

GC 测定拉科酰胺原料药中的 5 种残留溶剂

胡凯¹, 宋珊珊¹, 王向军^{2*} (1.浙江九洲药业股份有限公司, 浙江 台州 318000; 2.浙江农林大学林业与生物技术学院, 浙江 临安 311300)

摘要: 目的 建立顶空进样气相色谱法检测拉科酰胺原料药中 5 种残留溶剂的方法。方法 采用顶空毛细管气相色谱法, 色谱柱为 Agilent HP-5 石英毛细管柱(30.0 m×0.32 mm×0.25 μm); 进样口温度: 210 °C; FID 检测器温度: 240 °C; 柱温: 50 °C; 载气: 氮气; 流速: 1.0 mL·min⁻¹。顶空进样, 顶空平衡温度: 85 °C, 顶空平衡时间: 30 min; 进样体积: 0.35 mL。结果 在上述条件下, 5 种残留溶剂均能良好分离, 各溶剂峰面积与浓度均呈良好的线性关系, 方法精密度良好, 回收率均较为理想。结论 该法适用于拉科酰胺原料药中残留溶剂的测定。

关键词: 拉科酰胺; 残留溶剂; 顶空气相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)03-0343-03

Determination of Five Residual Organic Solvents in Lacosamide by GC

HU Kai¹, SONG Shanshan¹, WANG Xiangjun^{2*} (1.Zhejiang Jiuzhou Pharmaceutical Co., Ltd, Taizhou 318000, China; 2.School of Forestry and Bio-technology, Zhejiang A&F University, Lin'an 311300, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a headspace gas chromatography method for determination of residual solvents in lacosamide. **METHODS** Headspace gas chromatography was added using an Agilent HP-5 capillary column(30.0 m×0.32 mm×0.25 μm). The column temperature was 50 °C with nitrogen gas as carrier and FID as detector. The flow of carrier was 1.0 mL·min⁻¹. The injection port and detector temperature were 210 °C and 240 °C, respectively. The heated temperature of the headspace oven was 85 °C, the heated time lasted 30 min, and the injection volume was 0.35 mL. **RESULTS** Each solvent could be completely separated in chromatogram obtained from systemic suitability test, and the calibration curves of each solvent had good linear relationship within a certain range. **CONCLUSION** The method is accurate and reliable. It can be applied in determination of residual solvents in lacosamide.

KEY WORDS: lacosamide; residual solvents; headspace GC

拉科酰胺(lacosamide, LCA)用于辅助治疗 17 岁以上癫痫部分性发作患者的疾病发作, 及缓解糖尿病患者的疼痛, 它选择性地促进钠通道失活并调节反应介导蛋白 22(CRMP22), 是具有双重作用机制的抗癫痫类药物^[1-4]。2008 年 9 月欧盟批准拉科酰胺片上市, 同年 10 月美国 FDA 批准拉科酰胺片上市, 商品名为 Vimpat[®], 本品目前尚未在我国上市。由于其合成过程中使用了二氧六环、乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷、四氢呋喃, 笔者根据中国药典 2010 年版二部附录残留溶剂检查法和人用药品注册技术规范国际协调会议(ICH)的要求^[5-6], 建立了顶空毛细管气相色谱法测定拉科酰胺原料药中 5 种残留溶剂的方法, 并考察了不同批次产品中的残留溶剂, 结果表明建立的方法简单、灵敏、准确, 可用于实际产品的质量控制。

1 仪器与试剂

Agilent 7890A 气相色谱仪, 配 FID 检测器(美

国 Agilent 公司); CTC 型顶空自动进样装置(瑞士 PAL)。XS105 电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); KUDOS 超声波清洗机(上海科导超声仪器有限公司)。

二氧六环、乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷、四氢呋喃均为分析纯, 来自杭州化学试剂有限公司; 正己烷纯度>95%, *N,N*-二甲基甲酰胺为色谱纯, 均来自 Merck 公司; 拉科酰胺原料药(浙江九洲药业股份有限公司, 批号: 120401, 120402, 120403); 实验用水由 Millipore 纯水仪(美国 Millipore 公司)制备。

2 方法与结果

2.1 溶液配制

2.1.1 空白溶液 分别取 *N,N*-二甲基甲酰胺和水按照 1:1 混匀, 即得。

2.1.2 定位溶液 分别吸取一定量的二氧六环、乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷、四氢呋喃置顶空瓶中, 用空白溶液溶解, 即得。

作者简介: 胡凯, 男, 工程师 Tel: (0576)88826299 E-mail: hukai@zbjz.cn
(0571)63741827 E-mail: xjwang@zafu.edu.cn

*通信作者: 王向军, 男, 博士, 高级工程师 Tel:

2.1.3 混合对照品储备液 分别精密称取二氧六环、乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷、四氢呋喃各适量,用空白溶液溶解并定量稀释制成每 1 mL 中含二氧六环、乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷、四氢呋喃约 0.38, 5.0, 0.29, 0.60, 0.72 mg 的混合对照品储备液。

2.1.4 混合对照品溶液 精密量取上述混合对照品储备液 10 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加空白溶液稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 中含二氧六环、乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷、四氢呋喃分别为 38, 500, 29, 60, 72 μg 的混合对照品溶液。

2.1.5 供试品溶液 精密称取拉科酰胺约 0.5 g, 置 10 mL 顶空瓶中, 精密加入空白溶液 5 mL 使样品溶解, 摇匀, 密塞, 即得。

2.2 色谱条件

色谱柱: Agilent HP-5 石英毛细管柱(30.0 m \times 0.32 mm \times 0.25 μm), 柱温: 50 $^{\circ}\text{C}$; 进样口温度: 210 $^{\circ}\text{C}$; FID 检测器, 检测器温度: 240 $^{\circ}\text{C}$; 分流进样, 分流比为 20:1, 载气: 氮气; 流速: 1.0 mL $\cdot\text{min}^{-1}$ 。顶空进样, 顶空平衡温度: 85 $^{\circ}\text{C}$, 顶空平衡时间: 30 min, 进样针温度: 95 $^{\circ}\text{C}$, 进样体积: 0.35 mL。

2.3 系统适用性试验

按“2.1”项下方法制备空白溶剂、混合对照品溶液和供试品溶液, 按“2.2”项下的色谱条件分别顶空进样分析, 色谱图见图 1。结果显示, 各被测溶剂色谱峰相互间的分离度均符合要求, 其分离度分别为 5.58, 3.13, 9.18, 20.63, 9.44, 理论板数分别为 27 571, 44 634, 43 085, 58 087, 51 045, 38 309。

2.4 线性关系考察

分别精密量取 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 混合对照品溶液置于 10 mL 顶空瓶中, 然后分别依次精密加入 4.0, 3.0, 2.0, 1.0, 0.0 mL 的空白溶液, 密封, 摇匀, 制备成标准系列溶液。按上述顶空条件和色谱条件, 依法试验。以相应成分的浓度(x , $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)对峰面积(y)做线性方程, 试验结果表明各组分测定, 线性关系良好, 结果见表 1。

2.5 仪器精密度试验

取二氧六环、乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷和四氢呋喃的对照品混合溶液 6 份, 按“2.2”项下方法进样。结果二氧六环、乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷和四氢呋喃测定的 RSD 分别为 1.6%, 1.5%, 2.0%, 2.5%和 1.6%($n=6$)。

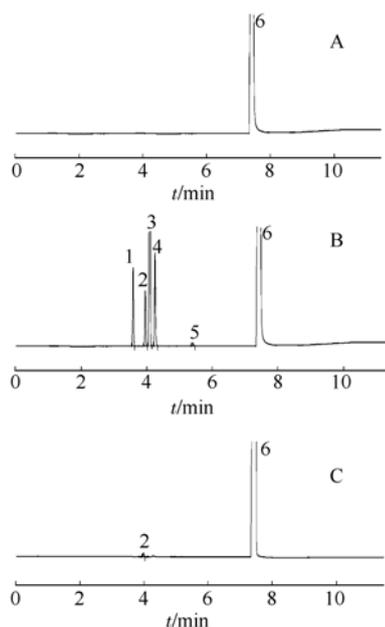


图 1 拉科酰胺气相色谱图

A-空白溶剂; B-混合对照品溶液; C-供试品溶液; 1-二氯甲烷; 2-正己烷; 3-乙酸乙酯; 4-四氢呋喃; 5-二氧六环; 6-*N,N*-二甲基甲酰胺(溶剂峰)

Fig 1 Gas chromatograms of lacosamide

A-blank solution; B-reference substance solution; C-sample solution; 1-dichloromethane; 2-*n*-hexane; 3-ethyl acetate; 4-tetrahydrofuran; 5-dioxane; 6-*N,N*-dimethyl formamide (solution)

表 1 线性关系试验结果($n=3$)

Tab 1 Linearity and its range($n=3$)

成分	回归方程	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	相关系数 r
二氧六环	$y=0.2074x-0.0939$	7.66~38.30	0.9988
乙酸乙酯	$y=1.7246x-5.6407$	100.02~500.10	0.9996
正己烷	$y=6.2345x-0.4651$	5.70~28.50	0.9967
二氯甲烷	$y=1.9186x-1.0318$	12.04~60.20	0.9990
四氢呋喃	$y=1.1630x-1.3472$	14.24~71.20	0.9984

2.6 回收率试验

精密称取已测定残留溶剂含量的拉科酰胺样品(批号: 120401)共 9 份, 每份约 0.5 g, 设计 3 个不同的浓度、每个浓度 3 份样品进行测定, 分别精密加入二氧六环、乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷和四氢呋喃的对照品混合溶液 1.0, 3.0, 5.0 mL, 然后分别加入空白溶剂 4.0, 2.0, 0.0 mL, 摇匀, 按“2.2”项下方法测定。结果测得二氧六环、乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷、四氢呋喃的平均回收率分别为 105.4%, 99.3%, 93.6%, 94.4%和 101.5%, RSD 分别为 2.0%, 1.4%, 2.9%, 2.7%和 1.7%, 回收率均未超过(100 \pm 20)%。试验结果表明, 本法用于所述 5 种溶剂的残留量测定具有较好的准确性。

2.7 灵敏度试验

精密量取混合对照品溶液适量,用空白溶液逐步稀释并按“2.2”项下的色谱条件进样测定,结果测得二氧六环、乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷和四氢呋喃的最低检出浓度(S/N=3)分别为2.580, 0.165, 0.046, 0.146, 0.140 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,可以满足拉科酰胺样品中残留溶剂的检测要求。

2.8 样品测定

取3批样品,按“2.2”项下方法测定,5种有机溶剂残留量测定结果见表2。结果表明,3批样品中均未检测出二氧六环、乙酸乙酯、二氯甲烷和四氢呋喃,检测出微量正己烷,但均符合中国药典2010年版规定的限度。表明本法能有效地检出和控制拉科酰胺原料药中的残留溶剂。

表2 样品测定结果

Tab 2 Results of sample analysis

溶剂	含量/%			药典限度/%
	120401	120402	120403	
二氧六环	未检出	未检出	未检出	0.038
乙酸乙酯	未检出	未检出	未检出	0.500
正己烷	0.000 71	0.000 71	0.000 71	0.029
二氯甲烷	未检出	未检出	未检出	0.060
四氢呋喃	未检出	未检出	未检出	0.072

3 讨论

3.1 溶剂的选择

由于二氧六环、乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷和四氢呋喃均为低沸点的溶剂,水溶性较差,且拉科酰胺在水中的溶解度较差,因此,选择沸点较高的 N,N -二甲基甲酰胺溶解,并加入一定比例的水,以增加检测的灵敏度。经过试验,用 N,N -二甲基甲酰胺-水(1:1)溶液为溶剂,可将拉科酰胺完全溶解,无基质效应,回收率好,因此选择 N,N -二甲基甲酰胺-水(1:1)溶液作为溶剂。

3.2 进样方式的选择

采用顶空进样法测定残留溶剂^[7],可消除样品基质的潜在干扰,对测定干扰小,对仪器污染少,并可以有效地保护色谱柱,本实验中通过与液体直接进样比较,也得出顶空进样的灵敏度远高于液体直接进样的灵敏度,因此低沸点的二氧六环、乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷和四氢呋喃测定首选顶空进样。

3.3 柱温的选择

检测样品中的残留溶剂一般采用程序升温的

方法进行,以使各色谱峰的分离度更大,同时消除基质效应,但本实验中发现现在等温条件下即使5个溶剂峰达到基线分离,同时连续检测样品3d未见明显的基质效应出现,因此,实验选择等温50℃作为柱温条件,可使样品检测更加快速。

3.4 正己烷的检测

由于拉科酰胺原料药的合成工艺中选择的溶剂是正己烷,而不是己烷,因此选择色谱级的正己烷(纯度>95%)作为溶剂对照验证方法学,并检测了样品中正己烷的残留量,获得了良好的结果;但如果产品的合成工艺中使用的溶剂是己烷,由于己烷有多个同分异构体,则在方法验证和样品检测时需要将己烷不同的同分异构体峰面积相加,然后应用外标法进行己烷残留量的计算。

3.5 方法的确定

依据人用药品注册技术规范国际协调会(ICH)^[5]的控制指标和中国药典2010版二部附录^[6]的有机溶剂残留量要求,规定二氧六环不得超过0.038%、乙酸乙酯不得超过0.50%、正己烷不得超过0.029%、二氯甲烷不得超过0.060%、四氢呋喃不得超过0.072%。测定结果表明,样品中有机溶剂残留量均符合规定。采用本法测定拉科酰胺原料药中有机溶剂的残留量,快速、准确、灵敏度高、重复性好。

REFERENCES

- [1] RAUCK R L, SHAIBANI A, BITON V, et al. Lacosamide in painful diabetic peripheral neuropathy: a phase 2 double-blind placebo-controlled study [J]. Clin J Pain, 2007, 23(2): 150-158.
- [2] ERRINGTON A C, COYNE L, SELVE N, et al. Seeking a mechanism of action for the novel anticonvulsant lacosamide [J]. Neuropharmacology, 2006, 50(8): 1016-1029.
- [3] ERRINGTON A C, LEES G. The investigational anti-convulsant lacosamide selectively enhances slow inactivation of voltage-gated sodium channels [J]. Mol Pharmacol, 2008, 73(1): 157-169.
- [4] ROGAWSKI M A. Diverse mechanisms of antiepileptic drugs in the development pipeline [J]. Epilepsy Res, 2006, 69 (3): 273-294.
- [5] ZHOU H J, DENG Z P, WANG Q L, et al. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registra(药品注册的国际技术要求) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2007: 134-136.
- [6] Ch.P(2010)Vol II(中国药典 2010 年版. 二部)[S]. 2010: Appendix 61-65.
- [7] WANG C H, LEI K, WANG S X. Determination of the residual solvents in urapidil by capillary gas chromatography with headspace sampling [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2013, 33(3): 218-220, 234.

收稿日期: 2013-08-08