



HPLC测定S-西酞普兰

西酞普兰(citalopram, CIT)是一种最具选择性的5-羟色胺回摄抑制剂,它具有耐受性好、副作用少的特点,被推荐为长期治疗抑郁症的首选药物[1][2][3]。1998年美国FDA批准在美国上市,1999年在中国市场销售。药理研究表明:CIT选择性抑制5-羟色胺再吸收的主要有效成分为其S-对映体,而另一R-对映体治疗作用甚微[4][5]。S-CIT(结构式见图1)将是其他抗抑郁药乃至CIT的更新换代产品,该药已于2002年8月在美国上市,国内正处于研究阶段。CIT的手性拆分在药物代谢的研究中已有报道[6][7],但有关R,S-CIT的分析检测方法尚未见报道。本研究建立了一种简单、准确、快速的高效液相方法(HPLC),可用于S-CIT的含量测定及R型的检测。

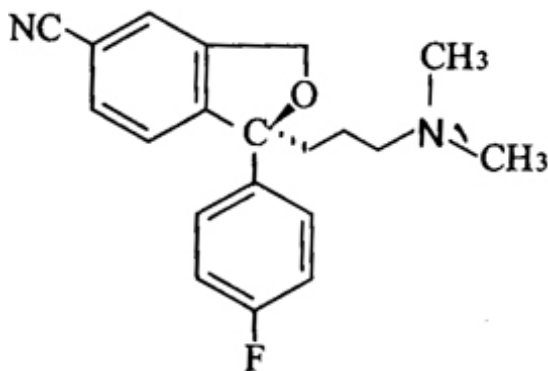


图1 S-西酞普兰的化学结构
Fig.1 Structure of S-citalopram

1 仪器和试剂

美国Agilent Hypersil 1010型HPLC仪, DVD检测器; S-CIT对照品及样品由广州市佐森生物科技有限公司提供,对照品由S-西酞普兰草酸盐精制而成(批号: 20030108), R型异构体<4.0%, 有关物质< 0.5%, 含量测定用归一法。按干燥品计算, 含 $C_{20}H_{21}FN_2O \cdot C_2H_2O_4$ 不得少于99.5%。甲醇、乙腈为色谱纯, 冰醋酸、三乙胺为分析纯, 水为去离子水经蒸馏后使用。

2 方法和结果

2.1 色谱条件

色谱柱:用CHIROBIOTIC V手性柱[(250.0±4.6) mm, 5 μm],以甲醇-冰醋酸-三乙胺(100:0.1:0.1)为流动相;检测波长240 nm,色谱柱温20 ℃,流速1.0 ml/min。S、R型异构体之间的分离度大于1.5,R型异构体和S型异构体的保留时间分别约为14.3和15.5 min。

2.2 线性关系实验

精密称取S-CIT对照品适量,用流动相溶解,并稀释制成每1 ml含1 mg的溶液作为贮备液,分别精密吸取贮备液到10 ml的容量瓶中,制成10、25、50、100、150 μg/ml浓度的溶液。取上述各溶液20 μl,记录各主成分峰的峰面积,以平均峰面积A为横坐标、以浓度C(μg/ml)为纵坐标进行线性回归,回归方程 $A=49224.78C-55.066$ ($r=0.9991$, $n=5$)。测定结果表明,S-CIT在线性范围10~150 μg/ml内,与峰面积呈良好的线性关系,且S型与R型异构体的分离度>1.5。

2.3 精密度试验

精密量取线性范围试验项下的25、50、100 μg/ml浓度,按上述色谱条件重复进样5次,记录各组分的峰面积,求出各组分峰面积的相对标准偏差(RSD)。测定结果表明,S-CIT的RSD为1.02%~1.96%。

2.4 回收率实验

精密量取S-CIT储备液,加流动相分别定量稀释成每1 ml含S-CIT 25、50、100 μg/ml的溶液各5份,按标准曲线项下的色谱条件进样20 μl,求出回收率。测定结果表明,S-CIT的平均回收率分别为99.32%、99.27%和99.87%,RSD在0.85%~2.58%的范围内。

2.5 检测限或定量限

用流动相配制浓度为5 μg/ml的原料药,进样量6 μl,检测限为0.03 μg(10倍信噪比)。

2.6 样品测定

取S-CIT约10 mg,精密称定,加流动相溶解并定量稀释制成100 μg/ml的溶液;取20 μl注入液相色谱仪,记录色谱图。3批样品的含量:20030115为99.3%,20030228为98.2%,20030305为100.2%($n=3$)。按归一法计算供试品中R型异构体和S型异构体含量之比,结果R型异构体均在5.0%以下,且分离度大于1.5,结果见表1、图2。

表 1 S-CIT 原料药中 R 型异构体测定 ($n=3$)

Tab.1 Determination of the content of R-citalopram in crude S-citalopram (CIT) specimens ($n=3$)

Batch No.	Content of R-CIT (%)	Separation ratio of S- and R- CIT (%)
20030115	2.97	2.16
20030228	4.36	2.56
20030305	3.54	2.65

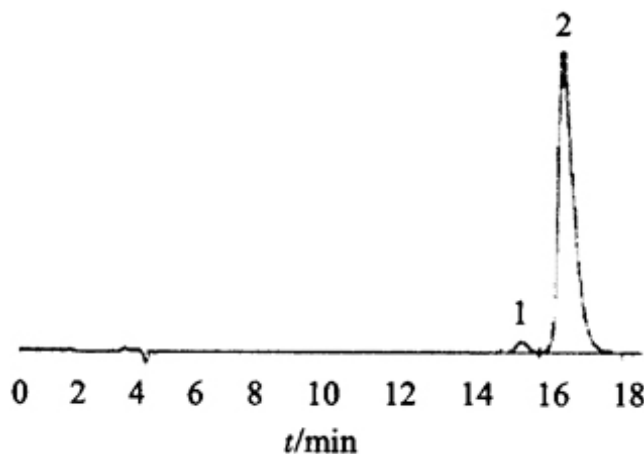


图2 S-citalopram的HPLC色谱图

3 讨论

手性药物对映体在生物体内的代谢和药理作用存在差异,因此手性拆分在药物及生命科学研究中十分重要。气相色谱法和毛细电泳法在手性拆分中显示出强大实力,但气相色谱法测试样品范围较小,毛细电泳法仪器普及不如HPLC。本研究采用手性固定相-HPLC分析测试R, S-CIT,结果准确、迅速、重现性好。色谱条件的优化:样品浓度越大,色谱峰拖尾现象越严重,加入适量三乙胺可改善峰形,但三乙胺过多色谱峰保留时间延长,峰形变宽。实验表明甲醇-冰醋酸-三乙胺为100:0.1:0.1最佳。柱温降低,S型与R型分离度增大,保留时间延长,综合考虑柱温20℃为宜。在此条件下,R, S-CIT可达到基线分离,且线性良好。S-CIT在强光、高湿、高温下稳定(另文报道),故本研究所建方法准确性、重现性良好,可用于S-CIT的含量测定及R-CIT的监控。

参考文献:

- [1] Masilamani S, Ruppelt SC. Escitalopram (Lexapro) for depression[J]. Am Fam Physician, 2003, 68(11): 2235-6.
- [2] Croom KF, Plosker GL. Escitalopram: a pharmaco-economic review of its use in depression[J]. Pharmacoeconomics, 2003, 21(16): 1185-209.
- [3] Lepola UM, Loft H, Reines EH. Escitalopram (10-20 mg/day) is effective and well tolerated in a placebo-controlled study in depression in primary care[J]. Int Clin Psychopharmacol, 2003, 18(4): 211-7.
- [4] Svensson S, Mansfield PR. Escitalopram: superior to citalopram or a chiral chimera[J]? Psychother Psychosom, 2004, 73(1): 10-6.
- [5] Hyttel J, Bogeso KP, Perregaard J, et al. The pharmacological effect of citalopram residues in the (S)-(+)-enantiomer[J]. J Neural Trans (Gen Sect), 1992, 88(2): 157-60.
- [6] Kosel M, Eap CB, Amey M, et al. Analysis of the enantiomers of citalopram and its demethylated metabolites using chiral liquid chromatography[J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1998, 719(1-2): 234-8.
- [7] 郑志昌, Klotz U. 西酞普兰及其代谢物的对映体稳态血药浓度测定[J]. 贵阳医学院学报, 2000, 25(3): 238-40.
Zheng ZC, Klotz U. Analysis of state plasma concentrations of enantiomers of citalopram and its metabolites[J]. J Guiyang Med Coll, 2000, 25(3): 238-40.

参考文献:

- [1] Masilamani S, Ruppelt SC. Escitalopram (Lexapro) for depression[J]. Am Fam Physician, 2003, 68(11): 2235-6.
- [2] Croom KF, Plosker GL. Escitalopram: a pharmaco-economic review of its use in depression[J]. Pharmacoeconomics, 2003, 21(16): 1185-209.
- [3] Lepola UM, Loft H, Reines EH. Escitalopram (10-20 mg/day) is effective and well tolerated in a placebo-controlled study in depression in primary care[J]. Int Clin

Psychopharmacol, 2003, 18(4): 211-7.

[4] Svensson S, Mansfield PR. Escitalopram: superior to citalopram or a chiral chimera[J]? Psychother Psychosom, 2004, 73(1): 10-6.

[5] Hyttel J, Bogeso KP, Perregaard J, et al. The pharmacological effect of citalopram residues in the (S)-(+)-enantiomer[J]. J Neural Trans (Gen Sect), 1992, 88(2): 157-60.

[6] Kosel M, Eap CB, Amey M, et al. Analysis of the enantiomers of citalopram and its demethylated metabolites using chiral liquid chromatography[J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1998, 719(1-2): 234-8.

[7] 郑志昌, Klotz U. 西酞普兰及其代谢物的对映体稳态血药浓度测定[J]. 贵阳医学院学报, 2000, 25(3): 238-40.

Zheng ZC, Klotz U. Analysis of state plasma concentrations of enantiomers of citalopram and its metabolites[J]. J Guiyang Med Coll, 2000, 25(3): 238-40.

[回结果列表](#)