

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.06.012

顶空气相色谱法测定盐酸尼卡地平原料中残留溶剂含量*

罗晶, 柳小秦, 安学霞, 戴涌, 李霞, 魏亚宁

(陕西省食品药品监督检验研究院, 陕西 西安 710065)

摘要:目的 建立测定盐酸尼卡地平原料中残留溶剂含量的顶空气相色谱(GC)法。方法 采用顶空进样法,色谱柱为以6%氰丙基苯、94%二甲基硅氧烷为固定液的DB-624型毛细管柱(30 m×0.32 mm, 1.8 μm),程序升温,检测器为火焰离子化检测器(FID)、温度230℃,载气为氮气,分流比为10:1,进样口温度为200℃。结果 甲醇、丙酮、三氯甲烷、甲苯质量浓度分别在10.409~401.278 μg/mL, 10.008~400.308 μg/mL, 9.877~88.895 μg/mL, 3.022~120.873 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好, r 为0.9945~0.9987;精密度、稳定性试验结果的RSD均小于3% ($n=6$);平均加样回收率分别为101.62%, 102.26%, 101.63%, 102.32%, RSD分别为3.96%, 3.54%, 3.26%, 3.69% ($n=9$)。结论 该方法操作简便,能用于准确测定甲醇、丙酮、三氯甲烷、甲苯的含量。

关键词:气相色谱法;甲醇;丙酮;三氯甲烷;甲苯;盐酸尼卡地平;残留溶剂;含量测定

中图分类号:R927.2;T972+.4

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)06-0044-03

Content Determination of Residual Solvents in Nicardipine Hydrochloride by Headspace Gas Chromatography

LUO Jing, LIU Xiaoqin, AN Xuexia, DAI Yong, LI Xia, WEI Yaning

(Shaanxi Institute for Food and Drug Control, Xi'an, Shaanxi, China 710065)

Abstract: Objective To establish a headspace gas chromatography(GC) method for the content determination of residual solvents in nicardipine hydrochloride. Methods The headspace method was adopted, the chromatographic column was DB-624 capillary column(30 m×0.32 mm, 1.8 μm) with 6% cyanopropylbenzene and 94% dimethylsiloxane as the stationary liquid. The temperature was programmed, the detector was flame ionization detector(FID), and its temperature was 230℃, the carrier gas was nitrogen, the split ratio was 10:1, and the injection port temperature was 200℃. Results The linear ranges of methanol, acetone, trichloromethane and toluene were 10.409-401.278 μg/mL, 10.008-400.308 μg/mL, 9.877-88.895 μg/mL, 3.022-120.873 μg/mL ($r=0.9945-0.9987$), respectively. The RSDs of precision and stability tests were less than 3% ($n=6$). The average recoveries of methanol, acetone, trichloromethane and toluene were 101.62%, 102.26%, 101.63% and 102.32% with RSDs of 3.96%, 3.54%, 3.26% and 3.69% ($n=9$), respectively. Conclusion The method is simple, which can be used for the accurate determination of methanol, acetone, trichloromethane and toluene.

Key words: gas chromatography; methanol; acetone; trichloromethane; toluene; nicardipine hydrochloride; residual solvents; content determination

盐酸尼卡地平临床用于手术时异常高血压的急救和高血压性急症等,通常采用一步 Hantzsch 合成法^[1]或改良的两步合成法^[2]合成。人用药品注册技术要求国际协调会(ICH)指导原则^[3]Q3c“溶剂残留量的要求”和2015年版《中国药典(四部)》通则0861“残留溶剂测定法”^[4]均要求,原料药合成中使用的有机溶剂应按危害程度对残留溶剂分级,并建立相应的分析控制方法。盐酸尼卡地平的合成过程中使用了2015年版《中国药典(二部)》规定应限制使用的3种第二类溶剂,包括甲苯、三氯甲烷和甲醇,以及原料药重结晶所使用的第三类有机溶剂丙酮,而现行《中国药典》在盐酸尼卡地平原料国家标准方面,并未设置有机溶剂检查项,故在原料药质量控制方面存在缺陷与不足。本研究中建立的甲苯、三氯甲烷、甲醇和丙酮的溶剂残留毛细管色谱柱气相色谱(GC)顶空测定方法^[5],操作简便,结果准确,为提升盐酸尼卡地平原料

有机溶剂的国家标准提供了依据。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

7890B型气相色谱仪(美国安捷伦科技公司);SPB-3型全自动空气源(北京中惠普分析技术研究所);XS205DU型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司)。

1.2 试剂

盐酸尼卡地平原料药(陕西兴邦药业有限公司,批号分别为150801,120301);甲醇、丙酮、三氯甲烷、甲苯和二甲基亚砷均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:以6%氰丙基苯、94%二甲基硅氧烷为固

*基金项目:陕西省重点研发计划项目[2018SF-100]。

第一作者:罗晶,男,硕士研究生,副主任药师,研究方向为药物中有关物质的定性定量方法,(电子信箱)luo.jing126@126.com。

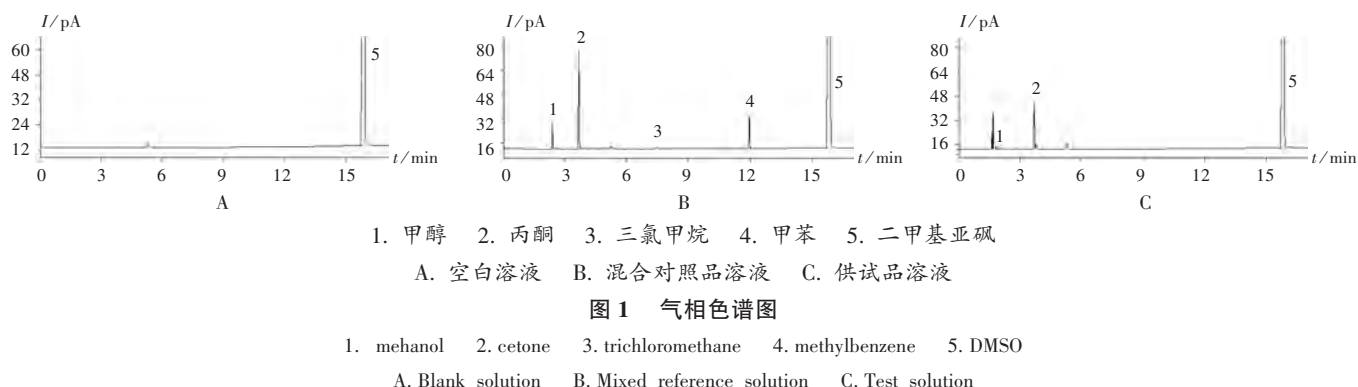


图1 气相色谱图

Fig. 1 GC chromatograms

定液的 DB-624 型毛细管柱(30 m×0.32 mm, 1.8 μm); 程序升温:45℃恒温6 min,以5℃/min的速率升至50℃,再以10℃/min的速率升至120℃并保持3 min;检测器:火焰离子化检测器(FID),温度为230℃;进样口温度:200℃;流速:2 mL/min;进样方式:分流进样(分流比为10:1);载气:氮气。

2.2 溶液制备

称取甲醇、丙酮、三氯甲烷和甲苯适量,精密称定,置同一容量瓶中,加二甲基亚砷稀释成质量浓度分别为100,100,10,30 mg/mL的混合对照品贮备液;取适量,用二甲基亚砷稀释成质量浓度分别为1.0,1.0,0.1,0.3 mg/mL的混合对照品溶液。取样品0.2 g,精密称定,置20 mL顶空进样瓶中,精密加入二甲基亚砷4 mL,密封,超声(200 W,40 kHz)10 min使溶解,作为供试品溶液。以二甲基亚砷适量作空白溶液。

2.3 方法学考察

专属性试验:取2.2项下3种溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果二甲基亚砷(溶剂)、甲醇、丙酮、三氯甲烷和甲苯均能有效分离,专属性良好。色谱图见图1。

线性关系考察:精密量取2.2项下混合对照品溶液适量,加二甲基亚砷溶解并稀释,制成甲醇和丙酮质量浓度均为10,50,150,250,400 μg/mL,三氯甲烷质量浓度为10,15,30,60,90 μg/mL,甲苯质量浓度为3,15,45,75,120 μg/mL的系列单一对照品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,以甲醇、丙酮、三氯甲烷、甲苯的峰面积(Y)为纵坐标、质量浓度(X)为横坐标进行线性回归。结果见表1。

检测限及定量限确定:取2.2项下混合对照品溶液,用二甲基亚砷倍比稀释,按2.1项下色谱条件进样测定,以信噪比3:1和10:1分别计算检测限及定量限。结果甲醇、丙酮、三氯甲烷、甲苯的检测限分别为2.08,0.50,1.00,0.30 μg/mL,定量限分别为10.41,10.01,9.88,3.02 μg/mL。

表1 线性关系考察结果(n=5)

Tab. 1 The linear relationship of each component(n=5)

待测成分	回归方程	r	线性范围(μg/mL)
甲醇	$Y_1 = 144 X_1 - 0.458$	0.995 5	10.409 ~ 401.278
丙酮	$Y_2 = 822 X_2 - 0.630$	0.994 5	10.008 ~ 400.308
三氯甲烷	$Y_3 = 0.0528 X_3 - 0.136$	0.998 8	9.877 ~ 88.895
甲苯	$Y_4 = 883 X_4 - 0.271$	0.994 8	3.022 ~ 120.873

精密度试验:取线性关系考察项下甲醇、丙酮、三氯甲烷、甲苯质量浓度分别为150,150,30,45 μg/mL的单一对照品溶液,按2.1项下色谱条件进样6次,记录峰面积。结果的RSD分别为0.66%,0.54%,2.74%,0.54%(n=6),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:精密称取同一样品(批号150801),依法制备供试品溶液,分别在室温下放置0,2,4,8,12,24 h时按2.1项下色谱条件进样测定。结果甲醇、丙酮、三氯甲烷、甲苯含量的RSD分别为0.93%,1.19%,2.74%,1.12%(n=6),表明供试品溶液室温下在24 h内稳定。

加样回收试验:取已知甲醇、丙酮、三氯甲烷、甲苯含量的样品(批号150801)9份,按2.2项下方法制备供试品溶液,取适量已知含量的供试品溶液,每3份1组,加入适量低、中、高质量浓度的单一对照品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,计算回收率。结果见表2。

2.4 样品含量测定

分别取不同批号(150801,120301)样品,平行2份,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,计算甲醇、丙酮、三氯甲烷和甲苯的含量。结果2批样品中均未检出三氯甲烷及甲苯,甲醇的含量均在定量限以下,丙酮的含量均为0.2%。

3 讨论

随着GC毛细管色谱技术的迅速发展,2015年版《中国药典(四部)》中也首选毛细管柱测定残留溶剂的含量;2015年版《中国药典(四部)》通则0861收录的残留溶剂测定法中对第二类溶剂(甲苯、三氯甲烷和甲醇)

表2 加样回收试验结果($n=9$)Tab. 2 Results of the recovery tests($n=9$)

待测成分	样品含量($\mu\text{g/mL}$)	加入量($\mu\text{g/mL}$)	测得量($\mu\text{g/mL}$)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
甲醇	未检出	50.16	53.00	105.66	101.62	3.96
	未检出	50.16	53.06	105.78		
	未检出	50.16	52.47	104.61		
	未检出	150.48	152.89	101.60		
	未检出	150.48	154.65	102.77		
	未检出	150.48	152.89	101.60		
	未检出	260.02	240.96	92.67		
	未检出	260.02	259.24	99.70		
	未检出	260.02	260.62	100.23		
丙酮	0.101	50.04	52.70	105.11	102.26	3.54
	0.103	50.04	52.28	104.27		
	0.104	50.04	51.90	103.51		
	0.106	150.12	154.76	103.02		
	0.105	150.12	153.27	102.03		
	0.101	150.12	153.97	102.50		
	0.105	250.19	232.52	92.90		
	0.102	250.19	258.95	103.46		
	0.102	250.19	259.16	103.54		
三氯甲烷	未检出	9.87	9.93	100.61	101.63	3.26
	未检出	9.87	9.98	101.11		
	未检出	9.87	9.98	101.11		
	未检出	14.82	15.23	102.77		
	未检出	14.82	15.67	105.74		
	未检出	14.82	15.98	107.83		
	未检出	29.63	29.21	98.58		
	未检出	29.63	29.16	98.41		
	未检出	29.63	29.18	98.48		
甲苯	未检出	15.11	15.98	105.76	102.32	3.69
	未检出	15.11	15.92	105.36		
	未检出	15.11	15.75	104.24		
	未检出	45.33	46.42	102.40		
	未检出	45.33	46.08	101.65		
	未检出	45.33	46.16	101.83		
	未检出	75.55	70.27	93.01		
	未检出	75.55	77.95	103.18		
	未检出	75.55	78.19	103.49		

及原料药重结晶所用的第三类有机溶剂(丙酮)均明确了含量限值。

《中国药典》作为药品质量技术法典,应及时对原料药合成中采用的残留溶剂进行全面、系统地考察,并建立质量控制方法,以切实提高和确保国产产品的质量。经查询国家药品监督管理局官网,截至发稿时,其批准的国内生产企业盐酸尼卡地平原料批准文号共3个,生产工艺基本一致,故本方涉及残留溶剂适合各企业开展原料生产的残留溶剂控制,也为企业对自身产品进行进

一步的质量考察,并提升相关标准提供了依据。

二氢吡啶类药物合成中使用的溶剂不同会导致不同的副产物杂质产生,如尼群地平的副产物杂质为溶剂乙醇产生^[6],尼莫地平杂质B和杂质C为合成过程中使用乙醇产生^[7],杂质D^[8]为与国外合成路线中不同的有机溶剂乙醇产生^[9-10]。再如非洛地平杂质A,其结构虽也包含二氢吡啶结构,但副产物的毒性^[11]并不比无活性降解杂质低^[12],因此同样应被严格控制,从杂质产生的条件来看,研究主药合成路线中的残留溶剂对于主成分杂质分析同样具有积极意义。

盐酸尼卡地平熔点为179~185℃,在水中几乎不溶解,二甲基亚砷能较好地溶解样品,且其残留溶剂能充分释出在顶空测定时,同时二甲基亚砷出峰时间较晚,能和文中4种待测成分完全分离,确保了不同企业选用溶剂有差异时残留溶剂测定结果的准确性。

参考文献

- [1] 朱健坤,方浩. 氯氮平的合成路线评述[J]. 齐鲁药事, 2009,28(10):618-620.
- [2] 张学民,解秀芳,管作武,等. 盐酸尼卡地平的合成[J]. 中国医药工业杂志,1990,21(3):104-105.
- [3] 周海钧. 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,2001:343-344.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社,2015:105-110.
- [5] 李继,林芳,王莉,等. 顶空气相色谱法测定盐酸右美托咪定中3种有机溶剂残留量[J]. 西北药学杂志,2015, 30(2):147-149.
- [6] 罗晶,沙振方,李秀珍,等. 尼群地平原料及片剂有关物质的考察[J]. 西北药学杂志,2003,18(6):245-247.
- [7] 徐云根,华维一. 尼莫地平的合成改进[J]. 中国医药工业杂志, 2005,36(1):8-9.
- [8] 罗晶,刘海静,贺浪冲. HPLC法测定尼莫地平及其制剂有关物质[J]. 药物分析杂志,2007,27(7):1039-1042.
- [9] CHEN H, QU D, WANG QF, et al. 5-Methyl 3-(2-Methylprop-3-yl)-5-methyl 2,6-dimethyl-4-(2-nitrosophenyl)pyridine-3,5-dicarboxylate[J]. Acta Crystallographica Section E, 2010,66(3):o619-sup-6.
- [10] LUO J, CHEN H, WANG QF, et al. 3-Ethyl 5-methyl-4-(2,3-dichlorophenyl)-2,6-dimethylpyridine-3,5-dicarboxylate[J]. Acta Crystallographica Section E, 2010, 66(3): o538-sup-6.
- [11] 胡昌勤. 药物杂质谱分析[M]. 北京:化学工业出版社, 2015:293.
- [12] CHEN H, LUO J, JING LL, et al. 3-Isobutyl 5-methyl 2,6-dimethyl-4-(2-nitrosophenyl)pyridine-3,5-dicarboxylate[J]. Acta Crystallographica Section E, 2010,66(1):o86-sup-6.

(收稿日期:2019-12-05;修回日期:2020-07-25)