

毛细管气相色谱法测定伊立替康 原料药中的有机溶剂残留

谢美芬¹ 陈益乐¹ 姜琳琳² 段更利^{1Δ}

(¹复旦大学药学院药物分析教研室, ²复旦大学药学院实验教学中心 上海 201203)

【摘要】 目的 建立伊立替康中甲醇、丙酮、异丙醇、二氯甲烷和正己烷残留量的毛细管气相色谱测定方法,并用该法测定样品中的有机溶剂残留量。**方法** 采用毛细管气相色谱法,色谱柱为 DM624(6%氰基甲基硅酮)毛细管柱(30 m×530 μm×3.00 μm),载气为氮气,检测器为氢焰离子化检测器,以程序升温方式使甲醇、丙酮、异丙醇、二氯甲烷和正己烷达到完全分离。**结果** 5种溶剂的线性均良好($r = 0.9997 \sim 0.9999$);平均回收率 97.34%~101.2%;RSD 0.28%~8.42%;检测限 0.78~3.17 μg/mL。4批样品中的检出的5种有机溶剂残留量均低于中国药典 2005 版所规定的限度。**结论** 本文所建立的毛细管气相色谱法快速、准确,适用于伊立替康有机溶剂残留量的测定,有机溶剂残留量均符合中国药典 2005 版规定。

【关键词】 气相色谱法; 有机溶剂残留; 伊立替康

【中图分类号】 R 917 **【文献标志码】** A

Determination of residue organic solvents in crude drug of irinotecan by capillary gas chromatography

XIE Mei-fen¹, CHEN Yi-le¹, JIANG Lin-lin², DUAN Geng-li^{1Δ}

(¹Department of Pharmaceutical Analysis, ²Center for Pharmaceutical Experiment,
School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China)

【Abstract】 Objective To establish a capillary gas chromatography (GC) method for determining residual organic solvents in crude drug of irinotecan, and to apply it to determine the residual organic solvents in samples. **Methods** A simple capillary GC method was established with FID detector. The capillary column was DM624 (30 m×530 μm×3.00 μm). Nitrogen was used as carrier gas. Methanol, acetone, dimethylcarbinol, dichloromethane and n-hexane were separated completely using temperature program.

Results A good linearity was obtained in the experimental concentration ($r = 0.9997 - 0.9999$). The recovery was in the range of 97.34% - 101.2% with RSD of 0.28% - 8.42%. The limit of detection was 0.78 - 3.17 μg/mL. The content of five residue organic solvents in four batches of samples were lower than the limit of the regulation of Chinese Pharmacopeia. **Conclusions** The methods are simple, sensitive and accurate. It can be used for the detection of five residual solvents in irinotecan, the residue level of organic solvents is corresponded the regulation of Chinese Pharmacopeia.

【Key words】 gas chromatography; residue organic solvents; irinotecan

伊立替康(Irinotecan)是上市的喜树碱类新药之一,喜树碱是从珙桐科植物喜树的果实或根中提取的一种生物碱。伊立替康在临床上主要用于消化系统恶性肿瘤的治疗,是一种标准化疗方案治疗失

败后转移性结直肠癌的一线治疗方法^[1]。伊立替康正应用于胃癌、食管癌、广泛期小细胞肺癌的多种临床试验,从已得出的阶段性观察结果来看,有很好的临床应用前景。伊立替康原料药的制备在合成过程

^ΔCorresponding author E-mail:glduan@shmu.edu.cn

中使用了甲醇、丙酮、异丙醇、二氯甲烷、正己烷等有机溶剂,为保证用药的安全性需进行残留量检测。该原料药有机溶剂残留量的测定还未见报道,故本研究以二甲基亚砜(DMSO)为溶剂,用毛细管气相色谱法测定了伊立替康原料药中上述各有机溶剂的残留量,方法准确可靠。

材料和方法

仪器 气相色谱仪(6890型,包括惠普色谱工作站、自动进样器、氢火焰离子化检测器,美国惠普公司)。氢气发生器(QL型,山东赛克赛斯氢能源有限公司)。

试剂 化学对照品甲醇(色谱纯,江苏汉邦科技有限公司,批号:82996)、丙酮(分析纯,上海振兴化工一厂,批号:200602510)、异丙醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司,批号:T20040824)、二氯甲烷(分析纯,国药集团化学试剂有限公司,批号:T20070827)、正己烷(分析纯,国药集团化学试剂有限公司,批号:F20051110)、二甲基亚砜(分析纯,国药集团化学试剂有限公司,批号:T20081015, T20090401)。供试品:伊立替康原料药(上海龙翔有限公司,批号:A03-P071001、A03-P071002、A03-P071101、A03-P090301)。

气相色谱条件 色谱柱:DM624毛细管柱(6%氰基甲基硅酮,30 m×530 μm×3.00 μm);温度:起始为30℃,停留10 min,随后以5℃/min升至200℃;进样口温度:200℃;检测器温度:240℃;载气:高纯氮;流速:5.3 mL/min;尾吹:20 mL/min;检测器:FID(空气流速400 mL/min,氢气流速40 mL/min);进样量:1 μL,分流比为20:1。在此条件下,有机溶剂各残留组分达基线分离($R>1.5$),且峰形尖锐,无杂峰干扰(图1、2)。

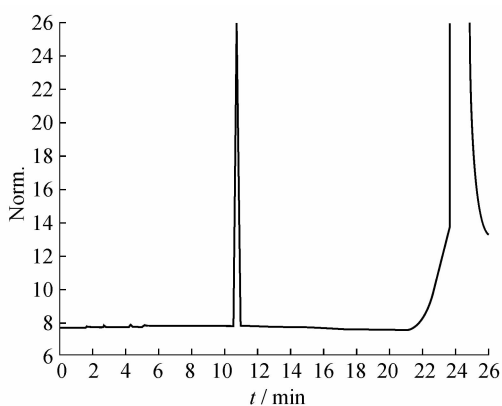


图1 空白溶剂 DMSO 气相色谱图

Fig 1 Chromatograms of blank solution (DMSO)

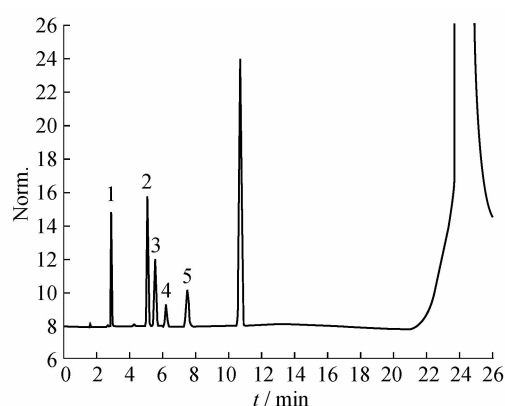


图2 伊立替康待测有机溶剂残留气相典型色谱图

Fig 2 Chromatograms of residual organic solvents of irinotecan

1: Methanol; 2: Acetone; 3: Dimethylcarbinol; 4: Dichloromethane; 5: N-hexane.

供试品和对照品溶液的制备 取10 mL容量瓶,精密称取4批伊立替康样品各约0.5 g,加DMSO 10 mL溶解,混匀,得供试品溶液。取25 mL容量瓶,加入适量DMSO,分别精密加入甲醇0.145 0 g、丙酮0.162 8 g、异丙醇0.153 6 g、二氯甲烷0.158 5 g、正己烷0.126 7 g,再加DMSO溶解并稀释至刻度,充分摇匀,精密量取5 mL移至50 mL容量瓶中,加DMSO稀释至刻度,制成对照品溶液。

结果

线性关系 精密吸取上述对照品溶液0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mL至10 mL容量瓶中,用DMSO定容,充分混匀,进样1 μL。分别以甲醇、丙酮、异丙醇、二氯甲烷、正己烷峰面积(y)为纵坐标,以甲醇、丙酮、异丙醇、二氯甲烷、正己烷的质量浓度(x)为横坐标,进行线性回归,结果见表1。

日内精密度试验 精密吸取对照品溶液0.2、1.0、5.0 mL于10 mL容量瓶中,用DMSO定容,配成低、中、高3种浓度的溶液,连续进样测定5次,得到日内精密度(表2)。

日间精密度试验 精密吸取对照品溶液0.2、1.0、5.0 mL于10 mL容量瓶中,用DMSO定容,配成低、中、高3种浓度的溶液,每天各进样1次,得到日间精密度(表3)。

回收率试验 精密吸取对照品溶液1.0 mL至10 mL容量瓶中,用DMSO定容到刻度,充分混匀。精密称取6份同一批号样品约50 mg,分别加入上述对照品溶液1.0 mL溶解,充分混匀,进样1 μL,结果见表4。

表 1 各待测溶剂的线性回归方程

Tab 1 Linearity equations of solvents

Solvent	Linear range ($\mu\text{g/mL}$)	Equation of linear regression	r
Methanol ($n=6$)	5.80 - 290.00	$y = 344.8x + 1.3690$	0.9998
Acetone ($n=6$)	6.51 - 325.60	$y = 516.1x + 1.5250$	0.9999
Dimethylcarbinol ($n=6$)	6.14 - 307.20	$y = 495.5x + 1.8080$	0.9997
Dichlormethane ($n=6$)	6.34 - 317.00	$y = 147.4x + 0.3160$	0.9999
N-hexane ($n=5$)	5.07 - 101.36	$y = 439.2x - 0.1734$	0.9999

表 2 伊立替康 5 种残留有机溶剂日内精密度

Tab 2 Intra-day precision of residue organic solvents of irinotecan

(n = 5)

RSD (%)	Methanol	Acetone	Dimethylcarbinol	Dichlormethane	N-hexane
Low	2.91	1.54	2.56	2.99	6.00
Middle	4.42	0.98	0.34	2.27	3.15
High	1.60	1.34	1.82	3.03	6.57

表 3 伊立替康 5 种残留有机溶剂日内精密度

Tab 3 Inter-day precision of residue organic solvents of irinotecan

(n = 3)

RSD (%)	Methanol	Acetone	Dimethylcarbinol	Dichlormethane	N-hexane
Low	1.22	1.37	0.84	2.98	2.78
Middle	2.75	0.82	0.65	2.18	1.18
High	2.55	1.21	1.11	2.65	2.27

表 4 伊立替康 5 种残留有机溶剂回收率

Tab 4 Recovery of residue organic solvents of irinotecan

(n = 6)

Solvent	Added ($\mu\text{g/mL}$)	Recovery (%)	RSD (%)
Methanol	58.00	101.2	0.28
Acetone	65.12	98.15	5.13
Dimethylcarbinol	61.44	97.34	1.45
Dichlormethane	63.40	98.48	2.21
N-hexane	50.68	100.4	8.42

灵敏度试验 经测定,得到本法对各待测溶剂的检测限($S/N=3$),甲醇、丙酮、异丙醇、二氯甲烷和正己烷最低检测限结果见表 5。

样品测定 取 4 批供试品溶液,分别测定溶剂

残留量,其中 A03-P071001 批次和 A03-P071101 批次检出甲醇、丙酮和二氯甲烷(图 3),A03-P071002 批次和 A03-P090301 批次检出甲醇和丙酮(图 4),其他溶剂均低于检测限。以外标一点法(以线性范围最低点)计算残留溶剂的含量,结果见表 6。

表 5 各待测溶剂最低检测限测定结果

Tab 5 Detection limit of solvents

Solvent	Detection limit ($\mu\text{g/mL}$)
Methanol	0.78
Acetone	0.89
Dimethylcarbinol	1.54
Dichlormethane	3.17
N-hexane	1.90

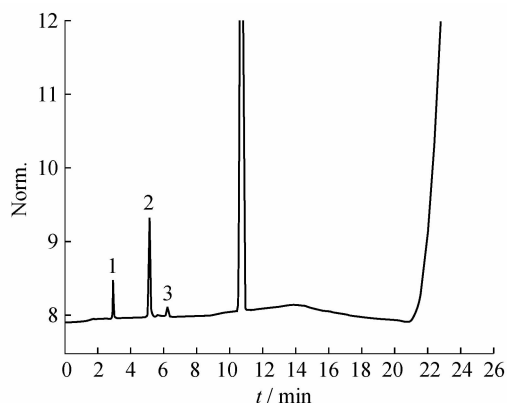


图 3 伊立替康样品(A03-P071001)气相色谱图

Fig 3 Chromatograms of residual organic solvents of irinotecan

1: Methanol; 2: Acetone 3: Dichlormethane.

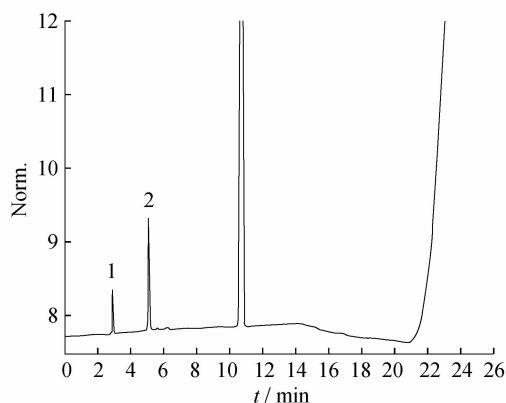


图 4 伊立替康样品(A03-P071002)气相色谱图

Fig 4 Chromatograms of residual organic solvents of irinotecan

1: Methanol; 2: Acetone.

表 6 样品中有机溶剂残留量测定结果

Tab 6 Results of residual organic solvents detection of irinotecan

(n = 3)

Batches of sample	Determination of methanol (%)	RSD (%)	Determination of acetone (%)	RSD (%)	Determination of dichlormethane (%)	RSD (%)
A03-P071001	0.006 9	6.02	0.025 1	2.50	0.009 2	2.65
A03-P071101	0.007 4	4.36	0.025 8	0.59	0.008 3	6.01
A03-P071002	0.008 2	5.39	0.030 5	3.35	—	—
A03-P090301	0.008 4	1.83	0.031 3	1.31	—	—

讨 论

溶解介质的确定 我们考察了 DMSO、DMF (N,N-二甲基甲酰胺)、DMA(己二酸二甲酯),发现样品在 DMSO 中能完全溶解,说明样品在 DMSO 中溶解度较大,且 DMSO 溶解性好,沸点高,因此选择 DMSO 为溶剂。

色谱柱的选择 在实验过程中,我们比较了 DM-5 和 DM-624 两种不同极性的色谱柱,在弱极性的 DM-5 毛细管柱中,异丙醇和丙酮不能达到基线分离,且各组分峰形拖尾,而选用中等极性的 DM-624 色谱柱则可很好地将 5 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。

色谱条件的确定 在选择使用 DM-624 毛细管色谱柱时,由于柱温对分离组分的分离度影响较大,通过对柱温的筛选,柱温在 30 °C 待测有机溶剂能完全分离,当提高柱温至 40 °C 及以上时^[2-3],丙酮和异丙醇不能达到基线分离。使用 DM-624 毛细管柱时,我们也考察了不同的载气流速(4.0、5.3、8.0 mL/min)对本文待测有机溶剂分离的不同影响,当载气流速低于 5.3 mL/min^[4]时,色谱峰有展宽、拖尾的趋势,而载气流速高于 5.3 mL/min 时,虽然峰形变尖锐且对称,但是丙酮和异丙醇就不能达到基线分离,所以确定载气流速为 5.3 mL/min。

通过查阅伊立替康及其相关起始原料制备方法^[5-6],各文献报道工艺涉及的反应溶剂、重结晶溶剂及洗涤溶剂不完全相同。因此,为保证用药的安

全性,必须做有机溶剂残留检测,使其符合药典关于有机溶剂残留的规定。根据《中国药典》2005 版^[7]二部附录ⅧP 残留溶剂测定法规定,本品中的待测溶剂丙酮、异丙醇为三类溶剂,甲醇、二氯甲烷、正己烷为二类溶剂。我们分别对 4 批样品进行检测,结果在 4 批样品中检测到甲醇、丙酮和二氯甲烷,且三者含量均符合《中国药典》2005 版规定,未检测到异丙醇和正己烷。结果说明,本品的合成工艺良好地去除了上述有害溶剂,合成工艺比较合理,可以用于临床。

参 考 文 献

- [1] 杨建坤,商亚贞,刘宏伟,等.盐酸伊立替康的药理特性及临床应用[J].河北职工医学院学报,2007,24(1):61-62.
- [2] 李颖,吴强.气相色谱法测定头孢地嗪钠残留溶剂[J].安徽中医学院学报,2009,28(4):71-73.
- [3] 胡建国,刘长海.毛细管气相色谱法测定奥美沙坦酯中 14 种有机溶剂的残留量[J].药学实践杂志,2007,25(5):300-302.
- [4] 戴维,周玲洁,梁建英.毛细管气相色谱法测定紫杉醇原料药中的有机溶剂残留量[J].复旦学报:医学版,2007,34(4):608-610.
- [5] 刘玮炜,赵跃强,许瑞波,等.抗肿瘤新药伊立替康的合成和应用进展[J].淮海工学院学报:自然科学版,2005,14(4):42-45.
- [6] 李玉艳,尤启冬,李志裕,等.抗肿瘤新药伊立替康的合成研究[J].中国药物化学杂志,2001,11(4):238-240.
- [7] 中华人民共和国国家药典委员会.中国药典[S].二部.北京:化学工业出版社,2005:附录 54-57.
- [8] 沙云菲,蔡磊,黄滔敏.雷替曲塞中有机溶剂残留量的毛细管气相色谱法测定[J].中国新药与临床杂志,2004,23(10):674-676.

(收稿日期:2009-09-09;编辑:王蔚)