



中国化学会

色 谱

CHINESE JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY

第 3 卷

1985

编 后 记

第五次全国色谱学术报告会录用了三百八十余篇论文报告。这些学术论文报告集中地反映了自第四次全国色谱学术报告会以来,我国在色谱学科方面的新进展。今年4月下旬,在成都召开第五次色谱报告会审稿会上,推荐出一批论文报告,建议《色谱》杂志发表。为此我们配合这次盛会,编辑《色谱》第3卷(原订出增刊,现考虑仍出正篇为宜),即1985年《色谱》杂志,共出版两卷(第2卷、第3卷)。在会议隆重开幕之际,这一卷《色谱》杂志按时出版了,以此向会议祝贺,祈望得到大家欢迎。

原计划这一卷《色谱》杂志收集近百篇论文报告,由于受到时间、印刷、经费种种原因限制,不得不压缩。原定收入本卷的部分论文报告不得不转到第2卷第6期及明年第4卷各期上陆续发表。这里,只好请这些作者和广大读者原谅!

由于稿件的审阅、修改和编辑需要一定的时间,故文稿延至八月初才送至印刷厂排版。由于文稿较多,只好在两个印刷厂同时排版印制,因而造成版面、字型等不能统一,影响了出版质量,再请谅解。

配合学术会议及时发表学术论文报告,是我们的一次尝试。由于文稿较多,时间紧迫,加上经验不足,工作中定有不少错误,敬请广大读者批评指正,以便我们总结经验教训,办好《色谱》杂志。

在编辑文稿过程中,张乐津、王俊德、林乐明等同志协助审改英文文摘,在此深深致谢。

大连工学院印刷厂、大连造船厂印刷厂大力协助,紧张印制本刊,在此一并致谢。

《色谱》编辑部

1985年9月19日

本卷责任编辑:刘述增 任桂珍 李尧秋 方树华 绘 图:王瑞玲

色 谱
SE PU
Chinese Journal
of Chromatography
Vol. 3

《色谱》编辑委员会编辑
(大连市100号信箱)
化学杂志社出版
大连工学院印刷厂印刷
辽宁省期刊登记证第166号

国内总发行:中国大连色谱技术
研究开发中心
(大连市100号信箱)
国外总发行:中国出版对外
贸易总公司
(北京市614信箱)

研 究 报 告

- 胆汁酸反相高压液相色谱中的离子对探针检测.....达世禄、J. Viaille (2)
- 高效液相色谱分离7503光学异构体.....郑如玉、刘锦慧、胡菊华、陈伯昆 (7)
- 在苯基键合固定相微型柱上儿茶酚胺的反相离子对色谱的研究
.....邹公伟、史蓉蓉、高 鸿 (12)
- 有机氟键合相高效液体色谱填料的研究V. 氟酰胺键合相的性能及其在含氟化合物分析中的
应用.....李文华、王锦华、翁秋璇 (18)
- 液相色谱动力学过程的研究——色谱参数对 σ 、 τ 与保留值间的线性关系的考察
.....邹汉法、张玉奎、董礼孚、卢佩章 (24)
- 高效离子交换色谱分离条件最优化和贵金属中痕量重金属杂质的快速连测.....刘有邦、王 淇 (31)
- 高效离子色谱分离柱填料的研究I. 阴离子交换树脂附聚微球
.....袁中利、胡喜章、孟庆成、苏天升、郝晶慧、邓澧儒 (39)
- 凝胶渗透色谱法测定偏氟乙烯-六氟乙烯共聚物的分子量及其分布.....陶惠芬、马建平 (45)
- 毛细管气相色谱辐照键合相的研究——快速电子辐照丙烯腈键合相柱的研制及性能的初步
考察.....陈明灿、陈彤芬、赵祥臻、吴若峰、胡振元 (49)
- 新型多孔聚合物气相色谱固定相的研究.....左育民、王补森、唐大志、阎云奇、刘广鑫 (53)
- 同系因子在预测气液色谱保留指数中的应用.....王福安、蒋登高、陈 力 (58)
- 苯的二元取代物的保留指数与结构、性质的关联.....沈椿芳、邵令娴 (64)
- 信息论在气相色谱分析中的应用——液晶对于异构体选择性的评价
.....葛海霖、朱明华、邵令娴、金鑫荣 (69)
- 新型填充柱——毛细管柱双柱系统I. 最佳双柱匹配方案的理论预测
.....张剑英、林炳承、卢佩章 (73)
- 新型填充柱——毛细管柱双柱系统II. 流程和应用.....叶 芬、林炳承、卢佩章 (85)
- 一种新的氧化锆检测器气相色谱法的研究.....林友顺、叶玉琴 (90)
- 检查气相色谱柱中酸催化水解活性的新的分子探针方法.....殷尚正 (95)
- 常压微波等离子体光离子化检测器的性能考察.....夏月琳、王小宇 (102)
- 气相色谱法测定人红细胞膜脂肪酸的组成及含量
.....徐桂芸、常理文、竺 安、潘华珍、尹长城 (107)
- 气相色谱法分析白酒的非挥发性酚类化合物.....傅玉书、胡国栋、龚书宝 (111)
- 微导电气相色谱法测定气体中痕量总硫.....张淑英、王晋焜 (115)
- 在GC/FT-IR的Gram-Schmidt重建色谱图中各类化合物的响应特征
.....张乐洋、宋国男、车 迅、吕旭进 (121)
- 硅藻土载体的处理方法.....刘树刚 (125)
- 用裂解气相色谱法进行聚氯乙烯——红泥塑料的结构表征
.....龚正烈、吴兴福、周光惟、曹孟骏 (130)

研 究 简 报

- 高效液相色谱分离四氢-2-甲基-4-芳基-1,5-苯并硫氮杂草的顺反异构体
.....金恒亮、杨福德、金 声 (136)
- 水中微量酚类的富集及高效液相色谱法分离和分析.....李秀梅、曹淑英 (139)
- 高效液相色谱法测定2,6-二叔丁基-4-甲基酚的纯度.....刘淑洁、陆贵根 (143)
- 在硅胶柱上利用季胺碱水溶液为流动相分离酸性和碱性有机化合物
.....周瑞山、苏 松、张 坚 (147)
- 高效液相色谱法测定饲料中 V_A 、 D_3 和胡萝卜素的含量.....孙定一、陈新民 (151)

高效液相色谱分离前列腺素对硝基苯乙酮酯	张麟华、王夺元、肖绪玲	(153)
硝基酚类在反相离子色谱中的行为	周名华、臧瑾光、陈俊南、朱鹤孙	(156)
红茶中茶黄素类物质的高效液相色谱分离及其定量测定	姚守仁、叶庆生、於淑坤、张红	(159)
苯绕蒽酮及其溴化物的高效液相色谱分析	赵秋雯、张鸿礼	(163)
高效液相色谱法测定人血浆和尿中的速尿浓度	袁倚盛、吴闯、蔡明瑞	(165)
高级脂肪醇化学衍生物的高效液相色谱分析	张艾、宋佩珍	(169)
高效液相色谱柱稀匀浆填充方法	于长湖	(171)
一种用于柱上在线富集的高效液相色谱柱头设计	夏立钧、金惠娟、胡振元	(175)
凝胶渗透色谱在确定特性粘数——分子量关系中的应用	曾安群、李之辉、陈秋玲	(179)
凝胶色谱与自动粘度计联用技术在高聚物研究中的应用	金春山、孙淑莲	(182)
丁二烯——异戊二烯嵌段共聚物的分子量表征	于旻、黄诚义	(185)
稀土元素的薄层色谱分析	林辉祥、孙君谋、陈晓宁	(188)
5-Br-PADAP 的过渡金属离子络合物的薄层色谱行为研究	胡之德、张彦生	(191)
硝酸铀无机离子交换剂性质研究——33种金属离子的薄层电泳析行为	雷根虎、郭治安、张明新、殷伯海	(194)
同时测定4-甲基-1,3-苯撑二氨基甲酸二乙酯等组分的薄层色谱法	白清逸、黄天宝	(198)
薄层光密度法分析胡蔓藤中生物碱	罗淑荣、麦路	(201)
高效棒色谱研究	吴凤镔	(202)
人血清蛋白的毛细管等速电泳分析	朱冠梅、马孔卓	(205)
弹性石英毛细管色谱柱研究Ⅱ. 石墨炉拉伸法	董运宇、李菊白、单兆樵、廖有贤、王一明、吕祖芳、俞惟乐	(209)
一种适用于无程序升温的气液色谱仪的综合填充柱	洪维、连国华	(211)
弹性玻璃毛细管柱的硅膜改性	高毅飞、张桂琴、鲍崇林	(214)
PEG-20M 交联毛细管柱的研制	夏爱竹、林炳承、叶芬、卢佩章	(216)
氟硅化学键合气相色谱毛细管柱的研究——N-(3'-三丙基硅氧烷)-3-氧杂十七氟烷基磺酰		
胺柱的制备及性能	陈明灿、陈彤芬、陈立佛、胡振元	(220)
新型填充柱——毛细管柱双柱系统Ⅲ. 仪器装置	彤代新、徐方宝、孙秀萍、卢佩章	(223)
线性程序升温气相色谱基本方程的新应用Ⅰ. 同柱不同载气时如何获得相似的色谱图	王天松、孙亦樛	(226)
一种求取色谱死时间的新方法—— ϵ -外推算法	孙科夫、朱明华	(230)
关于气液色谱中双固定液规律的解释	王福安、马元凯	(233)
长链脂肪酸五氟苯基酯在不同极性毛细管柱上的保留指数	常理文、竺安	(236)
色谱速率方程非线性偏离对流出曲线的影响	林炳昌、林炳承、卢佩章	(239)
利用热力学参数评价键合固定相	余建文、赵令琪	(242)
气液色谱法测定二苯甲酮与二苯胺的相互作用参数及二苯甲酮与某些芳烃的分子络合常数	周效贤、郑国康、颜肖慈	(245)
凝聚硅胶开口毛细管柱对C ₁ —C ₄ 烃的分析	蒋生祥、何凤英、王淇	(248)
总甜菊甙的衍生气相色谱分析方法	詹益兴、周敏、张红艳、周继红	(249)
气相色谱法测定罐头食品中的铕	丁天惠、张俊华、赵琪、马建恒、吴志勇	(252)
S ₂ 分子发射特性的研究	王凤山	(257)
常压氩微波等离子体发射光谱作气相色谱元素选择性检测器系统的评价	曾克慰、贾莉、俞惟乐	(261)
气相色谱氮磷检测器中铷珠的研究	汪庆范、孙逊运、柳均	(264)
气相色谱氮磷检测器(NPD)碱金属陶瓷球的研究	汪庆范、柳均、孙逊运	(266)
用气相色谱和色——质谱法测定昆虫性信息素双键位置的研究	郭广忠、刘汉泉、吴元伟	(269)
液晶玻璃毛细管柱分离甲基酚类		



色 谱

CHINESE JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY

第 3 卷

1985

胆汁酸反相高压液相色谱中的离子对探针检测

达世禄

(武汉大学化学系)

J. Vielle

(法国科学研究中心分析服务中心)

〔提要〕用具有紫外吸收离子对试剂的反相色谱系统，分离和检测无紫外吸收的游离胆汁酸及其丁二酸衍生物，样品组份洗出正峰或反峰，决定其相对系统峰的保留值。研究了流动相组成，离子对试剂及浓度、pH值等对保留和响应的影响，确定胆汁酸最佳分离和检测条件。

近十年来，离子对高压液相色谱得到迅速发展，它逐步取代离子交换色谱，成为分析有机酸，碱性化合物的有效色谱技术^[1-3]。新近出现的离子对探针检测，以疏水性的紫外吸收平衡离子作为离子对探针，使非紫外吸收化合物在紫外检测器上产生响应，这是液相色谱检测技术的新发展^[4-5]。

游离胆汁酸在波长240 nm以上紫外区无吸收^[6]，欲进行高压液相色谱分离和测定，常需制备成具紫外吸收的衍生物^[7]，或用205 nm低波长紫外检测器，才能获得较高响应^[8]。

实 验

仪器：液相色谱仪是具有420程序控制器(Altex Scientific)的800溶剂系统，装20微升样品管的Rheodyne 71-25型高压进样阀(U.S.A.)，Pye Unicam(England)或SPD-2A(Japan)可变波长195—350 nm紫外检测器。色谱柱150×4.6毫米。固定相Nucleosil C₁₈(5μ)(Macherey Nagel, Germany)，用四氯化碳作悬浮剂，异辛烷作淋洗剂，高压匀浆装柱。

试样：每一家私人公司赠送的游离胆汁酸及丁二酸衍生物：胆(汁)酸，即3α, 7α, 12α-三羟基-5β-胆酸(Cholic Acid, CA)，脱氧胆酸(Deoxycholic Acid, DCA)，鹅脱氧胆酸(Chenodeoxycholic Acid, CDCA)，熊脱氧胆酸(Ursodeoxycholic Acid, UDCA)，猪脱氧胆酸(hyodeoxycholic Acid, HDCA)，石胆酸(Lithocholic Acid, LCA)，7-氧胆酸，即7-氧, 3α, 12α-二羟基胆酸(7-OC)，3, 12-氧胆酸(3, 12-OCA)，3-氧胆酸(3-OCA)，3α-丁二酰，7-氧胆酸(SOCA)，3α, 丁二酰脱氧胆酸(SDCA)，丁二酰石胆酸(SLCA)。

溶剂和试剂：甲醇，HPLC用(Prolabo, France)。水，去离子水在石英蒸馏器内蒸馏，通过0.45微米醋酸纤维滤纸(Millipore, U.S.A.)过滤。Hyaminelb22[(diisobutylphenoxyethoxyethyl)dimethylbenzylammium Chloride, Hy]，苄基，三丁基溴化铵(BTBA)，苄基，三甲基溴化铵(BTMA)，三者均系Fluka AG(Buches,

Switzerland) 产品。四丁基硫酸氢铵 (TBA, Sigma, U. S. A.)

色谱方法: 将一定体积甲醇和含有离子对试剂的水溶液混合配制流动相, 水溶液以磷酸盐——磷酸缓冲液调到所需 pH 值, 流动相组成均以体积比表示。流动相通过 0.45 微米 Fluoropori 滤纸 (FH, Millipore, U. S. A.) 过滤, 使用前在超声波浴内脱气。流动相流速 1 毫升/分。未说明者, 检测器用 254 毫微米。样品均溶于流动相。

结果和讨论

(一) 色谱前缘峰和系统峰: 液相色谱中, 由于流动相中某一成分或杂质所形成的正或反色谱峰, 称为空穴峰 (Vacant peak)^[9]。实验表明, 流动相中含有 Hy 或 BTBA 等紫外吸收离子对试剂的色谱系统, 一般有两个空穴峰。图 1 是流动相含 BTBA 的空穴峰色谱图。含 Hy 的流动相, 具有相似空穴峰。第一个空穴峰均具有相同保留值, 这是由于峰 1 是由水溶性离子 (OH^- , Cl^- , Br^-) 或溶剂形成的。我们称它为前缘峰 (F); 而由疏水性季铵离子形成的第二个空穴峰, 称为系统峰 (S)。峰 F 和 S 同样具有离子性质, 因此, 两者均影响样品组份色谱峰方向。

色谱系统峰的数目, 决定于色谱系统中离子对试剂的数目, 只要流动相中有一种离子对试剂具有紫外吸收, 那么其他非紫外吸收离子对试剂均可显示相应系统峰。图 2 是流动相含有 BTBA 和 TBA 色谱系统的 F 峰和 S 峰。

(二) 影响胆汁酸保留的因素: 胆汁酸及其丁二酸衍生物的保留值 (以 k' 表示) 与流动相中离子对试剂浓度和性质的关系如图 3, 4 所示。胆汁酸保留随 BTBA 浓度增加而增加, 而 BTBA 保留值随 BTBA 浓度增加而降低。这表明, 离子对试剂与溶质离子间电荷作用是决定溶质保留的重要因素。图 4 说明, Hy 对胆汁酸保留的抑制作用明显高于 BTMA 和 BTBA。

遵从一般反相离子对色谱规律, 流动相组成和 pH 值均影响胆汁酸保留。由于 pH 值对有机酸、碱保留值影响不同^[2], 因此, 调节 pH 是控制胆汁酸和系统峰相对保留的重要因素。

(三) 样品组份色谱峰洗出方向: S. Chill 等研究过离子对探针检测色谱系统中, 组份洗出正峰或反峰的规律^[4]。图 5 是胆酸

CA, CDC、LC 三个不同取代程度胆汁酸洗出色谱峰方向随色谱条件的变化。色谱峰方向决定于胆汁酸与前缘峰和系统峰相对保留。保留值大于前缘峰, 小于系统峰, 若接近

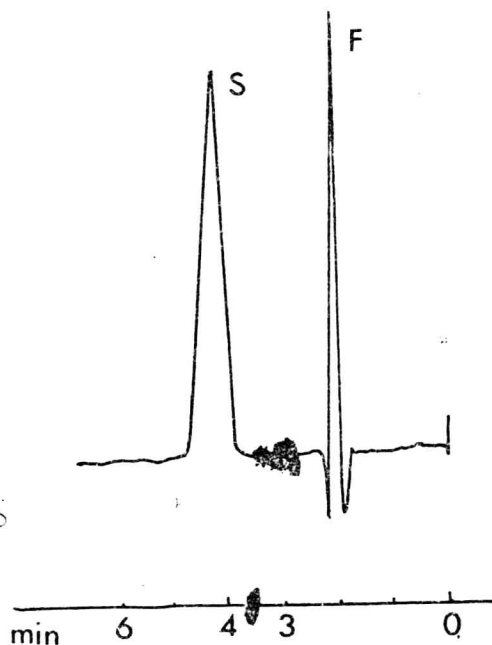


图1 前缘峰和系统峰
流动相: MeOH:H₂O 75:25, BTBA
5 × 10⁻³M, pH 6
样品: BTBA (溶于流动相)
固定相: Nucleosil C₁₈ (以下色谱图均用该固定相)
F—前缘峰, S—系统峰

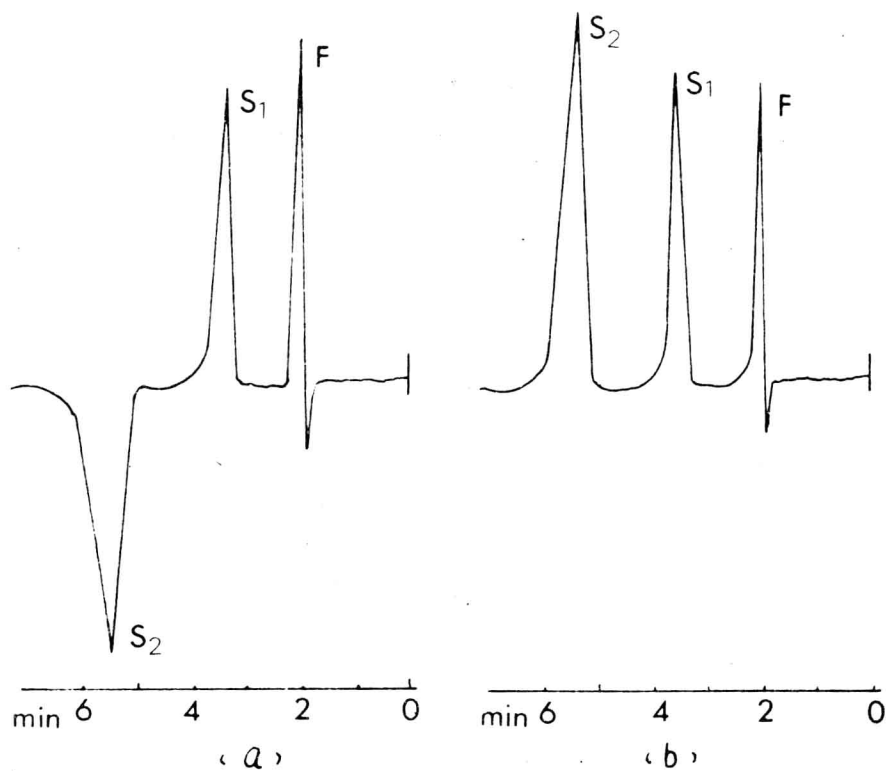


图2 含两种离子对试剂色谱系统的F、S峰。

流动相:

MeOH; H₂O

75: 25

BTBA 2.5×10^{-3} M

10^{-3} M

TBA 5×10^{-3} M

10^{-3} M

PH 6

(a) 样品 TBA

(b) 样品 BTBA

S_1 —TBA,

S_2 BTBA。

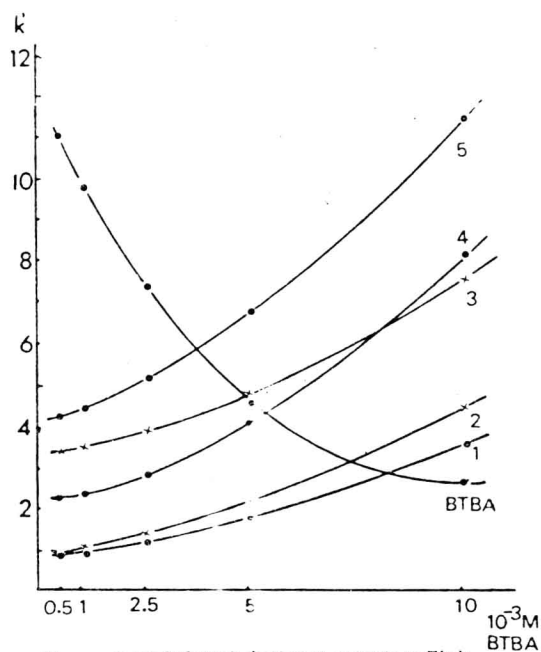


图3 离子对试剂浓度对胆汁酸保留的影响

流动相: MeOH; H₂O 75: 25 pH 7

1: 7-OCA, 2: CA, 3: DCA, 4: SDCA, 5: LCA

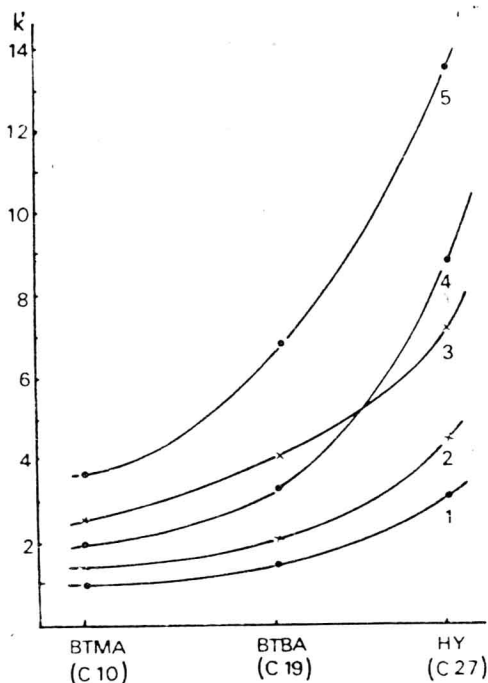


图4 不同离子对试剂对胆汁酸保留的影响

流动相: MeOH; H₂O=75: 25 pH 7

离子对试剂浓度 5×10^{-3} M; 曲线1—5, 胆汁酸同图3

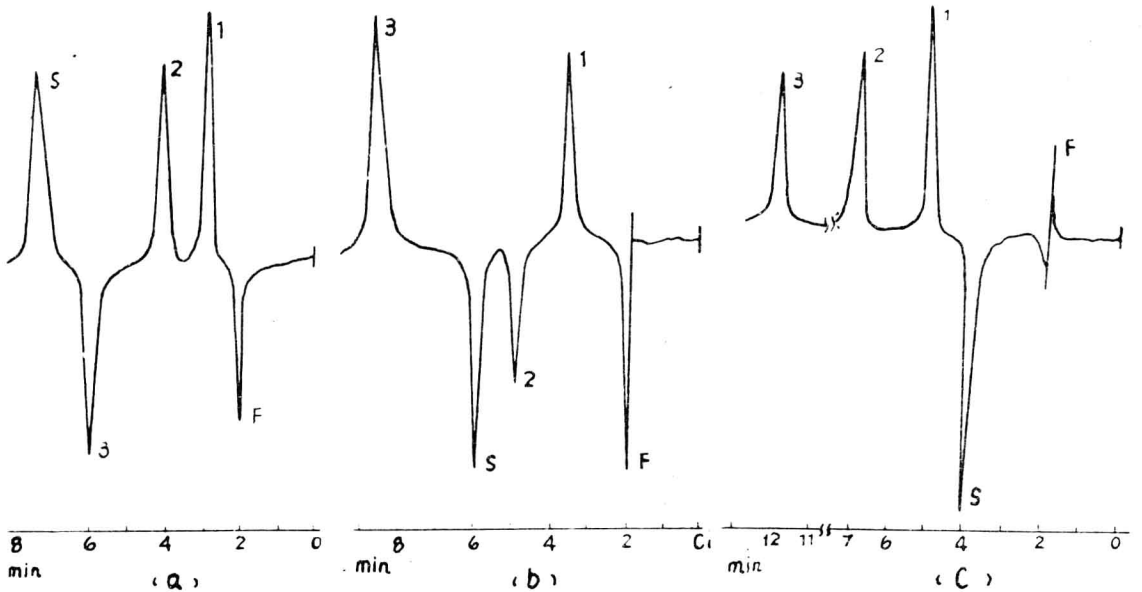


图5 色谱峰洗出方向

(a) 流动相: MeOH: H₂O 75: 25, pH 7, BTBA 2.5×10^{-3} M。

(b) 流动相: MeOH: H₂O 75: 25, pH 7, BTBA 5×10^{-3} M。

(c) 流动相: MeOH: H₂O 65: 35, pH 7, BTBA 5×10^{-3} M
或 MeOH: H₂O 75: 25, pH 5.5, BTBA 5×10^{-3} M。

峰1: CA, 2: CDCA, 3: LCA。

前缘峰, 色谱峰受前缘峰影响呈正峰 (a)(b); 若接近系统峰, 受系统峰影响呈反峰 (a), (b); 保留值大于前缘峰和系统峰, 均呈正峰 (c)。这类色谱洗出正峰, 反峰的机理, 有待深入研究。

(四) 胆汁酸分离: 图6是用Hy作离子对试剂分离胆汁酸混合物色谱图, CA和

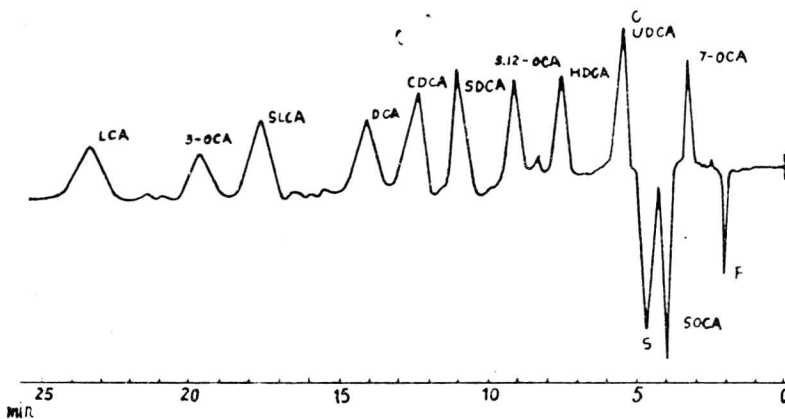


图6 胆汁酸色谱图

流动相: MeOH: H₂O=80:
20, Hy $2 \times$
 10^{-3} M, pH 6

UDCA 未能分开。用 BTMA 或 BTBA 作离子对试剂，可获得类似色谱图。但获得相似保留和选择性的离子对试剂浓度等条件不同。

(五) 胆汁酸的紫外检测响应：应用紫外吸收离子对试剂，由于形成离子对，使胆汁酸在 240 毫微米波长以上紫外区，获得较高响应。这种色谱系统中，几个胆汁酸响应与波长关系。如图 7 所示。在 260 毫微米附近有最高响应。图 8 是流动相中离子对试剂浓度对响应值的影响，BTBA 浓度在 $2.5 - 7.5 \times 10^{-3} \text{ M}$ 之间，实验胆汁酸可获得最佳响应。实验说明几个胆汁酸的峰面积响应与进样量呈很好线性关系。

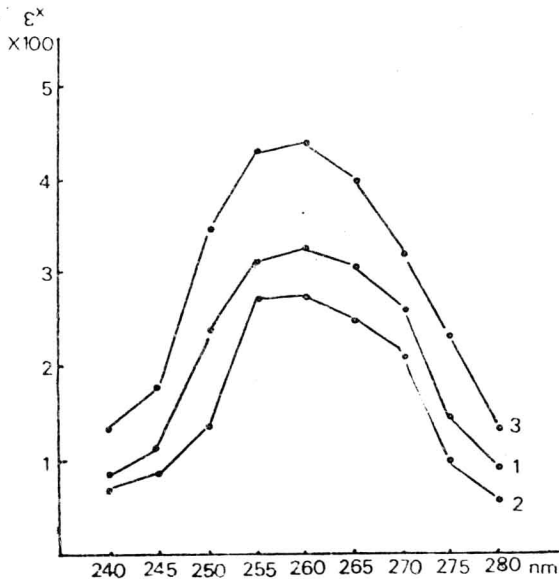


图 7 检测响应随波长变化
 ϵ^x 按文献 [5] 计算。
 流动相: MeOH: H₂O 75: 25
 BTBA $5 \times 10^{-3} \text{ M}$
 pH 7
 1: CA, 2: CDCA,
 3: SDCA

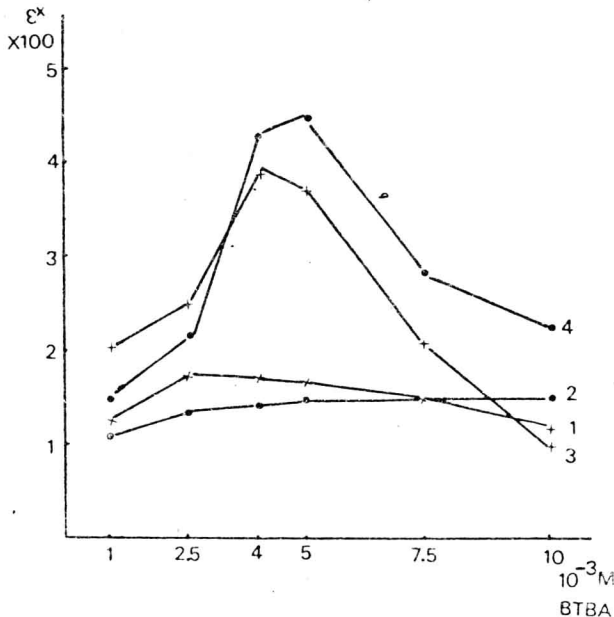


图 8 离子对试剂浓度对检测响应影响
 流动相: MeOH: H₂O 75: 25
 pH 7
 曲线 1—3 同图 7, 4: LCA

参 考 文 献

- [1] R. Gloor, E. L. Johnson, J. Chromatogr. Sci., 15, 413 (1977).
 [2] B. A. Bidlingmeyer, J. Chromatogr. Sci., 18, 525 (1980).
 [3] L. E. Vera-Avila, M. Caude, R. Rosset, Analysis, 10, 36 (1982).
 [4] M. Denkert, L. Hackzell, G. Schill, E. Sjögen, J. Chromatogr., 218, 31 (1981).
 [5] L. Hackzell/G. Schill, Chromatographia, 15, 437 (1982).
 [6] W. H. Elliott, G. Shaw, Chromatogr. Sci., 16, 1 (1981).
 [7] F. Stellaard, D. L. Hachey, P. D. Klein, Anal. Biochem., 87, 357 (1978).
 [8] Da Shilu, J. Vialle, R. Longerey, J. Chromatogr., 268, 1 (1983).
 [9] K. Slais, M. Krejci, J. Chromatogr., 91, 161 (1974).

(收稿日期: 1983年11月20日)

高效液相色谱分离7503光学异构体

郑如玉 刘锦慧 胡菊华 陈伯昆*

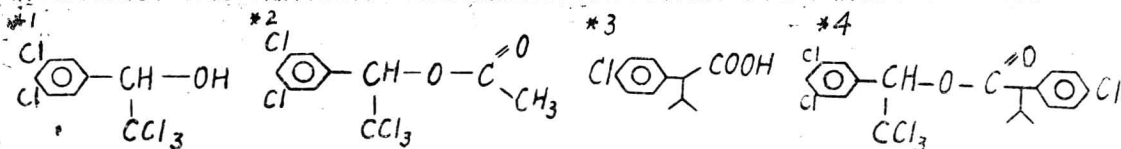
(中国科学院动物研究所, 北京)

〔提要〕本文将消旋的7503醇和光学纯的(+)或(-)的 α -异丙基-4-氯苯乙酸反应, 生成非对映异构体的酯衍生物, 再用高效液相色谱分离。十分钟内可完成两种异构体含量的定量分析, 其标准偏差小于0.4%。几百毫克量的制备可得到高效液相色谱纯的RS和RR或SS和SR两种组分。

1-(3,4-二氯苯基)-2,2,2-三氯乙醇(7503)*¹是制备药效长、毒性低、能生物降解的新农药1-(3,4-二氯苯基)-2,2,2-三氯乙酸乙酯(7504)*²的最主要原料^[1]。7503有一个不对称碳原子, 所以由它合成的7504有左旋和右旋的两种光学异构体, 而左旋的7504杀虫能力比右旋的高20倍^[2]。用光学纯的7503醇很容易酯化成光学纯的7504酯。所以, 制备光学纯的7503醇是得到高效农药的关键。

用高效液相色谱法分离光学异构体较之古老的分布结晶等方法简便得多。常用的方法之一是先将光学异构体与左旋或右旋的光学试剂反应使成为非对映异构体后再用高效液相色谱分离^[3-7]。拆分7503光学异构体的工作尚未见报导。

我们先用光学纯(+)或(-)的 α -异丙基-4-氯苯乙酸*³分别与消旋的7503醇反应使生成非对映异构体的酯衍生物1-(3,4-二氯苯基)-2,2,2-三氯乙醇- α -异丙基-4-氯苯基乙酸酯*⁴。用高效液相色谱能完全分离这两种异构体。大量制备得到高效液相色谱纯的左旋和右旋的酯衍生物。定量测定各异构体的含量, 其标准偏差小于0.4%。



* 北京大学论民生

实 验 部 分

(一) 仪器: FLC-350 高效液相色谱仪。UVIDEC-100-Ⅱ型紫外分光光度计。医学科学院药物所自装的制备色谱仪。岛津LC-3A 高效液相色谱仪, UVD-2 型紫外检测器, C-RIB 型微处理机。

JMS-D300 S GC-MS 气相色谱和质谱联用仪。

(二) 试剂均为分析纯, 流动相用 5 Å 分子筛干燥后蒸馏。制备用的溶剂全部回收再用。

(三) 1-(3,4-二氯苯基)-2,2,2-三氯乙醇- α -异丙基-4-氯苯基乙酸酯的制备: 称取 11.2 克 7503 醇, 8 克 (+) 或 (-) α -异丙基-4-氯苯乙酸, 0.4 克硼酸和 1.5 克浓硫酸于 100 毫升反应瓶中, 加 50 毫升甲苯, 加热回流 24 小时, 反应完毕后, 用 5% 碳酸氢钠处理, 有机层用水洗三次, 用无水硫酸钠干燥, 减压蒸去溶剂后即得到所要的酯衍生物。

(四) 色谱条件

1. 分析 柱: 自装硅胶柱或 Zorbax Sil 硅胶柱。流动相: 己烷: 乙酸乙酯 = 500:7 或含 1% 异丙醚的己烷。

2. 制备 柱: 药物所自装柱 (44 × 250 毫米, 青岛 10-40 μ 硅胶 H)。流动相: 含 1.5% 异丙醚的己烷。每次进样 400-600 毫克, 根据峰的位置收集柱流出物。产品由分析柱测定纯度, 最后用质谱鉴定成分。

(五) 定量分析数据的处理方法: 由 C-RIB 微处理机给出组分 I 和 II 的含量 (C_1 和 C_2), 将组分 I 的含量 C_1 列表讨论。每个样品进样四次以上, 求得平均值和标准偏差。

结 果 和 讨 论

(一) 四种异构体的分离: 从图 1 可见, 在硅胶柱上分别用己烷: 乙酸乙酯 = 500:7 和

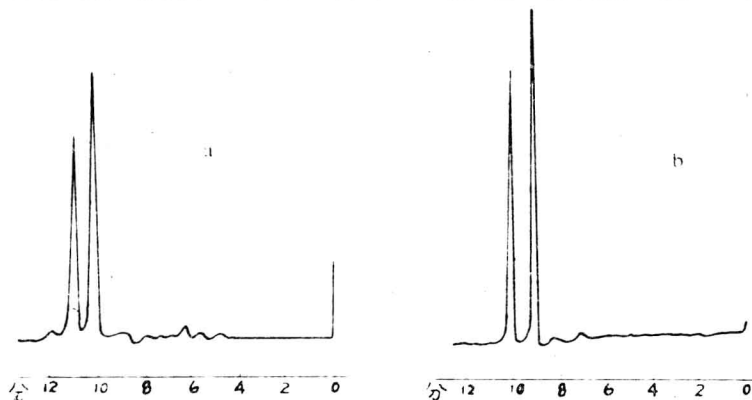


图 1 7503 光学异构体的高效液相色谱分离

a. 色谱柱: 4.5 × 300 毫米不锈钢柱; 固定相: 青岛海洋化工厂 5 μ 无定形硅胶; 流动相: 己烷: 乙酸乙酯 = 500:7; 流速: 1 毫升/分; 柱压: 30 公斤/厘米²; 纸速: 5 毫米/分; 温度: 室温; 检测: UV254 毫微米; 样品: 消旋的 7503 衍生物, 进样: 2.5 微克。

b. 流动相: 含 1% 异丙醚的己烷; 其它同 1a。

含1-异丙醚的己烷为流动相 两个异构体在10分钟内都能完全分离。(+)和(-)的酸与7503(±)合成的酯衍生物分离图谱基本相同。

(二) 异构体的制备: 参考分析柱的色谱条件, 用医科院药物所的制备柱分离消旋衍生物。从图2的分离图谱可见, 每次进样大至400~600毫克, 异构体的分离还是较好的。得到显然不同的两种产品——晶体的组分I和粘度很大的液体组分II。图3指出, 制备

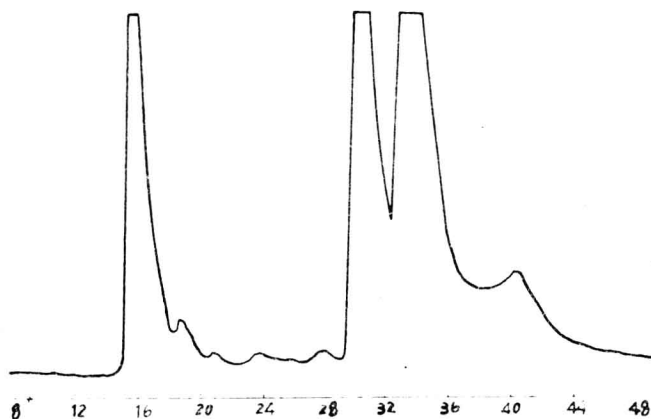
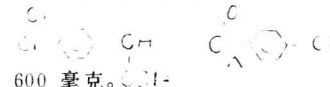


图2 7503光学异构体的制备

色谱柱: 4.4×250 毫米药物所自装不锈钢柱; 固定相: 青岛10~40μ 硅胶H; 流动相含含1.5% 异丙醚的己烷; 流速: 30毫米/分; 纸速: 5毫米/分; 检测: UV254 毫微米; 温度: 室温; 样品: 消旋的7503衍生物



600 毫克。

所得的产品是高效液相色谱纯的。从表1所列各馏分的纯度和收率可见, 未检出组分II的组分I的收率可达62%以上。没有得到不含组分I的组分II产品, 把纯度为82%—88%的组分II粗产品再经过一次制备柱, 可得到纯度>99%的组分II, 但收率很低。

7503(±)的α-异丙基-4-氯苯乙酸衍生物的制备分离 表1

异构体		7503(±)的α-异丙基-4-氯苯乙酸(-)衍生物								7503(±)的α-异丙基-4-氯苯乙酸(+)衍生物							
进样量(克)		2.664								1.4698							
各馏分的重量与纯度	馏分	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	8	
	重量(克)	0.4886	0.3386	0.1812	0.3768	0.5290	0.1555	0.1356	0.1846	0.2905	0.1086	0.1539	0.2148	0.1165	0.0591	0.0471	
	组分I 组分II	未检出组分II, 1:0.16, 1:0.23, 1:4.7, 1:5.6, 1:5.8								未检出组分II, 1:0.023, 1:2.0, 1:5.2, 1:4.5, 1:4.8, 1:8							
	纯度(%)	组分I含量(%)						组分II含量(%)			组分I含量(%)		组分II含量(%)				
	>99	>99					82.4	84.8	85.4	>99	>99	83.9, 81.8, 82.9, 88.9					
组分I, II的收率(%)		62.1				61.6				64.6				59.5			
异构体总收率(%)		82.8								79.9							

制备得到的两对异构体产品分别做质谱分析, 它们的质谱图完全一样(图4)。M⁻ = 438 等于酯衍生物的分子量M + 2, 除了有7503酸的特征峰277和242外, 还有酯衍生物的特征峰369和371以及α-异丙基-4-氯苯乙酸的特征峰167和195。这说明α-异丙基-4-氯苯乙酸已接上去。而且色谱图上的两个峰分别是RS和SS或RR和RS两对异构体。

所装的制备柱用了90小时, 分离34克样品, 柱子未见异常。所用流动相全部蒸馏回

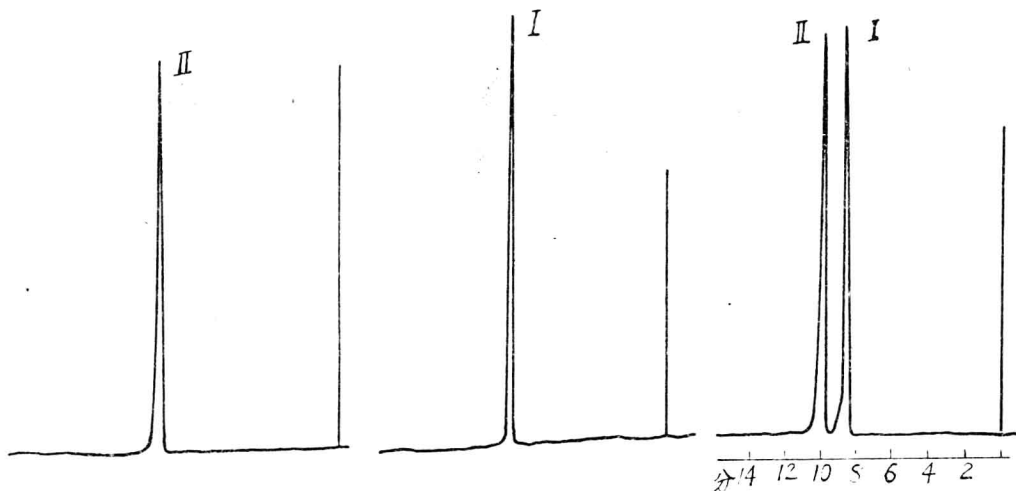
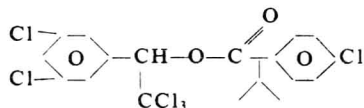


图3 制备出来的7503光学异构体
样品：制备出来的7503衍生物



(1) 制备出来的组分II液体；(2) 制备出来的组分I晶体；(3) 消旋的7503衍生物。其它条件同图1b。

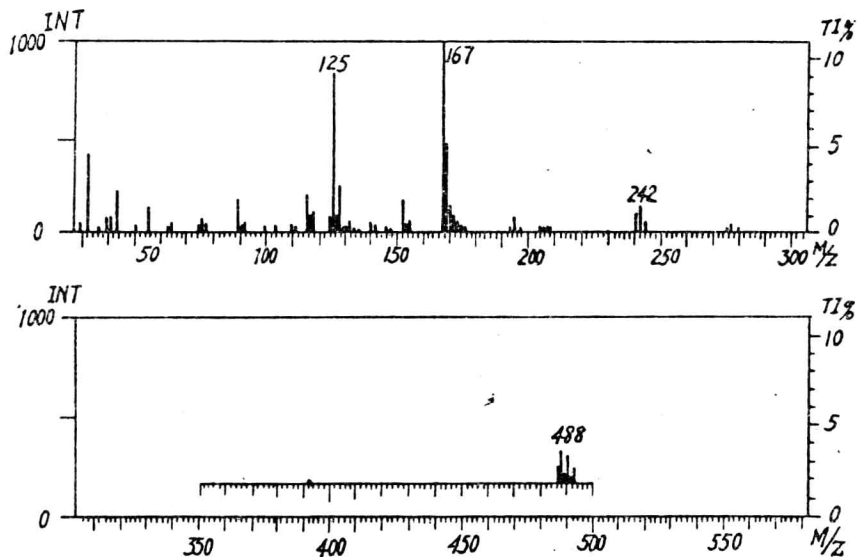


图4 7503两对四种光学异构体的质谱图

仪器：JMS—D300 S, GC—MS 和 JMA—2000 S 数据系统；质谱条件：EI70ev, 离子化电流：300 μA；电离室温度：170 °C，进样温度，100 ~ 150 °C。

两种异构体定量分析的结果

表2

样品编号	一	二	三	四	五	六
流动相	己烷:乙酸乙酯=500:7	己烷:乙酸乙酯=500:7	己烷:乙酸乙酯=500:7	己烷:乙酸乙酯=500:7	己烷:乙酸乙酯=500:7	己烷:乙酸乙酯=500:7
	含1%异丙醚的己烷	含1%异丙醚的己烷	含1%异丙醚的己烷	含1%异丙醚的己烷	含1%异丙醚的己烷	含1%异丙醚的己烷
组分I的含量(%)	96.79	96.40	96.78	65.99	65.78	65.99
	96.71	96.58	96.71	66.12	66.12	66.12
	96.91	96.45	96.97	65.57	65.57	65.57
	97.34	96.34	97.34	66.18	66.18	66.18
	96.81	96.47	96.81	49.60	49.60	49.60
组分I的平均含量(%)	96.91	96.44	96.91	49.45	49.45	49.45
	96.91	96.44	96.91	49.35	49.35	49.35
标准偏差(%)	0.24	0.09	0.12	0.22	0.23	0.23
	0.24	0.09	0.12	0.36	0.25	0.25
	0.24	0.09	0.12	0.25	0.23	0.23
	0.24	0.09	0.12	0.20	0.20	0.20
	0.24	0.09	0.12	0.22	0.22	0.22
	0.24	0.09	0.12	0.07	0.07	0.07

收继续使用。

(三) 两种异构体的定量分析: 从表 2 所列两种异构体的定量分析结果可见, 对不同比例的异构体 (组分 I 的含量从 96.67 % 到 4.51 %), 其定量分析标准偏差都小于 0.4 % 两种不同流动相的分析结果非常接近。0.2 微克的样品 10 分钟内可给出准确的结果。

(四) 小结: 消旋的 7503 醇和光学纯的 (十) 或 (一) 的 α -异丙基-4-氯苯乙酸反应, 生成非对映异构体的酯, 再用高效液相色谱分离。此法可用于这种光学异构体的定量分析和大量制备。

致谢: 医科院药物所姜振哲和王津生同志协助做制备。环化所王孝明和孙思恩同志协助做质谱分析, 特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院动物研究所药剂毒理室, 昆虫学报, 22, 390 (1979).
- [2] Thomas Schmidf et al., Brif, 1, 551, 548(1976).
- [3] W. Dieterle, J·Chromatogr., 242, 289(1982); 259, 311(1983).
- [4] John A, Thompson et al., Ibid, 238, 470(1982).
- [5] Tomozoh Tamegai et al., Ibid, 193, 483(1980).
- [6] Massao Horiba et al., Agric. Biol. Chem., 44, 1361 (1980).
- [7] 郑如玉等, 色谱, 1, 40 (1984).

(收稿日期: 1985年6月17日)

在苯基键合固定相微型柱上儿茶酚胺的 反相离子对色谱的研究

邹公伟 史蓉蓉 高 鸿

(南京大学化学系)

〔提要〕本文应用微型高效液体色谱——电化学检测 (Micro HPLC ——ECD) 的方法, 进行了在苯基键合固定相微型柱上, 用反相离子对色谱分离儿茶酚胺 (CA) 的研究。用流动伏安法确定了薄层池安培检测器的实验条件。比较了十八烷基键合固定相 (YWGC₁₈H₃₇)、阳离子交换剂 (Partisil—SCX) 和苯基键合固定相 (YWGC₆H₅) 柱上 CA 的色谱行为, 讨论了 YWGC₆H₅ 柱上, 流动相 pH 的变化对 CA 分离的影响, 确定了应用 Micro HPLC—ECD 方法, 在 YWGC₆H₅ 柱上, 用 1-庚烷磺酸钠作为离子对试剂, 分离 CA 的实验条件。

反相离子对色谱法逐渐成为 CA 测定的主要方法, 大部分文献报道了 CA 在十八烷基键合固定相上的分离^[1-8]。尽管使用苯基键合固定相的分离文献报道较少^[9], 但从理论的观点来看, 它对 CA 等具有极性的非同系物, 且官能团有差异的化合物的分离, 可望得到更高的选择性、更好的峰形和分离度。本文应用 Micro HPLC—ECD 实验技术,

研究了各种类型固定相对 CA 分离的影响, 讨论了苯基键合固定相反相离子对色谱体系流动相对 CA 分离的影响, 确定了使用苯基键合固定相分离 CA 的实验条件。

实 验 部 分

仪器: 使用的 Micro HPLC-ECD 装置如文献^[10]报道。定量输液器 (Microfeeder, Azuma Denki Co, Model MF-2) 和微量注射器 (Microsyringe, Terumo Co, Model CAN-1.00) 用来供给流动相, XJP-2 新极谱仪 (江苏电分析仪器厂) 用来控制工作电极的电位和测量电解电流。XWT 自动台式平衡记录仪 (上海大华仪表厂) 作出电流—时间图。分离柱、贮液管和连接管均为聚四氟乙烯管, 管间由不锈钢管连接。流动薄层池安培检测器的薄层池池腔系将一块氟碳树脂块和一块有机玻璃块紧压一片开有长 1 厘米、宽 2 毫米沟的聚四氟乙烯薄膜构成。薄膜厚度为 30 微米时, 池腔体积约 0.2 微升。与色谱柱的连接口和流经池的溶液出口设在上方有机玻璃块上。将直径 3 毫米的玻璃碳圆盘嵌在下方氟碳树脂块上作为工作电极, 其表面与树脂块一起抛光成光洁的平面。参比电极系 Ag/AgCl, 安装在柱出口外上方, 由一根聚四氟乙烯管与出口相连接。作为辅助电极的不锈钢管, 安装在 Ag/AgCl 电极旁的液体出口处, 兼作溶液流出导管。

试剂: 去甲肾上腺素 (NA, Noradrenaline, Sigma), 肾上腺素 (AD, Adrenaline, Serve), 左旋多巴 (L-DOPA, 上海第一医学院), 多巴胺 (DA, 使用上海第十制药厂产 3-羟酪胺注射液代替), H_3PO_4 、NaOH、EDTA 和 KH_2PO_4 均为分析纯 1-庚烷磺酸钠和 1-戊烷磺酸钠 (人民解放军军事医学科学院), YWG C_6H_5 和 YWG $C_{18}H_{37}$ (10 微米, 天津化学试剂二厂), Partisil-SCX (10 微米, Whatman), YWG 80 (10 微米, 青岛海洋化工厂), 电极表面抛光剂为 0.05 微米氧化铝, 溶液配制均使用亚沸蒸馏水。

操作步骤: 手动操作微量输液器, 将流动相经由贮液管吸入微量注射器, 再吸入一定量样品溶液, 接上分离柱, 启动微量输液器, 流动相带着样品以一定流速流经柱后进入薄层池检测器, 在有一定电压的工作电极上测得氧化电流, 在记录仪上得到电流响应和时间关系的色谱图。

结 果 和 讨 论

(一) 电化学检测实验条件的确定: 在 YWG C_6H_5 柱上, 改变电化学检测器的工作电位, 按前述操作步骤得到 CA 的色谱图。由流动伏安法测得的峰电流—电位曲线示于图 1, 对于 L-DOPA 在 +0.75 伏 (VS, Ag/AgCl) 电位处获得最大氧化电流, 而 NA、AD 和 DA 在 +0.70 伏 (VS, Ag/AgCl) 电位左右达电流极限, 最适工作电位选择在 +0.75 伏 (VS, Ag/AgCl)。

(二) Micro HPLC-ECD 体系色谱保留值再现性试验:

Micro HPLC 可采用简单的停流进样方式。表 1 列出了十次试验结果, 溶剂峰和 CA 的保留时间具有良好的再现性。以 L-DOPA 为例, 进样体积为 2.4 微升时, 保留体积为 50.6 微升, 峰展宽的体积为 8.8 微升, 理论塔板高度为 0.1 毫米。