

3, 4-二氯-万古霉素手性固定相拆分克伦特罗和马布特罗对映体

郭伟, 余小燕, 谷晓娟, 韩亚琼, 沈报春

(昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南昆明 650500)

[摘要] **目的** 在极性流动相条件下, 用自制的 3, 4-二氯-万古霉素手性柱拆分克伦特罗和马布特罗对映体. **方法** 流动相组成为甲醇, 添加不同的冰乙酸和三乙胺, 观察了流动相中不同的酸碱添加剂, 以及不同流速与柱温对拆分对映体的影响. **结果** 当流动相条件为甲醇: 冰乙酸: 三乙胺 = 100: 0.05: 0.05 (V:V:V), 流速为 1 mL/min 时, 克伦特罗和马布特罗的选择因子分别能达到 1.232 和 1.299, 分离度分别为 1.006 和 1.015. **结论** 在自制的 3, 4-二氯-万古霉素手性柱上克伦特罗和马布特罗得到了较好的分离.

[关键词] 3, 4-二氯-万古霉素手性固定相; 对映体拆分; 克伦特罗; 马布特罗

[中图分类号] O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-4706 (2013) 05-0004-04

Enantioseparation of Clenbuterol and Mabuterol on Self-made 3, 4-Dichlorovancomycin Chiral Stationary Phase

GUO Wei, YU Xiao-yan, GU Xiao-juan, HAN Ya-qiong, SHEN Bao-chun

(School of Pharmaceutical Science & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] **Objective** Using the polar mobile phase, the enantioseparation of clenbuterol and mabuterol on the self-made 3, 4-dichlorovancomycin chiral stationary phase were studied. **Methods** The mobile phase was methanol, adding different proportions of acetic acid and triethylamine. The influence of different proportions of acid and alkali additives was investigated. The effects of column temperature and flow rate of mobile phase on the enantioseparation were also studied. **Results** With a mobile phase consisting of methanol : acetic acid : triethylamine = 100 : 0.05 : 0.05 (V:V:V) at a flow rate of 1.0 mL/min, the separation factor for clenbuterol and mabuterol were 1.232 and 1.299, and the resolution were 1.006 and 1.015, respectively. **Conclusion** The results indicated that the isomers of clenbuterol and mabuterol could be separated on self-made 3, 4-dichlorovancomycin chiral stationary phase.

[Key words] 3, 4-Dichlorovancomycin chiral stationary phase; Enantioseparation; Clenbuterol; Mabuterol

随着人们对手性药物认识的不断深入, 手性药物的研究已成为新药研究和分析化学领域的重要课题. 克伦特罗 (Clenbuterol) 与马布特罗 (Mabuterol) 俗称“瘦肉精”, 属于 β_2 -肾上腺素能受体激动剂, 临床上主要用于支气管扩张, 治疗哮喘、支气管炎等. 其化学结构见图 1.

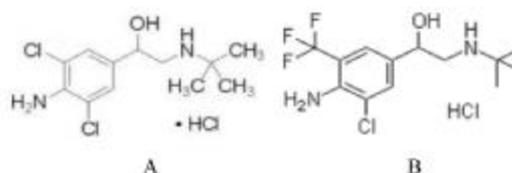


图 1 结构式

Fig. 1 The structures of clenbuterol and mabuterol
A: 盐酸克伦特罗; B: 马布特罗.

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (81102408)

[作者简介] 郭伟 (1985~), 女, 河北唐山市人, 在读硕士研究生, 主要从事药物分析工作.

[通讯作者] 沈报春. E-mail: shen_baochun@126.com

手性药物在体内显示出的药理活性、毒副作用和临床疗效等方面存在较大的差异,故对其进行拆分具有重要意义,对研究手性固定相的手性识别机理也具有重要意义^[1]。

利用高效液相色谱法拆分克伦特罗、马布特罗对映体已有报道,如宋雅茹^[2]等利用酰胺型手性固定相拆分克伦特罗对映体;张丹丹^[3]等应用万古霉素手性固定相对克伦特罗对映体进行了分离;唐琴^[4]等在 Whelk-O1、DNB-PG、DNB-Leucine 和 SH-1 四种刷型酰胺手性柱上拆分了克伦特罗对映体。

1994年 Armstrong^[5]等首次使用大环抗生素制备 CSP,在正相和反相模式下拆分了一系列对映体,开辟了手性分离科学领域一个新的研究热点。大环抗生素类手性固定相可以在多种流动相模式下(正相、极性有机相和反相)进行对映体分离^[6],目前已成为最具发展潜力的新型手性固定相。万古霉素固定相具有蛋白类固定相、改性纤维素类固定相、淀粉类固定相和环糊精类固定相的典型作用机制,包括离子作用、氢键作用、 $\pi-\pi$ 作用、偶极-偶极作用、配合作用、空间位阻作用等^[7]。笔者采用自制的3,4-二氯-万古霉素手性固定相拆分了克伦特罗和马布特罗,讨论了流动相中不同比例的酸碱添加剂对分离的影响,并考察了流速以及柱温对拆分的影响。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

岛津 LC-2010A 高效液相色谱,岛津 SPD-M10AVP 检测器;盐酸克伦特罗(Dr.

Ehrenstorfer GmbH-Bgm.-Str.-6A-86199 Augsburg-Germany);盐酸马布特罗(Dr.Ehrenstorfer GmbH-Bgm.-Str.-6A-86199 Augsburg-Germany);甲醇(天津市光复精细化工研究所,色谱纯);乙醇(天津市风船化学试剂科技有限公司,分析纯);三乙胺(中国医药集团上海化学试剂公司);冰乙酸(北京五二九五二化工厂)。

1.2 色谱条件

3,4-二氯-万古霉素手性柱(自制,250 mm×4.6 mm);流动相由甲醇中加入不同比例冰乙酸和三乙胺组成;检测波长 225 nm;进样量 10 μ L。

1.3 样品和流动相的配制

盐酸克伦特罗和盐酸马布特罗用乙醇溶解,配成适合浓度,经 0.45 μ m 微孔膜过滤;流动相为甲醇加入不同比例的酸碱,经 0.45 μ m 微孔膜过滤并超声脱气后使用。

2 结果

2.1 不同比例酸碱添加剂的影响

甲醇添加不同比例的酸碱为流动相时,对克伦特罗和马布特罗对映体拆分的影响,见图 2。

色谱条件:甲醇-冰乙酸-三乙胺(100:0.05:0.05),流速 1.0 mL/min,室温。从表 1 的数据中可以看出,流速为 1.0 mL/min,柱温为室温时,随着冰乙酸/三乙胺的比例由 0.05:0.00 改变至 0.00:0.05,克伦特罗与马布特罗的容量因子和选择因子发生了改变,当冰乙酸/三乙胺的比例为 0.05:0.05 时,保留最强,分离度达到最大,分别是 1.006 和 1.015。

表 1 流动相中酸碱添加剂的比例对分离的影响

Tab. 1 The influence of different proportions of acid and alkali additives on separation

化合物	流动相 (V/V/V) MeOH/HOAc/TEA	k_1'	k_2'	α	R
克伦特罗	100:0.05:0.00	0.272	0.397	1.460	0.651
	100:0.05:0.05	1.315	1.620	1.232	1.006
	100:0.05:0.10	1.084	1.344	1.240	0.935
	100:0.10:0.05	0.860	1.092	1.269	0.959
	100:0.00:0.05	1.194	1.203	1.007	0.001
马布特罗	100:0.05:0.00	0.059	0.158	2.659	0.614
	100:0.05:0.05	0.817	1.061	1.299	1.015
	100:0.05:0.10	0.607	0.807	1.329	0.934
	100:0.10:0.05	0.471	0.652	1.385	0.945
	100:0.00:0.05	0.614	0.661	1.076	0.012

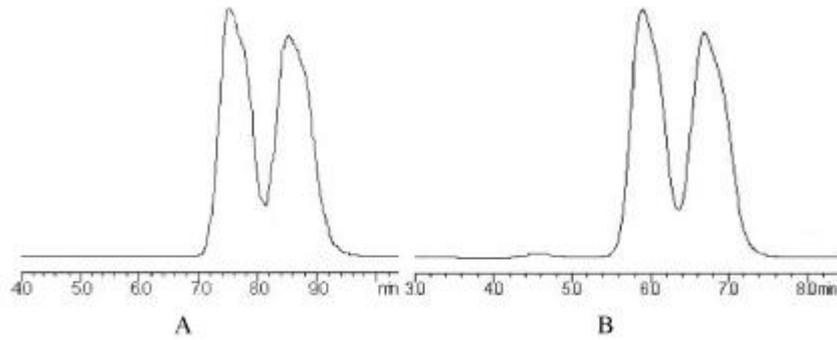


图 2 对映体图谱图

Fig. 2 The separation diagrams of clenbuterol and mabuterol

A:克伦特罗; B:马布特罗.

2.2 流速对拆分的影响

以甲醇-冰乙酸-三乙胺(100:0.05:0.05)为流动相,柱温为室温,分离克伦特罗和马布特罗对映体,考察了流速对分离的影响,结果显示流速为 0.4 mL/min 时,样品的保留最强,分离度最大,但选择因子最小,随着流速不断增大到 1.5 mL/min 时,样品的保留逐渐变小,但选择因子却

逐渐增大,分离度变小,见表 2.

2.3 柱温对拆分的影响

流速为 1.0 mL/min,以甲醇-冰乙酸-三乙胺(100:0.05:0.05)为流动相,考察不同柱温对分离的影响,结果表明,克伦特罗和马布特罗对映体随温度由 10℃ 升高至 30℃,保留时间变化无规律,分离因子和分离度变化不大,见表 3.

表 2 流速对分离的影响

Tab. 2 The influence of flow rate

化合物	流速 (mL/min)	$k1'$	$k2'$	α	R
克伦特罗	0.4	4.580	5.321	1.162	1.083
	0.8	1.856	2.236	1.205	1.026
	1.0	1.315	1.620	1.232	1.006
	1.2	0.945	1.199	1.269	0.971
	1.5	0.537	0.737	1.372	0.932
马布特罗	0.4	3.330	3.929	1.180	1.134
	0.8	1.210	1.507	1.245	1.037
	1.0	0.817	1.061	1.299	1.015
	1.2	0.497	0.698	1.404	0.987
	1.5	0.212	0.372	1.755	0.934

表 3 柱温对分离的影响

Tab. 3 The influence of column temperature

化合物	温度(℃)	$k1'$	$k2'$	α	R
克伦特罗	10	1.707	2.106	1.234	1.038
	15	1.787	2.168	1.214	0.980
	20	1.783	2.158	1.210	0.994
	25	1.291	1.612	1.249	0.987
	30	1.284	1.579	1.230	0.963
马布特罗	10	1.102	1.409	1.014	1.279
	15	1.201	1.518	1.263	1.056
	20	1.178	1.477	1.254	1.023
	25	0.776	1.014	1.307	0.978
	30	0.812	1.045	1.287	0.970

(下转第 13 页)