

非布司他降解产物的 LC-MS 研究

冷柏榕^{1,2}, 严相平^{1*}, 王康蕊¹, 王德才² (1.南京工业大学江苏省药物研究所, 南京 210009; 2.南京工业大学药学院, 南京 211816)

摘要: 目的 研究非布司他的降解产物。方法 强制降解后以 LC-MS 测定, 根据质谱测定结果结合结构及反应机制推测降解产物结构。结果 推测降解产物为 2-[3-氰基-4-(2-异丁氧基)苯基]-4-甲基噻唑-5-羧酸甲酯、2-[3-氨基甲酰基-4-(2-异丁氧基)苯基]-4-甲基噻唑-5-羧酸、2-[3-氰基-4-(2-异丁氧基)苯基]-4-甲基-1-氧化噻唑-5-羧酸甲酯以及非布司他的二聚体。结论 该法为研究非布司他的稳定性及其可能的降解途径提供了参考。

关键词: 非布司他; 液相色谱-质谱; 有关物质; 降解产物

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)03-0226-04

Study on Degradation Products of Febuxostat by LC-MS

LENG Borong^{1,2}, YAN Xiangping^{1*}, WANG Kangrui¹, WANG Decai² (1.Jiangsu Provincial Institute of Material Medica, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China; 2.School of Pharmaceutical Sciences, Nanjing University of Technology, Nanjing 211816, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the degradation products of febuxostat. **METHODS** After forced degradation, products were determined by LC-MS. The structures of degradation products were elucidated by the results of mass spectrometry combined with the structure and the reaction mechanism. **RESULTS** It was speculated that the degradation products were 2-(3-cyano-4-isobutoxy-phenyl)-4-methyl-thiazole-5-carboxylic acid methyl ester, 2-(3-carbamoyl-4-isobutoxyphenyl)-4-methylthiazole-5-carboxylic acid, 2-(3-cyano-4-isobutoxy-phenyl)-4-methyl-1-oxidation thiazole-5-carboxylic acid methyl ester, a dimer of febuxostat. **CONCLUSION** The method provides a reference of studying the stability of febuxostat and possible degradation pathway.

KEY WORDS: febuxostat; LC-MS; related substance; degradation product

非布司他(febuxostat, **1**), 化学名为 2-[3-氰基-4-(2-甲基丙氧基)苯基]-4-甲基-5 噻唑甲酸^[1], 结构式见图 1。**1** 对氧化型和还原型的 XOR 均有显著的抑制作用, 因而其降低尿酸的作用更强大、持久, 临床用于治疗痛风的慢性高尿酸血症^[2]。本品由日本帝人公司研发, 2008 年 4 月在欧盟获得批准上市, 美国 FDA 也于 2009 年 2 月批准其上市^[3-4]。目前尚未见对 **1** 降解途径及产物的公开报道, 本试验采用 LC-MS 分析 **1** 的降解产物, 根据测定结果初步推测降解产物的结构。

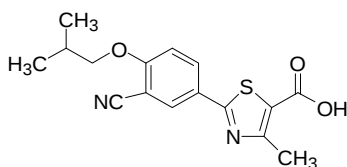


图 1 非布司他结构式

Fig 1 Structure of febuxostat

1 仪器与试剂

Waters 2695 型高效液相色谱仪, 配备 2996 PDA 和 Waters Quattro Micro API(美国 Waters 公司)。

原料 **1**(南京工业大学药学院试制, 批号: 090115); 甲醇为色谱纯, 水为实验室自制纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 试验条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱十八烷基键合硅胶柱(Lnertsil, 4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.05%甲酸溶液(80:20); 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 经分流进质谱。

2.1.2 质谱条件 电喷雾电离源(ESI⁺); 毛细管电压: 3 kV; 雾化气(N₂)温度: 350 °C; 雾化气流量: 400 L·h⁻¹; 源温: 120 °C; 锥孔电压: 30 V。

作者简介: 冷柏榕, 女, 硕士, 研究实习员 Tel: 13914755323

究员 Tel: 13851564410 E-mail: yanxpsci001@sina.com

E-mail: lengborong@sina.com

*通信作者: 严相平, 男, 硕士, 副研

2.2 样品处理

取本品 10 mg, 精密称定, 加流动相约 10 mL 溶解, 作为储备液。

酸破坏: 精密量取 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 溶液 1 mL, 沸水浴加热 4 h, 放冷, 用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液调节溶液至中性, 加流动相稀释至刻度, 待测。

碱破坏: 精密量取 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液 1 mL, 沸水浴 90 min, 放冷, 用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 溶液调节溶液至中性, 加流动相稀释至刻度, 待测。

氧化破坏: 精密量取 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加 30% 双氧水溶液 1 mL, 沸水浴 90 min, 加流动相稀释至刻度, 待测。

光照破坏: 精密量取 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度置 4 000 Lx 下放置 24 h, 待测。

2.3 检测方法

取待测样品, 以 LC-MS 对降解产物进行了测定分析, 采用全扫描检测模式, 获得总离子流图, 分别对所得降解产物峰进行质谱分析, 然后进行解析并推测其分子结构^[5]。

2.4 试验结果

2.4.1 酸破坏 总离子流图见图 2, 主要降解产物 I 的保留时间为 12.28 min。降解产物 I 的质谱图见图 3, 其 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 峰的 m/z 为 331。推测降解产物 I 可能的结构见图 4。

2.4.2 碱破坏 总离子流图见图 5, 降解产物 II 的保留时间为 4.1 min。图 6 是降解产物 II 的质谱图, 其 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 峰的 m/z 为 335。推测降解产物 II 可能的结构见图 7。

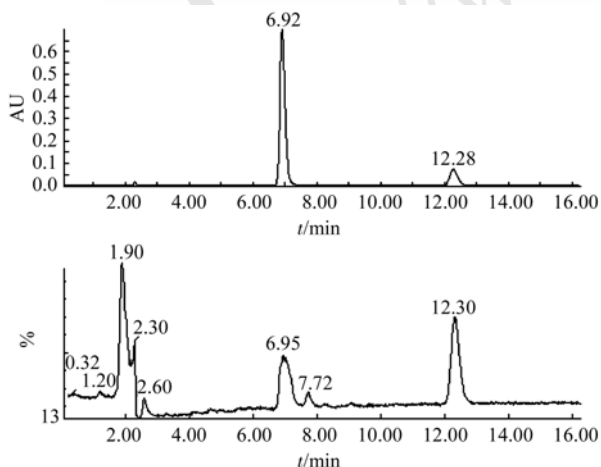


图 2 酸破坏总离子流图

Fig 2 Chromatogram of total ion which was decomposed by HCl

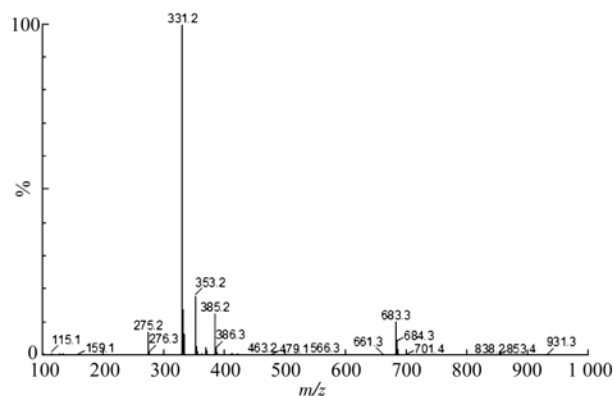


图 3 降解产物 I 的质谱图

Fig 3 MS spectrum of the degradation product I

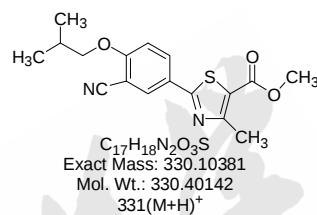


图 4 降解产物 I 的结构式

Fig 4 The structure of the degradation product I

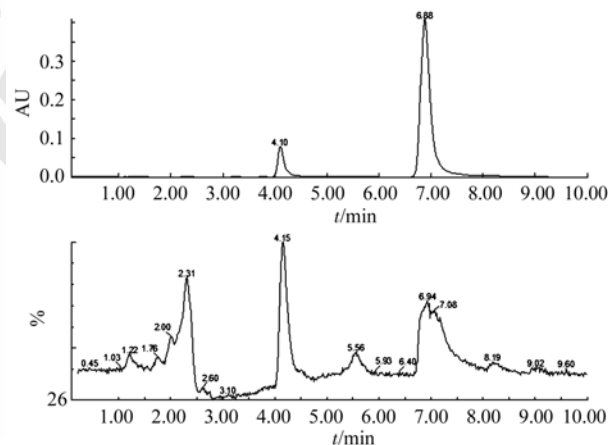


图 5 碱破坏总离子流图

Fig 5 Chromatogram of total ion which was decomposed by NaOH

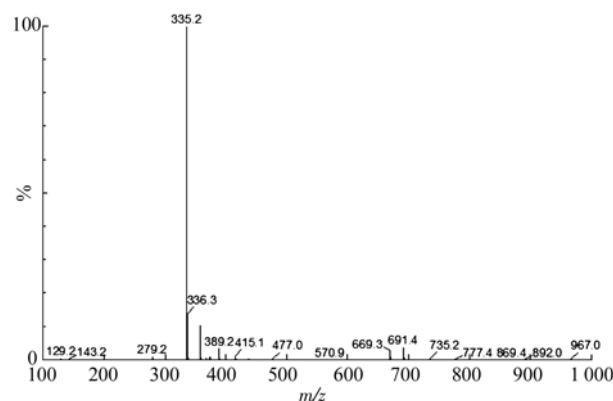


图 6 降解产物 II 的质谱图

Fig 6 MS spectrum of the degradation product II

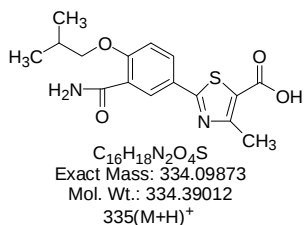


图7 降解产物II的结构式

Fig 7 The structure of the degradation product II

2.4.3 氧化破坏 总离子流图见图8, 主要降解产物III的保留时间为2.47 min。图9是降解产物III的质谱图, 其 $[M+H]^+$ 峰的 m/z 为303。推测降解产物III可能的结构见图10。

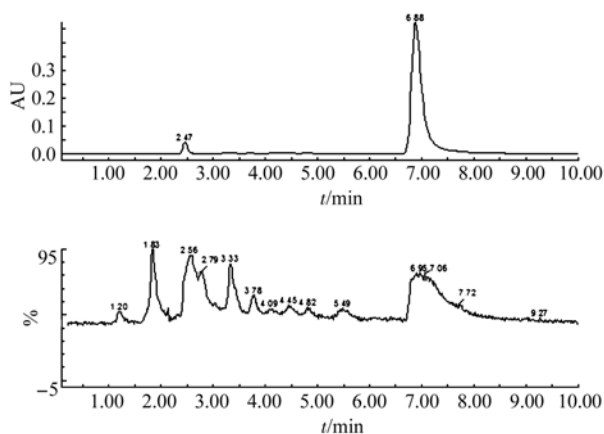


图8 氧化破坏总离子流图

Fig 8 Chromatogram of total ion which was decomposed by H_2O_2)

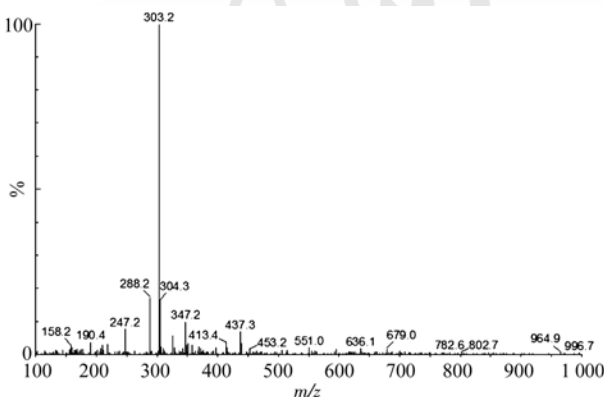


图9 降解产物III的质谱图

Fig 9 MS spectrum of the degradation product III

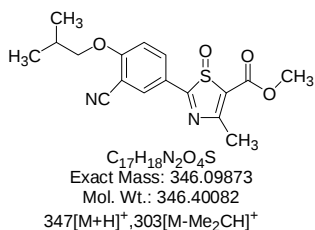


图10 降解产物III的结构式

Fig 10 The structure of the degradation product III

2.4.4 光照破坏 总离子流图见图11, 主要降解产物IV的保留时间为4.48 min。图12是降解产物IV的质谱图, 其 $[M+H]^+$ 峰的 m/z 为317。推测降解产物IV可能的结构见图13。

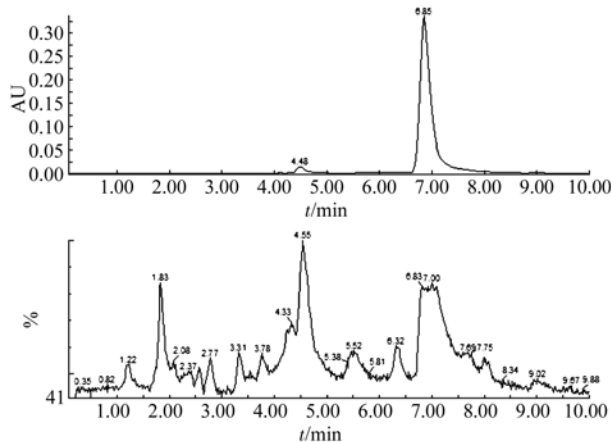


图11 光照破坏总离子流图

Fig 11 Chromatogram of total ion which was decomposed by light

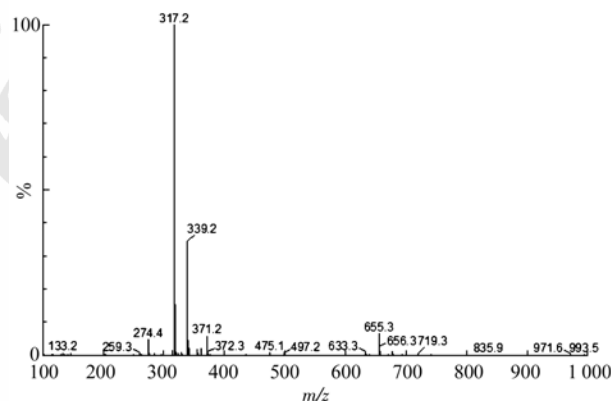


图12 降解产物IV的质谱图

Fig 12 MS spectrum of the degradation product IV

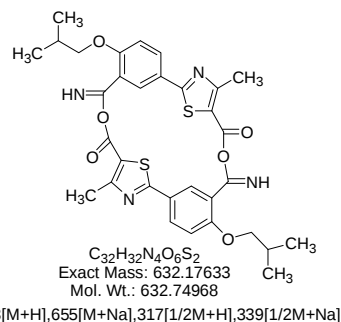


图13 降解产物IV的结构式

Fig 13 The structure of the degradation product IV

3 讨论

3.1 酸破坏降解途径的推测

根据降解产物I的质谱图可知, 降解产物的

分子离子峰为 331.2, 为一极性较小的产物。溶剂中含有甲醇, 降解产物 I 可能是在酸性加热条件下与 **1** 形成的甲酯化产物。为验证这一推测, 改用乙腈为溶剂溶解 **1** 后进行酸破坏试验, 未产生该降解产物 I, 见图 14 和图 15。

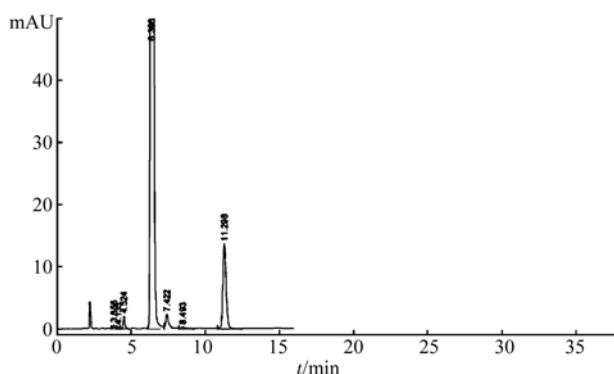


图 14 酸破坏色谱图(甲醇为溶剂)

Fig 14 Chromatogram of acid damage(methanol as solvent)

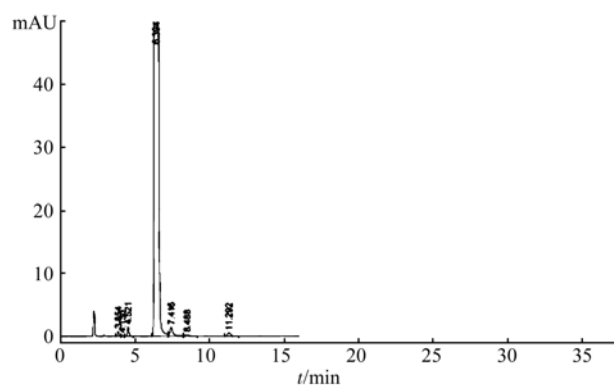


图 15 酸破坏色谱图(乙腈为溶剂)

Fig 15 Chromatogram of acid damage (acetonitrile as solvent)

可见, 酸破坏下降解产物 I 的降解途径为: **1** 羧基上的氧经质子化后, 羰基碳上的正电性提高, 甲醇氧对其进行亲核进攻, 继而脱水形成甲酯化产物。降解产物 I 的降解途径见图 16。

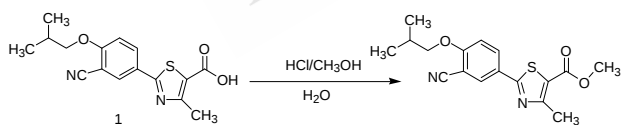


图 16 降解产物 I 的降解途径

Fig 16 Degradation pathways of the degradation product I

3.2 碱破坏降解途径的推测

1 氰基碳具有正电性, 羟基对其亲核进攻, 继而发生重排形成酰胺。降解产物 II 的降解途径见图 17。

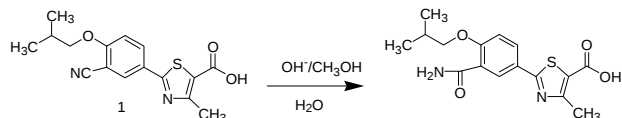


图 17 降解产物 II 的降解途径

Fig 17 Degradation pathways of the degradation product II

3.3 氧化破坏降解途径的推测

过氧化氢中的氧呈负一价, 属缺电子基团, 硫醚的硫原子有孤电子对, 属释电子基团, 硫原子对过氧化氢中的氧进行亲核进攻, 继而氧化成亚砷。降解产物 III 的降解途径见图 18。

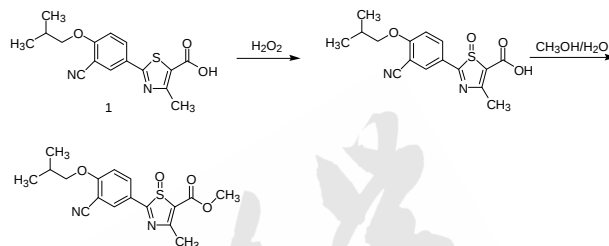


图 18 降解产物 III 的降解途径

Fig 18 Degradation pathways of the degradation product III

3.4 光照破坏降解途径的推测

在光照下双分子 **1** 的氰基、羧基分别均裂后彼此发生自由基反应得双分子环合产物。降解产物 IV 的降解途径见图 19。

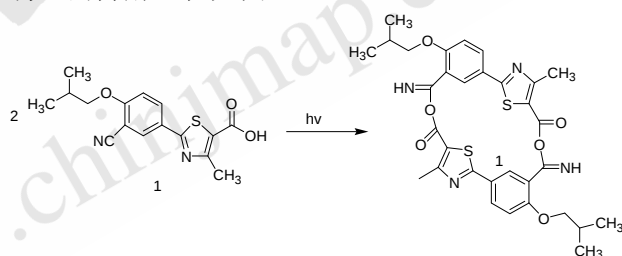


图 19 降解产物 IV 的降解途径

Fig 19 Degradation pathways of the degradation product IV

REFERENCES

- [1] OKAMOTO K, EGER B T, NISHINO T. An extremely potent inhibitor of xanthine oxidoreductase. Crystal structure of the enzyme-inhibitor complex and mechanism of inhibition [J]. J Biol Chem, 2003, 278(3): 1848-1855.
- [2] KOMORIYA K, OSADA Y, HASEGAWA M, et al. Hypouricemic effect of allopurinol and the novel xanthine oxidase inhibitor TEI-6720 in chimpanzees [J]. Eur J Pharmacol, 1993, 250(3): 455-460.
- [3] MOU W W. Febuxostat: a novel treatment drug for gout [J]. Qilu Pharm Aff(齐鲁药事), 2010, 29(7): 444-445.
- [4] TANG C L, WANG D C, CHEN Z. Febuxostat: a novel treatment drug for gout [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2009, 18(7): 577-581.
- [5] Ch. P(2010) Vol II(中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: Appendix 78.

收稿日期: 2011-08-01