

分子间缩聚制备纤维素手性固定相及手性拆分性能

刘芹^{1,2}, 王利涛¹, 董树清¹, 张志欣^{1,2}, 赵亮^{1*}

(1.中国科学院兰州化学物理研究所, 中国科学院西北特色植物资源化学重点实验室/甘肃省天然药物重点实验室

2.中国科学院研究生院)

摘要: 合成了3-(三乙氧基硅)丙基基团的纤维素-二(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)衍生物, 通过三乙氧基硅基团的分子间缩聚将纤维素衍生物高效的固定到硅胶基质上, 制备了新型纤维素-二(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)手性固定相。在高效液相色谱上对甲霜灵对映体进行了拆分, 并考察了四氢呋喃、三氯甲烷对拆分的影响。结果表明, 该手性固定相对甲霜灵对映体具有较好的手性拆分能力, 并且允许使用含有氯仿和四氢呋喃的流动相。

关键词: 纤维素手性固定相; 分子间缩聚; 高效液相色谱; 甲霜灵

Abstract: The 3,5-dimethylphenylcarbamates of cellulose bearing 3-(triethoxysilyl) propyl residues were synthesized, which efficiently immobilized onto silica gel support by intermolecular polycondensation of the triethoxysilyl groups, then the immobilized cellulose-bis(3,5-dimethylphenylcarbamates) chiral packing materials (CPMs) were obtained. The obtained chiral packing materials were evaluated by high-performance liquid chromatography and used for the separation of metalaxyl racemates. The results show that the CPMs could use the eluents containing chloroform and tetrahydrofuran with a better chiral resolution ability for metalaxyl.

Keywords: Cellulose chiral packing materials, Intermolecular polycondensation, HPLC, Metalaxyl

1 引言

手性化合物的拆分是分析化学和药理学等领域的研究重点和热点之一^[1]。基于纤维素苯基氨基甲酸酯和苯甲酸酯衍生物的手性选择剂被广泛应用于对映体的拆分^[2-4]。将纤维素衍生物涂敷到硅胶基质上得到的手性固定相具有很高的手性分离能力, 并且已经实现商业化^[5,6]。但是该类固定相存在的一个主要缺陷是: 在使用四氢呋喃、三氯甲烷和丙酮等一些有机溶剂作为流动相时, 纤维素衍生物会发生溶胀和溶解, 从而限制了该类手性柱的使用。为扩大流动相的使用范围, 通常以纤维素多糖衍生物共价键合到硅胶上制备了键合型手性固定相^[7]。但是该类手性固定相中纤维素衍生物的键合量受到限制, 从而影响了柱子的手性拆分效果。由于上述局限性, 促使研究焦点转向到如何制备新型手性固定相, 以进一步扩展流动相的使用范围上。像氯仿, 四氢呋喃 (THF), 丙酮, 乙酸乙酯, 甲苯等极性溶剂作为流动相时, 可以使样品的溶解度更高^[8], 产生更好的分离效果^[9], 改变对映体的洗脱顺序^[10], 这对高效液相色谱的对映体高效分离是非常重要的。

本文利用区域选择法制备了 6-位带有少量 3-(三乙氧基硅)丙基基团的纤维素衍生物, 然后利用分子间缩聚将纤维素衍生物高效的固定到硅胶基质上制备了新型纤维素手性固定相, 提高了纤维素手性选择剂的键合量, 考察了该手性固定相对甲霜灵的拆分能力。

2 实验部分

2.1 试剂

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20675085); 科技支甘项目 (2008-2010); 科技支新项目 (2011-2013); 兰州市科技专项计划项目 (2010-1-156)

球形硅胶系本实验室合成(粒径 5-6 μm , 比表面积 120 m^2/g , 平均孔径 10 nm) (中科院兰州化学物理研究所); 微晶纤维素(中国医药集团上海发展有限公司); 3,5-二甲基苯基异氰酸酯(ACROS); 甲霜灵外消旋体(浙江禾木化学试剂公司), 其它均为分析纯试剂。

2.2 仪器和色谱条件

液相色谱系统由 515 HPLC 泵、2487 型紫外-可见波长检测器(美国 Waters 公司) 和 SEPU3000 色谱数据处理器(杭州普惠科学仪器有限公司)组成。色谱柱为 150 $\text{mm}\times 4.6\text{mm}$ i.d.; 紫外检测波长: 230 nm 。流速为 1.0 mL/min 。

2.3 新型纤维素手性柱的制备

2.3.1 纤维素-6-位衍生物的制备

将干燥微晶纤维素在吡啶中回流 24h, 加入适量的三苯基氯化碳, 回流 24h, 然后再加入过量的 3,5-二甲基苯基异氰酸酯, 继续回流 24h, 冷却。将反应液倒入无水甲醇中搅拌, 静置, 过滤, 洗涤, 真空干燥至恒重。

取适量上述干燥产物溶解于 N,N'-二甲基乙酰胺, 无水氯化锂和干燥吡啶的混合液中, 加入适量的 3-(三乙氧基硅基)丙基异氰酸酯, 回流反应 16h。然后用大量的无水甲醇洗涤产物, 过滤, 真空干燥。其反应过程见图 1。

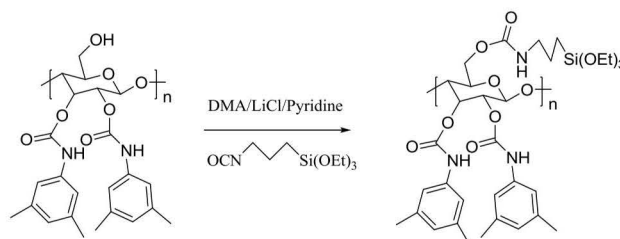


图 1 带有 3-(三乙氧基硅基)的纤维素衍生物的制备

Fig.1 Preparation of cellulose bearing 3-(triethoxysilyl) propyl residues

2.3.2 手性固定相的制备

根据文献的方法将纤维素衍生物涂敷到硅胶上^[5,6]。将涂敷硅胶(6.5g)置于乙醇(60ml), 水(15ml)和三甲基氯化硅(1ml)的混合液中, 110 $^{\circ}\text{C}$ 油浴加热 12h, 使硅胶表层的三乙氧基硅基团通过缩聚反应交联在一起。反应完成后, 固定相用四氢呋喃洗涤干净, 真空干燥, 得到纤维素-二(3, 5-二甲基苯基氨基甲酸酯)手性固定相。

3 结果与讨论

3.1 手性固定相的表征

制备的纤维素手性固定相采用 FT-IR 光谱进行了表征。在 1725 cm^{-1} 附近出现属于羰基基团的峰, 1620 cm^{-1} 附近出现属于苯基基团的峰, 说明纤维素衍生物成功的固定到了硅胶表面。

新型纤维素手性固定相还进行了元素分析和热重分析表征, 元素分析结果为: N 0.60%, C 6.88%, H 1.09%。根据热重分析结果, 计算出新型 CSP 的固定效率(固定纤维素衍生物/涂覆纤维素衍生物)约为 85%。因此, 在少量 3-(三乙氧基硅基)基团存在下, 纤维素衍生物可以高效的固定到硅胶基质上。

3.2 纤维素手性固定相的色谱评价

以甲霜灵作为测试对映体, 考察了新型纤维素手性柱的手性识别能力, 并与传统方法制备的涂敷型手性固定相进行了比较, 同时还考察了四氢呋喃, 三氯甲烷对分离过程的影响。

3.2.1 甲霜灵对映体在两种固定相上的拆分比较

以正己烷: 乙醇(80:20, v/v)为流动相, 在制备的新型纤维素手性柱和涂敷型手性柱上对甲霜灵进行了拆分(图 2)。由图可见, 在新型纤维素手性柱上, 对映体分别在保留时间 $t_1=9.56\text{min}$ 和 $t_2=13.67\text{min}$ 时被洗脱, 并完全分离, 分离度达到 4.356。在涂覆型纤维素手性柱上的色谱分离图, 甲

霜灵对映体分别在保留时间 $t_1=4.74\text{min}$ 和 $t_2=14.26\text{min}$ 时被洗脱, 并完全分离, 分离度为 4.749。结果表明, 新型纤维素手性柱与涂敷型纤维素手性柱具有相当的手性分离能力, 并且新型纤维素手性固定相具有更好的峰型。

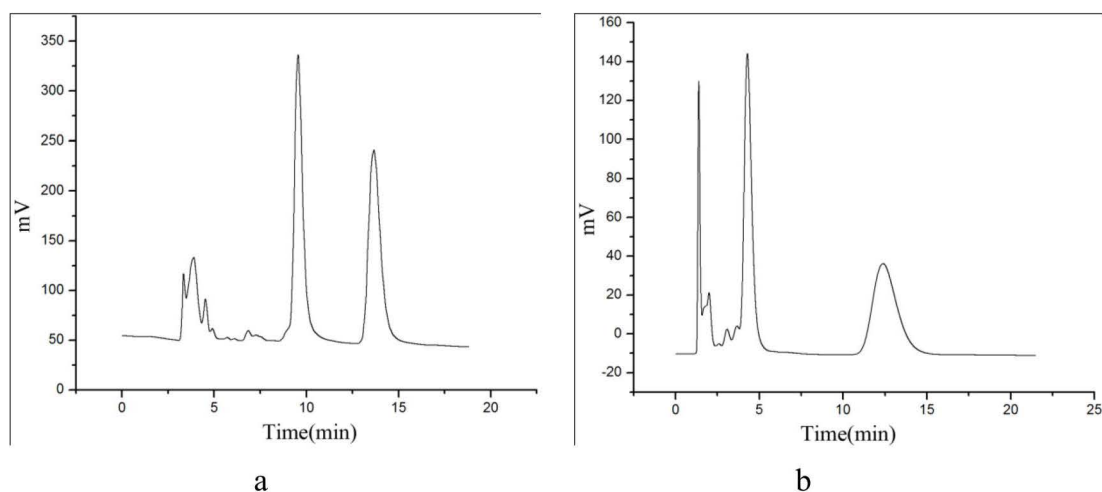


图 2 甲霜灵在新型(a)和涂敷型(b)纤维素手性柱上的色谱分离图

色谱条件为: 流动相: 正己烷/异丙醇 (80:20, v/v), UV: 230nm 流速: 1.0mL/min。

Fig.2 Chromatograms for the separation of metalaxyl enantiomers on new cellulose chiral stationary phases (a) and coated cellulose chiral stationary phases (b)

3.2.2 四氢呋喃、三氯甲烷对分离的影响

实验中通过考察四氢呋喃和三氯甲烷的加入对分离的影响发现, 当流动相为正己烷/异丙醇/四氢呋喃 (80/10/10, v/v/v) 时, 甲霜灵对映体在新型纤维素手性柱上的容量因子为 1.83, 分离度为 2.03。当利用三氯甲烷替代四氢呋喃时, 其容量因子为 1.57, 分离度为 1.58。由此可见, 在利用三氯甲烷和四氢呋喃作为流动相的添加剂均能实现甲霜灵对映体的分离, 其中四氢呋喃作为添加剂时对甲霜灵的手性分离效果更好。

4 结论

采用区域选择法制备了 6-位带有少量 (三乙氧基硅) 基团的纤维素衍生物, 并通过 3- (三乙氧基硅) 基团的分子间缩聚将纤维素衍生物高效地固定到硅胶上, 成功制备了新型的纤维素手性固定相。以甲霜灵作为测试对映体, 与传统的涂敷型纤维素固定相具有相当的手性分离能力, 并且允许使用四氢呋喃和三氯甲烷的流动相, 这在手性分离工业化应用方面具有广阔的前景。

参考文献

- [1] Maier N M, Franco P, Lindner W, J. Chromatogr. A, 2001, 906: 3-33
- [2] G. Subramanian (Ed.), Wiley-VCH, Weinheim, 2006.
- [3] C. Yamamoto, Y. Okamoto, Bull. Chem. Soc. Jpn. 77 (2004) 227.
- [4] E. Francotte, J. Chromatogr. A 906 (2001) 379.
- [5] Y. Okamoto, Y. Kaida, J. Chromatogr. A, 1994. 666. 403
- [6] B. Chankvetadze, E. Yashima, Y. Okamoto, J. Chromatogr. A., 2001, 922: 127
- [7] X. Chen, Y. Liu, F. Qin, L. Kong, H. Zou, J. Chromatogr. A 1010 (2003) 185.
- [8] T. Zhang, M. Schaeffer, P. Franco, J. Chromatogr. A 1083 (2005) 96.
- [9] T. Zhang, D. Nguyen, P. Franco, T. Murakami, A. Ohnishi, H. Kurosawa, Anal. Chim. Acta 557 (2006) 221.
- [10] A. Ghanem, J. Chromatogr. A 1132 (2006) 329.