

气质联用法分析氘代医药中间体

孙志伟¹, 汪祥胜²

(1. 中石油 锦西石化分公司环保处, 辽宁 葫芦岛 125001; 2. 北京三聚环保新材料股份有限公司, 北京 102308)

摘 要: 探讨用 HP-5 毛细管色谱柱, MSD 作检测器, 以质荷比相对丰度的面积归一方法, 定量测定质子泵合成中间产物氘代产物的纯度. 用此方法测定标准品及氘代苯、氘代萘结果误差小于 2%. 实验表明, 质荷比相对丰度归一方法简单、快速、灵敏度高, 可用于定性、定量监控反应的进行, 适用于氘代化合物纯度的测定.

关键词: MSD 检测器; 质荷比; 氘代; 医药中间体

中图分类号: O657.32

文献标识码: A

文章编号: 1006-3757(2008)04-0218-04

苯唑咪唑类质子泵抑制剂用于治疗与酸相关的胃肠道溃疡, 是近年来药物研究的一大进展. 其中, 奥美拉唑是其主要的代表, 鉴于奥美拉唑优良的安全性, 美国 FDA 于 2003 年批准奥美拉唑作为非处方药, 使得奥美拉唑的使用日趋广泛^[1]. 医药经济报数据显示, 2005 ~ 2007 年, 在样本医院抗酸及抗消化性溃疡用药里, 奥美拉唑连续 3 年都有四成以上的市场份额, 一直稳居冠军宝座, 成为今天治疗酸相关性胃肠疾病全球销量最大的处方药.

质子泵抑制剂的作用机理是特异性地作用于胃粘膜壁细胞, 降低壁细胞中的 H^+ 、 K^+ -ATP 酶活性, 从而显著抑制多种因素导致的酸生成. 在对奥美拉唑类药物药理实验证明, 对其结构进行氘代化修饰可以改善药物代谢动力学、药效及药物毒性参数. 在应用中具有代谢慢、半衰期长、生物利用度高等药动学特性. 有关奥美拉唑的合成报道很多^[2], 然而对其具体含量的测定报道很少^[3]. 对其氘代化的中间体含量的测定更少. 本文采用气相色谱-质谱联用技术, 用质荷比相对丰度归一法计算氘代中间体的氘代率, 从而定量测定产物的纯度. 用质荷比相对丰度归一定量测定氘代样品时, 结果与参考值比较略小, 相对偏差 < 2%, 适合监控分析且快速方便.

1 实验部分

1.1 主要仪器与色谱条件

Agilent 7890A GC/5975CMS 气质联用仪,

Agilent 7683B 自动进样器; MSD ChemStation G1701EA E.01.01.335 工作站.

1.2 试剂

2,3,5-三甲基吡啶 (浙江杭州浙大泛科化工有限公司), 过氧化氢, 浓硫酸, 浓硝酸 (分析纯, 北京化学试剂公司), D_2O (99.18% 氘代, 北京希凯创新科技有限公司分装), 氘代苯 (99.6%, 北京希凯创新科技有限公司分装), 氘代萘 (98.9%, Merck), 乙腈 (Burdick & Jackson 公司生产, ACS/HPLC 级).

1.3 测试样品的制备^[4]

2,3,5-三甲基吡啶在冰乙酸存在下与过氧化氢反应生成 2,3,5-三甲基吡啶-1-氧, 脱除溶剂后的粗产品经硝化生成 2,3,5-三甲基-4-硝基吡啶-1-氧, 然后 2,3,5-三甲基-4-硝基吡啶-1-氧在特制的容器中氮气保护下与重水反应得到目标产物 2,3,5-三甲基-4-硝基吡啶-1-氧- D_{10} (TMP- D_{10} , $C_8D_{10}N_2O_3$), 经提纯后的产物供 GCMS 分析. 合成路线见图 1.

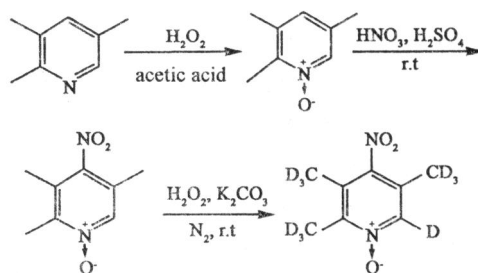


图 1 合成路线

Fig. 1 Synthetic route

作者简介:孙志伟(1972-),女,工程师,主要从事分析化学研究工作。

取测试样品加入乙腈稀释至合适的浓度,使用 0.45 μ m 滤膜过滤后进样测试。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:HP-5ms 毛细管色谱柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m);载气:高纯氮气,1.0 mL/min;进样口温度 300 ;柱初始温度 70 ,保持 3 min;柱终止温度 300 ;升温速率 30 /min;无分流进样,进样体积 0.2 μ L。

2.2 质谱条件

质谱条件:离子源 EI(70 eV);MS 接口温度 180 ,离子源温度 250 ;四极杆分析器温度 180 ,扫描范围 30 ~ 600 amu;2,3,5-三甲基-4-硝基吡啶-1-氧-D₁₀的监测离子(相对丰度)为: m/z 192 (100 %)、 m/z 174 (42 %)、 m/z 126 (37 %)、 m/z 98 (57 %),定量离子为 m/z 192。

2.3 方法适应性实验及纯度计算

精确量取“1.3”反应物,用色谱纯乙腈稀释至浓度为 0.4 ~ 200.0 μ g/L,按“2.1”色谱条件测试,得到 TIC 图(见图 2),色谱图各个组分完全分离。

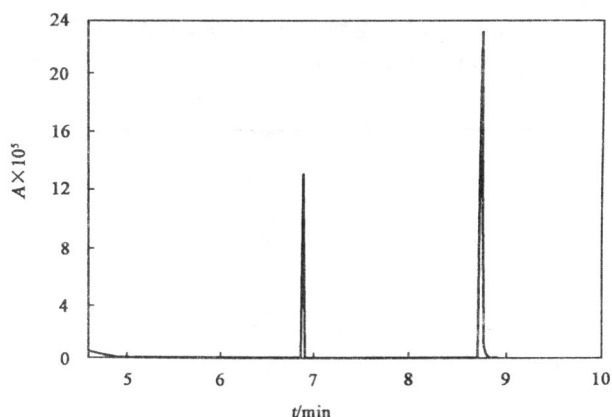


图 2 反应物的总离子流图

Fig. 2 Total ion chromatograms of the reactant

TMP-D10 的苯环结构在 EI 模式下相对比较稳定,其主要的特征离子碎片分别为分子离子峰 m/z 192(M) 和丢失氘代甲基的碎片峰 m/z 174 (M-CD₃)、 m/z 126 (M-CD₃, 1NO₂, 1D)。图 3 为 TMP-D10(8.753 min) 质谱图。由其放大图(图 4)可看出在分子离子峰 m/z 192 主要的 2 个同位素峰 m/z 191、 m/z 193。氘代物的纯度按通常 C₈D₁₀N₂O₃⁺、C₈D₉HN₂O₃⁺ 的相对强度表示。当 TMP-D10 实现全

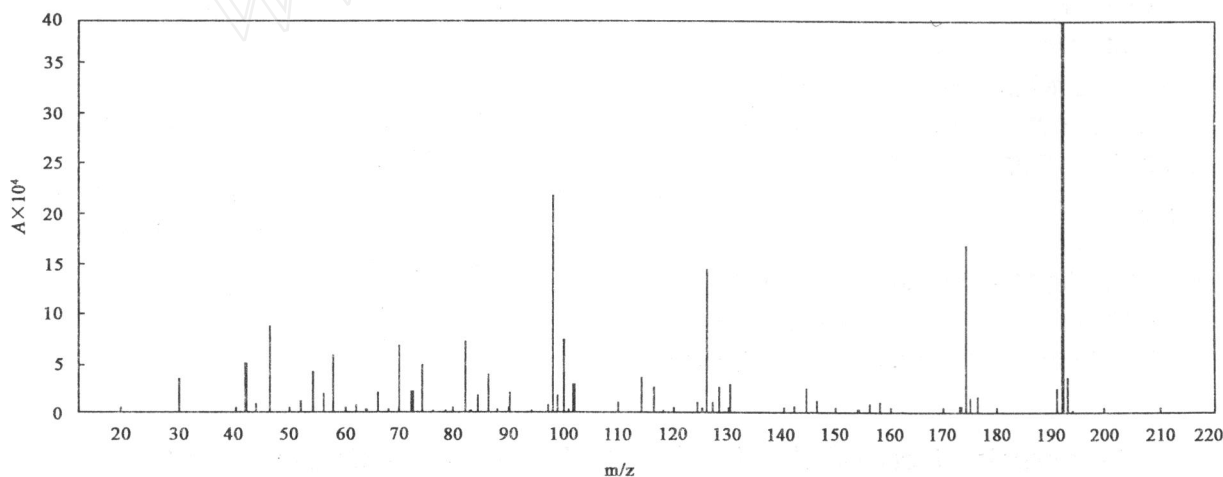


图 3 目标产品 TMP-D10 的 GC-MS 图谱

Fig. 3 Mass spectrum of TMP-D10

取代时,比分子离子峰多一个质量单位的同位素为¹³C 同位素的存在而引起。按 Beynon 表,¹³C 同位素的存在影响 m/z 191、 m/z 192、 m/z 193 的几率基本相同,因此我们采用如下公式 1 计算同位素的相对含量。反应进度及反应物的纯度用氘代率表示(如公式 1)。

$$\text{氘代率} = \frac{RA_{m/z192} + RA_{m/z193}}{RA_{m/z191} + RA_{m/z192} + RA_{m/z193}} \quad (1)$$

其中, $RA_{m/z191}$ 、 $RA_{m/z192}$ 、 $RA_{m/z193}$ 分别为碎片离子及分子离子相对于最高基峰的相对丰度。

2.4 精密度

准确称取样品 10 mg,用色谱纯的乙腈稀释至

0.4 ~ 200.0 μg/L ,连续测定 5 次 ,每次进样 0.2 μL ,计算 RSD ,见表 1.

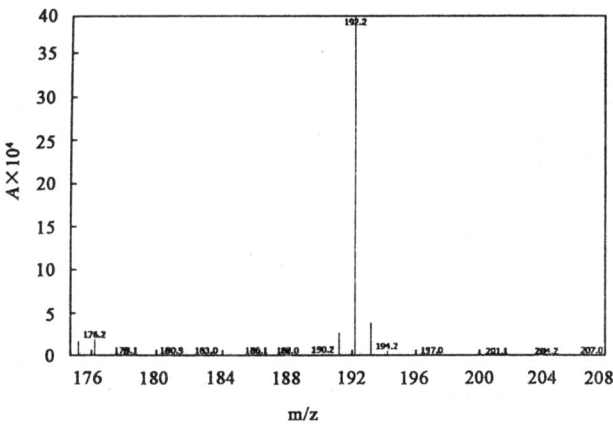


图 4 分子离子峰的局部放大图

Fig. 4 The enlarge spectrum of molecular ions

表 1 精密度实验结果

Table 1 Results of RSD test of samples

样品	测定值 / %	平均值 / %	RSD / %
AMC-24A	91.1 91.8 91.5 91.7 92.0	91.6	0.33
AMC-24B	93.8 95.1 94.8 94.3 93.5	94.3	0.63

2.5 准确度评价

称取 TMP-D10 对照品及氘代物纯品 10 mg ,乙腈稀释至合适浓度 ,进样 0.2 μL .采用相对丰度归一法计算纯度 (表 2) .氘代苯定量监测离子 m/z 84 ,氘代萘定量监测离子 m/z 136 .

3 讨论

用质荷比丰度归一计算时 ,不同取位点对结果有影响 ,在峰尖前的 [M - 1]⁺ 含量偏小 ,峰尖后的 [M - 1]⁺ 含量偏大 ,见表 3 .实验中取固定位置即峰

表 2 样品测定结果

Table 2 Analytical results of samples

样品	丰度归一 测定值/ %	参考值 / %	相对偏差 / %
标准品	94.6	95.8	1.3
氘代苯	98.9	99.6	0.7
氘代萘	98.2	98.9	0.7

表 3 取峰位置对相对丰度归一计算的影响

Table 3 The effect of sampling location on relative abundance ratio normalization calculation %

离子 / (m/z)	峰尖前 (8.747min)	峰尖 (8.753min)	峰尖后 (8.766min)
191	5	7.0	15
192	100	100	100
193	10	10	9.0

尖来计算.

用质荷比相对丰度归一定量测定氘代样品时 ,结果与参考值比较略小 ,相对偏差 < 2 % ,适合监控分析且快速方便.

参考文献:

[1] 戴立言 ,王井明 ,陈英奇 ,等 . 奥美拉唑的合成新工艺研究 [J] . 浙江大学学报 (工学版) ,2004 ,38 (3) :333-336 .
[2] 刘宇宏 ,王世鑫 . 近年来质子泵抑制剂的研究进展 [J] . 中国新药杂志 ,2001 ,10 (3) :161-164 .
[3] Tomas G Gant , Sepehr Sarshar . Inhibitors of the gastric H⁺ 、 K⁺ -ATPase with enhanced therapeutic properties , UP 2007082929 , 2007-4-12 .
[4] 傅建渭 ,陶兴法 ,傅诏娟 . 奥美拉唑的合成 [J] . 中国医药工业杂志 ,2007 ,38 (2) :78-80 .

Determination of the Purity of Deuterated Pharmaceutical Intermediates by Gas Chromatography-Mass Spectrometry

SUN Zhi-wei¹ , WANG Xiang-sheng²

(1. Dept of Environment , Petro China JinXi Petrochemical Company , Huludao 125001 ,China ;
2. R &D Center ,Beijing SJ Environmental Protection and New Material Co Ltd , Beijing 102308 , China)

Abstract : The sample were injected into HP-5 capillary column and analyzed with MSD detector. The proton pump deuterated compound was dissolved in acetonitrile. The purity was determined by the relative

abundance ratio normalization calculation. The results of the Standard and perdeuterobenene tests were satisfying; the detection relative errors were not more than 2 %. It can be used for the determination of the purity in deuterated compound rapidly and sensitively, and especially used for monitoring a reaction process.

Key words: MSD detector; abundance ratio; deuterated

Classifying number: O657.32

声 明

本刊加入“万方数据—数字化期刊群”声明

为了实现科技期刊编辑、出版发行工作的电子化,推进科技信息交流的网络化进程,本刊现已入网“万方数据—数字化期刊群”。因此,向本刊投稿并录用的文章,将一律由编辑部统一纳入“万方数据—数字化期刊群”,进入因特网提供信息服务。凡有不同意见者,请特别声明将另作处理。本刊所付稿酬包含刊物内容上网服务报酬,不再另付。“万方数据—数字化期刊群”是国家“九五”重点科技攻关项目。本刊全文内容按照统一格式制作,读者可上网查询浏览本刊内容,征订本刊。

本刊加入“CNKI 中国期刊全文数据库”声明

为适用我国信息化建设,扩大本刊及作者知识信息交流渠道,本刊已被 CNKI 中国期刊全文数据库收录,其作者文章著作权使用费与本刊稿酬一次性给付。免费提供作者文章引用统计分析资料。如作者不同意文章被收录,请在来稿时向本刊声明,本刊将做适当处理。

《分析测试技术与仪器》编辑部