

## 高效液相色谱手性固定相的研究 \* V

### ——二肽叔丁酰胺型手性固定相拆分 $\alpha$ -氨基酸、二茂铁基氨基酸及二肽衍生物对映异构体

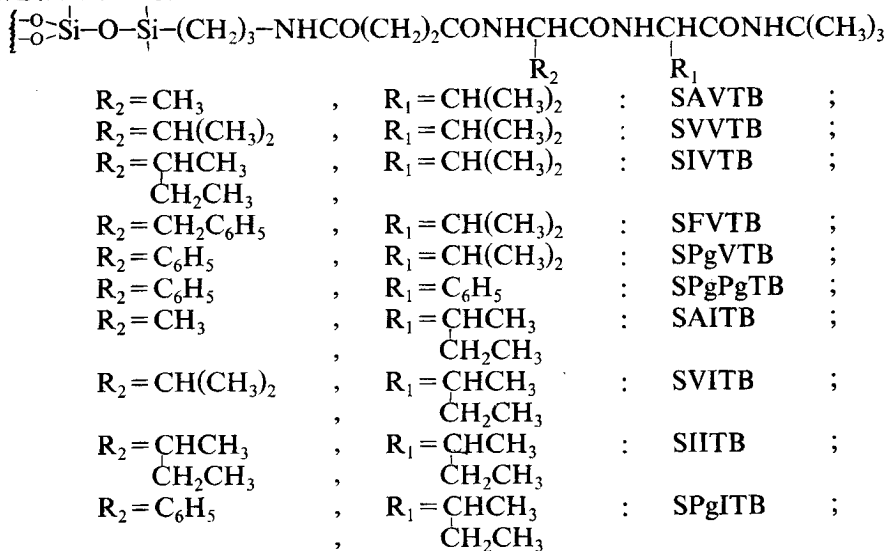
刘晋钊 \*\* 徐修容 黄嘉鑫

(中国科学院上海药物研究所, 200031)

**〔提要〕** 本文应用高效液相色谱(L,L)-二肽叔丁酰胺型键合硅胶手性固定相拆分 N-乙酰基- $\alpha$ -氨基酸甲酯、N-乙酰基- $\beta$ -二茂铁基丙氨酸乙酯及 N-叔丁氧羰基亮氨酸甲酯等对映异构体、结果表明: 部分固定相对氨基酸衍生物对映异构体有拆分效果; 大部分固定相对二茂铁基丙氨酸衍生物对映异构体有较好拆分效果; 所有固定相对由(D,D)-及(L,L)-亮氨酸衍生物构成的外消旋体均有良好的拆分效果, 分离系数最高达 1.79。本文对部分化合物对映异构体的拆分机制进行了初步探讨。

前文<sup>(1)</sup>报道, 一系列合成的新型高效液相色谱 N-琥珀酰-(L,L)-二肽叔丁酰胺型手性固定相对  $\alpha$ -氨基烷基磷酸衍生物对映异构体有良好拆分效果。本文将此类手性固定相用于  $\alpha$ -氨基酸、二茂铁基氨基酸

及二肽等衍生物对映异构体的拆分。手性固定相的结构如下:



\* 本工作为自然科学基金项目。

\*\* 现址中国科学院上海生理研究所。

### 实验部分

仪器试剂 Waters 公司 M510 泵。日立公司 200-0182 型可变波长紫外检测器及记录仪。Rheodyne 7125 型进样阀。流动相异丙醇及正己烷为色谱纯及化学纯。

色谱条件 检测灵敏度 ABS0.1。检测波长 230nm。记录仪纸速为 1.5cm/min。不锈钢色谱柱 10×0.5cm I.D。柱压 1.38

× 10<sup>6</sup>Pa。流量 1.3ml/min。样品溶于异丙醇-正己烷混和液。

### 结果与讨论

十个固定相对由(D,D)-及(L,L)-N-叔丁氧羰基亮氨酸亮氨酸甲酯构成的外消旋体均有良好的拆分效果, 分离系数最高的达 1.79。通过在外消旋混和物中同时加入(L,L)-N-叔丁氧羰基亮氨酸亮氨酸甲酯

表 1 (L,L)-二肽叔丁酰胺型手性固定相拆分氨基酸、二肽及二茂铁基取代氨基酸衍生物对映异构体

Enantiomer	CH <sub>3</sub> CO-Val-OMe	CH <sub>3</sub> CO-Leu-OMe	Boc-Leu-Leu-OMe	$\begin{matrix} \text{C}_3\text{H}_7\text{CH}_2\text{CHCOOEt} \\   \\ \text{Fe} \\   \\ \text{NHCOCH}_3 \\   \\ \text{C}_5\text{H}_5 \end{matrix}$	
SAVTB	k <sub>1</sub>	3.76	3.72	0.70	2.78
	k <sub>2</sub>	4.13	4.07	0.95	3.25
	r <sub>i,s</sub>	1.10	1.09	1.36	1.17
SVVTB	k <sub>1</sub>	3.11	3.02	0.46	1.99
	k <sub>2</sub>			0.70	2.13
	r <sub>i,s</sub>	1.00	1.00	1.52	1.07
SIVTB	k <sub>1</sub>	4.69	4.38	0.78	3.47
	k <sub>2</sub>			1.02	
	r <sub>i,s</sub>	1.00	1.00	1.31	11.00
SFVTB	k <sub>1</sub>	5.56	5.49	0.72	4.70
	k <sub>2</sub>			0.81	5.00
	r <sub>i,s</sub>	1.00	1.00	1.13	1.06
SPgVTB	k <sub>1</sub>	5.84	4.81	1.19	4.08
	k <sub>2</sub>	6.52	5.27	1.67	4.92
	r <sub>i,s</sub>	1.12	1.10	1.40	1.21
SPgPgVTB	k <sub>1</sub>	7.79	5.99	0.96	7.71
	k <sub>2</sub>			1.36	
	r <sub>i,s</sub>	1.00	1.00	1.42	1.00
SIVTB	k <sub>1</sub>	5.22	5.14	0.84	4.31
	k <sub>2</sub>	5.63	5.54	1.15	4.93
	r <sub>i,s</sub>	1.08	1.08	1.37	1.14
SVITB	k <sub>1</sub>	4.01	3.98	0.39	2.26
	k <sub>2</sub>			0.70	2.60
	r <sub>i,s</sub>	1.00	1.00	1.79	1.15
SIITB	k <sub>1</sub>	3.35	3.17	0.54	2.77
	k <sub>2</sub>			0.89	
	r <sub>i,s</sub>	1.00	1.00	1.65	1.00
PgITB	k <sub>1</sub>	4.63	5.01	0.77	5.01
	k <sub>2</sub>	5.16	6.09	1.35	6.00
	r <sub>i,s</sub>	1.11	1.22	1.75	1.20

注: r<sub>i,s</sub> 为相对保留值。

流动相: 除拆分二肽衍生物对映异构体为异丙醇/正己烷=2:98(V/V)外, 其余均为异丙醇/正己烷=4:96(V/V)。

测定洗脱次序, 发现除在 SPgPgTB 手性柱上为(D,D)-构型的对映体先洗脱外, 在

其余手性柱上均为(L,L)-构型的先洗脱。但十个手性柱对由(D,L)-及(L,D)-N-叔丁氧羰基亮氨酸甲酯组成的外消旋体均无拆分效果。与琥珀酰相连的氨基酸为丙氨酸或苯基甘氨酸的固定相对缬氨酸及亮氨酸衍生物对映异构体有拆分效果。大部分固定相对 N-乙酰基-β-二茂铁基丙氨酸酯对映异构体有拆分效果,且比对缬氨酸及亮氨酸衍生物对映异构体的拆分效果好。表 1、图 1 及图 2 给出部分实验结果。

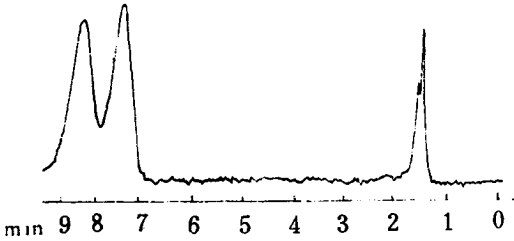


图 1 SAITB 柱拆分 N-乙酰基-β-二茂铁基丙氨酸酯对映异构体



图 2 SPgPTB 拆分(D,D)-及(L,L)-N-叔丁氧羰基亮氨酸甲酯

前文<sup>(1)</sup>提出的 α-氨基烃基膦酸衍生物对映异构体的拆分机制,也可用于解释此类固定相对 α-氨基酸衍生物对映异构体的拆分。但氨基烃基膦酸衍生物中的膦酰

基被氨基酸衍生物羧基的羰基替代。羰基的平面结构可能不如膦酰基的四面体结构利于溶质与固定相间具有对映选择性的环状缩合物<sup>(1)</sup>的形成,故只有某些固定相对实验中的两种 2-氨基酸衍生物对映异构体有较好拆分效果。这些固定相的特点是:与琥珀酰相连的氨基酸手性中心上的烃基为立体效应较小的甲基(SAVTB 柱及 SAITB 柱)或能以某种取向产生较小立体效应的苯基(SPgVTB 柱及 SPgITB)

根据固定相对两对 N-叔丁氧羰基亮氨酸甲酯对映异构体的拆分结果,设想固定相对二肽衍生物对映异构体的拆分机制如下:溶质二肽衍生物分子中的每个氨基酸残基均可独立地与固定相形成“瞬间”环状缩合物。(D,D)-N-叔丁氧羰基亮氨酸甲酯中两个亮氨酸残基与固定相形成的两种缩合物如图 3 所示。

两种“瞬间”环状缩合物中,溶质手性中心上的异丁基与固定相手性中心的 R<sub>1</sub> 及 R<sub>2</sub> 基均处于环的异侧,能量较低,后洗脱;而(L,L)-叔丁氧羰基亮氨酸甲酯与固定相形成的两种类似缩合物中,异丁基与 R<sub>1</sub> 及 R<sub>2</sub> 均处于环的同侧,能量较高,先洗脱。与亮氨酸衍生物相比,由于构型相同的亮氨酸形成的二肽衍生物与固定相形成环状缩合物的几率增大,故固定相对二肽衍生物对映体的拆分效果比对氨基酸衍生物的好。当被拆分溶质为(D,L)-或(L,D)-构型时,构型为 D 的亮氨酸残基与固定相形成的“瞬间”环状缩合物中,溶质手性中心的异丙基与固定相 R<sub>1</sub> 及 R<sub>2</sub> 基处于环异侧,而构型为 L 的亮氨酸残基与固定相形成的缩合物中,异丁基于 R<sub>1</sub> 与 R<sub>2</sub> 基处于环同侧。可能由于构型相同的不同亮氨酸残基与固定相形成的缩合物的强度基本相同,故固定相对由(D,L)-及(L,D)-N-叔丁氧羰基亮氨酸甲酯构成的外消旋体无拆分效果。

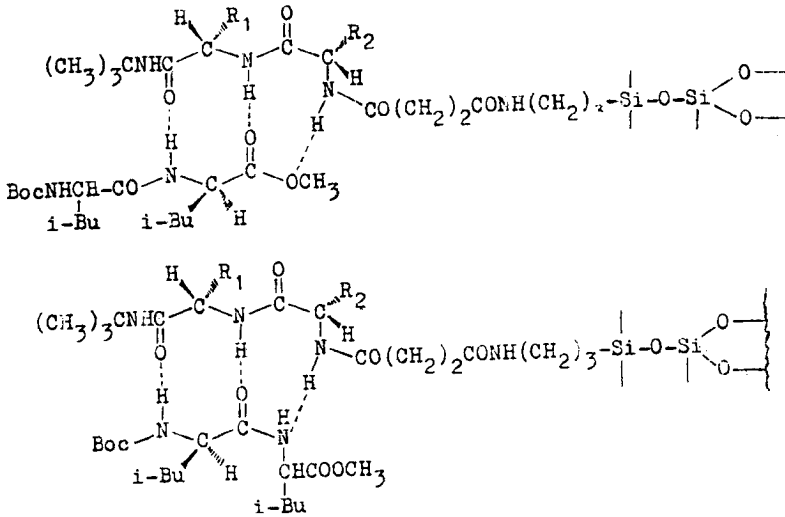


图3 (D,D)-N-叔丁氧羰基亮氨酸酰亮氨酸甲酯与固定相间  
具有对映选择性的两种可能结合方式

SPgPgTB 柱对外消旋(D,D)-及(L,L)-N-叔丁氧羰基亮氨酸酰亮氨酸甲酯的洗脱次序异于其它柱，不能用以上拆分机制解释。可能和 SPgPgTB 柱中二个手性中心上均含苯环，而以其它机制拆分有关。

致谢 外消旋 N-乙酰基-β-二茂铁基丙氨酸乙酯由中国科学院上海有机化学研究所曹者瑜提供。

参 考 文 献

- [1] 刘晋钊、徐修容、黄嘉鑫、施铭英、曹者瑜、徐杰诚，化学学报，待发表。

(收稿日期：1989年5月9日)

Chiral Stationary Phases in Liquid Chromatography  
V. Resolution of Racemic Derivatives of α-Amino Acids, Ferrocenyl Amino Acid, and Dipeptides on Dipeptide Tert-Butylamide Bonded Phases Liu Jinfang, Xu Xiurong

and Huang Jiaxin Shanghai Institute of Materia Medica, Academia Sinica, Shanghai

A series of previously reported dipeptide tert-butylamide bonded phases were used for the resolution of racemic derivatives of α-amino acids, ferrocenyl amino acid, and dipeptides by high-performance liquid chromatography. It has been found that the bonded phases with methyl or phenyl in the inner asymmetric carbon atoms are effective for the resolution of racemic α-amino acid derivatives. The enantiomers of ferrocenyl alanine derivatives were separated on most of the bonded phases. All the bonded phases were quite effective for the resolution of one pair of the racemic dipeptide derivatives examined. Mechanisms of the resolution of some of the racemic compounds on these bonded phases were proposed.