

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.01386

气相色谱法测定盐酸表柔比星中6种有机溶剂残留

GC-FID quantitative determination of six residual solvents in epirubicin hydrochloride

任丽莉*, 陈国广, 王 丞, 沈 艳

南京工业大学药学院药剂学教研室, 南京 211816

[关键词] 表柔比星; 有机溶剂残留; 外标法; 气相色谱法

[中图分类号] R 927.11 [文献标志码] B [文章编号] 0258-879X(2010)12-1386-02

盐酸表柔比星又名盐酸表阿霉素,其主要成分表柔比星为多柔比星的同分异构体。与多柔比星相比,表柔比星只是在氨基糖部分4'位的羟基由顺式变成了反式。盐酸表柔比星属于蒽环类抗生素,可以迅速透入细胞,进入细胞核,抑制核酸的合成和有丝分裂,从而起到抗肿瘤作用,其疗效与多柔比星相等或略高,但对心脏的毒性较小^[1]。

由于研究采用的盐酸表柔比星是由柔红霉素经过多步反应制备的,过程中采用了甲醇、丙酮、正丙醇、异丙醚、二氯甲烷和二氧六环等有机溶剂。根据中国药典规定,所有用到的有机溶剂都要进行残留检测。为了更好地控制原料质量,本研究采用气相色谱法对盐酸表柔比星原料进行残留溶剂检测。

1 材 料

KH-50B型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司);GC-2014型气相色谱仪(岛津);Pekin-Elmer-HS40XL顶空进样器;BP211D电子天平(德国赛多利斯股份公司)。甲醇(山东禹王实业有限公司化工分公司,20100221013),丙酮(江苏永华精细化学品有限公司,090505),二氯甲烷(上海凌峰化学试剂有限公司,030521),正丙醇(上海试四赫维化工有限公司,0404101),异丙醚(南京化学试剂有限公司,10031908513),二氧六环(江苏永华精细化学品有限公司,091005)。其他试剂均为国产分析纯,蒸馏水为自制,盐酸表柔比星原料药样品1和样品2为实验室自制。

2 方法和结果

2.1 气相色谱条件 色谱柱:HP-5(5%)苯基-(95%)二甲基聚硅氧烷毛细管,30 m×0.25 mm×0.25 μm;载气:氮气;进样口温度:200℃;柱温:40℃;FID检测器温度:250℃;分流比:1:100;顶空瓶平衡温度为80℃,平衡时间为30 min,进样体积为1.0 ml。

2.2 溶液配制 标准储备液:分别精密量取适量甲醇、丙酮、二氯甲烷、正丙醇、异丙醚、二氧六环,置100 ml容量瓶中用蒸馏水定容,制成标准储备液。储备液中各有机溶剂浓度分别为3、5、0.6、5、2.5、0.38 mg/ml。标准溶液:用移液管

精密移取5 ml标准储备液,置50 ml容量瓶中,蒸馏水定容,制成标准溶液。标准溶液中各有机溶剂浓度分别为0.3、0.5、0.06、0.5、0.25、0.038 mg/ml。样品溶液:精密称取盐酸表柔比星,置离心管,用移液管精密移取10 ml蒸馏水溶解,制成样品溶液,浓度为50 mg/ml。

2.3 系统适用性实验 精密吸取标准溶液10 ml注入顶空瓶,平衡后进样1 ml,理论塔板数>60 000,分离度>1.5,符合《中华人民共和国药典》规定。

2.4 专属性实验 按2.3项下分别进样各有机溶液和蒸馏水,甲醇、丙酮、二氯甲烷、正丙醇、异丙醚、二氧六环的保留时间分别为2.542、2.772、2.943、3.095、3.422、5.080 min。蒸馏水在分析时间段内也未表现出干扰现象。样品及样品和标准品的混合溶液色谱图如图1、2所示,表明在所选条件下样品中的杂质不存在干扰。

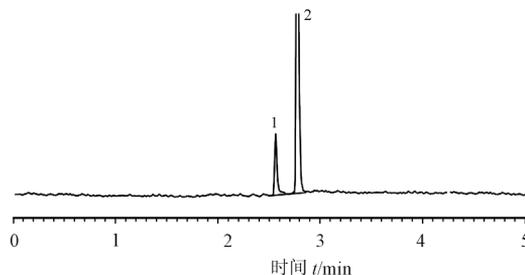


图1 样品溶液色谱图

1: 甲醇; 2: 丙酮

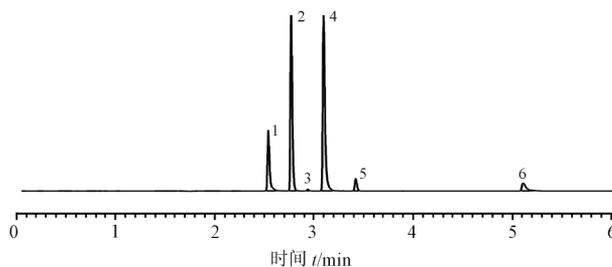


图2 样品和标准品混合溶液色谱图

1: 甲醇; 2: 丙酮; 3: 二氯甲烷; 4: 正丙醇; 5: 异丙醚; 6: 二氧六环

[收稿日期] 2010-09-10 [接受日期] 2010-11-30

[作者简介] 任丽莉, 博士生, 讲师。

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 025-58139416, E-mail: renlili_tw@163.com

2.5 最低检测限的确定 吸取一定量的标准储备液,逐步稀释成一系列浓度溶液,按2.3项下方法进样分析。当 $S/N=3$ 时,甲醇、丙酮、二氯甲烷、正丙醇、异丙醚、二氧六环检测限分别为30、50、6.50、25、3.8 ng。

2.6 线性关系实验 分别精密吸取适量系列标准储备溶液,置于容量瓶,配制成0.1倍限量、0.5倍限量、1.0倍限量、1.5倍限量、2.0倍限量的有机溶剂标准溶液。按2.3项下方法进样分析,以峰面积为(y)纵坐标、浓度(x)为横坐标进行回归,得出标准曲线,其线性关系如表1所示。

表1 线性关系

目标化合物	回归方程	R	线性范围 $\rho_B/(ng \cdot ml^{-1})$
甲醇	$y=36\ 712x+14.57$	0.999 3	30~600
丙酮	$y=70\ 220x-58.40$	0.999 6	50~1 000
二氯甲烷	$y=92\ 646x+107.0$	0.999 5	6~120
正丙醇	$y=78\ 807x-59.89$	0.999 3	50~1 000
异丙醚	$y=26\ 402x-24.80$	0.999 5	25~500
二氧六环	$y=82\ 625x+112.3$	0.999 4	3.8~76

2.7 精密度实验 取1份标准品溶液,按2.3项下方法进样分析,同一标准品溶液重复测定6次,用峰面积计算RSD值。甲醇、丙酮、二氯甲烷、正丙醇、异丙醚、二氧六环的RSD值分别为3.13%、4.86%、4.01%、3.25%、2.18%、2.64%。

2.8 重复性实验 分别配制6份样品,按2.3项下方法进样分析,只检测出甲醇与丙酮,其他均未检出,用峰面积计算RSD值分别为1.15%、2.01%。

2.9 日间精密度 实验者A第1天,配制1份样品溶液,按2.3项下方法进样分析。实验者B第2天,另配制1份样品溶液,同前操作。用峰面积考察RSD值,甲醇为0.92%,丙酮为1.24%。

2.10 回收率 精密吸取4、5、6 ml标准储备液,分别置于50 ml容量瓶中,定容,制成80%限量、100%限量、120%限量的有机溶剂标准溶液。按2.3项下方法进样分析,计算回收率,结果如表2所示。

表2 回收率

目标化合物	回收率 (%)			平均回收率	RSD
	80%限量 (低浓度)	100%限量 (中浓度)	120%限量 (高浓度)		
甲醇	96.1	95.8	98.4	96.8	1.47
丙酮	95.5	97.2	99.7	97.5	2.17
二氯甲烷	96.2	94.7	98.4	96.4	1.93
正丙醇	94.8	98.2	95.4	96.1	1.89
异丙醚	97.6	94.1	95.6	95.8	1.83
二氧六环	98.4	95.3	97.3	97.0	1.62

2.11 样品有机溶剂残留检测 配制2份样品溶液与1份标准品溶液,按2.3项下方法进样分析,根据标准曲线计算样品中有机溶剂残留量,结果样品1中甲醇含量为0.11%,

丙酮含量为0.17%;样品2中甲醇含量为0.11%,丙酮含量为0.18%。其他有机溶剂在2个样品中均未检出。

3 讨论

根据《中华人民共和国药典》规定,各有机溶剂限量如下:甲醇(0.3%),丙酮(0.5%),二氯甲烷(0.06%),正丙醇(0.5%),异丙醚(未规定),二氧六环(0.038%)^[2]。从实验结果可以看出,样品只检出甲醇与丙酮,残留量都符合药典规定。

《中华人民共和国药典》规定,标准溶液的配制时,使用50%的二甲亚砷溶解标准品后稀释定容。本实验考虑到只有异丙醚的水中溶解度不理想,但是在其他5个溶剂的相互作用下,也能很好地溶解混匀,理论塔板数和分离度都达到要求。而且色谱图中二甲亚砷会在14 min左右出溶剂峰,为实验的开展增加了困难,于是没有采用药典方法。

考虑到我们考察的6个有机溶剂中,二氯甲烷和二氧六环的药典含量限度都特别低,采用手动进样可能造成比较大的误差,为了提高检测的准确性,遂采用顶空进样增大进样量。采用顶空进样法还可以减少样品本身对色谱系统的干扰和对毛细管色谱柱的污染。

温度对顶空相平衡体系的影响极其显著。实验中以一定浓度的样品溶液考察平衡温度,密封后选取60、80、100、110℃作为顶空瓶加热温度,平衡30 min后测定,结果表明:随着温度的升高,峰面积逐渐增大,分析灵敏度也随之提高,这是由于组分的饱和蒸气压随平衡温度的增高而变大;但是当平衡温度超过80℃时,组分峰面积的变化趋于平缓;同时考虑到平衡温度过高会引起顶空瓶的耐压和气密性等问题,实验最终选择100℃作为平衡温度。

顶空进样平衡时间的长短取决于被测组分分子从试样基质到气相的扩散速率。实验以一定浓度的样品溶液作为基质,密封后在80℃时分别平衡10、20、30、40、50、60 min,然后每次取顶空气样进行分析,结果表明:响应信号随着平衡时间的延长而增大,平衡时间超过30 min后,其响应值基本不再增加,即平衡瓶内已达到气液两相平衡,综合回收率和分析时间实验,选择30 min作为平衡时间。

关于柱温考察,我们还实验过35℃与50℃,发现35℃时各峰的理论塔板数比较低,拖尾严重,50℃时有个别峰已经不能完全分离,于是采用了40℃的柱温。

我们在表柔比星的合成工艺中只用到了文中所涉及到的6种溶剂,所建立的含量测定方法方便快捷,系统更稳定,而且分析时间明显缩短,实用性及经济性更佳。

[参考文献]

- [1] 张勇. 萘环类化疗药物心脏毒性的治疗进展[J]. 当代医学, 2009, 15: 6-7.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 二部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 63.

[本文编辑] 尹茶