

β -环糊精色谱手性固定相的合成及性能表征^{*}

余品香 邓芹英 王 鹏 许遵乐

(中山大学化学与化学工程学院, 广州 510275)

摘 要 将 β -环糊精(β -CD)键合到硅胶表面上制成薄层色谱手性键合固定相.用红外光谱、元素分析和热重分析测定键合相的化学组成和性质.对键合反应的工艺条件和键合相的色谱性能进行了较详细的研究.6对联萘酚类对映体在键合固定相薄层板和石油醚-乙酸乙酯-甲醇-石油醚-乙酸乙酯-乙腈溶剂系统中得到完全的分离.对映体的 R_f 值为1.19~1.68.

关键词 键合固定相, β -环糊精, 对映体拆分, 薄层色谱

分类号 O 657.72

对映体在生理过程中的不同作用越来越引起人们的重视,特别是在药物领域,在目前市售的药物中,有约40%是手性药物,其中仅有约1%以旋光纯物质进入市场,其余绝大部分药物均以外消旋体出售^[1].由于许多对映体的药理活性存在显著的差异,故拆分对映体对提高药效,减少副作用在理论上和实际上都有着重要的意义.目前液相色谱法已成为对映体拆分和测定对映体含量的重要手段.其中,以环糊精及其衍生物作为手性固定相来拆分对映体,近年来已成为这一领域的热点.

β -环糊精(β -CD)是由7个葡萄糖分子通过 α -1,4糖苷键连接而成的环状低聚糖.由于其特殊的结构,能够在它的疏水空腔中选择性地包结各种客体分子,形成具有不同稳定性的包结配合物,从而达到拆分结构异构体或光学异构体的目的^[2].1983年Fujimura等^[3]首次把环糊精键合到硅胶表面,制成键合固定相,以后关于环糊精固定相的合成、改性、应用有了不少报导^[4-7].本文采用新的合成工艺条件,制备了一系列不同 β -CD键合量的键合固定相,用红外光谱、元素分析和热重分析法表征了键合相的组成和性质.通过优化展开剂组成,在键合相薄层板上拆分了6对联萘酚类化合物的对映体,显示用本研究方法合成的 β -CD硅胶手性键合固定相具有良好的耐热、耐溶剂及拆分对映体的效能.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

β -CD为陕西省佳县生物化学工业公司产品,用去离子水重结晶2次,于110℃真空干燥5h待用;薄层色谱(TLC)用的硅胶(10~40 μ m)为青岛海洋化工厂产品,使用前用

* 国家自然科学基金(29672054)和中山大学科学基金资助项目

收稿日期: 1998-01-13 余品香,女,24岁,研究生

稀 HCl 浸泡过夜后用去离子水洗至中性, 再于 110°C 真空干燥 5 h; N, N-二甲基甲酰胺 (DMF, AR) 使用前分别用无水 MgSO_4 , KOH 干燥过夜, 再蒸馏收集 $151\text{--}153^{\circ}\text{C}$ 馏分密封待用; 3-缩水甘油基氧丙基三甲氧基硅烷 (GPTS), AR, Fluka 公司产品; 其它试剂均为 AR; 联萘酚类样品由本室有机合成组提供; 普通硅胶薄层板购自德国 Merck 公司.

Nicolet 公司 5 DX 型 FT 红外光谱仪; Perkin-Elmer 公司 240 C 型元素分析仪; 岛津 TGA-50 型热重分析仪用于本文数据的测定.

1.2 β -CD 硅胶键合相的制备

取 3~5 g 干燥的 β -CD 于 150 mL 三颈瓶中, 加入 60 mL 无水 DMF, 0.1 g 金属 Na, 90°C 搅拌反应 2~3 h 后, 加入 0.65~2.15 g GPTS 和 2.5 g 硅胶于 $70\text{--}100^{\circ}\text{C}$ 反应 4~20 h, 将产物抽滤, 所得固体依次用 DMF 甲醇、水、丙酮洗涤, 于 70°C 真空干燥 5 h 后得白色粉末状固体.

1.3 薄层板的制备和联萘酚类对映体的拆分

将磨细的 3 g β -CD 硅胶键合相与 9 mL 0.3% CMC 溶剂充分混合, 均匀涂布在 8 块 $2.5\text{ cm} \times 7.5\text{ cm}$ 的干净玻片上, 室温水平晾干后在 80°C 烘 1 h, 取出后存于干燥器中备用. 联萘酚类样品用乙酸乙酯配成溶液, 用毛细管点样, 以石油醚-乙酸乙酯-甲醇、石油醚-乙酸乙酯-乙腈溶剂系统展开. 挥发展开剂后, 在 254 nm 紫外光下观察斑点位置.

2 结果与讨论

2.1 β -CD 键合相的表征

反应前的 TLC 硅胶和反应产物 β -CD 硅胶键合相的红外光谱图 (KBr 压片法) 如图 1 所示. 比较二者的吸收曲线可见, 键合相 (曲线 2) 的谱图中增加了 2938 , 2882 和 1482 cm^{-1} 的吸收峰, 是键合上的 β -CD 及 GPTS 分子中的 $-\text{CH}_2-$ 和 $-\text{CH}-$ 的 $\nu(\text{CH})$ 和 $\text{W}(\text{CH})$ 的吸收. 而原料硅胶中的 969 cm^{-1} 吸收峰 ($\nu(\text{Si}-\text{OH})$) 经键合反应后明显减弱. 由此证明键合反应是成功的.

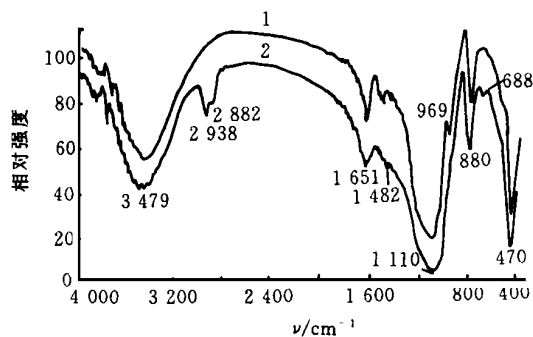


图 1 薄层硅胶和 β -CD 硅胶键合相的红外光谱图

Fig. 1 IR spectra of silica gel and β -CD/silica gel bonded phase
1 硅胶; 2 β -CD 硅胶

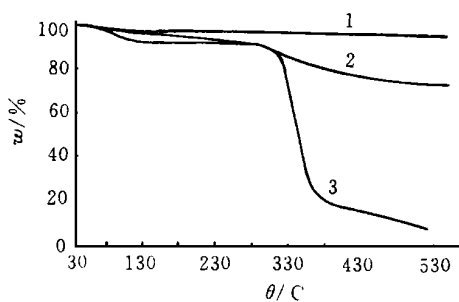


图 2 硅胶、 β -CD 和 β -CD 硅胶键合相的热重分析曲线

Fig. 2 Thermal analysis graph of silica gel, β -CD and β -CD/silica gel bonded phase
1 硅胶; 2 β -CD 硅胶; 3 β -CD

热重分析曲线 (升温速度: $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$; 记录温度: 室温~ 500°C , 图 2) 显示了 β -CD/硅胶键合相 (曲线 2) 与原料 β -CD (曲线 3) 受热失重、分解的情况, 表明在 300°C 以下均没有明显的失重现象, 说明键合相产品对热的稳定性是良好的.

2.2 合成工艺条件对 β -CD 键合量的影响

2.2.1 原料配比的影响 按 1.2 的制备条件, 在 90°C 反应 18 h, 所得产物经过滤、洗涤、干燥后, 元素分析测定 w_c (表 1). 结果表明, 当其它条件均不变时, 随着反应物 m (GPTS) 的增加 (4F~ 4C), 产物中的 w_c 也增加; 同样减少 β -CD 的用量 (4A~ 4C), 产物中的 w_c 也减少. 拆分联萘酚类对映体的实验表明, 4C 是最合适的键合相, 也即说明 GPTS 与 β -CD 的摩尔比为 2.00 时所合成的键合相最适宜于本实验样品拆分.

2.2.2 反应时间和反应温度的影响 固定原料配比 (2.5 g 硅胶+ 2.65 mol β -CD+ 5.30 mol GPTS), 在 90°C 反应 4~ 20 h, 对不同反应时间 (t) 得到的产物进行分析 (表 2). 反应 12 h 后, 再延长反应时间对产物 β -CD 键合量的影响不大.

表 1 GPTS 与 β -CD 的摩尔比 对产物中的碳含量的影响

Tab. 1 Effect of m (GPTS) / m (β -CD) on carbon content of product

键合相	$\frac{m(\beta\text{-CD})}{10^{-3}\text{ mol}}$	$\frac{m(\text{GPTS})}{10^{-3}\text{ mol}}$	$\frac{m(\text{GPTS})}{m(\beta\text{-CD})}$	$w_c \%$
4A	4.41	5.30	1.20	16.90
4B	3.53	5.30	1.50	14.53
4C	2.65	5.30	2.00	12.33
4D	2.65	4.45	1.68	11.80
4E	2.65	3.60	1.36	11.06
4F	2.65	2.75	1.04	10.52

表 2 反应时间对产物组成的影响

Tab. 2 Effect of reaction time on product component

键合相	t/h	$w_c \%$	$w_{\text{失}} \%^{1)}$
4C	20	12.33	24.30
5B	18	12.24	24.10
5C	12	11.28	22.21
5D	4	6.21	12.23

表 3 反应温度对产物组成的影响

Tab. 3 Effect of reaction temperature on product component

键合相	$\theta/^{\circ}\text{C}$	$w_c \%$	$w_{\text{失}} \%^{1)}$
6A	100	13.35	26.28
6B	90	12.33	24.30
6C	80	12.13	23.88
6D	70	7.29	14.35

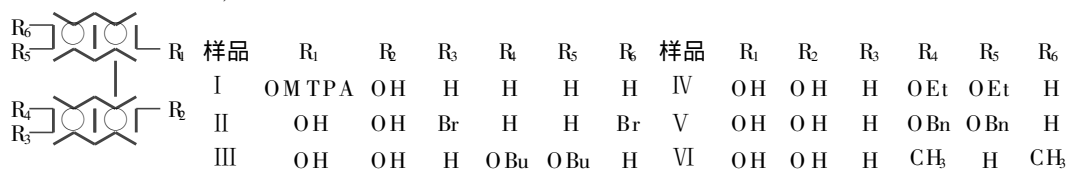
1) 加热到 500°C 时的失质量百分比

1) 加热到 500°C 时的失质量百分比

按上述实验配比, 在不同反应温度下 (θ 为 $70\sim 100^{\circ}\text{C}$) 反应 18 h, 结果 (表 3) 表明反应温度在 $80\sim 100^{\circ}\text{C}$ 是合适的.

2.3 联萘酚类对映体的拆分

β -CD 硅胶键合固定相中 β -CD 的键合量多少对薄层板的质量及拆分对映体的效果有很大的影响, β -CD 的含量太高时, 固定相的分散性不好, 制成的薄层不均匀且容易爆裂. 但若 β -CD 键合量太低, 则拆分对映体的效能降低, 实验表明, w_c 为 $1\% \sim 14\%$ 的键合相制成的薄层板强度及均匀性都较好. 本研究用合成的键合相薄层和优化展开剂系统, 拆分了 6 对联萘酚类对映体, 样品的结构为



各种对映体的拆分所用展开剂、对映体斑点的 R_f 及相对比移值 ($T = R_{f(2)} / R_{f(1)}$) 列于表 4.

实验结果表明, β -CD 硅胶键合相对联萘酚类对映体有很好的拆分效能, 是因为这一类化合物分子大小与 β -CD 疏水空腔相匹配, 与对映体能形成稳定性不同的络合物, 因而能得到良好的分离.

表 4 联萘酚类样品在 β -CD 键合固定相薄层板上的拆分结果¹⁾

Tab. 4 The separation result of binaphthol samples on TLC Plates of β -CD bonded stationary phase

化合物	h	$R_{f(1)}$	$R_{f(2)}$	T
I	1: 2: 1	0.60	0.75	1.25
II	2: 1: 1	0.39	0.54	1.29
III	2: 1: 1	0.25	0.42	1.68
IV	2: 1: 1	0.21	0.34	1.38
V	2: 1: 1	0.27	0.44	1.63
VI	2: 2: 1	0.52	0.62	1.19

I, VI 展开剂为石油醚/乙酸乙酯/甲醇;

II, III, IV, V 展开剂为石油醚/乙酸乙酯/乙腈

参 考 文 献

- 1 朱晓峰, 薛俊, 林炳承. 手性药物的毛细管电泳拆分环糊精系统. 分析测试室, 1996, 15(3): 94
- 2 刘勇, 章道道. 环糊精高聚物研究. 功能高分子学报, 1995, 8(1): 101
- 3 Fujimura K, Veda T. Retention behavior of some aromatic compounds on chemically bonded cyclodextrin silica stationary phase in liquid chromatography. Anal Chem, 1983, 55(3): 446
- 4 Kawaguchi Y, Tanaka M, Nakae M. Chemically bonded cyclodextrin stationary phases for liquid chromatographic separation of aromatic compounds. Anal Chem, 1983, 55(12): 1852
- 5 Armstrong D W. Bonded phase material for chromatographic separation. US Pat, 4539399. 1985
- 6 黄天宝, 吴邦桂, 龙远德, 等. β -CD 键合固定相的制备和评价. 分析化学, 1991, 19(11): 1257
- 7 Walker T A J. Separation of beraprost sodium isomers using different cyclodextrin stationary phases. J Chromatogr, 1993, 633: 97

Preparation and Characterization of β -Cyclodextrin Stationary Phase for Thin-Layer Chromatographic Separation of Enantiomers

Yu Pinxiang* Wang Peng Deng Qinying Xu Zunle

Abstract β -cyclodextrin/silica gel bonded stationary phases containing different content of β -cyclodextrin were prepared. The characterizations of bonded phases were determined with IR spectrometry, elemental analysis and thermal analysis. The TLC plates with the solvent systems of petroleum ether/ethyl acetate/methanol and petroleum ether/ethyl acetate/acetonitrile were used for the separation of six pairs binaphthol enantiomers. Significant chromatographic selectivity was obtained with relative R_f values between 1.19 to 1.68. Effects of different reaction conditions on β -cyclodextrin contents in bonded stationary phases were studied.

Keywords bonded stationary phase, β -cyclodextrin, enantiomeric separation, thin-layer chromatography

* School of Chemistry and Chemical Engineering, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China