

了晶型Ⅱ的确是药用晶型。此外,笔者对拉米夫定成品药进行了测量,结果成品药的吸收谱也与晶型Ⅱ的吸收谱基本一致,为检测多晶型药物物质及鉴别化合物的主要成分提供了参考。最后,本文借助于 Gaussian03 软件对拉米夫定晶型Ⅱ进行了模拟计算,并在此基础上对其在太赫兹波段的振动模式进行了指认。研究结果表明与 THz 光谱的特征吸收对应的振动模式是以环为主体的扭动和摆动为主要特征,不同峰位的振动和扭转模式及振动幅度不同。这一研究结果为利用 THz 技术检测拉米夫定提供了参数,为进一步检测药品中的拉米夫定成分打下了很好的基础。

在药学领域,太赫兹技术研究应用尚处于起步水平,存在着很多的机遇和挑战。相信随着研究的深入和水平的提高,太赫兹技术将会大显身手,给药学研究领域带来新的发展和突破。

REFERENCES

- [1] WANG X J, YOU J Z. Mechanism and kinetics of thermal decomposition of lamivudine [J]. J Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报), 2010, 27(8): 610-614
- [2] YE J C. The anti-retroviral agents: Lamivudine [J]. World Pharm(国外医药: 合成药、生化药、制剂分册), 1998, 19(2): 83-84.
- [3] XU F J, YANG Y Z. Advancement in the synthesis of lamivudine [J]. Yunnan Chem Technol(云南化工), 2009, 36(6): 33-35.
- [4] XU J Z, ZHANG X C. Terahertz Science and Technology and Application(太赫兹科学技术和应用) [M]. Beijing: Science Press, 2007: 1.
- [5] LI J R, LI J S. Research on plant oil by using terahertz time-domain spectroscopy [J]. J Chin Cereals Oils Association (中国粮油学报), 2010, 25(03): 112-114.
- [6] ZHANG T J, CAI J H, ZHOU Z K. Terahertz spectroscopic investigation of crystalline β -D-galactopyranose [J]. Spec Spectral Anal(光谱学与光谱分析), 2008, 28(4): 721-725.
- [7] LI J S, LI J R, ZHAO X L. Study on rapid detection of melamine compositions by terahertz time-domain spectroscopy [J]. J China Jiliang Univ(中国计量学院学报), 2008, 19(4): 363-366.
- [8] BECKE A D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange [J]. J Chem Phys, 1993, 98(7): 5648-5652.
- [9] SCOTT P A, RADOM L. Harmonic vibrational frequencies: an evaluation of hartree-fock, møller-plesset, quadratic configuration interaction, density functional theory, and semiempirical scale factors [J]. J Chem Phys, 1996, 100(41): 16502-16513.
- [10] LIU J Y, WU S B. Chemical Graphic Design and Molecular Calculations(化学图文设计与分子模拟计算) [M]. Guangzhou: South China Science and Technology University Press, 2009: 253.
- [11] WONG M W. Vibrational frequency prediction using density functional theory [J]. Chem Phys Lett, 1996, 256(4/5): 391-399.
- [12] CHEN Y Q, LIU H B, DENG Y Q, et al. THz spectroscopic investigation of 2,4-dinitrotoluene [J]. Chem Phys Lett, 2004, 400(4-6): 357-361.
- [13] YU B, ZENG F, YANG Y, et al. Torsional vibrational modes of tryptophan studied by terahertz time-domain spectroscopy [J]. Biophys J, 2004, 86(3): 1649-1654.
- [14] TAKAHASHI M, ISHIKAWA Y, NISHIZAWA J, et al. Low-frequency vibrational modes of riboflavin and related compounds [J]. Chem Phys Lett, 2005, 401(4-6): 475-482.
- [15] TANG X Q, XIANG M S, WU Y M. An improved baseline estimation approach based on the interferometric phases [J]. J Electro Inf Technol(电子与信息学报), 2008, 30(12): 2795-2799.

收稿日期: 2012-05-30

美洛西林钠化学结构的确证

黄琦¹, 贾沪宁² (1.浙江科技学院生物与化学工程学院, 杭州 310023; 2.中国药科大学分析化学教研室, 南京 211198)

摘要: 目的 建立美洛西林钠化学结构的的确证方法。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)、核磁共振(NMR)以及质谱(MS)等分析手段对美洛西林钠样品进行结构分析。结果 证实了美洛西林钠的结构为(2*S*, 5*R*, 6*R*)-3,3-二甲基-6-[(2*R*)-[3-(甲磺酰基)-2-氧代-1-咪唑烷甲酰氨基]-2-苯乙酰氨基]-7-氧代-4-硫杂-1-氮杂双环[3.2.0]庚烷-2-甲酸钠盐。结论 该方法准确可行, 可为美洛西林钠的生产和鉴定提供较全面的参考依据。

关键词: 美洛西林钠; 结构确证; 波谱分析

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)04-0383-05

Chemical Structural Confirmation of Mezlocillin Sodium

作者简介: 黄琦, 女, 硕士, 讲师 Tel: (0571)85070368 E-mail: huangqi-hz@163.com

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the determination of the chemical structure of mezlocillin sodium. **METHODS** Thermal analysis(TA), elemental analysis(EA), ultraviolet absorption spectrum(UV), infrared Fourier transform spectroscopy(FT-IR), nuclear magnetic resonance(NMR) and mass spectrometry(MS) were adopted to analyze the chemical structure of mezlocillin sodium. **RESULTS** The chemical structure of mezlocillin sodium was (2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-dimethyl-6-[[*(R*)-2-[(3-methylsulfonyl-2-oxo-imidazolidin-1-yl)carbonylamino]-2-phenyl-acetyl] amino]-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane -2-carboxylic acid sodium salt. **CONCLUSION** The result of the method is accurate, general and can provide a comprehensive reference for production and identification of mezlocillin sodium. **KEY WORDS:** mezlocillin sodium; structural confirmation; spectrum analysis

美洛西林钠(mezlocillin sodium)属于第3代半合成青霉素类抗菌药物,由德国拜耳公司研发,分子结构为(2*S*, 5*R*, 6*R*)-3,3-二甲基-6-[(*R*)-2-[3-甲磺酰-2-氧代-1-咪唑烷碳酰氨基]-2-苯乙酰氨基]-7-氧代-4-硫杂-1-氮杂双环[3.2.0]庚烷-2-甲酸钠盐;分子式为 C₂₁H₂₄N₅NaO₈S₂,相对分子质量: 561.56;熔点为 203~206 °C;结构式见图 1。美洛西林钠是一种不可逆的β-内酰胺酶抑制剂,主要通过干扰细菌细胞壁的合成而起杀菌作用。美洛西林钠具有很强的抗感染作用,可用于大肠埃希菌、肠杆菌属、变形杆菌等革兰阴性杆菌中敏感菌株所致的呼吸系统、泌尿系统、消化系统、妇科和生殖器官等感染^[1]。由于美洛西林钠的抗耐药性强,与其他抗生素类药物相比价格较低,具有广谱、高效、血药浓度高、组织分布广及不良反应少等优点,因此在临床上得到了广泛的应用。

利用现代分析仪器对化学药物进行测定是确定其结构的重要手段,相关文献^[2-5]已有报道,但是对半合成青霉素类抗生素的化学结构分析鲜有文献报道。本研究采用热分析法、元素分析(EA)、紫外吸收光谱(UV)、红外吸收光谱(IR)、核磁共振(NMR)、质谱(MS)等现代分析仪器对美洛西林钠的结构进行了确证,可为美洛西林钠的生产和鉴定提供较为全面的科学参考数据。

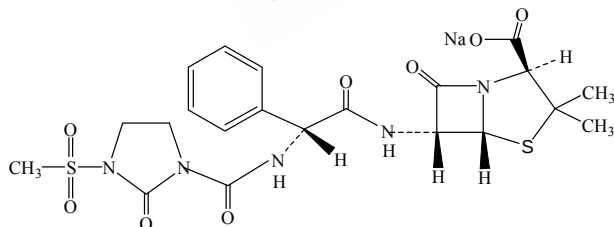


图 1 美洛西林钠的结构

Fig 1 Structure of mezlocillin sodium

1 仪器与试剂

Netzsch DSC 204 差示扫描量热仪(德国 Netzsch 公司); Netzsch TG 209 热重分析仪(德国

Netzsch 公司); Elementar Vario EL III 元素分析仪(德国 Elementar 公司); WZZ-3 自动旋光仪(上海精科); Agilent 8453 扫描型可见-紫外分光光谱仪(美国 Agilent 公司); Shimadzu FTIR-8400S 红外光谱仪(日本 Shimadzu 公司); Bruker AV-500 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司); Agilent 1100 LC/MSD 液质联用质谱仪(美国 Agilent 公司)。

美洛西林钠精制品由浙江金华康恩贝生物制药有限公司提供,采用高效液相色谱法测定样品纯度为 98.6%。各试剂均为分析纯。

2 结果与分析

2.1 热分析

以氮气保护,升温速度 10.0 °C·min⁻¹ 为实验条件,温度范围为 30~350 °C,进行差示扫描量热分析(DSC),结果见图 2;以氮气保护,升温速度 10.0 °C·min⁻¹ 为实验条件,温度范围为 30~350 °C 进行热重分析(TGA)。根据 DSC 图显示,试样在 190~211 °C 间显示一个尖锐的吸热熔融单峰,峰值温度为 204 °C,与文献值(熔点 203~206 °C)相符合^[6]。TGA 图显示该分子中无结晶水存在,209 °C 开始样品发生明显分解而快速失重。

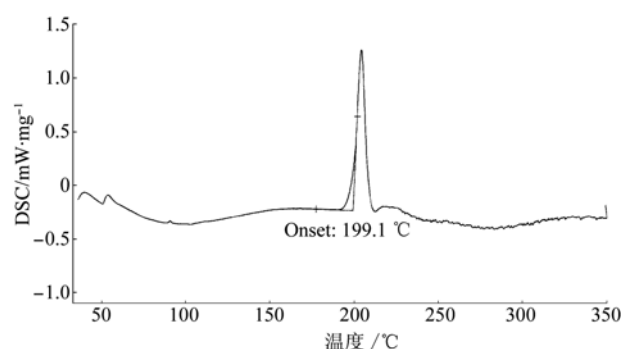


图 2 美洛西林钠的差示扫描量热分析图

Fig 2 DSC of mezlocillin sodium

2.2 元素分析

对样品进行碳、氢、氮、硫的元素分析,实验值与理论值相符合,误差在允许范围之内。数据

见表 1。

表 1 美洛西林钠元素分析结果

Tab 1 Element analysis data of mezlocillin sodium

元素	实测值/%	平均值/%	理论值/%
C	44.87	44.81	44.84
H	4.51	4.43	4.47
N	12.44	12.50	12.47
S	11.47	11.51	11.42

2.3 比旋度测定

取本品,精密称定,加水溶解并定量稀释成浓度约为 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,按照中国药典 2005 年版二部附录^[7]测定旋光度(钠灯 D 线 589 nm,测定温度为 20°C),计算得比旋度为 $+181.2^\circ$ 。

2.4 紫外吸收光谱分析

按照中国药典 2005 年版二部附录^[7]对仪器进行校正,符合规定。将样品分别溶解于水、甲醇、 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液,供试液浓度约为 $15 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。测定其最大吸收波长(λ_{max})和摩尔吸收系数(ϵ)。测定数据见表 2。

表 2 紫外光谱分析数据

Tab 2 Data of UV analysis

溶剂	$\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$	$\epsilon(\times 10^4)$
水	207.0	1.85
甲醇	210.0	2.36
$0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液	216.0	1.88

2.5 红外吸收光谱分析

按照中国药典 2005 年版二部附录^[7]对仪器进行校正,符合规定。制样方法:KBr 压片,扫描范围为 $400 \sim 4000 \text{ cm}^{-1}$ 。红外吸收光谱图见 3,主要吸收峰的归属如下:① 3423.41 cm^{-1} : 强宽吸收峰,为仲酰胺的 N-H 伸缩振动吸收; 1353.94 , 1128.28 cm^{-1} 为 C-N 伸缩振动吸收。② 3060.82 , 3031.89 cm^{-1} 为苯环 C-H 伸缩振动吸收; 1527.52 cm^{-1} 为苯环 C=C 伸缩振动吸收; 757.97 , 702.04 cm^{-1} 为苯环单取代 C-H 弯曲振动吸收,表明分子中苯环为单取代。③ 2974.03 , 2927.74 cm^{-1} 为饱和 C-H 伸缩振动吸收, 1479.30 cm^{-1} 为饱和 C-H 的 $\delta_{\text{C-H}}$ 弯曲振动吸收,证明结构中有饱和 -CH, -CH₂, -CH₃ 存在。④ 1768.60 , 1733.89 , 1674.10 , 1604.66 cm^{-1} : 强吸收峰,为酰胺中的羰基和羧酸盐 -COONa 羰基伸缩振动吸收; 1255.57 , 973.99 cm^{-1} 为羧酸盐 -COONa 的 C-O 伸缩振动吸收。⑤

1396.37 , 1168.78 cm^{-1} : 强吸收峰,为磺酰基 S=O 伸缩振动吸收。

从 IR 光谱分析得知,样品分子结构中有酰亚胺羰基、羧酸盐羰基、单取代苯环、仲酰胺、磺酰基及饱和 -CH、-CH₂、-CH₃ 等结构,与美洛西林钠的分子结构相符合。

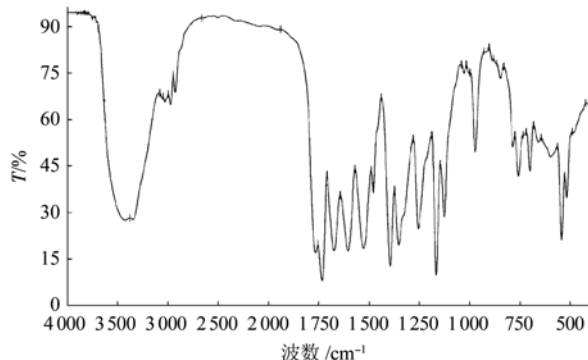


图 3 美洛西林钠的红外谱图

Fig 3 IR spectrum of mezlocillin sodium

2.6 核磁共振光谱分析

以 DMSO-*d*₆ 为溶剂, TMS 为内标。

2.6.1 ¹H 核磁共振光谱 美洛西林钠原子标记图见图 4, ¹H-NMR 谱图见图 5。

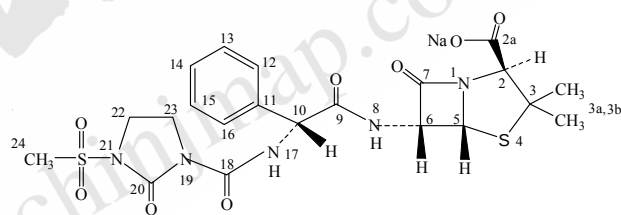


图 4 美洛西林钠的原子标记

Fig 4 Sign of mezlocillin sodium

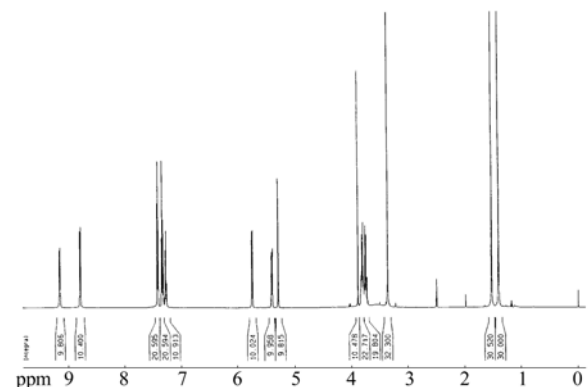


图 5 美洛西林钠的 ¹H-NMR 图谱

Fig 5 The ¹H-NMR spectrum of mezlocillin sodium

¹H-NMR 谱给出 24 个氢,由高场到低场氢的积分比例为 3:3:3:2:2:1:1:1:1:1:1:2:2:1:1;其中有 2 个活泼氢可被 D₂O 交换掉,均

为 N-H, 与美洛西林钠的分子结构相符。根据 ^1H -NMR 谱、 ^1H - ^1H COSY 谱、HMBC 谱、HSQC 谱

和 DEPT 谱, 可对美洛西林钠的 ^1H 进行归属。 ^1H -NMR 的信号归属见表 3。

表 3 美洛西林钠样品的 ^1H NMR 光谱数据

Tab 3 The ^1H -NMR data of mezlocillin sodium

化学位移	多重性	归属-质子数	^1H - ^1H COSY	HSQC	HMBC
1.40	单峰	3a-3 H		27.54	74.08, 64.40
1.52	单峰	3b-3 H		31.24	74.08, 64.40
3.36	单峰	24-3 H		39.60	
3.75	多重峰	23-2 H	3.81	39.66	153.4
3.81	多重峰	22-2 H	3.75	40.96	153.4
3.89	单峰	2-1 H		74.08	66.61, 66.40, 31.24, 27.54, 173.0, 170.3
5.29	双峰	5-1 H	5.40	66.61	57.48, 173.0
5.40	四重峰	6-1 H	5.29, 9.16	57.48	66.61, 173.0, 169.7
5.74	双峰	10-1 H	8.78	55.91	169.7, 188.4, 126.7, 150.8
7.28	多重峰	14-1 H	7.35, 7.43	127.9	126.7, 128.6
7.35	多重峰	13,15-2 H	7.28, 7.43	128.6	127.9, 126.7
7.43	双峰	12,16-2 H	7.35, 7.28	126.7	128.6, 127.9, 55.91, 138.4
8.78	双峰	17-1 H	5.74		169.7, 150.8, 55.91
9.16	双峰	8-1 H	5.40		169.7, 57.48, 173.0, 55.91

2.6.2 ^{13}C 核磁共振光谱 碳位置标记图见图 4, ^{13}C -NMR 谱图见图 6。

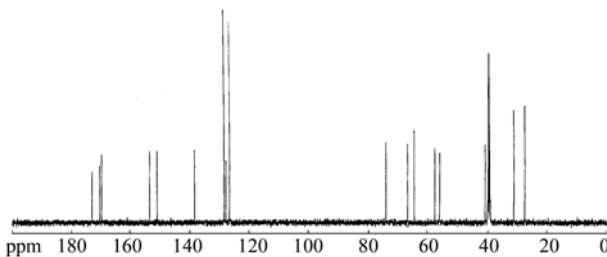


图 6 美洛西林钠的 ^{13}C -NMR 谱

Fig 6 The ^{13}C spectrum of mezlocillin sodium

^{13}C -NMR 谱中共有 19 个碳共振峰(DMSO- d_6 等溶剂峰除外), 对应于分子结构中的 21 个碳原子(有 2 个苯环对称碳原子)。在 δ 120~180 不饱和碳区共有 11 个碳原子, δ 20~80 饱和碳区共有 10 个碳原子。根据 ^{13}C -NMR 谱, DEPT 谱, HSQC 谱和 HMBC 谱, 将 ^{13}C -NMR 谱中各共振峰归属于表 4 中。

2.7 质谱分析

样品为钠盐, 因此采用电喷雾离子化(70 V), 正、负离子化对比的方式。质谱中主要为准分子离子峰。由质谱测定结果可知, 正离子方式: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 即 $[\text{M}+1]^+$ 峰, 质荷比为 m/z 562.0; $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 即

$[\text{M}+23]^+$ 峰, 质荷比为 m/z 584.0。负离子方式: $[\text{M}-\text{Na}]^-$ 即 $[\text{M}-23]^-$ 峰, 质荷比为 m/z 538.2; $[\text{M}-\text{COONa}]^-$ 即 $[\text{M}-67]^-$ 峰, 质荷比为 m/z 494.0。质谱测定结果与美洛西林钠相对分子质量(分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{NaO}_8\text{S}_2$, 相对分子质量 561)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, 与美洛西林钠氮原子组成相符。

2.8 综合解析

差示扫描量热分析(DSC)结果显示, 试样在 190~211 $^\circ\text{C}$ 间显示一个尖锐的吸热熔融单峰, 峰值温度为 204 $^\circ\text{C}$, 与文献值 203~206 $^\circ\text{C}$ 相符合; TGA 图显示该分子中无结晶水存在, 与美洛西林钠结构相符合。

元素分析结果表明, 样品中 C、H、N、S 的含量与美洛西林钠分子式中各元素理论值相符合, 测定误差在允许范围内。比旋度测定结果与文献报道一致^[8]。

紫外光谱测定结果表明, 样品在水溶液中仅在 207 nm 表现强的吸收, 为苯环的 E_2 带吸收峰特征; 红外光谱显示本品分子结构中具有酰亚胺羰基、羧酸盐羰基、单取代苯环、仲酰胺、甲磺酰基等结构。紫外光谱特征和红外光谱特征与美洛西林钠的结构相符合。红外光谱与文献一致^[9]。

表 4 美洛西林钠样品的 ^{13}C -NMR 光谱测定数据Tab 4 The ^{13}C -NMR data of mezlocillin sodium

化学位移	DEPT		碳原子类型	归属	HSQC	HMBC
	135°	90°				
173.0	—	—	C	7		5.29, 5.40, 3.89, 9.16
170.3	—	—	C	2a		3.89
169.7	—	—	C	9		5.40, 5.74, 8.78, 9.16
153.4	—	—	C	20		3.75, 3.81
150.8	—	—	C	18		5.74, 8.78
138.4	—	—	C	11		5.74, 7.35
128.6	正峰	正峰	CH	13,15	7.35	7.28, 7.43
127.9	正峰	正峰	CH	14	7.28	7.35, 7.43
126.7	正峰	正峰	CH	12,16	7.43	7.28, 5.74
74.08	正峰	正峰	CH	2	3.89	1.40, 1.52
66.61	正峰	正峰	CH	5	5.29	3.89, 5.40
64.40	—	—	C	3		1.40, 1.52, 3.89
57.48	正峰	正峰	CH	6	5.40	5.29, 9.16
55.91	正峰	正峰	CH	10	5.74	7.43, 8.78
40.96	负峰	—	CH_2	22	3.81	3.75
39.66	负峰	—	CH_2	23	3.75	3.81
39.60	正峰	—	CH_3	24	3.36	
31.24	正峰	—	CH_3	3a	1.52	3.89
27.54	正峰	—	CH_3	3b	1.40	3.89

^1H -NMR 谱给出 24 个氢, 由高场到低场氢的积分比例为 3:3:3:2:2:1:1:1:1:1:1:2:2:1:1; 从重水交换图谱看, 有 2 个活泼氢可被重水交换, 与美洛西林钠分子结构中的氢原子相符合。 ^1H NMR 谱数据与文献报道一致^[10]。

^{13}C -NMR 谱共有 21 个碳原子, 结合 DEPT 谱显示有 7 个季碳, 9 个叔碳, 2 个仲碳和 3 个伯碳, 与美洛西林钠分子结构中的碳原子相符合。

^1H - ^1H COSY 谱, HSQC 谱及 HMBC 谱测得的 ^1H - ^1H 和 ^{13}C - ^1H 相关情况表明, 样品的骨架和连接方式均与美洛西林钠的结构相符合。

质谱测定结果与美洛西林钠的相对分子质量 (分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{NaO}_8\text{S}_2$, 相对分子质量 561) 一致。

3 讨论

样品的结构测定要求样品的纯度在 98% 以上^[11], 在测定结构之前需先进行样品的纯度检测。本文采用高效液相色谱测定样品纯度为 98.6%, 热分析和元素分析的结果也证实了样品纯度符合要求, 能够进行下一步的结构分析。

试验证实该套方法准确可行、变异性小, 利用现代分析仪器给出了美洛西林钠的测试谱图及结构特征参数, 可以作为美洛西林钠样品的确证方法, 为美洛西林钠的生产、鉴定和质量控制等方面提供理论依据。

REFERENCES

- [1] LI Y S, LIU J Y, MEI L Q, et al. Study on solvent-out crystallization process of mezlocillin sodium for injection [J]. Chin J Antibiot(中国抗生素杂志), 2010, 35(5): 353-356.
- [2] CHEN L J, DUAN H Y, ZHANG S, et al. Separation, purification and identification of paeoniflorin from *Paeonia veitchii* Lynch [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2011, 28(7): 634-637.
- [3] MA C, LI G, GE Q, et al. Chemical structure analysis of balofloxacin [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2011, 31(1): 163-168.
- [4] YE H, LIU X J, BAI D L, et al. Spectra and structure data analysis and identification of loteprednol etabonate [J]. Chin J Anal Chem(分析化学), 2005, 33(3): 351-354.
- [5] KLAAS W, MICHIEL C, KAREN R, et al. Rapid quantification of pharmaceuticals and pesticides in passive samplers using ultra high performance liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2011, 1218(51): 9162-9173.
- [6] ZHAO Y S, MIAO D Z, WANG L K, et al. Preparation technics of mezlocillin sodium: China, 1634929 [P]. 2005-07-06
- [7] Ch.P(2005)Vol II(中国药典 2005 年版. 二部) [S]. 2005: Appendix 22-24, 38-39.
- [8] Ch.P(2010)Vol II(中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: 608-609.
- [9] Atlas of Infrared Spectra of Drugs Vol I (药品红外光谱集. 第一卷) [S]. 1995: Spectrum number 627.
- [10] CHEN F Y. Synthesis of mezlocillin sodium[J]. J Chem Eng Chin Uni(高校化学工程学报), 2003, 17(4): 448-450.
- [11] SUN Y Q, HU Y Z. Analytical Chemistry(分析化学) [M]. Beijing: Science Press, 2006: 333.

收稿日期: 2012-07-02