

# 柱前衍生-反相高效液相色谱法在盐酸伪麻黄碱合成中质量控制的应用

双丰, 李树学, 兰振民, 李志杰, 江国志

(赤峰艾克制药科技股份有限公司, 赤峰 024001)

**摘要** 目的: 利用柱前衍生-反相高效液相色谱法, 完善在合成盐酸伪麻黄碱生产过程中的杂质的限度检查, 为生产过程的杂质控制提供依据。方法: 以(1S)-(+)-氯甲酸薄荷醇酯作为手性衍生化试剂, 采用 Phenomenex Luna C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-水-醋酸-三乙胺(29:20:0.2:0.01)为流动相, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 在 254 nm 处检测。结果: 盐酸伪麻黄碱、盐酸左伪麻黄碱、盐酸右麻黄碱、盐酸麻黄碱的浓度均在 0.033~0.667 μg·mL<sup>-1</sup>范围内线性关系良好( $r > 0.99$ ); 检测限( $SN = 3$ )分别为 56, 56, 58, 56 ng; 定量限( $SN = 10$ )分别为 210, 204, 226, 216 ng; 各对映体均达到基线分离。结论: 方法快速、简便, 重复性好, 灵敏度高, 可用于对合成盐酸伪麻黄碱生产过程中产生的光学异构体进行控制。

**关键词:** 反相高效液相色谱法; 合成; 盐酸伪麻黄碱; 氯甲酸薄荷醇酯; 衍生化

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)09-1504-03

## Application of RP-HPLC with pre-column derivatization in the manufacturing process control of synthetic pseudoephedrine hydrochloride

DING Han-feng, LI Shu-xue, LAN Zhen-min, LI Zhi-jie, JIANG Guo-zhi

(Chifeng Aiker Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Chifeng 024001, China)

**Abstract Objective** To establish an RP-HPLC with pre-column derivatization method for determination of impurities in synthetic pseudoephedrine hydrochloride, to set up limits of impurities for pseudoephedrine hydrochloride in production process. **Methods** (1S)-(+)-menthyl chloroformate was used as chiral derivatization reagent. The separation was carried out on a Phenomenex Luna C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with a mixture of acetonitrile-water-acetic acid-triethylamine (29:20:0.2:0.01) as the mobile phase pumped at a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, and the detection wavelength was 254 nm. **Results** The calibration curves of (+)-pseudoephedrine hydrochloride, (-)-pseudoephedrine hydrochloride, (+)-ephedrine hydrochloride and (-)-ephedrine hydrochloride were linear in the range of 0.033-0.667 μg·mL<sup>-1</sup> ( $r > 0.99$ ); The detection limits ( $SN = 3$ ) were 56, 56, 58, 56 ng respectively; The quantitation limits ( $SN = 10$ ) were 210, 204, 226, 216 ng respectively; each of optical isomers was well isolated. **Conclusion** The method is sensitive, accurate and suitable for optical isomer control in the manufacturing of synthetic pseudoephedrine hydrochloride.

**Key words** RP-HPLC; synthesis; pseudoephedrine hydrochloride; menthyl chloroformate; derivatization

盐酸伪麻黄碱(pseudoephedrine hydrochloride)是拟肾上腺素类药物,主要用于收缩上呼吸道血管,消除鼻咽部粘膜充血。与解热镇痛药配伍,广泛用于伤风、感冒等症。传统的盐酸伪麻黄碱生产方法以麻黄草为原料,采用提取方式而得,近年来,随着对麻黄草的过度采挖,草原沙化严重,麻黄草日益枯

竭,为了保护生态环境,满足市场需求,赤峰艾克制药科技股份有限公司自主研发了化学合成方法生产盐酸伪麻黄碱合成工艺。由于盐酸伪麻黄碱结构中含有2个不对称碳原子,合成工艺的还原氢化过程中,会产生包括盐酸伪麻黄碱在内的2组立体异构体[一组为盐酸右伪麻黄碱(1S, 2S)-(+)-pseudoephed-

rine hydrochloride(即通常所说的盐酸伪麻黄碱)与盐酸左伪麻黄碱(1*R*, 2*R*)-( - )- pseudoephedrine hydrochloride; 另一组为盐酸左麻黄碱(1*R*, 2*S*)-( - )- ephedrine hydrochloride(即通常所说的盐酸麻黄碱)与盐酸右麻黄碱(1*S*, 2*R*)-( + )- ephedrine hydrochloride)。除盐酸伪麻黄碱外其他3种物质均作为杂质,需在生产过程中进行控制,而盐酸伪麻黄碱与盐酸麻黄碱为差向异构体,在常规液相色谱中即可分离<sup>[1]</sup>,但盐酸左伪麻黄碱与盐酸右麻黄碱则不能通过常规反相液相色谱法分离,须采用手性分析,而常用的手性分析色谱柱由于其价格较高,且不耐用,因此用于生产过程控制不方便。本文通过采用柱前衍生法,能经济、方便地用于生产过程控制。由于盐酸左伪麻黄碱与盐酸右麻黄碱的旋光差异,可与手性分析结果进行对比,从而通过比旋度值控制杂质含量。

### 1 仪器与试剂

Waters高效液相色谱系统(包括600 Pump紫外检测器),CBM-102色谱工作站。

合成盐酸伪麻黄碱生产过程中的氢化还原后的盐酸伪麻黄碱及其他少量光学异构体反应液样品(批号0807009)、盐酸伪麻黄碱对照品(批号080525,99.6%)、盐酸左伪麻黄碱对照品(批号080501,99.5%)、盐酸麻黄碱对照品(批号080622,99.5%)、盐酸右麻黄碱对照品(批号080602,99.4%)均由赤峰艾克制药科技股份有限公司提供。(1*S*)-( + )-氯甲酸薄荷醇酯[(1*S*)-( + )-menthyl chloroformate,99%],百灵威(J&K)公司;二氯甲烷、醋酸、三乙胺、甲醇均为分析纯,北京化学试剂公司;乙腈为色谱纯,北京化学试剂公司。

### 2 色谱条件

色谱柱:Phenomenex Luna C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水-醋酸-三乙胺(29:20:0.2:0.01);流速:1.0 mL · min<sup>-1</sup>;检测波长:254 nm。

### 3 衍生化方法

取盐酸伪麻黄碱样品100 mg于10 mL量瓶中,加入三乙胺0.2 mL、二氯甲烷5 mL,振摇至样品完全溶解,加二氯甲烷定容至刻度,即得供试品溶液。吸取供试品溶液1 mL于具塞试管中,加入衍生化试剂[200 μL的(1*S*)-( + )-氯甲酸薄荷醇酯溶于0.5 mL二氯甲烷中]50 μL,密塞,混匀振摇20 min,空气吹干二氯甲烷,加入甲醇0.6 mL,溶解,取20 μL进样,色谱图见图1。

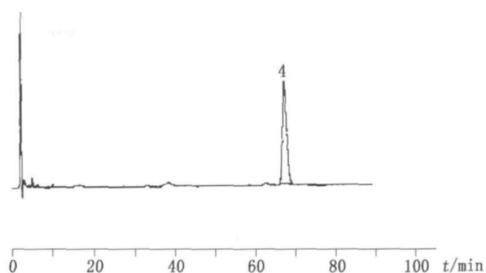


图1 色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram

4. 盐酸伪麻黄碱衍生物[(+)-pseudoephedrine hydrochloride derivative]

### 4 实验步骤

4.1 合成盐酸伪麻黄碱工艺中4个光学异构体的定位 称取4种光学异构体—盐酸伪麻黄碱、盐酸左伪麻黄碱、盐酸右麻黄碱、盐酸麻黄碱各25 mg置同一10 mL量瓶内,按“3”项下方法操作,得图2。盐酸右麻黄碱、盐酸麻黄碱、盐酸左伪麻黄碱、盐酸伪麻黄碱的衍生物保留时间分别为49.2,53.1,62.8,68.0 min。

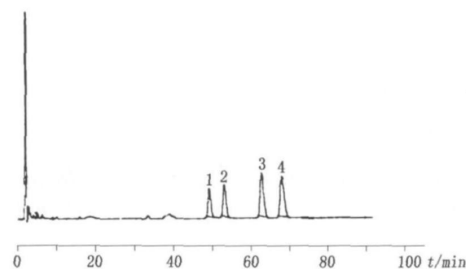


图2 色谱图

Fig 2 HPLC chromatogram

1. 盐酸右麻黄碱衍生物[(+)-ephedrine hydrochloride derivative]  
2. 盐酸麻黄碱衍生物[(-)-ephedrine hydrochloride derivative]  
3. 盐酸左伪麻黄碱衍生物[(-)-pseudoephedrine hydrochloride derivative]  
4. 盐酸伪麻黄碱衍生物[(+)-pseudoephedrine hydrochloride derivative]

4.2 盐酸麻黄碱对照品及盐酸左伪麻黄碱对照品衍生化后保留时间再确认 将盐酸麻黄碱、盐酸左伪麻黄碱对照品按“3”项下方法衍生后分别进样,得图3-A、B。

4.2 线性关系 分别称取“4.1”项下4种异构体的混合物10,20,50,100,200 mg按“3”项下方法操作后进样,以浓度*X*为横坐标,对应的峰面积*Y*为纵坐标作线性回归,结果盐酸伪麻黄碱、盐酸左伪麻黄碱、盐酸右麻黄碱、盐酸麻黄碱回归方程分别为:

$$Y = 2.82X - 0.08 \quad r = 0.9912$$

$$Y = 3.35X - 0.46 \quad r = 0.9943$$

$$Y = 2.06X - 0.18 \quad r = 0.9902$$

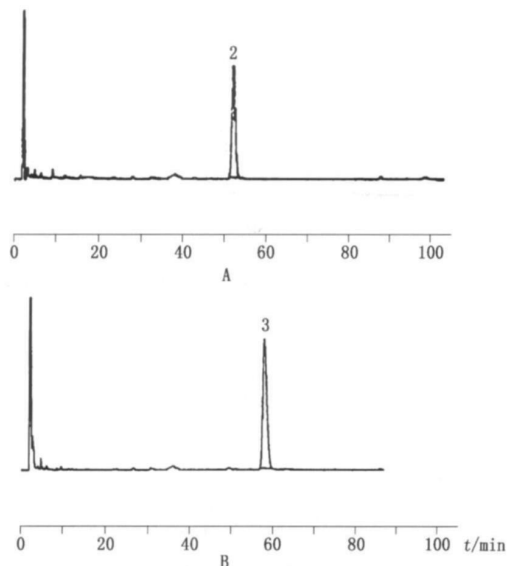


图 3 盐酸麻黄碱衍生物 (A) 及盐酸左伪麻黄碱衍生物 (B) 色谱图

Fig 3 HPLC chromatograms of (-)-ephedrine hydrochloride derivative

(A) and (-)-pseudoephedrine hydrochloride derivative (B)

- 2 盐酸麻黄碱衍生物 [(-)-ephedrine hydrochloride derivative, 52.5 min] 3. 盐酸左伪麻黄碱衍生物 [(-)-pseudoephedrine hydrochloride derivative, 61.7 min]

$$Y = 1.72X - 0.23 \quad r = 0.9968$$

线性范围均为  $0.033 \sim 0.667 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

**4.3 检测限与定量限** 取上述线性方程中的最小浓度溶液, 逐步稀释, 当信噪比为 3:1 时, 盐酸伪麻黄碱、盐酸左伪麻黄碱、盐酸右麻黄碱、盐酸麻黄碱检测限分别为  $2.8, 2.8, 2.9, 2.8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; 当信噪比达 10:1 时, 定量限分别为  $10.5, 10.2, 11.3, 10.8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

### 5 生产过程监控

取合成盐酸伪麻黄碱生产过程中的氢化还原后的盐酸伪麻黄碱及其他少量光学异构体反应液样品 1 mL, 按“3”项下方法进行操作, 进样, 可以得到 4 种衍生物的色谱峰, 其中 4 个峰的保留时间与 4 种异构体混合物的保留时间一致, 另一个 101 min 峰经验证为氢化反应过程中的未完全反应的原料, 见图 4。

### 6 讨论

在生产过程中, 盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱是

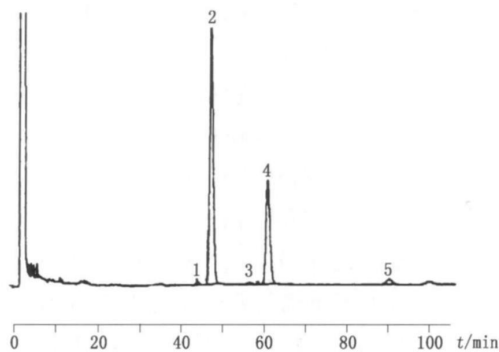


图 4 色谱图

Fig 4 HPLC chromatogram

1. 盐酸右麻黄碱衍生物 [(+)-ephedrine hydrochloride derivative]  
2. 盐酸麻黄碱衍生物 [(-)-ephedrine hydrochloride derivative]  
3. 盐酸左伪麻黄碱衍生物 [(-)-pseudoephedrine hydrochloride derivative]  
4. 盐酸伪麻黄碱衍生物 [(+)-pseudoephedrine hydrochloride derivative]  
5. 氢化反应过程中未完全反应的原料 (stuff of incomplete reaction in the hydrogenation reaction)

一对差向异构体, 生产过程中通过参数控制, 可将盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱彻底分离, 其检测可采用 2005 年版中国药典二部盐酸伪麻黄碱项下的方法。但对盐酸麻黄碱的光学异构体即盐酸右麻黄碱与盐酸伪麻黄碱的光学异构体即盐酸左伪麻黄碱的含量, 则需用上述方法进行测定。

本方法在合成盐酸伪麻黄碱生产过程中, 对于监控生产过程中杂质的含量, 保证产品质量, 起到非常重要作用。

参考文献 [2] 以 (1R)-(-)-氯甲酸薄荷醇酯作为手性衍生化试剂, 价格较高, 而本文用 (1S)-(+)-氯甲酸薄荷醇酯代替 (1R)-(-)-氯甲酸薄荷醇酯, 分离效果一样, 而价格仅为前者 1/4。

### 参考文献

- 1 ChP(中国药典). 2005. vol II (二部): 499
- 2 LUAN Yan(栾燕), CHEN Xiao-yan(陈笑艳), SI Duan-yun(司端运), et al. Enantiomer analysis of ephedrine by RP-HPLC with precolumn derivatization(麻黄碱对映异构体的柱前手性衍生化-反相高效液相色谱法拆分). *J. Instrum Anal*(分析测试学报), 2001, 20(5): 12

(本文于 2009 年 2 月 11 日收到)