

顶空气相色谱法测定非布司他原料药中有机溶剂残留

王 琤¹, 琚 辉^{2*}

1. 天津市第一中心医院 药学部, 天津 300192

2. 天津中医药大学 实验教学部, 天津 300193

摘要: **目的** 建立了测定非布司他原料药中可能残留的7种有机溶剂(甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、四氢呋喃、正庚烷、氯苯)的检测方法。**方法** 采用顶空气相色谱法, 色谱柱为DB-624毛细管柱(30.0 m×0.53 mm×3.00 μm), 载气为高纯氮气; 顶空温度为80 °C, 顶空时间为30 min; 柱温50 °C, 维持2 min, 以10 °C/min升至200 °C, 维持2 min; 氢火焰离子化检测器(FID), 温度为250 °C。**结果** 在考察的浓度范围内线性关系良好($r=0.998\ 0\sim 0.999\ 8$), 7种残留溶剂均完全分离, 精密度、重复性试验RSD值均小于5.0%, 被测组分的平均回收率符合规定, 供试品溶液稳定。**结论** 该气相色谱法操作简便, 准确, 灵敏度高, 可用于检测非布司他原料药中有机溶剂的残留物。

关键词: 非布司他; 有机溶剂残留; 顶空气相色谱

中图分类号: R927.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2014)01-0048-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.01.011

Determination of residual organic solvents in febuxostat bulks drug by headspace gas chromatography

WANG Cheng¹, JU Hui²

1. Department of Pharmacy, Tianjin First Center Hospital, Tianjin 300192, China

2. Experimental Teaching Department, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To establish a method for determination of the seven residual organic solvents, such as methanol, ethanol, isopropanol, dichloromethane, tetrahydrofuran, *n*-heptane, and chlorobenzene in febuxostat bulks drug. **Methods** Gas headspace chromatography was applied to the study. The column was DB-624 silica capillary column (30.0 m × 0.53 mm × 3.00 μm). The initial temperature was kept at 50 °C for 2 min, then the temperature was raised to 200 °C at the rate of 10 °C/min and subsequently sustained for 2 min. FID detector temperature was 250 °C. The vial temperature was 80 °C, and the vial time was 30 min. **Results** There was a good linearity in the experimental concentration ($r=0.998\ 0\sim 0.999\ 8$). The RSD values were all less than 5.0%. The average recovery was good. The test solution was stable. **Conclusion** The analytical method is simple, accurate and sensitive, which could be used for the quality control of residual organic solvents in febuxostat bulks drug.

Key words: febuxostat; residual organic solvents; headspace gas chromatography

非布司他由日本帝人制药株式会社研发, 于2004年初在日本申请上市, 2008年由益普生制药公司在欧洲申请上市, 2009年3月在美国上市。非布司他为新一代黄嘌呤氧化酶抑制剂, 临床上用于治疗尿酸过高症(痛风)。目前对于非布司他的研究主要集中在合成^[3]、测定^[4]、有关物质检测^[5]、杂质研究^[6]、药动学和药理学^[7]等方面。在该药的合成工

艺和精制过程中, 需要用到甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、四氢呋喃、正庚烷、氯苯7种有机溶剂, 这些溶剂会对人体健康造成危害, 在生产过程中完全去除比较困难, 但必须确保产品中的这些溶剂残留量是人体可以接受的。《中国药典》2010年版二部和国际人用药品注册技术协调大会(ICH)对各类溶剂残留量有严格的规定^[8-10]。因此本实验建立

收稿日期: 2013-08-23

作者简介: 王 琤(1970—), 男, 主管药师, 药剂专业本科, 研究方向为医院药学。Tel: (022)23737209 E-mail: 13820587996@139.com

*通信作者 琚 辉, 男, 实验师, 研究方向为药物分析。Tel: (022)59596153 E-mail: juhui163@163.com

了毛细管柱顶空气相色谱法测定非布司他原料药合成工艺中用到的 7 种溶剂, 并进行了方法学研究。结果显示, 该方法准确, 灵敏度高, 可用于非布司他原料药中残留溶剂的检测。

1 仪器与试剂

Agilent 6890 气相色谱仪; Agilent 7694E 顶空进样器; 氢火焰离子化检测器 (FID); HP Chem Station 工作站。

甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、四氢呋喃、正庚烷、氯苯、二甲基亚砜 (色谱纯, 天津市康德科技有限公司)。非布司他原料样品由山东鲁抗辰欣药业股份有限公司提供, 批号分别为 121202、121203、121204。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

DB-624 毛细管柱 (30.0 m×0.53 mm×3.00 μm); 采用程序升温, 50 °C 维持 2 min, 以 10 °C/min 升至 200 °C, 维持 2 min; 进样口温度为 250 °C, 检测器温度为 250 °C。检测器为 FID; 载气为高纯氮气, 体积流量 2.0 mL/min, 分流比 5:1; 顶空条件: 平衡温度 80 °C, 加热 30 min, 定量圈 90 °C, 传送带 100 °C, 自动顶空进样, 进样量 3 mL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别精密移取甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、四氢呋喃、正庚烷、氯苯适量, 加二甲基亚砜 (DMSO) 配制质量浓度分别为 6.02、10.10、10.10、1.16、1.42、10.10、0.704 μg/mL 的对照品储备液。再精密量取 5 mL 对照品储备液, 加 DMSO 定容至 100 mL 量瓶中, 摇匀。精密量取 2.0 mL 置 10 mL 顶空瓶中, 加盖密封, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取非布司他原料样品 200 mg, 置 10 mL 顶空瓶中, 精密加入 DMSO 2.0 mL, 摇匀, 加盖密封, 即得。

2.3 系统适用性试验

取对照品溶液, 精密量取 2 mL 置 10 mL 顶空瓶中, 摇匀, 加盖密封, 进样测定。结果各组分的分离度均符合规定, 柱效均大于 10 000。

2.4 线性关系考察

分别移取对照品贮备液 0.2、0.5、0.8、1.0、1.2、1.5 mL 置 10 mL 量瓶中, 加 DMSO 稀释到刻度, 混匀。分别移取各溶液 2 mL, 置 10 mL 顶空瓶中, 加盖密封, 进样测定。结果表明: 甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、四氢呋喃、正庚烷、氯苯在一定的浓度范围内线性关系良好, 见表 1。

表 1 线性关系考察结果

Table 1 Results of linearity test

有机溶剂	回归方程	<i>r</i>	线性范围/(mg·mL ⁻¹)
甲醇	$A = -11.315 + 864.484 C$	0.999 8	0.060 2~0.451 5
乙醇	$A = 9.487 + 1 137.387 C$	0.999 5	0.101 0~0.757 5
异丙醇	$A = 19.200 + 1 430.406 C$	0.999 4	0.100 6~0.754 8
二氯甲烷	$A = 3.978 + 1 536.811 C$	0.999 4	0.011 7~0.087 6
四氢呋喃	$A = 12.803 + 7 330.585 C$	0.999 0	0.014 2~0.106 8
正庚烷	$A = 295.719 + 66 545.244 C$	0.998 0	0.100 6~0.754 8
氯苯	$A = 1.246 + 1 524.163 C$	0.999 5	0.007 0~0.052 8

2.5 最低检测限

将对照品溶液用 DMSO 逐步稀释, 直至检测峰高为基线噪声的 2~3 倍为止, 计算所测溶剂的最低检测限, 结果甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、四氢呋喃、正庚烷、氯苯最低检测限分别为 3.01、2.52、1.01、1.17、0.36、0.05、1.41 μg/mL。

2.6 精密度试验

取对照品溶液 2 mL, 置 10 mL 顶空瓶中, 加盖

密封, 进样测定。重复进样 6 次, 计算各成分峰面积的 RSD 值, 结果甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、四氢呋喃、正庚烷、氯苯峰面积的 RSD 值分别为 3.09%、1.83%、1.75%、1.73%、1.78%、1.98%、1.89%。

2.7 稳定性试验

取批号 121202 样品 200 mg, 置 10 mL 顶空瓶中, 加入 2 mL DMSO, 加盖密封, 摇匀, 分别在放置 0、2、4、8、12、24 h, 进样测定。未检出甲醇、

乙醇、二氯甲烷、四氢呋喃、正庚烷，异丙醇、氯苯残留量的 RSD 值分别为 3.5%、5.7%。

2.8 重复性试验

取批号 121202 样品 200 mg，置 10 mL 顶空瓶中，加盖密封，配制 6 份，进样测定。计算各成分质量分数的 RSD 值，结果甲醇、乙醇、二氯甲烷、四氢呋喃、正庚烷 5 种溶剂未检出，检出的异丙醇、氯苯质量分数的 RSD 值分别为 3.55%、4.31%。

2.9 回收率试验

分别移取对照品贮备液 0.8、1.0、1.2 mL，置 10 mL 量瓶中，加 DMSO 稀释到刻度，混匀。称取批号 121202 非布司他原料样品 200 mg，共 9 份，置 10 mL 顶空瓶中，分别移取各对照品溶液 2 mL，加盖密封摇匀，制备供试品溶液，进样测定。计算得甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、四氢呋喃、正庚烷、氯苯的平均回收率分别为 108.37%、104.02%、

102.80%、102.09%、94.11%、90.44%、97.52%，RSD 值分别为 3.60%、2.00%、2.18%、1.30%、1.55%、1.65%、2.52%。

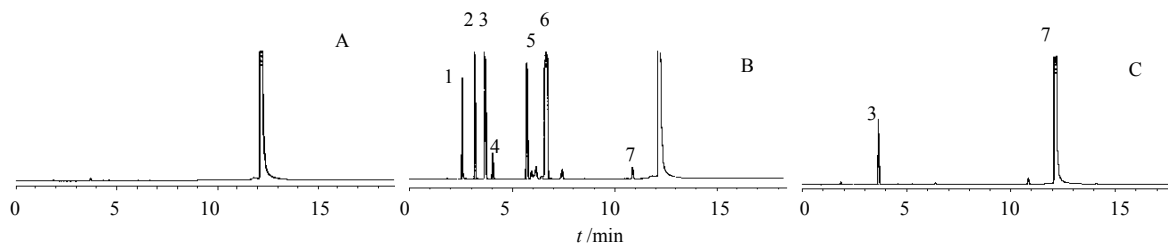
2.10 样品测定

分别取批号 121202、121203、121204 非布司他原料样品各 200 mg，精密称定，置 10 mL 顶空瓶中，加入 2 mL DMSO，加盖密封，摇匀，进样测定，采用外标法计算，结果见表 2。非布司他原料药样品中有机溶剂残留质控标准为：甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、四氢呋喃、正庚烷、氯苯的质量分数分别小于 0.3%、0.5%、0.5%、0.06%、0.072%、0.5%、0.036%。结果表明各批样品的残留溶剂含量符合《中国药典》2010 年版中的限度规定，3 批样品中甲醇、乙醇、二氯甲烷、四氢呋喃、正庚烷均未检出，异丙醇、氯苯残留量不超过限度标准。色谱图见图 1。

表 2 非布司他原料中有机溶剂残留量的测定结果

Table 3 Determination of residual organic solvents in febusostat bulks drug

批号	残留量/%						
	甲醇	乙醇	异丙醇	二氯甲烷	四氢呋喃	正庚烷	氯苯
121202	未检出	未检出	0.17	未检出	未检出	未检出	0.017
121203	未检出	未检出	0.13	未检出	未检出	未检出	0.016
121204	未检出	未检出	0.15	未检出	未检出	未检出	0.016



1-甲醇 2-乙醇 3-异丙醇 4-二氯甲烷 5-四氢呋喃 6-正庚烷 7-氯苯
1-methanol 2-ethanol 3-isopropanol 4-dichloromethane 5-tetrahydrofuran 6-n-heptane 7-chlorobenzene

图 1 空白溶剂 (A)、对照品 (B) 和非布司他原料药样品 (C) 的 GC 图谱

Fig. 1 GC chromatograms of blank solution (A), reference substances (B), and febusostat bulks drug sample (C)

3 讨论

3.1 溶剂的选择

考察了二甲基亚砜 (DMSO)、N,N-二甲基甲酰胺 (DMF)、水，发现样品在 DMSO 中能完全溶解，样品在 DMSO 中溶解度较大，且 DMSO 溶解性好，沸点高，因此选择 DMSO 作为溶剂。

3.2 色谱柱的选择

在实验过程中，比较了 HP-5、DB-624 和 HP-

INNOWAX 色谱柱 3 种不同极性的色谱柱，在弱极性的 HP-5 毛细管柱中，各组峰形拖尾，而选用中等极性的 DB-624 色谱柱则可很好地将 7 种有机溶剂完全分离，有机溶剂基本上按照极性顺序出峰，且峰形对称美观。

3.3 测定结果分析

对样品进行的残留溶剂检测结果表明，3 批样品中甲醇、乙醇、二氯甲烷、四氢呋喃、正庚烷均

未检出, 异丙醇、氯苯残留量不超过限度标准。甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、四氢呋喃、正庚烷、氯苯的沸点分别为 65、78、82、39、66、98.5、131℃。样品中残留的氯苯是由于其沸点比较高, 在样品的干燥处理过程中, 温度不宜太高, 导致有一些氯苯未能除尽; 而样品中残留的异丙醇是由于原料药最后一步中使用该溶剂, 所以最后会有一些残留。

国际人用药品注册技术协调大会 (ICH) 和《中国药典》2010 年版规定, 甲醇、二氯甲烷、四氢呋喃和氯苯为第二类残留溶剂, 限度分别为 0.3%、0.06%、0.072%、0.036%, 乙醇、异丙醇、正庚烷属第三类残留溶剂, 限度均为 0.5%。本实验采用顶空气相色谱法对非布司他原料药的 7 种残留溶剂进行检测, 方法验证证明该方法色谱条件分离良好, 灵敏度高, 在考察的浓度范围内线性关系良好, 回收率符合规定, 样品溶液稳定, 可以作为非布司他原料药中残留溶剂的质量控制方法。

参考文献

[1] 张玉秋. 治疗高尿酸血症致慢性痛风的新药非布司他

[J]. 中国药物与临床, 2011, 11(12): 1406-1407.

- [2] 马培奇. 降尿酸药物研究进展 [J]. 上海医药, 2012, 33(3): 18-20.
- [3] 孙利民, 索 栋, 许彩霞, 等. 非布司他的合成 [J]. 食品与药品, 2012, 14(7): 263-265.
- [4] 冷柏榕, 严相平. 高效液相色谱法测定非布司他片的含量 [J]. 中国药业, 2013, 22(6): 69-70.
- [5] 张 聪, 王绍杰, 麻荣丽, 等. HPLC 法测定非布司他的含量及有关物质 [J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(8): 648-651.
- [6] 李 丰, 吴 强, 张 强, 等. 非布司他主要杂质的合成与结构鉴定 [J]. 安徽医药, 2012, 16(11): 1583-1584.
- [7] 韩 莹, 朱 翊, 傅得兴. 非布司他治疗高尿酸血症伴痛风的药理与临床评价 [J]. 中国新药与临床杂志, 2010, 29(8): 635-638.
- [8] 中国药典 [S]. 二部. 2010: 附录 61.
- [9] 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: 82
- [10] 何 雷, 崔 涛, 夏伟军, 等. 顶空气相色谱法检测石茶感冒胶囊中的有机溶剂残留 [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(6): 347-349.