气相色谱法测定盐酸普拉格雷中的异丙叉丙酮和佛尔酮

孙建合，卢红华，侯继鹏，郝贵周，张贵民*
（鲁南制药集团股份有限公司，国家手性制药工程技术研究中心，山东临沂 273400）

摘要：建立了气相色谱法测定盐酸普拉格雷（**1**）中含警示结构不饱和酮的异丙叉丙酮（**2**）和佛尔酮（**3**）。色谱柱采用DB-624毛细管柱（30 m×0.53 mm×3.0 μm），程序升温，采用直接进样法进行测定。结果显示，**2**、**3**在5～30 μg/ml内线性关系良好，平均回收率（n=9）分别为101.25%、102.23%，RSD分别为0.66%、0.79%。**2**、**3**的定量限分别为2.77、2.89 μg/ml，检测限分别为1.11、1.16 μg/ml。建立的方法专属性强、灵敏度高、耐用性好，可用于**1**中**2**和**3**的测定。

关键词：气相色谱；盐酸普拉格雷；异丙叉丙酮；佛尔酮
中图分类号：R917　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2022)06-0901-03
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.06.020

Determination of Mesityl Oxide and Phorone in Prasugrel Hydrochloride by Gas Chromatography

SUN Jianhe, LU Honghua, HOU Jipeng, HAO Guizhou, ZHANG Guimin*
(*National Engineering Research Center of Chiral Drugs, Lunan Pharmaceutical Group, Linyi 273400*)

ABSTRACT: A gas chromatographic method was established for determination of the structural alerts, the unsaturated ketones mesityl oxide(**2**) and phorone(**3**), in prasugrel hydrochloride(**1**). The DB-624 capillary column (30 m×0.53 mm×3.0 μm) was used with temperature programming, and the direct injection method was used for the determination. The results showed that it was linear for **2** and **3** in the range of 5 - 30 μg/ml, the average recoveries(n=9) of **2** and **3** were 101.25% and 102.23%, with the RSDs of 0.66% and 0.79%, respectively. The limits of quantification of **2** and **3** were respectively 2.77 and 2.89 μg/ml, and the limits of detection were respectively 1.11 and 1.16 μg/ml. The established method has strong specificity, high sensitivity and good durability, which can be used for the determination of **2** and **3** in **1**.

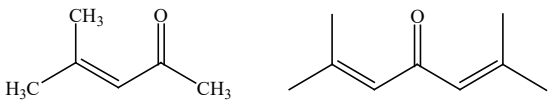
Key Words: gas chromatography; prasugrel hydrochloride; mesityl oxide; phorone

盐酸普拉格雷（prasugrel dihydrochloride，**1**），化学名为2-乙酰氧基-5-(α-环丙羰基-2-氟苯基)-4,5,6,7-四氢噻吩[3,2-*c*]吡啶盐酸盐，是美国礼来公司与日本第一制药三共株式会社共同研发的口服抗血小板药，为强效噻吩吡啶类抗血小板药[1]。作为前药，**1**经体内代谢后的活性分子能与血小板受体$P2Y_{12}$结合，从而发挥抗凝作用，具有见效快、疗效好、生物利用度高和毒性低等特点，可有效改善和预防心血管疾病，主要用于治疗动脉粥样硬化血栓和极性冠状动脉综合征[2—3]。**1**的合成工艺中常用丙酮作为溶剂和精制溶剂，而丙酮会与盐酸或氯化氢气体缩合，生成异丙叉丙酮（**2**）和佛尔酮（**3**）[4]，其化学结构式见图1。鉴于二者均为具有警示结构不饱和酮的化合物[5]，因此限度严控为0.05%[6]。

丙酮是化学合成中常用的有机溶剂，化合物与酸成盐也是化学合成中的常用手段，因此有必要检测**2**、**3**的残留。但目前尚未见有文献报道**2**、**3**的

收稿日期：2021-09-03
作者简介：孙建合(1975—)，男，高级工程师，从事药物分析方法开发。
通信作者：张贵民(1969—)，男，研究员，从事药物研发及工程化研究。
E-mail：lunanzhangguimin@163.com

检测方法。本研究建立了气相色谱法测定 **1** 中的 **2** 和 **3**，并对建立的方法进行方法学验证，以期为 **1** 及采用类似工艺制备的其他品种的质量研究提供参考。



2　　**3**

图 1　2 和 3 的化学结构式

Fig.1　Chemical Structures of **2** and **3**

1　仪器与试药

7890B 型气相色谱仪（美国 Agilent 公司）；MS205DU 型电子分析天平（瑞士 Mettler Toledo 公司）。

1 原料药（山东新时代药业有限公司，含量≥ 98.5%，批号 201201、201202、201203）；**2** 对照品（东京化成工业株式会社，含量 97.1%，批号 5C3SK-JB）；**3** 对照品（萨恩化学技术有限公司，含量 98.0%，批号 DH120096）；甲醇（云南新蓝景化学工业有限公司，含量 99.9%，批号 20100001559）；水为纯化水。

2　方法与结果

2.1　色谱条件

色谱柱 DB-624 毛细管柱（30 m×0.53 mm×3.0 μm），以 6%氰丙基苯基 -94%二甲基硅氧烷为固定液；柱温 采用程序升温方法，初始柱温 100 ℃，保持 2 min，以 10 ℃ /min 升温至 240 ℃，保持 5 min；进样口温度 250 ℃；检测器 氢火焰离子化检测器；检测器温度 300 ℃；载气 氮气；柱流速 3.0 ml/min；分流比 10 ∶ 1；进样量 1 μl。

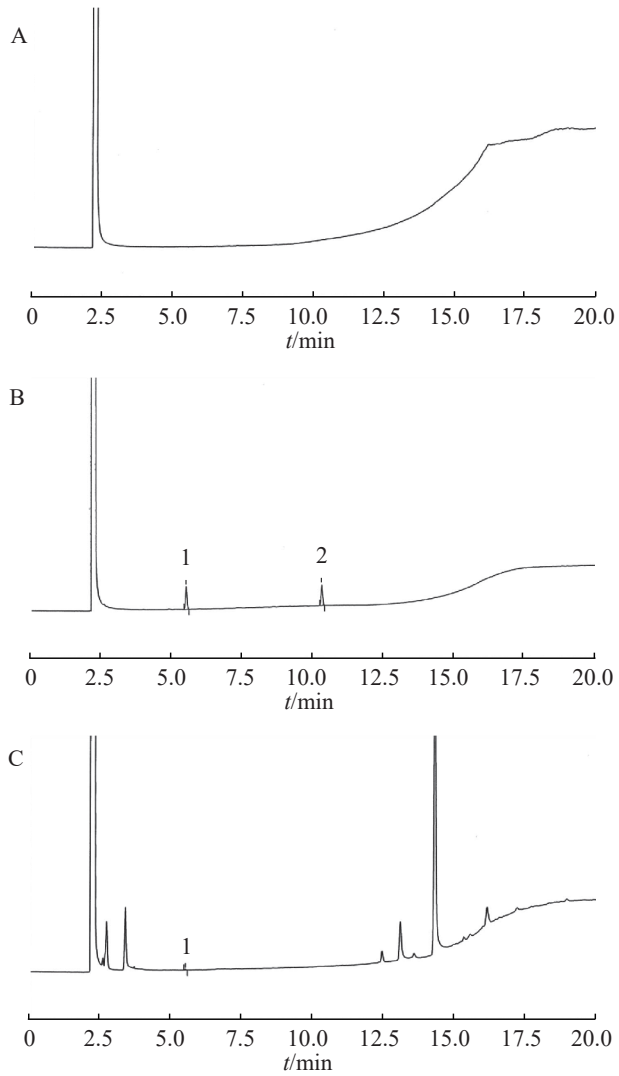
2.2　溶液配制

对照品溶液：精密称取 **2**、**3** 对照品各 25 mg，置同一 25 ml 量瓶中，用甲醇溶解、稀释并定容，摇匀，作为对照品贮备液；精密量取对照品贮备液适量，稀释制成每 1 ml 中含 **2**、**3** 各 25 ng 的对照品溶液。

供试品溶液：精密称取 **1** 500 mg，置 10 ml 量瓶中，用甲醇溶解并定容，摇匀即得。

2.3　专属性试验

取空白溶剂（甲醇）和“**2.2**”项下的对照品溶液、供试品溶液（**1** 批号 201201），按“**2.1**”项下色谱条件进样测定并记录色谱图。结果见图 2，**2**、**3** 的保留时间分别为 5.5、10.3 min，分离度符合要求，空白溶剂对待测组分无干扰。



A：空白溶剂，B：对照品溶液，C：供试品溶液

1 - **2**；2 - **3**

图 2　典型色谱图

Fig.2　Typical Chromatograms

2.4　精密度试验

取“**2.2**”项下的对照品溶液，按“**2.1**”项下色谱条件重复测定 6 次。结果显示，**2**、**3** 峰面积 RSD（n=6）分别为 0.76%、0.85%，表明精密度好。

2.5　线性试验

分别精密量取“**2.2**”项下的对照品贮备液 0.1、

0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 ml，分别置 20 ml 量瓶中，用甲醇定容，摇匀，作为线性系列标准溶液。取上述线性系列标准溶液，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定并记录色谱图。以各组分质量浓度 *c* 为横坐标、峰面积 *A* 为纵坐标进行线性回归，得 **2** 的回归方程为 A=1.401c－1.023，r=0.999 1；**3** 的回归方程为 A=1.339c－0.719，r=0.998 9，说明 **2**、**3** 在 5～30 μg/ml 内线性关系良好。

2.6 回收率试验

取 **1**（批号 201201）500 mg，共 3 份，各置 10 ml 量瓶中，分别加入“**2.2**”项下的对照品贮备液 200、250、300 μl，用甲醇定容，摇匀，每个浓度制备 3 份，作为 80%～120%回收率试验溶液。取上述回收率试验溶液和“**2.2**”项下的对照品溶液、供试品溶液（**1** 批号 201201），按“**2.1**”项下色谱条件进样测定，记录各组分的峰面积。结果显示，**2**、**3** 的平均回收率（n=9）分别为 101.25%、102.23%，RSD 分别为 0.66%、0.79%。

2.7 定量限与检测限

取“**2.2**”项下对照品溶液逐级稀释，分别以信噪比 $S/N \approx 10$ 和 3 时的溶液作为定量限与检测限溶液。取定量限溶液，按“**2.1**”项下色谱条件重复测定 6 次，结果显示 **2**、**3** 的峰面积 RSD（n=6）分别为 3.94%、3.61%。**2**、**3** 的定量限分别为 2.77、2.89 μg/ml，检测限分别为 1.11、1.16 μg/ml，表明本法灵敏度高。

2.8 稳定性试验

取“**2.2**”项下的对照品溶液与供试品溶液（批号 201201），分别于室温放置 0、2、4、6、8、10、12 h，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定，考察溶液稳定性。结果显示，12 h 内 **2**、**3** 的峰面积 RSD（n=7）均小于 10%，保留时间的 RSD（n=7）均小于 2%，表明对照品溶液与供试品溶液在室温条件下放置 12 h 内稳定性良好。

2.9 耐用性试验

取空白溶剂（甲醇）、“**2.2**”项下的对照品溶液和“**2.6**”项下的 100%回收率试验溶液，分别于标准条件、初始柱温（100±2）℃、柱流速（3.0±0.2）ml/min、升温速率（10±2）℃ /min 的条件下，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定。结果显示，在不同耐用性条件下，**2**、**3** 的含量测定结果与标准条件下无明显差异，**2**、**3** 之间的分离度均符合要求，表明耐用性良好。

2.10 样品测定

取 **1**（批号 201201、201202、201203），按“**2.2**”项下方法制备供试品溶液，并按“**2.1**”项下色谱条件进样测定。结果显示，在 3 批 **1** 中 **2** 的含量分别为 0.002 6%、0.003 9%、0.003 1%；**3** 均未检出。

3 小结

本研究建立了气相色谱法，以直接进样模式对 **1** 中的 **2**、**3** 进行检测，并对建立的方法进行方法学验证。结果表明，建立的方法专属性好、灵敏度高，溶液稳定性好，可用于 **1** 中 **2**、**3** 的测定。3 批样品测定结果中均检出 **2**。尽管对 **2**、**3** 的毒理学研究尚不充分，但因其含有警示结构，需重点关注二者在产品中的残留情况。同时，本研究也为采用类似工艺路线制备的其他品种的质量控制提供了新的研究思路。

参考文献：

[1] 宋建虹, 杜小莉. 新型口服抗血小板活化和聚集药物——普拉格雷[J]. 中国药学杂志, 2010, **45**(17): 1357-1358.

[2] 荆亚萍, 申东升, 熊 维, 等. 新一代血小板抑制剂——普拉格雷[J]. 国际药学研究, 2008, **35**(5): 373-376.

[3] 段蒙蒙, 孙媛媛, 于治国, 等. HPLC法测定盐酸普拉格雷有关物质的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2017, **34**(5): 373-377.

[4] LEISTNER A, HAERLING S, KREHER J D, *et al*. Risk assessment report of potential impurities in cetirizine dihydrochloride [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, **189**: 113425.

[5] BENIGNI R, BOSSA C. Structure alerts for carcinogenicity and the *Salmonella* assay system: a novel insight through the chemical relational databases technology [J]. *Mutat Res*, 2008, **659**(3): 248-261.

[6] ICH Q3A(R2). Impurities in new drug products [S]. 2016-10-25.