

顶空气相色谱法测定米非司酮中的 5 种残留溶剂

柯正方¹, 裴秋菊² (1.浙江省台州市食品药品检验所, 浙江 台州 318000; 2.浙江仙居君业药业有限公司, 浙江 仙居 317300)

摘要: 目的 建立顶空气相色谱法分析米非司酮中甲醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、吡啶 5 种溶剂残留量的测定方法。方法 采用 Agilent DB-624 弹性石英毛细管柱 (30 m × 0.53 mm × 3 μm) 作为分析用色谱柱, 以氮气为载气, FID 检测器, 以二甲亚砜为溶剂, 顶空瓶平衡温度为 90 °C, 平衡时间为 30 min。结果 5 种溶剂在各自的浓度范围内具有良好的线性关系, 相关系数均为 0.999 以上, 平均回收率分别为 98.7%、96.9%、95.7%、95.1% 和 95.2%, 最低检测限分别为 0.000 578%、0.000 258 8%、0.000 745%、0.000 211% 和 0.001 196%。结论 本方法简单, 结果准确, 重复性好, 灵敏度高, 适用于米非司酮中 5 种残留溶剂的测定。

关键词: 顶空气相色谱法; 米非司酮; 残留溶剂

中图分类号: R917.101

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693 (2009) 05-0398-03

Determination of 5 Kinds of Residual Solvents in Mifepristone by Using Headspace Gas Chromatography

KE Zhengfang¹, PEI Qiuju² (1.Taizhou Institute for Food and Drug Control, Taizhou 318000, China; 2. Zhejiang Xianju Junye Pharmaceutical Co., Ltd, Xianju 317300, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a headspace gas chromatography method for determination of five residual solvents including ethanol, dichloromethane, ethyl acetate, tetrahydrofuran and pyridine in mifepristone. **METHODS** The determination was performed on an Agilent DB-624 Capillary column (30 m × 0.53 mm × 3 μm) with nitrogen as carrier gas and FID as detector. Dimethyl sulfoxide was used as solvent, and the equilibrium temperature and time of headspace vial was 90 °C and 30 min, respectively. **RESULTS** Five residual solvents showed good linearity ($r > 0.999$) in the concentration ranges, respectively. The average recovery were 98.7%, 96.9%, 95.7%, 95.1% and 95.2%, respectively, and the LOD were 0.000 578%, 0.000 258 8%, 0.000 745%, 0.000 211%, 0.001 196 %, respectively. **CONCLUSION** The method is simple, accurate, repeatable and sensitive. It is suitable for the determination of residual solvents in mifepristone.

KEY WORDS: headspace gas chromatography; mifepristone; residual solvent

米非司酮为中国药典 2005 年版收载的品种, 是近年来研制的一种抗早孕的药物, 具有终止早孕、抗着床、诱导月经和促进子宫收缩的作用。该药在制备工艺中需使用乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃及吡啶等有机溶剂, 由于二氯甲烷、四氢呋喃、吡啶属第二类溶剂^[1], 毒性较大, 应该限制使用, 而乙醇、乙酸乙酯属第三类溶剂, 在药品 GMP 或其他质量要求限制使用, 故有必要在质量标准中对它们的含量进行有效的控制。本实验采用顶空毛细管气相色谱法测定了米非司酮中的乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃及吡啶残留溶剂中上述 5 种有机溶剂的含量, 方法快速简便, 结果准确可靠。

1 仪器与试剂

Agilent 6890N 气相色谱系统, 7694 顶空进样器 (安捷伦科技有限公司), 乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、吡啶均为分析纯, 米非司酮工

作对照品批号: MR0603, 含量 99.3%, 样品批号: 0612001, 0612002, 0612003, 0701001, 0701002, 含量分别为 99.2%, 99.3%, 99.2%, 99.3%, 99.3%, 浙江仙居君业药业有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 DB-624 弹性石英毛细管柱 (30 m × 0.53 mm × 3 μm), 柱温为起始温度 50 °C, 维持 10 min 后, 以 10 °C·min⁻¹ 的速度升温至 150 °C, 维持 3 min, 载气为高纯氮气, 流速: 3 mL·min⁻¹ 检测器温度 250 °C (FID), 进样口温度 130 °C, 分流比 5:1, 顶空瓶平衡温度 90 °C, 平衡时间为 30 min, 定量环温度 105 °C, 传输管温度 110 °C, 进样量 1 mL, 进样时间 1 min。

2.2 系统适应性试验

准确称取乙醇约 200 mg, 二氯甲烷约 120 mg,

乙酸乙酯约 400 mg, 四氢呋喃约 144 mg, 吡啶约 40 mg, 溶于有适量二甲亚砜的 100 mL 量瓶中并用二甲亚砜稀释至刻度, 摇匀。准确量取此溶液 10 mL 于 100 mL 量瓶中, 加二甲亚砜稀释至刻度, 摇匀。溶液中乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、吡啶的浓度约为 200, 120, 400, 144, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 准确量取 5 mL 于 20 mL 顶空进样瓶中, 按“2.1”项下的色谱条件进行测定, 结果乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、吡啶的保留时间分别为 4.397, 5.886, 9.183, 9.878, 15.710 min, 乙醇-二氯甲烷、二氯甲烷-乙酸乙酯、乙酸乙酯-四氢呋喃、四氢呋喃-吡啶的分离度分别为 13.80、18.33、2.86、33.46。

2.3 线性范围

分别取乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、吡啶适量, 加二甲亚砜制成每 1 mL 约含乙醇 2 000 μg 、二氯甲烷 1 200 μg 、乙酸乙酯 4 000 μg 、四氢呋喃 1 440 μg 、吡啶 400 μg 的溶液, 摇匀, 作为对照品储备液, 精密量取对照品储备液 2.0, 4.0, 8.0, 10.0, 12.0 mL 分别置于 100 mL 量瓶中, 加二甲亚砜稀释至刻度, 摇匀, 制成一系列浓度对照品溶液, 准确量取 5 mL 于 20 mL 顶空进样瓶中, 按“2.1”项下的色谱条件进行测定, 记录色谱图, 测定峰面积, 以对照品溶液浓度为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程, 结果见表 1, 实验结果表明: 在各自的线性范围内, 5 种溶剂均具有良好的线性关系。

表 1 5 种溶剂的工作曲线和回归方程

Tab 1 Calibration curve and equation of 5 solvents

溶剂	回归方程	浓度范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
乙醇	$Y=0.564\ 8\ X-1.394\ 0$ $r=0.999\ 8$	40~240
二氯甲烷	$Y=0.671\ 3\ X-0.207\ 9$ $r=0.999\ 2$	24~144
乙酸乙酯	$Y=1.757\ 0\ X-1.975\ 3$ $r=0.999\ 8$	80~480
四氢呋喃	$Y=2.839\ 7\ X-0.626\ 3$ $r=0.999\ 4$	28.8~172.8
吡啶	$Y=0.612\ 3\ X-1.221\ 6$ $r=0.999\ 3$	8~48

2.4 仪器精密度试验

精密吸取系统适应性项下的对照品溶液, 准确量取 5 mL 于 20 mL 顶空进样瓶中, 按“2.1”项下的色谱条件测定各种溶液的峰面积, 共测定 6 次, 结果乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、吡啶的 RSD 分别为 0.9%, 1.6%, 2.2%, 2.3%, 1.4%。另准确量取系统适应性项下的对照品溶液 5 mL 于预先加有 1 g 米非司酮工作对照品的 20 mL 顶空进样瓶中, 摇匀, 共测定 6 份样品, 按“2.1”的色谱条件测定各种溶液的峰面积, 结果乙醇、二氯甲烷、

乙酸乙酯、四氢呋喃、吡啶的 RSD 分别为 2.2%, 1.9%, 2.1%, 2.0%, 2.2%。试验结果表明本方法的仪器精密度较好。

2.5 回收率试验

准确称取米非司酮样品 3 份, 各 1.0 g, 分别置 20 mL 顶空瓶中, 各加二甲亚砜 5 mL 超声溶解, 摇匀。另精密量取线性范围项下的对照品储备液 8.0, 10.0, 12.0 mL 于 100 mL 量瓶中, 以二甲亚砜稀释至刻度, 摇匀。作为溶液 a、b、c。精密量取上述 a、b、c 溶液 5 mL 于已加有 1 g 米非司酮的 20 mL 顶空进样瓶中, 得到加标样品溶液, 每个浓度的溶液配制 3 份。取上述溶液按“2.1”的色谱条件进行测定, 按峰面积计算各溶剂的回收率。5 种溶剂的回收率分别为 98.7%、96.9%、95.7%、95.1%和 95.2%, RSD 分别为 3.4%、0.7%、0.6%、2.3%和 4.2%。

2.6 最低检测限与定量限测定

分别取乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、吡啶适量加二甲亚砜分别制成每 1 mL 约含 10 μg 的溶液作为储备液, 分别取各储备液逐级稀释, 并进样测定, 直到被测峰的信噪比为 10 时, 相应的浓度即为定量限(LOQ), 稀释至被测峰的信噪比为 3 时相应浓度即为最低检测限 (LOD)。结果乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、吡啶的检测限分别为 1.156, 0.516, 1.490, 0.422, 2.393 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 定量限分别为 5.249, 4.333, 5.015, 1.930, 9.476 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.7 耐用性

精密量取回收率试验项下的供试液 a、b、c 各 5 mL 于 20 mL 顶空瓶中, 按“2.1”项下的色谱条件测定各种溶液的峰面积, 考察不同柱温、不同载气流速、不同时间下的稳定性, 结果在柱温 45、50、55℃条件下测得 3 种浓度乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、吡啶的峰面积 RSD 为 4.2%、2.3%、4.4%、3.8%、3.9% ($n=3$)。在载气流速 2.7、3.0、3.3 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下测得 3 种浓度乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、吡啶的峰面积 RSD 为 4.6%、3.8%、4.4%、5.2%、3.9% ($n=3$)。放置 0、6、12、24 h 条件下测得 3 种浓度乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、吡啶的峰面积 RSD 为 3.2%、2.0%、3.6%、4.5%、3.8% ($n=3$)。以上结果表明溶液在柱温 45~55℃、载气流速 2.7~3.3 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 、溶液配制后 24 h 内基本稳定。

2.8 样品测定

按“2.2”项下方法制备含乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、吡啶约为 200, 120, 400, 144, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液, 取米非司酮约 1 g, 置于 20 mL 顶空瓶中, 加入 5 mL 二甲亚砜, 超声溶解, 摇匀, 供为供试品溶液。按“2.1”项下的色谱条件测定对照品溶液和供试品溶液的峰面积, 按外标法计算含量, 结果见表 2。对照品溶液和供试品溶液的色谱图见图 1。

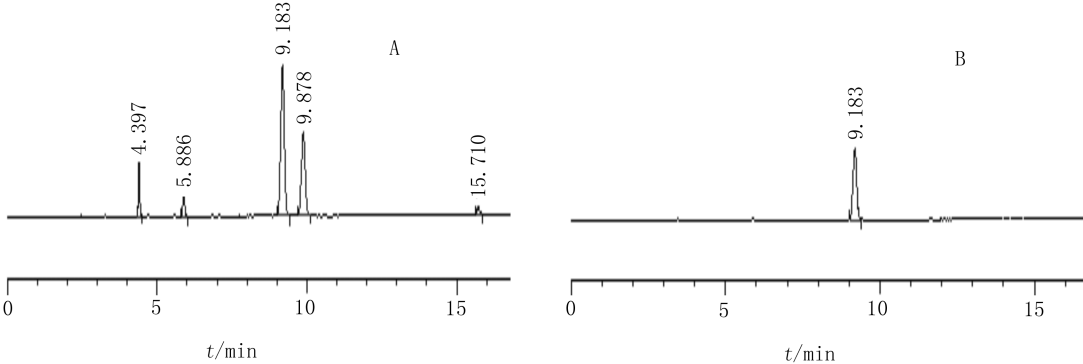


图 1 对照品溶液 (A) 和供试品溶液 (B) 的色谱图

Fig 1 GC chromatograms of reference solution(A) and sample solution(B)

3 讨论

3.1 本文采用顶空进样法测定乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、吡啶 5 种有机溶剂的残留量, 与经典气相色谱法相比较, 可以避免样品溶液对色谱柱的污染以及样品基质的干扰, 也无需对样品进行前处理, 并且进样量大, 可提高痕量有机溶剂的色谱检测能力。

3.2 乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、吡啶的沸点分别为 78.5、40、77.1、67、115.5 $^{\circ}\text{C}$, 选择二甲亚砜为溶剂, 其沸点为 189 $^{\circ}\text{C}$, 对待测

表 2 样品残留溶剂测定结果 ($n=3$)

Tab 2 Assay results of residual solvents in samples ($n=3$)

批号	溶剂				
	乙醇	二氯甲烷	乙酸乙酯	四氢呋喃	吡啶
0612001	ND	ND	0.0041%	ND	ND
0612002	ND	ND	0.0050%	ND	ND
0612003	ND	ND	0.0043%	ND	ND
0701001	ND	ND	0.0035%	ND	ND
0701002	ND	ND	0.0027%	ND	ND

注: ND 表示测定结果低于方法检测限

Note:ND indicated that the result was under the LOD of method

组分的测定没有干扰, 选用 DB-624 弹性石英毛细管柱, 程序升温, 溶剂的峰形较佳, 5 种溶剂的分离效果较好, 相邻溶剂的分离度完全满足大于 1.5 的要求。

REFERENCES

[1] Ch.P (2005) Vol II (中国药典 2005 年版.二部) [S]. 2005: Appendix 54-57.

收稿日期:2008-04-01