

用三-(3,5-二硝基苯甲酰基)纤维素薄层分离对映体*

徐莉, 刘岚, 何建峰, 马果东, 邓芹英

(中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

摘要: 采用超声方法合成了三-(3,5-二硝基苯甲酰基)纤维素 (CTNB), 并用红外光谱、元素分析对 CTNB 进行了表征。将 CTNB 用于薄层分离对映体, CTNB 和微晶纤维素 (MC) 按等比例混合, 制备成薄板的手性固定相。采用合适的展开剂系统, 使 6 种手性药物得到完全分离, 相对比移值 $\alpha \geq 1.79$ 。

关键词: 三-(3,5-二硝基苯甲酰基)纤维素; 手性固定相; 拆分; 薄层色谱

中图分类号: O657.72 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2002) 05-0115-03

纤维素和淀粉衍生物的手性固定相在高效液相色谱 (HPLC) 手性药物分离中有重要地位^[1,2]。Okamoto 等^[3,4]将纤维素衍生物涂敷在大孔硅胶上用作 HPLC 手性固定相, 对一些手性药物成功进行了拆分, 但纤维素衍生物用于薄层色谱进行手性拆分的报道却很少, 用纤维素苯甲酸酯类衍生物用于薄层手性分离还未见文献报道。薄层色谱具有简单、直接、快速等诸多优点, 本文运用手性分离原理, 用超声方法合成了三-(3,5-二硝基苯甲酰基)纤维素 (CTNB), 并将等质量 CTNB 与 MC 的混合物为固定相制成薄层板, 结合展开剂的优化, 使得 6 种手性药物 (图 1) 的对映体得到完全分离, 各对映异构体的相对比移值 (α) 大于 1.79。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器 3,5-二硝基苯甲酰氯, 本实验

室自制; 微晶纤维素 (MC), 柱层析用, 上海试剂二厂, 100 °C 真空干燥 24 h 后备用 (P₂O₅ 为干燥剂); 吡啶 (AR), 经氢氧化钾干燥后蒸馏, 收集 114~116 °C 的馏分。

普洛萘尔, 汕头金石制药厂产品; 阿替洛尔, 上海三维有限公司产品; 其它手性药物由广州南方医院提供。以上手性药物经溶剂处理后, 在硅胶薄层板上用不同极性的溶剂展开, 未见其它斑点, 说明都是纯度较高的药物。其它试剂均为分析纯。

华南超声设备厂的 HN1006 型超声波发生器。德国 Elementar Vario El 元素分析仪。德国 Brucker 公司 FT-IR EQUIDUIOX-55 型红外光谱仪。

1.2 三-(3,5-二硝基苯甲酰基)纤维素的制备 三-(3,5-二硝基苯甲酰基)纤维素的制备参考文献 [5, 6]。微晶纤维素 (MC) 用吡啶预处理, 静置 30

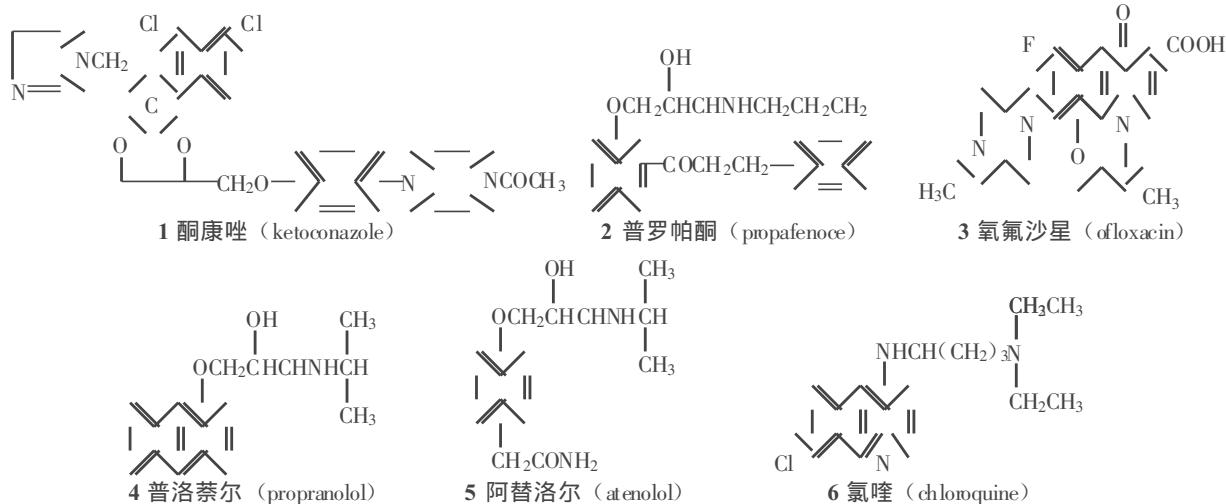


图 1 手性药物的化学结构式

Fig. 1 The chemical structure of the chiral drugs

* 收稿日期: 2002-03-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (29672054)

作者简介: 徐莉 (1972 年生), 女, 博士研究生; 通讯联系人: 邓芹英; E-mail: ceslek@zsu.edu.cn

min 使之充分溶胀,一定量的 3,5-二硝基苯甲酰氯用吡啶超声分散匀浆 8~10 min 后,加入预处理好的 MC 中,超声反应 2 h,放置过夜。100 °C 减压蒸去吡啶,固体物用乙醚、甲醇交替洗涤直至无氯离子,80 °C 下干燥得淡黄色粉末状固体,产率 92%。

1.3 手性薄板的制备 等比例称取三-(3,5-二硝基苯甲酰基)纤维素和微晶纤维素,于研钵中研磨均匀,在不断研磨下慢慢滴入蒸馏水和少量乙醇使之混合成均匀的浆状物,涂布在 2.5 cm×7.5 cm 的干净载玻片上,制成厚度均匀、表面平滑的薄层,室温下水平晾干后,置于 100 °C 烘箱烘大约 10 min,取出放在干燥器中备用,最终得到薄层板的厚度约为 0.25 mm。

1.4 色谱条件 将待测手性药物溶于甲醇,配成浓度约为 1 mg/mL 的溶液。用毛细管在距板边缘 1 cm 处点样,室温下上行展开。展开剂系统为正己烷/异丙醇(A)、乙腈/去离子水(B)、乙腈/甲醇/ $\varphi=1\%$ 乙酸三乙胺(TEAA)(C)、氯仿/正己烷/三乙胺(D)、丙酮/乙醇/三乙胺(E)、氯仿/丙酮/三乙胺(F)。并采用相应的方法观察样品斑点的分离情况:①碘缸中;②紫外灯($\lambda=365$ nm)下;③香草醛硫酸溶液喷雾显色下观察。

2 结果与讨论

2.1 CTNB 的合成 合成 CTNB 时一定要保证体系严格干燥,3,5-二硝基苯甲酰氯最好新制备且干燥充分,在吡啶中的匀浆时间以 8~10 min 为宜,如匀浆时间和后来的反应时间过长,都会导致产物颜色加深而影响到后来的紫外检测。实验发现,当微晶纤维素与 3,5-二硝基苯甲酰氯的用量(m/m)约为 1:8,反应时间 2 h,羟基基本酯化完全。

超声合成法与普通的加热回流法^[7]比较,前者具有试剂简单、反应条件温和及大大缩短反应时间等优点,因而更具有实用价值。

2.2 CTNB 的表征 用 KBr 压片法对未衍生化的 MC 和衍生化后的 CTNB 进行红外光谱测定。结果发现,CTNB 谱图上 3 340 cm^{-1} 的羟基峰明显减弱,产生很强的酯羰基吸收峰($\nu(\text{C}=\text{O})$, 1 742 cm^{-1}),并伴随有 CTNB 的苯环骨架振动吸收峰,同时 1 544 和 1 346 cm^{-1} 的两个强信号峰表明有 $-\text{NO}_2$ 存在;元素分析[($\text{C}_{27}\text{H}_{16}\text{O}_{20}\text{N}_6$) $_n$, w/%, 括号内为理论值]: C 42.23(43.55), H 2.34(2.15), N 11.26(11.29)],表明微晶纤维素的羟基基本酯化完全。

2.3 手性薄层板的制备 制备纤维素衍生物的薄层板有一定的困难,首先是固定相难于吸附在玻璃板上,因为固定相的疏水作用和载玻片表面很难发生有效的吸附作用;其次,所制得的 CTNB 呈淡黄

色,有很强的紫外吸收,使得检测困难。实验发现,通过加入等量的微晶纤维素大大改进了上述缺点,表现为如下几个方面:①MC 含异常丰富的羟基,易与极性玻璃表面吸附,起到了类似黏合剂的作用;②MC 本身无紫外吸收,加入等量的微晶纤维素大大降低了手性固定相的紫外背景吸收;③MC 价格便宜,加入手性固定相意味着成本降低。实验结果表明,采用质量比为 1:1 的 CTNB 和 MC,无其它黏合剂条件下制备的薄层板,机械效能好、表面平滑、紫外背景吸收弱;另外,选用厚度为 0.7 mm 的软质玻片,可使固定相与玻片之间黏合较好,不易脱落。

2.4 手性药物的拆分 用上述方法制备的 CTNB 手性薄层,配合展开剂系统的优化和适当的显色方法,6 种手性药物得到良好分离,结果见表 1。

表 1 手性药物在衍生化手性固定相 CTNB 上的薄层拆分结果

Tah 1 Results from TLC separation of the enantiomers on the cellulose tris(3,5-dinitrobenzoate)

| 样品 | R_{F1} | R_{F2} | $\alpha^{1)}$ | 流动相 | 显色方法 ²⁾ |
|------|----------|----------|---------------|------------|--------------------|
| 酮康唑 | 0.39 | 0.78 | 5.54 | A(7:3) | ① |
| 普罗帕酮 | 0.61 | 0.75 | 1.92 | B(1:1) | ① |
| 氧氟沙星 | 0.41 | 0.78 | 5.10 | C(2:1:0.1) | ② |
| 普洛萘尔 | 0.83 | 0.92 | 2.36 | D(1:2:0.1) | ③ |
| 阿替洛尔 | 0.71 | 0.89 | 3.30 | E(2:1:0.1) | ① |
| 氯喹 | 0.76 | 0.85 | 1.79 | F(2:1:0.1) | ① |

1) 相对比值 $\alpha = \frac{1/R_{F1} - 1}{1/R_{F2} - 1}$; 2) 参考 1.4 中显色方法

表中数据表明,在所选取的色谱条件下,6 种手性药物对映体得到良好的拆分,而用单纯的微晶纤维素板未能获得拆分。一般认为,对映体在 CTNB 手性固定相的拆分主要是凭借手性固定相与手性药物分子之间的氢键作用、 $\pi-\pi$ 相互作用、偶极-偶极作用,以及手性药物分子与纤维素分子的手性螺旋空腔形成包合物而获得的^[2]。本文基于 pirkle 型 CSP 的设计思想和原理,将能接受 $\pi-\pi$ 相互作用的重要基团——3,5-二硝基苯甲酰基来修饰微晶纤维素,增加了手性固定相的手性识别位点,对映体和 CSP 能发生 $\pi-\pi$ 作用、氢键作用、偶极-偶极叠合作用以及空间排斥作用等。实验结果表明,手性固定相对 β -受体阻断剂如普洛萘尔、阿替洛尔等一类 β -氨基醇类手性药物分子表现出良好的手性拆分能力,2 种药物的手性中心结构很相似,但选择的展开剂系统不同,普洛萘尔的萘环受到的空阻较大, $\pi-\pi$ 相互作用弱,即整个药物对映体分子与 CTNB 的作用较阿替洛尔要弱,要达到分离效果就需使用极性

相对较弱的溶剂, 这样有利于手性药物分子与固定相更重复多次的作用, 从而达到分离的效果。

2.5 流动相的组成对手性药物拆分的影响 流动相的组成是决定手性拆分效果的主要因素之一。实验表明, 对于含酸性或碱性基团的物质来说, 适当加一些 pH 调节剂, 有利于减少拖尾现象, 使斑点完整清晰。在对手性药物对映体酮康唑和氧氟沙星的展开剂系统进行考察中, 观察了展开剂中有机溶剂异丙醇和甲醇的含量对手性拆分的影响。结果表明, 增加展开剂系统中极性溶剂异丙醇和甲醇的比例, 溶剂极性增大, 手性分子与溶剂分子形成氢键的能力增强, 从而使展开剂对样品的洗脱能力增强, R_F 值增大, 反之, R_F 值减小。但当极性溶剂的含量增加到一定比例后, 板效会降低, 手性分子不能有效地与固定相发生相互作用, 从而影响手性分子的分离效果。因此只有在一定比例的展开剂中, 才能使样品的分离达到最佳效果。

参考文献:

[1] FRANCO P, MINGUILLON C, OLIVEROS L. Bonded cellulose-derived high performance liquid chromatography chiral

stationary phases[J]. J Chromatogr A, 1997, 791: 37-44.

- [2] FELIX G. Regioselectively modified polysaccharide derivatives as chiral stationary phases in high performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr A, 2001, 906: 171-184.
- [3] OKAMOTO Y, KAIDA Y. Polysaccharide derivatives as chiral stationary phases[J]. J High Resolution Chromatography, 1990, 13: 708-712.
- [4] OKAMOTO Y, KAIDA Y. Resolution by high-performance liquid chromatography using polysaccharides carbamates as chiral stationary phases[J]. J Chromatogr A, 1994, 666: 403-419.
- [5] RINBOCK K H, KACTNER F, MANSCHRECH A. Microcrystalline tribenzoylcellulose: a HPLC sorbant for the separation of enantiomers[J]. J Chromatogr A, 1986, 351: 346-350.
- [6] 邹公伟, 郑琦, 胡冠九, 等. 纤维素三-(3,5-二硝基)苯甲酸酯手性固定相的制备和应用研究[J]. 化学学报, 1997, 55: 617-621.
- [7] TERFLOTH G H, PIRKLE W H, LYNAM K G. Broad applicable polysiloxane-based chiral stationary phase for HPLC and SFC[J]. J Chromatogr A, 1995, 705: 185-194.

Resolution of Chiral Drugs Using Cellulose Tris (3, 5 dinitrobenzoate) as Chiral Stationary Phases by TLC

XU Li, LIU Lan, HE Jian feng, MA Guo dong, DENG Qin ying

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat sen (Zhongshan) University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Cellulose tris(3,5 dinitrobenzoate) (CTNB) was ultrasonically prepared and characterized by IR spectrometry and element analysis. The mixture of CTNB and microcrystalline cellulose was used as chiral stationary phase (CSP) of thin layer chromatography (TLC). Suitable mobile phases were chose to achieve complete resolution for six chiral drugs with the relative R_F values more than 1.79.

Key words: cellulose tris(3,5 dinitrobenzoate); chiral stationary phase; resolution; thin-layer chromatography