

Determination of p-Toluenesulfonamide Content in Gliclazide

Lekun Wei

Pharmaceutical Industry Research Institute of Shandong Province, Jinan
Email: wlk1212@163.com

Received: Aug. 6th, 2012; revised: Aug. 15th, 2012; accepted: Aug. 24th, 2012

Abstract: Objective: To establish a method for the determination of p-Toluenesulfonamide content in Gliclazide. **Methods:** Using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method with an Agilent ZORBAX Eclipse XDB C8 column. External standard method for quantitative. **Results:** The liner range of impurity p-Toluenesulfonamide was 0.4 - 1.2 g/ml, which showed good linearity ($r = 0.9993$). The average recovery was 99.1%. **Conclusions:** The method is simple, accurate and sensitive. It can be used for the determination of p-Toluenesulfonamide limit in Gliclazide.

Keywords: High Performance Liquid Chromatography (HPLC); Gliclazide; p-Toluenesulfonamide

格列齐特中对甲苯磺酰胺含量的测定

魏乐坤

山东省医药工业研究所, 济南
Email: wlk1212@163.com

收稿日期: 2012年8月6日; 修回日期: 2012年8月15日; 录用日期: 2012年8月24日

摘要: 目的: 建立格列齐特中对甲苯磺酰胺含量的测定方法。**方法:** 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Agilent ZORBAX Eclipse XDB C8 柱, 用外标法定量。**结果:** 待测杂质对甲苯磺酰胺在 0.4~1.2 $\mu\text{g/ml}$ 范围内线性关系良好($r = 0.9993$), 平均回收率($n = 9$)为 99.1%。**结论:** 此方法简单、准确、灵敏度高, 可用于格列齐特中对甲苯磺酰胺的杂质检查。

关键词: 高效液相色谱法; 格列齐特; 对甲苯磺酰胺

1. 引言

格列齐特为磺酰脲类降血糖药物。适用于成人非胰岛素依赖型 2 型糖尿病患者, 在国内外应用广泛。对甲苯磺酰胺为对甲苯磺酰脲(合成格列齐特的起始原料)中的主要杂质, 也是格列齐特生产过程中引入的主要杂质之一, 对该杂质的控制中国药典未规定, 在欧洲药典^[1]中列出对甲苯磺酰胺为需控制的杂质, 但未给出检测方法。

中国是世界上原料药出口大国, 对于出口欧洲的产品均需要向欧盟提出注册认证申请, 并提交药品主文件(Drug master file), 然而如何对欧洲药典列出的所有杂质进行分析和控制, 是药品主文件的核心内容^[2],

按照国外注册 ICH 指南^[3]的要求, 需要对药品生产中可能的杂质进行鉴定和控制。

本文参考的相关文献^[4], 提出用高效液相色谱(HPLC)方法对甲苯磺酰胺进行检测, 通过对各种色谱条件的选择, 最终采用欧洲药典专论中格列齐特检测项下的色谱方法对该杂质的含量进行检测(采用欧洲药典色谱条件更容易为欧洲官方认可, 对通过欧洲的注册文件评审有较强的现实意义), 同时参照中国药典验证要求^[5]和 ICH 分析方法验证指南^[6], 对分析方法进行了验证, 验证结果表明方法的灵敏度高, 结果准确, 可对该杂质进行有效控制, 可以保证产品质量, 有针对性的加强产品生产过程中的质量控制提供参考。

2. 仪器与试剂

2.1. 仪器

Agilent 1260 液相色谱仪(美国安捷伦公司), 四元泵, VWD 紫外检测器, Agilent 化学工作站; Mettler AB265-S 电子天平(梅特勒-托利多公司)。

2.2. 试剂

乙腈(色谱纯试剂); 三乙胺(优级纯试剂); 三氟乙酸(优级纯试剂); 对甲苯磺酰胺(进口试剂, Alfa Aesar 公司生产)。

3. 方法与结果

3.1. 色谱条件

色谱柱: Agilent ZORBAX Eclipse XDB C8(25 cm × 4 mm)不锈钢色谱柱; 检测器:VWD 紫外检测器; 流动相: 由三乙胺:三氟乙酸:乙腈:水(0.1:0.1:45:55)组成; 流速: 0.9 ml/分钟; 检测波长: 235 nm; 进样量: 20 μ l。

3.2. 溶液制备

供试品溶液: 取格列齐特样品 50 mg, 精密称定, 溶于 23 ml 乙腈中, 用水稀至 50 ml。

对照品溶液: 取对甲苯磺酰胺 10 mg, 精密称定, 溶于 50 ml 乙腈中, 加水稀释到 100 ml; 精密吸取 1 ml, 加乙腈:水(45:55, V/V)的混合溶液稀释至 100 ml。

3.3. 专属性实验

称取 50 mg 对甲苯磺酰胺, 加流动相溶解并稀释至 100 ml, 分取 1 ml, 与 1 ml 供试品溶液混合均匀后进样, 记录色谱图(见图 1, 图中峰 1 为甲苯磺酰胺, 峰 2 为格列齐特, 倒峰为溶剂峰), 由图谱可知, 对甲苯磺酰胺与格列齐特在该色谱条件下可有效分离, 与甲苯磺酰胺相邻位置无其他杂质峰的干扰。

3.4. 精密度实验

取对照品溶液, 按上述条件分别进样 20 μ l, 连续进样 6 次, 记录峰面积, 结果见表 1, 计算相对标准偏差 RSD(%), 结果 RSD 为 1.2%, 表明方法精密度良好。

3.5. 线性关系考察

取对甲苯磺酰胺 10 mg, 精密称定, 溶于 50 ml 乙腈中, 加水稀释到 100 ml, 摇匀; 分别精密吸取 0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 ml, 加乙腈:水(45:55, V/V)的混合溶液稀释至 100 ml, 摇匀。按规定条件分别进样 20 μ l, 记录色谱图, 以溶液浓度 C 对峰面积 A 作线性回归(见图 2), 计算回归方程及相关系数, 结果回归方程为 $A = 16.4C - 0.14$, 相关系数 $r = 0.9993$ 。

对甲苯磺酰胺溶液在 0.4~1.2 μ g/ml 浓度范围内与峰面积呈良好的线性关系。

3.6. 回收率试验

精密称取对甲苯磺酰胺约 8.0 mg (80%)、10.0 mg

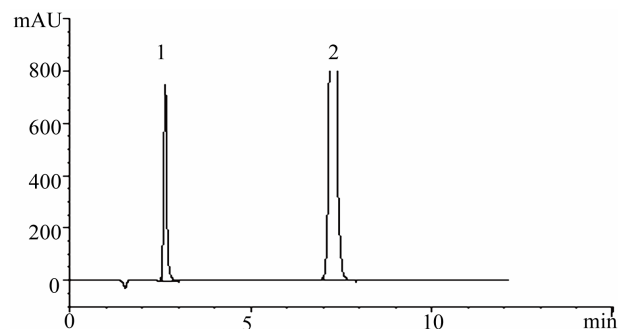


Figure 1. The resolution chromatograms of p-Toluenesulfonamide & Gliclazide

图 1. 对甲苯磺酰胺与格列齐特分离图谱

Table 1. The results of precision testing
表 1. 精密度实验结果(n = 6)

| 测定次数 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 平均 |
|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 峰面积 | 16.2 | 15.7 | 15.9 | 16.0 | 15.7 | 15.9 | 15.9 |

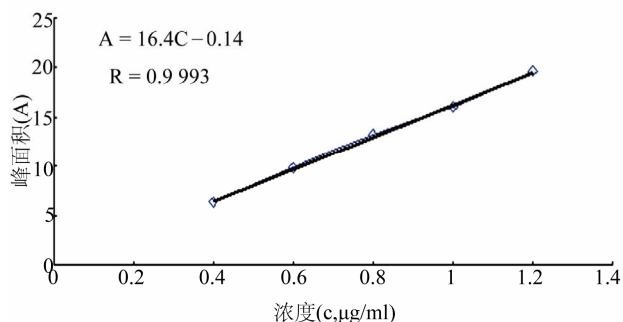


Figure 2. The linearity chart of p-Toluenesulfonamide
图 2. 甲苯磺酰胺工作曲线

(100%)、12.0 mg (120%)各三份, 溶于 50 ml 乙腈中, 加水稀释到 100 ml, 分别精密吸取 1.0 ml, 置预先称有 100 mg 格列齐特样品的 100 ml 容量瓶中, 加乙腈:水(45:55, V/V)的混合溶液溶解并稀释至 100 ml, 摇匀, 作为回收率试验溶液; 另精密称取甲苯磺酰胺约 10.0 mg, 溶于 50 ml 乙腈中, 加水稀释到 100 ml, 精密吸取 1.0 ml, 加乙腈:水(45:55, V/V)的混合溶液溶解并稀释至 100 ml, 摇匀。作为回收率对照溶液; 分别精密量取上述回收率试验溶液和对照溶液 20 μ l, 按规定条件分别进样, 记录色谱图, 计算, 结果见下表(表 2), 平均回收率(n = 9)为 99.1%, RSD(n = 9)为 1.3%。

3.7. 检测限和定量限

取回收率项下对照溶液稀释 30 倍, 按分析方法规定条件进样, 信噪比约 3:1, 检测限 0.033 μ g/ml (0.003%)。取回收率项下对照溶液稀释 15 倍, 按分析方法规定条件进样, 信噪比约 10:1, 定量限为 0.067 μ g/ml (0.007%)。

3.8. 样品的测定

分别取格列齐特连续三批样品(1101002, 1101003, 1101004), 按拟定的分析方法检查其中的对甲苯磺酰胺含量, 结果所有批号均检出该杂质, 该杂质含量分别为 0.03%, 0.02%和 0.04%。对甲苯磺酰胺对照溶液的图谱见图 3(主峰为对甲苯磺酰胺, 倒峰为溶剂峰), 样品检测图谱见图 4(峰 1 为甲苯磺酰胺, 峰 2 为格列齐特, 未积分峰为其他杂质峰, 倒峰为溶剂峰)。

Table 2. The results of recovery testing
表 2. 回收率试验结果

| 序号 | 加入量(mg) | 测得量(mg) | 回收率(%) |
|----|---------|---------|--------|
| 1 | 8.18 | 8.02 | 98.04 |
| 2 | 8.38 | 8.16 | 97.37 |
| 3 | 8.11 | 7.98 | 98.40 |
| 4 | 10.16 | 10.20 | 100.39 |
| 5 | 10.47 | 10.20 | 97.42 |
| 6 | 10.73 | 10.70 | 99.72 |
| 7 | 12.57 | 12.56 | 99.92 |
| 8 | 12.19 | 12.26 | 100.57 |
| 9 | 12.31 | 12.30 | 99.92 |

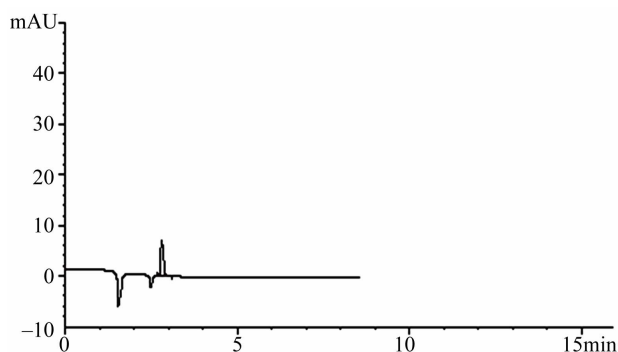


Figure 3. The chromatograms of p-Toluenesulfonamide reference solution
图 3. 对甲苯磺酰胺对照溶液的图谱

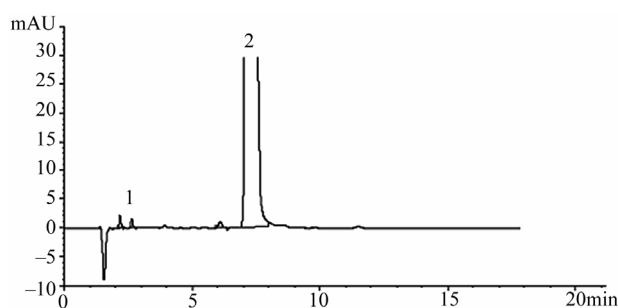


Figure 4. The chromatograms of Gliclazide sample solution
图 4. 格列齐特样品溶液图谱

4. 讨论

格列齐特中的杂质对甲苯磺酰胺来源是通过对甲苯磺酰胺(格列齐特的合成的起始原料)引入到该产品中^[7]。上述实验过程表明, 该杂质在格列齐特中每批均可检出, 在合成工艺和产品检测中对该杂质进行控制是完全必要的, 对该杂质的控制有利于提高产品质量, 对药品生产企业有效控制产品中的杂质, 提高产品质量, 保证用药安全均具有重要意义。对于指导生产, 优化工艺均具有指导意义。

格列齐特为中国药典和欧洲药典收载品种, 本文参照了中国药典和欧洲药典有关杂质控制的要求, 采用高效液相色谱法对格列齐特中的特殊杂质对甲苯磺酰胺进行检查, 方法的回收率、精密度及检测限等均达到要求, 同时由于该杂质为欧洲药典载明需要控制的杂质, 确定该杂质的控制方法对产品在欧洲高端市场的注册认证均具有较强的现实意义。

参考文献 (References)

- [1] Ph.Eur (欧洲药典). 7.0.

格列齐特中对甲苯磺酰胺含量的测定

- [2] 裴中阳, 梁毅. 原料药出口 DMF 注册文件中的杂质研究[J]. 机电信息, 2011, 10(29): 32-35.
- [3] ICH Guideline. Impurities in new drug substances Q3A (R2).
- [4] 唐淼荣, 章小波. 高效液相色谱法测定邻、间、对甲苯磺酰胺[J]. 色谱, 1996, 14(2): 144.
- [5] ChP(中国药典). 2010. Vol II. 附录 XIX A.
- [6] ICH Guideline. Validation of analytical procedures: Test and methodology Q2(R1).
- [7] 王国安. 格列齐特欧洲药典列出杂质的探讨[J]. 宁波化工, 2006, 3(4): 16-23.