

马来酸氨氯地平的结构分析

陈小青¹ 朱侃¹ 马超¹ 陈华明² 李钢^{1*}

(1. 南京师范大学分析测试中心, 南京 210046; 2. 南京康然医药科技有限公司, 南京 210028)

摘要 目的: 建立药物马来酸氨氯地平的化学结构确证方法。方法: 通过高效液相色谱(HPLC)测定纯度; 热分析(TA)、红外光谱(IR)、核磁共振(NMR)、元素分析(EA)以及X射线粉末衍射(XRD)等分析手段测定结构。结果: 证实马来酸氨氯地平的结构为3-乙基-5-甲基-2-(2-氨乙氧甲基)-4-(2-氯苯基)-1,4-二氢-6-甲基-3,5-吡啶二羧酸酯顺丁烯二酸盐。结论: 本法测定结果准确, 为马来酸氨氯地平的生产和鉴定提供了较为全面的参考数据。

关键词 钙拮抗剂; 马来酸氨氯地平; 抗心绞痛药; 结构分析; 鉴定数据; 液相色谱; 热分析; 红外光谱; 核磁共振; 元素分析; X-衍射
中图分类号 R917 文献标识码 A 文章编号: 0254-1793(2011)11-2176-04

Chemical structure analysis of Amlodipine maleate

CHEN Xiao - qing¹ ZHU Kan¹ MA Chao¹ CHEN Hua - ming² LI Gang^{1*}

(1. Testing & Analysis Center, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China;

2. Chemzam Pharmtech Co., Ltd., Nanjing 210028, China)

Abstract Objective: To establish a method for the determination of the chemical structure of Amlodipine maleate. **Method:** High-performance liquid chromatography (HPLC), thermal analysis (TA), Fourier transform spectroscopy (FT-IR), nuclear magnetic resonance (NMR), elemental analysis (EA) and the X-ray powder diffraction (XRD) were adopted to analyze the chemical structure of Amlodipine maleate. **Result:** The structure of Amlodipine maleate is 2-[[2-(Aminoethoxy) methyl]-4-(2-chlorophenyl)-1,4-dihydro-6-methyl-3,5-pyridinedicarboxylic acid 3-ethyl 5-methyl ester (Z)-2-butenedioate. **Conclusion:** The result of the method is accurate general and can provide a comprehensive reference for production and identification of Amlodipine maleate.

Key words: calcium antagonist Amlodipine maleate; antianginal drug; chemical structure analysis; authentication data; HPLC; TA; IR; NMR; EA; XRD

马来酸氨氯地平(Amlodipine maleate)是二氢吡啶类钙拮抗剂(钙离子拮抗剂或慢通道阻滞剂),主要用于抗心绞痛、抗高血压。该药1990年首先在英国上市,尔后相继在欧、美、日上市,我国已批准进口。该药具有以下特点:(1)起效慢,副作用发生率低。(2)较长的血浆半衰期(35~50h),每日只需服药1次就确保24h有效血药浓度,避免高血压患者清晨由于血压波动而造成的心肌缺血、梗塞等。此外该药还具有较强的血管扩张作用,有望用于心力衰竭的治疗,为一般钙通道阻滞剂所不及^[1]。本文使用高效液相色谱(HPLC)测定了纯度;使用热分析(TG/DTG)、红外光谱(IR)、核磁共振(NMR)、元素分析(EA)以及X-射线粉末衍射(XRD)等现代分

析仪器测定了结构,得出了马来酸氨氯地平的测试谱图及结构特征参数。结果表明马来酸氨氯地平的分子结构为3-乙基-5-甲基-2-(2-氨乙氧甲基)-4-(2-氯苯基)-1,4-二氢-6-甲基-3,5-吡啶二羧酸酯顺丁烯二酸盐。分子式为C₂₄H₂₉ClN₂O₉,分子量:524.95。结构式如图1。

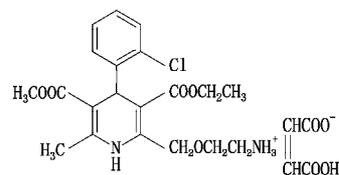


图1 马来酸氨氯地平的化学结构

Fig 1 structure of Amlodipine maleate

江苏省生物医药材料测试服务平台(BM2007132)

* 通讯作者 Tel: 13701456722; E-mail: ligangl@njnu.edu.cn

1 仪器与试剂

美国 AGILENT 公司 AGILENT 1100 高效液相色谱仪, AGILENT 公司 6460QQQ 质谱仪, 德国 vario EL III 元素分析仪, 美国 PERKIN - ELMER 公司生产的差热分析仪 TGA 和差示扫描量热仪(DSC), 瑞士 Bruker 公司生产的 AVANCE 400 核磁共振波谱仪, 美国尼高力公司 NEXUS - 670 型红外光谱仪, 日本理学公司 D /max 2500VL /PC 型转靶 X 射线衍射仪。

甲醇为色谱纯, 磷酸二氢钾为分析纯。

马来酸氨氯地平精制样品由南京康然医药科技有限公司提供。

2 方法

2.1 纯度测定 采用高效液相色谱仪对马来酸氨氯地平进行纯度测定^[2](图 2)。以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 甲醇 - 0.03 mol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液(62:38, V/V)为流动相, 检测波长为 237 nm。从记录的高效液相谱图可以看出有四个峰分别为 1.433 2.956 4.094 5.509, 其中 1.433 为马来酸的峰, 5.509 为氨氯地平的峰, 其中的杂质峰的面积(不包括马来酸的峰)分别为 0.07% 0.055%。

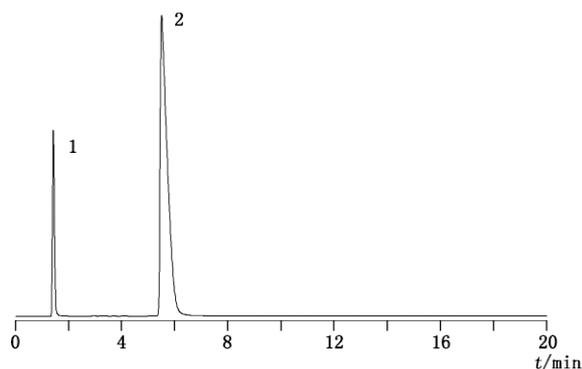


图 2 马来酸氨氯地平的高效液相色谱图

Fig 2 HPLC pattern of Amlodipine maleate

1. 马来酸(maleate) 2. 氨氯地平(amlodipine)

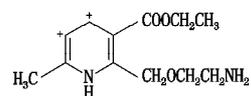
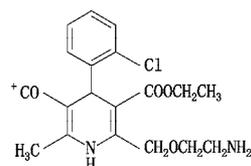
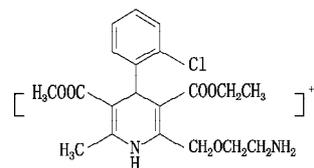
2.2 质谱测定 对马来酸氨氯地平进行质谱测定^[3], 离子源为 ESI 源, 雾化温度为 350 °C, 碰撞气 N₂, 压力为 69.0 kPa, 喷雾电压 1500 V; 正离子方式检测。结果见表 1。

2.3 热分析 以氮气、升温速度 10 °C · min⁻¹为实验条件, 温度范围为 25 ~ 250 °C, 进行热重分析(TGA) 和差示扫描量热分析(DSC)。从 TGA - DSC 图可以看出马来酸氨氯地平的熔点为 182.33 °C, 熔融的同时发生分解(图略)。

表 1 质谱数据分析

Tab 1 Date of MS analysis

m/e	片段(fragment)
431.20	[M + Na] ⁺
409.40	M ⁺
377.10	M - 31
238.10	M - 171



2.4 元素分析 对样品进行碳、氢、氮的元素分析。结果符合马来酸氨氯地平的化学组成: C₂₄H₂₉ClN₂O₉, 实验值与理论计算值相一致, 误差在允许范围之内。数据如表 2。

表 2 元素分析数据

Tab 2 Data of element analysis

马来酸氨氯地(Amlodipine maleate)	C	H	N
理论值(oretical value) /%	54.91	5.52	5.33
测试值(measure value) /%	55.12	5.54	5.31

2.5 红外光谱分析 用美国尼高力公司的 FT - IR NEXUS - 670 型红外光谱仪测定, KBr 压片(图略)。图中出现的 3369 cm⁻¹为 N - H 的伸缩振动, 结合 1204 cm⁻¹为 C - N 的伸缩振动, 表明结构式中存在仲胺的结构。3235 cm⁻¹处显示较宽的吸收峰, 表明结构式中存在伯胺盐的结构, 3058 cm⁻¹显示存在芳氢的伸缩振动, 1603 cm⁻¹, 1577 cm⁻¹显示苯环的骨架振动, 再结合指纹区的 740 cm⁻¹取代苯环弯曲振动峰, 表明苯环上存在的是邻位取代。1642 cm⁻¹为 C = C 的伸缩振动结合 979 cm⁻¹为烯烃的弯曲振动, 表明结构式中有双键存在。2990 cm⁻¹和 2947 cm⁻¹为饱和碳氢的伸缩振动, 同时结合 1368 cm⁻¹的弯曲振动和 1430 cm⁻¹处的伸缩振动, 分别表明结构式中存在甲基和亚甲基的结构。1689 cm⁻¹为 C = O 的伸缩振动峰, 1204 cm⁻¹为结构中的 C - N 的伸缩振动峰。702 cm⁻¹的弯曲振动表明存

在 C = C 双键的顺势构型。上述结果表明: 样品中存在仲胺基团, 胺盐, 苯环, 甲基, 亚甲基, 碳碳双键等结构, 这与马来酸氨氯地平的结构相符。

2.6 核磁共振氢谱解析

碳氢位置标记见图 3。

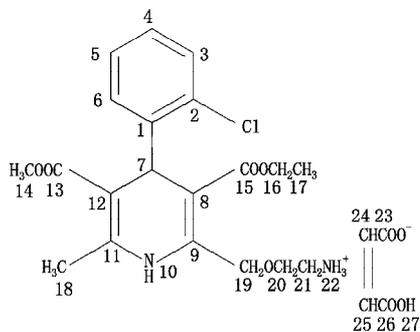


图 3 马来酸氨氯地平的原子标记

Fig 3 Sign of Amlodipine maleate

2.6.1 ¹H NMR 谱 其中 δ2.51 为 DMSO 溶剂峰, δ3.36 为残留水峰^[4, 5], 其余峰的归属见表 3。

表 3 ¹H NMR 分析数据

Tab 3 Date of ¹H NMR

化学位移 (chemical shift) / ppm	峰重数 (peak)	耦合常数 (coupling constant) J / Hz	质子数 (proton number)	归属 (attribution)
1	8.41	s	1	10
2	7.83	s	3	22
3	7.32	dd	1.5, 7.8	1, 3
4	7.28	dd	1.6, 7.6	1, 6
5	7.23	dt	1.5, 7.8	1, 4
6	7.13	dt	1.6, 7.6	1, 5
7	6.09	s	2	24, 25
8	5.31	s	1	7
9	4.64	dd	14.3	2, 19
10	3.99 ~ 3.96	m	2	16
11	3.65 ~ 3.64	t	4.8	2, 20
12	3.51	s	3	14
13	3.10 ~ 3.08	t	4.8	2, 21
14	2.31	s	3	18
15	1.13 ~ 1.09	t	7.1	3, 17

各组分的积分从低场到高场为: 1:3:1:1:1:1:

2:1:2:2:2:3:2:3:3.

a) 第一组和第二组, 积分比为 1:3。在 HSQC 中, 这两组氢不和任何碳有相关, 因此 δ8.41 ppm 是 10 位质子, δ7.83 ppm 是 22 位质子。

b) 第三组、第四组、第五组、第六组和第八组的峰面积为 1, DEPT 和 HSQC 图谱中显示该五组质子均为 CH 类型的质子, HMBC 图谱中第五、六组峰与

三个 CH, 第三、四组峰分别于两个 CH 和两个季碳相关, 第八组峰与三个季碳相关并且根据 Cl 的电负性影响规律, 可以推断出 δ7.32 ppm 是 3 位质子, δ7.28 ppm 为 6 位质子, δ7.23 ppm 为 4 位质子, δ7.13 ppm 为 5 位质子, δ5.31 ppm 为 7 位质子。

c) 第九组、第十组、第十一组和第十三组峰的峰面积为 2, DEPT 和 HSQC 图谱中显示该四组峰均为 CH₂ 类型的质子, HSQC 图谱显示第十组氢与第十五组氢存在相关, 第十一组与第十三组存在相关, 因此 δ3.96 - 3.99 ppm 为 16 位质子, δ4.64 ppm 为 19 位质子, δ3.64 - 3.65 ppm 为 20 位质子, δ3.08 - 3.10 ppm 为 21 位质子。

d) 第七组峰的峰面积为 2, DEPT 和 HSQC 显示该峰位 CH 类型的质子, HMBC 图谱中显示这两个质子与两个季碳相关, COSY 图谱中显示不与其他质子存在相关性, 因此 δ6.09 ppm 为 24, 25 位质子。

e) 第二组, 第十四组和第十五组峰的峰面积均为 3, DEPT 和 HSQC 显示该三组峰均为 CH₃ 型质子, HMBC 显示第十五组峰与一个季碳相关, 第十四组峰与一个 CH₂ 相关, 第十五组峰与两个季碳相关, 因此 δ1.13 - 1.09 ppm 为第 14 位质子, δ2.31 ppm 为 17 位质子, δ7.83 ppm 峰为 18 位质子。

2.6.2 ¹³C - NMR 解析 δ39.05 - 40.30 ppm 为溶剂 DMSO 的峰, 除了溶剂峰共给出了 24 组峰, DEPT90 和 DEPT135 谱说明有六组 CH, 四组 CH₂, 三组 CH₃, 其余均为季碳。

a) 分子结构中有六组 CH, 根据氢谱的分析结果可以知道, δ131.16 ppm 是 3 位碳, δ127.59 ppm 是 4 位碳, δ128.03 ppm 是 5 位碳, δ129.19 ppm 是 6 位碳, δ36.79 ppm 是 7 位碳, δ136.26 ppm 为 24, 25 位碳。

b) DEPT90 和 DEPT135 图谱显示结构中有四组 CH₂, 即 δ66.76 ppm 是 19 位碳, δ66.80 ppm 是 20 位碳, δ59.56 ppm 是 16 位碳, δ38.72 ppm 是 21 位碳。

c) DEPT90 和 DEPT135 图谱显示结构中有三组 CH₃, 即 δ50.70 ppm 是 14 位碳, δ14.20 ppm 是 17 位碳, δ18.49 ppm 是 18 位碳。

d) ¹³C 谱和 DEPT135 谱显示, 共有九组季碳, HMBC 谱显示 δ167.28 ppm 与 14 位质子相关, 应是 13 位的季碳, δ166.44 ppm 与 16 位质子相关, 应是 15 位季碳, δ131.30 ppm, δ145.85 ppm 均与 3、6 位质子相关, 根据它们所处的化学环境判断, δ131.30 ppm 应是 1 位季碳, δ145.85 ppm 应是 2 位季碳, δ102.16 ppm, δ102.39 ppm 均与 7 位质子相关, 且

$\delta 102.39$ ppm 又与 18 位质子相关, $\delta 102.39$ ppm 应是 12 位季碳, $\delta 102.16$ ppm 应是 8 位季碳, $\delta 145.38$ ppm 与 18 位质子相关, 应是 11 位季碳, $\delta 144.71$ ppm 与 19 位质子相关, 应是 9 位季碳, $\delta 167.39$ ppm 与 24、25 位质子相关, 应是 23、26 位季碳。

上述 NMR 给出的信息与马来酸氨氯地平的结构式相符。

2.7 X 射线粉末衍射分析^[6, 7]

测定条件为管压: 40 kV, 管流: 100 mA, Cu K α 辐射, 石墨弯晶单色器, DS = SS = 1°, RS = 0.3 mm。扫描速度: 10°. min⁻¹, 步进间隔: 0.02°。经由计算机分析软件将实验得到的 X 射线衍射数据进行平滑处理、K α 2 峰剥离、自动寻峰定位, 得到了马来酸氨氯地平的衍射角度 (2θ) 分别为: 4.440, 8.920, 12.980, 13.440, 15.600, 17.000, 17.460, 17.940, 18.580, 19.640, 21.140, 22.040, 23.460, 26.300, 24.040, 25.000, 26.300, 27.160, 30.040, 晶面间距 d (nm) 分别为: 1.9885, 0.9905, 0.6815, 0.6583, 0.5676, 0.5211, 0.5075, 0.4940, 0.4772, 0.4516, 0.4119, 0.4030, 0.3789, 0.3386, 0.6988, 0.3559, 0.3386, 0.3280, 0.2972, 相对强度 (I/I_0) 分别为: 34, 33, 26, 100, 19, 18, 23, 21, 39, 17, 32, 63, 33, 28, 34, 33, 28, 40, 18 其衍射图谱见图 4。

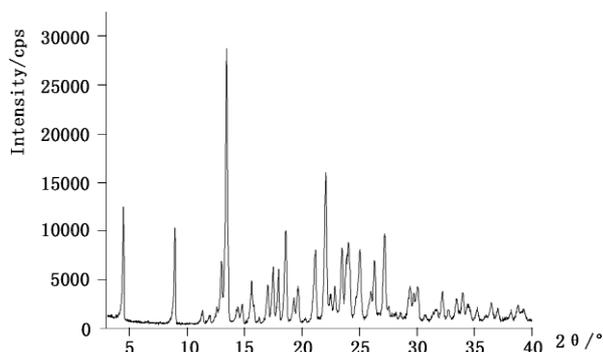


图 4 马来酸氨氯地平的粉末 X-射线衍射图谱

Fig 4 XRD pattern of Amlodipine maleate

3 结论

热分析测定熔点为 182.33 °C, 红外光谱和核磁共振谱都显示与马来酸氨氯地平的相符的特征峰, 元素分析测定样品碳、氢、氮元素含量与马来酸氨氯地平的分子组成一致, 质谱分析显示其片段构成与马来酸氨氯地平一致, X 射线粉末衍射分析确定该样品呈结晶状态, 给出了相关的衍射角度、晶面距、相对强度等晶体结构参数。通过以上的分析最终确认样品的结构为 3-乙基-5-甲基-2-(2-氧乙氧甲基)-4-(2-氯苯基)-1,4-二氢-6-

甲基-3,5-吡啶二羧酸酯顺丁烯二酸盐。

4 讨论

4.1 通常情况下做结构测定工作, 对样品的纯度要求较高, 为了达到这一要求, 测定前要对试样做精制处理。本实验中首先用高效液相测试纯度, 结果显示马来酸氨氯地平样品中的杂质的总和为 0.125%, 符合结构测定的纯度要求 (98% 以上)。元素分析和热分析也验证了这一结果, 表明能够进行下一步的结构分析。

4.2 在进行高效液相测定纯度的过程中, 流动相的选择影响分离效果。我们先后尝试了用乙腈-甲醇-醋酸铵 (醋酸调 PH = 3.0) 和乙腈-水-甲酸做流动相, 均不能得到较好的分离度。最终确定甲醇-0.03 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液 (62:38, V/V) 为流动相才得到较好的分离效果。

4.3 差示扫描量热分析结果显示马来酸氨氯地平的熔点为 182.33 °C, 同时热重分析图谱显示在 180 °C 左右出现一个平台, 说明该样品在溶解的同时发生了分解。

参考文献

- 1 WU pei-yun(吴培云), LIANG Yu-tang(梁玉堂). Improvement of synthesis processes in the production of amlodipine maleate(马来酸氨氯地平的合成工艺的改进). *China Pharm* (中国药业), 2000, 9:21
- 2 DU Ying-xiang(杜迎翔), CHEN Jun(陈俊), DI Bin(狄斌). HPLC determination of amlodipine maleate and impurities in amlodipine maleate tablet(马来酸氨氯地平片的高效液相色谱分析研究). *Chin J New Drugs*(中国新药杂志) 2002, 11(12):944
- 3 P. Sudhakar, M. Nirmala, J. Moses Babu *et al.* Identification and characterization of potential impurities of amlodipine maleate. *J Pharm Biomed Anal* 2006, 40:605
- 4 YAO Wen(姚文), WANG Xiao-bo(王小波), XI Rong-gang(袭荣钢) *et al.* Determination of amlodipine in human plasma by LC/MS/MS: application to bioequivalence and pharmacokinetics study (液相色谱-串联质谱法研究人体内马来酸氨氯地平滴丸的生物等效性). *Chin Hosp Pharm J*(中国医院药学杂志) 2008, 28(12):981
- 5 Hugo E. Gottlieb, Vadim Kotlyar, Abraham Nudelman. NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities. *J Org Chem*, 1997, 62:7512
- 6 MA Chao(马超), HUANG Chang-gao(黄长高), CHEN Xiao-qing(陈小青) *et al.* Chemical structure analysis of zonisamide(唑尼沙胺的结构分析). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志) 2009, 29(10):1607
- 7 LI Gang(李钢), XU Qun-wei(徐群为), LI Rui(李瑞) *et al.* Polymorphism and solubility of nateglinide (那格列奈的多晶型与溶解度). *Acta Chim Sin* (化学学报) 2007, 65:2817

(本文于 2010 年 6 月 18 日收到)