

六员环磷酰胺非对映异构体的分离与鉴定

孙德英 王安邦 李德金

(北京药物化学研究所, 102205)

磷原子同碳原子一样, 当四个配位体各不相同时, 分子旋光性不同。有机磷药物都是磷酸酯类衍生物, 分子中磷有四个配位体。所有含磷药物都有光学异构体, 不同异构体的生理活性差异很大。这一点引起磷化学家、药物化学家及军事学家们浓厚的兴趣。

到目前为止, 有机磷酸酯类光学异构体的分离有两种方法: 一是借助手性固定相的色谱分离技术^[1], 二是更多的采用间接分离技术^[2]。本文采用间接分离技术, 即用手性试剂(-)- α -苯乙胺将有机磷酸酯转化为磷酰胺非对映异构体后, 再用高效液相色谱法分离。色谱分离结果用质谱、X-光衍射技术进行鉴定。结果表明色谱分离结果准确无误, 并且确定了异构体的绝对构型和构象。

用高效液相色谱法分离磷酰胺类非对映异构体未见有关文献报道。本文叙述的分离方法快速简便并可兼顾分析和制备, 是不对称合成的重要技术途径。

本文研究的化合物——甲基-*N*-(α -苯基-乙基)-*N*-(3-羟丙基)磷酰胺内脂的结构如图 1 所示。以下简称为六员环磷酰胺。

实验部分

(一) 仪器和试剂 Waters 204 型高效液相色谱仪, 其中包括 6000A 恒流泵、M440 型紫外检测器, 固定波长 254nm, U_{6k} 阀式进样器及 M730 数据处理机。所用甲醇、二氯甲烷、四氢呋喃等均为 AR 级, 北京化工厂生产。水是去离子蒸馏水。

(二) 样品及其配制 六员环磷酰胺是本实验室合成的样品。用四氢呋喃作溶剂配制样品。

(三) 单一异构体样品的制备 样品溶于四氢呋喃中后, 进行色谱分离制备。将色谱图上两个分开的峰分别收集于烧瓶内, 用水泵减压除溶剂得两个单一异构体样品, 留作鉴定用。

(四) 色谱条件 反相色谱用 μ Bonapak C₁₈ 柱 (10 μ m, 3.9 \times 300mm, Waters 产品); 流动相: 甲醇/水 = 40/60 (V/V); 流速 0.8ml/min。正相色谱用 μ Porasil 柱 (10 μ m, 300mm \times 3.9mm i. d., Waters 产

品); 流动相: 二氯甲烷/四氢呋喃 = 80/20 (V/V); 流速: 1.0ml/min。

结果与讨论

(一) 色谱分离 实验室合成的样品经元素分析合格, 经核磁共振法鉴别样品由一对非对映异构体组成。该样品水溶性和脂溶性都较好。为探索好的分离条件, 采用正反两相色谱进行研究。

1. 反相色谱法 在反相色谱中, 用甲醇-水作流动相时, 样品可分离出两个色谱峰。随着流动相中水量增加, 两峰在柱上保留越来越强, 分离度随着加大, 但峰型明显加宽。反相色谱分离图见图 2。

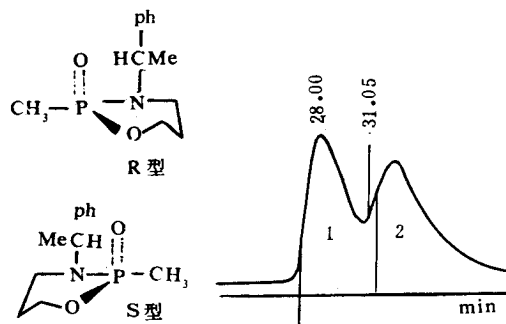


图 1(左) 六员环磷酰胺结构式

图 2(右) 反相色谱分离图

色谱条件见实验部分。

2. 正相色谱法 在正相色谱中以二氯甲烷为主流动相, 以四氢呋喃、乙腈、二氧六环等为改性溶剂, 分别考察了色谱分离效果。结果表明, 以四氢呋喃为改性溶剂时, 化合物能分离出两个基线分离的色谱峰, 随着流动相中四氢呋喃量的减少, 两峰分离度逐渐加大。正相色谱分离图见图 3。

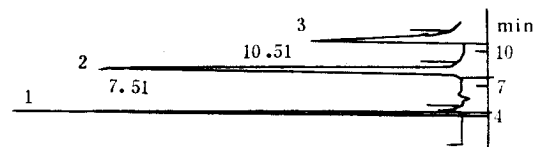


图 3 正相色谱分离图

色谱条件见实验部分。1. 溶剂, 2、3 为一对异构体。

比较正、反两相色谱分离效果可见, 正相色谱优

于反相色谱。正相色谱出峰快,分析时间短,且两峰分离度大,有利于样品制备,故采用正相色谱进行单一异构体制备。

(二) 色谱峰的鉴定

对色谱分离的两个峰是否是异构体峰,有人提出疑义。为此需对正相色谱分离峰进行鉴定。

将色谱图 2 中峰 2 和峰 3 分别制备少量样品,并用这两个样品分别作质谱鉴定(质谱图略)。结果证明两样品分子量相同,均为 239,说明峰 2 和峰 3 是一对异构体。再将峰 2 样品作单晶培养并作 X-光衍射分析。衍射分析结果表明峰 2 异构体绝对构型为 R 型,六员环成稳定的椅式构象。

通过上述两种技术手段鉴定证明,色谱图 2 中的峰 2 和峰 3 是一对非对映异构体。

参考文献

[1] H. P. Bensohop et al., *Toxi. Appl. Pharmacology*, 72, 61(1984).

[2] H. L. Boter et al., *Rec. Trav. Chim.*, 86, 399(1967).
(收稿日期:1991 年 6 月 19 日,修回日期:11 月 23 日)

Studies on the Separation and Identification of Diastereoisomers of Hexacyclophosphoamide Sun Deying, Wang Anbang and Li Dejing, *Beijing Institute of Pharmaceutical Chemistry*, 102205

A method of separating diastereoisomers of hexacyclophosphoamide by high performance liquid chromatography has been established. The fractions from chromatographic separation were identified by nuclear-magnetic resonance, mass spectrometry and X-ray diffraction.

(上接 110 页)

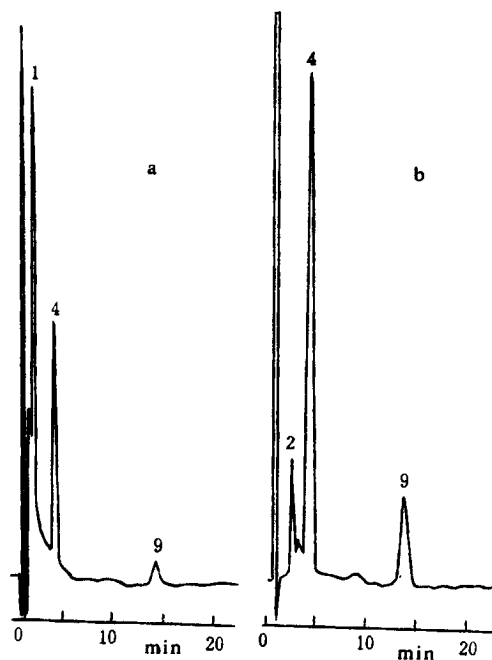


图 3 酒样色谱图

a. 白酒, b. 啤酒. 标号同图 1.

参 考 文 献

[1] D. T. Gjerde, J. S. Fritz, G. Schmuckler, *J. Chromatogr.*, 186, 509(1979).
[2] 星野洋右、斋藤浩子、及川纪久雄, *分析化学(日)*, 32, 273(1983).
[3] 叶汝求、张辰、吴小蔚, *环境化学*, 6(6), 36(1987).
[4] D. T. Gjerde, G. Schmuckler, J. S. Fritz, *J. Chromatogr.*, 187, 35(1980).

(收稿日期:1991 年 6 月 23 日,修回日期:10 月 23 日)

Simultaneous Analysis of Inorganic Anions and Organic Acids by Single-Column Ion Chromatography Yu Hong, Liu Qinglin and Guan Liangzi, *Department of Chemistry, Harbin Normal University*, 150080

Simultaneous analysis of fluoride, chloride, nitrite, bromide, nitrate, sulphate, formic acid, acetic acid, lactic acid and tartaric acid by single-column ion chromatography is described in this paper. Potassium biphthalate solution is used as the eluent. Anion-exchange column is employed for the separation with conductometric detection for quantification. The method is simple, selective, sensitive and reproducible.

1993 年起,国家色谱研究分析中心拟开办液相色谱培训班,每期学员 10 人左右。学员在培训期间可上机操作。中心还承接各类液相色谱分析方法的建立和样品分析业务。热情欢迎各位同仁来函联系。

联系人:吴丽华 地址:辽宁省大连市中山路 161 号 邮编:116012 电话:3631841-412
电报挂号:4430 电传:86436 DICO CN 传真:0411-3636648