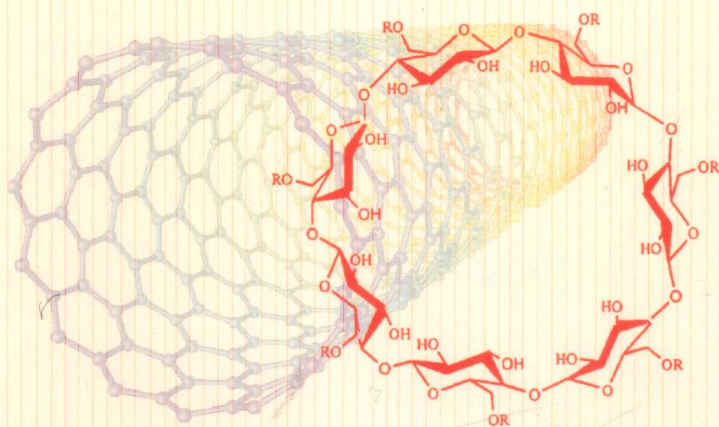


环糊精气相色谱 固定相的制备及手性分离

申刚义 / 编著



中央民族大学出版社

环糊精气相色谱固定相的 制备及手性分离

申刚义 编著

中央民族大学出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

环糊精气相色谱固定相的制备及手性分离/申刚义编著.

北京: 中央民族大学出版社, 2009.8

ISBN 978-7-81108-738-3

I. 环… II. 申… III. ①环糊精—气相色谱—固体相—制备②环糊精—气相色谱—手性分离 IV. 0636.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 150433 号

环糊精气相色谱固定相的制备及手性分离

作 者 申刚义

责任编辑 李 飞

封面设计 布拉格

出 版 者 中央民族大学出版社

北京市海淀区中关村南大街 27 号 邮编:100081

电话:68472815(发行部) 传真:68932751(发行部)

68932218(总编室) 68932447(办公室)

发 行 者 全国各地新华书店

印 刷 者 北京宏伟双华印刷有限公司

开 本 787×960(毫米) 1/16 印张:8.5

字 数 150 千字

印 数 1000 册

版 次 2009 年 8 月第 1 版 2009 年 8 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-81108-738-3

定 价 18.00 元

版权所有 翻印必究

**中央民族大学
少数民族传统医学研究中心
“985 工程”学术出版物编审委员会**

主任委员：崔 箭

委 员：徐斯凡 庞宗然 黄秀兰
朴香兰 申刚义

教育部
“长江学者和创新团队发展计划”
资助出版
(IRT0871)

(Supported by Program for Changjiang Scholars and Innovative
Research Team in University PCSIRT)

序 言

鉴于化学物质的空间构型与其生物活性的密切关系,手性化合物已成为当前药物研究的前沿领域之一。手性化合物的分离研究对于药物化学及生命科学的研究有非常重要的理论意义和实际应用价值。建立高专属性、高分离度的对映体分离分析方法是研究和制备手性药物的必要条件。在众多的方法中,毛细管气相手性色谱技术因分离速度快、操作简便、选择性好等优点,被广泛研究和使用的。

固定相是气相手性色谱方法的核心。自从上世纪 80 年代以来,环糊精衍生物因具有独特的空腔结构和优良的物化可塑性为国内外色谱专家所青睐,并掀起了国际色谱界固定相研究的热潮。实践证明,环糊精衍生物几乎对所有适合气相色谱分离的手性化合物都有选择性。大家公认,环糊精衍生物是目前发展最快、选择性最好、应用面最广的气相色谱手性固定相。

我国是一个多民族国家,拥有丰富的民族药用资源。民族药物多来自天然产物,其分子中几乎都含有手性结构,本质上属于手性药物。中国少数民族传统医学研究院作为我国民族医药研究的重要机构,目前开展了民族药物的手性分离和手性药物在生物体内代谢的相关研究。期望相关工作能为民族药物现代化研究提供一定的理论依据。

本书的主要内容来自本人在色谱固定相和手性药物分离方面所做的一些研究和收集的一些材料。特别是还吸纳和借鉴了国内外众多专家学者近年来的一些研究成果。全书由七章组成,第一章对手性化合物与生物活性的关系及气相色谱手性分离方法做了介绍;第二章简述了环糊精的发展历史,并就其物理、化学、生物性质和结构特点进行了总结和描述;第三章从化学合成角度综述了各种功能和类型的环糊精衍生物;第四章是色谱柱的制备;第五章对目前研究和开发的各种类型的环糊精衍生物气相色谱手性固定相,从制

备方法到手性分离能力，再到对映异构体的色谱分离进行详细的归纳评述和分析比较，同时列举多个典型实例；第六章探讨了环糊精衍生物的手性分离机制；第七章展望了环糊精固定相今后的研究。全书力图对环糊精气相色谱固定相做一较系统全面的介绍和评述，为读者开展相关工作起到一定的借鉴作用。

在本书的编写和出版过程中，得到了我院崔箭院长和彭书华书记的大力支持与帮助。徐斯凡教授对全书进行了审阅，提出了很多有益的意见。同时很多同事也给予了无私的勉励和帮助。在此向各位表示诚挚的感谢！此外，还要非常感谢我的导师凌云教授、杨新玲教授和陈义研究员。没有他们在科研道路上的指导和关心，此书很难成稿！

希望本书对从事固定相研究和手性药物分离的专业人员有参考价值。但固定相制备和手性分离涉及范围较广，加之本人学识有限，书中错误和不妥之处在所难免，恳请专家和读者不吝指正。

申刚义

2008年5月

目 录

第一章 绪论	1
第一节 手性分子与生物活性	1
1. 手性分子	1
2. 手性结构与生物活性的关系	3
3. 手性药物	3
第二节 手性分离方法	5
1. 分级结晶法	5
2. 化学拆分法	5
3. 生物拆分法	5
4. 色谱拆分法	6
第三节 毛细管气相色谱手性分离	6
1. 毛细管气相色谱法	6
2. 手性固定相	7
参考文献	7
第二章 环糊精的结构、性质及制备	9
第一节 环糊精的结构	9
第二节 环糊精的理化及生物性质	11

环糊精气相色谱固定相的制备及手性分离

1. 物理性质	11
2. 化学性质	13
3. 生物性质	14
4. 结构表征	15
第三节 环糊精的制备	18
1. CGTase 的制备	19
2. 淀粉的酶转化	19
3. CD 的分离与纯化	20
参考文献	20
第三章 环糊精衍生物	22
第一节 环糊精衍生物制备方法	22
1. 控制反应条件	24
2. 中间体定位选择性反应	24
3. 利用官能团选择性保护	24
第二节 单修饰环糊精衍生物	25
1. 基于醚化反应的 CD 醚类衍生物	25
2. 基于酯化反应的 CD 酯类衍生物	26
3. 基于消除反应的去氧 CD 衍生物	26
4. CD 醛类衍生物	27
第三节 桥联环糊精衍生物	27
1. 利用未衍生化 CD 制备桥联 CD	28
2. 利用衍生化 CD 制备桥联 CD	28
第四节 环糊精聚合物	34
1. CD 交联聚合物	34
2. CD 线形聚合物	35
3. CD 化学接枝聚合物	35
参考文献	36
第四章 毛细管气相色谱柱的制备	42
第一节 毛细管柱的预处理	42
第二节 固定相的涂渍	43

第三节 固定相的固载化	44
第四节 色谱柱的柱性能测试	45
1. 柱效测试	45
2. 柱极性测试	45
3. 柱表面性能测试	45
4. 手性选择性测试	46
参考文献	46
第五章 环糊精衍生物色谱固定相	47
第一节 烷基烯基类环糊精衍生物色谱固定相	47
1. 烷基烯基类 CD 衍生物色谱固定相的类型	48
2. 烷基烯基类 CD 衍生物的制备	49
3. 烷基烯基类 CD 衍生物色谱固定相的手性分离能力	54
4. 手性对映体的色谱分离	55
第二节 酰基类环糊精衍生物色谱固定相	58
1. 酰基类 CD 衍生物色谱固定相的类型	58
2. 酰基类 CD 衍生物的制备	59
3. 酰基类 CD 衍生物色谱固定相的手性分离能力	61
4. 手性对映体的色谱分离	62
第三节 羟烷基类环糊精衍生物色谱固定相	66
1. 羟烷基类 CD 衍生物色谱固定相的类型	67
2. 羟烷基类 CD 衍生物的制备	67
3. 羟烷基类 CD 衍生物色谱固定相的手性分离能力	68
4. 手性对映体的色谱分离	69
第四节 烷基硅基类环糊精衍生物色谱固定相	71
1. 烷基硅基类 CD 衍生物色谱固定相的类型	71
2. 烷基硅基类 CD 衍生物的制备	72
3. 烷基硅基类 CD 衍生物色谱固定相的手性分离能力	73
4. 手性对映体的色谱分离	75
第五节 芳香杂环基类环糊精衍生物色谱固定相	78
1. 芳香杂环基类 CD 衍生物的类型	79

环糊精气相色谱固定相的制备及手性分离

2. 芳香杂环基类 CD 衍生物的制备	80
3. 芳香杂环基类 CD 衍生物色谱固定相的手性分离能力	81
4. 手性对映体的色谱分离	82
5. 芳香杂环基类 CD 衍生物色谱固定相的柱性能	88
6. 芳香族位置异相体的色谱分离	91
第六节 聚硅氧烷基接枝环糊精衍生物色谱固定相	95
1. 聚硅氧烷基接枝 CD 衍生物色谱固定相的类型	95
2. 聚硅氧烷基接枝 CD 衍生物的制备	96
3. 聚硅氧烷基接枝 CD 衍生物色谱固定相的手性分离能力	99
4. 手性对映体的色谱分离	100
第七节 其他类型的环糊精衍生物色谱固定相	107
1. 聚合物类 CD 衍生物色谱固定相	107
2. 桥联类 CD 衍生物色谱固定相	108
3. CD-冠醚衍生物色谱固定相	108
参考文献	109
第六章 环糊精衍生物固定相的手性分离机理	117
第一节 手性识别的研究方法	117
1. 色谱学研究	117
2. 光谱学研究	119
3. 计算机辅助分子模型和理论计算方法	120
第二节 手性识别机理	120
1. 包结机理	120
2. 缔合作用机理	121
3. 主客体相互作用机理	121
4. 构象诱导作用机理	123
参考文献	124
第七章 展望	127
参考文献	129

第一章 绪 论

第一节 手性分子与生物活性

1. 手性分子

1.1 手性概念简介

手性 (Chirality) 源于希腊词“手” $\chi\epsilon\iota\rho$ (Cheir), 主要指左手与右手的差异特征。在化学中, 手性概念都是以碳原子的四面体构型来解释的。当碳原子通过 4 根共价键与其他原子构成分子时, 如果相连的 4 种原子或基团不同, 也即碳原子为不对称原子时, 会形成一对三维空间构型不同的异构体。这一对异构体的化学组成完全一样, 并且拥有相同的物理、化学性质。比如它们的沸点、溶解度一样。他们的空间结构很特殊, 如同人的左手和右手, 看起来似乎一模一样, 即镜像是完全一样, 但无论怎样放, 在空间上却无法完全重合 (图 1.1)。这种物体与自身镜像不能重合的性质被称为手性。在化学中, 不能与镜像重合的分子称为手性化合物或手性分子。手性化合物的两

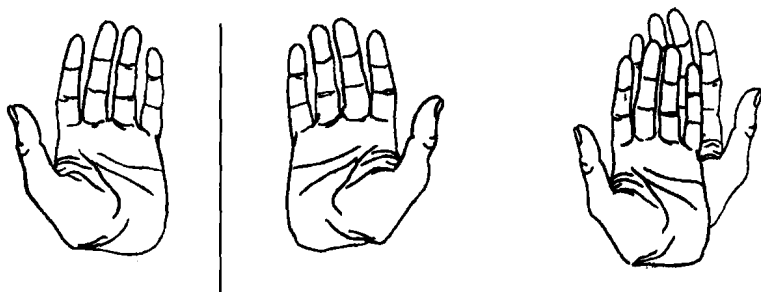


图 1.1 左手和右手互为镜像, 但不能完全重合

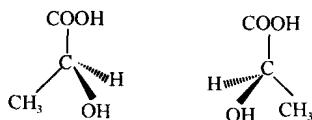


图 1.2 乳酸的手性对映体

种异构体被称为手性异构体或对映异构体。如图 1.2 所示，乳酸分子中与碳相连的 4 种基团完全不同，产生两种互为镜象但空间上不能重合的手性异构体。由于这一对对映异构体会导致偏振光发生相反方向性的偏转，因此也称为旋光异构体

或光学异构体。除碳原子外，如果硅、氮、磷等元素与 4 种不同基团相连时，也会存在手性结构，形成一对手性异构体。

1.2 手性分子的类型

手性分子主要包括以下几种类型：

(1) 含手性中心（手性原子）的化合物

分子结构中含手性碳、氮或硅原子的手性分子，如图 1.3 所示的两种分子。

(2) 不含手性中心（手性原子）的手性化合物

有些分子中虽然没有手性原子，但由于空间结构不对称性因素的存在，也具有手性结构。

a 含手性轴的化合物

此类分子中有一条虚拟的轴，当分子结构围绕此轴呈不对称排列时，可导致分子具有手性。如图 1.4 中的化合物：

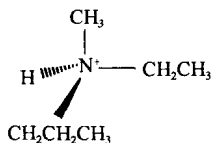
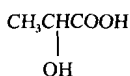


图 1.3 含手性
中心的化合物

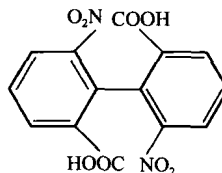


图 1.4 含手性
轴的化合物

b 含手性面的化合物

此类分子中有一个假设的平面，当分子结构围绕此平面呈不对称排列时可导致分子具有手性。如图 1.5 中的化合物：

1.3 手性分子的命名

手性分子主要采用三种命名方式^[1]：

(1) D, L 命名法 即绝对构型的右旋和左旋命名法。这种命名法在氨基

酸和糖命名中最为常见。

(2) R, S 命名法 对于含多个手性原子的化合物, 一般按照这种方法进行命名。

(3) M, P 命名法 对于螺旋型的化合物, 一般采用这种方法进行命名。

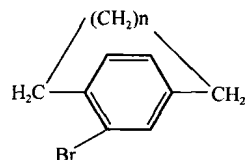


图 1.5 含手性面的化合物

2. 手性结构与生物活性的关系

手性是自然界的普遍特征, 构成自然界生命物质的基础, 如氨基酸、糖、DNA 等都存在手性结构。手性化合物在生命运动的整个过程中起到了非常重要和关键的作用。特别是组成地球生命体的几乎都是左旋氨基酸, 而没有右旋氨基酸。

近年来随着生物工程和生命科学的飞速发展, 科学家逐渐认识到手性化合物, 特别是手性药物, 各对映异构体尽管物理和化学性质几乎完全相同, 只有旋光性不同, 但它们在生物体内的生理作用和药理作用却存在很大的差别。最典型的例子是上世纪 60 年代震惊世界的沙立度胺事件 (thalidomide, 又称反应停)^[2], 其 R 构型具有良好的镇静作用而 S 构型却导致胎儿畸型。此事件引起了人们对手性物质的普遍关注。在农药中, 最有代表性的是拟除虫菊酯类杀虫剂, 其结构大多含有多个手性碳, 存在多个光学异构体, 而这些光学异构体的杀虫活性差异很大, 例如溴氰菊酯^[3]有 8 种对映异构体, 但只有 (+) - 反式体和 (+) - 顺式体生物活性最强, 其余的几乎无效, 不但不起杀虫作用, 反而对环境造成了污染。表 1.1 列出了部分手性药物不同光学异构体的生物活性的差别。

3. 手性药物

据统计^[4], 目前所用的各类药物中, 523 种天然及半合成药中手性药有 517 种, 1327 种全合成药中手性药有 528 种。而这些手性药物中的 75% ~ 90% 是以外消旋体的形式在市场上销售。在农药方面, 到 1996 年为止, 在市售的近 650 个农药品种中, 经证实 173 个有手性结构, 但市售的光活性农药只有 29 种^[5]。鉴于化合物分子的构型与其生物活性的特殊关系, 有必要对手性化合物的各个对映异构体分别进行考察, 了解它们各自的生理活性, 以

便达到高效、安全、无污染的用药目的。为此，许多国家都先后规定，在申报手性药物时，必须对不同光学异构体的生理活性叙述清楚。比如 1992 年，美国食品与药品管理局（FDA）明确规定，对含有手性结构的药物倾向于开发单一的对映体产品，对于外消旋的药物，则要求提供光学异构体的详细生物活性和毒理学数据，而不是作为相同物质对待。

表 1.1 手性农药和手性医药对映异构体的生理活性的差异

药物名称	异构体活性关系	生化作用
溴氰菊酯 (Deltamethrin)	活性不同	(3R, 1R, S) 高杀虫活性，其余低活性
丙硫磷 (Prothiophos)	活性不同	S 体的药效是 R 体的 5 倍
氰戊菊酯 (Fenvalerate)	活性不同	(1S, 2S) 活性最高，其余低活性
甲霜灵 (Metalaxyl)	活性不同	R 体杀菌活性大大高于 S 体
烯唑醇 (diniconazole)	活性不同	E, R 体杀菌活性最高，其余次之
沙立度胺 (Thalidomide)	作用不同	R 镇静剂；S 致畸形剂
心得安 (Propranolol)	作用不同	R 避孕；S β -受体阻断剂
乙胺丁醇 (Ethambutol)	其一有效，其一有害	S, S 治疗结核病；R, R 致盲
萘普生 (Naproxen)	协同作用	R 利尿剂；S 促尿酸
氯胺酮 (Ketamine)	作用不同	R 致幻剂；S 麻醉剂

在此背景下导致了全球手性药物的持续增长。世界上从上世纪 90 年代以来手性药物的销售总额统计见图 1.6，可看出，手性药物的年销售总额已从 1990 年的 180 亿美元增加到 2002 年的 1600 亿美元，预计到 2010 年销售额将

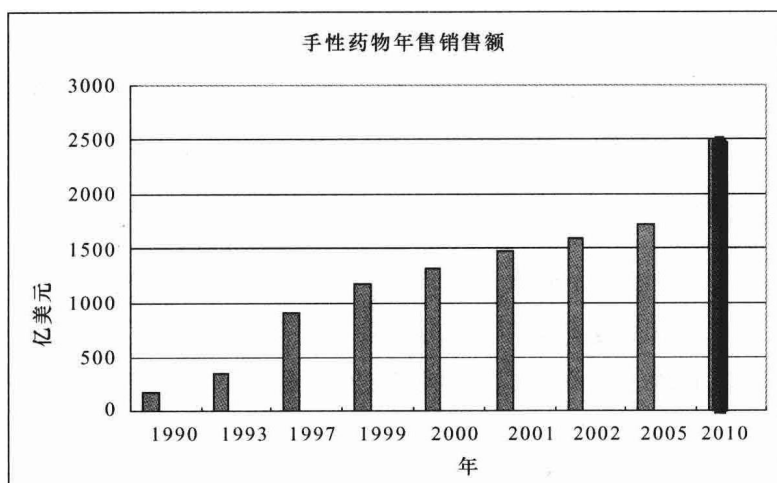


图 1.6 手性药物年销售额统计

达到 2500 亿美元^[6]。另据天风制药的不完全统计, 1993 年全世界 97 个热销药物中手性药物占 20%; 1997 年全世界 100 个热销药物中, 有 50 个是手性药物; 2002 年全球 500 种畅销药物中手性药物有 289 种, 占 59%。手性药物已成为 21 世纪药物发展的重要方向^[6]。

第二节 手性分离方法

作为手性药物研发的技术瓶颈之一, 手性对映体拆分和测定方法的研究具有非常重要的理论和实际意义。目前, 手性化合物的拆分主要有以下几种方法。

1. 分级结晶法

分级结晶法主要是在一个外消旋混合物的热饱和溶液中加入其中的一个纯单一对映体晶种, 冷却后同种的对映体将附在晶体上析出; 滤去晶体后, 母液重新加热, 并补加外消旋体使之达到饱和, 冷却使另一对映体析出。这样交替进行, 可方便地获得大量纯对映体结晶。Pasteur 于 1849 年首次利用外消旋的酒石酸铵钠在 27℃ 以下结晶分离得到酒石酸对映体。

2. 化学拆分法

化学拆分法主要通过与一光学纯试剂反应, 生成非对映异构体, 利用他们物理性质的差异达到分离目的。但这种方法有很多缺点: 光学纯试剂较昂贵、操作费时、后处理麻烦、局限性较大。对手性化合物的测定, 常用的是比旋光度测定法, 该方法要求样品中某一构型的含量大于其对映异构体的 2% 时才能分辨, 因此对于复杂体系无能为力。

3. 生物拆分法

生物酶、微生物、细菌等生物源具有非常专一的反应特性。利用酶可以选择性地使外消旋体中的一个对映体发生反应, 从而达到拆分的目的。

生物拆分法虽然有很多优点, 比如专一性强、副反应少、产率高、不会

造成环境污染、适于规模生产等。但由于酶专一性强，限制了该方法的推广。

4. 色谱拆分法

随着现代科学技术特别是仪器分析技术的发展，科学家们已经把注意力集中在手性化合物的色谱分离方法研究上。不对称合成的发展也促进了手性色谱法的建立，以便测定合成的起始物、中间体和最终产物。1988年在巴黎召开的第一届国际手性分子分离大会^[7]上，90%的文章是涉及色谱的。而在第十七届国际色谱大会上，有关对映体分离的报告占15%。由此可见，色谱技术已经成为当前手性分析的主要手段，手性分离也成为色谱科学的重要的研究对象。

目前，常用的高效液相色谱（High Performance Liquid Chromatography, HPLC）、气相色谱（Gas Chromatography, GC）、超临界流体色谱（Supercritical Fluid Chromatography, SFC）以及高效毛细管电泳（High Performance Capillary Electrophoresis, HPCE）等色谱技术集分离鉴定于一体，可实现复杂基质下对映体的定性、定量及纯度的测定。其中，气相色谱手性分离研究开展较早，其速度快、灵敏度高、操作简单，特别是毛细管气相色谱（Capillary Gas Chromatography, CGC）因其超高的柱效在分离上表现出明显的优势而受到科学家的青睐。

第三节 毛细管气相色谱手性分离

1. 毛细管气相色谱法

毛细管气相色谱法是采用毛细管柱分离样品的一种气相色谱法。1957年，Golay^[8]首次发明了分离效率极高的毛细管色谱柱，并开展了相关工作。上世纪80年代初，石英毛细管柱的问世，开辟了毛细管气相色谱研究的新时代。由于分离效率比填充型气相色谱高，毛细管气相色谱广泛应用于物质分离分析的各个领域，已经成为目前气相色谱中应用最广的一种分离技术。