

毛细管气相色谱法测定氟马西尼中有机溶剂残留量

迟颖红, 陈东英* (中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

摘要:目的 建立测定氟马西尼原料药中乙醇、叔丁醇、二氯甲烷、*N*、*N*-二甲基甲酰胺(DMF)和二甲基亚砜(DMSO)残留量的毛细管气相色谱法。方法 采用直接进样法,以甲醇为溶剂。色谱柱为 HP-5 柱(0.53 mm×30 m, 5.0 μm);载气为氮气;分流进样,分流比为 8:1;进样口温度为 250℃;检测器为氢火焰离子检测器(FID),温度为 280℃;采用程序升温:柱温起始为 45℃,保持 5 min,然后以 20℃·min⁻¹的升温速率升温至 200℃。结果 五种有机溶剂在 6~128 μg·mL⁻¹浓度范围内线性关系良好,平均回收率在 98%~104%之间。结论 本法能快速准确地对氟马西尼中 5 种有机残留溶剂进行检测,满足了对氟马西尼生产工艺中的溶剂残留的控制要求。

关键词: 氟马西尼; 有机溶剂; 残留; 毛细管气相色谱

中图分类号: R917.101; R971

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2007)05-0386-03

Determination of Residual Organic Solvents in Flumazenil by Capillary Gas Chromatography

CHI Ying-hong, CHEN Dong-ying* (Department of Pharmaceutical Analysis, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an accurate capillary gas chromatography method for the determination of residual organic solvents in Flumazenil, including ethanol, t-butyl alcohol, dichloromethane, *N*, *N*-dimethylformamide and dimethyl sulfoxide. **METHODS** Samples were dissolved in methanol and injected at split ratio of 8:1. The injector temperature was set at 250℃ and the temperature of FID detector was set at 280℃. Nitrogen was used as carrier gas and an HP-5 capillary column(0.53 mm×30 m, 5.0 μm) was used. A temperature program was applied initializing at 45℃ for 5 min, then raised to 200℃ at a rate of 20℃·min⁻¹. **RESULTS** The five solvents had good linearity within the concentration range of 6~128 μg·mL⁻¹ and the average recoveries ranged from 98% to 104%. **CONCLUSION** This method is simple and fast for the accurate determinations of residual organic solvents, which can be used for procedure quality control of Flumazenil.

KEY WORDS: flumazenil; residual organic solvents; capillary gas chromatography

氟马西尼(flumazenil, **1**), 别名氟马泽尼(flumazepil), 商品名安易醒®(Anexate)是第一个特异性苯二氮䓬类药物(benzodiazepines, BZs)的拮抗剂,通过竞争性抑制苯二氮䓬类药物与受体结合,逆转其中枢药理作用,达到催醒作用^[1]。该药已收录于美国药典和欧洲药典,但尚未收录于中国药典。近年来,进一步发现 **1** 对于急慢性重症肝炎患者的肝性脑病也具有良好疗效^[2],从而具有良好的再开发前景。目前该药由上海博速医药科技有限公司仿制并向国家食品药品监督管理局申报。该公司在 **1** 原药合成过程中使用了乙醇、叔丁醇、二氯甲烷、*N*、*N*-二甲基甲酰胺(DMF)及二甲基亚砜(DMSO)等五种有机溶剂。依据 ICH 指导原则^[3]和现行版中国药典^[4]规定,乙醇和 DMSO 的限度要求均为 5000 ppm,二氯甲烷的限度为 600 ppm,DMF 的限度为 880 ppm。为了控制有机溶剂在该药品中的残留量,美国药典规定了采用 DMSO 作为溶解 **1** 原药的溶剂,进行氯仿,二氯甲烷,三氯乙稀和 1,4-二氧六环的限度残留检查^[5];另外要求其他溶剂残留也应符合 ICH 指导原则规定。据此,笔者根据本品在合成

中使用到的溶剂,在试验本品的溶解性基础上,针对上述相关法规要求,采用气相色谱法对以上各有机残留溶剂建立分离条件并测定其残留量。

1 仪器与试剂

Agilent 6890 型气相色谱仪,包括 FID 检测器, ChemStation 化学工作站,7683 自动进样器(美国 Agilent 公司)。Sartorius M2P 型电子天平(瑞士 Sartorius 公司)。甲醇(HPLC 级,德国 Merck 公司),乙醇、二氯甲烷、叔丁醇、*N*、*N*-二甲基甲酰胺(DMF)、二甲基亚砜(DMSO)等试剂均为分析纯。原料药(flumazenil, **1**)(上海博速医药科技有限公司提供),批号为 031010,031012,031015。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 HP-5 毛细管色谱柱(0.53 mm×30 m, 5.0 μm, 美国 Agilent);进样口温度为 250℃;柱温为 45℃保持 5 min,然后以 20℃·min⁻¹的升温速率升温至 200℃;检测器为氢火焰离子检测器(FID),温度设为 280℃;载气为高纯氮

作者简介:迟颖红,女,硕士生
E-mail: dychen@mail.shnc.ac.cn

* 通讯作者:陈东英,女,博士,研究员

Tel: 86-21-50806600-3120

Fax: 021-50806053

气(>99.999%),分流比为8:1,空气和氢气流速分别为450 mL·min⁻¹和40 mL·min⁻¹;进样量为1.0 μL。

在上述色谱条件下,各溶剂色谱图见图1,各溶剂峰之间分离度在1.5以上。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品储备液 分别精密称取乙醇0.1594 g、叔丁

醇0.1529 g、二氯甲烷0.1594 g、N,N-二甲基甲酰胺0.1512 g、二甲亚砜0.1560 g至同一个50 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀;精密吸取上述溶液5.0 mL至50 mL量瓶中,甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 供试品溶液 称取1原料药60 mg样品,精密称定,置于5 mL量瓶中,以甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得。

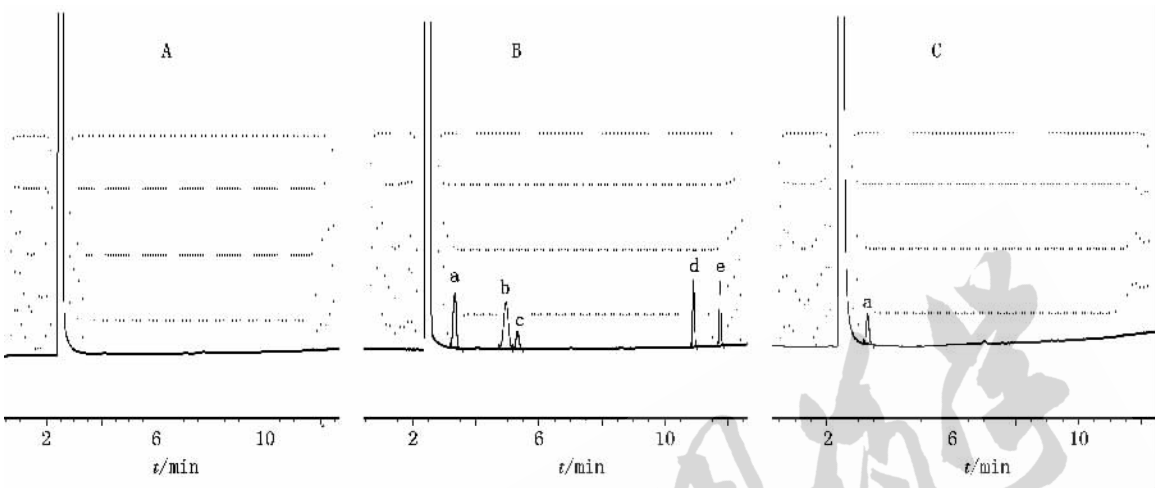


图1 氟马西尼中有机溶剂残留溶剂分离和测定气相色谱图
A: 空白;B:溶剂对照品;C:氟马西尼样品;a. *t*_{乙醇} =3.3 min; b. *t*_{叔丁醇} =4.9 min; c. *t*_{二氯甲烷} =5.3 min; d. *t*_{N,N-二甲基甲酰胺} =10.9 min; e. *t*_{二甲亚砜} =11.7 min

Fig 1 Gas chromatograms of residual organic solvents determination in Flumazenil sample

A: blank; B: reference standards; C: Flumazenil sample

2.3 检测限

取对照品储备液用甲醇逐步稀释,按信噪比S/N=3测得五种溶剂的检测限。结果见表1。

2.4 线性范围

精密吸取对照品贮备液0.2,0.5,1.0,2.0,4.0 mL至10 mL量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,分别作为线性1号、2号、3号、4号、5号试液。按照上述色谱条件依次进样。以组分峰面积A对进样浓度C(μg·mL⁻¹)作线性回归。结果见表1。

表1 5种有机溶剂的线性回归方程和检测限

Tab 1 The linearity equations, correlations and LODs of the related organic solvents

溶剂	回归方程	<i>r</i>	线性范围 /μg·mL ⁻¹	检测限 /μg·mL ⁻¹
乙醇	A = 1.6359C + 2.9292	0.999 9	6.7 ~ 127.9	1.6
叔丁醇	A = 2.6843C + 1.7969	0.999 8	6.1 ~ 122.3	0.6
二氯甲烷	A = 0.5832C - 0.2776	0.999 7	6.4 ~ 127.6	1.6
DMF	A = 1.3112C + 1.2026	1.000 0	6.0 ~ 121.0	0.3
DMSO	A = 1.2755C + 0.6839	1.000 0	6.2 ~ 124.8	0.3

2.5 精密度试验

取线性测定项下3号溶液连续进样6次,按照上述色谱条件进行测定,计算各溶剂峰面积的RSD(%)分别为乙醇2.7%,叔丁醇1.9%,二氯甲烷2.6%,DMF为1.5%及DMSO为1.2%。

2.6 回收率试验

分别精密称取批号为031010的样品60.8 mg置于3个10 mL量瓶中,分别向其中加入对照贮备溶液0.4,1.5,2.5 mL,用甲醇溶解并定容,摇匀,依法进行测定。乙醇的平均回收率为103.2%,RSD为7.9%;叔丁醇的平均回收率为101.6%,RSD为5.1%;二氯甲烷的平均回收率为98.8%,RSD为2.0%;DMF的平均回收率为102.4%,RSD为4.7%;DMSO的平均回收率为102.6%,RSD为4.4%。

2.7 样品测定

取样品溶液,按照上述色谱条件进行测定,结果见表2。

表2 样品中溶剂残留测定结果

Tab 2 Determination of residual organic solvents in samples

批号	残留量/ppm				
	乙醇	叔丁醇	二氯甲烷	DMF	DMSO
031010	584	未检出	未检出	未检出	未检出
031012	206	未检出	未检出	未检出	未检出
031015	153	未检出	未检出	未检出	未检出

3 讨论

在本研究中,曾分别选用丙酮,氯仿,乙酸乙酯和四氢呋喃等作为溶解氟马西尼的溶剂,但是这四种溶剂在对照品溶液试验中均发现存在干扰,难以达到满意的分离度。选用甲醇作为溶剂,虽然残留的乙醇峰相邻甲醇峰后出现,但是通过改变程序升温条件和进行色谱柱选择等优化过程,两者之间可以获得较好的分离效果,从而不影响微量乙醇的定量。与文献方法相比较^[6-7],本方法有效降低了DMSO和DMF的

检测限近一个数量级。故用本测定法可用于生产工艺中的溶剂残留的控制检查,而且简单、快速、灵敏度高。

REFERENCES

- [1] ZHANG X R, NIU S Q. Clinical study for Flumazenil [J]. J Chin Pharm Sci(中国药学杂志),1998, 3(2):B114.
- [2] LI R J, YANG Z X. The drug therapy for hepatic encephalopathy [J]. J Chin New Drug(中国新药杂志),2001,10(3):B175.
- [3] Impurities: Guideline for residual solvents Q3C(R3) ICH Harmonized Tripartite Guideline, Current Step 4 version, <http://www.ich.org>.
- [4] Ch. P(2005) Vol II(中国药典 2005 年版. 二部)[S]. 2005.

- [5] Flumazenil: United States Pharmacopoeia 29, cited from CD Data Collection from Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry
- [6] LIU J L, LI S, LI Z H, *et al.* Capillary gas chromatographic separation and determination of dimethyl sulfoxide and dimethyl sulfone, PTCA(Part B: Chemical Analysis)(理化试验 - 化学分册)[M]. 2002, 38(6):B283.
- [7] CAI T M, JIANG H, TIAN S X. Determination of residual solvent N, N-dimethylformamide in aripiprazole by head space - gas chromatography [J]. J Chin New Drug(中国新药杂志),2005, 14(3):B327.

收稿日期:2006-11-12