

寡糖对甲基苯甲酸酯手性固定相在高效液相色谱中的应用

赵峰 迟绍明 袁黎明*

(云南师范大学化学化工学院, 昆明 650092)

摘要 将葡萄糖、麦芽糖、纤维二糖、棉子糖、乳糖的对甲基苯甲酸酯经过 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,以 $V(\text{正己烷})/V(\text{异丙醇})=90/10$ 为流动相,对 16 种外消旋体化合物进行了拆分。结果表明, $D-(+)$ 葡萄糖对甲基苯甲酸酯、麦芽糖对甲基苯甲酸酯、纤维二糖对甲基苯甲酸酯、棉子糖对甲基苯甲酸酯和乳糖对甲基苯甲酸酯手性分离柱分别分开了 8、6、10、4、5 对外消旋体化合物,并且这些手性固定相之间还具有好的手性识别互补性。在高效液相色谱中寡糖有望成为一类新型的手性固定相。

关键词 寡糖对甲基苯甲酸酯,手性固定相,高效液相色谱

1 引言

色谱是目前广泛使用的对映异构体分离分析手段^[1-3],高效液相色谱手性固定相法是最主要的方法^[4,5]。在已经商品化的手性分离柱中,应用最多的是多糖类手性固定相^[6],其次是环糊精和氨基酸衍生物类手性固定相^[7]。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。近年来,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^[8-10]。也有人利用寡糖作为气相色谱手型固定相得到了很好的手性分离效果^[11,12]。但到目前为止,还未见到将寡糖或者寡糖对甲基苯甲酸酯作为液相色谱手型固定相的报道。在我国还没有具有自主知识产权的各种类型的手性色谱分离柱生产。由于对甲基苯甲酸基在多糖类和环糊精手性固定相中是一个非常有效的衍生化基团^[6],所以本研究分别将葡萄糖、麦芽糖、纤维二糖、棉子糖、乳糖的对甲基苯甲酸酯作为手性固定相,考察了它们的手性分离能力,得到了良好的手性分离效果。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

LC600 高效液相色谱仪、紫外波长检测器以及色谱工作站 (美国 Labtech 公司);液相色谱装柱机、色谱空柱 (250 mm \times 4.6 mm, 美国 Alltech 公司)。

$D-(+)$ 葡萄糖、麦芽糖、纤维二糖、棉子糖、乳糖 (AR, Fluka 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);对甲基苯甲酰氯 (AR, Lancaster 公司);手性化合物 (\pm)-1-苯基-1,2-乙二醇、(\pm)-2-苯基-1-丙醇、(\pm)-3-苯氧基-1,2-丙二醇、 D, L - 甲基苄胺、(\pm)-儿茶酚水合物、(\pm)-纳多洛尔、(\pm)-布洛芬、(\pm)-顺-1-氨基-2-茛满醇、(\pm)-反-2-苯基-1-环己醇、(\pm)-1,2-二苯基-1,2-乙二醇、(\pm)-2,3- O -苯亚甲基- D -丁二醇、(\pm)-二- O, O -对-甲苯甲酰基- D -酒石酸、(\pm)-3-苯基丁酸、(\pm)-1-茛满醇、(\pm)-3,5-二硝基- N -(1-苯乙基)苯甲酰胺、(\pm)- N -苄基-1-苯乙胺 (Fluka 和 Sigma 公司);正己烷和异丙醇色谱纯 (Fisher Scientific 公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 手性固定相的合成 本实验首先通过 3-异氰酸根丙基三乙氧基硅烷将等摩尔的葡萄糖、麦芽糖、纤维二糖、棉子糖或乳糖键合到硅胶表面上,然后用大于寡糖上剩余羟基数量的对甲基苯甲酰氯的物质的量进行衍生,合成了衍生化的手性固定相,合成路线见图 1。

2008-04-08 收稿; 2008-07-10 接受

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

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

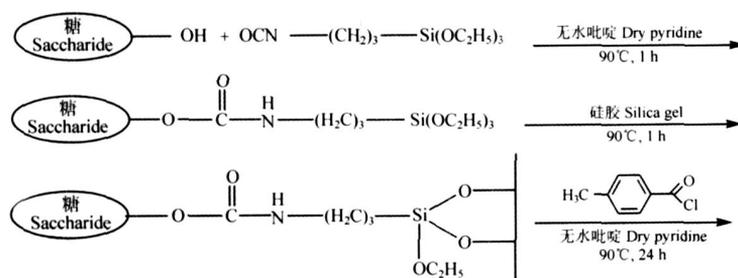


图 1 手性固定相的合成示意图

Fig 1 Scheme of the synthesis of chiral stationary phases

2.2.2 手性色谱柱的填装 使用装柱机和 250 mm \times 4.6 mm 色谱柱采用湿法装柱。取手性固定相 4 g,以 $V(\text{正己烷})/V(\text{异丙醇})=90/10$ 为匀浆液,在 40 MPa 压力下,进行装柱。

2.2.3 色谱条件 $V(\text{正己烷})/V(\text{异丙醇})=90/10$;流速为 0.5 mL/min;柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;紫外检测波长为 254 nm。检测手性样品用流动相溶解。

3 结果与讨论

3.1 外消旋体的分离

以 $V(\text{正己烷})/V(\text{异丙醇})=90/10$ 作为流动相,在 $D-(+)$ 葡萄糖、麦芽糖、纤维二糖、棉子糖、乳糖的对甲基苯甲酸酯 5 根手性分离柱上,对 (\pm) -1-苯基-1,2-乙二醇 (1)、 (\pm) -2-苯基-1-丙醇 (2)、 (\pm) -3-苯氧基-1,2-丙二醇 (3)、 D,L - 甲基苄胺 (4)、 (\pm) -儿茶酚水合物 (5)、 (\pm) -纳多洛尔 (6)、 (\pm) -布洛芬 (7)、 (\pm) -顺-1-氨基-2-茛满醇 (8)、 (\pm) -反-2-苯基-1-环己醇 (9)、 (\pm) -1,2-二苯基-1,2-乙二醇 (10)、 (\pm) -2,3-*o*-羧基甲基-*D*-丁二醇 (11)、 (\pm) -二-*o*,*o*-对-甲苯甲酰基-*D*-酒石酸 (12)、 (\pm) -3-苯基丁酸 (13)、 (\pm) -1-茛满醇 (14)、 (\pm) -3,5-二硝基-*N*-(1-苯乙基)苯甲酰胺 (15)、 (\pm) -*N*-苄基-1-苯乙胺 (16) 进行了手性拆分。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,是外消旋体在手性柱上的分离因子。从表中可见, $D-(+)$ 葡萄糖对甲基苯甲酸酯、麦芽糖对甲基苯甲酸酯、纤维二糖对甲基苯甲酸酯、棉子糖对甲基苯甲酸酯和乳糖对甲基苯甲酸酯手性分离柱分别分离了 8、6、10、4、5 对外消旋体化合物,它们的手性分离能力次序为纤维二糖对甲基苯甲酸酯 $>D-(+)$ 葡萄糖对甲基苯甲酸酯 $>$ 麦芽糖对甲基苯甲酸酯 $>$ 棉子糖对甲基苯甲酸酯 $>$ 乳糖对甲基苯甲酸酯。

表 1 在 5 根手性柱上的保留因子(k_1)和分离因子(α)Table 1 Retention factors(k_1) and separation factors (α) on five chiral columns

序号 No.	手性化合物 Chiral compounds	葡萄糖 Glucose		麦芽糖 Maltose		纤维二糖 Cellobiose		棉子糖 Raffinose		乳糖 Lactose	
		k_1	α	k_1	α	k_1	α	k_1	α	k_1	α
1		0.28	2.48							0.54	1.43
2		0.23	1.64	1.89	1.43			0.70	1.23	1.98	1.23
3				1.03	2.55			0.24	3.77		
4		0.47	1.62			0.45	1.52				
5				0.70	1.64					0.55	1.42
6		0.36	0.91*			1.10	1.57*				

续表 1 (Continued to Table 1)

序号 No.	手性化合物 Chiral compounds	葡萄糖 Glucose		麦芽糖 Maltose		纤维二糖 Cellobiose		棉子糖 Raffinose		乳糖 Lactose	
		k_1	α	k_1	α	k_1	α	k_1	α	k_1	α
7		0.08	3.81			0.55	3.14				
8						0.46	3.65				
9				0.69	1.21			0.31	1.18		
10		0.39	1.74			0.30	9.10				
11		0.40	3.01			0.47	2.49				
12						0.45	2.63				
13		0.17	2.15								
14				2.19	1.39	1.34	1.26				
15				0.71	1.61	0.44	3.76	0.06	4.35	0.54	1.40
16						0.59	2.15			0.93	2.37

* 流动相 (eluent): V(正己烷(hexane)):V(异丙醇(isopropanol)):V(三氟乙酸(trifluoroacetic acid, TFA)) = 90:10:0.2。

3.2 色谱分离图谱

图 2 是一些外消旋体在这 5 根手性分离柱上的液相色谱分离图谱。它们分别是 (±)-1-苯基-1,2-乙二醇 (1) 在 D-(+) 葡萄糖对甲基苯甲酸酯 (A)、(±) 儿茶酚水合物 (5) 在麦芽糖对甲基苯甲酸酯 (B)、D, L- 甲基苄胺 (4) 在纤维二糖对甲基苯甲酸酯 (C)、(±)-3-苄氧基-1,2-丙二醇 (3) 在棉子糖对甲基苯甲酸酯 (D)、(±)-2-苯基-1-丙醇 (2) 在乳糖对甲基苯甲酸酯 (E) 柱上的手性拆分图谱。从这些图谱可见这些手性柱对外消旋体的分离性能良好。

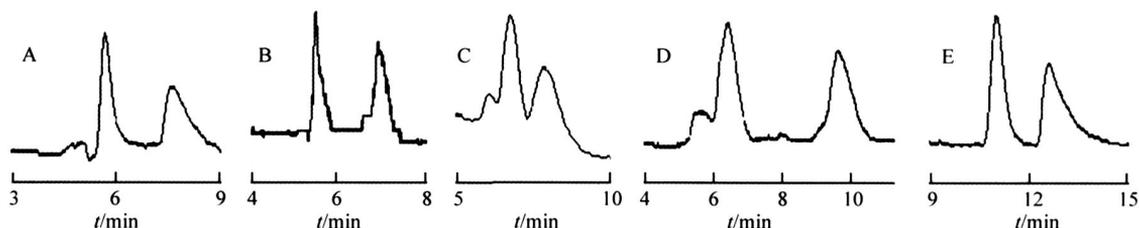


图 2 外消旋体的手性分离色谱图

Fig 2 Enantioseparation chromatograms of racemates

A. (±)-1-苯基-1,2-乙二醇在葡萄糖柱上 ((±)-1-phenyl-1,2-ethanediol on glucose column); B. (±) 水合儿茶酚在麦芽糖柱上 ((±)-catechin hydrate on maltose column); C. D, L- 甲基苄胺在纤维二糖柱上 (D, L- methylbenzylamine on cellobiose column); D. (±)-3-苄氧基-1,2-丙二醇在棉子糖柱上 ((±)-3-benzyloxy-1,2-propanediol on raffinose column); E. (±)-2-苯基-1-丙醇在乳糖柱上 ((±)-2-phenyl-1-propanol on lactose column)。

在每个寡糖分子中,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寡糖本身的手性性能。它们的手性识别机理除了色散、偶极-偶极力、氢键力外,糖与被拆分外消旋体构型的空间适应性可能起了一个主要的作用。这些作用还受到寡糖中单糖的种类、连接类型、连接位置以及寡糖中单糖的个数等的影响。对于其识别机理的进一步认识,正在探讨中。

References

- 1 Tan Xu-Lin(谭徐林), Hou Shi-Cong(侯士聪), Wang Min(王敏). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2007**, 35(6): 845 ~ 849
- 2 Ma Gui-Juan(马桂娟), Gong Bo-Lin(龚波林), Yan Cao(阎超). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2008**, 36(3): 275 ~ 279
- 3 Chang Y X, Ren C X, Ruan Q, Yuan L M. *Chem. Res. Chinese Universities*, **2007**, 23(6): 646 ~ 649
- 4 Tang Qin(唐琴), Chen Xian-Yong(陈先勇), Song Hang(宋航). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2007**, 35(2): 240 ~ 243
- 5 Ai Ping(艾萍), Han Li-Na(韩丽娜), Zi Min(字敏), Meng Lei(孟磊), Zi Fu-Ting(字富庭), Yuan Li-Ming(袁黎明). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2006**, 34(10): 1459 ~ 1462
- 6 Okamoto Y, Yashima E. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1998**, 37: 1020 ~ 1043
- 7 Maier N M, Franco P, Lindner W. *J. Chromatogr. A*, **2001**, 906: 3 ~ 33
- 8 Soini H, Stefansson N, Riekkola M L, Novotny M. *Anal. Chem.*, **1994**, 66: 3477 ~ 3484
- 9 Chankvetadze B, Saito M, Yashima E, Okamoto Y. *Chirality*, **1998**, 10: 134 ~ 139
- 10 Nakamura H, Sano A, Sumii H. *Anal. Sci.*, **1998**, 14: 375 ~ 378
- 11 Sicoli G, Jiang Z, Jicsinsky L, Schurig V. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, 44: 4092 ~ 4095
- 12 Sicoli G, Pertici F, Jiang Z, Jicsinsky L, Schurig V. *Chirality*, **2007**, 19: 391 ~ 400

4-Methylbenzoate of Oligosaccharide Used as Chiral Stationary Phase in High Performance Liquid Chromatography

ZHAO Feng, CHI Shao-Ming, YUAN Li-Ming*

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

Abstract Cyclodextrins, polysaccharides derivatives which consist of glucopyranose units, have been extensively used as chromatographic chiral stationary phases. In this study, we present the enantioseparation for 16 racemates with hexane/isopropanol (90/10, v/v) using 4-methylbenzoate of glucose, maltose, cellobiose, raffinose and lactose as chiral selector bonded to silica gel via an amine in HPLC. Eight enantiomers were separated for glucose column, and six enantiomers for maltose, ten enantiomers for cellobiose, five enantiomers for lactose, four enantiomers for raffinose, respectively. Surprisingly, they also possess high enantioseparation selectivity, and there is a big chiral discriminating complementarity. This work indicates that oligosaccharides derivatives could become very attractive as a new class of chiral stationary phase for HPLC.

Keywords 4-Methylbenzoate of oligosaccharide, stationary phase, high performance liquid chromatography

(Received 8 April 2008; accepted 10 July 2008)