

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.14.018

顶空气相色谱法测定瑞舒伐他汀钙合成中间物料的有机溶剂残留

斯智萍¹, 徐世芳²

(1. 浙江核力欣健药业有限公司, 浙江 湖州 313000; 2. 杭州医学院, 浙江 杭州 310013)

摘要:目的 建立测定瑞舒伐他汀钙合成中间物料(4*R*-顺式)-6-醛基-2,2-二甲基-1,3-二氧己环-4-乙酸叔丁酯中乙醛、乙醇、二甲硫醚、甲苯4种有机溶剂残留的顶空气相色谱法。方法 色谱柱为以6%氰丙基苯基-94%二甲基聚硅氧烷为固定相的Rtx-624毛细管柱(60 m×0.25 mm, 1.4 μm),程序升温,火焰离子化检测器,检测器温度为250℃,进样口温度为200℃,分流比为30:1,载气为氮气,顶空瓶平衡温度为90℃,顶空瓶平衡时间为30 min,定量环温度为120℃,传输线温度为130℃,进样量为1 mL;GCMS Solution 2.71 工作站,电子轰击(ESI)离子源,离子源温度230℃,传输线温度250℃;质量扫描范围 m/z 为45~550。结果 乙醛、乙醇、二甲硫醚及甲苯与各相邻色谱峰能完全分离,质量浓度分别在80.04~800.36 μg/mL、103.94~1 039.44 μg/mL、19.27~192.68 μg/mL、17.97~179.72 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好(R^2 均大于0.995);平均回收率分别为92.73%, 91.75%, 88.45%, 86.89%, RSD 分别为2.33%, 3.19%, 2.57%, 3.62% ($n=9$)。结论 该方法操作简单,准确度高,灵敏度好,可用于检测瑞舒伐他汀钙合成中间物料有机溶剂的残留量,可为该物料的质量控制提供参考。

关键词:顶空气相色谱法;瑞舒伐他汀钙;合成中间物料;残留有机溶剂

中图分类号:R927.1

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)14-0066-04

Determination of the Residual Organic Solvents in Synthetic Intermediate Materials of Rosuvastatin Calcium by Headspace Gas Chromatography

SI Zhiping¹, XU Shifang²

(1. Zhejiang Helixinjian Pharmaceutical Co., Ltd., Huzhou, Zhejiang, China 313000; 2. Hangzhou Medical College, Hangzhou, Zhejiang, China 310013)

Abstract: Objective To establish a headspace gas chromatography method for the determination of acetaldehyde, ethanol, dimethyl sulfide and toluene in the synthetic intermediate materials(4*R*-cis)-6-aldehyde-2,2-dimethyl-1,3-dioxane-4-butyl acetate of rosuvastatin calcium. **Methods** Gas chromatography(GC) was performed with Rtx-624 capillary column(60 m×0.25 mm, 1.4 μm) with 6% cyanopropylphenyl-94% dimethylpolysiloxane as stationary phase and programmed heating, the detector was flame ionization detector(FID) with temperature of 250℃, the temperature of injection port was 200℃, the split ratio was 30:1, the carrier gas was nitrogen, the equilibrium temperature of headspace bottle was 90℃, the equilibrium time of headspace bottle was 30 min, the temperature of quantitative loop was 120℃, the temperature of transmission line was 130℃, and the injection volume was 1 mL. GCMS solution 2.71 workstation was adopted with electron bombardment(ESI) ion source, the temperature of ion source was 230℃, the temperature of transmission line was 250℃, and the mass scanning range m/z was 45~550. **Results** Acetaldehyde, ethanol, dimethyl sulfide and toluene were completely separated from the adjacent peaks, and their linear ranges were 80.04~800.36 μg/mL, 103.94~1 039.44 μg/mL, 19.27~192.68 μg/mL, 17.97~179.72 μg/mL ($R^2 > 0.995$), respectively. The average recoveries of acetaldehyde, ethanol, dimethyl sulfide and toluene were 92.73%, 91.75%, 88.45%, 86.89% with RSD s of 2.33%, 3.19%, 2.57%, 3.62% ($n=9$), respectively. **Conclusion** The method is simple, accurate and sensitive, which can be used for the determination of residual organic solvents in the synthetic intermediate materials of rosuvastatin calcium and provide a reference for the quality control of the materials.

Key words: headspace gas chromatography; rosuvastatin calcium; synthetic intermediate materials; residual organic solvents

瑞舒伐他汀钙为全化学合成药,自日本盐野义制药株式会社首次研发成功(专利号:JP5178841B)以来,不少生产厂家研究出了不同的合成工艺路线。其中,英国阿斯利康公司(获得该药的技术转让)率先提出了将嘧啶母核做成磷盐,将叔丁酯做成侧链醛,然后经 Wittig 反应缩合得到瑞舒伐他汀骨架,再经脱保护、碱水解而转化成钙盐,从而得到瑞舒伐他汀钙^[1-4]。该经典合成线路中,叔丁酯侧链醛[(4*R*-顺式)-6-醛基-2,2-

二甲基-1,3-二氧己环-4-乙酸叔丁酯]作为关键的中间物料逐渐市场化,分析其合成工艺,该产品可能残留乙醇、乙醛、甲苯、二甲硫醚等有机溶剂。为考察所购叔丁酯侧链醛的质量,进一步控制瑞舒伐他汀钙的产品质量,本研究中采用顶空气相色谱法对叔丁酯侧链醛中的乙醇、乙醛、甲苯、二甲硫醚的残留进行了考察,并进行了方法学研究,以期对瑞舒伐他汀钙合成中间物料的质量控制提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

7890A 型气相色谱仪、7697A 型顶空进样器(美国 Agilent 公司);QP 2010 Ultra/SE 型气质联用仪(日本 Shimadzu 公司);XPE205 型电子天平(瑞士 Mettler 公司)。

1.2 试药

乙醇(色谱纯,批号为 K48709227),二甲基亚砜(色谱纯,批号为 10956900),均购自 Merck KgaA 公司;乙醛(Aladdin Industrial Corporation,批号为 20181208,含量为 99%);二甲硫醚(西格玛奥德里奇<上海>贸易有限公司,批号为 20180706,含量 $\geq 99.0\%$);甲苯(杭州双林化工试剂厂,批号为 20141008,含量 $\geq 99.5\%$);(4R-顺式)-6-醛基-2,2-二甲基-1,3-二氧己环-4-乙酸叔丁酯样品(江苏某制药有限公司,物料代号为 DK001Y-SM2,批号为 SQ-D7-160701)。

2 方法与结果

2.1 试验条件

色谱条件:色谱柱为以 6% 氰丙基苯基-94% 二甲基聚硅氧烷为固定相的 RtX-624 毛细管柱(60 m $\times$ 0.25 mm, 1.4 μ m),程序升温(初始温度为 60 $^{\circ}$ C,保持 15 min,以 40 $^{\circ}$ C/min 的速率升至 240 $^{\circ}$ C,保持 5 min);火焰离子化检测器,检测器温度为 250 $^{\circ}$ C,进样口温度为 200 $^{\circ}$ C,分流比为 30:1,载气为氮气;顶空进样,平衡温

度为 90 $^{\circ}$ C,平衡时间为 30 min,定量环温度为 120 $^{\circ}$ C,传输线温度为 130 $^{\circ}$ C;进样量为 1 mL。

质谱条件:GCMS Solution 2.71 工作站;电子轰击(EI)离子源,离子源温度 230 $^{\circ}$ C,传输线温度 250 $^{\circ}$ C;扫描模式 Full Scan,质量扫描范围 m/z 为 45~550。

2.2 溶液制备

混合对照品溶液:称取乙醇、乙醛、二甲硫醚及甲苯对照品各适量,精密称定,加二甲基亚砜溶解,制成每 1 mL 约含乙醇 50 mg、乙醛 38.5 mg、甲苯 9 mg 及二甲硫醚 10 mg 的混合对照品贮备液;逐级稀释,制成每 1 mL 含乙醇 0.5 mg、乙醛 0.385 mg、甲苯 0.09 mg 及二甲硫醚 0.1 mg 的混合对照品溶液。

供试品溶液:称取样品 0.5 g,精密称定,置 20 mL 顶空瓶中,精密加入 5 mL 二甲基亚砜,即得,压盖密封。

空白溶剂:以二甲基亚砜作为空白溶剂。

2.3 方法学考察

系统适用性试验:精密量取混合对照品溶液、空白溶剂及 100% 限度浓度加标供试品溶液各 5.0 mL,分别置 20 mL 顶空瓶中,压盖密封。按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录气相色谱图。结果空白溶剂对样品测定无干扰,供试品溶液中含有多个其他未知峰,但所测溶剂乙醛、乙醇、二甲硫醚及甲苯峰与各相邻色谱峰的分离度均大于 1.5。详见图 1。

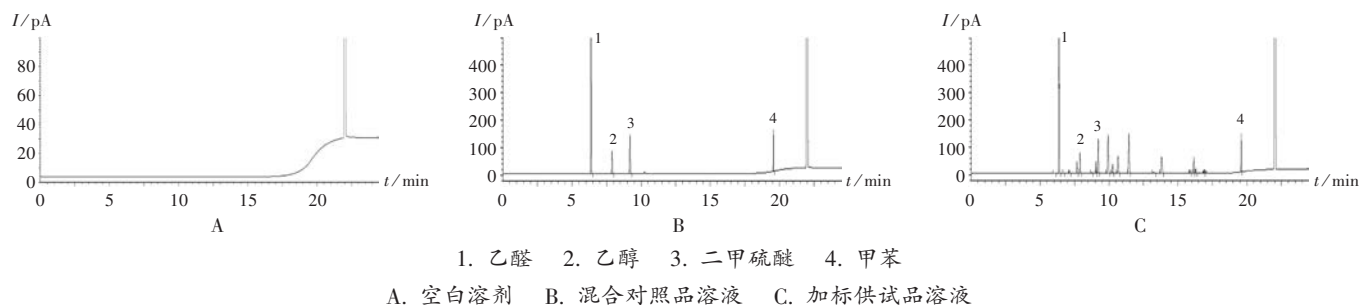


图 1 典型气相色谱图

1. acetaldehyde 2. ethanol 3. dimethyl sulfide 4. toluene
A. Blank solvent B. Mixed reference solution C. Spiked test solution

Fig. 1 Typical GC chromatograms

线性关系考察:精密量取混合对照品贮备液 0.2, 0.5, 0.8, 1.0, 1.2, 2.0 mL, 分别置 100 mL 容量瓶中,用二甲基亚砜定容,即得残留溶剂系列混合对照品溶液。各精密量取 5 mL,置 20 mL 顶空瓶中,压盖密封。按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以峰面积为纵坐标、各待测成分质量浓度为横坐标进行线性回归,得回归方程及线性范围。结果见表 1。

精密度试验:精密量取混合对照品溶液 5 mL,置 20 mL 顶空瓶中,平行制备 6 份,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果乙醛、乙醇、二甲硫醚及甲

表 1 线性关系考察结果($n=6$)

Tab. 1 Results of the linear relation test($n=6$)

成分	回归方程	R^2	线性范围(μ g/mL)
乙醛	$Y_1 = 3.0621X_1 - 18.767$	0.9991	80.04 ~ 800.36
乙醇	$Y_2 = 0.5639X_2 - 16.486$	0.9965	103.94 ~ 1039.44
二甲硫醚	$Y_3 = 5.0691X_3 - 12.409$	0.9994	19.27 ~ 192.68
甲苯	$Y_4 = 2.8314X_4 - 11.535$	0.9977	17.97 ~ 179.72

苯峰面积的 RSD 均小于 10.0% ($n=6$),表明仪器的精密度良好。

检测限与定量限考察:将 2.2 项下混合对照品溶液

表2 检测限与定量限检测结果

Tab. 2 Results of LOD and LOQ

成分	定量限 ($\mu\text{g/mL}$)	相当于供试品 溶液含量(%)	检测限 ($\mu\text{g/mL}$)	相当于供试品 溶液含量(%)	限度 (%)
乙醛	0.48	0.000 5	0.16	0.000 2	0.382 5
乙醇	3.12	0.003 0	2.08	0.002 0	0.500 0
二甲硫醚	0.38	0.000 4	0.13	0.000 1	0.100 0
甲苯	1.78	0.002 0	0.54	0.000 5	0.089 0

逐级稀释,分别以信噪比(S/N)为3和10时的质量浓度作为检测限和定量限。进样分析,记录气相色谱图,测得乙醛、乙醇、二甲硫醚及甲苯的检测限和定量限(见表2)。定量限的精密度 RSD 均小于10% ($n=6$),表明该方法灵敏度好。

回收率试验:取混合对照品贮备液0.8,1.0,1.2 mL,分别置100 mL容量瓶中,配制低、中、高3种质量浓度(各溶剂限度的80%,100%,120%)的混合对照品溶液。取样品0.5 g,置20 mL顶空瓶中,分别精密加入3种不同浓度的混合对照品溶液各5.0 mL,每种浓度各制备3份。按2.1项下色谱条件进样分析,记录峰面积,按外标法计算回收率。结果见表3至表6。

2.4 样品含量测定

取样品0.5 g,依法制备供试品溶液,平行2份,按

表3 乙醛回收率试验结果($n=9$)

Tab. 3 Results of the recovery test of acetaldehyde($n=9$)

样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
2.03	316.94	294.65	92.33		
1.98	316.94	297.18	93.14		
1.99	316.94	292.36	91.62		
2.04	396.18	377.32	94.72		
2.00	396.18	369.09	92.66	92.73	2.33
2.04	396.18	370.55	93.02		
2.02	475.41	459.53	96.23		
2.02	475.41	441.98	92.54		
1.99	475.41	421.83	88.31		

表4 乙醇回收率试验结果($n=9$)

Tab. 4 Results of the recovery test of ethanol($n=9$)

样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
7.10	415.36	370.71	87.54		
6.93	415.36	381.61	90.21		
6.98	415.36	384.65	90.93		
7.14	519.20	502.57	95.42		
7.00	519.20	489.03	92.84	91.75	3.19
7.14	519.20	490.93	93.18		
7.06	623.04	603.43	95.72		
7.07	623.04	580.32	92.01		
6.97	623.04	554.36	87.86		

表5 二甲硫醚回收率试验结果($n=9$)

Tab. 5 Results of the recovery test of dimethyl sulfide($n=9$)

样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
1.01	76.30	67.92	87.69		
0.99	76.30	68.79	88.86		
1.00	76.30	67.36	86.97		
1.02	95.38	87.53	90.70		
1.00	95.38	85.20	88.28	88.45	2.57
1.02	95.38	85.60	88.68		
1.01	114.45	106.54	92.21		
1.01	114.45	102.36	88.55		
1.00	114.45	97.23	84.08		

表6 甲苯回收率试验结果($n=9$)

Tab. 6 Results of the recovery test of toluene($n=9$)

样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
5.07	71.53	64.93	83.69		
4.95	71.53	66.78	86.44		
4.98	71.53	65.94	85.22		
5.10	89.41	86.23	90.74		
5.00	89.41	82.49	86.67	86.89	3.62
5.10	89.41	82.92	87.04		
5.04	107.29	104.68	92.87		
5.05	107.29	97.60	86.26		
4.98	107.29	94.09	83.06		

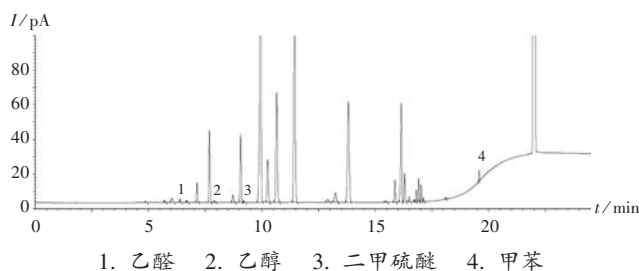


图2 供试品溶液气相色谱图

1. acetaldehyde 2. ethanol 3. dimethyl sulfide 4. toluene

Fig. 2 GC chromatograms of test solution

2.1项下试验条件进样检测,记录色谱图(见图2)。结果供试品溶液中乙醛、乙醇、二甲硫醚、甲苯的含量分别为0.002%,0.008%,0.001%,0.005%。

为进一步鉴定样品中未知溶剂峰,按2.1项下试验条件,对供试品溶液进行气相色谱串联质谱(GC-MS)分析,结果见图3。结合NIST谱库检索功能,扣除空白溶剂峰的干扰,对供试品溶液中较大的10个未知峰进行结构归属,鉴定结果见表7。

3 讨论

3.1 进样方式选择

气相色谱的进样方式有直接进样及顶空进样。直接进样快速、方便、准确,顶空进样温度较低,可避免样品热解损失及非挥发性物质对进样口和毛细管柱的污

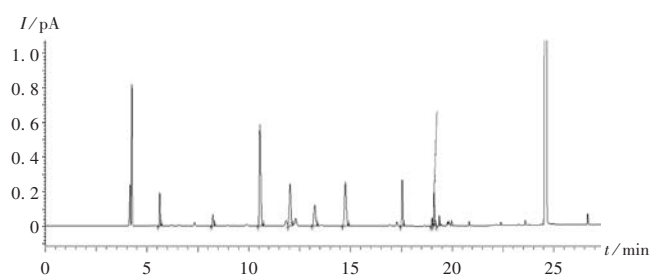


图3 供试品溶液气相色谱串联质谱总离子流图

Fig. 3 Total ion flow of test solution by GC-MS/MS

表7 供试品溶液中10种鉴定的未知化合物结构信息表

Tab. 7 Structure information of 10 unknown compounds identified in the test solution

序号	化合物	保留时间(min)	分子式	结构式	匹配度(%)
1	环丁烷	5.625	C ₄ H ₈		97
2	正戊烷	8.238	C ₅ H ₁₂		97
3	丙酮	10.533	C ₃ H ₆ O		97
4	2-甲基戊烷	12.027	C ₆ H ₁₄		97
5	3-甲基戊烷	13.245	C ₆ H ₁₄		97
6	正己烷	14.753	C ₆ H ₁₄		98
7	甲基环戊烷	17.545	C ₆ H ₁₂		96
8	2-甲基己烷	19.014	C ₇ H ₁₆		94
9	环己烷	19.108	C ₆ H ₁₂		97
10	3-甲基己烷	19.363	C ₇ H ₁₆		97

染^[5-9]。预试验中,样品在直接进样-气相色谱分析中,主成分有较大响应,导致某些残留溶剂可能被包裹在主成分中而漏检,故最终选择顶空进样方式。

3.2 溶剂选择

顶空气相色谱法选用的溶剂多为水,但由于该中间物料不溶于水,故先后考虑了溶解能力较强的二甲基亚砶及二甲基甲酰胺。待测残留溶剂甲苯的沸点较高,出峰靠后,为了不干扰测定,最终选择了二甲基亚砶。

3.3 顶空条件选择

预试验中采用单因素考察方法确定了最佳平衡时间和平衡温度。固定平衡时间,考察不同平衡温度(70, 80, 90, 100 ℃)下待测成分响应值的变化,发现随着温度的升高,待测成分响应值增加,但由于90 ℃与100 ℃的响应值无明显差异,考虑温度过高可能使样品发生热解,故选择平衡温度为90 ℃。固定平衡温度,考察不同平衡时间(20, 25, 30, 35 min)对待测成分响应值的影响,发现平衡30 min后再继续延长平衡时间,待测成分的响应值并无明显增加,故选择平衡时间为30 min。

3.4 顶空瓶溶剂体积选择

顶空体积的大小对检测灵敏度、精密度有重要影响^[10]。

预试验中分别考察了溶剂体积为1, 3, 5, 7 mL时待测成分响应值的变化。结果发现,当溶剂体积小于顶空瓶体积的1/3时,随着溶剂体积的增加,响应值增加;溶剂体积为7 mL时的响应值与5 mL时无明显差异,且精密度略有降低,故将溶剂体积确定为5 mL。

3.5 供试品中其他未知溶剂峰的鉴定

为进一步鉴定样品中的未知溶剂峰,采用GC-MS法对供试品溶液中较大的10个未知峰进行了结构鉴定。由于样品为供应商提供的工艺研究批次样品,对乙醛、乙醇、二甲硫醚和甲苯等4种残留有机溶剂测定的目的,只是为供应商提供一种有机溶剂残留量测定参考方法,故未对鉴定出的10种含量较大的溶剂峰做进一步追溯。后续需与物料供应商接洽反馈该试验结果,建议其从生产工艺及试验溶剂着手,在生产过程中加上溶剂清洗的步骤,对该物料做进一步纯化处理,并要求供应商对优化工艺再行分析,根据实际情况对残留溶剂进行定量控制,做好中间物料的控制。

3.6 方法评价

本研究中通过对溶剂、顶空平衡时间及平衡温度等条件的优化试验,建立了对测定瑞舒伐他汀钙合成中间物料(4R-顺式)-6-醛基-2,2-二甲基-1,3-二氧己环-4-乙酸叔丁酯中的乙醛、乙醇、二甲硫醚及甲苯等4种有机溶剂残留量的顶空气相色谱法。该方法操作简便,灵敏度高,准确度高,各组分间的分离度较好。该研究为复杂样品基质中有机溶剂残留量的测定提供了参考,为供应商对该物料的生产纯化提供了方向。

参考文献

- [1] H. 科伊克, M. 卡巴基, N. P. 泰勒, 等. (E)-(6-{2-[4-(4-氟苯基)-6-异丙基-2-[甲基(甲磺酰基)氨基]嘧啶-5-基]乙烯基})(4R,6S)-2,2-二甲基[1,3]二氧杂-4-基)乙酸叔丁酯的制备方法[P]. 中国, CN1340052A. 2002-03-13.
- [2] 梅光耀, 王 飞, 缪涵辉, 等. 瑞舒伐他汀钙合成的新工艺[J]. 中国药物化学杂志, 2018, 28(2): 119-124.
- [3] 储玲洁. 瑞舒伐他汀钙的合成及质量研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2017.
- [4] 蔡 伟. 瑞舒伐他汀钙合成工艺研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2006.
- [5] 张小妮, 刘雪峰, 王锦鹤, 等. 顶空气相色谱法测定盐酸罗匹尼罗原料药的溶剂残留[J]. 西北药学杂志, 2015, 30(6): 699-701.
- [6] 张丽妹, 余东来, 王 森, 等. 顶空毛细管气相色谱法同时测定罗库溴铵起始物料LK-7中的8种残留溶剂[J]. 沈阳药科大学学报, 2018, 35(7): 547-551.
- [7] 齐海娟, 崔浩亮, 邓晓晴. 顶空气相色谱法测定 Selexipag 合成中间体的残留溶剂[J]. 河北科技大学学报, 2019, 40(3): 227-232.
- [8] 杜碧莹. 顶空气相色谱法检测环戊丙酸雌二醇原料药中5种残留溶剂[J]. 中国药业, 2017, 26(7): 24-26.
- [9] 江 生, 杨必勇, 张小松. 顶空气相色谱法测定匹伐他汀钙中有机溶剂残留[J]. 中国药业, 2006, 15(21): 42-43.
- [10] 曾新宇, 刘 静. 顶空-气相色谱法测定水中2-乙基苯胺的含量[J]. 理化检验: 化学分册, 2016, 52(3): 354-355.

(收稿日期: 2020-08-10; 修回日期: 2020-12-10)