

# 加压毛细管电色谱法分离 1-甲基-3-苯基丙胺对映体

李英杰\* 孙鹏 高立娣

(齐齐哈尔大学化学与化学工程学院 齐齐哈尔 161006)

**摘要** 运用毛细管电色谱(pCEC)模式,以羟丙基- $\beta$ -环糊精(HP- $\beta$ -CD)作为手性选择剂,对 1-甲基-3-苯基丙胺对映体进行手性分离。1-甲基-3-苯基丙胺对映体在最佳的条件下如:手性选择剂浓度 10 g/L、流动相比:V(乙腈):V(磷酸盐体系)=60:40 溶液(5 mmol/L)、背景电解质 pH=7.6、柱温 16 °C 和分离电压 10 kV 达到了基线分离,该方法重现性好、简便、快捷。

**关键词** 加压毛细管电色谱,甲基苯基丙胺,对映体拆分,羟丙基- $\beta$ -环糊精

中图分类号:O657

文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2010)02-0246-03

DOI:10.3724/SP.J.1095.2010.90063

毛细管电色谱(CEC)将毛细管电泳(CE)的高柱效与高效液相色谱(HPLC)的高选择性有机的结合在一起,克服了 CE 选择性差和分离中性物质困难,同时采用电渗流(EOF)代替液压作为推动力,大大提高了液相色谱的分离效率,其分析速度快、灵敏度高、分辨率高、试样用量少和分析成本低等特点,满足药品的痕量分析要求<sup>[1~3]</sup>已越来越多地用于手性物质的研究<sup>[4~8]</sup>。加压毛细管电色谱(pCEC)是指在毛细管电色谱柱一端或两端施加压力,可以有效的控制 CEC 容易产生气泡问题<sup>[9]</sup>。1-甲基-3-苯基丙胺是一种手性化合物,主要用于合成柳胺苄心定的医药中间体。柳胺苄心定是一种治疗原发性高血压、继发性高血压、妊娠高血压,是各类高血压紧急降压的理想药物<sup>[10]</sup>,有关 1-甲基-3-苯基丙胺对映体的拆分未见报道,建立毛细管电色谱法分离 1-甲基-3-苯基丙胺对映体具有现实意义。

HP<sup>3D</sup>CE 型高效毛细管电泳仪(美国安捷伦公司),毛细管电色谱柱(75  $\mu\text{m}$   $\times$  35.0 cm,有效长度为 20 cm,上海通微分析科技有限公司),1-甲基-3-苯基丙胺原料药(武汉百思图精细化工有限公司),羟丙基- $\beta$ -环糊精(HP- $\beta$ -CD,宁波正佳化学有限公司)。

将所需量的手性选择剂 HP- $\beta$ -CD 用相应 pH 值 5 mmol/L 磷酸缓冲液溶解,配制成不同浓度的背景电解质溶液,混合均匀,经 0.45  $\mu\text{m}$  纤维素酯膜过滤,超声脱气 30 min,置于冰箱中冷藏备用。

CEC 条件:检测波长 204 nm;进样条件:正极进样,5 kV  $\times$  5 s;流动相:V(乙腈):V(5 mmol/L 磷酸盐)=60:40,运行电压 10 kV,柱温 16 °C;手性选择剂浓度 10 g/L,在毛细管两端同时施加 10<sup>6</sup> Pa 的气压;毛细管前处理方式:每次进样前用缓冲溶液平衡 10 min。

## 结果与讨论

考察了  $\beta$ -CD、HP- $\beta$ -CD 和 DM- $\beta$ -CD 对手性药物分离的影响。结果表明,HP- $\beta$ -CD 和 DM- $\beta$ -CD 对 1-甲基-3-苯基丙胺对映体有拆分能力,而 DM- $\beta$ -CD 只能对其部分拆分,本文采用 HP- $\beta$ -CD 为手性选择剂。由图 1 可知,HP- $\beta$ -CD 浓度由 7 g/L 逐渐增加至 10 g/L,与对映体之间的相互作用增强,使得对映体之间的色谱行为差异扩大,分离度增大。选择性系数与分离度均在增加。但当浓度 > 10 g/L 时,分离度不再增加,故本文选用的 HP- $\beta$ -CD 浓度为 10 g/L,此时 1-甲基-3-苯基丙胺得到了较好的分离。

缓冲溶液 pH 值影响待分离物质的电荷和电渗流,是影响手性分离的重要参数之一。实验考察了宽范围的 pH 值(3~10)对分离度的影响,结果表明,缓冲溶液在接近中性条件下分离的较好。由图 2 可知,当流动相 pH 值从 7 逐渐增加至 7.6 时,分离度逐渐增大;当 pH=7.6 时,分离度达到最大,随着 pH

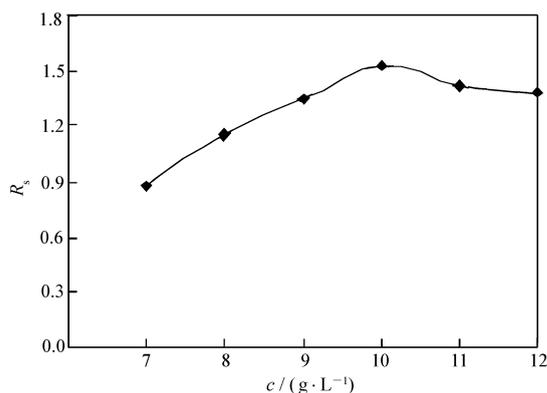


图1 HP-β-CD 浓度对分离的影响

Fig. 1 Effect of HP-β-CD concentration on resolution

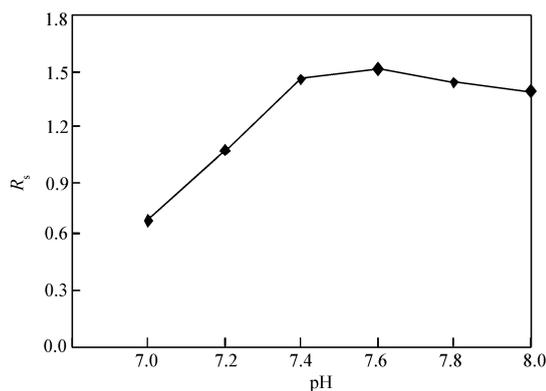


图2 背景电解质 pH 对分离的影响

Fig. 2 Effect of pH in buffer on resolution

值的继续增大,分离度逐渐减小,这可能是由于 pH 值的改变影响了对映体分子进入环糊精分子后发生的主客体反应以及固定相对环糊精分子的吸附作用发生变化,从而使分离度下降。

本文考察了不同比例的乙腈和磷酸盐缓冲溶液作为流动相时,对其分离度的影响。表 1 为流动相中不同比例时对应的 1-甲基-3-苯基丙胺对映体的分离度,及在此条件下的电流情况。其它条件不变,当乙腈体积较小时,电渗流较大,柱内焦耳热增大,不利于分离;随着乙腈体积的增大,电流迅速减小,其分离度逐渐增大,当体积比为 60:40 时分离度最大,继续增大乙腈的体积,电渗流变小,不易于分离。

表 1 流动相比例对分离度的影响

Table 1 Effect of mobile phase ratio on resolution

$V(\text{CH}_3\text{CN}):V(\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4)$	$i/\mu\text{A}$	$R_s$	$V(\text{CH}_3\text{CN}):V(\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4)$	$i/\mu\text{A}$	$R_s$
30:70	8.2	0.56	60:40	5.9	1.54
40:60	7.6	0.93	70:30	4.6	1.29
50:50	6.7	1.37	80:20	3.5	0.95

随柱温的升高,对映体的迁移时间逐渐减小,温度升高会使缓冲溶液的粘度降低,但是温度升高同时也会增大柱内焦耳热,使柱内容易产生气泡。本文采用毛细管两端加压  $10^6$  Pa 气压的方法,能有效地避免气泡的产生。分离度的变化表明存在一个最佳柱温,本文确定最佳柱温为  $16^\circ\text{C}$ 。

CEC 中随电压的升高,可以提高电渗流流速,从而减小保留时间,但在高场强下由于焦耳热效应而产生温度梯度进而引起流速梯度使谱带展宽,柱效降低,同时温度的升高,常会在毛细管中形成气泡,使基线噪音增大,影响测定,严重时可导致断流,使分离终止。分离度的变化表明存在一个最佳电压值,本文确定最佳电压为 10 kV。

方法的重现性及检出限:在上述最佳色谱条件下分离 1-甲基-3-苯基丙胺对映体,进样 6 次两对映体的保留时间和峰面积的相对标准偏差(RSD)均小于 1.5%,说明该方法的重复性良好。以信噪比 3:1 (S/N) 计算得检出限为 0.003 g/L。

通过对 1-甲基-3-苯基丙胺对映体手性分离的影响因素系统研究,得到了 1-甲基-3-苯基丙胺对映体分离的最佳优化条件。本方法分离度、重现性好,为进一步开展 1-甲基-3-苯基丙胺对映体药理药效的研究提供了一种有效的方法。

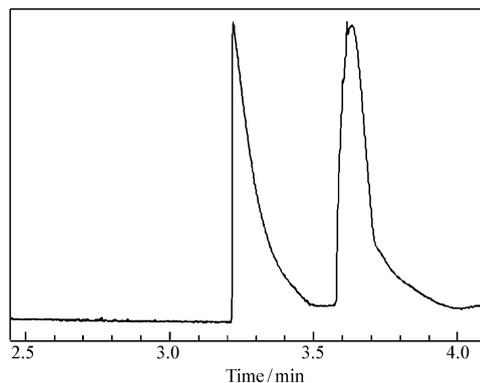


图3 1-甲基-3-苯基丙胺毛细管电色谱分离图

Fig. 3 Electrochromatogram of 1-dimethyl-3-phenylpropylamine

5 mmol/L  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , pH = 7.6, 10 g/L HP-β-CD,  $16^\circ\text{C}$ , 10 kV,  $10^6$  Pa

## 参 考 文 献

- 1 ZHU Chen-Fu(主沉浮), LIN Xiu-Li(林秀丽), WEI Yun-He(魏云鹤). *Chinese J Biochem Pharmaceutics*(中国生化药物杂志)[J], 2003, **24**(4):204
- 2 Wu R A, Zou H F, Ye M L, Lei Z D, Ni J Y. *Anal Chem*[J], 2001, **73**:4 918
- 3 Wu X P, Wang L, Xie Z H, Yan C. *Chrm Res Chinese U*[J], 2007, **23**(1):109
- 4 LIAO Jie(廖杰), BO Tao(薄涛), LIU Hu-Wei(刘虎威). *Chinese J Chromatogr*(色谱)[J], 2006, **24**(4):421
- 5 WANG Ye(王也). *China Pharmaceuticals*(中国药业)[J], 2006, **15**(8):64
- 6 XIE Guo-Xiang(谢国祥), QIU Ming-Feng(邱明丰), ZHAO Ai-Hua(赵爱华), JIA Wei(贾伟). *Chinese J Anal Chem*(分析化学)[J], 2007, **35**(1):160
- 7 LI Li-Min(李丽敏), ZHANG Sheng-Qiang(张胜强), HANG Tai-Jun(杭太俊). *Prog Pharmaceut Sci*(药学进展)[J], 2001, **25**(1):4
- 8 Constantina P Kapnissi, Bertha C Valle, Isiah M Warner. *Anal Chem*[J], 2003, **75**:6 097
- 9 CAO Feng(曹枫), ZHANG Wei-Bing(张维冰), YAN Chao(阎超), ZHANG Yu-Kui(张玉奎). *Chinese J Anal Chem*(分析化学)[J], 2004, **32**(2):143
- 10 YANG Li-Li(杨莉莉). *Acta Academiae Medicinae Jiangxi*(江西医学院学报)[J], 2003, **43**(4):24

## Enantiomeric Separation of 1-Dimethyl-3-phenylpropylamine by Pressurized Capillary Electrochromatography

LI Ying-Jie\*, SUN Peng, GAO Li-Di

(*Qiqihar University of Chemistry, Chemical Engineering Institute, Qiqihar 161006*)

**Abstract** 1-Dimethyl-3-phenylpropylamine enantiomer was separated with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HP- $\beta$ -CD) as chiral selector by means of pressurized capillary electrochromatography (pCEC). The optimal experimental conditions are HP- $\beta$ -CD concentration 10 g/L, background buffer pH = 7.6, capillary temperature 16 °C, voltage 10 kV, and the mobile phase consisted of a solution of acetonitrile and phosphate at a volume ratio of  $V(\text{CH}_3\text{CN}) : V(\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4) = 60 : 40$ . The method is simple, rapid and reproducible.

**Keywords** pressurized capillary electrochromatography (pCEC), dimethylphenylpropylamine, enantiomer separation, hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin