

中间体氯化物的纯度及其对氨氯吡咪 原料药质量的影响

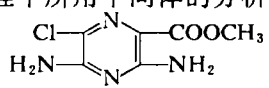
张胜强 陈建明¹ 余文宪² 姜心如

(中国药科大学药物分析研究室, 南京 210009; ¹ 华瑞制药有限公司

无锡 214029; ² 溧阳市制药厂, 江苏溧阳 213300)

摘 要 应用高效液相色谱考察了用于制备氨氯吡咪的中间体 3,5-二氨基-6-氯-2-甲氧基-羧基吡咪(氯化物)的纯度。色谱含量分析与熔点测定结果相互支持, 氯化物含量高的粗品有高的熔点。用较高纯度的氯化物制备的氨氯吡咪的质量较高。

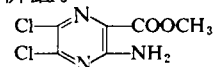
关键词 3,5-二氨基-6-氯-2-甲氧基-羧基吡咪; 纯度; 氨氯吡咪

氨氯吡咪是一种新的保钾利尿药。按药典方法^[1,2]检测, 有时“有关杂质”超过规定限度。经对合成过程中所用中间体的分析发现, 中间体氯化物()的纯度与用其制备的氨氯吡咪的质量有关。因此监测与控制氯化物的纯度对于保证氨氯吡咪的质量极为重要。本文对此进行探讨。

1 仪器与试剂

YSB-2 型平流泵, K501 进样阀, DZ254 紫外检测器(上海科学仪器厂), 台式自动平衡记录器(大华仪表厂)共同组成高效液相色谱仪。

薄层用玻板及层析缸。

氯化物、氯化物(), 氨氯吡咪(溧阳制药厂)、甲醇(分析纯、南京试剂厂)。

2 色谱条件

2.1 高效液相色谱

色谱柱 150 mm×4 mm 填充 YWG-ODS (5 μm); 流动相为甲醇-水混合溶液; 定量分

析用甲醇-水(2:1), 流量 0.9 ml/min; 254 检测器满量程 0.08 吸收单位。

2.2 薄层色谱条件

据文献^[1,2]。

3 方法与结果

3.1 氯化物纯度考察

氯化物及可能与其共存的杂质可用适当的高效液相色谱条件进行分离, 以观察试样的纯度。方法是先试用甲醇-水流动相组成的反相色谱系统。

3.1.1 供试液 为了找到可靠的色谱分离条件, 先制备较复杂的试样。氯化物是由氯化物氨化生成, 因此用氯化物和氯化物制成甲醇混合溶液, 并在日常光照下长久放置达 50 d, 促使试样降解。用此试液选择色谱分离条件。

3.1.2 色谱条件选择 变动流动相的洗脱强度, 可以改变色谱系统对试样的分离行为。初始使用洗脱强度较大的甲醇流动相。其后减弱流动相强度, 采用甲醇-水(9:1)以增加系统的分离能力。直至改用甲醇-水(2:1)的流动相, 系统已能在 7 min 内对试样分离出 6

收稿日期 1994-10-28

个不同组分峰及 1 个溶剂峰,显示出良好的分离能力。进一步减弱冲洗强度,至再无新峰分离出来(图 1)。

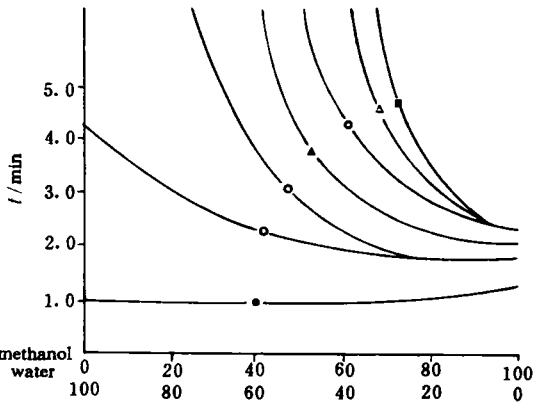


Fig 1. Influence of the ratio of methanol/water in mobile phase on retention time and separation of the components in sample solution to be made to stand for 50 days.
 —●— solvent; —▲— ammoniate; —■— chloride; —○— degradation product; —△— trace impurity

3. 1. 3 纯度考察结果

在甲醇-水(2 : 1)的条件下考察氯化物的新鲜制备液,能分离出溶剂峰、氯化物峰、氯化物峰以及另一个总量不大于 2%(由氯化物、氯化物含量算出)的杂质峰。

3. 2 氯化物粗品的含量测定

3. 2. 1 氯化物的纯化 将不纯的含氯化物等杂质的氯化物热溶于丙酮,稍冷,氯化物析出,杂质溶于丙酮,过滤,冷丙酮洗结晶,如此可制得纯化的氯化物。纯化后的氯化物经 HPLC 分析,氯化物峰保留,氯化物峰及原所含的另一微量杂质峰消失,表明已制得氯化物纯品。若不纯可再行纯化(图 2)。

3. 2. 2 含量测定方法 利用甲醇-水(2 : 1)的流动相分离条件,采用外标法测定氯化物粗品中氯化物和氯化物的含量。当浓度氯化物为 1. 0~3. 0 μg/ml 时,峰面积(Y_1)对样品量(X_1)有线性关系:

$$Y_1=0. 0869+115. 3X_1 \quad r=0. 9995(n=5).$$

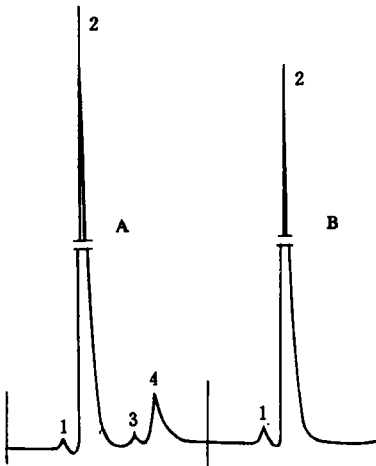


Fig 2. HPLC profile of ammoniate sample
 A. crude ammoniate B. purified ammoniate
 1. solvent; 2. ammoniate; 3. trace impurity; 4. chloride

氯化物浓度为 1. 0~8. 0 μg/ml 时,峰面积(Y_2)对样品量(X_2)有线性关系:

$$y_2=0. 0410+145. 4X_2 \quad r=0. 9995(n=5)$$

回收率是在本底为 10. 0 μg/ml 氯化物的试样中用标准加入法测定。结果见表 1。

Tab 1. Recovery of ammoniate and chloride

| Compound | Amount added, μg/ml | Recovery, % | RSD, % |
|-----------|---------------------|-------------|--------|
| Ammoniate | 5. 0 | 99. 47 | 3. 57 |
| | 10. 0 | 98. 43 | 1. 20 |
| | 20. 0 | 100. 4 | 1. 25 |
| Chloride | 1. 0 | 99. 67 | 4. 58 |
| | 2. 0 | 102. 7 | 1. 60 |
| | 4. 0 | 99. 33 | 1. 04 |

3. 3 氯化物的质量分析

氯化物粗品的丙酮热滤液稍冷即析出第一批结晶,滤出,得 01 号样;母液蒸发浓缩、析出第二批结晶,得 02 号样;再将母液蒸发浓缩析出第三批结晶,得 03 号样。各批样测定结果见表 2。

Tab 2. Quality of ammoniate from different master liquid

| No. | Colour | Melting point (c) | HPLC analysis | | | | Other impurity |
|-----|-------------|----------------------|---------------|----------|------------|----------|----------------|
| | | | Ammoniate | | Chloride | | |
| | | | Cont, % | RSD % | Cont, % | RSD % | |
| 1 | Pale yellow | 210~211 | 99.62 | 0.94 | | | no |
| 2 | Yellow | 204~206 | 90.05 | 0.98 | 8.59 | 1.69 | trace |
| 3 | Dark yellow | 198~202 | 76.05 | 1.64 | 22.05 | 1.24 | trace |

测定结果显示,随样品中氯化物含量提高,样品的熔点提高、熔程变小,而样品的外观颜色变浅。这样,氯化物的质量就可从其物理性状和含量两方面作出较全面的评价。

3.4 两种氨氯吡咪的比较

将 01 号和 03 号氯化物试样按氨氯吡咪制备法分别制得氨氯吡咪样 A 和 B。参考文献^[1,2]用薄层分析法分析产品质量。

3.4.1 试样制备 精密称取氨氯吡咪试样,以甲醇制成浓度为 2.0 mg/ml 的样品溶液。精密称取氯化物纯品,以甲醇制成 10.0,4.0 μg/ml 的氯化物参考液。

3.4.2 薄层分析 在硅胶薄板上分别点上述溶液各 10 μl。用二氧六环-3 mol/L 氨水(15:2)为展开剂展开,晾干,于 366 nm 紫外灯下检测,见图 3。

结果表明,用氯化物 01 号样制得的氨氯吡咪(即样品 A)的薄层图谱中只有唯一的氨氯吡咪斑点,用氯化物 03 号样制得的氨氯吡咪(即样品 B)的薄层图谱中,除有氨氯吡咪斑点外,另外还有两个杂质斑点,且都较限度

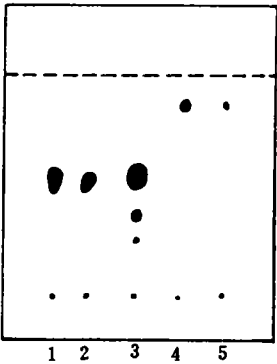


Fig 3. TLC of amiloride sample
1. sample A; 2. reference standard of amiloride; 3. sample B;
4. reference standard of amiloride(10.0 μg/ml); 5. reference standard of amiloride(4.0 μg/ml).

标准的斑点颜色深。这提示氨氯吡咪的质量与合成时所用中间体氯化物的质量有密切关系。提高氯化物的纯度是减少成品杂质、提高氨氯吡咪质量的有效方法。

致 谢 溧阳市制药厂实验室提供熔点数据。

参 考 文 献

1 USP(X X I)NF(X VI),1990,59
2 BP,1988,31

Purity of Intermediate Ammoniate and Its Influence on Quality of Amiloride

Zhang Shengqiang, Chen Jianmin, Yu Wenxian, Jiang Xinru
Department of Pharmaceutical Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009

Abstract The Purity of 3,5-diamino-6-chlor-2-methoxy-carboyl-pyrazinge(ammoniate), an intermediate of amiloride was examined by HPLC. The chromatographic determination results of crude ammoniates conformed to melting point data. Ammoniate of high purity possessed high melting point. The amiloride prepared with ammoniate of high purity had good quality.

Key words 3,5-diamino-6-chlor-2-methoxy-carboyl-pyrazinge; Purity; Amiloride