

毛细管电泳法分离盐酸地匹福林对映体

李英杰 张春雨 高晴 李芳 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: 建立一种利用毛细管电泳拆分盐酸地匹福林对映体的方法。方法: 采用毛细管区带电泳模式, 以羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)为手性选择剂, HP- β -CD最佳浓度为 $12\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 磷酸盐为缓冲溶液(pH 5.5)、柱温为 20°C 、分离电压 20 kV 、检测波长为 200 nm 。结果: 在上述的优化条件下盐酸地匹福林对映体在 8 min 内达到了基线分离。结论: 采用毛细管电泳法分离盐酸地匹福林对映体, 方法操作简便、快捷、有效, 可用于该药物的质量控制。

关键词: 羟丙基- β -环糊精; 盐酸地匹福林; 肾上腺素; 衍生物; 毛细管电泳; 手性拆分

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2011)07-1350-03

Hydrochloric dipivefrin enantiomers were separated by capillary electrophoresis

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

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

Abstract Objective: A method was developed for enantiomeric separation of dipivefrin in capillary electrophoresis. **Methods:** Enantiomers were separated by capillary zone electrophoresis using hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) as chiral selector, concentration of HP- β -CD was $12\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, phosphate buffer (pH 5.5) as solution, and the column temperature was 20°C , separation voltage was 20 kV , and detection wavelength was 200 nm . **Results:** Under the optimum conditions, enantiomorphous separation of the hydrochloric dipivefrin was attained and clear separation from the baseline was observed within 8 minutes. **Conclusion:** The enantiomers of hydrochloric dipivefrin were separated in capillary electrophoresis mode, this method is simple, fast, effective, and can be used to control the drug quality.

Key words: HP- β -CD; hydrochloric dipivefrin; adrenaline; derivative; capillary electrophoresis; chiral separation

毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)因其与目前常用的HPLC法相比具有: 分离效率高、分离速度快、分离模式多、运行成本低、样品消耗少等特点而成为手性分离的研究热点^[1]。 β -环糊精(β -cyclodextrin, β -CD)及其衍生物因其分子与手性药物对映体之间的包合作用不同而成为毛细管电泳手性拆分研究中最常用的一类手性选择剂^[2,3]。

盐酸地匹福林(hydrochloric dipivefrin)是一种由肾上腺素和特戊酸经二酯化而成的肾上腺素的衍生物, 该药本身并无生物活性, 但进入眼组织后迅速水解成肾上腺素而发挥生物效应, 能引起散瞳和无晶状体性黄斑病变。主要治疗各型青光眼。其疗效较肾上腺素显著, 但毒副作用较小, 是控制眼内压的理

想药物^[5,6], 分子式如图1所示。目前, 仅有高效液相色谱法和反相离子对色谱法对其含量的测定^[7,8], 尚未发现应用毛细管电泳对其手性对映体拆分的相关报道。本文采用毛细管电泳法, 以HP- β -CD作手性选择剂, 对盐酸地匹福林手性对映体进行了拆分, 为其对映体的研究建立了优化、稳定的分离分析方法。

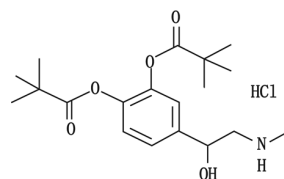


图1 盐酸地匹福林的分子结构

Fig 1 Molecular structure of hydrochloric dipivefrin

1 试验部分

1.1 仪器与试剂 P/ACE_{tm}/MDQ 毛细管电泳仪 (美国贝克曼公司), 石英未涂层毛细管 (50 $\mu\text{m} \times 60.0 \text{ cm}$, 有效长度 50 cm, 河北永年锐丰), FE20 型实验室 PH 计 (梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司)。盐酸地匹福林对照品 (中国药品生物制品检定所, 纯度 99.8%), HP- β -CD (美国贝克曼公司)。其他试剂均为分析纯, 试验用水为二次蒸馏水。

1.2 实验方法

称取一定量手性选择剂 HP- β -CD, 用相应 pH 值的 25 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲溶液溶解, 配制不同浓度的背景电解质溶液, 混合均匀, 置于冰箱中冷藏备用。精密称取盐酸地匹福林 0.0040 g, 用磷酸盐缓冲溶液溶解并稀释至 25 mL, 冷藏备用。样品溶液及缓冲液进样前均经 0.45 μm 超滤膜过滤, 超声脱气处理。

采用正极压力进样, 进样压力 34.5 kPa, 进样时间 5 s, 检测波长 200 nm。开机运行前依次用 0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液和超纯水各冲洗毛细管 10 min, 用背景电解质溶液平衡毛细管 10 min。每两次进样之间用二次去离子水和缓冲液各冲洗 3 min。

2 结果与讨论

2.1 手性选择剂浓度对分离的影响 在手性分离过程中, 手性选择剂的浓度高低与手性识别强弱有关, 在一定程度上会影响到对映体的手性分离。如图 2 所示, 实验考察了以 HP- β -CD 为手性选择剂时其浓度在 6 ~ 20 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的范围内对盐酸地匹福林对映体分离的影响。结果表明, 当 HP- β -CD 的浓度由 6 g/L 逐渐增加到 12 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 与对映体之间的相互作用增强, 使得对映体之间的色谱行为差异扩大, 选择性系数与分离度都在逐渐增加。但当浓度由 12 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 增大到 20 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 分离度则呈下降趋势, 这与 Wren 等^[9] 提出的理论模型相符合, 因此, HP- β -CD 的最佳浓度为 12 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.2 缓冲溶液 pH 对分离的影响 缓冲溶液的 pH 是影响毛细管电泳分离的重要实验参数之一。pH 变化将改变溶质的有效电荷和毛细管表面电荷密度, 从而影响电泳和电渗的平衡; 它的改变可以有效的引起分析物质的带电情况, 使得对映体和环糊精的作用力发生变化, 同时还能影响两对映体的平均迁移率, 从而影响分离效果。如图 3 所示, 实验考查了 pH 在 3.0 ~ 7.0 的缓冲溶液对盐酸地匹福林对映体分离的影响, 结果表明, 当流动相 pH 由 3.10

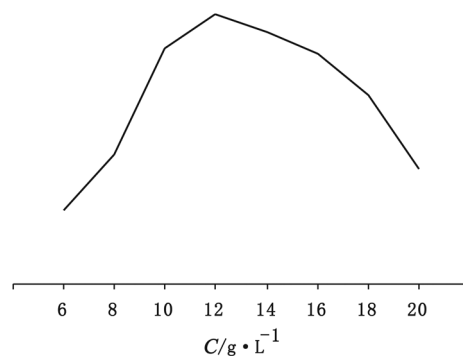


图2 手性选择剂浓度的影响

Fig 2 Effects of HP- β -CD concentration

逐渐增大时, 盐酸地匹福林的分离度逐渐增大; 而当 pH 达到 5.5 时, 其分离度达到最大; 随着 pH 的继续增大, 分离度逐渐减小, 这是由于 pH 的改变影响了对映体分子进入环糊精分子后主客体反应发生了变化, 从而使分离度下降。因此试验确定最佳 pH 为 5.5。

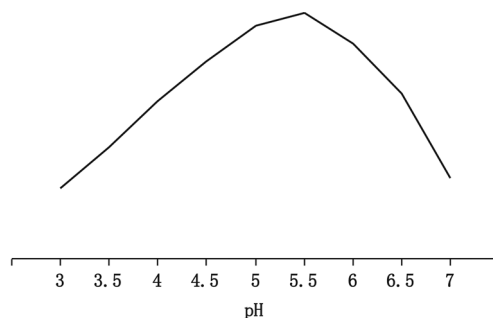


图3 pH 对分离度的影响

Fig 3 Effects of pH on resolution

2.3 电泳电压对分离的影响 电泳电压对分离和迁移时间均能够产生显著的影响。本文考察了 15 ~ 25 kV 的分离电压对分离度和迁移时间的影响。如图 4 所示, 盐酸地匹福林的迁移时间随分离电压的增大而逐渐减小, 分离度逐渐增大, 当电压增加到 20 kV 后, 分离度和信噪比下降, 故选择分离电压为 20 kV。

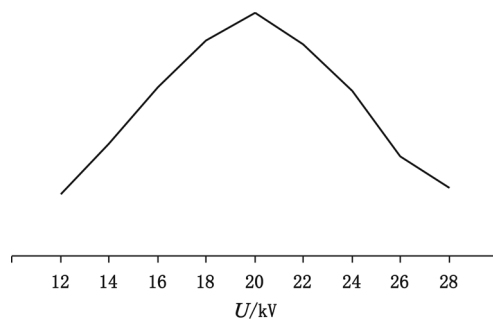


图4 运行电压对分离度的影响

Fig 4 Effects of operating voltage on resolution

2.4 温度对分离的影响 温度对盐酸地匹福林对映体的分离具有显著的影响。随着温度的升高,缓冲溶液的粘度降低,迁移时间缩短,使得盐酸地匹福林对映体的表观电泳迁移率增大,同时,升高温度使得环糊精与盐酸地匹福林对映体之间的包络络合平衡的稳定性降低,减小了手性识别能力,使得盐酸地匹福林对映体的分离度逐渐降低。较低的柱温有利于对映体的分离,但是过低的柱温会增加电解质的粘度,使得分离时间延长,分离度降低。如图5所示,试验确定最佳柱温为20℃。

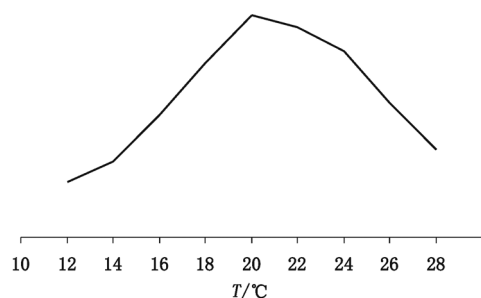


图5 柱温对分离度的影响

Fig 5 Effects of column temperature on resolution

在上述最佳电泳条件下盐酸地匹福林对映体达到了基线分离。分离结果如图6所示。

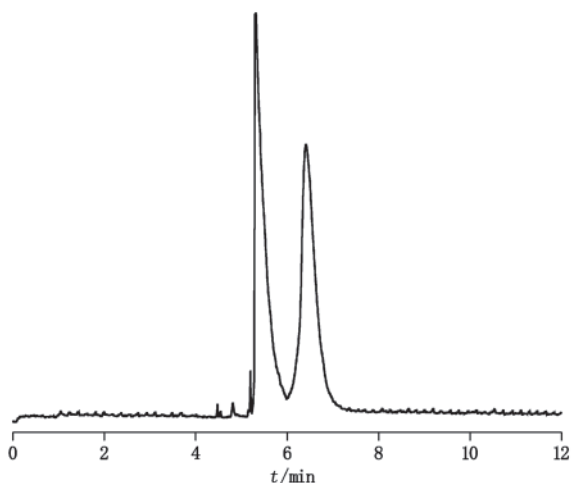


图6 盐酸地匹福林的毛细管电泳分离谱图

Fig 6 Capillary Electropherogram of Hydrochloric Dipivefrin

3 结论

本文在毛细管电泳模式下对盐酸地匹福林对映体进行了手性拆分研究,考察了手性选择剂浓度、缓冲溶液 pH、柱温及分离电压等因素分离的影响。试验结果表明 HP- β -CD 具有优越的手性拆分性能,在优化的条件下,实现了盐酸地匹福林对映体的基线分离,为建立盐酸地匹福林对映体的手性分离提供了一种简便、有效、快捷的分离分析方法。

参考文献

- 1 RADIM V, PETER B. Chiral separation in capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 1999, 20: 2579
- 2 LI Jiao(李蛟), LIU Dao-jie(刘道杰). Progress of the application of β -cyclodextrin and its derivatives in analytical chemistry (β -环糊精及其衍生物在分析化学中的应用进展). *Physical and chemical tests - physical*(理化检验-化学分册) 2003 39(6): 372
- 3 LI Ying-jie(李英杰), CHEN Zhi-chun(陈治春), GAO Li-di(高立娣), et al. Use of Carboxymethyl-poly-cyclodextrin as chiral selective agent in capillary electrophoretic separation of chiral compounds (羧甲基聚合- β -环糊精作为选择剂应用于毛细管电泳法拆分手性化合物). *Phys cheml tests - phys*(理化检验-化学分册) 2009 45(5): 586
- 4 ZHOU Jian-ming(周建明), YE Xin-min(叶新民), LIAO Chuan-hao(廖传浩). The pharmacological and toxicological of Dipivefrin(地匹福林的药理与毒理). *New Drugs Clin Rem*(新药与临床) 1991, 10(5): 272
- 5 BIAN Ling(边玲). The differences of ophthalmological drugs between Ch. P 2005 and Ch. P 2000(中国药典 2005 年版二部与 2000 年版收载眼科用药的对比). *Food Drug*(食品与药品), 2005, 7(5A): 27
- 6 LIU Wan-zhong(刘万忠). Ion-pair RP-HPLC Determination of Dipivefrin and Its Preparations(地匹福林的反相离子对色谱法分析研究). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 1993, 13(6): 366
- 7 WANG Li-yuan(王丽苑), ZHANG Qiang(张强). HPLC Determination of Dipivefrin Hydrochloride in the Ophthalmic Gel(高效液相色谱法测定盐酸地匹福林眼用凝胶剂的含量). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2001 21(3): 188
- 8 WREN C, STEPHEN A. Theoretical aspects of chiral separation in capillary electrophoresis, I initial evaluation of model. *Chromatogr A*, 1992, 603: 235

(本文于2010年9月2日收到)