

HPLC测定 S- 西酞普兰

杨雪梅¹, 刘旭², 严轶琛¹, 徐江平²(第一军医大学¹化学教研室,²药理教研室, 广东广州 510515)

摘要:目的 拆分西酞普兰(R,S-citalopram)对映异构体, 建立 S- 西酞普兰的质量检测方法。方法 采用 CHIROBIOTIC V 手性柱, 以甲醇-冰醋酸-三乙胺(100:0.1:0.1)为流动相, 检测波长 240 nm, 柱温 20 °C, 流速 1.0 ml/min。结果 S、R 型异构体获得完全分离, S- 西酞普兰在 10~150 μg/ml 范围内具有良好线性, ($r=0.9991$, $n=5$)。结论 该方法简便、准确, 可作为 S- 西酞普兰含量测定及其 R 型异构体的含量监控方法。

关键词:手性拆分; S- 西酞普兰; 高效液相色谱法

中图分类号: R971.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-2588(2004)06-0716-02

Content determination of S-citalopram by chiral high-performance liquid chromatography

YANG Xue-mei¹, LIU Xu², YAN Yi-chen¹, XU Jiang-ping²

¹Department of Chemistry, ²Department of Pharmacology, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: Objective To separate the enantiomers of citalopram and determine the content of S-citalopram using chiral high-performance liquid chromatography (HPLC). **Methods** The chiral column CHIROBIOTIC V was used with the mobile phase using methanol-acetic acid-triethylamine (100:0.1:0.1) at the detection wavelength of 240 nm, column temperature of 20 °C and flow rate of 1.0 ml/min. **Results** Complete separation of the enantiomers of citalopram was achieved, and S-citalopram exhibited good linearity within the concentration range of 10 to 150 μg/ml ($r=0.9991$, $n=5$). **Conclusion** This method allows accurate quantification of S- and R-citalopram and is well suited for drug interaction investigations.

Key words: enantiomer separation; S-citalopram; high-performance liquid chromatography

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^[1-3]。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。

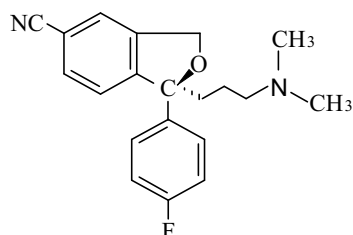


图 1 S- 西酞普兰的化学结构

Fig.1 Structure of S-citalopram

收稿日期:2004-02-24

作者简介:杨雪梅,1989年毕业于四川大学分析化学专业,讲师,主要从事新药的质量标准和中药指纹图谱的研究。

通讯作者:徐江平,博士,第一军医大学药理学教研室主任,主要从事神经系统药物研究,电话:020-61648236, E-mail: xujp@fimmu.com

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 °C, 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 $A=49\ 224.78C-55.066$ ($r=0.9991$, $n=5$)。测定结果表

明,S-CIT 在线性范围 10~150 $\mu\text{g/ml}$ 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 精密密度试验

精密量取线性范围试验项下的 25、50、100 $\mu\text{g/ml}$ 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 $\mu\text{g/ml}$ 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 $\mu\text{g/ml}$ 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 $\mu\text{g/ml}$ 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

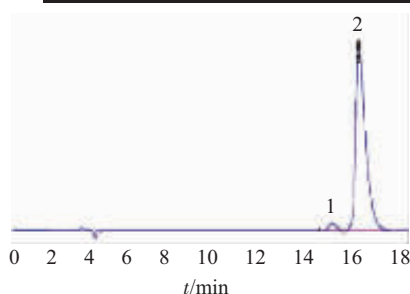


图 2 S-citalopram 的 HPLC 色谱图
Fig.2 HPLC chromatogram of S-citalopram
1: R-CIT; 2: S-CIT

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 $^{\circ}\text{C}$ 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 pharmacoeconomic 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.

更正

本刊 2004 年 24 卷第 4 期 475 页“ β 受体阻滞剂对急性心肌梗死并发恶性心律失常的救治”一文中,作者“方业民”改为“方业明”、“FANG Ye-min”改为“FANG Ye-ming”。