

顶空气相色谱法测定阿米舒必利中有机溶剂残留量

朱曼洁 赛默飞世尔科技（中国）有限公司

赵政 华东师范大学脑功能研究所

1. 前言

人用药品注册技术要求国际协调会议(International Conference of Harmonization ICH)对药品残留溶剂有明确的定义以及相关的指导原则。ICH 将药品生产及纯化过程中常用的69种有机溶剂按照对人体和环境的危害程度分为4类。第I类溶剂是指已知可以致癌并被强烈怀疑对人和环境有害的溶剂,其残留量必须控制在规定的范围内;第II类溶剂是指无基因毒性但有动物致癌性的溶剂;第3类溶剂是指对人体低毒的溶剂;第4类是尚无足够毒理学资料的溶剂(1-3)。

阿米舒必利在提取过程中使用了有机溶剂甲醇和丙酮,按照上述指导原则,甲醇为第二类溶剂,其含量不能超过0.3%;丙酮为第三类溶剂,其含量不能超过0.5%。

本文介绍了用赛默飞世尔气相色谱仪(带FID检测器)和Triplus顶空自动进样器分析阿米舒必利中这两种有机溶剂残留的分析方法,方法学的验证表明,该方法准确有效。

2. 实验方法

2.1 仪器和试剂

Trace GC气相色谱仪(赛默飞世尔科技 Thermo Fisher Scientific公司),带FID检测器;色谱柱为TR-V1 (30m x .25 mm x 3μm);Triplus HS自动进样器(赛默飞世尔科技 Thermo Fisher Scientific公司)

甲醇和丙酮(色谱纯)购置于sigma公司;N,N-二甲基甲酰胺(DMF,分析纯)。

2.2 色谱条件

程序升温:初始温度:40℃(60 min),升温速率:30℃/min至200℃(3min)

载气:恒流模式,流速为3ml/min

进样口:150℃,分流进样,分流比为10:1

检测器温度:250℃

顶空参数设置:

孵化器温度:75℃

孵化时间:30min

进样量:1ml

3. 结果与讨论

3.1 系统适应性

因待测药品的残留溶剂主要是甲醇和丙酮,因此选择上述2种有机溶剂,溶解在DMF中考察系统适用性,典型色谱图见图1。结果显示,在上述色谱条件下,各溶剂分离完全。

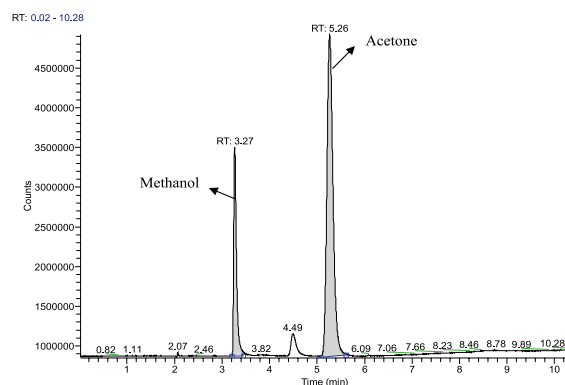


图1

3.2 顶空参数优化

3.2.1 孵化器温度

分别取5mg甲醇和丙酮,溶于一定量的DMF中,使溶液的最终体积为5ml。平行制备4份相同浓度的待测样品,将孵化器的温度分别设置为65℃,75℃,85℃和95℃,以此判断不同孵化时间对检测结果的影响。结果(如图2)表明,随着孵化温度的升高,丙酮的峰面积也在增加,但是甲醇的响应却是在75℃时为最高,这与国家药典中推荐的孵化温度相一致(75℃~85℃)。并且,由于阿米舒必利的化学名为4-氨基-N-[(1-乙基-2-吡咯)甲基]-5-己酰胺-2-甲氧基苯甲酰胺,黄仕璋等(4)通过研究表明,含甲氧基的样品在较高顶空温度下降解产生甲醇,而裂解速率主要受温度影响,随着样品孵化温度的增高,甲醇的含量也会显著的增高,因而影响了真实的检测结果。因此在检测时,我们将孵化器的温度设为75℃。

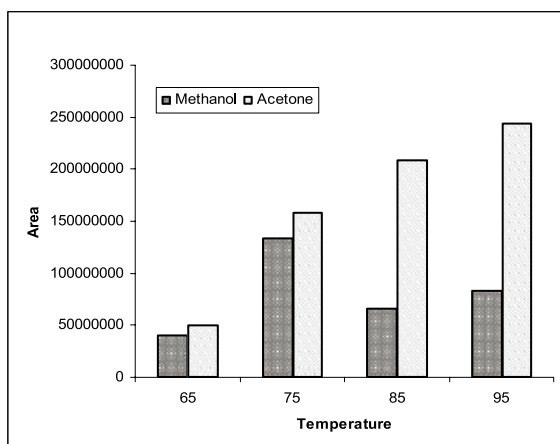


图2

3.2.2 孵化时间

分别取5mg甲醇和丙酮，溶于一定量的DMF中，使溶液的最终体积为5ml。平行制备4份相同浓度的待测样品，将孵化器的温度分别设置为10min，20min，30min和40min，以此判断不同孵化时间对检测结果的影响。结果（如图3）表明，随着孵化时间的升高，丙酮和甲醇的峰面积均变化不大，考虑到样品中的有机溶剂可能需要较长的时间才有利于其挥发，因此我们将孵化时间设为20min。

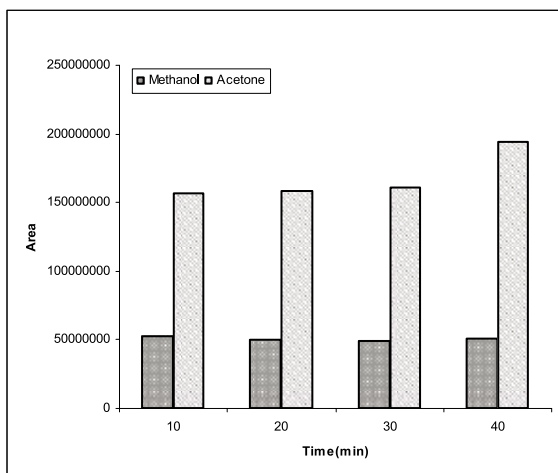


图3

3.3 标准曲线、检出限和精密度

本方法采用外标法定量，由于做顶空进样，考虑到不同样品体积对气体的膨胀有影响，所以这里以目标组分的峰面积Y对相应组分的绝对重量做标准曲线（5mg、1mg、500ug、100ug和50ug），图4A和B显示，在这个仪器方法上甲醇和丙酮都有非常好的线性关系。以500ug为例，按信噪比为3计算得到甲醇的检出限为1.5ug，丙酮的检出限1ug。配置甲醇和丙酮均为500ug平行的标样5个，计算方法的重现性，得到甲醇的RSD值为3.76%，丙酮的RSD值为1.39。

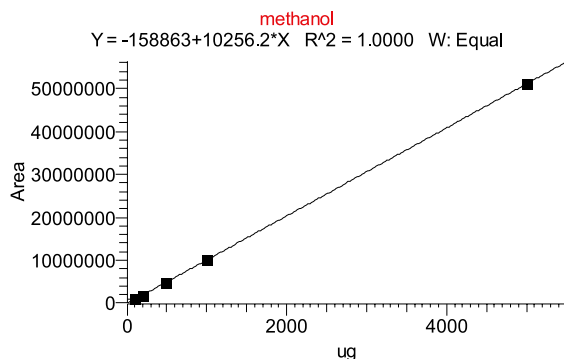


图 4A

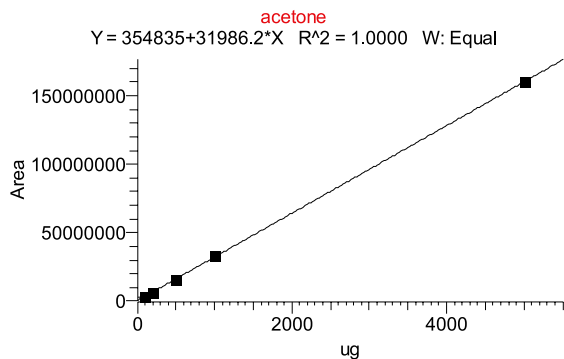


图 4B

3.4 样品检测

精密称取1g样品，用10ml容量瓶定容，取5ml放入顶空瓶中，按照上述方法进行样品检测，每个样品平行进四次（谱图如图5所示），结果如下表所示。按照ICH的标准，甲醇的为第二类溶剂，含量不能超过0.3%，丙酮属于第三类溶剂，含量不能超过0.5%，待测样品中的溶剂残留经检测分别为甲醇0.004%和丙酮0.05%，符合ICH的标准。

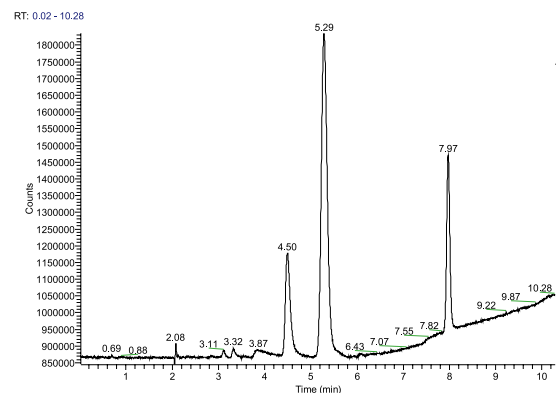


图5

3.5 回收率实验

精密称取上述样品粉末0.5g，准确加入500ug甲醇和丙酮，最后用DMF定容到5ml，之后进行样品检测，每个样品测定三次（样品加标如图6所示），最终测得甲醇和丙酮的平均回收率分别为98.4%和101.7%。

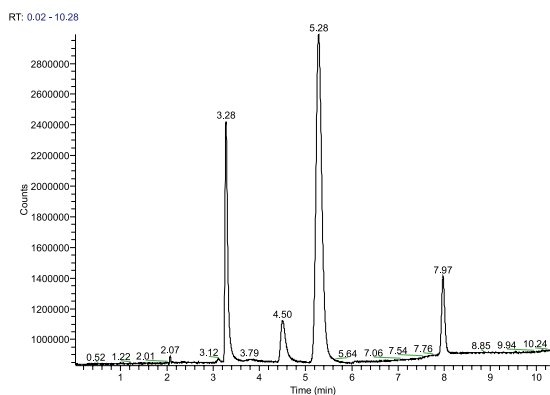


图6

3.6 注意事项

所有样品溶解以及标样配置的过程需在冰上进行操作，防止有机溶剂挥发所引起的结果误差。

参考文献：

1. 周海钧主译1 药品注册的国际技术要求•质量部分 [M] 北京：人民卫生出版社, 2000： 82
2. 中国药典[S]. 二部, 2000： 附录54
3. Residual Solvent Testing: A Review of Gas-Chromatographic and Alternative Techniques. Pharmaceutical Research, 2003, 20(3): 337-344
4. 头孢西丁钠中甲醇残留量的顶空毛细管GC法测定. 中国医药工业杂志 Chinese Journal of Pharmaceuticals 2007, 38(10): 727-728

In addition to these offices, Thermo Fisher Scientific maintains a network of representative organizations throughout the world.

赛默飞世尔科技

上海
上海浦东新金桥路27号6号楼
电话：86-21-6865 4588
传真：86-21-6445 7830

北京
北京市东城区安定门东大街28号
雍和大厦西楼702-715室
电话：86-10-8419 3588
传真：86-10-8419 3589

广州
广州东风中路410-412号
健力宝大厦3003-3004室
电话：86-20-8348 7138
传真：86-20-8348 6621

服务热线：
800 810 5118 400 650 5118

www.thermo.com
analyze.cn@thermofisher.com

ISO
9001
REGISTERED
COMPANY

Thermo Fisher Scientific,
San Jose, CA USA is ISO Certified.