

GC测定奈拉滨中有机溶剂残留量

刁岩忠, 仪明君, 贾佳, 陈祥峰(江苏奥赛康药业有限公司, 南京 211112)

摘要: 目的 建立奈拉滨中有机溶剂残留量的气相色谱分析方法。方法 色谱柱为 SE-54 石英毛细管柱(30 m×0.53 mm, 1.0 μm), 氢火焰离子化检测器(FID), 载气为氮气, 流速 40 mL·min⁻¹。进样口温度: 200 °C, 检测器温度: 250 °C, 分流比为 50 : 1, 柱温为程序升温: 初始温度 40 °C 保持 5 min, 以 50 °C·min⁻¹ 升至 200 °C 保持 5 min。外标法进行定量, 并对分离条件进行了研究。结果 甲醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯的线性范围分别为 14.93~746.4 ng($r=0.999\ 4$), 1.950~97.45 ng($r=0.999\ 8$), 2.980~149.0 ng($r=0.999\ 6$), 25.12~1 256 ng($r=0.999\ 8$); 平均回收率($n=9$)分别为 100.6%(RSD=1.87%), 101.0%(RSD=2.27%), 99.7%(RSD=3.41%), 100.4%(RSD=1.52%)。结论 该方法快速、准确、灵敏度高、重复性好, 可作为奈拉滨中有机溶剂残留量的测定方法。

关键词: 气相色谱法; 奈拉滨; 有机溶剂残留量

中图分类号: R917.101

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2011)10-0956-03

Determination of Residual Organic Solvents in Nelarabine by GC

DIAO Yanzhong, YI Mingjun, JIA Jia, CHEN Xiangfeng(Jiangsu Aosaikang Pharmaceutical Co. Ltd., Nanjing 211112, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the determination of residual organic solvents in nelarabine by gas chromatography. **METHODS** Chromatographic column was capillary column SE-54(30 m×0.53 mm, 1.0 μm), with FID detector and nitrogen as carrier gas, the flow rate was 40 mL·min⁻¹. Injector temperature was 200 °C and the detector temperature was 250 °C, the split ratio was 50 : 1, column temperature was programmed and initial temperature was 40 °C, maintained for 5 min, raised to 200 °C with a rate of 50 °C·min⁻¹, maintained for 5 min. The external standard method was used for quantitative analysis. Analytical conditions were studied. **RESULTS** The standard curves were linear in the range of 14.93–746.4 ng($r=0.999\ 4$) for methanol, 1.950–97.45 ng($r=0.999\ 8$) for acetonitrile, 2.980–149.0 ng($r=0.999\ 6$) for methylene chloride and 25.12–1 256 ng($r=0.999\ 8$) for ethyl acetate. The average recoveries ($n=9$) were 100.6%(RSD=1.87%), 101.0%(RSD=2.27%), 99.7%(RSD=3.41%), 100.4%(RSD=1.52%). **CONCLUSION** The method is rapid, accurate, sensitive, reproducible and can be used for detecting residual organic solvents in nelarabine.

KEY WORDS: GC; nelarabine; residual organic solvents

奈拉滨(nelarabine)是细胞毒素脱氧鸟苷Ara-G的水溶性前药, 用于治疗至少对两种化疗方案无反应或治疗后又复发的急性T细胞淋巴瘤母细胞性白血病(T-ALL)和T细胞淋巴瘤母细胞性淋巴瘤(T-LBL)^[1-2]。该药的需求量大, 由它可以进一步合成其它的治疗血液系统肿瘤的核苷类似药物^[3]。由于该原料药在制备过程中使用了有机溶剂甲醇、乙腈、二氯甲烷和乙酸乙酯, 依据人用药品注册技术规范国际协调会(ICH)提出的残留溶剂指导原则和中国药典2010年版二部附录, 所用溶剂均被列为药品必须限制的第二、三类有机溶剂^[4], 因此为保证药品质量和用药安全, 对该原料药进行有机溶剂残留量检测十分必要。笔者采用毛细管气相色谱法, 结合文献[5-7], 对奈拉滨中有机溶剂

残留量测定方法进行了系统的研究、确认, 所建方法快速、准确、灵敏度高、重复性好, 可用于实际生产中的质量控制。

1 仪器与试剂

GC-14C型气相色谱仪, 配FID检测器, CS-Light色谱工作站(日本岛津公司); BP211D电子分析天平(德国塞多利斯公司)。

奈拉滨(江苏奥赛康药业有限公司, 批号: 090101、090201、090202); *N, N*-二甲基甲酰胺为色谱纯(美国Tedia公司), 甲醇、乙腈、二氯甲烷和乙酸乙酯均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: SE-54石英毛细管柱(30 m×0.53 mm,

作者简介: 刁岩忠, 男, 主管药师 Tel: (025)51198909 E-mail: ty870801@126.com

1.0 μm); 氢火焰离子化检测器(FID); 进样口温度: 200 $^{\circ}\text{C}$; 检测器温度: 250 $^{\circ}\text{C}$; 柱温为程序升温: 初始温度40 $^{\circ}\text{C}$ 保持5 min, 以50 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至200 $^{\circ}\text{C}$ 保持5 min; 载气为氮气, 流速40 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 分流比为50:1; 进样量: 1 μL 。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取甲醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯各适量, 置同一量瓶中, 加 N,N -二甲基甲酰胺溶解并稀释制成每1 mL中含甲醇0.15 mg、乙腈0.020 5 mg、二氯甲烷0.03 mg和乙酸乙酯0.25 mg的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取奈拉滨适量, 精密称定, 加 N,N -二甲基甲酰胺溶解并稀释制成每1 mL中含50 mg的溶液, 即得。

2.3 专属性试验

按“2.2”项下方法制备对照品溶液和供试品溶液, 分别精密量取1 μL , 按“2.1”项下色谱条件进样, 记录色谱图。结果表明, 甲醇、乙腈、二氯甲烷和乙酸乙酯的理论板数分别为9 389, 8 321, 7 629和6 835, 分离度均大于2, 结果见图1。

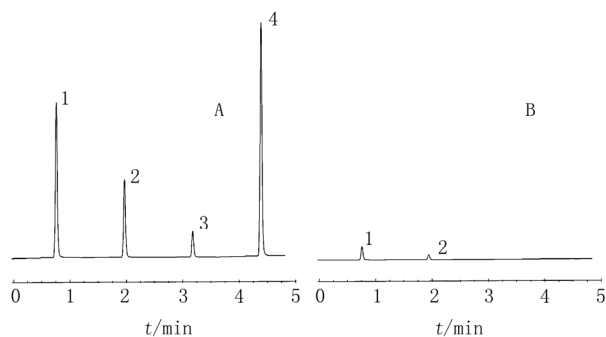


图1 奈拉滨气相色谱图

A-对照品; B-样品; 1-甲醇; 2-乙腈; 3-二氯甲烷; 4-乙酸乙酯

Fig 1 Gas chromatograms of nelarabine

A-reference substance; B-sample; 1-methanol; 2-acetonitrile; 3-methylene chloride; 4-ethyl acetate

2.4 线性关系考察

精密称取甲醇149.28 mg、乙腈19.49 mg、二氯甲烷29.80 mg和乙酸乙酯251.21 mg, 置同一100 mL量瓶中, 加 N,N -二甲基甲酰胺溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取该溶液0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0和5.0 mL, 分别置10 mL量瓶中, 加 N,N -二甲基甲酰胺稀释至刻度, 摇匀。分别精密量取1 μL , 注入气相色谱仪, 记录色谱图。以进样量为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 甲醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯的回归方程分

别为: $Y=772.85X+1\ 560.7(r=0.999\ 4)$; $Y=1\ 332.1X+3\ 398.6(r=0.999\ 8)$; $Y=367.72X+152.61(r=0.999\ 6)$; $Y=1\ 136.1X-1\ 826.7(r=0.999\ 8)$ 。

结果表明, 甲醇进样量在14.93~746.4 ng, 乙腈进样量在1.950~97.45 ng, 二氯甲烷进样量在2.980~149.0 ng, 乙酸乙酯进样量在25.12~1 256 ng内线性关系良好。

2.5 定量限及检测限

精密称取甲醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯各适量, 分别加 N,N -二甲基甲酰胺溶解后逐级稀释, 分别精密量取1 μL 注入气相色谱仪, 记录色谱图, 按信噪比为10:1计算定量限, 结果甲醇、乙腈、二氯甲烷和乙酸乙酯分别为0.96, 3.06, 3.02和2.12 ng, 另按此浓度分别配制各溶剂对照溶液, 各平行6份, 分别进样测定, 结果甲醇、乙腈、二氯甲烷和乙酸乙酯峰面积的RSD分别为1.41%, 2.33%, 2.16%和1.61%。按信噪比为3:1计算检测限, 结果甲醇、乙腈、二氯甲烷和乙酸乙酯分别为0.29, 0.82, 1.01和0.64 ng。

2.6 仪器精密度试验

分别精密量取对照品溶液1 μL , 连续进样6次, 记录色谱图, 以甲醇、乙腈、二氯甲烷和乙酸乙酯峰面积计算, RSD分别为2.34%, 1.63%, 2.67%和1.83%, 结果表明, 进样仪器精密度良好。

2.7 重复性试验

取同一批号的奈拉滨(批号: 090101)6份, 按“2.2”项下方法制备对照品溶液和供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定甲醇、乙腈、二氯甲烷和乙酸乙酯的残留量, 每份供试品溶液连续测定2次, 结果甲醇、乙腈的平均残留量分别为0.020%(RSD=2.08%)和0.0019%(RSD=2.87%), 二氯甲烷和乙酸乙酯未检出。结果表明, 本法重复性良好。

2.8 回收率试验

精密称取甲醇75.21 mg、乙腈10.28 mg、二氯甲烷14.73 mg、乙酸乙酯126.16 mg, 置同一100 mL量瓶中, 加 N,N -二甲基甲酰胺溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液; 另取奈拉滨(批号: 090101)约250 mg, 精密称定, 置5 mL量瓶中, 共称取9份, 平均分成3组。每组分别精密加入上述贮备液各0.8, 1.0和1.2 mL, 制备成分别为限量80%, 100%和120%的溶液。按“2.1”项下色谱条件测定, 计算回收率, 结果甲醇、乙腈、二氯甲烷和乙酸乙酯

的平均回收率($n=9$)分别为100.6%(RSD=1.87%)、101.0%(RSD=2.27%)、99.68%(RSD=3.41%)和100.4%(RSD=1.52%)。结果表明, 本法准确度良好。

2.9 溶液稳定性试验

取同一份供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件, 分别于0, 2, 4, 6, 8, 12 h测定各残留溶剂的峰面积, 结果甲醇的RSD为1.43%, 乙腈的RSD为2.16%, 二氯甲烷和乙酸乙酯均未检出。结果表明, 供试品溶液在12 h稳定性良好。

2.10 样品测定

取3批奈拉滨, 按“2.2”项下方法制备对照品溶液和供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件分别测定, 每批样品平行配制2份, 每份连续测定2次, 按外标法计算, 平均值作为测定结果, 结果见表1。

表1 奈拉滨有机溶剂残留量测定结果
Tab 1 The determination results of residual organic solvents in nelarabine($n=2$)

批 号	甲醇/%	乙腈/%	二氯甲烷/%	乙酸乙酯/%
090101	0.020	0.0019	未检出	未检出
090201	0.025	0.0039	未检出	未检出
090202	0.019	0.0026	未检出	未检出

3 讨论

3.1 溶剂的选择

由于奈拉滨在水中微溶, 故选择 N, N -二甲基甲酰胺作为溶剂, 使样品充分溶解, 完全释放出残留有机溶剂。测定时采用程序升温, 可以将沸点较高的 N, N -二甲基甲酰胺完全去除, 不干扰残留溶剂测定, 在保证各有机溶剂分离良好的情况下, 缩短分析时间。

3.2 进样口温度的确定

由于奈拉滨结构中含甲氧基, 高温会产生热降解物甲醇而干扰检测, 因此笔者考察了进样口温度对测定的影响。实验结果表明, 当进样口温度高于209℃时, 色谱图中出现明显降解产物峰, 当进样口温度低于209℃时, 无此现象。根据文献[8]报道, 奈拉滨熔点在209~217℃, 同时伴随药物分解, 结合中国药典2010版二部附录^[4]中进样口常设温度为200℃, 因此将进样口温度设定为200℃, 回收率试验表明, 该温度下本法回收率良好。

3.3 进样方法的选择

甲醇、乙腈、二氯甲烷和乙酸乙酯均为易挥发的有机溶剂, 亦可采用顶空分析法。但方法学

研究时发现, 采用顶空法, 二氯甲烷响应值极低, 且检测限明显高于直接进样法, 灵敏度较低, 可能是由于样品加热平衡时不均匀气化、分流歧视效应较重等原因引起的。同时考虑到静态顶空分析时, 每个顶空瓶只能取样一次, 样品用量较大, 成本较高, 所以采用经验证的灵敏度高、准确性好的直接进样法。

3.4 系统耐用性

在实验过程中, 笔者选用DB-1, OV-101, DB-5等毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 按“2.1”项下的色谱条件对奈拉滨中有机溶剂残留量进行测定, 各有机溶剂峰除保留时间略有改变外, 其他无明显变化。结果表明, 本试验所建立的分析方法耐用性较好, 适用于不同型号的非极性 & 弱极性毛细管柱。

依据人用药品注册技术规范国际协调会(ICH)的控制指标和中国药典2010版二部附录^[4]的有机溶剂残留量要求, 规定甲醇不得过0.3%、乙腈不得过0.041%、二氯甲烷不得过0.06%、乙酸乙酯不得过0.5%。测定结果表明, 样品中有机溶剂残留量均符合规定。采用本法测定奈拉滨中有机溶剂的残留量, 快速、准确、灵敏度高、重复性好。

REFERENCES

[1] ZHU Y, FU D X. Nelarabine, a T-cell selective nucleoside analogue [J]. Chin New Drugs J(中国新药杂志), 2007, 16(3): 252-255

[2] PARKER W B, SECRIST J A, WAUD W R, et al. Purine nucleoside analogues in development for the treatment of cancer [J]. Curr Opin Investig Drugs, 2004, 5(6): 592-596.

[3] KRENITSKY T A, HILL C, RALEIGH, et al. Tumor treatment with arabinofuranosyl purine derivatives: US, 5821236 [P]. 1998-10-23.

[4] Ch.P(2010)Vol II (中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: Appendix(附录)VIII P.

[5] LI K K, TAN F P. Determination of residual organic solvents in lamivudine by capillary gas chromatography [J]. J China Pharm(中国药房), 2007, 18(19): 1502-1503.

[6] REN X, XU X P, LIAO L Y, et al. Capillary gas chromatographic determination of seven residual organic solvents in cefoselis hydrogen sulfate and prulixacin [J]. Chin J Antibiot(中国抗生素杂志), 2004, 29(6): 354-356.

[7] HUANG Y M. Determination of four residual organic solvents in sparfloxacin by capillary gas chromatography [J]. China Pharm(中国药师), 2006, 9(7): 615-616.

[8] HUANG J Q, FU D X, HU X, et al. Pharmacology and clinical of nelarabine: A nevo drug for leulcemia and lymphoma [J]. Adverse Drug React J(药物不良反应杂志), 2006, 8(3): 227-229.

收稿日期: 2011-02-16