

Determination of Residual Organic Solvents in Bumetanide by Headspace Gas Chromatography

Zhirong Gan^{1,2}, Jianhe Qin², Xiaozhen Feng^{1*}

¹School of Life and Environmental Sciences, Guilin University of Electronic Technology, Guilin Guangxi

²Guilin Pharmaceutical Company Limited, Guilin Guangxi

Email: fxz97118@guet.edu.cn

Received: Feb. 26th, 2018; accepted: Mar. 11th, 2018; published: Mar. 19th, 2018

Abstract

In order to develop quality control system of Bumetanide active substances, a headspace gas chromatographic method was established and validated for the determination of residual solvents of ethanol and toluene in Bumetanide by using FID as the detector and dimethylsulfoxide as sample solvent. The detection of four residual solvents was performed on a DB-624 capillary column with vial equilibration temperature of 90°C and equilibration time of 30 min. The limits of detection (LOD) for ethanol and toluene were 0.306 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and 0.082 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively. The relative standard deviations (RSDs) of peak areas were 4.0% and 2.2%, the average recoveries were 103.5% and 96.0%, and the correlation coefficients were 1.0, respectively. The results indicated that the method showed the advantages of high sensitivity, good accuracy and linearity. The established method was applied in the quality control of three batches of Bumetanide, and no solvents were checked out.

Keywords

Headspace Gas Chromatography, Residual Organic Solvent, Bumetanide, Determination

顶空气相色谱法测定布美他尼原料药中残留有机溶剂

甘志荣^{1,2}, 覃坚和², 冯小珍^{1*}

¹桂林电子科技大学生命与环境科学学院, 广西 桂林

²桂林南药股份有限公司, 广西 桂林

*通讯作者。

Email: fxz97118@guet.edu.cn

收稿日期: 2018年2月26日; 录用日期: 2018年3月11日; 发布日期: 2018年3月19日

摘要

建立测定布美他尼原料药中残留有机溶剂乙醇和甲苯的顶空气相色谱法方法。采用氢火焰离子化检测器, 以二甲亚砜为样品溶剂, 通过优化条件, 建立了以DB-624为分析柱, 90℃为平衡温度, 30 min为平衡时间的残留溶剂测定方法。以外标法进行定量, 乙醇及甲苯最低检测限分别是0.306 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和0.082 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 2种溶剂的线性系数均为1.0, 回收率分别为103.5%和96.0%, RSD分别为4.0%和2.2%。结果表明, 该方法简单、准确、灵敏度高、重现性好, 能够满足对布美他尼质量的控制要求。将该方法应用于布美他尼原料药3批样品的检测, 均未检出乙醇与甲苯。

关键词

顶空气相色谱法, 残留溶剂, 布美他尼, 测定

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

布美他尼(Bumetanide)作为一种利尿的特效药物, 在国际市场有着良好的开发前景。由于该原料药的制备使用了乙醇及甲苯等有机溶剂, 依据第四届人用药品注册技术要求国际协调会(ICH) 1997年7月17日提出的残留溶剂指导原则, 所用溶剂被列为药品必须限制的第二、三类低毒性有机溶剂[1], 故对原料药进行残留检测就显得尤其重要。

残留溶剂的检测方法有多种方法, 如热重分析法、差热分析法、差示扫描量热法、红外光谱和傅立叶变换红外光谱法、核磁共振光谱法等, 这些方法均不能满足 ICH 和各国药典对残留溶剂检测的灵敏度要求, 而且专属性较差, 使其应用受到限制[2]。气相色谱法由于高灵敏度和良好的分离能力得到了迅速发展, 其中静态顶空进样与直接进样相比可以避免难挥发性物质污染检测系统, 能满足 ICH 规定的大多数残留溶剂检测的灵敏度要求, 在药物残留溶剂检测中应用广泛[3]。虽然静态顶空气相色谱法检测药物中残留溶剂的文献报道较多[4] [5] [6] [7], 但尚无对布美他尼原料药中残留溶剂进行测定的相关文献。为了对其进行质量控制, 本文根据新药申报要求, 针对布美他尼原料药在生产工艺中使用乙醇和甲苯, 开发了对其残留溶剂进行测定的顶空气相色谱法, 并对该方法进行了方法学验证, 最终将其应用于布美他尼原料药残留溶剂的测定。

2. 实验部分

2.1. 仪器与试剂

安捷伦 7890A 气相色谱仪; CTC 自动进样器; QL-500 氢气发生器(山东赛克赛斯氢能源有限公司); ChemStation 色谱工作站。

布美他尼(桂林南药股份有限公司提供); 乙醇、甲苯均为分析纯, 二甲亚砜为光谱纯。

2.2. 色谱条件

色谱柱: DB-624 大口径毛细管柱 30 m × 0.53 mm × 3.0 μm; 程序升温: 初始柱温为 60℃, 保持 3 分钟, 然后以每分钟 20℃ 升至 200℃, 保持 5 分钟, 气化室: 220℃; 检测器: FID, 250℃; 载气: 氮气, 流速: 2 mL·min⁻¹; 分流比: 5:1; 进样量: 1 mL。

2.3. 顶空条件

平衡温度: 90℃; 进样针加热温度: 90℃; 振荡器速度: 250 转/分钟, 转 5 秒停 5 秒; 平衡时间: 30 min; 理论塔板数不低于 5000; 乙醇与甲苯的分离度大于 2.0。

2.4. 供试品及对照品溶液的配制

对照品溶液的制备: 分别精密移取乙醇 0.25 g, 甲苯 0.089 g, 置 50 mL 容量瓶, 用二甲亚砜稀释并定容, 作为对照品贮备液; 精密移取对照品贮备液 1 mL 置 25 mL 容量瓶, 加二甲亚砜稀释至刻度, 精密吸取 1 mL 置顶空瓶, 加盖密封, 作为对照品溶液。

供试品溶液的制备: 称取布美他尼供试品 0.1 g 置顶空瓶中, 精密加入二甲亚砜 1 mL, 加盖密封, 作为供试品。

3. 结果与讨论

3.1. 分析方法的建立

将上述溶液分别装入试样盘, 按照色谱条件依法测定, 记录色谱图, 记录各峰保留时间, 分别计算理论塔板数与分离度, 要求乙醇、甲苯能完全分离, 空白溶液在乙醇、甲苯出峰位置无干扰峰, 乙醇与甲苯峰分离度应大于 2.0, 理论塔板数应不低于 5000。方法专属性色谱图见图 1, 适用性试验结果见表 1 所示。

在选定的色谱条件下, 能完全分离检测溶剂乙醇、甲苯, 空白溶液在乙醇、甲苯出峰位置无干扰峰, 乙醇、甲苯峰形对称, 分离度参数符合各相邻两峰之间分离度大于 2.0 的要求, 色谱峰的理论塔板数均符合不低于 5000 的毛细管柱要求[8]。

3.2. 分析方法的验证

3.2.1. 线性试验及检测限

线性试验, 从定量检测限做起, 选择乙醇、甲苯的线性浓度范围分别在 1.103~3020.4 μg·mL⁻¹ 和 0.296~1072.8 μg·mL⁻¹ 的溶液 6 份, 依次在自动恒温箱中于 90℃ 下保温 30 分钟, 各项空进样 3 针, 进样量 1 mL, 以对照品乙醇与甲苯的峰面积 A 为纵坐标, 对照品的溶液浓度 C 为横坐标, 进行线性回归, 结果如表 2 所示。

由表 2 知, 两种溶剂在各自的浓度范围内线性关系良好。当信噪比 $S/N = 3$, 乙醇及甲苯最低检测限分别为 0.306 μg·mL⁻¹, 0.082 μg·mL⁻¹; 当信噪比 $S/N = 10$, 乙醇及甲苯定量检测限分别为 1.103 μg·mL⁻¹, 0.296 μg·mL⁻¹。

3.2.2. 回收率试验

用已测得残留量的布美他尼原料药进行乙醇和甲苯溶剂的回收试验, 精密称取该原料药平行 3 份, 分别精密添加入乙醇和甲苯相当于 201.36 ppm、2013.6 ppm、20136 ppm 和 71.52 ppm、715.2 ppm、7152 ppm 的溶剂量, 依法测定, 计算加样回收率结果如表 3 和表 4 所示, 乙醇和甲苯的溶剂回收率分别为 103.5% 和 96.0%, RSD ($n = 9$) 分别为 4.0% 和 2.2%。

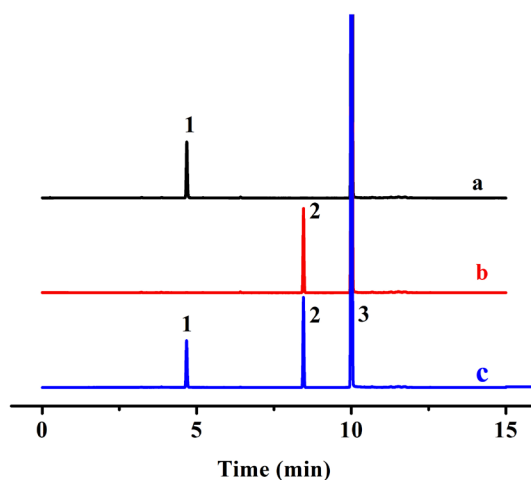


Figure 1. Chromatograms of the method specificity test

图 1. 专属性实验色谱图(a 乙醇对照品溶液, b 甲苯对照品溶液, c 混合溶液, 1 乙醇, 2 甲苯, 3 二甲亚砜)

Table 1. Results of system suitability test

表 1. 方法适用性试验结果

组分	保留时间(min)		分离度(R)		理论塔板数(n)	
	1	2	1	2	1	2
1 (乙醇)	4.672	4.667	/	/	71,066	69,494
2 (甲苯)	8.453	8.452	56.41	56.77	281,484	294,334

Table 2. Limits of detection (LODs), limits of quantitation (LOQs), linear equations, linear ranges and correlation coefficients (r) of two solvents

表 2. 2 种溶剂的检出限、定量下限、线性方程、线性范围及相关系数

组分	回归方程	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	r (n = 6)	LOD/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	LOQ/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
1 (乙醇)	$y = 1.022x - 2.104$	1.103~3020.4	1.0	0.306	0.082
2 (甲苯)	$y = 4.937x + 0.145$	0.296~1072.8	1.0	1.103	0.296

Table 3. The recovery of ethanol

表 3. 乙醇溶剂回收率

成分	浓度	峰面积	测得量(ppm)	加入量(ppm)	本底量(ppm)	回收率(%)	RSD (%)	平均回收率(%)	RSD (%)
乙醇	低	23.0	224.20			111.34			
		23.5	218.10	201.36		108.31	/		
		23.2	219.23			108.87			
		214.3	2058.49			102.23			
		213.5	2083.23			103.46			
	中	215.1	2092.64			103.93			
		213.3	2093.69	2013.6	未检出	103.98	2.1	103.5	4.0
		213.0	2034.13			101.02			
		214.4	1982.32			98.45			
		2154.7	20399.66			101.31			
高	2173.0	20204.85	20136.0		100.34	/			
	2111.9	19804.57			98.35				

Table 4. The recovery of toluene**表 4.** 甲苯溶剂回收率

成分	浓度	峰面积	测得量(ppm)	加入量(ppm)	本底量(ppm)	回收率(%)	RSD (%)	平均回收率(%)	RSD (%)
甲苯	低	35.1	70.37			98.39			
		37.1	70.82	71.52		99.02	/		
		35.2	68.41			95.65			
		349.8	691.08			96.63			
	中	346.3	694.98			97.17			
		348.0	696.33	715.2	未检出	97.36	2.1	96.0	2.2
		347.6	701.75			98.12			
		347.4	682.35			95.41			
		347.7	661.20			92.45			
		3499.3	6813.91			95.27			
	高	3524.2	6739.63	7152.0		94.23	/		
		3444.2	6642.93			92.88			

Table 5. Results of system precision**表 5.** 系统精密度结果

进样序号	峰面积		RSD%	
	乙醇	甲苯	乙醇(%)	甲苯(%)
1	197.4	343.3		
2	198.8	344.5		
3	197.1	342.6		
4	200	347.6	0.6	0.5
5	199.2	345.3		
6	197.8	343.9		

3.2.3. 精密度试验

精密移取对照品贮备液 1 mL 置 25 mL 容量瓶, 加二甲亚砷稀释至刻度, 精密吸取 1 mL 置顶空瓶, 加盖密封, 依法测定, 连续进样 6 针, 检测结果见表 5 所示, 乙醇、甲苯的峰面积的 RSD 分别为 0.6%, 0.5%, 均小于药物质量控制方法研究中关于精密度实验峰面积 RSD (n = 6) 不大于 5.0% 的规定, 表明本方法精密度良好。

3.2.4. 稳定性试验

将测得溶剂残留量的布美他尼供试品试样, 放置 24 h、48 h、60 h, 依法测定, 均未检出乙醇和甲苯。结果表明, 本方法用于测定布美他尼原料药乙醇和甲苯有机溶剂残留, 数据准确, 技术可行。

3.3. 分析方法的应用

称取 3 批布美他尼原料药, 每份 0.1 g, 置顶空瓶中, 精密加入二甲亚砷 1 mL, 加盖密封, 按本气相色谱法进行测定。检测结果表明: 3 批样品均未检出乙醇与甲苯, 符合 ICH 规定。

4. 讨论

本文采用氢火焰离子化检测器, 以二甲亚砷为样品溶剂, 通过优化条件, 建立了测定布美他尼原料药中残留有机溶剂乙醇和甲苯的顶空气相色谱法方法。根据 ICH 的控制指标以及《中国药典》2015 版有

机溶剂残留量的要求,规定乙醇不得过 0.5%,甲苯不得过 0.089%,结果在布美他尼原料中均未检出乙醇与甲苯,表明样品中溶剂残留量均符合相关规定。该方法简单灵敏、准确、重复性好,能够满足对布美他尼质量的控制要求。

基金项目

大学生创新创业计划项目(201510595206)资助,广西中青年教師基础能力提升项目(2017KY0189)资助。

参考文献

- [1] ICH Guideline for Industry, Topic Q3C (R4) Impurities, Guideline for Residual Solvents.
- [2] Grodowska, K. and Parczewski, A. (2010) Analytical Methods for Residual Solvents Determination in Pharmaceutical Products. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, **67**, 13-26.
- [3] Saraji, M., Khayamian, T., Siahpoosh, Z.H. and Farajmand, B. (2012) Determination of Volatile Residual Solvents in Pharmaceutical Products by Static and Dynamic Headspace Liquid-Phase Microextraction Combined with Gas Chromatography-Flame Ionization Detection. *Analytical Methods*, **4**, 1552-1559. <https://doi.org/10.1039/C1AY05439B>
- [4] Hu, H.L. (2012) Determination of Residual Organic Solvents in Flunixin Meglumine Raw Material by Headspace Gas Chromatography. *Chinese Journal of Chromatography*, **30**, 99-102. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1123.2011.09009>
- [5] Pandey, S., Pandey, P., Kumar, R. and Singh, N.P. (2011) Residual Solvent Determination by Head Space Gas Chromatography with Flame Ionization Detector in Omeprazole API. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **47**, 379-384. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502011000200019>
- [6] Zou, Y.X., Liu, Y. and Wu, C.M. (2012) CGC Determination for Residual Quantity of Ethanol and Acetone in Marine Injection with Headspace Sampling. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, **32**, 447-450.
- [7] Somuramasami, J., Wei, C.Y., Soliman, F.E. and Rustum, M.A. (2011) Static Headspace Gas Chromatographic Method for the Determination of Low and High Boiling Residual Solvents in Betamethasone Valerate. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **54**, 242-247. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.08.003>
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 861.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2161-8844, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: hjct@hanspub.org