

脲型手性固定相高效液相色谱拆分苯基琥珀酸对映体

张雪曼, 阮源萍

(厦门大学化学系, 现代分析科学教育部重点实验室, 福建 厦门 361005)

关键词: 高效液相色谱; 苯基琥珀酸; 对映体拆分; 脲型手性固定相

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2003)05-0533-01

苯基琥珀酸(PSA)是药物原料 *N*-甲基- α -苯基琥珀酰亚胺(phenesuximide)的重要中间体。(S)-(+)-PSA 是一种很好的扑尔敏药物手性拆分剂,并可作为手性选择子合成液相色谱手性固定相^[1]。外消旋的 PSA 通常采用光活性的番木鳖碱或(-)-脯氨酸化学衍生结晶拆分^[2,3]。PSA 对映体的高效液相色谱(HPLC)拆分未见文献报道。

1 实验部分

仪器 美国 TSP 公司 HPLC 仪: 3500-3200 型高压梯度泵, UV 2000 型双波长紫外吸收检测器, Rheodyne 7725i 进样阀, PC1000 色谱工作站。PE 341 型旋光仪。

试剂 正己烷、1,2-二氯乙烷、乙醇、三氟乙酸,均为国产分析纯。外消旋苯基琥珀酸为 Fluka 公司试剂。

色谱条件 色谱柱为 CHIREX 3019 柱, Phenomenex 公司产品;流动相为 *V*(正己烷): *V*(1,2-二氯乙烷): *V*(乙醇): *V*(三氟乙酸) = 62:35:3:0.1, 流速 1.0 mL/min;检测波长 259 nm;色谱分离均在室温(25 °C)下进行。

2 结果与讨论

2.1 流动相组成对 PSA 分离的影响

保持乙醇含量(体积分数,以下同此)和流动相酸度不变,改变正己烷和 1,2-二氯乙烷的含量,测定外消旋 PSA 试液中 *R*-, *S*-异构体的保留值。如表 1 所示,随着 1,2-二氯乙烷含量的增大,流动相极性增强,洗脱加快,但变化不明显,对分离选择性 α 及分离度 R_s 无显著影响;保持 1,2-二氯乙烷含量和流动相酸度不变,改变正己烷和乙醇的含量,测定 *R*-, *S*-异构体的保留值,发现随着乙醇含量的增大,保留因子 k 显著减小,对 α 及 R_s 的影响显著;在乙醇含量为 3% 时分离达到最好。可见 1,2-二氯乙烷对 k 的影响不明显,而乙醇则有显著的影响。这是由于二氯乙烷是一种中等极性的溶剂,乙醇的极性比它强,而且乙醇还是一种强的质子受体,可与溶质、脲型固定相形成强的氢键作用,从而削弱溶质

表 1 流动相溶剂组成对苯基琥珀酸色谱分离的影响

<i>V</i> (A):	<i>V</i> (B):	<i>V</i> (C):	<i>V</i> (D)	k	α	R_s
87	10	3	0.1	5.613	1.075	1.47
76	21	3	0.1	5.222	1.088	1.47
62	35	3	0.1	4.458	1.092	1.50
63	35	2	0.1	11.03	1.090	1.47
61	35	4	0.1	3.375	1.088	1.15
60	35	5	0.1	1.547	1.087	1.09
59	35	6	0.1	1.090	1.086	0.84
62	35	3	0			未洗脱
62	35	3	0.2	4.938	1.107	1.55
62	35	3	0.4	5.948	1.105	1.48

A: 正己烷; B: 1,2-二氯乙烷; C: 乙醇; D: 三氟乙酸。

与固定相的作用。从表 1 中还可看出流动相中三氟乙酸的含量对色谱分离的影响。因 PSA 是一种酸性物质,采用不加酸的流动相难以将其从色谱柱上洗脱。随着流动相酸度的增大, α 无显著的变化, R_s 有改善的趋势,但变化不明显。由于高酸度的流动相可能对色谱柱的使用寿命有影响,因此在本实验中选择三氟乙酸的含量为 0.1%。

图 1 给出外消旋苯基琥珀酸拆分色谱图,出峰顺序采用单一对映体样品加以确定。

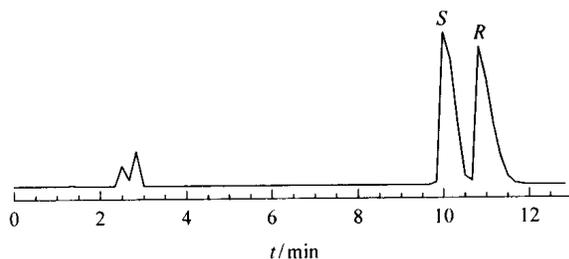


图 1 外消旋苯基琥珀酸拆分色谱图

流动相: *V*(正己烷): *V*(1,2-二氯乙烷): *V*(乙醇): *V*(三氟乙酸) = 62:35:3:0.1; 流速: 1.5 mL/min.

2.2 Van Deemter 曲线测定

采用 (S)-(+)-PSA 对映体样品,在流动相为 *V*(正己烷): *V*(1,2-二氯乙烷): *V*(乙醇): *V*(三氟乙酸) = 62:35:3:0.1,流速为 0.5~2.0 mL/min 条件下测定板高方程曲线,结果在 0.75~1.00 mL/min 流速下,柱效达 4 500/m。

2.3 实际样品测定

在最佳流动相组成为 *V*(正己烷): *V*(1,2-二氯乙烷): *V*(乙醇): *V*(三氟乙酸) = 62:35:3:0.1 条件下,对外消旋 PSA 样品液进行 6 次平行测定,结果 (S)-(+)-PSA 和 (R)-(-)-PSA 对映体的保留时间分别为 (13.41 ± 0.12) min 和 (14.96 ± 0.18) min。通过色谱峰面积直接计算 PSA 中 *R*-和 *S*-异构体的质量分数分别为 50.7% 和 49.3%,与理论值(50%)基本吻合。采用本法测定 3 个用 L-脯氨酸化学衍生结晶法拆分的外消旋 PSA 样品,其对映体纯度若用对映体过量值(e.e.)表示,分别为 99.4%(S), 69.8%(S) 和 35.1%(R);若用光学纯度(O.P.)表示,其值分别为 97.8%(+), 69.8%(+) 和 35.1%(-)。两个结果是吻合的。

参考文献:

- [1] Stephani R, Cesare V. J Chromatogr A, 1998, 813: 79
- [2] Shiraiwa T, Sado Y, Fujii S, Nakamura M, Kurokawa H. Bull Chem Soc Jpn, 1987, 60(2): 824
- [3] Stephai R, Cesare V. J Chem Educ, 1997, 74(10): 1 226

收稿日期: 2002-11-18

作者简介: 张雪曼,女,1978年生,硕士研究生。

通讯联系人: 阮源萍,副教授, Tel: (0592) 2182442, E-mail: ypuan@jingxian.xmu.edu.cn.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 20072031)