RP-HPLC 法测定甲磺酸沙芬酰胺中的 2 种异构体杂质

李　旦，徐　姁，张　晓，路珊珊，孙春艳 *

（扬子江药业集团有限公司，克服递药屏障高端制剂全国重点实验室，江苏泰州 225321）

摘要：建立了反相高效液相色谱法同时测定甲磺酸沙芬酰胺（**1**）中对氟异构体（**2**）和对映异构体（**3**）的含量。采用 CHIRALPAK IG-3 色谱柱（4.6 mm×250 mm，3 μm），以体积比为 10 ∶ 90 的 0.05 mol/L 碳酸氢铵溶液和甲醇为流动相，在等度洗脱模式下进行分离。检测波长 226 nm，流速 0.5 mL/min，柱温 15 ℃。方法学研究显示，**2** 和 **3** 分别在 0.16 ～ 1.62、0.16 ～ 1.57 μg/mL 线性关系良好（r>0.99）；检测限均为 0.02 μg/mL，定量限均为 0.16 μg/mL。**2** 和 **3** 的平均回收率（n=9）分别为 102.0%、92.1%，RSD 分别为 5.9%、4.2%。该方法准确、可靠，灵敏度高，可用于测定 **1** 中 2 种异构体杂质的含量。

关键词：甲磺酸沙芬酰胺；抗震颤麻痹药；反相高效液相色谱；手性分离；异构体杂质

中图分类号：R917；R971^{+}.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2026)01-0118-04

引用：李　旦, 徐　姁, 张　晓, 等. RP-HPLC法测定甲磺酸沙芬酰胺中的2种异构体杂质[J]. 中国医药工业杂志, 2026, **57**(1): 118-121. DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2026.01.013

Determination of Two Isomeric Impurities in Safinamide Mesylate by RP-HPLC

LI Dan, XU Xu, ZHANG Xiao, LU Shanshan, SUN Chunyan*

(*National Key Lab. of Complex Drug Formulations for Overcoming Delivery Barriers, Yangtze River Pharmaceutical Group Co., Ltd., Taizhou 225321*)

ABSTRACT: A reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) method was established for the simultaneous determination of *p*-fluoro isomer (**2**) and enantiomer (**3**) in safinamide mesylate (**1**). Separation was performed on a CHIRALPAK IG-3 chiral column (4.6 mm×250 mm, 3 μm) with a mobile phase consisting of 0.05 mol/L ammonium bicarbonate solution and methanol at a volume ratio of 10 ∶ 90 under isocratic elution mode. The detection wavelength was set at 226 nm, the flow rate was 0.5 mL/min, and the column temperature was maintained at 15 ℃. The methodological studies showed that **2** and **3** had good linearity in the ranges of 0.16 − 1.62 and 0.16 − 1.57 μg/mL, respectively (r>0.99). Both the limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) were determined to be 0.02 and 0.16 μg/mL, respectively. The average recoveries (n=9) of compounds **2** and **3** were 102.0% and 92.1%, with RSDs of 5.9% and 4.2%, respectively. This method is accurate, reliable and highly sensitive, which can be applicable for the quantitative determination of the two isomeric impurities in **1**.

Key Words: safinamide mesylate; antiparkinsonian agent; RP-HPLC; chiral separation; isomeric impurity

甲磺酸沙芬酰胺（safinamide mesylate，**1**，图 1）为单胺氧化酶 -B（monoamine oxidas，MAO-B）抑制剂，与左旋多巴 / 卡比多巴联合用于帕金森病（Parkinson disease，PD）的辅助治疗。本品由意大利 Zambon 集团及 Newron 制药公司合作研发，商品名为 Xadago®，于 2015 年在欧盟首次获批上市，2017 年在美国获批上市。**1** 为第三代 MAO-B 抑制剂，对 MAO-B 的选择性更高，且抑制作用可逆，在使用 **1** 治疗 PD 时，不良反应的发生率下降，生物安全性较高[1-2]。

在 **1** 合成过程中，会引入对氟异构体杂质［(*S*)-

收稿日期：2025-03-07

作者简介：李　旦，硕士，从事药物质量研究工作。

通信作者：孙春艳，硕士，从事药物质量研究工作。

2-[[4-[(4-氟苯基）甲氧基］苯基］甲基］氨基丙酰胺，**2**，图 1]。**1** 的结构中含有 1 个手性中心，存在 1 种光学异构体，为对映异构体杂质［(*R*)-2-[[4-[(3-氟苯基）甲氧基］苯基］甲基］氨基丙酰胺，**3**，图 1]。根据《化学药物杂质研究技术指导原则》《手性药物质量控制研究技术指导原则》及 ChP 2020 年版四部通则 9102《药品杂质分析指导原则》的要求，需对 **1** 中的 **2** 和 **3** 进行研究和控制。

2 和 **3** 的检测方法已有文献[3-4]报道，但同时测定 **1** 中这 2 种异构体杂质的分析方法目前尚未见报道。目前，手性固定相 HPLC 法已被广泛用于异构体的检测。本研究采用反相高效液相色谱法，使用手性色谱柱，建立了同时检测 **1** 中 **2** 和 **3** 的分析方法，并进行方法学验证，以有效控制 **1** 原料药的质量。

1 仪器与试药

1260 型高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）；PL202-L 型和 XPE205 型电子天平（瑞士 Mettler Toledo 公司）。

1 原料药（含量 99.7%、100.3%、100.0%，批号 23032101、23041901、23081101）、**2** 对照品（含量 99.0 %，批号 RS17080901-202305）和 **3** 对照品（含量 100.0 %，批号 RS18082901-202305）均为扬子江药业集团有限公司产品；甲醇为色谱纯，碳酸氢铵为分析纯，水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱 CHIRALPAK IG-3 柱（4.6 mm×250 mm，3 μm）；流动相 0.05 mol/L 碳酸氢铵溶液和甲醇（体积比 10 ∶ 90），等度洗脱；检测波长 226 nm；流速 0.5 mL/min；柱温 15 ℃；进样量 10 μL。

2.2 溶液的制备

稀释剂：即流动相。

异构体贮备液：精密称取 **2** 和 **3** 的对照品各约 15 mg，分别置 100 mL 量瓶中，加入稀释剂适量，超声使溶解，定容，摇匀，即得。

混合异构体贮备液：分别精密量取 **2** 贮备液与 **3** 贮备液各 1 mL，置同一 10 mL 量瓶中，用稀释剂定容，摇匀，即得。

系统适用性溶液：精密称取 **1** 原料药（批号 23032101）约 10 mg，置 20 mL 量瓶中，加入稀释剂适量，超声使溶解，再精密加入混合异构体贮备液 1 mL，用稀释剂定容，摇匀，即得。

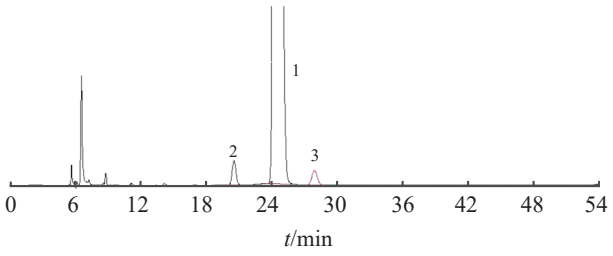
杂质对照品溶液：精密量取混合异构体贮备液 1 mL，置 20 mL 量瓶中，用稀释剂定容，摇匀，即得。

供试品溶液：精密称取 **1** 原料药（批号 23032101）约 25 mg，置 50 mL 量瓶中，加入稀释剂适量，超声使溶解，用稀释剂定容，摇匀，即得。

2.3 方法学验证

2.3.1 系统适用性试验

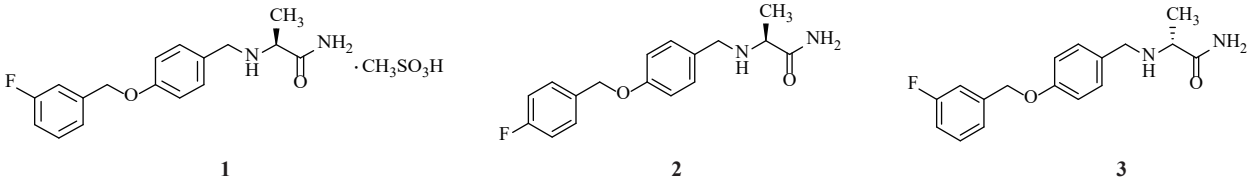
取系统适用性溶液，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定，记录色谱图（图 2）。结果表明，系统适用性溶液中 **1**、**2**、**3** 各峰间均可基线分离，分离度均大于 2.0，提示系统适用性良好。



1—**1**；2—**2**；3—**3**。

图 2 系统适用性溶液色谱图

Fig.2 Chromatogram of System Suitability Solution



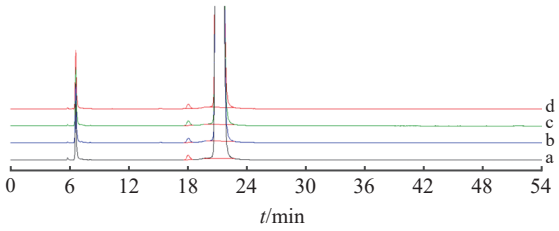
1 **2** **3**

图 1 1 及其异构体杂质的化学结构

Fig.1 Chemical Structures of **1** and Its Two Isomeric Impurities

2.3.2 专属性试验

取 **1** 原料药（批号 23032101）适量，分别进行高温（60 ℃放置 20 d）、高温高湿（60 ℃、相对湿度 75%条件下放置 20 d）、光照（5 000 lx 照射 20 d）强制降解试验。取未破坏的 **1** 原料药（批号 23032101）和强制降解试验样品各适量，加稀释剂超声溶解，并稀释成每 1 mL 中约含 **1** 0.5 mg 的溶液，按“**2.1**”项下色谱条件测定，记录色谱图（图 3）。结果表明，各强制降解条件下均未见明显的降解杂质产生；各强制降解试验样品溶液中主峰与相邻峰的分离度均大于 2.0，提示专属性良好。



a—未破坏样品溶液；b—光照破坏样品溶液；c—高温破坏样品溶液；d—高温高湿破坏样品溶液。

图 3　强制降解试验色谱图

Fig.3　Chromatograms of the Stressing Tests

2.3.3　检测限与定量限

取各异构体贮备液，用稀释剂逐级定量稀释，按“**2.1**”项下色谱条件测定，以信噪比 10 ∶ 1 和 3 ∶ 1 时的质量浓度作为相应化合物的定量限和检测限。结果表明，**2** 和 **3** 的检测限均为 0.02 μg/mL（相对供试品溶液质量浓度的 0.003%）；定量限均为 0.16 μg/mL（相对供试品溶液质量浓度的 0.030%）。

2.3.4　线性试验

取各异构体贮备液，用稀释剂逐步定量稀释成系列溶液，按“**2.1**”项下色谱条件测定，以各杂质的质量浓度（*c*）为横坐标、峰面积（*A*）为纵坐标，进行线性回归，所得回归方程及相关系数结果如表 1 所示。可见，**2** 和 **3** 在各自质量浓度范围内线性关系良好。

2.3.5　重复性试验

精密称取 **1** 原料药（批号 23032101）适量，按“**2.2**”项下方法制备供试品溶液，平行制备 6 份，按“**2.1**”项下色谱条件测定。结果表明，6 份供试品溶液中均未检出 **3**，而 **2** 含量均为 0.06%，RSD 为 1.9%。

表 1　线性试验结果

Tab.1　Results of Linearity Tests

成分	标准曲线方程	*r*	线性范围 /(μg·mL^{-1})
2	A= 5.189×10^4c+1.356×10^2	1.000 0	0.16 ～ 1.62
3	A= 5.094×10^4c+1.516×10^2	1.000 0	0.16 ～ 1.57

2.3.6　准确度试验

分别精密量取 **2** 贮备液与 **3** 贮备液 5 mL，各置 100 mL 量瓶中，用稀释剂定容，作为准确度试验贮备液。取 **1** 原料药（批号 23032101）约 25 mg，精密称定，共 9 份，分别置不同的 50 mL 量瓶中，分为低、中、高水平 3 组，每组 3 份；每组分别精密移入准确度试验贮备液 2、5、8 mL，作为低、中、高水平的准确度试验溶液，按“**2.1**”项下色谱条件测定。结果表明，**2** 和 **3** 的平均回收率（n=9）为 102.0%、92.1%，RSD 为 5.9%、4.2%。

2.3.7　稳定性试验

精密称取 **1** 原料药（批号 23032101）适量，按“**2.2**”项下方法制成供试品溶液，常温放置，每隔 11 h 取样，按“**2.1**”项下色谱条件测定。结果显示，供试品溶液在室温放置 55 h 期间，**2** 含量均为 0.06%，**3** 始终未检出，表明供试品溶液在室温条件下 55 h 内稳定。

2.3.8　耐用性试验

为考察方法耐用性，分别改变柱温（13 ～ 17 ℃）、流速（0.4 ～ 0.6 mL/min），并取系统适用性溶液进样测定，观察色谱条件发生微小变动时对检测结果的影响。结果显示，在上述色谱条件下，**1** 与 **2**、**3** 的分离度均大于 2.0，提示方法耐用性良好。

2.4　样品测定

取 3 批 **1** 样品，按“**2.2**”项下方法分别制成供试品溶液，按“**2.1**”项下色谱条件测定，每批样品平行制备 2 份，每份测定 1 次。结果显示，3 批样品中均未检出 **3**，3 批样品（23032101、23041901、23081101）中 **2** 的含量分别为（0.060 6±0.003 0）%、（0.059 9±0.000 6）%、（0.037 2±0.000 7）%，均低于 0.10%。

3 讨论

3.1 检测波长的选择

取系统适用性溶液进样测定，打开二极管阵列检测器，于 190 ～ 400 nm 波长范围内扫描。所得紫外吸收图谱显示，**1**、**2** 和 **3** 分别在 202、226 和 270 nm 波长处有最大吸收；其中，202、226 nm 处吸收较强，270 nm 处吸收较弱。鉴于流动相的截止波长，选择 226 nm 作为检测波长。

3.2 流动相体系的选择

在方法开发过程中，尝试了正相流动相体系［正庚烷、异丙醇和二乙胺（体积比 88 ∶ 12 ∶ 0.2)］，采用 CHIRALCEL OD-H 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）进行分离，结果 **1** 和 **2**、**3** 均能较好分离。鉴于该流动相体系中三者于 226 nm 检测波长处的基线波动和噪声较大，故选用 270 nm。然而，在后续检测过程中发现，该检测波长条件下方法灵敏度欠佳。此外，由于 **1** 在正相的弱极性流动相中溶解性较差，无法通过提高供试品浓度来提高响应；尝试提高进样体积，但发现基线波动会随之增大，最终放弃了正相流动相体系，选择反相流动相体系进行开发。由于 **1** 呈弱碱性，在弱碱性流动相中的保留性能比在酸性体系中强，峰形较好，有利于分离。甲醇和乙腈为常用的反相有机相，在筛选中观察到甲醇的分离性能优于乙腈。因此，最终选择以碳酸氢铵溶液作为水相，甲醇作为有机相。

3.3 与文献方法的对比

文献[5]报道使用反相流动相体系进行 **3** 的测定。本研究使用该法测定 **2** 和 **3** 时观察到，采用 CHIRALCEL OD-RH 色谱柱（4.6 mm×150 mm，5 μm）时，**1**、**2**、**3** 峰的保留时间分别为 8.79、8.16、8.12 min，**2** 和 **3** 重合，并且无法与 **1** 分离；更换为 CHIRALCEL OD-RH 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm），**2** 和 **3** 仍然重合。当 **1** 和 **3** 的质量浓度为 12 μg/mL 时，二者分离度为 2.1；但当供试品溶液浓度提高为 0.12 mg/mL，会因 **1** 色谱峰拖尾导致二者分离度小于 1.5。本研究建立的反相高效液相色谱法可使 **1**、**2**、**3** 各峰实现基线分离，能同时测定 **1** 中的 2 种异构体杂质，流动相配制更简单，易于操作；同时，相较于文献[5]，缓冲盐浓度更低，有利于延长色谱柱的使用寿命，降低成本。方法学验证结果表明，本法准确可靠、灵敏度高、耐用性好，具有实用价值，可为 **1** 的质量控制提供依据。

参考文献：

[1] 梁 瑶, 张 蕾, 曾灶昌. 新型抗帕金森病药物沙芬酰胺[J]. 中国新药杂志, 2018, **27**(14): 1603-1606.

[2] 付珊珊, 梁战华. 单胺氧化酶B抑制剂治疗帕金森病步态障碍的研究[J]. 临床神经病学杂志, 2021, **34**(6): 462-465.

[3] 薛青高, 兰公剑, 邹 泓, 等. 一种沙芬酰胺有关物质的分析方法: 中国, 115754027A [P]. 2023-03-07.

[4] 张 琪, 张倩如, 刘静媛, 等. HPLC法测定甲磺酸沙芬酰胺中对映异构体的含量[J]. 中国药师, 2016, **19**(3): 582-584.

[5] 刘磊娜, 律 涛, 赵晓娟, 等. 沙芬酰胺中*R*-型对映体的HPLC法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2010, **41**(12): 934-936.