

# 毛细管气相色谱法测定甲磺酸伊马替尼原料药中有机溶剂残留量

于生\*,单鸣秋,邵霞,郭戎,丁安伟(南京中医药大学,南京 210046)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)09-0838-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.09.25

**摘要** 目的:建立测定甲磺酸伊马替尼原料药中5种有机溶剂残留量的分析方法。方法:采用毛细管气相色谱法。色谱柱为HP-INNOWAX毛细管柱,溶剂为二甲基亚砜,内标为三氯甲烷,氢离子火焰检测器(FID)温度为180℃;程序升温,载气为氮气,燃气为氢气,进样量为1μl。测定了3批甲磺酸伊马替尼原料药中有机溶剂丙酮、甲醇、异丙醇、甲苯与吡啶的残留量。结果:5种有机溶剂在建立的色谱条件下均能完全分离,在所考察的质量浓度范围内线性关系良好( $r$ 为0.9997~0.9999),平均回收率为97.71%~102.13%,RSD均小于5%,丙酮、甲醇、异丙醇、甲苯与吡啶的定量限分别为15、20、24、16、15 ng,检测限分别为5、5、8、4、3 ng。结论:本试验建立的方法简便、灵敏,结果准确、可靠。

**关键词** 甲磺酸伊马替尼;毛细管气相色谱法;有机溶剂;残留量

## Content Determination of Residual Organic Solvents in Imatinib Mesylate by Capillary GC

YU Sheng, SHAN Ming-qiu, SHAO Xia, GUO Rong, DING An-wei (Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of 5 kinds of organic residual solvents in imatinib mesylate. METHODS: Capillary GC method was adopted. The determination was performed on HP-INNOWAX capillary column using DMSO as solvent and trichloromethane as internal standard. The temperature of FID was 180 °C by temperature programming with nitrogen as carrier gas and hydrogen as fuel gas. The injection volume was 1 μl. The residual organic solvents of 3 batches of samples including organic acetone, methanol, isopropanol, toluene and pyridine. RESULTS: Five residual organic solvents were completely separated. A good linearity was obtained in the concentration ranges of them ( $r=0.9997-0.9999$ ). Average recovery rates were 97.71%-102.13% (RSD<5%). The limit of quantification for 5 organic solvents were 15, 20, 24, 16 and 15 ng, and the detection limits were 5, 5, 8, 4 and 3 ng, respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, sensitive, accurate and reliable.

**KEY WORDS** Imatinib mesylate; Capillary GC; Organic solvents; Residual quantity

甲磺酸伊马替尼(Imatinib mesylate)是一种高效特异的酪氨酸激酶抑制剂,分子式为 $C_{29}H_{31}N_7O \cdot CH_4O_3S$ 。临床上用于治疗慢性粒细胞白血病(CML)急变期、加速期或 $\alpha$ -干扰素治疗失败后的慢性期患者,不能手术切除或发生转移的恶性胃肠道间质肿瘤(GIST)患者<sup>[1]</sup>。

甲磺酸伊马替尼在合成过程中使用了丙酮、甲醇、异丙醇、甲苯与吡啶等有机溶剂。本研究按照2010年版《中国药典》二部附录VIII P<sup>[2]</sup>的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>[3]</sup>,采用毛细管气相色谱法对样品中的残留溶剂进行了检查并进行了方法学研究。结果表明,建立的方法简便、灵敏,结果准确、可靠<sup>[4-5]</sup>。

## 1 材料

GC-4890D型气相色谱仪、氢离子火焰检测器(FID)、Cerity色谱工作站(美国Agilent公司)。

甲磺酸伊马替尼原料药(自制,批号:201001、201002、201003,纯度:均大于99.0%);丙酮、异丙醇、三氯甲烷、甲苯、吡啶与二甲基亚砜(DMSO)均为分析纯,甲醇为色谱纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

\* 实验师。研究方向:新药及质量标准。电话:025-85811839。

E-mail: yusheng1219@sina.com

色谱柱:HP-INNOWAX毛细管柱(30 m×0.53 mm, 2.65 μm);进样口温度:150℃;FID温度:180℃;色谱柱升温程序:40℃,保持7 min,30℃/min升温至60℃,保持12 min,再30℃/min升温至180℃,保持5 min;载气:氮气,压力:5 Psi;燃气:氢气,压力:300 kPa;助燃气:空气,压力:390 kPa;进样量:1 μl。

在上述色谱条件下,取“2.2~2.3”项下对照品溶液和供试品溶液进样分析,结果各溶剂之间分离良好,色谱见图1。

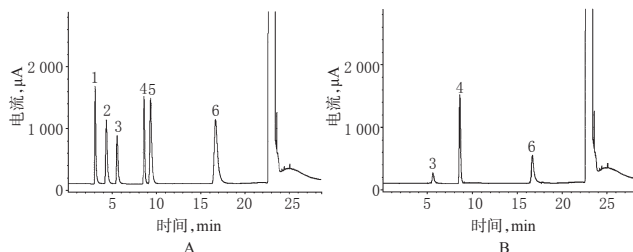


图1 气相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; 1. 丙酮; 2. 甲醇; 3. 异丙醇; 4. 三氯甲烷; 5. 甲苯; 6. 吡啶

Fig 1 GC chromatogram

A. substance control; B. test samples; 1. acetone; 2. methanol; 3. isopropanol; 4. trichloromethane; 5. toluene; 6. pyridine

### 2.2 溶液的制备

内标溶液:取三氯甲烷适量,加DMSO溶解并制成每1 ml约含60 mg的内标溶液。

对照品贮备液:分别精密称取丙酮508.6 mg、甲醇298.5 mg、异丙醇512.9 mg、甲苯89.2 mg、吡啶40.9 mg,置于同一50 ml量瓶中,加DMSO溶解并稀释至刻度,摇匀,即得对照品贮备液。

供试品溶液:精密称取甲磺酸伊马替尼原料药1 g,置于10 ml量瓶中,精密加入内标溶液1 ml,再加DMSO溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

### 2.3 线性关系考察

精密量取对照品贮备液0.1、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0 ml,各置于100 ml量瓶中,分别精密加入内标溶液10 ml,再加DMSO稀释至刻度,摇匀,即得系列浓度对照品溶液。分别精密量取1  $\mu$ l,进样测定,记录色谱图。以各待测溶剂与内标峰面积比值(y)对各待测溶剂质量浓度(x,  $\mu$ g/ml)进行线性回归,结果见表1。

表1 各溶剂线性关系

Tab 1 Linear relation of organic solvents

溶剂	回归方程	r	线性范围, $\mu$ g/ml
丙酮	$y=0.001\ 905x-0.009\ 748$	0.999 8	10.17~1 017.20
甲醇	$y=0.001\ 487x-0.004\ 965$	0.999 8	5.97~597.00
异丙醇	$y=0.001\ 888x-0.010\ 81$	0.999 9	10.26~1 025.80
甲苯	$y=0.005\ 083x-0.002\ 746$	0.999 9	1.78~178.30
吡啶	$y=0.015\ 45x-0.010\ 90$	0.999 7	0.82~81.70

### 2.4 定量限与检测限试验

将各对照品贮备液逐步稀释,分别以信噪比约为10和2~3为定量限和检测限,测得丙酮、甲醇、异丙醇、甲苯与吡啶的定量限分别为15、20、24、16、15 ng,检测限分别为5、5、8、4、3 ng。

### 2.5 精密度试验

精密量取对照品贮备液5.0 ml,置于100 ml量瓶中,精密加入内标溶液10 ml,再加DMSO稀释至刻度,摇匀。分别精密量取1  $\mu$ l,连续进样测定,记录色谱图。计算得丙酮、甲醇、异丙醇、甲苯、吡啶与内标峰面积比值的RSD分别为2.16%、2.20%、2.16%、2.17%、2.14%(n=6)。

### 2.6 稳定性试验

分别精密量取“2.5”项下溶液1  $\mu$ l,于0、1、2、4、6、8 h进样测定,记录色谱图。计算得丙酮、甲醇、异丙醇、甲苯、吡啶与内标峰面积比值的RSD分别为2.13%、3.09%、1.11%、2.97%、2.91%。

### 2.7 重复性试验

取甲磺酸伊马替尼原料药(批号:201001)6份,按照“2.2”项下方法,制备成供试品溶液,进样测定,记录色谱图,以峰面积比值按内标法计算各有机溶剂残留量。结果,丙酮、甲醇和甲苯在该批样品中未检出,异丙醇平均含量为0.123 7%(RSD=1.16%),吡啶平均含量为0.007 3%(RSD=1.45%)。

### 2.8 回收率试验

精密称取已知各溶剂含量的甲磺酸伊马替尼原料药(批号:201001)9份,每份1 g,置于10 ml量瓶中,第1~3份分别加入对照品贮备液0.4 ml,第4~6份分别加入对照品贮备液0.5 ml,第7~9份分别加入对照品贮备液0.6 ml,再分别精密加入内标溶液1 ml,加DMSO溶解并稀释至刻度,摇匀。分别精密量取1  $\mu$ l,进样测定,记录色谱图。以峰面积比值按内标法计

算得丙酮、甲醇、异丙醇、甲苯与吡啶的回收率。结果平均回收率为97.71%~102.13%,详见表2。

表2 回收率试验结果(n=9)

Tab 2 Results of recovery test(n=9)

溶剂	样品中含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
丙酮	0	4.068 8	4.098 2	100.72	98.46	1.39
	0	4.068 8	3.998 0	98.26		
	0	4.068 8	3.926 7	96.51		
	0	5.086 0	5.002 2	98.35		
	0	5.086 0	5.090 4	100.09		
	0	5.086 0	4.999 5	98.30		
	0	6.103 2	6.005 2	98.39		
	0	6.103 2	5.901 9	96.70		
	0	6.103 2	6.031 4	98.82		
	0	2.388 0	2.439 2	102.14		
	0	2.388 0	2.444 7	102.37		
	0	2.388 0	2.395 5	100.31		
	0	2.985 0	3.016 2	101.05		
	0	2.985 0	3.038 9	101.81		
	0	2.985 0	3.070 7	102.87		
甲醇	0	3.582 0	3.703 3	103.39	102.13	0.94
	0	3.582 0	3.683 0	102.82		
	0	3.582 0	3.669 8	102.45		
	1.255 9	4.103 2	5.407 2	101.17		
	1.278 6	4.103 2	5.446 3	101.57		
	1.244 6	4.103 2	5.520 9	104.22		
	1.275 5	5.129 0	6.484 4	101.56		
	1.279 7	5.129 0	6.526 7	102.30		
	1.277 1	5.129 0	6.513 8	102.10		
	1.267 6	6.154 8	7.540 0	101.91		
	1.269 4	6.154 8	7.416 6	99.88		
	1.287 8	6.154 8	7.371 9	98.85		
	0	0.713 6	0.722 7	101.28		
	0	0.713 6	0.736 6	103.22		
	0	0.713 6	0.740 2	103.73		
异丙醇	0	0.892 0	0.915 2	102.60	101.51	1.49
	0	0.892 0	0.919 1	103.04		
	0	0.892 0	0.883 3	99.02		
	0	1.070 4	1.099 1	102.68		
	0	1.070 4	1.048 8	97.98		
	0	1.070 4	1.081 4	101.03		
	0.071 7	0.327 2	0.388 2	96.74		
	0.073 0	0.327 2	0.397 8	99.27		
	0.071 0	0.327 2	0.385 4	96.08		
	0.072 8	0.409 0	0.463 5	95.53		
	0.073 0	0.409 0	0.469 2	96.86		
	0.072 9	0.409 0	0.477 3	98.88		
	0.072 4	0.490 8	0.560 1	99.38		
	0.072 5	0.490 8	0.558 7	99.07		
	0.073 5	0.490 8	0.552 5	97.60		
甲苯	0	0.713 6	0.722 7	101.28	101.62	1.95
	0	0.713 6	0.736 6	103.22		
	0	0.713 6	0.740 2	103.73		
	0	0.892 0	0.915 2	102.60		
	0	0.892 0	0.919 1	103.04		
	0	0.892 0	0.883 3	99.02		
	0	1.070 4	1.099 1	102.68		
	0	1.070 4	1.048 8	97.98		
	0	1.070 4	1.081 4	101.03		
	0.071 7	0.327 2	0.388 2	96.74		
	0.073 0	0.327 2	0.397 8	99.27		
	0.071 0	0.327 2	0.385 4	96.08		
	0.072 8	0.409 0	0.463 5	95.53		
	0.073 0	0.409 0	0.469 2	96.86		
	0.072 9	0.409 0	0.477 3	98.88		
吡啶	0.072 4	0.490 8	0.560 1	99.38	97.71	1.52
	0.072 5	0.490 8	0.558 7	99.07		
	0.073 5	0.490 8	0.552 5	97.60		

### 2.9 样品中有机溶剂残留量测定

按照“2.2”项下方法,取3批原料药样品制备成3批供试品溶液,进样测定,记录色谱图,以峰面积比值按内标法计算各有机溶剂残留量。结果,3批原料药中均未检出丙酮、甲醇和甲苯,异丙醇和吡啶残留量均低于《中国药典》和ICH的有关限度规定,详见表3(表中“-”表示未检出)。

## 3 讨论

# RP-HPLC法测定注射用磷酸肌酸钠有关物质的含量

郭兴辉<sup>1\*</sup>, 王倩雯<sup>2</sup>(1.河南省食品药品检验所, 郑州 450000; 2.中山大学药学院, 广州 516000)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)09-0840-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.09.26

**摘要** 目的:建立测定注射用磷酸肌酸钠中有关物质(包括已知杂质肌酸、肌酸酐、磷酸肌酸酐和其他未知杂质)含量的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为 Waters C<sub>18</sub>, 流动相为 0.005 mol/L 四丁基磷酸氢铵溶液, 二极管阵列检测器, 检测波长为 210 nm。结果:磷酸肌酸钠峰与相邻杂质峰能完全分离, 磷酸肌酸钠中肌酸、肌酸酐、磷酸肌酸酐检测质量浓度线性范围分别为 10~125( $r=0.9999$ )、10~125( $r=0.9999$ )、20~250( $r=0.9999$ )  $\mu\text{g/ml}$ , 平均回收率分别为 100.9%、99.2%、99.8%, RSD 分别为 1.3%、1.2%、0.8%, 肌酸、肌酸酐、磷酸肌酸酐、磷酸肌酸钠定量限分别为 1.0、0.5、1.5、1.0 ng。结论:该方法灵敏度高、专属性强, 可用于注射用磷酸肌酸钠中有关物质的质量控制。

**关键词** 注射用磷酸肌酸钠; 反相高效液相色谱法; 有关物质; 检查

## Content Determination of Related Substances in Creatine Phosphate Sodium for Injection by RP-HPLC

GUO Xing-hui<sup>1</sup>, WANG Qian-wen<sup>2</sup>(1.Henan Institute of Food and Drug Control, Zhengzhou 450000, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 516000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of related substances in Creatine phosphate sodium for injection, including known impurity creatine, creatinine, creatinine phosphate and other unknown impurities. METHODS: RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on Waters C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of 0.005 mol/L tetrabutyl ammonium hydrogen phosphate. The PDA detection wavelength was set at 210 nm. RESULTS: The creatine phosphate sodium was well separated from other impurities. The linear ranges of creatine, creatinine and creatinine phosphate were 10-125  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.9999$ ), 10-125  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.9999$ ) and 20-250  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.9999$ ). The average recoveries were 100.9% (RSD=1.3%), 99.2% (RSD=1.2%) and 99.8% (RSD=0.8%), respectively. The limits of quantification were 1.0, 0.5, 1.5 and 1.0 ng. CONCLUSIONS: The method is proved to be sensitive, specific and suitable for the quality control of related substances in Creatine phosphate sodium for injection.

**KEY WORDS** Creatine phosphate sodium for injection; RP-HPLC; Related substance; Determination

表3 样品测定结果(%,  $n=3$ )

Tab 3 Results of content determination of samples(%,  $n=3$ )

溶剂	批号			规定限量
	201001	201002	201003	
丙酮	-	-	-	0.5
甲醇	-	-	-	0.3
异丙醇	0.124 4	0.109 0	0.121 8	0.5
甲苯	-	-	-	0.089
吡啶	0.007 1	0.007 8	0.006 4	0.02

残留溶剂多为挥发性溶剂, 在原料药中含量较低, 而且由于气相色谱法进样量小, 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, 选择三氯甲烷为本试验的内标物, 其与各待测溶剂均能达到良好分离。

甲磺酸伊马替尼易溶于水, 但是水直接进样对毛细管柱损害较大, 因此考虑选用有机溶剂。本试验中 5 种待测溶剂的沸点差异较大, 最低的丙酮为 56  $^{\circ}\text{C}$ , 最高的吡啶为 115.3  $^{\circ}\text{C}$ , 而且极性差异也较大。考虑到原料药的溶解性和溶剂之间的

分离度, 选择沸点更高的 DMSO(153  $^{\circ}\text{C}$ ) 为溶剂。

本研究建立的气相色谱法可同时测定 5 种有机溶剂残留量, 且方法操作简便、重复性好, 各方法学考察试验中的 RSD 均小于 5%, 结果准确可靠。

### 参考文献

- [1] 王晨. 甲磺酸伊马替尼抗肿瘤作用的研究[J]. 天津药学, 2005, 17(4): 63.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 李春燕, 屠婕红, 傅应华. 毛细管气相色谱法同时检测丙酸氯倍他索原料药中 4 种有机溶剂残留量[J]. 中国药房, 2011, 22(29): 2 756.
- [5] 吴春丽, 雷伟, 李幸, 等. GC 法检测氟康唑原料药中的有机溶剂残留量[J]. 中国药房, 2011, 22(25): 2 390.

(收稿日期: 2012-04-10 修回日期: 2012-04-23)

\* 主管药师, 硕士。研究方向: 药物分析。电话: 0371-63388290。  
E-mail: Tinaguoxh@126.com