

气相色谱法测定非那雄胺中 11种有机溶剂残留量

刘继华¹, 刘屹¹, 李慧义², 陈祖芬¹

(1. 云南省食品药品检验所, 昆明 650011; 2 中国药品生物制品检定所, 北京 100050)

摘要 目的: 建立气相色谱法检测非那雄胺原料药中有机残留溶剂的方法。方法: 色谱柱为 HP-NNOWAX (30 m × 0.53 mm, 3.0 μm), 氢火焰离子化检测器, 载气为氮气; 进样口温度: 220 °C; 检测器温度: 240 °C; 程序升温: 40 °C 保持 5 min, 以 10 °C · min⁻¹ 升温至 220 °C, 保持 2 min, 以 *N*-甲基吡咯烷酮为溶剂, 正丁醇为内标。结果: 被测物均能达到较好的分离, 峰面积与浓度呈良好的线性关系, 精密度良好。结论: 本法可用于非那雄胺原料药中有机溶剂残留量的检测。

关键词: 气相色谱; 非那雄胺; 残留溶剂

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)03-0475-03

GC determination of eleven kinds of residual solvents in Finasteride

LIU Ji-hua¹, LIU Yi¹, LI Hu-yi², CHEN Zu-fen¹

(1 Yunnan Institute for Food and Drug Control Kunming 650011, China

2 National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products Beijing 100050, China)

Abstract Objective To establish a method of GC for the determination of Residual Solvents in Finasteride. **Method** The residual solvents in Finasteride were separated by HP-NNOWAX capillary column (30 m × 0.53 mm, 3.0 μm) with FID detector. The carried gas was nitrogen. The injector temperature and the detector temperature were controlled at 220 °C and 240 °C, respectively. The programmed column temperature was set as follows: maintained at 40 °C for 5 min and then raised to 220 °C at the rate of 10 °C · min⁻¹ followed by holding for 2 min. The sample was dissolved in NMP and *n*-butyl alcohol was used as the internal standard. **Result** The measured solvents were separated completely. The calibration curve of each solvent showed a good linear relationship with good precision and accuracy. **Conclusion** The established method was accurate and reliable. It can be used for the determination of residual solvents in Finasteride.

Key word: GC; finasteride; residual solvents

非那雄胺为一种合成的甾体激素化合物, 是新一类 5α-还原酶特异抑制剂的第一个药物, 是睾酮代谢成为更强的二氢睾酮过程中的细胞内酶-II型 5α-还原酶的特异性抑制剂, 能非常有效地减少血液和前列腺内的二氢睾酮, 从而治疗和控制良性前列腺增生症。由于本药治疗前列腺增生具有良好的效果, 国内多家药厂均有生产。该药有多种合成路线, 步骤较长, 使用有机溶剂种类较多。由于不同的药厂采用合成方法不同, 所用溶剂不同, 有的用到的溶剂未进行测定, 申报的质量标准中有机溶剂残留测定的方法各不相同。本文综合了各药厂的生产工艺, 将生产过程中所用到的一、二类有机溶剂及

结晶过程中所用到的有机溶剂共计 11种, 建立了本方法可同时测定 5个厂家产品的不同有机溶剂残留量。

1 仪器与试剂

仪器: Agilent 6890A 气相色谱仪, 氢火焰离子化检测器。

试剂: 环己烷、四氢呋喃、乙酸乙酯、甲醇、二氯甲烷、甲苯、二氧六环、吡啶、氯苯、*N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF)、乙二醇、正丁醇及 *N*-甲基吡咯烷酮 (NMP) 均为分析纯。非那雄胺原料药由河南天方药业股份有限公司 (批号 06050004Q, 06090001Q, 061000100)、浙江仙琚制药股份有

限公司(批号 061101; 061102; 061103)、山西亚宝药业集团股份有限公司(批号 060901; 060902; 060903)、湖北葛店人福药业有限责任公司(批号 061009; 061010; 061011)及湖南千金湘江药业股份有限公司(批号 061101; 061102; 061103)提供。以上样品高效液相色谱纯度均高于 99.0%。

2 色谱条件

色谱柱: HP-NNOWAX 毛细管柱(30 m × 0.53 mm × 3.0 μm); 载气: 高纯氮气; 进样口温度: 220 °C; 检测器温度: 240 °C; 程序升温: 40 °C 保持 5 min 以 10 °C · min⁻¹ 升温至 220 °C, 保持 2 min 分流比为 5:1 直接进样, 进样体积为 1.0 μL。以 *N*-甲基吡咯烷酮为溶剂, 正丁醇为内标。

3 内标及标准溶液的配制

3.1 内标溶液 取正丁醇适量, 加 *N*-甲基吡咯烷酮制成每 1 mL 中含正丁醇为 0.2 mg · mL⁻¹ 的溶液, 摇匀, 即得。

3.2 标准溶液 取环己烷、四氢呋喃、乙酸乙酯、甲醇、二氯甲烷、甲苯、二氧六环、吡啶、氯苯、*N,N*-二甲基甲酰胺与乙二醇适量, 精密称定, 加内标溶液制成每 1 mL 含环己烷 1.94 mg 四氢呋喃 0.36 mg 乙酸乙酯 2.5 mg 甲醇 1.5 mg 二氯甲烷 0.3 mg 甲苯 0.44 mg 二氧六环 0.19 mg 吡啶 0.1 mg 氯苯 0.18 mg *N,N*-二甲基甲酰胺 0.44 mg 与乙二醇 0.31 mg 的溶液作为储备液, 精密量取储备液 10 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加内标溶液稀释至刻度, 摇匀, 作为标准溶液。

4 专属性及精密度试验

取标准溶液按上述色谱条件进行测定, 各峰可很好的分离。非那雄胺有机残留溶剂分离色谱见图 1 (所用图谱为回收率测定图谱, 样品对测定方法无干扰)。空白溶剂峰不干扰残留溶剂的测定, 各残留溶剂的分离度均大于 2。取标准溶液连续进样 5 次, 测定其峰面积, 计算标准溶液中环己烷、四氢呋喃、乙酸乙酯、甲醇、二氯甲烷、甲苯、二氧六环、吡啶、氯苯、*N,N*-二甲基甲酰胺与乙二醇峰面积的 RSD 分别为: 0.6 0.4 0.3 0.4 0.7 0.4 0.8 0.4 0.3 0.1, 1.5%。进样精密度良好。

5 线性关系考察

精密量取一定量的储备液分别加内标溶剂稀释 2.5 10 25 倍的溶液作为标准曲线溶液, 按上述色谱条件进行测定, 以峰面积为 *Y* 轴, 浓度为 *X* 轴做标准曲线, 结果见表 1。

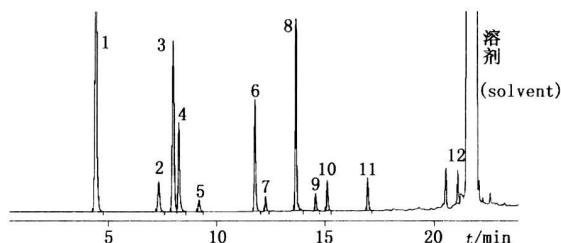


图 1 非那雄胺有机残留溶剂分离色谱图

Fig 1 Chromatogram of the residual solvents in Finasteride

1. 环己烷 (hexamethylene) 2. 四氢呋喃 (THF)
3. 乙酸乙酯 (ethyl acetate) 4. 甲醇 (methanol)
5. 二氯甲烷 (dichloromethane) 6. 甲苯 (toluene)
7. 二氧六环 (dioxane) 8. 正丁醇 (n-butyl alcohol)
9. 吡啶 (pyridine) 10. 氯苯 (chlorobenzene)
11. *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF) 12. 乙二醇 (ethylene alcohol)

表 1 线性范围试验结果

Tab 1 Linear range

溶剂 (solvents)	回归方程 (regression equation)	R ²
环己烷 (hexamethylene)	$y = 0.22420x - 0.00271$	0.99996
四氢呋喃 (THF)	$y = 0.03038x - 0.00050$	0.99995
乙酸乙酯 (ethyl acetate)	$y = 0.14790x - 0.00174$	0.99997
甲醇 (methanol)	$y = 0.07258x - 0.00087$	0.99996
二氯甲烷 (dichloromethane)	$y = 0.00522x - 0.00007$	0.99995
甲苯 (toluene)	$y = 0.06708x - 0.00073$	0.99998
二氧六环 (dioxane)	$y = 0.01305x - 0.00020$	0.99996
吡啶 (pyridine)	$y = 0.01234x - 0.00013$	0.99998
氯苯 (chlorobenzene)	$y = 0.01941x - 0.00023$	0.99998
<i>N,N</i> -二甲基甲酰胺 (DMF)	$y = 0.02359x + 0.00017$	0.99998
乙二醇 (ethylene alcohol)	$y = 0.01466x - 0.00133$	0.99965

6 最低检测限

取标准溶液采用逐步稀释法稀释制成一定浓度的溶液, 按上述方法进行测定, 以 3 倍信噪比计, 环己烷、四氢呋喃、乙酸乙酯、甲醇、二氯甲烷、甲苯、二氧六环、吡啶、氯苯、*N,N*-二甲基甲酰胺与乙二醇的最低检测限分别为 0.15, 0.07, 0.24, 0.14, 0.46, 0.04, 0.25, 0.11, 0.18, 0.48, 2.67 ng。

7 回收率试验

取非那雄胺 (湖南千金湘江药业股份有限公司, 批号 061101) 样品 0.5 g 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 精密加入一定量的储备液, 用内标溶液稀释至刻度, 制成高、中、低 3 种浓度的溶液各 3 份 (共 9 份), 作为回收率测定用溶液, 取标准溶液作为对照品溶液, 取两者按上述方法进行测定, 以内标法计算, 样品对测定方法无干扰, 结果见表 2。

8 样品测定

取上述 5 个厂家的共 15 批非那雄胺原料药各 0.5 g 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加内标溶液使溶

表 2 回收率试验测定结果 ($n=3$)

Tab 2 Results of recovery

溶剂 (solvents)	加入量 (added amount) / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	测得量 (determined amount) / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	平均回收率 (average recovery) / %	RSD / %
环己烷 (hexan ethylene)	155.4 194.2 233.0	149.5 189.9 224.4	96.2 97.8 96.3	1.4 0.5 1.6
四氢呋喃 (THF)	25.9 32.4 38.9	25.8 32.5 38.7	99.5 100.4 99.5	0.8 0.3 0.9
乙酸乙酯 (ethyl acetate)	202.2 252.8 303.4	201.8 254.1 300.7	99.8 100.5 99.1	0.6 0.2 0.7
甲醇 (methanol)	110.2 137.8 165.4	112.3 141.8 168.8	101.9 102.9 102.1	0.5 0.7 0.5
二氯甲烷 (dichloromethane)	38.7 48.4 58.1	39.1 48.8 58.0	101.0 100.8 99.8	1.0 0.9 0.5
甲苯 (toluene)	40.5 50.6 60.7	40.2 50.4 59.8	99.2 99.6 98.5	0.3 0.2 0.3
二氧六环 (dioxane)	16.1 20.1 24.1	16.1 20.1 23.9	99.9 100.0 99.2	1.0 0.5 0.3
吡啶 (pyridine)	7.6 9.5 11.4	7.6 9.4 11.3	100.0 98.9 99.1	1.6 0.7 0.2
氯苯 (chlorobenzene)	14.6 18.3 22.0	14.7 18.4 21.9	100.7 100.5 99.5	0.8 0.4 0.4
<i>N,N</i> -二甲基 甲酰胺 (DMF)	37.0 46.2 55.4	37.3 45.6 55.4	100.8 98.7 100.0	0.8 1.2 1.8
乙二醇 (ethylene alcohol)	25.3 31.6 37.9	24.3 30.5 36.5	96.0 96.6 96.3	2.0 1.7 2.1

解并稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。按上述色谱方法进行测定,按内标法以峰面积计算。其中浙江仙琚未检出残留溶剂,千金湘江及河南天方检出二氯甲烷,湖北葛店及山西亚宝检出二氯甲烷和甲苯,检出的残留溶剂量均未超出 ICH 及《中国药典》2005年版二部中残留溶剂项下规定的限度,其余各溶剂均未检出。测定结果见表 3。

9 讨论

9.1 非那雄胺对治疗和控制良性前列腺增生症具有较好的疗效,国内多家药厂均有生产,该药有多种合成路线,步骤较长,使用有机溶剂种类较多。这些溶剂会对人体的健康和环境造成危害,在生产过程中完全去除是非常困难的,但必须确保产品中这些溶剂的残留量是人体可以接受的。根据人用药品注

册技术要求国际协调会 (ICH)^[1]及《中国药典》^[2],

表 3 样品中残留溶剂的测定结果 (% $n=2$)

Tab 3 Determination results of residual solvents in sample

名称 (name)	批号 (Lot NO.)	二氯甲烷 (dichloromethane)	甲苯 (toluene)
千金湘江 (qianjinxiangjiang)	061101 061102 061103	0.053 0.055 0.049	— — —
河南天方 (henantianfang)	060500040 060900010 061000100	0.029 0.039 0.034	— — —
湖北葛店 (hebeigedian)	061009 061010 061011	0.047 0.050 0.049	0.036 0.037 0.038
山西亚宝 (shanyiyabao)	060901 060902 060903	0.056 0.058 0.056	0.004 0.004 0.004

本实验中所测定的 11种残留溶剂分别属于第二类 and 三类溶剂,并对各种溶剂的限度有相应的规定,根据该指导原则建立了本文的测定方法。

9.2 本文选用专属性好,灵敏度高,的气相色谱法进行快速分析测定有机溶剂残留量。测定残留溶剂的方法通常可采用顶空进样和直接进样的方法,由于本实验中所需测定的溶剂较多,各溶剂的沸点相差大,且氯苯、DMF 等沸点较高,故选用了直接进样法;根据各溶剂的沸点及出峰顺序,选择沸点适中的正丁醇作为内标,使内标出峰时间适当且干扰其余各溶剂的测定;根据样品的溶解性能及溶剂的沸点,选择了 *N*-甲基吡咯烷酮作为溶解样品的溶剂,才不会干扰各溶剂的测定^[3]。本实验针对各厂家不同工艺中使用到的不同有机溶剂而建立,分离度好、精密度高,方法准确可靠,符合 ICH 及《中国药典》的各项要求,并测定了 5个厂家共计 15批样品中是否含有这 11种有机溶剂,检出的残留溶剂主要为二氯甲烷及甲苯,说明本法可较好的用于非那雄胺原料的残留溶剂测定。

参考文献

- 1 ZHOU Hai-jun(周海钧). Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: Quality Section(药品注册的国际技术要求·质量部分). Beijing(北京): People's Medical Publishing House(人民卫生出版社), 2001. 343
- 2 ChP(中国药典). 2005. Vol II (二部): Appendix(附录) 54
- 3 WEI Ling(魏玲), XU Jiang-hong(许江红), SHI Ya-qin(施亚琴), et al. GC determination of residual solvents in adebovir diphosphate(毛细管气相色谱法测定阿德福韦酯有机溶剂残留量). Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2005, 25(11): 1357

(本文于 2008年 1月 8日收到)