

# 气相色谱法测定凡德他尼原料药中8种有机溶剂残留量

王金玉<sup>1\*</sup>, 韩斌丽<sup>1</sup>, 郑 昆<sup>1</sup>, 相茂花<sup>2</sup>(1.日照市中医医院, 山东日照 276800; 2.日照市药品检验所, 山东日照 276800)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)13-1220-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.13.24

**摘要** 目的:建立同时测定凡德他尼原料药中8种有机溶剂即甲醇、乙醇、四氢呋喃、正己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯、异丙醇、*N,N*-二甲基甲酰胺含量的方法。方法:采用毛细管气相色谱法,以二甲基亚砜(DMSO)为溶剂,按外标法计算溶剂残留量。色谱柱为DB-624,进样口温度为250℃,氢火焰离子化检测器温度为270℃,程序升温,载气为N<sub>2</sub>,分流比为20:1。结果:8种有机溶剂在各自的检测质量浓度范围内线性关系良好( $r=0.998\ 1\sim 0.999\ 4$ );平均加样回收率为95.90%~101.4%(RSD=0.56%~3.16%, $n=3$ );3批样品中有1批检出四氢呋喃和*N,N*-二甲基甲酰胺。结论:建立的方法操作简单、灵敏、结果准确,可用于凡德他尼原料药中有机溶剂残留量检查。

**关键词** 凡德他尼;原料药;毛细管气相色谱法;有机溶剂;残留量

## Determination of 8 Residual Organic Solvents in Vandetanib Raw Material by Gas Chromatography

WANG Jin-yu<sup>1</sup>, HAN Bin-li<sup>1</sup>, ZHENG Kun<sup>1</sup>, XIANG Mao-hua<sup>2</sup>(1.Rizhao Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shandong Rizhao 276800, China; 2.Rizhao Institute for Drug Control, Shandong Rizhao 276800, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To develop a method for the content determination of 8 residual organic solvents as methanol, ethanol, tetrahydrofuran, *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate, isopropanol, *N,N*-dimethylformamide in vandetanib raw material. METHODS: Gas chromatography method was adopted using DMSO as solvent. The contents of residual solvent were determined by external standard method. The determination was performed on DB-624 column with FID detector. The injector temperature was set at 250℃ and the detector temperature was 270℃ by temperature programming. Carrier gas was nitrogen, and the splitting ratio was 20:1. RESULTS: The good linear relation of 8 kind of organic solvents were achieved ( $r=0.998\ 1\sim 0.999\ 4$ ). The average recoveries were ranged from 95.90% to 101.4% (RSD=0.56%~3.16%,  $n=3$ ). Among 3 batches of samples, tetramethylene oxide and *N,N*-dimethylformamide were detected in 1 batch of sample. CONCLUSIONS: The method is simple, sensitive and accurate, and can be used for the determination of residual organic solvents in vandetanib raw material.

**KEYWORDS** Vandetanib; Raw material; Capillary gas chromatography; Organic solvents; Residual

表5 样品细菌内毒素检查结果

Tab 5 Results of bacterial endotoxin test of sample

批号		供试品质量浓度,mg/ml	NPC	PPC	PC	NC
鲎试剂	供试品					
1108201	120123	0.01	--	++	++	--
	120310	0.01	--	++	++	--
	120411	0.01	--	++	++	--
1203071	120123	0.005	--	++	++	--
	120310	0.005	--	++	++	--
	120411	0.005	--	++	++	--

### 3 讨论

预干扰试验目的是评价样品质量浓度对鲎试剂与内毒素凝集反应的干扰程度,初步筛出对细菌内毒素检查无干扰的样品质量浓度范围。而干扰试验的目的则是对预干扰试验初步筛出无干扰的样品浓度的进一步确认。另外,不同厂家的鲎试剂由于生产工艺、质量参数等方面有一定差异,其抗干扰能力存在差异。故本试验采用两个不同厂家的鲎试剂( $\lambda_1=$

0.25 EU/ml,  $\lambda_2=0.125$  EU/ml)对3个批号的样品进行试验,对应将样品稀释至 $\leq 0.01$ 、0.005 mg/ml时,不干扰细菌内毒素检查。因此,磺达肝癸钠注射液用凝胶法进行细菌内毒素检查是可行的。

### 参考文献

- [1] Wong NN. Fondaparinux: a synthetic selective factor-Xa inhibitor[J]. *Heart Dis*, 2003, 5(4): 295.
- [2] Alban S. From heparins to factor Xa inhibitors and beyond [J]. *Eur J Clin Invest*, 2005, 35(Suppl 1): 12.
- [3] Glaxo Wellcome Production. 磺达肝癸钠注射液说明书[S]. 2011-04-29.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录XIE、XIXM.
- [5] 黄荣富, 厉青, 李龙健, 等. 注射用尖吻蝮蛇血凝酶细菌内毒素检查方法的研究[J]. *中国药房*, 2013, 24(17): 1602.
- [6] 周梅, 武谷. 注射用盐酸吉西他滨细菌内毒素检查方法的研究[J]. *中国药房*, 2013, 24(1): 76.

(收稿日期: 2013-06-28 修回日期: 2013-10-09)

\* 主管药师。研究方向: 医院药学和药物制剂。电话: 0633-8290199。E-mail: pharm\_2012@126.com

甲状腺癌是一种罕见的恶性肿瘤,约占癌症发生率的1%<sup>[1]</sup>。据报道,我国甲状腺癌发病率呈逐年上升趋势,目前国内对于该病无针对性治疗药物<sup>[2-6]</sup>。凡德他尼(Vandetanib)是由阿斯利康公司研发的小分子多靶点酪氨酸激酶抑制剂,2006年2月被美国FDA批准为治疗甲状腺癌的快速通道药物,2011年4月获美国FDA批准上市,商品名为Zactima<sup>[7-8]</sup>,目前国内已有进口的凡德他尼片获得临床审批<sup>[9]</sup>。凡德他尼原料药在合成过程中(经厂家证实)使用了二类溶剂甲醇、四氢呋喃、正己烷、二氯甲烷、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)及三类溶剂乙醇、乙酸乙酯、异丙醇。目前未见国内有关凡德他尼原料药残留溶剂测定的研究。为更好地控制产品质量,笔者按照2010年版《中国药典》(二部)附录Ⅷ P<sup>[10]</sup>要求及人用药品注册技术要求国际协调会(ICH)的有机溶剂残留量指导原则<sup>[11]</sup>,建立了毛细管气相色谱法测定样品中8种有机溶剂残留量的方法,该方法采用分流直接进样、外标法计算残留溶剂含量。

## 1 材料

### 1.1 仪器

GC-2014C气相色谱仪、氢火焰离子化检测器(FID)(日本岛津公司)。

### 1.2 药品与试剂

凡德他尼原料药(山东恒瑞医药科技发展有限公司,批号:130301、130302、130303,纯度:≥99.7%);甲醇(含量:≥99.9%)、乙醇(含量:≥99.7%)、四氢呋喃(含量:≥99.0%)、正己烷(含量:≥97.0%)、二氯甲烷(含量:≥99.5%)、乙酸乙酯(含量:≥99.5%)、异丙醇(含量:≥99.7%)均为分析纯;DMF及二甲基亚砜(DMSO)均为色谱纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:DB-624毛细管柱(30 m×0.53 mm×3.00 μm);FID温度:270℃;进样口温度:250℃;程序升温:初始柱温45℃,保持5 min后,以30℃/min的升温速率升至230℃,保持10 min;载气:N<sub>2</sub>;压力:20 kPa;氢气流速:10 ml/min;空气流速:400 ml/min;分流比:20:1;进样量:1 μl。

### 2.2 溶液制备

分别精密称取甲醇150.73 mg、乙醇251.75 mg、异丙醇253.75 mg、二氯甲烷31.60 mg、正己烷15.23 mg、乙酸乙酯249.65 mg、四氢呋喃35.85 mg及DMF44.30 mg,各置于25 ml量瓶中,加DMSO溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液。

### 2.3 专属性试验

分别精密量取“2.2”项下对照品贮备液各1 ml,同置于20 ml量瓶中,加入DMSO稀释至刻度,摇匀,在上述色谱条件下进样测定,对混合溶剂中各溶剂在色谱图中的位置进行定位。另精密称取批号为130303的样品,同法制备样品质量浓度为50 mg/ml的溶液进样测定。混合溶剂及样品色谱图见图1。

结果表明,在上述色谱条件下各溶剂出峰次序从左至右依次为:甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、DMF,空白溶剂DMSO于13.4 min左右出峰,不干扰样品中各待测溶剂的测定。

### 2.4 线性关系试验

精密量取对照品贮备液各0.2、0.5、0.8、1.0、1.2、1.5 ml,置

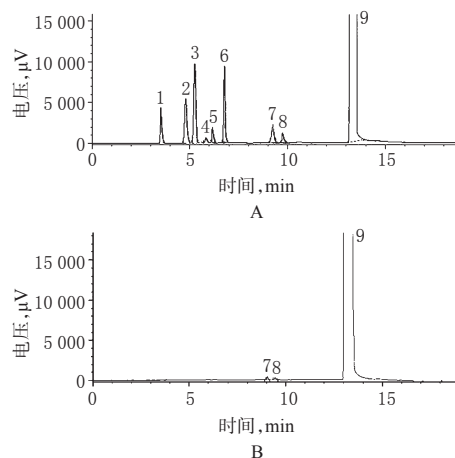


图1 气相色谱图

A. 混合溶剂;B.样品;1. 甲醇;2. 乙醇;3. 异丙醇;4. 二氯甲烷;5. 正己烷;6. 乙酸乙酯;7. 四氢呋喃;8. DMF;9. DMSO

Fig 1 GC chromatogram

A. mixed solvents; B. sample; 1. methanol; 2. ethanol; 3. tetrahydrofuran; 4. dichloromethane; 5. *n*-hexane; 6. ethyl acetate; 7. tetramethylene oxide; 8. DMF; 9. dimethyl sulfoxide

于20 ml量瓶中, DMSO定容至刻度,摇匀,作为供试溶液;精密量取上述系列溶液各1 μl依次进样,记录色谱图,以各溶剂质量浓度(*c*, μg/ml)为横坐标、峰面积(*A*)为纵坐标,得各溶剂线性关系结果见表1。

表1 线性关系考察

Tab 1 Linear relation of organic solvents

有机溶剂	质量浓度, μg/ml	线性关系方程	相关系数
甲醇	60.29~452.17	$A=117.05c-613.01$	0.999 4
乙醇	100.7~755.25	$A=168.68c-1 538$	0.998 6
异丙醇	101.5~761.25	$A=178.87c+1 355.4$	0.998 1
二氯甲烷	12.64~94.80	$A=42.048c+5.038 9$	0.998 7
正己烷	6.09~45.67	$A=361.77c-21.701$	0.998 6
乙酸乙酯	99.86~748.95	$A=142.73c+932.99$	0.999 1
四氢呋喃	14.34~107.55	$A=253.78c-623.95$	0.999 3
DMF	17.72~132.90	$A=104.55c-327.3$	0.998 5

表1结果表明,甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃在各自的检测质量浓度范围内线性关系良好( $r=0.998 1\sim 0.999 4$ )。

### 2.5 检测限、定量限试验

精密量取对照品贮备液,用DMSO逐步稀释,以信噪比为3:1及10:1时计算各溶剂的检测限与定量限。结果甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、DMF的检测限分别为14.7、9.6、10.5、29.7、1.4、4.8、4.0、17.5 ng,定量限分别为5.9、4.8、5.3、11.7、0.5、2.3、1.7、9.3 ng,表明本方法具有较好的检测灵敏度。

### 2.6 精密度试验

分别精密量取“2.2”项下对照品贮备液各1 ml,同置于20 ml量瓶中,加入DMSO稀释至刻度,摇匀;分别精密量取1 μl,连续进样5次,考察本方法的进样精密度。结果,各溶剂峰面积RSD均小于5.0% ( $n=5$ ),表明本方法进样精密度良好。

### 2.7 回收率试验

精密称取批号为130301的样品9份,每份约1.0 g,各置于

20 ml 量瓶中,分别吸取标准贮备液 0.8、1.0、1.2 ml 加入上述 20 ml 量瓶中,加 DMSO 定容至刻度,超声 10 min 使溶解,摇匀,静置,即得低、中、高质量浓度(80%、100%、120%)的加样回收率样品溶液,每个浓度平行测定 3 份,考察本方法的回收率。结果回收率均在 95.90%~101.40%,RSD 在 0.56%~3.16%( $n=3$ ),详见表 2。

表 2 8 种有机溶剂回收率结果( $n=3$ )

Tab 2 Results of recovery rates of 8 kinds of organic solvents( $n=3$ )

有机溶剂	水平	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
甲醇	低	98.83	98.58	0.71
	中	98.26		
	高	98.66		
乙醇	低	97.17	97.01	0.59
	中	97.38		
	高	96.47		
异丙醇	低	95.80	95.90	1.02
	中	96.66		
	高	95.25		
二氯甲烷	低	100.25	101.40	2.15
	中	101.41		
	高	102.52		
正己烷	低	100.08	100.40	3.16
	中	98.62		
	高	102.39		
乙酸乙酯	低	96.61	96.57	1.06
	中	97.42		
	高	95.69		
四氢呋喃	低	97.73	97.49	0.94
	中	97.76		
	高	96.97		
DMF	低	100.09	99.89	0.56
	中	99.71		
	高	99.88		

### 2.8 样品中有机溶剂残留量测定

精密称取 3 批样品各约 1.0 g,各置于 20 ml 量瓶中,加 DMSO 定容至刻度,超声 10 min 使溶解,摇匀,静置,作为供试品溶液。精密量取供试品溶液 1  $\mu$ l,注入气相色谱仪,记录色谱图,按外标法计算样品中溶剂残留量,结果见表 3。

表 3 样品中有机溶剂残留量测定结果

Tab 3 Content determination results of residual organic solvents in samples

有机溶剂	批号		
	130301	130302	130303
甲醇	未检出	未检出	未检出
乙醇	未检出	未检出	未检出
异丙醇	未检出	未检出	未检出
二氯甲烷	未检出	未检出	未检出
正己烷	未检出	未检出	未检出
乙酸乙酯	未检出	未检出	未检出
四氢呋喃	未检出	未检出	0.075%
DMF	未检出	未检出	0.089%

表 3 结果表明,有 2 批样品均未检出各有机溶剂,1 批样品中检出少量的四氢呋喃及 DMF,但均低于规定限度。

## 3 讨论

(1) 色谱条件的选择。前期试验中,在程序升温条件不变的情况下,分别考察进样器温度及分流比对峰形及分离度的影响。当分流比为 20:1 时,进样器温度由 200  $^{\circ}$ C 升至 250  $^{\circ}$ C 过程中各溶剂峰的拖尾现象明显得到改善,而且各峰的分离度也有所提高;当进样器温度为 250  $^{\circ}$ C 时,虽然减小分流比至 40:1,色谱峰峰形进一步改善,各峰之间均达到基线分离(分离度 $>2.0$ ),但考虑到限度溶液浓度较低,为提高检测灵敏度,本试验最终选择分流比 20:1。

(2) 溶剂的确定。凡德他尼在 DMSO 溶解度约 30 mg/ml,在乙醇中的溶解度约 10 mg/ml,难溶于水。由于乙醇为被测物,因此不能作为溶剂使用;由于 8 种待测有机溶剂均在 DMSO 具有较好的溶解能力,故选择 DMSO 作为本品的溶剂。

样品中有 1 批检查出有四氢呋喃和 DMF 残留,究其原因,可能是四氢呋喃为本品成品最后一步精制中使用到的溶剂,因此较易残留;而 DMF 因为沸点较高,也较易残留。建议生产厂家在原料药合成中继续优化工艺,以降低这 2 种溶剂的残留量,提高产品质量。

综上所述,建立的方法操作简单、灵敏、结果准确,可用于凡德他尼原料药中有机溶剂残留量检查。

### 参考文献

- [1] 哈楠,计凤妹.2002—2006 年上海市松江区甲状腺癌发病现状分析[J].上海预防医学杂志,2010,22(4):188.
- [2] 沈永洲,沈高飞,祝丽娟.海宁市 1977—2010 年甲状腺癌发病趋势分析[J].中国慢性病预防与控制,2012,20(2):203.
- [3] 陈和新,王娜,黄培新,等.2002—2008 年江苏省海门市甲状腺癌流行状况分析[J].中华疾病控制杂志,2011,15(4):279.
- [4] 敖小凤,高志红.甲状腺癌流行现状研究进展[J].中国慢性病预防与控制,2008,16(2):217.
- [5] 夏训明.美国 FDA 批准首种治疗甲状腺髓样癌新药 Vandetanib[J].广东药学院学报,2011,27(2):173.
- [6] 赵兴旺,赵临襄.凡德他尼:Vandetanib[J].中国药物化学杂志,2011,21(5):405.
- [7] ASTRAZENECA PLC. FDA approves orphan drug vandetanib[EB/OL]. (2011-04-07) [2013-07-01].<http://www.astrazeneca.com/Media/Press-releases/Article/20100407-fda-approves-orphan-drug-vandetanib>.
- [8] 祝业,龙旭梅,张建平,等.治疗甲状腺髓样癌新药凡德他尼[J].中国新药杂志,2012,21(17):159.
- [9] 丁香园医药数据库.凡德他尼[DB/OL]. (2006-04-27) [2013-07-01]. <http://db.dxy.cn/drugSearch/>.
- [10] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010 年版.北京:中国医药科技出版社,2010:686、附录 61-65.
- [11] 陈立亚,于宝珠,赵慧芳.ICH 指导原则与各国现行药典药品的残留溶剂分析方法概述[J].中国药事,2005,19(9):542.

(收稿日期:2013-07-01 修回日期:2013-08-12)