



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 104391058 B

(45) 授权公告日 2015. 12. 02

(21) 申请号 201410692721. 3

(22) 申请日 2014. 11. 25

(73) 专利权人 广东东阳光药业有限公司

地址 523808 广东省东莞市松山湖北部工业园工业北路1号

(72) 发明人 杨丽珍 罗勇峰 杨凤智

(74) 专利代理机构 北京品源专利代理有限公司 11332

代理人 巩克栋 杨晞

(51) Int. Cl.

G01N 30/02(2006. 01)

(56) 对比文件

WO 2013007765 A1, 2013. 01. 17, 全文.

CN 103288808 A, 2013. 09. 11, 全文.

CN 103476770 A, 2013. 12. 25, 全文.

WO 2014063778 A1, 2014. 05. 01, 全文.

CN 103755688 A, 2014. 04. 30, 全文.

Eunice L. Kwak 等. Phase 2 Trial of Afatinib, an ErbB Family Blocker, in Solid Tumors Genetically Screened for Target Activation. 《Cancer》. 2013, 第 119 卷 (第 16 期), 第 3043-3051 页.

Flavio Solca 等. Target Binding Properties and Cellular Activity of

Afatinib (BIBW 2992), an Irreversible ErbB Family Blocker. 《THE JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS》. 2012, 第 343 卷 (第 2 期), 第 342-350 页.

Paul Slobbe 等. Development of [18F] afatinib as new TKI-PET tracer for EGFR positive tumors. 《Nuclear Medicine and Biology》. 2014, 第 41 卷 (第 9 期), 第 749-757 页.

陈玉青 等. 直链淀粉手性固定相法分离利阿唑对映体. 《色谱》. 2008, 第 26 卷 (第 5 期), 643-645 页.

韩忠丽 等. HPLC 法测定阿法替尼片的含量. 《药学研究》. 2014, 第 33 卷 (第 6 期), 第 337-338 页.

审查员 潘迪

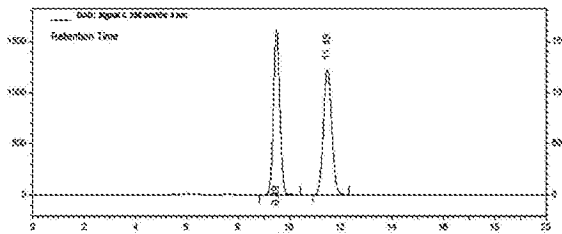
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54) 发明名称

阿法替尼及其异构体的检测方法

(57) 摘要

本发明涉及阿法替尼及其对映异构体的液相分离检测方法,属于分离检测技术领域。所述方法包括:采用 CHIRALPAK OZ-H250mmX4. 6mm, 5 μ m 手性色谱柱为分离色谱柱,以正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺混合溶液为流动相,在一定条件下进行等度洗脱,所述方法可以有效的分离检测阿法替尼及其对映异构体杂质,色谱峰峰型良好。



1. 一种阿法替尼及其异构体的检测方法,包括:在高效液相色谱仪上进行等度检测,色谱柱为 CHIRALPAK OZ-H, 250mm×4.6mm, 5 μm 手性色谱柱;流动相为正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺混合溶液,且正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺的体积比为 550-650:350-250:100:0.1;流速为 0.5mL/min-1.0mL/min;柱温为 15℃-35℃。

2. 根据权利要求 1 所述的方法,检测器为紫外检测器,检测波长为 256nm。

3. 根据权利要求 1 所述的方法,检测的样品的进样量为 0.1 μL-20 μL。

4. 根据权利要求 1 所述的方法,所述流动相的流速为 0.7mL/min。

5. 根据权利要求 1 所述的方法,正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺的体积比为 600:300:100:0.1。

6. 根据权利要求 1-5 任一所述的方法,在高效液相色谱仪上进行等度检测,色谱柱是 CHIRALPAK OZ-H, 250mm×4.6mm, 5 μm;检测器是紫外检测器,检测波长为 256nm;流动相为正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺混合溶液,且正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺的体积比为 600:300:100:0.1;流速为 0.7mL/min;进样量为 2 μL-10 μL;柱温为 30℃;运行时间为 20min。

阿法替尼及其异构体的检测方法

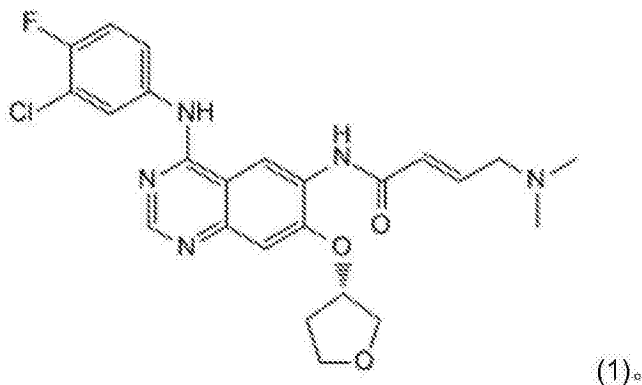
技术领域

[0001] 本发明涉及阿法替尼及其异构体杂质的一种 HPLC 分离检测方法,属于制药技术领域。

背景技术

[0002] 阿法替尼 (Afatinib), 化学名为 (2E)-4-[(3-氯-4-氟苯基)氨基]-6-[[4-(N,N-二甲基氨基)-1-氧代-2-丁烯-1-基]氨基]-7-((3S)-四氢呋喃-3-基氧基)-喹唑啉;是表皮生长因子受体 (EGFR) 和人表皮生长因子受体 2 (HER2) 酪氨酸激酶的不可逆抑制剂,其二马来酸盐已经被批准用于治疗晚期非小细胞肺癌 (NSCLC) 等疾病,阿法替尼结构如式 (1) 所示:

[0003]



[0004] 阿法替尼结构中存在一个手性碳,具有一个对映异构体杂质,在检测阿法替尼过程中,阿法替尼与其对映异构体杂质难以分离、检测。

发明内容

[0005] 发明概述

[0006] 本发明提供了一种简便、有效的 HPLC 分离检测阿法替尼、其对映异构体杂质的方法。

[0007] 本发明人通过多次试验尝试,通过筛选色谱柱和相适应的流动相、流速、柱温等检测条件,得到一种适用于阿法替尼、其对映异构体杂质的分离检测方法,所述方法采用 CHIRALPAK OZ-H, 250mmX4.6mm, 5 μm, 手性色谱柱,为分离色谱柱;以正己烷、乙醇、甲醇、二乙胺混合溶液为流动相;可以将阿法替尼及其对映异构体杂质进行有效分离检测。

[0008] 术语定义

[0009] 术语“分离度”是指 HPLC 检测中,相邻色谱峰保留时间之差与两色谱峰峰宽均值之比。

[0010] 发明详述

[0011] 发明人通过研究,开发了一种分离检测阿法替尼、其对映异构体杂质的方法,方法包括:在高效液相色谱仪上进行,色谱柱为 CHIRALPAK OZ-H, 250mmX4.6mm, 5 μm 手性色谱

柱；流动相为正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺混合溶液，且混合溶剂中，甲醇和二乙胺体积比为 100:0.1，正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺的体积比为 550-650:350-250:100:0.1；柱温为 15°C -35°C；流速为 0.5mL/min-1.0mL/min。

[0012] 发明人曾尝试使用 CHIRALPAK AS-H, 4.6mmX250mm, 5 μm 手性色谱柱；CHIRALPAK[®] IC, 4.6mmX250mm, 5 μm, 手性色谱柱；CHIRALCEL[®] OD-H, 4.6mmX250mm, 5 μm 手性色谱柱；CHIRALCEL[®] OJ-H, 4.6mmX250mm, 5 μm 手性色谱柱等为分析色谱柱；使用相同流动相对供试品进行分析检测，结果显示上述色谱柱对供试品中的依鲁替尼及其对应异构体的分离效果较差，分离度低，在调节流动相比比例亦不能很好的改善分离度和灵敏度；而 CHIRALPAK OZ-H, 250mmX4.6mm, 5 μm 手性色谱柱的分离效果较好。

[0013] 在检测过程中，可以使用流动相或乙醇为稀释溶剂。

[0014] 所述检测方法中，可以使用的检测器有紫外检测器。

[0015] 所述检测方法中，检测的样品的进样量为 0.1 μL-20 μL。在一些实施方式中，检测的样品的进样量为 2 μL-10 μL。在一些实施方式中，检测的样品的进样量为 5 μL。

[0016] 所述检测方法中，检测运行时间可以是 15min-20min。

[0017] 在一些实施方式中，流动相为正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺混合溶液，且正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺的体积比为 550:350:100:0.1。在一实施例中，流动相中，正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺的体积比为 600:300:100:0.1。

[0018] 在一些实施方式中，检测波长为 256nm。

[0019] 在一些实施例中，所述流动相的流速为 0.7mL/min。

[0020] 在一些实施例中，所述柱温为 30°C。

[0021] 在一些实施例中，一种分离检测阿法替尼、其对映异构体杂质的方法包括：在高效液相色谱仪上进行，检测器是紫外检测器，检测波长为 256nm；色谱柱是 CHIRALPAK OZ-H, 250mmX4.6mm, 5 μm 手性色谱柱；流动相为正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺混合溶液，且正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺的体积比为 600:300:100:0.1；流速为 0.6mL/min-0.8mL/min；柱温为 25°C -35°C。

[0022] 在一些实施例中，一种分离检测阿法替尼、其对映异构体杂质的方法包括：在高效液相色谱仪上进行，检测器是紫外检测器，检测波长为 256nm；色谱柱是 CHIRALPAK OZ-H, 250mmX4.6mm, 5 μm 手性色谱柱；流动相为正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺混合溶液，且正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺的体积比为 600:300:100:0.1；流速为 0.7mL/min；进样量为 5 μL；柱温为 30°C；运行时间为 20min。

[0023] 本发明所述的检测方法，能够将阿法替尼及其对映异构体杂质进行有效分离，分离度达到 3.8，从而可以有效控制阿法替尼的质量。本发明的方法能够简单、快捷、准确地分离检测出阿法替尼及其对映异构体杂质，可以用于生产中的质量控制。

附图说明

[0024] 图 1 示实施例 1 中空白溶液的检测结果；

[0025] 图 2 示实施例 1 中阿法替尼样品的检测结果；

[0026] 图 3 示实施例 2 中阿法替尼样品的检测结果；

[0027] 图 4 示实施例 3 中阿法替尼样品的检测结果；

[0028] 各图中,横坐标为时间,纵坐标为信号强度,图中标示了各色谱峰的保留时间(Retention Time)和面积百分比(Area Percent)。

具体实施方式

[0029] 为了使本领域的技术人员更好地理解本发明的技术方案,下面进一步披露一些非限制实施例对本发明作进一步的详细说明。

[0030] 本发明所使用的试剂均可以从市场上购得或者可以通过本发明所描述的方法制备而得。

[0031] 本发明中,g表示克,mL表示毫升,nm表示纳米, μm 表示微米,mm表示毫米,min表示分钟。

[0032] 实施例 1

[0033] 检测条件:

[0034] 仪器:Agilent 高效液相色谱仪,Agilent DAD 紫外检测器,检测波长:256nm;

[0035] 色谱柱:CHIRALPAK OZ-H,250mmX4.6mm,5 μm 手性色谱柱;

[0036] 稀释剂:正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺的混合溶液,体积比为600:300:100:0.1;

[0037] 流动相:正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺的混合溶液,体积比为600:300:100:0.1;

[0038] 流速:0.7mL/min;

[0039] 柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;

[0040] 进样量:5 μL ;

[0041] 检测步骤:

[0042] 取阿法替尼粗品约15mg,精密称定至10mL棕色量瓶,用稀释剂溶解并稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

[0043] 分别取空白溶液和供试品溶液,按上述条件进行检测分析,记录色谱图,结果见图1、图2。图2中保留时间9.49分钟的色谱峰为阿法替尼的色谱峰;11.48分钟的色谱峰为阿法替尼的对映体杂质。分离度为3.8。

[0044] 实施例 2

[0045] 检测条件:

[0046] 仪器:Agilent 高效液相色谱仪,Agilent DAD 紫外检测器,检测波长:256nm;

[0047] 色谱柱:CHIRALPAK OZ-H,250mmX4.6mm,5 μm 手性色谱柱;

[0048] 稀释剂:正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺的混合溶液,体积比为600:300:100:0.1;

[0049] 流动相:正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺的混合溶液,体积比为600:300:100:0.1;

[0050] 流速:0.7mL/min;

[0051] 柱温:25 $^{\circ}\text{C}$;

[0052] 进样量:5 μL ;

[0053] 检测步骤:

[0054] 取阿法替尼约10mg,精密称定至10mL棕色容量瓶中,用稀释剂超声溶解并稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

[0055] 取供试品溶液,按照检测条件进行高效液相色谱分析,记录色谱图,结果见图3。

[0056] 图3证明,阿法替尼的光学纯度达到原料药要求,本法可以用于阿法替尼的质量

监测。

[0057] 实施例 3

[0058] 检测条件：

[0059] 仪器：Agilent 高效液相色谱仪，Agilent DAD 紫外检测器，检测波长：256nm；

[0060] 色谱柱：CHIRALPAK OZ-H, 250mmX4.6mm, 5 μm 手性色谱柱；

[0061] 稀释剂：乙醇；

[0062] 流动相：正己烷、乙醇、甲醇和二乙胺的混合溶液，体积比为 600:300:100:0.1；

[0063] 流速：0.7mL/min；

[0064] 柱温：30℃；

[0065] 进样量：5 μL；

[0066] 检测步骤：

[0067] 取阿法替尼片适量，约相当于阿法替尼 10mg，置 10ml 棕色容量瓶中，加稀释剂超声溶解并稀释至刻度，摇匀，过滤，滤液作为供试品溶液。取供试品溶液，按照检测条件进行高效液相色谱分析，结果见图 4。

[0068] 本发明的方法已经通过较佳实施例进行了描述，相关人员明显能在本发明内容、精神和范围内对本文所述的方法和应用进行改动或适当变更与组合，来实现和应用本发明技术。本领域技术人员可以借鉴本文内容，适当改进工艺参数实现。特别需要指出的是，所有类似的替换和改动对本领域技术人员来说是显而易见的，它们都被视为包括在本发明内。

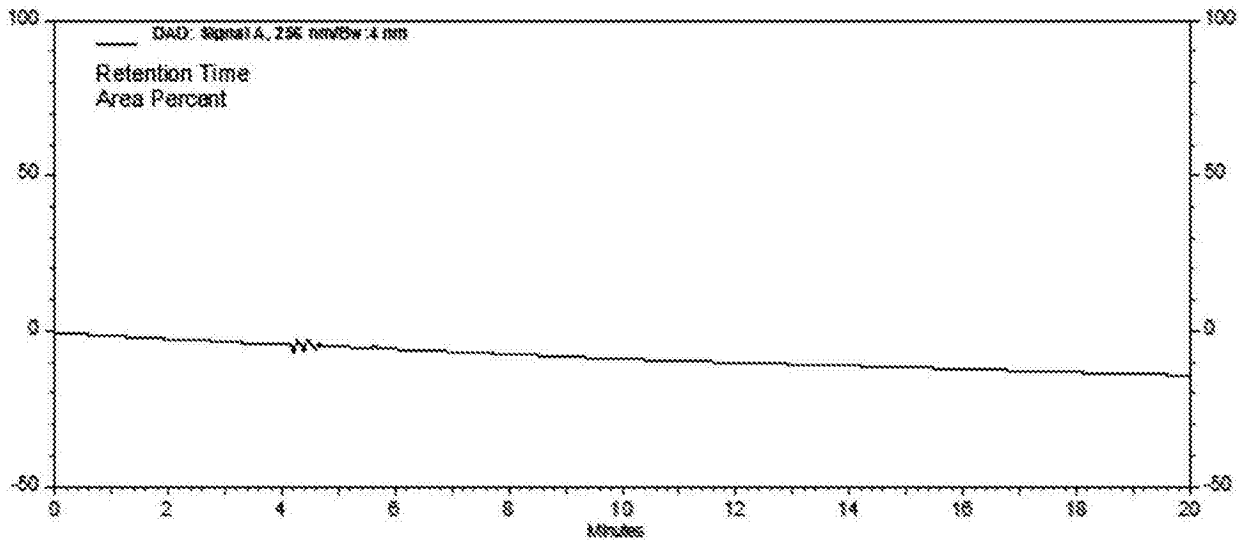


图 1

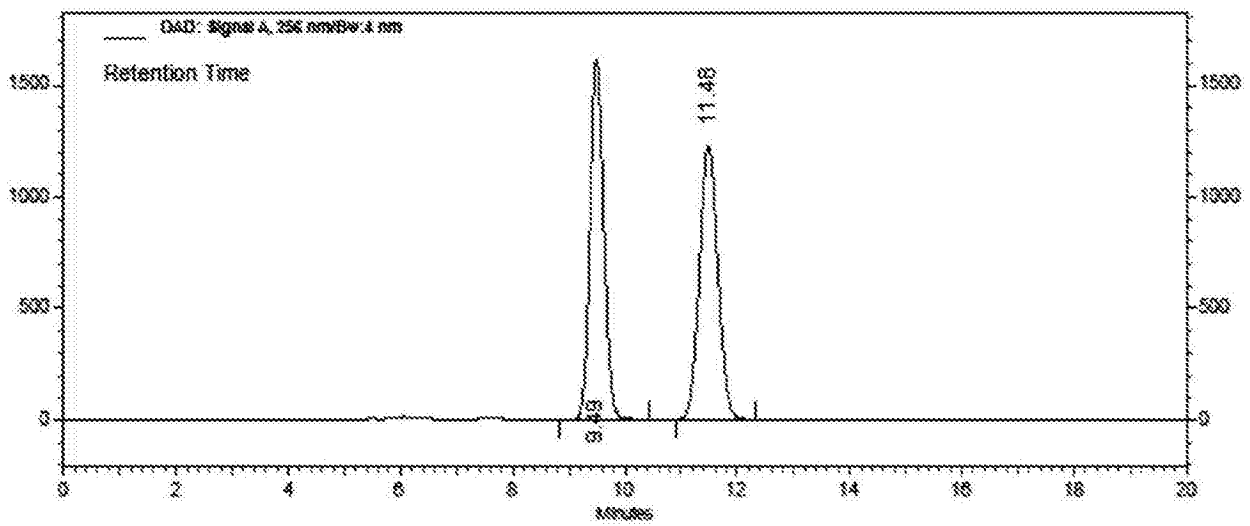


图 2

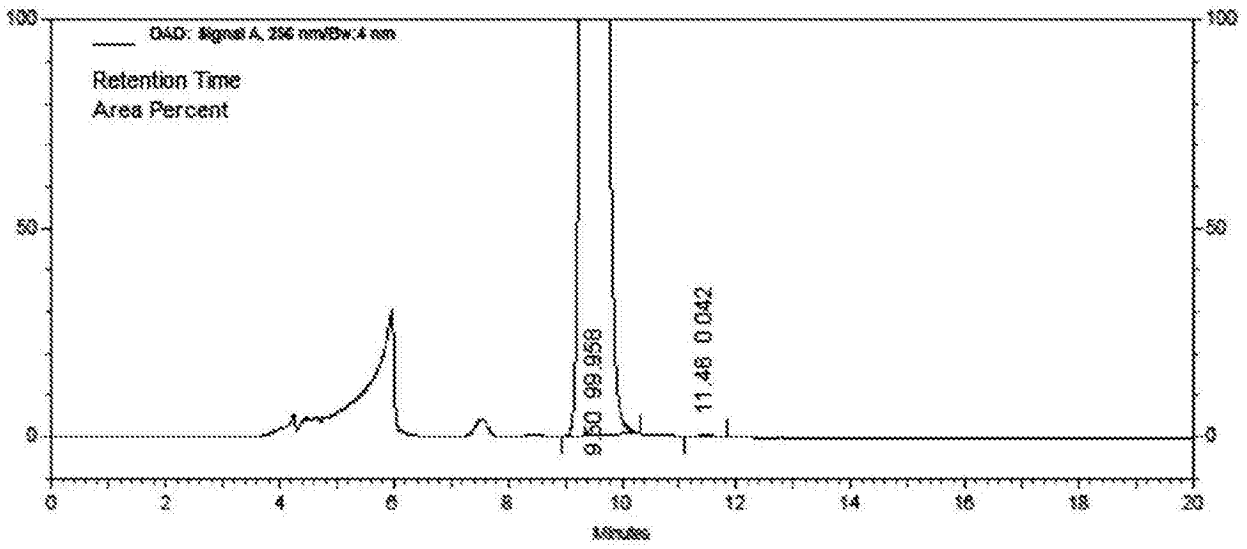


图 3

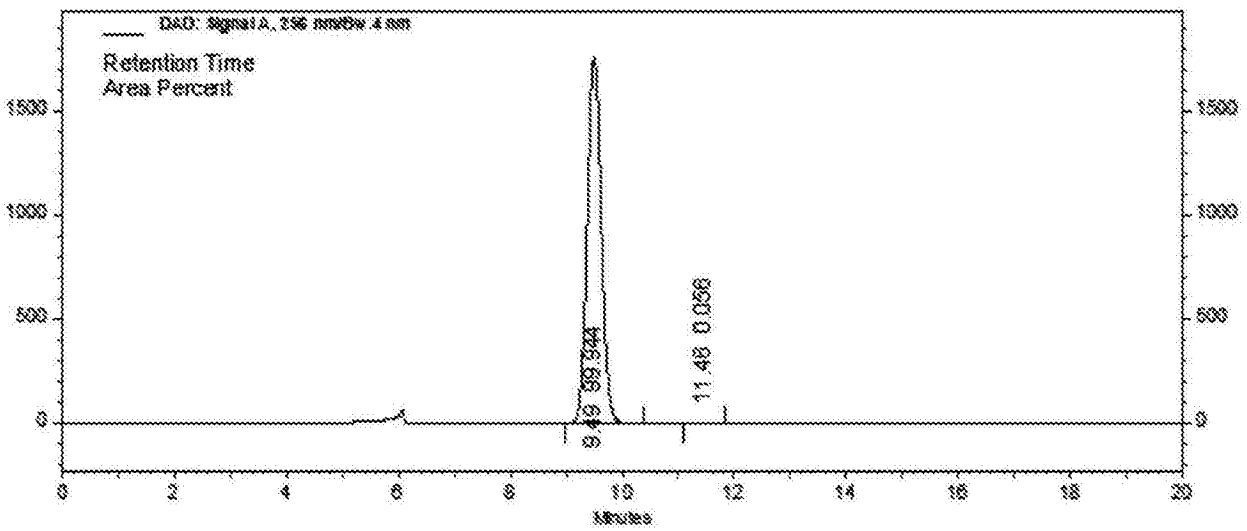


图 4