

# 联苯类对映体在直链淀粉类手性固定相上的高效液相色谱法直接拆分

齐邦峰<sup>1,2</sup>, 刘月启<sup>1</sup>, 韩小茜<sup>1</sup>, 祝馨怡<sup>1</sup>, 陈立仁<sup>1</sup>

(1. 中国科学院兰州化学物理研究所, 甘肃 兰州 730000; 2. 抚顺石油化工研究院, 辽宁 抚顺 113001)

摘要 涂敷直链淀粉-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)于自制的球形氨基硅胶上,制备了手性固定相。用该固定相直接拆分了一系列外消旋联苯类保肝药物,考察了一系列伯醇(乙醇、正丙醇、正丁醇)和异丙醇等流动相改性剂对保留和立体选择性的影响,讨论了固定相对样品的作用机理。

关键词 直链淀粉类手性固定相 醇类改性剂 分离 联苯类化合物 对映体

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713(2001)05-0443-03

## 1 前言

联苯结构广泛存在于具有不同结构和生物活性的天然产物如萜烯、木酯素、香豆素、单宁酸、肽和合成药物中。由于这些物质不仅可作为药物活性化合物,而且可作为手性试剂等,因此受到人们越来越多的关注。本文所研究的 8 种光学活性异构体为人工合成的联苯类化合物(见图 1),它们为轴向手性异构体,药理试验表明,具有显著的降高血清谷丙转氨酶效果,能减轻肝脏病理损伤和增强肝脏解毒功能,

对肝癌的标记物甲胎蛋白(AFP)有向正常方向逆转的作用,对于人体免疫缺乏病毒(HIV)的复制亦有抑制作用<sup>[1]</sup>。由于药物对映体在药理、毒理和临床疗效等方面存在较大差异,故其拆分工作具有重要意义。利用高效液相色谱手性固定相(HPLC-CSP)拆分对映体是一种非常有效的手段,我们曾在纤维素类手性固定相对一系列酸性联苯类药物进行了拆分研究<sup>[2]</sup>。本文报道了利用自制的直链淀粉-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)手性固定相对一系列非酸性外消旋联苯类药物进行直接拆分的结果。

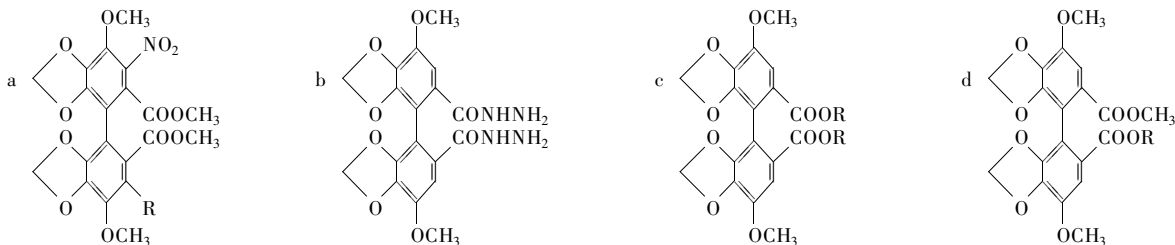


图 1 联苯类化合物分子的结构式

Fig.1 Structure of eight biphenyl compounds

a. compounds No. 1 (R :H) and No. 2 (R :NO<sub>2</sub>); b. compound No. 3; c. compounds No. 4 (R :CH<sub>3</sub>), No. 5 (R :CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) and No. 6 (R :CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); d. compounds No. 7 (R :CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) and No. 8 (R :CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

## 2 实验部分

### 2.1 试剂

自制球形硅胶,粒径 5 μm ~ 6 μm,比表面积 110 m<sup>2</sup>/g,平均孔径 13 nm;γ-氨基三乙氧基硅烷(KH-550)(辽宁盖县化工厂);直链淀粉(Sigma);3,5-二甲基苯基异氰酸酯(ACROS,USA);外消旋样品由河南省化学研究所常俊标教授提供。

γ-氨基硅胶(APS)参照文献[3]所报道的方法制备,直链淀粉-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)(ADMPC)按文献[4]所报道的方法制备,以四氢呋

喃为溶剂将 ADMPC 涂敷于 APS 表面,涂敷量为 APS 总质量的 15%。用匀浆法将固定相装入 150 mm × 4.6 mm i. d. 的不锈钢柱管中。

### 2.2 仪器与色谱条件

色谱系统包括 M6000 泵(Waters,美国),SPD-1 型紫外-可见分光光度检测器(岛津,日本),C-R2A 型色谱数据处理器(岛津,日本)。流动相为不同的醇-正己烷二元混合溶液,醇的体积分数皆为 20%,流速 0.8 mL/min,检测波长 254 nm,分离实验在室温下进行。色谱柱的死时间(t<sub>0</sub>)用 1,3,5-三叔丁基苯测定。

收稿日期 2001-02-22

基金项目 中国科学院重点基金资助课题(批准号:KY95-SI-205)

作者简介 齐邦峰(1962-)男,高工,博士生。

通讯联系人 陈立仁,博士生导师,电话(0931)8278913,E-mail:ChenLR@ns.lzb.ac.cn

### 3 结果与讨论

#### 3.1 不同醇作流动相改性剂对样品分离的影响

表 1 是一系列的醇作流动相改性剂时所得分离结果。从表 1 可以看出,不同的醇对 8 种化合物的容量因子(即  $k'_1, k'_2$ ), 分离因子( $\alpha$ )和分离度( $R_s$ )都有一定程度的影响。从乙醇经正丙醇变化到正丁醇,各化合物的容量因子( $k'_1, k'_2$ )逐渐减小。用异丙醇作流动相改性剂时各化合物的容量因子与用乙

醇时相近,分离因子比用乙醇时稍小(化合物 No. 1, No. 2 和 No. 6 除外)。化合物 No. 6 在所考察的几种流动相体系中都不能被拆分,拆分化合物 No. 1 的最佳流动相改性剂是正丙醇,拆分化合物 No. 2 的最佳改性剂是异丙醇,而使化合物 No. 3, No. 4, No. 5, No. 7 和 No. 8 获得理想拆分效果的流动相改性剂是乙醇。图 2 给出了化合物 No. 4 在不同流动相体系中的分离色谱图,由此可看出,乙醇作改性剂时,化合物 No. 4 的两种对映体的分离效果最好。

表 1 流动相对联苯类化合物对映体在 ADMPC<sup>(1)</sup>固定相上保留和拆分的影响

Table 1 Influence of eluents on the retention and resolution of the enantiomers of biphenyl compounds on ADMPC<sup>(1)</sup> stationary phase

Compound No. <sup>(2)</sup>	Hexane-(2-propanol) <sup>(3)</sup>				Hexane-ethanol <sup>(3)</sup>				Hexane-(1-propanol) <sup>(3)</sup>				Hexane-(1-butanol) <sup>(3)</sup>			
	$k'_1$	$k'_2$	$\alpha$	$R_s$	$k'_1$	$k'_2$	$\alpha$	$R_s$	$k'_1$	$k'_2$	$\alpha$	$R_s$	$k'_1$	$k'_2$	$\alpha$	$R_s$
1	16.21	17.84	1.10	0.85	14.96	16.31	1.09	0.85	11.39	12.83	1.13	1.04	8.07	8.55	1.06	0.62
2	23.42	28.30	1.21	1.35	24.81	27.62	1.11	1.15	17.12	20.14	1.18	1.25	12.18	14.00	1.15	0.85
3	8.88	9.67	1.09	0.82	8.89	9.87	1.11	1.03	7.21	7.72	1.07	0.75	5.37	5.69	1.06	0.58
4	8.33	9.08	1.09	0.85	7.69	8.55	1.11	1.05	6.16	6.52	1.06	0.71	4.80	5.09	1.06	0.68
5	6.07	6.61	1.09	0.80	5.48	6.02	1.10	0.92	4.59	4.83	1.05	0.62	3.21	3.37	1.05	0.60
6	4.39	4.39	1.00	0	4.04	4.04	1.00	0	2.79	2.79	1.00	0	2.39	2.39	1.00	0
7	7.26	7.91	1.09	0.88	6.93	7.74	1.12	1.10	5.31	5.65	1.06	0.65	4.45	4.76	1.07	0.69
8	6.63	6.63	1.00	0	5.90	6.34	1.07	0.81	5.19	5.19	1.00	0	3.75	3.75	1.00	0

1)ADMPC is amylose tris-(3,5-dimethyl phenylcarbamate ; 2)for compound No. , see Fig. 1 ; 3)the volume proportion of alcohol in eluent was 20% .

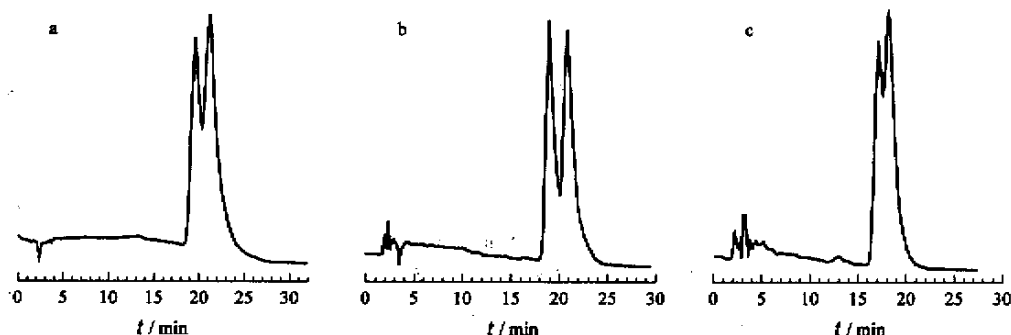


图 2 化合物 No. 4 在不同流动相体系中的分离色谱图

Fig. 2 Chromatograms of the separation of enantiomers of compound No. 4

Mobile phase : a. V(hexane) : V(2-propanol) = 80:20 ; b. V(hexane) : V(ethanol) = 80:20 ; c. V(hexane) : V(1-propanol) = 80:20.

#### 3.2 固定相对样品作用机理

直链淀粉苯基氨基甲酸酯类手性固定相上的氨基甲酸酯结构单元被证实是决定手性识别的最重要部位<sup>[5]</sup>。手性识别的实现是多种作用力共同作用的结果,这些作用力包括对映体与固定相之间的氢键作用、偶极-偶极作用及  $\pi-\pi$  相互作用。就本工作所拆分的 8 种外消旋化合物而言,化合物的 C=O 基团与手性固定相上氨基甲酸酯残基的 NH 基团间可发生氢键作用,并且化合物的 C=O 基团与手性固定相上氨基甲酸酯残基的 C=O 基团间也可发生偶极-偶极作用。Wainer 等<sup>[6]</sup>曾指出带有芳香官能团的化合物与多糖类手性固定相间可发生  $\pi-\pi$  相

互作用,在本文所讨论的化合物与直链淀粉类固定相间的作用方式中,这种作用力也应存在。

衍生化固定相上手性作用点的高度有序结构也是决定手性识别的主要因素之一<sup>[7]</sup>,同样用 3,5-二甲基苯基异氰酸酯衍生化的纤维素与淀粉可表现出截然不同的手性拆分能力。经 X-射线分析证实<sup>[8]</sup>,纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)具有左旋三重(3/2)螺旋构型而直链淀粉却具有左旋四重(4/1)螺旋构型。在这两种衍生化的多糖类手性聚合物分子中,极性的氨基甲酸酯基团和 3,5-二甲苯基团围绕着主链形成一个螺旋槽。样品分子调整构象进入螺旋槽中,通过氢键作用、偶极-偶极作用及

$\pi$ - $\pi$  相互作用与固定相形成缔合物。如果一对对映体与固定相所形成的缔合物稳定性不一样,便可实现手性拆分。对于本文所拆分的 8 种联苯类对映体,不同构型的对映体与固定相形成的缔合物的稳定性应是不相同的。

对同一系列的化合物(如:化合物 No. 4, No. 5 和 No. 6; No. 7 和 No. 8)来说,化合物的容量因子( $k'_1, k'_2$ )和分离度( $R_s$ )的大小取决于化合物上烷基取代基的大小,烷基取代基越小(如化合物 No. 4 和 No. 7),化合物的容量因子( $k'_1, k'_2$ )和分离度( $R_s$ )越大。这说明化合物上烷基取代基与固定相之间的立体位阻和疏水作用对分离有很大的负面影响。

#### 参考文献:

[1] Chen D F, Zhang S X, Xie L, et al. *Bioorg Med Chem*, 1997, 5(8):1715-1723

[2] LIU Yue-qi, CAI Qing-song, YU Zhao-wen, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2000, 18(4):287-290  
刘月启, 蔡青松, 于兆文, 等. *色谱*, 2000, 18(4):287-290

[3] Huisden R E, Kraak J C, Poppe H. *J Chromatogr*, 1990, 508:289-299

[4] Okamoto Y, Aburatani R, Fukumoto T, et al. *Chem Lett*, 1987, (9):1857-1860

[5] Kunath A, Theil F, Jaehnisch K. *J Chromatogr A*, 1996, 728:249-257

[6] Wainer I W, Stiffin R M, Shibata T. *J Chromatogr*, 1987, 411:139-151

[7] Okamoto Y, Yashima E. *Angew Chem Int Ed Engl*, 1998, 37:1020-1043

[8] Vogt U, Zugenmaier P. *Ber Bunsenges Phys Chem*, 1985, 89:217-224

## Direct Optical Resolution of the Enantiomers of Biphenyl Compounds by High Performance Liquid Chromatography on Amylose Tris-(3,5-Dimethylphenylcarbamate) Stationary Phase

QI Bang-feng<sup>1,2</sup>, LIU Yue-qi<sup>1</sup>, HAN Xiao-qian<sup>1</sup>, ZHU Xin-yi<sup>1</sup>, CHEN Li-ren<sup>1</sup>

(1. Lanzhou Institute of Chemical Physics, The Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China; 2. Fushun Research Institute of Petroleum and Petrochemicals, Fushun 113001, China)

**Abstract**: A chiral stationary phase (CSP) was prepared by coating amylose tris-(3,5-dimethylphenylcarbamate) onto aminopropylated spherical silica gel. The enantioselective chromatographic separation of a series of biphenyl compounds with antihepatitis activity was performed for the first time on CSP. The effect of alcohol modifiers in mobile phase was investigated. The mobile phases used in the study were hexane modified by ethanol, 1-propanol, 1-butanol or 2-propanol. It was found that the retention times and the separation of the enantiomers of biphenyl compounds on the CSP were dramatically influenced by the nature of alcohols in the mobile phase, and the best alcohol modifier for some compounds was ethanol. The interaction between the stationary phase and samples was also discussed.

**Key words**: amylose-based chiral stationary phase; alcoholic modifier; separation; biphenyl compound; enantiomer

## 书 讯

由化学工业出版社出版的《分析化学手册》第六(液相色谱)分册,由国家色谱研究分析中心张玉奎等专家主编。书中收录了大量实用性很强的参数、数据和图谱,涉及化学、化工、地矿、石油、冶金、环保、农林畜牧、轻工、食品、医药、临床、国防、刑侦、商检、生命科学、高新技术等各个领域,并对各种分析方法的基本原理、分析仪器、样品处理、分析技术与方法开发、分析结果的计量与表达、实验室规范化等作了简要的介绍,是色谱科技工作者的重要案头工具书。

定价 105 元,邮资按 10% 另收。

欲购者请与化学工业出版社邮购部联系,电话(010)64918013,邮编:100029,地址:北京朝阳区惠新里 3 号;或与大连化物所国家色谱研究分析中心孙生才联系,电话(0411)3675879,邮编:116012,地址:大连市中山路 161 号。