

气相色谱内标法测定氟康唑中间体间二氟苯

李艳霞^a, 叶发青^{b*}, 胡黎川^b, 郭平^b, 陈旭^c, 叶研^c (温州医学院 a. 分析测试中心; b. 药学院; c. 药学院 2001 级药学本科, 浙江温州 325035)

摘要:目的 建立氟康唑中间体间二氟苯含量测定的毛细管气相色谱法。方法 样品经甲醇稀释, 采用分流进样方式, 用 HP-5 弹性石英毛细管柱经柱程序升温技术分离, FID 检测器检测, 内标法计算含量。结果 三水平的相对回收率为 98.29 ~ 102.68%, 绝对回收率为 98.38 ~ 99.79%, RSD 为 1.12 ~ 3.76%, 被测样品中间二氟苯具有较高的含量。结论 本方法方便可靠, 可用于药物中间体间二氟苯含量的测定。

关键词:气相色谱; 内标法; 间二氟苯

中图分类号: R917.740.1 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2007)02-0138-02

Determination of m-difluorobenzene in Eदारavone by GC Using an Internal Standard Analysis Method

LI Yan-xia^a, YE Fa-qing^{b*}, HU Li-chuan^b, GUO Ping^b, CHEN Xu^c, YE Yan^c (a. Analytical and Testing Center; b. Department of Pharmaceutical Chemistry; c. Grade 2001, Department of Pharmaceutical Chemistry, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine fluconazole intermediate m-difluorobenzene by capillary gas chromatography. **METHODS** Samples were diluted with methanol. Split stream sampling was applied and the split ratio was 25:1. Samples were isolated by HP-5 capillary column (30 m × 320 μm × 0.5 μm), and the temperature was gradually raised at 30°C/min. The results were detected by FID and calculated by internal standard method. **RESULTS** The relative and absolute recoveries were 98.29 ~ 102.68% and 98.38 ~ 99.79% with relative standard deviations of 1.12 ~ 3.76% at three concentration levels. **CONCLUSION** The method was convenience and reliability and could be used for the determination of m-difluorobenzene in medicinal intermediate.

KEY WORDS: gas chromatography; internal standard analysis method; m-difluorobenzene

间二氟苯为氟康唑重要中间体, 在药物合成过程中由于中间体中含有的杂质给成品药的质量带来严重影响, 因此为控制氟康唑药物的质量, 对中间体间二氟苯的质量监测很有必要。有关间二氟苯内标法测定文献未见报道, 本实验首次建立了毛细管气相色谱内标法测定间二氟苯的方法, 该方法简便易行, 快速灵敏、定量准确, 可作为间二氟苯含量的测定。

1 仪器与试剂

仪器: HP-6890N 气相色谱仪 (Agilent 公司), 带氢火焰离子化检测器。

色谱柱: HP-5 石英毛细管柱 (30.0 m × 320 μm × 0.5 μm)。色谱条件: 进样口温度: 250°C; 检测器温度: 250°C; 柱前压 (恒压): 34 kPa; 氢气流速: 40 mL/min; 空气流速: 450 mL/min; 尾吹 (氮气): 45 mL/min; 分流比: 1:25; 升温程序:

基金项目: 温州市科技计划项目 (G2004082)

* 通讯作者: 叶发青, 教授, 硕士生导师。Tel: 86-577-8668 9793, Fax: 86-577-86689983, E-mail: yfq@wzmc.net

50℃ (1 min), 30℃ /min 升至 200℃ (1 min); 进样量: 1.0 μL。

试剂: 对照品: 对二氟苯 (99%); 1-氯-2, 4-二氟苯 (98%); 间二氟苯 (98%); (以上试剂均由百灵威试剂公司提供)。甲醇 (一级色谱纯, 天津市四友生物医学技术有限公司); 间二氟苯样品 (上海天莲精细化工有限公司)。

2 测定方法

2.1 对照品溶液的配制

称取对照品间二氟苯 1.0005 g 于 100 mL 量瓶中, 甲醇定容, 浓度为 10.005 g/L, 即为对照品储备液; 另称取内标物 1.0120 g 1-氯-2, 4-二氟苯于 10 mL 量瓶中, 甲醇定容, 浓度为 101.20 g/L, 即得内标溶液, 均于冰箱中保存。

2.2 色谱条件的选择

采用极性较低的 HP-5 毛细管柱, 间二氟苯出峰较快, 峰形尖锐。采用一阶快速升温, 能达到预期的分离效果, 且 9 min 就能完成一次测样, 缩短了分析时间。

2.3 内标物质的选择

本实验将对二氟苯及 1-氯-2, 4-二氟苯两种内标物作了对比, 结果发现对二氟苯出峰较晚, 与间二氟苯保留时间相差太大, 通过改变升温程序, 两者出峰时间有所缩短, 但仍不够理想。以 1-氯-2, 4-二氟苯为内标物, 保留时间合适, 分离效果好。

2.4 线性范围

移取上述对照品 5, 10, 20, 40, 60 μL 于 10 mL 量瓶中, 分别加入 4 μL 上述内标物, 甲醇定容, 配置成标准系列浓度为: 5.0025, 10.005, 20.010, 40.020, 60.030 μg/mL 所含内标物浓度为: 40.48 μg/mL。在上述色谱条件依次测定, 得到标准曲线的回归方程: $y = 1.412x + 0.01213$, 其中 y 为峰面积比 (A_p/A_i), x 为浓度比 (C_p/C_i)。相关系数 0.9995, 表明该方法线性关系良好。采用逐级稀释对照品的方式测定间二氟苯的检测限 (以 3 倍的信噪比计算) 为 0.508 μg/mL。

2.5 回收率实验

取空白样品加入不同浓度的间二氟苯, 使样品中间二氟苯添加浓度分别为: 5.0025, 20.010, 60.030 μg/mL, 加入内标液, 使得内标液浓度为 40.480 μg/mL。在稳定的条件下测定其含量, 根据线性方程计算相对回收率, 平行实验 5 次计算平均回收率及相对标准偏差。另配制标准溶液浓度为 5.0025, 20.010, 60.030 μg/mL, 直接进样, 以两者得 y 值计算绝对回收率, 平行实验 5 次, 取平均值并计算相对标准偏差, 其结果如表 1 所示。

2.6 样品分析

称取一定量样品于 10 mL 量瓶中, 甲醇定容, 混匀。移取 20 μL 该样品于 10 mL 量瓶中, 加入内标液, 定容, 混匀。待稳定后测定, 取 3 批样品, 每批平行实验 6 次取平均值, 测得其百分含量如表 2 所示。

表 1 回收率和精密度实验

Tab 1 The tests of recoveries and RSD

浓度 /(μg/mL)	实测值 /(μg/mL)	相对 回收率 /%	绝对 回收率 /%	RSD /%
5.0025	4.9629	102.68	99.57	3.76
	5.2902			
	4.8914			
	5.2831			
	5.2547			
20.010	19.7552	98.29	99.79	1.12
	19.8512			
	19.4859			
	19.3826			
	19.8676			
60.030	58.5006	99.61	98.38	1.67
	60.7988			
	59.9143			
	60.6787			
	59.1007			

表 2 样品的分析结果

Tab 2 Determination results of samples

样品 批号	样品浓度 /(μg/mL)	测定量 /(μg/mL)	百分含量 /%	RSD /%
051103	21.57	21.51	99.72	1.35
051105	21.72	21.65	99.68	1.18
051110	20.27	20.21	99.70	1.23

3 结果与讨论

3.1 建立了气相色谱内标法测定氟康唑中间体间二氟苯的含量。间二氟苯含量的测定文献报道不多, 且采用的是峰面积归一法^[1], 由于未考虑响应因子的校正, 结果缺乏准确性。而内标法弥补了这一方法的不足, 提高了测定结果的准确性。

3.2 选用与间二氟苯结构相似的 1-氯-2, 4-二氟苯作内标, 其灵敏度与分离度均符合内标法定量的要求。

3.3 本方法可用于定量分析氟康唑中间体间二氟苯的含量, 结果准确可靠, 方便快捷, 对于一些药物中间体产品检验和药品质量监测具有一定的参考价值。

参考文献

- [1] JIANG Y S. Determination of m-difluoro-benzene by capillary gas chromatography [J]. Zhejiang Chemical Industry (浙江化工), 2000, (4): 30.

收稿日期: 2006-01-14