

顶空 GC 测定盐酸法舒地尔中残留溶剂

马丽, 姚彤炜* (浙江大学药学院, 杭州 310058)

摘要:目的 建立盐酸法舒地尔中甲醇、二氯甲烷和乙醇残留量的测定方法。方法 采用顶空毛细管气相色谱法,以 Agilent HP-INNOWAX 毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.5 μm)为分析柱,柱温为程序升温:起始温度 35 °C,保持 12min,以 40 °C·min⁻¹升温至 200 °C,保持 5 min;载气为高纯氮气,柱流速 1.0 mL·min⁻¹;气化室温度 200 °C;FID 检测器,检测室温度 250 °C。
结果 外标法测得甲醇、二氯甲烷和乙醇的平均加样回收率分别为 96.21%、77.96%和 95.56%。样品中检测到的甲醇、二氯甲烷和乙醇残留量均远在药典规定的限量以下。
结论 建立的方法能有效控制盐酸法舒地尔原料药中甲醇、二氯甲

作者简介:马丽,女,硕士,工程师 Tel: (0571)88208406
Tel: (0571)88208406 E-mail: yaotw@zju.edu.cn

E-mail: mgmaryai@zju.edu.cn *通信作者:姚彤炜,女,硕士,教授

烷和乙醇的残留量。

关键词：盐酸法舒地尔；有机溶剂残留量；毛细管气相色谱法；测定

中图分类号：R917.101

文献标志码：B

文章编号：1007-7693(2010)11-1121-04

Determination of Residual Solvents in Fasudil Hydrochloride by Headspace GC

MA Li, YAO Tongwei* (College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a headspace gas chromatography method for determining residual organic solvents-methanol, dichloromethane, ethanol in fasudil hydrochloride. **METHODS** Headspace gas chromatography was added using an Agilent HP-INNOWAX capillary column(30 m×0.32 mm, 0.5 μm) with temperature programming. The initial column temperature was 35 °C maintained for 12 min and then raised (40 °C·min⁻¹) to 200 °C for 5 min with nitrogen gas as carrier and FID as detector. The flow of carrier is 1.0 mL·min⁻¹. The injection port and detector temperature were 200 °C and 250 °C, respectively. **RESULTS** With external standard method, the average recoveries of methanol, dichloromethane and ethanol were 96.21%, 77.96% and 95.56%, respectively. And three solvent residuals in samples were less than the limits of Ch.P. **CONCLUSION** The method can be used for the determination of residual solvents in fasudil hydrochloride.

KEY WORDS: fasudil hydrochloride; residual organic solvent; capillary GC; determination

盐酸法舒地尔是一种Rho激酶抑制剂，其具有改善脑灌注、促进神经元轴突生长、减轻炎症反应的作用，临床上主要用于治疗急性脑梗死和防治蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛，具有一定的临床价值^[1-2]。盐酸法舒地尔在合成过程中使用了甲醇、二氯甲烷、乙醇等有机溶剂。根据中国药典2005年版有关规定，二氯甲烷、甲醇属于第二类溶剂，限量分别为0.06%和0.3%，乙醇属于第三类溶剂，限量为0.5%。本研究采用顶空气相色谱法建立了盐酸法舒地尔中3种残留溶剂的测定方法，结果表明建立的方法简单、灵敏、准确，可用于实际产品的质量的控制。

1 仪器与试剂

Agilent 6890 型全自动气相色谱仪(Agilent 公司)；盐酸法舒地尔原料(浙江众益药业有限公司，批号：090401、090402、090403)，甲醇，乙醇，二氯甲烷均为市售分析纯试剂，水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 溶液配制

2.1.1 定位溶液 分别吸取一定量的甲醇、乙醇、二氯甲烷，置离心管中，加水至 10 mL，摇匀，即得。

2.1.2 限量对照溶液 精密吸取甲醇(比重 0.79)380 μL、乙醇(比重 0.79)630 μL、二氯甲烷(比重 1.32)45 μL，分别置 100 mL 量瓶中，加水至刻度，摇匀，作为储备液。分别精密吸取上述储备液各 5 mL 置于同一 50 mL 量瓶中，加水至刻度，摇匀，即得相当于甲醇、乙醇、二氯甲烷浓度分别为

0.3, 0.5, 0.06 mg·mL⁻¹ 的混合限量溶液。

2.1.3 对照系列溶液 取上述混合限量溶液，作为对照液①；取对照液①稀释 1 倍作为对照液②；取对照液①稀释 3 倍作为对照液③；取对照液①稀释 6 倍作为对照液④，取对照液①稀释 15 倍作为对照液⑤。以上系列对照溶液中各有机溶剂的浓度分别为甲醇(0.02, 0.05, 0.10, 0.15, 0.30 mg·mL⁻¹)、二氯甲烷(0.004, 0.01, 0.02, 0.03, 0.06 mg·mL⁻¹)和乙醇(0.033, 0.083, 0.17, 0.25, 0.5 mg·mL⁻¹)。

2.1.4 供试品溶液 取样品 0.3 g，精密称定，置 20 mL 顶空瓶中，加水 3.0 mL 溶解，即得供试品溶液。

2.2 色谱条件

Agilent HP-INNOWAX(30 m×0.32 mm, 0.5 μm)毛细管色谱柱；载气为高纯氮气(纯度≥99.99%)，柱流速 1.0 mL·min⁻¹；气化室温度 200 °C；检测器温度 250 °C；氢气流速 40.0 mL·min⁻¹，空气流速 400 mL·min⁻¹；柱温为程序升温：起始温度 35 °C，保持 12 min，以 40 °C·min⁻¹ 升温至 200 °C，保持 5 min；分流进样，分流比 2：1。

2.3 定位与系统适用性试验

取定位溶液分别进样测定，获得各有机溶剂的保留时间；然后取限量对照溶液进行系统适用性试验，计算各成分峰的柱效、分离度，重复进样响应值的 RSD，结果见表 1。各组分色谱峰的理论板数均>50 000，分离度>1.5。同法测定空白溶剂色谱图和样品色谱图，结果见图 1，空白溶剂对 3 种残留溶剂的测定无干扰。

表1 残留溶剂的系统适用性试验(n=6)

Tab 1 System suitability of residual organic solvents(n=6)

溶剂	保留时间/min	理论板数	分离度	RSD/%
甲醇	7.638	74 581	/	3.7
二氯甲烷	9.406	67 842	13.77	8.0
乙醇	9.697	64 312	1.95	2.7

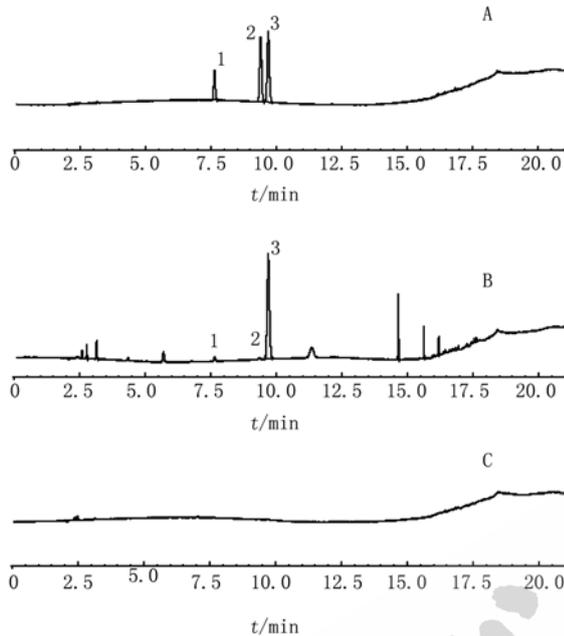


图1 气相色谱图

A-对照溶液④; B-供试品溶液; C-空白溶剂; 1-甲醇; 2-二氯甲烷; 3-乙醇

Fig 1 GC chromatograms

A-mixed standard solution ④; B-sample solution; C-blank solution; 1-methanol; 2-dichloromethane; 3-ethanol

2.4 线性与检测限、定量限试验

精密吸取系列对照液3 mL, 置顶空瓶中, 进样测定, 记录色谱图。以峰面积*A*为纵坐标、浓度*c*为横坐标进行线性回归, 结果见表2。可见, 各组分在其浓度范围内线性关系良好。采用逐步稀释法, 以信噪比(S/N) ≥ 2 , 测得甲醇、乙醇、二氯甲烷的检测限分别为4.0, 0.8, 6.6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 相当于被检样品的0.004%, 0.000 8%和0.006 6%。取系列对照液⑤(甲醇0.02 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 乙醇0.033 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 二氯甲烷0.004 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), 平行测定3份, 作为定量限($S/N \geq 10$), 计算RSD, 均 $< 8\%$ 。

表2 各组分回归方程与线性范围(n=5)

Tab 2 The linear correlations of the volatile solvents(n=5)

有机溶剂	线性范围/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	回归方程	<i>r</i>
甲醇	0.020~0.30	$A=205.04c+0.450 5$	0.998 8
二氯甲烷	0.004~0.06	$A=3 213.6c-4.262 8$	0.998 5
乙醇	0.033~0.50	$A=399.8c-0.540 2$	0.999 2

2.5 回收率和重复性试验

采用加样回收试验。取限量对照液作为对照溶液A, 取溶液A稀释3倍作为对照溶液B, 取溶液A稀释10倍作为对照溶液C。精密称取供试品0.301 g, 共12份, 置20 mL顶空瓶中, 于9份中分别加A、B、C对照溶液3.0 mL, 每个浓度各3份。另3份中加水3.0 mL, 作为样品本底溶液。按上述色谱条件, 分别进样测定, 以同浓度甲醇、二氯甲烷、乙醇的水溶液为对照, 计算加样回收率, 结果见表3。测得平均回收率分别为甲醇96.21%、二氯甲烷77.96%、乙醇95.56%。

平行配制供试品溶液6份, 进行重复性试验。结果甲醇、二氯甲烷、乙醇峰面积的RSD分别为4.45%、9.89%、5.53%。

表3 加样回收试验结果(n=3)

Tab 3 The results of sample recovery test(n=3)

溶剂	已知量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	加入量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	测得量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率/%
甲醇	0.009 998	0.300	0.294 47	94.82
	0.009 610	0.100	0.108 92	99.31
	0.008 977	0.030	0.037 33	94.50
二氯甲烷	0.000 522	0.060	0.045 15	74.37
	0.000 427	0.020	0.016 27	79.21
	0.000 431	0.006	0.005 25	80.32
乙醇	0.180 950	0.500	0.642 80	92.37
	0.180 760	0.170	0.345 99	97.20
	0.166 660	0.050	0.215 27	97.23

2.6 样品测定

分别取3个批号的供试品溶液进样测定, 按外标法和标准加入法计算有机溶剂残留量, 其中两个批号的样品中均检测到甲醇、二氯甲烷和乙醇, 一个批号样品中仅检测到乙醇, 各样品测定结果见表4和表5。

表4 样品中残留溶剂测定结果(n=3)

Tab 4 Assay results of the residual organic solvents in sample (n=3)

残留溶剂	样品(090401)%	样品(090402)%	样品(090403)%
甲醇	0.010 30	0.007 05	未检出
二氯甲烷	0.000 54	0.000 20	未检出
乙醇	0.179 65	0.135 80	0.04340

表5 标准加入法测定法舒地尔中残留溶剂结果(n=3)

Tab 5 Assay results of the residual organic solvents in fasudil hydrochloride with standard addition method (n=3)

残留溶剂	样品(090401)%	样品(090402)%	样品(090403)%
甲醇	0.010 57	0.006 64	未检出
二氯甲烷	0.000 70	0.000 23	未检出
乙醇	0.196 00	0.135 62	0.045 03

3 讨论

色谱条件选择：比较了不同色谱柱，如 HP-5, Rxi-17(50%二苯基/50%二甲基聚硅氧烷)等，结果有的水中有杂峰干扰，有的二氯甲烷与乙醇难分离或甲醇与乙醇难分离，最终选择 HP-INNOWAX (30 m×0.32 mm, 0.5 μm)为分析柱，并对不同起始柱温和保持时间(70 °C 5 min, 50 °C 5 min, 35 °C 12 min)进行了比较(后续升温速度和保持时间均相同)，结果在 35 °C 12 min 的起始温度条件下，3 种有机溶剂得到基线分离。

根据回收率试验结果，二氯甲烷的加样回收率较低，样品基质对其含量测定有影响。通过外标法和标准加入法分别测定样品中 3 种有机溶剂残留量，对比测定结果后发现，二氯甲烷含量两法差别较大。外标法测得甲醇、二氯甲烷和乙醇的含量分别是标准加入法测得结果的 97.82%、76.84%和 91.65%，这与加样回收率测得结果一致。因此，样

品中二氯甲烷的限量控制采用标准加入法更适宜。

依据中国药典 2005 年版规定，甲醇限量为 0.3%，二氯甲烷限量为 0.06%，乙醇限量为 0.5%。实际样品中检测到的甲醇、二氯甲烷和乙醇残留量均远在药典规定的限量以下。方法学研究结果显示本法具有足够的灵敏度，可检出样品中甲醇、二氯甲烷和乙醇的含量分别为 0.004%，0.0008%和 0.0066%。表明本法能有效控制盐酸法舒地尔原料药中残留溶剂量。

REFERENCES

- [1] ZHANG L M. A clinical study on treatment of acute cerebral infarction with hydrochloric fasudil [J]. Clin Med (临床医学), 2008, 28(4): 94.
- [2] MA J J, YANG S Y, WEI W, et al. A phase II clinical evaluation of fasudil hydrochloride for cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage [J]. Chin J Neurosurg (中华神经外科杂志), 2006, 22(1): 36-40.

收稿日期：2010-01-12