



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104280480 A

(43) 申请公布日 2015. 01. 14

(21) 申请号 201310274862. 9

(22) 申请日 2013. 07. 02

(71) 申请人 天津药物研究院

地址 300193 天津市南开区鞍山西道 308 号

(72) 发明人 张海枝 刘鹏 李川 石玉

李祎亮 魏群超 徐为人

(51) Int. Cl.

G01N 30/06 (2006. 01)

权利要求书1页 说明书3页 附图1页

(54) 发明名称

一种分离检测安立生坦及其有关物质的方法

(57) 摘要

本发明属于药物分析领域,涉及一种等度洗脱高效液相色谱法用于分离安立生坦及其七种有关物质。其主要技术特征在于以 C8 或者 C18 色谱柱为固定相,以乙腈 / 水 / 冰乙酸混合溶液为流动相,优化流速和柱温,检测波长为 190-230nm,建立了快速优良的分离体系,适于同时分离安立生坦及其七种有关物质。本发明体系采用等度洗脱方法,对分离仪器的耗损降低,实验分离基线平稳,噪音较小,分离结果重现性良好。本发明分离对象广,实用性强,成本低廉,环境友好,实验操作简单,分离条件可控,建立了安立生坦的新型质量控制方法,同时为其七种有关物质的检测分析提供了新的方法,具有广泛的用途。

1. 一种分离检测安立生坦及其有关物质的方法,其特征在于,所述方法采用等度洗脱高效液相色谱法,色谱条件如下:

色谱柱:长链烷基键合的 C8 或者 C18 柱;

流动相:乙腈/水/冰乙酸混合溶液体系;其中乙腈比例为 50%-60%,纯水比例为 40%-50%,冰乙酸含量为 0.1%-0.5%;

流速:0.5-1.0mL/min;

检测波长:190-230nm;

检测器:紫外检测器或者二极管阵列检测器。

2. 根据权利要求 1 所述的一种分离检测安立生坦及其有关物质的方法,其特征在于,所述的流动相组成为乙腈/水/冰乙酸=55/45/0.25。

3. 根据权利要求 1 所述的一种分离检测安立生坦及其有关物质的方法,其特征在于,所述的流速为 0.7-0.9mL/min。

4. 根据权利要求 1 所述的一种分离检测安立生坦及其有关物质的方法,其特征在于,所述的柱温为 20-40°C。

5. 根据权利要求 4 所述的一种分离检测安立生坦及其有关物质的方法,其特征在于,所述的柱温为 30-40°C。

6. 根据权利要求 1 所述的一种分离检测安立生坦及其有关物质的方法,其特征在于,所述的检测波长为 210-230nm。

7. 根据权利要求 1 所述的一种分离检测安立生坦及其有关物质的方法,其特征在于,所述方法中所用的样品由流动相溶解配置。

一种分离检测安立生坦及其有关物质的方法

技术领域

[0001] 本发明属于药物分析领域,具体涉及建立一种新型高效液相色谱分离方法用于安立生坦及其七种有关物质的分析检测。

背景技术

[0002] 安立生坦(ambrisentan),化学名称为:(2S)-(4,6-二甲基嘧啶-2-氧基)-3-甲氧基-3,3-二苯基丙酸,是由美国丹佛 Myogen 生物制药公司开发的一种用于治疗肺动脉高压的高选择性内皮素(ETA)受体拮抗剂,可强效抑制内皮素所致血管收缩。该药物于 2007 年 6 月 15 日获得美国 FDA 批准,临床上用于肺动脉高血压,因其具有高效、低毒的特点,已成为一个市场前景广阔的抗肺动脉高压药物。

[0003] 目前文献报道中安立生坦主要通过化学合成途径制得,以二苯甲酮为原料,经 Darzens 反应、醇解得化合物 2-羟基-3-甲氧基-3,3-二苯基丙酸甲酯(SRS4),SRS4 在碱性条件下水解得 2-羟基-3-甲氧基-3,3-二苯基丙酸(SRS1),SRS1 与手性拆分剂(S)-1-(4-硝基苯基)-乙胺(SRS2)作用分离得到(S,S)-非对映体复盐,最后在氨基锂作用下与 4,6-二甲基-2-甲基-磺酰嘧啶(SRS5)进行缩合反应、酸化得到安立生坦。基于此复杂的合成路线,建立高效快速的分析方法来检测安立生坦及其合成过程中引入的有关物质显得十分必要。

[0004] 在 Gidwani,ramesh matioram 等人的国际专利中,安立生坦及其五种有关物质的检测采用的是磷酸二氢钠-乙腈体系,梯度洗脱 30min 可完成检测任务。在合成反应监控环节,采用乙腈-水-冰乙酸体系梯度洗脱,20min 内完成监控任务。在 Ramakrishna Nirogi 等人在 Biomedical Chromatography 杂志 2012 年 26 期上发表的文章(LC-ESI-MS/MS method for quantification of ambrisentan in plasma and application to rat pharmacokinetic study)中,作者采用乙腈-水-甲酸体系梯度洗脱来完成安立生坦及其两种血浆代谢产物的检测分析。

[0005] 总而言之,现有报道中安立生坦及其有关物质的分析方法均采用梯度洗脱高效液相方法,该方法对于色谱仪器要求较高,成本高昂,而且梯度在线混合极易造成基线不稳,使得所采集信号的信噪比降低,影响样品定量分析结果的精密度与准确度。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供一种新的高效液相色谱法用于同时分离安立生坦及其七种有关物质,避免梯度洗脱带来的基线波动和定量准确度问题,最终建立安立生坦的新型,高效质量控制方法,同时为其七种有关物质的检测分析提供了新方法。

[0007] 本发明目的主要通过以下技术方案实现的:

[0008] 一种等度洗脱高效液相色谱法用于分离安立生坦及其七种有关物质,主要包括分离对象,色谱柱的选用,流动相的组成,流速,柱温,检测波长以及样品配置。

[0009] 本发明所述的分离对象分别为安立生坦,二苯甲酮,2-羟基-3-甲氧基-3,3-二

苯基丙酸(SRS1), (S)-1-(4-硝基苯基)-乙胺(SRS2), 3,3-二苯基-2,3-环氧丙酸甲酯(SRS3), 2-羟基-3-甲氧基-3,3-二苯基丙酸甲酯(SRS4), 4,6-二甲基-2-甲基-磺酰嘧啶(SRS5), 4,6-二甲基-2-(2,2-二苯基-乙烯氧基)嘧啶(DP1)。

[0010] 本发明所述的色谱柱为长链烷基键合的 C8 或者 C18 柱。

[0011] 本发明所述的流动相组成为乙腈 / 水 / 冰乙酸混合溶液体系, 其中乙腈比例为 50%-60%, 纯水比例为 40%-50%, 冰乙酸含量为 0.1%-0.5%。

[0012] 本发明所述的流速为 0.5-1.0mL/min, 优选为 0.7-0.9mL/min。

[0013] 本发明所述的柱温为 20-40℃, 优选为 30-40℃。

[0014] 本发明采用紫外检测器或者二极管阵列检测器, 检测波长为 190-230nm, 优选为 210-230nm。

[0015] 本发明中所用的样品均由流动相溶解配置。

[0016] 本发明的优点和效果是:

[0017] 本发明建立了一种新型的等度洗脱高效液相色谱法用于分离安立生坦及其七种有关物质。该方法分离对象广, 实用性强, 对仪器要求低, 仪器损耗小, 成本低廉, 操作简单, 分离基线平稳, 灵敏度高, 分析结果精准可靠, 具有广泛的应用前景。

附图说明

[0018] 图 1 是实施例 1 中所述的色谱图, 峰形确认为: 1. SRS2; 2. SRS5; 3. SRS1; 4. 安立生坦; 5. SRS4; 6. 对苯二酮; 7. SRS3; 8. DP1。

具体实施方式

[0019] 下面结合实施例对本发明作进一步的说明, 但本发明的技术方案并不限于如下实施例。

[0020] 实施例 1

[0021] 以含有安立生坦, 二苯甲酮, 2-羟基-3-甲氧基-3,3-二苯基丙酸(SRS1), (S)-1-(4-硝基苯基)-乙胺(SRS2), 3,3-二苯基-2,3-环氧丙酸甲酯(SRS3), 2-羟基-3-甲氧基-3,3-二苯基丙酸甲酯(SRS4), 4,6-二甲基-2-甲基-磺酰嘧啶(SRS5) 和 4,6-二甲基-2-(2,2-二苯基-乙烯氧基)嘧啶(DP1) 的混合样品为例, 选用十八烷基键合的 C18 色谱柱(Waters symmetry, C18, 5 μm, 150mmx4.6mm), 流动相为乙腈 / 水 / 冰乙酸 =55/45/0.25, 流速为 1.0mL/min, 柱温为 35℃, 紫外检测器, 检测波长为 220nm, 分离结果见图 1。利用该方法, 35min 内安立生坦及其七种有关物质即可分析完毕, 主成分峰明显, 柱压无明显改变, 分离基线平稳, 分离结果良好。

[0022] 实施例 2

[0023] 以安立生坦样品纯度测定为例, 称取安立生坦固体样品 1.0mg, 置于 2.0mL 容量瓶中, 加入流动相充分溶解。选用辛基键合的 C8 色谱柱(Dikma diamondsil, C8, 5 μm, 150mmx4.6mm), 流动相为乙腈 / 水 / 冰乙酸 =60/40/0.25, 流速为 0.5mL/min, 柱温为 30℃, 紫外检测器, 检测波长为 210nm。利用该方法可准确测定安立生坦样品的纯度, 主成分峰明显, 微量杂质可准确检出。

[0024] 实施例 3

[0025] 以安立生坦样品纯度测定为例,称取安立生坦固体样品 1.0mg,置于 2.0mL 容量瓶中,加入流动相充分溶解。选用十八烷基键合的 C18 色谱柱(Waters symmetry, C18, 5 μ m, 150mmx4.6mm),流动相为乙腈 / 水 / 冰乙酸 =50/50/0.2,流速为 0.8mL/min,柱温为 30 $^{\circ}$ C,紫外检测器,检测波长为 190nm。利用该方法可准确测定安立生坦样品的纯度,主成分峰明显,微量杂质可准确检出。

[0026] 实施例 4

[0027] 以安立生坦合成反应最后一步,即 2-羟基-3-甲氧基-3,3-二苯基丙酸(SRS1)与 4,6-二甲基-2-甲基-磺酰嘧啶(SRS5)进行缩合反应的监控测定为例,定时取反应液 20 μ L,用流动相稀释 1000 倍进样分析,选用十八烷基键合的 C18 色谱柱(Waters symmetry, C18, 5 μ m, 150mmx4.6mm),流动相为乙腈 / 水 / 冰乙酸 =50/50/0.15,流速为 0.9mL/min,柱温为 40 $^{\circ}$ C,紫外检测器,检测波长为 230nm。利用该方法可在 20min 内对安立生坦合成的最后一步反应进行监控,结果精准,为合成反应提供指导意见。

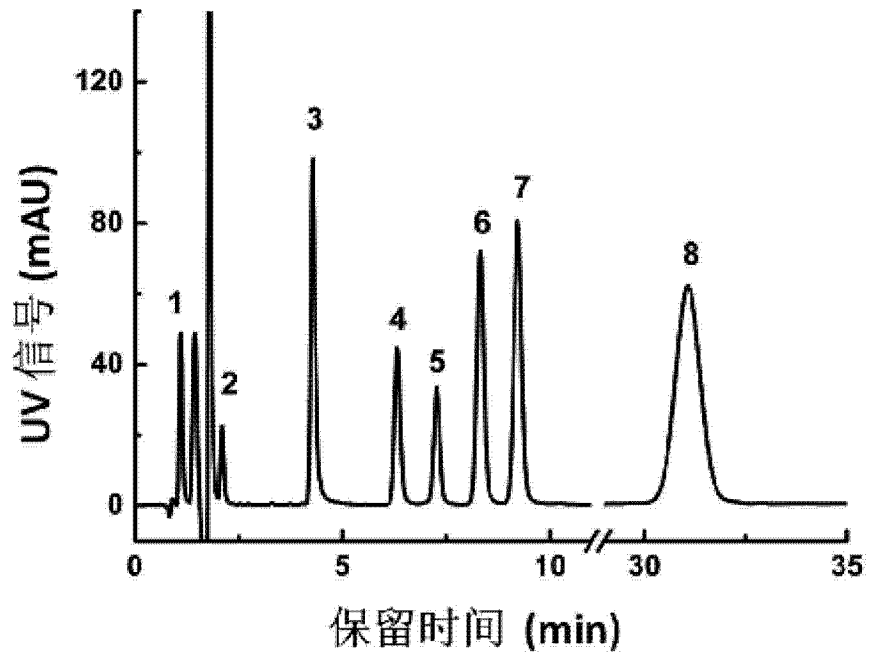


图 1