使用 Agilent 7100 毛细管电泳仪拆分佐米曲普坦手性异构体

应用简报

制药行业

作者

鲁锐、陈波

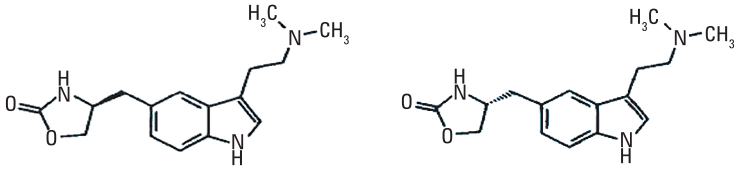
安捷伦科技（中国）有限公司

摘要

本文采用 Agilent 7100 毛细管电泳系统来拆分佐米曲普坦手性异构体。以内径 50 µm、有效长度 56 cm 石英毛细管为分离通道，以 30 mmol/L 羟丙基-β-环糊精溶液为电泳缓冲液，佐米曲普坦对照品与 R-异构体分离度为 3.1，R-异构体在 1.25 µg/mL 到 10 µg/mL 之间线性关系良好 (r = 0.9994)，定量限为 1.25 µg/mL，连续进样 6 次 R-异构体峰保留时间 RSD 为 0.135%，峰面积 RSD 为 3.5%，佐米曲普坦理论塔板数为 27000，符合中国药典相关要求。

前言

手性拆分是药物分析的难点，使用传统的液相色谱法来拆分手性异构体，面临色谱柱使用成本高昂、多采用正相流动相体系对环境污染大等问题。佐米曲普坦 (Zolmitriptan) 化学名为(S)-4-[3-[2-(二甲胺基)乙基]-1H-吲哚-5-甲基]-2-恶唑烷酮，是目前治疗偏头疼较理想的药物之一。其结构中有一个手性中心，如图 1 所示，S-构型是有效成分，R-构型是无效成分。本文运用毛细管区带电泳 (CZE) 有效分离了佐米曲普坦的对映体，并且能够准确定量，精密度良好。



佐米曲普坦　　R-异构体

图 1. 佐米曲普坦和其 R-异构体结构

Agilent Technologies

实验部分

本实验根据 2015 版中国药典二部关于佐米曲普坦 R-异构体测定方法建立，分离条件参照中国药典相关内容[1]。

试剂和样品

磷酸为色谱纯级，购于迪马公司；盐酸为分析纯级，购于百灵威公司；羟丙基-β-环糊精购于 Sigma 公司；水为 Millipore Milli-Q 超纯水系统现制备的纯水；1 mol/L 氢氧化钠溶液、50 mmol/L 磷酸钠缓冲液 (pH 2.5) 购于安捷伦科技有限公司；佐米曲普坦对照品和R-异构体对照品来自中国食品药品检定研究院。

仪器和设备

实验采用 Agilent 7100 毛细管电泳系统对佐米曲普坦和其 R-异构体进行分析。

实验选用 50 µm 内径、有效长度 56 cm 的未涂层石英毛细管作为分离管道，部件号 G1600-61211。新毛细管使用前用 1 mol/L 氢氧化钠溶液冲洗 20 min，每天使用毛细管前用 1 mol/L 氢氧化钠溶液冲洗 5 min，然后用纯水冲洗 10 min[2]。

标准品制备

佐米曲普坦对照品溶液：称取佐米曲普坦对照品适量，溶于 0.1 mol/L 盐酸配成 0.5 mg/mL 溶液。

R-异构体对照品溶液：称取 R-异构体对照品适量，溶于 0.1 mol/L 盐酸配成 0.5 mg/mL 溶液。

系统适用性溶液 1：称取佐米曲普坦对照品和 R-异构体对照品适量，溶于 0.1 mol/L 盐酸配成含有二者各 0.5 mg/mL 的溶液。

系统适用性溶液 2：称取佐米曲普坦对照品和 R-异构体对照品适量，溶于 0.1 mol/L 盐酸配成含佐米曲普坦 0.5 mg/mL 和 R-异构体 2.5 µg/mL 的溶液。

R-异构体标准工作溶液：精密量取 R-异构体对照品溶液适量，用 0.1 mol/L 盐酸稀释成 10.0、7.5、5.0、2.5、1.25 µg/mL 的溶液。

电泳条件

电泳缓冲液：	30 mmol/L 羟丙基-β-环糊精，用磷酸调节 pH 值至 2.2 的 50 mmol/L 磷酸二氢钠缓冲溶液配制
毛细管卡盒温度：	25 °C
检测波长：	225 nm，4 nm 带宽；参比 360 nm，100 nm 带宽
电泳程序：	1. 预冲洗，电泳缓冲液冲洗 10 min 2. 进样，35 mbar 进样 5 s 3. 应用电压，0.3 min 升高到正 20 KV 4. 停止时间，27 min

结果与讨论

按照本文所述电泳方法分离佐米曲普坦和 R-异构体，分离效果如图 2 所示，自上而下 A 图为佐米曲普坦对照品谱图，B 图为 R-异构体对照品谱图，C 图为系统适用性溶液 1 谱图，其中佐米曲普坦和 R-异构体能够达到完全基线分离。

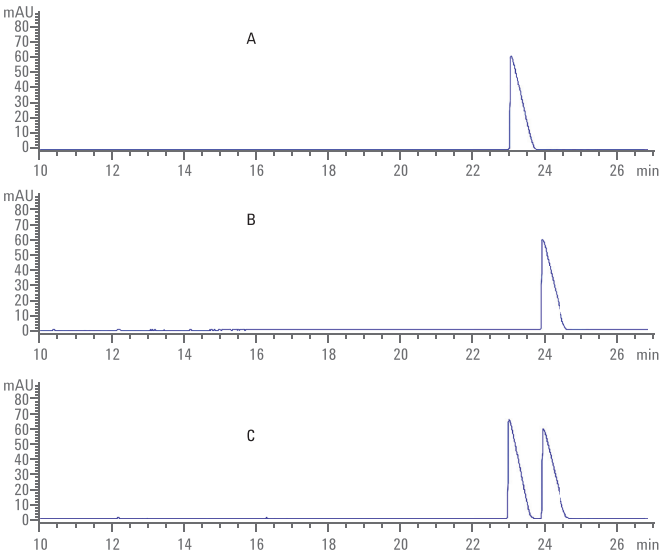


图 2. 典型电泳谱图：A，佐米曲普坦；B，R-异构体；C，系统适用性溶液 1

中国药典 2015 版要求在做系统适用性溶液 2 的时候，理论塔板数按照佐米曲普坦峰计算不低于 5000。本实验所得实际结果如图 3 所示，佐米曲普坦理论塔板数为 27000，佐米曲普坦对照品与 R-异构体的分离度为 3.1，分离效果良好，并满足中国药典 2015 版的系统适用性要求。

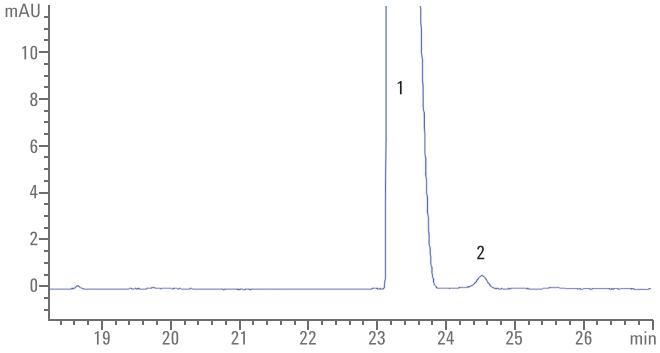


图 3. 系统适用性溶液 2 分离谱图：1，佐米曲普坦；2，R-异构体

连续进样 6 次系统适用性溶液 2 进行精密度实验。6 次进样叠加谱图结果见图 4，其中 R-异构体峰保留时间 RSD 为 0.135%，峰面积 RSD 为 3.5%，精密度良好。本实验使用的是未涂层毛细管，为了获得良好的重现性，建议每天新使用毛细管时应当使用 1 mol/L 氢氧化钠溶液冲洗活化毛细管。

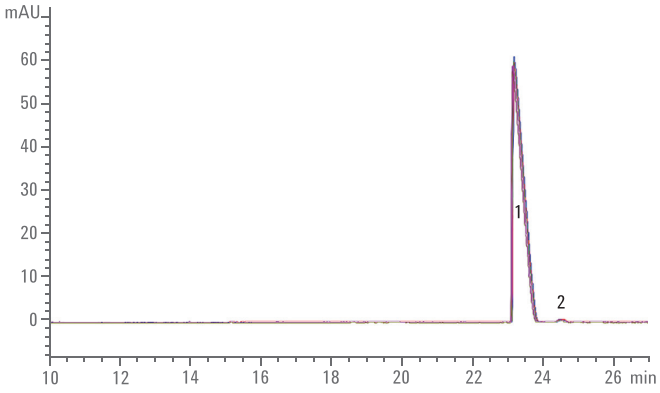


图 4. 系统适用性溶液 2 连续进样 6 针所得叠加谱图：1，佐米曲普坦；2，R-异构体

根据文中所述实验方法，分别对 10.0、7.5、5.0、2.5、1.25 µg/mL 的 R-异构体标准工作溶液进行电泳分析，用校正峰面积 A 对浓度 C 进行线性回归曲线的绘制。如图 5 所示，线性回归方程为 A = 0.00169569*C-0.0000869，r = 0.9994，表明在 1.25 µg/mL 到 10 µg/mL 之间线性关系良好，定量限为 1.25 µg/mL。

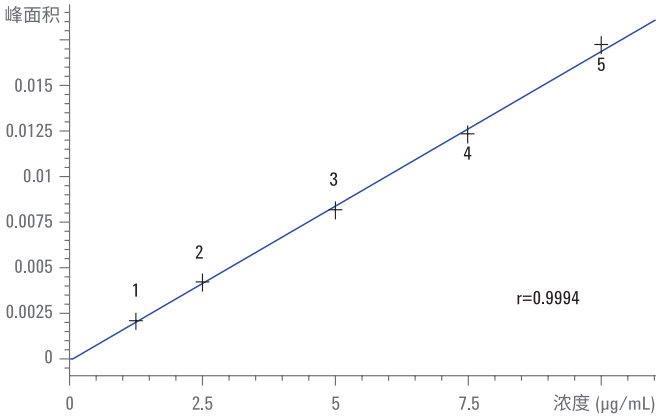


图 5. R-异构体线性回归曲线

结论

本文使用毛细管区带电泳拆分佐米曲普坦中的 R-异构体，建立了准确可靠的分离方法，并且满足 2015 版中国药典的系统适用性要求。在实验中佐米曲普坦和 R-异构体能够达到基线分离，保留时间和峰面积重现性良好，并且可实现对 R-异构体的准确定量分析。另外，Agilent 7100 毛细管电泳系统使用 Chemstation 图形化操作软件，操作起来十分简便，为佐米曲普坦这类化药的异构体分析提供了有力的工具。

参考文献

1. 中华人民共和国药典：2015 年版二部，2015
2. Chiral Analysis with the Agilent Capillary Electrophoresis System, (使用安捷伦毛细管电泳系统进行手性分析)，5988-4305EN，2001

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278，400-820-3278（手机用户）

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2017

2017 年 2 月 16 日，中国印刷
5991-7925CHCN



Agilent Technologies