

应用并比较手性中间体在键合和涂覆型纤维素手性固定相上的拆分

明永飞^{1,2}, 赵亮¹, 张红丽¹, 师彦平¹, 李永民¹

¹(中科院兰州化学物理研究所甘肃省天然药物重点实验室兰州 730000) ²(中国科学院研究生院, 北京 110009)

摘 要: 制备了涂覆型和键合型纤维素-(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)固定相, 分别在制备的纤维素手性固定相上成功地拆分了一种手性中间体, 通过考察流动相中的改性剂(醇、四氢呋喃、三氯甲烷)对手性拆分的影响, 优化了手性中间体在两种手性固定相上的色谱分离条件, 比较手性中间体在涂覆和键合型纤维素手性固定相上的拆分。结果表明, 涂覆型和键合型手性固定相对这种手性中间体均有较好的拆分效果, 在150mm的色谱柱上, 这两种手性固定相对这种手性中间体的拆分能力相差不大。

关键词: 手性固定相; 手性分离; 键合; 涂覆; 手性中间体

近十年来, 手性固定相高效液相色谱法在医药、生化、农药、和有机中间体等的手性分离分析中都得到了极为广泛的应用^[1,2]。其中涂敷型手性固定的研究最多, 目前国内外已有商品化涂敷型手性商品柱出售。但是, 涂敷型的手性柱在使用四氢呋喃、三氯甲烷, 丙酮等一些有机溶剂作为流动相时, 会使纤维素衍生物溶胀和溶解, 破坏了它的空间结构而失去手性识别能力^[3], 这大大限制了该类手性柱的使用, 而键合型则克服了这一缺点。目前有关键合性手性固定相的研究相对较少, 商品化的纤维素键合固定相国内尝未见报道。Yashima^[4]、Minguillon^[5]、陈小明^[6,7]等分别用不同的方法制备了键合型的手性固定相, 并对其分离能力进行了评价。

随着立体化学研究的不断深入, 手性化合物在众多方面都显示出极其重要的作用。手性固定相法对这些手性化合物和中间体进行液相色谱拆分已经成为化合物拆分、光学纯度分析以及不对称合成反应检测等方面的重要手段^[8], 但是由于涂敷型固定相对四氢呋喃、三氯甲烷, 丙酮等有机溶剂较为敏感, 它们的存在会损坏手性固定相, 这大大限制了涂敷型固定相在一些化学反应检测中的应用, 而键合型固定相则可以克服上述问题。目前已有键合型手性固定相直接用于化学反应在线监测的报道^[9]。

本文分别利用涂敷和键合型纤维素-(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)固定相, 对一种手性中间体(结构见图1)在两类手性固定相上的拆分进行了系统研究。考察了乙醇的浓度、不同的醇类改性剂以及四氢呋喃、三氯甲烷对改种手性中间体手性分离的影响。并且对两种固定相对手性中间体的分离能力进行了比较, 为键合型手性固定相用于有关化学反应的监测提供参考。

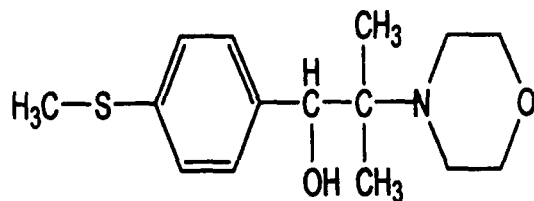


图 1 手性中间体的化学结构

第一作者: 明永飞, 男, 博士, 主要从事手性填料的制备及应用研究, Tel: (0931) 4968261
 通讯联系人: 李永民, 男, 博士, 研究员, E-mail: zhaol@lzb.ac.cn
 基金项目: 国家自然科学基金(No. 20375045)和中科院“西部之光”资助项目

1 实验部分

1.1 试剂

球形硅胶系本实验室合成, 粒径5-6 μm , 比表面积110 m^2/g , 平均孔径13 nm ; γ -氨丙基三乙氧基硅烷(TM-550)(武汉天目科技发展有限公司); 微晶纤维素(中国医药集团上海化学试剂公司); 3, 5-二甲基苯基异氰酸酯(ACROS); 手性中间体由中科院兰州化学物理研究所羰基合成与催化重点实验室任运来博士提供; 三苯基氯化碳(美国 M9ND3F2 公司), 其它均为国产分析纯试剂。

1.2 仪器与色谱条件

液相色谱系统由515 HPLC泵(Waters, USA); 2487型紫外可见波长检测器(Waters, USA); SEPU3000色谱数据处理器(杭州); 7725手动进样阀(10 μL)(Waters, USA)组成。色谱柱为150 $\text{mm} \times 4.6 \text{mm i. d.}$, 匀浆法在 3.7×10^7 Pa压力下填充。柱温: 室温; 紫外检测器检测波长: 254 nm 。

1.3 手性柱的制备

涂敷型手性固定相按照文献^[10, 11]的方法制备。6-位选择键合型纤维素-(3, 5-二甲基苯基氨基甲酸酯)的合成参照文献^[12]的方法。将2.5 g合成的键合型手性固定相超声分散于30 mL 50:50的正己烷/异丙醇的匀浆液中, 利用传统的匀浆装柱法装柱。

1.4 色谱计算

柱死体积(t_0)用1, 3, 5-三叔丁基苯测定, 分离因子(α)按 $\alpha = k_2'/k_1'$, 容量因子(k')按 $k_1' = (t_1 - t_0)/t_0$, $k_2' = (t_2 - t_0)/t_0$ 计算, 分离度 $R_s = 1.18(t_2 - t_1) / [W_{(1/2)1} + W_{(1/2)2}]$, $W_{(1/2)1}$ 和 $W_{(1/2)2}$ 分别为第一个洗脱峰和第二个洗脱峰之半峰宽。

2 结果与讨论

通常认为涂覆性型固定相手性识别的形成是多种相互作用力共同作用的结果, 这些作用力包括对映体与固定相之间的氢键作用、偶极-偶极作用及 π - π 相互作用^[13]。键合性手性固定相的拆分机理也与此相似。就所研究的手性中间体而言, 样品分子中OH与键合型手性固定相上氨基甲酸酯残基的C=O基团间可发生氢键作用, 手性中间体的芳香环与纤维素手性固定相的苯环间可发生 π - π 相互作用。

2.1 流动相中乙醇的含量对手性中间体分离的影响

正己烷/乙醇体系是纤维素手性固定相法直接拆分对映体最为常用的流动相之一。首先考察了流速为1.0 mL/min 时乙醇的含量对手性中间体拆分的影响。表1列出了流动相中乙醇含量对手性中间体保留因子和手性拆分的影响。

表1 乙醇的浓度(正己烷/乙醇)对手性中间体分离的影响

v/v	流动相		键合型纤维素固定相				涂敷型纤维素固定相			
	k_1	k_2	α	R_s	k_1	k_2	α	R_s		
70/30	1.33	2.28	1.69	2.76						
80/20	1.77	3.09	1.75	2.60	2.08	4.01	1.93	3.98		
85/15	1.91	3.23	1.69	2.56	2.14	1.14	1.93	3.97		
90/10	2.51	4.33	1.72	2.83	3.02	5.92	1.96	4.50		
95/5	3.82	6.76	1.77	3.10						

随着乙醇含量减小, 在两种纤维素固定相上, 流动相的洗脱能力减弱, 溶质与固定相的作用力增强, 保留增强, 容量因子 k 增大, 说明手性中间体与固定相间的主要作用是氢键相互作用。对于手性中间体来说, 随着乙醇含量减小, 分离度 R_s 均没有明显的变化。尽管在键合型纤维素固定相上, 当流动相为正己烷/乙醇(95/5)时能够获得相对较高的分离度, 但是实验中为了便于两种固定

相分离能力的比较,采用的流动相为正己烷/乙醇(90/10)。此时手性中间体在两种固定相上均能得到良好的分离。

2.2 不同的醇类改性剂对手性中间体拆分的影响

在多糖类衍生物固定相上的手性拆分,氢键相互作用起着关键的作用,无论是涂敷型还是键合性手性固定相都是如此。溶质和极性的流动相添加剂都有可能与固定相形成氢键,即溶质和极性添加剂之间存在着竞争作用。这种竞争作用必然与添加剂的溶剂强度和立体结构有关,因此进行不同醇类对手性拆分影响的考察是很必要的^[14,15]。在正己烷/醇体积比为90:10的正相体系,流速为1.0mL/min时,考察了不同醇类添加剂对手性中间体在两种手性固定相上的手性拆分的影响,见表2。

表2 不同醇类改性剂对手性中间体的手性分离的影响

流动相	键合型纤维素固定相				涂敷型纤维素固定相			
	k_1	k_2	α	R_s	k_1	k_2	α	R_s
90/10								
Ethanol	2.98	5.31	1.78	3.38	3.02	5.92	1.96	4.50
1-Propanol	2.51	4.51	1.80	3.07	2.80	6.14	2.19	4.60
1-Butanol	2.81	5.16	1.83	3.23	2.80	5.89	2.11	4.41
2-Propanol	3.96	6.81	1.72	3.04	4.12	7.94	1.92	4.42
2-Butanol	3.21	5.93	1.85	3.12	3.81	7.87	2.07	4.39

由表2的结果发现,流动相中不同的醇对样品的拆分能力差别较大。在选用乙醇作为醇类改性剂时,在键合型手性柱上拆分效果较好,样品很快就洗脱出色谱柱,且分离度比其它醇作改性剂时都要大;在涂敷型手性固定相上,采用乙醇和正丙醇作为醇类改性剂时,拆分的样品均能得到较好的分离且分离度达到4.50。醇链的长度对样品在两种手性固定相上的拆分的影响有所不同。在键合型固定相上,当醇类改性剂由丙醇变化到丁醇时,手性中间体的分离度由3.04变化到3.23。在涂敷型固定相上,当醇类改性剂由正丙醇、异丙醇、正丁醇变化到异丁醇时,随着醇链的增加,样品的分离度逐渐减小,其分离度由4.60减小到4.39。醇类改性剂的变化对样品在两种固定相上拆分的影响不同可能是由于键合和涂敷型固定相上溶质在手性固定相的吸附点的不同造成的,因为键合型手性固定相的手性作用点比涂敷型固定相的手性作用点要少。

流动相中的醇改性剂不仅可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点的作用而改变手性空穴的空间环境,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^[16]。实验中为了便于对两种手性固定相的分离能力的比较,选用乙醇作为手性分离的醇类改性剂。

2.3 四氢呋喃、三氯甲烷对手性中间体手性分离的影响

键合型手性固定相较涂敷型手性固定相的最大优点就是可以使用四氢呋喃、三氯甲烷,丙酮等这类能够引起涂敷型多糖手性固定相溶胀和溶解,破坏了它的空间结构而失去手性识别能力的有机溶剂作为流动相添加剂,这大大扩展了流动相的选择范围。图2是不同的流动相条件对手性中间体分离的影响。

由图中可以看出,当流动相中添加四氢呋喃和三氯甲烷时,样品在键合型手性柱上的保留有所减弱,其分离度有所降低,但是样品的分离效率却有一定程度的改善,理论塔板数得到明显的提高。由此可见,在满足分离要求的前提下,利用键合型手性柱有助于提高色谱的分离效率,满足实际生产中对反应过程的适时检测的要求。

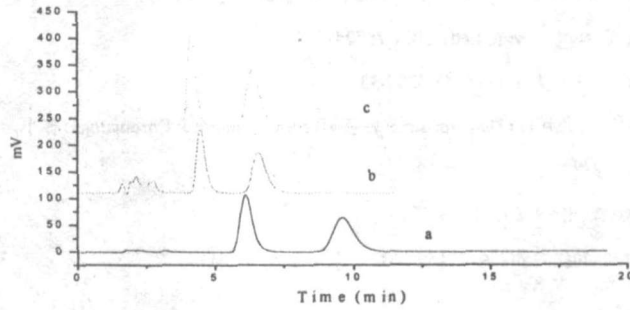


图2 手性中间体的色谱分离图

通过对手性中间体在两种类型手性柱上的分离条件的优化,得到了手性中间体的最佳分离条件,当流动相为正己烷/异丙醇为90/10h,样品在两种手性柱上均能得到令人满意的分离,见图3。另外,在键合型手性柱上,通过添加四氢呋喃或三氯甲烷,可以进一步的改善峰型,提高分离效率(见图2)。

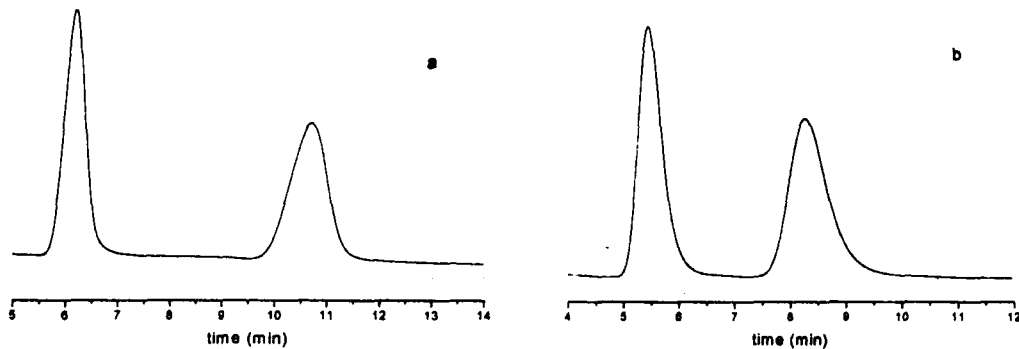


图3 涂敷(a)和键合(b)纤维素手性固定相上手性中间体的分离色谱图

3 结论

在自制的涂敷和键合型手性固定相上实现了手性中间体的手性分离,通过比较样品在两种固定相上的分离结果发现,这两种手性固定相对样品都具有良好的分离能力,他们都可以用于该样品的手性拆分。另外四氢呋喃和三氯甲烷作为添加剂用于样品在键合型固定相上的拆分得到了令人满意的结果,这在涂敷型固定相上却无法实现。鉴于这一优点,键合型手性固定相将成为生产科研中用于反应监测的首选,这是涂敷型手性固定相无法比拟的。

参考文献:

- [1] Okamoto Y, Yashima E. *Angew Chem Int. Ed.*, 1998, 37 (8): 1020-1043
- [2] Maier N. M., Franco P., Linder W. *J. Chromatogr A*, 2001, 906: 3-33
- [3] Okamoto Y., Kawashima M., Hatada K. *J Am Chem Soc*, 1984, 106 (18): 5357-5359
- [4] Yashima E., Fukaya H., Okamoto Y. *J. Chromatogr A*, 1994, 677: 11-19
- [5] Minguillón C., Franco P., Oliveros L., *et al.* *J. Chromatogr A*, 1996, 728: 407-414
- [6] Chen X. M., Liu Y. Q., Qin F., *et al.* *J. Chromatogr A*, 2004, 1034: 109-116
- [7] Chen X. M., Liu Y. Q., Qin F., *et al.* *J. Chromatogr A*, 2003, 1010: 185-194
- [8] Zhou Zhiqiang, Ding Errun, Hou Jingguo. *Journal of Instrumental Analysis*(周志强, 丁二润, 侯经国. *分析测试学报*), 1998, 17(5): 61-63
- [9] Ghanem A, Hassan Y. Aboul-Enein. *Analytica Chimica Acta*, 2005, 548: 26-32
- [10] Huisden R E, Kraak J C, Poppe H. *J Chromatogr.*, 1990, 508 (2): 289-299

- [11] Okamoto Y, Kawashima M, Hatada K. *J Chromatogr*, 1986, 363 (2):173-186
- [12] Kubota T., Kusano T., Yamamoto C. *et al.* *Chem. Lett.*, 2001,7: 724-725
- [13] Yashima E., Okamoto Y. *Bull. Chem. Soc. Jpn*, 1995, 68:3289-3307
- [14] Han Xiao-Qian(韩小茜), Qi Bang-Feng(齐邦峰), Dun Hui-Juan(敦惠娟) *et al.* *Chinese J. Chromatogr* (韩小茜, 齐邦峰, 敦惠娟. 色谱), 2002, 20 (3): 241 - 244
- [15] Wang T, Chen Y W. *J. Chromatogr. A*, 1999, 855: 411 - 421
- [16] Wainer I W, Stiffinm R M. *J Chromatogr.*, 1987, 411: 139-151