

高效液相色谱法拆分雷啉嗪

张红丽¹, 李晓燕², 柳春辉¹, 赵艳芳¹, 李永民¹, 陈立仁¹

(1. 中国科学院 兰州化学物理研究所, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省环境科学设计研究所, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 用高效液相色谱法 (HPLC) 在正相条件下, 用自制的涂敷直链淀粉-三 (3,5-苯基氨基甲酸酯) (ADMPC) 手性固定相直接拆分了高效低毒的抗心绞痛药物雷啉嗪外消旋体 (Ranolazine), 并考察了二元及三元流动相体系对样品分离的影响, 结果表明, 三元流动相中的拆分结果远远好于二元流动相, 流动相中不同种类醇改性剂及含量对样品保留时间和立体选择性有不同程度的影响。

关键词: 高效液相色谱; 直链淀粉-三 (3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯); 手性固定相; 手性拆分; 雷啉嗪

中图分类号: O657.32

文献标识码: A

文章编号: 1006-3757(2004)03-0151-03

雷啉嗪 (Ranolazine) 是一种高效、低毒的抗心绞痛药。其结构式见图 1。雷啉嗪可有效抗心绞痛, 而且不影响心率和血压, 但使用 Ranolazine 最常见的不良反应是头痛、眩晕、疲乏^[1~6]。目前大部分药物都以消旋体的形式上市, 为研究雷啉嗪光学异构体不同的药理学及代谢机理, 为以后的药物制备筛选提供试验基础对它的拆分工作显得尤为为重要。本文利用自制的高效液相色谱直链淀粉手性柱直接分离外消旋雷啉嗪, 得到了满意的结果。目前这方面的工作尚未见有关的文献报道。

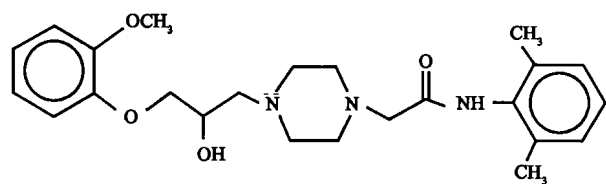


图 1 雷啉嗪分子结构式

Fig. 1 The structure of Ranolazine molecule

1 试验部分

1.1 试剂与仪器

球形硅胶系本实验室合成, 粒径为 5 μm , 比表面积为 120 m^2/g , 平均孔径为 10 nm; 直链淀粉购自 Sigma 公司, 异氰酸苯酯购自 Merck 公司; γ -氨基丙基三乙氧基硅烷 (KH550): 辽宁盖县化工厂; 雷啉

嗪 (南京泽众医化信息研究中心); 正己烷、无水甲醇、异丙醇、正丙醇、无水乙醇均为分析纯 (天津化学试剂有限公司); 手性填料直链淀粉-三 (苯基氨基甲酸酯) 参照文献 [4] 合成, 涂敷于硅胶上, 在 70 MPa 压力下, 匀浆装入不锈钢柱中 (分析柱内径 4.6 mm $\times$ 150 mm)。

色谱系统包括 515HPLC 泵 (Waters, USA); 2487 型紫外可见波长检测器。所有的色谱分离室温下进行。检测波长为 254 nm, 灵敏度 0.02 AUFS., 所有流动相均经超声脱气后使用。

1.2 色谱计算

色谱柱死体积 t_0 用 1,3,5-三叔丁基苯测定, 分离因子 $\alpha = k'_2/k'_1$, 容量因子 $k' = (t_m - t_0)/t_0$, 分离度 $R_s = 2(t_2 - t_1)/(w_1 + w_2)$, w_1 和 w_2 分别为第一个洗脱峰和第二个洗脱峰之基线峰宽, t_1 和 t_2 分别为第一个洗脱峰和第二个洗脱峰保留时间。

2 结果与讨论

实验考察了多种二元及三元流动相体系, 二元流动相体系的实验结果见表 1。由表 1 的数据可以看出, 不同醇类对雷啉嗪的拆分影响很大。正己烷/乙醇、正己烷/异丙醇取得了较大的 α 和 R_s , 其中正己烷与无水乙醇的分离效果优于正己烷与异丙醇的分离效果, 其原因可能是乙醇的空间位阻小于异丙醇。

收稿日期: 2004-02-09; 修订日期: 2004-06-02.

基金项目: 中国科学院“百人计划”项目资助。

作者简介: 张红丽 (1979 -), 女, 研实员, 现从事高效液相色谱的手性分离工作。

表 1 二元流动相拆分雷诺嗪的结果
(流动相:正己烷/醇 = 80/20)

二元体系	K'_1	K'_2	α	R_s
正己烷/无水乙醇	3.985	5.478	1.375	2.779
正己烷/异丙醇	5.563	7.549	1.357	1.525

我们还选用了三元流动相进行了分离实验,其实验结果见表 2.从表 2 数据结果可以看出:相对于二元流动相体系,三元流动相体系在拆分雷诺嗪时取得了比较大的 α 和 R_s .

表 2 三元流动相拆分雷诺嗪的结果

Table 2 Enantioseparation of Ranolazine by ternary phase

体积比	正己烷/异丙醇/甲醇			正己烷/异丙醇/无水乙醇		
	K'_2	α	R_s	K'_2	α	R_s
70/15/15	2.963	1.369	1.079	3.155	1.382	2.903
80/10/10	5.604	1.342	3.287	4.797	1.333	1.241
80/15/5	8.978	1.428	3.847	7.980	1.382	2.328

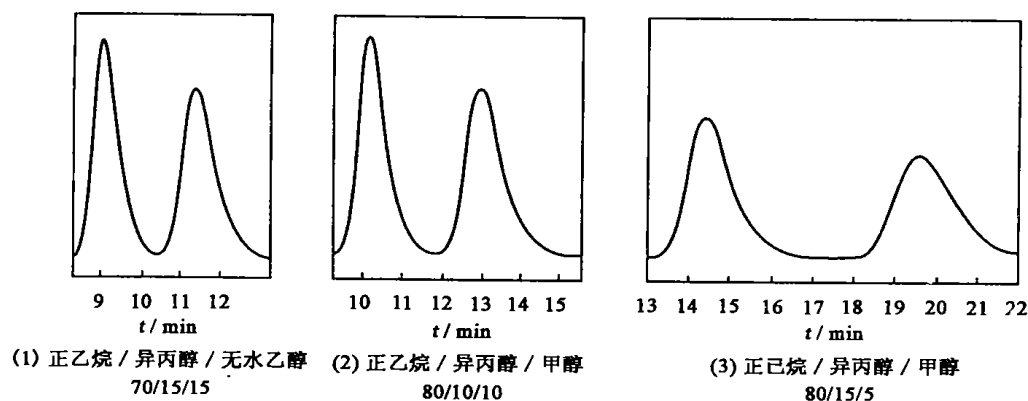


图 2 三元体系拆分雷诺嗪的色谱图

Fig. 2 Chromatograms of the chiral separation of Ranolazine

间环境,使对映体分子与手性空穴中苯基氨基甲酸酯之间的作用发生变化,从而改变立体选择性^[7]. 本实验采用甲醇改性剂在拆分雷诺嗪时普遍取得了很好的效果,可能是由于甲醇的分子很小,具有较小的立体位阻,因而可能与极性苯基氨基甲酸酯基团产生了强的氢键作用,从而改变了固定相手性空穴的环境,结果导致样品的立体选择性有所增加^[8].

分析型高效液相色谱手性拆分的良好结果通常是进行成功制备分离的先决条件. ADMPC 手性固定相的识别能力来自直链淀粉高度有序的空间螺旋

由表 2 可知,当流动相中甲醇或无水乙醇的体积百分含量为 15 % 时,正己烷/异丙醇/无水乙醇的分离结果优于正己烷/异丙醇/甲醇. 但当改性剂(甲醇或无水乙醇)的浓度小于等于 10 % 时,正己烷/异丙醇/甲醇作为流动相拆分的 R_s 值要比正己烷/异丙醇/无水乙醇作为流动相拆分的 R_s 大. 而且随着流动相中甲醇含量的减少, R_s 值也增加. 图 2 为不同含量甲醇流动相拆分的色谱图.

流动相中的醇改性剂不仅可以与对映体分子竞争作用于固定相上的手性点,还可通过手性空穴中或手性空穴附近的非手性作用而改变手性空穴的空

结构,只有位阻适当的分子才能进入衍生化直链淀粉的手性空穴中与极性的苯基氨基甲酸酯基团之间发生相互作用,如氢键作用、偶极-偶极作用、和 π - π 电子相互作用,从而实现手性拆分. 就本实验而言,对映体分子进入到手性空穴中与极性基团作用,由于 (+)/(-) Ranolazine 在空穴中所受的作用不同,故导致 Ranolazine 对映体分子洗脱出手性空穴的时间也不同,从而实现了二者的拆分.

高效液相色谱手性固定相分离手性化合物 (CSP) 可与待测物对映体反应生成短寿命、稳定性

较差的非对映体复合物,它不经过转变成非对映体而达到直接分离的目的.而且 CSP 能广泛用于各类化合物,适于常规及生物样品的测定,定量分析的可靠性高.雷诺嗪对映体在自制的直链淀粉-三(苯基氨基甲酸酯)手性固定相上得到了良好的分离,依此可建立雷诺嗪的分析方法.

参考文献:

- [1] Wang Jin-xia. Antianginal effects of ranolazine in various experiment models of angina[J]. *Arzneim Forsch*, 1999, 49(3):193-199.
- [2] Jain Dasgupta P. Ranolazine (RS-43285): A preliminary study of a new anti-anginal agent with effect on ischaemic myocardium[J]. *J Clin Pharmacol*, 1990, 38:111-114.
- [3] Wyatt Katrina M. The antianginal agent ranolazine is a weak inhibitor of the respiratory complex I, but with greater potency in broken or uncoupled than in coupled mitochondria[J]. *Biochem Pharmacol*, 1995, 50(10):1599-1606.
- [4] Wcco G. Effects of a new metabolic modulator, ranolazine, on exercise tolerance in angina pectoris patients treated with b-blocker or diltiazem[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1992, 20:131-138.
- [5] Pepine Carl J. A controlled trial with a novel anti-ischemic agent, ranolazine, in chronic stable angina pectoris that is responsive to conventional antianginal agents[J]. *Am J Cardiol*, 1999, 84(1):46-50.
- [6] Herron WJ. Estimation of ranolazine and eleven phase I metabolites in human plasma by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry with selected-ion monitoring[J]. *J Chromatogr A*, 1995, 712(1):55-60.
- [7] Wainer I W, Stiffin R M. *Journal of chromatography A*, 1987, 411:139-151.
- [8] Bengt-Arne P, Shalini A. *Journal of chromatography A*, 2001, 906:195-203.

The Enantiomeric Resolution of Ranolazine by High Performance Liquid Chromatography

ZHANG Hong-li¹, LI Xiao-yan², LIU Chun-hui¹, ZHAO Yan-fang¹, LI Yong-min¹, CHEN Li-ren¹

(1. Lanzhou Institute of Chemical Physics, the Chinese Academy of Science, Lanzhou 730000, China;

2. Gansu Design and Research Institute of Environmental Science, Lanzhou 730000, China)

Abstract: The chiral resolution ability of a self-made amylose-tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) chiral preparation column prepared by our laboratory was investigated. Through optimizing mobile phase we have attained good separation results and type of alcohol as modifier and its concentration on chiral were also studied.

Key words: HPLC; amylose-based chiral stationary phase; chiral phase; chiral resolution; Ranolazine racemate.

Classifying number: O657.32