

高效液相色谱手性固定相分离β-胸苷中的α-胸苷异构体

林琳¹, 许旭¹, 夏立钧¹, 阮锦满²

(1. 中国科学院上海有机化学研究所, 上海 200032; 2. 南京宇道科技开发公司药物研究所, 南京 210018)

关键词: 高效液相色谱法(HPLC); 手性固定相(chiral column); β-胸苷(β-thymidine); α-胸苷(α-thymidine)

中图分类号: O658 文献标识码: B 文章编号: 1000-8713(2006)04-0416-01 栏目类别: 技术与应用

齐多夫定是最早经美国食品药品监督管理局(FDA)批准上市的抗艾滋病药物。β-胸苷是齐多夫定的主要原料^[1]。作为一种存在立体异构体的化合物, β-胸苷中α-胸苷的含量直接关系到其后续合成药物的质量及药效。本文采用CHIDEX-SKP环糊精类手性固定相, 建立了分离检测β-胸苷中α-胸苷异构体(结构见图1)的高效液相色谱方法, 同时还研究了流动相组成和流速等因素对这对异构体分离的影响。

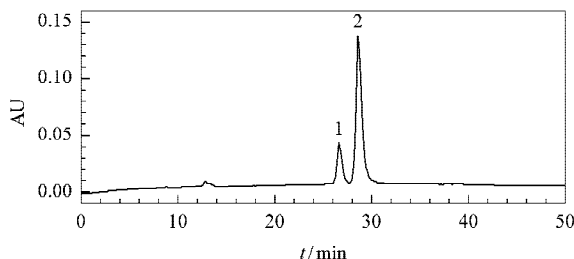


图2 (1)α-胸苷与(2)β-胸苷异构体的分离谱图

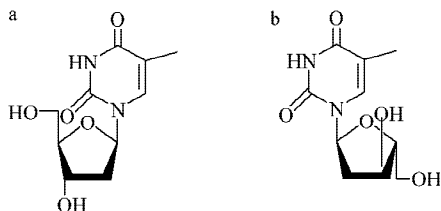


图1 (a)β-胸苷与(b)α-胸苷的结构式

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与样品

Waters 高效液相色谱仪, 包括 600E 泵, 996 光电二极管阵列紫外检测器及 Millennium³² 色谱工作站。甲醇为色谱纯(TEDIA 公司), 醋酸、三乙胺为分析纯, 蒸馏水(上海斯柏克林公司)。β-胸苷与α-胸苷(南京宇道科技开发公司)。

1.2 色谱条件

色谱柱: CHIDEX-SKP(新加坡凯瑞手性科学技术有限公司)。流动相: 甲醇-水-醋酸-三乙胺(体积比为 10: 90: 0.1: 0.1)混合液, 流速 0.3 mL/min。室温。检测波长 267 nm。β-胸苷样品用甲醇溶解配制(2.4 g/L)。进样量 3 μL。

2 结果与讨论

2.1 色谱分离柱的选择

根据相似化合物的分离条件, 采用 ODS 柱^[1]、氨基柱^[2]进行分离, β-胸苷与α-胸苷异构体均未获得分离。进一步试用冠醚型 Crownpak CR(+)手性柱以及大环抗生素型 Chirobiotic T、R、V 手性柱, 也未能有效分离二者。最后选用的 CHIDEX-SKP 柱是一种通过脲基把带有苯氨基甲酸酯衍生基团的环糊精化学键合到 5 μm 硅胶微粒上的手性柱^[3-4], 两异构体在该柱上获得了满意的分离(见图2), 分离度 R_s 为 2.0。

2.2 流动相的影响

甲醇-水的比例对分离度的影响 在相同的醋酸、三乙胺浓度下, 甲醇的含量(以体积分数计, 下同)降低时分离度增加。当甲醇从 40% 降至 10% 时, 分离度从 1.2 增至 2.0, 但

α-胸苷的保留时间从 15 min 延长到 27 min。

醋酸-三乙胺的比例对分离度的影响 在相同比例的甲醇、水条件下, 考察醋酸、三乙胺的比例对分离度的影响。结果发现, 当醋酸与三乙胺的体积比分别为 0.2: 0.1, 0.1: 0.1, 0.1: 0.2 时, β-胸苷的保留时间依次为 18.40, 18.21, 18.30 min, 分离度依次为 1.51, 1.55, 1.40。

流动相流速对分离度的影响 当流速分别为 0.2, 0.3, 0.5, 0.7 mL/min 时, 两种胸苷异构体的分离度依次为 1.52, 1.55, 1.16, 0.99, β-胸苷的保留时间依次为 27.87, 18.21, 10.16, 7.12 min。由此可见, 降低流速有利于异构体的分离, 但当流速小于 0.3 mL/min, 这种变化趋势就减弱。因此实验中选择流速为 0.3 mL/min。

2.3 α-胸苷的检测限

按“1.2”项所述用配制 β-胸苷相同的方法配制低浓度 α-胸苷样品溶液。在 α-胸苷的进样量为 4.0 ng 时, 信噪比为 2.2, 故其最小检出量为 4.0 ng。实验中配制的 β-胸苷样品溶液为 2.4 g/L, 进样量为 3 μL, 故计算出 β-胸苷中 α-胸苷的检测限为 0.06%(质量分数)。

2.4 实际样品分析

将本方法用于实际 β-胸苷样品的测试, 结果发现在所测定的样品中 α-胸苷均未检出。

致谢 新加坡凯瑞手性科学技术有限公司(Chiral Sciences & Technologies Pte. Ltd.) 提供了本实验中使用的 CHIDEX-SKP 手性环糊精柱。

参考文献:

[1] Vaishnav Y N, Kan L S, Swenberg C E. J Liq Chromatogr, 1992, 15(13): 2385
[2] Ravanat J L, Douki T, Incardona M F, Cadet J. J Liq Chromatogr, 1993, 16(15): 3185
[3] Zhang L F, Wong Y C, Chen L, Ching C B, Ng S C. Tetrahed Lett, 1999, 40(9): 1815
[4] Ng S C, Zhang L F, Ching C B. US, 6017458. 2000-01-25