

高效毛细管电泳法分离八种含氨基手性药物的对映体

夏小庆, 崔 华¹

(皖南医学院基础部, 芜湖 241001; ¹中国科技大学化学系, 合肥 230026)

摘要 目的 采用 HPCE 法拆分八种含氨基手性药物对映异构体。方法 缓冲液中添加 18-冠-6-四甲酸 18-Crown-6-(COOH)₄(18C6H₄), 并且对 18C6H₄ 的浓度、缓冲液的 pH 值和浓度以及柱温等影响分离的因素作了系统的研究; 检测波长 210 nm。结果 八种含氨基手性药物对映体得以拆分。结论 缓冲液中添加手性冠醚的 HPCE 法能较好地拆分伯胺类药物。

关键词 对映异构体; 拆分; 手性冠醚; 高效毛细管电泳

中图分类号: R927 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-5048(2002)05-0416-03

用手性冠醚拆分对映异构体早有报道, 18-冠-6-四甲酸 (18-Crown-6-(COOH)₄ 以下简称 18C6H₄) 已进入工业生产阶段, 价格低廉, 而 HPCE 法成功应用于拆分手性药物的研究也常见报道^[1-6]。但将二者结合起来, 即用手性冠醚作为手性选择剂的 HPCE 法拆分含氨基药物, 还未见报道。

1 实验部分

1.1 HPCE 仪器与电泳条件

HPE-100 型高效毛细管电泳仪 (美国伯乐); C-R6A 色谱数据处理机 (日本岛津); XWTD-204 型自动平衡记录仪 (上海大华仪表厂); 无涂层石英毛细管 (内径 75 μm, 有效长度 37 cm, 大连化物所); 温度 15℃; 电压 20 kV; 检测波长 210 nm; 缓冲液为 20

mmol·L⁻¹ Tris-0.1% H₃PO₄ (v/v) (pH 2.06) + 10 mmol·L⁻¹ 18C6H₄。

1.2 试剂与材料

18C6H₄ (上海化学试剂二厂), 样品为市售药品, 左旋多巴、去甲肾上腺素 (R 型)、苯甘氨酸 (上海禾丰制药厂), 去甲麻黄碱 (1S, 2R)、真蛰胺 (赤峰制药厂), 犬尿素 (上海九福药业有限公司) 导眠能、伯喹 (天津中央药厂)。对照品多巴、去甲肾上腺素、导眠能、苯甘氨酸、去甲麻黄碱、真蛰胺、犬尿素 (中国药品生物制品检定所), 伯喹 (Sigma 公司)。甲醇为色谱纯, 其它为分析纯试剂, 水为二次蒸馏水。8 种含氨基药物及 18C6H₄ 的结构见图 1, 样品溶解在甲醇中, 样品浓度 0.1 mg/ml, 贮存在磨口棕色瓶中。

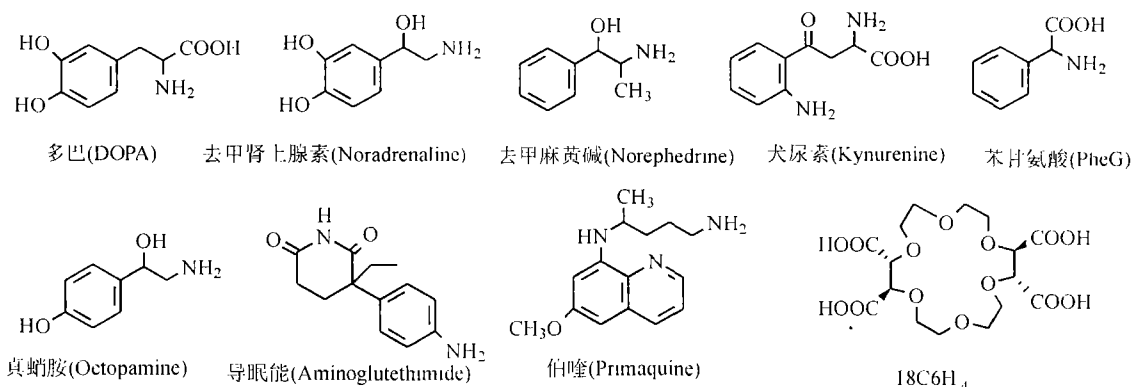


Fig 1. Structures of crown ether employed and enantiomers investigated

2 结果与讨论

2.1 缓冲液 pH 值的影响

缓冲液的酸碱度影响分析物在毛细管中的迁移速度,缓冲液 pH 值愈大,分析物迁移时间愈长。当缓冲液 pH 值大于 2.2 时,18C6H₄ 由于离解将带负电荷,向正极端迁移(18C6H₄ 的 pK_a 分别为: 2.13, 2.84, 4.29, 4.88),因为分析物分子含有氨基,在此 pH 条件下,氨基将会以带正电荷的形式存在。这样带正电荷分析物与带负电荷 18C6H₄ 间有较强的静电作用,带正电荷的分析物迁移速度较慢,迁移时间会较长,所以实际要求缓冲液 pH 应小于 2.1,才使 18C6H₄ 的离解度减小且以较慢电渗流向负端移动。图 2 给出伯喹在三种不同 pH 条件下的电泳图,缓冲液 20 mmol/L Tris-H₃PO₄ + 10 mmol/L 18C6H₄, 温度 15℃, 电压 20kV。

2.2 缓冲液浓度的影响

用 Tris 浓度分别为 10, 20, 30, 50 mmol/L 的缓冲液作运行液,结果发现,缓冲液 Tris 浓度愈大,迁移时间愈短。当 Tris 浓度为 50 mmol/L 时,分离度很差,真蛸胺对映体只能部分分离,而去甲肾上腺素的对映体不能分离,仅出单峰,见图 3。这是因为 Tris 也是伯胺,含有氨基,同冠醚结合时,必然要与分析物竞争,较高浓度的 Tris 必将导致分析物的较小迁移。因此,操作中 Tris 浓度不能太大。缓冲液 Tris-H₃PO₄ (pH 2.06) + 10 mmol/L 18C6H₄, 温度 15℃, 电压 20kV。

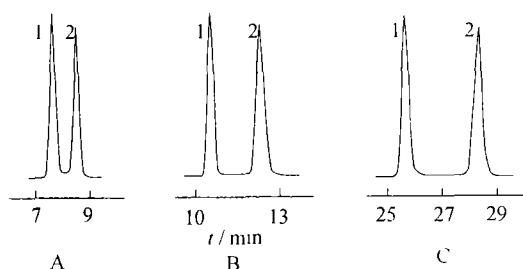


Fig 2. Enantiomer separation of primaquine

A. pH = 1.90; B. pH = 2.06; C. pH = 2.30; 1. *S*-Primaquine; 2. *R*-Primaquine

2.3 温度的影响

柱温从 15℃ 上升至 40℃, 运行电流从 25 μA 增加至 45 μA, 运行电流增大, 迁移时间减小, 因焦耳热背景噪音增加, 分离度明显下降。

2.4 手性冠醚 18C6H₄ 浓度的影响

用 18C6H₄ 浓度分别为 0, 5, 10, 20 mmol/L 的 20

mmol/L Tris-H₃PO₄ (pH 2.06) 缓冲液作为运行液, 发现当 18C6H₄ 浓度为 0 时, 所有的样品均在 6min 内很快迁移, 都是单峰, 对映体不能分开; 随着 18C6H₄ 浓度增大, 迁移时间变长, 手性分离得到改善。浓度为 10mmol/L 或 20 mmol/L 均能达到基线分离, 见图 4。

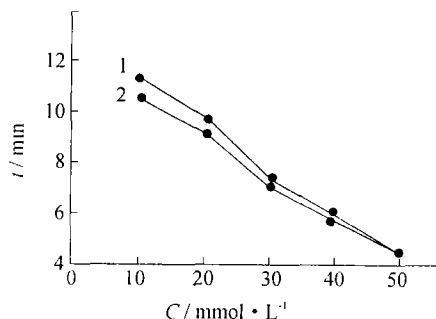


Fig 3. Effect of Tris' concentration in the mobile phase on the enantiomeric separation of Noradrenaline

1. *S*-Noradrenaline; 2. *R*-Noradrenaline

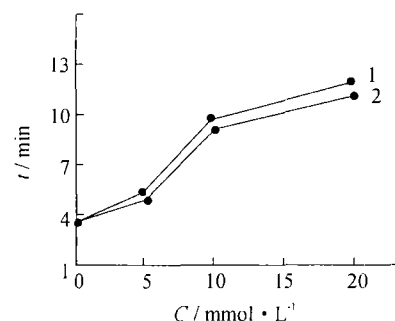


Fig 4. Effect of 18C6H₄'s concentration in the mobile phase on the enantiomeric separation of Aminoglutethimide

1. *S*-Aminoglutethimide; 2. *R*-Aminoglutethimide

综上所述, 选择电泳条件为: 缓冲液 20 mmol/L Tris-H₃PO₄ (pH 2.06) + 10 mmol/L 18C6H₄, 温度 15℃, 电压 20kV, 检测波长 210 nm。部分结果见图 5。

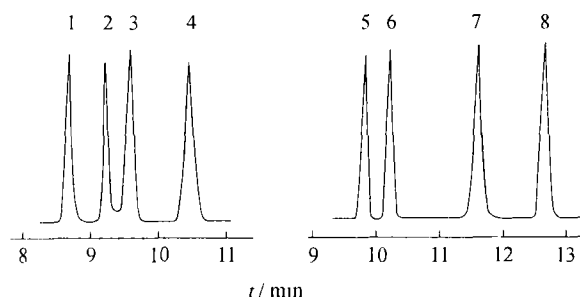


Fig 5. Enantiomer separation of four drugs

1. *S*-Norephedrine; 2. *R*-Noradrenaline; 3. *S*-Noradrenaline; 4. *R*-Norephedrine; 5. *S*-Kynurenine; 6. *R*-Octopamine; 7. *S*-Octopamine; 8. *R*-Kynurenine

致谢 中国科技大学何友昭副教授给予帮助和指导。

参考文献

- [1] Chan ECY, Ho PC. Enantiomeric separation of tramadol hydrochloride and its metabolites by cyclodextrin-mediated capillary electrophoresis. *J Chromatogr B*, 1998, **707**:287-392.
- Rudaz S, Veuthey JL, Desiderio C, et al. Simultaneous stereoselective analysis by capillary electrophoresis of tramadol enantiomers and their main phase I metabolites in urine. *J Chromatogr A*, 1999, **846**:227-233.
- [2] 黄宗玉(Huang ZY). 高效毛细管电泳法研究盐酸司来吉兰的手性分离[J]. 药物分析杂志(*Chin J Pharm Anal*), 2000, **20**(3): 184-186.
- [3] 程庆春(Cheng QC). 高效毛细管电泳法研究合成山莨菪碱的手性分离[J]. 药物分析杂志(*Chin J Pharm Anal*), 1998, **18**(3): 149-152.
- [4] 沅宗琴(Ruan ZQ). 毛细管电泳环糊精添加剂与特布他林对映体的主体选择性研究[J]. 色谱(*Chin J Chromatogr*), 1998, **16**(6):481-483.
- [5] 范国荣(Fan GR). 氟苯律定对映体的毛细管电泳分离及在家兔体内手性药代动力学研究[J]. 第二军医大学学报(*Acad J Second Mil Med Univ*), 1999, **20**(1):1-5.

Study on the Chiral Separation of Eight Amino-drugs by HPCE

XIA Xiao-Qing, CUI Hua¹

Wannan Medical College, Wuhu 241001; ¹Dept of Chemistry, University of Science and Technology of China, Hefei 230026

ABSTRACT **AIM** Chiral separation of drugs having a primary amino group was studied by high performance capillary electrophoresis(HPCE) using 18C6H₄ as chiral selector. **METHODS** Both complexation and resolution were affected by 18C6H₄ concentration, pH and concentration of electrolyte. The influence of working voltage and capillary temperature on the enantiomeric separation was also investigated. **RESULTS** Eight enantiomers tested were separated by HPCE. **CONCLUSION** Chiral separation of amino-drugs by high performance capillary electrophoresis was successful through the addition of a chiral crown ether, 18-crown-6 tetracarboxylic acid (18C6H₄).

KEY WORDS Enantiomers; Chiral separation; Crown ethers; HPCE

欢迎订阅《中国药学年鉴》(2001年卷)

最新版《中国药学年鉴》(第18卷2001年版)已于2002年8月出版,全书计103.7万字,大16开精装。本书是由中国工程院院士彭司勋任主编,组织全国医药界专家、教授编纂的逐年连续出版的综合性、资料性药学工具书,可供医药系统的教学、科研、生产、经营、管理及医院药房等各层次人员参考使用。多年来本书受到医药学界及相关学科的广大读者的好评。2001年卷年鉴共设药学研究、新药研究与开发、药学教育、药物生产与流通、医院药学、药品监督管理、药学书刊、药学人物、学会及学术活动、重要药学记事、企事业单位简介、附录十一个大栏目,欢迎广大读者至本编辑部订阅,2001年卷每册定价115元(含邮资),订阅者可将书款直接邮汇至:南京童家巷24号中国药科大学《中国药学年鉴》编辑部,邮政编码 210009,联系电话:025-3271478, E-mail: zgyxnj@cpu.edu.cn, 联系人: 印高凤。从银行汇款者则请汇至:户名:中国药科大学(29);开户行:中国银行南京城北办;帐号:04403020517000140,另本部还有少量各卷余书,我们将尽可能根据您的需要予以配套。