doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2021.12.016

气相色谱法同时测定甲磺酸伊马替尼原料药中 7 种有机溶剂残留量*

邹 江[1],沈丹丹[1],王 东[2],王建华[2],罗立骏[1△],曾令高[1]

(1. 重庆市食品药品检验检测研究院·麻醉精神药品质量监测重点实验室,重庆 401121; 2. 重庆大学生物工程学院,重庆 400044)

摘要:目的 建立同时测定甲磺酸伊马替尼中 7 种有机溶剂残留量的气相色谱法。**方法** 色谱柱为以 6% 氰丙基苯－94% 二甲基硅氧烷为固定液的 Agilent DB－624 型毛细管柱(30 m×320 mm,1.8 μm),载气为氮气,流速为 2 mL/min,进样口温度为 220 ℃,分流比为 15∶1;检测器为火焰离子化检测器,检测器温度为 250 ℃,氢气流量为 40 mL/min,空气流量为 400 mL/min,进样量为 1 μL。**结果** 甲醇、乙醇、丙酮、异丙醇、四氢呋喃、乙酸乙酯、*N*,*N*－二甲基甲酰胺质量浓度分别在 15.15～606.02 μg/mL(r=0.999 1)、25.11～1 004.78 μg/mL(r=0.999 9)、25.08～1 003.10 μg/mL(r=0.999 7)、25.04～1 001.52 μg/mL(r=0.999 6)、26.12～1 044.78 μg/mL(r=0.999 1)、3.72～148.64 μg/mL(r=0.999 9)、4.60～184.20 μg/mL(r=0.996 4)范围内与峰面积线性关系良好,精密度试验的 *RSD* 均小于 5%(n=6),平均回收率分别为 88.79%,92.61%,83.18%,110.92%,91.56%,91.45%,94.66%,*RSD* 分别为 10.04%,2.30%,8.80%,7.75%,2.54%,3.41%,7.46%(n=9)。**结论** 该方法专属性强,线性关系、精密度及回收率均良好,灵敏度高,可用于同时测定甲磺酸伊马替尼原料药中有机溶剂的残留量。

关键词:甲磺酸伊马替尼;原料药;气相色谱法;有机溶剂残留量

中图分类号:R927.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1006－4931(2021)12－0059－04

Simultaneous Determination of Seven Residual Organic Solvents in Imatinib Mesylate by Gas Chromatography

ZOU Jiang[1], *SHEN Dandan*[1], *WANG Dong*[2], *WANG Jianhua*[2], *LUO Lijun*[1], *ZENG Linggao*[1]

(*1. Chongqing Food and Drug Inspection and Testing Institute · NMPA Key Laboratory for Quality Monitoring of Narcotic Drugs and Psychotropic Substances, Chongqing, China 401121; 2. Bioengineering College of Chongqing University, Chongqing, China 400044*)

Abstract: Objective To establish a gas chromatography(GC) method for simultaneous determination of seven residual organic solvents in imatinib mesylate. **Methods** The chromatographic column was Agilent DB－624 capillary column (30 m×320 mm, 1.8 μm) with

*基金项目:国家科技重大专项－重大新药创制课题[2017ZX09101001];重庆市科研机构绩效激励引导专项资助项目[cstc2019jxjl130035]。

第一作者:邹江,男,硕士研究生,研究方向为药品质量控制与标准,(电子信箱)zoujiang@cqifdc.org.cn。

△通信作者:罗立骏,男,主管药师,研究方向为药品质量控制与标准,(电子信箱)amd19972009@sina.com。

厂家制剂中二者的组成也不尽相同。已有文献报道,不同比例的 18α 甘草酸二铵和 18β 甘草酸二铵制剂药理作用也不同[6－10],因此亟须制订可行的方法控制其含量。

参考文献

[1] WS_1－(X－460)－2003Z,卫生部颁药品标准·新药转正标准西药(第四十七册)[S].

[2] 宋红波,刘 茜,赵 辉,等. 甘草酸铵类制剂中甘草酸差向异构体的分析[J]. 药物分析杂志,2012,32(5):883－886.

[3] 颜 苗,张金娇,李焕德,等. RP－HPLC 法同时测定甘草酸制剂中 18α－、18β－甘草酸的含量[J]. 药物分析杂志,2012,32(2):301－305.

[4] 吕昭云,吕亚光,车宝泉,等. HPLC 法分离 18α－、18β－甘草酸并用于甘草酸类产品的质量控制[J]. 药物分析杂志,2010,30(12):2372－2376.

[5] 陈 威,付少伟,何 晓. 气相色谱法测定甘草酸 α 体、β 体及其苷元的人血浆蛋白结合率[J]. 海峡药学,2015,17(4):59－60.

[6] 严 俊,茹仁萍,尤琳雅. 18α、18β－甘草酸不同配比物对大鼠 CCl_4 急性肝损伤保护作用的研究[J]. 中国中医药科技,2009,16(3):184－185.

[7] 王宇光,杨明会,马增春,等. 18β－甘草酸和 18α－ 甘草酸对大鼠原代肝细胞 CYP3A 酶表达的影响[J]. 中国中药杂志,2009,34(3):307－311.

[8] 张秋峰,陈晓辉,易丽昕,等. 甘草酸差向异构体在大鼠体内的药动学研究[J]. 中南药学,2010,8(5):350－353.

[9] 丁 楠,高晓黎. 18α－甘草酸和 18β－甘草酸差向异构体的比较研究概况[J]. 中国现代应用药学,2011,28(S1):1312－1315.

[10] 杨超君. 甘草酸 18H 差向异构体对急性肝损伤小鼠血清 IL－2 和 TNF－α 的影响[J]. 中国中医药科技,2016,23(1):43－49.

(收稿日期:2020－09－04;修回日期:2021－04－10)

6% cyanopropylbenzene – 94% dimethylsiloxane as stationary liquid, the temperature – programmed was adopted, the carrier gas was nitrogen, the flow rate was 2 mL/min, the injection temperature was 220 ℃, the split ratio was 15 ∶1. The detector was the flame ionization detector, the detector temperature was 250 ℃, the flow rate of hydrogen was 40 mL/min, the flow rate of air was 400 mL/min, and the injection volume was 1 μL. **Results** The linear ranges of methanol, ethanol, acetone, isopropanol, tetrahydrofuran, ethyl acetate and dimethylformamide were 15.15 – 606.02 μg/mL (r = 0.999 1), 25.11 – 1 004.78 μg/mL (r = 0.999 9), 25.08 – 1 003.10 μg/mL (r = 0.999 7), 25.04 – 1 001.52 μg/mL (r = 0.999 6), 26.12 – 1 044.78 μg/mL (r = 0.999 1), 3.72 – 148.64 μg/mL (r = 0.999 9), 4.60 – 184.20 μg/mL (r = 0.996 4), respectively. The *RSD* of precision test was less than 5% (n = 6), the average recoveries of methanol, ethanol, acetone, isopropanol, tetrahydrofuran, ethyl acetate and dimethylformamide were 88.79%, 92.61%, 83.18%, 110.92%, 91.56%, 91.45%, 94.66% with *RSD*s of 10.04%, 2.30%, 8.80%, 7.75%, 2.54%, 3.41%, 7.46% (n = 9), respectively. **Conclusion** The method has strong specificity, good linear relationship, precision, recovery and high sensitivity, which can be used for the simultaneous determination of residual organic solvents in imatinib mesylate.

Key words: imatinib mesylate; active pharmaceutical ingredients; gas chromatography; residual solvent

甲磺酸伊马替尼是全球首个获批的小分子酪氨酸激酶抑制剂，其对 BCR – ABL 酪氨酸激酶[1-3]、血小板衍生生长因子受体[4]和 c – kit 酪氨酸激酶[5]有高度特异性，且不影响正常造血干细胞的生长。人用药品注册技术要求国际协调会议《残留溶剂的指导原则》(Q3C)指出，残留溶剂是指原料药(API)、辅料及制剂的生产过程中使用过的溶剂，通过分离、纯化等步骤不能保证完全将其除去，通常是指有机溶剂。20 世纪 90 年代，残留有机溶剂的毒性及致癌作用引起了各国研究机构和监管部门的重视，将其作为药品质量控制的一个重要内容。甲磺酸伊马替尼原料药在其合成、晶型制备等过程中使用了多种有机溶剂[6-9]，如二类溶剂甲醇、四氢呋喃、*N*, *N* – 二甲基甲酰胺(DMF)，三类溶剂乙醇、丙酮、异丙醇、乙酸乙酯，均对人体和环境具有潜在毒性，甲醇、乙醇、丙酮、异丙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、DMF 的限度分别为 0.3%, 0.5%, 0.5%, 0.5%, 0.5%, 0.072%, 0.088%[10]。本研究中参照 2020 年版《中国药典(四部)》通则 0861 残留溶剂测定法[11]，建立了毛细管气相色谱法同时测定甲磺酸伊马替尼原料药中上述 7 种有机溶剂含量，并进行了方法学研究。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

7890B 型气相色谱仪，包括 FID 检测器(美国 Agilent 公司)；XPE205 型电子分析天平(瑞士 MettlerToledo 公司)。

1.2 试药

甲磺酸伊马替尼原料药(石药集团欧意药业有限公司，批号分别为 695171257, 695180104, 695180203)；乙醇、丙酮、异丙醇、乙酸乙酯、二甲基亚砜均为分析纯，甲醇、四氢呋喃、DMF 均为色谱纯，水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱：以 6% 氰丙基苯 – 94% 二甲基硅氧烷为固定液的 Agilent DB – 624 型毛细管柱(30 m × 320 mm, 1.8 μm)；程序升温：初始温度为 45 ℃，保持 4 min，再以 15 ℃/min 的速率升至 200 ℃，保持 2 min；载气：氮气；流速：2 mL/min；进样口温度：220 ℃，分流比：15∶1；检测器：火焰离子化检测器；检测器温度：250 ℃；氢气流量：40 mL/min；空气流量：400 mL/min；进样量：1 μL。

2.2 溶液制备

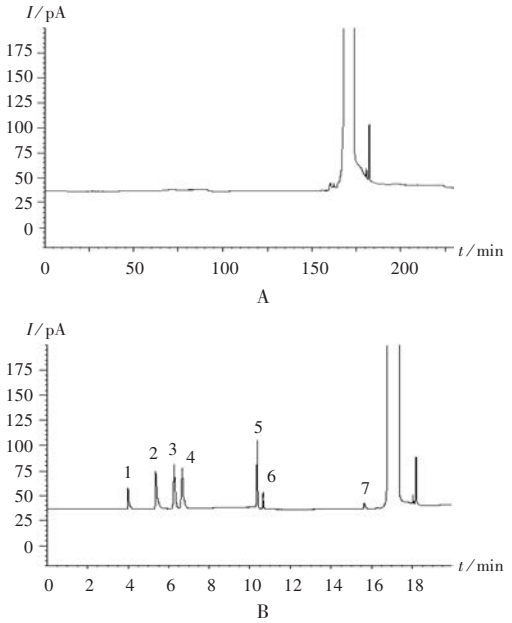
取甲醇 3.010 3 g、乙醇 5.023 9 g、丙酮 5.015 5 g、异丙醇 5.007 6 g、乙酸乙酯 5.223 9 g、四氢呋喃 0.743 2 g、DMF 0.921 0 g，精密称定，分别置 100 mL 容量瓶中，用二甲基亚砜定容，摇匀，各精密量取 5 mL，置同一 50 mL 容量瓶中，用二甲基亚砜定容，即得混合对照品贮备液，精密量取 5 mL，置 50 mL 容量瓶中，用二甲基亚砜定容，即得混合对照品溶液。取甲磺酸伊马替尼约 1 g，精密称定，置 10 mL 容量瓶中，用二甲基亚砜溶解并定容，摇匀，即得供试品溶液。取二甲基亚砜作为空白溶液。

2.3 方法学考察

系统适用性试验：取 2.2 项下空白溶液和混合对照品溶液各适量，按 2.1 项下色谱条件进样分析，色谱图见图 1。甲醇、乙醇、丙酮、异丙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、DMF 依次出峰，分离度均大于 1.5，基线分离良好；空白溶液在与上述 7 种对照品溶液相同保留时间处无干扰峰，表明专属性良好。

线性关系考察：精密量取 2.2 项下混合对照品贮备液 0.25, 1.00, 2.50, 5.00, 7.50, 10.00 mL，分别置 50 mL 容量瓶中，用二甲基亚砜定容，摇匀，制成系列溶合对照品溶液，取适量，按 2.1 项下色谱条件进样测定，以峰面积(A)为纵坐标、各成分质量浓度(C, mg/mL)为横坐标进行线性回归。结果见表 1。

检测限考察：精密量取 2.2 项下混合对照品贮备液 0.5 mL，置 100 mL 容量瓶中，用二甲基亚砜定容，摇匀，



1. 甲醇 2. 乙醇 3. 丙酮 4. 异丙醇 5. 乙酸乙酯
6. 四氢呋喃 7. DMF
A. 空白溶液 B. 混合对照品溶液

图 1 气相色谱图

1. methanol 2. ethanol 3. acetone 4. isopropanol 5. tetrahydrofuran
6. ethyl acetate 7. dimethylformamide
A. Blank solution B. Mixed reference solution

Fig. 1 GC chromatograms

表 1 7 种有机溶剂的线性范围、回归方程、检测限

Tab. 1 Linear range, regression equation and LOD of seven organic solvents

成分	线性范围(μg/mL)	回归方程	r	检测限(μg/mL)
甲醇	15.15～606.02	$A_1=351\ C_1+1.173\ 3$	0.999 1	0.01
乙醇	25.11～1 004.78	$A_2=500\ C_2-1.758\ 0$	0.999 9	0.01
丙酮	25.08～1 003.10	$A_3=487\ C_3+2.605\ 1$	0.999 7	0.009
异丙醇	25.04～1 001.52	$A_4=550\ C_4+4.075\ 5$	0.999 6	0.008
乙酸乙酯	26.12～1 044.78	$A_5=379\ C_5+5.647\ 7$	0.999 1	0.006
四氢呋喃	3.72～148.64	$A_6=585\ C_6+0.812\ 1$	0.999 9	0.004
DMF	4.60～184.20	$A_7=382\ C_7+1.984\ 8$	0.996 4	0.005

按 2.1 项下色谱条件进样测定，以信噪比（S/N）= 3 计算检测限。结果见表 1。

精密度试验：取 2.2 项下混合对照品溶液，按 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次，记录峰面积。结果甲醇、乙醇、丙酮、异丙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、DMF 峰面积的 *RSD* 分别为 1.72%，2.03%，2.20%，2.22%，2.12%，2.04%，4.91%（$n=6$），表明仪器精密度良好。

稳定性试验：取 2.2 项下混合对照品溶液适量，室温下放置 0，2，4，8，12 h 后，按 2.1 项下色谱条件进样测定，计算各成分峰面积。结果甲醇、乙醇、丙酮、异丙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、DMF 的 *RSD* 分别为 4.37%，6.95%，8.32%，14.94%，4.72%，7.22%，11.57%（$n=5$），表明对照品溶液室温下放置 8 h 内相对稳定。

加样回收试验：取甲磺酸伊马替尼约 0.5 g，精密称定，置 5 mL 容量瓶中，共 9 份，分别加入约相当于各成分限度 50%，100%，150% 的混合对照品溶液，用二甲基亚砜定容，平行 3 份，按 2.1 项下色谱条件进样测定，计算回收率。结果见表 2。

2.4 样品含量测定

取 3 批原料药，按 2.1 项下色谱条件进样测定。结果 7 种残留有机溶剂含量测定结果均低于检测限。

3 讨论

DMF 的沸点很高，不宜采用顶空进样法，采用直接进样法灵敏度高，精密度及重复性好。选择溶剂时，由于四氢呋喃、DMF 限度要求较低，对灵敏度要求高，因此需制备的样品质量浓度很高。样品仅在水、二甲基乙酰胺、二甲基亚砜中的溶解度满足要求，若采用二甲基乙酰胺为溶剂，会对 DMF 的检测产生较大干扰，同时考虑到直接进样，以水为溶剂影响色谱柱使用寿命，故采用二甲基亚砜为溶剂。选择色谱柱时，本研究中涉及的有机溶剂极性差异较大，采用常见的非极性和弱极性色谱柱 HP－1（30 m×0.25 mm，1.0 μm）和 HP－5（30 m×0.25 mm，1.0 μm），发现丙酮和异丙醇难以实现基线分离；采用强极性色谱柱 DB－WAX（30 m×0.25 mm，0.25 μm），HP－Innowax（30 m×0.25 mm，0.5 μm），HP－Innowax（30 m×0.32 mm，0.5 μm），异丙醇和乙醇的分离度均不佳。同时发现，使用上述色谱柱时均存在不同程度的空白干扰。选用中等极性色谱柱 DB－624，能实现对各组分的良好分离，未发现空白干扰。

本研究中建立了同时测定甲磺酸伊马替尼中 7 种残留溶剂含量的方法，3 批样品的检测结果均符合有关规定。所建立的方法操作简便、快速，灵敏度及回收率均较高，可为制订及完善甲磺酸伊马替尼原料药相关法定标准提供参考。

参考文献

[1] KUMAR R, PEREIRA RS, ZANETTI C, et al. Specific, targetable interactions with the microenvironment influence imatinib－resistant chronic myeloid leukemia[J]. Leukemia, 2020, 34(8): 2087－2101.

[2] TANTRAVAHI SK, KIM SJ, GILREATH JA, et al. Synergistic Effect of Imatinib and Ruxolitinib in a Patient with JAK2V617F positive Myelofibrosis and Concomitant BCR－ABL1 positive Chronic Myeloid Leukemia[J]. Blood, 2018, 132(Suppl 1): 5482.

[3] CHEN RS, BAGASKORO F, HANDAYANI DA. High sensitivity assay for detection BCR－ABL with T315I mutation in CML pa-

表2 加样回收试验结果（$n=9$）

Tab. 2 Results of the recovery test（$n=9$）

成分	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$(%)	RSD(%)	成分	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$(%)	RSD(%)
甲醇	0.750 5	0.720 1	95.95				2.505 1	2.616 6	104.45		
	0.750 5	0.730 9	97.39				3.757 6	4.277 8	113.84		
	0.750 5	0.731 1	97.42				3.757 6	3.959 2	105.37		
	1.510 0	1.353 8	89.66				3.757 6	3.862 0	102.78		
	1.510 0	1.421 4	94.13	88.79	10.04	乙酸乙酯	1.314 3	1.222 0	92.98		
	1.510 0	1.390 1	92.06				1.314 3	1.211 7	92.19		
	2.260 5	1.813 8	80.24				1.314 3	1.212 1	92.22		
	2.260 5	1.751 7	77.49				2.628 6	2.350 9	89.44		
	2.260 5	1.690 9	74.80				2.628 6	2.412 2	91.77	91.56	2.54
乙醇	1.255 1	1.176 1	93.71				2.628 6	2.389 3	90.90		
	1.255 1	1.176 1	93.71				3.942 9	3.630 5	92.08		
	1.255 1	1.175 1	93.63				3.942 9	3.433 4	87.08		
	2.510 2	2.249 3	89.61				3.942 9	3.762 6	95.43		
	2.510 2	2.279 1	90.79	92.61	2.30	四氢呋喃	0.188 9	0.181 5	96.08		
	2.510 2	2.432 0	96.88				0.188 9	0.172 5	91.32		
	3.765 3	3.456 0	91.79				0.188 9	0.171 7	90.89		
	3.765 3	3.443 6	91.46				0.377 8	0.350 9	92.88		
	3.765 3	3.462 1	91.95				0.377 8	0.341 2	90.31	91.45	3.41
丙酮	1.253 9	1.000 6	79.80				0.377 8	0.319 7	84.62		
	1.253 9	1.012 2	80.72				0.566 7	0.527 5	93.08		
	1.253 9	1.211 3	96.60				0.566 7	0.513 7	90.65		
	2.507 8	2.092 6	83.44				0.566 7	0.527 9	93.15		
	2.507 8	2.334 3	93.08	83.18	8.80	DMF	0.238 3	0.246 7	103.52		
	2.507 8	2.100 5	83.76				0.238 3	0.237 3	99.58		
	3.761 7	3.008 1	79.97				0.238 3	0.255 1	107.05		
	3.761 7	2.769 9	73.63				0.476 6	0.443 1	92.97		
	3.761 7	2.917 9	77.57				0.476 6	0.430 7	90.37	94.66	7.46
异丙醇	1.252 5	1.633 1	130.39				0.476 6	0.426 3	89.45		
	1.252 5	1.462 4	116.76				0.714 9	0.632 7	88.50		
	1.252 5	1.342 9	107.22				0.714 9	0.638 8	89.36		
	2.505 1	2.771 1	110.62				0.714 9	0.638 5	89.31		
	2.505 1	2.675 3	106.79	110.92	7.75						

tients[J]. Clinica Chimica Acta,2019,493:S580.

[4] KADIVAR A, NOORDIN MI, ADITYA A, et al. Antiproliferative effects of imatinib mesylate on ZR－75－1 and MDA－MB－231 cell lines via PDGFR－β, PDGF－BB, c－Kit and SCF expression[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2019, 43(5):2259.

[5] YAM C, MURTHY RK, RAUCH GM, et al. A phase Ⅱ study of imatinib mesylate and letrozole in patients with hormone receptor－positive metastatic breast cancer expressing c－kit or PDGFR－β[J]. Investigational New Drugs,2018,36(6):1103－1109.

[6] MANCHANDA P, PARSHAD B, KUMAR A, et al. Design, Synthesis, and Evaluation of the Kinase Inhibition Potential of Pyridylpyrimidinylaminophenyl Derivatives[J]. Archiv Der Pharmazie,2017,350(3/4):1600390.

[7] HOPKIN MD, BAXENDALE IR, LEY SV. A flow－based synthesis of Imatinib: the API of Gleevec[J]. Chemical Communications,2010,46(14):2450－2452.

[8] 郭家林,杨艺虹,肖军海. 甲磺酸伊马替尼的合成[J]. 中国医药工业杂志,2013,44(7):644－647.

[9] 陈灵娟,周和平,黄文峰,等. 甲磺酸伊马替尼的合成[J]. 河北科技大学学报,2011,32(5):492－495.

[10] SOJITRA C, TEHARE A, DHOLAKIA C, et al. Development and validation of residual solvent determination by headspace gas chromatography in Imatinib Mesylate API[J]. SN Applied Sciences,2019,1(3):233.

[11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:116－120.

（收稿日期:2021－03－29）