

## HPLC 法测定阿维莫洋原料药中光学异构体

闫立群, 朱建强, 张明华, 田青松\*

天津泰普药品科技发展有限公司, 天津 300193

**摘要:** 目的 建立 HPLC 测定阿维莫洋原料药中光学异构体的方法。方法 采用 HPLC 法, 色谱柱为 ULTRON ES-OVM 柱 (填料为卵类粘蛋白键和硅胶, 150 mm×4.6 mm, 5 μm); 以 0.02 mol/L 磷酸二氢钾缓冲液 - 乙腈 (95:5) 为流动相; 体积流量: 0.6 mL/min; 检测波长: 273 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 20 μL。结果 在上述色谱条件下, 阿维莫洋与光学异构体分离度符合要求, 检测限为 1 ng, 精密度良好 (RSD 均小于 2%)。结论 本方法操作简便, 专属性强, 灵敏度高, 可用于阿维莫洋原料药中光学异构体的限量控制方法。

**关键词:** 阿维莫洋; 光学异构体; 高效液相色谱法

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1674 - 5515(2018)06 - 1329 - 04

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2018.06.008

## Determination of optical isomers in alvimopan active pharmaceutical ingredient by HPLC

YAN Li-qun, ZHU Jian-qiang, ZHANG Ming-hua, TIAN Qing-song

Tianjin TaiPu pharmaceutical Science &amp; Technology Development Co., Ltd., Tianjin 300193, China

**Abstract: Objective** To establish an HPLC method for determination of optical isomers in alvimopan active pharmaceutical ingredient. **Methods** HPLC method was adopted on ULTRON ES-OVM (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) column. The mobile phase consisted of acetonitrile-0.02 mol/L potassium dihydrogen phosphate buffer solution (5:95). The detection wavelengths were 273 nm. The flow rate was 0.6 mL/min, and the column temperature was set at 30 °C with injection volume of 20 μL. **Results** The resolution of alvimopan and optical isomers were good. The limit of detection was 1 ng, and the precision was good. **Conclusion** The method is convenient, highly specific, sensitive, and suitable to determine the limit of optical isomers in alvimopan active pharmaceutical ingredient.

**Key words:** alvimopan; optical isomer; HPLC

阿维莫洋的化学名为[[[(2*S*)-2-[[[(3*R*,4*R*)-4-(3-羟苯基)-3,4-二甲基哌啶-1-基]甲基]-3-苯基丙酰基]氨基]乙酸, 为高选择性、高特异性的阿片类受体拮抗剂<sup>[1-4]</sup>, 是世界上首个且唯一获准用于治疗术后肠梗阻的药物。美国食品药品监督管理局 (FDA) 在 2008 年 5 月批准其上市, 适用于加速部分大肠或小肠一期切除吻合术后的上下胃肠道功能恢复<sup>[5-8]</sup>。2013 年 10 月 FDA 将其适应症变更为“用于加速外科术后患者的上下胃肠道功能恢复, 手术过程中需进行部分肠一期切除吻合”。阿维莫洋由葛兰素史克公司和阿道罗公司合作开发, 商品名为 Entereg。目

前国内尚无厂家生产或上市。阿维莫洋为手性药物, 其有效构型为(2*S*,3*R*,4*R*), 因分子中有 3 个手性中心, 理论上 7 个光学异构体。根据合成工艺, 最可能产生 3 个光学异构体杂质, 其构型分别为对映异构体(2*R*,3*S*,4*S*)、非对映异构体(2*S*,3*S*,4*S*)、非对映异构体(2*R*,3*R*,4*R*), 结构式见图 1。文献虽然报道了阿维莫洋光学异构体杂质的 HPLC 测定方法<sup>[9]</sup>, 但阿维莫洋与相关光学异构体杂质的分离不好。因此本研究建立了分离阿维莫洋与对映异构体和非对映异构体的 HPLC 方法, 经分析方法验证研究, 证明方法准确、精密可靠。

收稿日期: 2018-03-23

基金项目: 天津市科技计划项目 (15ZCZDSY00460)

作者简介: 闫立群, 女, 助理研究员, 主要从事药品质量研究工作。Tel: (022)23003021 E-mail: yanlq@tjpr.com

\*通信作者 田青松, 男, 研究员, 从事药品研发。Tel: (022)23006850 E-mail: tianqs@tjpr.com

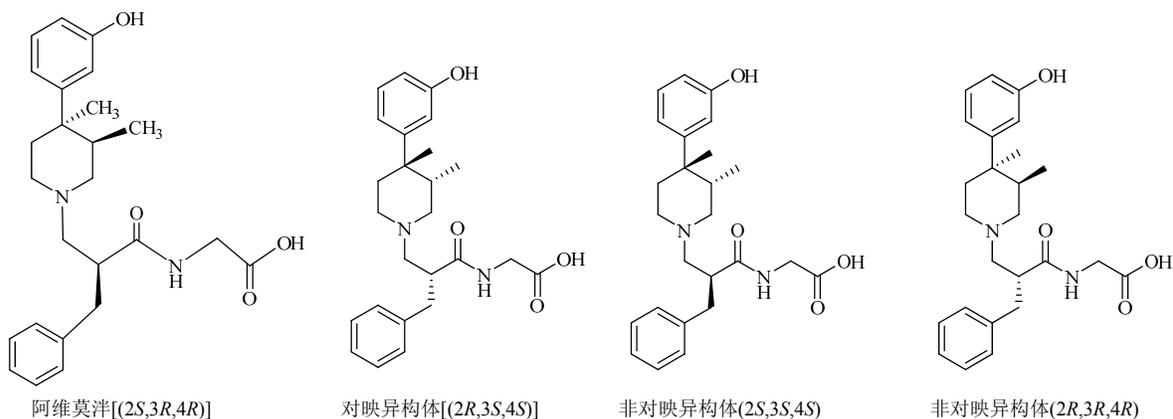


图1 阿维莫洋及其光学异构体杂质结构

Fig. 1 Structure of aweimopan and its optical isomers

### 1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪、Waters 2489 紫外检测器；Agilent 高效液相色谱仪，VWD 检测器。

乙腈为色谱纯，磷酸二氢钾为分析纯试剂，阿维莫洋对照品（质量分数 98.72%）、阿维莫洋对映异构体对照品（质量分数 97.84%）、阿维莫洋非对映异构体(2*S*,3*S*,4*S*)对照品（质量分数 99.68%）、阿维莫洋非对映异构体(2*R*,3*R*,4*R*)对照品（质量分数 89.55%）均由天津泰普药品科技发展有限公司研制，阿维莫洋原料药（天津药物研究院药业有限公司生产，批号分别为 140603、140604、140605）。

### 2 方法与结果

#### 2.1 溶液的制备

精密称量阿维莫洋、对映异构体、非对映异构体(2*R*,3*R*,4*R*)、(2*S*,3*S*,4*S*)各适量，制得质量浓度分别为 0.2 mg/mL、2.0 μg/mL、2.0 μg/mL、2.0 μg/mL (1.0%) 的系统适用性溶液。

取阿维莫洋约 20 mg，精密称定，置 100 mL 量瓶中，加甲醇适量，超声使溶解，加流动相稀释至刻度，摇匀，即得供试品溶液。

精密吸取 0.5 mL 供试品溶液，置 100 mL 量瓶中，加流动相稀释至刻度，摇匀，即得对照溶液。

#### 2.2 测定波长的选择

取阿维莫洋、对映异构体、非对映异构体(2*R*,3*R*,4*R*)、(2*S*,3*S*,4*S*)对照品溶液在 200~400 nm 进行光谱扫描，并结合阿维莫洋有关物质 DAD 全波长扫描结果，显示均在 273~274 nm 波长处有最大吸收，故选择 273 nm 为测定波长。

#### 2.3 色谱条件

色谱柱为 ULTRON ES-OVM 柱（填料为卵类

粘蛋白键和硅胶，150 mm×4.6 mm，5 μm）；以 0.02 mol/L 磷酸二氢钾缓冲液 - 乙腈 (95 : 5) 为流动相；体积流量：0.6 mL/min；检测波长：273 nm；柱温：30 °C；进样量：20 μL。

#### 2.4 系统适用性试验

取系统适用性溶液进样测定，结果见图 2。出峰顺序为：阿维莫洋约在 13 min 出峰，非对映异构体(2*S*,3*S*,4*S*)、对映异构体、非对映异构体(2*R*,3*R*,4*R*)分别在相对保留时间 1.2~1.3、1.4~1.6、2.0~2.3 处出峰，阿维莫洋与非对映异构体(2*S*,3*S*,4*S*)分离度大于 1.5。

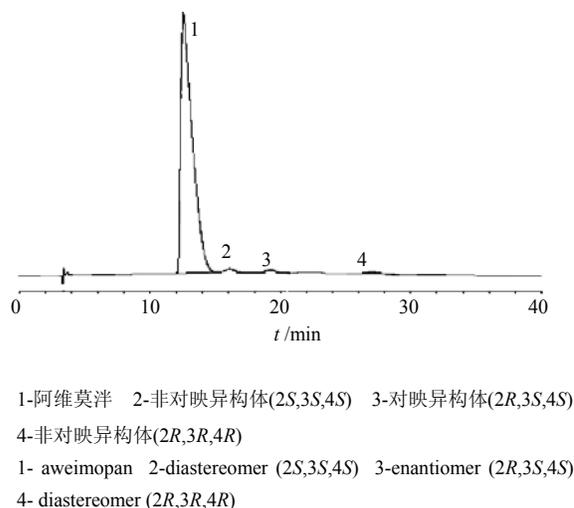


图2 系统适用性试验色谱图

Fig. 2 Chromatography of system applicability

#### 2.5 检测限测定

取阿维莫洋、对映异构体、非对映异构体(2*R*,3*R*,4*R*)、(2*S*,3*S*,4*S*)的贮备液适量，用流动相溶解并逐级稀释，按不小于 3 倍的信噪比计算，最低

检测限均约为 1 ng。

### 2.6 精密度试验

取系统适用性溶液 20  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪，连续平行测试 6 次，记录阿维莫洋、对映异构体、非对映异构体(2*R*,3*R*,4*R*)、(2*S*,3*S*,4*S*)的峰面积，计算得其 RSD 值分别为 0.04%、0.62%、0.98%、0.63%。

### 2.7 耐用性试验

取系统适用性溶液 20  $\mu\text{L}$ ，注入液相色谱仪中，将色谱条件进行微调，考察不同波长、柱温、体积流量、流动相 pH 值变化对系统适用性试验的影响，结果表明，体积流量在 0.5~0.7 mL/min，柱温在 25~35  $^{\circ}\text{C}$ ，波长在 271~273 nm，流动相比例值在水相-有机相) 94:6~96:4 耐受。

### 2.8 线性关系考察

精密称取阿维莫洋对照品、对映异构体对照品、非对映异构体(2*S*,3*S*,4*S*)对照品、非对映异构体(2*R*,3*R*,4*R*)对照品各适量，加甲醇溶解并稀释，制备线性溶液贮备液，质量浓度均为 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。分别精密移取该贮备液 0.9、2.0、4.0、5.0、6.0、8.0 mL，分别置不同的 10 mL 量瓶中，加流动相稀释至刻度，混匀，即得线性供试品溶液。精密量取线性供试液、线性溶液贮备液各 20  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪，记录峰面积。以质量浓度为横坐标，积分面积为纵坐标，进行线性回归。结果表明，阿维莫洋在 0.178 2~1.980 3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  与峰面积线性关系良好，线性方程为  $Y=8455.8 X-102.19$ ， $r=0.999 9$ ；非对映异构体(2*S*,3*S*,4*S*)在 0.185 0~2.055 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  与峰面积线性关系良好，线性方程为  $Y=844 5 X-152.08$ ， $r=1.000 0$ ；对映异构体在 0.179 5~1.994 0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  与峰面积线性关系良好，线性方程为  $Y=7493.4 X+79.731$ ， $r=1.000 0$ ；非对映异构体(2*R*,3*R*,4*R*) 在 0.161 2~1.791 0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  与峰面积线性关系良好，线性方程为  $Y=738 6.5 X-85.851$ ， $r=0.999 8$ 。

### 2.9 稳定性试验

取系统适用性溶液适量，于室温放置，分别于 0、1、2、3、4、24 h 进样测定，记录色谱图，计算得阿维莫洋、对映异构体、非对映异构体(2*S*,3*S*,4*S*)、(2*R*,3*R*,4*R*)峰面积的 RSD 值分别为 0.89%、1.07%、1.08%、1.20%，结果表明溶液在室温 24 h 内稳定性良好。

### 2.10 回收率试验

精密称取阿维莫洋对映异构体对照品、非对映异构体(2*S*,3*S*,4*S*)、(2*R*,3*R*,4*R*)对照品各适量，加甲

醇溶解并稀释制成杂质贮备液，质量浓度均约为 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。精密称取阿维莫洋原料 10 mg，置 10 mL 量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，混匀，精密移取此溶液 2 mL，置 10 mL 量瓶中，加上述贮备液 5 mL，用流动相稀释至刻度，混匀，作为供试品溶液。同法配制 6 份。精密量取上述供试品溶液各 50  $\mu\text{L}$  置 10 mL 量瓶中，用流动相稀释成 0.5% 自身对照溶液。分别进样测定，记录色谱图，计算得阿维莫洋对映异构体、非对映异构体(2*S*,3*S*,4*S*)、(2*R*,3*R*,4*R*)的平均回收率分别为 99.6%、100%、95.0%，RSD 值分别为 0.30%、0.53%、0.56%。

### 2.11 样品测定

各批样品制备供试品溶液和对照溶液，取对照溶液 20  $\mu\text{L}$  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 10%~15%；再精密量取供试品溶液和对照溶液各 20  $\mu\text{L}$ ，分别注入色谱仪，记录色谱图。供试品溶液的色谱图中如有与阿维莫洋对映异构体、非对映异构体(2*S*,3*S*,4*S*)、(2*R*,3*R*,4*R*)相对保留时间一致的色谱峰，其峰面积不得大于对照溶液主峰面积(0.5%)。样品的色谱图见图 3，测定结果见表 1。结果表明，3 批样品光学异构体杂质检测结果均符合规定。

### 3 讨论

在确认文献<sup>[9]</sup>方法时发现，虽然主峰阿维莫洋与非对映异构体(2*R*,3*R*,4*R*)能达到良好分离，但与另外两个光学异构体(2*R*,3*S*,4*S*)、(2*S*,3*S*,4*S*)在同一位置出峰，均无法分离。经研究流动相比例、pH 值、体积流量、柱温等影响分离度和柱效的因素，最终确定的方法可以使主峰阿维莫洋与 3 个光学异构体均达到良好分离，且分离度大于 1.5。经过方法学验证研究，证明该方法专属性强，灵敏度高，准确、精密可靠，操作简便，耐用性好。

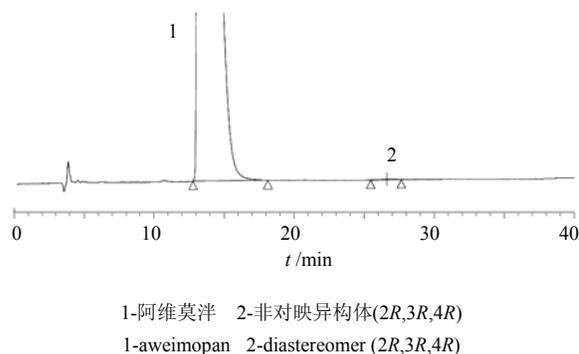


图 3 批号 140605 样品的色谱图  
Fig. 3 Chromatography of sample 140605

表1 阿维莫洋原料药中光学异构体的测定结果

Table 1 Results of optical isomers in alvimopan active pharmaceutical ingredients

| 批号     | 质量分数/% |   |   |
|--------|--------|---|---|
|        | 对映异构体  | 非对映异构体(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ) | 非对映异构体(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ) |
| 140603 | 未检出    | 未检出   | 未检出   |
| 140604 | 未检出    | 未检出   | 0.06  |
| 140605 | 未检出    | 未检出   | 0.05  |

## 参考文献

- [1] Huang W C. Re: Alvimopan provide rapid gastrointestinal recovery without nasogastric tube decompression after radical cystectomy and urinary diversion [J]. *Can J Urol*, 2012, 19(3): 6298.
- [2] 杨克辉, 熊峰. 阿维莫洋对结肠癌根治术后胃肠功能恢复的影响 [J]. *实用临床医药杂志*, 2016, 20(13): 161-162.
- [3] Itawi E A, Savoie L M, Hanna A J, *et al.* Alvimopan addition to a standard perioperative recovery pathway [J]. *JSLS*, 2011, 15(4): 492-498.
- [4] Wang S, Shah N, Philip J, *et al.* Role of alvimopan (entereg) in gastrointestinal recovery and hospital length of stay after bowel resection [J]. *PT*, 2012, 37(9): 518-525.
- [5] Wolff B G, Michelassi F, Gerkin T M, *et al.* Alvimopan, a novel, peripherally acting mu opioid antagonist: results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo- controlled, phase III trial of major abdominal surgery and postoperative ileus [J]. *Ann Surg*, 2004, 240(4): 728-734.
- [6] Taguchi A, Sharma N, Saleem R M, *et al.* Selective postoperative inhibition of gastrointestinal opioid receptors [J]. *N Engl J Med*. 2001, 345(13): 935-940.
- [7] 朱卫东, 白秋江. 治疗手术后胃肠功能障碍新药—阿维莫洋 [J]. *中国药师*, 2009, 12(3).
- [8] 范晋海, 介评. Alvimopan 加快根治性膀胱全切术后胃肠功能的恢复: 一个多中心安慰剂随机对照试验 [J]. *现代泌尿外科杂志*, 2014, 19(12): 827.
- [9] Werner J A., Cerbone L R., Frank S A, *et al.* Synthesis of trans-3,4-dimethyl-4-(3-hydroxyphenyl) piperidine opioid antagonists: application of the cis-thermal elimination of carbonates to alkaloid synthesis [J]. *J. Org Chem*, 1996, 61(2): 587-597.