

西酞普兰中间体在纤维素键合手性固定相上的拆分^{*}

袁庆东, 郑琳, 孙明聪, 王保国, 张金利, 李伟华^{**}

(天津大学化工学院, 教育部绿色合成与转化重点实验室, 天津 300072)

摘要 目的: 建立西酞普兰中间体(CTD)手性对映体的高效液相色谱分析方法, 用于测定不同分离过程所得产品的光学纯度。方法: 采用 Chiralpak IC(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 键合型手性柱, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 25 °C, 系统考察了以正己烷为主体的标准流动相和四氢呋喃、甲基叔丁基醚、二氯甲烷等非标准流动相体系中 CTD 对映体的分离效果; 在优选的 2 种流动相中进一步考察了柱温对分离的影响以及系统适用性。结果: 优选的标准流动相正己烷-正丙醇-三乙胺(80:20:0.1, v/v) 中 CTD 对映体的分离度为 9.04; 非标准流动相正己烷-二氯甲烷-乙醇-二乙胺(50:50:2:0.1, v/v) 中 CTD 对映体的分离度为 10.22, S-(-)-CTD 先于 R-(+)-CTD 出峰。结论: CTD 对映体在优选的流动相中分析时间短、分离度高、系统适用性好, 所建立的分析方法高效、快速, 重现性好, 可用于西酞普兰中间体的光学纯度测定。

关键词: 西酞普兰; 中间体; 手性固定相; 对映体分离; 光学纯度测定; 高效液相色谱; 流动相优选

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2011)12-2244-05

Enantiomeric resolution of citadiol on immobilized cellulose chiral stationary phase^{*}

YUAN Qing-dong, ZHENG Lin, SUN Ming-cong,

WANG Bao-guo, ZHANG Jin-li, LI Wei-hua^{**}

(Key Laboratory for Green Chemical Technology of Ministry of Education, School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC method for the chiral separation of citadiol(CTD) enantiomers to determine the optical purity of products using different separation processes. **Methods:** The column used was Chiralpak IC(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) at a flow rate of 1.0 mL · min⁻¹ and 25 °C. Effects of standard mobile phases including the bulk of hexane and nonstandard mobile phases involving tetrahydrofuran, methyl tertiary butyl ether, methylene chloride, etc. were studied on the chiral separation of CTD. Effects of temperature and the system applicability test were investigated using the optimal mobile phases. **Results:** The optimal standard mobile phase consisted of hexane-*n*-propanol-TEA(80:20:0.1, v/v) with the resolution value of 9.04, while the optimal nonstandard one was hexane-CH₂Cl₂-ethanol-DEA(50:50:2:0.1, v/v) with the resolution value of 10.22. S-(-)-CTD eluted prior to R-(+)-CTD. **Conclusion:** Using the optimal mobile phases CTD enantiomers can be separated in short time, with high resolution values and good system applicability. These methods can be used to determine the optical purity of CTD with high efficiency and good repetition.

Key words: citalopram; midbody; chiral stationary phase; enantiomeric separation; optical purity determination; HPLC; mobile phases optimization

西酞普兰(citalopram, CIT), 化学名称为 [1-(3-甲基氨基丙基)-1-(4'-氟代苯基)-1,3-二氢苯并呋喃-5-腈] (结构见图 1), 是选择性 5-

羟色胺再摄取抑制剂, 用于抑郁性精神障碍的急性和常规治疗。CIT 分子含有 1 个手性中心, 有 S-(+)-和 R-(-)-2 个对映异构体, S-比 R-对

映体的抗抑郁作用至少强 100 倍^[1]。S-(-)-4-
- [4-(二甲基氨基)-1-(4'-氟苯基)-1-羟
基丁基]-3-(羟基甲基)-苄腈(S-(-)-CTD)
是合成 S-(+)-CIT 的一种重要中间体,环合 S-(
-)-CTD 可以制备 S-(+)-CIT^[2],因此必须
检测 CTD 对映体的纯度,消除 R-(+)-CTD 杂质
才能获得光学纯度的 S-(+)-CIT,建立 CTD 对
映体的高效检测方法十分重要。Rao 等^[3]用 Chiral-
pak AD-H 涂敷型手性柱在正己烷-乙醇-三乙
胺(80:20:0.1, v/v) 正相条件下分离 CTD 对映体,
分离度为 3.12,系统适用性考察 S-(-)-和 R-(
+)-对映体的理论塔板数为 2900 和 2560,拖尾
因子为 1.24 和 1.18。但涂敷型手性柱在使用四氢
呋喃、甲基叔丁基醚、氯代试剂等有机溶剂作为流动
相时,手性固定相会被部分或全部溶胀或溶解,破坏
了空间结构而失去手性识别能力,键合型手性柱则
不易受上述溶剂的破坏^[4]。本文首次采用 Chiral-
pak IC 键合型手性柱,对比常规的正己烷-醇类-
三乙胺标准流动相,兼顾保留时间和分离度,研究了
四氢呋喃、甲基叔丁基醚和二氯甲烷中 CTD 对映体
的分离效果,优选出正己烷-二氯甲烷-乙醇-二
乙胺(50:50:2:0.1, v/v),分离度为 10.22,系统适
用性考察 S-(-)-和 R-(+)-对映体的理论塔
板数为 12819 和 11903,拖尾因子为 1.03 和 1.01。

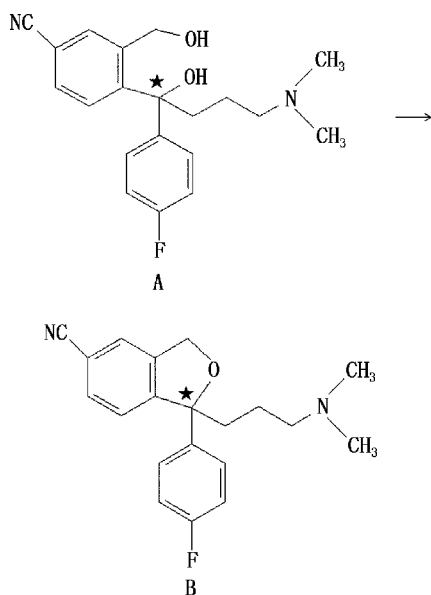


图 1 消旋西酞普兰及中间体结构

Fig 1 Structure of racemic citalopram(CIT) and citaliol(CTD)

1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪由 G1310A 单元
泵、G1314B 紫外可见波长检测器、B. 04. 01 化学工

作站组成。

CTD 消旋体由江苏某医药有限公司提供; S-(
-)-CTD 自制^[5],通过¹H NMR 确认结构, $[\alpha]_D^{20}$
= -91.18°(c=1, CHCl₃), 报道为 -90.75°(c=1,
CHCl₃)^[6],采用 HPLC 法对所得产物进行手性分
析。

正己烷、乙醇(天津康科德试剂有限公司); 甲
醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、二氯甲烷、甲基叔丁
基醚、四氢呋喃、二乙胺、三乙胺、1,3,5-三叔丁基苯
(天津科密欧试剂有限公司),均为色谱纯。

2 色谱条件

手性柱: Chiralpak IC(250 mm×4.6 mm, 5 μm,
大赛璐药物手性技术上海有限公司); 标准流动相
为加入醇类添加剂的正己烷正相体系,检测波长
240 nm; 非标准流动相为正己烷-四氢呋喃-二乙
胺、正己烷-二氯甲烷-乙醇-二乙胺、甲基叔丁
基醚-乙醇-二乙胺,检测波长分别为 240, 245, 250
nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 25 °C; 死时间 t_0 由
1,3,5-三叔丁基苯测定; 进样量: 20 μL。

3 样品溶液的制备

取 CTD 消旋体适量,以少量甲醇溶解后用流动
相稀释,配成对映体浓度为 0.1 mg·mL⁻¹ 的溶液,
经 0.45 μm 微孔膜过滤,5 °C 保存备用。

4 结果与讨论

4.1 流动相组成对分离的影响

分别用乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇配制标准
流动相,用四氢呋喃、二氯甲烷、甲基叔丁基醚配制
非标准流动相,考察 IC 柱在 2 类流动相中对 CTD
对映体的分离效果,结果见表 1。

4.1.1 标准流动相体系中,对映体的保留因子和保
留时间顺序为乙醇<正丙醇<正丁醇<异丙醇,这
是因为直链醇碳链的增长能减弱醇羟基与手性固定
相上氢键位点结合的能力,有利于对映体与手性固
定相结合,增强了对映体的保留^[7];对映体在异
丙醇中的保留因子最大,是因为空间位阻减弱了异
丙醇对氢键作用位点的竞争,使对映体的保留增
强^[8];分离因子和分离度顺序为乙醇<正丁醇<正
丙醇<异丙醇,这是因为醇结构的不同可能导致手
性固定相空腔的立体环境不同,使对映体分子与空
腔中氨基甲酸酯的相互作用发生变化^[9]。结果表
明,添加正丙醇时,对映体的保留时间相对较短,分
离度相对较大,优于报道的 3.12^[3],因此将正己烷
-正丙醇-三乙胺(80:20:0.1, v/v) 确定为最佳标
准流动相,色谱图见图 2-A。

4. 1. 2 非标准流动相体系中,对映体在二氯甲烷中分离度最高,尽管在甲基叔丁基醚中的保留时间缩短,但分离度也有所降低,不过 3 种流动相均能达到基线分离,表明它们都可用来分析和检测 CTD 对映

体,可根据不同分析目的选择相应的流动相,实现对映体的快速分析。本文优选分离度大的正己烷-二氯甲烷-乙醇-二乙胺体系,色谱图见图 2-B,并进一步研究柱温的影响以及系统适用性。

表 1 流动相组成对西酞普兰中间体拆分的影响
Tab 1 The effect of mobile phase composition on the resolution of CTD

流动相 (mobile phase)	保留时间 (retention time, t_R) / min		保留因子 (retention factor, k)		分离因子 (separation factor)	分离度 (resolution)
	t_{R1}	t_{R2}	k_1	k_2	α	R_s
标准流动相体系(standard mobile phase, 80: 20: 0. 1, v/v)						
正己烷-乙醇-三乙胺(hexane-ethanol-TEA)	7. 51	9. 49	1. 25	1. 85	1. 48	5. 98
正己烷-正丙醇-三乙胺(hexane- <i>n</i> -propanol-TEA)	9. 31	14. 43	1. 99	3. 64	1. 83	9. 04
正己烷-异丙醇-三乙胺(hexane- <i>iso</i> -propanol-TEA)	14. 90	29. 26	3. 82	8. 47	2. 22	12. 07
正己烷-正丁醇-三乙胺(hexane- <i>n</i> -butanol-TEA)	11. 84	17. 71	2. 89	4. 82	1. 67	6. 96
非标准流动相体系(nonstandard mobile phase, v/v)						
正己烷-四氢呋喃-二乙胺(hexane-THF-DEA) 80: 20: 0. 1	7. 42	10. 56	1. 38	2. 39	1. 73	9. 25
正己烷-二氯甲烷-乙醇-二乙胺(hexane-CH ₂ Cl ₂ -ethanol-DEA) 50: 50: 2: 0. 1	6. 89	10. 01	1. 26	2. 29	1. 81	10. 22
甲基叔丁基醚-乙醇-二乙胺(MtBE-ethanol-DEA) 95: 5: 0. 1	3. 98	4. 95	0. 302	0. 62	2. 05	5. 37

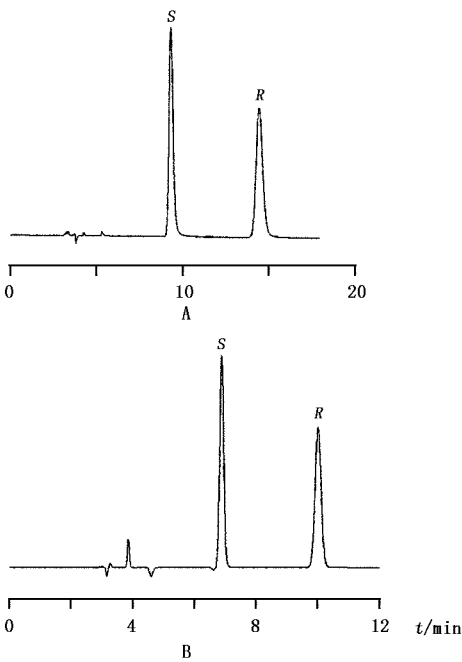


图 2 西酞普兰中间体对映体的分离色谱图

Fig 2 Chromatograms of CTD enantiomers

流动相(mobile phase): A. 正己烷(*n*-hexane) - 正丙醇(*n*-propanol) - 三乙胺(TEA) (80: 20: 0. 1) B. 正己烷(*n*-hexane) - 二氯甲烷(CH₂Cl₂) - 乙醇(ethanol) - 二乙胺(DEA) (50: 50: 2: 0. 1)

4. 2 温度对分离的影响 针对优选的标准流动相,正己烷-正丙醇-三乙胺(80: 20: 0. 1, v/v),非标准流动相正己烷-二氯甲烷-乙醇-二乙胺(50: 50: 2: 0. 1, v/v),考察温度对分离的影响(见图 3)。色谱参数、柱温与热力学参数的关系用以下公式计

算^[4]:

$$\ln k_i = - \left(\frac{\Delta H^0}{RT} \right) + \left(\frac{\Delta S^0}{R} \right) + \ln \Phi \tag{1}$$

$$\ln \alpha = - \left(\frac{\Delta \Delta H^0}{RT} \right) + \left(\frac{\Delta \Delta S^0}{R} \right) \tag{2}$$

式中 k_i 是对映体的保留因子, α 是分离因子, R 是气体常数, T 是柱温(单位: K), Φ 是相比, $\Delta \Delta H^0$ 是 2 个对映体从流动相传递到固定相并与固定相形成缔合物的焓变之差^[5], $\Delta \Delta S^0$ 表示熵变之差,反映 2 个对映体与手性选择剂作用过程构象匹配性的差别程度^[6]。

在 15 ~ 35 ℃ 范围内,图 3-A、B 显示 CTD 对映体在标准流动相中的 $\ln k_i$ 和 $\ln \alpha$ 与 $1/T$ 线性关系良好,分离因子和保留因子随温度升高而减小;图 3-C、D 显示对映体在非标准流动相中的 $\ln k_i$ 与 $1/T$ 呈非线性,而 $\ln \alpha$ 与 $1/T$ 呈线性,这是因为使 $\ln k_i$ 与 $1/T$ 呈非线性关系的因素对 2 个对映体的影响相同,所以没有影响它们的手性识别^[1],分离因子随温度升高而减小。由 $\ln \alpha$ 与 $1/T$ 关系曲线的斜率和截距求得对映体在 2 种流动相下的 $\Delta \Delta H^0$ 和 $\Delta \Delta S^0$ 均为负值(见表 2),说明它们在 IC 柱上的拆分过程为焓驱动, $R-(+)$ -CTD 与手性固定相存在更强的相互作用。另外,对映体在标准和非标准流动相中的 $\Delta \Delta H^0$ 和 $\Delta \Delta S^0$ 数值基本接近,说明 IC 柱对 CTD 的分离能力稳定。经过验证,上述流动相中始终是 $S-(-)$ -较 $R-(+)$ -对映体先出峰。

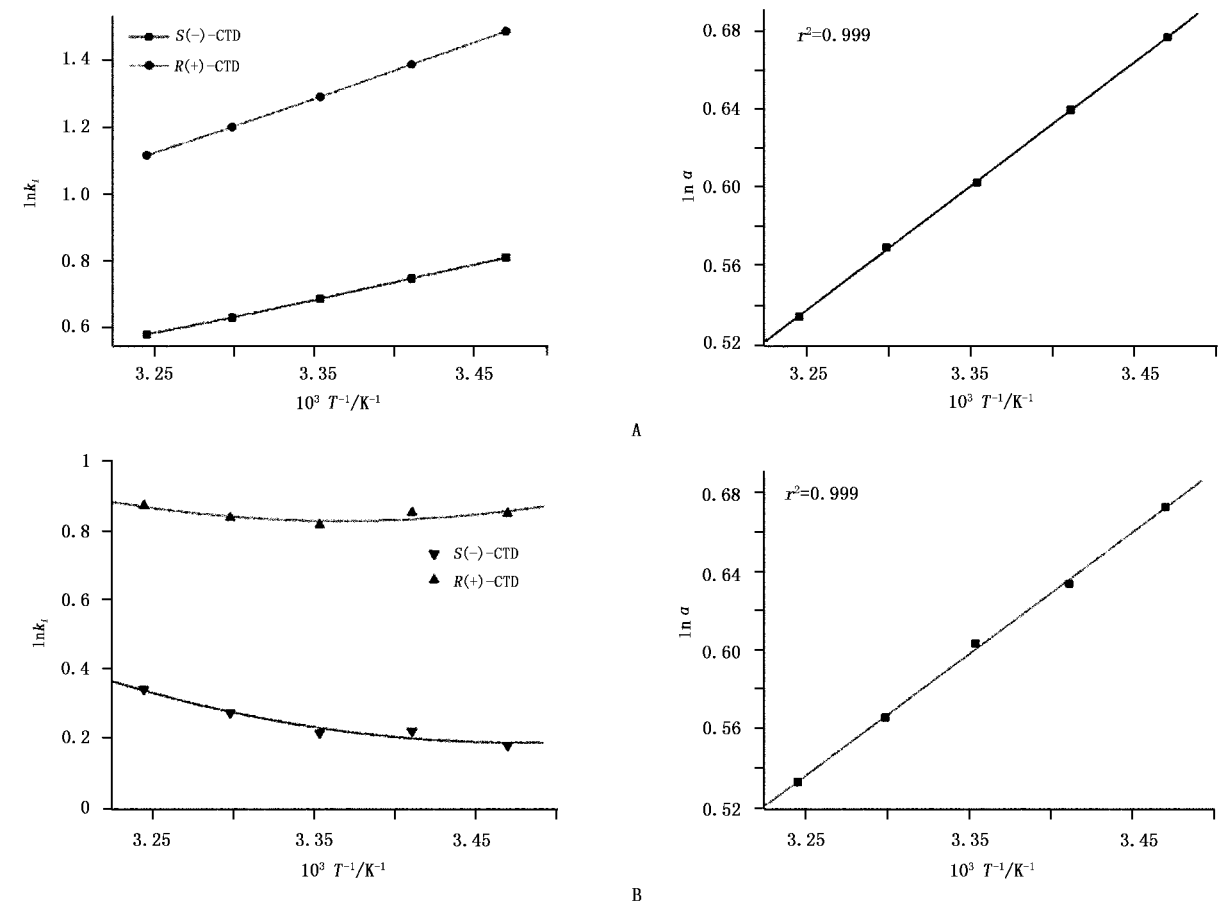


图3 西酞普兰中间体的 $\ln k_i$ 和 $\ln \alpha$ 对 $1/T$ 关系图

Fig 3 Dependence of $\ln k_i$ and $\ln \alpha$ for CTD on $1/T$

A ~ D. 同图 2(same as Fig 2)

表 2 西酞普兰中间体对映体的 $\Delta\Delta H^0$ 和 $\Delta\Delta S^0$ 值
Tab 2 Thermodynamic values $\Delta\Delta H^0$ and $\Delta\Delta S^0$ for CTD enantiomers

流动相 (mobile phase)	$\Delta\Delta H^0$ /kcal • mol ⁻¹ • K ⁻¹	$\Delta\Delta S^0$ /cal • mol ⁻¹ • K ⁻¹
正己烷 – 正丙醇 – 三乙胺 (n-hexane – n-propanol – TEA)	- 1. 25	- 3. 00
正己烷 – 二氯甲烷 – 乙醇 – 二乙胺 (n-hexane – CH ₂ Cl ₂ – ethanol – DEA)	- 1. 23	- 2. 92

4.3 系统适用性

在优选的 2 种流动相中对同一样品同 1 d 连续测定 6 次,系统适用性参数见表 3,其中重复性是通过衡量保留时间和峰面积的相对标准偏差(RSD) 是否符合中国药典要求而确定的。

由表 3 可知,CTD 对映体在 Chiralpak IC 键合型手性柱上的理论塔板数和分离度高于使用 Chiralpak AD – H 涂敷型手性柱时的数值^[3],说明柱效高,对映体分离程度更好;在二氯甲烷体系中的拖尾

表 3 流动相下的系统适用性

Tab 3 System suitability under both standard and nonstandard mobile phase

流动相 (mobile phase)	对映体 (enantiomer)	理论塔板数 (theoretical plate number)	拖尾因子 (tailing factor)	保留时间的 RSD (RSD of retention time) /%	峰面积的 RSD (RSD peak area) /%	分离度 (resolution) R_s
正己烷 – 正丙醇 – 三乙胺(hexane – n – propanol – TEA) 80: 20: 0. 1, v/v	S – (–) – CTD	7633	1. 26	0. 04	1. 18	9. 04
	R – (+) – CTD	6701	1. 16	0. 03	1. 09	
正己烷 – 二氯甲烷 – 乙醇 – 二乙胺(hexane – CH ₂ Cl ₂ – ethanol – DEA) 50: 50: 2: 0. 1, v/v/v	S – (–) – CTD	12819	1. 03	0. 03	0. 95	10. 22
	R – (+) – CTD	11903	1. 01	0. 03	1. 03	

因子符合中国药典规定的 0.95 ~ 1.05 的要求,说明峰形对称,分离效果良好;保留时间和峰面积的 RSD 均符合药典规定的小于 2.0% 的要求,说明方法重复性良好;上述参数表明,色谱系统在 2 种流动相中的适用性和分离效果良好,重复性佳,可用于 CTD 对映体的高效、快速检测。

5 结论

本文采用 Chiralpak IC 键合型手性柱研究了西酞普兰中间体(CTD)对映体的检测方法,通过标准流动相中醇类添加剂的对比及非标准流动相体系的分离结果,优选出 2 种流动相,使 CTD 对映体的分析时间短、分离度高、系统适用性好。温度变化的影响表明对映体在 IC 柱上的分离过程受焓变控制。

参考文献

- 1 Sorbera LA, Revel L, Martín L, *et al.* Escitalopram oxalate. *Drug Fut*, 2001, 26(2): 115
- 2 Boegesoe KP, Perregaard J. Pharmaceutically useful (+) - 1 - (3 - dimethylaminopropyl) - 1 - (4' - fluorophenyl) - 1,3 - dihydrosobenzofuran - 5 - carbonitrile and non - toxic acid addition salts thereof. US: 4943590, 1990 - 7 - 24
- 3 Rao RN, Raju AN. Enantiospecific assay of citadiol - A key intermediate of escitalopram by liquid chromatography on Chiralpak AD - H column connected with UV and polarimetric detectors in series. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 43(1): 311
- 4 Zhang T, Kientzy C, Franco P, *et al.* Solvent versatility of immobilized 3,5 - dimethylphenyle - arbamate of amylose in enantiomeric separations by HPLC. *J Chromatogr A*, 2005, 1075(1-2): 65
- 5 MEI Ru - nan (梅汝南), GUO Dian - wu (郭殿武), WANG Shu

- long (王树龙). Crystalline citalopram diol intermediate alkali (西酞普兰中间晶体碱). WO: 2005092875, 2005 - 10 - 6
- 6 Mital A, Kumar R, Ramachandran U. An improved resolution process for the preparation of antidepressant drug: escitalopram. *Org Prep Proced Int*, 2006, 38(4): 423
- 7 YU Qin(余勤), NAN Feng(南峰), XIANG Jin(向瑾), *et al.* Retention characteristics and separation mechanism of enantiomers of arylpropionic acid nonsteroidal antiinflammatory drugs with OJ column(OJ 手性柱分离芳基烷酸类非甾体解热镇痛药的色谱保留特性和拆分机理). *Acta Chim Sin*(化学学报), 2008, 66(9): 1079
- 8 TANG Lan(唐岚), YU Hai - ning(于海宁), LI Cheng - ping(李成平), *et al.* Study on the chiral resolution of antifungal drugs econazole and miconazole enantiomers(抗真菌药益康唑和咪康唑对映体的手性拆分研究). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2008, 28(6): 917
- 9 ZHOU Jie(周婕), YANG Yi - wen(杨亦文), WU Ping - dong(吴平东), *et al.* Chiral separation of fluoxetine hydrochloride by HPLC with amylose chiral stationary phase(直链淀粉手性固定相拆分氟西汀对映体). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2006, 26(12): 1818
- 10 O'Brien T, Crocker L, Thompson R, *et al.* Mechanistic aspects of chiral discrimination on modified cellulose. *Anal Chem*, 1997, 69(11): 1999
- 11 Oberleitner WR, Maier NM, Lindner W. Enantioseparation of various amino acid derivatives on a quinine based chiral anion - exchange selector at variable temperature conditions. Influence of structural parameters of the analytes on the apparent retention and enantioseparation characteristics. *J Chromatogr A*, 2002, 960(1-2): 97

(本文于 2011 年 4 月 13 日收到)

《药物分析杂志》编辑部声明

本刊已开通在线投稿编辑系统,并上网“中国学术期刊网络出版总库”,作者稿件一经本刊录用,将同时被“中国学术期刊网络出版总库”收录,进入因特网提供信息服务,并通过本刊在线系统实现文摘查询(非营利性)。本刊所付稿酬包含刊物内容上网服务报酬,不再另付。作者如不同意,请在投稿时向本刊书面声明,否则将视为同意本刊网络传播权。