

顶空毛细管气相色谱法测定硫酸长春新碱中残留溶剂

罗春, 李咏华, 陆柳容

(广州医药集团有限公司/广州汉方现代中药研究开发有限公司, 广东 广州 510970)

摘要: 目的 建立硫酸长春新碱中 5 种有机溶剂的分离测定方法。方法 采用顶空毛细管气相色谱法, FID 检测器, 应用 DB-624 毛细管柱对硫酸长春新碱中甲醇、乙醇、丙酮、苯、三氯甲烷进行测定。进样口温度: 160 °C; 检测器温度: 230 °C; 载气: N₂; 载气流速: 10 mL/min; 分流比: 1:2; 顶空进样器平衡温度: 80 °C; 平衡时间: 30 min; 进样体积: 1 mL。结果 被测组分均能得到有效分离, 在所考察的质量浓度范围内线性关系良好, $r=0.999\ 5\sim0.999\ 8$, 平均回收率为 90.0%~111.1%。对本企业生产的 6 批样品进行检测, 其溶剂残留均低于人用药品注册技术要求国际协调会 (ICH) 规定的限度。结论 本方法灵敏、准确、可靠, 可用于硫酸长春新碱中有机溶剂的检测。

关键词: 顶空毛细管气相色谱法; 硫酸长春新碱; 残留溶剂

中图分类号: R927 **文献标识码:** A **doi:** 10.3969/j.issn.1006-8783.2011.01.015

文章编号: 1006-8783(2011)01-0057-03

Determination of residual solvents in vincristine sulphate by headspace gas chromatography

LUO Chun, LI Yong-hua, LU Liu-rong

(Guangzhou Hanfang Pharmaceutical Co. Ltd., Guangzhou Pharmaceutical Group Ltd. Co., Guangzhou, Guangdong 510970, China)

Abstract: Objective To establish a method for determining residual solvents in vincristine sulphate.

Methods Headspace gas chromatography was employed on DB-624 capillary column to detect methanol, alcohol, acetone, benzene and chloroform with injection port temperature at 160 °C and FID detector temperature 230 °C. The loading gas was N₂ with a velocity of 10 mL/min at a split ratio of 1:2. The balance temperature of headspace is 80 °C for 30 min. **Results** The linearities ($r=0.999\ 5\sim0.999\ 8$) were satisfactory and five kinds of residual solvents were completely separated. The average recovery rate was in the range of 90.0%~111.1%. Six batches of samples made in our company were detected and all results of the residual solvents were less than the limit set by ICH. **Conclusion** The methods were proved to be accurate and sensitive and can be used for determination of 5 residual solvents in vincristine sulphate.

Key words: headspace capillary gas chromatography; vincristine sulphate; residual organic solvent

硫酸长春新碱是畅销的植物抗肿瘤药物^[1], 在以长春花为原料制备硫酸长春新碱过程中使用了甲醇、乙醇、丙酮、三氯甲烷、苯 5 种溶剂。本试验将生产工艺中涉及的(国际协调会, ICH) 规定应控制的有机溶剂及产品中实际残留的有机溶剂作为检测对象, 遵循 2010 版《中华人民共和国药典》二部附录

“残留溶剂测定法”的指导原则^[2], 采用顶空气相色谱法, 同时测定上述 5 种有机溶剂, 方法简便, 结果准确可靠, 重现性好。

1 仪器与试剂

岛津 GCAF-2010 气相色谱仪(顶空进样器, FID

收稿日期: 2010-11-25

作者简介: 罗春(1965-), 女, 制药高级工程师, 硕士, 电话: 020-37950016, Email: euro100@126.com。

网络出版时间: 2011-01-21 16:21 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1413.R.20110121.1621.011.html>

检测器)。硫酸长春新碱(批号: 000179, 含量: 99.6%, 干燥失重: 4.7%; 批号: 000279, 含量: 99.8%, 干燥失重: 5.6%; 批号: 000379, 含量: 99.8%, 干燥失重: 4.2%) 由广州汉方现代中药研究开发有限公司提供。所用试剂均为分析纯, 水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适应性试验

色谱柱: Agilent DB-624 柱(0.53 mm × 30 m, 0.25 μm); 柱温: 60 °C, 保温 10 min; 进样口温度: 160 °C; 检测器温度: 230 °C; 载气: N₂; 载气流速: 10 mL/min; 分流比: 1:2; 顶空进样器平衡温度: 80 °C; 平衡时间: 30 min; 顶空进样条件为进样针针温: 85 °C; 输送管线温度: 90 °C; 加压时间: 0.5 min; 进样体积: 1 mL。

按上述色谱条件进样, 甲醇、乙醇、丙酮、苯、三氯甲烷的分离效果及保留时间见图 1。由图 1 可知, 分离度均大于 3.0, 效果理想。样品分离后在相同的保留时间出现相应的色谱峰, 未见杂峰对测定有影响。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品贮备液的制备 对照品贮备液 A: 取甲醇、乙醇、丙酮各约 0.25 g, 精密称定, 加入 25 mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 混合均匀, 即得。

对照品贮备液 B: 取三氯甲烷约 0.2 g、苯约 1 mg, 精密称定, 加入装有 DMF(助溶剂) 2 mL 的 100 mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 混合均匀, 即得。

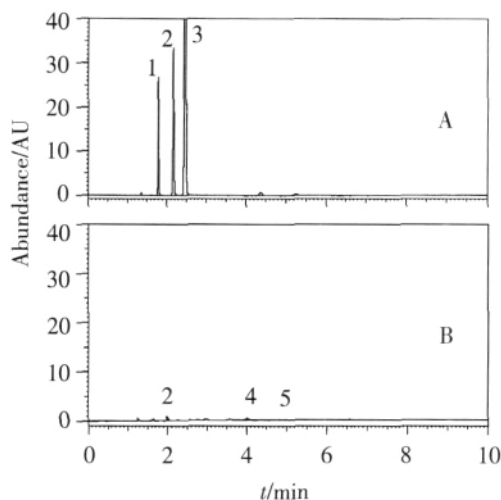
对照品贮备液 C: 精密吸取对照品贮备液 B 1.0 mL 至 25 mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 混合均匀, 即得。

对照品贮备液 D: 精密吸取对照品贮备液 A 1.0 mL, 对照品贮备液 C 2.0 mL 至 100 mL 容量瓶中,

加水稀释至刻度, 混合均匀, 即得。

2.2.2 对照品溶液的制备 取对照品贮备液 D 5.0 mL 于 20 mL 顶空瓶中, 密封, 混合均匀, 即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取样品约 0.3 g, 精密称定, 置于 20 mL 顶空瓶中, 加水 5.0 mL, 密封, 混合均匀, 即得。每批样品制备 2 份。



1. 甲醇; 2. 乙醇; 3. 丙酮; 4. 三氯甲烷; 5. 苯

图 1 对照品溶液(A)、供试品溶液(B) 色谱图

Figure 1 Chromatograms of the reference(A) and sample(B)

2.3 线性关系考察

分别精密量取对照品贮备液 A 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 至 50 mL 容量瓶中, 再分别精密加入对照品贮备液 C 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL, 用水稀释至刻度, 混合均匀, 得到编号 1~5 的系列对照品溶液。分别精密量取系列对照品溶液各 5.0 mL 置 20 mL 顶空瓶中, 密封, 平行 3 份, 密封进样。测定峰面积, 以峰面积(Y)为纵坐标, 进样量(X)为横坐标, 进行线性回归。结果表明, 各组分线性关系良好。结果见表 1。

表 1 线性方程及相关系数

Table 1 Calibration curves and correlation coefficients

组分	回归方程	r	线性范围 / μg
甲醇	$Y = 7.250 \times 10^2 X - 9.534 \times 10^3$	0.999 5	854 ~ 4 268
乙醇	$Y = 1.485 \times 10^3 X - 2.162 \times 10^4$	0.999 5	864 ~ 4 320
丙酮	$Y = 5.888 \times 10^3 X - 8.084 \times 10^4$	0.999 8	867 ~ 4 335
三氯甲烷	$Y = 3.810 \times 10^3 X + 3.468 \times 10^2$	0.999 5	17 ~ 52
苯	$Y = 5.240 \times 10^4 X + 1.005 \times 10^3$	0.999 8	1 ~ 3

2.4 精密度试验

取“2.2.2”项下对照品溶液, 重复进样 6 次, 计算待测组分甲醇、乙醇、丙酮、苯、三氯甲烷的 RSD

分别为 5.9%、4.2%、2.8%、4.3%、4.0%。

2.5 检测限及定量限的测定

取“2.2.2”项下对照品溶液适量, 逐步稀释, 进

样测定。甲醇、乙醇、丙酮、三氯甲烷、苯的检测限($2 \leq S/N \leq 3$) 分别为 1.0、0.2、0.16、0.2、0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 定量限($10 \leq S/N \leq 20$) 分别为 6.1、1.1、0.6、1.0、0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.6 回收率试验

精密称取硫酸长春新碱样品 0.10 g 各 10 份, 分别置 20 mL 顶空瓶中, 分别精密加入“2.3”项下系列对照品溶液各 5 mL, 密封进样。同时测定系列对照品溶液。根据峰面积比计算回收率。甲醇、乙醇、丙酮、三氯甲烷、苯的平均回收率分别为 107.1%、103.5%、101.6%、100.8%、96.4%; RSD 分别为 2.09%、7.85%、5.90%、6.10%、3.00%。

2.7 样品测定

取 6 批硫酸长春新碱样品约 0.3 g, 精密称定, 置于 20 mL 顶空瓶中, 精密加入水 5.0 mL, 摇匀, 密封进样, 平行测定 2 份。同法测定对照品溶液, 按外标法以峰面积计算各样品中有机溶剂残留量。结果见表 2。6 批样品中甲醇、乙醇、丙酮、苯、三氯甲烷的残留量均低于设定认可的限度规定。

表 2 样品测定结果($n=2$)

Table 2 Contents of the residual solvents in 6 samples %

批号	甲醇	乙醇	丙酮	苯	三氯甲烷
080201	未检出	0.06	未检出	<0.000 1	0.005 3
080202	未检出	0.15	0.002	<0.000 1	0.001 3
080301	未检出	0.002	未检出	<0.000 1	<0.001
000179	未检出	0.07	未检出	未检出	<0.001
000279	未检出	0.13	0.001	未检出	0.002 2
000379	未检出	0.06	未检出	未检出	<0.001

3 讨论

3.1 样品中残留溶剂种类的确定

将 6 批硫酸长春新碱样品按照 2010 年版《中华人民共和国药典》二部附录附录 VIII P “残留溶剂测定法”项下制成质量浓度为 0.06 g/mL 的溶液, 采用极性 DB-624 毛细管柱, 按照附录测定法第二法中程序升温条件, 用顶空气相色谱法分别测定样品中挥发性组分的保留时间。将供试品中测得的色谱峰的保留时间与相应对照品的保留时间比较, 确认 6

份样品中均有乙醇存在。考虑到生产工艺中所涉及使用的有机溶剂均有可能残留在样品中^[3], 故将工艺中 ICH 规定的应控制的溶剂及产品中实际存在的溶剂均作为检测对象。

3.2 溶剂的选择

硫酸长春新碱是一种生物碱的硫酸盐, 不溶于有机溶剂, 极易溶于水, 其水溶液的 pH 值约为 3.5~4.5, 显弱酸性。以水为溶解介质, 溶解性能好, 且溶液图谱显示无杂质峰干扰, 故选择水作为溶剂。

3.3 色谱柱的选择

比较了 AT-1 柱和 DB-624 2 种不同极性的毛细管柱的测定效果。DMF 由于沸点(163 $^{\circ}\text{C}$) 较高, 在 AT-1 柱中灵敏度差, 检测限较高, 在规定限度质量浓度下不能被检出; 在相同的色谱条件下, DB-624 毛细管柱测定所得 DMF 峰形好, 无拖尾现象, 且 DMF 在该色谱柱中灵敏度较好, 检测限较在 AT-1 柱中降低, 在规定限度质量浓度条件下能有效检出, 满足试验要求, 所以选择 DB-624 毛细管柱。

3.4 检测器的选择

比较了 FID 检测器及电子捕获检测器, 虽然电子捕获检测器对含氯溶剂的检测灵敏度略高, 但 FID 检测器对三氯甲烷的灵敏度也能满足检测要求; 且用 FID 检测器, 可以用同一个系统检测硫酸长春新碱中 5 种残留溶剂的含量, 满足试验要求, 故选择 FID 检测器。

本方法专属性、重复性好, 灵敏度高, 可用于进行工艺变更后的硫酸长春新碱原料药中溶剂残留的测定和控制。

参考文献:

- [1] 赵妍, 邓意, 孟胜男, 等. 硫酸长春新碱脂质体的释放度和药效学研究 [J]. 广东药学院学报, 2007, 23(1): 25-27, 36.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010 年版二部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 VIII P.
- [3] 彭洁, 洪建文, 魏雪芳. 顶空气相色谱法测定卡维地洛中有机溶剂残留 [J]. 广东药学院学报, 2007, 23(5): 536-538.

(责任编辑: 刘晓涵)