

环糊精类固定相 的制备及应用研究

刘润强 张裕平 柏连阳/著



.1



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）

环糊精类固定相的制备及应用研究

刘润强 张裕平 柏连阳 著

科学出版社

北京

内 容 简 介

为了建立多种手性农药准确、快速、灵敏的分离方法,开发经济、高效、低毒、无毒副作用的环境友好型单一光化学活性手性农药,本书介绍了高效液相色谱和毛细管电色谱技术在手性农药拆分上的应用。结合手性拆分机理,本书合成与制备了几种针对性强、适用性广、成本低廉、稳定性高、分离能力强且制备过程更为环保的环糊精类手性选择剂,借助高效液相色谱和毛细管电色谱技术对多种手性农药进行了拆分研究。

本书适合从事农药分析与加工的科研人员、行政管理人员及农药企业管理人员阅读,也可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

环糊精类固定相的制备及应用研究 / 刘润强, 张裕平, 柏连阳著. —北京: 科学出版社, 2016.6

ISBN 978-7-03-048571-7

I. ①环… II. ①刘… ②张… ③柏… III. ①环糊精-固定相-制备 IV. ①0636.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 123333 号

责任编辑: 贾 超 李 洁/责任校对: 贾伟娟

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>

北京中石油彩色印刷有限责任公司 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 7/8

字数: 150 000

定价: 68.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

前 言

世界农药市场中的手性农药占 40%左右, 长期以来, 无论是在农药的作用机理研究方面还是生态环境方面, 人们多将外消旋体视为单一化合物。然而, 实践证明, 手性农药通常具有一个或多个手性中心, 手性农药的对映体间虽然在非手性环境下理化性质相同, 但其不同对映体的活性大多差异较大, 无效或低效对映体在施用中不仅直接使农产品中的农药残留量增大或者使农作物产生抗药性或药害, 而且使环境受到污染。随着农药品种的快速增多, 手性农药的市场年增长率处在 10%~15%。众所周知, 只包含对靶标具有活性的单一异构体的手性农药具有药效高、对作物与生态环境更安全、产品效果好、储存与运输量减少、价格低等特点, 越来越受到人们的重视, 已成为当前农药发展的重要方向。

环糊精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。实现手性农药对映体的主要分离方法有高效液相色谱和毛细管电色谱, 其原理是利用手性固定相和一对对映体之间形成稳定性有差异的非对映体分子络合物, 在高压或电渗流产生的推动力作用下, 最终实现手性分离。

本书由刘润强、张裕平、柏连阳著, 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, 内容全面具体, 条理清晰, 有很强的应用性。本书针对手性农药拆分问题, 结合对靶标具有活性的单一异构体的手性农药生产实际情况, 将 α 、 β 和 γ -环糊精分别键合在粒径为 10 μm 的中孔硅胶球表面, 制备了键合型 α 、 β 和 γ -环糊精手性固定相, 用匀浆法制备了键合型 α 、 β 和 γ -环糊精手性色谱柱; 对 α 、 β 和 γ -环糊精手性固定相进行了表征, 利用上述三种类型色谱手性柱对 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。另外,本书合成了甲基丙烯酸缩水甘油酯- β -环糊精,经分离、纯化、表征后,将其作为功能单体制备了毛细管电色谱有机聚合物整体柱,并对配方组成物质的比例、聚合时间、聚合温度等进行了优化;考察了运行电压、缓冲液 pH 及乙腈含量对手性农药拆分效果的影响。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) 以醚键连接的方式制备了 α -环糊精、 β -环糊精两种键合固定相,并对其进行了表征。在高效液相色谱反相模式下,比较了自制的 α -环糊精键合手性柱及 β -环糊精键合手性柱对 5 种农药的拆分能力,在此基础上深入研究了 β -环糊精键合手性柱在拆分 4 种手性农药过程中的影响因素。研究发现, α -环糊精手性柱对噻螨酮有微弱拆分,而对戊唑醇、多效唑、烯唑醇和己唑醇无拆分; β -环糊精手性柱对戊唑醇、多效唑、烯唑醇和己唑醇具有一定的拆分能力,但对噻螨酮无拆分; β -环糊精手性固定相拆分能力优于 α -环糊精手性固定相。随着流动相中乙腈含量的降低,分离因子和分离度均增大,使所拆分农药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。 β -环糊精手性固定相对烯唑醇和己唑醇的拆分效果好于戊唑醇和多效唑。随着流速的降低,戊唑醇、多效唑、烯唑醇和己唑醇的保留因子、分离因子、分离度都有逐渐增大的趋势,其中烯唑醇分离度增大的趋势最为明显;在 25~45 $^{\circ}\text{C}$ 范围内的手性拆分多效唑、烯唑醇和己唑醇是焓控制的,戊唑醇既不是焓控制也不是熵控制。

(2) 以醚键连接的方式制备了 γ -环糊精键合固定相,通过红外和元素分析对合成的手性固定相进行了表征。在高效液相色谱反相模式下,研究了流动相组成、流速和温度对多效唑和烯唑醇的手性分离的影响。结果表明, γ -环糊精键合固定相对多效唑和烯唑醇分离能力较弱;在 25 $^{\circ}\text{C}$ 及流速为 1.0 mL/min 的条件下,多效唑和烯唑醇在流动相水/乙腈(体积比)=90/10 时,分离度分别为 0.58 和 0.57。随着流动相中乙腈含量的降低,分离因子和分离度均增大。随着流速的降低,两种农药的分离度都有逐渐增大的趋势。对于手性农药多效唑和烯唑醇,在 20~40 $^{\circ}\text{C}$ 的手性拆分是焓控制的。

(3) 以甲基丙烯酸缩水甘油酯- β -环糊精为功能单体, 乙二醇二甲基丙烯酸酯为交联剂, 2-丙烯酰胺-2-甲基丙磺酸为电渗流改性剂, 偶氮二异丁腈为引发剂以及由二甲基亚砷、正丙醇和 1,4-丁二醇组成的三元致孔剂, 采用原位聚合法成功地制备了甲基丙烯酸缩水甘油酯- β -环糊精有机聚合整体柱。在毛细管电色谱模式下, 研究了操作电压、缓冲液 pH、乙腈含量等对己唑醇、抑霉唑和戊唑醇手性拆分的影响。在柱温为 25℃ 的条件下, 以 50 mmol/L 的乙酸铵溶液作为缓冲液, 进样时间为 6 s, 进样压力为 10^6 Pa, 对己唑醇、抑霉唑和戊唑醇进行了拆分研究。最佳拆分条件和分离度分别为: 己唑醇的电压为 15 kV, pH 为 5.0, 乙腈含量为 30%, 分离度为 1.21; 抑霉唑的电压为 15 kV, pH 为 4.0, 乙腈含量为 30%, 分离度为 1.51; 戊唑醇的电压为 10 kV, pH 为 5.0, 乙腈含量为 50%, 分离度为 1.90。

手性对映体分离研究发展迅速, 限于著者的专业水平, 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 高效液相色谱法及毛细管电色谱法在手性拆分中的应用	1
第一节 手性药物单体获得的重要性与迫切性	1
第二节 获得手性药物单体的方法	4
一、手性药物单体的不对称合成	4
二、手性药物单体的生物催化合成	5
三、手性药物单体的直接拆分	6
第三节 色谱手性拆分法	12
一、薄层色谱拆分法	12
二、逆流色谱拆分法	13
三、超临界流体色谱拆分法	13
四、毛细管电泳拆分法	14
五、气相色谱拆分法	14
六、高效液相色谱拆分法	15
第四节 高效液相色谱法	15
一、高效液相色谱手性固定相法	15
二、液相色谱固定相对手性农药分离的研究进展	25
第五节 毛细管电色谱法	30
一、毛细管电色谱简史	30
二、毛细管电色谱基本理论	31
三、毛细管电色谱柱制备技术	34
四、毛细管电色谱在手性分离中的应用	39
第二章 高效液相色谱 α -环糊精和 β -环糊精手性固定相的制备及反向条件下对手性农药的拆分研究	43
第一节 材料与方法	44
一、仪器与试剂	44
二、样品	45

三、色谱条件及色谱参数的确定	45
四、固定相的合成	47
五、产品表征	48
六、固定相装柱	48
第二节 结果与分析	48
一、固定相的表征	48
二、手性柱对五种农药对映体拆分的影响	50
三、流动相中乙腈含量对所选四种农药对映体拆分的影响	52
四、不同的流速对样品手性拆分的影响	54
五、手性柱柱温对样品手性拆分的影响	55
第三节 讨论	60
第三章 高效液相色谱 γ -环糊精手性固定相的制备及反相条件下对手性农药的拆分研究	63
第一节 材料与方法	64
一、仪器与试剂	64
二、样品	64
三、色谱条件及色谱参数的确定	65
四、固定相的合成	65
五、产品表征	66
六、固定相装柱	66
第二节 结果与分析	66
一、固定相的表征	66
二、流动相中乙腈含量对农药多效唑、烯唑醇对映体拆分的影响	67
三、不同的流速对样品手性拆分的影响	68
四、手性柱柱温对样品手性拆分的影响	70
第三节 讨论	72
第四章 甲基丙烯酸缩水甘油酯- β -环糊精有机聚合毛细管整体柱用于拆分手性农药的研究	75
第一节 材料与方法	76
一、仪器与试剂	76

二、样品	77
三、甲基丙烯酸缩水甘油酯- β -环糊精的制备	77
四、甲基丙烯酸缩水甘油酯- β -环糊精整体柱的制备	78
五、考察整体柱的制备条件	79
六、甲基丙烯酸缩水甘油酯- β -环糊精整体柱的结构表征	81
七、电色谱运行条件的选择	81
八、溶液的配制	82
第二节 结果与分析	82
一、考察整体柱的制备条件	82
二、甲基丙烯酸缩水甘油酯- β -环糊精整体柱的表征	86
三、甲基丙烯酸缩水甘油酯- β -环糊精毛细管电色谱整体 柱的应用	88
四、考察整体柱重现性和稳定性	94
第三节 讨论	95
参考文献	99
致谢	115

第一章

高效液相色谱法及毛细管电色谱法 在手性拆分中的应用

第一节 手性药物单体获得的重要性与迫切性

现代社会发展日新月异，越来越多的手性药物被应用到农业化工和食品药品等领域，其对映体的分离一直是众多科研人员的研究热点。人们逐渐了解到对映体通常在手性条件下呈现不同的生物活性和药理反应，在非手性条件下却有着同样的物理和化学性质，因此手性药物单体的获得向来都是一项难题^[1]。

科学知识普及至今，生物酶之于生命体内所有生命活动的重要意义毋庸置疑，识别底物并与之相互作用，进而在很大程度上影响有机体内药物的生物活性表现、代谢降解过程等^[2]。然而，外消旋体药物分子结构中的不同手性单体在被有机体吸收、代谢等过程中大多会产生不同的活性表现力，甚至出现截然相反的作用效果。由于人类早期科技发展水平

的局限，手性药物所包含的不同单体在生命体内尤其是哺乳动物体内的吸收、代谢等过程中具体的、数据化的差异性表现情况是空白的，而这种空白的存在使得人类为之付出了血的代价。药剂沙利度胺，俗名“反应停”，属手性药物，二十世纪六十年代前后被应用于治疗孕妇因妊娠引致的呕吐反应，这一盲目的使用直接酿成了欧洲一万多名婴儿畸形的历史惨剧。之后，相关的研究才揭示了该药物之所以酿此悲剧的根本原因，沙利度胺为手性药物，其 *R* 体具镇静作用，*S* 体引致婴儿畸形，如图 1-1 所示。基于此，针对手性药物单体的科学研究才开始引起世人重视。美国食品药品监督管理局在总结了手性药物临床经验与教训的基础上，于 1992 年 5 月颁发了手性药物使用指导原则，加拿大健康防护部门于 1993 年 11 月公布了有关手性药物开发的简要指南，等等。

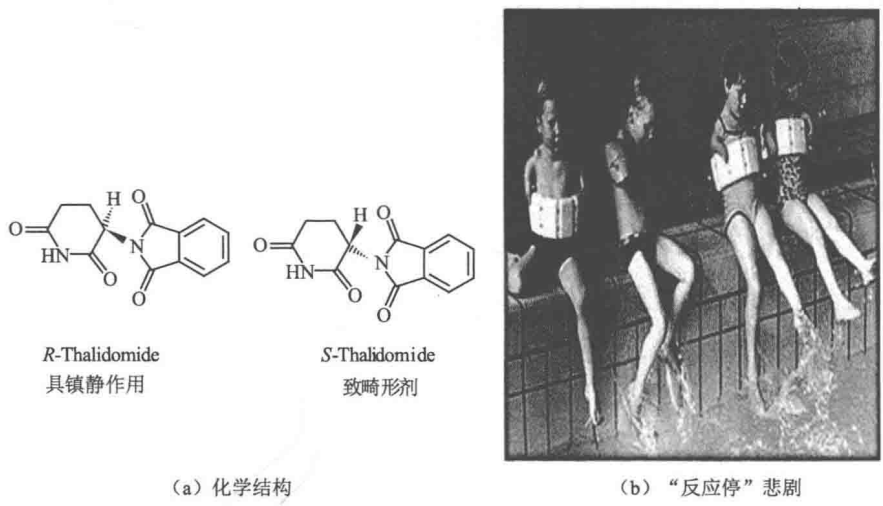


图 1-1 沙利度胺的化学结构和因之酿造的悲剧

自 1939 年第一次人工合成有机氯杀虫剂滴滴涕,有机合成农药在保护农作物、控制人畜疾病方面起到了重要作用。时至今日，植物源和生物源农药已被开发出来，但有机合成农药依然是人类处理病虫害的主要武器。随着农药的深入使用，人们对农药的使用越来越讲求科学、规范。为提高农产品质量，2008 年国务院批准决定停止甲胺磷等五种高毒农药的生产、流通、使用；农业部第 747 号公告加强对含有八氯二丙醚的农药产品

的管理，自 2008 年 1 月 1 日起，不得销售含有八氯二丙醚的农药产品；农业部第 1586 号公告禁限用苯线磷、硫丹等 22 种农药。为顺应科学发展观，追求人与自然和谐发展，深入系统地研究手性农药的生物活性、毒性以及降解显得极为必要。

经研究发现，多数手性农药具有一个或多个手性中心^[3]，许多手性农药单体的药效有显著差异，低效和无效单体的使用会导致环境污染、降低药效、增加农药残留量，甚至产生药害或病害等问题^[4]。例如，国内杀菌剂市场占有率达 50% 的三唑类杀菌剂，一般有一个或两个手性中心，存在两个或四个对映单体，生物活性差别较大，并且不同的手性单体之间生物活性不同，使得混合体中高效对映单体不能充分发挥效力，而三唑类杀菌剂以单一旋光异构体形式销售鲜有报道。常见手性农药与手性医药不同单体间的活性差异见表 1-1^[5-7]。单一对映体农药药效高，有利于环境安全，被广大人民群众所认可，因此，仅含单一对映体的农药研发已成为现代农药领域的重要发展方向之一。

表 1-1 常见手性农药与手性医药单体的活性差异

手性药物名称	手性单体关系	具体表现
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
甲霜灵	活性不同	<i>R</i> 体杀菌活性大大高于 <i>S</i> 体
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
烯唑醇	作用不同	<i>R</i> 体表现较强的杀菌作用， <i>S</i> 体主要起植物调节剂作用
普罗帕酮	作用不同	右旋有较强的 β -受体阻断作用，左旋无
丙胺卡因	作用不同	<i>R</i> 体可迅速水解具有毒性， <i>S</i> 体稳定
布比卡因	作用不同	左旋体有局部血管收缩作用，并可延长麻醉效果，右旋无
氟西汀	作用不同	<i>R</i> 体抗抑郁药， <i>S</i> 体可预防偏头疼
氯胺酮	作用不同	<i>R</i> 体致幻剂， <i>S</i> 体麻醉剂

科技发展日新月异，手性分离分析、手性合成等相关科学研究工作也不断加速向前推进，仅含单一异构体、高活性的光学纯农药商品已逐

步问世，如 *R*-烯唑醇、*R*-己唑醇等^[8, 9]。手性科学工作者用科学研究成果为人类健康谋福祉，努力推动手性农药单体的研创工作，同时，也为落实我国农业部《到 2020 年农药使用量零增长行动方案》做出了非常积极的贡献。

第二节 获得手性药物单体的方法

手性现象普遍存在于医药研发、农药研发，以及香料、食品添加剂等生活的各个领域，彼此相互作用推动了手性技术的发展，其中制药工业的不断进步对手性技术的推进意义更为显著^[10, 11]。主要原因在于，新研发的活性药物前体往往是手性的，且其不同手性单体在生物活性、毒理学、环境化学等过程中大多表现出细微或显著的选择性差异。因此，对不同手性药物单体进行深入的生物学与毒理学试验之前，成功地获得手性药物单体的方法就显得尤为重要，这也是目前手性研究领域的重要研究方向之一。当前，获得手性药物单体的方法主要有以下三种，手性药物单体的不对称合成、手性药物单体的生物催化合成和手性药物单体的直接拆分。

一、手性药物单体的不对称合成

不对称合成，亦即对映选择性合成，主要研究内容是向反应物中引入一个或多个手性元素。按照 Morrison 和 Masler 的定义^[12]，不对称合成的目的是将潜手性元素改造为手性元素，产出不等量的对映异构体产物。手性药物单体的不对称合成是近年来新兴的手性技术，也是学术研究中的热点课题之一，相关实例不断出现在一些学术研究成果中，其中合成方法主要包括不对称氧化反应^[13]、不对称还原反应^[14]、不对称羟氰化反应、对称烷基化反应、不对称缩合反应^[15]等。不对称合成的目的主要是获得光学纯的药物单体，同时达到高度的对映选择性或非对映选择性，判断是否成功合成的标准主要有以下五点：

(1) 既定制备方法不但可以制备得到 *R* 型单体, 还可制备得到 *S* 型单体, 即手性药物的不同单体可以分别被制备出来;

(2) 制备方法能诱导获得高度的对映选择性或非对映选择性;

(3) 整个制备过程反应速率较高;

(4) 制备过程中的相关助剂、溶剂等试剂成本较低, 且最好可以循环使用;

(5) 催化型反应, 需要获得较高的催化剂/底物的物质的量比。

进行不对称合成的过程中存在很多问题, 较为突出的有以下几点: 催化剂 (配体) 的分离回收和重复利用, 反应产物的有效分离, 等等。

二、手性药物单体的生物催化合成

生物催化合成是指利用生物酶或细胞、细胞器等具有生命活性的机体作为催化剂以促进化学转化的过程。微生物是该催化过程中最常用的生命活体, 其催化本质是利用体内活性酶作为主要催化动力, 促进转化过程的完成。酶是生物体内微量、高效、特异性强的催化物质, 可以大幅提升化学反应速率, 该类催化反应具有区域选择性和立体选择性。整个酶催化反应过程可以在室温、酸碱中性或接近中性等温和条件下进行, 这样的温和条件有利于减少产物产生异构化、重排、消旋化或分解等问题, 且反应产物单体的过量率可能达到 100%。生物催化合成法是一种污染较小甚至无污染且能耗低的环境友好型手性单体制备方法, 该法将为绿色化工、绿色农业做出积极且富含意义的贡献^[16]。因此, 生物催化合成法非常适合于医药、农药、食品等精细化工产品的制备。就现阶段而言, 手性药物单体的生物催化合成步骤, 尤其涉及手性化学反应时, 多采用微生物细胞或纯游离的活性酶参与反应, 结合化学合成方法实现优势互补。然而该法的应用存在一定的局限性, 主要问题在于生物酶具有高度识别特异性天然底物的特点, 而无法有效识别非特异性底物, 该特点的存在是制约其发展的主要原因。这一问题的存在致使许多生物学家、有机化学家投身于此领域进行深入的研究工作。

三、手性药物单体的直接拆分

在手性药物的研发和制备过程中，通常会获得等量的对映异构单体分子所混合形成的外消旋体。手性拆分，是以获得光学纯的手性药物单体为目的，借以各种方法，直接将外消旋药物的各单体分开，该制备方法是目前获得光学纯的手性单体的重要途径。历经百年传承与不断的开拓发展，手性拆分法已具备操作方法便捷、重现性良好及实用性强等明显优势，俨然已成为化学、生物、食品、环境安全等众多科学研究领域以及大规模工业生产实践等过程中不可或缺的技术手段。手性拆分的机理可以概括为借助物理、化学、生物或者三者有机结合的方法，使外消旋药物的不同单体间产生作用力的差异，从而实现有效分离。具体的手性拆分方法可以分为以下六类：萃取拆分法、包合和复合拆分法、微生物酶拆分法、结晶拆分法、膜拆分法、色谱拆分法。

1. 萃取拆分法

萃取拆分法凭借手性药物与萃取剂因彼此间亲和和作用力的差异而形成非对映异构体或配位螯合物的特性，继而通过外消旋药物在萃取剂和溶剂两相中分配行为的差异而得到有效分离。该法具有可以高效、连续、廉价地进行外消旋药物规模化拆分的潜力。区别于传统溶剂萃取法，该方法要求待拆药物本身是外消旋体外，溶剂与萃取剂二者其一需有旋光性，因此萃取剂的选择对于拆分结果十分关键。该法的应用局限在于针对不同类别的靶标手性药物，选择合适的萃取剂和拆分方法很困难^[17, 18]。

2. 包合和复合拆分法

复合拆分法和包合拆分法二者均是通过手性化合物与手性拆分剂之间化学相互作用力的差异而实现手性拆分目的的，如氢键、范德华力等，这类拆分方法解决了被拆分物结构中没有明显可以利用的官能团这一问题。

包合拆分法的具体拆分原理是利用手性拆分剂与外消旋药物彼此间相互作用的非共价键体系而产生包结现象，最终以产生结晶的方式实现手性药物的单体拆分。包合拆分过程中主体分子（拆分剂）结构中含

有能够包合一定大小和形状客体分子（手性药物）的空穴，彼此相互作用而形成非对映异构体包合物。常见的包合物类型主要是笼状包合物及洞穴包合物。脲与三邻百里香酚酸交酯是笼状包合物类拆分中常用的拆分剂；环糊精类和手性环状多元醚（如冠醚）是洞穴包合物类拆分中常用的拆分剂。

复合拆分法主要用于分离含有 π - π 电子的芳香族化合物、烯烃、富有孤电子对元素等的手性化合物（如有机磷化物、有机砷化物、有机硫化物等）。在进行复合拆分的过程中，芳香族化合物以及烯烃的大 π 电子可以与含 π 电子的手性试剂相互作用而形成电子转移复合物或与手性有机金属配合物形成配位复合物，由于这些形成的复合物具有非对映异构体的特点，因而它们得以很好地分离。同时，含有砷、磷和硫等元素的手性化合物，其电子空轨道或含有的孤对电子可以与路易斯酸性或路易斯碱性的手性试剂形成复合物，从而最终实现该类手性化合物的分离。

3. 微生物酶拆分法

微生物酶拆分法是利用生物酶促反应将外消旋药物转化成光学纯的手性单体的方法。该法利用生物酶具有高度专一性的特点，在一定的环境中，只对靶标药物的一个对映体产生催化作用，而对其他异构体无感，即选择性酶解作用效果的差别，最终完成手性药物的单体拆分。微生物酶拆分法具有以下优势，即立体选择性强、拆分效率相对较高、操作方法便捷、所需反应条件温和、环境友好^[19, 20]。伴随着多相反应器、酶的固定化等新技术的快速发展，许多的酶被成功应用到外消旋体的拆分工作中^[21]。徐刚等^[22]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的局限性，例如，生物酶在酸碱性强度的条件下稳定性较差、酶解产物后处理及底物和反应物分离比较麻烦且耗时长、反应材料重复利用性差、制备过程所需试剂价格昂贵等，这些缺点均限制了微生物酶拆分法的应用与发展。

4. 结晶拆分法

目前，工业生产上应用范围较广的手性药物拆分方法是结晶拆分法，该法同时也是手性拆分方法中应用最早的一类。最早使用的结晶拆分法要追溯到 1848 年，Pasteur 首次通过缓蒸外消旋化酒石酸盐水溶液的方法，最终蒸得不同形状的结晶物，并借助放大镜用镊子将结晶物从外消旋化酒石酸盐中分离出来^[23]。结晶拆分的原理主要是凭借在一定的温度下手性药物单体较外消旋母体溶解度小的性质，以单一对映体作为晶种加入外消旋母液中，优先诱导析出与晶种相同的对映体，从而实现分离对映体的目的^[24]。当前，结晶拆分法大致可分为以下三种类型。

自身诱导结晶拆分法：自身诱导结晶拆分法又称为自身诱导结晶不对称转化拆分法，指的是在特定反应条件下，不额外向外消旋化合物中加入其他手性试剂，只通过自身结晶诱导方法使非目标手性化合物的异构体转化为目标手性单体的转变过程。

非对映体结晶诱导不对称转化拆分法：非对映体结晶诱导不对称转化拆分法是利用外消旋药物与天然的手性拆分试剂通过氢键、离子键、范德华力等分子间的相互作用力形成复合物，使所形成的复合物优先从拆分体系中结晶析出，以最终获得光学纯的手性药物单体。

优先结晶拆分法：在溶液体系中，外消旋药物母体的溶解能力一般要比其各对映异构体组分更强，基于此，如果在手性药物母体的过饱和溶液中添加其中一种对映异构体的晶种，此时便会出现该晶种对应的手性单体进行有选择地生长的现象，继而便可将目标手性单体从外消旋药物母体中分离出来。但这种拆分方法要求条件苛刻，必须在严格控制结晶浓度、结晶温度、析晶时间等结晶条件的前提条件下，才有可能最终得到光学纯度较高的手性药物单体。

合适手性拆分剂的选择是得以有效利用非对映异构体盐进行外消旋药物拆分的重点。目前，已有大量试验数据表明，促使拆分过程中生成的非对映异构体盐在物理化学等性质上产生较大差别继而利于有效拆分的手性拆分剂结构至少需符合以下三个条件：

(1) 酸性或者碱性基团距离手性中心较近；