

甲磺酸加替沙星的化学结构分析

黄 琦

(浙江科技学院 生物与化学工程学院,杭州 310023)

摘 要: 建立药物甲磺酸加替沙星化学结构的确证方法。通过热分析(TA)、元素分析(EA)、紫外吸收光谱(UV)、红外吸收光谱(IR)、质谱(MS)、X-射线粉末衍射(XRD)及核磁共振(NMR)等分析手段,对甲磺酸加替沙星样品进行结构确证。证实了甲磺酸加替沙星的结构为 1-环丙基-6-氟-1,4-二氢-8-甲氧基-7-(3-甲基-1-哌嗪基)-4-氧-3-喹啉羧酸甲磺酸盐。该方法准确、可行,从而为甲磺酸加替沙星的生产 and 鉴定提供了较全面的参考依据。

关键词: 甲磺酸加替沙星;化学结构分析;光谱分析

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1671-8798(2015)03-0168-06

Chemical structural analysis of gatifloxacin mesylate

HUANG Qi

(School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, China)

Abstract: A method for the determination of the chemical structure of gatifloxacin mesylate was established. Thermal analysis(TA), elemental analysis(EA), ultraviolet absorption spectrum(UV), infrared Fourier transform spectroscopy(FT-IR), mass spectrometry(MS), X-ray powder diffraction(XRD) and nuclear magnetic resonance(NMR) were adopted to analyze the chemical structure of gatifloxacin mesylate. All the ^1H NMR and ^{13}C NMR chemical shifts were assigned by means of ^1H - ^1H COSY, HMBC and HMQC. The chemical structure of gatifloxacin mesylate is 1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-8-methoxy-7-(3-methyl-1-piperazinyl)-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid mesylate. The result of the method is accurate, general and can provide a comprehensive reference for production and identification of gatifloxacin mesylate.

Key words: gatifloxacin mesylate; chemical structural analysis; spectrum analysis

加替沙星(gatifloxacin)是由日本杏林株式会社首先研制成功的第四代氟喹诺酮类抗菌药物,它不仅对革兰阴性菌有抗菌活性,对革兰阳性菌也有抗菌活性,且对革兰阳性菌的抗菌活性明显增强^[1-2]。甲

收稿日期: 2015-03-17

基金项目: 浙江省公益性技术应用研究计划项目(2015C37072)

作者简介: 黄 琦(1980—),女,河南省开封人,讲师,硕士,主要从事药品、食品质量安全与控制研究。

磺酸加替沙星是由中国研制的喹诺酮类药物,属国家一类新药。甲磺酸加替沙星与盐酸加替沙星相比,改善了水溶性差的不足,更易于机体吸收^[3]。甲磺酸加替沙星化学名为 1-环丙基-6-氟-1,4-二氢-8-甲氧基-7-(3-甲基-1-哌嗪基)-4-氧-3-喹啉羧酸甲磺酸盐(1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-8-methoxy-7-(3-methyl-1-piperazinyl)-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid mesylate),分子式 $C_{19}H_{22}FN_3O_4 \cdot CH_3SO_3H$,相对分子质量 471.50,结构式如图 1 所示。目前,市场上销售较多的有甲磺酸加替沙星分散片、甲磺酸加替沙星胶囊等。需要警惕的是加替沙星的严重不良反应,临床表现为血糖异常、全身性损害和神经系统损害等。因此,进一步提高甲磺酸加替沙星的生产工艺,保证产品质量是非常必要的^[4-5]。

现代分析仪器可用于对化学药物进行结构的确证,相关文献^[6-9]已有很多报道。使用元素分析(EA)、热分析法(TA)、紫外吸收光谱(UV)、红外吸收光谱(IR)、X-射线粉末衍射(XRD)、质谱(MS)、核磁共振(NMR)等对甲磺酸加替沙星的结构进行分析少有详尽的文献报道。本研究较为详细和全面地对上述各项分析测试的谱图及结构特征参数进行报道,以期生产、鉴定和保证甲磺酸加替沙星的质量提供较为全面的科学参考数据。

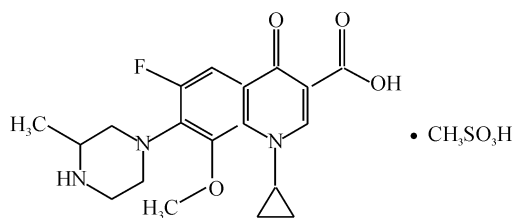


图 1 甲磺酸加替沙星的化学结构式

Fig. 1 Chemical structure of gatifloxacin mesylate

1 仪器和试剂

Perkin-Elmer Series 7 热分析系统, Foss Heraeus 元素分析仪, Bruker AM-500 MHz 型核磁共振仪, Shimadzu FTIR-8400S 红外光谱仪, Agilent 8453 扫描型可见-紫外分光光谱仪, 日本理学公司 D/max-RA 型阳极转靶 X-射线衍射仪, Agilent 1100 LC/MSD 液质联用质谱仪。

甲磺酸加替沙星精制品由浙江京新药业股份有限公司提供,采用高效液相色谱法测定样品纯度为 99.7%。

2 分析方法

2.1 热分析

用氮气保护,在升温速率 10.0 °C/min、温度范围 25~320 °C 的条件下,进行差示扫描量热分析(DSC);用氮气保护,在升温速率 10.0 °C/min、温度范围为 35~400 °C 的条件下,进行热重分析(TGA)。

2.2 元素分析

Foss Heraeus 元素分析仪,测量元素为 C、H、N、S。

2.3 紫外吸收光谱分析

按照中国药典二部(2005 年版) VI^[10] 校正仪器。分别以水、甲醇、0.1 mol/L 盐酸溶液、0.1 mol/L 氢氧化钠溶液为溶剂,将供试品配成质量浓度约为 10 µg/mL 的溶液,测定其最小吸收波长(λ_{\min})、最大吸收波长(λ_{\max})和摩尔吸收系数(ϵ)。

2.4 红外吸收光谱分析

按照中国药典二部(2005 年版)附录 VI^[10] 校正仪器。KBr 压片,在 400~4 000 cm^{-1} 范围内扫描。

2.5 质谱分析

测定条件为电喷雾离子化(70 V),正离子方式:ESI(+).

2.6 X-射线粉末衍射分析

条件:石墨弯晶单色器, Cu K α 辐射源,管压 40 kV,管流 50 mA, DS/SS=1°, RS=0.15 mm,扫描速率 5(°)/min。

2.7 核磁共振光谱分析

^1H NMR 以 D_2O 为溶剂, TMS 为内标; ^{13}C NMR 以 DMSO-d_6 为溶剂, TMS 为内标;温度为 298 K。

3 结果与讨论

3.1 热分析

根据 DSC 图(图 2)显示,甲磺酸加替沙星样品在 222.8~278.4 °C 间显示一个尖锐的吸热熔融单峰(270.8 °C);TGA(图 3)显示,试样在 40.0~142.1 °C 间失重约 1.06%。表明该分子中无结晶水存在。

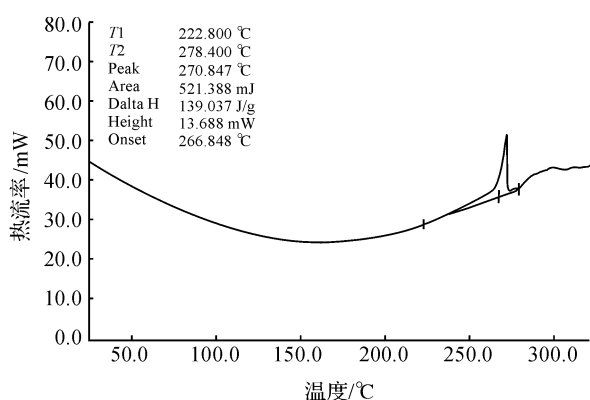


图 2 甲磺酸加替沙星的差示扫描量热谱图

Fig. 2 DSC of gatifloxacin mesylate

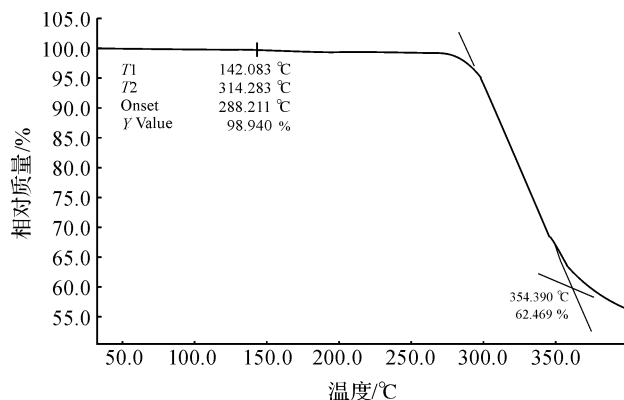


图 3 甲磺酸加替沙星的热重分析图

Fig. 3 TGA of gatifloxacin mesylate

3.2 元素分析

甲磺酸加替沙星样品元素分析结果见表 1。

试样元素分析结果中,C、H、N、S 元素的质量分数与甲磺酸加替沙星元素组成中 C、H、N、S 元素的质量分数相符,误差在允许范围之内。

表 1 甲磺酸加替沙星样品的元素分析结果

Table 1 Element analysis data of gatifloxacin mesylate				%
元素	理论值	实测值	平均值	
C	50.95	50.82	50.88	50.85
H	5.56	5.73	5.76	5.75
N	8.91	8.79	8.87	8.83
S	6.80	6.65	6.71	6.68

3.3 紫外吸收光谱分析

测定数据见表 2。实验结果证明试样结构中有苯环存在,与甲磺酸加替沙星分子结构相符。

表 2 甲磺酸加替沙星的紫外光谱测定结果

Table 2 Results of UV analysis of gatifloxacin mesylate

溶剂	λ_{\max}/nm				λ_{\min}/nm			
	λ_1	ϵ_1	λ_2	ϵ_2	λ_3	ϵ_3	λ_4	ϵ_4
CH ₃ OH	293.0	3.14×10^4	231.4	1.44×10^4	261.2	6.57×10^3		
H ₂ O	291.2	3.11×10^4	231.8	1.61×10^4	314.2	1.06×10^4	262.4	8.26×10^3
0.1 mol/L 的 HCl	292.6	3.32×10^4	231.6	1.61×10^4	315.0	1.08×10^4	262.8	7.38×10^3
0.1 mol/L 的 NaOH	289.0	2.54×10^4	239.6	1.63×10^4	310.0	8.43×10^3	264.0	9.44×10^3

3.4 红外吸收光谱分析

甲磺酸加替沙星样品红外吸收光谱图见图 4。主要吸收峰的归属如下:3 500~2 500 cm^{-1} 有强宽吸收峰,为羧酸分子的 O—H 伸缩振动吸收;936.8 cm^{-1} 为羧酸分子的 O—H 弯曲振动吸收;3 463.8 cm^{-1} 有较强吸收峰,为仲胺的 N—H 伸缩振动吸收;1 544.5 cm^{-1} 为仲胺 C—H 面内弯曲振动吸收;1 330.4 cm^{-1} 为芳胺 N—C 伸缩振动吸收;1 210.4、1 050.2、1 093.9 cm^{-1} 为脂肪胺 C—N 伸缩振动吸收;3 004.3 cm^{-1} 为芳烃 C—H 伸缩振动吸收;1 622.4、1 517.0 cm^{-1} 为芳环 C=C 伸缩振动吸收;887.4 cm^{-1} 为芳环 1,2,3,4,5 五取代剪式振动吸收,表明分子中含有 1,2,3,4,5 五取代芳环,与甲磺酸加替沙星的分子结构相符。1 195.7、1 058.7 cm^{-1} 为磺酸 S=O 伸缩振动吸收;647.7 cm^{-1} 为磺酸的 S—O 伸缩振动吸收;1 210.4、1 040.9 cm^{-1} 为芳醚 C—O—C 伸缩振动吸收;1 178.2 cm^{-1} 为氟取代的芳烃 C—F 伸缩振动吸收;2 934.6~2 507.1 cm^{-1} 为饱和 C—H 伸缩振动吸收;1 462.4、1 398.8 cm^{-1} 为饱和 C—H 剪式振动吸

收,证明结构中有饱和 $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_3$ 存在。

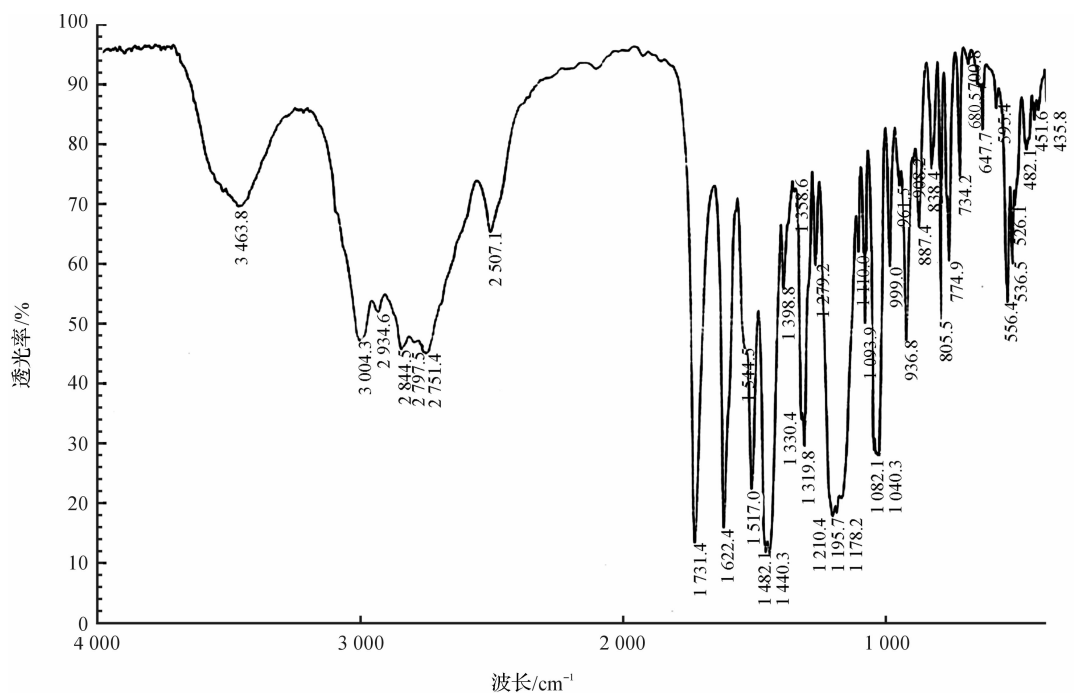


图4 甲磺酸加替沙星的红外光谱图

Fig. 4 IR spectrum of gatifloxacin mesylate

3.5 质谱

ESI质谱中主要为准分子离子峰。离子化质谱测得 m/z 376.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 为准分子离子峰,测定结果与加替沙星分子质量(分子式 $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{FN}_3\text{O}_4$,相对分子质量375)一致。相对分子质量为奇数,表明分子结构中含有奇数氮原子,与加替沙星结构及其氮原子组成相符。

3.6 X-射线粉末衍射分析

甲磺酸加替沙星样品的衍射图谱见图5,晶体参数见表3。由图5可知,该试样呈结晶态。

3.7 核磁共振光谱

甲磺酸加替沙星碳位置标记见图6。

^1H NMR谱给出23个氢(除水和溶剂峰外),有3个活泼氢可被 D_2O 交换(其中含1个 NH 、1个 SO_3H 和1个 COOH),与甲磺酸加替沙星的分子结构相符。 ^{13}C NMR谱给出19个碳共振峰($\delta=155.7$, $^1J_{\text{CF}}=250.9$ Hz),对应于分子结构中的20个碳原子(有1个对称碳原子)。 δ 在100~180为不饱和碳区,共10个碳; δ 在70~5为饱和碳区,共10个碳。根据DEPT谱中所示碳的类型, $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY谱(图7),HMQC谱(图8)及HMBC谱(图9)中所示的氢-氢相关,碳-氢相关性等,将试样的 ^1H NMR谱、 ^{13}C NMR谱中各共振峰归属列于表4和表5。

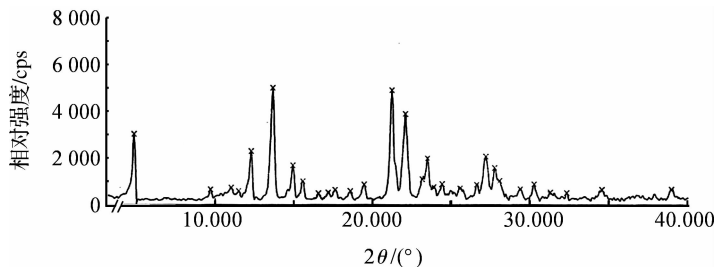


图5 甲磺酸加替沙星的X-射线粉末衍射谱图

Fig. 5 XRD of gatifloxacin mesylate

表3 X-射线粉末衍射图数据

Table 3 Data of X-ray powder diffraction

衍射角 $2\theta/(\circ)$	晶面间距 d/nm	相对丰度 I/I_0
4.840	18.242 5	61
12.280	7.201 7	46
13.660	6.477 1	100
14.940	5.924 9	34
15.580	5.682 9	21
21.240	4.179 6	99
22.120	4.015 3	78
23.200	3.830 8	22
23.540	3.776 2	40
27.220	3.273 4	42
27.800	3.206 5	32
28.100	3.172 9	21

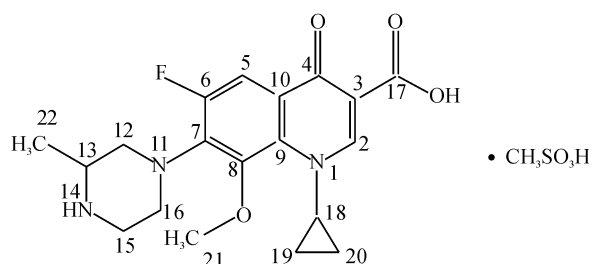


图 6 甲磺酸加替沙星的碳原子标记

Fig. 6 Carbon atom sign of gatifloxacin mesylate

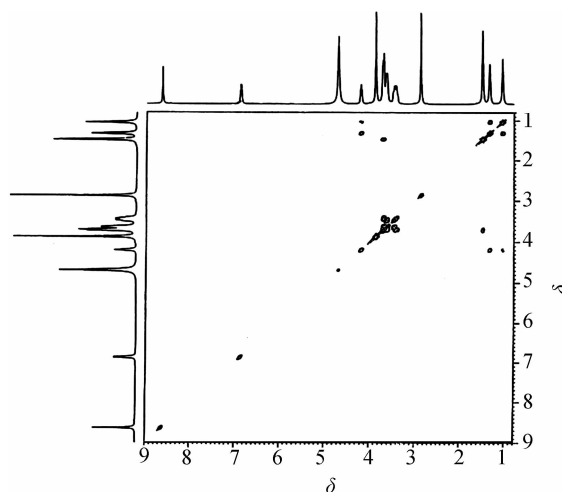
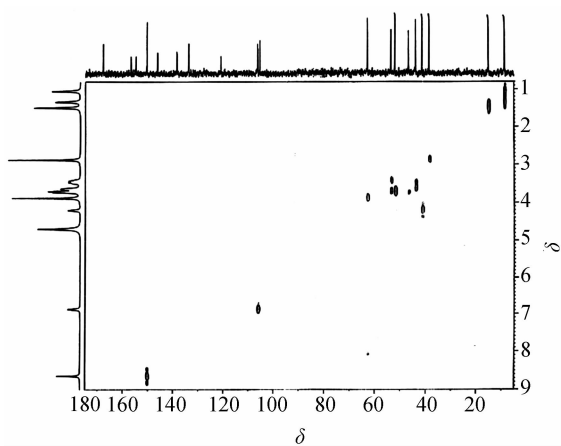
图 7 甲磺酸加替沙星样品的¹H-¹H COSY 谱Fig. 7 ¹H-¹H COSY spectrum of gatifloxacin mesylate

图 8 甲磺酸加替沙星样品的 HSQC 谱

Fig. 8 HSQC spectrum of gatifloxacin mesylate

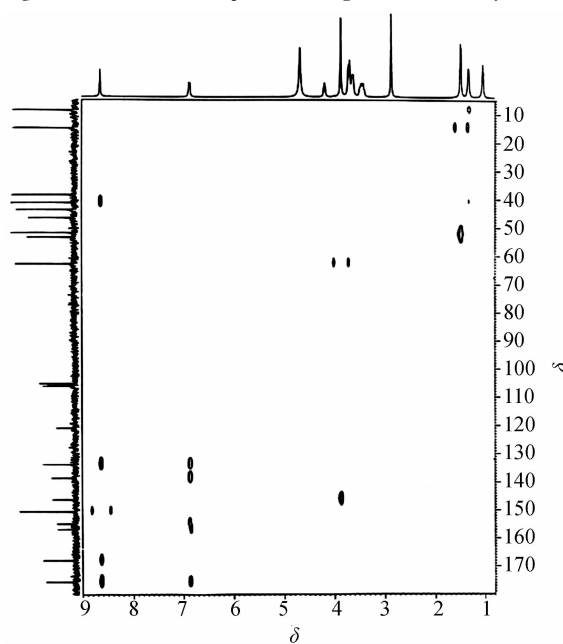


图 9 甲磺酸加替沙星样品的 HMBC 谱

Fig. 9 HMBC spectrum of gatifloxacin mesylate

表 4 甲磺酸加替沙星样品的¹H NMR 数据Table 4 ¹H NMR data of gatifloxacin mesylate

化学位移 δ	多重性	质子数	¹ H- ¹ H COSY	HSQC	HMBC	归属
1.05	s	2H	1.34; 3.87	8.68		19-1H, 20-1H
1.34	d	2H	1.05; 3.87	8.68		19-1H, 20-1H
1.49	d	3H	3.70	14.92		22-3H
2.88	s	3H		38.32		CH ₃ SO ₃ H
3.46	m	2H	3.63; 3.70	53.28; 43.57		12-1H, 15-1H
3.63	d	2H	3.46	53.28; 43.57		12-1H, 15-1H
3.70	d	3H	3.46; 1.49	51.67; 46.42	146.1	13-1H, 16-2H
3.87	s	3H		62.65		21-3H
4.20	s	1H	1.05; 1.34	41.04		18-1H
6.87	d	1H		105.9	175.5; 155.7; 138.3; 133.6	5-1H
8.64	s	1H		150.2	175.5; 167.8; 133.6; 41.04	2-1H

表 5 甲磺酸加替沙星样品的¹³C NMR 数据
Table 5 ¹³C NMR data of gatifloxacin mesylate

化学位移 δ	DEPT		碳原子类型	HSQC	HMBC	归属
	135°	90°				
175.5	—	—	C		8.64;6.87	4
167.8	—	—	C		8.64	17
155.7	—	—	C		6.87	6
150.2	up-peak	up-peak	CH	8.64		2
146.1	—	—	C		3.70	7
138.3	—	—	C		6.87	10
133.6	—	—	C		8.64;6.87	9
120.8	—	—	C			8
105.9	up-peak	up-peak	CH	6.87		5
105.1	—	—	C			3
62.65	up-peak	—	CH ₃	3.87		21
53.28	down-peak	—	CH ₂	3.63;3.46		12
51.67	up-peak	up-peak	CH	3.70		13
46.42	down-peak	—	CH ₂	3.70		16
43.57	down-peak	—	CH ₂	3.63;3.46		15
41.04	up-peak	up-peak	CH	4.20		18
38.32	up-peak	—	CH ₃	2.88		CH ₃ SO ₃ H
14.92	up-peak	—	CH ₃	1.49		22
8.68	down-peak	—	CH ₂	1.34;1.05		19;20

3.8 综合解析

采用高效液相色谱法测定甲磺酸加替沙星样品,纯度为 99.7%,符合样品结构确认的纯度要求^[11]。元素分析测定样品中 C、H、N、S 的质量分数与甲磺酸加替沙星分子式中各元素理论值相符合。DSC 结果显示,甲磺酸加替沙星熔点 270.8℃;TGA 结果表明,甲磺酸加替沙星分子中无结晶水存在。紫外光谱显示有芳香环存在;红外光谱证明,样品结构中含有羧酸官能团,1 个五取代苯环、芳胺和脂肪胺,1 个氟代苯环,1 个芳醚结构,以及饱和 CH₂、CH₃ 等官能团。甲磺酸加替沙星结构中有¹⁹F 原子,利用¹⁹F 与¹H 及¹³C 的耦合规律,有助于准确地指认¹H NMR 和¹³C NMR 信号。D₂O 中测得样品的¹H NMR 光谱共有质子数 23 个(除去溶剂峰和水峰),由高场到低场氢的积分比例为 2:2:3:3:2:2:3:3:1:1:1;分子中有 1 个单取代的环丙烷基,1 个甲基取代的哌啶环,2 个芳环质子,1 个活泼 NH 和 1 个—COOH 基,2 个甲基及 1 个甲磺酸基,除去 3 个活泼氢(其中含 1 个 NH、1 个—COOH 和 1 个 CH₃SO₃H),与甲磺酸加替沙星的分子结构相符。¹³C NMR 光谱测得样品含有 8 个季碳、4 个叔碳、5 个仲碳和 3 个伯碳共振峰,与甲磺酸加替沙星分子结构中的碳原子组成相符。由¹H-¹H COSY 谱、HSQC 谱及 HMBC 谱可知,样品骨架和连接方式均与甲磺酸加替沙星结构相符。ESI-MS 谱测得 m/z 376.2[M+H]⁺ 为准分子离子峰,相对分子质量为奇数,与加替沙星相对分子质量及其氮原子组成相符。X-射线粉末衍射分析给出相关的衍射角度、晶面距、相对丰度等晶体结构参数,表明甲磺酸加替沙星样品呈结晶状态。

4 结 语

利用现代分析仪器得出了甲磺酸加替沙星测试的谱图及结构特征参数,可以为甲磺酸加替沙星的生产、鉴定和质量控制等方面提供理论依据。

(下转第 240 页)