

GC测定二-(2,6-二氟苯甲酰异羟肟酸)二正丁基合锡中有机溶剂残留量

郑娟, 高竹妍, 李云兰*, 李青山(山西医科大学药学院, 太原 030001)

摘要: 目的 建立原料药二-(2,6-二氟苯甲酰异羟肟酸)二正丁基合锡中的有机溶剂残留量的测定方法。方法 采用毛细管气相色谱法, FID 检测器, DB-1 毛细管柱, 柱温 50 °C, 进样口温度 200 °C, 检测器温度 220 °C, 流速为 2.0 mL·min⁻¹, 分流比为 50 : 1, 以 1,2-二氯乙烷为内标测定溶剂残留量。结果 甲醇、正己烷、甲苯在考察的浓度范围内线性关系良好, 线性范围分别为 9~375 µg·mL⁻¹ ($r=0.999\ 8$), 0.87~36.25 µg·mL⁻¹ ($r=0.999\ 7$), 2.67~111.25 µg·mL⁻¹ ($r=0.999\ 8$), 平均回收率分别为 99.1%(RSD=2.5%)、98.3%(RSD=2.7%)、99.7%(RSD=1.3%)。结论 本方法快速、简单、结果准确, 可用于二-(2,6-二氟苯甲酰异羟肟酸)二正丁基合锡中的有机溶剂残留量的测定。

关键词: 毛细管气相色谱法; 二-(2,6-二氟苯甲酰异羟肟酸)二正丁基合锡; 有机溶剂残留

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)01-0067-03

Determination of Residual Organic Solvents in Di-*n*-butyl-(2,6-difluorobenzohydroxamato) Tin(IV) by GC

ZHENG Juan, GAO Zhuyan, LI Yunlan*, LI Qingshan(School of Pharmaceutical Science, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a method for the determination of residual organic solvents in Di-*n*-butyl-(2,6-difluorobenzohydroxamato)Tin(IV). **METHODS** The capillary gas chromatography method was established with FID detector and DB-1 capillary column with 50 °C. The temperature at the injector and the detector were 200 °C and 220 °C, respectively. The carrier gas was nitrogen with a flow rate of 2.0 mL·min⁻¹. The split ratio was 50 : 1. The 1,2-dichloroethane was used as the internal standard to determine the residual organic solvents. **RESULTS** Methanol, *N*-hexane and methylbenzene showed a linear range within 9~375 µg·mL⁻¹ ($r=0.999\ 8$), 0.87~36.25 µg·mL⁻¹ ($r=0.999\ 7$), 2.67~111.25 µg·mL⁻¹ ($r=0.999\ 8$), respectively. The average recoveries were 99.1%(RSD=2.5%), 98.3%(RSD=2.7%), 99.7%(RSD=1.3%), respectively. **CONCLUSION** The method was rapid, simple, accurate and suitable for the analysis of residual organic solvents in Di-*n*-butyl-(2,6-difluorobenzohydroxamato) Tin(IV).

KEY WORDS: capillary gas chromatography; Di-*n*-butyl-(2,6-difluorobenzohydroxamato) Tin(IV); residual organic solvents

近年来, 以具有生物活性的异羟肟酸作为配体的新型有机锡类抗癌化合物的研究备受关注, 现已发现多个该类有机锡化合物的体外抗癌活性超过临床上使用的顺铂。笔者所在课题组自主设计合成的二-(2,6-二氟苯甲酰异羟肟酸)二正丁基合锡(DBDF_{2,6}T)对HL-60、BGC-823、BEL-7402、KB表现了较强的抗癌活性^[1], 有进一步深入研究的价值。DBDF_{2,6}T在合成过程中使用了甲醇、正己烷、甲苯

等有机溶剂, 为保证药品质量的均一性和使用安全性, 根据中国药典^[2]及ICH对有机溶剂残留量测定的指导原则^[3]对这些残留溶剂进行检测。本试验建立了毛细管气相色谱法测定上述有机溶剂的残留量, 方法简便、快速、结果可靠。

1 仪器与试剂

Agilent 7890A气相色谱仪(美国安捷伦公司); DBDF_{2,6}T为自主合成(批号: 091012, 091013,

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09103-104); 国家自然科学基金资助项目(30973603 和 30772682); 山西医科大学 08 博士启动基金, 山西省回国留学人员科研资助项目(2010-54)

作者简介: 郑娟, 女, 硕士生 Tel: (0351) 4135243 E-mail: zhj-j-zm@163.com *通信作者: 李云兰, 女, 博士, 教授, 硕士 Tel: (0351)4690322 E-mail: liyunlanrr@163.com

091015, 纯度均>98%); 甲苯、二氯甲烷、1,2-二氯乙烷均为分析纯, 甲醇、正己烷为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent DB-1(30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 柱温: 50 $^{\circ}\text{C}$, 进样口: 200 $^{\circ}\text{C}$, FID检测器: 220 $^{\circ}\text{C}$, 载气: 高纯 N_2 , 流速: 2.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 空气: 400 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 氢气: 40 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 柱前压 68.95 kPa, 分流比: 50:1, 尾吹25 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 进样量1 μL 。

2.2 溶液配制

2.2.1 内标贮备液 精密称取1,2-二氯乙烷50 mg于50 mL量瓶中, 用二氯甲烷稀释至刻度, 摇匀, 作为内标贮备液(浓度为1.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

2.2.2 对照贮备液 分别精密称取甲醇300 mg、正己烷29 mg、甲苯89 mg于100 mL量瓶中, 二氯甲烷稀释至刻度, 摇匀, 制成每1 mL含3 mg、0.29 mg、0.89 mg的对照贮备液。

2.2.3 对照品溶液 精密量取对照贮备液1 mL, 内标贮备液1 mL于10 mL量瓶中, 用二氯甲烷稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

2.2.4 样品溶液 精密称定DBDF_{2,6}T 1.0 g于10 mL量瓶中, 精密量取内标贮备液1 mL, 用二氯甲烷稀释至刻度, 摇匀, 作为样品溶液。

2.3 系统适用性试验

取对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 结果各溶剂及内标分离良好, 相邻色谱峰间的分离度均大于1.5, 理论板数均大于100 000, 空白溶剂无干扰。典型色谱图见图1。

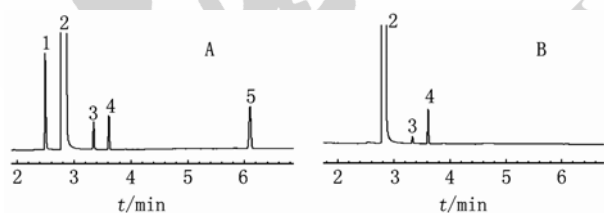


图1 有机溶剂残留气相色谱图

A-对照品; B-样品; 1-甲醇; 2-二氯甲烷(溶剂); 3-正己烷; 4-内标; 5-甲苯

Fig 1 GC chromatograms of residual organic solvents

A-control; B-sample; 1-methanol; 2-dichloromethane (solvent); 3-N-hexane; 4-internal standard; 5-methylbenzene

2.4 线性关系

分别精密量取对照贮备液0.3, 5, 7.5, 10,

12.5 mL, 置于100 mL量瓶中, 各加内标贮备液10 mL, 二氯甲烷稀释至刻度, 摇匀。按“2.1”项下色谱条件测定, 记录色谱图。以待测物与内标峰面积比为纵坐标, 对照溶液浓度为横坐标进行线性回归。结果见表1。

表1 回归方程及线性范围

Tab 1 Recursive equation and linear range

溶剂	回归方程	r	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
甲醇	$A=0.008\ 9C+0.109\ 0$	0.999 8	9~375
正己烷	$A=0.026\ 2C+0.046\ 4$	0.999 7	0.87~36.25
甲苯	$A=0.025\ 4C+0.094\ 8$	0.999 8	2.67~111.25

2.5 仪器精密度试验

取对照液, 按“2.1”项下色谱条件进样, 连续测定6次。测得结果: 甲醇、正己烷、甲苯与内标峰面积比的RSD分别为1.9%、1.6%、1.1%, 仪器精密度良好。

2.6 重复性试验

按“2.2.4”项下方法平行配制5份溶液, 进样, 记录色谱峰面积。测定结果: 残留正己烷与内标峰面积比的RSD为2.1%, 方法重复性良好。

2.7 回收率试验

采用加样回收率, 精密称取已知溶剂残留量的DBDF_{2,6}T样品(批号: 091012)1.0 g于50 mL量瓶中(共9份), 分别精密加入对照贮备液0.15, 4.0, 5.0 mL各3份, 再准确加入内标贮备液5.0 mL, 二氯甲烷稀释至刻度, 摇匀, 配制成3个不同浓度的待测溶液进行回收率测定。按内标法以回归方程计算回收率。结果见表2。

2.8 定量限和检测限

取逐级稀释的对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 以 $S/N=10$ 时计算定量限, 以 $S/N=3$ 时计算最低检测浓度。测得结果: 甲醇、正己烷、甲苯的定量限分别为: 1.9 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n=5$, $RSD=2.3\%$)、0.9 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n=5$, $RSD=2.2\%$)、2.67 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n=5$, $RSD=1.1\%$); 检测限分别为0.6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、0.29 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、0.89 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.9 样品测定

分别准确称取3批DBDF_{2,6}T样品各1.0 g于10 mL量瓶中, 加内标贮备液1 mL, 二氯甲烷稀释至刻度, 摇匀, 进样测定, 按内标法计算各样品中有机溶剂的残留量。每批平行测定5次。结果见表3。

表 2 回收率试验结果(n=9)

Tab 2 The results of recovery test(n=9)

溶剂	加入量/ μg·mL ⁻¹	测得量/ μg·mL ⁻¹	回收率/%	平均 回收率/%	RSD/%
甲醇	9	9.30	103.3	99.1	2.5
	9	9.10	101.1		
	9	8.70	96.7		
	240	237.60	99.0		
	240	228.00	95.0		
	240	236.90	98.7		
	300	294.30	98.3		
	300	302.70	100.9		
	300	297.90	99.3		
正己烷	0.87	0.89	102.3	98.3	2.7
	0.87	0.88	101.1		
	0.87	0.85	7.7		
	23.2	22.10	95.3		
	23.2	21.95	94.6		
	23.2	23.06	99.4		
	29.0	28.21	97.3		
	29.0	29.09	100.3		
	29.0	28.02	96.6		
甲苯	2.67	2.63	98.5	99.7	1.3
	2.67	2.65	99.3		
	2.67	2.68	100.4		
	71.2	69.61	97.8		
	71.2	71.27	100.1		
	71.2	70.28	98.7		
	89.0	88.47	99.4		
	89.0	90.20	101.3		
	89.0	90.30	101.5		

表 3 3 批样品测定结果(n=5)

Tab 3 Determination results of three batches of samples (n=5)

批号	甲醇	正己烷		甲苯
		含量/%	RSD/%	
091012	未检出	0.003 3	2.1	未检出
091013	未检出	0.004 9	1.7	未检出
091015	未检出	0.002 5	2.3	未检出

3 讨论

3.1 色谱柱的选择

通过对不同毛细管色谱柱如HP-5、DB-1多次实验,发现DB-1柱能使待测溶剂与内标及空白溶剂达到基线分离,所以选择DB-1色谱柱。

3.2 其他色谱条件的选择

毛细管的柱前压及柱温对被测组分的分离度影响较大。柱温选择在50℃,柱前压为68.95 kPa

时,各溶剂峰的峰形、分离度、基线稳定性以及保留时间均为最好。

3.3 有机残留溶剂的限度要求

根据中国药典和人用药品注册技术规范国际协调会(ICH)的有关规定,应对DBDF_{2,6}T合成过程中使用的甲醇、正己烷、甲苯等有机溶剂进行严格控制。3种有机溶剂均为限制使用的第二类溶剂,根据限度要求,规定甲醇不超过0.3%,正己烷不超过0.029%,甲苯不超过0.089%。经过对3批样品的测定,结果均符合要求。

3.4 溶剂的选择

根据本品的溶解性质,分别选择了二甲基亚砷、异丙醇、甲苯、二氯甲烷作为溶剂,经试验证明本品在二甲基亚砷、异丙醇中结构被破坏,降解后的低沸点物质影响待测溶剂甲醇的出峰;甲苯为溶剂时能与待测溶剂甲醇及正己烷良好分离,但甲苯也是待测组分,不能作为溶剂;而二氯甲烷作溶剂,虽在待测溶剂间出峰,但对待测组分无干扰,分离度和灵敏度均能达到分离要求,故选用二氯甲烷作为溶剂。

3.5 内标物的选择

为降低操作过程和仪器系统的误差,采用内标法定量。通过对四氯化碳、1,2-二氯乙烷、环己烷进行筛选,发现1,2-二氯乙烷作内标与3种溶剂分离良好,且对测定无干扰;1,2-二氯乙烷虽为一类溶剂,但实验中仅为微量使用,因而选择1,2-二氯乙烷作为内标。

3.6 实验方法的选择

有机溶剂残留多用顶空毛细管气相色谱法分析,本实验仪器不具备顶空进样器,根据药典附录残留溶剂测定法第三法“溶液直接进样法”,采用溶液直接进样分析。

REFERENCES

- [1] SHANG X M, WU J, LI Q S. The preliminary structure-activity relationship of aromatic hydroxamic acid organotin anti-cancer compound [J]. Sci Sin B(中国科学 B 辑), 2008, 38(5): 429-440.
- [2] Ch.P(2005)Vol II (中国药典 2005 年版. 二部)[S]. 2005: Appendix 54.
- [3] ZHOU H J. Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use Quality Section(药品注册的国际技术要求-质量部分)[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000: 87.

收稿日期: 2010-05-03