

用水溶性冠醚作毛细管电泳的手性选择剂的研究 ——从超分子化学角度研究毛细管电泳的手性选择剂

顾俊岭 傅若农*

(北京理工大学化工与材料学院 北京 100081)

黄载福 徐 伟

(武汉大学环科系 武汉市 430072)

摘要 用水溶性冠醚、 β -环糊精及其衍生物作手性选择剂,研究以毛细管区带电泳对映异构体的分离,考察了这些选择剂的手性选择性并按超分子化学的观点讨论了所得结果。

关键词 毛细管区带电泳,水溶性冠醚,环糊精,手性选择剂,对映体分离,超分子化学

1 前言

1987年 Lehn, Cram 和 Pederson 以其“对发展和应用具有特殊结构和高选择性的分子”的巨大贡献而获得了该年的诺贝尔化学奖,Lehn^[1]的研究确立了超分子化学(Supramolecular Chemistry); Cram^[2]研究并确立了主-客体化学(Host-Guest Chemistry)概念和理论;而 Pederson^[3]则合成出一大批具有分子识别性能的冠醚分子。1991年德国的 Voegtle^[4]把上述概念和理论综合到一本名为《超分子化学》(Supramolecular Chemistry)的书中。纵观全书,是讨论两个分子以上相互作用的问题,这正好是研究气相色谱(GC),高效液相色谱(HPLC),毛细管区带电泳(CZE)选择性分离的理论指导,Lehn 曾把超分子化学定义为:“两个或两个以上化学实体(entity)之间相互作用的化学,这种相互作用是生物体内高选择性作用过程的基础”。把这一概念加以推广应用,则 GC, HPLC, CZE 也是选择性分离的基础。Cram 早在 1973 年就用冠醚和伯胺形成包含化合物(Inclusion Compound)的方法分离对映异构体,而形成包含化合物的过程是典型的超分子化学问题,但是国内外都是无意识地从超分子化学角度研究色谱固定相及毛细管电泳分离介质或手性选择剂。特别是最近几年把冠醚和环糊精用作 GC、HPLC 和 CZE 的选择性分离介质^[5-7]引起人们很大兴趣,也在对映异构体的分离方面取得了令人瞩目的进展。我们的这一工作有意识地从超分子化学角度研究毛细管电泳的手性分离选择剂,比较了几种水溶性冠醚和环糊精作手性选择剂的超分子化学特点及对手性化合物的分离能力。

2 实验部分

2.1 仪器设备

毛细管电泳仪:NT 宾达 HPCE ANALYSIS(北京新技术应用研究所),毛细管电泳柱:68cm \times 50 μ m i. d.,有效长度:45cm 石英毛细管(河北永年光导纤维厂)。

2.2 试剂

2.2.1 冠醚和环糊精

羟基-13-冠-4(No. 1);双(13-冠-4)己二酸酯(No. 2);2,4-二酮 19-冠-6(No. 3);2,4-二酮 22-冠-7(No. 4)。以上四种冠醚均为武汉大学环科系合成,其结构如图 1 所示;其物理参数列于表 1 中。 β -环糊精(β -CD),广东省郁南县味精厂,经多次重结晶。

表 1 所用水溶性冠醚的物理参数

冠醚号	熔点或沸点(°C)	冠醚的孔径(nm)
1	b. p. ;115~120/6.7Pa	0.14
2	高沸点液体	0.14
3	m. p. 66~68	0.20
4	m. p. 67~68	0.30

2.2.2 水溶性明胶/ β -CD 凝胶(GCDP) 按文献[8]将一定量的 10%明胶溶液(等电点为 4.8)用 NaOH 溶液调节至 pH 10.5,加入一定量的 β -CD。将溶液加热至 60°C 后,一滴一滴地加入一定量的环氧氯丙烷及氯乙酸,并于 60°C 搅拌 1 小时。冷却至室温,用 10%的硫酸溶液调 pH 至 6.5,进行减压蒸馏,产品用乙醇洗涤、干燥,得到白色粉末。

2.2.3 其他 实验中所用氨基酸标样(D,L-蛋氨酸;D,L-异亮氨酸;D,L-苯丙氨酸;D,L-色氨酸;D,

* 通讯联系人

本文收稿日期:1993年5月16日,修回日期:1994年4月22日

L-半胱氨酸;D,L-天冬氨酸)为北京新技术应用研究所赠送。NPAP 样品;D-NPAP,L-NPAP,外消旋 NPAP[2-硝基苯基-2-氨基-3-羟基丙酮(2-nitrophenyl-2-amino-3-hydroxypropanone)]由本校材料研究中心提供。N-三羟甲基氨基甲酸(Tris),AR 级

成都化学试剂厂;柠檬酸(CAC),AR 级,北京化工厂;羟丙甲基纤维素(HPMC),四川泸州化工厂。其他试剂均为 AR 级或高于 AR 级,北京化工厂。所用的水为经电渗析后再经离子交换剂分离柱的去离子水。

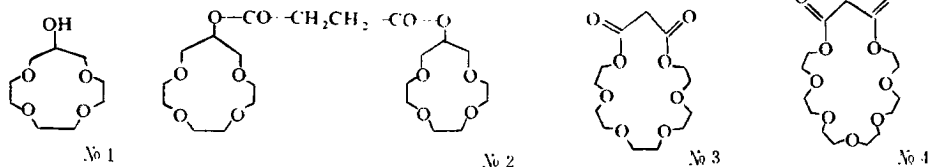


图 1 所用水溶性冠醚的结构

3 实验方法

1. 六种氨基酸用丹磺酰氯进行衍生化:取 0.165mmol/L 氨基酸标样于 400 μ L 指管中,加入 200 μ L 丹磺酰氯,摇匀。在暗处室温下放置 12h 以上,加入 2.0% 乙二胺 20 μ L 混合均匀,静置 30min。在真空干燥箱中于 35 $^{\circ}$ C 下干燥之。用适量水溶解备用。

2. 背景电解质用电渗析水再经离子交换剂处理的超纯水配制,例如用 20mmol/L 的 Tris 加入柠檬酸调节酸度到一定的 pH,要调节到高 pH 可加入 KOH 溶液。也用 0.05mol/L 硼酸钠配成 pH 9.07 和 pH 3.5 的溶液。

3. 用 CZE 模式分离手性化合物:以高差(10s/10cm)进样方式于阳极处进样,用紫外检测器在 254nm 波长下进行检测。操作电压:21kV。

4 结果和讨论

4.1 各种手性分离选择剂对 NPAP 对映体分离的影响

以 NPAP 和 D,L-天冬氨酸对映异构体作样品对四种冠醚和水溶性 GCDP 以 CZE 模式进行手性选择剂分离性能的考察。图 2 是在 Tris-柠檬酸缓冲溶液中分别加入(1) β -CD+HPMC,(2)GCDP 和(3)图 1 中 No. 3 冠醚作背景电解质溶液条件下分离 NPAP 对映异构体的结果。图 3 是在 0.05mol/L 硼砂缓冲溶液中(pH 9.06)分别加入手性选择剂分离 D,L-天冬氨酸对映异构体的结果。由图 2、图 3 可看出, β -CD 和水溶性明胶/ β -CD 聚醚可以作 HPCE 分离的手性添加剂,在适当的电泳条件下能使一些光学异构体达基线分离。但是所研究的四种冠醚对这两种手性异构体完全不能分离。考察其原因有二,其一是所研究的四种冠醚的孔径不够大(见

表 1),不足以容纳被测化合物的分子形成作用力不同的超分子,难以造成迁移时间的差别;其二是这些冠醚没有不对称碳原子,无手性中心,不能形成手性选择的超分子作用力。

4.2 各种手性分离选择剂对六种氨基酸异构体分离的影响

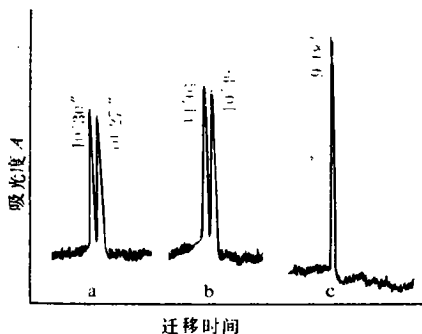


图 2 在不同背景电解质溶液中分离 NPAP 对映异构体的电泳图

a. 0.02mol/L Tris/CAC pH 4.90+20mmol/L β -CD+0.1%HPMC. b. 0.02mol/L Tris/CAC pH 4.90+1%GCDP. c. 0.02mol/L Tris/CAC pH 4.04+No. 3 冠醚。

用 0.05mol/L 硼酸钠(pH 9.05)缓冲溶液分离六种丹磺酰化氨基酸的混合物,六种丹磺酰化氨基酸均为单峰,见图 4。在 BE(0.05mol/L 硼酸钠(pH 9.05)缓冲溶液)中分别加入 20mmol/L 的 No. 1~4 冠醚得到的电泳图说明,No. 1~3 冠醚只对苯丙氨酸出现小小的分岔,No. 4 冠醚对苯丙氨酸峰表现出明显的分岔。而对其他五种丹磺酰化氨基酸的峰毫无分离的迹象。在 BE 中加入 20mmol/L 的 β -CD 分离这六种丹磺酰化氨基酸,得到图 5 的电泳图,从此图可以看出对苯丙氨酸和色氨酸对映异构体有明显的分离作用,而对天冬氨酸达到近乎完全的分离,对其余的三种氨基酸的对映异构体完全没有分离作用。所以出现这样的情况,其原因也类似于前一节讨

论的理由。 β -CD 有手性选择剂的作用主要是它具备了两项条件:(1)它有较大的洞穴孔径(约 0.7nm), (2)具有手性不对称中心。这两个条件都是形成超分子的有利条件(包含化合物和空间作用), 为手性分离创造机会。而四种洞穴较小又没有不对称碳原子的冠醚则缺少这些条件, 所以也就没有手性选择剂的功能。有文献^[9]报道, 有的手性冠醚对一些氨基酸的对映异构体有分离功能, 他们用四羧基

18-冠-6 作手性选择剂可以分离一些氨基酸的对映异构体, 如:色氨酸, 苯丙氨酸, 异亮氨酸, 组氨酸, 苏氨酸等。他们认为四羧基 18-冠-6 上的四个不对称碳原子起着决定性作用。 β -环糊精对氨基酸对映异构体的分离能力决定于氨基酸本身和环糊精的结构(取代基不同)^[10], 但是这方面的数据很少, 尚难以总结出规律。

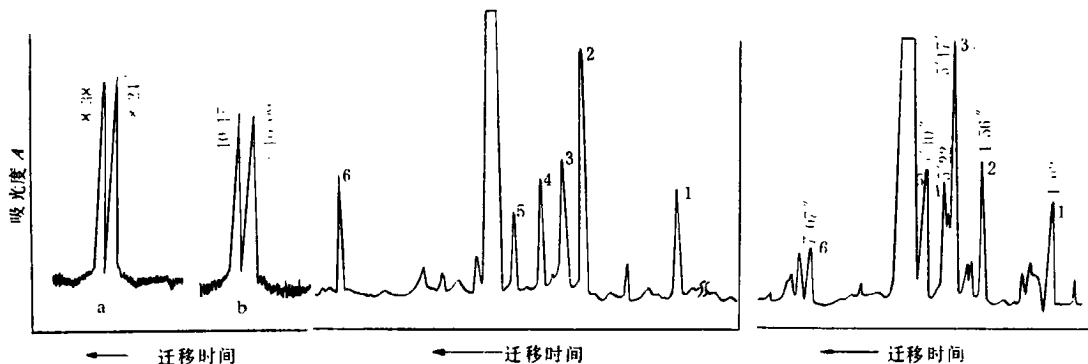


图 3(左) 不同背景电解质溶液中分离 D,L-天冬氨酸的电泳图

a. 0.05mol/L 硼砂缓冲溶液中(pH 9.06)加入 20mmol/L β -CD 和 1%甲醇。b. 0.05mol/L 硼砂缓冲溶液中(pH 9.06)加入 1%GCDP。

图 4(中) 在硼酸盐缓冲溶液(BE)中分离六种氨基酸的电泳图

毛细管电泳柱: 68cm \times 50 μ m i. d. 有效长度 45cm 石英毛细管; 0.05mol/L 硼酸盐缓冲溶液 pH 9.05; 电压: 21kV; 峰(括号内为迁移时间): 1. D,L-蛋氨酸(2'52"), 2. D,L-异亮氨酸(4'04"), 3. D,L-苯丙氨酸(4'18"), 4. D,L-色氨酸(4'37"), 5. D,L-半胱氨酸(4'50"), 6. D,L-天冬氨酸(7'08")。

图 5(右) 在 BE 中加 β -CD 分离六种氨基酸的电泳图

条件及峰号与图 4 相同, 只是在 BE 中加入 20mmol/L β -CD。

5 结论

所研究的四种冠醚对 NPAP 和六种氨基酸的手性异构体几乎完全没有手性分离的能力。原因可能是所研究的四种冠醚的孔径不够大, 不足以容纳被测化合物的分子形成作用力不同的超分子, 难以造成迁移时间的差别; 此外这些冠醚没有不对称碳原子, 无手性中心, 不能形成具有手性选择的超分子化合物。 β -CD 有手性选择剂的功能主要是因为它具备了两项条件:(1)它有较大的洞穴孔径(约 0.7nm), (2)具有手性不对称中心。这两个条件都是形成超分子的有利条件(形成包含化合物和有空间作用), 为手性分离创造了机会。因此寻找的手性分离剂应具备这两个条件。

致谢 本工作受国家自然科学基金的支持; 北京市新技术应用研究所赠送六种氨基酸样品; 本院王鹏

老师提供水溶性明胶/ β -CD 聚醚; 丁绍民老师提供 NPAP 样品, 在此一并表示感谢。

参 考 文 献

- 1 Lehn J-M. Science, 1985; 227(Feb); 849
- 2 Cram D J. Science, 1988; 240(May); 760
- 3 傅若农. 国外分析仪器, 1993; (3): 7
- 4 Voegtle F. Supramolecular chemistry. New York; John Wiley & Sons, 1991
- 5 傅若农. 色谱, 1992; 10(1); 14
- 6 傅若农. 色谱, 1993; 11(5); 271
- 7 Kuhn R, Stoecklin F. Chromatographia, 1992; 33 (12); 32
- 8 Szuets M. DE 3914428 A1 (1988)
- 9 Kuhn R, Erni F. Anal Chem, 1992; 64; 2815
- 10 Tanaka M, Asano S, Yoshinago M *et al.* Fresenius J Anal Chem, 1991; 339; 63

Investigation of Water-Soluble Crown Ether Used as Chiral Selector in Capillary Zone Electrophoresis (CZE) — Study of Chiral Selector in the View of Supramolecular Chemistry

Gu Junling and Fu Ruonong

(College of Chemical Engineering and Material Science, Beijing Institute of Technology, Beijing, 100081)

Huang Zaifu and Xu Wei

(Department of Environmental Science, Wuhan University, Wuhan, 430072)

The separation of some enantiomeric isomers by using water-soluble crown ether, β -cyclodextrin and its derivatives as chiral selectors with CZE was studied. The chiral selectivity of these selectors was investigated and the results obtained were discussed in the view of supramolecular chemistry.

Key words capillary zone electrophoresis, water-soluble crown ether, cyclodextrin, chiral selector, enantiomer separation, supramolecular chemistry

《色谱》入选最新“中国自然科学核心期刊”

中国自然科学核心期刊研究课题组不久前公布了最新的“1992~1993年中国自然科学核心期刊”300种。这是根据国家标准“GB/T13745—92”规定的学科分类标准,优选了30种中国出版的各学科代表性期刊,对它们在92,93年所发表的论文,使用“引用法”进行客观统计后得到的结果。在仅占目前期刊总数4%比例的300种核心期刊中,综合性期刊及数理科学等学科期刊占28%,医药卫生期刊占28%,地学天文期刊占20%,生物农林类占24%。全部核心期刊名单及详尽评述将在国际核心期刊研究会的综合性学术期刊《科学技术学报》磁盘周刊上发表。与本刊学科相关的核心期刊,按被引用频次从高到低的顺序排列,《色谱》名列核心期刊第72名。

《色谱》被引频次名列化学类核心期刊(1989~1991)第10位

据中国科学引文数据库课题组提供的资料(中国科技期刊研究,1994,5(2):16)表明,《色谱》在中国科学引文数据库化学类核心期刊(1989~1991)排序中名列第10,详见下表。

序次	刊名	被引频次				序次	刊名	被引频次			
		1989	1990	1991	89~91			1989	1990	1991	89~91
1	化学学报	638(1)	527(3)	529(2)	1694	9	中国稀土学报	84(13)	133(9)	127(10)	344
2	分析化学	484(3)	534(1)	639(1)	1657	10	色谱	77(14)	116(10)	112(11)	305
3	高等学校 化学学报	516(2)	533(2)	507(3)	1556	11	分析实验室	59(—)	93(12)	133(9)	285
4	高分子学报	250(4)	234(4)	239(4)	723	12	化学试剂	97(10)	101(11)	85(15)	283
5	化学通报	200(5)	194(6)	171(6)	565	13	核化学与 放射化学	100(9)	56(—)	99(14)	255
6	催化学报	149(6)	202(5)	176(5)	527	14	环境化学	69(—)	78(—)	106(13)	253
7	有机化学	146(7)	138(8)	155(7)	439	15	无机化学学报	101(8)	80(16)	65(—)	246
8	应用化学	90(11)	156(7)	147(8)	393						

注:表中括号内的数字表示该刊在当年被引频次的序次,短横表示该刊未列入当年核心期刊。