

毛细管气相色谱法测定溴甲基纳曲酮中有机溶剂残留量

滕菁菁, 李清, 姬巍, 毕开顺^{*} (沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016)

摘要: 目的 建立以毛细管气相色谱法测定溴甲基纳曲酮中二氯甲烷、丙酮、甲醇、甲基叔丁基醚、乙酸乙酯和甲苯 6 种有机溶剂残留量的方法。方法 采用 DB-WAX(30.0 m×0.25 mm, 0.25 μm)毛细管柱, 氢火焰离子化检测器(FID), 载气为氮气, 柱流量为 1.0 mL·min⁻¹, 进样口温度为 240 °C, 检测器温度为 250 °C, 柱温为程序升温。结果 甲基叔丁基醚、丙酮、乙酸乙酯、甲醇、二氯甲烷和甲苯 6 种有机溶剂均得到有效分离, 回收率及线性关系皆良好, 且 3 批样品中有机溶剂残留量均符合规定。结论 该方法操作简便, 精密度好, 准确可靠, 可用于溴甲基纳曲酮中有机溶剂残留量的测定。

关键词: 溴甲基纳曲酮; 毛细管气相色谱法; 有机溶剂残留量

中图分类号: R917.101

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)02-0153-04

Determination of Residual Organic Solvents in Naltrexone Methylbromide by Capillary Gas Chromatography

TENG Jingjing, LI Qing, JI Wei, BI Kaishun^{*} (School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a capillary GC method for the determination of residual organic solvents including methylene chloride, acetone, methanol, methyl tert-butyl ether, ethyl acetate and toluene in naltrexone methylbromide. **METHODS** The residual organic solvents were separated on DB-WAX capillary column (30.0 m×0.25 mm, 0.25 μm). FID was used as detector with a temperature of 250 °C, and the inlet temperature was 240 °C. The carrier gas was nitrogen, and the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. Column temperature was programmed set. **RESULTS** The six residual organic solvents consisting of methyl tert-butyl ether, acetone, ethyl acetate, methanol, methylene chloride and toluene were completely separated, the recovery rate and linear relationship were good, and three batches of samples coincided with the requirements. **CONCLUSION** The method is simple, accurate, sensitive and reproducible, it can be used for the determination of the residual organic solvents in naltrexone methylbromide.

KEY WORDS: naltrexone methylbromide; capillary gas chromatography; residual organic solvents

溴化甲基纳曲酮由美国 Wyeth 公司和 Progenics 公司联合研究开发。用于治疗阿片类药物引起的便秘(opioid-induced constipation, OIC)。关于其残留溶剂的研究, 笔者未见国内外文献报道。溴化甲基纳曲酮在合成过程中使用了二氯甲烷、丙酮、甲醇、甲基叔丁基醚、乙酸乙酯和甲苯等有机溶剂。药物生产过程中残留溶剂与药物的治疗作用无关且具有不同程度的毒性, 应严格控制。药物残留溶剂的测定有很多方法, 包括气相色谱法、紫外分光光度法、高效液相色谱法及多种方法的联合应用等^[1]。参考有关文献及相关规定^[2-9], 采用毛细管气相色谱法, 以 *N*, *N*-二甲基甲

酰胺为溶剂, 同时测定上述 6 种溶剂的残留量。该方法简单、灵敏、准确, 可用于溴化甲基纳曲酮原料药的质量控制。

1 仪器与试剂

安捷伦气相色谱仪(GC-7890A), FID 检测器, 安捷伦色谱工作站; Sartorius BP210S 万分之一天平。

甲基叔丁基醚、丙酮、乙酸乙酯、甲醇、二氯甲烷、甲苯和乙腈均为色谱纯(山东禹王实业有限公司); *N*, *N*-二甲基甲酰胺(DMF)为色谱纯(天津市科密欧化学试剂有限公司); 溴甲基纳曲酮原料(某公司, 批号: 081101, 081102, 081103, 纯

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09301-012)

作者简介: 滕菁菁, 女, 硕士生 Tel: (024)23986884 E-mail: luliluxi_213@163.com

*通信作者: 毕开顺, 男, 博士, 教授 Tel:

(024)23986016 E-mail: bikaishun@yahoo.com

度 $\geq 98\%$)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Agilent DB-WAX(30.0 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m); 载气高纯氮; 柱流速为 1.0 mL $\cdot$ min $^{-1}$; 分流比为 50:1; 起始柱温为 40 $^{\circ}$ C, 保持 4 min 后, 以 10 $^{\circ}$ C $\cdot$ min $^{-1}$ 升温至 60 $^{\circ}$ C, 再以 40 $^{\circ}$ C $\cdot$ min $^{-1}$ 升温至 180 $^{\circ}$ C, 保持 2 min; 进样口温度为 240 $^{\circ}$ C, 检测器温度为 250 $^{\circ}$ C; 进样量 1 μ L。

2.2 溶液的制备

2.2.1 内标溶液的制备 取乙腈约 0.1 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加 DMF 稀释至刻度, 摇匀, 作为内标溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取丙酮 250 mg, 二氯甲烷 30 mg, 甲醇 150 mg、甲苯 44.5 mg, 甲基叔丁基醚 250 mg 和乙酸乙酯 250 mg 于 100 mL 量瓶中, 用 DMF 溶解并稀释至刻度, 得混合对照品储备液。

精密量取混合对照品储备液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 精密加入内标溶液 0.5 mL, 加 DMF 稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取溴甲基纳曲酮样品约 0.5 g, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 精密加入内标溶液 0.5 mL, 加 DMF 溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.3 系统适用性试验

精确量取对照品溶液和供试品溶液各 1 μ L, 注入气相色谱中, 记录色谱图, 测定各有机溶剂的分离度及柱效。结果表明, 以上各有机溶剂计算的理论板数均不低于 5 000, 相邻溶剂的分离度均符合要求, 色谱图见图 1。

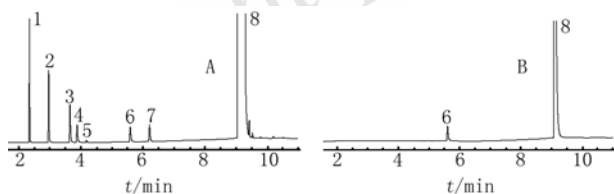


图 1 有机溶剂残留气相色谱图

A-对照品; B-样品; 1-甲基叔丁基醚; 2-丙酮; 3-乙酸乙酯; 4-甲醇; 5-二氯甲烷; 6-乙腈(内标); 7-甲苯; 8-溶剂(N,N-二甲基酰胺)

Fig 1 GC chromatograms of residual organic solvents

A-control; B-sample; 1-methyl tert-butyl ether; 2-acetone; 3-ethyl acetate; 4-methanol; 5-methylene chloride; 6-dichloromethane; 7-toluene; 8-solvent (N,N-dimethylformamide)

2.4 专属性实验

取 DMF、内标溶液、对照溶液和供试品溶液, 各进样 1 μ L, 由色谱图可知 DMF 及内标溶液对丙酮、二氯甲烷、甲醇、甲苯、甲基叔丁基醚和乙酸乙酯的测定无干扰。丙酮、二氯甲烷、甲醇、甲苯、甲基叔丁基醚和乙酸乙酯对照品溶液及 DMF、供试品溶液色谱图中, 在与内标溶液色谱峰相应位置处无干扰。结果表明方法专属性良好。

2.5 线性关系考察

取系列标准溶液, 分别进样 1 μ L, 记录色谱图, 以浓度(μ g $\cdot$ mL $^{-1}$)为横坐标, 被测组分峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标, 计算待测组分的线性回归方程, 结果见表 1。

表 1 线性范围及回归方程(n=5)

Tab 1 Linear ranges and regression equations of the organic solvents(n=5)

溶剂种类	回归方程	r	浓度/ μ g $\cdot$ mL $^{-1}$
甲基叔丁基醚	$Y=11.69X-1.380\times 10^{-2}$	0.995 5	5.000~300.0
丙酮	$Y=10.25 X-1.420\times 10^{-2}$	0.998 1	5.000~300.0
乙酸乙酯	$Y=8.20 X-5.500\times 10^{-3}$	0.995 0	15.00~300.0
甲醇	$Y=6.799 X+6.200\times 10^{-3}$	0.998 5	9.00~180.0
二氯甲烷	$Y=4.003 X+3.000\times 10^{-4}$	0.990 4	15.00~36.00
甲苯	$Y=23.63 X-9.00\times 10^{-4}$	0.998 5	3.600~53.40

2.6 精密度试验

2.6.1 仪器精密度试验 精密量取“2.2.2”项下对照品溶液 1 μ L, 连续测定 5 次, 以各组分的峰面积对内标的峰面积比值计算其 RSD 值, 甲基叔丁基醚、丙酮、乙酸乙酯、甲醇、二氯甲烷、甲苯的 RSD 分别为 3.7%, 1.9%, 1.0%, 1.9%, 2.8%, 1.2%。

2.6.2 日内日间精密度 精密量取混合对照品储备液 0.8, 1.0, 1.2 mL 各 3 份, 分别加入 10 mL 量瓶中, 再分别加入内标溶液 0.5 mL, 加 DMF 溶解并稀释至刻度, 摇匀, 分别进样 1 μ L, 记录色谱图, 按内标法算得的浓度计算, RSD 值均 $<5\%$; 同法平行操作 3 d, 按内标法算得的浓度计算, RSD 值均 $<5\%$ 。

2.7 检测限和定量限

取对照品溶液, 以稀释法测定各对照品溶剂的检测限(S/N=3)和定量限(S/N=10), 实验结果表明, 丙酮、二氯甲烷、甲醇、甲苯、甲基叔丁基醚和乙酸乙酯对照品溶剂的检测限分别为: 1.70 μ g $\cdot$ mL $^{-1}$, 6.00 μ g $\cdot$ mL $^{-1}$, 3.00 μ g $\cdot$ mL $^{-1}$,

1.78 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 5.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 1.70 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 定量限分别为: 5.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n=5$, RSD=3.5%), 15.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n=5$, RSD=3.7%), 9.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n=5$, RSD=4.4%), 3.56 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n=5$, RSD=3.0%), 15.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n=5$, RSD=4.1%), 5.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n=5$, RSD=4.0%)。

2.8 回收率实验

取待测溴甲基纳曲酮原料样品约 0.5 g 共 9 份, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 精密量取混合对照品储备液 0.8, 1.0, 1.2 mL 各 3 份, 分别加入 10 mL 量瓶中, 再分别加入内标溶液 0.5 mL, 加 DMF 溶解并稀释至刻度, 摇匀, 分别进样 1 μL , 按内标法计算各组分的回收率。甲基叔丁基醚、丙酮、乙酸乙酯、甲醇、二氯甲烷和甲苯的平均回收率分别为 100.8%, 96.9%, 98.9%, 98.3%, 96.5%, 99.1%, RSD 分别为 2.4%, 3.9%, 0.3%, 1.5%, 4.9%, 0.4%。

2.9 样品中残留溶剂测定

取各个批号的供试品, 按“2.2.3”项下的供试品溶液的配制方法制备供试品溶液, 分别进样 1 μL , 按内标法计算各有机溶剂的残留量。结果见表 2。

表 2 3 批样品测定结果($n=5$)

Tab 2 Determination results of three batches of samples ($n=5$)

批号	甲基叔丁基醚	丙酮	乙酸乙酯	甲醇	二氯甲烷	甲苯
081101	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
081102	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
081103	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
标准限度	0.5%	0.5%	0.5%	0.3%	0.06%	0.089%

试验结果表明, 3 批样品中均未检出甲基叔丁基醚、丙酮、乙酸乙酯、甲醇、二氯甲烷和甲苯的残留, 符合中国药典 2010 年版二部附录中对原料药溶剂限度的要求。

2.10 耐用性考察

取待测溴甲基纳曲酮原料样品约 0.5 g, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 精密量取混合对照品储备液 1.0 mL, 再精密加入内标溶液 0.5 mL, 加 DMF 溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为溴甲基纳曲酮的溶剂残留耐用性样品溶液。另取对照溶液和空白溶液, 进样量为 1 μL 。分别考察不同厂家及批号的色谱柱、载气流速(0.8, 1.0, 1.2 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$)、进

样口温度(235, 240, 245 $^{\circ}\text{C}$)、检测器温度(245, 250, 255 $^{\circ}\text{C}$)条件下的耐用性。各条件下溶剂测定结果($n=6$)RSD 均小于 10.0%, 表明耐用性良好。

3 讨论

3.1 溶剂的选择

溴甲基纳曲酮是易溶于水的白色粉末, 而二氯甲烷在水中的响应值低, 不易测定, 根据药物和残留溶剂的理化性质, 选取 DMF 作为溶剂, 使样品和待测溶剂都能得到较好的溶解。且以 DMF 作为溶剂进行试验, 对结果没有干扰, 各色谱峰均能得到较好的分离。

3.2 柱温的选择

柱温选择对被分析组分的分离影响较大, 初始温度过高、低沸点的组分在固定相上的保留不充分, 不能得到有效分离, 而初始温度过低, 高沸点组分可能在色谱柱前端冷却液化, 使峰形变宽, 分离度降低。经过筛选, 初始温度设为 40 $^{\circ}\text{C}$, 保持 4 min, 使甲基叔丁基醚、丙酮、乙酸乙酯和甲醇在 DB-WAX 色谱柱上可以得到较好分离; 再以 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升温至 60 $^{\circ}\text{C}$, 可使二氯甲烷和乙腈得到较好分离; 最后以 40 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升温至 180 $^{\circ}\text{C}$, 使甲苯和 DMF 能迅速分离, 在 180 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min 使 DMF 出峰完全。此升温程序, 可使各组分迅速分离, 提高分析效率。

3.3 进样方法的选择

常用的测定有机溶剂残留方法有直接进样法和顶空进样法, 顶空进样法测定残留溶剂, 对测定干扰小, 对仪器污染少, 适用于低沸点残留溶剂的测定。本实验中残留溶剂甲苯沸点较高且考虑到直接进样法操作简便、实际应用广泛, 根据药典附录残留溶剂测定法第三法“溶液直接进样法”, 采用溶液直接进样分析。

REFERENCES

- [1] JI Y B, ZHANG Y, XU J Y, et al. Determination of 9 residual solvents in the new drug Ib by capillary gas chromatography [J]. Chin New Dru J(中国新药杂志), 2009, 18(22): 2163-2166.
- [2] WANG G C, CHEN Y, XU B. Determination of residual organic solvents in zonisamide by capillary gas chromatography [J]. J Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报), 2008, 25 (01): 56-59.
- [3] ZHENG J, GAO Z, LI Y L. Determination of residual organic solvents in di-n-butyl-(2,6-difluorobenzohydroxamate) tin(IV) by GC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(1): 67-69.

- [4] Ch.P(2010)Vol II (中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: Appendix 68-72.
- [5] DIAO Y Z, YI M J, JIA J, et al. Determination of residual organic solvents in nelarabine by GC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(10): 956-958.
- [6] HAN X J, CHEN R H, GUO Y, et al. Determination of residual organic solvents in dipfluzine by capillary GC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(7): 640-641.
- [7] QIU Y H. Determination of residual organic solvents in benproperine phosphate by headspace GC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(10): 936-939.
- [8] MA L, YAO T W. Determination of residual solvents in fasudil hydrochloride by headspace GC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(12): 1121-1124.
- [9] CAO L. Determination of residual solvents in sulindac by headspace GC [J]. Her Med(医药导报), 2011, 30(1): 90-91.

收稿日期: 2011-07-10