

3,5-二硝基苯甲酰化-环糊精键合硅胶手性固定相的合成及高效液相色谱中的手性分离研究

杨少宁¹, 罗爱芹^{*2}, 侯爱军²

(1. 江苏先声药物研究有限公司, 南京 210042; 2. 北京理工大学, 北京 100081)

摘要:合成了 3,5-二硝基苯甲酰化-环糊精键合硅胶手性固定相,并用红外光谱和 X 射线光电子能谱进行了表征。制备了相应的高效液相色谱柱,在高效液相色谱中,考察了该手性柱的柱效和对于一些位置异构体和对映异构体的手性分离能力。结果表明,该固定相对于一些位置异构体和对映异构体具有较好的分离能力。

关键词:3,5-二硝基苯甲酰化-环糊精键合硅胶;高效液相色谱;手性固定相

中图分类号:O657.7⁺2

文献标识码:A

手性药物对映异构体在生物体内的代谢和药理作用存在明显的差异。目前临床使用的药物中,超过 50% 的为手性药物,其中有近 85%~90% 的手性药物仍以外消旋体生产、出售和使用。因此,手性拆分研究在高效、低毒药物创制中起着至关重要的作用^[1]。-环糊精因其特殊的结构和性能而在手性药物的分离中占有比较重要的地位。而用不同的衍生化试剂对-CD 的羟基进行修饰,可以提高键合相与手性分子之间的作用力,扩大应用范围^[2-5]。朱全红等^[6]研究了 3,5-二硝基苯甲酰化-环糊精键合硅胶(10~40 μm)在薄层色谱中的性能。本文用更小粒径的硅胶(5 μm)合成了 3,5-二硝基苯甲酰化-环糊精键合硅胶固定相,并对此固定相在高效液相色谱中的色谱性能进行了评价。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Waters515-717-996 型高效液相色谱仪,包括 515 二元泵,717 自动进样器,996 二极管阵列检测器,Millennium³² 色谱工作站。

多孔微球硅胶(日本富士硅化工有限公司,5 μm,10 nm),-(2,3-环氧丙氧基)丙基三甲氧基硅烷(KH-560)(武大有机硅新材料股份有限公司),-环糊精(广东省郁南县环糊精厂),氢氧化钠(华北地区特种化学试剂开发中心),N,N-二甲基甲酰胺(分析纯,天津化学试剂一厂),3,5-二硝基苯甲酰氯(化学纯,北京防化研究院化工厂),其它试剂均为分析纯。所用水为二次蒸馏水。

1.2 衍生化环糊精键合硅胶固定相的合成

1.2.1 环糊精键合硅胶的合成^[7] 称取经干燥的-CD 5.765 g(5 mmol)溶于 125 mL 无水 DMF 中,加入 0.5 g NaH,室温下搅拌反应至无气泡冒出,过滤,向滤液中加入 KH-560 2.25 mL(10 mmol),在 N₂ 保护下,于 90 °C 反应 4 h 后,加入硅胶 10 g,保持温度在 110~120 °C,反应 24 h。冷却, G4 砂芯漏斗过滤,产物依次用 DMF、甲醇、二次蒸馏水、丙酮浸泡洗涤,于 70 °C 烘箱中干燥 24 h,转入干燥器中冷却,备用。

1.2.2 3,5-二硝基苯甲酰-CD 键合硅胶固定相的合成 称取-CD 键合硅胶固定相 3.0 g 于 100 mL 圆底烧瓶中,加入 75 mL 甲苯,电磁搅拌下加入 3,5-二硝基苯甲酰氯 1.2 g,于 120 °C 反应 5 h。冷却后,抽滤,固体物依次用甲醇、水、甲醇洗涤,70 °C 真空干燥 12 h,得产物 2.92 g。

收稿日期:2007-11-02

修回日期:2008-03-10

* 通讯联系人:罗爱芹,女,副教授,博士生导师,从事色谱与分析研究。

1.3 色谱柱的制备

将键合固定相用匀浆法装入 150 × 3.9 mm i. d. 色谱柱内,匀浆液采用环己醇氯仿混合液。顶替剂 A 采用甲醇与水的混合液,B 采用纯甲醇,装柱压力为 5 000 ~ 6 000 psi。

2 结果与讨论

2.1 3,5-二硝基苯甲酰- β -CD 键合硅胶固定相的表征

2.1.1 红外光谱 3,5-二硝基苯甲酰化-环糊精键合硅胶固定相的红外谱图分析:IR(A, cm^{-1}): 1 095.51、1 079.52(Si—O—Si),衍生化的-CD 固定相与未衍生化的-CD 键合相相比,羟基的伸缩振动峰(—OH)3 618.39 明显减弱,2 946.69(苯环碳氢伸缩振动),1 739.22(—C=O 伸缩振动),1 643.26、1 465.34(苯环的骨架振动),1 551.31,1 349.30(硝基的伸缩振动峰),苯环的面外弯曲振动 920、801.64、723.67 的吸收峰显示出苯环是三取代的类型。

2.1.2 X射线光电子能谱 硅胶中没有碳元素,存在的碳原子图谱是作为参照的“污染碳”,它的结合能是 C—H 键的结合能;而键合硅胶中碳元素的图谱中碳元素的结合能包括 C—H、C—C、C—N、C—O、O—C—O 五种,五种键的结合能混合在一起形成碳原子的图谱,它的峰的形状与硅胶中碳元素的峰的形状明显不同。这说明键合硅胶与硅胶相比,碳元素的结合能已经发生了显著的变化。X 射线光电子能谱给出化合物中的各原子相对含量,硅胶中各原子含量(%):C,32.77;Si,21.28;O,44.16;键合硅胶中各原子含量(%):C,40.85;Si,20.25;O,38.89。从理论上分析,3,5-二硝基苯甲酰化- β -CD 键合硅胶与硅胶相比:碳元素含量应上升,硅元素含量应下降,而环糊精中氧含量比硅胶中氧含量低,所以键合硅胶中氧元素含量应比硅胶中氧含量低,实验中所测结果与理论分析结果相一致。

2.2 3,5-二硝基苯甲酰- β -CD 键合硅胶固定相的色谱性能测试

2.2.1 柱效评价 选择尿嘧啶、苯酚、甲苯、N,N-二甲基苯胺为柱效测定试剂,用甲醇-水混合液($V_{\text{甲醇}}/V_{\text{水}} = 50/50$)为流动相,对该手性柱性能进行测试。柱性能见表 1。

表 1 柱性能测试参数

Table 1 Parameters of column performance testing

Sample	Retention time (min)	Theoretical plate number (N)	Resolution	Tailing factor
Uracil	1.511	14 943		1.66
Phenol	1.783	5 413	0.90	1.06
N,N-dimethylaniline	3.021	12 632	2.38	0.40
Toluene	4.488	10 410	2.29	0.76

2.2.2 对位置异构体的选择性 用手性柱对 6 种位置异构体进行了分离,见图 1、2、3。

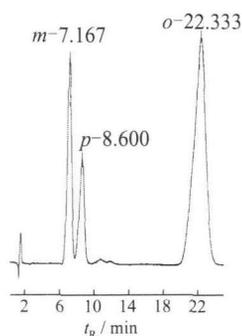


图 1 硝基氯苯的分离

Fig. 1 Separation of nitro-chlorobenzene
Mobile phase: $V(\text{CH}_3\text{OH})$
 $V(\text{H}_2\text{O}) = 30/70$.

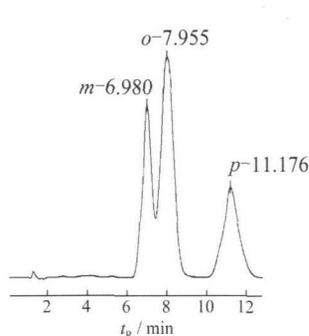


图 2 二氯苯的分离

Fig. 2 Separation of dichlorobenzene
Mobile phase: $V(\text{CH}_3\text{OH})$
 $V(\text{H}_2\text{O}) = 50/50$.

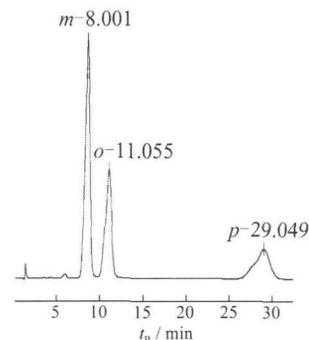


图 3 硝基苯胺的分离

Fig. 3 Separation of nitroaniline
Mobile phase: $V(\text{CH}_3\text{OH})$
 $V(\text{H}_2\text{O}) = 20/80$.

2.2.3 对映体的分离 用手性柱分离了奈哌地尔、扑尔敏和布洛芬3种对映体,如图4、5、6所示。

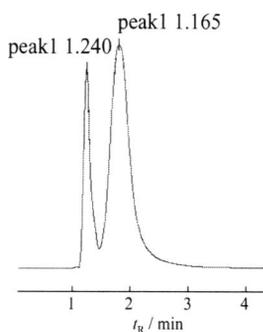


图4 奈哌地尔的分离
Fig.4 Separation of Naproxen

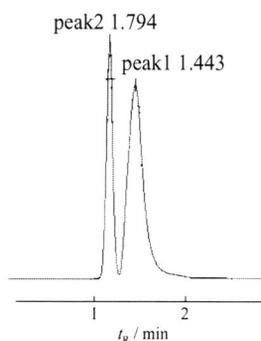


图5 扑尔敏的分离
Fig.5 Separation of Chlorpheniramine

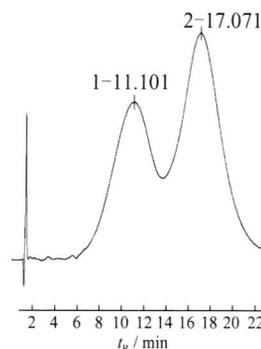


图6 布洛芬的分离
Fig.6 Separation of Ibuprofen

参考文献:

- [1] ZHOU Ai-ling(周爱玲), WANG Xi-ling(王秀玲), HUANG Jun-min(黄君珉), WANG Xin-sheng(王新省), GAO Ru-yu(高如瑜). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报) [J], 2003, 24(9):161.
- [2] Li S, Purdy W C. J. Chromatogr. [J], 1992, 625:109.
- [3] Armstrong D W, Li W Y, Chang C D. Anal. Chem. [J], 1990, 62:914.
- [4] BAI Zheng-wu(柏正武), WU Xiao-cong(吴小聪), CHENG Zhi-bin(程志斌). Journal of Analytical Science(分析科学学报) [J], 2004, 20(4):379.
- [5] HUANG Jiao(黄姣), CHEN Xiao-ming(陈小明), LUO He-an(罗和安), LUO Wei-ning(罗伟宁). Journal of Analytical Science(分析科学学报) [J], 2005, 21(6):646.
- [6] ZHU Quan-hong(朱全红), DENG Qin-ying(邓芹英), ZENG Long-mei(曾陇梅). Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni(中山大学学报) [J], 2000, 39(4):61.
- [7] GONG Yin-han(龚银汉), WANG Zhong-hua(王忠华), DONG Ya-qiong(董亚琼), FENG Yu-qi(冯钰琦), DA Shi-lu(达世禄). Journal of Instrumental Analysis(分析测试学报) [J], 1998, 17(5):5.

Preparation and Chromatographic Performance of 3,5-Dinitrobenzoyl- β -Cyclodextrin Bonded Silica Stationary Phase for High Performance Liquid Chromatography

YANG Shao-ning¹, LUO Ai-qin^{*2}, HOU Ai-jun²

(1. Jiangsu Simcere Pharmaceutical Research Company LTD, Nanjing 210042;

2. China Beijing Institute of Technology, Beijing 100081)

Abstract: 3,5-Dinitrobenzoyl-substituted β -cyclodextrin bonded stationary phase was synthesised. The product was characterized by IR and XPS. The chromatographic performance of the silica stationary in separation of several isomers were investigated.

Keywords: 3,5-Dinitrobenzoyl-substituted β -cyclodextrin bonded silica; High performance liquid chromatography; Chiral stationary phase