

阿戈美拉汀不纯品中杂质相对校正因子的测定

王 祎¹, 刘 颖¹, 兰 静², 韩建萍^{1*}, 田青松¹

1. 天津泰普药品科技发展有限公司, 天津 300193

2. 天津市药品审评中心, 天津 300191

摘要: **目的** 测定阿戈美拉汀不纯品中杂质相对校正因子。**方法** 利用多个未知量联立方程法计算阿戈美拉汀杂质的相对校正因子, 并对本法进行对比验证。**结果** 计算出二氢阿戈美拉汀粗品和四氢阿戈美拉汀粗品的相对校正因子, 即 $f_2=0.228$, $f_4=0.065$, 并利用相对校正因子计算供试品中各组分质量分数, 确定杂质的定量方法。**结论** 该方法可用于检测含多个未知校正因子组分的样品, 省去阿戈美拉汀样品提纯的繁琐, 为杂质定量方法的确定提供参考。

关键词: 阿戈美拉汀; 杂质; 相对校正因子; 联立方程法

中图分类号: R927.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2012)04 - 0370 - 04

Determination of relative correction factor of impurity in crude agomelatine

WANG Yi¹, LIU Ying¹, LAN Jing², HAN Jian-ping¹, TIAN Qing-song¹

1. Tianjin Taipu Pharmaceutical Science & Technology Development Co., Ltd., Tianjin 300193, China

2. Tianjin Center for Drugs Evaluation, Tianjin 300191, China

Abstract: Objective To determine the relative correction factor of impurity in crude agomelatine. **Methods** The combination of several unknown parameters was used to establish simultaneous equations for calculating relative correction factor of impurity in agomelatine, and this method was verified by contrast test. **Results** The relative correction factors of crude dihydroagomelatine and crude tetrahydroagomelatine were obtained by this method with f_2 being 0.228 and f_4 being 0.065. Based on relative correction factors, content of each component in samples was calculated, and the quantitative methods of impurities were established. **Conclusion** This method could be used for determination of samples with multi relative correction factors without purifying and provide guidance for the quantitative method of impurity.

Key words: agomelatine; impurity; relative correction factor; simultaneous equations

目前, 相对校正因子不但对杂质的定量尤为重要, 还决定了杂质的定量方法^[1], 而要想准确测定相对校正因子, 需要待测物为纯品, 或明确其质量分数。但在早期研发中, 很难得到已知杂质的纯品, 其中可能包含多个未知校正因子的杂质, 因此不宜采用纯品计算方法获得相对校正因子。本实验对阿戈美拉汀的杂质, 即二氢阿戈美拉汀和四氢阿戈美拉汀^[2-3]进行相对校正因子测定, 结构见图 1。由于 3 种物质结构相似, 因此对杂质的提纯尤为困难。本实验首先通过优化色谱条件使被测样品各组分分离良好, 且组分样品量与色谱检测响应值成线性关系^[4], 再利用多个未知量联立方程法计算出两杂质相对于阿戈美拉汀的校正因子。

1 仪器与材料

LC-10AT vp plus 型高效液相色谱仪、SPD-10A vp plus 型检测器 (日本岛津公司); 阿戈美拉汀对照品、二氢阿戈美拉汀粗品、四氢阿戈美拉汀粗品、四氢阿戈美拉汀精制品均为自制; 甲醇、乙腈 (色谱纯, 天津市康科德科技有限公司); 水为超纯水; 磷酸二氢钠、磷酸 (分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Kromasil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-乙腈-20 mmol/L 磷酸二氢钠水溶液 (磷酸调至 pH 2.7) (28:24:48); 体积

收稿日期: 2012-05-04

作者简介: 王 祎 (1985—), 女, 研究实习员, 主要从事药物分析研究。Tel: (022)23006182 E-mail: wangy@tjipr.com

*通讯作者 韩建萍, 助理研究员。E-mail: hanjp@tjipr.com

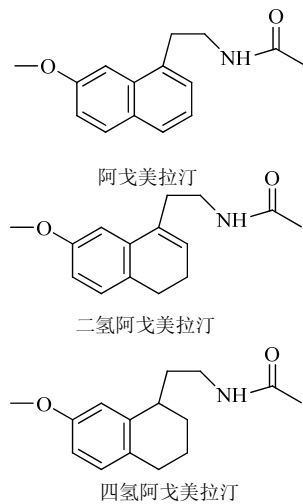


图 1 各化合物的结构

Fig. 1 Structures of each compound

流量为 1.0 mL/min, 柱温为 40 °C, 进样量为 20 μ L, 检测波长为 230 nm。

2.2 溶液的制备

分别精密称取阿戈美拉汀对照品、四氢阿戈美拉汀粗品、二氢阿戈美拉汀粗品 12.5 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 甲醇溶解并稀释至刻度。精密吸取 1 mL

置 10 mL 量瓶中, 流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得 0.05 mg/mL 溶液。

2.3 线性关系考察

将 0.05 mg/mL 各溶液分别稀释成 0.005、0.025、0.040、0.050、0.060 mg/mL 阿戈美拉汀溶液、二氢阿戈美拉汀溶液和四氢阿戈美拉汀溶液, 分别进样 20 μ L, 记录峰面积。以峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 进行线性回归, 得回归方程。阿戈美拉汀: $Y=3.6 \times 10^8 X+95\ 886.7$ ($r=0.999\ 8$), 二氢阿戈美拉汀: $Y=8.0 \times 10^8 X+2\ 646.3$ ($r=1.000\ 0$), 四氢阿戈美拉汀: $Y=2.0 \times 10^7 X+9\ 470.1$ ($r=0.999\ 8$)。表明阿戈美拉汀在 0.100 1~1.201 0 μ g 线性关系良好。由于其他两杂质为粗品, 结果表明在稀释范围内主峰峰面积与其质量浓度呈线性。

2.4 相对校正因子的测定

取溶液, 进样 20 μ L, 以阿戈美拉汀对照品主峰峰面积计算阿戈美拉汀归一化法计算结果为 100% 的峰面积。二氢阿戈美拉汀、四氢阿戈美拉汀相对于阿戈美拉汀的相对校正因子分别为 f_2 、 f_4 , 归一化法计算结果小于 1% 的其他杂质校正因子可视为与阿戈美拉汀一致。色谱图见图 2。

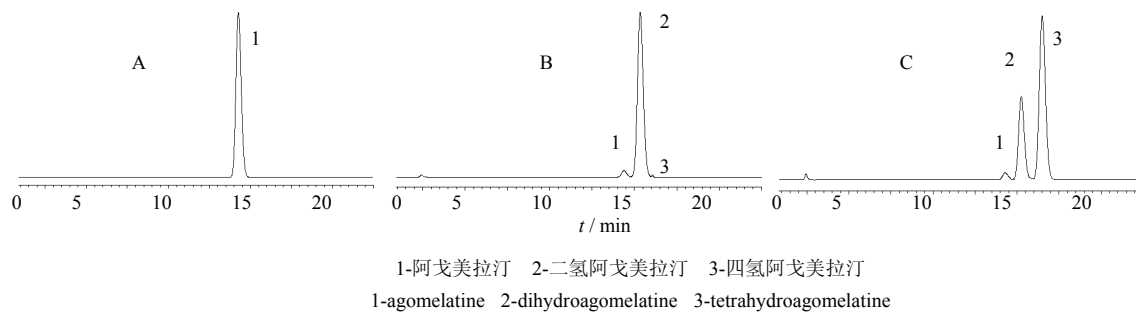


图 2 阿戈美拉汀对照品 (A)、二氢阿戈美拉汀粗品 (B)、四氢阿戈美拉汀粗品 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC chromatograms of agomelatine reference substance (A), crude dihydroagomelatine (B), and crude tetrahydroagomelatine (C)

按照下式计算相对校正因子。

$$f_2 = A_{2-2} / C_2 [A_5 / (C_5 N_5) - (A_{2-5} + A_{2-4} / f_4 + A_2) / C_2]$$

$$f_4 = A_{4-4} / C_4 [A_5 / (C_5 N_5) - (A_{4-5} + A_{4-2} / f_2 + A_4) / C_4]$$

A_5 -阿戈美拉汀对照品中阿戈美拉汀的峰面积 A_{2-2} -二氢阿戈美拉汀粗品中二氢阿戈美拉汀的峰面积 A_{2-4} -二氢阿戈美拉汀粗品中四氢阿戈美拉汀的峰面积 A_{2-5} -二氢阿戈美拉汀粗品中阿戈美拉汀的峰面积 A_2 -二氢阿戈美拉汀粗品中其他杂质的总峰面积 A_{4-4} -四氢阿戈美拉汀粗品中四氢阿戈美拉汀的峰面积 A_{4-2} -四氢阿戈美拉汀粗品中二氢阿戈美拉汀的峰面积 A_4 -四氢阿戈美拉汀粗品中其他杂

质的总峰面积 A_{4-5} -四氢阿戈美拉汀粗品中阿戈美拉汀的峰面积 C_5 -阿戈美拉汀对照品的质量浓度 C_2 -二氢阿戈美拉汀粗品的质量浓度 C_4 -四氢阿戈美拉汀粗品的质量浓度 N_5 -阿戈美拉汀对照品中阿戈美拉汀的质量分数

将各组分峰面积及样品质量浓度代入上述公式, 联立解得 $f_2=0.228$, $f_4=0.065$ 。根据 f_2 、 f_4 计算出供试品中各组分的实际质量分数, 结果见表 1。

由于 f_2 在 0.2~5.0^[1], 因此二氢阿戈美拉汀可采用加校正因子的主成分自身对照法进行定量, 而不必提供纯品; 而 f_4 超出 0.2~5.0^[1], 因此四氢阿

表 1 阿戈美拉汀各样品中各组分的测定结果

Table 1 Determination of each component in various agomelatine samples

样品及成分	峰面积	检测质量分数/%	相对校正因子	实际质量分数/%
阿戈美拉汀对照品				
阿戈美拉汀	18 287 971	100		
二氢阿戈美拉汀粗品				
二氢阿戈美拉汀	4 033 831	92.09	0.228	96.51
阿戈美拉汀	156 799	3.58	1.000	0.86
四氢阿戈美拉汀	20 359	0.46	0.065	1.71
其他	169 410	3.87	1.000	0.92
四氢阿戈美拉汀粗品				
四氢阿戈美拉汀	1 046 575	66.30	0.065	88.06
阿戈美拉汀	39 172	2.48	1.000	0.21
二氢阿戈美拉汀	487 732	30.90	0.228	11.70
其他	5 103	0.32	1.000	0.03

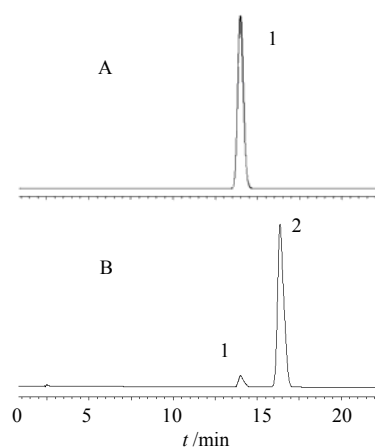
戈美拉汀需采用杂质对照品外标法对杂质进行定量,所以取得该杂质的纯品势在必行。需强调的是,本方法只限于初期研发的杂质研究,在确定杂质的定量方法后,以上杂质还需在各自对照的浓度范围内重新进行线性关系考察和相对校正因子测定。

2.5 相对校正因子验证

在得到四氢阿戈美拉汀精制品后,对四氢阿戈美拉汀相对校正因子进行验证。精密称取阿戈美拉汀对照品、四氢阿戈美拉汀精制品依 2.2 项下方法配制成 0.05 mg/mL 溶液,进样 20 μ L,色谱图见图 3。通过外标法计算出四氢阿戈美拉汀精制品中阿戈美拉汀的实际质量浓度,求出该供试品中四氢阿戈美拉汀的实际质量浓度,并根据该质量浓度与峰面积计算相对校正因子。按上述方法各测 3 组,计算均值,得 0.071,与前文所求 $f_4=0.065$ 接近,结果见表 2。

3 讨论

该方法相当于多个未知数联立方程求解,可推



1-阿戈美拉汀 2-四氢阿戈美拉汀
1-agomelatine 2-tetrahydroagomelatine

图 3 阿戈美拉汀对照品(A)和四氢阿戈美拉汀精制品(B) HPLC 色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of agomelatine reference substance (A) and refined tetrahydroagomelatine (B)

表 2 相对校正因子验证结果

Table 2 Verification results of relative correction factor

样品及成分	峰面积	检测质量分数/%	相对校正因子	实际质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
阿戈美拉汀对照品				
阿戈美拉汀	18 394 652	100		50.20
四氢阿戈美拉汀精制品				
阿戈美拉汀	76 968		1.000	0.20
四氢阿戈美拉汀	1 308 903		0.071	49.87

广至两个以上未知相对校正因子的求解, 即

$$f_i = A_{i,i} / C_i [A_S / (C_S N_S) - (A_{i-1} / f_1 + A_{i-2} / f_2 + \dots + A_{i-n} / f_n + A_i) / C_i]$$

f_i -供试品中某组分的待求相对校正因子 f_1, f_2, \dots, f_n -供试品中已知或其他组分待求的相对校正因子 $A_{i,i}$ -供试品中某组分的峰面积 A_S -相对校正因子为 1.00 的组分的对照品峰面积 $A_{i-1}, A_{i-2}, \dots, A_{i-n}$ -供试品中已知或其他待求相对校正因子组分的峰面积 A_i -供试品中可忽略相对校正因子的杂质峰面积总和 C_S -相对校正因子为 1.00 的组分的对照品浓度 C_i -供试品的浓度 N_S -相对校正因子为 1.00 的组分的对照品中该组分的质量分数

此外, 与其有关的多个供试品之间须在含量上有所差异, 即有几个组分求相对校正因子就须列出相应个数的关联式^[4]。

该方法可广泛用于检测早期研发中带有多个未知校正因子组分的样品, 尤其是应对合成的反应监

测和中间体质量的控制, 快速便捷, 省去了样品提纯的繁琐, 同时也为最终杂质定量方法的确定提供了参考。

参考文献

- [1] 张哲峰. HPLC 法校正因子研究中的几个问题 [OL]. (2011-12-07). [2012-4-18]. <http://www.cde.org.cn/dzkw.do?method=largePage&id=312552>.
- [2] Zhang P, Huang Y, Yuan Z D, *et al.* Agomelatine intermediates and preparation method thereof [P]. WO: 2011/153939, 2011-12-15.
- [3] Graciela T D, Pia M C, Beatriz G M, *et al.* New process for the preparation of *N*-[2-(7-methoxy-1-naphthyl)-ethyl] acetamide and new crystalline form [P]. WO: 2011/154140, 2011-12-15.
- [4] 喻华达. 无纯样色谱校正因子测定的补充报告 [J]. 分析试验室, 2007, 26(增刊): 255-257.