

顶空气相色谱法测定盐酸去甲万古霉素原料药中的10种有机溶剂残留量^Δ

耿文飞*,左明昊,张晓楠,唐蜜,张雪霞,佟杰[#](华北制药集团新药研究开发有限责任公司/微生物药物国家工程研究中心/河北省工业微生物代谢工程技术研究中心,石家庄 050015)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)21-2977-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.21.35

摘要 目的:建立测定盐酸去甲万古霉素原料药中10种有机溶剂残留量的方法。方法:采用顶空气相色谱方法。色谱柱为以硝基对苯二酸改性的聚乙二醇为固定液的DB-FFAP毛细管柱;初始温度为40℃,保持3min,以8℃/min升温到150℃,保持10min;进样口温度为200℃;载气为高纯氮气,恒定流速为5ml/min;分流比为15:1;顶空瓶平衡温度为85℃,平衡时间为40min;进样量为1ml。结果:正戊烷、丙酮、乙醇、苯、丙烯腈、甲苯、二甲苯、氯苯、苯乙烯、二乙烯苯在各自质量浓度范围内与峰面积呈良好的线性关系(r 为0.9957~0.9999);精密度、重复性试验的RSD≤6.6%;回收率为94.3%~106.6%(RSD为0.5%~4.5%, $n=9$)。结论:该方法快速、灵敏、准确,可用于盐酸去甲万古霉素原料药中有机溶剂残留量的测定。

关键词 盐酸去甲万古霉素;大孔树脂;残留溶剂;顶空气相色谱法

Determination of 10 Residual Organic Solvents in Norvancomycin Hydrochloride Raw Material by HS-GC

GENG Wen-fei, ZUO Ming-hao, ZHANG Xiao-nan, TANG Mi, ZHANG Xue-xia, TONG Jie (North China Pharmaceutical Group New Drug Research and Development Co., Ltd. / National Engineering Research Center of Microbial Medicine/Hebei Industrial Microbial Metabolic Engineering & Technology Research Center, Shijiazhuang 050015, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for determining 10 residual organic solvents in norvancomycin hydrochloride raw material. METHODS: Headspace gas chromatography was performed on the column of nitro modified polyethylene terephthalate glycol as stationary phase capillary column; the oven temperature program started at 40 °C for 3 min and increased at a rate of 8 °C/min up to 150 °C for 10 min; the temperature was 200 °C with carrier gas of high-purity nitrogen gas, the constant flow rate was 5 ml/min with split ratio of 15:1; the headspace vial equilibrium temperature was 85 °C with equilibrium time of 40 min, and the volume was 1 ml. RESULTS: The concentration of *n*-pentane, acetone, ethanol, benzene, acrylonitrile, toluene, xylene, chlorobenzene, styrene, divinylbenzene had good linear relationship with its peak area values($r=0.9957-0.9999$); the RSDs of precision, repeatability tests was ≤6.6%; average recovery was in the range of 94.3%-106.6% (RSD=0.5%-4.5%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is fast, sensitive and accurate, and can be used for the determination of residual organic solvents in norvancomycin hydrochloride raw material.

KEYWORDS Norvancomycin hydrochloride; Macrorreticular resin; Residual solvents; Headspace gas chromatography

- 农业,2001(Z2):116.
- [2] 隋晓斐.三七及其土壤中农药残留状况和降解动态[D].杭州:浙江大学,2008.
- [3] Yang X, Zhang H, Liu Y, *et al.* Multiresidue method for determination of 88 pesticides in berry fruits using solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry: determination of 88 pesticides in berries using SPE and GC-MS[J]. *Food Chem*, 2011, 127(2): 8 555.
- [4] 郑龙章,张春霞,黄森慰.茶农使用农药行为影响因素实证研究:以福建省为例[J].福建农林大学学报:哲学社会科学版,2009,12(2):44.
- [5] 杨小山,林奇英.经济激励下农户使用无公害农药和绿色农药意愿的影响因素分析:基于对福建省农户的问卷调查[J].江西农业大学学报:社会科学版,2011,10(1):50.
- [6] 郑冬梅.中国生物农药产业发展研究[D].福州:福建农林大学,2006.
- [7] 杨银慧,豆小文,孔维军,等.我国中药材中农药登记现状及污染分析[J].中国中药杂志,2013,38(24):4 238.
- [8] 王朝梁,崔秀明.三七农残重金属研究现状及对策[J].现代中药研究与实践,2003(增刊):36.
- [9] 栾爽,赵迎春,韩春晖,等.77种中药材中铅、镉残留量的测定与分析[J].中国药房,2015,26(12):1 678.
- [10] 何强,井文涌,王翊亭.环境学导论[M].3版.北京:清华大学出版社,2004:213.

Δ 基金项目:国家科技重大专项子任务——重大新药创制(No.2014ZX09201001-004)

* 高级工程师,硕士。研究方向:新药研发、药物分析。电话:0311-85993040。E-mail:wenfei-g@163.com

通信作者:高级工程师,硕士研究生。研究方向:新药生产、生产质量管理。电话:0311-85992995。E-mail:tongjie@ncpc.com

(收稿日期:2014-09-22 修回日期:2015-02-28)

(编辑:余庆华)

盐酸去甲万古霉素与万古霉素具有类似化学结构与药理特性,但抗菌活性却强于万古霉素。该药适用于葡萄球菌(包括甲氧西林耐药菌株和多重耐药菌株)、难辨梭状芽孢杆菌所致的心内膜炎、骨髓炎、肺炎、败血症或软组织感染等^[1]。有文献报道了该药的生产工艺路线和参数,在生产中使用了乙醇和丙酮2种有机溶剂,并使用了吸附型大孔树脂^[2]。按照有关文献^[3-7]和树脂生产厂家提供的工艺,应对该药中的乙醇、丙酮、正戊烷(制孔剂)、苯、丙烯腈、甲苯、二甲苯、氯苯、苯乙烯、二乙烯苯进行检测。为此,笔者采用顶空气相色谱的方法,测定盐酸去甲万古霉素原料药中10种有机溶剂的残留量。

1 材料

7890A气相色谱仪,包括7697顶空进样器、ChemStation工作站(美国Agilent公司);AL204型电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司)。

盐酸去甲万古霉素(华北制药集团新药研究开发有限责任公司,批号:130901、130902、130903);乙醇、丙酮、苯、丙烯腈、二甲苯、氯苯、苯乙烯、二乙烯苯均为分析纯,正戊烷、甲苯、四氢呋喃(THF)为色谱纯,水为密理博超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:以硝基对苯二酸改性的聚乙二醇为固定液的DB-FFAP毛细管柱(30 m×0.53 mm, 1.5 μm);程序升温:初始温度40℃,保持3 min,以8℃/min升温到150℃,保持10 min;进样口温度:200℃;载气:高纯氮气,恒定流速:5 ml/min;分流比:15:1;顶空瓶平衡温度:85℃,平衡时间:40 min;进样量:1 ml。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 分别精密称取乙醇、丙酮、丙烯腈、正戊烷、苯、甲苯、二甲苯、氯苯、苯乙烯、二乙烯苯各适量,以0.2% THF水溶液制成每1 ml分别含乙醇、丙酮、丙烯腈、正戊烷、苯、甲苯、二甲苯、氯苯、苯乙烯、二乙烯苯500、500、2、2、0.2、2、2、2、2 μg的混合溶液。精密量取5 ml,置于20 ml顶空瓶中,密封。

2.2.2 供试品溶液 精密称取样品0.5 g,置于20 ml顶空瓶中,精密加入0.2% THF水溶液5 ml使溶解,密封。

2.2.3 空白溶液 取0.2% THF水溶液5 ml作为空白溶液。

2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液、空白溶液各适量,记录色谱,详见图1。结果表明,空白溶液中仅有THF色谱峰和1个进样扰动峰;对照品溶液图谱中,各待测组分均完全分离,最难分离组分(乙醇和苯)的分离度为1.7,理论板数均大于5000;第8组分为二甲苯,为4个色谱峰;第11组分为二乙烯苯,为6个色谱峰。

2.4 线性关系考察

精密量取正戊烷、丙酮、乙醇、苯、丙烯腈、甲苯、二甲苯、氯苯、苯乙烯、二乙烯苯各适量,加0.2% THF水溶液逐级稀释,制成系列线性对照品溶液。分别精密量取5 ml置于20 ml

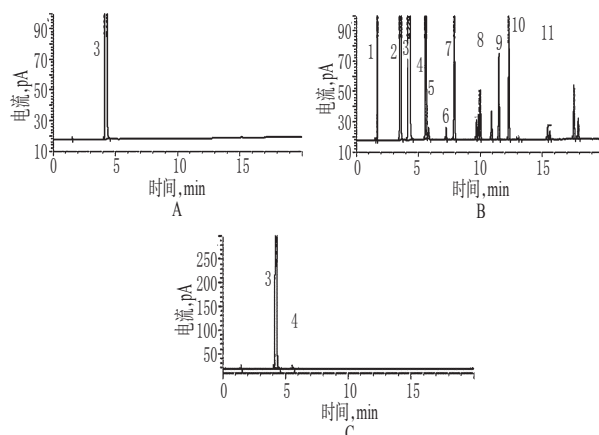


图1 顶空气相色谱图

A.空白溶液;B:对照品溶液;C.供试品溶液;1.正戊烷;2.丙酮;3.THF;4.乙醇;5.苯;6.丙烯腈;7.甲苯;8.二甲苯;9.氯苯;10.苯乙烯;11.二苯乙烯

Fig 1 HS-GC chromatograms

A.blank solution;B.reference solution;C.test sample solution;1.pentane;2.acetone;3.THF;4.ethanol;5.benzene;6.acrylonitrile;7.toluene;8.xylene;9.chlorobenzene;10.styrene;11.divinylbenzene

顶空瓶中,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱,以各成分质量浓度(x, μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归。回归方程及线性范围详见表1。

表1 回归方程及线性范围

Tab 1 Regressive equations and linear ranges

成分	回归方程	线性范围, μg/ml	r
正戊烷	$y=178.97x+9.8501$	0.125~4	0.9957
丙酮	$y=6.4103x-11.463$	31.25~1000	0.9999
乙醇	$y=2.1786x-17.736$	31.25~1000	0.9998
苯	$y=189.50x-1.6183$	0.0125~0.4	0.9993
丙烯腈	$y=14.009x-1.0266$	0.125~4	0.9990
甲苯	$y=14.010x-1.0267$	0.125~4	0.9991
二甲苯	$y=169.32x+4.0670$	0.125~4	0.9992
氯苯	$y=130.29x-3.6391$	0.125~4	0.9994
苯乙烯	$y=173.91x-8.9200$	0.125~4	0.9997
二乙烯苯	$y=155.74x-8.0377$	0.125~4	0.9995

2.5 检测限

以信噪比为3:1计算,乙醇、丙酮最低检测限为1 μg/ml,苯、正戊烷、甲苯、氯苯、苯乙烯、二甲苯、二乙烯苯最低检测限均为0.01 μg/ml,丙烯腈最低检测限为0.1 μg/ml。

2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液8份,按“2.1”项下色谱条件进样。结果,正戊烷、丙酮、乙醇、苯、丙烯腈、甲苯、二甲苯、氯苯、苯乙烯、二乙烯苯峰面积的RSD分别为6.6%、0.4%、0.4%、2.9%、3.7%、1.9%、3.1%、4.6%、4.3%、3.7%,表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验

取样品(批号:130901)适量,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下气相色谱条件进样。结果,供试品溶液中仅有极微量乙醇残留,其他成分均未检出;乙醇峰面积的RSD为4.5%(n=6),表明本方法重复性良好。

2.8 回收率试验

分别取10种有机成分配制含各成分分别为高、中、低3种浓度的回收率对照溶液1、2、3。取供试品0.5 g,置于20 ml顶空瓶中,分别加入回收率对照溶液1、2、3各5 ml,按“2.1”项下气相色谱条件进样并计算。结果,正戊烷、丙酮、乙醇、苯、丙烯腈、甲苯、二甲苯、氯苯、苯乙烯、二乙烯苯平均回收率分别为100.2%、101.0%、98.9%、105.1%、94.1%、106.6%、94.3%、101.3%、95.7%、97.4%,RSD分别为4.5%、1.5%、0.5%、2.5%、0.7%、1.4%、1.2%、2.1%、2.2%、4.1%($n=9$)。

2.9 样品中有机溶剂残留量的测定

取3批样品(批号:130901、130902、130903)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下气相色谱条件进样测定。结果,3批样品中乙醇残留均小于0.01%,其他溶剂均未检出。

2.10 基质校正试验

取样品(批号:130901)0.5 g,精密称定,置于20 ml顶空瓶中,加入对照品溶液5 ml,压盖,重复配制4份,按“2.1”项下气相色谱条件进样,记录色谱图。基质校正因子(f)=某成分峰面积/对照品溶液中对成分峰面积(除去供试品溶液中残留乙醇的峰面积)。结果,正戊烷、丙酮、乙醇、苯、丙烯腈、甲苯、二甲苯、氯苯、苯乙烯、二乙烯苯的 f 分别为1.13、0.93、0.97、0.75、0.98、0.79、0.77、0.66、0.64、0.56,数值相差较大。故供试品溶液中如有苯、甲苯、二甲苯、氯苯、苯乙烯、二乙烯苯溶剂残留检出,应以 f 计算含量,以提高准确度。

3 讨论

3.1 溶解介质选择

盐酸去甲万古霉素在水和二甲基亚砜中均易溶,以水为溶解介质时,苯、甲苯等的活度增加^[9]。同时为了使苯、苯乙烯等可均匀分散到水中,以THF为助溶剂,当THF浓度过低时,苯、苯乙烯等不能分散均匀;THF浓度过高时,THF色谱峰响应值过大,影响丙酮、乙醇的分离。故选择0.2% THF水溶液为溶解介质。

3.2 顶空平衡温度和平衡时间选择

平衡温度为85℃时,既保证无分解峰,又可以获得高灵敏度。平衡温度保持85℃不变时,10个成分中,丙酮气液平衡最慢,其峰面积在40 min后才能达到稳定;如平衡时间过长,

正戊烷、苯等会因漏气而损失,影响精密度。故选择平衡温度85℃,平衡时间40 min。

3.3 色谱柱选择

分别对PEG-20M、FFAP、DB-624、HP-5四种固定液色谱柱进行比较。结果发现,DB-624、HP-5柱仅能分离二甲苯为3个色谱峰,且苯乙烯与乙苯不能有效分离;PEG-20M、FFAP柱可以将二甲苯中的对、间、邻二甲苯和乙苯4种组分依次完全分离,比文献方法^[3-4]更具优势,且FFAP色谱柱可依次测出对、间、邻二乙烯苯3组两重色谱峰,每组两重峰为相应的顺、反异构体,可完全分离。由于FFAP柱属于键合固定液柱,对水蒸气更具稳定性^[9],故选择FFAP色谱柱。

综上所述,该方法快速、灵敏、准确,可用于盐酸去甲万古霉素原料药中有机溶剂残留量的测定。

参考文献

- [1] 陈方圆,马笑雪,蔡景钰,等.多重耐药性金黄色葡萄球菌(MRSA)的临床药物治疗及耐药机制研究[J].微生物学杂志,2010,30(1):71.
- [2] 王健,林毅,王海燕,等.大孔吸附树脂提取分离去甲基万古霉素的工艺研究[J].化学与生物工程,2010,27(5):76.
- [3] 杨婷婷,金松子,李萍萍,等.顶空气相色谱法测定YP215中大孔树脂残留溶剂[J].现代仪器,2012,18(5):18.
- [4] 黄牧童,戚可人,曹建英,等.H₁₀₃型大孔树脂苯系列残留物的分析研究[J].中国当代医药,2012,19(29):68.
- [5] 韩学静,宋更申,房桂珍.顶空气相色谱法测定恩曲他滨中多种有机溶剂残留量[J].中国药事,2006,20(6):353.
- [6] 江月华,李俊,王英璞.顶空气相色谱法测定盐酸溴己新原料药中4种有机溶剂的残留量[J].中国药房,2014,25(25):2364.
- [7] 冯光玲,丁文娟,冯爱国,等.毛细管气相色谱法测定依诺昔酮原料药中6种有机溶剂残留量[J].中国药房,2014,25(13):1210.
- [8] 中国国家标准化管理委员会.GB/T24396 食品工业用吸附树脂产品测定方法[S].2009.

(收稿日期:2014-08-13 修回日期:2015-05-24)

(编辑:陈宏)

2015年发展中国家药品监管领域部级研讨班在北京举办

本刊讯 2015年6月24日,由国家食品药品监督管理总局承办的“2015年发展中国家药品监管领域部级研讨班”在北京举办。来自亚美尼亚、喀麦隆、捷克、尼日利亚、巴勒斯坦、斯里兰卡、坦桑尼亚等国药品监督管理机构部级及相关官员参加了研讨班。国家食品药品监督管理总局副局长吴浣出席开班仪式并致辞。

吴浣副局长在致辞时表示,长期以来,中国同广大发展中国家相互理解、相互支持,平等相待、密切合作,在维护国家主权和民族尊严、发展经济和改善民生、维护世界和平和捍卫发

展中国家权益等各个领域携手合作,结下了深厚的友谊。

吴浣副局长建议,发展中国家应在秉承“合作共赢、平衡发展、共同安全”的监管国际合作理念,进一步加强合作、互相借鉴、取长补短、共同进步,在为提升全人类的生命健康的国际监管中,发挥重要的影响和积极的作用。

来自中国食品药品监管部门的有关负责人将与学员就药品监管、注册、标准与检验体系等方面的发展情况进行研讨交流。此外,学员还将访问北京、上海等地药品监管机构,对药品生产流通企业进行实地考察和交流。