

顶空气相色谱法测定氟孕酮中有机溶剂残留量

陈爱瑛,徐世芳,姜丽霞* (浙江省医学科学院药物研究所,杭州 310013)

摘要:目的 建立顶空气相色谱法测定氟孕酮中 4 种有机溶剂残留量的方法。方法 采用顶空气相色谱法, FID 检测器, DB-624(6% 氰丙基苯基-94% 二甲基聚硅氧烷)毛细管柱(30 m × 0.53 mm × 3 μm)。程序升温,载气为氮气,进样口温度 150 ℃,检测器温度 260 ℃。结果 4 种有机溶剂完全分离,在所考察的浓度范围内具有良好线性,甲醇、乙醇、丙酮、醋酸乙酯检测限分别为 0.06, 0.50, 0.25, 0.50 μg · mL⁻¹,精密度 RSD 均小于 5.0%,平均回收率为 98% ~ 104%。结论 经方法学验证,本试验建立的方法简便灵敏,结果准确可靠,适用于氟孕酮原料药中有机溶剂残留量的检测。

关键词:氟孕酮;有机溶剂残留量;顶空气相色谱法

中图分类号: R917.101; R927.12

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2008)08-0721-03

Headspace GC Determination of Residual Solvents in Fluorine Progeterone

CHEN Ai-ying, XU Shi-fang, Jiang Li-xia* (*Institute of Medica Materia, Zhejiang Academy of Medicine, Hangzhou 310013, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for detemining the residues of four kinds of solvents in Fluorine Progeterone by

作者简介:陈爱瑛,女,高级实验师 * 通讯作者:姜丽霞,女,研究员 Tel: (0571) 88215618

headspace gas chromatography. **METHODS** The detector was FID. The analytical column was DB-624 (30 m × 0.53 mm × 3 μm). The injector temperature was 150 °C, and the detector temperature was 260 °C. **RESULTS** It appears a good linearity in the experimental concentration. The detector limit of methanol, ethanol, Acetone, vinyl acetate separately was 0.06, 0.50, 0.25, 0.50 μg·mL⁻¹. The RSD of precision and were all less than 5.0%. The average recovery was 98% - 104%. **CONCLUSION** This method is simple, sensitive, accurate, is can be used for detection of four residual solvents in Fluorine Progeterone.

KEY WORDS: Fluorine Progeterone; residual solvent; Headspace gas chromatography

氟孕酮为人工合成的高效孕激素类似物,其化学名 9α 氟-11β,17α-二羟基孕甾-4烯-3,20-二酮-17醋酸酯。由于该药在合成过程中需使用甲醇、乙醇、丙酮、醋酸乙酯等有机溶剂。有机残留量是对人体有害,故应对原料药中有机溶剂残留量进行控制。本文采用顶空气相色谱法,根据 ICH 对有机溶剂残留量测定的指导原则,并参照欧洲药典(26版)和中国药典 2005 年版有关规定,对上述溶剂的检测方法进行了选择性的方法学验证,结果方法专属性强、灵敏度高,操作简便。

1 供试品

氟孕酮样品由本所药化室提供,批号为 030501、030502、030503、030504、030505。

2 仪器及试剂

分析天平:德国 B110S(0.1 mg)。

Agilent HP6890GC 系列及 HP7694E 顶空进样器,氢火焰离子化检测器(FID); Agilent DB-624(6%氰丙基苯基-94%二甲基聚硅氧烷)毛细管柱(30 m × 0.53 mm × 3 μm)。残留溶剂对照品甲醇、乙醇、丙酮、醋酸乙酯均为分析纯;溶剂 N,N-二甲基乙酰胺为化学纯。

3 检测方法

3.1 色谱条件

柱温:程序升温,30 °C 维持 10 min,以每分钟 40 °C 升温至 240 °C,维持 2 min;检测器温度为 260 °C;进样口温度为 150 °C。顶空瓶平衡温度为 90 °C,平衡时间为 30 min,进样体积为 1.0 mL。载气为氮气,平均线速 35 cm·sec⁻¹。在此条件下,柱子的理论板数依次为:甲醇 18 000、乙醇 12 000、丙酮 13 000 及醋酸乙酯 12 000,保留时间分别为:甲醇 2.1 min,乙醇 3.0 min,丙酮 3.5 min,醋酸乙酯 8.0 min,见图 1。

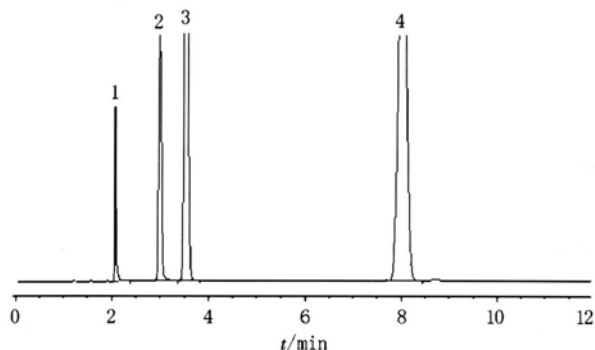


图 1 对照溶液 GC 图

1 - 甲醇; 2 - 乙醇; 3 - 丙酮; 4 - 醋酸乙酯

Fig 1 Gas chromatograms of reference standards

1 - methanol; 2 - alcohol; 3 - acetone; 4 - ethyl acetate

3.2 溶液的制备

经试验,供试品不溶于水、二甲基亚砜等,选用二甲基乙酰胺作为配制溶液的溶剂。

供试溶液制备:按参考文献^[2,3]精密称取本品适量置量瓶中,加溶剂使溶解,配制成浓度约为 0.1 g·mL⁻¹的溶液,精密量取 5.0 mL 置 20 mL 顶空瓶中,加入溶剂 1.0 mL,密封瓶口,作为供试瓶。

参比溶液配制:按 ICH 相应的溶剂残留限度要求,及所配供试溶液的浓度,精密量取 4 种对照溶剂适量,用溶剂稀释制成每 1 mL 中含甲醇 1.5 mg、乙醇 2.5 mg、丙酮 2.5 mg、醋酸乙酯 2.5 mg 的混合对照储备液,精密量取 1.0 mL 于已加有 5.0 mL 供试溶液的顶空瓶中,密封瓶口,作为参比瓶。

3.3 检测结果(标准加入法)

分别取供试瓶和参比瓶顶空进样,记录色谱图,样品供试瓶中出现的相应溶剂色谱峰面积均应小于参比瓶色谱峰 1/2。(注:由于检出的溶剂均远小于相应的限度,故仅对一批样品制备了参比样品)(图 2)。

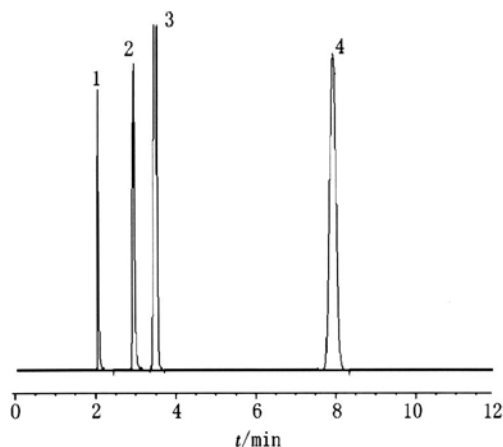


图 2 参比溶液气相色谱图

Fig 2 Gas chromatograms reference solution

3.4 方法验证

3.4.1 专属性

取空白溶剂 6 mL,依法操作。二甲基乙酰胺在 12 min 后(待测溶剂峰位置后)有大峰出现,不干扰 4 种待测溶剂的检测(见图 3)。

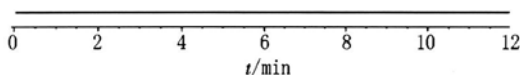


图 3 空白溶剂 GC 图

Fig 3 Gas chromatograms of blank

3.4.2 检测限

将贮备液适当稀释后进样,以基线噪音三倍计算,求得甲醇、乙醇、丙酮、醋酸乙酯检测限,见下表 1。

表 1 检测限实验结果

Tab 1 Detem in of residual organic solvents

溶剂	甲醇	乙醇	丙酮	醋酸乙酯
最低检出 浓度 / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	0.06	0.50	0.25	0.50
相对样品 最低检出量 /%	0.000 06	0.000 5	0.000 25	0.000 5
规定限度 /%	0.3	0.5	0.5	0.5

3.4.3 线性

分别取 3.2 章节中甲醇、乙醇、丙酮、醋酸乙酯混合对照贮备液,稀释成系列浓度,依法测定。以峰面积对相应的浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 作回归处理。

得回归方程及相关系数如下:

甲醇: $y = 0.609 x - 5.15, r = 0.997$;

乙醇: $y = 0.627 x - 12.1, r = 0.996$;

丙酮: $y = 2.193 x - 31.0, r = 0.998$;

醋酸乙酯: $y = 1.471 x - 33.0, r = 0.996$

3.4.4 加样回收试验

取批号为 030502 样品溶液 ($0.1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 2.5 mL 共 9 份,精密加入高、中、低三个浓度贮备液适量 (使分别相当于限度的 10%、50% 和 150%),依法测定。按标准曲线中相对对应点为对照按外标法计算,得甲醇回收率为 97.8% ~ 107.8%,乙醇回收率为 98.1% ~ 104.6%,丙酮回收率为 92.0% ~ 96.8%,醋酸乙酯回收率为 99.2% ~ 101.6%,结果良好。

3.4.5 样品测定 (外标法)

取上述五批样品,依法测定。根据标准曲线的最低点以

外标法计算,得 4 种残留溶剂含量如表 2。

表 2 残留溶剂测定结果

Tab 2 Detem in of residual organic solvents

批号	甲醇含量	乙醇含量	丙酮含量	醋酸乙酯
	/%	/%	/%	含量 /%
030501	0.000 6	0.001 5	0.000 3	0.000 5
030502	0.000 7	0.001 9	0.000 2	未检出
030503	0.000 8	未检出	未检出	未检出
030504	0.000 9	未检出	未检出	未检出
030505	0.000 7	0.000 1	0.000 5	0.000 6

4 讨论

4.1 为了使样品中的残留溶剂尽可能的溶出,曾使用不同的溶剂溶解样品,但均不理想。后选用二甲基乙酰胺作溶剂,经试验,杭州汇普化工仪器有限公司进口分装二甲基乙酰胺在 2 min 左右有峰干扰;而上海三爱思试剂有限公司生产的没有干扰,故选用后者,即能溶解样品又不干扰测定峰的检测。

4.2 甲醇、乙醇、丙酮、醋酸乙酯均为氟孕酮生产过程中引入的有机溶剂。根据 ICH 的有关规定,限度分别为 0.3%、0.5%、0.5%、0.5%。用标准加入法和外标法测定,均符合规定。

参考文献

[1] 残留溶剂测定法 (中国药典 2005 年版,二部) [S]. 2005:附录 VIII P.

[2] ICH 指导委员会,周海钧. 残留溶剂的指导原则,药品注册的国际技术要求,人民卫生出版社,2000: 79-100.

[3] 国家食品药品监督管理局药品审评中心. 化学药物有机溶剂残留量研究技术指导原则, 2005.