

文章编号:1006-6144(2009)05-0590-03

2-(9-蒎基)-2-甲氧基乙酸乙酯的高效液相色谱手性拆分

郑之祥, 张振国, 李宝林*

(药用资源与天然药物化学教育部重点实验室, 陕西师范大学化学
与材料科学学院, 陕西西安 710062)

摘 要:以键合在 5 μm 硅胶上的纤维素-三(二甲基苯基氨基甲酸酯)为色谱柱的手性固定相, 采用高效液相色谱(HPLC)法对外消旋的 2-(9-蒎基)-2-甲氧基乙酸乙酯进行了手性拆分。对影响 2-(9-蒎基)-2-甲氧基乙酸乙酯拆分的三个重要因素: 流动相组成、流速、色谱柱温度进行了研究。实验结果表明, 在流动相组成为正己烷-异丙醇(94/6, V/V), 流速 1.0 mL/min, 柱温 20 的条件下, 2-(9-蒎基)-2-甲氧基乙酸乙酯对映体得到很好的分离, 分离度为 3.63。

关键词: 2-(9-蒎基)-2-甲氧基乙酸乙酯; 高效液相色谱法; 手性分离

中图分类号: O657.7⁺2 **文献标识码:** A

2-(9-蒎基)-2-甲氧基乙酸(9AMAA)是一重要的手性辅助试剂, 特别是 9AMAA 在利用核磁共振法对手性化合物手性碳原子绝对构型的测定中作为辅助试剂而被广泛应用^[1-6]。2-(9-蒎基)-2-甲氧基乙酸乙酯(9AMA)是 9AMAA 的前体化合物, 利用一般的化学合成方法所得到的此类化合物以外消旋体的形式存在, 所以建立对此类化合物外消旋体的拆分方法, 对这类化合物的合成及光学纯度的分析研究有重要的意义。

关于外消旋体拆分的研究已有较多的文献^[7,8]报道。我们曾经使用毛细管电泳成功地拆分了 9AMAA^[9], 但没有实现 9AMA 的成功拆分。本文用高效液相色谱法(HPLC)对 9AMA 进行了手性拆分研究, 取得了成功, 并且对拆分条件进行了优化, 建立了一种快速的高效液相色谱拆分方法。实验结果表明, 该方法具有操作简便、快速、样品用量少等特点。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

岛津 2010C 高效液相色谱仪, SIL-10AD_{VP} 自动进样器, (TO-10ACC)_{VP} 柱温调节器, UV 检测器, 岛津 LC solution 工作站。手性色谱柱 CHIRALPAK IB(250 $\times$ 4.6 mm, 5 μm , Daicel Chemical Industries, Japan), 此色谱柱的手性固定相(CSP)为键合在 5 μm 硅胶上的纤维素-三(二甲基苯基氨基甲酸酯)^[10]。

9AMA 外消旋体按文献^[9]方法自制; 正己烷(*n*-hexane)、异丙醇(IPA)为色谱纯(Fisher); 乙醇为分析纯(西安化学试剂厂)。实验用水由 Milli-Q 纯水仪制备。

1.2 色谱条件

检测波长为 254 nm, 进样量为 5 μL ; 流动相为正己烷和异丙醇的混合液; 流速分别设置为 0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mL/min, 柱温分别设置为 20、25、30、35、40 。

1.3 样品制备

将 9AMA 外消旋体配制成 1.00 mg/mL 的乙醇溶液, 使用前经过 0.45 μm 的滤膜过滤。流动相在使用以前超声脱气 30 min。

收稿日期: 2008-09-05

修回日期: 2008-12-25

* 通讯联系人: 李宝林, 男, 教授, 博士生导师, 长期从事天然药物化学研究。

2 结果与讨论

2.1 流动相组成对手性拆分的影响

流动相组成对手性化合物的拆分有着重要的影响,在 9AMA 手性拆分过程中,使用正己烷作为流动相,异丙醇作为极性调节剂。考察了异丙醇在正己烷中的体积百分含量分别为 6 %、8 %、10 %、12 %、14 % 五个水平时对于手性拆分各项指标的影响。异丙醇含量的变化对 9AMA 的拆分的色谱数据见表 1。表 1 表明,9AMA 对映异构体拆分的分离度随着异丙醇含量的增加而降低;选择性系数随着异丙醇含量的增加呈减小的趋势,但其影响并不是很显著;出峰时间随着异丙醇含量的增加而变短。同时,当流动相中异丙醇含量较大时,在洗脱时会导致柱压过高,因此在实际操作中,应选用异丙醇含量为 6 % 的洗脱剂进行洗脱,此时分离度为 3.633,分析时间少于 10 min,在这个条件下操作可以兼顾分离度和较短的分析时间。

表 1 流动相中异丙醇含量对 9AMA 拆分的影响

Table 1 The effect of the concentration of IPA in n-hexane (V/V) on the separation of (±)-9AMA

IPA (%)	t ₁	t ₂	α'	W _{d1}	W _{d2}	R _s
6	6.680	9.045	1.354	0.606	0.696	3.633
8	6.299	8.150	1.308	0.580	0.558	3.253
10	5.961	7.494	1.257	0.480	0.549	2.980
12	5.772	7.127	1.196	0.476	0.543	2.659
14	5.625	6.581	1.170	0.486	0.533	2.406

Chromatographic conditions: column temperature 20 , detecting wavelength 254 nm , flow rate 1.0 mL/ min.

2.2 流速对手性拆分的影响

在正己烷中含有 6 % 的异丙醇为流动相的条件下,分别考察了流速为 0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mL/ min 五个水平,结果表明,9AMA 拆分的分离度随着流动相流速的增加呈现波动性变化,流速为 1.2 mL/ min 时有一个最大值;流速的变化对选择性系数的影响不是很显著;出峰时间随着流速的增加而变短。根据拆分所用时间和流速可以看出,在流速 1.0 mL/ min 时拆分的时间在 10 min 以内;而太大的流速会造成流动相的浪费,且流速的增大并未使分离度有较大的增加。综合考虑,实验选择流速为 1.0 mL/ min。

2.3 温度对拆分的影响

色谱分离的热力学研究表明,柱温对化合物的液相色谱分离效果有着直接的影响,当柱温升高时,保留值变小,对分离不利;柱温降低时,保留值变大,分离时间延长且色谱峰展宽,使分离效率降低^[11],所以对柱温的确定应兼顾分离度和分析时间。在流动相组成为正己烷/ IPA (94/ 6, V/ V),流速为 1.0 mL/ min 的条件下,以柱温为 20、25、30、35、40 五水平下考察了柱温对 9AMA 拆分的影响。结果表明:当温度在 20 ~ 40 变化时,9AMA 拆分的分离度随着温度的升高而减小;完成 9AMA 对映异构体的拆分所耗费的时间相都在 8 ~ 10 min 之间,温度变化对 9AMA 对映异构体保留时间的影响不是很大。因此,拆分 9AMA 比较理想的温度为 20 。

3 结论

本实验以手性固定相键合在 5 μm 硅胶上的纤维素-三(二甲基苯基氨基甲酸酯)的 CHIRALPAK IB 型手性色谱柱,采用正己烷/ 异丙醇体系为流动相成功的对 9AMA 进行了拆分,分离度达到 3.633,并对影响 9AMA 拆分的三个重要因素:流动相组成、流速、温度进行了考察。实验结果表明,增加流动相正己烷中异丙醇的含量、增大流速、升高柱温均能够使 9AMA 对映异构体的保留时间减小。根据分离度,保留时间以及各影响因素的作用,兼顾分离度和分析所用时间的综合考虑,9AMA 的最佳拆分条件确定为:流动相为含有 6 % (V/ V) 异丙醇的正己烷,流速 1.0 mL/ min,柱温 20 ;在此条件下对 9AMA 拆分的色谱图如图 1。

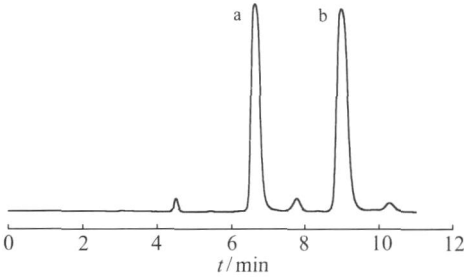


图 1 9AMA 拆分的色谱图
Fig. 1 Chromatogram of 9AMA solution
Chromatographic conditions: mobile phase: n-hexane-IPA (94/ 6, V/ V), flow rate 1.0 mL/ min, column temperature 20 , detecting wavelength 254 nm.

参考文献:

- [1] Latypov Shamil K, Ferreira Mar X J, Quinoa Emilio, Riguera Ricardo. J. Am. Chem. Soc. [J], 1998, **120**(19):4741.
- [2] Seco Jose Manuel, Quifiofi Emilio, Riguera Ricardo. Tetrahedron[J], 1999, **55**(2):569.
- [3] Ciminiello Patrizia, Dell'Aversano Carmela, Fattorusso Caterina, Fattorusso Ernesto, Forino Martino, Magno Silvana. Tetrahedron[J], 2001, **57**(38):8189.
- [4] Manuel Seco Jose, Emilio Quinoa, Ricardo Riguera. Tetrahedron: Asymmetry[J], 2002, **13**(9):919.
- [5] Seco Jose Manuel, Tseng Li-Hong, Godejohann Markus, Quinoa Emilio, Riguera Ricardo. Tetrahedron: Asymmetry [J], 2002, **13**(19):2149.
- [6] Freire Felix, Seco Jose Manuel, Quinoa Emilio, Riguera Ricardo. J. Org. Chem. [J], 2005, **70**(10):3778.
- [7] LIN Jin-ming (林金明), Toshiyuki Hobo (保母敏行). Journal of Analytical Science (分析科学学报) [J], 2000, **16**(4):328.
- [8] DU Li-li (杜丽丽), WANG Wei (王伟), LI Bao-lin (李宝林), LI Jin (李锦), WEN Jun-feng (温俊峰). Journal of Analytical Science (分析科学学报) [J], 2006, **22**(2):202.
- [9] Li Baolin, Zhang Zhenguo, Du Lili, Wang Wei. Chirality[J], 2008, **20**:35.
- [10] Ikai Tomoyuki, Yamamoto Chiyo, Kamigaito Masami, Okamoto Yoshio. Journal of Chromatography B[J], 2008, **875**:2.
- [11] Van Deemter J J, Zuiderweg F J, Klinkenberg A. Chem. Eng. Sci. [J], 1956, **5**(6):271.
- [12] O'Brien T, Crocker L, Thompson R, Thompson K, Toma P H, Conlon D A, Feibush B, Moeder C, Bicker G, Grinberg N. Anal. Chem. [J], 1997, **69**(11):1999.

Chiral Resolutions of Ethyl 2-(9-Anthryl)-2-methoxyacetate by High-performance Liquid Chromatography

ZHENG Zhi-xiang, ZHANG Zhen-guo, LI Bao-lin*

(Key Laboratory of the Ministry of Education for Medicinal Resources and Natural Pharmaceutical Chemistry, and School of Chemistry and Materials Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062)

Abstract: The racemic ethyl 2-(9-anthryl)-2-methoxyacetate was resolved by high-performance liquid chromatography with a cellulose-tris-3,5-dimethylphenyl carbamate-based chiral column successfully. Various factors which can affect the resolution of the compound such as mobile phase, flow rate and column temperature were investigated. Under the conditions of 6% of 2-propanol in n-hexane (V/V) as mobile phase, flow rate of 1.0 mL/min and column temperature of 20 °C, (±)-9AMA were successfully separated at R_s 3.63.

Keywords: (±)-Ethyl 2-(9-anthryl)-2-methoxyacetate; High-performance liquid chromatography; Chiral resolution