



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107894474 A

(43)申请公布日 2018.04.10

(21)申请号 201711132541.X

(22)申请日 2017.11.15

(71)申请人 上海应用技术大学

地址 200235 上海市徐汇区漕宝路120-121号

(72)发明人 黄金文 胡美晨 黄磊磊 李英姿
谢达 朱阳斌 王琳 吴范宏

(74)专利代理机构 上海精晟知识产权代理有限公司 31253

代理人 杨军

(51)Int.Cl.

G01N 30/02(2006.01)

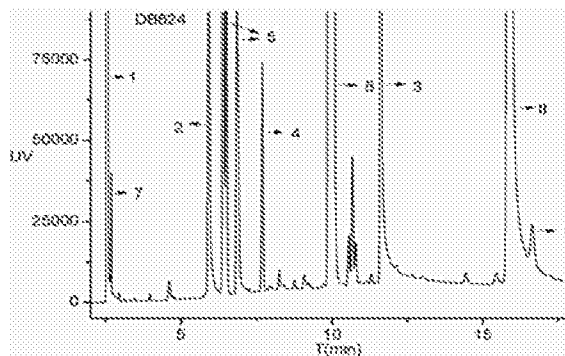
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54)发明名称

气相色谱法同时检测羟基氯喹侧链及其原料与中间体的方法

(57)摘要

本发明属于药物分析技术领域,具体为一种气相色谱法同时检测羟基氯喹侧链及其原料与中间体的方法。本发明方法能同时测定羟基侧链、乙胺、二甲苯、乙胺乙醇、氯代戊酮、乙胺二乙醇胺、氨基戊酮及乙醇,其专属性、线性、范围、精密度、检测线、准确度均符合《中国药典》2015年版四部附录中药品质量标准分析方法验证指导原则的要求,旨在为羟基氯喹侧链合成工艺的检测和监控提供技术基础。



1. 一种气相色谱法同时检测羟基氯喹侧链及其原料与中间体的方法,其特征在于,该方法同时检测羟基氯喹侧链、乙胺、乙胺乙醇、乙胺二乙醇胺、氯代戊酮、二甲苯、氨基戊酮和乙醇;包括以下步骤:

(1) 色谱条件

色谱柱为交联毛细管柱,采用程序升温;进样口温度为250~310℃;载气为氮气;检测器为氢火焰离子化检测器FID,检测器温度260~315℃;羟基氯喹侧链、乙胺、乙胺乙醇、乙胺二乙醇胺、氯代戊酮、二甲苯、氨基戊酮和乙醇的分离度大于1.5;

(2) 混合对照品溶液的制备

取羟基氯喹侧链、乙胺乙醇、二甲苯、氯代戊酮、乙胺二乙醇胺、氨基戊酮、乙胺和乙醇,分别精密称定后,置同一量瓶中,加溶剂稀释制成混合对照品溶液;每1mL混合对照品溶液中,羟基氯喹侧链为0.01~0.09g、乙胺乙醇、二甲苯、氯代戊酮、乙胺二乙醇胺、氨基戊酮和乙醇独立的为0.001~0.009g、乙胺为0.011~0.019g;

(3) 供试品溶液的制备

取羟基氯喹侧链,精密称定,加溶剂溶解并稀释制成每1mL含羟基氯喹侧链0.19~0.30g的均匀溶液作为供试品溶液;

(4) 测定

分别精密量取相同体积的混合对照品溶液和供试品溶液,分别注入气相色谱仪测定计算,即得。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤(1)中,交联毛细管柱选自DB-1、HP-1、HP-5或DB-624交联毛细管柱中任一种。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤(1)中,程序升温初始温度为80~120℃保持1~8min,以12~17℃/min的速率升温至180~240℃,保存3~15min。

4. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤(1)中,氮气的流速为1.5~3.5mL/min,分流比为25:1~35:1。

5. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤(2)和步骤(3)中,溶剂为DMF、DMSO或N-甲基吡咯烷酮。

6. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤(2)中,每1mL混合对照品溶液中,羟基氯喹侧链为0.04~0.06g、乙胺乙醇、二甲苯、氯代戊酮、乙胺二乙醇胺、氨基戊酮和乙醇独立的为0.004~0.006g、乙胺为0.014~0.016g。

7. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤(3)中,每1mL含羟基氯喹侧链0.22~0.26g的均匀溶液作为供试品溶液。

8. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤(4)中,混合对照品溶液和供试品溶液的体积为0.6~1μL。

[0007] 本发明的目的在于提供一种快速、便捷、准确、灵敏的用气相色谱法同时检测羟基氯喹侧链及其工艺过程中参与的7种原料和中间体的方法。

[0008] 本发明中,利用直接进样的气相色谱法,通过对不同固定相、程序升温时间与制样溶剂的选择与优化,建立了同时测定羟基氯喹侧链及其工艺过程中参与的7种原料和中间体的新方法,并通过验证确定了本发明分析方法的科学性、准确性和可行性,旨在为羟基氯喹侧链合成工艺的检测和监控提供技术基础。

[0009] 为了实现本发明的上述目的,采用以下技术方案。

[0010] 一种气相色谱法检测羟基氯喹侧链及其原料与中间体的方法,该方法同时检测羟基氯喹侧链、乙胺、乙胺乙醇、乙胺二乙醇胺、氯代戊酮、二甲苯、氨基戊酮和乙醇;包括以下步骤:

[0011] (1) 色谱条件

[0012] 色谱柱为交联毛细管柱,采用程序升温;进样口温度为250~310℃;载气为氮气;检测器为氢火焰离子化检测器FID,检测器温度260~315℃;羟基氯喹侧链、乙胺、乙胺乙醇、乙胺二乙醇胺、氯代戊酮、二甲苯、氨基戊酮和乙醇的分离度大于1.5;

[0013] (2) 混合对照品溶液的制备

[0014] 取羟基氯喹侧链、乙胺乙醇、二甲苯、氯代戊酮、乙胺二乙醇胺、氨基戊酮、乙胺和乙醇,分别精密称定后,置同一量瓶中,加溶剂稀释制成混合对照品溶液;每1mL混合对照品溶液中,羟基氯喹侧链为0.01~0.09g、乙胺乙醇、二甲苯、氯代戊酮、乙胺二乙醇胺、氨基戊酮和乙醇独立的为0.001~0.009g、乙胺为0.011~0.019g;

[0015] (3) 供试品溶液的制备

[0016] 取羟基氯喹侧链,精密称定,加溶剂溶解并稀释制成每1mL约含本品0.19~0.30g的均匀溶液作为供试品溶液;

[0017] (4) 测定

[0018] 分别精密量取相同体积的混合对照品溶液和供试品溶液,分别注入气相色谱仪测定计算,即得。

[0019] 本发明中,步骤(1)中,交联毛细管柱选自DB-1、HP-1、HP-5或DB-624交联毛细管柱中任一种。

[0020] 本发明中,步骤(1)中,程序升温初始温度为80~120℃保持1~8min,以12~17℃/min的速率升温至180~240℃,保存3~15min。

[0021] 本发明中,步骤(1)中,氮气的流速为1.5~3.5mL/min,分流比为25:1~35:1。

[0022] 本发明中,步骤(2)和步骤(3)中,溶剂为DMF、DMSO或N-甲基吡咯烷酮。

[0023] 本发明中,步骤(2)中,每1mL混合对照品溶液中,羟基氯喹侧链为0.04~0.06g、乙胺乙醇、二甲苯、氯代戊酮、乙胺二乙醇胺、氨基戊酮和乙醇独立的为0.004~0.006g、乙胺为0.014~0.016g。

[0024] 本发明中,步骤(3)中,每1mL含本品0.22~0.26g的均匀溶液作为供试品溶液。

[0025] 本发明中,步骤(4)中,混合对照品溶液和供试品溶液的体积为0.6~1μL。

[0026] 和现有技术相比,本发明的有益效果在于:

[0027] 本发明公开了气相色谱法同时测定包括羟基氯喹侧链、及乙醇、乙胺乙醇、二甲苯、氯代戊酮、乙胺二乙醇胺、氨基戊酮和乙胺的7种原料和中间体的通用方法。

[0028] 经方法学验证,其专属性及系统适应性、线性、范围、检测限、精密度、准确度符合《中国药典》2015年版四部附录中药品质量标准分析方法验证指导原则的要求。

[0029] 本法为羟基氯喹侧链合成工艺的检测和监控提供技术基础。

附图说明

[0030] 图1对照品溶液测定结果色谱图。1.乙胺、2.乙胺乙醇、3.乙胺二乙醇胺、4.氯代戊酮、5.二甲苯、6.氨基戊酮、7.乙醇(Etanol)、II.羟基氯喹侧链、8.NMP。

[0031] 图2空白溶液测定色谱图。

具体实施方式

[0032] 下面结合附图和实施例对本发明的技术方案进行详细介绍。

[0033] 实施例1

[0034] (1) 色谱条件与系统适应性试验色谱柱为DB-624交联毛细管柱(30m×0.53mm.i.d,3.0μm);程序升温初始温度为100℃保持2min,后以15℃的速率升温至200℃,保存10min;进样口温度为300℃;载气为氮气;检测器为氢火焰离子化检测器(FID),检测器温度310℃;流速为3.0mL/min,分流比为30:1;羟基氯喹侧链、乙胺、乙胺乙醇、乙胺二乙醇胺、氯代戊酮、二甲苯、氨基戊酮、乙醇的分离度应大于1.5;

[0035] (2) 混合对照品溶液的制备取乙胺乙醇、二甲苯、氯代戊酮、乙胺二乙醇胺、氨基戊酮、乙胺、羟基氯喹侧链(纯品,批号:Y023-150101,由上海中西三维药业有限公司提供)适量,分别精密称定,置同一量瓶中,加N-甲基吡咯烷酮溶解并稀释制成每1mL约含乙胺乙醇、二甲苯、氯代戊酮、乙胺二乙醇胺、氨基戊酮0.004g、含乙胺0.016g、羟基氯喹侧链0.05g的均匀溶液作为对照品溶液。

[0036] (3) 供试品溶液的制备取羟基氯喹侧链(纯品,批号:Y023-150101,由上海中西三维药业有限公司提供)适量,精密称定,用N-甲基吡咯烷酮溶解并稀释制成每1mL约含本品0.25g的均匀溶液作为供试品溶液;

[0037] (4) 测定分别精密量取混合对照品溶液、供试品溶液各1μL,直接进样方式分别注入气相色谱仪测定计算,即得。

[0038] 应用实例:气相色谱法同时测定羟基氯喹侧链及其原料与中间体的方法

[0039] 羟基氯喹是一种4-氨基喹啉类药物,临床最早用于抗疟原虫的治疗,现广泛用于盘状红斑狼疮及系统性红斑狼疮的治疗,也是治疗类风湿性关节炎的联合首选用药。此外,在免疫抑制及抗炎症反应等方面也有应用。羟基氯喹侧链,是合成羟基氯喹的关键中间体。合成羟基氯喹侧链路线中涉及到的原料及中间体有7种,反应中原料及反应不完全的中间体剩余量过高会致使目标产物的纯度不高,且反应生成的副产物环丙甲基酮,在后期羟基氯喹侧链与4,7-二氯喹啉合成羟基氯喹的反应中很难除去,进而降低羟基氯喹的质量与临床药效。因此,在羟基氯喹侧链的合成过程中进行质量控制尤为必要。经过试验、研究,建立了同时测定羟基氯喹侧链、及其合成原料与中间体乙胺、乙胺乙醇、乙胺二乙醇胺、氯代戊酮、二甲苯、氨基戊酮、乙醇含量的气相色谱法。

[0040] 方法学考察如下:

[0041] (1) 专属性及系统适应性

[0042] 分别取适量羟基氯喹侧链、乙胺、乙胺乙醇、乙胺二乙醇胺、氯代戊酮、二甲苯、氨基戊酮、乙醇,以N-甲基吡咯烷酮溶解制备溶液,按上述方法进行顶空进样,进行测定,结果表明(见图1),保留时间分别为羟基氯喹侧链15.869min、乙胺2.531min、乙胺乙醇5.904min、乙胺二乙醇胺11.613min、氯代戊酮7.691min、二甲苯6.399、6.497、6.841min、氨基戊酮16.646min、乙醇2.662min。

[0043] (2) 线性

[0044] 取羟基氯喹侧链适量,依次用N-甲基吡咯烷酮稀释成含羟基氯喹侧链分别为1.0600、3.2580、7.6986、19.246、28.870、72.174、96.232、120.29mg/mL系列标准溶液。按拟定色谱条件进样测定,以峰面积(Y)对相应溶剂的质量浓度(X,mg/mL)进行线性回归。得到羟基氯喹侧链在1.06~120.29mg/mL浓度范围内线性关系良好,回归方程为:

[0045] 羟基氯喹侧链 $Y=304609X-887401$ $R^2=0.9992$

[0046] (3) 精密度

[0047] 精密量取供试品溶液2mL,用溶剂定容至5mL,得到每mL含羟基氯喹侧链100mg的溶液。制备6份,按照拟定色谱条件,注入气相色谱仪,记录峰面积。计算相对标准表差RSD为1.52%,符合《中国药典》2015版的要求。

[0048] (4) 最小检测限

[0049] 以S/N=3计算羟基氯喹侧链的检测限为0.2379 μ g/mL。

[0050] 准确度

[0051] 取供试品溶液2mL,用溶剂定容至5mL,得到每mL含羟基氯喹侧链100mg的溶液。制备6份,按照上述色谱条件,注入气相色谱仪,面积归一化法计算6份平均含量为99.42%。另精密称取羟基氯喹侧链0.60g加适量冰醋酸溶解。制备6份,用0.1%高氯酸滴定液电位滴定,计算含量,并计算平均含量为98.97%。取羟基氯喹侧链储备液,依次用N-甲基吡咯烷酮稀释成80%、100%、120%的3种浓度梯度,每种浓度各制备3份,共计9份,按照上述色谱条件,注入气相色谱仪。面积归一化法计算平均含量为99.38%。三种方法的RSD为0.25%

[0052] 结果表明,本品准确度良好。

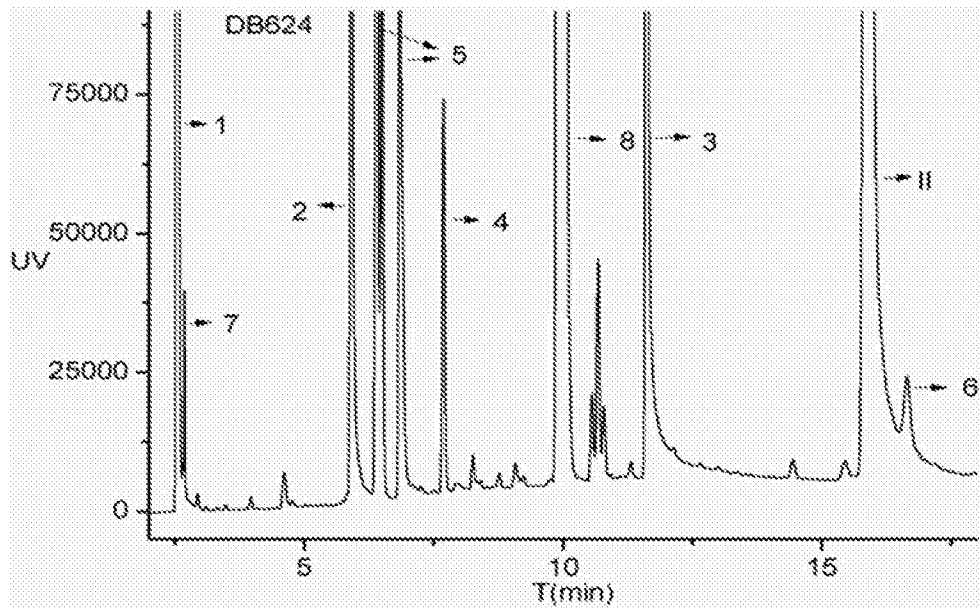


图1

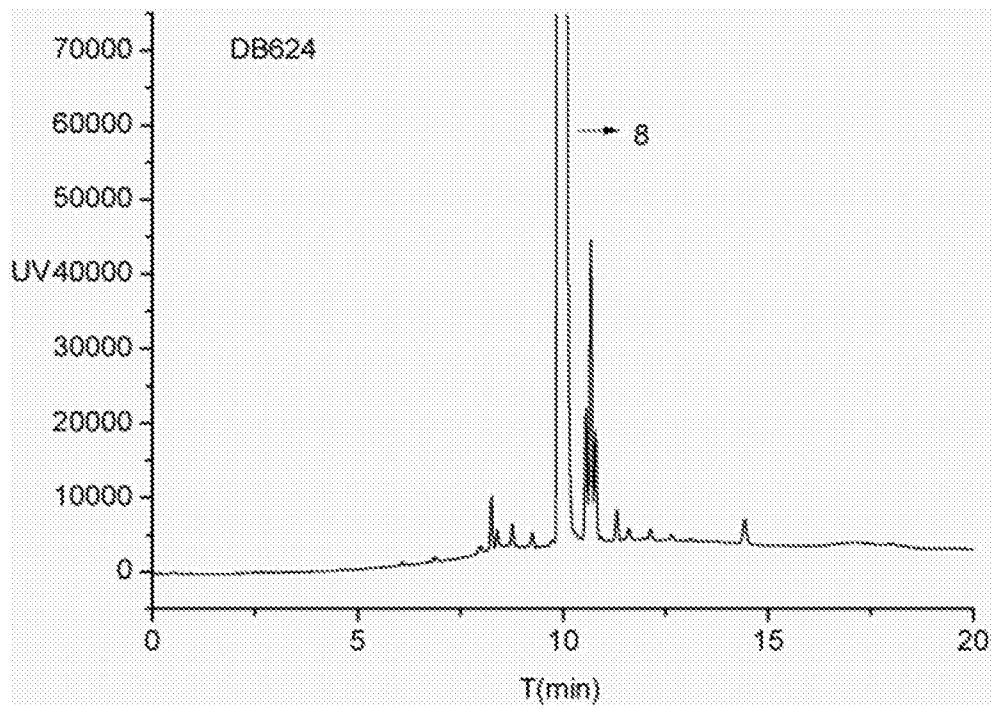


图2