991$) with good precision and accuracy (RSDs were less than 5%). The LODs of acetone, ethanol, tetrahydrofuran, acetonitrile and methylbenzene were 0.3 $\mu\text{g/mL}$, 0.4 $\mu\text{g/mL}$, 0.2 $\mu\text{g/mL}$, 0.4 $\mu\text{g/mL}$, 0.9 $\mu\text{g/mL}$. The established method is simple, efficiency and can be used for the determination of residual solvents in sarpogrelate hydrochloride.

Key words sarpogrelate hydrochloride, residue organic solvents, GC

药品中的残留溶剂是指在合成原料、辅料或制剂生产过程中使用或产生的挥发性未能被全部清除的有机化学物质, 服用后对人体有毒性和致癌作用, 近年来日益引起各方面的重视^[1]。

盐酸沙格雷酯 (sarpogrelate hydrochloride) 是日本三菱制药株式会社公司研发的 5-HT₂ 受体拮抗剂和血小板聚集拮抗剂, 1993 年首次在日本上市, 临床主要用于改善伴有溃疡、疼痛及冷感的慢性血栓闭塞性脉管炎等缺血症状^[2]。1998 年在我国批准进口片剂 (100mg), 商品名安步乐克 (Anplag), 目前原料药已有药厂申报, 但关于其溶剂残留的研究未见报道。根据合成工艺, 制备过程中用到的溶剂包括乙醇、四氢呋喃、丙酮、乙腈、甲苯。因此对可能残留的溶剂乙醇、四氢呋喃、丙酮、乙腈、甲苯进行考察。按照人用药品注册技术规范国际协调会 (ICH) 相关要求和《中国药典》2010 年版^[3]二部附录 VIII P 残留溶剂测定法的相关规定, 丙酮、乙醇属于 III 类溶剂, 限度为 0.5%, 甲苯、四氢呋喃、乙腈为 II 类溶剂, 限度分别为 0.089%、

收稿日期: 2010-11-15

基金项目: 江苏省生物医药材料测试服务平台 (BM2007132)。

通讯联系人: 陈华明, 博士, 研究方向: 药物化学。E-mail: chen_huaming@yahoo.com.cn

0.072%、0.041%, 为方便研究并严格控制质量, III类溶剂采用 0.1% 限度进行研究. 根据参考相关文献^[4-6]制定了 GC 法测定盐酸沙格雷酯中溶剂残留的色谱方法, 实验结果显示该法快速简便, 结果准确, 重现性良好.

1 仪器与试剂

福立 9790气相色谱仪, 浙大智达 N2000工作站, 丙酮(分析纯, 上海实验化学试剂公司)、乙醇(分析纯, 上海实意化学试剂公司)、四氢呋喃(分析纯, 上海实验化学试剂公司)、乙腈(分析纯, 天津科密欧化学试剂公司)、甲苯(分析纯, 上海久亿化学试剂供公司). 实验室所用的水为二次蒸馏水(色谱检验无杂峰). 供试品盐酸沙格雷酯(由南京康然医药科技公司提供, 批号: 061616 061618 061620).

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验

福立 9790气相色谱仪, 色谱柱为内壁涂有 PEG-20M 的毛细管柱(30m × 0.32mm × 0.5 μm). 柱温 70℃; 载气: 氮气; 流速: 30 mL/min; 汽化室 150℃, 氢火焰离子化检测器(FID) 250℃. 柱前压为 0.5 kg/cm².

精密称取丙酮、乙醇、四氢呋喃、乙腈、甲苯与 1,4-二氧六环(内标)适量, 加水溶解并稀释制成每 1 mL中分别含丙酮、乙醇、乙腈、四氢呋喃、甲苯与二氧六环约 10 μg 10 μg 4.1 μg 7.2 μg 8.9 μg 6.4 μg 的混合溶液, 进样测试, 各峰之间的分离度符合要求(R > 1.5), 理论板数按丙酮峰计算为 47 800, 按乙醇峰计算为 52 900, 按乙腈峰计算为 58 000, 按四氢呋喃峰计算为 57 900, 按甲苯峰计算为 52 300 空白溶剂对测定无影响, 见图 1.

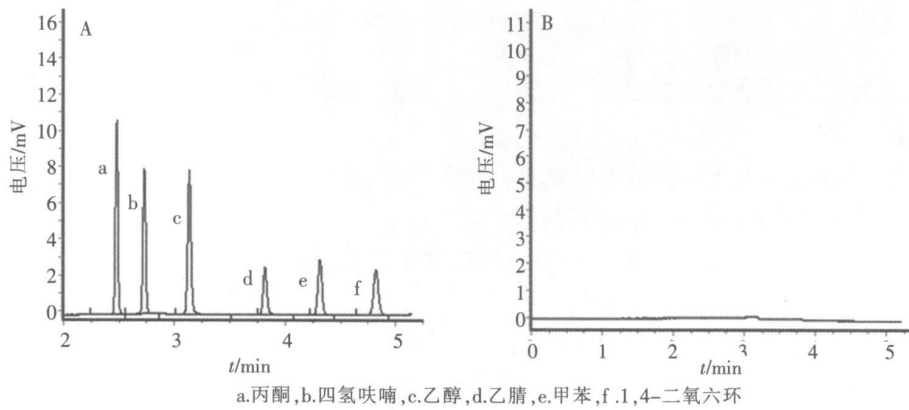


图 1 对照品溶液(A)和空白溶液(B)的气相色谱图
Fig.1 GC chromatograms of reference substances(A) and blank solvent(B)

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品储备液的制备

分别精密称取丙酮 100mg 乙醇 100mg 四氢呋喃约 72mg 乙腈 41mg 甲苯 89mg 置于 500 mL容量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 充分振摇, 作为对照品储备液.

2.2.2 内标液的制备

精密称取分析纯 1,4-二氧六环 80mg 置于 250 mL容量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 作为内标储备液.

2.2.3 对照品溶液的制备

精密量取对照品储备液 0.5 mL置于 10 mL容量瓶中, 精密量取内标溶液 0.2 mL置上述容量瓶中, 用水稀释至刻度即得.

2.2.4 供试品溶液的制备

精密称取盐酸沙格雷酯 0.1 g 精密量取内标溶液 0.2 mL, 置于 10 mL容量瓶中, 加水溶解并稀释至刻

度,充分振摇,摇匀,即得.

2.3 线性关系

精密称取“1.2.1”下的对照品储备液 0.3 0.4 0.5 0.6 0.7 mL 分别置于 10mL 容量瓶中,另精密量取内标溶液 0.2 mL 置上述容量瓶中,用水稀释至刻度.将上述溶液分别注入气相色谱仪,测定峰面积.以浓度 $C(\mu\text{g/mL})$ 为横坐标,以峰面积与内标峰面积之比 (A_s/A_i) 为纵坐标,进行线性回归分析,结果见表 1.

表 1 5 种对照品溶剂的回归方程,线性范围和相关系数

Table 1 Regression equation, linear range and correlation coefficient of five standards			
溶剂	回归方程	线性关系 ($\mu\text{g/mL}$)	相关系数 r
丙酮	$A_s/A_i = 0.0263C - 0.0171$	59.88~139.72	0.9954
乙醇	$A_s/A_i = 0.0226C + 0.0307$	6.02~14.04	0.9987
乙腈	$A_s/A_i = 0.021C + 0.0006$	2.55~5.95	0.9987
甲苯	$A_s/A_i = 0.0154C + 0.0969$	5.36~12.50	0.9967
四氢呋喃	$A_s/A_i = 0.0312C - 0.0596$	4.28~9.98	0.9917

2.4 进样精密度实验

取“2.2.3”下的溶液,连续进样 5 次,计算丙酮、乙醇、四氢呋喃、乙腈、甲苯的峰面积与内标的峰面积之比 (A_s/A_i) 和 RSD, 各组分 5 次重复进样相对标准偏差均小于 5%, 进样精密度较好. 结果见表 2

表 2 进样精密度试验

Table 2 The precision test of sample injection							
溶剂	1	2	3	4	5	平均	RSD /%
丙酮	2.364	2.309	2.273	2.382	2.366	2.339	2.0
四氢呋喃	1.833	1.858	1.785	1.919	1.836	1.846	2.6
乙醇	2.256	2.153	2.208	2.208	2.250	2.215	1.9
乙腈	0.848	0.857	0.830	0.836	0.852	0.845	1.3
甲苯	0.628	0.615	0.649	0.668	0.601	0.632	4.2

2.5 检测限的测定

取对照品溶液用水依次稀释成一系列浓度的溶液, 分别进样直至峰高为基线噪音水平的 2~3 倍, 结果表明, 在选定色谱条件下进样 1 μL , 丙酮的检测限为 0.3 $\mu\text{g/mL}$, 乙醇的检测限为 0.4 $\mu\text{g/mL}$, 四氢呋喃的检测限为 0.2 $\mu\text{g/mL}$, 乙腈的检测限为 0.4 $\mu\text{g/mL}$, 甲苯的检测限为 0.9 $\mu\text{g/mL}$. 上述结果表明, 本仪器的检测灵敏度能够满足本项检测的要求.

2.6 回收率实验

精密称取已知各溶剂含量的盐酸沙格雷酯样品 0.1 g 再精密量取内标溶液 0.2 mL, 置于 10 mL 容量瓶中, 共 9 份, 分别精密加入对照品储备液 0.4 mL, 0.5 mL, 0.6 mL, 各 3 份, 分别加水溶解并稀释至刻度, 摇匀. 按“2.1”项目下的色谱条件进行分析, 按内标法以峰面积计算, 丙酮、乙醇、四氢呋喃、乙腈、甲苯平均回收率分别为 100.8%、100.5%、99.2%、96.8%、99.3%, RSD 分别为 1.1%、1.0%、2.4%、2.5%、1.0%.

2.7 供试品的检测

分别量取“2.2.3”对照品溶液和“2.2.4”供试品溶液各 1 μL 注入气相色谱仪, 记录色谱图, 按内标法以峰面积计算. 3 批样品 (061016 061018 061020) 的残留量检查结果分别见表 3

表 3 供试品中有机溶剂残留量测定

Table 3 Determination of residue organic solvents of test sample						
批号	称样 /g	丙酮 /%	乙醇 /%	乙腈 /%	四氢呋喃 /%	甲苯 /%
061016	0.1030	0.011	未检出	未检出	未检出	未检出
061018	0.1023	0.016	未检出	未检出	未检出	未检出
061020	0.1019	0.017	未检出	未检出	未检出	未检出

3 批样品均未检出乙腈、四氢呋喃、甲苯、乙醇. 由于乙腈、四氢呋喃、甲苯系制备工艺中前面步骤反应使用的溶剂, 经后续反应、后处理, 已经基本除去, 盐酸沙格雷酯粗品用乙醇-丙酮体系重结晶, 用丙酮洗

涤, 已完全除去. 重结晶溶剂乙醇-丙酮经抽滤、丙酮洗涤, 也基本除去, 没有残留. III类溶剂丙酮残留量在 0.01% ~ 0.02%, 远低于 ICH 允许的限度 (0.5%).

3 讨论

3.1 内标物的选择

本文采用的是 1,4-二氧六环作为内标物, 它可以与水任意比互溶, 并且与其他的有机溶剂有很好的分离度.

3.2 温度

本实验中柱温的选择尝试了 50℃、60℃、70℃、80℃等几个温度, 实验结果表明柱温选择 70℃时图谱的分离度和峰形显示较好的效果.

3.3 溶剂的选择

实验中所需测的有机溶剂乙腈、乙醇、四氢呋喃、丙酮和样品均有较好的水溶解度. 而甲苯在水中的溶解度为 0.048%, 大于要求的 89×10^{-6} 的限度, 因此可以采用水做溶剂. 以水为溶剂可以避免以二甲基亚砜等为溶剂时溶剂峰影响测试组分的分离, 需要程序升温等缺点, 缩短了测试时间, 提高了检测灵敏度.

[参考文献]

- [1] 周海钧. 药品注册的国际技术要求 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 126
- [2] Satoh K, Yatom i Y, Ozaki Y. A new method for assessment of an anti- 5HT_{2A} agent sapogrelate hydroch bridge on platelet aggregation [J]. JThromb Haemost 2006 4(2): 479-481.
- [3] 中国药典 2010. VolII (二部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010
- [4] 胡昌勤, 刘颖. 中国药典 2005年版 (二部)残留溶剂检查法介绍 [J]. 中国药品标准, 2005, 6(3): 52
- [5] 祝波, 陈安珍. 马来酸依那普利残留溶剂检测方法研究 [J]. 药物分析杂志, 2008, 28(9): 1 524
- [6] 梁祈, 罗卓雅, 李晨辉. 顶空毛细管气相色谱法测定原料药它唑巴坦中残留溶剂 [J]. 药物分析杂志, 2007, 27(8): 1 274

[责任编辑: 顾晓天]