

手性固定相 NP-HPLC 拆分 达非那新中间体对映体

邹卫 赵华 赵静 袁佩^a 靳红卫^①

(重庆医科大学药学院药物分析教研室 重庆市渝中区医学院路 1 号 400016)

^a(重庆医科大学生命科学院 重庆市 400016)

摘 要 采用多糖衍生物手性色谱柱, 建立了正相高效液相色谱法(NP-HPLC) 拆分达非那新中间体对映体。考察了该对映体在不同手性固定相上的分离趋势及保留顺序, 以及流动相组成对该中间体对映体的分离度和洗脱顺序的影响。结果表明: 用 Chiralpak AD 和 Chiralcel OJ 柱均能实现对映体的有效分离, 为达非那新中间体的光学纯度检测提供了可靠的分离方法。

关键词 达非那新中间体; 手性固定相; 对映体; 分离

中图分类号: O657.7⁺2

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2011)01-0188-04

1 引言

达非那新(Darifenacin), 化学名为(*S*)-2-[1-[2-(2,3-二氢苯并呋喃-5-基)乙基]-3-吡咯烷基]-2,2-二苯基乙酰胺, 分子结构见图 1。是一种有效的毒蕈碱受体拮抗剂, 有助于减少尿失禁发作、增加膀胱储尿量、减少尿频次数、降低尿急相关的排尿压力和急迫性。其中含有一个手性中心, 有一对对映体,*S*-异构体是其活性成分, 故要求以 *S*-异构体单体形式上市^[1]。化合物 3-(*S*)-(1-氰基-1,1-苯基甲基)-1-叔丁氧羰基四氢吡咯(*S*-DFI, 结构见图 2) 是 *S*-Darifenacin 合成中重要的中间体。欲控制 *S*-Darifenacin 的光学纯度, 必须先控制 *S*-DFI 的纯度, 故建立 DFI 对映体的分离分析方法十分必要。

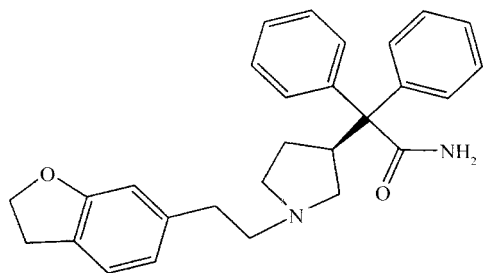


图 1 达非那新的结构

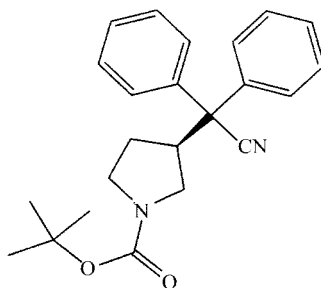


图 2 *S*-DFI 的结构

本文以多糖类衍生物为手性固定相, 采用正相高效液相色谱法, 通过考察该对映体在不同手性固定相上的分离趋势及保留顺序, 以及不同流动相组分对该中间体对映体的分离度和洗脱顺序的影响, 建立了此中间体对映体的 NP-HPLC 分离分析方法。

① 联系人, 手机: (0) 13193036728; E-mail: jhw-eq@163.com

作者简介: 邹卫(1984—), 女, 四川省自贡市人, 硕士研究生, 主要从事手性药物分析研究工作。

收稿日期: 2010-05-09; 接受日期: 2010-05-31

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

LC-2010 液相色谱仪(日本岛津公司),包括紫外检测器,Classic-VP 色谱工作站,自动进样器。

3-(*S*)-(1-氰基-1,1-苯基甲基)-1-叔丁氧羰基四氢吡咯(99.5%以上)和 3-(*R*)-(1-氰基-1,1-苯基甲基)-1-叔丁氧羰基四氢吡咯(99.5%以上)均为重庆博腾有限公司产品;正己烷、正丙醇、异丙醇和乙醇均为色谱纯。

2.2 色谱条件

色谱柱: Chiralpak AD 柱(250mm × 4.6mm, 10 μ m, Daicel Chemicals)、Chiralcel OJ 柱(250mm × 4.6mm, 10 μ m, Daicel Chemicals)、Chiralpak AS 柱(250mm × 4.6mm, 10 μ m, Daicel Chemicals)、Chiralcel OD 柱(250mm × 4.6mm, 10 μ m, Daicel Chemicals),以上色谱柱均是日本大赛路公司生产;氰基保护柱(4mm × 4mm, 10 μ m, 江苏汉邦科技有限公司)。流动相为正己烷-醇,流速 1.0mL/min,柱温 25℃,检测波长 220nm。

3 结果与讨论

3.1 固定相的影响

DFI 中具有苯环、氰基和氧酰胺结构,根据三点作用原理^[2],可能与多糖类衍生物形成 π - π 作用和偶极-偶极作用,而实现异构体分离,因此我们考察了该化合物在最常用的多糖类衍生物手性柱 Chiralcel OD、Chiralpak AD、Chiralcel OJ 和 Chiralpak AS 柱上的分离情况,实验结果表明:(1) DFI 对映体在 Chiralpak AD、Chiralcel OJ 和 Chiralpak AS 柱上均有分离,在 Chiralcel OD 柱上无分离趋势。其中 Chiralpak AD 柱分离最好,Chiralcel OJ 柱分离次之,Chiralpak AS 柱分离较差($R_s = 1.16$, $k_1 = 0.96$);(2) 该对映体在不同手性柱上出峰顺序不同,在 Chiralpak AD 和 Chiralcel OJ 柱上分离时,均是 *S*-DFI 异构体保留更强,而在 Chiralpak AS 柱上则是 *R*-DFI 异构体保留更强,色谱图见图 3。

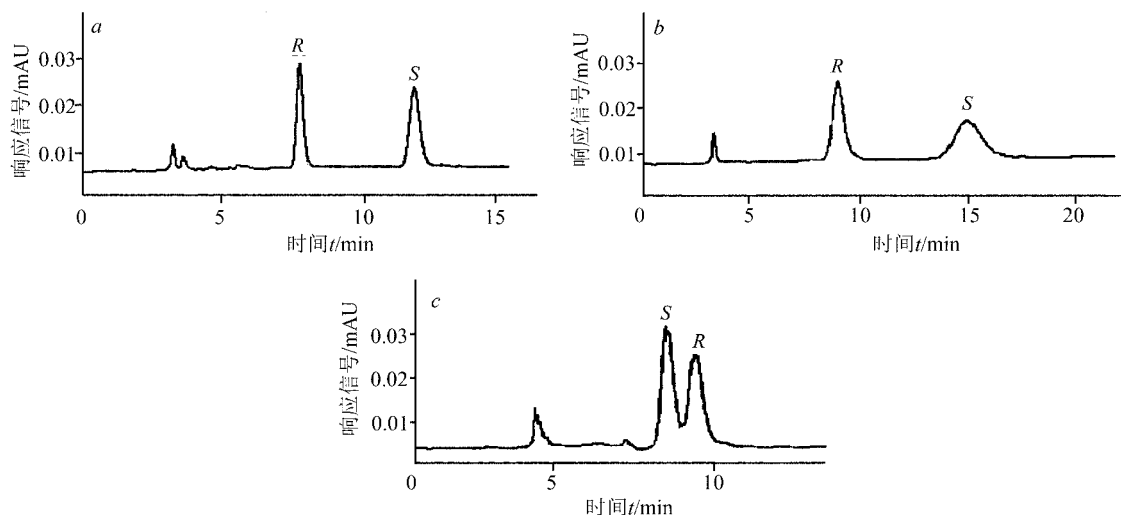


图 3 DFI 对映体的色谱图

a——Chiralpak AD 柱,正己烷-乙醇(95:5, V/V); b——Chiralcel OJ 柱,正己烷-乙醇(95:5, V/V);

c——Chiralpak AS 柱,正己烷-异丙醇(95:5, V/V)。

Chiralcel OD 柱的手性固定相为纤维素-三(3,5-二甲基苯基甲酸酯), Chiralpak AD 柱的手性固定相为淀粉-三(3,5-二甲基苯基甲酸酯), 二者的衍生基团完全相同^[3], 但对异构体的分离呈现显著区别。有文献报道^[4]达非那新对映体在 Chiralpak AD 柱上无分离, 在 Chiralcel OD 柱上则有分离, DFI 对映体的分离行为则刚好相反, 这表明固定相的空间结构是决定手性识别的重要因素。

3.2 流动相组成的影响

在正相高效液相色谱分离中, 最常使用的流动相为正己烷-醇体系, 常用的醇类添加剂为异丙醇和乙醇, 本文主要考察了流动相中添加不同组分的异丙醇和乙醇在 Chiralpak AD 和 Chiralcel OJ 柱上对 DFI 对映体分离的影响(见表 1)。结果表明: (1) 在 Chiralpak AD 柱上, 流动相中无论是添加乙醇还是异丙醇, 均能使 DFI 对映体得到有效分离, 正己烷-乙醇的体系对该对映体分离更好; (2) 在 Chiralcel OJ 柱上, 正己烷-乙醇的体系能使 DFI 对映体得到有效分离, 而正己烷-异丙醇的体系对该对映体有分离度小于 1。

表 1 流动相组成对 DFI 对映体的影响

流动相组成 正己烷-醇(V/V)	醇的种类	Chiralpak AD		Chiralcel OJ	
		<i>R_s</i>	<i>k₁</i>	<i>R_s</i>	<i>k₁</i>
70 : 30	乙醇	2.95	0.31(R)	1.95	0.43(R)
	异丙醇	2.66	0.46(R)	0.00	0.51(R)
80 : 20	乙醇	3.71	0.45(R)	2.25	0.68(R)
	异丙醇	3.41	0.64(R)	0.00	0.83(R)
85 : 15	乙醇	4.51	0.53(R)	2.73	1.03(R)
	异丙醇	3.87	0.76(R)	0.00	1.23(R)
90 : 10	乙醇	5.83	0.81(R)	2.86	1.16(R)
	异丙醇	4.32	1.21(R)	0.69	1.79(R)
95 : 5	乙醇	7.50	1.41(R)	3.59	1.72(R)
	异丙醇	4.82	2.17(R)	0.98	3.72(R)

注: *R_s*——分离度; *k₁*——先洗脱的光学异构体的容量因子; (R)——分别代表 *R*-DFI 和 *S*-DFI。

有文献报道^[5]改变或添加不同种类的醇对对映体的分离度甚至洗脱顺序都有较大影响。为得到该中间体对映体的最佳分离条件以及对映体的洗脱顺序变化, 我们又分别考察了在 4 种手性柱上使用甲醇、乙醇、异丙醇和正丙醇为流动相添加剂对异构体分离的影响, 考虑到甲醇和正丙醇的最大使用量, 以正己烷-醇(95 : 5, V/V)为流动相进行考察。

结果表明: (1) 对映体在同一手性柱上的洗脱顺序不因流动相中醇类添加剂的改变而变化; (2) 不同手性柱上醇类添加剂对 DFI 对映体的分离度影响是不同的。在 Chiralpak AD 柱上, 分离度的大小顺序为: 甲醇(*R_s*= 9.52) > 乙醇 > 正丙醇(*R_s*= 6.94) > 异丙醇, 在 Chiralcel OJ 柱上, 其顺序为: 乙醇 > 甲醇(*R_s*= 2.93) > 异丙醇(正丙醇引起基线不稳), Chiralpak AS 柱上甲醇、乙醇和正丙醇均无分离趋势, 异丙醇有分离趋势, 但仍不能达到基线分离(*R_s*= 1.16)。

4 结论

Chiralcel OD、Chiralpak AD、Chiralcel OJ 和 Chiralpak AS 都是结构相似的多糖衍生物固定相, 但对异构体的分离呈现显著区别。DFI 对映体用 Chiralpak AD 和 Chiralcel OJ 柱均能实现有效分离, 其中在 Chiralpak AD 柱上分离最好, 流动相用正己烷-醇(甲醇、乙醇、正丙醇和异丙醇)均能实现有效分离, 在 Chiralcel OJ 柱上用甲醇和乙醇作醇类添加剂也能使该对映体得到有效分离。在 Chiralpak AD 和 Chiralcel OJ 柱上分离时, 作为杂质的 *R*-DFI 异构体先出峰, 尤其适合于 *S*-DFI 的光学纯度的质量分析。

参考文献

- [1] 林蓉, 邓启华, 周谧等. 氢溴酸达非那新的合成研究[J]. 化学世界, 2009, **2**(1): 100—103.
- [2] Uray G, Major N M, Niederreiter K S *et al.* Diphenylethanediamine Derivatives as Chiral Selectors: VIII. Influence of the Second Amido Function on the High-Performance Liquid Chromatographic Enantioseparation Characteristics of (N-3, 5-Dinitrobenzoyl)-Diphenylethanediamine Based Chiral Stationary Phases[J]. *J. Chromatogr*, 1998, **799**(1/2): 67—81.
- [3] Balmér K, Lagerström P O, Larsson S *et al.* Direct Chiral Separation of Almokalant on Chiralcel OD and Chiralpak AD for Liquid Chromatographic Assay of Biological Samples[J]. *J. Chromatogr*, 1993, **631**(1/2): 191—196.
- [4] Radhakrishnan P, Subba Rao D V, Himabindu V *et al.* A Validated LC Method for Determination of the Enantiomeric Purity of Montelukast Sodium in Bulk Drug Samples and Pharmaceutical Dosage Forms[J]. *J. Chromatogr*, 2008, **68**(3/4): 1059—1062.
- [5] Wang T, Chen Y W. Application and Comparison of Derivatized Cellulose and Amylose Chiral Stationary Phases for the Separation of Enantiomers of Pharmaceutical Compounds by High-Performance Liquid Chromatography[J]. *J. Chromatogr*, 1999, **855**(2): 411—421.

Separation of Darifenacin Intermediate Enantiomers by Normal-Phase HPLC with Chiral Stational Phase

ZOU Wei ZHAO Hua ZHAO Jing YUAN Pei^a JIN Hong-Wei

(Faculty of Pharmaceutical Science, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, P. R. China)

^a(Institute of Life Science, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, P. R. China)

Abstract A NP-HPLC method was established for the separation of darifenacin intermediate enantiomers with polysaccharide chiral column. Enantiomeric separation trend and retention order on different chiral stationary phases were investigated, as well as the separation and elution order by influence of mobile phase composition. The effective separation of enantiomers was obtained with Chiralpak AD and Chiralcel OJ column, which provided a reliable separation method for the optical purity determination of darifenacin intermediate.

Key words Darifenacin Intermediate; Chiral Stationary Phase; Enantiomers; Separation

关于赠送作者样刊、发放稿酬和购买书刊的通知

各有关作者:

本刊赠送作者发表自己论文的当期刊物(样刊),均按篇赠送2本样刊,用普通印刷品邮寄给作者联系人,因系赠品,一次性的,遗失不再补赠。若遗失或作者还需要,请在出版之日起2个月之内汇款购买(2011年,60元/本,免收邮寄费),逾期不再办理。欲购买者,请通过电子邮件(发到gpsys@periodicals.net.cn)与本编辑部联系。

由于普通印刷品邮寄的送达时间不稳定,若作者急需,最迟请在接到《发表通知》的电子邮件后,3日内预交特快专递费(30元/件),过时不候。

给作者发放的稿酬均邮寄给联系人,在发表之日后约20日左右汇出。请各位联系人接到邮局通知后,务必及时到邮局领取。若2个月未领(或作者告诉我们的地址不详、姓名有误),被邮局退回,本刊不再补发。

特此通知

允谱实验室编辑部