



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103776933 A

(43) 申请公布日 2014. 05. 07

(21) 申请号 201410047258. 7

(22) 申请日 2014. 02. 11

(71) 申请人 润泽制药(苏州)有限公司

地址 215126 江苏省苏州市园区阳浦路 115 号

(72) 发明人 蔡垠 苗艳 武利 周志亮
朱金莲 申晓凤

(74) 专利代理机构 南京苏科专利代理有限责任
公司 32102

代理人 王玉国 陈忠辉

(51) Int. Cl.

G01N 30/02 (2006. 01)

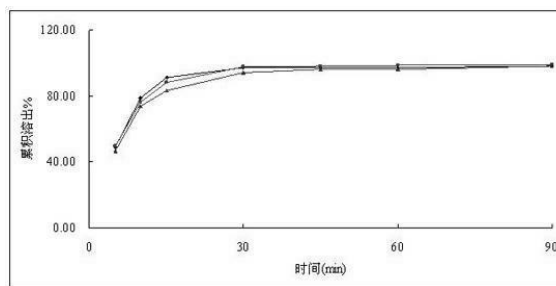
权利要求书2页 说明书8页 附图4页

(54) 发明名称

瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法

(57) 摘要

本发明涉及瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法, 首先将瑞舒伐他汀钙制剂置于溶出介质中, 然后进行采样、过滤, 对于发生降解行为的样品进行碱中和前处理后, 进入液相色谱仪进行分析, 计算瑞舒伐他汀钙降解产物相对于瑞舒伐他汀钙的校正因子, 根据校正因子计算瑞舒伐他汀钙制剂在溶出介质中瑞舒伐他汀的累积溶出百分比。克服了瑞舒伐他汀钙在部分溶出介质中发生降解导致计算偏差的缺点, 可准确检测出瑞舒伐他汀钙制剂在不同取样点的精确溶出度。



1. 瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法,其特征在于:首先将瑞舒伐他汀钙制剂置于溶出介质中,然后进行采样、过滤,对于发生降解行为的样品进行碱中和前处理后,进入液相色谱仪进行分析,计算瑞舒伐他汀钙降解产物相对于瑞舒伐他汀钙的校正因子,根据校正因子计算瑞舒伐他汀钙制剂在溶出介质中瑞舒伐他汀的累积溶出百分比。

2. 根据权利要求1所述的瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法,其特征在于:所述溶出介质是 pH 值为 1.0 ~ 8.0 的溶液。

3. 根据权利要求1或2所述的瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法,其特征在于:所述溶出介质为盐酸溶液、乙酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液、盐酸/苯二甲酸氢钾溶液、氢氧化钠/邻苯二甲酸氢钾溶液、氢氧化钠/磷酸二氢钾溶液、氢氧化钠/氯化钾/硼酸溶液、水中的一种或多种的混合溶液。

4. 根据权利要求1所述的瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法,其特征在于:所述瑞舒伐他汀钙制剂为片剂或胶囊剂。

5. 根据权利要求1所述的瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法,其特征在于:所述瑞舒伐他汀钙制剂溶出过程中产生的降解产物的个数为 0 ~ 6 个。

6. 根据权利要求1或5所述的瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法,其特征在于:所述降解产物为下列化合物中的一种或几种:

① (3S, 5S, 6E)-7-[4-(4-Fluorophenyl)-6-(1-methylethyl)-2-[methyl(methylsulfonyl)amino]-5-pyrimidinyl]-3,5-dihydroxy-6-heptenoic Acid Calcium Salt;

② (3R, 6E)-7-[4-(4-Fluorophenyl)-6-(1-methylethyl)-2-[methyl(methylsulfonyl)amino]-5-pyrimidinyl]-3-hydroxy-5-oxo-6-heptenoic Acid;

③ N-[4-(4-Fluorophenyl)-6-(1-methylethyl)-5-[(1E)-2-[(2S, 4R)-tetrahydro-4-hydroxy-6-oxo-2H-pyran-2-yl]ethenyl]-2-pyrimidinyl]-N-methyl-methanesulfonamide;

④ N-[4-(4-Fluorophenyl)-6-(1-methylethyl)-5-[(1E)-2-[(2R, 4R)-tetrahydro-4-hydroxy-6-oxo-2H-pyran-2-yl]ethenyl]-2-pyrimidinyl]-N-methyl-methanesulfonamide;

⑤ (3R, 5S)-5-[(S)-8-Fluoro-4-isopropyl-2-(N-methylmethylsulfonamido)-5,6-dihydrobenzo[h]quinazolin-6-yl]-3,5-dihydroxypentanoic Acid Sodium Salt;

⑥ (3R, 5S)-5-[(R)-8-Fluoro-4-isopropyl-2-(N-methylmethylsulfonamido)-5,6-dihydrobenzo[h]quinazolin-6-yl]-3,5-dihydroxypentanoic Acid Sodium Salt;

⑦ N-[(6S)-8-Fluoro-5,6-dihydro-4-(1-methylethyl)-6-[(2S, 4R)-tetrahydro-4-hydroxy-6-oxo-2H-pyran-2-yl]benzo[h]quinazolin-2-yl]-N-methylmethanesulfonamide;

⑧ N-[(6R)-8-Fluoro-5,6-dihydro-4-(1-methylethyl)-6-[(2S, 4R)-tetrahydro-4-hydroxy-6-oxo-2H-pyran-2-yl]benzo[h]quinazolin-2-yl]-N-methylmethanesulfonamide。

7. 根据权利要求1所述的瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法,其特征在于:所述瑞舒伐他汀钙降解产物相对于瑞舒伐他汀钙的校正因子 f 范围为 $0 < f \leq 2$ 。

8. 根据权利要求1所述的瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法,其特征在于:样品碱

中和前处理中所用的碱为氢氧化钠溶液、氢氧化钠 / 磷酸二氢钠溶液、氢氧化钠 / 磷酸氢二钠溶液中的一种或多种的混合溶液。

9. 根据权利要求 1 所述的瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法,其特征在于:瑞舒伐他汀钙在各种溶出介质中瑞舒伐他汀各时间点校正后的累积溶出量通过以下的计算方式得出:

公式 1:

各时间点校正后的累积溶出量(%)=

$$\frac{C_n \times [V_2 - (n-1)V_1] + (C_{n-1} + \dots + C_2 + C_1) \times V_1}{L} \times \frac{2 \times M_{r1}}{M_{r2}} \times V \times 100\%$$

公式 2:各时间点取出后经校正后瑞舒伐他汀钙总浓度 C_n (mg/ml) = $C_{\text{rosuvastatin}} \times (1 + f_1 + \dots + f_m)$

其中: C_n 为各时间点取出后的经校正后瑞舒伐他汀钙总浓度;

L 为制剂标示量;

V_1 为各时间点固定取样体积;

V_2 为溶出介质体积;

V 为样品在前处理过程中的稀释倍数;

f_m 为各降解产物相对于瑞舒伐他汀钙的校正因子;

$C_{\text{rosuvastatin}}$ 为各时间点取出后瑞舒伐他汀钙原型浓度;

M_{r1} 为瑞舒伐他汀分子量;

M_{r2} 为瑞舒伐他汀钙分子量。

10. 根据权利要求 1 所述的瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法,其特征在于:液相色谱仪分析条件为:色谱柱:AgiLent Extend-C18(4.6*250mm,5 μ m);以乙腈为流动相 A,以 0.02% 三氟乙酸水溶液为流动相 B,0 ~ 13min, A:37%,13 ~ 27min, A:37% ~ 90%;检测波长:242nm;流速:1.0mL/min;柱温:40℃;进样量:10 μ L。

11. 根据权利要求 1 所述的瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法,其特征在于:所述瑞舒伐他汀钙制剂在溶出介质中于药典条件下溶出,按照《中国药典》2010 版二部附录 XC 溶出度测定法项下第二法进行溶出度试验,对瑞舒伐他汀钙制剂溶出样品分析其中的降解产物,对发生降解行为的样品进行碱中和处理后,测定瑞舒伐他汀钙制剂溶出样品中主成分及降解产物含量,利用校正因子计算瑞舒伐他汀钙制剂溶出速率。

瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于治疗高脂血症药物瑞舒伐他汀钙制剂,尤其涉及瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法,属于医药技术领域。

背景技术

[0002] 大多数口服固体制剂在给药后必须经吸收进入血液循环,达到一定血药浓度后方能奏效。药物在体内吸收速度常常由溶解的快慢而决定,固体制剂中的药物在被吸收前,必须经过崩解和溶解然后转为溶液的过程。因此药物制剂溶出度测定的准确与否直接影响药物溶出及体内吸收的预判。

[0003] 瑞舒伐他汀钙是第二代他汀类强效降脂药物,在临床上主要用于原发性高胆固醇血症、家族性高胆固醇血症及其他原因引起的脂质紊乱等的治疗。目前对瑞舒伐他汀钙制剂的含量测定方法主要为高效液相色谱法,而其溶出度测定方法中,进口标准 JX20050198 中通过分光光度法测定瑞舒伐他汀钙片的溶出度。前期通过高效液相色谱法测定得出瑞舒伐他汀钙在部分 pH 值的溶出介质中存在降解情况,而此情况并不能通过分光光度法检测出来。

[0004] 因此,目前关于瑞舒伐他汀钙制剂的溶出度测定计算方法不能准确揭示其真实的溶出速率,从而影响药物制剂设计的正确性。

发明内容

[0005] 本发明的目的是克服现有技术存在的不足,提供一种准确测定瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的方法。

[0006] 本发明的目的通过以下技术方案来实现:

[0007] 瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法,特点是:首先将瑞舒伐他汀钙制剂置于溶出介质中,然后进行采样、过滤,对于发生降解行为的样品进行碱中和前处理后,进入液相色谱仪进行分析,计算瑞舒伐他汀钙降解产物相对于瑞舒伐他汀钙的校正因子,根据校正因子计算瑞舒伐他汀钙制剂在溶出介质中瑞舒伐他汀的累积溶出百分比。

[0008] 进一步地,上述的瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法,所述溶出介质是 pH 值为 1.0 ~ 8.0 的溶液;所述溶出介质为盐酸溶液、乙酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液、盐酸/苯二甲酸氢钾溶液、氢氧化钠/邻苯二甲酸氢钾溶液、氢氧化钠/磷酸二氢钾溶液、氢氧化钠/氯化钾/硼酸溶液、水中的一种或多种的混合溶液。

[0009] 更进一步地,上述的瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法,所述瑞舒伐他汀钙制剂为片剂或胶囊剂。

[0010] 更进一步地,上述的瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法,所述瑞舒伐他汀钙制剂溶出过程中产生的降解产物的个数为 0 ~ 6 个;所述降解产物为下列化合物中的一种或几种:

[0011] ① (3S, 5S, 6E)-7-[4-(4-Fluorophenyl)-6-(1-methylethyl)-2-[methyl(methyl

sulfonyl)amino]-5-pyrimidinyl]-3,5-dihydroxy-6-heptenoic Acid Calcium Salt ;

[0012] ② (3R,6E)-7-[4-(4-Fluorophenyl)-6-(1-methylethyl)-2-[methyl(methylsulfonyl)amino]-5-pyrimidinyl]-3-hydroxy-5-oxo-6-heptenoic Acid ;

[0013] ③ N-[4-(4-Fluorophenyl)-6-(1-methylethyl)-5-[(1E)-2-[(2S,4R)-tetrahydro-4-hydroxy-6-oxo-2H-pyran-2-yl]ethenyl]-2-pyrimidinyl]-N-methyl-methanesulfonamide ;

[0014] ④ N-[4-(4-Fluorophenyl)-6-(1-methylethyl)-5-[(1E)-2-[(2R,4R)-tetrahydro-4-hydroxy-6-oxo-2H-pyran-2-yl]ethenyl]-2-pyrimidinyl]-N-methyl-methanesulfonamide ;

[0015] ⑤ (3R,5S)-5-[(S)-8-Fluoro-4-isopropyl-2-(N-methylmethylsulfonamido)-5,6-dihydrobenzo[h]quinazolin-6-yl]-3,5-dihydroxypentanoic Acid Sodium Salt ;

[0016] ⑥ (3R,5S)-5-[(R)-8-Fluoro-4-isopropyl-2-(N-methylmethylsulfonamido)-5,6-dihydrobenzo[h]quinazolin-6-yl]-3,5-dihydroxypentanoic Acid Sodium Salt ;

[0017] ⑦ N-[(6S)-8-Fluoro-5,6-dihydro-4-(1-methylethyl)-6-[(2S,4R)-tetrahydro-4-hydroxy-6-oxo-2H-pyran-2-yl]benzo[h]quinazolin-2-yl]-N-methylmethanesulfonamide ;

[0018] ⑧ N-[(6R)-8-Fluoro-5,6-dihydro-4-(1-methylethyl)-6-[(2S,4R)-tetrahydro-4-hydroxy-6-oxo-2H-pyran-2-yl]benzo[h]quinazolin-2-yl]-N-methylmethanesulfonamide。

[0019] 更进一步地,上述的瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法,所述瑞舒伐他汀钙降解产物相对于瑞舒伐他汀钙的校正因子 f 范围为 $0 < f \leq 2$ 。样品碱中和前处理中所用的碱为氢氧化钠溶液、氢氧化钠/磷酸二氢钠溶液、氢氧化钠/磷酸氢二钠溶液中的一种或多种的混合溶液。瑞舒伐他汀钙在各种溶出介质中瑞舒伐他汀各时间点校正后的累积溶出量通过以下的计算方式得出:

[0020] 公式 1:

各时间点校正后的累积溶出量(%)=

$$\frac{C_n \times [V_2 - (n-1)V_1] + (C_{n-1} + \dots + C_2 + C_1) \times V_1}{L} \times \frac{2 \times M_{r1}}{M_{r2}} \times V \times 100\%$$

[0021] 公式 2:各时间点取出后经校正后瑞舒伐他汀钙总浓度 C_n (mg/ml) = $C_{\text{rosuvastatin}} \times (1 + f_1 + \dots + f_m)$

[0022] 其中: C_n 为各时间点取出后的经校正后瑞舒伐他汀钙总浓度;

[0023] L 为制剂标示量;

[0024] V_1 为各时间点固定取样体积;

[0025] V_2 为溶出介质体积;

[0026] V 为样品在前处理过程中的稀释倍数;

[0027] f_m 为各降解产物相对于瑞舒伐他汀钙的校正因子;

[0028] $C_{\text{rosuvastatin}}$ 为各时间点取出后瑞舒伐他汀钙原型浓度;

[0029] M_{r1} 为瑞舒伐他汀分子量;

[0030] M_{r2} 为瑞舒伐他汀钙分子量。

[0031] 再进一步地, 上述的瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法, 液相色谱仪分析条件为: 色谱柱: Agilent Extend-C18 (4.6*250mm, 5 μ m); 以乙腈为流动相 A, 以 0.02% 三氟乙酸水溶液为流动相 B, 0 ~ 13min, A:37%, 13 ~ 27min, A:37% ~ 90%; 检测波长: 242nm; 流速: 1.0mL/min; 柱温: 40°C; 进样量: 10 μ L。

[0032] 再进一步地, 上述的瑞舒伐他汀钙制剂溶出度的测定方法, 所述瑞舒伐他汀钙制剂在溶出介质中于药典条件下溶出, 按照《中国药典》2010 版二部附录 XC 溶出度测定法项下第二法进行溶出度试验, 对瑞舒伐他汀钙制剂溶出样品分析其中的降解产物, 对发生降解行为的样品进行碱中和处理后, 测定瑞舒伐他汀钙制剂溶出样品中主成分及降解产物含量, 利用校正因子计算瑞舒伐他汀钙制剂溶出速率。

[0033] 本发明技术方案突出的实质性特点和显著的进步主要体现在:

[0034] 本发明采用高效液相色谱仪测定瑞舒伐他汀钙制剂在溶出介质中的不同时间点的含量及降解产物相对于瑞舒伐他汀钙的校正因子, 以瑞舒伐他汀钙含量及校正因子建立瑞舒伐他汀钙制剂溶出度。克服了瑞舒伐他汀钙在部分溶出介质中发生降解导致计算偏差的缺点, 可准确检测出瑞舒伐他汀钙制剂在不同取样点的精确溶出度情况, 可以用于指导瑞舒伐他汀钙制剂成型研究, 具有简捷、快速、准确等优点。

附图说明

[0035] 下面结合附图对本发明技术方案作进一步说明:

[0036] 图 1: 瑞舒伐他汀钙片在 pH1.0 盐酸溶液中溶出样品色谱图;

[0037] 图 2: 瑞舒伐他汀钙片在 pH1.0 盐酸溶液中溶出样品经碱中和前处理后色谱图;

[0038] 图 3: 三批瑞舒伐他汀钙片在 pH1.0 盐酸溶液中溶出曲线;

[0039] 图 4: 瑞舒伐他汀钙片在醋酸-醋酸铵缓冲液 (pH4.5) 中溶出色谱图;

[0040] 图 5: 三批瑞舒伐他汀钙片在醋酸-醋酸铵缓冲液 (pH4.5) 中溶出曲线;

[0041] 图 6: 瑞舒伐他汀钙片在磷酸盐缓冲液 (pH6.8) 中溶出色谱图;

[0042] 图 7: 三批瑞舒伐他汀钙片在磷酸盐缓冲液 (pH6.8) 中溶出曲线;

[0043] 图 8: 瑞舒伐他汀钙片在水中溶出色谱图;

[0044] 图 9: 三批瑞舒伐他汀钙片在水中溶出曲线。

具体实施方式

[0045] 本发明采用高效液相色谱法对瑞舒伐他汀钙制剂溶出过程中主成分及降解产物进行分析, 利用数学模型进行拟合, 得到准确的瑞舒伐他汀钙制剂溶出曲线, 对瑞舒伐他汀钙制剂的研发具有指导意义。

[0046] 下面结合实施例对本发明作进一步的详细说明, 但应注意本发明的范围并不受这些实例的任何限制。

[0047] 1 溶解度实验

[0048] 色谱条件:

[0049] 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以乙腈为流动相 A, 以水:1% 三氟乙酸溶液 (62:1) 为流动相 B, 0 ~ 18min, A:37%, 18 ~ 20min, A:37% ~ 90%, 20 ~ 30min, A:90%; 检

测波长 :242nm ;柱温 :40℃ ;流速 :0.75ml/min ;进样量 :10 μ l。

[0050] 溶出介质制备 :

[0051] pH1.0 盐酸溶液 :精密量取浓盐酸 9.0ml,加水稀释至 1000ml,摇匀,即得 pH1.0 的盐酸溶液。

[0052] 醋酸 - 醋酸铵缓冲液 (pH4.5) :取醋酸铵 7.7g,加水 50ml 溶解后,加冰醋酸 6ml 与适量的水使成 100ml,即得。

[0053] 0.05M 柠檬酸钠缓冲液 (pH6.6) :取二水和枸橼酸钠 147g,用 2000ml 水溶解,加无水枸橼酸 3.3g,用水稀释至 10000ml,摇匀,即得。

[0054] 水 :纯化水。

[0055] 样品溶液制备 :

[0056] 对照品溶液制备 :精密称取瑞舒伐他汀钙 10.32mg,置 20ml 量瓶中,加 25% 乙腈溶解并定容至刻度,摇匀,作为对照品储备液。精密吸取上述对照品储备液 1ml 置 20ml 量瓶中,加 25% 乙腈稀释并定容至刻度,摇匀,即得。

[0057] 样品溶液制备 :取瑞舒伐他汀钙适量,置具塞试管中,分别加入上述四种溶出介质各 25ml,超声使其溶解 (保持瑞舒伐他汀钙过饱和),取出,放冷至室温,滤过。

[0058] pH1.0 盐酸溶液 :精密吸取续滤液 2ml 置 10ml 量瓶中,加 25% 乙腈稀释并定容至刻度,摇匀,即得。

[0059] 醋酸 - 醋酸铵缓冲液 (pH4.5)、0.05M 柠檬酸钠缓冲液 (pH6.6)、水 :精密吸取续滤液 1ml 置 50ml 量瓶中,加 25% 乙腈稀释并定容至刻度,摇匀,即得。

[0060] 测定法 :

[0061] 分别精密吸取上述溶液各 10 μ l 注入液相色谱仪,测定。

[0062] 溶解度试验结果 :

[0063] 实验结果表明,瑞舒伐他汀钙在 pH1.0 盐酸溶液中的溶解度最小,USP 对适当的漏槽条件的定义是至少 3 倍饱和体积的介质。瑞舒伐他汀钙在 pH1.0 盐酸溶液中的溶解度为 0.5mg/ml,即溶解 10mg 的瑞舒伐他汀钙的 3 倍饱和体积为 60ml,所以将溶出介质体积定为 900ml 完全能满足漏槽条件的要求。具体结果见表 1。

[0064] 表 1 瑞舒伐他汀钙溶解度研究结果

[0065]

溶出介质	溶解度 (mg/ml)
pH1.0 盐酸溶液	0.5
醋酸 - 醋酸铵缓冲液 (pH4.5)	2.9
0.05M 柠檬酸钠缓冲液 (pH6.6)	39.9
水	7.7

[0066] 2 溶液稳定性实验

[0067] 为确保试验数据的准确测定,对瑞舒伐他汀钙在不同 pH 溶出介质中的稳定性进行考察。

[0068] 色谱条件：

[0069] 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；以乙腈为流动相 A，以水：1% 三氟乙酸溶液（62:1）为流动相 B，0 ~ 18min，A：37%，18 ~ 20min，A：37% ~ 90%，20 ~ 30min，A：90%；检测波长：242nm；流速：0.75ml/min；柱温：40℃；进样量：10 μl。

[0070] 稳定性考察：

[0071] pH1.0 盐酸溶液：取瑞舒伐他汀钙 11.82mg 置 20ml 量瓶中，加 25% 乙腈溶液溶解并定容至刻度，摇匀，精密吸取上述溶液 1ml 置 50ml 量瓶中，加 pH1.0 盐酸溶液溶解并定容至刻度，摇匀，即得。

[0072] 醋酸 - 醋酸铵缓冲液（pH4.5）：取瑞舒伐他汀钙 2.22mg，置 100ml 量瓶中，加水溶解并定容至刻度，摇匀，精密吸取上述溶液 25ml 置 50ml 量瓶中，加醋酸 - 醋酸铵缓冲液（pH4.5）稀释并定容至刻度，摇匀，即得。

[0073] 0.05M 柠檬酸钠缓冲液（pH6.6）：取瑞舒伐他汀钙 4.44mg，置 200ml 量瓶中，加水溶解并定容至刻度，摇匀，精密吸取上述溶液 25ml 置 50ml 量瓶中，加 0.05M 柠檬酸钠缓冲液（pH6.6）稀释并定容至刻度，摇匀，即得。

[0074] 水：取瑞舒伐他汀钙 1.18mg，置 100ml 量瓶中，加水溶解并定容至刻度，摇匀，即得。

[0075] 将上述溶液置于 37.0℃ 水浴中，分别于 0h、1h、2h、4h、6h、24h 取样分析。

[0076] 测定法：

[0077] 分别精密吸取上述溶液各 10 μl 注入液相色谱仪，分析，计算峰面积的 RSD。

[0078] 稳定性试验结果：

[0079] 实验结果表明，瑞舒伐他汀钙在醋酸 - 醋酸铵缓冲液（pH4.5）、0.05M 柠檬酸钠缓冲液（pH6.6）、水中比较稳定，pH1.0 盐酸溶液不稳定，24h 瑞舒伐他汀钙降解 47.0%。具体结果见表 2。

[0080] 表 2 四种溶出介质稳定性考察结果

[0081]

溶出介质	峰面积 RSD (%)
pH1.0 盐酸溶液	
醋酸 - 醋酸铵缓冲液（pH4.5）	0.7
0.05M 柠檬酸钠缓冲液（pH6.6）	0.3
水	0.3

[0082] 3 溶出度样品前处理研究

[0083] 瑞舒伐他汀钙制剂在 pH1.0 盐酸溶液中不稳定，生成 3 种降解产物，对这三种降解产物进行分离制备得纯品，对降解产物进行 NMR 分析，结果如下：

[0084] ¹H-NMR（DMSO，600M）δ：1.21（6H，m），1.45（1H，m），1.55（1H，m），2.01（1H，dd，J=6），2.17（1H，dd，J=6），3.43（1H，hept，J=7），3.56（3H，s），3.63（3H，s），3.92（1H，q），4.31（1H，m），5.59（1H，dd，J=15），6.45（1H，d，J=15），7.20（2H，m），7.63（2H，m），MS（ESI）m/z：（M+H）=482。

以上数据与文献报道比较,确定为杂质 (3S, 5S, 6E)-7-[4-(4-Fluorophenyl)-6-(1-methylethyl)-2-[methyl(methylsulfonyl)amino]-5-pyrimidinyl]-3,5-dihydroxy-6-heptenoic Acid Calcium Salt,即瑞舒伐他汀非对映异构体;

[0085] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 600M) δ : 1.28 (6H, m), 1.57 (1H, m), 1.93 (1H, m), 2.68 (1H, dd, $J=6$), 2.74 (1H, dd, $J=6$), 3.34 (1H, hept, $J=7$), 3.53 (3H, s), 3.58 (3H, s), 4.36 (1H, m), 5.25 (1H, m), 5.50 (1H, dd, $J=15$), 6.74 (1H, d, $J=15$), 7.14 (2H, m), 7.64 (2H, m), MS (ESI) m/z : ($M+H$)=464。以上数据与文献报道比较,确定为杂质 N-[4-(4-Fluorophenyl)-6-(1-methylethyl)-5-[(1E)-2-[(2S, 4R)-tetrahydro-4-hydroxy-6-oxo-2H-pyran-2-yl]ethenyl]-2-pyrimidinyl]-N-methyl-methanesulfonamide,即瑞舒伐他汀-5S-内酯;

[0086] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 600M) δ : 1.28 (6H, m), 1.68 (2H, m), 2.51 (2H, dd, $J=6$), 2.77 (1H, dd, $J=6$), 3.42 (1H, hept, $J=7$), 3.61 (3H, s), 3.67 (3H, s), 4.51 (1H, m), 5.45 (1H, m), 6.10 (1H, dd, $J=15$), 6.85 (1H, d, $J=15$), 7.12 (2H, m), 7.65 (2H, m), MS (ESI) m/z : ($M+H$)=464。以上数据与文献报道比较,确定为杂质 N-[4-(4-Fluorophenyl)-6-(1-methylethyl)-5-[(1E)-2-[(2R, 4R)-tetrahydro-4-hydroxy-6-oxo-2H-pyran-2-yl]ethenyl]-2-pyrimidinyl]-N-methyl-methanesulfonamide,即瑞舒伐他汀-5R-内酯;

[0087] 对以上三种结构进行分析,认为瑞舒伐他汀-5S-内酯及瑞舒伐他汀-5R-内酯是由于酸性闭环生成,其应在中性甚至碱性条件下开环,即生成瑞舒伐他汀及瑞舒伐他汀非对映异构体,故对开环所需的 pH 值进行研究。

[0088] 精密称取瑞舒伐他汀钙 50.10mg 置 500ml 量瓶中,加 pH1.0 盐酸溶液溶解并定容至刻度,置 50℃ 水浴中,放置 2h 后取出,放冷,分取 100ml,用 1mol/L 氢氧化钠溶液分别调 pH 值至 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 注入高效液相色谱仪分析,观察瑞舒伐他汀-5S-内酯及瑞舒伐他汀-5R-内酯是否开环。

[0089] 试验结果表明,瑞舒伐他汀在 pH1.0 盐酸溶液中生成 3 种降解产物,分别为瑞舒伐他汀非对映异构体,瑞舒伐他汀-5S-内酯,瑞舒伐他汀-5R-内酯,用碱调节 pH 值至 7.0 时,瑞舒伐他汀-5S-内酯,瑞舒伐他汀-5R-内酯即可开环重新生成瑞舒伐他汀及瑞舒伐他汀非对映异构体,故对于瑞舒伐他汀钙制剂溶出度样品中如出现降解行为,需取溶出度样品进行碱中和至 pH 值至 7.0 的前处理后方可注入液相色谱仪分析。

[0090] 实施例 1

[0091] 色谱条件: Agilent Extend-C18 (4.6*250mm, 5 μm); 以乙腈为流动相 A, 和 0.02% 三氟乙酸水溶液为流动相 B, 0 ~ 13min, B: 63%, 13 ~ 27min, B: 63% ~ 10%; 检测波长: 242nm; 流速: 1.0mL/min; 柱温: 40℃; 进样量: 10 μL 。

[0092] pH1.0 盐酸溶液中溶出曲线建立: 取瑞舒伐他汀钙片 (三批), 平行 6 份, 照溶出度测定法 (中国药典 2010 版一部附录 X C 第二法), 以 900ml pH1.0 盐酸溶液作为溶出介质, 转速为 50rpm, 依法操作, 于 5min、10min、15min、30min、45min、60min、90min 取样 4ml 分析, 滤过, 对续滤液进行碱中和处理, 调 pH 值至 7.0 后作为供试品溶液。

[0093] 结果如图 1, 即瑞舒伐他汀钙片在 pH1.0 盐酸溶液中溶出样品色谱图。如图 2 即瑞舒伐他汀钙片在 pH1.0 盐酸溶液中溶出样品经碱中和前处理后色谱图;

[0094] 计算其中的每一个降解产物的校正因子 f 。

[0095] 根据公式 1 和公式 2 进行溶出度计算,

[0096] 公式 1 :

各时间点校正后的累积溶出量(%)=

$$\frac{C_n \times [V_2 - (n-1)V_1] + (C_{n-1} + \dots + C_2 + C_1) \times V_1}{L} \times \frac{2 \times M_{r1}}{M_{r2}} \times V \times 100\%$$

[0097] 公式 2 :各时间点取出后经校正后瑞舒伐他汀钙总浓度 C_n (mg/ml) = $C_{\text{rosuvastatin}} \times (1 + f_1 + \dots + f_m)$

[0098] 其中 : C_n 为各时间点取出后的经校正后瑞舒伐他汀钙总浓度 ;

[0099] L 为制剂标示量 ;

[0100] V_1 为各时间点固定取样体积 ;

[0101] V_2 为溶出介质体积 ;

[0102] V 为样品在前处理过程中的稀释倍数 ;

[0103] f_m 为各降解产物相对于瑞舒伐他汀钙的校正因子 ;

[0104] $C_{\text{rosuvastatin}}$ 为各时间点取出后瑞舒伐他汀钙原型浓度 ;

[0105] M_{r1} 为瑞舒伐他汀分子量 ;

[0106] M_{r2} 为瑞舒伐他汀钙分子量。

[0107] 绘制溶出度曲线。

[0108] 结果如图 3,即三批瑞舒伐他汀钙片在 pH1.0 盐酸溶液中溶出曲线。

[0109] 实施例 2

[0110] 色谱条件 :AgiLent Extend-C18(4.6*250mm,5 μ m) ;以乙腈为流动相 A,和 0.02% 三氟乙酸水溶液为流动相 B,0 ~ 13min, B :63%,13 ~ 27min, B :63% ~ 10% ;检测波长 :242nm ;流速 :1.0mL/min ;柱温 :40℃ ;进样量 :10 μ L。

[0111] 醋酸 - 醋酸铵缓冲液 (pH4.5) 中溶出曲线建立 :取瑞舒伐他汀钙片 (三批),平行 6 份,照溶出度测定法 (中国药典 2010 版一部附录 X C 第二法),以醋酸 - 醋酸铵缓冲液 (pH4.5) 作为溶出介质 900ml 为溶出介质,转速为 50rpm,依法操作,于 5min、10min、15min、30min、45min、60min 取样 4ml 分析,滤过,取续滤液作为供试品溶液。

[0112] 结果如图 4,瑞舒伐他汀钙片在醋酸 - 醋酸铵缓冲液 (pH4.5) 中溶出色谱图。

[0113] 根据公式 1 和公式 2 进行溶出度计算,绘制溶出度曲线。

[0114] 结果如图 5,三批瑞舒伐他汀钙片在醋酸 - 醋酸铵缓冲液 (pH4.5) 中溶出曲线。

[0115] 实施例 3

[0116] 色谱条件 :AgiLent Extend-C18(4.6*250mm,5 μ m) ;以乙腈为流动相 A,和 0.02% 三氟乙酸水溶液为流动相 B,0 ~ 13min, B :63%,13 ~ 27min, B :63% ~ 10% ;检测波长 :242nm ;流速 :1.0mL/min ;柱温 :40℃ ;进样量 :10 μ L。

[0117] 0.05M 柠檬酸钠缓冲液 (pH6.6) 中溶出曲线建立 :取瑞舒伐他汀钙片,平行 6 份,照溶出度测定法 (中国药典 2010 版一部附录 X C 第二法),以 900ml 磷酸盐缓冲液 (pH6.8) 作为溶出介质,转速为 50rpm,依法操作,于 5min、10min、15min、30min 取样 4ml 分析,滤过,取续滤液作为供试品溶液。

[0118] 结果如图 6,即瑞舒伐他汀钙片在 0.05M 柠檬酸钠缓冲液 (pH6.6) 中溶出色谱图。

[0119] 根据公式 1 和公式 2 进行溶出度计算,绘制溶出度曲线。

[0120] 结果如图 7,即三批瑞舒伐他汀钙片在 0.05M 柠檬酸钠缓冲液 (pH6.6) 中溶出曲线。

[0121] 实施例 4

[0122] 色谱条件:AgiLent Extend-C18(4.6*250mm,5 μ m);以乙腈为流动相 A,和 0.02% 三氟乙酸水溶液为流动相 B,0~13min, B:63%,13~27min, B:63%~10%;检测波长:242nm;流速:1.0mL/min;柱温:40℃;进样量:10 μ L。

[0123] 水中溶出曲线建立:取瑞舒伐他汀钙片,平行 6 份,照溶出度测定法(中国药典 2010 版一部附录 X C 第二法),以 900ml 水作为溶出介质,转速为 50rpm,依法操作,于 5min、10min、15min、30min 取样 4ml 分析,滤过,取续滤液作为供试品溶液。

[0124] 结果如图 8,即瑞舒伐他汀钙片在水中溶出色谱图。

[0125] 根据公式 1 和公式 2 进行溶出度计算,绘制溶出度曲线。

[0126] 结果如图 9,即三批瑞舒伐他汀钙片在水中溶出曲线。

[0127] 综上所述,本发明采用高效液相色谱仪测定瑞舒伐他汀钙制剂在溶出介质中的不同时间点的含量及降解产物相对于瑞舒伐他汀钙的校正因子,以瑞舒伐他汀钙含量及校正因子建立瑞舒伐他汀钙制剂溶出度。克服了瑞舒伐他汀钙在部分溶出介质中发生降解导致计算偏差的缺点,可准确检测出瑞舒伐他汀钙制剂在不同取样点的精确溶出度情况,可以用于指导瑞舒伐他汀钙制剂成型研究,具有简捷、快速、准确等优点。

[0128] 需要理解到的是:以上所述仅是本发明的优选实施方式,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以作出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

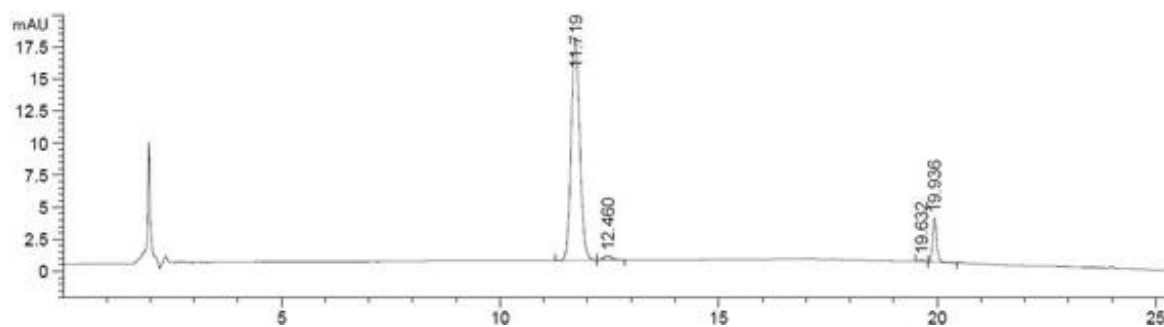


图 1

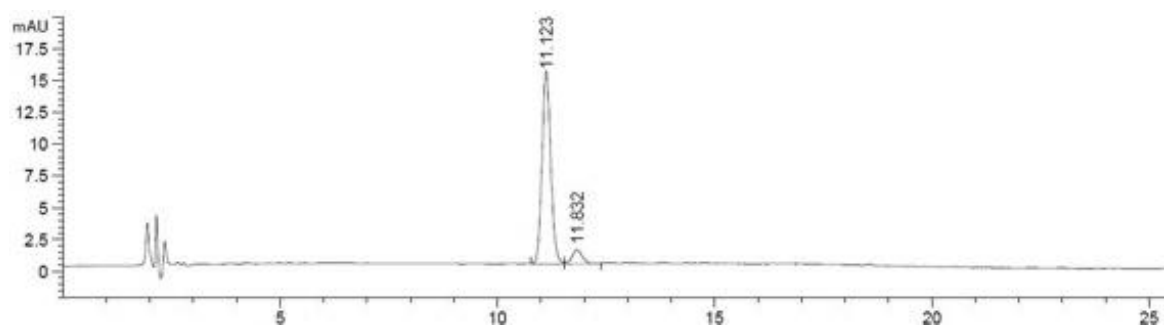


图 2

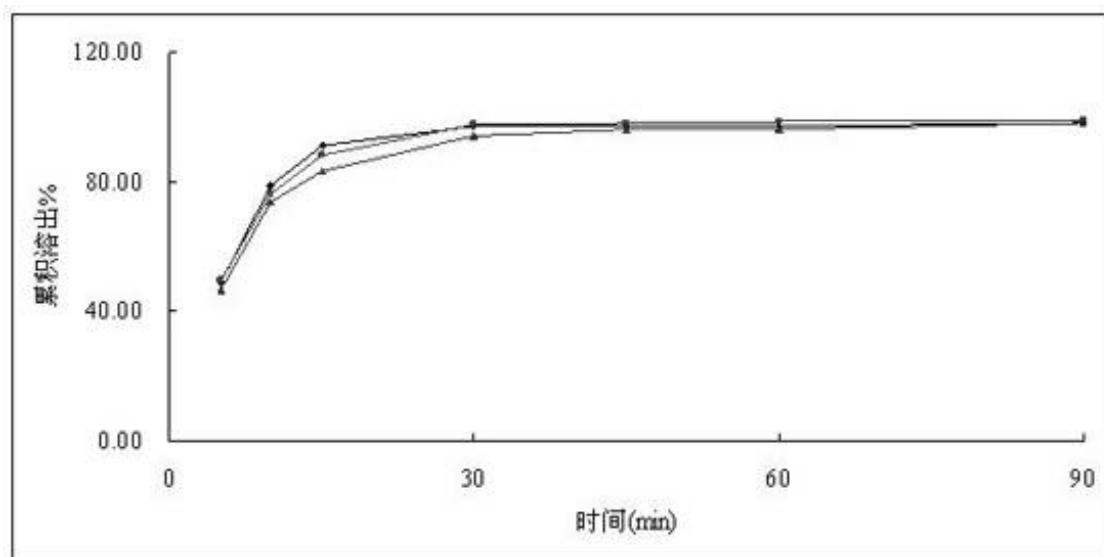


图 3

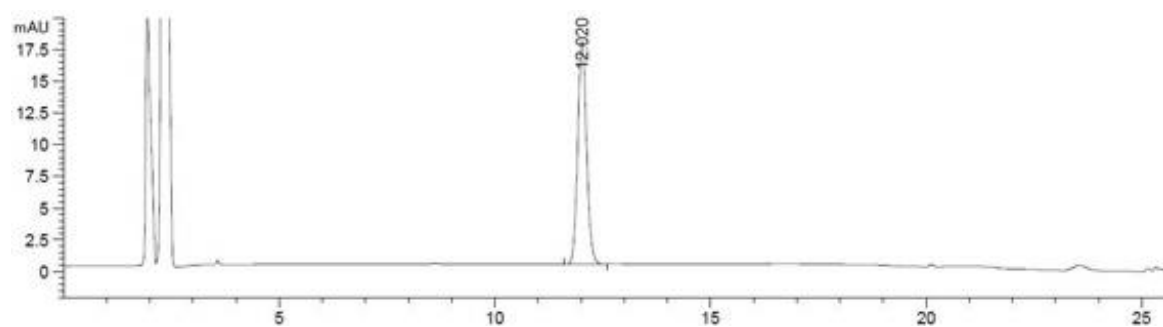


图 4

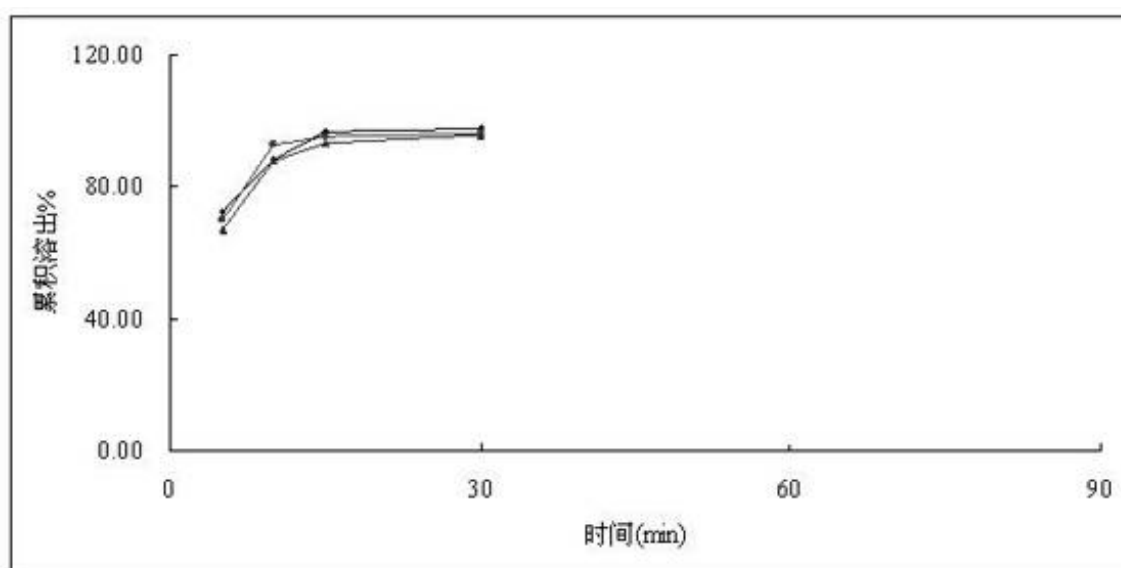


图 5

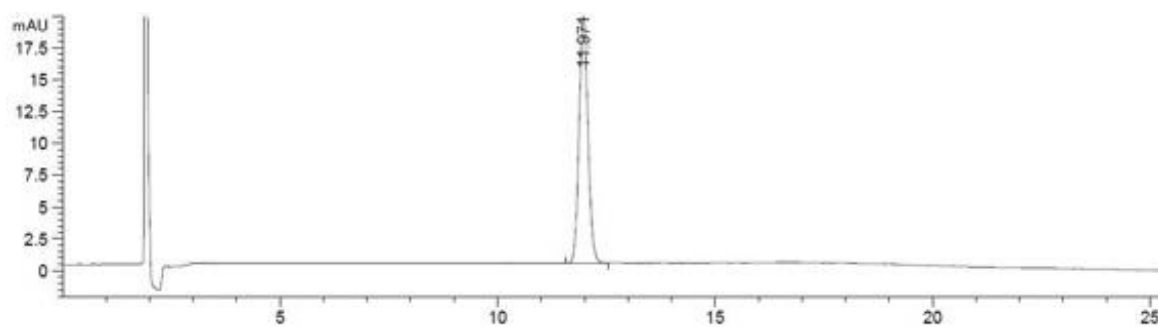


图 6

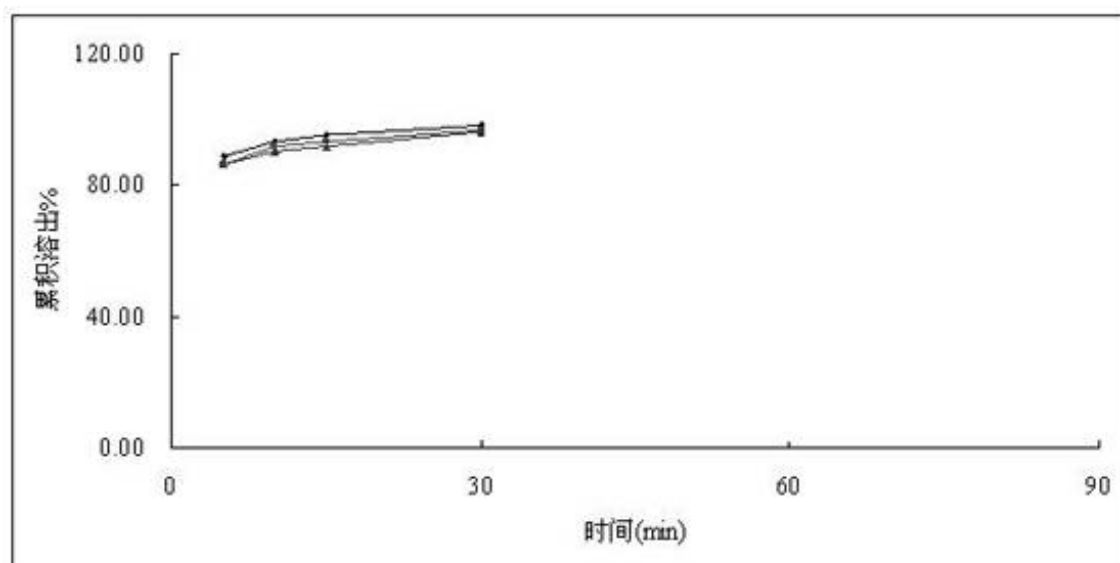


图 7

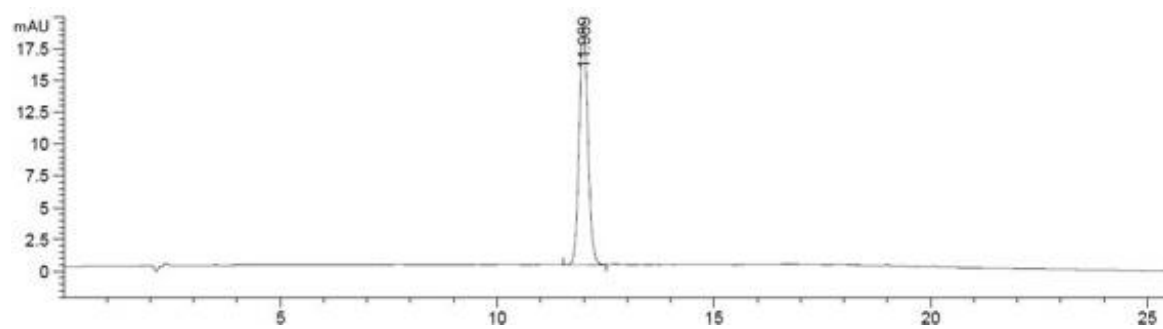


图 8

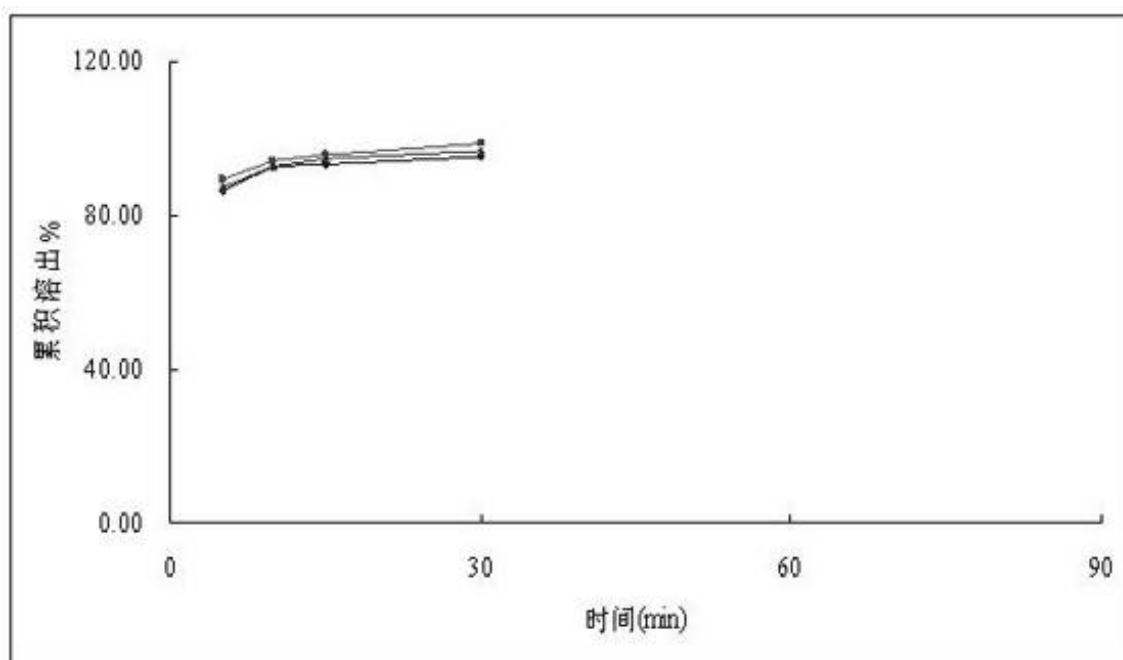


图 9