

文章编号: 1006-2858(2010)07-0567-03

直链淀粉手性固定相拆分咪康唑对映体

刘玉梅¹, 姚鑫宁², 郭兴杰²

(1. 锦州九泰药业有限责任公司, 辽宁 锦州 121012; 2. 沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 目的 使用 Chiralpak AD-H 手性色谱柱, 建立咪康唑的 HPLC 对映体拆分方法。方法 考察流动相中有机改性剂种类和浓度、流速、柱温等因素对对映体分离的影响。结果 当流动相为正己烷-乙醇(体积比为 90:10)、流速为 0.6 mL·min⁻¹、温度为 25℃ 时, 对映体在 Chiralpak AD-H 柱上分离效果最佳。结论 该方法适于咪康唑对映体的分离分析。

关键词: Chiralpak AD-H; 高效液相色谱法; 咪康唑; 对映体分离

中图分类号: R 917 **文献标志码:** A

咪康唑(miconazole)又名双氯苯咪唑、霉可唑, 是目前临床使用最多的一种抗真菌药, 主要用于治疗深部真菌病, 以及皮肤、五官及阴道等部位的真菌感染。咪康唑分子结构中含有一个手性中心(分子结构见图 1), 临床上通常是以外消旋体的形式给药。体外抗真菌活性试验表明, (R)-(-)-咪康唑的抗真菌活性高于相应的 (S)-(+)-异构体和外消旋体^[1]。这表明拆分咪康唑对映体的工作对临床和体内研究具有重要的意义。对于咪康唑的对映体分离, 文献报道有毛细管电泳法^[2-4]、大环糖肽抗生素手性固定相法^[5]。迄今为止, 未见有关咪康唑对映体在 Chiralpak AD-H 柱上分离研究的报道。

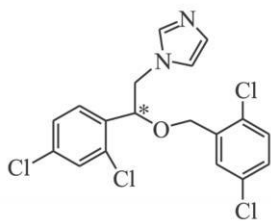


Fig 1 The structure of miconazole

1 仪器与材料

LC-10A 型高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司), SPD-10A 型紫外可见检测器(日本 Shimadzu 公司), Anastar 色谱工作站(天津 Autoscience 公司), BS110S 型电子天平(德国 Sartorius 公司), As3120B 超声波清洗器(天津奥特赛恩斯

仪器有限公司)。

咪康唑对照品(批号: 100213-200504 中国药品生物制品检定所), 正己烷、乙醇、异丙醇、正丙醇(色谱纯, 天津市博迪化工有限公司), 三乙胺(分析纯, 山东禹王化学试剂厂)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Chiralpak AD-H (250 mm × 4.6 mm, 5 μm, 日本 Daicel 公司), 流动相: 正己烷-乙醇(体积比为 90:10), 检测波长: 254 nm, 进样量: 20 μL。

2.2 供试品溶液的制备

精密称取咪康唑适量, 以乙醇溶解并制成质量浓度为 1.0 g·L⁻¹ 的储备液, 于 4℃ 下保存, 使用时用流动相稀释制成质量浓度为 10 mg·L⁻¹ 的溶液, 经 0.45 μm 有机微孔滤膜滤过, 即得。

2.3 有机改性剂种类及比例对分离的影响

在正己烷中加入异丙醇、乙醇或正丙醇作为有机改性剂, 考察了有机改性剂种类对对映体分离的影响。用乙醇或正丙醇作改性剂时, 通过改变其质量分数, 均能使咪康唑对映体达到完全分离。与正丙醇相比较, 乙醇作有机改性剂, 对映体选择性更强, 分离度大且峰形好。其原因可能是乙醇碳链较短, 空间位阻小, 而正丙醇的空间位阻作用影响了咪康唑与手性固定相之间的相互作用。

选择乙醇作有机改性剂进行了进一步分离研

收稿日期: 2009-10-20

作者简介: 刘玉梅(1975-), 女(汉族), 辽宁锦州人, 工程师; 郭兴杰(1956-), 女(汉族), 辽宁葫芦岛人, 教授, 主要从事手性药物的拆分研究, Tel 024-23986285, E-mail gxjyz@yahoo.com.cn

究。流动相中乙醇质量分数对对映体分离的影响见表 1。由表中可见,当乙醇的质量分数在 15% ~ 5% 时(流速为 $0.5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$),随着乙醇质量分数的降低,保留因子(k_2)、分离度(R)和选

择性因子(α)均增大,说明随着乙醇含量减少,对映异构体与手性固定相作用力增强,手性选择性增加。在兼顾分析时间和分离度的情况下,最后选择流动相中乙醇的质量分数为 10%。

Table 1 Effect of ethanol concentration on the separation of miconazole enantiomers

$w(\text{ ethanol})/\%$	k_2	t_2	n_2	α	R
5	5.87	34.35	4 030	1.62	10.6
7	3.62	23.10	3 670	1.62	5.5
10	2.46	17.30	3 300	1.49	4.5
15	1.78	13.90	2 980	1.46	4.2

2.4 流动相中的三乙胺对分离的影响

咪康唑为碱性药物。通常分离碱性化合物时,流动相中加入少量碱会起到改善峰形和提高分离度的作用。但在本实验中,在正己烷-乙醇(体积比为 90: 10)流动相体系中,加入少量的三乙胺进行分离研究,未见其对咪康唑对映体的分离起改善作用。

2.5 流速对分离的影响

以正己烷-乙醇(体积比为 90: 10)为流动相,在其他色谱条件不变的情况下,考察了流速对咪康唑对映体分离的影响。当流速由 $0.8\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 降至 $0.3\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时,分离度由 4.2 增大到 4.5。对映体的分离度随流速降低而升高,这是由于对映体在直链淀粉衍生物上的手性识别作用能量差极小,对映体间的完全分离有赖于溶质与固定相之间的多次相互作用。同时,随着流速的降低,对映体保留时间延长, k_1 、 k_2 增大,但 α 变化不大。综合考虑流速对分离度、峰形和分析时间的影响,最后选择流速为 $0.6\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

2.6 柱温对分离的影响

在最佳流动相条件下,考察了柱温分别为 20、25、30 和 35 $^{\circ}\text{C}$ 时,咪康唑对映体保留因子(k)、选择性因子(α)、分离度(R)的变化情况。随着温度的升高,对映体的保留时间缩短, k 、 R 变小,而 α 几乎不变。且温度升高基线漂移严重。因此最后确定柱温为 20 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.7 分离机理的探讨

使用 Chiralpak AD-H 手性柱拆分对映体时,流动相中有机改性剂的种类和比例、流速、柱温等因素都对对映体分离有影响。但在本次拆分咪康唑对映体的研究中,有机改性剂的种类是影响对映体拆分的最重要因素。流动相中的有机改性剂不仅可与对映体分子竞争固定相上的手性作用点,与固定相上的氨基甲酸酯基形成氢键,还可以

改变手性空穴的空间环境,使对映体分子与手性空穴中苯基氨基甲酸酯之间的作用发生变化,影响对映体的分离^[6]。

3 结论

通过对分离条件的优化,最后选择用 Chiralpak AD-H 柱分离咪康唑对映体的色谱条件为:正己烷-乙醇(体积比为 90: 10)作流动相,流速: $0.6\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温: 20 $^{\circ}\text{C}$,检测波长: 254 nm。色谱图见图 2。在最佳色谱条件下,供试品溶液连续进样 6 次,对映体 1 和 2(图 2)出峰时间的相对标准偏差(RSD)分别为 0.23% 和 0.46%,峰面积的 RSD 分别为 1.1% 和 1.7%。

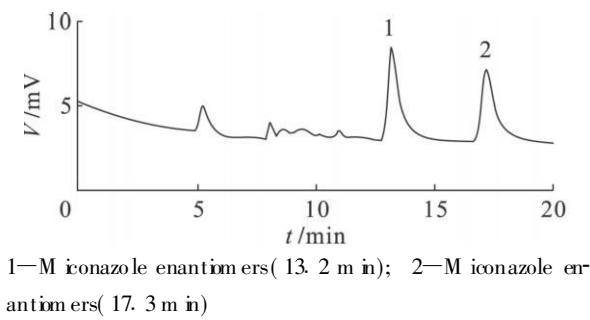


Fig 2 Chromatogram of enantiomeric resolution of miconazole

该分离方法可用于咪康唑对映体的手性分离。

参考文献:

[1] 廖永卫,李鸿勋. 光学活性益康唑和咪康唑的对映体选择性合成及其抗真菌活性[J]. 药学报, 1993, 28 (1): 22- 27.
[2] ZHONG W, YEUNG E S Combinatorial enantiomeric separation of diverse compounds using capillary array electrophoresis [J]. Electrophoresis 2002, 23 (17): 2996

- [3] VAN E A, DETAIEVEM ER M R, CROMMEN J et al
Influence of methanol on the enantioresolution of anilines with carboxymethyl- β -cyclodextrin in capillary electrophoresis [J]. Electrophoresis 2004, 25 (16): 2838
- [4] CHANKVETADZE B, ENDRESZ G, BLASCHKE G.
Enantiomeric resolution of chiral imidazole derivatives using capillary electrophoresis with cyclodextrin-type buffer modifiers [J]. Journal of Chromatography A, 1995, 700: 43-49.
- [5] AOUL-ENE N H Y, ALI I Optimization strategies for HPLC enantioseparation of racemic drugs polysaccharides and macrocyclic lycopeptides antibiotic chiral stationary phases [J]. Farmaco 2002, 57(7): 513
- [6] 王来来, 吕士杰. 2,2,2-三氟-1-(9-蒎基)乙醇对映体在涂敷型手性固定相上的拆分 [J]. 分析化学, 1999, 27(7): 828-831

Chiral separation of miconazole using Chiralpak AD-H chiral column

LIU Yumei¹, YAO Xinling², GUO Xingjie¹

(1. Jinzhou Jiutai Pharmaceutical Co. Ltd., Jinzhou 121012 China; 2. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016 China)

Abstract Objective To establish a chiral separation method for miconazole using high performance liquid chromatographic (HPLC) on Chiralpak AD-H chiral column. **Methods** The influences of the concentration of organic solvents and flow rate of the mobile phase, and temperature were examined. **Results** Miconazole could be separated optimally on Chiralpak AD-H chiral column using n-hexane-alcohol (V:V = 90:10) as mobile phase at a flow rate of 0.6 mL·min⁻¹ and at 25 °C. **Conclusions** The method is simple, quick and reproducible. It can be used for enantioseparation of miconazole.

Key words Chiralpak AD-H chiral column; HPLC; miconazole; enantiomeric separation

(上接第 558 页)

Simultaneous determination of icariin and psoralen in Qiangyang Baoshen pills using HPLC method

GE Jie, YU Kai, FU Yong-hui, XIONG Zhi-li, LI Fan-mei

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016 China)

Abstract Objective To establish an HPLC method for simultaneous determination of icariin and psoralen in Qiangyang Baoshen pills (traditional Chinese medicines). **Methods** The separation was carried out on a Phenomenex C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with acetonitrile-0.05% phosphoric acid (25:75) as eluent, the wavelength was set at 270 nm, the column temperature was maintained at 30 °C, and the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **Results** The linear range of icariin was 0.509-20.400 mg·L⁻¹. The average recovery was 98.8% with RSD = 1.5%; The linear range of psoralen was 0.416-16.600 mg·L⁻¹. The average recovery was 100.8% with RSD = 1.6%. **Conclusions** This method is simple, accurate and reproducible. It can be used for the quality control of Qiangyang Baoshen pills.

Key words Qiangyang Baoshen pills; HPLC; icariin; psoralen