

烯丙基- β -环糊精毛细管电色谱整体柱分离愈创甘油醚对映体

李英杰, 李芳, 张春雨, 高晴, 吕仁江

(齐齐哈尔大学化学与化学工程学院, 齐齐哈尔 161006)

摘要 目的: 建立一种用毛细管电色谱拆分愈创甘油醚对映体的方法。方法: 采用制备的烯丙基- β -环糊精手性毛细管整体柱, 在电色谱模式下, 对愈创甘油醚对映体进行手性分离, 考察了流动相比、背景电解质溶液 pH、柱温及分离电压等因素对分离的影响。结果: 在优化的实验条件下, 愈创甘油醚对映体达到基线分离。结论: 毛细管电色谱首次分离愈创甘油醚对映体, 该方法操作简单, 分离效果好。

关键词: 愈创甘油醚; 毛细管电色谱; 整体柱; 烯丙基- β -环糊精; 对映体拆分

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2011)05-0917-03

Capillary electrochromatography enantiomeric separation of guaifenesin by allyl- β -cyclodextrin monolithic column

LIY ing-jie, LI Fang, ZHANG Chun-yu, GAO Qing, LÜ Ren-jiang

(Qiqihar University of Chemistry and Chemical Engineering Institute, Qiqihar 161006, China)

Abstract Objective To develop a method for enantiomeric separation of guaifenesin in capillary electrochromatography. **Methods** Under capillary electrochromatography mode, guaifenesin enantiomers were separated by the prepared allyl- β -cyclodextrin chiral capillary monolithic column. The influences of mobile phase ratio, background buffer pH, temperature and applied voltage were investigated. **Result** In the optimal conditions, guaifenesin enantiomers were separated by based-line. **Conclusion** The capillary electrochromatography is simple, quick and suitable for the first separation of guaifenesin.

Key words guaifenesin; capillary electrochromatography; monolithic column; allyl- β -cyclodextrin; enantiomer separation

生物机体和药物的特异化学反应与药物的分子结构密切相关, 其左旋体和右旋体的药理活性通常各不相同, 因此手性化合物的分离对于药物的药效和安全性研究有重要意义^[1~3]。毛细管电色谱(CEC)是近几年发展起来的一种高效、快速的新型微柱分离方法, 它有机地结合了高效液相色谱(HPLC)的多选择性和毛细管电泳(CE)的高效性, 以分析速度快、灵敏度高、分辨率高、试样用量少和分析成本低等特点, 满足药品的痕量分析要求, 已越来越多地用于手性物质的研究^[4~6]。

愈创甘油醚是一种常见的手性药物, 结构如图1所示。本药为祛痰镇咳药, 是愈创木酚醚类衍生物, 口服后对胃黏膜有刺激性, 能反射性地引起支气管腺体分泌增加, 降低痰液浓度, 属恶心性祛痰药。

本药兼有轻度镇咳和消毒防腐作用, 可减轻痰液的恶臭味。临床用于治疗慢性支气管炎较多的咳嗽^[7]。对于愈创甘油醚对映体的拆分, 作者未见文献报道, 本实验采用制备的烯丙基- β -环糊精(allyl- β -CD)手性毛细管电色谱整体柱对该手性药物对映体进行拆分, 为其对映体的研究提供了一种快速、有效的分离分析方法。

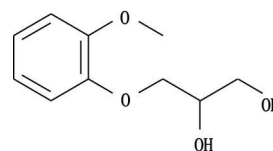


图1 愈创甘油醚的结构式

Fig 1 Structure of guaifenesin

1 仪器与试剂

HP^{3D} CE 高效毛细管电泳仪 (美国安捷伦公司), 毛细管电色谱柱 (75 $\mu\text{m} \times 35.0\text{ cm}$, 有效长度为 26.5 cm, 上海通微)。

愈创甘油醚原料药, 武汉合中生化制造有限公司, 纯度 99.8%。 γ -甲基丙烯酸氧丙基三甲氧基硅烷 (γ -MAPS)、乙二醇二甲基丙烯酸酯 (EDMA), 美国 Sigma 公司; 2-丙烯酰胺基-2-甲基-1-丙磺酸 (AMPS)、偶氮二异丁腈 (AIBN), 美国 Fluka 公司; 烯丙基溴, 济南太化化工有限公司; β -环糊精 (β -CD)、二甲基亚砜 (DMSO)、正十二醇、环己醇、丙酮, 南开大学精细化学实验厂; 二甲基甲酰胺 (DMF), 天津市化学试剂六厂; 乙腈, 天津科密欧化学试剂开发中心; 试验用其他试剂为分析纯, 水为二次去离子水。

2 烯丙基- β -环糊精的合成

本文在参考文献 [8-9] 基础上, 改进了合成方法, 合成一种新型环糊精衍生物用于手性分离。准确称取 β -环糊精 6.81 g 于 60 mL 的二甲基甲酰胺中, 搅拌使其溶解。稍后加入干燥的氢氧化钠粉末 0.5 g 室温下搅拌 2 h 得黄色溶液。同时将 6 mL 的烯丙基溴缓慢滴入黄色溶液中, 在氮气保护下持续反应 48 h。将上述反应液过滤蒸干, 将所得固体溶解于少量无水甲醇中, 然后滴加无水乙醚沉淀产物, 过滤后得到产品。真空干燥 24 h 得到白色固体为目标产物。

3 整体柱的制备

将毛细管依次用 $1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液冲洗 60 min, 水冲洗 30 min, $1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸冲洗 30 min, 注入 γ -甲基丙烯酸氧丙基三甲氧基硅烷-丙酮 (1:1, v/v) 溶液, 室温下反应 24 h, 氮气吹干后备用。

分别取 $0.125\text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 烯丙基- β -环糊精的二甲基亚砜溶液 0.10 g, 乙二醇二甲基丙烯酸酯 0.09 g, 正十二醇 0.15 g, 环己醇 0.10 g, 偶氮二异丁腈 0.0016 g 和 2-丙烯酰胺基-2-甲基-1-丙磺酸 0.0018 g 混合震荡至澄清。取上述混合溶液用注射器注入到预先处理好的长 35 cm 毛细管的 26.5 cm 处, 毛细管的两端用橡皮塞塞好, 将毛细管放入 60 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴中 16 h 待聚合反应完毕后通过高压泵用甲醇冲洗毛细管整体柱备用。

4 毛细管电色谱条件

检测波长: 200 nm; 进样条件: 正极进样, 5 kV $\times$ 5 s; 流动相: $5\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸钠盐水溶液-乙腈

(60:40, v/v); 运行电压: 17 kV; 柱温: 20 $^{\circ}\text{C}$ 。毛细管前处理方式: 每次进样前用缓冲溶液平衡 10 min。

5 流动相比对分离度的影响

表 1 考察了不同体积比的流动相对愈创甘油醚对映体分离度的影响, 当乙腈体积较小时, 电渗流较大, 柱内焦耳热增大, 不利于分离; 随着乙腈体积的增大, 电流迅速减小, 其分离度逐渐增大, 当磷酸钠盐水溶液与乙腈体积比为 60:40 时分离度最大, 继续增大乙腈的体积, 电渗流变小, 不易于分离。故选择磷酸钠盐水溶液-乙腈 (体积比 60:40) 的流动相。

表 1 流动相比对分离度的影响

Tab 1 Effects of the mobile phase ratio on resolution

$V[\text{磷酸盐溶液}] : V(\text{CH}_3\text{CN})$	$i/\mu\text{A}$	R
80:20	11.5	0.50
70:30	10.8	0.94
60:40	8.6	2.65
50:50	3.5	1.37
40:60	1.1	1.23
30:70	0.8	0.84

6 运行缓冲溶液 pH 对分离度的影响

缓冲溶液 pH 影响待分离物质的电荷和电渗流, 是影响手性分离的重要参数之一。图 2 考察了 pH 对分离度的影响, 结果表明当 pH 从 3.0 逐渐增大, 分离度逐渐增大, pH 5.0 时分离度最大, 此后随着 pH 继续增大, 分离度逐渐减小。这可能是由于 pH 的改变影响了对映体分子进入环糊精分子后发生的主客体反应以及固定相对环糊精分子的吸附作用发生变化, 从而使分离度下降。

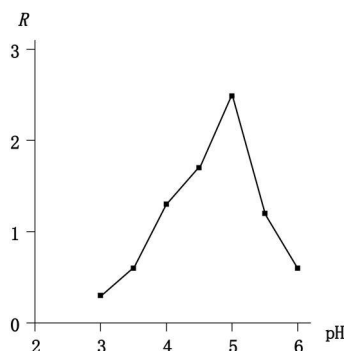


图 2 pH 对分离度的影响

Fig 2 Effects of pH on resolution

7 柱温对分离度的影响

柱温变化对愈创甘油醚对映体分离有很大影响,图3考察了柱温对分离度的影响,结果表明随柱温升高,对映体的迁移时间逐渐减小,这是因为温度升高会使缓冲溶液的粘度降低,但温度升高同时也会增大柱内焦耳热,使柱子内容易产生气泡。本文确定最佳柱温是 20℃。

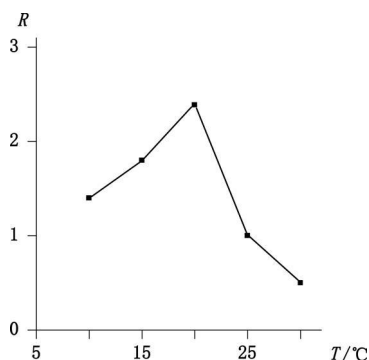


图3 柱温对分离度的影响

Fig 3 Effects of column temperature on resolution

8 运行电压对分离度的影响

图4考察了运行电压对分离度的影响。迁移时间随电压的升高逐渐减小,而分离度随电压的升高先增大后减小。但电压过高时分离度和信噪比下降,本实验得出的最佳分离电压为 17 kV。

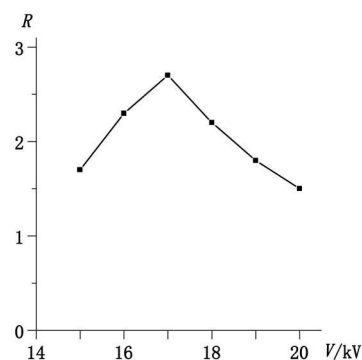


图4 运行电压对分离度的影响

Fig 4 Effects of operating voltage on resolution

9 愈创甘油醚对映体的分离

图5为愈创甘油醚对映体在优化色谱条件下的电色谱分离谱图。达到了愈创甘油醚对映体的基线分离,分离度为 2.71。

10 结论

本文在电色谱模式下对愈创甘油醚对映体进行了手性拆分研究,考察了流动相比、背景电解质溶液 pH、柱温及分离电压等因素对分离的影响。在优化的实验条件下,愈创甘油醚对映体达到基线分离。建立了一种操作简便、分离度良好的毛细管电色谱方法。

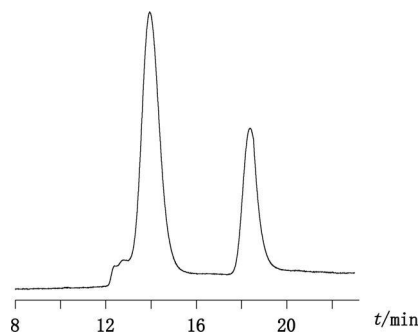


图5 愈创甘油醚的电色谱分离谱图

Fig 5 Electrophoretogram spectrum of guaifenesin

参考文献

- 1 ZOU Han-fa(邹汉法), FU Hong-jing(傅红靖), JIN Wen-hai(靳文海), *et al* New advances in capillary electrophoresis (毛细管电色谱研究的一些新进展). *Chin J Univ* (高等学校化学学报), 2004, 25(4): 107
- 2 Tian Y, Zhong C, Fu E, *et al* Novel β -cyclodextrin derivative functionalized poly(methacrylate)-based monolithic columns for enantioselective separation of ibuprofen and naproxen enantiomers in capillary electrophoresis. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(6): 1000
- 3 YU Ping(于平). Research progress in chiral compounds(手性化合物研究进展). *Chin Ind Eng Prog* (化工进展), 2002, 21(9): 635
- 4 Kasai H, Tsubuki M, Takahashi K, *et al* Separation of stereoisomers of several furan derivatives by capillary gas chromatography-mass spectrometry, supercritical fluid chromatography, and liquid chromatography using chiral stationary phases. *J Chromatogr A*, 2002, 977(1): 125
- 5 ZHU Chen-fu(朱沉浮), LIN Xiu-li(林秀丽), WEI Yun-he(魏云鹤). Capillary electrophoresis and its application in chiral separation of drugs(毛细管电色谱及其在手性药物分离中的应用). *Chin J Biochem Pharm* (中国生化药物杂志), 2003, 24(4): 204
- 6 Lubda D, Cabrera K, Nakanishi K, *et al* Monolithic silica columns with chemically bonded β -cyclodextrin as a stationary phase for enantiomer separations of chiral pharmaceuticals. *Anal Bioanal Chem*, 2003, 377(5): 892
- 7 NIU Yu-juan(牛玉娟). Determination of guaifenesin tablets by HPLC(HPLC法测定愈创甘油醚片的含量). *Drug Stand China* (中国药品标准), 2008, 9(1): 69
- 8 ZHAO Su-li(赵素丽), LI Ju-bai(李菊白). The synthesis and enantiomeric separation of permethyl- α - β -cyclodextrin as stationary phase in GC(全甲基部分烯丙基环糊精作为气相色谱固定相的合成和手性拆分). *Chem Reagents* (化学试剂), 2002, 24(3): 131
- 9 Zhang Q, Jiang Z, Li R. Complexation of allyl isothiocyanate with β -cyclodextrin and its derivatives and molecular microcapsule of allyl isothiocyanate in β -cyclodextrin. *Eur Food Res Technol*, 2007, 225: 407

(本文于 2010 年 6 月 11 日收到)