

# $\beta$ -环糊精/离子液体/毛细管电泳法拆分3种手性药物

李云\*,赵胜芳,崔瑞杰,娄素琴(新乡市中心医院,河南新乡 453000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)25-2380-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.25.28

**摘要** 目的:建立拆分氯苯那敏、特布他林和二氧丙嗪3种手性药物的方法。方法:以 $\beta$ -环糊精( $\beta$ -CD)和离子液体1-丁基-2,3-二甲咪唑-四氟硼酸盐(IL)联用作为手性选择剂,采用毛细管电泳法拆分3种药物,考察了 $\beta$ -CD和IL的浓度、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲溶液的pH值、电压对对映体分离的影响。结果:最优 $\beta$ -CD和IL的浓度分别为10.0、20.0 mmol/L,pH值为2.5,电压为20 kV。此条件下氯苯那敏、特布他林和二氧丙嗪达到最大分离,分离度分别为3.2、1.9、1.8。结论:建立的 $\beta$ -CD/IL/毛细管电泳法为手性药物的分离提供了新的方法。

**关键词** 手性药物;离子液体; $\beta$ -环糊精;对映体拆分;毛细管电泳法

## Separation of 3 Kinds of Chiral Drugs by $\beta$ -CD/Ionic Liquid/Capillary Electrophoresis

LI Yun, ZHAO Sheng-fang, CUI Rui-jie, LOU Su-qin (Xinxiang Central Hospital, Henan Xinxiang 453000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for the separation of 3 kinds of chiral drugs, i.g. chlorphenamine, terbutaline and dioxopromethazine. METHODS: Using  $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -CD) and chiral ionic liquid 1-butyl-2,3-dimethylimidazole tetrafluoroborate (IL) as chiral selectors, 3 kinds of chiral drugs were separated by capillary electrophoresis. The effects of the concentrations of IL and  $\beta$ -CD, pH of  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  buffer and voltage on enantiometric separation were investigated. RESULTS: The optimal condition was as follows:  $\beta$ -CD of 10.0 mmol/L, IL of 20.0 mmol/L, pH of 2.5, voltage of 20 kV. Under this condition, chlorphenamine, terbutaline and dioxopromethazine enantiomers were separated to the highest degree, with separation rate of 3.2, 1.9 and 1.8. CONCLUSIONS: Established  $\beta$ -CD/IL/capillary electrophoresis provides a new method for the separation of chiral drugs.

**KEY WORDS** Chiral drugs; Ionic liquid;  $\beta$ -cyclodextrin; Enantiometric separation; Capillary electrophoresis

当药物分子中碳或其他原子上连接的原子或基团各不相同,这个原子就被称为手性中心,相应的药物被称为手性药物。手性药物在药物中占很大的比例,其在生物体内的吸收、分布、代谢和排泄均体现出立体选择性,不同对映体往往显示出不同的药理学和毒理学特性<sup>[1]</sup>。目前对映体的拆分方法主要分为非色谱法和色谱法两大类。非色谱法主要指化学拆分法、结晶法和酶反应拆分法等传统方法,这类方法因具有过程烦琐、耗时,制备出的对映体纯度不高,难以进行微量分离和测定等缺陷而应用较少。目前色谱法的应用最为广泛,包括高效液相色谱(HPLC)、毛细管电泳(CE)、气相色谱(GC)、超临界流体色谱(SFC)及薄层色谱(TLC)<sup>[2-4]</sup>。CE法<sup>[5-6]</sup>具有高效、快速、分离模式多且容易调整、样品用量少、成本低、可将各种类型的手性添加剂应用于CE中的特点,适用范围广,使得多数化合物能够直接进行手性拆分。因此,CE在手性药物分离领域博得人们的青睐,并且近年来得到了迅速的发展。

离子液体(Ionic liquids)是一种仅由阴、阳离子构成的物质,在室温下为液态。近年来,离子液体在分析化学方面的应用越来越多,尤其离子液体作为HPLC法中的流动相添加剂可改善分离,另还可作为CE法中的电解质添加剂用于手性药物拆分。文献<sup>[7]</sup>在HPLC流动相中添加1-丁基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐来拆分 $\beta$ 受体阻滞药。Bin W等<sup>[8]</sup>在胶束CE中加入一种合成的离子液体L-亮氨酸溴盐(L-UCLB)和甲基- $\beta$ -环糊精

(CD)成功分离布洛芬等5种化合物。本文采用 $\beta$ -CD和离子液体(1-丁基-2,3-二甲咪唑-四氟硼酸盐,IL)作为手性选择剂用于氯苯那敏、特布他林、二氧丙嗪3种手性药物的拆分,同时考察了手性选择剂浓度、pH值、电压对对映体拆分的影响,并对离子液体的相互作用机制进行了探讨。

### 1 材料

P-ACETM MDQ 高效CE仪、紫外检测器(美国贝克曼仪器有限公司);pHS-3BW精密数显酸度计(上海理达仪器厂)。

弹性石英毛细管柱(河北永年光纤纤维厂,50 cm $\times$ 50  $\mu$ m)。

$\beta$ -CD(天津博迪化工有限公司,批号:20110930,纯度:>99%);离子液体IL(上海成捷化学有限公司,批号:20120513,纯度:>99%);氯苯那敏对照品(批号:100325-200801,纯度:>99%)、特布他林对照品(批号:100273-200501,纯度:>99%)、二氧丙嗪对照品(批号:100422-200902,纯度:>99%)均来源于中国食品药品检定研究院;其余试剂为分析纯,水为去离子水。

IL化学结构式见图1。

### 2 方法与结果

#### 2.1 CE条件

背景电解质:配制30 mmol/L的 $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲溶液,加入适量的 $\beta$ -CD或 $\beta$ -CD和IL,用1.0 mol/L  $\text{H}_3\text{PO}_4$ 调节至所需pH值,溶液经0.45  $\mu$ m微孔滤膜过滤,超声;进样方式:压力进样,0.5 psi;

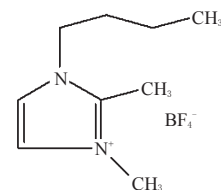


图1 IL化学结构式  
Fig 1 Chemical structure of IL

\* 主管药师。研究方向:医院药学。电话:0373-2048924。E-mail: fjc1230456@163.com

进样时间:5 s;正向电泳;分离电压:20 kV;检测波长:254 nm;温度:室温。

新毛细管柱采用压力 20 psi, 1.0 mol/L NaOH 溶液冲洗 10 min, 然后用蒸馏水冲洗 5 min。试验开始前, 依次用 0.1 mol/L NaOH 溶液、水、背景电解质冲洗 10 min。每次进样之后用背景电解质溶液冲洗 3 min 再进行下次进样。

## 2.2 溶液的配制

将氯苯那敏、特布他林和二氧丙嗪对照品分别用甲醇溶解并制成 1.0 mg/ml 溶液, 运行时用水稀释为 0.1 mg/ml。

## 2.3 操作方法

$\beta$ -CD 溶液的配制: 称取一定量的  $\beta$ -CD 置于量瓶中, 加入配好的磷酸盐缓冲液, 使  $\beta$ -CD 的浓度为 2.0、5.0、8.0、10.0 mmol/L。

$\beta$ -CD 和离子液体 IL 溶液的配制: 称取 10.0 mmol/L 的  $\beta$ -CD 置于量瓶中, 加入配好的磷酸盐缓冲液, 使  $\beta$ -CD 溶解, 然后加入一定量的 IL, 最后使 IL 的浓度分别为 5.0、10.0、20.0、30.0 mmol/L。

## 2.4 各因素对映体分离的影响

2.4.1  $\beta$ -CD 浓度对分离的影响。  $\beta$ -CD 可与手性药物形成包合物, 被包合的对映体由于构型或构象的不同, 在包合作用力上有差别, 进而对映体起到拆分作用<sup>[9]</sup>。  $\beta$ -CD 的浓度是影响手性药物分离的一个重要条件。因为氯苯那敏、特布他林和二氧丙嗪三者均为碱性药物, 一般认为在水相 CE 中拆分碱性药物的适宜 pH 值在 2.5 左右<sup>[10]</sup>, 故本试验在 pH 2.5、30 mmol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  缓冲溶液条件下, 考察了  $\beta$ -CD 浓度分别为 2.0、5.0、8.0、10.0 mmol/L 时对 3 种对映体分离的影响, 结果见表 1; 3 种药物在  $\beta$ -CD 浓度为 10 mmol/L 下的电泳色谱图见图 2。

表 1  $\beta$ -CD 浓度对 3 种药物分离度的影响

Tab 1 Effects of the concentration of  $\beta$ -CD on the separation rate of 3 kinds of drugs

$\beta$ -CD 浓度, mmol/L	分离度		
	氯苯那敏	特布他林	二氧丙嗪
2.0	0	0	0
5.0	0.41	0.24	0.11
8.0	0.89	0.75	0.61
10.0	1.1	1.1	0.73

由表 1 和图 2 可知,  $\beta$ -CD 浓度为 10.0 mmol/L 时, 3 种手性药物可见部分分离, 由于  $\beta$ -CD 的溶解度有限, 因此最终选择的  $\beta$ -CD 的浓度为 10.0 mmol/L。

2.4.2 离子液体浓度对分离的影响。用 IL 代替  $\beta$ -CD 进行试验, 发现单独使用离子液体作为手性选择剂不能拆分 3 种手性药物。因此, 在 pH 2.5、30 mmol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  缓冲溶液 (含 10 mmol/L  $\beta$ -CD) 基础上, 考察向其中加入 IL, 使其浓度分别为 0、5.0、10.0、20.0、30.0 mmol/L 时对 3 种对映体分离度的影响, 结果见图 3。

由图 3 可知, IL 的浓度从 0~20 mmol/L 时, 对映体的分离度增加, 可能是由于咪唑阳离子吸附到毛细管内壁上导致电渗流减少所致<sup>[11]</sup>。随着 IL 的浓度增加, 由于迁移时间延长, 使分析物与  $\beta$ -CD 之间相互作用的机会增加, 因此分离度增加。然而, 随着 IL 浓度进一步增加 (大于 20 mmol/L), 虽然时间延长, 但是分离度反而下降。可能是由于 IL 浓度增大, 导致背景缓冲液的离子强度增加, 电流增大, 产生过多的焦耳热引起谱带展宽、分离度降低所致。因此, IL 浓度选择为 20 mmol/L。

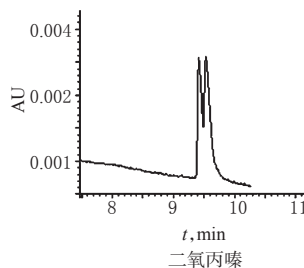
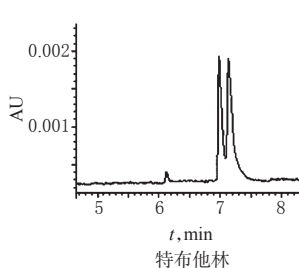
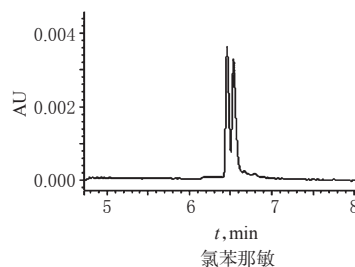


图 2  $\beta$ -CD 浓度为 10 mmol/L 下 3 种药物的电泳色谱图

Fig 2 Electropherograms of 3 kinds of drugs under 10 mmol/L of  $\beta$ -CD

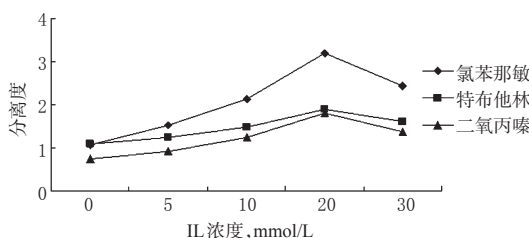


图 3 离子液体浓度对 3 种药物分离度的影响

Fig 3 Effect of the concentration of IL on separation rate of 3 kinds of drugs

2.4.3 pH 值对分离的影响。在 CE 分离中, 电解质溶液的 pH 值可影响电渗流的大小以及手性药物的荷电情况, 从而影响对映体与手性选择剂的相互作用及对映体的分离。本文考察了背景电解质 pH (2.0、2.5、3.0、4.0) 对 3 种手性药物分离的影响, 见表 2。

表 2 pH 对 3 种药物分离度的影响

Tab 2 Effect of pH on separation rate of 3 kinds of drugs

pH	分离度		
	氯苯那敏	特布他林	二氧丙嗪
2.0	1.2	0.8	1.0
2.5	3.2	1.9	1.8
3.0	2.1	1.3	0.9
4.0	0.7	0.4	0.6

由表 2 可知, 3 种手性药物在 pH 2.5 时达到最大分离度。值得注意的是, 随着背景电解质 pH 的增加, 由于电渗流的增加使分析物的迁移时间缩短, 因此分析物的分离时间缩短, 分离度减小; 但当 pH 值低于 2.5 时, 分析物由于离子化程度较高, 难以完全进入 CD 的疏水空腔形成稳定的包合物, 使分离度降低。因此, 选择电解质溶液的 pH 为 2.5。

2.4.4 运行电压对分离的影响。运行电压是影响柱效、分离度和保留时间的重要因素。笔者在试验中依次考察了运行电压为 10、15、20、25 kV 时对 3 种手性药物分离的影响, 结果见表 3。

表3 运行电压对3种药物分离度的影响

Tab 3 Effect of running voltage pH on separation rate of 3 kinds of drugs

电压, kV	分离度		
	氯苯那敏	特布他林	二氧丙嗪
10	4.5	3.1	2.7
15	3.9	2.3	2.0
20	3.2	1.9	1.8
25	2.1	1.4	1.2

由表3可知,电压的升高会导致迁移时间缩短,分离度降低,而且电流也增大,以致产生过多的焦耳热,运行不稳定;电压过低,分离度虽然增大,但分析时间延长。综合考虑分离度和分析时间,选取20 kV作为3种药物的分离电压。

综上所述,在pH 2.5、30 mmol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>缓冲溶液中,以10.0 mmol/L β-CD和20.0 mmol/L的IL联合作为手性选择剂,在电压为20 kV的条件下,取氯苯那敏、特布他林和二氧丙嗪3种药物进行拆分。结果,3种药物对映体均达到最大分离,分离度分别为3.2、1.9、1.8。在此最优条件下,3种药物对映体分离的电泳色谱图见图4。

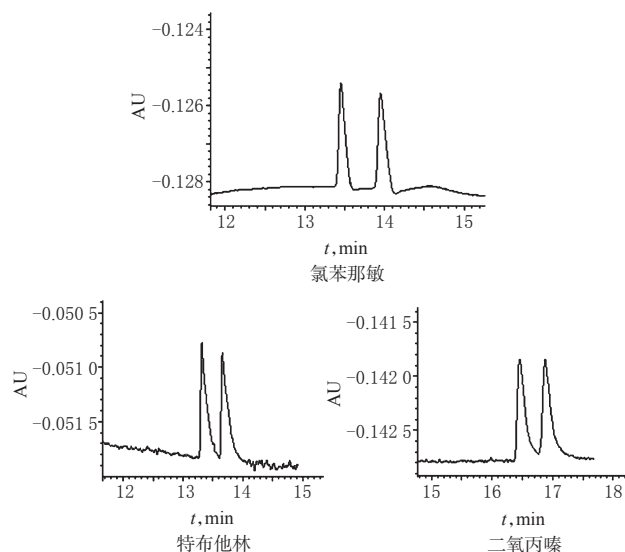


图4 最优条件下3种药物的电泳色谱图

Fig 4 Electrophoretograms of 3 kinds of drugs under optimal conditions

### 3 讨论

本试验以β-CD和离子液体IL作为手性选择剂,联用于CE中,拆分了氯苯那敏、特布他林和二氧丙嗪3种对映体药物。对于氯苯那敏、特布他林和二氧丙嗪,在含有β-CD的背景电解质中加入离子液体IL,使对映体分离度大大增加。由于毛细管内壁带负电荷,咪唑阳离子部分吸附在毛细管内壁上,对映

体与毛细管壁上的咪唑阳离子、游离的咪唑阳离子存在疏水、离子偶极或离子诱导偶极、氢键等相互作用,从而增大了2个对映体与CD的作用差异;另外,IL的阳离子为1-丁基-2,3-二甲基咪唑阳离子,其碳链部分比较大,可能与手性对映体之间的作用力更强,因此对对映体的选择性更强,使分离度更大。故本试验建立的β-CD/IL/毛细管电泳法为手性药物的拆分及分析提供了新的方法。

### 参考文献

- [1] Jamali F, Mehvar R, Pasutto FM. Enantioselective aspects of drug action disposition: therapeutic pitfalls[J]. *J Pharm Sci*, 1989, 78(9):695.
- [2] 曾苏,章立,沈向忠,等.光学异构体的气相色谱拆分法[J].*色谱*, 1994, 12(12):259.
- [3] Tanaka Y. Method development of enantiomer separations by affinity capillary electrophoresis, cyclodextrin electrokinetic chromatography and capillary electrophoresis-mass spectrometry[J]. *Se Pu*, 2002, 20(4):317.
- [4] 季一兵,陈玉英,薛俊,等.对映体的毛细管分离[J].*中国药科大学学报*, 1995, 26(3):188.
- [5] Joykrishna D, Ashok M, Sumita R, et al. Cationic vesicles as chiral selector for enantioseparations of nonsteroidal antiinflammatory drugs by micellar electrokinetic chromatography[J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1 048(1):127.
- [6] Bin C, Yingxiang D, Ping L. Investigation of enantiomeric separation of basic drugs by capillary electrophoresis using clindamycin phosphate as a novel chiral selector[J]. *Electrophoresis*, 2009, 30(15):2 747.
- [7] Ruiz-Angel MJ, Carda-Broch S, Berthod A. Ionic liquids versus triethylamine as mobile phase additives in the analysis of beta-blockers[J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1 119(1/2):202.
- [8] Bin W, Jun H, Victoria B, et al. Combined use of chiral ionic liquid and cyclodextrin for MEKC: Part I. Simultaneous enantioseparation of anionic profens[J]. *Electrophoresis*, 2009, 30(16):2 812.
- [9] 朱晓峰,薛俊,林炳承.手性药物的毛细管电泳拆分环糊精系统[J].*分析实验室*, 1996, 15(3):94.
- [10] 朱晓峰,林炳承.毛细管电泳的手性拆分[J].*色谱*, 1999, 17(2):154.
- [11] Huang L, Lin JM, Yu L, et al. Improved simultaneous enantioseparation of β-agonists in CE using beta-CD and ionic liquids[J]. *Electrophoresis*, 2009, 30(6):1 030.

(收稿日期:2013-01-29 修回日期:2013-03-28)

《中国药房》杂志——《国际药学文摘》(IPA)收录期刊,欢迎投稿、订阅