

• 研究简报 •

N-(3,5-二甲基苯基)氨基甲酸酯单糖及二糖作为高效液相色谱 手性固定相研究

周玲玲 孙文卓 王剑瑜 袁黎明*

(云南师范大学化学化工学院 昆明 650092)

摘要 广泛使用的环糊精和多糖手性固定相是由吡喃型葡萄糖结构单元构成, 将 *D*-葡萄糖、*D*-半乳糖、*D*-甘露糖、*D*-木糖、麦芽糖、蔗糖、乳糖、纤维二糖的 *N*-(3,5-二甲基苯基)氨基甲酸酯经过 3-异氰酸丙基三乙氧基硅烷键合到硅胶上作为高效液相色谱的手性固定相, 结果表明它们也具有好的手性分离能力, 并且它们之间的手性识别能力还具有好的互补性. 该研究表明, 在高效液相色谱中寡糖能成为一类新型的手性固定相.

关键词 *N*-(3,5-二甲基苯基)氨基甲酸酯单糖; *N*-(3,5-二甲基苯基)氨基甲酸酯二糖; 手性固定相; 高效液相色谱

N-(3,5-Dimethylphenyl)carbamate of Mono- and Di-saccharide Used as Chiral Stationary Phases in HPLC

ZHOU, Ling-Ling SUN, Wen-Zhuo WANG, Jian-Yu YUAN, Li-Ming*

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Yunnan Normal University, Kunming 650092)

Abstract Cyclodextrin and polysaccharide derivatives that consist of glucopyranose units have been extensively used as chromatographic chiral stationary phases. The enantioseparations were examined using *N*-(3,5-dimethylphenyl)carbamates of glucose, galactose, mannose, xylose, maltose, sucrose, lactose and cellobiose as chiral selector bonded to silica gel via an arm in HPLC. Surprisingly, they also possess good enantioselectivity, and there is a big chiral discriminating complementarity. This work indicates that oligosaccharides derivatives can soon become very attractive as a new kind of chiral stationary phase for HPLC.

Keywords *N*-(3,5-dimethylphenyl)carbamate of monosaccharide; *N*-(3,5-dimethylphenyl)carbamate of disaccharide; chiral stationary phase; HPLC

色谱是目前最广泛使用的对映异构体分离分析手段^[1,2], 高效液相色谱手性固定相法是最主要的方法^[3]. 在已经商品化的液相色谱手性分离柱中, 应用最多的是多糖类手性固定相^[4], 其次是环糊精和氨基酸衍生物类手性固定相^[5]. 多糖类手性固定相有涂渍型和键合型, 键合型因抗溶剂溶解现已商品化, 其固载方法主要有双功能基法、通过可聚合基团键合、多糖混合衍生物的载体固定化以及整体成球法^[4]. 在广泛使用的多

糖类手性固定相中, 这些多糖都是由一些简单的单糖结构单元组成的, 环糊精也是由 6~8 个葡萄糖所组成的环状结构. 因此, 已经有文献报道将寡糖成功地应用于毛细管电泳的手性分离中^[6~8]. 近年来, 也有人利用寡糖作为气相色谱手性固定相得到了很好的手性分离效果^[9,10]. 但到目前为止, 我们还未见到直接将单糖键合到硅胶表面作为液相色谱手性固定相的报道, 在我国也尚无具有自主知识产权的各种类型的手性色谱分离柱

* E-mail: yuan_limingpd@yahoo.com.cn

Received February 12, 2008; revised May 23, 2008; accepted June 18, 2008.

国家自然科学基金(No. 20775066)和云南省自然科学基金重点项目(No. 2005E0006Z)资助项目.

生产. 由于 3,5-二甲基苯基氨基甲酸基在多糖类和环糊精手性固定相中是一个最有效的衍生化基团^[4], 所以本文合成了 *D*-葡萄糖、*D*-半乳糖、*D*-甘露糖、*D*-木糖、麦芽糖、蔗糖、乳糖、纤维二糖的 3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯并将它们作为高效液相色谱的手性固定相, 考察了它们的手性分离能力, 得到了良好的手性分离效果.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

D-葡萄糖、*D*-半乳糖、*D*-甘露糖、*D*-木糖、麦芽糖、蔗糖、乳糖、纤维二糖(AR, Acros 公司); 球形硅胶 YWG-80 (5 μm, 青岛美高化工有限公司); 3-异氰酸根丙基三乙氧基硅烷(日本 TCI 公司); 3,5-二甲基苯基异氰酸酯(Sigma 公司); 外消旋化合物样品均购于 Fluka 和 Sigma 公司; 正己烷和异丙醇为色谱纯溶剂; 其余试剂均为国产分析纯.

LC600 高效液相色谱仪、紫外检测器以及色谱工作站(美国 Labtech), 液相色谱装柱机、色谱柱: 250 mm × 4.6 mm (美国, Alltech).

1.2 实验过程

本文首先通过 3-异氰酸根丙基三乙氧基硅烷将等摩尔的 *D*-葡萄糖、*D*-半乳糖、*D*-甘露糖、*D*-木糖、麦芽糖、蔗糖、乳糖或纤维二糖键合到硅胶表面上, 然后用大于单糖或二糖上剩余羟基数量的 3,5-二甲基苯基异氰酸酯进行衍生, 合成了衍生化的手性固定相, 合成路线如图 1.

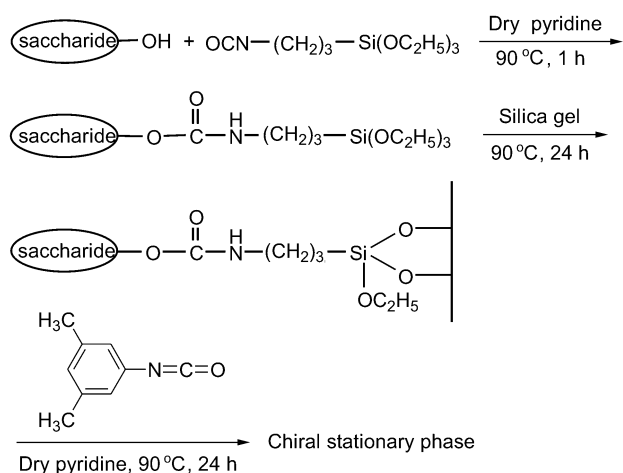


图 1 手性固定相的合成示意图

Figure 1 Scheme of the synthesis of chiral stationary phases

对于合成的 *D*-葡萄糖、*D*-半乳糖、*D*-甘露糖、*D*-木糖、麦芽糖、蔗糖、乳糖和纤维二糖手性固定相, 它们的硅胶分别通过水、乙醇、正己烷多次洗涤后真空干

燥并称重, 其增加的重量分别为 13.0%, 11.7%, 14.0%, 12.3%, 16.7%, 17.7%, 17.0%, 17.6%, 表明在硅胶表面上键合上了有机功能团, 并且二糖手性固定相中的键合重量高于单糖.

将上述八个手性固定相分别进行红外光谱测定, 它们皆在 3442.36~3449.69 cm⁻¹之间有一个峰, 表明分子结构中有 N—H 基团; 2927.16 cm⁻¹左右有一个峰, 表明有烷基 C—H; 1706.37~1733.57 cm⁻¹之间有一个峰, 表明有氨基中的羰基 C=O, 1617.02 和 1558.84 cm⁻¹左右分别有两个峰, 表明有苯环.

使用装柱机和 250 mm × 4.6 mm 色谱柱采用湿法装柱. 取手性固定相 4 g, 以正己烷/异丙醇(V:V=90:10)为匀浆液, 在 40 MPa 压力下, 进行装柱.

色谱条件: 正己烷/异丙醇(V:V=90:10); 流速为 0.5 mL/min; 柱温 30 °C; 紫外检测波长为 254 nm. 手性样品用流动相溶解. 自制的 8 根手性柱在该测试条件下用苯作为样品, 对各个手性柱的柱效进行测试, 其塔板数在 20100~42700 块/米之间.

2 结果与讨论

以正己烷/异丙醇(V:V=90:10)作为流动相, 在 *D*-葡萄糖、*D*-半乳糖、*D*-甘露糖、*D*-木糖、麦芽糖、蔗糖、乳糖、纤维二糖的 3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯八根手性分离柱上, 对(±)-2-苯基-1-丙醇(1)、(±)-2-苯基-1-环己醇(2)、(±)-1-苯基-1,2-乙二醇(3)、(±)-3-苄氧基-1,2-丙二醇(4)、(±)-2,3-*O*-苄亚甲基-*D*-丁二醇(5)、*DL*-苯丙氨酸(6)、*DL*-酪氨酸(7)、(±)-*N*-苄基-1-苯乙胺(8)、*DL*-3-苯基丁酸(9)进行手性拆分, 这些外消旋化合物的结构式如图 2.

分离结果列在表 1 中, 表中 k'_1 是第一个对映异构体的保留因子, α 是外消旋体在手性柱上的分离因子. 从表中可见, 在 9 对外消旋体中, 葡萄糖、半乳糖、甘露糖、木糖、麦芽糖、蔗糖、乳糖、纤维二糖的 3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯手性分离柱能拆分开的外消旋体化合物分别有 4, 5, 3, 6, 5, 4, 5, 3 对, 它们的手性分离能力次序为 *D*-木糖 3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯 > *D*-半乳糖 3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯、麦芽糖 3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯、乳糖 3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯 > *D*-(+)-葡萄糖 3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯、蔗糖 3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯 > *D*-甘露糖 3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯、纤维二糖 3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯. 这些分离柱对一些外消旋体化合物分离效率较差的主要原因可能是糖衍生物与被拆分的对映异构体之间的空间适应性, 这些空间构型受到单糖的种类、单糖之间连接类型、连接位置

以及寡糖中单糖的个数等的影响。

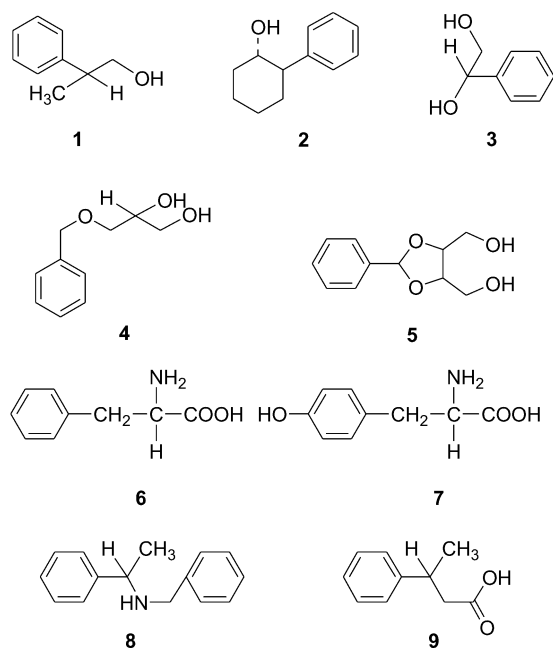


图2 手性化合物的分子结构

Figure 2 Molecular structure of chiral compounds

表1 在8根手性分离柱上的保留因子和分离因子

Table 1 The retention factors (k_1') and separation factors (α) on eight chiral columns

Racemate		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Glucose	k_1'	0.67		5.33					0.23	0.92
	α	1.20		1.18					1.68	4.14
Galactose	k_1'	0.78	3.69	6.46	0.17				0.42	
	α	1.23	1.13	1.31	3.87				2.45	
Mannose	k_1'				0.15				0.24	0.68
	α				4.32				3.25	1.39
Xylose	k_1'	0.64		4.84	0.15	0.79			0.20	0.13
	α	1.21		1.40	3.58	1.10			3.14	6.00
Maltose	k_1'	0.58	0.44	4.72					0.17	0.50
	α	1.23	3.97	1.24					4.04	1.65
Sucrose	k_1'			4.64	0.19			0.09	0.75	
	α			1.37	3.68			2.15	1.29	
Lactose	k_1'	0.78	6.63	0.22					0.28	0.22
	α	2.06	1.42	3.75					3.21	5.58
Cellobiose	k_1'			4.76					0.11	0.65
	α			1.23					4.69	3.70

图3是一些外消旋体在手性分离柱上的液相色谱分离谱图。它们分别是(±)-*N*-苄基-1-苯乙胺在 *D*-(+)-葡萄糖 3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯柱(A)、*DL*-苯丙氨酸在 *D*-木糖 3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯柱(B)、(±)-3-苄氧

基-1,2-丙二醇在麦芽糖 3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯柱(C)、*DL*-酪氨酸在蔗糖 3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯柱(D)上的手性拆分图谱。从这些图谱可见这些手性柱对外消旋体的分离性能良好。

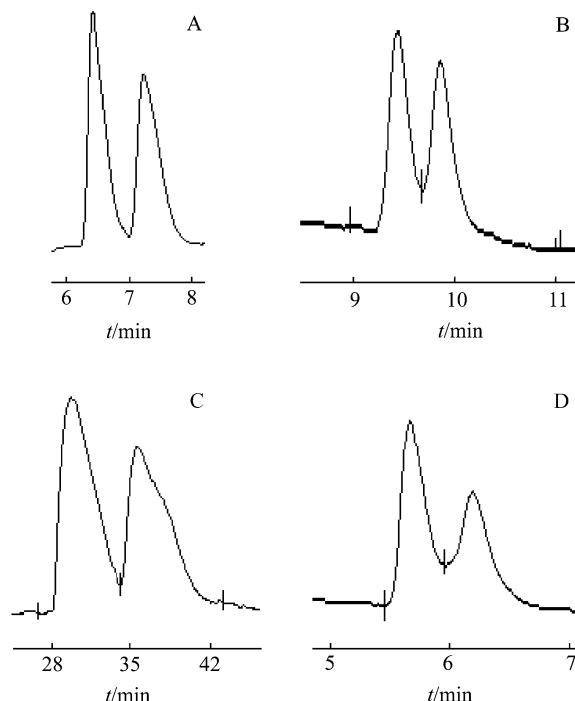


图3 外消旋体的手性拆分数谱图。(A) (±)-*N*-苄基-1-苯乙胺在 *D*-(+)-葡萄糖柱; (B) *DL*-苯丙氨酸在 *D*-木糖柱; (C) (±)-3-苄氧基-1,2-丙二醇在麦芽糖柱; (D) *DL*-酪氨酸在蔗糖柱

Figure 3 Enantioseparation chromatograms of racemates. (A) (±)-*N*-benzyl-1-phenylethylamine on glucose column; (B) *DL*-phenylalanine on xylose column; (C) (±)-3-benzyloxy-1,2-propanediol on maltose column; (D) *DL*-tyrosine on sucrose column

为了考察不同流动相对手性分离的影响, 针对图3中各自的色谱柱和被分离物, 改用正己烷/乙醇($V:V=90:10$)为流动相, 分离因子 α 则分别变为 4.16, 4.81, 1.26 和 1.00, 其使前三对手性分离变得更好, 但最后一对没能得到分离。因此, 流动相组成对该固定相的手性分离影响较大。

在每个单糖和二糖分子中, 含有多个不对称的手性碳原子, 这些柱的手性分离能力主要来自于单糖和二糖本身的手性性能。它们的手性识别机理除了色散、偶极-偶极、氢键力外, 糖与被拆外消旋体的空间构型适应性可能起了一个主要的作用^[4]。这些作用受到单糖的种类、单糖之间连接类型、连接位置以及寡糖中单糖的个数等的影响^[6-10]。对于其识别机理的进一步认识, 我们正在研究中。

References

- 1 Xu, K.-X.; Liu, S.-Y.; He, Y.-B.; Qin, H.-J.; Qing, G.-Y.; Hu, L. *Acta Chim. Sinica* **2006**, *64*, 2205 (in Chinese).
(徐括喜, 刘顺英, 何永炳, 秦海娟, 卿光焱, 胡翎, 化学学报, **2006**, *64*, 2205.)
- 2 Wang, X.-D.; Yao, J.-S.; Wei, M.-X.; Wu, G.; Luo, C. *Chin. J. Org. Chem.* **2006**, *26*, 912 (in Chinese).
(王晓东, 姚金水, 魏明星, 武光, 罗存, 有机化学, **2006**, *26*, 912.)
- 3 Chang, Y.-X.; Ren, C.-X.; Ruan, Q.; Yuan, L.-M. *Chem. Res. Chin. Univ.* **2007**, *23*, 646.
- 4 Okamoto, Y.; Yashima, E. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1998**, *37*, 1020.
- 5 Maier, N. M.; Franco, P.; Lindner, W. *J. Chromatogr. A* **2001**, *906*, 3.
- 6 Soini, H.; Stefansson, N.; Riekkola, M. L.; Novotny, M. *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 3477.
- 7 Chankvetadze, B.; Saito, M.; Yashima, E.; Okamoto, Y. *Chirality* **1998**, *10*, 134.
- 8 Nakamura, H.; Sano, A.; Sumii, H. *Anal. Sci.* **1998**, *14*, 375.
- 9 Sicoli, G.; Jiang, Z.; Jicsinsky, L.; Schurig, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4092.
- 10 Sicoli, G.; Pertici, F.; Jiang, Z.; Jicsinsky, L.; Schurig, V. *Chirality* **2007**, *19*, 391.

(A0802121 CHEN, J. X.; FAN, Y. Y.)