

毛细管气相色谱法测定阿莫曲坦原料药中8种有机溶剂残留量

冯光玲^{1,2*}, 丁文娟³, 冯爱国³, 马新成^{1,2}, 李丹^{1,2} (1.山东省医药工业研究所, 济南 250101; 2.山东省化学药物重点实验室, 济南 250101; 3.山东临沂动植物园, 山东临沂 276037)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)05-0453-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.05.23

摘要 目的: 建立测定阿莫曲坦原料药中8种有机溶剂即乙醇、乙腈、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、异丙醇与甲苯残留量的方法。方法: 采用毛细管气相色谱法。色谱柱为Agilent DB-5毛细管柱, 柱温采取程序升温, 氢火焰离子化检测器, 检测器温度为250℃, 载气为高纯N₂, 进样口温度为200℃, 顶空进样, 平衡条件为100℃、30 min。结果: 8种有机溶剂在各自的检测质量浓度范围内线性关系良好(r 为0.999 6~0.999 9), 平均回收率为99.8%~100.8% (RSD为0.87%~2.11%, $n=3$), 定量限为0.09~0.54 ng, 检测限为0.03~0.18 ng。3批样品中只检出异丙醇。结论: 建立的方法操作简便, 可对阿莫曲坦原料药中残留的8种有机溶剂进行有效控制。

关键词 阿莫曲坦原料药; 有机溶剂; 残留量; 毛细管气相色谱法

Determination of 8 Residual Organic Solvents in Almotriptan Raw Material by Capillary GC

FENG Guang-ling^{1,2}, DING Wen-juan³, FENG Ai-guo³, MA Xin-cheng^{1,2}, LI Dan^{1,2} (1. Shandong Institute of Pharmaceutical Industry, Jinan 250101, China; 2. Shandong Provincial Key Laboratory of Chemical Drug, Jinan 250101, China; 3. Shandong Linyi Botanical Garden, Shandong Linyi 276037, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the determination of 8 residual organic solvents including ethanol, acetonitrile, dichloromethane, *n*-hexane, acetic ether, tetrahydrofuran, isopropanol and methylbenzene in almotriptan raw material. METHODS: Capillary GC was used. The determination was performed on Agilent DB-5 capillary column, by temperature programming; the flame ionization detector was used with temperature of 250℃. High-purity N₂ was used as carrier gas, and injector temperature was 200℃; in headspace sampling, equilibrium condition was 100℃ and 30 min. RESULTS: There was good linear relationship between the concentrations of 8 organic solvents and absorption area value (r were 0.999 6-0.999 9) with average recovery of 99.8%-100.8% (RSD were 0.87% - 2.11%, $n=3$). The limits of quantification were 0.09-0.54 ng, and that of detection were 0.03-0.18 ng. Only isopropanol was detected in 3 batches of samples. CONCLUSIONS: Established method is simple and can be used for the quality control of 8 organic solvents in almotriptan raw material.

KEYWORDS Almotriptan raw material; Organic solvents; Residual; Capillary GC

阿莫曲坦(Almotriptan)是西班牙 Almirall-Prodesfarma 公司开发的一种抗偏头痛药物, 于2000年在西班牙获批准上市, 临床上用于有(或无)先兆的偏头痛发作的头痛期的急性治疗^[1]。偏头痛是一种常见的复发性、间歇性头痛, 其发病机制尚未完全清楚, 但学者们认为神经递质5-羟色胺(5-HT, 一种强效的血管收缩因子)在偏头痛的发病机制中起着主要作用^[2]。阿莫曲坦原料药国内正处于研发状态, 其在合成过程中使用了乙醇、乙腈、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、异丙醇与甲苯等有机溶剂, 因此在制订质量标准时必须考察该原料药的有机溶剂残留量问题。本文按照2010年版《中国药典》二部残留溶剂测定法指导原则^[3], 采用毛细管气相色谱法对8种有机溶剂残留量进行测定和验证, 结果表明建立的方法操作简便, 可对阿莫曲坦原料药中残留的8种有机溶剂进行有

效控制, 从而为药品质量标准的修订提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

6890气相色谱仪、7694E自动顶空进样器(美国Agilent公司)。

1.2 药品与试剂

阿莫曲坦原料药(山东省医药工业研究所合成室提供, 批号: 130201、130202、130203, 纯度: 99.82%、99.72%、99.76%); 乙醇、乙腈、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、异丙醇、甲苯、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)均为分析纯(含量均大于99.0%)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent DB-5毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm), 以(5%)苯基-(95%)甲基聚硅氧烷为固定液; 柱温采取程序升

* 副主任药师。研究方向: 新药研发。电话: 0531-81213291。E-mail: jnfengguangling@163.com.cn

温:35 ℃保持5 min,再以50 ℃/min的速率升温至200 ℃,保持10 min;氢火焰离子化检测器,检测器温度:250 ℃;载气:高纯N₂,流速:10 ml/min;进样口温度:200 ℃,分流比:10:1;顶空气体进样,平衡温度:100 ℃,平衡时间:30 min,进样瓶装量:2 ml。

2.2 溶液配制

空白溶液:精密量取DMF 2 ml,置于顶空进样瓶中,作为空白溶液。

标准溶液贮备液:称取乙醇约500 mg、乙腈约41 mg、二氯甲烷约60 mg、正己烷约29 mg、乙酸乙酯约500 mg、四氢呋喃约72 mg、异丙醇约500 mg、甲苯约89 mg,置于含有适量DMF的100 ml量瓶中,充分振摇使溶解,加DMF稀释至刻度,摇匀,即得。

标准溶液:精密量取上述贮备液10 ml置于100 ml量瓶中,加DMF至刻度,摇匀,作为标准溶液。

供试品溶液:精密称取阿莫曲坦原料药0.2 g,置于顶空进样瓶中,加DMF 2 ml,作为供试品溶液。

取标准溶液和供试品溶液进样分析,结果各溶剂分离良好,空白溶液无干扰。色谱图见图1。

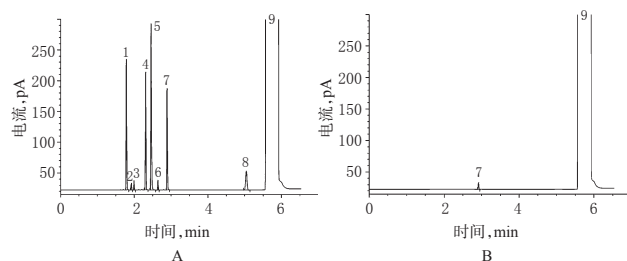


图1 毛细管气相色谱图

A. 标准溶液; B. 供试品溶液; 1. 乙醇; 2. 乙腈; 3. 二氯甲烷; 4. 正己烷; 5. 乙酸乙酯; 6. 四氢呋喃; 7. 异丙醇; 8. 甲苯; 9. DMF

Fig 1 Capillary GC chromatograms

A. reference solution; B. test solution; 1. ethanol; 2. acetonitrile; 3. dichloromethane; 4. *n*-hexane; 5. acetic ether; 6. tetrahydrofuran; 7. isopropanol; 8. methylbenzene; 9. DMF

2.3 标准曲线的绘制

分别精密量取标准溶液贮备液0.50、0.75、1.00、1.25、1.50 ml,置于10 ml量瓶中,加DMF稀释至刻度,摇匀。各取上述溶液2 ml,置于顶空进样瓶中,按“2.1”项下色谱条件分别进样。分别以乙醇、乙腈、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、异丙醇与甲苯的质量浓度(*c*)为横坐标、峰面积(*A*)为纵坐标绘制标准曲线,其线性关系见表1。

表1 各有机溶剂线性关系试验结果

Tab 1 Linear relationship of organic solvents

溶剂	线性范围, $\mu\text{g/ml}$	线性方程	<i>r</i>
乙醇	248.9~750.8	$A=1.246 3c-97.65$	0.999 8
乙腈	15.06~45.18	$A=3.893 7c-11.20$	0.999 7
二氯甲烷	29.03~91.02	$A=0.262 8c-0.47$	0.999 6
正己烷	12.66~37.97	$A=18.934 0c-27.73$	0.999 9
乙酸乙酯	250.2~750.9	$A=2.319 8c-128.8$	0.999 7
四氢呋喃	13.53~40.59	$A=4.622 2c-4.69$	0.999 8
异丙醇	251.2~750.90	$A=0.489 5c+0.81$	0.999 8
甲苯	44.19~134.25	$A=0.889 6c-1.09$	0.999 9

由表1可知,各有机溶剂在各自的检测质量浓度范围内线性关系良好(*r*为0.999 6~0.999 9),表明方法可靠。

2.4 精密度试验

取标准溶液,按“2.1”项下色谱条件,连续进样6次,记录色谱图,计算峰面积的RSD。结果乙醇、乙腈、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、异丙醇与甲苯的RSD分别为0.18%、0.19%、0.22%、0.15%、0.29%、0.32%、0.33%、0.27% (*n*=6),表明精密度符合要求。

2.5 回收率试验

精密称取样品(批号:130201)0.2 g,共10份,其中一份加入2 ml DMF作为空白溶液;分别配制低(80%)、中(100%)、高(120%)3种质量浓度的标准溶液,各取2 ml,加入盛有样品的顶空进样瓶中,平行3份操作。以“2.2”项下的标准溶液作为对照,进样分析,计算回收率。结果平均回收率为99.8%~100.8% (RSD=0.87%~2.11%, *n*=3),均符合要求,见表2。

表2 回收率试验结果(% , *n*=3)

Tab 2 Results of recovery test(% , *n*=3)

溶剂	回收率			平均回收率	RSD
	低	中	高		
乙醇	100.1	100.4	100.8	100.4	1.28
乙腈	100.5	99.8	100.2	100.2	0.89
二氯甲烷	99.9	100.3	100.1	100.1	1.18
正己烷	100.2	99.8	100.2	100.1	1.26
乙酸乙酯	99.9	100.5	100.3	100.2	2.11
四氢呋喃	100.2	101.1	100.5	100.6	0.98
异丙醇	100.1	100.0	99.8	100.0	0.87
甲苯	99.7	100.1	100.3	100.0	2.04

2.6 定量限、检出限试验

将标准溶液逐级稀释,分别取2 ml,置于顶空进样瓶中,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱图,直至信噪比为10:1和3:1,即为定量限和检测限。结果乙醇、乙腈、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、异丙醇与甲苯定量限分别为0.15、0.12、0.18、0.09、0.45、0.21、0.45、0.54 ng,检测限分别为0.05、0.04、0.06、0.03、0.15、0.07、0.15、0.18 ng。

2.7 重复性试验

取同一批(批号:130201)样品6份,每份约0.2 g,精密称定,按“2.2”项方法制备供试品溶液并测定。结果异丙醇平均含量为0.016%,RSD=0.59% (*n*=6),表明方法重复性良好。

2.8 样品中有机溶剂残留量测定

精密量取标准溶液和供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件分别进样测定,以外标法计算得3批样品中异丙醇残留量平均值分别为0.014%、0.017%和0.018%,均未检出其他7种有机溶剂。

3 讨论

3.1 溶剂的选择

因阿莫曲坦不溶于水,易溶于沸点较高的DMF,且DMF不干扰其他溶剂的检查,故选择DMF为溶剂。

3.2 顶空进样条件的选择

考虑到待测残留有机溶剂的沸点除甲苯外,乙醇、乙腈、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、异丙醇的沸点均小于100 ℃,因此采用顶空瓶平衡温度为100 ℃;并且在此条件下,

HPLC法测定1,2-环己烷二甲醇中非对映异构体的含量

郭文敏^{1*}, 李清娟¹, 张琪¹, 陈素锐¹, 邢浩²[1.石药集团中奇制药技术(石家庄)有限公司, 石家庄 050035; 2. 石家庄职业技术学院, 石家庄 050081]

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)05-0455-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.05.24

摘要 目的:建立测定盐酸鲁拉西酮合成中的关键起始原料即1,2-环己烷二甲醇中杂质非对映异构体含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Agilent Rx C₈,流动相为0.01 mol/L 甲酸铵缓冲溶液(pH 3.0)-甲醇(70:30),流速为1.0 ml/min,检测器为示差折光检测器,检测器温度为35 ℃,柱温为35 ℃,以外标法测定。结果:1,2-环己烷二甲醇与其非对映异构体之间分离度大于2.0;二者检测质量浓度线性范围分别为0.01~10.0 mg/ml、10.0~200.0 μg/ml(*r*均为0.999 9);非对映异构体平均回收率为99.29% (RSD=0.66%, *n*=3),检测限为10 ng。结论:建立的方法准确、快速,可用于控制终产品盐酸鲁拉西酮中的光学异构体杂质含量。**关键词** 1,2-环己烷二甲醇;非对映异构体;高效液相色谱法;示差折光检测器;含量测定

Content Determination of Diastereoisomer of 1,2-cyclohexanedimethanol by HPLC

GUO Wen-min¹, LI Qing-juan¹, ZHANG Qi¹, CHEN Su-rui¹, XING Hao²[1.CSPC Zhongqi Pharmaceutical Technology (Shijiazhuang) Co., Ltd., Shijiazhuang 050035, China; 2.Shijiazhuang Vocational Technology Institute, Shijiazhuang 050081, China]

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of diastereoisomer of 1,2-cyclohexanedimethanol which is the key starting material to synthesis lurasidone hydrochloride by HPLC. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent Rx C₈ column with mobile phase consisted of 0.01 mol/L ammonium formate buffer solution (pH 3.0)-methanol (70:30) at the flow rate of 1.0 ml/min. Differential refractive index detector was adopted with the temperature of 35 ℃. The column temperature was set at 35 ℃, and external method was used. RESULTS: The resolution of cyclohexanedimethanol and diastereoisomer was greater than 2.0. The linear range of them were 0.01-10.0 mg/ml and 10.0-200.0 μg/ml (*r*=0.999 9); average recovery of diastereoisomer was greater than 99.29% (RSD=0.66%, *n*=3), and the detection limit was 10 ng. CONCLUSIONS: The method is proved to be simple, rapid and suitable for the content control of diastereoisomer in lurasidone hydrochloride.

KEYWORDS 1,2-cyclohexanedimethanol; Diastereoisomer; HPLC; Differential refractive index detector; Content determination

盐酸鲁拉西酮(Lurasidone hydrochloride, 商品名为Latuda)是第2代抗精神分裂症新药,于2010年10月28日被美国FDA批准上市,用于成人的精神分裂症。其作为一种具有双

重作用的抗精神分裂症治疗药物^[1-3],同时作用于多巴胺D₂受体、5-羟色胺(5-HT)₇受体、5-HT_{1a}受体、5-HT_{2a}受体、α_{2c}-肾上腺素受体,除可抑制注意缺陷多动障碍外,还可有效抑制

对顶空瓶平衡时间进行筛选,结果发现平衡时间在30 min后,峰面积基本不再改变。因此选择在100 ℃平衡温度条件下平衡30 min作为顶空进样条件。

3.3 色谱柱温度、加热时间的选择

乙醇、乙腈、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、异丙醇的沸点范围较窄(39~83 ℃),笔者曾分别选择柱温35、45、55 ℃进行试验,结果在35 ℃时乙醇、乙腈、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、异丙醇分离较好,45 ℃和55 ℃时出峰过快、分离度差。故选择35 ℃作为初温,保持5 min,待8种溶剂完全出峰后,再升高至200 ℃,使DMF出峰。

3.4 检测限度

药品中有机溶剂残留种类因生产工艺不同而异,本文中各种有机溶剂限度根据文献^[9]要求及2010年版《中国药典》^[2]的

规定,暂将阿莫曲坦原料药中乙醇、乙腈、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、异丙醇与甲苯的限度定为0.5%、0.041%、0.06%、0.029%、0.5%、0.072%、0.5%和0.089%。

综上所述,本试验建立的方法线性、精密度、回收率、定量限、检测限结果等均较好,符合要求,能准确、迅速地检测出阿莫曲坦原料药中残留的乙醇、乙腈、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃、异丙醇与甲苯,从而控制药品质量、保证安全用药。

参考文献

- [1] 李晓东.抗偏头痛药阿莫曲坦:almotriptan[J].国外医药合成药、生化药、制剂分册,2002,23(1):55.
- [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:附录61-63.
- [3] 周海钧.药品注册的国际技术要求:质量部分(ICH)[M].北京:人民卫生出版社,2000:82-89.

(收稿日期:2013-04-09 修回日期:2013-05-10)

* 高级工程师,硕士。研究方向:新药研发。电话:0311-67808931。E-mail: gwenmin@mail.ecspc.com