

纤维素类固定相 的制备及应用研究

刘润强 柏连阳 张裕平/著



科学出版社

公益性行业（农业）科研专项“杂草抗药性监测及治理
技术与示范”（201303031）

河南科技学院“标志性创新工程”计划（2015BZ02） 资助

河南省博士后基金项目（2015095）

河南科技学院高层次人才引进启动项目（103010615001）

纤维素类固定相的制备及应用研究

刘润强 柏连阳 张裕平 著

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书主要介绍几种针对性强、适用面广、成本低廉、稳定性高、分离能力强且制备过程更为环保的纤维素类手性选择剂的合成与制备方法。作者运用高效液相色谱技术,对多种手性农药进行了高效分离研究,系统考察了流动相组成、流速及柱温对手性农药拆分的影响,结合拆分结果对拆分机理进行了研究。

本书适合从事农药分析分离的科研人员、行政管理人员及农药企业管理人员阅读,也可以作为高等院校农药学专业教师、学生的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

纤维素类固定相的制备及应用研究 / 刘润强, 柏连阳, 张裕平 著. — 北京: 科学出版社, 2016.6

ISBN 978-7-03-048572-4

I.①纤… II.①刘… ②柏… ③张… III.①纤维素-固定相-制备 IV.①0636.1 ②0642.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 123332 号

责任编辑: 贾 超 李 洁/责任校对: 彭珍珍

责任印制: 张 伟/封面设计: 华路天然工作室

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京厚诚则铭印刷科技有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2016 年 6 月第 一 版 开本: 720 × 1000 B5

2016 年 6 月第一次印刷 印张: 7 3/4

字数: 120 000

POD定价: 68.00元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

前 言

有机合成农药在作物保护和人、畜疾病控制方面所发挥的积极作用是可圈可点的，但由于农药使用量较大、有时施药方法不够科学，带来了生产成本增加、农产品残留超标、作物药害、环境污染等问题。为推进农业发展方式转变，有效控制农药使用量，保障农业生产安全、农产品质量和生态环境安全，促进农业可持续发展，农业部于 2015 年出台了《到 2020 年农药使用量零增长行动方案》和《到 2020 年化肥使用量零增长行动方案》，要求农药和化肥用量减少且要保证农业增收，即“减肥减药不减产”。如何实现这样的目标成了摆在广大农业科技人员面前的国家使命与担当。

对占农药总数约 40%的手性农药而言，其通常具有一个或多个手性中心，不同对映体的生物活性往往具有明显的不同，低效或无效对映体的使用不但会污染环境和降低药效，而且会增大农作物中的农药残留，甚至会使农作物产生药害或抗药性。在强调人与自然和谐发展的今天，特别是基于农业部“农药减量控害，保障农产品和生态安全”的要求，研究与开发单一对映体手性农药，已经成为当前农药领域的发展方向。作为从事农药加工与分析的科研人员，理应以此为契机，深入扎实地做好手性农药拆分工作，为践行《到 2020 年农药使用量零增长行动方案》做出贡献。

纤维素类手性固定相因其良好的手性拆分能力，成为手性分离研究的热点。采用高效液相色谱可实现手性农药对映体的有效分离。对映异构体的手性拆分是获得光学纯物质的有效手段，手性色谱特别是手性高

效液相色谱是近年来快速发展起来的手性拆分方法，既可以用于分析分离，也可以用于制备分离，在药物、天然产物和不对称合成等研究领域应用前景广阔，已越来越受到重视。手性色谱的核心是手性固定相，因此研制与生产识别能力更强、负载能力更大、应用范围更广的手性固定相一直是手性色谱的研究前沿，目前已经有数百种商品化的手性固定相。根据手性拆分试剂的分子量，手性固定相可分为两大类，一类是键合于硅胶上的小分子手性固定相；另一类是涂敷于硅胶上的小分子手性固定相。由 Okamoto 等发展起来的多糖衍生物类手性固定相，特别是纤维素衍生物手性固定相，由于具有通用性强、经久耐用、样品载荷量大等特点，应用最为广泛。

纤维素是天然存在的较为丰富的一类可再生资源，如何更好地对其进行开发与应用是目前的研究热点。纤维素具有结晶度高、分子内与分子间氢键作用强等特性，这导致其很难溶于绝大多数有机溶剂，直接制约了其在手性固定相研究领域中的应用。克服这一难题的关键在于良好溶解系统的研发。目前研究上应用的溶剂或多或少存在不稳定、高毒害、不易回收、价格昂贵等缺点，开发价格低、易回收循环利用的“绿色溶剂”成为了现阶段的研究重点。室温离子液体的研究与应用攻克了这一难题。

室温离子液体是常温下为液态的有机盐，因具有熔点低、不挥发、结构和性质可调等优点而受到化学界的广泛关注，其在化学合成、电化学、萃取分离等诸多领域的应用日益为世人所关注，被视为绿色溶剂。近年来，有科研工作者发现氯化 1-丁基-3-甲基咪唑离子液体可以溶解纤维素，也有科研人员不仅证实了离子液体 1-烯丙基-3-甲基咪唑氯化物是纤维素的良好溶剂，还借助其合成了乙酸纤维素，为纤维素溶剂体系的开发与研究开辟了一个新领域。以离子液体为溶剂体系对纤维素进行均相衍生物的有关报道绝大部分是对纤维素的乙酰化研究，而使用 1-烯丙基-3-甲基咪唑氯化物作为溶剂制备纤维素类手性选择剂，目前尚无这方面的报道。

本书由刘润强、柏连阳、张裕平著，在出版过程中得到公益性行业（农业）科研专项“杂草抗药性监测及治理技术研究与示范（201303031）”、河南科技学院“标志性创新工程”计划（2015BZ02）、河南省博士后基金项目（编号 2015095）和河南科技学院高层次人才引进启动项目（编号

103010615001) 资助, 在此表示衷心感谢。

本书结合科研实践和工作经验, 内容力求全面具体, 有很强的应用性。本书介绍了作者的相关工作, 用离子液体氯化 1-烯丙基-3-甲基咪唑代替传统反应溶剂合成了纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)和纤维素-2,3-二(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)两种纤维素类手性选择剂, 将纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)涂敷在 $5\text{ }\mu\text{m}$ 粒径的中孔硅胶球表面, 将纤维素-2, 3-二(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)键合在 $5\text{ }\mu\text{m}$ 粒径的中孔硅胶球表面, 采用匀浆法制备了涂敷型和键合型纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)手性色谱柱; 对上述两种手性选择剂进行了表征, 利用上述两种类型 HPLC 手性柱对 8 种典型农药进行了拆分研究, 考察了流动相组成、流速和温度对农药手性拆分的影响。基于上述手性农药分离研究结果, 分别探讨了手性拆分机理, 旨在为手性农药的分离分析和环境友好型单一光学活性手性农药的制备提供实验和理论依据。取得如下结果:

(1) 以绿色溶剂氯化 1-烯丙基-3-甲基咪唑为反应溶剂, 合成了纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯), 经红外和质谱表征, 表明离子液体回收率约为 94%。用自制的涂敷型纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)手性色谱柱, 在高效液相色谱正相模式下, 比较不同改性剂对手性分离的影响, 发现对于烯唑醇、粉唑醇、腈菌唑、己唑醇和噻螨酮, 异丙醇是比较好的改性剂; 而对于多效唑和甲霜灵, 乙醇是相对较好的改性剂。通过研究异丙醇含量对拆分的影响, 发现随着异丙醇含量的减少, 7 种农药对映体的保留因子、分离因子、分离度均随之增大。在 25°C 及流速为 1.0 mL/min 的条件下, 烯唑醇、粉唑醇、多效唑、己唑醇、甲霜灵和噻螨酮在流动相正己烷/异丙醇 (V/V) = 98/2 时, 分离度分别为 2.27、1.39、1.00、1.18、1.62 和 1.51; 腈菌唑在流动相正己烷/异丙醇 (V/V) = 95/5 时, 分离度为 1.58。通过研究温度对手性分离的影响, 发现在 $5\sim 25^{\circ}\text{C}$ 范围内, 对于手性农药甲霜灵、烯唑醇、粉唑醇和多效唑, 其手性拆分是焓控制的, 柱温越低越有利于对映体分离; 腈菌唑、己唑醇和噻螨酮的对映体拆分过程既不是焓控制也不是熵控制, 拆分效果受温度影响不大。

(2) 以绿色溶剂氯化 1-烯丙基-3-甲基咪唑为反应溶剂, 成功合成了纤维素-2,3-二(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)手性选择剂; 离子液体的回

收率约为 94%。用自制的键合型纤维素-2,3-二(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)手性色谱柱,在高效液相色谱正相模式下,研究了异丙醇含量对手性分离的影响,发现该手性柱对烯唑醇和多效唑无拆分,对己唑醇、甲霜灵和腈菌唑具有较强的拆分能力,对粉唑醇具有良好的拆分能力,对噻螨酮具有微弱拆分能力;随着流动相中异丙醇的含量减少,样品的保留因子、分离因子、分离度均增大。通过研究流速对手性分离的影响,发现随着流速的减小,己唑醇、甲霜灵、腈菌唑、粉唑醇和噻螨酮对映体被洗脱的速度变慢,对映体与固定相间的作用时间增加,分离度也逐渐增大,分离效果逐渐增强;虽然低流速能提高分离度,但也会造成出峰时间延长和峰拖尾等影响。通过研究温度对手性分离的影响,发现在 20~40℃ 范围内手性农药甲霜灵、己唑醇、噻螨酮、粉唑醇和腈菌唑的手性拆分是焓控制的,柱温越低越有利于对映体的分离。流动相中添加了三氯甲烷后,腈菌唑、己唑醇和甲霜灵的分离度变大,而粉唑醇和噻螨酮的分离度变小;流动相中添加了四氢呋喃后上述五种农药的分离度均有所变小;总的来讲,流动相中添加了三氯甲烷、四氢呋喃后,未发现柱效明显减弱、损坏等异常现象。这表明该方法制备的手性柱比较稳定,能耐各种常用流动相的冲刷。

(3) 用自制的涂敷型纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)手性色谱柱,在高效液相色谱反相模式下研究了乙腈含量、流速及温度对甲霜灵拆分的影响。发现在 25℃ 及流速为 0.8 mL/min 的条件下,甲霜灵在流动相水/乙腈(V/V)=85/15 时,分离度为 1.49。降低流动相的极性能增大分离因子和分离度的值,使甲霜灵的对映体保留时间呈现延长的趋势,但会产生峰拖尾的现象;随着流速的降低,保留因子、分离因子、分离度都有逐渐增大的趋势;在 20~45℃ 范围内,甲霜灵的手性拆分是焓控制的,柱温越低越有利于对映体的分离。

手性农药拆分技术发展迅速,限于作者的专业水平,加上时间相对仓促,书中疏漏之处在所难免,恳请各位读者批评指正。

刘润强

2016 年 2 月于新乡

目 录

前言

第一章 液相色谱手性固定相法在手性农药拆分上的应用	1
第一节 手性拆分的发展与前景	1
第二节 手性拆分方法	4
一、化学拆分法	4
二、结晶拆分法	5
三、微生物酶拆分法	5
四、色谱拆分法	5
第三节 高效液相色谱法	6
一、高效液相色谱手性固定相法	6
二、液相色谱固定相对手性农药的分离研究进展	29
第二章 涂敷型纤维素衍生物固定相的制备及正相条件下对手性农药 的拆分研究	37
第一节 材料与方法	38
一、仪器与试剂	38
二、样品	39
三、色谱条件	40
四、手性分离实验中常用的色谱参数	40
五、3,5-二甲基苯基异氰酸酯的合成	41
六、纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)的合成	42
七、离子液体的回收	42

八、产品表征	43
九、手性固定相的涂敷	43
十、装柱	43
第二节 结果与分析	44
一、3,5-二甲基苯基异氰酸酯红外测评	44
二、纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)的表征	44
三、离子液体的回收与表征	46
四、不同的改性剂对样品手性拆分的影响	48
五、流动相中异丙醇含量对七种农药的对映体拆分的影响	51
六、柱温对样品手性拆分的影响	54
第三节 讨论	60
第三章 键合型纤维素衍生物固定相的制备及正相条件下对手性农药 的拆分研究	65
第一节 材料与方法	66
一、仪器与试剂	66
二、样品	67
三、色谱条件及色谱参数的确定	67
四、纤维素-2,3-二(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)的合成	68
五、离子液体的回收	68
六、纤维素-2,3-二(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)的表征	69
七、键合型手性固定相的制备	69
八、装柱	70
第二节 结果与分析	70
一、纤维素-2,3-二(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)的表征	71
二、离子液体的回收	71
三、流动相中异丙醇含量对七种农药的对映体拆分的影响	72
四、不同的流速对样品手性拆分的影响	77
五、柱温对样品手性拆分的影响	79
六、键合型纤维素类手性色谱柱的稳定性	84

第三节 讨论	87
第四章 高效液相色谱涂敷型纤维素类手性固定相在反相条件下对 手性农药甲霜灵的拆分研究	89
第一节 材料与方法	90
一、仪器与试剂	90
二、色谱条件及色谱参数的确定	90
第二节 结果与分析	91
一、流动相中乙腈含量对农药甲霜灵对映体拆分的影响	91
二、不同的流速对样品手性拆分的影响	92
三、手性柱柱温对样品手性拆分的影响	93
第三节 讨论	95
参考文献	97
致谢	113

第一章

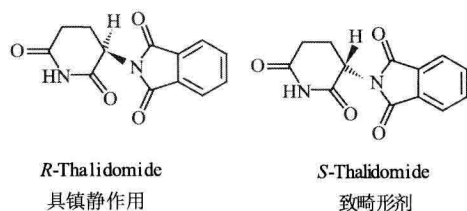
液相色谱手性固定相法在手性农药 拆分上的应用

第一节 手性拆分的发展与前景

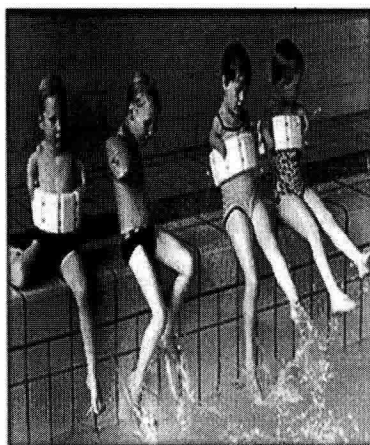
随着科技的进步，人们对手性化合物的认识逐渐加深，越来越多的手性化合物被开发、用于农业、化工、食品和药品领域。由于它们不同的对映体通常在手性条件下呈现出不同的生物活性和药理反应，因此，针对手性化合物的对映体拆分研究引起了众多科研人员的兴趣^[1]。

众所周知，生命体内的酶主宰着所有生命活动，其对底物有着很强的手性识别能力，因而很大程度地影响着生命体内对映体药物的生物活性、药理作用和代谢降解过程^[2]。长期以来，由于分离和测定等技术的不足，绝大部分对映体药物在哺乳动物的治疗效果、毒副作用及在其体内的吸收、代谢、降解等方面的差异性一直未被进行较为深入和系统的研究，导致绝大部分对映体药物以外消体的形式被直接应用于人体，因此

人类在使用外消旋药物方面付出了沉重代价，最典型的例子莫过于 20 世纪 60 年代在欧洲出现的沙利度胺惨剧，沙利度胺俗称“反应停”，属于手性药物{后来的研究表明其 *R* 体具镇静作用，*S* 体为致畸形剂，其结构见图 1-1 (a)}，用于治疗孕妇因妊娠反应引起的呕吐，但其中 *S* 体却导致超过一万名畸形婴儿{图 1-1 (b)}的出生。为了避免历史惨剧的重现，国际组织和一些国家的食品药品监督管理部门严格制订了关于手性药物生产、销售和使用的若干准则，如 1992 年美国制定的 FDA 准则、1999 年国际协调会议的 ICH 条例等。



(a) 化学结构



(b) “反应停”悲剧

图 1-1 沙利度胺的化学结构和悲剧

在有机合成农药七十多年的发展历程中，其在保护作物和防治病虫害、消除杂草、消灭动物体内外寄生虫和调节植物生长方面所发挥的积极作用是可圈可点的，在可以预见的未来，化学农药依然是人类战胜农作物病、虫、草和鼠害的有力武器；在这期间，人类对农药的认知也从“其无所不能”到“趋其利避其害”科学规范使用的过程，典型的代表是滴滴涕的发现者被授予 1948 年的诺贝尔生理或医学奖，1962 年出版的《寂静的春天》和 1996 年出版的《痛失未来》对杀虫剂危害的抨击，2004 年生效的《鹿特丹公约》对农药实行事先知情同意程序之规定^[3]。在人与自然和谐发展的今天，对手性农药的生物活性、毒性以及降解等方面进

行深入系统的研究显得尤为迫切。

对占农药总数约 40%的手性农药而言,通常具有一个或多个手性中心^[4],其不同对映体的生物活性往往具有明显的不同,低效或无效对映体的使用不但污染环境和降低药效,而且会增大农作物中的农药残留,甚至会使农作物产生药害或抗药性^[5]。例如,常见的占据世界上杀虫剂销量约 20%的拟除虫菊酯类杀虫剂^[6],往往具有 1~3 个手性中心^[7],生物活性一般集中在一个对映体上,高效对映体和低效对映体间存在着近 200 倍的活性差异,另外,异构体间的拮抗性使得混合体中的高效对映体不能充分发挥其活性作用;而拟除虫菊酯类农药只有 6%的产品以单一的旋光异构体形式销往市场^[8]。常见手性农药与手性医药对映体间的活性差异见表 1-1^[9-11]。大多数手性农药进入环境后会涉及很多的生物过程(如微生物降解等)且呈现出明显的对映体选择性差异,因此手性农药的对映异构体分离对于手性农药的生产过程和合成的质量监控以及药理学研究和环境中手性物质的检测等具有极其重要的意义。单一对映体手性农药因其有着药效高且利于生态环保等优点,受到了人们越来越多的关注,已经成为现在农药领域的发展方向。

值得一提的是,近年来随着手性合成与分离技术的发展,为数不多的仅含高活性异构体的光学纯农药已经出现并得以应用,如 *R*-己唑醇、*R*-烯唑醇等^[12]。因此,在对手性农药对映体进行拆分研究的基础上,建立农药对映体分离的系列方法,为农业生产提供药效高、毒副作用小的光学纯农药,势必对食品安全产生巨大的贡献^[13]。

表 1-1 常见手性农药与手性医药对映体间的活性差异

药物名称	异构体关系	具体表现
甲氰菊酯	活性不同	<i>S</i> 体杀虫活性是 <i>R</i> 体的 50 倍
2, 4-滴丙酸	活性不同	<i>R</i> 体高除草活性, <i>S</i> 体无除草活性
烯效唑	作用不同	<i>R</i> 体具强杀菌作用, <i>S</i> 体则主要起植物调节剂作用
丙硫磷	活性不同	<i>S</i> 体的活性是 <i>R</i> 体的 5 倍
2-甲-4-氯丙酸	活性不同	<i>R</i> 体具有高除草活性, <i>S</i> 体无除草活性

续表

药物名称	异构体关系	具体表现
氟西汀	作用不同	<i>R</i> 体抗抑郁药, <i>S</i> 体可预防偏头痛
丙胺卡因	作用不同	<i>R</i> 体可迅速水解且具有毒性, <i>S</i> 体稳定
多巴	作用不同	<i>L</i> 型有抗震颤麻痹作用, <i>D</i> 型有使粒细胞减少等副作用
沙利度胺	作用不同	<i>R</i> 体镇静剂, <i>S</i> 体致畸形剂
心得安	作用不同	<i>R</i> 体避孕, <i>S</i> 体 β -受体阻断剂
普萘洛尔	作用不同	<i>S</i> 体治疗心脏病, <i>R</i> 体避孕药

第二节 手性拆分方法

在工业生产领域, 对外消旋体进行手性拆分已有超过 100 年的历史。Pasteur 在十九世纪四十年代末, 借助显微镜实现了对酒石酸钾铵盐晶体的成功拆分, 是世界手性化合物拆分史上的首例。从此开启了人类对手性化合物拆分方法的认知。手性拆分法具有重现性较好、较为实用且方便操作等优点, 业已成为制备光学纯活性的农药及医药最为常用的方法。手性拆分方法可分为化学拆分法、结晶拆分法、微生物酶拆分法及色谱拆分法。

一、化学拆分法

化学拆分法是用纯手性试剂与对映体分子发生衍生化反应, 生成非对映体结构的分子, 利用非对映体之间物理或化学性质的不同将其分离, 再将分离后的非对映体还原得到纯的对映体, 从而实现手性化合物的拆分。但是由于此类拆分方法实际操作复杂、耗时长、拆分效率较低、适用化合物类型范围较窄, 使其应用受到了诸多限制。

二、结晶拆分法

结晶拆分法又可以分为直接结晶法拆分和非对映体结晶法拆分^[14]两种方式。直接结晶法是在特定的温度条件下，把异构体中的一种（或两种）旋光异构体以晶种的形式加入到外消旋体溶液中，使外消旋混合物从溶液里以晶态析出，进而实现分离。该方法费力费时，目前只停留在实验室研究阶段。非对映体结晶法是借助消旋化合物和天然旋光纯手性拆分试剂所产生的分子间作用力，把其中的对映体分子转变成非对映体分子，再根据非对映体分子物理性质的不同，采用蒸馏或结晶的方法将其分离。该方法大幅提高了光学纯异构体的理论收率。

三、微生物酶拆分法

微生物酶拆分法是利用酶具有的高度专一性，在一定的环境中，某些微生物酶只对对映体其中一个产生催化作用（即酶解作用的选择性），进而发生反应获得不同的化合物，实现手性化合物的拆分。微生物酶拆分法具有实际操作简便、反应条件温和且不污染环境的优点^[15,16]。伴随着多相反应器、酶的固定化等新技术的快速发展，许多酶被成功地应用到外消旋体的拆分工作中^[17]。徐刚等^[18]对不同来源的酶进行了深入的筛选，发现了产碱杆菌和诺维信脂肪酶 435 两种具有较好选择性的酶，并成功实现了对 2-氯-1-(2-噻吩)乙醇的高效分离。虽然微生物酶拆分法在手性化合物的拆分科研工作中和工业制备中均获得了很大的发展，但该法的实用性仍有一定限制，例如，适用的菌种不容易筛选和保存、酶解产物后处理比较麻烦且耗时长、制剂成本高等缺点限制了微生物酶拆分法的应用与发展。

四、色谱拆分法

目前，在手性化合物分离、分析及质量控制等科研工作中，手性色谱拆分法用于手性化合物的分离研究已然是当下应用最为广泛的一类手性化合物拆分方法，包括高效液相色谱、薄层色谱、气相色谱、毛细管电色谱、

模拟移动床色谱、超临界流体色谱、毛细管电泳等。该类方法拆分手性化合物具有准确、简便、快速、重现性稳定等优势，它不仅能够适合在实验室进行外消旋化合物的分离、检测、定性分析和定量分析等研究，同时能够满足工业化生产中进行大量分离和制备的要求。伴随着各种新型色谱手性固定相的踊跃出现以及色谱分离技术的不断更新换代，色谱手性拆分法势必成为今后手性化合物相关研究工作的主流手段。就现阶段而言，在所有色谱拆分法中，应用最广泛同时也是最具潜力的是高效液相色谱法。本章第三节将对高效液相色谱手性拆分方法作详细介绍。

第三节 高效液相色谱法

一、高效液相色谱手性固定相法

近二十多年来，高效液相色谱在研究和应用方面得到了很大的发展，在手性拆分领域占据了重要地位。高效液相色谱在常温下即可工作，不会破坏被分离物的生物活性或构型，柱容和柱效均高，在对映体拆分的实验室科研和工业生产方面极具潜力。高效液相色谱在分离对映体时常见的有两种方法，一是手性流动相法，主要是将手性试剂添加到流动相中，与被拆分的手性化合物发生反应生成非手性化合物，然后在普通色谱柱上将其分离；二是手性固定相法，将手性选择剂制成固定相，直接用于手性化合物的拆分。其中，高效液相色谱手性固定相法是当前科研及生产中进行手性化合物单体分离、分析或制备最有效的方法之一。手性固定相对于手性色谱法的研究应用有着非常重要的意义，也是手性化合物成功分离的关键所在。然而并非所有手性固定相均有着广谱手性选择能力，恰恰相反，不同类别手性固定相的对映选择性差异很大，因此合适的手性固定相的选择是关乎对映体拆分效果的关键内容。

在色谱拆分过程中，根据手性化合物与色谱手性固定相的相互作用原理，Irving Wainer 首次将二者作用机制分为以下五类。

第一类：手性固定相中的手性空穴与拆分对象形成包埋复合物。冠醚

型、螺旋型聚合物手性固定相及 Armstrong 教授研发的环糊精类手性固定相均属于这一类型^[19]。

第二类：利用氢键作用力、偶极-偶极作用力、范德华力等，使手性化合物与色谱手性固定相形成复合物实现分离。

第三类：由纤维素及纤维素衍生物制成手性固定相与手性化合物之间既有第二类中通过氢键作用力、偶极-偶极作用力、范德华力等形成的复合物，也存在包埋复合物。

第四类：基于疏水相互作用力与极性相互作用力实现对映体分离的蛋白质类手性固定相。

第五类：由 Davankov 教授^[20]研发的通过利用非对映体的金属络合物而实现对映体分离的手性固定相。

另外，依据手性固定相自身的分离机理，又可将手性固定相分为两大类，即协同型手性固定相和独立型手性固定相。

协同型手性固定相主要是指手性聚合物类固定相，如淀粉、纤维素等多聚糖，蛋白质类和各种合成的高分子化合物，等等，这一大类手性固定相的分离机理主要与其自身复杂的超分子结构有关；独立型手性固定相是指键合在硅胶球或其他基质上的每一个手性分子都具有独立的对映体选择能力，如环糊精类手性固定相、大环抗生素类手性固定相、刷型手性固定相、配体交换类手性固定相、冠醚手性固定相等。所有独立型手性固定相的手性识别机理大抵都可以用三点作用原理进行解释，此原理由 Dalglish 于 1952 年首次提出，见图 1-2。

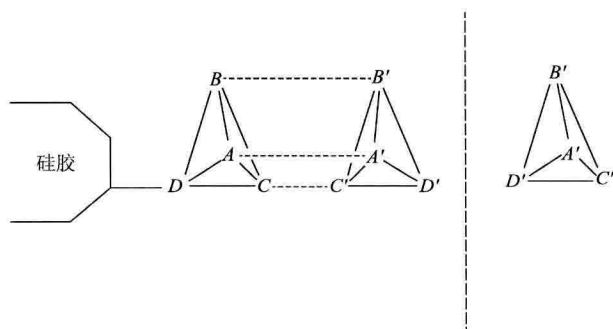


图 1-2 三点作用原理