

四种吲哚类衍生物在纤维素 手性固定相上的拆分

李秀娟^{1,2}, 赵亮^{1*}, 张红丽¹, 李永民¹, 邵士俊¹

(1. 中国科学院兰州化学物理研究所, 兰州 730000) (2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要: 将纤维素-三(3, 5-二甲基苯基氨基甲酸酯)(CDMPC)涂敷于自制的球形氯丙基硅胶上, 制备了手性固定相。正相条件下, 在该固定相上系统地选用了多种流动相体系对四种外消旋吲哚类衍生物拆分的流动相条件进行了优化, 筛选出了适合各物质拆分的流动相体系。

关键词: 吲哚类衍生物, 纤维素-三(3, 5-二甲基苯基氨基甲酸酯)

吲哚类衍生物是一种广泛应用的有机中间体, 它有一个手性中心, 具有一对对映体。关于对映体过量值(e. e.)的测定, 张亨洲等^[1]人曾用核磁共振法在有机相中测定了乙酸- α -氰基-3-苯氧基苄酯的对映体过量值, 但该方法与高效液相色谱相比操作较为繁琐。在高效液相色谱条件下, 韩小茜等^[2,3]在直链淀粉-三(苯基氨基甲酸酯)(ATPC)上测定了手性四面体金属簇合物对映体过量值, 得到了满意的效果。

本文在自制的纤维素-三(3, 5-二甲基苯基氨基甲酸酯)(CDMPC)手性固定相上拆分了新合成的四种吲哚类衍生物的外消旋体, 并利用色谱峰面积对它们的对映体过量值进行了测定。结果表明, 采用高效液相色谱法在 CDMPC 固定相上测定吲哚类衍生物的对映体过量值是一种非常理想的方法。目前, 国内外尚未有关于此类化合物在 CDMPC-CSP 上分离的报道。

1 实验部分

1.1 仪器

液相色谱系统为 Waters 515 HPLC 色谱泵(Waters, USA); 2487 型紫外可见波长检测器 (Waters, USA); SEPU3000 色谱数据处理器(杭州); 色谱柱是在 3.7×10^7 Pa 的压力下采用匀浆法填充而成的纤维素-三(3, 5-二甲基苯基氨基甲酸酯)手性柱, 规格是 250mm \times 4.6mm i. d.; 柱温: 室温; 紫外检测器检测波长: 230nm; 流动相流速: 1mL/min。

1.2 试剂

四种吲哚类衍生物样品由本所羰基合成与选择氧化国家重点实验室合成, 其结构式如图 1 所示。其余试剂均为分析纯, 购自天津化学试剂有限公司。

1.3 色谱计算

色谱柱死时间(t_0)由 1, 3, 5-三叔丁基苯测定; 容量因子(k')按 $k_1' = (t_1 - t_0)/t_0$, $k_2' = (t_2 - t_0)/t_0$ 计算; 分离因子 $\alpha = k_2' / k_1'$; 分离度 $R = 1.18(t_1 - t_0) / (w_{(1/2)1} + w_{(1/2)2})$, $w_{(1/2)1}$ 和 $w_{(1/2)2}$ 分别为第一个洗脱峰和第二个洗脱峰之半高峰宽。对映体过量值的计算按下式:

$$e.e. = \frac{|(R) - (S)|}{|(R) + (S)|} \times 100\%$$

基金项目: 国家自然科学基金和“西部之光”基金资助项目。

作者简介: 李秀娟(1981-), 女, 硕士生, 从事高效液相色谱分离手性物质的研究, E-mail: zhaol@ns.lzb.ac.cn

其中, (R), (S) 分别是 R-, S-对映体的峰面积。

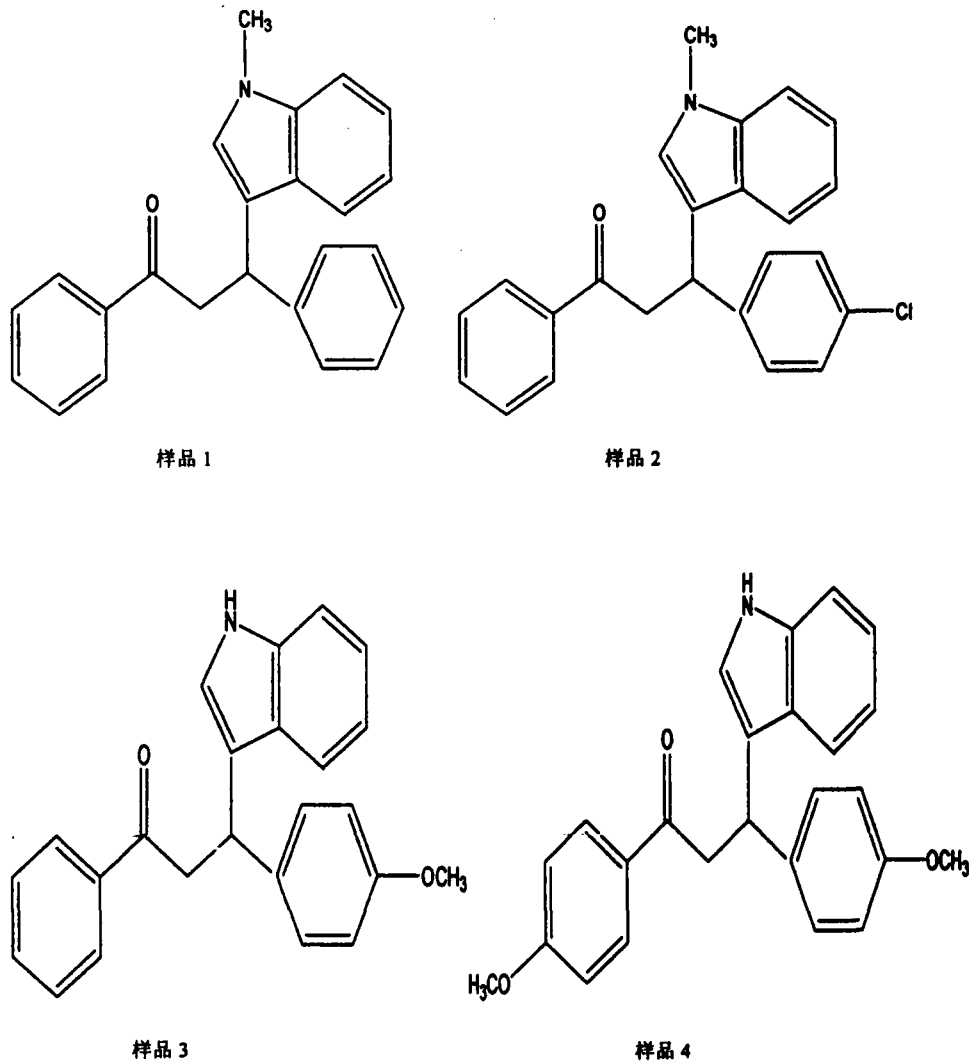


图 1 四种吲哚类衍生物的结构式

2 结果和讨论

2.1 四种吲哚类衍生物的分选-醇类改性剂的优选

实验中选用了五种常见的脂肪醇作为流动相改性剂, 在流动相正己烷/醇=80/20 的体系中对上述四种新合成的手性吲哚类衍生物在 CDMPC 固定相上的色谱分离行为进行了考察, 实验结果见表 1。

从表 1 可以看出, 当用乙醇作为流动相改性剂时, 1、3、4 号样品都获得了很好的分离, 有较小的保留和较大的分离度 R_s 。

从乙醇经正丙醇到正丁醇, 随着醇类改性剂碳链的变长, 四种吲哚类衍生物在固定相上的保留都逐渐变大, 1、2、3 号分离因子 α 和分离度 R_s 也是增大的, 而 4 号的分离因子 α 先增大再减小, 分离度 R_s 的变化则是一直减小。

从异丙醇到异丁醇, 1 号的分离因子 α 不变, 分离度 R_s 由大变小; 2 号物质的分离度 R_s 由小变大; 3 号在异丁醇体系中无明显分离; 4 号在异丁醇体系中 65min 内无分离现象出现。

由此可以看出, 相同浓度下不同结构的醇类改性剂对吲哚类衍生物有不同的选择分离效果; 不同结构的吲哚类衍生物在相同的醇类改性剂体系中分离效果也明显不同。

表1 不同醇类改性剂对四种吡啶类衍生物分离的影响

Sample (样品)	Alcoholic modifier (醇类改性剂)	k_1' (容量因子1)	k_2' (容量因子2)	α (分离因子)	R_s (分离度)
1	Ethanol (乙醇)	2.60	3.17	1.22	1.43
	Propanol (正丙醇)	3.07	3.97	1.29	1.69
	Isopropanol (异丙醇)	4.23	5.41	1.28	1.68
	Butanol (正丁醇)	3.74	5.54	1.48	2.43
	Isobutanol (异丁醇)	4.07	5.21	1.28	1.40
2	Ethanol (乙醇)	3.19	3.54	1.11	0.66
	Propanol (正丙醇)	3.97	4.82	1.21	1.36
	Isopropanol (异丙醇)	4.18	4.83	1.16	0.67
	Butanol (正丁醇)	4.36	6.29	1.44	2.44
	Isobutanol (异丁醇)	5.17	6.33	1.22	1.16
3	Ethanol (乙醇)	7.30	10.79	1.48	3.01
	Propanol (正丙醇)	10.15	15.98	1.57	3.44
	Isopropanol (异丙醇)	15.04	24.49	1.63	3.14
	Butanol (正丁醇)			无明显分离现象	
	Isobutanol (异丁醇)			无明显分离现象	
4	Ethanol (乙醇)	9.08	13.76	1.52	3.42
	Propanol (正丙醇)	12.97	21.56	1.66	3.40
	Isopropanol (异丙醇)	17.89	32.23	1.80	3.68
	Butanol (正丁醇)	17.86	23.08	1.29	1.53
	Isobutanol (异丁醇)			无明显分离现象	

对于上述现象的可能解释为：手性固定相中的氨基甲酸酯基与被分离物和醇改性剂都有可能形成氢键，即被分离物和流动相中的醇之间存在着竞争作用，不同的醇与固定相之间的氢键作用不同。当采用极性较大立体位阻较小的醇（如乙醇）作为改性剂时，醇与固定相之间的氢键作用增强，对映体与固定相之间的氢键作用减弱，从而使得被分离物的保留降低。而醇的结构对于对映体选择性的影响更为复杂。流动相中的醇不仅会与分离物竞争固定相上的吸附位，而且还会影响固定相中手性空穴的立体环境。不同结构的醇对于手性环境的影响不同，因而采用不同的醇作改性剂时对映体的选择性也不相同^[5]。对映异构体的手性拆分就是通过它们对手性环境所具有的不同适应性来实现的。

1号在正丁醇体系中具有最大分离度 R_s 但峰高很小，峰形不好；在乙醇体系中出峰最快，在正丙醇体系中分离度较大且峰形较好，故在正己烷/乙醇/正丙醇体系中进行1号样品的优化分离考察。

2号样品的分离因子 α 和分离度 R_s 在正丁醇体系中达到最大，且基线和峰形较好；当用乙醇作为流动相改性剂时，3号和4号不仅出峰快，且均能获得很好的分离。因此分别将正丁醇、乙醇、乙醇选为对2、3、4号样品进行优化分离的醇类改性剂。

2.2 四种吡啶类衍生物的分-醇类改性剂含量的优化

对于1号样品，我们在正己烷/乙醇/正丙醇体系中考察了其分离情况，实验结果见表2。

实验中发现，在90/5/5的体系中，1号样品虽有较大分离度，但基线严重下降；在70/15/15的体系中虽然出峰很快，但第一峰与它前面的杂峰重叠较严重；而80/10/10的体系出峰时间适中，分离度 R_s 较大且峰形较好。因此，将其选为1号分离的优化流动相体系。1号样品在这一体系中的

分离见图3中的Sample 1。

表2 1号样品流动相的优化

Hexane/ethanol/propanol (正己烷/乙醇/正丙醇)	k_1' (容量因子1)	k_2' (容量因子2)	α (分离因子)	R_s (分离度)
70/15/15	2.22	2.89	1.30	1.58
80/20/0	2.60	3.17	1.22	1.43
80/10/10	2.89	3.69	1.28	1.63
90/5/5	3.51	4.07	1.16	1.39
80/0/20	3.07	3.97	1.29	1.69

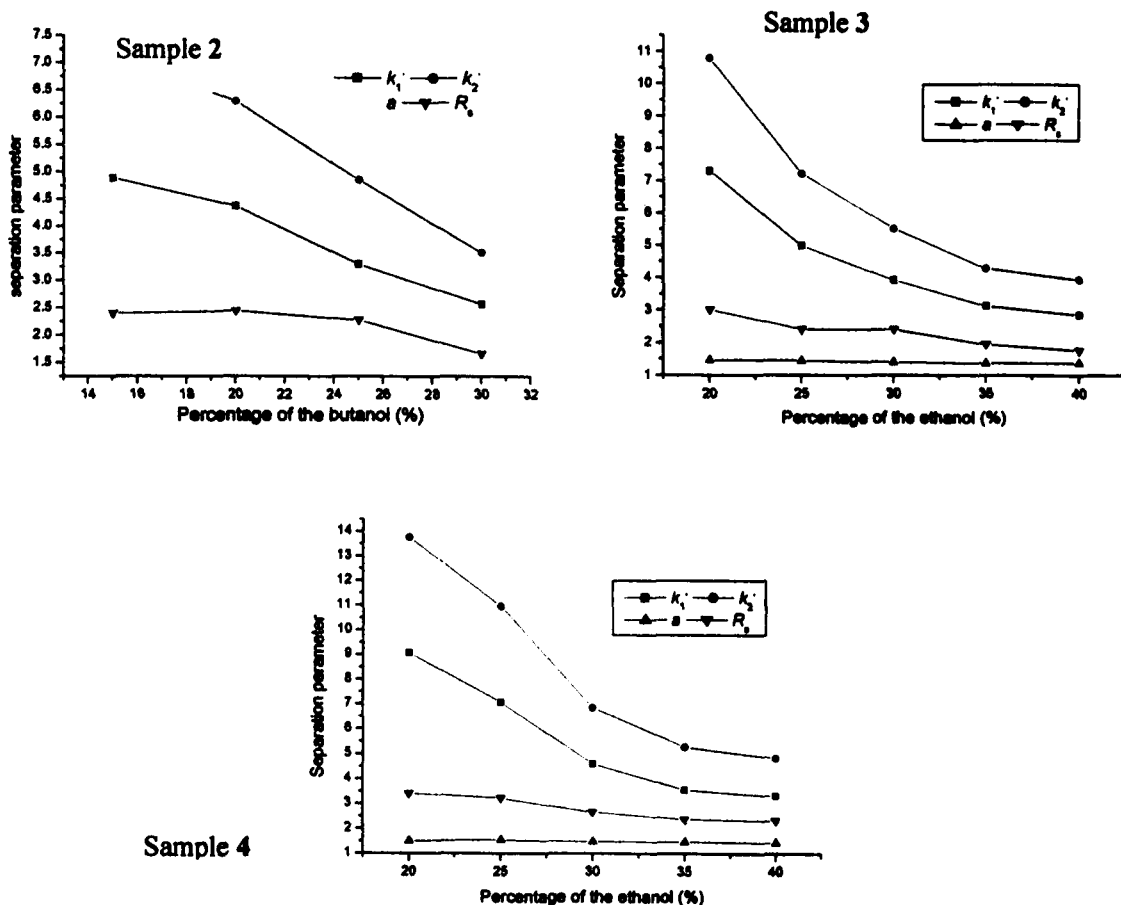


图2 流动相中醇类改性剂的含量对2号、3号和4号样品分离的影响

图2为2、3、4号样品分别在正己烷/正丁醇、正己烷/乙醇、正己烷/乙醇体系中的优化分离过程。观察图4-2中各图可以发现，随着流动相体系中各醇类改性剂浓度的降低，各样品的保留均增大，但分离因子 α 的变化均不明显。分离度 R_s 随着醇浓度的减小整体上呈现增加的趋势，但过低的浓度则会使峰变宽，有时则严重拖尾，造成分离度 R_s 的降低。

为了对2号样品流动相中正丁醇的含量进行优化，考察了正丁醇含量为10%，15%，20%，25%，30%的几种情况。实验中发现，在正丁醇含量为10%的流动相中2号样品在24分钟内未出第二峰，且基线严重下降，峰形明显拖尾变差，其分离度 R_s 计算困难。

从图2还可以看出，正丁醇体积分数在15%-30%之间变化时，2号样品均能达到较好的基线分离：对映体的容量因子 k_1' 、 k_2' 分别由4.88、7.12减小到2.56、3.50；分离度 R_s 由2.40先增加到2.44，再逐渐降低到1.66；分离因子 α 则呈现变化不大的波状起伏。但从分离时间、分离度 R_s 、色谱峰

的对称性等方面综合考虑, 选用正丁醇含量为 20% 的流动相体系需要的时间较少, 而且分离度最大, 为分离 2 号样品的理想体系。2 号样品在 CDMPC 手性柱上的拆分谱图见图 3 中的 Sample 2。

对于 3 号和 4 号样品, 流动相中乙醇含量从 20% 增大到 40% 时, 其容量因子 k_1' 、 k_2' 逐渐减小, 分离因子 α 的变化不十分明显。对于 3 号样品来说, 分离度 R_s 呈减小-增大-减小的变化趋势, 而 4 号样品分离度 R_s 的变化则是先增大再减小。综合考虑洗脱时间、分离因子 α 、分离度 R_s 以及峰形, 3 号样品的最佳流动相应选为乙醇含量 20% 的体系, 因为在其它几种体系中虽出峰时间比较短, 分离度 R_s 也较好, 但基线向下漂移严重。而 4 号样品在各体系中都能达到很好基线分离, 分离度 $R_s \geq 2.32$, 基线也没有漂移的现象。从出峰时间考虑, 含乙醇 40% 的体系, 可以在 16 分钟内将两峰完全洗脱, 作为分析体系是最佳的。而含乙醇 20% 的体系分离度 R_s 高达 3.42, 用于半制备分离时可考虑选用这一流动相体系。

3、4 号在乙醇含量为 20%、40% 体系中的色谱分离图见图 3 中的 Sample 3、Sample 4。

2.3 吲哚类衍生物在固定相 CDMPC 上的分离谱图

图 3 为在 CDMPC 固定相上, 四种吲哚类衍生物在各自优化流动相体系中的分离谱图。

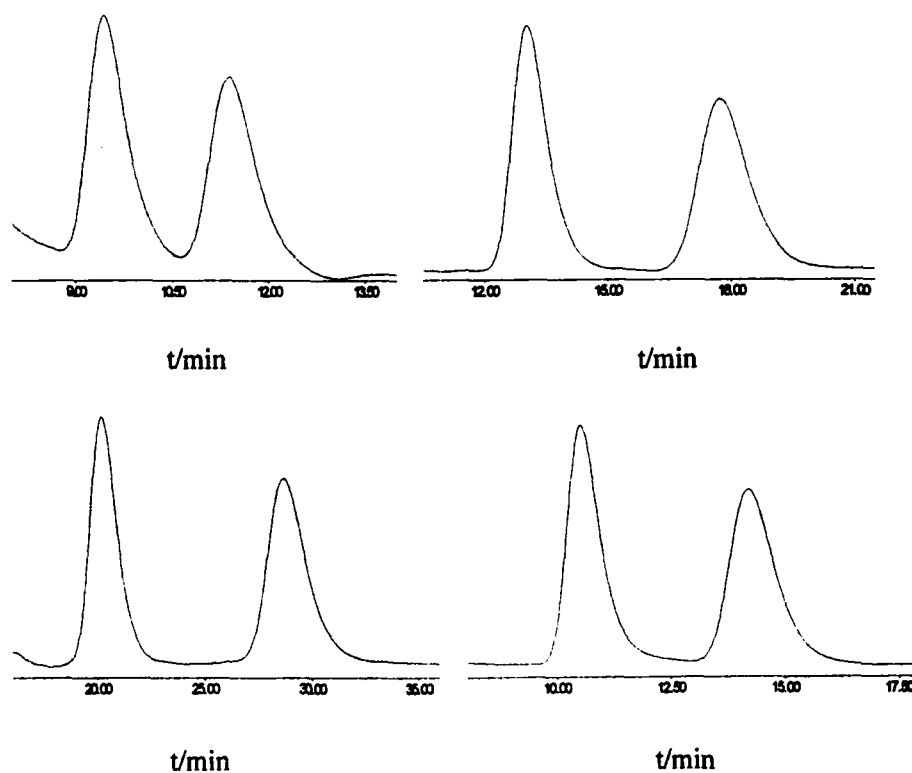


图 3 四种吲哚类衍生物的拆分谱图

样品 1: 正己烷/乙醇/正丙醇=80/10/10(v/v/v)

样品 3: 正己烷/乙醇=80/20(v/v)

样品 2: 正己烷/正丁醇=80/20(v/v)

样品 4: 正己烷/乙醇=60/40(v/v)

2.4 吲哚衍生物的结构对其拆分的影响

当外消旋吲哚类衍生物分子进入到纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)衍生物大分子手性螺旋沟槽时, 会通过相互作用形成动态的固定相-被分析物包结配合物; 由于外消旋吲哚类衍生物的对映异构体间立体结构的不同, 造成它们与固定相间作用强弱的差别。这样就产生了分析物、流动相与固定相之间相互作用的竞争, 对映异构体中与固定相作用弱的先被洗脱, 强的后洗脱, 从而实现了外消旋化合物的手性分离。四种吲哚类衍生物中, 1 号与 2 号具有相似结构 (2 号仅比 1 号多了一个 Cl 原子), 3 与 4 号具有相似结构 (4 号仅比 3 号多了一个 $\text{CH}_3\text{O}-$), 结构上的相似导致了其在同种醇类改性剂中分离的相似。

从3.1节中的分离结果可以看出,结构相似的化合物,会表现出相近的色谱性质:1与2号在正丁醇体系中分离度最大;3与4号的最佳醇类改性剂均为乙醇。

2.5 对映体过量值(e. e.)的测定

在各样品优化的色谱分离条件下,将上述四种样品连续进样3次,根据峰面积计算各对映体在消旋体中所占的比例,就可以测定其对映体过量值(e. e.)。取其平均值,结果见表3。

表3 四种吲哚类衍生物的对映体过量值(e. e.)

Sample	1	2	3	4
e.e.(%)	0.42	1.67	1.14	3.25

2.6 机理浅析

目前普遍认为CDMPC之所以具有较强手性识别能力,主要源于对映体分子可以进入衍生物的空腔中形成包络络合物,同时与极性氨基甲酸酯残基通过氢键作用,或偶极-偶极作用以及 $\pi-\pi$ 相互作用而发生手性识别^[6]。对于本文研究的四种吲哚类衍生物而言,吲哚类衍生物对映体可能调整构象进入手性螺旋空腔中,其分子中的羰基与CDMPC的氨基甲酸酯基发生氢键和偶极-偶极相互作用。同时,固定相的芳基与对映体的吲哚环之间也存在着 $\pi-\pi$ 电子相互作用和包夹作用,由于两个对映体受到的作用力不同而实现分离。

四种吲哚类衍生物中吲哚环容易和CDMPC固定相中的氨基甲酸酯基间形成 $\pi-\pi$ 相互作用,而羰基可以与手性固定相中的氨基甲酸酯基间形成氢键作用和偶极-偶极作用。与1号相比,2号中多了一个氯原子(Cl),可与固定相形成比1号多的氢键作用,拆分效果相对好于1号。3、4号均比1、2多一个氮-氢键(N-H),形成氢键作用的方式比1、2号多,因此其外消旋体的拆分比1、2号更容易。

3 小结

(1) 在合成的手性固定相CDMPC上对四种吲哚类衍生物外消旋体拆分的流动相条件进行了系统优化,得到了很好的分离效果。

(2) 在CDMPC手性固定相上建立了一种可以准确测定吲哚类衍生物对映体过量值(e. e.值)的理想方法,为今后进一步研究吲哚类衍生物单一对映体的不对称催化反应,提高该反应的对映异构体过量值(e. e.值)提供了一种实用、准确的测试方法。

参考文献

- [1] Zhang Tingzhou(章亭洲), Yang Lirong(杨立荣). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), 2004, 32(5): 696
- [2] Han Xiaoqian(韩小茜), Zhu Xinyi(祝馨怡), Zhang Weiqiang(张伟强), Liu Chunhui(柳春辉), Yin Yuanqi(殷元祺), Li Yongmin(李永民), Chen Liren(陈立仁). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), 2003, 31(5): 598~600
- [3] Han Xiaoqian(韩小茜), Zhu Xinyi(祝馨怡), Zhang Weiqiang(张伟强), Li Wenzhi(李文智), Li Yongmin(李永民), Chen Liren(陈立仁). *J. Anal. Sci.* (分析科学学报), 2004, 20(1): 13~15
- [4] Kirkland K M. *J. Chromatogr. A*, 1995, 718(1): 9~26
- [5] 刘月启. 多糖衍生物手性固定相的制备及对映体分离[D]. 兰州: 中国科学院兰州化学物理研究所, 2001
- [6] LI Bing(李兵), SHI Jie-hua(施介华), YANG Gen-sheng(杨根生). *Chin Chemistry Bulletin*(化学通报), 2003, (3): 169~173