

直链淀粉手性固定相高效液相色谱法 分离泮托拉唑钠对映体及应用

郭兴家^{*1}, 黄云志², 田 朋³, 康平利¹, 于 克¹, 陈 霞¹, 姜玉春¹

(1. 辽宁大学化学学院, 沈阳 110036; 2. 辽宁一成药业有限公司, 沈阳 110016;

3. 海军驻沈阳地区航空军事代表室, 沈阳 110034)

摘 要: 用手性固定相法拆分泮托拉唑钠对映体, 并建立了检测泮托拉唑钠对映体光学纯度的 HPLC 方法。色谱柱为 Chiralpak AD-H 柱 (250 × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 V(正己烷) V(异丙醇) = 40 60, 流速为 0.5 mL/min, 检测波长为 288 nm。该法可用于左旋泮托拉唑钠原料药和制剂的质量控制。

关键词: 高效液相色谱; 泮托拉唑钠; Chiralpak AD-H; 手性固定相

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-0720(2009)04-067-03

泮托拉唑钠是一种新型的抗溃疡药, 用于治疗十二指肠溃疡、胃溃疡、卓-艾氏综合征, 以及缓解中至重度的反流性食管炎。该药分子中含有一手性硫原子(图 1), 临床上以消旋体的形式给药。研究表明左旋体泮托拉唑钠比右旋体有更强的药理作用。目前市场上未见有左旋泮托拉唑钠上市, 关于左旋泮托拉唑钠及其制剂的开发研究正在进行中。

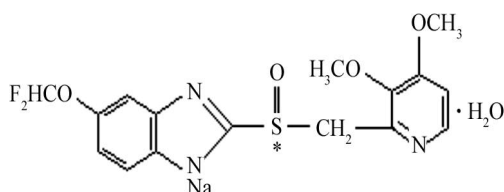


图 1 泮托拉唑钠的结构式

Fig. 1 The structure of pantoprazole sodium

已有报道采用牛血清白蛋白^[1]、卵粘蛋白^[2]、替考拉宁^[3]、纤维素^[4]或 α₁-酸性糖蛋白手性固定相^[5]拆分泮托拉唑钠对映体。本文优化了在 Chiralpak AD-H 手性色谱柱上分离泮托拉唑钠对映体的色谱条件, 并建立了左旋泮托拉唑钠原料药和

制剂中右旋杂质的检查方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC-10AD 高效液相色谱仪、SPD-10A 型紫外可见光检测器(日本岛津公司); Anashtar 色谱工作站(天津 Autoscience 公司)。

泮托拉唑钠对照品(中国药品生物制品检定所); 右旋泮托拉唑钠对照品(自制)、左旋泮托拉唑钠原料药(批号: 060512, 060601, 060812, 自制), 注射用左旋泮托拉唑钠(批号: 061212, 061215, 061220, 自制); 正己烷、异丙醇(色谱纯, 山东禹王化学试剂厂), 其他试剂为分析纯; 水为二次蒸馏水。

泮托拉唑钠(消旋)对照品溶液: 取泮托拉唑钠对照品适量, 用流动相溶解、稀释制成质量浓度为 0.05 mg/mL 的溶液, 过 0.45 μm 滤膜。

1.2 色谱条件

色谱柱: Chiralpak AD-H (250 × 4.6 mm, 5 μm, 日本); 流动相: V(正己烷) V(异丙醇) = 40 60, 流速为 0.5 mL/min, 检测波长: 288 nm; 柱温: 25 ; 进样量: 20 μL。

* 收稿日期: 2008-04-24; 修订日期: 2008-07-19

基金项目: 辽宁省教育厅基金(20060362) 项目资助

作者简介: 郭兴家(1964-), 男, 教授; E-mail: guoxia@sina.com

2 结果与讨论

2.1 泮托拉唑对映体分离条件的优化

2.1.1 流动相中极性调节剂的种类及含量的选择

用异丙醇或乙醇作改性剂时,通过改变其含量,均能使泮托拉唑钠对映体达到完全分离。但用异丙醇作有机改性剂,对映体选择性更强,分离度大且色谱峰形好,故本文选用异丙醇作有机改性剂进行了进一步研究。当异丙醇含量在 80 % ~ 50 % 之间时,随着异丙醇浓度的降低,保留时间和分离度均增大,但选择性因子(α)则几乎不发生变化。减少流动相中极性成分使保留时间增加,有利于对映体的分离。当异丙醇含量低于 60 % 时,分离度虽稍有增大但保留时间太长。因此最后选择流动相中异丙醇的含量为 60 %。

2.1.2 柱温的选择 使用 $V(\text{正己烷}) : V(\text{异丙醇}) = 40 : 60$ 作为流动相,流速为 0.5 mL/min 时,在 20 (室温) 条件下药物对映体的分离度为 4.1。随着柱温的升高,由于溶质在流动相与固定相之间的传质加快,保留时间缩短,分离度降低(见表 1)。柱温的降低虽然会使分离度增大,但保留时间过长,色谱峰变宽。综合考虑以上因素,选择柱温为 25。

2.1.3 流速的选择 在上述流动相条件下,当流速由 0.7 mL/min 降至 0.4 mL/min 时,药物对映体

表 1 柱温对泮托拉唑钠分离的影响

Tab. 1 Effect of column temperature on the separation of pantoprazole sodium enantiomers

柱温 $t/$	右旋体的保留因子 k_2	选择性因子 α	分离度 R
20	1.61	1.63	4.1
25	1.43	1.62	3.8
30	1.35	1.62	3.4
35	1.26	1.63	2.9

分离度由 3.5 增大到 4.0,同时,对映体保留时间增长,但选择性因子(α)变化不大。而降低流速,虽可增加分离度,但分析时间也同时增加。由于大流速会导致高柱压,降低色谱柱的使用寿命,因此,在保留值符合要求的情况下,特别是流动相中极性调节剂的比例较高时,应尽量采用低流速。综合考虑这两个因素,最终选择流速为 0.5 mL/min。

2.2 方法的专属性

在上述色谱条件下,取泮托拉唑钠对照品溶液 20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图,见图 2。从图 2 中可见,左旋体与右旋体达到完全分离,以左旋体色谱峰计算理论塔板数不低于 2500。空白实验表明,注射用泮托拉唑钠中的辅料(甘露醇)对测定没有干扰。

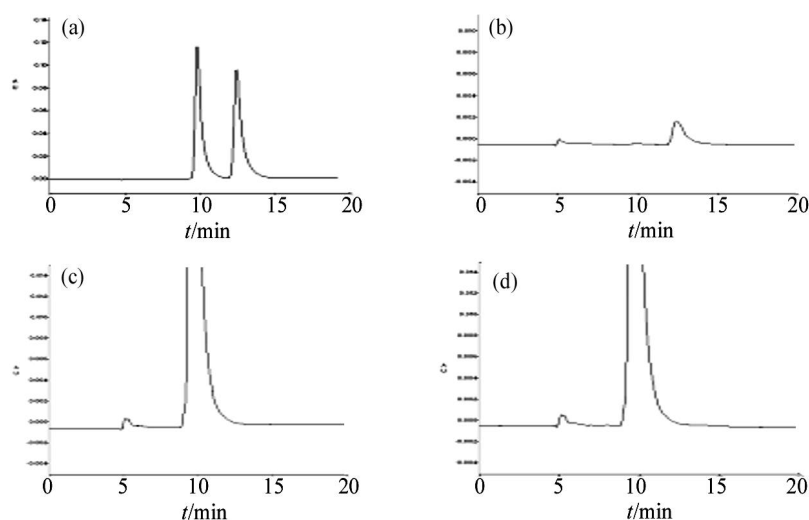


图 2 泮托拉唑钠 HPLC 色谱图

Fig. 2 The chromatograms of pantoprazole sodium

(a) 泮托拉唑钠对照品; (b) 右旋泮托拉唑钠对照品; (c) 左旋泮托拉唑钠原料药; (d) 注射用左旋泮托拉唑钠

2.3 方法的精密度、线性关系和检出限

取右旋泮托拉唑钠对照溶液(4.0 μg/mL),连续进样 6 次,峰面积的 RSD 为 2.4%。配制系列右旋泮托拉唑钠对照品溶液(1.0 ~ 10.0 μg/mL),在上述色谱条件下进样,以右旋泮托拉唑钠浓度(ρ, μg/mL)为横坐标,峰面积(A)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程为: $A = 1.10 \times 10^4 \rho + 1.29 \times 10^3$, $r = 0.9997$ 。当信噪比为 3 时,最低检出限为 0.4 ng。

2.4 左旋泮托拉唑钠中右旋杂质检查方法

取左旋泮托拉唑钠原料药适量,准确称定,用流动相溶解并制成 400 μg/mL 的溶液,作为供试品溶液;另取右旋泮托拉唑钠对照品适量,准确称定,用流动相稀释至 4 μg/mL,作为对照溶液。取对照溶液 20 μL 注入液相色谱仪,调节仪器灵敏度,使主成分峰高为满量程 10% ~ 20%;再取供试溶液 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图至左旋

泮托拉唑钠峰保留时间的 2 倍,供试品溶液中如有右旋体杂质,其峰面积不得大于对照溶液的峰面积(杂质限量为 1%)。

注射用左旋泮托拉唑钠的检查同原料药方法。结果表明,使用该法对三批左旋泮托拉唑钠原料药、三批注射用左旋泮托拉唑钠进行右旋杂质检查,在原料药和制剂中均未检出右旋杂质。

参考文献

- [1] Eberle D, Hummel R, Kuhn R. J Chromatogr A, 1997, 759: 185
- [2] Balmer K, Persson BA, Lagerstrom PO. J Chromatogr A, 1994, 660: 269
- [3] 丁国生,唐安娜,王俊德等. 色谱, 2006, 24(1): 46
- [4] 唐淑含,赵荣淑,任洁等. 色谱, 2006, 24(2): 207
- [5] 谢智勇,钟大放,杨炳华等. 药物分析杂志, 2004, 24(1): 1

Enantioseparation of pantoprazole sodium on amylose chiral stationary phase and its application

GUO Xing-jia^{*1}, HUANG Yun-zhi², TIAN Peng³, KANG Ping-li¹, YU Ke¹, CHEN Xia¹ and JIANG Yu-chun¹
(1. Chemistry College of Liaoning University, Shenyang 110036; 2. Liaoning Yicheng Pharmaceutical Incorporated Company, Shengyang 110014; 3. Military Representatives Office of NED in Shengyang, Shengyang 110034), Fenxi Shiyanshi, 2009, 28(4): 67 ~ 69

Abstract: A chiral stationary phase HPLC method was established for separating the enantiomers of pantoprazole sodium and determining the content of the D-enantiomer. A Chiralpak AD-H column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used with the mobile phase of n-hexane/isopropanol (40/60, V/V). The detection wavelength was set at 288 nm and the flow rate was 0.5 mL/min. The present study provides a simple and reproducible method for the enantiomeric quality control of L-pantoprazole sodium.

Keywords: HPLC; Pantoprazole sodium; Chiralpak AD-H; Chiral stationary phase