

阿伐那非合成中的工艺杂质分析

孙允凯^{*1,2}, 赵梦梦², 吴小霞^{2,3}, 禹曾达³, 刘钊³

(1.常州工学院 化工与材料学院,江苏 常州 213032;2.南华大学 化学化工学院,湖南 衡阳 421001;

3.嘉实(湖南)医药科技有限公司,湖南 长沙 410220)

摘要:作为治疗勃起功能障碍的有效药物,阿伐那非在国内已有药企获批生产,但国内外药典并没有具体方法可用于评估。根据阿伐那非的原研路线,研究了合成过程中的 4 种工艺杂质(Imp-A, Imp-B, Imp-C, Imp-D),利用超高效液相色谱(UPLC)、液质联用(LC-MS)、核磁共振(NMR)、元素分析(EA)等手段,分析了杂质的结构,结合合成路线,推断出杂质来源。通过有机合成的方式,制备出对应的 4 种杂质,验证了推理的正确性。该研究为后续建立阿伐那非原料药的评估和质量控制提供有力参考。

关键词:阿伐那非;工艺杂质;合成;分析;超高效液相色谱

中图分类号: O621.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)03-0160-07

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2022.0790

Analysis of Process Impurities in the Synthesis of Avanafil SUN Yun-kai^{*1,2}, ZHAO Meng-meng², WU Xiao-xia^{2,3}, YU Zeng-da³, LIU Zhao³ (1.School of Chemical Engineering and Materials, Changzhou Institute of Technology, Changzhou 213032, China; 2.School of Chemistry and Chemical Engineering, University of South China, Hengyang 421001, China; 3.Harvest Pharmaceutical Co., Ltd., Changsha 410220, China)

Abstract: Avanafil, as an effective drug for the treatment of erectile dysfunction, has been approved for production in China, but there is no specific method for evaluation in domestic and foreign pharmacopoeia. According to the original research route of avanafil, four kinds of process impurities (Imp-A, Imp-B, Imp-C, Imp-D) were studied. The structures of impurities were analyzed by ultra-high performance liquid chromatography (UPLC), liquid chromatography-mass spectrophotometry (LC-MS), nuclear magnetic resonance (NMR), elemental analysis (EA) and other means, and the source of the impurities were inferred combined with the synthetic route. The corresponding four kinds of impurities were prepared by means of organic synthesis, which verified the correctness of the reasoning. This study provides a strong support for the subsequent establishment of evaluation and quality control for avanafil.

Key words: avanafil; process impurity; synthesis; analysis; UPLC

阿伐那非(Avanafil)作为治疗勃起功能障碍的药物^[1-3],自 2012 年由美国 FDA 批准上市以来,凭借其副作用小、选择性高、起效快、半衰期短等优势^[4-7],已被广泛应用。Yamada 等^[8]最早提出阿伐那非的合成路线,后来许多国内外研究者^[9-15]相继开发出多种不同的合成路线。主流工业化生产是在原研路线的基础上,改变水解和取代的先后顺序而得到。目前国内只有海思科制药(眉山)有限公司和上海汇伦江苏药业有限公司分别于 2021 年 3 月和 5 月获批生产该药。迄今为止,国内外药典没有具体方法可用于评估阿伐那非及其杂质^[16]。

许多学者更关注阿伐那非的稳定性方法的研究。Acsd 等^[17]的分析方法能够识别阿伐那非的峰值。Bhumik 等^[18]报告了在特定条件下使用梯度法对阿伐那非的稳定性研究,使药物与降解产物分离。Kumar 等^[19]通过 LC-TOF-MS 鉴定阿伐

那非的两种相关物质和一种降解产物。最近,Can^[20]和 Mital 等^[21]系统地开发了稳定的方法来分析阿伐那非的降解杂质并解析其结构,但降解产物不能很好地分离。UPLC-MS/MS 等是用来研究药物杂质的有利工具^[22,23],我们借助该手段对阿伐那非的合成工艺杂质进行研究。从工艺杂质的分离、鉴定入手,推断杂质产生的可能途径,并按照该步骤的条件,合成具体的杂质,证明了杂

收稿日期:2022-10-25;网络首发日期:2022-12-26

基金项目:湖南省自然科学基金资助项目(2022JJ80096);湖南省教育厅重点项目(20A435)。

作者简介:孙允凯(1983-),男,山东青岛人,博士,副教授,主要从事有机合成、药物分析等方面的基础研究, E-mail: sunyunkai1983@163.com。

引用本文:孙允凯,赵梦梦,吴小霞,等.阿伐那非合成中的工艺杂质分析[J].化学试剂,2023,45(3):160-166。

质的工艺来源,从而可以有针对性地控制和评估工艺杂质,为建立阿伐那非原料药的质量标准提供参考。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Bruker Avance III 400 型核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司);1290 II 型超高效液相色谱仪、1290 II -6470LC-TQ 型三重四极杆液质联用仪(美国安捷伦科技有限公司);Bonna-Agela CHEETAH II 型中压制备液相色谱仪(天津博纳艾杰尔科技有限公司)、2400 II 型 CHNS/O 元素分析仪(美国 PerkinElmer 公司);WRR 熔点仪(上海仪电物理光学仪器有限公司)。

乙氧基甲叉丙二酸二乙酯(SM1, $\geq 99\%$)、L-脯氨酸(SM4, $\geq 99\%$)(湖北齐飞医药化工有限公司);S-甲基异硫脲半硫酸盐(SM2, $\geq 99\%$, 山东招远市超达化工有限公司);3-氯-4-甲氧基苄胺盐酸盐(SM3, $\geq 99\%$)、2-氨基甲基嘧啶盐酸盐(SM5, $\geq 99\%$)(峨眉山宏昇药业股份有限公司);间氯过氧苯甲酸(mCPBA, $\geq 99\%$, 宝康医药化工有限公司);1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDCI, $\geq 99\%$, 依泰融合(武汉)生物科技有限公司);1-羟基苯并三氮唑(HOBt, $\geq 99\%$, 广东翁江化学试剂有限公司);三氯氧磷(POCl_3 , 分析纯, 上海安耐吉化学有限公司);乙腈(分析纯, 美国 Sigma-Aldrich 公司);其余试剂皆为西陇科学股份有限公司的市售分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 阿伐那非的合成

阿伐那非的合成参考 Yamada 等^[8]的原研路线,对溶剂进行适当改进:从乙氧亚甲基丙二酸二乙酯(SM1)和甲基硫脲硫酸盐(SM2)出发,经过连续两步取代反应,后通过对甲硫基的氧化,取代得到(S)-4-((3-氯-4-甲氧基苄基)氨基)-2-((2-羟甲基)吡咯烷-1-基)嘧啶-5-甲酸乙酯(M5),经水解,酰胺化得到阿伐那非,纯度为 96.5%(图 1)。

1.2.2 (S)-4-((3-氯-4-甲氧基苄基)氨基)-2-((2-羟甲基)吡咯烷-1-基)嘧啶-5-羧酸(Imp-A)的合成

由于 Imp-A 就是阿伐那非合成路线中的 M6,故该杂质的合成条件同 M6(图 1)。Imp-A:白色固体, m. p. 181 ~ 182 °C。元素分析, $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_4$,

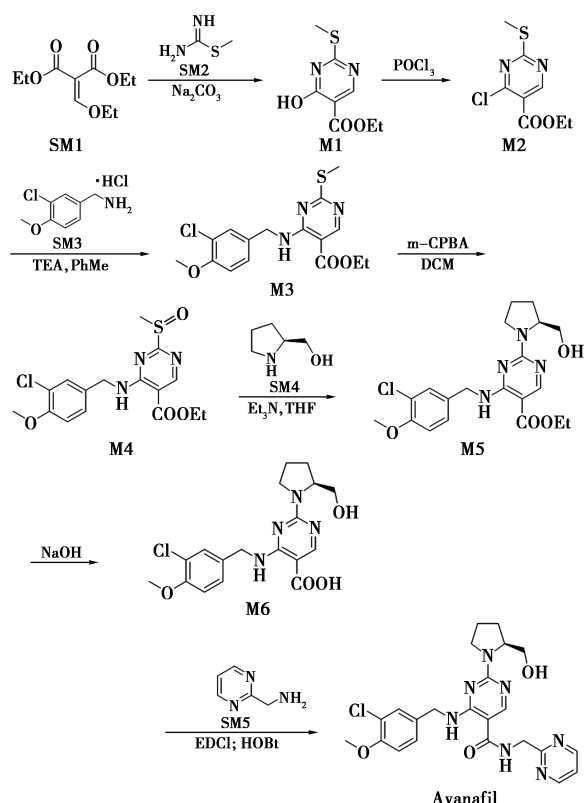


图 1 阿伐那非的合成路线

Fig.1 Synthetic route of avanafil

实测值(计算值), %: C 55.07 (55.03); H 5.40 (5.39); Cl 9.00 (9.02); N 14.22 (14.26); O 16.31 (16.29)。 ^1H NMR($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz), δ : 8.68 (s, 1H); 8.45 (d, 1H, $J = 4.0$ Hz); 7.41 (d, 1H, $J = 4.0$ Hz); 7.29 (dd, 1H, $J = 4.0, 8.0$ Hz); 7.08 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz); 4.57 (d, 2H, $J = 6.1$ Hz); 4.18 ~ 4.00 (m, 1H); 3.81 (s, 3H); 3.61 (m, 1H); 3.46 (m, 2H); 1.92 (m, 4H)。 ^{13}C NMR($\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz), δ : 168.79, 161.52, 160.31, 153.86, 133.57, 129.79, 129.52, 128.05, 121.15, 113.12, 95.84, 61.99, 61.30, 59.64, 59.50, 42.67, 27.89, 23.13。

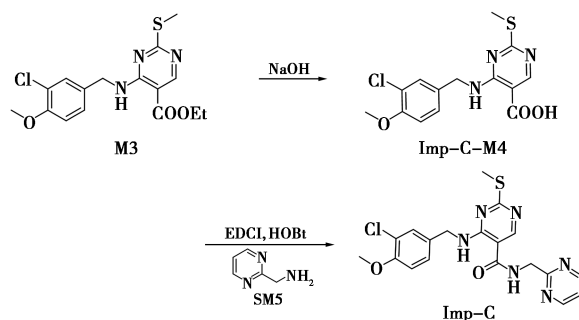


图 2 杂质 C 的合成路线

Fig.2 Synthetic route of Imp-C

1.2.3 (S)-2-(2-(羟甲基)吡咯烷-1-基)-4-((4-甲氧基苄基)氨基)-N-(嘧啶-2-基甲基)嘧啶-5-羧酰胺 (Imp-B) 的合成

将阿伐那非合成路线(图 1)中的 3-氯-4-甲氧基苄胺盐酸盐 (SM3) 换成 4-甲氧基苄胺盐酸盐,其余步骤与反应条件都保持不变,最后纯化得到 Imp-B。Imp-B: 淡黄色油状物,元素分析, $C_{23}H_{27}N_7O_3$, 实测值(计算值), %: C 61.50 (61.46); H 6.07 (6.05); N 21.80 (21.81); O 10.63 (10.68)。 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 9.10 (m, 1H); 8.75 (d, 2H, $J=4.0$ Hz); 8.54 (s, 1H); 7.37 (t, 1H, $J=4.0$ Hz); 7.26 (d, 2H, $J=8.0$ Hz); 6.87 (d, 2H, $J=8.0$ Hz); 4.58 (d, 2H, $J=4.0$ Hz); 4.51 (d, 2H, $J=4.0$ Hz); 4.13 (s, 1H); 3.72 (s, 3H); 3.65 (m, 1H); 3.51 (m, 2H); 2.04 ~ 1.79 (m, 4H)。 $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 167.94, 161.31, 161.17, 160.39, 158.74, 157.73, 132.15, 129.45, 120.13, 114.22, 98.63, 62.61, 59.46, 55.43, 47.71, 45.35, 43.16, 28.06, 23.23。

1.2.4 4-((3-氯-4-甲氧基苄基)氨基)-2-(甲硫基)-N-(嘧啶-2-基甲基)嘧啶-5-羧酰胺 (Imp-C) 的合成

1.2.4.1 4-((3-氯-4-甲氧基苄基)氨基)-2-(甲硫基)嘧啶-5-羧酸 (Imp-C-M4) 的合成

将 3 g (8.155 mmol) M3、6 g 四氢呋喃中加入 100 mL 5% NaOH, 逐步升温至 50 °C 回流 3 h, TLC (V (二氯甲烷): V (甲醇)=10:1) 监测, 反应完全。旋蒸除去四氢呋喃析出淡黄色固体, 用稀盐酸调至 pH 6~7, 析出大量白色固体, 抽滤, 45 °C 烘干, 得到 1.5 g 杂质 C 的中间体 Imp-C-M4。

1.2.4.2 化合物 Imp-C 的合成

向单口瓶中加入 0.7 g (2.07 mmol) Imp-C-M4、5 mL 二氯甲烷, 体系浑浊, 加入 0.6 g (3.13 mmol) EDCI、0.42 g (3.11 mmol) HOBt、0.63 g (6.2 mmol) TEA 溶清后, 加入 0.4 g (2.75 mmol) SM5, 反应 10 h。TLC (V (DCM): V (MeOH)=8:1) 监测, 发现反应不彻底。反应液经 UPLC 检测, 原料含有 25%, 经过减压蒸馏除二氯甲烷后, 通过中压制备色谱分离得到纯品(采用 C18 spherical 20~35 μm 100A 色谱柱, 流动相 A 为 20 mmol/L 甲酸铵, 用甲酸调至 pH(5.00 $\pm$ 0.02), 流动相 B 为乙腈), 得 200 mg 白色固体。Imp-C: m. p. 159~160 °C。元素分析, $C_{19}H_{19}ClN_6O_2S$, 实测值(计算值), %: C 52.92 (52.96); H 4.46

(4.44); Cl 8.20 (8.23); N 19.52 (19.50); O 7.42 (7.43); S 7.48 (7.44)。 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 9.26 (t, 1H, $J=4.0$ Hz); 9.18 (t, 1H, $J=4.0$ Hz); 8.76 (d, 2H, $J=8.0$ Hz); 8.62 (s, 1H); 7.38 (m, 2H); 7.27 (dd, 1H, $J=2.4, 4.0$ Hz); 7.08 (d, 1H, $J=8.0$ Hz); 4.63 (d, 2H, $J=5.8$ Hz); 4.57 (d, 2H, $J=5.9$ Hz); 3.82 (s, 3H); 2.45 (s, 3H)。 $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 173.43, 167.42, 166.95, 159.84, 157.85, 155.15, 153.98, 132.93, 129.64, 128.02, 121.20, 120.30, 113.21, 104.64, 56.52, 45.45, 42.90, 14.02。

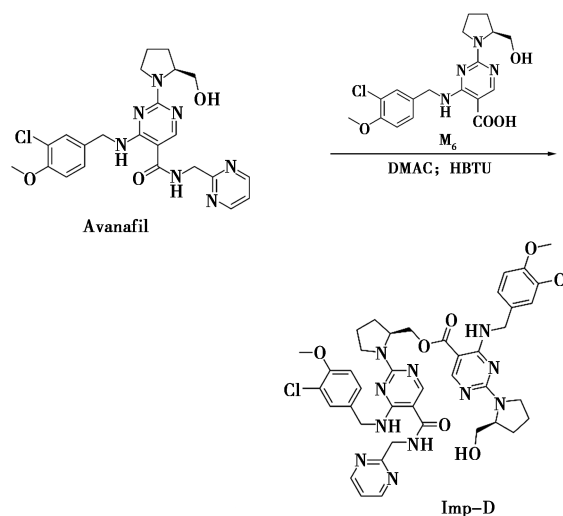


图 3 杂质 D 的合成路线

Fig.3 Synthetic route of Imp-D

1.2.5 ((S)-1-(4-((3-氯-4-甲氧基苄基)氨基)-5-((嘧啶-2-基甲基)氨基甲酰基)嘧啶-2-基)吡咯烷-2-基)甲基 4-((3-氯-4-甲氧基苄基)氨基)-2-((S)-2-羟甲基)吡咯烷-1-基)嘧啶-5-甲酸酯 (Imp-D) 的合成^[24]

在 100 mL 三口瓶中加入 20 mL N,N-二甲基乙酰胺 (DMAC)、4.96 g (10.33 mmol) 阿伐那非、5.9 g (15.4 mmol) O-苯并三氮唑-四甲基脲六氟磷酸酯 (HBTU)、4.5 g (11.36 mmol) M6, 保持 20~25 °C 反应 4~6 h。将反应液缓慢滴加到蒸馏水中, 用乙酸乙酯萃取, 蒸干, 得到 8 g 油状物。液相检测油状物中杂质 D 的含量约占 20%。将油状物在中压制备仪器上纯化, 采用 Bonna-Agela CHEETAH II (天津) 中压制备液相色谱仪, C18 spherical 20~35 μm 100A 色谱柱。流动相 A 为 20 mmol/L 甲酸铵, 用甲酸调至 pH(5.00 $\pm$ 0.02), 流动相 B 为乙腈。梯度程序被设定为 (Tmin/流动相 A:B), T0/90:10, T10/90:10, T50/50:50,

T60/50 : 50, T110/10 : 90, T120/10 : 90, 流速为 30 mL/min, 检测波长保持在 254 nm。用乙酸乙酯将油状物溶解为 5 mL 左右的溶液, 用规格为 10 mL 的注射器注入色谱柱当中, 将杂质 D 峰的中间位置溶液汇集起来, 蒸干, 得到 200 mg 淡黄色固体。Imp-D: m. p. 111 ~ 113 °C。元素分析, $C_{41}H_{45}Cl_2N_{11}O_6$, 实测值 (计算值), %: C 57.38 (57.34); H 5.31 (5.28); Cl 8.21 (8.26); N 17.90 (17.94); O 11.20 (11.18)。 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 9.17 (t, 1H, $J = 8.0$ Hz); 8.76 (t, 3H, $J = 8.0$ Hz); 8.56 (s, 1H); 8.47 (m, 2H); 7.42 (m, 2H); 7.28 (d, 2H, $J = 4.0$ Hz); 7.15 (m, 5H); 4.55 (m, 6H); 4.34 (s, 2H); 3.81 (s, 6H); 3.50 (m, 8H); 1.94 (m, 8H)。 ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 167.86, 167.72, 166.56, 165.71, 161.14, 160.98, 160.60, 160.52, 160.24, 157.75, 153.85, 133.64, 129.80, 129.54, 129.18, 128.06, 127.52, 121.20, 120.17, 120.06, 113.06, 95.23, 95.06, 63.50, 61.90, 61.22, 59.61, 59.40, 56.47, 47.83, 47.71, 45.34, 42.68, 28.37, 27.93, 23.25, 22.94。

2 结果与讨论

2.1 阿伐那非中杂质的鉴定

对合成的阿伐那非在超高液相色谱仪 (UPLC) 上进行检测分析, 采用了流动相 A 为 20 mmol 甲酸铵溶液, 流动相 B 为乙腈, 并用甲酸溶液调节 pH 为 5.0, 使阿伐那非及杂质得到较理想的分离。分析发现有 4 种含量较大的且能够分离的杂质, 分别标记为 Imp-A、Imp-B、Imp-C、Imp-D, 如图 4 所示, Imp-A ~ D 的出峰时间分别为 4.28、5.03、6.00、7.84 min, 含量分别为 0.89%、0.57%、0.57% 和 1.44%。阿伐那非的最大日剂量为 200 mg^[22], 根据 ICH Q3A 中规定, 日剂量少于 0.2 g 的界限限度为含量的 0.15%^[25, 26], 故需

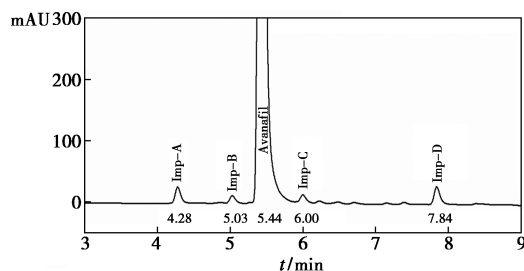


图 4 阿伐那非原料药成品液相图

Fig.4 Liquid phase diagram of finished avanafil API

要对杂质进行结构鉴定以便于工艺优化及阿伐那

非的安全性界定。

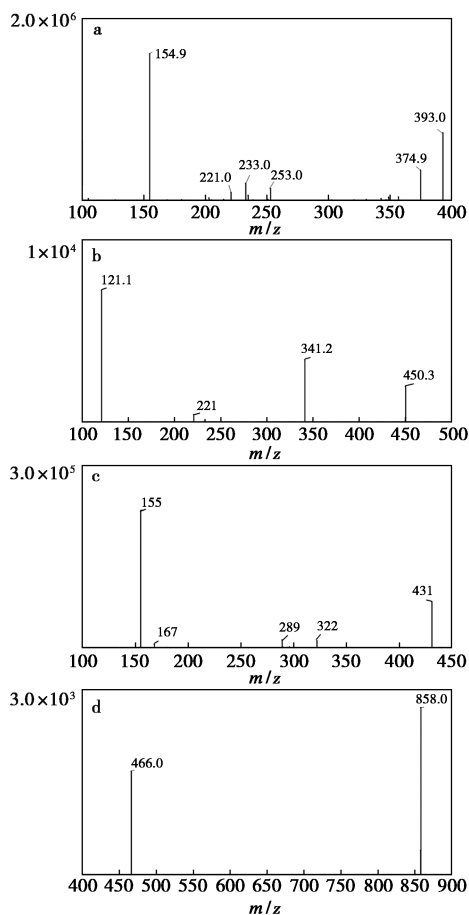
2.2 4 种杂质的结构及来源分析

2.2.1 Imp-A 的裂解

MS/MS 谱图 (图 5a) 显示, Imp-A m/z 393.0 进一步分裂为 m/z 374.9、 m/z 154.9、 m/z 221.0、 m/z 233.0 和 m/z 253.0。从 MS/MS 谱图推导出假定的碎片模式, 如图 6 所示。Imp-A 由于 OH 的损失, 形成了碎片离子 m/z 374.9。此外, 由于 C—N 键的断裂, 形成 m/z 155.03、221.10。Imp-A 的质谱图显示该杂质的 393.0 的母离子, 与 M6 的分子量一致, 推断它们是同一种物质, 即 Imp-A 是合成过程中的 M6 残留在阿伐那非中。

2.2.2 Imp-B 的裂解

MS/MS 谱图 (图 5b) 显示, Imp-B m/z 450.3, 进一步分裂成 m/z 341.2、 m/z 221 和 m/z 121.1。Imp-B 中, 由于酰胺键的断裂形成了碎片离子 m/z 341.2。根据推测 m/z 341.2 比 Imp-A 中 m/z 374.9 少了大约一个氯的分子量, m/z 121.1 比 Imp-A 碎片离子 m/z 155.03 同样少了 34, 从



a. Imp-A; b. Imp-B; c. Imp-C; d. Imp-D

图 5 4 种杂质的二级质谱图

Fig.5 Secondary mass spectra of four impurities

MS/MS 谱图推导出假定的碎片模式,如图 6 所示。推测 Imp-B 为 (*S*)-2-(2-(羟甲基)吡咯烷-1-基)-4-((4-甲氧基苄基)氨基)-N-(嘧啶-2-基甲

基)嘧啶-5-羧酰胺。结合 Imp-B 的质谱和阿伐那非的合成路线图推测,它是在合成中间体 M3 的过程中,其起始物料带入了 4-甲氧基苄胺而得。

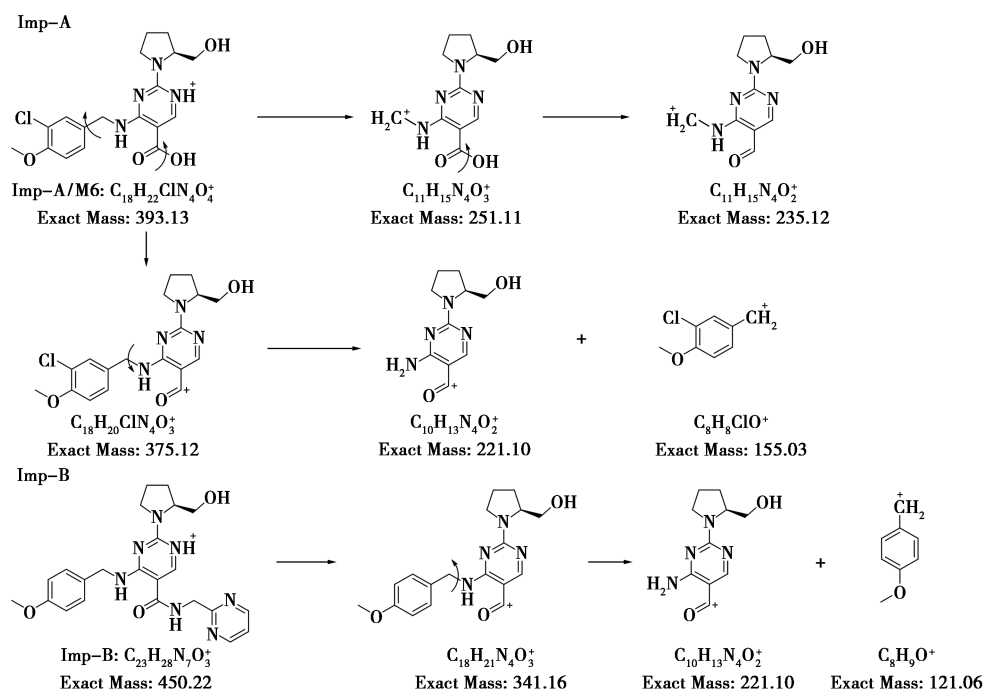


图 6 Imp-A、Imp-B 的碎片裂解途径

Fig.6 Fragment cleavage pathways of Imp-A and Imp-B

2.2.3 杂质 C 的裂解

MS/MS 谱图(图 5c)显示, Imp-C m/z 431.0 进一步分裂为 m/z 322、 m/z 289、 m/z 168.2 和 m/z 155.03。Imp-C 中,由于酰胺键的断裂形成了碎片离子 m/z 322,后经 C—N 键的断裂形成 m/z 167 和 m/z 155(图 7)。Imp-C 的质谱图说明杂质的相对分子质量为 430,比阿伐那非的相对分子质量小 64,推测 Imp-C 为 4-((3-氯-4-甲氧基苄基)氨基)-2-(甲硫基)-N-(嘧啶-2-基甲基)嘧啶-5-羧酰胺。根据对阿伐那非反应路线的监控,分析该杂质是甲硫基未被氧化进行下一步 L-脯胺醇的取代,而是参与了水解和酰胺缩合而得到。

2.2.4 杂质 D 的裂解

MS/MS 谱图(图 5d)显示 Imp-D m/z 858.0 仅仅断裂一个碎片 m/z 466.0。由于杂质 D 分子量较大,比阿伐那非分子量多了 373;裂解峰只发现一个 m/z 466.18 的子离子,它的分子量比这个杂质小 392,与 M6 差了一个—OH 的分子量,在排除了 M6 与缩合剂结合的中间状态和上一步阿伐那非与流动相的螯合作用后,结合工艺路线的反应条件,猜测可能是阿伐那非与 M6(Imp-A)脱去一分子水酯化反应形成。Imp-D 假定的碎片模

式如图 7 所示,是由酯基断裂得到。

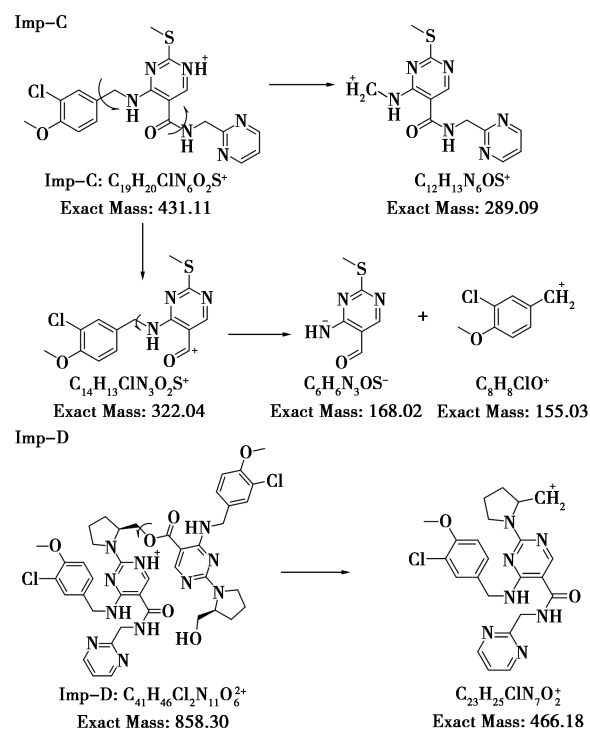


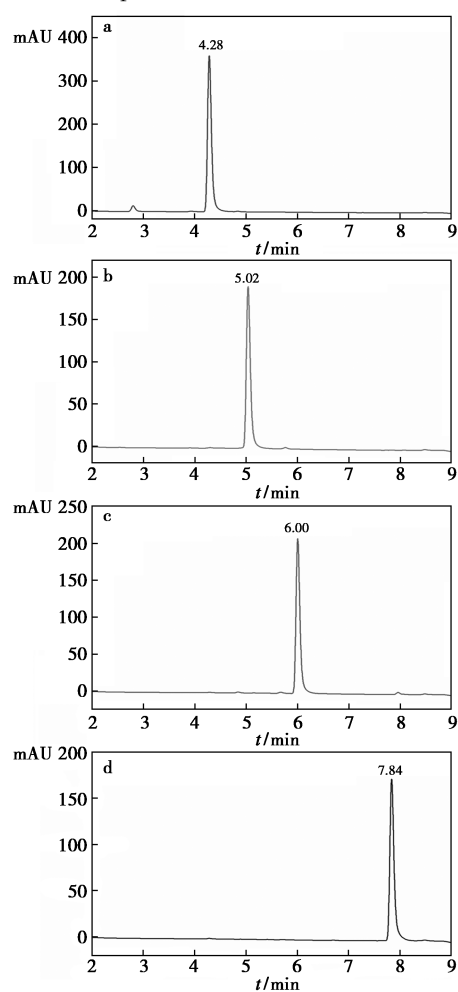
图 7 杂质 C、D 的碎片裂解途径

Fig.7 Fragment cleavage pathways of impurities C and D

2.3 杂质的合成验证

根据杂质的 MS/MS 谱图以及阿伐那非的合

成路线,推断出了 4 种杂质的结构,并且分别设计合成出对应的杂质。按照与检测阿伐那非相同的液相条件,测得 Imp-A、Imp-B、Imp-C、Imp-D 纯品的出峰时间分别为 4.28、5.02、6.00、7.84 min。4 种杂质纯品的出峰时间与阿伐那非中杂质的出峰时间一一对应,可以认为合成的杂质就是阿伐那非合成工艺中生成的杂质(图 4、图 8)。此外,通过比较杂质纯品与工艺杂质的质谱与核磁数据,上述结论也得到验证。故在合成阿伐那非的质量控制中,中间体 M6 的反应量与反应条件需要优化,避免因 M6(Imp-A)反应不完全而进入到后续环节,进而导致生成 Imp-D;反应物 SM3 的纯度需要保证,避免因 SM3 中杂质的引入,而产生工艺杂质 Imp-B;在由 M3 氧化制备 Imp-C-M4 的过程中,需要使 M3 中的甲硫基氧化完全,避免因甲硫基未被氧化而无法与 L-脯胺醇进行取代反应,再进一步生成 Imp-C。



a. Imp-A; b. Imp-B; c. Imp-C; d. Imp-D

图 8 4 种合成杂质的液相图

Fig.8 Liquid phase diagram of four synthesized impurities

3 结论

通过 UPLC 检测,发现采用改进的 Yamada 原研路线法合成阿伐那非时,有 4 种含量较大且后处理中难以去除的杂质,按照 ICH Q3A 指南要求,采用液质联用的方法,鉴定了 Imp-A、Imp-B、Imp-C 和 Imp-D 结构。根据合成路线并结合 UPLC-MS/MS 产生的碎片离子,推测出杂质结构并追溯了 4 种杂质的来源,判定 Imp-A 是中间体(M6)残留,Imp-B 是由起始物料引入,Imp-C 是中间步骤的中间体残留最终生成副产物,Imp-D 是工艺最后一步酯化反应的副产物。采用与阿伐那非合成路线基本相同的反应条件,合成出上述 4 种杂质纯品,其 UPLC 检测峰的保留时间与阿伐那非中 4 种杂质峰保留时间一一对应。4 种杂质的核磁共振数据等确证了杂质结构,从而验证了对于杂质来源的推断。该研究为后续建立阿伐那非原料药的评估和质量控制提供有力参考。

参考文献:

- [1] PEIXOTO N C, SERAFIM M A, FLORES E M M, et al. Metallothionein, zinc, and mercury levels in tissues of young rats exposed to zinc and subsequently to mercury [J]. *Life. Sci.*, 2007, **81**(16): 1 264-1 271.
- [2] 方丹波, 汪朔. 勃起功能障碍治疗进展[J]. *现代实用医学*, 2019, **31**(6): 3.
- [3] WANG R, BURNETT A L, HELLER W H, et al. Selectivity of avanafil, A PDE5 inhibitor or the treatment of erectile dysfunction: Implications for clinical safety and improved tolerability [J]. *J. Sex. Med.*, 2012, **9**(8): 2 122-2 129.
- [4] JUNG J, CHOI S, CHO S H, et al. Tolerability and pharmacokinetics of avanafil, a phosphodiesterase type 5 inhibitor: A single- and multiple-dose, double-blind, randomized, placebo-controlled, dose-escalation study in healthy Korean male volunteers [J]. *Clin. Ther.*, 2010, **32**(6): 1 178-1 187.
- [5] ZHAO M M, WU X X, SUN Y K, et al. Identification, synthesis and characterization of avanafil process impurities and determination by UPLC [J]. *RSC. Adv.*, 2022, **12**(15): 9 256-9 262.
- [6] LIMIN M, JOHNSEN N, HELLSTROM W J. Avanafil, a new rapid-onset phosphodiesterase 5 inhibitor for the treatment of erectile dysfunction [J]. *Expert. Opin. Drugs.*, 2010, **19**(11): 1 427-1 437.
- [7] 范鸣. 勃起功能障碍治疗药 Avanafil [J]. *药学进展*,

- 2012, **36**(3):135-136.
- [8] YAMADA K, MATSUKI K, OMORI K, et al. Aromatic nitrogen-containing-6-membered cyclic compounds; US 20 030 229 095A1[P]. 2003-12-11.
- [9] 吴小霞, 赵梦梦, 孙允凯, 等. 阿伐那非及其有关物质研究进展[J]. 合成化学. DOI: 10.15952/j.cnki.cjsc.1005-1511.22108.
- [10] 许学农. 一种阿伐那非的制备方法; CN 103 254 179A [P]. 2014-07-23.
- [11] 程晓峰, 马良, 张威, 等. 一种阿伐那非的制备方法; CN 103 833 736A[P]. 2014-06-01.
- [12] PRADHAN N S, TELANGE V R, POL S S, et al. A process for the preparation of avanafil and its novel intermediates; WO 2 015 177 807[P]. 2015-11-26.
- [13] 李志强, 王伸勇, 王晓俊, 等. 艾瓦那非; CN 103 483 323B[P]. 2016-01-20.
- [14] 杨虎星, 黄军豪, 罗新祖. 阿伐那非的制备方法; CN 108 707 141A[P]. 2018-10-26.
- [15] 汤俊, 徐园, 祝启迪. 一种阿伐那非的制备方法; CN 109 776 505A[P]. 2019-05-21.
- [16] 杨银环. Avanafil 的合成[D]. 天津: 天津大学, 2016.
- [17] ACS D S, AFC P, BCDBD A, et al. Determination of As, Cd, Hg and Pb in continuous use drugs and excipients by plasma-based techniques in compliance with the United States Pharmacopeia requirements [J]. *Spectrochim. Acta Part. B. At. Spectrosc.*, 2017, **138**: 14-17.
- [18] BHUMIK B, KASHYAP R, BUDDHADEV S. Stability indicating analytical method development and validation for the estimation of Avanafil in pharmaceutical dosage form[J]. *Int. J. Pharm.*, 2015, **3**(6): 181-194.
- [19] KUMAR N, SANGEETHA D, KALYANRAMAN L, et al. Stability-indicating HPLC method for simultaneous determination of degradation products and process-related impurities of Avanafil in Avanafil tablets[J]. *Acta Chromatographica*, 2018, **30**(3): 158-163.
- [20] CAN N Ö. Development of validated and stability-indicating LC-DAD and LC-MS/MS methods for determination of Avanafil in pharmaceutical preparations and identification of a novel degradation product by LCMS-IT-TOF [J]. *Molecules*, 2018, **23**(7): 1 171.
- [21] MITAL P, CHARMY K, VIVEK V. An innovative impurity profiling of Avanafil using LC and LC-MS/MS with in-silico toxicity prediction [J]. *Arab. J. Chem.*, 2020, **13**(8): 6 493-6 509.
- [22] FDA approves Stendra for erectile dysfunction [EB/OL]. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm302140.htm>.
- [23] 许晓辉, 王瑞, 党子龙, 等. 超高效液相色谱串联质谱法测定中药类保健品中 6 种有毒生物碱[J]. 化学试剂, 2022, **44**(4): 594-598.
- [24] 孙允凯, 赵梦梦, 喻芳芳, 等. CN 114 280 174A [P]. 2021-04-05.
- [25] ALSANTE K M, HUYNH-BA K C, BAERTSCHI S W, et al. Recent trends in product development and regulatory issues on impurities in active pharmaceutical ingredient (API) and drug products. part 2: Safety considerations of impurities in pharmaceutical products and surveying the impurity landscape [J]. *AAPS. Pharm. Sci. Tech.*, 2014, **15**(1): 237-251.
- [26] OLSEN B A, BAERTSCHI S W. Strategies for investigation and control of process- and degradation-related impurities[J]. *Sep. Sci. Technol.*, 2004, **5**: 237-251.