

毛细管电泳手性分离分析西酞普兰中间体

姜军坡¹, 徐红梅², 陈志涛^{1,3}, 肖尚友^{1,3}, 夏之宁^{1,3}

(1. 重庆大学化学化工学院药理学系, 重庆 400044; 2. 重庆邮电大学生物信息学院, 重庆 400065; 3. 重庆大学生物工程学院, 重庆 400044)

关键词: 毛细管电泳(CE); 西酞普兰(citalopram); 中间体(intermediate); 手性拆分(chiral separation); 糊精(dextrin)
中图分类号: O658 文献标识码: B 文章编号: 1000-8713(2006)06-0657-01 栏目类别: 技术与应用

西酞普兰(citalopram, CIT)适用于抑郁性精神障碍的急性和常规治疗。S-(+)-CIT对5-羟色胺有较好的抑制作用, R-(-)-CIT疗效较差^[1], 故要求以S-(+)-CIT单体形式上市。化合物(-)-4-[4-(二甲氨基)-1-(4'-氟苯基)-1-羟丁基]-3-羟甲基-苯氟氢溴盐((-)-CITI)是S-(+)-CIT合成中最重要的中间体, 手性分离出(-)-CITI后通过环合即可制备S-(+)-CIT单体。欲控制S-(+)-CIT的光学纯度, 必须先控制R-(-)-CITI的纯度。因此, 建立(±)-CITI的手性分离方法及异构体的定量方法十分必要。本文在文献[2]的基础上拆分了CITI对映体, 定量测定了R-(-)-CITI粗品中的S-(+)-CITI, 初步探讨了CITI的拆分机理。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

自组装毛细管电泳仪: 高压电源 0~30 kV; HW-2000 色谱工作站(南京千谱软件有限公司); 石英毛细管(总长 54.0 cm, 有效长度 41.0 cm, 内径 75 μm, 河北永年锐洋色谱器件有限公司)。CITI 外消旋混合物、R-(-)-CITI(高效液相色谱测其含量为 99.7%, 重庆莱美药物技术有限公司馈赠), 糊精(分析纯, 四川省彭州军乐化工厂), 其余试剂均为分析纯。水为一次蒸馏水。

1.2 实验方法与步骤

在 NaH₂PO₄ 溶液中加入糊精, 加热溶解, 冷却至室温, 用 1.0% 的 H₃PO₄ 或 0.10 mol/L 的 NaOH 调节 pH 值, 配制成 NaH₂PO₄ 浓度为 80 mmol/L 的运行缓冲溶液。样品用缓冲溶液溶解。石英毛细管在使用前用 0.10 mol/L NaOH 冲洗 20 min, 再用水、运行缓冲液依次冲洗 5 min。两次电泳之间再用上述溶液依次冲洗 1 min。正向电泳, 电迁移进样(20 kV × 5 s), 检测波长 239 nm。

2 结果与讨论

2.1 各种因素对分离度(R_s)的影响

改变糊精含量及缓冲溶液的 pH, 考察它们对 R_s 的影响, 结果见图 1。

考察磷酸盐浓度(20~100 mmol/L)对 R_s 的影响。低

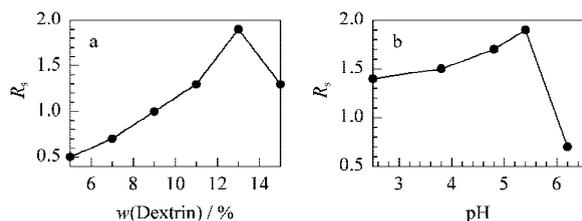


图 1 (a)糊精含量及(b)缓冲液 pH 对分离度的影响

浓度时, 离子强度低, 毛细管壁吸附荷正电的 CITI, 导致电泳峰拖尾; 浓度增大, 其离子强度增加, 样品在管壁上的吸附减小, 峰形改善, 柱效增加。离子强度过高时, 电流过大, 柱内温度升高, 分离效果下降。

当缓冲溶液为含 13% 糊精的 80 mmol/L NaH₂PO₄(pH 5.4), 运行电压为 20 kV 时, CITI 对映体(采用标准添加法定性)得到最佳分离(见图 2), R_s 为 1.9。

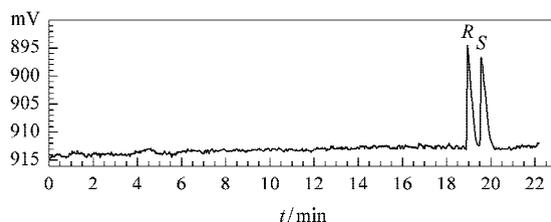


图 2 CITI 的手性分离电泳图

2.2 标准曲线的建立及实际样品的测定

配制 0.08, 0.10, 0.20, 0.30, 0.50, 1.00 及 2.00 g/L 的 CITI(外消旋标准样品)溶液, 相当于 R-(-)-CITI 为 0.04~1.00 g/L。分别在最佳分离条件下进行电泳分离, 以 R-(-)-CITI 的峰面积 Y_R 为纵坐标, 其浓度 C_R 为横坐标绘制标准曲线, 得: Y_R = 511.79C_R + 7.2935, r_R = 0.9966; 线性关系良好, 其检出限为 16.6 mg/L(S/N = 3)。

准确称取 R-(-)-CITI 的粗品 30.0 mg, 配制成 3.0 g/L 的样品溶液。3 次平行测定的 S-(+)-CITI 含量的平均值为 7.31%, 相对标准偏差为 3.3%。

2.3 拆分机理的探讨

糊精由 D-葡萄糖单元以 α-(1→4)糖苷键连接组成, 葡萄糖单元的 α 和 β 异构体处于不断的动态平衡中, 因此糊精分子可以形成“柔性链”。在溶液中, 糊精分子柔性链发生构型转换形成内部疏水的螺旋状空腔结构^[3]。这种结构对 CITI 对映体分子的空间限制作用强化了葡萄糖单元与 CITI 分子之间的氢键作用, 产生了立体选择性。一些与环糊精空腔结构及大小不匹配的对映体分子, 如 CITI 不能被环糊精介质分离, 而糊精的螺旋空腔结构“柔性”较大, 对分子体积大小的要求不是很严格, 则可能分离对映体。

参考文献:

[1] Hyttel J, Bøgesø K P, Perregaard J, Sánchez C. J Neural Transm, 1992, 88(2): 157
[2] 肖尚友, 徐红梅, 唐守渊, 冯波, 陶然, 阴永光, 夏之宁. 分析化学, 2005, 33(11): 1527
[3] Soini H, Stefansson M, Riekkola M L, Novotny M V. Anal Chem, 1994, 66(20): 3477