

# 毛细管气相色谱法测定注射用地西他滨中的残留溶剂

赵迎春\*(江苏省徐州医药高等专科学校,江苏徐州 221116)

中图分类号 R927.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)33-4729-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.33.43

**摘要** 目的:建立测定注射用地西他滨中残留溶剂的方法。方法:采用毛细管气相色谱法,按内标法计算残留溶剂的含量。色谱柱为Agilent DB-624毛细管柱,检测器为氢火焰离子化检测器,检测器温度为280℃,进样口温度为230℃,柱温采用程序升温,载气为高纯氮,流速为1.5 ml/min,分流比为50:1,进样方式为直接进样,进样量为1 μl。结果:乙醇、乙醚、异丙醇、乙腈、二氯甲烷、四氢呋喃、环己烷、甲苯、*N,N*-二甲基甲酰胺的检测质量浓度线性范围分别为0.100 3~2.507、0.101 3~2.532、0.102 2~2.556、0.008 3~0.207 8、0.012 4~0.309 3、0.014 8~0.369 4、0.078 1~1.953、0.024 9~1.250、0.017 6~0.440 9 mg/ml( $r$ 均 $\geq$ 0.999 2);精密度、重复性试验的RSD $<$ 2%;加样回收率为96.70%~101.60%,RSD为0.59%~1.82%( $n=9$ )。结论:该方法简便、准确、重复性好,适用于注射用地西他滨中残留溶剂的测定。

**关键词** 注射用地西他滨;残留溶剂;毛细管气相色谱法

## Determination of Residual Solvents in Decitabine for Injection by Capillary GC

ZHAO Ying-chun (Jiangsu Provincial Xuzhou Pharmaceutical Vocational College, Jiangsu Xuzhou 221116, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for determining residual solvents in Decitabine for injection. METHODS: Capillary GC method was adopted, and the contents of residual solvents were calculated by internal standard method. The column was capillary column Agilent DB-624, flame ionization detector was used with the temperature of 280 °C by temperature programming, and the temperature of injector was 230 °C, nitrogen was used as the carrier gas, flow rate was 1.5 ml/min and the split ratio was 50:1, direct injection was used, and the sample size was 1 μl. RESULTS: The linear range was 0.100 3-2.507 mg/ml for ethanol, 0.101 3-2.532 mg/ml for ether, 0.102 2-2.556 mg/ml for isopropanol, 0.008 3-0.207 8 mg/ml for acetonitrile, 0.012 4-0.309 3 mg/ml for methylene chloride, 0.014 8-0.369 4 mg/ml for tetrahydrofuran, 0.078 1-1.953 mg/ml for cyclohexane, 0.024 9-1.250 mg/ml for toluene and 0.017 6-0.440 9 mg/ml for *N,N*-dimethylformamide ( $r \geq 0.999 2$ ); RSDs of precision and reproducibility tests were lower than 2%; recovery was 96.70%-101.60% (RSD was 0.59%-1.82%,  $n=9$ ). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible and suitable for determining the residual solvents in Decitabine for injection.

**KEYWORDS** Decitabine for injection; Residual solvents; Capillary GC

地西他滨(Decitabine)是一种去甲基化药物,具有独特的甲基化转移酶抑制剂的治疗机制。2006年,美国食品与药品管理局(FDA)批准了美国MGI制药公司和SuperGen公司的注射用地西他滨的上市申请,商品名为Dacogen<sup>®</sup>,用于治疗骨髓异常综合征(MDS)<sup>[1]</sup>。MDS为罕见病,目前治疗药物欠缺<sup>[2]</sup>,故近几年国内企业纷纷争相仿制该药。

残留溶剂系指在原料药、辅料或制剂的生产过程中使用的,而最终又未能完全去除的有机溶剂<sup>[3]</sup>。根据人用药物注册技术要求国际协调会(ICH)原则和2010年版《中国药典》(二部)附录相关指导原则<sup>[4-5]</sup>要求,需对注射用地西他滨国产仿制制剂的合成工艺中使用的溶剂包括乙醇、乙醚、异丙醇、乙腈、二氯甲烷、四氢呋喃、环己烷、甲苯、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)等的残留量进行控制。为此,本试验建立了采用毛细管气相色谱(GC)法同时测定其中上述9种残留溶剂的方法。

## 1 材料

### 1.1 仪器

2010 Plus型GC仪,含GC-Solution工作站(日本岛津公

\*主管药师,讲师,硕士。研究方向:药事管理和药物分析。电话:0516-82559072。E-mail:zyzn1979@163.com

司);XS-205DU型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

### 1.2 药品与试剂

注射用地西他滨(正大天晴药业集团股份有限公司,批号:100301、100302、100303,规格:50 mg/支);乙醇、乙醚、异丙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、环己烷、甲苯均为分析纯,DMF和二甲基亚砜(DMSO)均为色谱纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent DB-624毛细管柱(30 m $\times$ 0.32 mm,1.8 μm);检测器:氢火焰离子化检测器;检测器温度:280℃;进样口温度:230℃;柱温(程序升温):起始温度60℃,保持5 min,以30℃/min升温至200℃,保持5 min;载气:高纯氮;流速:1.5 ml/min;分流比:50:1;进样方式:直接进样;进样量:1 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 内标溶液 精密称取乙酸乙酯适量,用DMSO稀释制成每1 ml中约含乙酸乙酯0.3 mg的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液 取样品约100 mg,精密称定,置于5 ml具塞试管中,加内标溶液1 ml使溶解,摇匀,即得。

2.2.3 对照品溶液 分别取乙醇、乙醚、异丙醇、乙腈、二氯甲

烷、四氢呋喃、环己烷、甲苯、DMF各适量,精密称定,用内标溶液定量稀释成每1 ml约含乙醇0.5 mg、乙醚0.5 mg、异丙醇0.5 mg、乙腈0.041 mg、二氯甲烷0.06 mg、四氢呋喃0.072 mg、环己烷0.388 mg、甲苯0.089 mg、DMF 0.088 mg的溶液,摇匀,即得。

### 2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下制备的对照品溶液、内标溶液、供试品溶液各适量,分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图1。由图1可见,乙醇、乙醚、异丙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯(内标物)、四氢呋喃、环己烷、甲苯、DMF、DMSO(溶剂)各成分依次流出,且上述各成分间的分离度均>2.0,理论板数均大于20 000。

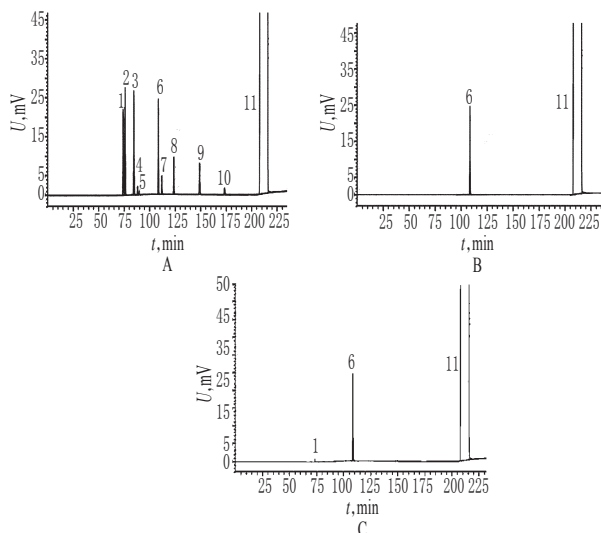


图1 毛细管气相色谱图

A.对照品溶液;B.内标溶液;C.供试品溶液;1.乙醇;2.乙醚;3.异丙醇;4.乙腈;5.二氯甲烷;6.乙酸乙酯;7.四氢呋喃;8.环己烷;9.甲苯;10. DMF;11.DMSO

Fig 1 Capillary GC chromatograms

A.reference substance; B.internal standard solution; C.test sample solution; 1.ethanol; 2.diethyl ether; 3.tetrahydrofuran; 4.acetonitrile; 5.dichloromethane; 6.ethyl acetate; 7.tetramethylethyleneoxide; 8.cyclohexane; 9.toluene; 10.DMF; 11.DMSO

### 2.4 线性关系考察

精密称取乙醇约500 mg、乙醚约500 mg、异丙醇约500 mg、乙腈约41 mg、二氯甲烷约60 mg、四氢呋喃约72 mg、环己烷约388 mg、甲苯约89 mg、DMF约88 mg,置于100 ml量瓶中,用内标溶液稀释至刻度,摇匀,分别精密量取该溶液1、2、5、10、15、25 ml,置于50 ml量瓶中,用内标溶液稀释至刻度,摇匀,作为系列对照品溶液。将上述系列对照品溶液分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以质量浓度为横坐标( $x$ , mg/ml)、峰面积与内标峰面积比值为纵坐标( $y$ )进行线性回归,回归方程和线性范围见表1。

### 2.5 精密度试验

取“2.2.3”项下的对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,乙醇、乙醚、异丙醇、乙腈、二氯甲烷、四氢呋喃、环己烷、甲苯、DMF峰面积的RSD分别为1.02%、0.83%、1.62%、0.62%、1.25%、0.83%、0.75%、1.04%、0.91%( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

### 2.6 重复性试验

取样品(批号:100301)适量,共6份,分别按“2.2.2”项下方

表1 回归方程和线性范围

Tab 1 Regression equation and linear ranges

待测成分	回归方程	$r$	线性范围,mg/ml
乙醇	$y=3.772 2x-0.034 6$	0.999 8	0.100 3~2.507
乙醚	$y=3.850 1x-0.121 6$	0.999 3	0.101 3~2.532
异丙醇	$y=4.110 5x-0.154 3$	0.999 2	0.102 2~2.556
乙腈	$y=1.789 6x-0.235 8$	0.999 2	0.008 3~0.207 8
二氯甲烷	$y=0.755 4x-0.000 4$	0.999 7	0.012 4~0.309 3
四氢呋喃	$y=3.348 5x-0.009 7$	0.999 8	0.014 8~0.369 4
环己烷	$y=3.789 6x-0.235 8$	0.999 2	0.078 1~1.953
甲苯	$y=5.408 7x-0.126 9$	0.999 4	0.024 9~1.250
DMF	$y=3.053 5x-0.010 2$	0.999 8	0.017 6~0.440 9

法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定并以峰面积比值按内标法计算残留溶剂的含量。结果,乙醇平均含量0.013%,RSD=0.49%( $n=6$ ),表明本方法的重复性良好。

### 2.7 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品(批号:100301)约0.1 g,共9份,每3份分别加入低(80%)、中(100%)、高(120%)3种质量浓度的对照品浓液适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,并计算加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果( $n=9$ )

Tab 2 Results of recovery test( $n=9$ )

待测成分	平均加样回收率,%			总平均加样回收率,%	RSD,%
	低质量浓度	中质量浓度	高质量浓度		
乙醇	98.48	99.81	97.91	98.73	0.99
乙醚	96.96	97.84	98.04	97.61	0.59
异丙醇	99.17	101.60	98.76	99.84	1.54
乙腈	97.15	96.70	98.26	97.37	0.82
二氯甲烷	96.70	98.99	97.45	97.71	1.19
四氢呋喃	98.44	99.34	97.73	98.50	0.82
环己烷	98.64	98.78	99.90	99.11	0.70
甲苯	101.10	98.21	97.78	99.03	1.82
DMF	98.63	99.20	100.30	99.38	0.85

### 2.8 样品残留溶剂测定

取3批样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,另取按“2.2.1”项下方法制备的对照品溶液适量,将上述两种溶液分别按“2.1”项下色谱条件注入GC仪进样测定,记录峰面积,按内标法以峰面积比值计算其中残留溶剂的含量,结果见表3。

## 3 讨论

根据2010年版《中国药典》(二部)附录VIII P项规定,本品的残留溶剂中,乙腈、二氯甲烷、四氢呋喃、环己烷、甲苯、DMF属于二类溶剂,乙醇、乙醚、异丙醇属于三类溶剂,并对上述溶剂有严格的限度要求。而本研究测定结果表明,合成工艺中使用的相关溶剂残留量均符合规定。

残留溶剂多为挥发性溶剂,在合成工艺中使用的溶剂在样品中含量较低,而且由于GC法进样量很小,因此相比外标法而言,内标法可以减少仪器或操作带来的误差。笔者经过前期试验筛选,选择乙酸乙酯为本试验的内标物,其与各待测溶剂均能达到良好分离。

通过对本品中9种溶剂的定位分析,各溶剂分离良好(分离度均>2.0),故本方法可以实现同时测定注射用地西他滨中的9种残留溶剂。并且,定量限与检测限(文中相关内容略)的测定结果也说明本方法具有较高的灵敏度,能保证对低限度

# HPLC-柱前衍生化-双波长法同时测定妥布霉素地塞米松滴眼液中2种主成分的含量

邵顺章<sup>1\*</sup>,袁步娟<sup>1</sup>,巩克民<sup>2</sup>,张婷婷<sup>2</sup>(1.盐城市药品检验所,江苏盐城 224002;2.盐城卫生职业技术学院,江苏盐城 224006)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)33-4731-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.33.44

**摘要** 目的:建立同时测定妥布霉素地塞米松滴眼液中妥布霉素和地塞米松含量的方法。方法:采用高效液相色谱-柱前衍生化-双波长法。色谱柱为Agilent C<sub>18</sub>,流动相为0.25%三羟甲基氨基甲烷-乙腈-0.5 mol/L硫酸(40:59:1, V/V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为365、220 nm,柱温为30 ℃,进样量为20 μl。结果:妥布霉素、地塞米松检测质量浓度线性范围分别为18.01~180.09、6.02~60.24 μg/ml( $r=0.999\ 5$ 、 $0.999\ 8$ );精密度、稳定性、重复性试验的RSD<1%;加样回收率分别为98.65%~100.01%、98.92%~100.20%,RSD分别为0.47%、0.50%( $n=9$ )。结论:该方法简便省时、专属性强、重复性好、结果准确可靠,可用于妥布霉素地塞米松滴眼液的质量控制。

**关键词** 妥布霉素;地塞米松;妥布霉素地塞米松滴眼液;高效液相色谱-柱前衍生化-双波长法

## Simultaneous Determination of 2 Main Ingredients in Tobramycin and Dexamethasone Eye Drop by HPLC-Column Derivatization-Dual Wavelength Method

TAI Shun-zhang<sup>1</sup>, YUAN Bu-juan<sup>1</sup>, GONG Ke-min<sup>2</sup>, ZHANG Ting-ting<sup>2</sup>(1.Yancheng Institute for Drug Control, Jiangsu Yancheng 224002, China; 2.Yancheng Health Vocational Technical College, Jiangsu Yancheng 224006, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of tobramycin and dexamethasone in Tobramycin and dexamethasone eye drop. METHODS: HPLC-column derivatization-double wavelength method was performed on the column of Agilent C<sub>18</sub> with mobile phase of 0.25% 3-hydroxymethyl aminomethane-acetonitrile-0.5 mol/L sulfuric acid(40:59:1, V/V/V) at flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 365 nm and 220 nm, column temperature was 30 ℃, and the volume injection was 20 μl. RESULTS: The linear range was 18.01-180.09 μg/ml for tobramycin( $r=0.999\ 5$ ) and 6.02-60.24 μg/ml for dexamethasone( $r=0.999\ 8$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1%; recoveries were 98.65%-100.01% (RSD=0.47%,  $n=9$ ) and 98.92%-100.20% (RSD=0.50%,  $n=9$ ), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, time-saving, specific, reproducible, accurate and reliable, and can be used for the quality control of Tobramycin and dexamethasone eye drop.

**KEYWORDS** Tobramycin; Dexamethasone; Tobramycin and dexamethasone eye drop; HPLC-column derivatization-double wavelength

表3 样品残留溶剂测定结果( $n=3$ )

Tab 3 Results of contents determination of residual solvents in samples ( $n=3$ )

待测成分	含量, %		
	100301	100302	100303
乙醇	0.01	0.02	0.01
乙醚	未检出	未检出	未检出
异丙醇	未检出	未检出	未检出
乙腈	未检出	未检出	未检出
二氯甲烷	未检出	未检出	未检出
四氢呋喃	未检出	未检出	未检出
环己烷	未检出	未检出	未检出
甲苯	未检出	未检出	未检出
DMF	未检出	未检出	未检出

\* 副主任药师。研究方向:药物质量分析。E-mail: 417677528@qq.com

溶剂的准确测定。另外,精密度、回收率试验结果也充分说明本试验建立的残留溶剂测定方法简便、准确、重复性好。

### 参考文献

- [1] 胡艳玲,傅得兴.地西他滨的药理作用和临床评价[J].中国药学杂志,2008,43(2):81.
- [2] 敖忠芳.骨髓增生异常综合征(MDS)的病因、诊断及治疗[J].江苏临床医学杂志,2002,6(3):177.
- [3] 国家食品药品监督管理局.化学药物残留溶剂的研究技术指导原则[S].北京:中国医药科技出版社,2010:10、50.
- [4] 周海均.药品注册的国际技术要求:质量部分[M].北京:人民卫生出版社,2000:35-38.
- [5] 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,2010:10、110.

(收稿日期:2015-03-03 修回日期:2015-10-14)

(编辑:周 箐)