吡仑帕奈中残留溶剂的 GC-FID 法测定

唐　璐[1,3]，刘旭岩[1,3]，王维维[1,3]，王　炜[2,3]，倪　峰[2,3]，李建其[1,3]*

（1. 中国医药工业研究总院上海医药工业研究院，化学制药新技术中心，上海 201203；2. 上海现代制药股份有限公司，上海 201203；3. 上海药物合成工艺过程工程技术研究中心，上海 201203）

摘要：建立了气相色谱法测定吡仑帕奈原料药中的 5 种残留溶剂四氢呋喃、乙醇、乙腈、吡啶、*N*,*N*- 二甲基甲酰胺及有关物质 1,3- 丙二醇。使用 DB-WAX 型色谱柱，采用直接进样，以二甲基亚砜为空白溶剂，程序升温。结果显示，上述 5 种有机溶剂及 1,3- 丙二醇回收率均在 97.65%～ 112.88%，RSD 均小于 5.0%。在线性试验中，各分析物的峰面积与其质量浓度线性关系良好，相关系数均大于 0.998。

关键词：气相色谱法；残留溶剂；吡仑帕奈

中图分类号：TQ460.7^{+}2；O657.7^{+}1　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2023)11-1660-03

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.11.016

Determination of Residual Solvents in Perampanel by GC-FID

TANG Lu[1,3], LIU Xuyan[1,3], WANG Weiwei[1,3], WANG Wei[2,3], NI Feng[2,3], LI Jianqi[1,3]*

(*1. Novel Technology Center of Pharmaceutical Chemistry, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203; 2. Shanghai Shyndec Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201203; 3. Shanghai Engineering Research Center of Pharmaceutical Process, Shanghai 201203*)

ABSTRACT: A GC method was established for the determination of the five residual organic solvents (tetrahydrofuran, ethanol, acetonitrile, pyridine, *N*,*N*-dimethylformamide) and a related substance (1,3-propanediol) in perampanel raw materials. Tetrahydrofuran, ethanol, acetonitrile, pyridine, *N*,*N*-dimethylformamide and 1,3-propanediol were quantitatively determined by direct sampling on DB-WAX column, with DMSO as the solvent and temperature programmed control. The above five organic solvents and 1,3-propanediol were completely separated. Their average recoveries were 97.65% – 112.88%, with RSDs less than 5.0%. In the linearity test, good linear relationships between peak areas and mass concentrations of the analytes were achieved, and all the correlation coefficients were more than 0.998.

Key Words: gas chromatography; residual solvent; perampanel

癫痫是常见的慢性神经系统疾病之一，据 2022 年 WHO 统计，全球约有癫痫患者 5 000 万，而中国约占到 1/5，对患者和社会造成沉重的负担。吡仑帕奈（perampanel，**1**）是由日本卫材株式会社研发的第三代新型抗癫痫药物，也是美国 FDA 批准的首个且唯一一个用于治疗癫痫的高度选择性非竞争性 α- 氨基 -3- 羟基 -5- 甲基 -4- 异噁唑丙酸（α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid，AMPA）型谷氨酸受体拮抗药[1]。**1** 于 2019 年在国内进口上市，目前尚无国内仿制药上市，对其进行药学研究具有较大的社会及经济价值。

在 **1** 原料药的合成过程（图 1）[2] 中，使用到了四氢呋喃、乙醇、乙腈、*N*,*N*- 二甲基甲酰胺和吡啶等有机溶剂；此外，在最后一步反应中，反应物 2- 氰基苯基硼酸 -1,3- 丙二醇环酯会水解产生液态

收稿日期：2022-12-12

作者简介：唐　璐（1998—），硕士研究生，专业方向：药物质量研究。

通信作者：李建其（1957—），男，研究员，博士生导师，从事创新药物及仿制药的研发。

E-mail：lijianqb@126.com

有机杂质 1,3- 丙二醇。四氢呋喃、乙腈、*N*,*N*- 二甲基甲酰胺和吡啶为第二类溶剂，乙醇为第三类溶剂，《中华人民共和国药典》2020 年版（ChP 2020）对其限度均有明确规定；参考 ICH 指导原则中有关物质限度要求，将 1,3- 丙二醇的限度定为 0.1%。这些物质中，1,3- 丙二醇的沸点高、黏性大，检测较为困难。本研究通过对色谱条件的摸索，建立了 **1** 原料药中残留溶剂的气相色谱 - 氢火焰离子化检测（GC-FID）方法，并参考 ChP 2020 及 ICH 指导原则进行方法学验证，为 **1** 原料药质量标准的制定提供参考。

1 仪器与试药

7890A/B 型气相色谱仪（美国 Agilent 公司）；XS205DU 型天平（瑞士 Mettller Toledo 公司）；SB-800D 型超声仪（宁波新芝生物科技有限公司）。

1 原料药（上海医药工业研究院，含量 99.37%、100.1%，批号 PM-ZY221105、PM-ZY221107；江苏威奇达药业有限公司，含量 95.88%，批号 PM-HM46-23020801）；二甲基甲酰胺、乙腈、四氢呋喃、乙醇、二甲基亚砜均为色谱纯；吡啶为分析纯；1,3- 丙二醇（安徽泽升科技有限公司，批号 EODRR5RN）。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱 Agilent DB-WAX 柱（0.25 mm×30 m×0.5 μm）；检测器 氢火焰离子化检测器；检测器温度 280 ℃；程序升温 初始温度 40 ℃，维持 5 min，以 20 ℃ /min 升至 120 ℃，维持 3 min，再以 20 ℃ /min 升至 220 ℃，维持 5 min；进样口温度 250 ℃；载气 高纯氮气；流速 1.0 mL/min；分流比 20 ∶ 1；进样量 1 μL。

2.2 溶液配制

空白溶液：二甲亚砜。

对照品贮备液：精密称取四氢呋喃 72 mg、乙醇 500 mg、乙腈 41 mg、二甲基甲酰胺 88 mg、吡啶 20 mg、1,3- 丙二醇 100 mg，置 100 mL 量瓶中，加空白溶液定容，摇匀，即得。

对照品溶液：精密量取上述对照品贮备液 250 μL，置 10 mL 量瓶中，加空白溶液定容，摇匀，即得。

供试品溶液：精密称取 **1** 原料药 250 mg，置 10 mL 量瓶中，加空白溶液溶解并定容，得 25 mg/mL 的供试品溶液。

2.3 方法学验证

2.3.1 专属性试验

取空白溶液、对照品溶液和供试品溶液各 1 μL，按“**2.1**”项下色谱条件进样分析，记录色谱图（图 2）。结果表明，该色谱条件下，5 个溶剂和 1,3- 丙二醇均能达到良好分离，空白溶剂无干扰，专属性良好。

2.3.2 线性试验

取“**2.2**”项下对照品贮备液，稀释制备对照品溶液浓度 20%、40%、50%、100%、150%、200%、300%的线性系列溶液。取上述溶液进样分析，以各分析物的质量浓度（*c*）为横坐标、峰面积

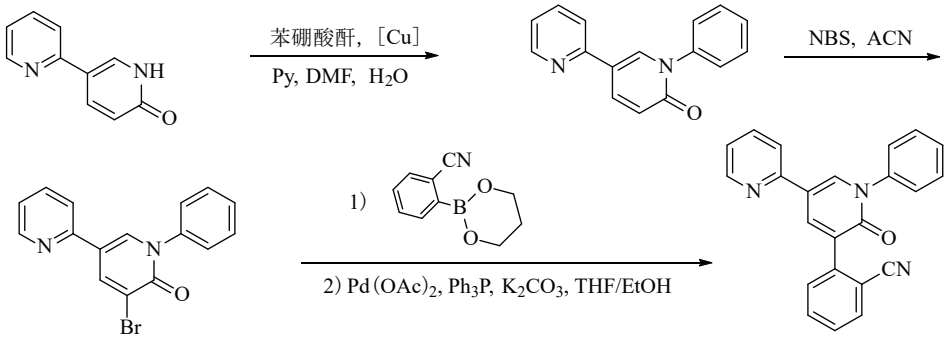
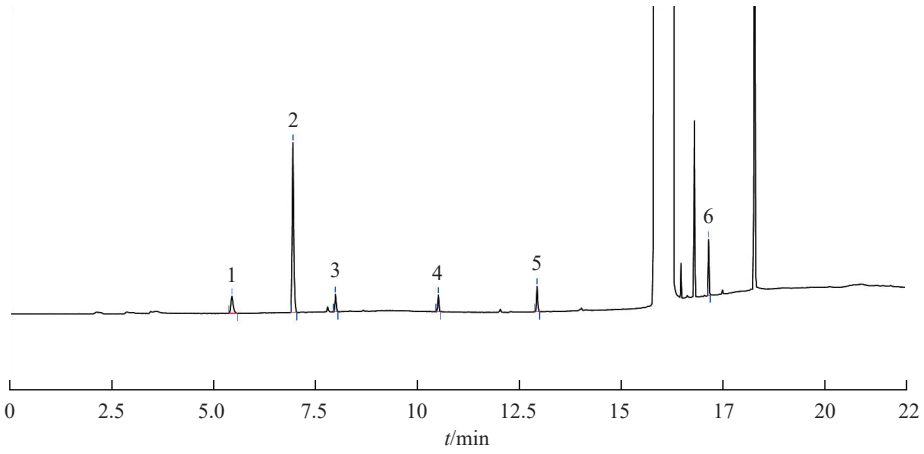


图 1 1 的合成路线

Fig.1 Synthetic Route of **1**



1— 四氢呋喃；2—乙醇；3—乙腈；4—吡啶；5—*N*,*N*- 二甲基甲酰胺；6—1,3- 丙二醇。

图 2　专属性试验色谱图

Fig.2　Chromatogram of Specificity Test

（*A*）为纵坐标，进行线性回归。所得线性方程及相关系数如表 1 所示。结果表明，5 种溶剂和 1,3- 丙二醇在各自线性范围内与其峰响应值的线性关系良好，相关系数均大于 0.998。

表 1　线性试验结果

Tab.1　Results of Linear Regression Test

名称	线性范围/μg·mL^{-1}	回归方程	*r*
四氢呋喃	0.003 7～0.055 4	*A*=9.280 1*c* − 0.002 5	0.999 3
乙醇	0.025 0～0.374 9	*A*=7.952 3*c* − 0.018 1	0.999 6
乙腈	0.002 1～0.031 7	*A*=7.219 3*c*+0.000 3	0.998 9
吡啶	0.001 1～0.016 2	*A*=13.301 0*c*+0.000 1	0.998 9
N,*N*-二甲基甲酰胺	0.004 4～0.066 0	*A*=5.203 5*c* − 0.006 5	0.999 3
1,3-丙二醇	0.005 1～0.076 5	*A*=7.101 9*c* − 0.006 1	0.999 6

2.3.3　精密度试验

取“**2.2**”项下对照品溶液，连续进样 6 次，记录色谱图，计算峰面积和保留时间的 RSD。计算得四氢呋喃、乙醇、乙腈、二甲基甲酰胺、吡啶、1,3-丙二醇的峰面积 RSD 分别为 1.31%、2.44%、2.60%、2.54%、2.97%、3.57%，保留时间的 RSD 均不大于 0.03%，表明精密度良好。

2.3.4　加样回收率试验

精密称取 **1** 供试品 250 mg，置 10 mL 量瓶中，共 9 份，精密加入“**2.2**”项下的对照品贮备液 0.5、1.0 和 1.5 mL，再用空白溶液定容，摇匀，即得低（50%）、中（100%）、高（150%）3 个浓度的供试品溶液（各 3 份），依法测定。结果表明，5 个溶剂及 1,3- 丙二醇的回收率均在 97.65%～ 112.88%，RSD 为 2.2%～ 4.47%。说明准确度良好。

2.3.5　重复性试验

精密称取 **1** 原料药 250 mg，置于 10 mL 量瓶中，共 6 份，精密加入“**2.2**”项下的对照品贮备液 1 mL，加空白溶剂定容，摇匀；另一实验员于不同日期、仪器、依同法操作。计算 2 次试验所得加样回收率的 RSD 值（*n*=12），结果 5 种溶剂和 1,3- 丙二醇分别为 7.75%、3.63%、4.97%、5.18%、4.14%、5.84%，说明重复性良好。

2.3.6　样品测定

按“**2.2**”项下方法分别配制供试品溶液，按“**2.1**”条件测定，用外标法计算各残留溶剂及 1,3-丙二醇含量。结果表明，3 批样品中四氢呋喃含量分别为 0.018 4%、0.028 1%和 0.034 1%（ChP 2020 要求小于 0.072%），其余溶剂及 1,3- 丙二醇均未检出。

3　讨论

3.1　进样方式的选择

1,3- 丙二醇的沸点高、黏度大，在使用顶空进样时不出峰或灵敏度极低，在空白溶剂中加入 10% 的水也无法提高响应；直接进样时连续进样，样品对基线无干扰，故选择操作更为简便的直接进样。

（下转第1675页）

[18] 国家药品监督管理局信息中心. 福建省食品药品安全监管大数据平台——企业全息档案[EB/OL]. (2021-05-16)[2022-10-20]. https://www.nmpaic.org.cn/zhuanti/ypzhjgdxalzjhd/dxal/zhjgal_958/202305/t20230516_387640.html.

[19] 霍凤兰. 稳步推进药品生产非现场监管信息系统试点建设[J]. 中国食品药品监管, 2011, (8): 30-31.

[20] 国家药品监督管理局信息中心.海南省药品检查远程终端系[EB/OL]. (2020-08-19)[2022-10-20]. https://www.nmpaic.org.cn/zhuanti/ypzhjgdxalzjhd/dxal/zhjgal_958/202304/t20230428_387480.html.

[21] 林凡钰, 梁佳琪, 李宗阳, 等. 非现场检查工作挑战及美欧经验借鉴研究[J]. 中国食品药品监管, 2021, (6): 10.

[22] 朱 明, 常丽梅, 符 祝, 等. 移动互联网技术用于药品注册现场检查实践与效果[J]. 中国药业, 2019, **28**(22): 68-70.

[23] 王 丹, 欧阳楠, 陈 颖. 省级职业化药品检查员队伍构建现状分析[J]. 中国药业, 2021, **30**(2): 11-14.

(上接第1662页)

3.2 色谱柱的选择

需要测定的残留溶剂及有关物质的极性及沸点范围较宽，考察了不同型号色谱柱：DB-1型、DB-5型、DB-WAX型、CAM型和HP-5型。最终选择固定相为聚乙二醇的DB-WAX型色谱柱，各溶剂与有关物质峰形良好，灵敏度可达检测要求（图存编辑部备索）。

3.3 分流比与样品浓度的选择

考察了不同样品浓度及分流比下的各杂质峰形：25 mg/mL、分流比20 ∶ 1；50 mg/mL、分流比20 ∶ 1；50 mg/mL、分流比10 ∶ 1；25 mg/mL、分流比10 ∶ 1。结果表明，在样品浓度为25 mg/mL、分流比为20 ∶ 1时，乙醇和二甲基甲酰胺拥有最佳峰形（图存编辑部备索）。

参考文献：

[1] HIBI S, UENO K, NAGATO S, *et al*. Discovery of 2-(2-oxo-1-phenyl-5-pyridin-2-yl-1,2-dihydropyridin-3-yl)benzonitrile(perampanel): a novel, noncompetitive alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropanoic acid(AMPA) receptor antagonist [J]. *J Med Chem*, 2012, **55**(23): 10584-10600.

[2] 仇永富, 唐 璐, 黄 雷, 等. 吡仑帕奈合成工艺的改进[J]. 中国医药工业杂志, 2022, **53**(7): 969-972.