



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104597171 A

(43) 申请公布日 2015. 05. 06

(21) 申请号 201310527631. 4

(22) 申请日 2013. 10. 31

(71) 申请人 江苏万邦生化医药股份有限公司

地址 221004 江苏省徐州市经济开发区杨山路6号

申请人 上海复星医药(集团)股份有限公司

(72) 发明人 王成 乔德水 林彬 刘跃跃

(74) 专利代理机构 南京众联专利代理有限公司
32206

代理人 张慧清

(51) Int. Cl.

G01N 30/06(2006. 01)

G01N 30/02(2006. 01)

权利要求书1页 说明书4页

(54) 发明名称

阿卡波糖及其制剂的高效液相色谱分析方法

(57) 摘要

本发明属于药物新技术领域,涉及一种治疗胰岛素依赖型或非依赖型糖尿病的药物阿卡波糖及其制剂分析测定方法,具体的说是阿卡波糖及其制剂的高效液相色谱分析方法。本发明针对目前阿卡波糖检测中存在的问题,提供一种稳定性好、重现性好、操作简单,用于阿卡波糖及其制剂的分析测定方法,本方法是采用高效液相分离与紫外检测串联的方式对阿卡波糖及其制剂进行分析检测;采用采用固定相氨基硅烷键合硅胶色谱柱,流动相为乙腈-磷酸盐溶液。本发明利用方便快捷的高效液相色谱法,对阿卡波糖及制剂的有关物质及含量进行检测,重复性、准确度及稳定性均十分良好,特别是阿卡波糖主峰保留时间稳定,有利于药品的质量控制。

1. 阿卡波糖及其制剂的高效液相色谱分析方法,其特征在于:本方法是采用高效液相分离与紫外检测串联的方式对阿卡波糖及其制剂进行分析检测;将阿卡波糖及其制剂用水溶解稀释成每 1ml 中含阿卡波糖 0.5mg ~ 50mg 的溶液作为供试品溶液,进样体积 1~100 μ l,采用采用固定相氨基硅烷键合硅胶色谱柱,流动相为乙腈-磷酸盐溶液,其中所述的流动相中含乙腈的体积比例范围为 50%~90%,含磷酸盐溶液的体积比例范围为 10%~50%,流动相流速为 0.5~3.0ml/min;紫外检测波长 200nm~230nm,对阿卡波糖及其制剂的有关物质和含量进行测定。

2. 根据权利要求 1 所述的阿卡波糖及其制剂的高效液相色谱分析方法,其特征在于:所述的流动相 pH 值为 2.5~7.2,最佳 pH 值为 6.8。

3. 根据权利要求 1 所述的阿卡波糖及其制剂的高效液相色谱分析方法,其特征在于:所述的磷酸盐溶液由磷酸溶液、磷酸二氢钾溶液、磷酸氢二钠溶液、磷酸二氢钠溶液、磷酸氢二钾溶液、磷酸钠溶液、磷酸钾溶液中的一种或几种组成。

4. 根据权利要求 1 所述的阿卡波糖及其制剂的高效液相色谱分析方法,其特征在于:所述的磷酸盐溶液为磷酸二氢钾溶液、磷酸氢二钠溶液和磷酸溶液的混合液,其中磷酸二氢钾质量体积浓度为 0.01%~10%,最佳为 0.04~1%;磷酸氢二钠质量体积浓度为 0.01%~10%,最佳为 0.01~1%;磷酸溶液作为流动相 pH 值调节剂,磷酸质量体积浓度为 0.1%~95%,最佳为 10%~50%。

5. 根据权利要求 1 所述的阿卡波糖及其制剂的高效液相色谱分析方法,其特征在于:所述流动相中乙腈的体积最佳为 65%~80%;所述磷酸盐溶液的体积最佳为 20%~35%。

6. 根据权利要求 1 所述的阿卡波糖及其制剂的高效液相色谱分析方法,其特征在于:紫外检测波长为 210nm,供试品溶液含阿卡波糖为 20mg/ml,进样体积为 10 μ l,流动相流速为 2ml/min。

阿卡波糖及其制剂的高效液相色谱分析方法

技术领域

[0001] 本发明属于药物新技术领域,涉及一种治疗胰岛素依赖型或非依赖型糖尿病的药物阿卡波糖及其制剂分析测定方法,具体的说是阿卡波糖及其制剂的高效液相色谱分析方法。

背景技术

[0002] 根据文献报道及国家药品标准,测定阿卡波糖及其制剂采用高效液相分析方法有:

1、国家药品标准收载的阿卡波糖含量方法

照高效液相色谱法(中国药典 2000 年版二部附录 v D)。

[0003] 色谱条件与系统适应性试验 用氨基硅烷键合硅胶为填充剂;乙腈-磷酸盐缓冲液(70:30)为流动相;流速为 2ml/min;柱温 35℃,检测波长为 210nm。称取 20mg 阿卡波糖对照品适量,用水超声振摇溶解制成每 1ml 中含 1mg 的溶液,取上述溶液 25ml 置 50ml 量瓶中,用 0.1mol/L 氢氧化钠溶液 1ml,摇匀,室温放置 8 小时后,用 0.1mol/L 盐酸溶液 1ml,加水至刻度作为系统适用性溶液。取此液 10 μ l,注入液相色谱仪,记录色谱图,阿卡波糖峰与其降解产物峰之间的分离度不得小于 1.3,出峰顺序为阿卡波糖碱降解产物峰和阿卡波糖峰。

[0004] 测定法 精密称取本品约 10mg,置 10ml 量瓶中,加水溶解稀释至刻度,摇匀,精密量取 10 μ l 注入液相色谱仪,记录色谱图;另取阿卡波糖对照品适量,同法测定,按外标法以峰面积计算,即得。

2、国家药品标准收载的阿卡波糖有关物质方法

照高效液相色谱法(中国药典 2000 年版二部附录 v D)。

[0006] 色谱条件与系统适应性试验 用氨基硅烷键合硅胶为填充剂;乙腈-磷酸盐缓冲液(70:30)为流动相;流速为 2ml/min;柱温 35℃,检测波长为 210nm。称取 20mg 阿卡波糖对照品适量,用水超声振摇溶解制成每 1ml 中含 1mg 的溶液,取上述溶液 25ml 置 50ml 量瓶中,用 0.1mol/L 氢氧化钠溶液 1ml,摇匀,室温放置 8 小时后,用 0.1mol/L 盐酸溶液 1ml,加水至刻度作为系统适用性溶液。取此液 10 μ l,注入液相色谱仪,记录色谱图,阿卡波糖峰与其降解产物峰之间的分离度不得小于 1.3,出峰顺序为阿卡波糖碱降解产物峰和阿卡波糖峰。

[0007] 测定法 取本品适量,精密称定,加水制成每 1ml 中含 1mg 的溶液,作为供试品溶液。精密量取供试品溶液适量,加水稀释成每 1ml 中含 0.04mg 的溶液作为对照溶液。取对照溶液 20 μ l 注入液相色谱仪,调节检测灵敏度,使主成份色谱峰的峰高约为记录仪满量程的 10%~15%,再精密量取供试品溶液和对照溶液各 20 μ l,分别注入液相色谱仪,记录色谱图至主成份峰保留时间的 2 倍。供试品溶液色谱图中如显杂质峰,各杂质面积的和不得大于对照溶液主成份峰面积,单个杂质峰面积不得大于对照溶液主成份峰面积的 3/8。

3、国家药品标准收载的阿卡波糖片含量方法

照高效液相色谱法(中国药典 2000 年版二部附录 v D)。

[0009] 色谱条件与系统适应性试验 用氨基硅烷键合硅胶为填充剂;乙腈-磷酸盐缓冲液(70:30)为流动相;流速为 2ml/min;柱温 35℃,检测波长为 210nm。理论塔板数按阿卡波糖峰计不得低于 2500,组分 A 相对保留时间为 0.9,应与主峰完全分离,阿卡波糖峰的保留时间约为 11~18 分钟。

[0010] 测定法 取本品 20 片,精密称定,研细,精密称取细粉适量(约相当于阿卡波糖 250mg),置 25ml 量瓶中,加水约 15ml,超声处理 10 分钟,加水稀释至刻度,摇匀,用滤膜滤过,取续滤液 10 μl 注入液相色谱仪,记录色谱图;另取阿卡波糖对照品适量,同法测定,按外标法以峰面积计算。

[0011] 4、国家药品标准收载的阿卡波糖片有关物质方法

照高效液相色谱法(中国药典 2000 年版二部附录 v D)。

[0012] 色谱条件与系统适应性试验 用氨基硅烷键合硅胶为填充剂;乙腈-磷酸盐缓冲液(70:30)为流动相;流速为 2ml/min;柱温 35℃,检测波长为 210nm。理论塔板数按阿卡波糖峰计不得低于 2500,组分 A 相对保留时间为 0.9,应与主峰完全分离,阿卡波糖峰的保留时间约为 11~18 分钟。

[0013] 测定法 取含量测定项下的供试品溶液作为供试品溶液。另精密量取供试品溶液 1ml,置 100ml 量瓶中,加水稀释至刻度,作为对照溶液。取对照溶液 10 μl 注入液相色谱仪,调节检测灵敏度,使主成份色谱峰的峰高约为记录仪满量程的 25%,再精密量取供试品溶液和对照溶液各 10 μl,分别注入液相色谱仪,记录色谱图至主成份峰保留时间的 2 倍。

[0014] 已知副产物组分 2、B、A、C、4A、4B、4C 的相对保留时间分别为 0.5,0.8,0.9,1.2,1.8,2.0,2.3。除主成份及以上副产物以外的其他单个未知杂质峰面积不得大于对照溶液主成份峰面积的 1/2。未知杂质峰面积之和不得大于对照溶液主成份峰面积,已知副产物 A 的峰面积不得大于对照溶液主成份峰面积的 1.2 倍。

[0015] 5、欧洲药典、美国药典及英国药典收载的阿卡波糖有关物质方法

色谱条件与系统适应性试验 用氨基硅烷键和硅胶为填充剂(5 μm, 4.0mm×250mm)色谱柱,柱温 35℃,流动相:乙腈-磷酸盐缓冲液(取磷酸二氢钾 0.60g,磷酸氢二钠二水合物 0.35g,加 1000ml 水使溶解)(75:25)。流速为 2.0ml/min,

检测波长为 210nm。进样量为 10 μl,记录色谱图至阿卡波糖主峰保留时间的 2.5 倍。

[0016] 精密称取 0.200g 阿卡波糖用去二氧化碳的水溶解,并稀释至 10ml 作为供试品溶液;用 5ml 去二氧化碳的水溶解 1 瓶阿卡波糖 CRS 作为对照溶液(a);称取 20mg 阿卡波糖峰鉴别对照品(含杂质 A, B, C, D, E, F, H, G),用 1ml 去二氧化碳的水溶解作为对照溶液(b);量取 1.0ml 供试品溶液,用去二氧化碳的水稀释至 100ml 作为对照溶液(c)。对照溶液(b)色谱图中,杂质 A 的峰高和杂质 A 与主峰见的峰谷比值不小于 1.2。

[0017] 以上有关物质及含量的分析方法,流动相的 pH 值显弱碱性,所用的氨基柱阿卡波糖主峰保留时间不稳定,逐渐向后漂移。为解决阿卡波糖主峰漂移的问题,我们后摸索出一套适合阿卡波糖及制剂有关物质和含量测定的分析方法。该方法快速简便,精密度高,稳定性好,结果准确,重复性试验及含量回收率试验 RSD 均小于 2.0%,最低检出量(s/n=3)为 0.40ng/ml。

[0018]

发明内容

[0019] 本发明目的在于提供一种稳定性好、重现性好、操作简单,用于阿卡波糖及其制剂的分析测定方法。

[0020] 本发明解决上述技术问题所采取的技术方案是:本方法是采用高效液相分离与紫外检测串联的方式对阿卡波糖及其制剂进行分析检测;将阿卡波糖及其制剂用水溶解稀释成每 1ml 中含阿卡波糖 0.5mg ~ 50mg 的溶液作为供试品溶液,进样体积 1~100 μ l,采用采用固定相氨基硅烷键合硅胶色谱柱,流动相为乙腈-磷酸盐溶液,其中所述的流动相中含乙腈的体积比例范围为 50%~90%,含磷酸盐溶液的体积比例范围为 10%~50%,流动相流速为 0.5~3.0ml/min;紫外检测波长 200nm~230nm,对阿卡波糖及其制剂的有关物质和含量进行测定。

[0021] 进一步地,我们有缘所述的流动相 pH 值为 2.5~7.2,最佳 pH 值为 6.8。

[0022] 更进一步地,我们公开了所述的磷酸盐溶液由磷酸溶液、磷酸二氢钾溶液、磷酸氢二钠溶液、磷酸二氢钠溶液、磷酸氢二钾溶液、磷酸钠溶液、磷酸钾溶液中的一种或几种组成。

[0023] 同时,我们还进一步公开了磷酸盐溶液的具体组成,所述的磷酸盐溶液为磷酸二氢钾溶液、磷酸氢二钠溶液和磷酸溶液的混合液,其中磷酸二氢钾质量体积浓度为 0.01%~10%,最佳为 0.04~1%;磷酸氢二钠质量体积浓度为 0.01%~10%,最佳为 0.01~1%;磷酸溶液作为流动相 pH 值调节剂,磷酸质量体积浓度为 0.1%~95%,最佳为 10%~50%。

[0024] 在流动相的配比上,我们进一步优选,所述流动相中乙腈的体积最佳为 65%~80%;所述磷酸盐溶液的体积最佳为 20%~35%。

[0025] 最后,我们进一步公开了优选地检测条件为紫外检测波长为 210nm,供试品溶液含阿卡波糖为 20mg/ml,进样体积为 10 μ l,流动相流速为 2ml/min。

[0026] 本发明的有益效果是:本发明利用方便快捷的高效液相色谱法,对阿卡波糖及制剂的有关物质及含量进行检测,重复性、准确度及稳定性均十分良好,特别是阿卡波糖主峰保留时间稳定,有利于药品的质量控制。

具体实施方式

[0027] 仪器:waters 高效液相色谱仪、常用配套紫外检测器。

[0028] 试剂:磷酸二氢钾(分析纯)、乙腈(色谱纯)、磷酸氢二钠(分析纯)、10% 磷酸
色谱柱:氨基硅烷键合硅胶色谱柱
检测波长:210nm

以下实施例说明本发明,但不以任何方式限制本发明。

[0029] 实施例 1:有关物质

色谱条件与系统适用性试验 用氨基硅烷键合硅胶为填充剂;磷酸盐缓冲液-乙腈(25 : 75),用 10% 磷酸调 pH 至 6.8 为流动相;流速为 2 ml/min;柱温 35 $^{\circ}$ C,检测波长为 210nm。称取 20mg 阿卡波糖杂质对照品(含杂质 A, B, C, D, E, F, G, H),加水 1 ml 使其溶解,作为系统适用性溶液。杂质 A 的峰高和其与阿卡波糖主峰之间的峰谷高的比值不得小于 1.2,以理论塔板数按阿卡波糖峰计算不得低于 2500。

[0030] 测定法 取本品,加水溶解并稀释制成每 1ml 中含阿卡波糖 20mg 的溶液,作为供试品溶液;精密量取 1ml,置 100ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,作为对照溶液。取对照溶液 10 μ l 注入液相色谱仪,调节检测灵敏度,使主成分色谱峰的峰高约为满量程的 25%;分别量取系统适用性溶液、供试品溶液和对照溶液各 10 μ l 分别注入液相色谱仪,记录色谱至主成份峰保留时间的 2.5 倍。已知杂质 D、H、B、A、C、E、F、G 的相对保留时间分别为 0.5、0.6、0.8、0.9、1.2、1.7、1.9、2.2。除已知杂质 A 的峰面积不得大于对照溶液主峰面积的 1.2 倍(1.2%)外,其他单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积的 0.5 倍(0.5%),各杂质峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积 4 倍(4.0%)。

[0031] 实施例 2 :含量测定

色谱条件与系统适用性试验 用氨基硅烷键合硅胶为填充剂;磷酸盐缓冲液-乙腈(25 : 75),用 10% 磷酸调 pH 至 6.8 为流动相;流速为 2 ml/min;柱温 35 $^{\circ}$ C,检测波长为 210nm。称取 20mg 阿卡波糖杂质对照品(含杂质 A, B, C, D, E, F, G, H),加水 1 ml 使其溶解,作为系统适用性溶液。杂质 A 的峰高和其与阿卡波糖主峰之间的峰谷高的比值不得小于 1.2,以理论塔板数按阿卡波糖峰计算不得低于 2500。

[0032] 测定法 取本品,精密称定,研细,精密称取细粉适量(约相当于阿卡波糖 500 mg),置 25 ml 量瓶中,加水约 15 ml,超声处理 10 min,放冷,加水稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液 10 μ l 注入液相色谱仪,记录色谱图。另取阿卡波糖对照品适量,加水溶解并制成每 1ml 约含阿卡波糖 20mg 的溶液,作为对照品溶液,同法测定,按外标法以峰面积计算。