

高效液相色谱手性固定相的制备及色谱柱的评价

张 策 庞志龙

(天津化学试剂二厂 300381)

摘要 制备了两种不同结构的 β -环糊精型手性固定相 CSP A 和 CSP B, 制成手性色谱柱 I 和 II, 并且用 DL-氨基酸衍生物的手性拆分实验对色谱柱进行了评价。

关键词 β -环糊精 手性固定相 手性异构体 DL-氨基酸

色谱法是拆分手性异构体(也叫对映体)最有效的方法。在化学、生物医学、药物科学等领域, 色谱法已被广泛应用于分离手性异构体的研究及实践工作, 如手性化合物的分离及定性定量分析, 不对称催化及不对称合成, 生物活性研究, 光学纯药物的制备等。在对映体的色谱拆分方法中, 最简便且被普遍采用的是手性固定相(CSP)法。文献[1,2]介绍了手性固定相法拆分对映体的有关应用。80年代以来, 国外厂商已研制了多种类型的手性固定相并制成色谱柱出售^[3], 国内也有很多关于手性固定相的研究报道。目前, 我国手性固定相的研制工作还处于起步阶段, 大部分品种还依赖进口且价格昂贵, 因此, 手性固定相的研究与开发具有重要的学术和实际意义。

笔者采用具有手性空腔结构的 β -环糊精(简称 β -CD)作为手性选择基团, 将其通过不同的连接基团键合到硅胶表面, 制备了 β -CD 型高效液相色谱手性固定相 CSP A 和 CSP B, 制成色谱柱 I 和 II, 并且用 DL-氨基酸衍生物的色谱拆分实验对色谱柱 I 和 II 进行了评价和比较。

1 手性固定相的制备

1.1 硅烷化硅胶的键合

用脲醛法合成球型硅胶, 其粒度为 $(5 \pm 1)\mu\text{m}$, 比表面积为 $200 \text{ m}^2/\text{g}$ 。将硅胶于 110°C 真空干燥后, 分别在干燥的甲苯中与 [3-(2-氨基丙基)-丙基]-三甲氧基硅烷和 3-缩水甘油基丙基-三甲氧基硅烷加热回流, 得到两种硅烷化硅胶。

1.2 β -CD 的活化

将 β -CD 重结晶并于 110°C 真空干燥后, 在干燥的吡啶中用对甲苯磺酰氯进行活化, 使 β -CD 的羟基群被对甲苯磺酰基取代。

1.3 手性固定相的制备

在干燥的吡啶中, 用 [3-(2-氨基丙基)-丙基]-三

甲氧基硅烷化硅胶与活化后的 β -CD 反应, 得到手性固定相 CSP A; 用 3-缩水甘油基丙基-三甲氧基硅烷化硅胶与未经活化的 β -CD 在碱催化条件下反应, 制得 CSP B。

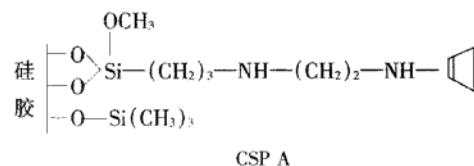
1.4 后处理

产物用吡啶、甲醇、丙酮依次洗涤, 自然干燥后在甲苯中用过量的六甲基二硅胺烷处理, 使硅胶表面残留的羟基被硅甲基取代, 以减少硅胶表面的活性点, 提高 CSP 的分离效能。

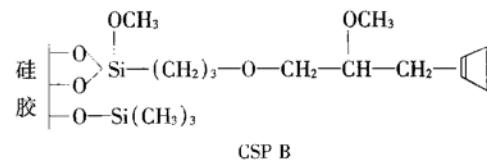
1.5 色谱柱的制备

用 $250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm i.d.}$ 不锈钢柱, 在 BF-100 型装柱机上, 采用均浆装柱法, 制成手性色谱柱 I 和 II, 其中柱 I 填料为 CSP A, 柱 II 填料为 CSP B。

CSP A、CSP B 结构如下, 式中 \square 为 β -CD 基团。



CSP A



CSP B

2 手性色谱柱的评价

2.1 实验方法

在众多手性化合物中, 氨基酸是典型的手性异构体。笔者选用了四种带不同侧链的 DL-氨基酸的衍生物作为被测样品, 其结构如图 1 所示。

我们通过测定分离因子 α 和容量因子 k' 值(见表 1), 考察 CSP A、CSP B 的分离性能, 并比较和评价柱 I 和柱 II。

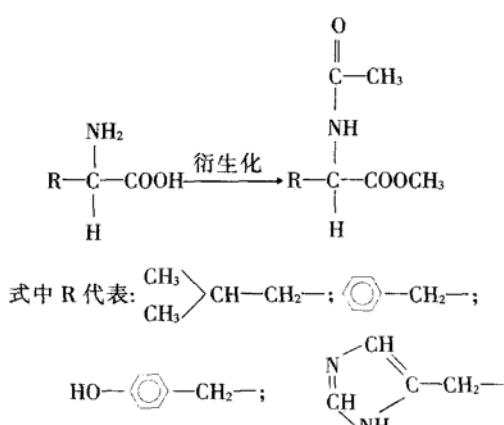


图 1 DL-氨基酸衍生物的结构

表 1 DL-氨基酸衍生物在 CSP A(柱 I)和
CSP B(柱 II)上的色谱拆分结果

序号	样品	CSP A(柱 I)		CSP B(柱 II)		
		k_1'	k_2'	α	k_1'	k_2'
1	N-乙酰-DL-亮氨酸甲酯	5.34	6.46	1.12	3.40	4.25
2	N-乙酰-DL-苯丙氨酸甲酯	4.56	5.88	1.29	2.71	3.74
3	N-乙酰-DL-酪氨酸甲酯	3.12	3.54	1.13	2.52	2.95
4	N-乙酰-DL-组氨酸甲酯	3.23	3.23	1.00	2.65	2.65

注: k_1' 、 k_2' 为先后流出的对映异构体的容量因子。

2.2 色谱条件

高压泵: SP-8800 型;

紫外检测器: SC-100 型;

数据处理仪: SP-4600 型;

固定相: CSP A、CSP B;

流动相: $V_{(\text{甲醇})}:V_{(0.15 \text{ mol/L 磷酸盐缓冲液})} = 30:70$, pH =

5.5;

流速: 1.5 mL/min;

检测波长: $\lambda = 230 \text{ nm}$;

温度: 室温。

2.3 色谱柱评价

由表 1 数据可知, 1、2、3 三种 DL-氨基酸衍生物对映体在柱 I 和柱 II 上都可被拆分, 而 4 对映体则不能被拆分。可见, 氨基酸侧链 R 的碳数大小和极性强度是影响手性拆分的主要因素。另外, 柱 II 的 k' 值均低于柱 I, α 值均高于柱 I, 说明对映体在柱 II 上的分离效果要好于柱 I, 这一结果可由两种 CSP 的结构特点来解释: 由于 CSP A 的连接基团中含有两个极性的 N-H 键, 使 CSP 上存在无益的作用点, 从而增加了 CSP 与样品间的附加作用力, 而 CSP B 不存在极性的无益作用点, 因此, 柱 II 较柱 I 保留时间短且选择性高。有关 CSP A 和 CSP B 拆分对映体的机理和氨基酸侧链结构对色谱拆分的影响及规律, 将另外撰文讨论。

3 结语

CSP 的种类很多, 如 Pirkle 型、CD 型、纤维素型、冠醚型等, 而大部分 CSP 的分离机理和应用范围还处于探讨和实验阶段。因此, 在手性化合物的分析测试及相关工作中, 确定有价值的分析对象, 正确选择 CSP, 扩展 CSP 的应用范围, 将成为重要的研究课题。

参 考 文 献

- J T Ward, et al. J Liq Chromatogr, 1986, 9: 407
- Y Kawaguchi, et al. Anal Chem, 1983, 55: 1852
- 徐修容. 色谱, 1991, 9(6): 363

PREPARATION OF HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHIC CHIRAL STATIONARY PHASES AND EVALUATION OF THE COLUMNS

Zhang Ce, Pang Zhilong

(No. 2 Chemical Reagent Factory of Tianjin 300381)

ABSTRACT Two different structures of the β -cyclodextrin chiral stationary phases CSP A and CSP B are prepared. The chiral columns I and II are made. Evaluation to the columns are executed by the chiral resolution test with the derivatives of the DL-amino acid.

KEYWORDS β -cyclodextrin, chiral stationary phase, chiral isomer, DL-amino acid

全国第十一次标准物质学术交流会召开

全国第十一次标准物质学术交流会于 1999 年 10 月 11 日 ~ 14 日在昆明顺利召开, 入会代表 110 人。本次会议的主题是标准物质溯源性、标准物质测量的不确定度及新类型标准物质。国家标准物质研究中心于亚东主任致了开幕词并做了“标准物质与测量”的报告, 他指出我国标准物质虽然起步晚、基础薄弱, 但发展很快, 已形成完善的体系并深入到各个领域。1998 年我国研制的标准物质的数量已达 2000 余种, 在 COMR 库中排第四名。随着我国经济领域的不断调整, 产生了一些新行业、新课题, 因此标准物质领域具有广阔的发展前景。柯瑞华教授、杨卓孚教授、韩永志秘书长等做了专题报告。本次会议共收集论文 87 篇, 涉及的领域比较广, 而且传统的标准物质正在向高新领域的标准物质发展。(雪)