

# 顶空毛细管气相色谱法检测加替沙星中有机溶剂残留量

蔡林<sup>1</sup>, 晏菊姣<sup>2</sup>, 李恒<sup>2</sup> (1. 中国人民解放军第181医院, 广西 桂林 541002; 2. 武汉市药品检验所, 湖北 武汉 430012)

**摘要** 目的: 建立加替沙星原料药中乙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯 5种有机溶剂残留量的测定方法。方法: 采用顶空毛细管气相色谱法, 程序升温, 色谱柱为 DM-624毛细管色谱柱, 载气为高纯氮, FID 检测器, 90% N, N-二甲基甲酰胺水溶液为溶解介质, 检测了加替沙星原料药中的乙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯的残留量。结果: 5种溶剂残留均达到良好分离, 在所考察的浓度范围内具有良好线性,  $r = 0.9997 \sim 0.9999$ , 乙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯的检测限均小于  $3 \mu\text{g/g}$ , 精密度  $RSD$  均小于 5%, 平均回收率为 94.8% ~ 98.6%。结论: 本试验建立的方法简单、快捷且灵敏度高, 可以用于加替沙星中乙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯 5种有机溶剂残留量的测定。

**关键词** 原花青素; PC12细胞; 细胞凋亡

中图分类号: R927 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2009)05-0365-03

## Determination of residual solvents in gatifloxacin by headspace capillary gas chromatography

CAI Lin<sup>1</sup>, YAN Ju-jiao<sup>2</sup>, LI Heng<sup>2</sup> (1. 181th Hospital of Chinese People's Liberation Army, Guilin 541002, China; 2. Wuhan Institute for Drug Control, Wuhan 430012, China)

**ABSTRACT** **Objective** To establish a method for determination of five residual solvents in gatifloxacin. **Methods** The residual organic solvents which are ethanol, acetonitrile, dichloromethane, ethyl acetate, toluene were quantitatively determined by headspace GC on DM-624 column, 90% DMF as solvent media with FID detector, high purity nitrogen as the carrier gas. **Results** Five residual solvents were completely separated. There was a good linearity ( $r = 0.9997 \sim 0.9999$ ). The detection limit of ethanol, acetonitrile, dichloromethane, ethyl acetate, toluene were all less than  $3 \mu\text{g/g}$ , the  $RSD$  of precision was less than 5%; the average recovery rate of the preparation was in the range of 94.8% ~ 98.6%. **Conclusion** The method is simple, rapid, sensitive and can be used for the quality control of gatifloxacin.

**KEY WORDS** gatifloxacin, residual solvents, headspace capillary gas chromatography

加替沙星 (gatifloxacin) 为 8-甲氧基氟喹诺酮类外消旋体化合物, 体外具有广谱的抗革兰阴性和阳性微生物的活性, 主要用于治疗敏感病原体所致的各种感染性疾病。由于该药在合成过程中需使用乙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯 5种有机溶剂, 故应对原料药中有机溶剂残留量进行检测。本试验根据 ICH 对有机溶剂残留量测定的指导原则<sup>[1]</sup>和中国药典 2005 年版二部附录 VIII P“残留溶剂测定法”<sup>[2]</sup>, 采用顶空进样毛细管气相色谱法<sup>[3]</sup>, 测定了加替沙星原料药中乙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯的 5种残留有机溶剂的含量, 结果表明方法简便灵敏, 结果准确可靠。

### 1 仪器及试剂

岛津 GC-17A 气相色谱仪, CBM-102 色谱处理

机, GC-10A 色谱工作站, DANIHSS 86-50 型自动顶空进样仪, 10 mL 顶空进样瓶 (迪马公司)。

乙醇、乙腈为色谱纯试剂, 二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯、N, N-二甲基甲酰胺均为分析纯试剂, 水为重蒸水。

加替沙星 3批样品由潜江制药股份有限公司提供 (批号: 20060501, 20061101, 20070403)。

### 2 色谱条件

DM-624 (6% 腈丙苯基-94% 二甲基聚硅氧烷), 毛细管气相色谱柱 (30 m × 0.53 mm), 涂布厚度 3  $\mu\text{m}$ ; 进样口温度 200°C, FID 检测器, 检测器温度 250°C, 程序升温: 65°C 保持 6 min, 以 20°C/min 升至 220°C, 保持 5 min, 载气为氮气 (纯度 99.999%), 流量 2.0 mL/min, 柱前压为 29 kPa, 分流比 1:5, 氮气流速 40 mL/min, 空气流速 500 mL/min, 顶空条

件:顶空平衡温度 80℃,平衡时间 30 min,进样针温度 100℃,传输管温度 100℃,进样体积 1 mL。理论塔板数以乙醇峰计不低于 20 000。

### 3 试验与结果

#### 3.1 溶液的制备

**3.1.1 储备液制备:**取乙醇约 0.4 g,乙腈约 0.035 g,二氯甲烷约 0.05 g,乙酸乙酯约 0.4 g,甲苯约 0.075 g,精密称定,分别置于 25 mL 量瓶中,加 90% N,N-二甲基甲酰胺水溶液稀释至刻度,摇匀。

**3.1.2 混合母液的制备** 从上述 5 种储备液中各分别精密量取 10 mL,置 100 mL 量瓶中,加 90% N,N-二甲基甲酰胺水溶液稀释至刻度,摇匀,作为混合母液。

**3.1.3 标准品溶液的制备:**精密量取上述混合母液 5 mL,置 25 mL 量瓶中,加 90% N,N-二甲基甲酰胺水溶

液稀释至刻度,摇匀,即得每 1 mL 含乙醇 320 μg,乙腈 28 μg,二氯甲烷 40 μg,乙酸乙酯 320 μg,甲苯 60 μg 的溶液。

**3.1.4 供试品溶液** 取加替沙星 0.2 g,精密称定,置顶空进样瓶中,精密加入 90% N,N-二甲基甲酰胺水溶液 3 mL,密封,溶解,即得。

**3.2 系统适用性试验** 精密加入 90% N,N-二甲基甲酰胺水溶液 3 mL,置顶空进样瓶中,密封,作为空白溶剂对照;另精密加入标准品溶液 3 mL,置顶空进样瓶中,密封,作为对照。分别将上述溶液置于自动顶空气相仪中,气体 1 mL 自动进样,记录色谱图(见图 1)。结果空白溶剂未见乙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯峰干扰。对毛细管柱柱内流速、初始温度进行了 ±5% 改变,发现各组峰分离度均良好。

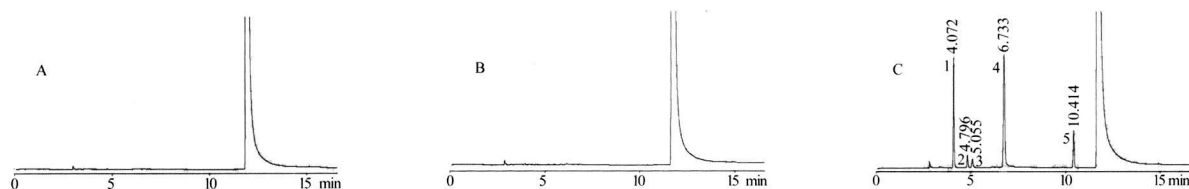


图 1 5 种有机溶剂系统适用性试验 GC 图

A-空白溶剂; B-供试品溶液; C-对照品溶液

1-乙醇、2-乙腈、3-二氯甲烷、4-乙酸乙酯、5-甲苯

#### 3.3 多点标准加入法

**3.3.1 溶液的制备** 分别精密量取混合母液 0.5, 1, 2, 5, 8 mL,置 25 mL 量瓶中,加 90% N,N-二甲基甲酰胺水溶液稀释至刻度,摇匀,备用,作为混合对照品溶液。分别精密称取 0.2 g 样品(批号 20061101)(准确至 1 mg) 10 份,置顶空进样瓶中,分为 5 组,每组分别精密加入上述混合对照品溶液各 3 mL,密封,溶解,作为标准加入供试品溶液。

**3.3.2 测定方法** 取上述各组标准加入供试品溶液,置于自动顶空气相仪中,气体 1 mL 自动进样,记录色谱图,测定峰面积。

**3.3.3 计算** 以各浓度峰面积均值为纵坐标,对照品加入浓度为横坐标,计算线性方程,结果见表 1。

表 1 5 种有机溶剂线性关系检查结果表

溶剂	线性范围 (μg/mL)	线性方程	R (n=5)
乙醇	33.47~535.51	A = 191C + 1179	0.9997
乙腈	3.36~53.84	A = 252C - 7	0.9999
二氯甲烷	3.85~61.58	A = 207C + 100	0.999
乙酸乙酯	32.22~515.56	A = 348C + 1182	0.999
甲苯	5.75~91.94	A = 511C + 155	0.9998

$$\text{供试品残留溶剂浓度 } (\mu\text{g/mL}) = \frac{\text{y轴截距}}{\text{x轴截距}} \times \text{斜率}$$

$$\text{样品中残留量 (ppm)} = \frac{\text{供试品残留溶剂浓度}}{\text{mL(样品量)}}$$

结果表明上述 5 种溶剂在的上述相应的浓度范围内呈良好的线性关系,故可采用外标一点法测定。

**3.4 精密度考察** 精密称取 0.2 g 样品(批号 20061101),准确至 1 mg 六份,置顶空进样瓶中,分别精密加入标准品溶液各 3 mL,密封,溶解,按“3.3.2”方法测定,结果乙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯的 RSD 分别为 3.3%、3.6%、2.5%、2.2%、3.0%。

**3.5 重复性考察** 精密称取 0.2 g 样品(批号 20061101) 6 份,置顶空进样瓶中,分别精密加入 90% N,N-二甲基甲酰胺水溶液 3 mL,密封,溶解,作为供试品溶液。另精密量取标准品溶液 3 mL,置顶空进样瓶中,密封,作为对照品溶液。按外标一点法测定,结果样品中均未检出乙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯。

数,更能体现医务人员对病人的人性化服务,提升医院形象;③能有效减少医患纠纷,减少同事矛盾;④该设计单的成本低廉,成本价仅为 2~3 分钱。经我院 6 个月的实际应用,共有 158 例问题处方,应用该联系单后,仅一例病人去诊察室及收费

处跑动两次,其余病例均将问题处方在医生或收费处一次给予解决或处理。说明该联系单在解决问题处方在与医生和收费处之间的沟通联络问题中发挥着非常有效的作用。

收稿日期:2009-02-24

(上接第 366 页)

**3.6 回收试验** 取样品(批号 20061101)9 份,各约 0.2 g 精密称定,置顶空进样瓶中,分为 3 组,各 3 份。每组分别精密加入高、中、低 3 个浓度的混合对照品溶液各 3 mL,密封,溶解,按“3.3.2”项方法试验,按外标一点法测定,计算回收率。结果见表 2,表明回收率良好。

表 2 加替沙星样品回收试验结果表 (n=3)

残留溶剂	加入对照品溶液 ( $\mu\text{g/mL}$ )	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)	平均 RSD (%)
乙醇	267.76	94.90		1.25	
	334.70	99.28	96.86	2.16	2.43
	401.64	96.41		1.14	
乙腈	26.92	96.08		1.86	
	33.65	99.32	96.97	2.60	2.64
	40.38	95.52		2.01	
二氯甲烷	30.79	99.78		2.66	
	38.49	99.00	98.57	1.09	1.95
	46.19	96.92		0.13	
乙酸乙酯	257.78	97.04		0.47	
	322.22	99.03	96.98	0.62	1.94
	386.66	94.86		0.79	
甲苯	45.97	92.79		2.21	
	57.46	97.03	94.81	1.15	2.54
	68.95	94.60		2.15	

**3.7 定量限、检测限的测定** 照“3.1.2”项方法继续稀释,制备一定浓度的对照品溶液,进样测定,测得乙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯的定量限 (S/N=10) 依次是 1.7、1.7、1.9、1.6、1  $\mu\text{g/mL}$ , 其检测限 (S/N=2~3) 依次是 0.5、1.0、5.0、6.0、5.0、3  $\mu\text{g/mL}$ 。

**3.8 样品测定** 取本品 3 批 (20060501、20061101、20070403), 照“3.1.4”项方法制备供试品溶液,按外标一点法分别测定 5 种溶剂残留量 (n=2), 结果样品中均未检出乙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯。

## 4 讨论

**4.1 毛细管柱的选择** 试用 DM-FFAP 的毛细管柱,发现乙醇、二氯甲烷很难有效分离。最终确定用 DM-624 毛细管柱作为分析柱,各组分能够得到有效分离。

**4.2 溶解介质的选择** 试用 1% 磷酸水溶液作为溶解介质,回收试验中,乙酸乙酯回收率有 120% 以上,怀疑酸对样品产生了影响,可能发生了酯化等反应,使得乙酸乙酯回收结果偏高。后试用 DMF, 70%、80%、90% DMF 水溶液,发现水能够提高有机溶剂的响应值,且样品在 90% DMF 水溶液中能够完全溶解,最终选用 90% DMF 水溶液作为溶解介质。

**4.3 顶空条件的选择** 考察了对照品在温度 60℃、70℃、80℃、90℃ 的气液平衡曲线,发现 80℃ 达到气液平衡;对 80℃ 进行平衡时间分别为 10、20、30、40 min 的考察,发现 30 min 已达到气液平衡,最终选择温度 80℃ 平衡 30 min 作为顶空条件。

在 ICH 的有机溶剂残留量研究指导原则及中国药典 2005 年版二部中,乙醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯的安全限度分别为 0.5%、0.04%、0.06%、0.5%、0.089%, 从 3 批样品的测定结果来看,均能满足要求。实验结果表明,本实验方法采用方法的线性、精密性、重复性、稳定性、回收率均良好。因此顶空气相色谱法简便、快速、准确,能够有效控制加替沙星的有机残留物。

## 参考文献:

- [1] 周海钧. ICH 三方协调指导原则 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 88~89.
- [2] 中华药典 2005 年版(二部) [S]. 附录, 2005: 54.
- [3] 许国旺. 现代实用气相色谱法 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 25~42.

收稿日期:2009-08-16

欢迎登陆药学实践杂志网站  
www.yxsjz.cn