

# 高效液相色谱法测定右旋雷贝拉唑钠的对映体纯度

吉丹丹, 张 玲\*, 谭淑珍, 薛 琳

(长沙理工大学 化学与生物工程学院, 长沙 410114)

**摘 要:** 采用高效液相色谱法测定右旋雷贝拉唑钠对映体的纯度。以  $\alpha$ 1-酸性糖蛋白键合硅胶为填充剂的 CHIRALPAK-AGP 手性柱为固定相, 用乙腈-pH 6.0 磷酸盐(1+9)混合溶液为流动相进行洗脱, 用紫外检测器进行测定, 检测波长为 285 nm。左旋雷贝拉唑钠的质量浓度在  $38.4 \sim 576 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内与其峰面积呈线性关系, 检出限(3S/N)为 0.2 ng, 测定下限(10S/N)为 0.56 ng。加标回收率在 91.1%~102%之间, 测定值的相对标准偏差在 2.4%~4.3%之间。

**关键词:** 高效液相色谱法; 右旋雷贝拉唑钠; 对映体纯度

中图分类号: O657.7 文献标志码: A 文章编号: 1001-4020(2015)07-1010-04

## Determination of Enantiomeric Purity of R-Rabeprazole Sodium by HPLC

JI Dan-dan, ZHANG Ling\*, TAN Shu-zhen, XUE Lin

(College of Chemistry and Biological Engineering, Changsha University of Science and Technology, Changsha 410114, China)

**Abstract:** A HPLC method was developed for the determination of enantiomeric purity of R-rabeprazole sodium. A chiral column (CHIRALPAK-AGP) packed with  $\alpha$ 1-acid glycoprotein immobilized on silica gel was used as the stationary phase, with a mixed solution of acetonitrile and phosphate buffer (pH 6.0) as the mobile phase for elution. UV detection at the wavelength of 285 nm was utilized. Linear relationship between the peak area and the mass concentration of S-rabeprazole sodium were found in the range of  $38.4 \sim 576 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  with detection limit (3S/N) of 0.2 ng and the lower limit of determination (10S/N) of 0.56 ng. The recovery rates measured by standard addition method were in the range of 91.1%~102%, and RSD were in the range of 2.4%~4.3%.

**Keywords:** HPLC; R-Rabeprazole sodium; Enantiomeric purity

雷贝拉唑钠(2-[4-(3-甲氧基丙氧基)-3-甲基吡啶-2-基]甲基亚磺酰基)-1H-苯并咪唑钠)是一种质子泵抑制剂(PPIs),它通过在胃的壁细胞表层阻止(H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>)-ATPase 酶的分泌从而抑制胃酸分泌<sup>[1]</sup>。它被证明可以治愈、缓解或防止胃溃疡、十二指肠溃疡和胃食管逆流的复发<sup>[2]</sup>。雷贝拉唑钠的化学结构中含有一个不对称的亚砷结构,具有两个对映异构体。目前临床用药主要使用的是雷贝拉唑钠

外消旋化合物<sup>[3]</sup>。由于立体异构体之间存在药理学和毒物学的差异,研究表明右旋雷贝拉唑异构体的药理作用要明显强于左旋异构体及其消旋体,其右旋异构体最低有效剂量较消旋体小,代谢半衰期长,可以明显提高疗效和降低毒副反应的发生<sup>[4]</sup>。因此对右旋雷贝拉唑钠的制备工艺及质量控制方法进行研究,具有重要的应用价值和市场前景。

本工作以 2-氯甲基-4-(3-甲氧基丙氧基)-3-甲基吡啶盐酸盐与 2-巯基苯并咪唑为原料,先经过缩合反应制备雷贝拉唑硫醚<sup>[5-9]</sup>,然后对雷贝拉唑硫醚进行不对称氧化制备右旋雷贝拉唑<sup>[10-12]</sup>,最后用氢氧化钠成盐得到目标产物右旋雷贝拉唑钠。通过红

收稿日期: 2014-07-21

作者简介: 吉丹丹(1991-),女,湖南长沙人,硕士研究生,主要研究方向为药物合成及分析。

\* 联系人。E-mail: 291554647@qq.com

外光谱(IR)、核磁共振氢谱( $^1\text{H-NMR}$ )等手段对目标产物的结构进行了确证,利用高效液相色谱法(HPLC)对目标产物中的对映体纯度进行检测。

## 1 试验部分

### 1.1 仪器与试剂

Shimadzu LC-20A 型二元高效液相色谱仪,配 SPD-20A 紫外检测器;TU 1901 型双光束紫外-可见分光光度计。

雷贝拉唑钠对照品(含量 97.5%,批号 100658-201203);左旋雷贝拉唑钠对照品(含量 96.8%);右旋雷贝拉唑钠供试品(自制,含量 99.6%)。

pH 11.6 的磷酸盐缓冲溶液:称取十二水磷酸氢二钠 0.98 g 与十二水磷酸钠 2.66 g,用适量水溶解并稀释至 250 mL,摇匀。移取上述溶液 100 mL,用水稀释至 1 L,摇匀。

pH 6.0 的磷酸盐缓冲溶液:称取磷酸二氢钾 8.06 g 与磷酸氢二钾 1.16 g,加适量的水溶解并稀释至 500 mL,摇匀。移取此溶液 100 mL,用纯水稀释至 1 L,摇匀。

对照品(或供试品)溶液:称取对照品(或供试品)适量,用 pH 11.6 的磷酸盐缓冲溶液溶解并稀释至所需浓度,摇匀。

乙腈为色谱纯,磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、磷酸钠、磷酸氢二钠均为分析纯,试验用水为超纯水。

### 1.2 仪器工作条件

CHIRALPAK AGP 色谱柱(4.0 mm  $\times$  100 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),柱温为 25  $^{\circ}\text{C}$ ,流动相为乙腈-pH 6.0 的磷酸盐(1+9)混合溶液,流量为 0.6 mL  $\cdot$  min $^{-1}$ ,检测波长为 285 nm。

### 1.3 试验方法

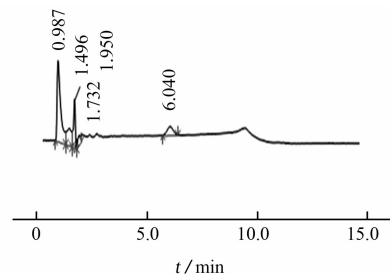
移取各溶液 20  $\mu\text{L}$ ,分别注入液相色谱仪,记录色谱图。按供试品溶液中左旋雷贝拉唑钠峰面积占右旋雷贝拉唑钠峰和左旋雷贝拉唑钠峰峰面积之和的百分比来计算左旋雷贝拉唑钠的含量,通过此含量来反映供试品的对映体纯度。

## 2 结果与讨论

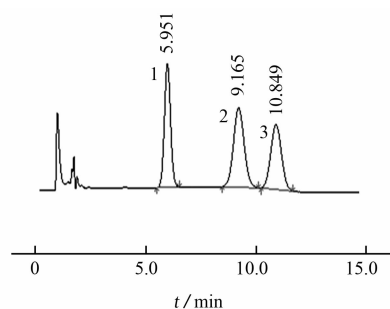
### 2.1 色谱行为

用 pH 11.6 的磷酸盐缓冲溶液作为溶剂和稀释剂,配制含雷贝拉唑钠约 1 mg  $\cdot$  L $^{-1}$ 、雷贝拉唑磺酰化物约 0.5 mg  $\cdot$  L $^{-1}$  的混合对照品溶液,进样 20  $\mu\text{L}$ ,记录其色谱图。结果表明:雷贝拉唑磺酰化

物位于右旋雷贝拉唑钠峰和左旋雷贝拉唑钠峰之间,3 个峰能分离开,空白溶剂对测定无干扰,典型色谱图见图 1。



(a) 溶剂空白



(b) 混合对照品溶液

1—右旋雷贝拉唑钠;2—雷贝拉唑磺酰化物;3—左旋雷贝拉唑钠

图 1 色谱图

Fig. 1 Chromatograms

### 2.2 色谱条件的选择

#### 2.2.1 溶剂及稀释剂

由于雷贝拉唑钠具有亚硫酰基苯并咪唑的化学结构,其稳定性易受光线、重金属离子、氧化性和还原性等多种因素影响。尤其在酸性条件时,雷贝拉唑钠的化学结构可发生破坏性变化,出现变色和聚合现象<sup>[13]</sup>。结果发现,右旋雷贝拉唑钠在 pH 不小于 11 的碱性水溶液中稳定性好,试验选择 pH 为 11.6 的磷酸盐缓冲溶液作为溶剂及稀释剂。

#### 2.2.2 检测波长

左旋雷贝拉唑钠和右旋雷贝拉唑钠的紫外吸收曲线基本一致,第一个吸收峰在 210~225 nm 之间,第二个吸收峰在 280~295 nm 之间。由于大部分溶剂和无机含氧酸根在 210 nm 处均有吸收,以此波长作为检测波长对样品干扰较大。因此,可以在 280~295 nm 范围内选择测定左旋雷贝拉唑钠的检测波长,试验最终选择检测波长为 285 nm。

#### 2.2.3 色谱柱类型及流量

埃索美拉唑钠进口药品注册标准(JX2008021)<sup>[14]</sup>采用以  $\alpha$ 1-酸性糖蛋白键合硅胶为

填充剂的色谱柱、以乙腈-磷酸盐缓冲溶液(pH 6.0)为流动相检测埃索美拉唑钠的对映体纯度。右旋雷贝拉唑钠与埃索美拉唑钠的母体结构相似,其中右旋雷贝拉唑钠为 *R* 构型,埃索美拉唑钠为 *S* 构型。因此,试验采用酸性糖蛋白柱即 CHIRALPAK AGP 手性柱作为分析柱,以乙腈-pH 6.0 的磷酸盐缓冲溶液作为流动相分离雷贝拉唑钠的两个光学异构体。由于 AGP 手性柱建议的使用压力低于 9 MPa,故流量不能设置太高,试验选择流动相流量为  $0.6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

#### 2.2.4 流动相的组成

当以乙腈-pH 6.0 的磷酸盐缓冲溶液为流动相时,流动相中乙腈的比例对右旋雷贝拉唑钠样品中

各峰的分离度及拖尾因子均有比较明显的影响。当流动相中乙腈的体积分数大于 12% 时,右旋雷贝拉唑钠、雷贝拉唑磺酰化物、左旋雷贝拉唑钠这三个峰之间不能达到基线分离(图 2a)。而当流动相中乙腈的体积分数小于 7% 时,右旋雷贝拉唑钠峰的拖尾因子已经超过 2.5,拖尾严重(图 2d),可能导致测定结果不准确。当流动相中乙腈的体积分数在 8%~10% 之间时,各峰的分离度均大于 1.5,各峰的拖尾因子均小于 2.0(图 2b 和图 2c)。流动相中乙腈的浓度越低,各组分的出峰时间越长,当流动相中乙腈体积分数达到 8% 时,左旋雷贝拉唑钠的出峰时间接近 30 min,因此试验选择流动相中乙腈的体积分数为 10%。

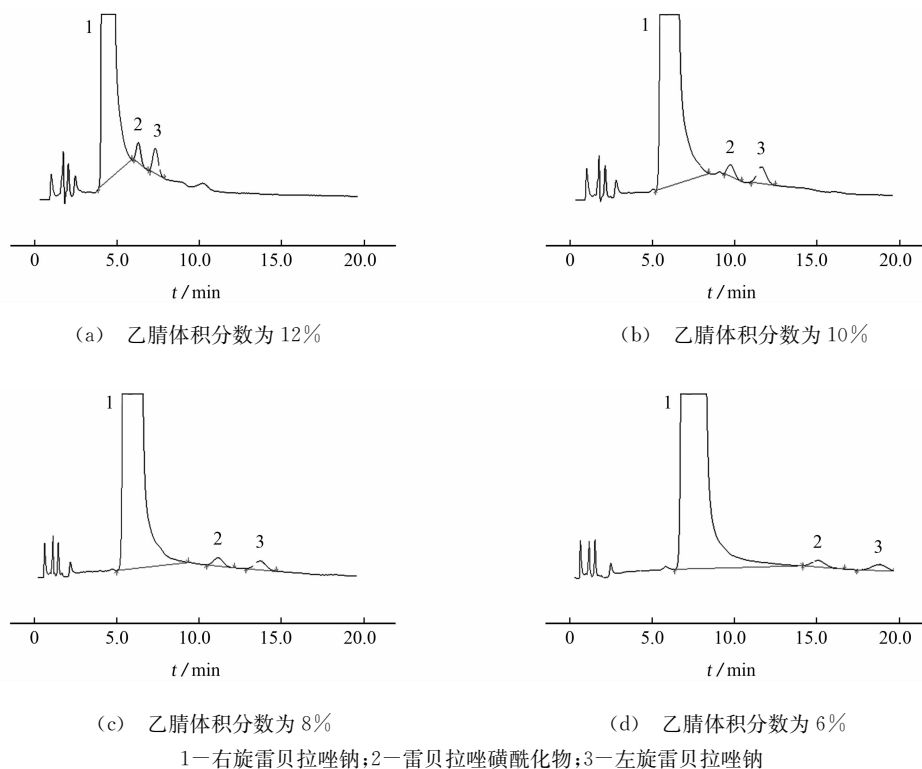


图 2 流动相组成对分离的影响

Fig. 2 Effects of composition of mobile phase on separation

#### 2.3 标准曲线和检出限

移取左旋雷贝拉唑钠对照品储备溶液,用 pH 为 11.6 的磷酸盐缓冲溶液配制成质量浓度分别为 0.038 4, 0.057 6, 0.076 8, 0.115 2, 0.192, 0.288, 0.384, 0.480, 0.576  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  溶液,各取 20  $\mu\text{L}$  进行测定。以左旋雷贝拉唑钠的质量浓度为横坐标,对应的峰面积为纵坐标进行线性回归,左旋雷贝拉唑钠的质量浓度在 0.038 4~0.576  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内(相当于左旋雷贝拉唑钠在 0.2  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  右旋雷贝

拉唑钠中的含量为 0.019 2%~0.288 0%)呈线性,线性回归方程为  $y = 69\,318x - 197.2$ ,相关系数为 0.999 8。

移取质量浓度为 0.1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的左旋雷贝拉唑钠对照品溶液适量,用 pH 11.6 的磷酸盐缓冲溶液进行逐级稀释,配制成不同质量浓度的左旋雷贝拉唑钠溶液。移取各溶液 20  $\mu\text{L}$ ,分别注入色谱仪,记录色谱图,左旋雷贝拉唑钠的检出限(3S/N)为 0.2 ng,其测定下限(10S/N)为 0.56 ng。

## 2.4 精密度

由两位分析人员各自平行配制含右旋雷贝拉唑钠约  $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 左旋雷贝拉唑钠约  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的试验溶液 6 份。在两台不同色谱仪上对各自配制的溶液进行测定。两人得到 6 个左旋雷贝拉唑钠测定值的相对标准偏差分别为 1.5%, 6.1%, 表明采用本方法的重复性较好; 两位分析人员所测得 12 个左旋雷贝拉唑钠测定值的相对标准偏差为 5.4%, 表明本方法的中间精密度良好。

## 2.5 回收试验

向  $0.2010 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  右旋雷贝拉唑钠溶液中分别加入不同量的左旋雷贝拉唑钠对照品, 配制成含 3 种浓度水平的左旋雷贝拉唑钠溶液, 每个浓度分别平行配制 3 份, 按试验方法测定左旋雷贝拉唑钠含量, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 回收试验结果 ( $n=3$ )  
Tab. 1 Results of test for recovery

| 加标量<br>$\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ | 回收量<br>$\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ | 回收率<br>/% | RSD<br>/% |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------|-----------|
| 0.103 8                                       | 0.094 47                                      | 91.1      | 4.3       |
|                                               | 0.096 48                                      | 93.0      |           |
|                                               | 0.102 5                                       | 98.8      |           |
| 0.207 5                                       | 0.197 0                                       | 95.0      | 3.0       |
|                                               | 0.188 9                                       | 91.1      |           |
|                                               | 0.201 0                                       | 96.9      |           |
| 0.332 0                                       | 0.329 6                                       | 99.3      | 2.4       |
|                                               | 0.321 6                                       | 97.0      |           |
|                                               | 0.337 7                                       | 102       |           |

本工作建立了高效液相色谱法测定右旋雷贝拉唑钠对映体纯度, 方法简便快捷、成本低、准确度高, 适用于右旋雷贝拉唑钠样品的对映体纯度的测定。

## 参考文献:

[1] Shan Ren, Mi-Jin P, HONGKEE S, et al. Effect of pharmaceutical excipients on aqueous stability of rabeprazole sodium[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2008, 305(1/2): 197-204.  
[2] GARCIA C V, PAIM C S, STEPPE M, et al. Devel-

opment and validation of a dissolution test for rabeprazole sodium in coated tablets[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006, 41(3): 833-837.  
[3] MIURA M, TADA H, SRTOH S. Determination of rabeprazole enantiomers and their metabolites by high-performance liquid chromatography with solid-phase extraction[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006, 41(2): 565-570.  
[4] RAO R N, RAJU A N, NAGARAJU D. Enantiospecific resolution of rabeprazole by liquid chromatography on amylose-derived chiral stationary phase using photo diode array and polarimetric detectors in series[J]. Talanta, 2006, 74(4): 805-810.  
[5] RAM P, GHANTA M R, MADHUSUDAN R G, et al. An improved process for the production of rabeprazole sodium substantially free from the impurities[J]. Organic Process Research and Development, 2009, 13(5): 896-899.  
[6] 陈敖, 王智慧. 雷贝拉唑的合成[J]. 精细与专用化学品, 2010, 18(2): 28-29.  
[7] 邱飞, 刁勇. 雷贝拉唑钠的合成[J]. 中国医药工业杂志, 2010, 41(1): 9-10.  
[8] 鲁亚洲, 牛犇, 陈严波. 质子泵抑制剂雷贝拉唑钠的合成[J]. 化工时刊, 2011, 25(8): 46-48.  
[9] USHIKU S S, NIIHARI N U, TORIDE S M, et al. Pyridine derives having anti-ulcerative activity: US, 5045552[P]. 1991-09-03.  
[10] LARSSON E, STENHEDE U J, SORENSEN H, et al. Process for synthesis of substituted sulfoxides: WO, 9602535A1[P]. 1996-02-01.  
[11] 徐宝财, 王关兴, 周雅文. 高对映体选择性制备(S)-雷贝拉唑的方法: 中国, 101157686A[P]. 2008-04-09.  
[12] 徐宝财. 雷贝拉唑钠对映体的不对称合成[D]. 北京: 北京工商大学, 2008.  
[13] 金薇, 杨永健, 彭兴盛, 等. 雷贝拉唑钠对映体在  $\alpha$ 1-酸性糖蛋白柱上的手性拆分[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(2): 1715-1717.  
[14] JX20080210 国家食品药品监督管理局进口药品注册标准 埃索美拉唑钠[S].