

GC 测定盐酸司维拉姆原料药中有机溶剂残留

胡莉华, 李清*, 毕开顺, 戴雯静, 姬莉芳, 郑晓娇(沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016)

摘要: 目的 建立以毛细管气相色谱法测定盐酸司维拉姆原料药中乙醇、异丙醇和环氧氯丙烷(ECH)3种有机溶剂残留量的方法。方法 采用 DB-624(30.0 m×0.32 mm, 1.8 μm)毛细管柱, 载气为氮气, 采用氢火焰离子化检测器(FID), 进样口温度为 180 °C, 检测器温度为 220 °C, 柱温采用程序升温, 进样量 1 μL。结果 乙醇、异丙醇和 ECH 均能得到较好的分离, 呈现良好的线性关系, 平均回收率分别为 101.8%, 101.3%, 103.9%。结论 本方法简便快速, 准确性好, 灵敏度高, 可用于盐酸司维拉姆原料药中残留溶剂的测定。

关键词: 毛细管气相色谱法; 盐酸司维拉姆; 环氧氯丙烷; 有机溶剂残留量

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)11-1377-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.11.020

Determination of Residual Organic Solvents in Sevelamer Hydrochloride Drug Substance by GC

HU Lihua, LI Qing*, BI Kaishun, DAI Wenjing, JI Lifang, ZHENG Xiaojiao(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a capillary GC method for the determination of residual organic solvents including alcohol, isopropanol, epichlorohydrin (ECH) in sevelamer hydrochloride drug substance. **METHODS** This method utilized an Agilent DB-624 GC column, helium as carrier gas. FID was used as detector with the temperature of 220 °C, and the inlet temperature was 180 °C. This method used temperature program. The injection volume was 1 μL. **RESULTS** The three residual organic solvents alcohol, isopropanol, ECH were completely separated, the linear relationship was good, and the average recoveries were 101.8%, 101.3%, 103.9%, respectively. **CONCLUSION** This method is simple, rapid, accurate and highly sensitive, which can be used for the determination of the residual organic solvents in sevelamer hydrochloride drug substance.

KEY WORDS: GC; sevelamer hydrochloride; epichlorohydrin; residual organic solvents

盐酸司维拉姆, 化学名为聚(烯丙基胺基-共-*N,N'*-二烯丙基-1, 3-二氨基-2-羟丙烷)盐酸盐, 适用于控制慢性肾病透析患者的血清磷水平, 可以降低血清磷水平而不引起高钙血症^[1]。盐酸司维拉姆的合成过程中使用了乙醇、异丙醇和环氧氯丙烷(epichlorohydrin, ECH), 因此可能有乙醇、异丙醇和 ECH 3 种有机溶剂残留。这 3 种溶剂会对人体和环境造成危害, 尤其是 ECH, 具有中等致癌活性^[2], 所以控制这 3 种溶剂残留量对保证盐酸司维拉姆的质量和用药安全具有重要意义。关于盐酸司维拉姆残留溶剂的研究, 目前仅见国外一篇文献中采用顶空毛细管气相色谱法测定 ECH。为此, 本实验根据中国药典 2010 年版^[3]的相关规定及有关文献^[4-5], 采用毛细管气相色谱法, 以 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)为溶解介质, 同时测定盐酸司维拉姆中乙醇、异丙醇和 ECH 3 种残留溶剂的含量。

1 仪器与试剂

GC-6890N型气相色谱仪(美国Agilent公司); 氢火焰离子化(FID)检测器, 安捷伦色谱工作站(美国Agilent公司); BP210S 万分之一天平(德国Sartorius)。

异丙醇为色谱纯(山东禹王实业有限公司); 无水乙醇、正庚烷和 DMF 均为色谱纯, 均购自天津市科密欧化学试剂有限公司; ECH(天津博迪化工股份有限公司, 分析纯); 盐酸司维拉姆原料药(某公司, 批号: 111101, 111201, 111202)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent DB-624(30.0 m×0.32 mm, 1.8 μm); 载气: 高纯氮; 流速: 3.5 mL·min⁻¹; 分流比: 15:1; 起始柱温为 50 °C, 保持 2 min 后, 以 40 °C·min⁻¹ 升温至 180 °C, 保持 1 min; 进样口温度为 180 °C, 检测器温度为 220 °C; 进样量:

基金项目: “重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09301-012)

作者简介: 胡莉华, 女, 硕士生 Tel: (024)23986296 E-mail: haide_3212@163.com *通信作者: 李清, 女, 博士, 教授, 博导 Tel: (024)23986296 E-mail: lq_yxm@tom.com

1 μL 。

2.2 溶液的制备

2.2.1 内标溶液的制备 取正庚烷约 0.4 g，精密称定，置 100 mL 量瓶中，加 DMF 稀释至刻度，摇匀，作为内标溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取 ECH 20.4 mg 于 100 mL 量瓶中，用 DMF 溶解并稀释至刻度，作为 ECH 一级储备液。分别精密称取无水乙醇、异丙醇 500 mg，量取 ECH 一级储备液 10 mL 于同一 100 mL 量瓶中，用 DMF 溶解并稀释至刻度，得混合对照品储备液。

精密量取混合对照品储备液 1 mL，置 10 mL 量瓶中，精密加入内标溶液 1 mL，加 DMF 定容至刻度，摇匀，作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取盐酸司维拉姆样品 0.5 g，精密称定，置 5 mL 量瓶中，精密加入内标溶液 0.5 mL，加 DMF 溶解并稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液。

2.3 系统适用性试验

精确量取对照品溶液和供试品溶液各 1 μL ，注入气相色谱中，记录色谱图，测定各有机溶剂的分离度及柱效。结果表明，以上各有机溶剂计算的理论板数均 $\geq 5\ 000$ ，相邻溶剂的分离度均符合要求，色谱图见图 1。

2.4 专属性试验

取 DMF、内标溶液、对照品溶液和供试品溶液，各进样 1 μL ，由色谱图可知 DMF 及内标溶液对乙醇，异丙醇和 ECH 的测定无干扰。乙醇、异丙醇和 ECH 的对照品溶液及溶剂 DMF 在供试品溶液色谱图中，与内标溶液色谱峰相应位置处无干扰。结果表明方法专属性良好。

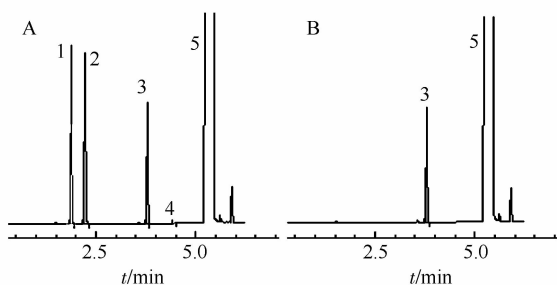


图 1 有机溶剂残留气相色谱图

A—对照品；B—样品；1—乙醇；2—异丙醇；3—正庚烷(内标)；4—环氧氯丙烷；5—溶剂(*N,N*-二甲基甲酰胺)。

Fig. 1 GC chromatograms of residual organic solvents

A—control; B—sample; 1—alcohol; 2—*isopropanol*; 3—*N*-heptane(internal standard); 4—*epichlorohydrin*; 5—*solvent (N,N-dimethylformamide)*.

2.5 线性关系考察

精密量取对照品储备液 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 mL，分别置于 10 mL 量瓶中，再分别加入内标储备液 1.0 mL，加 DMF 定容，摇匀，各配制 2 份。精密称取无水乙醇 0.500 4 g 于 100 mL 量瓶中，加 DMF 定容，摇匀，作为无水乙醇一级储备液。精密量取无水乙醇一级储备液 1 mL 于 100 mL 量瓶中，加 DMF 定容，摇匀，作为无水乙醇二级储备液。精密量取异丙醇一级储备液 1.0 mL 于 100 mL 量瓶中，用 DMF 定容，摇匀，作为异丙醇二级储备液。精密量取 ECH 一级储备液 10 mL 于 100 mL 量瓶中，用 DMF 定容，摇匀，作为 ECH 二级储备液，精密量取无水乙醇二级储备液、异丙醇二级储备液、ECH 二级储备液各 3.9, 3.0, 6.3 mL 于 100 mL 量瓶中，加入内标储备液 10 mL，用 DMF 定容至刻度，摇匀，配制 2 份。取系列对照品溶液，分别进样 1 μL ，记录色谱图，以浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 为横坐标，被测组分峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标，计算待测组分的线性回归方程，结果见表 1。

表 1 线性范围及回归方程($n=5$)

Tab. 1 Linear ranges and regression equations of the organic solvents($n=5$)

溶剂种类	回归方程	r	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
乙醇	$A=2.700\ 9M-0.041\ 4$	0.996 0	3.600~700.6
异丙醇	$A=2.960\ 2M-0.054\ 7$	0.996 2	8.600~700.3
ECH	$A=3.851\ 0M-0.001\ 1$	0.993 8	1.400~2.900

2.6 仪器精密度试验

精密量取同一对照品溶液 1 μL 注入气相色谱仪，按“2.1”项下的色谱条件进行分析，连续进样 5 次，记录色谱图，以各组分的峰面积对内标的峰面积比值计算其 RSD 值，计算乙醇、异丙醇、ECH 的峰面积比的 RSD 分别为 3.8%，3.6%和 4.5%。

2.7 回收率试验

取待测盐酸司维拉姆原料样品约 0.5 g 共 9 份，精密称定，置 5 mL 量瓶中，精密量取对照品储备液 0.4, 0.5, 0.6 mL 各 3 份，作为 80%，100% 和 120% 供试品溶液，再分别精密加入 0.5 mL 内标溶液，用 DMF 稀释至刻度，摇匀，按“2.1”项

下色谱条件进行分析,按内标法计算各组分的回收率,乙醇、异丙醇和ECH的平均回收率分别为101.8%,101.3%,103.9%,RSD值均<5%。

2.8 检测限和定量限

取对照品溶液,以逐级稀释法测定各对照品溶剂的检测限($S/N=3$)和定量限($S/N=10$),实验结果表明,乙醇、异丙醇和ECH对照品溶剂的检测限分别为1.2,2.9,0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。定量限分别为3.6,8.6,1.4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n=6$,RSD分别为4.3%,2.7%,4.6%)。

2.9 耐用性考察

取待测盐酸司维拉姆原料样品约0.5 g,精密称定,置5 mL量瓶中,精密量取混合对照品储备液0.5 mL,再精密加入内标溶液0.5 mL,加DMF溶解并稀释至刻度,摇匀,作为盐酸司维拉姆的溶剂残留耐用性样品溶液。另取对照品溶液和空白溶液,进样量为1 μL 。分别考察不同厂家及批号的色谱柱,载气流速(3.3,3.5,3.7 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$),进样口温度(175,180,185 $^{\circ}\text{C}$)和检测器温度(215,220,225 $^{\circ}\text{C}$)条件下的耐用性。各条件下溶剂测定结果($n=6$)RSD均<5.0%,表明耐用性良好。

2.10 样品的测定

取各个批号的供试品,按“2.2.3”项下的供试品溶液的配制方法制备供试品溶液,分别进样1 μL ,按内标法计算各有机溶剂的残留量。试验结果表明,3批样品中均未检出乙醇、异丙醇和ECH的残留,符合中国药典2010年版二部附录中对原料药溶剂限度的要求。

3 讨论

3.1 检测器的选择

ECH中含有卤素,使用电子捕获检测器(ECD)进行测定更加灵敏。但由于ECD对乙醇和异丙醇的响应值很小,故本实验采用氢火焰离子化检测器(FID)同时测定3种残留溶剂。

3.2 色谱柱的选择

分别考察了DB-1,HP-5和DB-624 3种不同极性的色谱柱,其中中等极性色谱柱DB-624可使3种残留溶剂达到基线分离,并且保留时间适宜,故选用DB-624色谱柱。

3.3 进样方法的选择

测定有机溶剂残留方法包括直接进样法和顶空进样法。采用顶空进样法测定残留溶剂,对仪器污染少、测定干扰小,适用于低沸点残留溶剂的测定。由于实验中测定的3种有机溶剂沸点差异较大,ECH沸点较高,采用顶空进样法需较长的平衡时间,从而显著延长分析时间,而直接进样法操作简便,实际应用广泛。根据药典附录残留溶剂测定法第三法“溶液直接进样法”,采用毛细管柱直接进样-程序升温分析,程序升温法可以缩短出峰时间并显著改善峰型。

采用本试验所确定的分析方法检测盐酸司维拉姆原料药中的ECH,可确保ECH的色谱峰和其他组分的色谱峰的分离度满足气相色谱测定的要求,采用直接进样法测定ECH的定量限可达到1.4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,具有柱效高、分离度高、准确度好、色谱峰形好、分析时间短等优点,适用于盐酸司维拉姆中的ECH等3种残留溶剂的测定,可满足分析要求。

REFERENCES

- [1] ZHU Z. A novel phosphate binder-sevelamer hydrochloride [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 1999, 34(7): 496-497.
- [2] SUN Y. Production and development of epichlorohydrin [J]. Chem Intermed(化工中间体网刊), 2002(12): 10-13.
- [3] Ch.P(2010)Vol II(中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: Appendix 61-65.
- [4] WANG M R, MA Y M. Determination of 2-chloromethyl-oxirane in water by capillary gas chromatography [J]. J Environ Health(环境与健康杂志), 2005, 22(3): 211-212.
- [5] YANG Z G, YIN L R, FENG Y S, et al. Determination of 2-chloromethyl-oxirane in workplace air by gas chromatography [J]. Chin J Health Lab Technol(中国卫生检验杂志), 2009, 19(3): 535-536.

收稿日期: 2013-11-06