

基于 β -环糊精 / SiO_2 手性固定相的薄层色谱法 拆分 DL-萘普生的研究

王丽丽¹, 何毅², 谢达栋², 王皖², 邓健¹

(1 南华大学 化学化工学院, 湖南 衡阳 421001; 2 南华大学 船山学院, 湖南 衡阳 421001)

摘 要: 用 β -环糊精 (β -CD) 键合硅胶合成了一种新型的 β -环糊精 / SiO_2 手性固定相, 用红外对其进行了结构鉴定。将该手性固定相用于薄层色谱分离萘普生外消旋体, 考察多种溶剂对萘普生外消旋体的展开效果, 结果表明, 乙酸乙酯: 氯仿 (体积比) = 1: 4 为展开剂时, 合成的手性固定相对 DL-萘普生的分离度为 1.45, 具有很好的拆分 DL-萘普生的能力。

关键词: DL-萘普生; β -环糊精; 薄层色谱; 手性拆分

中图分类号: TQ 460.7 文献标识码: A 文章编号: 1671-3206(2011)06-1011-04

Resolution of DL-naproxen using thin layer chromatography with β -cyclodextrin/ SiO_2 as chiral stationary phase

WANG Li-li¹, HE Yi², XIE Da-dong², WANG Wan², DENG Jian¹

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, University of South China Hengyang 421001, China

2 Chuanshan College University of South China Hengyang 421001, China)

Abstract A new kind of β -CD/ SiO_2 chiral stationary phase was synthesized bonded on the silica gel and characterized by IR spectrometry. It was used as chiral stationary phase of thin-layer chromatography to separate racemic naproxen. The separation of DL-naproxen by several different mobile phase was studied and the best volume ratio of ethyl acetate to chloroform was 1: 4. The results showed that it had an excellent separate capability and the separate factor of DL-naproxen was up to 1.45.

Key words DL-naproxen; β -cyclodextrin; thin layer chromatography; chiral separation

β -环糊精 (β -CD) 分子呈锥筒状, 当客体分子尺寸和理化性质与其空腔相匹配时, 可依靠范德华力、疏水作用力等在其疏水空腔中选择性地包含某些客体分子或分子的一部分形成具有不同稳定性的包络物。在色谱过程中对客体分子具有选择性保留作用, 而被用作气、液相及薄层色谱的固定相, 尤以液相色谱的研究最为活跃^[1-4]。自 1983 年 Fujimura 等^[5]首次把环糊精键合到硅胶表面, 有关环糊精固定相的合成、改性及应用逐渐成为研究热点^[69]。

萘普生为 2-芳基丙酸类药物, 有解热、镇痛、消炎抗风湿等功效, 分子内有一手性碳原子, 因此存在一对对映体。临床研究结果表明, S-萘普生的药效为 R-萘普生的 28 倍^[10]。为了减少毒副作用, 萘普生被要求逐渐以纯对映体形式上市, 这对萘普生对映体的拆分提出了更高的要求。检测萘普生的方法

有分子印迹^[11]及高效液相色谱法^[12]。分子印迹法虽然较为简单, 但可使用的功能单体数量和品种有限, 目标分子与分子印迹聚合物 (MIP) 的印迹位点结合较慢, 易引起峰展宽、拖尾而降低分离效率^[13]。高效液相色谱法结果准确, 但仪器昂贵, 操作复杂。薄层色谱 (TLC) 设备简单、操作方便、分析速度快, 且可以同时分离检测多个样品^[14]。

本文利用 β -CD 键合硅胶法合成了一种新型 β -CD 衍生手性固定相 β -CD / SiO_2 , 用作薄层色谱的手性固定相, 用来分离和检测萘普生外消旋体, 并对其拆分效果进行评价。结果表明, 该方法对萘普生外消旋体有较好的拆分效果, 分离度达 1.45^[15-16]。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

3-氨丙基三甲氧基硅烷 (APS), 生化试剂; 薄

收稿日期: 2011-04-20 修改稿日期: 2011-04-29

基金项目: 湖南省大学生研究性学习与创新性实验计划基金项目 (湘教通 [2009]154 号)

作者简介: 王丽丽 (1985-), 女, 吉林长春人, 南华大学在读硕士研究生, 师从邓健教授, 从事药物与食品分析。电话: 15211471958, E-mail: lilil985111@163.com

通讯联系人: 邓健, 男, 教授, 硕士生导师, 从事药物与食品分析、环境分析检测方面的研究。E-mail: dengjian@163.com

层硅胶, 色谱级; β -CD 丁二酸酐、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDC·HCl)、*N*-羟基琥珀酰亚胺 (NHS)、三乙胺 (TEA)、 CaSO_4 、吡啶、甲苯、*N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF)、乙醚、甲醇、丙酮、无水乙醇均为分析纯; 去离子水。

FT R-8400S 傅里叶变换红外光谱仪; 热风干燥箱, DHT 型磁力加热搅拌器等。

1.2 试剂预处理

甲苯使用前经金属钠除水处理, β -CD 经去离子水重结晶 2 次, CaSO_4 使用前需 150 °C 脱水。

1.3 β -CD 衍生手性固定相的制备及表征

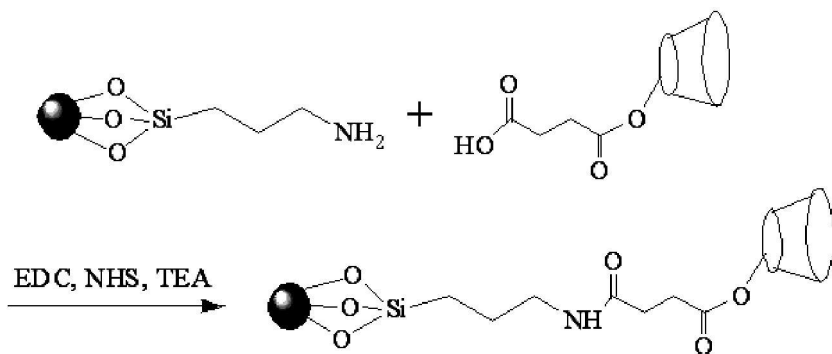
1.3.1 硅胶的活化 称取 10 g 薄层硅胶于大烧杯



1.3.3 β -CD-丁二酸单酯的制备 称取丁二酸酐 1.50 g 于三颈瓶中, 加入 50 mL DMF 溶解, 缓慢加入 5.6 g β -CD, 控制温度为 100 °C, 用滴液漏斗逐滴



1.3.4 β -CD/ SiO_2 手性固定相的制备 取 β -CD-丁二酸单酯 1.3 g 于三颈瓶中, 加入 30 mL DMF, 冰水浴条件下, 加入等当量的 EDC 0.192 g NHS 0.115 g 2 倍当量的三乙胺 0.27 mL。反应活化 1 h



1.4 薄层色谱的制备

称取 CaSO_4 、 β -CD/ SiO_2 手性固定相各 1 g 加适量蒸馏水, 同时加 2 滴乙醇防止起泡, 同向研磨均匀, 均匀涂布于洁净的载玻片上, 使混合物均匀平滑地附在载玻片的表面, 阴干, 110 °C 活化 1 h 备用。

中, 用 50 mL 浓硝酸与 50 mL 去离子水搅拌浸渍 24 h 去除无机杂质。用 400 目砂芯漏斗抽滤, 去离子水洗至中性, 丙酮洗涤 2 次, 以除去有机杂质。在 110 °C 热风干燥过夜以充分去除活化硅胶表面物理吸附的水, 密封置于干燥器中待用。

1.3.2 硅胶的氨基化 取 5 g 活化后的干燥硅胶, 用 75 mL 甲苯分散于 250 mL 圆底烧瓶中, 剧烈搅拌下, 用滴液漏斗逐滴加入 5 mL APS, 搅拌回流 24 h 过滤, 依次用甲苯、乙醚、丙酮、甲醇进行洗涤, 于 80 °C 热风干燥 10 h 得浅黄色氨基化硅胶粉末。制备过程如下:

加入吡啶, 滴毕, 继续恒温搅拌回流 5 h。减压蒸馏, 丙酮进行洗涤, 60 °C 热风干燥过夜, 得 β -CD-丁二酸单酯, 密封置于干燥器中待用。反应过程如下:

后, 转到室温条件反应。加入氨基化硅胶 2.0 g 继续搅拌 24 h, 抽滤, 依次用去离子水, 稀盐酸, 饱和食盐水洗涤 2~3 次, 60 °C 热风干燥过夜, 得到 β -CD/ SiO_2 手性固定相。反应过程如下:

1.5 拆分萘普生

配制 1 mmol/L 的 S-萘普生和 DL-萘普生乙醇溶液, 毛细管点样于自制薄层板上, 室温晾干。取乙酸乙酯 1 mL, 氯仿 4 mL 混匀置于展缸中, 密封蒸汽饱和 30 min 后将薄板置于展缸中进行展开。取出, 用

电吹风吹干展开剂, 置于碘缸中显色。其它展开条件采用相应的操作进行。

2 结果与讨论

2.1 FTIR 分析 (见图 1~图 3)

各样品均以溴化钾为溶剂压片法所得。

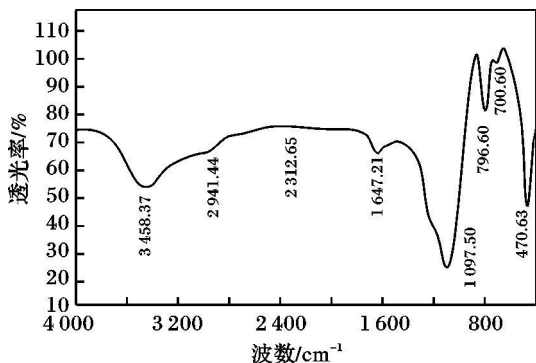


图 1 氨基化硅胶红外谱图

Fig 1 IR of amination silica gel

图 1 中, 3 458 cm^{-1} 处较强的吸收峰为氨基化后氨基的 $\nu_{\text{N-H}}$ 的吸收峰; 2 941 cm^{-1} 处较弱的吸收峰为饱和烷基的 $\nu_{\text{C-H}}$ 吸收; 1 097 cm^{-1} 处强烈的吸收峰为 $\nu_{\text{Si-O}}$ 的吸收。因此, 可以充分说明硅胶的氨基化成功。

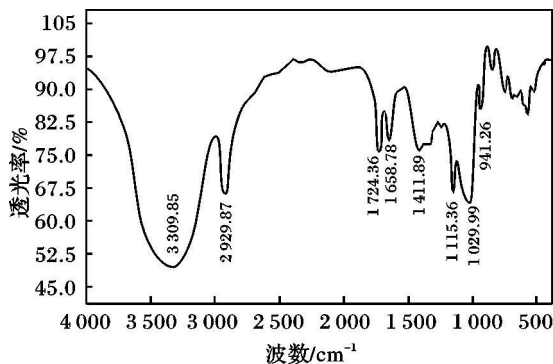


图 2 β -CD 衍生物红外谱图

Fig 2 IR of amination of β -CD

图 2 中, 3 309 cm^{-1} 处强而钝的吸收峰为 β -CD 中羟基的吸收; 2 929 cm^{-1} 处为 β -CD 中烷基的吸收, 1 724 cm^{-1} 处为 $\nu_{\text{C=O}}$ 的特征吸收峰。因此, β -CD-丁二酸单酯的合成成功。

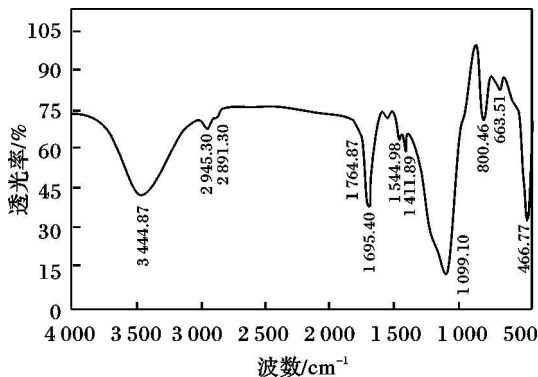


图 3 β -CD 聚合物红外谱图

Fig 3 IR of β -CD polymer

图 3 中, 3 444 cm^{-1} 处为 $\nu_{\text{N-H}}$ 的吸收; 1 764 cm^{-1} 处为 $\nu_{\text{C=O}}$ 的吸收; 1 099 cm^{-1} 处为 $\nu_{\text{Si-O}}$ 的吸收; 以及在图 1~图 3 中出现的 2 941~2 945 cm^{-1} , 796~800 cm^{-1} , 1 441 cm^{-1} 等都标志着目标产物 β -CD 衍生手性固定相合成的成功。因实验过程中各步骤所得产物未能进行严格的分离纯化, 导致最终产物中羰基等特征吸收峰不甚明显, 但整体实验方案正确可行。

2.2 薄层色谱分析

薄层板对 S 萘普生及 DL-萘普生的分离结果见图 4 所示。

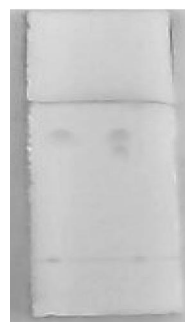


图 4 薄层板分离图谱

Fig 4 Spectrogram of separation by chromatoplate

设 S 萘普生及 R 萘普生的比移值分别为 R_{S} 、 R_{R} , 则 $R_{\text{S}} = 0.785$, $R_{\text{R}} = 0.686$, 分离度为 α , 由下式进行计算:

$$\alpha = \frac{D}{(W_1 + W_2) / 2}$$

式中 D ——两相邻点之间的中心距离;

W_1 、 W_2 ——相邻两斑点的半径^[17]。

分离度 $\alpha = 1.45$

2.3 展开剂及其组成对拆分的影响

为研究展开剂的组成对拆分的影响, 本文选择了 5 种不同类型的展开剂进行展开, 展开后在碘缸里显色, 观察展开剂对萘普生消旋体的分离效果, 以确定最佳展开剂, 结果见表 1。

表 1 萘普生外消旋体在薄层层析中展开剂的选择

Table 1 The spread reagents of DL-naproxen in TLC

编号	展开剂	乙酸乙酯:氯仿 /mL	展开与分离效果
1	甲醇:四氯化碳	1:4	脱板
2	甲醇:环己烷	1:5	斑点未分开, 拖尾
3	甲醇:石油醚	1:8	斑点未分开, 有拖尾
4	乙酸乙酯:四氯化碳	1:5	斑点略分开, 有拖尾
5	乙酸乙酯:氯仿	1:4	分离效果好, 展开均匀

由表 1 可知, 在 5 种类型的展开剂中, 用乙酸乙酯:氯仿 (1:4) 作为展开剂效果最好, 分离出来的萘普生的斑点都是椭圆形, 分层均匀, 分离效果好而且

灵敏度高(见图 4)。

3 结论

以丁二酸酐为链接剂,将功能基 β -CD 链接至氨基功能化硅胶表面,所合成手性固定相 β -CD/SO₂ 用于自制薄层色谱板对 DL-萘普生具有较好的分离效果,主要因为环糊精是一种非常优异的天然手性材料,其疏水空腔刚好适合 1 个萘环的进入^[18],再加上其特定的手性结构,使其能够有效地将萘普生外消旋体进行拆分。但由于进入空腔需要一定的时间,使得在薄层色谱上的分离效果有待进一步改善。但同时这也为高效液相色谱手性分离柱的合成制备提供了新的参考。

参考文献:

- [1] Armstrong D W, Ward T J. Improved cyclodextrin chiral phases: A comparison and review journal of liquid chromatography & related technologies [J]. J Liq 1986(9): 407-423
- [2] Armstrong D W, Stakup A M, Hilton M L, et al. Derivatized cyclodextrins for normal phase liquid chromatographic separation of enantiomers [J]. Chromatogr Chang S C Anal Chem, 1990(62): 1610-1615
- [3] Daniel W Armstrong, Char-dung Chang, Sunhaing lee (R)- and (S)-Naphthylethylcarbamate substituted β -cyclodextrin bonded stationary phases for the reversed-phase liquid chromatographic separation of enantiomers [J]. Journal of Chromatography, 1991(539): 83-90
- [4] Apyll M Stakup, Sar-Chun Cang, Dan i W Armstrong (S)-2-Hydroxypropyl β -cyclodextrin: a new chiral stationary phase for reversed-phase liquid chromatography [J]. J Chromatogr 1990(513): 181-194
- [5] Kazumi Fujimura, Tenuhisa Ueda, Tetsuichi Ando. Retention behavior of some aromatic compounds on chemically bonded cyclodextrin silica stationary phase in liquid chromatography [J]. Anal Chem, 1983(55): 446-450
- [6] Trang N T Phan, Marise Bacquet, Michel Morcellet. The removal of organic pollutants from water using new silica supported β -cyclodextrin derivatives [J]. Reactive &

Functional Polymers 2002(52): 117-125

- [7] 陈胜文, 邴乃慈, 李庆华. 环糊精修饰中孔分子筛 SBA 15 作为手性色谱固定相及其应用 [J]. 分析化学研究简报, 2008(9): 1249-1252
- [8] Lelievre F, Gareil P, Bahaddi Y, et al. Use of a zwitterionic cyclodextrin as a chiral agent for the separation of enantiomers by capillary electrophoresis [J]. Electrophoresis, 1997(18): 891-896
- [9] Stakup A M, Galm K H. Application of sulfated cyclodextrins to chiral separations by capillary zone electrophoresis [J]. Anal Chem, 1996(68): 1360-1368
- [10] Hanson I T, Lewis B, Nelson Petat. Nonsteroidal antiinflammatory agents. I. 6-substituted 2-naphthylacetic acids [J]. J Med Chem, 1970(13): 203-205
- [11] Jun Haginaka, Hamuyo Sanbe. Uniformly sized molecularly imprinted polymer for (S)-naproxen: retention and molecular recognition properties in aqueous mobile phase [J]. Journal of Chromatography A, 2001(913): 141-146
- [12] 宁凤荣, 黄可龙, 刘素琴, 等. 手性流动相 HPLC 法拆分萘普生对映体的研究 [J]. 分析实验室, 2006(6): 1-5
- [13] 李萍, 戎非, 谢一兵, 等. (S)-萘普生分子印迹聚合物结合特性及制备中复合物的性能研究 [J]. 东南大学学报: 自然科学版, 2003(4): 475-478
- [14] Zhou Tonghui. Paper Chromatography and Thin-Layer Chromatography [M]. Beijing: Science Press, 1989: 10
- [15] Myung Ho Hyun, Yoon Jae Cho, Jae Jeong Ryou, et al. Preparation and application of an (S)-naproxen chiral stationary phase [J]. Journal of Chromatography A, 1995(696): 173-183
- [16] Myung Ho Hyun, Myeong Seon Na, Chung Suk M. Improved chiral stationary phase derived from (S)-naproxen for the liquid chromatographic resolution of enantiomers [J]. Journal of Chromatography A, 1996: 209-214
- [17] 于金刚, 黄可龙, 焦飞鹏, 等. 环糊精固载硅胶薄层色谱法拆分盐酸克伦特罗对映体 [J]. 色谱, 2005(1): 431-433
- [18] 刘育, 尤长城. 超分子化学—合成受体的分子识别与组装 [M]. 天津: 南开大学出版社, 2001: 191-194

(上接第 1010 页)

- [4] 侯文艳, 刘宗怀, 张国春. 无机层状化合物的剥离技术及应用研究 [J]. 材料导报, 2007, 21(1): 110-113
- [5] Han Y, Liu Z H, Yang Z, et al. Preparation of Ni²⁺-Fe³⁺ layered double hydroxide material with high crystallinity and well defined hexagonal shapes [J]. Chemistry of Materials 2008, 20(2): 360-363

- [6] 段雪, 张法智. 插层组装与功能材料 [M]. 北京: 化工出版社, 2006: 96-97
- [7] Jobbagy M, Regazzoni A E. Delamination and restacking of hybrid layered double hydroxides assessed by in situ XRD [J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2004, 275: 345-348