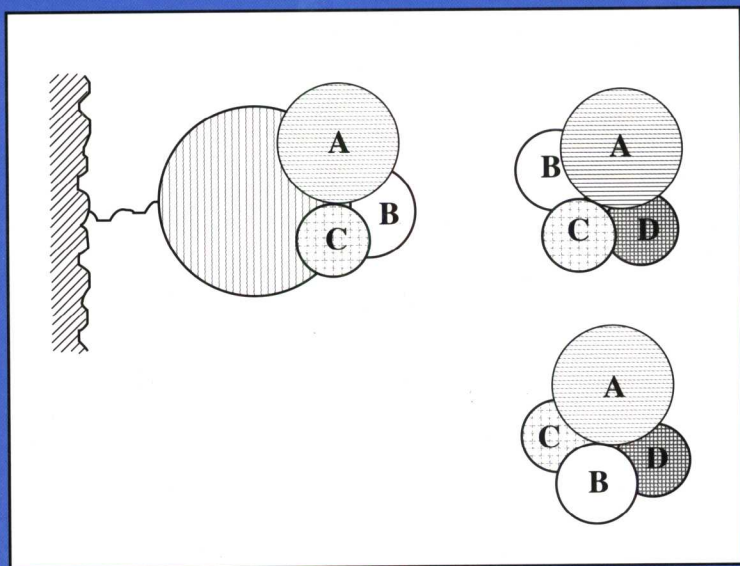


液相色谱手性分离

陈立仁 编著

CH



科学出版社

“十五”国家重点图书出版规划项目

分析化学 新方法
新技术 丛书

液相色谱手性分离

陈立仁 编著

科学出版社
北京

内 容 简 介

手性是自然界的本质属性,随着生物工程和生命科学的发展,手性分离越来越引起人们的普遍关注,液相色谱是目前手性分离最为有效的方法。本书系统论述了手性与生物活性,手性分离方法,对映异构体,液相色谱基础,手性色谱拆分机理,手性配体交换色谱,对映体的制备分离,模拟移动床色谱手性分离以及在化学剂、药物和农药对映体分离中的应用,刷型、纤维素类、淀粉类、环糊精、大环抗生素手性固定相,并介绍了作者的研究成果和国内外的最新进展。

本书可供化学、化工、药物、环保和食品分析等专业科研人员及相关专业的教师、研究生、本科生参考。

图书在版编目(CIP)数据

液相色谱手性分离/陈立仁编著. —北京:科学出版社,2006
(分析化学新方法新技术丛书)

ISBN 7-03-016976-X

I. 液… II. 陈… III. 液相色谱-液相分离 IV. O657.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 015755 号

责任编辑:杨 震 黄 海 吴伶俐 王国华 / 责任校对:包志虹
责任印制:钱玉芬 / 封面设计:陈 敬

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>

中国科学院印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2006 年 6 月第 一 版 开本: B5(720×1000)

2006 年 6 月第一次印刷 印张: 21 3/4

印数: 1—2 500 字数: 415 000

定价: 58.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈科印〉)

分析化学新技术丛书

编委会

- 顾问 周同惠 (中国科学院院士,中国医学科学院药物研究所研究员,博士生导师)
- 汪尔康 (中国科学院院士,中国科学院长春应用化学研究所研究员,博士生导师)
- 主编 程介克 (武汉大学化学系教授,博士生导师)
- 副主编 陈洪渊 (中国科学院院士,南京大学化学系教授,博士生导师)
- 常文保 (北京大学化学系教授,博士生导师)
- 邹汉法 (中国科学院大连化学物理研究所研究员,博士生导师)

前 言

21 世纪将是科学技术迅猛发展的新世纪,被称为“生物工程时代”和“高度信息化时代”。科学技术将成为经济和社会发展的首要动力。“人类有科技就有化学,化学始于分析化学。”

21 世纪分析化学将面临巨大的挑战和机遇。分析化学不断吸取化学、生物、物理和数学等传统学科的最新成就,新兴的纳米技术中微电子学、显微光学及微工程学等微加工技术,正在对分析化学带来巨大的冲击。

21 世纪分析化学将处于广泛的、深刻的、激烈的巨大变革时期,不断向微型化(纳米芯片、生物芯片及芯片实验室)、仿生化(电子鼻和电子舌等传感器)、自动化(原位及体内实时在线监测)、信息化(临床、环境及生产过程监测的网络化)的方向发展。现代分析化学已成为科学技术和经济发展的重要基础,也是衡量一个国家科学技术发展水平的主要标志之一。

1979 年以来,为了适应我国生产、教学和科学研究的需要,科学出版社已陆续出版了一套比较系统、完整的《分析化学丛书》,深受广大读者喜爱和好评,有力地推动了我国分析化学的发展。

十多年来,科学技术日新月异,分析化学新方法和新技术不断推陈出新,分析化学整个面貌已发生了巨大的变化。为了更好地适应我国生产、教学和科学研究工作的需要,及时总结国内外的最新成就和研究成果,科学出版社计划组织出版一套《分析化学新方法新技术丛书》。为此,专门成立了编委会,确定了撰写这套丛书的方针和任务;推荐高等院校和科学研究单位的分析化学专家分头撰写,由科学出版社陆续出版。

本丛书突出一个“新”字,旨在反映新方法、新技术、新进展、新应用,鼓励学科之间交叉及渗透,不拘一格,充分体现 21 世纪分析化学的先进性、前沿性、创见性和代表性。力求选题新颖,立论严谨;论据充足,结构合理;兼收并蓄,着意创新;深入浅出,文字通顺;科学性和实用性并重。

使生产、教学和科研战线上的广大读者,都能获得新理论、新知识和新技能,对工作有所帮助,以推动我国分析化学的新发展。

由于编者水平所限,经验不足,本丛书各分册中难免有缺点和错误,诚恳欢迎读者批评指正,以使这一套丛书越出越好。

《分析化学新方法新技术丛书》

编委会

序 言

相互对映、与其镜像互不重叠的分子称为手性分子,或对映异构体。除旋光性不同之外,对映体有相同的物理和化学性质。手性与人们的健康和日常生活密切相关,生命体系是手性的,蛋白质、核酸和多糖都具有与它们的功能相关的手性特征,会对药物、食品添加剂、农药、调味品和香料中的一种对映体表现出不同的响应。例如,具有镇静作用的反应停(thalidomide,沙利度胺),在20世纪60年代初被用于治疗孕妇的妊娠反应,结果导致多例畸形婴儿的出生。后来的研究表明,其有效成分为*R*型,而*S*型则具有致畸作用。据估计,当今世界常用的1850余种化学药物中,合成为1327种,其中528种为手性药物。限于分离测定技术上的困难,其中大部分对映体的疗效、药理学和药代动力学的研究还未开始,而这些手性药物中的大多数(88.5%)仍以外消旋体的形式在市场销售,这存在着极大的危险。

随着生物工程和生命科学的发展,人们对不同旋光活性的药物具有不同的生物活性的认识越来越深刻,对光学纯单一对映体的需求量不断增加,对纯度的要求也越来越高。尤其是在医药方面,获得光学纯的、毒副作用小的单一对映体药物已成为现代医药研究的一项重要内容。早在1992年,美国食品药品监督管理局(FDA)就做出了规定,要求新研制的具有不对称中心的药物,必须提供单个对映体的药理学和药代动力学实验的完整文件。市场的需求和药品管理的新规定,刺激了手性药物的研究和开发,制药领域成为手性技术的最大市场,这个市场包括手性药物制剂、手性原料药和手性中间体三部分。据统计,1993年世界手性药物制剂市场为356亿美元,比1992年增长22%;1994年达到452亿美元,比1993年增长27%;1995年为556.68亿美元,比1994年增长23%。与手性药物增长同步,手性原料药和手性中间体的市场也在增长,而且手性药物的这种发展趋势仍在不断上升,到2006年全球上市的化学合成新药中,至少有60%为单一异构体药物。广阔的应用前景和巨大的市场发展推动了手性分离的研究。

截至目前,液相色谱被认为是测定对映体纯度和分离制备光学纯单一对映体的最好的方法。它适应范围广,操作条件温和,不会发生分离物构型变化或生物活性被破坏等现象,能够同时得到100%光学纯的两种对映异构体,而且柱容量高,可用于制备分离,具有发展成为实验室和工业规模对映体制备分离技术的巨大潜力。

多年来,作者一直从事液相色谱手性分离的研究工作。本书的主要材料来自作者及其同事多年的研究成果,同时又吸收了国内外同行近年来研究的最新成就。

全书由 15 章组成,第 1、2 章对手性与生物活性及手性分离方法和对映异构体做了介绍;第 3、4 章是液相色谱基础和手性色谱拆分机理;第 5~9 章对刷型、纤维素类、淀粉类、环糊精和大环抗生素几种常用的手性固定相做了介绍;第 10 章为手性配体交换色谱;第 11、12 章为对映体的制备分离和模拟移动床色谱手性分离;第 13~15 章分别为液相色谱在化学剂、手性药物、手性农药对映体分离中的应用。

书中所涉及的有关作者及其同事的工作,先后得到中国科学院重大研究项目和百人计划项目、国家科技部基础研究快速反应项目和国家自然科学基金项目的资助,在此深表感谢!

书中部分研究内容是由曾在中国科学院兰州化学物理研究所学习和工作过的研究生完成的。他们是:博士研究生侯经国、周志强、于兆文、刘月启、张虹、韩小茜、祝馨怡、王荣、封士兰、敦惠娟、李文智、周围、李欣、王霞、罗兴平、田薇、薄海波、赵艳芳、明永飞;硕士研究生翟宗德、李秀娟、葛晋。没有他们的辛勤劳动和聪明才智,本书的完成是难以想像的。

在编写过程中,中国科学院兰州化学物理研究所的领导和有关部门给予了很大的鼓励和支持,李永民、柳春辉提供了部分资料,张红丽在资料整理和图表制作方面做了大量工作。在此表示感谢!

本书的出版得到中国科学院科学出版基金和中国科学院兰州化学物理研究所所长基金的资助,在此谨致谢意。

我们还要特别感谢科学出版社对本书的关心和支持!

液相色谱手性分离涉及范围较广,同时又是一门正在发展中的新兴学科,故本书一定会有许多不足之处,在此希望同行和广大读者批评指正。

陈立仁

2005 年 12 月于兰州

目 录

前言

序言

第 1 章 绪论	1
1.1 手性与生物活性	1
1.2 手性分离的方法	3
参考文献	5
第 2 章 对映异构体	6
2.1 引言	6
2.2 分子结构和手性	7
2.2.1 含有不对称原子的化合物	7
2.2.2 含两个或多个不相同的碳原子的手性化合物	8
2.2.3 其他类型手性分子的结构	9
2.3 手性分子的分类	11
2.4 手性分子的命名	11
2.4.1 D,L 命名法	11
2.4.2 R,S 命名法	13
2.4.3 M,P 命名法	15
参考文献	16
第 3 章 液相色谱基础	17
3.1 基本概念简介	17
3.1.1 柱效率 N, H	18
3.1.2 容量因子 k'	18
3.1.3 分离因子 α	19
3.1.4 分离度 R_s	20
3.2 液相色谱仪	21
3.3 检测方法	23
3.3.1 液相色谱常用检测器	23
3.3.2 旋光检测器	25
参考文献	27
第 4 章 手性色谱拆分机理	28

4.1 “三点相互作用”理论·····	28
4.2 过渡金属配合物·····	29
4.3 电荷转移作用·····	29
4.4 包合作用·····	30
4.5 温度效应·····	32
参考文献·····	33
第5章 刷型手性固定相 ·····	35
5.1 引言·····	35
5.2 刷型手性固定相的发展·····	36
5.2.1 9Ac 固定相·····	36
5.2.2 二硝基苯甲酰基氨基酸固定相·····	37
5.2.3 乙内酰脲衍生化固定相·····	38
5.2.4 2-芳基酰胺烃基固定相·····	39
5.2.5 N-芳基氨基酸衍生化固定相·····	41
5.2.6 邻羟甲基苯甲酸内酯衍生化固定相·····	41
5.2.7 目标设计手性固定相·····	42
5.3 刷型手性固定相的类型·····	47
5.3.1 π -给体和 π -受体固定相·····	47
5.3.2 氢键手性固定相·····	54
参考文献·····	56
第6章 纤维素手性固定相 ·····	58
6.1 引言·····	58
6.1.1 纤维素的一般性质·····	58
6.1.2 纤维素衍生化·····	59
6.2 纤维素-三(苯甲酸酯)手性固定相·····	62
6.2.1 固定相的制备·····	63
6.2.2 对映体分离·····	63
6.3 纤维素-三(4-甲基苯基甲酸酯)手性固定相·····	65
6.3.1 固定相的制备·····	65
6.3.2 对映体拆分·····	65
6.4 纤维素-三(苯基氨基甲酸酯)手性固定相·····	67
6.4.1 固定相的制备·····	68
6.4.2 对映体拆分·····	68
6.5 纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)手性固定相·····	71
6.5.1 固定相的制备·····	72

6.5.2 对映体拆分	73
参考文献	75
第7章 淀粉手性固定相	78
7.1 引言	78
7.2 直链淀粉-三(苯基氨基甲酸酯)手性固定相	80
7.2.1 固定相的制备	80
7.2.2 对映体拆分	80
7.3 直链淀粉-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)手性固定相	84
7.3.1 固定相的合成	85
7.3.2 对映体拆分	85
7.4 支链淀粉-三(苯基氨基甲酸酯)手性固定相	94
7.4.1 固定相的制备	94
7.4.2 手性分离	94
7.5 支链淀粉-三(苯基甲酸酯)固定相	101
7.5.1 固定相的制备	101
7.5.2 对映体拆分	101
参考文献	103
第8章 环糊精手性固定相	105
8.1 引言	105
8.2 环糊精键合固定相	107
8.2.1 键合方式	107
8.2.2 β -环糊精键合相	109
8.2.3 环糊精键合相的保留机理	112
8.2.4 手性选择性	114
8.2.5 流动相的选择	122
8.3 多作用 β -环糊精手性固定相	123
8.3.1 多作用固定相的制备	123
8.3.2 色谱特性	124
8.3.3 流动相组成对保留和分离的影响	126
8.3.4 对映体选择性	128
8.3.5 对映体分离	129
参考文献	134
第9章 大环抗生素手性固定相	137
9.1 引言	137
9.2 大环抗生素的结构和物理化学性质	137

9.2.1 糖肽类	138
9.2.2 安莎霉素类	139
9.2.3 多肽与氨基糖苷类	141
9.3 大环抗生素手性固定相的制备	142
9.4 大环糖肽类抗生素手性固定相的特性	142
9.4.1 多模式手性固定相	142
9.4.2 预测对映体选择性	143
9.4.3 互补分离	143
9.5 分离条件的选择	145
9.5.1 流速、温度对映体分离的影响	145
9.5.2 新极性有机模式的优化	146
9.5.3 反相对映体分离条件的优化	147
9.5.4 正相对映分离和优化	151
9.6 大环抗生素手性固定相的对映拆分举例	152
参考文献	154
第 10 章 手性配体交换色谱	157
10.1 引言	157
10.2 手性配体交换色谱固定相	158
10.2.1 手性配体交换色谱涂覆固定相	158
10.2.2 以聚合物为载体的手性配体交换色谱键合固定相	159
10.2.3 以硅胶为载体的手性配体交换色谱键合固定相	161
10.2.4 手性配体交换色谱流动相法	165
10.3 手性配体交换色谱的手性识别机理	166
10.4 手性配体交换色谱的影响因素	170
10.4.1 手性选择剂的影响	170
10.4.2 中心金属离子的影响	170
10.4.3 温度的影响	170
10.4.4 流动相 pH 对分离的影响	171
10.4.5 有机改性剂的影响	171
10.4.6 介质的影响	171
参考文献	172
第 11 章 对映体制备分离	175
11.1 引言	175
11.2 分离模式	176
11.2.1 迎头色谱法	177

11.2.2 顶替色谱法	177
11.2.3 冲洗色谱法	178
11.3 色谱柱尺寸的选择	178
11.4 制备分离常用的手性固定相	180
11.4.1 固定相类型	180
11.4.2 手性固定相的样品容量	181
11.5 流动相的选择	182
11.5.1 流动相与保留时间和立体选择性	182
11.5.2 流动相与手性样品的溶解性	183
11.6 不同类型手性化合物的制备分离	184
11.6.1 手性药物对映体	184
11.6.2 农药和信息素	190
11.6.3 手性合成纤维、手性助剂和手性固定相前体	192
11.6.4 手性 NMR 溶剂	196
11.6.5 机理研究的手性化合物	197
11.6.6 手性杂原子化合物	198
11.6.7 丙二烯和螺旋衍生物对映体	200
11.6.8 阻旋手性化合物	202
11.6.9 平面手性化合物对映体	203
11.6.10 螺旋形或螺旋桨(推进器)形手性化合物	205
11.6.11 手性金属茂	208
参考文献	209
第 12 章 模拟移动床色谱手性分离	215
12.1 引言	215
12.2 模拟移动床色谱的分离原理	215
12.2.1 真实移动床色谱的分离原理	215
12.2.2 模拟移动床的原理	218
12.3 操作条件	220
12.3.1 获得相关的物理化学参数	220
12.3.2 真实移动床的计算	221
12.3.3 模拟移动床的计算	223
12.4 工艺设计举例	224
12.4.1 采集物理化学参数	224
12.4.2 模拟移动床:线性条件	227
12.4.3 模拟移动床:非线性条件	228

12.5 模拟移动床制备手性化合物的应用实例·····	230
12.5.1 模拟移动床分离 1-苯基-1-丙醇·····	233
12.5.2 三种外消旋药物对映体的制备分离·····	240
参考文献·····	247
第 13 章 化学剂的手性分离 ·····	250
13.1 氨基酸及其衍生物对映体的分离·····	250
13.1.1 氨基酸对映体的分离·····	250
13.1.2 阿托 α, α -双取代- β -氨基酸对映体的分离·····	252
13.2 二肽的手性分离·····	255
13.3 半合成麦角碱对映体的分离·····	257
13.4 环戊烯酮对映体的分离·····	261
13.5 手性四面体金属簇合物的拆分·····	264
参考文献·····	272
第 14 章 手性药物对映体的分离 ·····	274
14.1 β -受体阻滞剂药物类及其结构类似物的对映体分离·····	274
14.1.1 在去甲万古霉素手性固定相上的分离·····	274
14.1.2 在 Chiralcel OD 柱上的分离·····	276
14.2 多手性中心药物对映体的分离·····	279
14.2.1 两个手性中心药物对映体分离的例子·····	279
14.2.2 多个(多于 2 个)立体中心药物对映体分离的例子·····	282
14.3 人血和尿中双异丙吡胺及其代谢物——单- <i>N</i> -脱烷基异丙吡胺对映体的分析·····	283
14.4 多维高效液相色谱法测定人血中的潘托普拉咪唑对映体·····	286
14.5 非手性-手性高效液相色谱测定尿中叔丁喘宁对映体·····	289
14.6 固相萃取 HPLC 法同时测定血浆中兰索咪唑对映体及其代谢物·····	291
14.7 用半制备 HPLC 法制备阿苯达唑亚砷单一对映体·····	295
14.8 液相色谱法分离和半制备雷啉嗪·····	298
14.8.1 对映体分析 HPLC·····	299
14.8.2 对映体半制备 HPLC·····	300
参考文献·····	303
第 15 章 手性农药对映体的分离 ·····	305
15.1 五种手性有机氯农药和相关化合物的对映体的分离和半制备·····	305
15.1.1 分析分离·····	306
15.1.2 制备分离·····	307

15.2 有机磷农药对映体的分离·····	310
15.2.1 色谱柱和检测器·····	311
15.2.2 色谱柱的选择·····	311
15.2.3 流动相组成、流速、和柱温的优化·····	314
15.3 手性三唑类农药对映体的分离·····	315
15.3.1 分离条件选择·····	316
15.3.2 最佳条件下的手性分离·····	319
15.4 草和土壤中乙氧苯并呋喃磺酸酯除草剂的立体选择性降解·····	320
15.4.1 样品的制备·····	321
15.4.2 HPLC 分离·····	321
15.4.3 草坪草中的立体选择性降解·····	322
15.4.4 土壤中的立体选择性降解·····	323
15.5 用基质固相分散法和液相色谱法测定土壤中苯硫磷酸酯及其对映 体比率·····	324
15.5.1 样品预处理·····	324
15.5.2 对映体分离·····	325
15.5.3 土壤中苯硫磷酸酯对映体选择性降解的测定·····	326
参考文献·····	327

第 1 章 绪 论

1.1 手性与生物活性

像手一样与其镜像不能叠合的分子叫手性分子(chiral molecule),手性分子和它的镜像互为异构体。物体与其镜像不能叠合,这种现象叫做手性(chirality,来自希腊语“cheir”,意指手,它们像一双手)。分子中含有不对称碳原子(相连有四个不相同的原子或基团),就可能有手性,这种化合物就可能有对映体。

手性是人类赖以生存的自然界的本质属性之一。生命现象中的化学过程都是在高度不对称的环境中进行的。生物大分子如蛋白质、多糖、核酸等,全都有手征性。除细菌等以外的蛋白质都是由左旋的 L-氨基酸组成;多糖和核酸中的糖则是右旋的 D 构型;在机体的代谢和调控过程中所涉及物质,如酶和细胞表面的受体,一般也都具有手性,它们在生物体内造成手性环境。正是这种立体化学的手性特征,使生命体系通常对药物、杀虫剂或味觉化合物中的一对对映体(光学异构体)表现出不同的生物反应。表 1.1 列出了人们对一些萜烯和氨基酸对映体的味觉和嗅觉的反应^[1-3]。表 1.1 中列出的大多数 D 型氨基酸都具有甜味, L 型氨基酸或无味或味苦,而谷氨酸的 D 型却是苦味或无味, L 型的味道鲜美。

表 1.1 某些萜烯和氨基酸对映体的味觉

萜 烯	绝对构型	气 味	氨 基 酸	对映体味觉	
				D	L
香芹酮	(R)-(-)-	薄荷味	天冬酰胺	甜	无味
			组氨酸	甜	无味
香芹酮	(S)-(+)-	蒿 味	异亮氨酸	甜	苦
			亮氨酸	甜	苦
苧 烯	(R)-(+)-	橙汁味	色氨酸	甜	无味
			酪氨酸	甜	苦
苧 烯	(S)-(-)-	柠檬味	6-氯色氨酸	甜	无味
			谷氨酸	苦或无味	鲜美

手性药物进入生物体内后,其药理作用多与它和体内靶分子之间的手性匹配和分子识别能力有关。因此含手性的药物,不同对映体显示出不同的药理作用和毒副作用。已发现很多手性化合物的对映异构体具有不同的生理活性。如 D-苯

异丙胺是一种十分有效的中枢神经兴奋剂,而它的异构体则几乎没有药效,普萘洛尔(propranolol,心得安)的 L-异构体比 D-异构体的生物活性高 100 倍。有些手性药物的两种对映体有完全不同的药理作用,如曲托喹酚(tretoguinol,喘速宁)的 (S)-异构体是支气管扩张剂,(R)-异构体则有抑制血小板凝聚的作用。有些对映体还会引起毒副作用,一个灾难性的例子是反应停(thalidomide,沙利度胺)(对映体结构如图 1.1 所示)的使用。沙利度胺早在 1960 年开始用作镇静和安眠药,用于治疗妊娠期的不良反应。但后来发现,怀孕早期的妇女服用此药会引起胎儿严重畸形,使该药停止使用。1979 年发现,仅 (R)-(+)-对映体沙利度胺具有镇静和安眠作用,而 (S)-(-)-对映体对胎儿有致畸作用^[4],而且这种对映体对镇静或安眠作用并不重要。因此,如果单独服用 (R)-(+)-对映体,就不会产生致畸作用,这种药或许还可能继续使用。表 1.2 列出了一些药物光学异构体的生理活性。

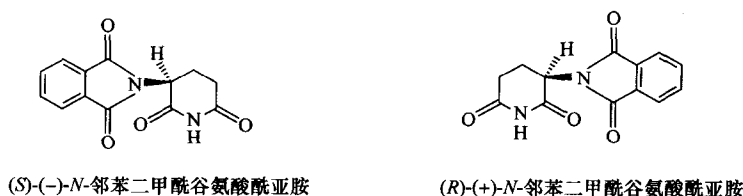


图 1.1 反应停的两种构型

表 1.2 某些光学异构体化合物的生理活性

种类/名称	活 性
药物	
反应停(thalidomide)	(R)-(+)-构型具有镇静安眠作用,(S)-(-)-构型对婴儿有致畸作用
乙胺丁醇(ethambutol)	(S),(S)构型有抗结核菌作用,(R),(R)构型可导致失明
心得安(propranolol)	外消旋体用于药物,但只有(S)-(-)-异构体有理想的肾上腺素功能药物的活性
华法令(warfarin)	(S)-(-)-异构体的抗血凝效果是(R)-(+)-异构体的 5 倍
苯异丙胺(amphetamine)	D 型是中枢神经兴奋剂,L 型几乎没有这种药效
食物	
天冬酰胺(asparagine)	D 型为甜味,而 L 型为苦味
香芹酮(carvone)	(R)-(-)-型为薄荷味,(S)-(+)-型为蒿味
维生素	
抗坏血酸(ascorbic acid,维生素 C)	(+)-异构体有好的抗坏血作用,而(-)-异构体则无这种作用

手性化合物对映体生物活性的差别说明对药物、农业和食品及其他化学品测定对映体组成和纯度的重要性^[2]。目前,大约有 60% 以上的处方药分子中含有一