纤维素类手性固定相高效液相色谱法 拆分三唑类手性化合物

杨丽萍, 王立新, 徐艳丽, 钱宝英, 高如瑜

(南开大学 元素有机化学国家重点实验室 元素有机化学研究所,天津 300071)

摘 要: 采用纤维素 - 三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯) 手性固定相(Chiralcel OD) 和纤维素 - 三(4 甲基苯基甲酸酯) 手性固定相(Chiralcel OI),在正相高效液相(N- HPLC) 模式下,基线拆分了两个系列共 13 个结构类似的三唑类手性化合物,结果发现,当手性固定相(Chiral Stationary Phase,CSP) 可以与溶质分子之间形成较强氢键时,Chiralcel OD 的手性识别能力明显优于 Chiralcel OI,当手性固定相(CSP) 与溶质分子之间不能或难于形成氢键时,两种 CSP 的手性拆分能力相似;提高流动相中极性改性剂的极性有利于手性化合物的拆分。 在反相高效液相(R- HPLC) 模式下,共基线拆分了 8 个三唑类手性化合物,实验发现,OI - CSP 的手性拆分能力明显优于 OD - CSP,它们对对映体分子的选择性主要受 CSP 与溶质分子间的 - 相互作用的影响。

关键词:纤维素手性固定相;高效液相色谱;三唑类手性化合物;氢键;手性识别

中图分类号: O657.72; S482.2 文献标识码: A 文章编号: 1004 - 4957(2004) 05 - 0025 - 04

HPLC Separation of Triazole Chiral Compounds on Cellulose Chiral Stationary Phases

YANG Li-ping, WANG Li-xin, XU Yan-li, QIAN Bao-ying, GAO Ru-yu

(Institute of Elemento - Organic Chemistry, National Key Laboratory of Elemento - Organic Chemistry, Nankai University,
Tianjin 300071, China)

Abstract: Under the normal-phase mode, Chiralcel OD and Chiralcel OJ were used as the chiral station ary phase (CSP), and a total of 13 triazole chiral compounds of 2 series were baseline resolved. Results indicated that Chiralcel OD showed better chiral recognition than Chiralcel OJ, if the chiral analyte has strong interaction with the CSP through hydrogen bonding. On the other side, if the analyte could not form strong hydrogen bond with the CSP, the chiral separation capacities of both CSPs are similar. Enarr tiomeric separation could be improved by using a solvent of higher polarity. Under the reverse-phase mode, only eight triazole chiral compounds were baseline resolved. It was found that the performance of Chiralcel OD - R is obviously better than that of Chiralcel OJ - R. The degree of the chiral recognition of CSP depends strongly upon the - interaction between the analyte and CSP molecules in case of R - HPLC.

Key words: Cellulose chiral stationary phase; HPLC; Triazole chiral compounds; Hydrogen bonding; Chiral recognition

近 20 年来,手性固定相高效液相色谱法的研究发展十分迅速^[1,2],而纤维素类手性固定相是发展最快、拆分手性化合物范围最广的一类手性固定相^[3,4]。 从分子水平来研究手性固定相的拆分机理已有文献报道^[5],但是这些研究大多是关于小分子手性固定相的,如 Pirkle 型手性固定相。 对聚合物手性固定相(如纤维素类)的手性识别机理很少从分子水平来研究。 聚合物手性固定相常常有意料不到的高手性识别能力,因此许多分析化学家努力从分子水平来解释聚合物固定相的手性识别机理^[6],希望研究出更多更高效的手性固定相。 到目前为止,国内对这方面的研究还较少。

手性农药单一光学异构体生物活性的差异已越来越引起人们的注意。 目前对于广泛使用的广谱、高效手性三唑类杀菌剂光学异构体之间生物活性差异的研究还不多,已经证明戊唑醇、粉唑醇和己唑醇对映体之间的生物活性存在明显差异[7],为了进一步研究手性固定相对一系列分子结构类

收稿日期: 2003 - 09 - 14; 修回日期: 2004 - 05 - 14

作者简介:杨丽萍(1973-),女,四川涪陵人,硕士研究生;高如瑜,联系人.

似三唑类手性化合物的识别机理,从而研究分子结构与生物活性及色谱保留之间的关系,本文使用了4种纤维素类手性柱(Chiral OD、Chiral OJ、Chiral OD-R、Chiral OJ-R)拆分了13个结构类似的三唑类化合物,分别在正相和反相两种模式下评价了纤维素类手性固定相的手性识别能力,同时考察了固定相对结构类似的13个三唑类手性化合物对映异构体的选择性,并较为深入地从分子水平探讨了固定相的手性识别机理。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

美国 Agilent 1100 型高效液相色谱仪,配置四元泵、真空脱气机、二极管阵列检测器及其色谱工作站。

正己烷为色谱纯试剂, 异丙醇、甲醇为国产分析纯试剂, 水为二次蒸馏水。

1.2 样 品

所用三唑类手性化合物样 品均由天津南开大学元素所自 制,结构式如图 1。

1.3 手性柱

日本 Daicel 公司的纤维素 衍生物手性柱,Chiralcel OD(涂布型) 手性柱(250 ×4.6 mm, 10 μ m); Chiralcel OD - R(键合型) 手性柱(250 ×4.6 mm, 10μ m); Chiralcel OJ(涂布型) 手性柱(250 ×4.6 mm, 10μ m); Chiralcel OJ - R(键合型) 手性柱(150 ×4.6 mm, 10μ m); F性位(150 ×4.6 mm, 10μ m), 手性固定相的结构如图 2。

1.4 色谱条件

正相模式下,除有特殊说明外,流动相均为正己烷-异丙醇(体积比70 30);反相模式下,流动相均为甲醇-水(体积比90 10);所有色谱分离均在室温25 下进行;所有试剂使用前均经0.45 µm滤膜

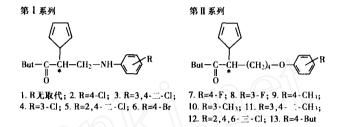


图 1 三唑类手性化合物的结构

Fig. 1 Structures of triazolyl chiral compounds

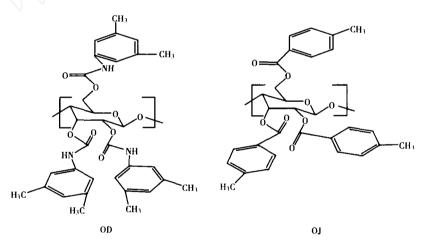


图 2 纤维素手性固定相的结构 Fig. 2 Structures of cellulose-based CSPs

过滤并超声脱气;检测波长均为 254 nm; 流动相流速均为 0.9 mL/min。

2 结果与讨论

2.1 下相色谱拆分三唑类手性化合物

以正己烷-醇为流动相,用 Chiralcel OD、Chiralcel OI 两种 CSP对 13 个化合物进行了拆分,手性分离的结果如表 1 所示。 可以看出,所有化合物均在 Chiralcel OD 上达到了基线拆分,而 Chiralcel OI 只基线拆分了 8 个化合物。

从表 1 中可以看出, 所有手性化合物在 Chiralcel OI 上的保留时间均比 Chiralcel OD 上的长, 这可从 CSP 中衍生基团的结构解释。 两种 CSP 中均含有羰基, 而羰基可与手性化合物中的氨基之间产生氢键, 但是 Chiralcel OD 中的酰氨是强的给电子基团, 而 Chiralcel OI 中的酯基却是强的拉电子基团,

所以造成了 Chiralcel OD 中羰基上氧原子电子密度比 Chiralcel OI 中的低, 最终使 Chiralcel OD 与溶质 分子之间的氢键作用力比 Chiralcel QI 的弱:同时由于 Chiralcel QD 衍生基团分子较长,从而可能使 Chiralcel OD 中形成的手性立体空腔较深, 当手性分子进入手性空腔时会与位于外侧的疏水性芳基距 离较远, 最终使 CSP 与溶质分子间的 - 相互作用较弱。

Compounds	Chiralcel OD				Chiralcel Of				
	k_1	k_2		Rs	k_1	k_2		$R_{\rm s}$	
1	1. 54	1. 85	1. 20	1. 67	3. 61	4. 01	1. 11	0. 57	
2	0. 95	1. 63	1.72	4. 19	3. 63	5. 60	1. 54	1.84	
3	3. 14	3. 79	1. 21	1. 96 **	3.36	4. 35	1. 19	0.64	
4	1.89	2. 23	1.18	2. 02 ***			*		
5	3. 78	6. 79	1.80	6. 51	*				
6	1. 12	2.01	1. 79	4. 64	4. 22	7. 36	1. 74	2. 28	
7	0.38	0. 55	1.45	1. 65	1. 22	3. 68	3.02	5. 61	
8	0.47	0. 81	1.71	2. 78	1.03	2. 83	2.49	4. 39	
9	0. 59	1.01	1.72	3. 13	2. 11	8. 11	3. 84	8.30	
10	0. 94	2. 83	3.01	8. 97	1.34	3. 34	2, 75	4. 96	
11	0.75	1.61	2.51	5. 41	2. 15	5. 30	2. 46	4. 66	
12	0. 83	1.07	1. 29	1. 55 **	1.30	2. 26	1. 74	2.56	
13	0. 83	1. 13	1.36	2. 04			* // \/		

表 1 13 个三唑类手性化合物在正相色谱条件下的分离结果 Table 1 Separation of 13 triazole chiral compounds by N- HPLC

从表 1 中还可看出, 两种 CSP 对第 系列化合物中对位取代苯环化合物选择因子 的大小顺序 均为 6 > 2 > 1, 这说明溶质分子中苯环上取代基的不同将影响 CSP 的手性选择性。 由于 --Br 的拉电 子作用大于 -C1, 使得这 3 个化合物中氨基的酸度大小顺序为 6>2>1, 即它们与 CSP 之间氢键作用 大小为 6>2>1, 这说明溶质分子与 CSP 之间的氢键越强, CSP 对溶质分子的选择性越强。 两种 CSP 对第 系列化合物对映选择性的规律均为 9 > 7、10 > 8、表明取代基的性质也将影响 CSP 的选择性, $-CH_1$ 是给电子基团,而-F则是拉电子基团,这就造成苯环上的电子云密度顺序为 9>7、10>8,即 它们与 CSP 之间 - 相互作用的大小为 9 > 7、10 > 8; 对映体分子结构表明, 其中的醚氧原子被包裹 在分子中,与 CSP中的氨基之间形成的氢键很弱,这说明当溶质分子和 CSP 之间不能形成氢键或形 成的氢键很弱时,分子与 CSP 之间的 - 相互作用越强,对映选择性越高。 此外,取代基的个数和 大小均对 CSP 的选择性有影响。

实验中,我们发现在流动相中加入甲醇,有利于手性拆分。 当以正己烷 - 异丙醇(体积比 70 30) 为流动相时, Chiralcel OD 对于化合物 4 完全没有手性识别能力; 当以正己烷 - 甲醇 - 异丙醇(体 积比 90-9-1) 为流动相时, 化合物 4 达到了基线拆分($Rs_4=2.02$) 。 这可能是由于甲醇的极性较大, 改变了 CSP 中手性空腔的立体环境, 而这种改变更加有利于 CSP 对对映体的手性识别。

2.2 反相色谱拆分三唑类手性化合物

以水 - 甲醇为流动相,在 OD-R、OJ-R 手性柱上对 13 个化合物进行了拆分,手性分离的结果见表 2 所示。 从表 2 中可以看出,所有化合物在 Chiralcel OD-R 上均没有达到基线拆分,而 Chiralcel OJ-R 手性柱却基线拆分了8个化合物。

从表 2 中可看出, 反相模式下, Chiralcel OD-R 的手性识别能力大大下降, 而 Chiralcel OJ-R 对对映 体的选择性却与正相时类似,这可能是因为流动相中的甲醇既可以与 CSP 中羰基之间形成氢键,也可 以与手性分子中的醚氧原子之间形成氢键:同时由于甲醇分子的体积比溶质分子要小得多,更容易进 入 CSP 的手性空腔中, 当 CSP 可以与溶质分子之间形成氢键时, 甲醇将与溶质分子竞争 CSP 中的氢键 结合点; 当 CSP 与溶质分子之间不能形成氢键时, CSP 与溶质分子间的 - 相互作用成为手性识别 的主要动力。 因为甲醇分子可与溶质分子竞争 Chiralcel OD-R 上的氢键这一手性识别点, 所以造成 Chiralcel OD-R 的手性识别能力大大下降:同时由于 Chiralcel OJ-R 与第 系列化合物之间不能形成氢 键,因此它的手性拆分能力与正相模式下相似。

^{*} No selectivity; **hexane-2-propanol (90 10, by volume); ***hexane - methanol - 2-propanol (90 9 1, by volume)

果
,

Table 2	Separation of	13	triazole chiral	compounds by	7 R -	HPLC
Iaurc 2	Scparauon or	13	mazore cintar	compounds of	/ IX -	IIILC

Compound	Chiralcel OD - R				Chiralcel OJ - R			
	k_1	k2		$R_{\rm s}$	k_1	k_2		$R_{\rm s}$
1	0.90	0.99	1. 10	0. 63			*	
2	0.80	0.88	1. 10	0. 57	1.70	1.83	1.08	0.57
3			*		1. 53	1.90	1. 24	1. 52
4	0. 79	0.91	1. 15	0.74			*	
5	*				*			
6			*		2. 52	2.77	1. 10	0. 92
7	*				0. 97	1.64	1. 69	3. 69
8	*			0.86	1.45	1. 69	3. 66	
9			*		2. 95	5.95	2. 02	7. 28
10	1.76	2.08	1. 18	1. 25	1.79	3.33	1.86	5.47
11	2. 16	2.40	1. 11	0.72	3.57	7.09	1. 99	6. 18
12			*		1. 37	2. 12	1. 55	2. 74
13			*		8. 11	12. 9	1. 59	4. 66

^{*} No selectivity

比较正、反相两种模式下的分离结果,可以看出对于所有基线拆分化合物来说,它们的保留时 间、选择因子以及分离度的变化规律十分相似,即 9> 7、10> 8、这些进一步证明了上述理论的正 确性。 从所有分离结果来看, 当 CSP 与手性分子之间不能或难于形成氢键时, 似乎 CSP 中苯环上的 取代基与手性分子中苯环上的取代基性质相反时,CSP 对对映体具有更好的选择性,所以 Chiralcel OI 对第 系列手性化合物的对映选择性比 Chiralcel OD 的要好,这也说明在反相模式下, CSP 与溶质分 子间的 - 相互作用对 CSP 的手性识别能力贡献更大,而在正相模式下, CSP 与溶质分子间的氢键 作用更有利于 CSP 的手性识别。

结论 3

Chiralcel OD 和 Chiralcel OI 对三唑类手性化合物具有很好的手性识别能力。 在正相模式下,当 CSP可以与溶质分子之间形成较强氢键时, Chiralcel OD 的手性识别能力明显优于 Chiralcel OI, 当 CSP 与溶质分子之间不能或难于形成氢键时,两种 CSP 的手性拆分能力相似;提高流动相中极性改性剂 的极性有利于手性化合物的拆分。 在反相模式下, Chiralcel OI 的手性识别能力明显优于 Chiralcel OD,它们对对映体分子的选择性主要受 CSP 与溶质分子间的 相互作用的影响。

参考文献:

- [1] 邹汉法,张玉奎,卢佩章. 高效液相色谱法,分析化学丛书,第三卷(3)[M]. 北京科学出版社,1998. 415-420.
- [2] 刘月启,周文峰,韩小茜,等.直链淀粉-三(氨基甲酸苯酯)手性固定相的手性拆分性能[J].分析测试学报, 2001, 20(1): 43 - 45.
- [3] 周志强,邱 静,江树人,等.涂敷纤维素类手性固定相对甲霜灵中间体的高效液相色谱拆分[J].分析测试学 报,2003,22(1):89-90.
- [4] 徐 莉,何建峰,刘 岚,等. 薄层色谱用纤维素类手性固定相的制备及色谱性能[J]. 分析测试学报,2003,22
- [5] LIPKOWITZ KB. Theoretical studies of type chiral stationary phases [J]. J Chromatogr, 1995, 694(1): 15 37.
- [6] OKAMOTO Y, YASHIMA E. Polysaccharide derivatives for chromatographic separation of enantiomers[J]. Angew Chem Int Ed, 1998, 37: 1020 - 1043.
- [7] 杨丽萍,王立新,钱宝英,等.三种三唑类杀菌剂对映体生物活性的研究[J].农药学学报,2002,4(2):67-70.