

• 研究论文 •

手性固定相 Chirex 3001 对安息香和联萘酚及其类似物的分子识别

尤秀丽^{a,b} 韩大雄^{*,a,c} 翁文^b 赵玉芬^{a,c}^(a) 厦门大学化学化工学院 化学生物学福建省重点实验室 厦门 361005)^(b) 漳州师范学院化学与环境科学系 漳州 363000)^(c) 厦门大学医学院药理学系 厦门 361005)

摘要 利用分子力学方法,建立了苯基甘氨酸型手性固定相 Chirex 3001 的简化模型,并探讨了手性固定相 Chirex 3001 与安息香和联萘酚及其类似物的识别机制. 模拟结果表明,固定相主体与手性客体分子识别作用的推动力主要来自于它们之间的 π - π 堆积、氢键和范德华等作用. 主体与(S)-构型的客体 **1~3** 结合能力强于(R)-构型的客体,而对于客体 **4~6**,则是与(R)-构型的结合强于(S)-构型,这与高效液相色谱拆分实验结果相符. 客体 **1~3** 对映体在 Chirex 3001 柱上的分离因子分别为 1.02, 1.04 和 1.11, (R)-构型先被洗脱; 客体 **4~6** 对映体的分离因子分别为 1.23, 1.26 和 1.09, (S)-构型先被洗脱.

关键词 手性识别; 分子力学; 手性拆分; 安息香; 联萘酚

Molecular Recognition of Benzoin and Bi- β -naphthol Analogues by Chirex 3001-based Chiral Stationary PhaseYOU, Xiu-Li^{a,b} HAN, Da-Xiong^{*,a,c} WENG, Wen^b ZHAO, Yu-Fen^{a,c}^(a) The Key Laboratory for Chemical Biology of Fujian Province, Department of Chemistry, Xiamen University, Xiamen 361005)^(b) Department of Chemistry and Environmental Science, Zhangzhou Normal University, Zhangzhou 363000)^(c) Department of Pharmacy, Medical College, Xiamen University, Xiamen 361005)

Abstract The simplified model of (R)-phenylglycine based chiral stationary phase (Chirex 3001) was built to investigate the process of chiral recognition of benzoin and bi- β -naphthol and their analogues by molecular mechanics methods. The results showed that the driving force of chiral recognition came from the π - π stacking, hydrogen bond and van der Waals interactions between the host and the guest molecule. The host preferred to bind with S-enantiomers of benzoin and its analogues **1~3**, and preferred to bind with R-enantiomers of bi- β -naphthol and its analogues **4~6**. This was consistent with the HPLC experimental results. The separation factors were 1.02, 1.04 and 1.11 respectively for compounds **1~3** when *n*-hexane/1,2-dichloroethane/ethanol (*V*: *V*: *V*=83.5:15:1.5) was used as mobile phase, and the R-enantiomers were eluted first. The separation factors were 1.23, 1.26 and 1.11 respectively when *n*-hexane/chloroform/ethanol (*V*: *V*: *V*=78.5:20:1.5) was used as mobile phase, and the S-enantiomers were eluted first.

Keywords chiral recognition; molecular mechanics; chiral resolution; benzoin; bi- β -naphthol

苯基甘氨酸型手性固定相 Chirex 3001(图 1a)是 Pirkle 型固定相的一种^[1]. 这类固定相在手性液相色谱

* E-mail: daxiong@xmu.edu.cn

Received December 11, 2007; revised April 10, 2008; accepted May 12, 2008.

国家自然科学基金(No. 20705031)、福建省自然科学基金(No. U0750017)资助项目.

领域中的应用较多, 但关于它的手性识别机理却众说纷纭^[2]. 其中较有代表性的是在用(*R*)-(3,5-二硝基苯甲酰)苯甘氨酸类固定相拆分含磷手性中心的对映体时, Pirkle 等^[3]认为由于固定相中存在缺电子基团, 适应于拆分能与之匹配的、且含有富电子基团的对映体, 其手性分离的主要驱动力是在手性分子与固定相之间存在着特定的 π - π 作用、氢键作用及偶极堆积作用, 即 Dalglish 等^[2,4,5]提出的“三点作用”模型. Topiol 等^[6]用半经验量子力学方法和分子动力学方法模拟(*S*)-*N*-(2-萘基)-丙氨酸甲酯与(*R,S*)-*N*-(3,5-二硝基苯甲酰基)-亮氨基-*N*-丙基酰胺作用时, 发现“三点作用”在两种非对映异构体中都存在, 并不只存在于(*S,S*)-非对映异构体中. 通过测定非对映体络合物的 MMFF 和 AM1 理论计算的结构和能量参数, 他们认为非对映体络合物能量差别是立体效应(空间匹配)所致, 也就是说, 手性分离的驱动力主要来自范德华力, 借此他提出了通过距离矩阵来预测手性识别的方法(Distance-matrix analysis scheme).

我们利用手性柱 Chirex 3001 拆分了安息香和联萘酚及其类似物的对映体, 为了深入了解手性拆分机理, 我们利用分子力学方法, 以 CSP 分子(苯基甘氨酸型手性固定相 Chirex 3001 的简化, 图 1a)为模型分子从理论上研究了安息香、联萘酚及其类似物与固定相 Chirex 3001 的手性识别过程, 发现所述对映体与 CSP 之间能够产生手性识别的主要原因, 是手性分子和 CSP 之间的 π - π 堆积、氢键和范德华等作用出现明显差异, 佐证了 Dalglish 等提出的“三点作用”手性识别理论.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Waters 600 高效液相色谱仪、Waters 600 泵系统、Waters 2487 紫外可见双波长检测器和 Millennium³² 色谱工作站(美国 Waters 公司). α -苯乙醇(1)、安息香(2)、氢化安息香(3) (见图 1b) (氢化安息香是 Acros 公司产品), 分析纯; 联萘酚(4) (联萘酚对映体购自北京春甫应用技术研究中心)、联萘酚单甲醚(5)、联萘酚环醚(6) (见图 1c), 本实验室自制; 正己烷、无水甲醇为高效液相色谱纯试剂, 1,2-二氯乙烷、三氯甲烷、乙醇为分析纯试剂.

1.2 色谱条件

(*R*)-苯基甘氨酸型手性柱, Chirex 3001, 4.6 mm \times 250 mm. 流动相, V (正己烷): V (1,2-二氯乙烷): V (乙醇)=83.5: 15: 1.5, 柱温: 25 $^{\circ}\text{C}$ (客体 1~3); V (正己烷): V (三氯甲烷): V (乙醇)=78.5: 20: 1.5, 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$ (客体 4~6), 用前经 0.45 μm 有机膜过滤并超声脱气, 流速: 1.0 mL/min. 由基线的波动记录死时间, 检测

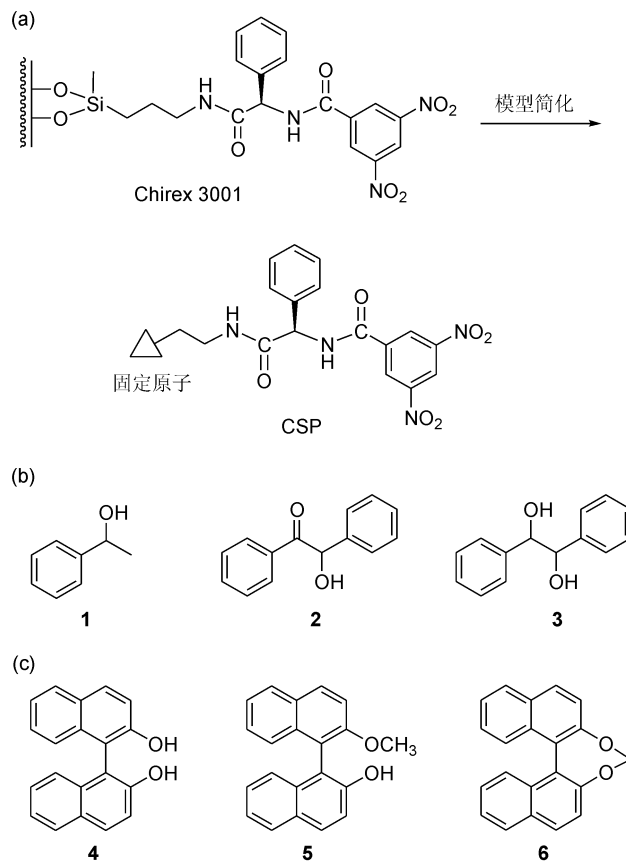


图 1 主体和客体的结构

(a) CSP 和 Chirex 3001 的结构; (b) 安息香及其类似物的结构(1: α -苯乙醇, 2: 安息香, 3: 氢化安息香); (c) 联萘酚及其类似物的结构(4: 联萘酚, 5: 联萘酚单甲醚, 6: 联萘酚环醚)

Figure 1 Structures of the host and guests

(a) Structures of the CSP and Chirex 3001; (b) structures of benzoin and its analogues (1: α -phenethyl alcohol, 2: benzoin, 3: hydrobenzoin); (c) structures of bi-naphthols and its analogues [4: 1,1-bi-2-naphthol (BINOL), 5: mono-methyl ether of BINOL, 6: 1,1-bi-2-naphthol cyclic ethers]

波长: 254 nm, 进样体积: 5 μL . 样品溶于无水甲醇中, 浓度约 0.5 mg/mL.

2 模拟方法

2.1 生成焓的计算

液相色谱手性固定相拆分对映体时在色谱柱内存在如下平衡^[7]:



手性固定相 CSP 为主体, A 为客体物质. 手性固定相 CSP 与客体 A 的 *R*, *S* 对映体形成非对映体络合物 $\text{CSP}^R \cdot \text{A}^R$ 和 $\text{CSP}^R \cdot \text{A}^S$, 由式(1)可以求得 *R*, *S* 络合物的结合自由能(ΔG). 大量实验显示在此类体系中, 溶剂对手性拆分影响不大^[8], 因此本文模拟环境是在真空中进行, 溶剂效应被忽略, 另外, 手性客体物质 A 的 *R*, *S* 对映体

与固定相在结合前后构象变化不大, 其构象熵值较小, ΔG 近似等于 ΔH . 由于该反应体系在作用前后不存在化学键的打破和形成, ΔH 值可由分子空间能计算而得^[9]:

$$\Delta H \approx E_{\text{CSP}(R)\cdot A} - E_{\text{CSP}(R)} - E_A \quad (2)$$

由于自由态 R, S 对映体的构象能 E 近似相等, 因此 R, S 络合物的生成焓之差可得:

$$\Delta\Delta H \approx E_{\text{CSP}(R)\cdot A(S)} - E_{\text{CSP}(R)\cdot A(R)} \quad (3)$$

基于手性分离热力学原理: $\Delta\Delta H \approx -RT \ln \alpha_{RS}$, 对映体分离系数 α 取决于 R, S 络合物生成焓之差 $\Delta\Delta H$ 值, $\Delta\Delta H$ 绝对值越大, 分离效果越好^[10].

2.2 模型的建立

2.2.1 主、客体分子结构的建立

利用 CCDC 晶体数据库进行结构搜索, 获得与 CSP 分子结构相似的(3,5-二硝基苯甲酰)异丁基甘氨酸型分子结构, 以此结构为模板, 搭建 CSP 分子的初始结构并进行结构优化. 同理, 搭建图 1b 和图 1c 的客体分子初始结构并进行结构优化.

2.2.2 络合物模型的建立

基于有利于空间匹配和 π - π 、氢键及偶极堆积的作用力的形成, 将客体分子和主体 CSP 分子进行手动对接, 获得一系列对接构象(未列出), 然后固定 CSP 分子与硅胶相连的碳原子(见图 1a), 几何优化 R -CSP 与 S -CSP 复合体分子, 通过能量比较寻找最佳互补匹配构象^[10,11]. 全部计算在 HyperChem 软件包中的 MM+ 力场下, 采用共轭梯度法进行构型优化(收敛标准为 $0.042 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, 非距离依赖性介电常数为 1.0).

3 结果与讨论

如图 2 所示的 CSP 主体分子的最佳构象, 其三条支链分别位于直角坐标的三个方向, 柔性较大的烷烃支链的末端因与硅胶相连, 模拟时被固定. 限于形状匹配和空间位阻, 各类客体分子与 CSP 分子对接可能处在 CSP 分子中的 I 和 II 两个区域, 即分子手性识别的区域.

3.1 CSP 分子对客体分子 1~3 的手性识别

通过手动对接和分子力学优化, 手性客体分子 1~3 与 CSP 最佳结合构象分别被获得. 主、客体分子之间形成了 π - π 、氢键、偶极-偶极等较强的弱相互作用, 客体分子的构象不同以及与 CSP 相对位置不同将影响这些弱相互作用, 进而导致对映体复合分子能量差异, 产

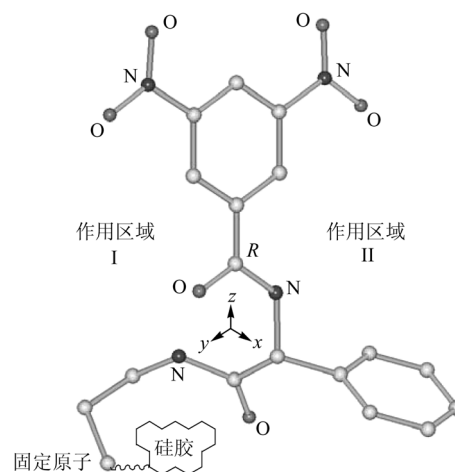


图 2 CSP 分子的最低能量构象以及手性识别区域
Figure 2 Minimal energy conformation of the CSP molecule and the chiral recognition sites

生手性拆分.

以客体 3 (氢化安息香) 为例, 最佳结合构象显示于图 3. 虽然 R, S 对映体都位于 CSP 分子的 II 区域, 然而与 CSP 分子结合的方式有所不同. (S)-3 与 CSP 分子形成 π - π 叠合作用以及 $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}-\text{H}$ 和 $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$ 两个氢键, 而(R)-3 仅与 CSP 分子形成 $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}-\text{H}$ 一个氢键和 π - π 叠合作用, 与其相对应的(S)-3-CSP 复合分子的生成焓为 $-77.49 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, 而(R)-3-CSP 的生成焓为 $-70.69 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (见表 1), 表明(S)-3 与 CSP 形成的络合

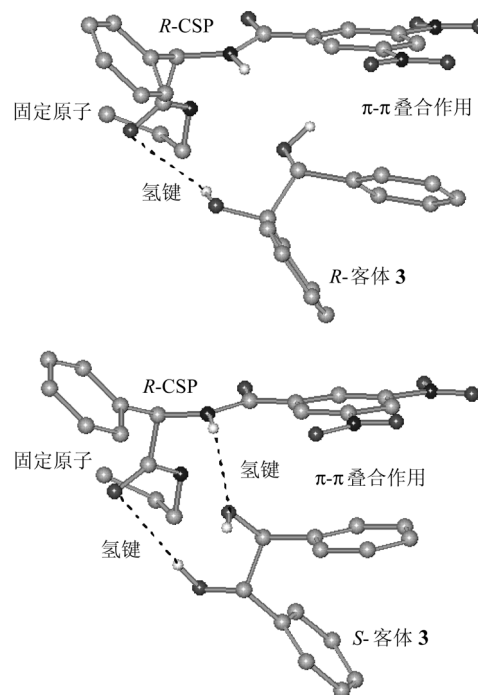


图 3 客体 3 与 CSP 分子形成的最佳结合构象
Figure 3 Optimum binding conformations of guest 3 with the CSP molecule

物非对映异构体比(*R*)-**3** 的更稳定, 意味着在液相色谱分离过程中(*S*)-**3** 在 CSP 固定相上的色谱保留时间将较长, 即手性分离时(*S*)-**3** 后出峰, 这与液相色谱的手性拆分结果是一致的(见表 1): 在 Chirex 3001 手性固定相上(*S*)-**3** 的保留时间为 37.35 min, 而(*R*)-**3** 为 33.97 min (保留时间见色谱拆分谱图 4)。

表 1 CSP 分子与客体形成的复合分子的保留时间(t_R)、保留因子(α)、生成焓变化(ΔH)

Table 1 t_R , α and ΔH of the CSP molecule with guest				
Guest	t_R /min	α	$\Delta H/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$	$\Delta\Delta H/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$
(<i>R</i>)- 1	10.44	1.02	-59.81	-0.29
(<i>S</i>)- 1	10.59		-60.10	
(<i>R</i>)- 2	14.50	1.04	-60.14	-3.11
(<i>S</i>)- 2	14.99		-63.25	
(<i>R</i>)- 3	33.97	1.11	-70.69	-6.80
(<i>S</i>)- 3	37.35		-77.49	
(<i>R</i>)- 4	26.47	1.23	-78.62	2.73
(<i>S</i>)- 4	22.26		-75.89	
(<i>R</i>)- 5	8.79	1.26	-63.46	1.89
(<i>S</i>)- 5	7.57		-61.57	
(<i>R</i>)- 6	5.39	1.09	-37.42	0.42
(<i>S</i>)- 6	5.19		-37.00	

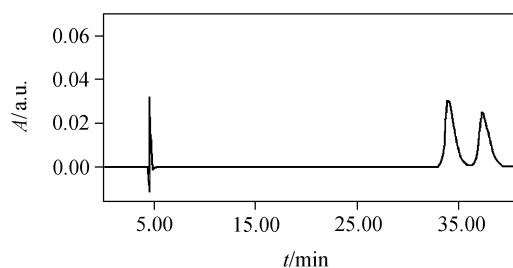


图 4 在 Chirex 3001 手性固定相上客体 **3** 拆分色谱图

Figure 4 The chromatograms for the enantioseparation of compounds **3**

Mobile phase, $V(n\text{-hexane}) : V(1,2\text{-dichloroethane}) : V(\text{ethanol}) = 83.5 : 15 : 1.5$; flow rate, 1.0 mL/min; column temperature, 25 °C; detection wavelength, 254 nm

客体 **2** 对映体和 CSP 的最佳结合构象(未列出)与客体 **3** 类似, (*S*)-型对映体与 CSP 分子结合得更稳定, 而客体 **1** 的两个对映体与 CSP 分子在结合构象、生成焓(见表 1)上都差异甚微。

从表 1 可知, 手性客体 **1~3** 与 CSP 形成复合分子的生成焓之差都为负值, 根据 $\Delta\Delta H = \Delta H_S - \Delta H_R$ 可得 $\Delta H_S < \Delta H_R$, 手性分离时分离顺序应为(*R*)-构型的先出峰, (*S*)-构型的后出峰, 而且 $\Delta\Delta H$ 绝对值越大, 越容易拆分, 因此客体 **3** 在 CSP 分子上是最易发生手性识别拆分,

其次是客体 **2**, 最后是客体 **1**, 与实验结果相吻合: 客体 **1~3** 对映体在流动相组成为 $V(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3) : V(\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}) : V(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}) = 83.5 : 15 : 1.5$ 的分离因子分别为 1.02, 1.04 和 1.11, 可见客体 **3** 在 Chirex 3001 手性固定相上拆分效果好且先出峰的异构体经标准品确认为(*R*)-构型, 而客体 **1, 2** 只有微弱的识别拆分。

3.2 CSP 分子对客体分子 **4~6** 的手性识别

对于客体分子 **4~6** 与 CSP 分子对接后的最佳结合构象, 我们应用与客体 **1~3** 同样的方法进行了分子力学模拟研究。以客体 **4** (联萘酚)为例, *R, S* 对映体也都位于 CSP 分子的 II 区域(见图 5)。

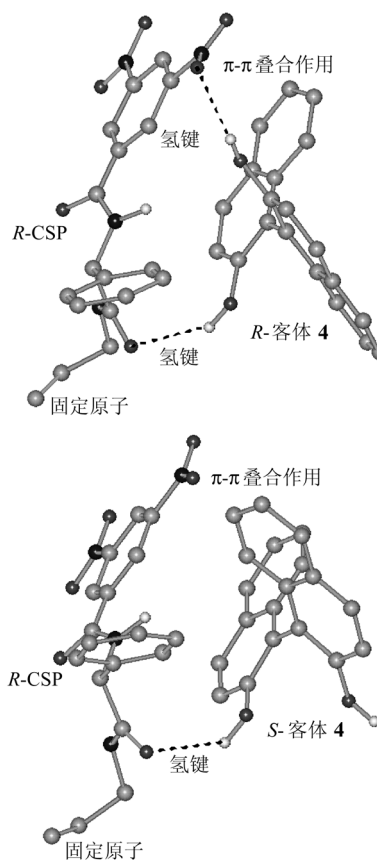


图 5 客体 **4** 与 CSP 分子形成的最佳结合构象

Figure 5 Optimum binding conformations of guest **4** with the CSP molecule

客体 **4** 与 CSP 分子的手性识别过程和客体 **3** 的手性识别过程基本相似, 但构型却完全发生了变化。从图 5 可见, (*S*)-**4** 仅与 CSP 分子形成 π - π 叠合作用和 $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$ 一个氢键, 而(*R*)-**4** 与 CSP 分子形成强的 π - π 叠合作用以及 $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$ 和 $\text{NO}_2\cdots\text{H}-\text{O}$ 两个氢键, 可见(*R*)-**4** 与 CSP 分子结合力较强。而且(*S*)-**4**-CSP 复合分子的生成焓为 $-75.89 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, 而(*R*)-**4**-CSP 的生成焓为 $-78.62 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (见表 1), 进一步表明(*R*)-**4** 与 CSP 分子形成的复合分子比(*S*)-**4** 的更牢固, 意味着在液相色谱

分离过程中(*R*)-**4** 在 CSP 固定相上的色谱保留将更强, 即手性分离时(*R*)-**4** 的后出峰, 这与液相色谱的手性拆分实验结果是一致的: 在 Chirex 3001 手性固定相上(*R*)-**4** 的保留时间为 26.47 min, 而(*S*)-**4** 为 22.26 min (图 6).

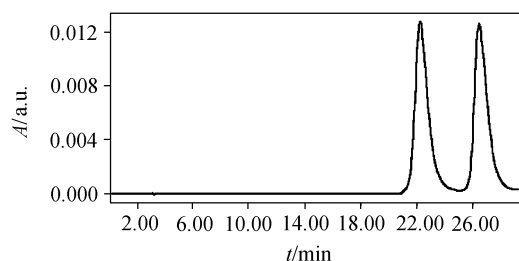


图 6 在 Chirex 3001 手性固定相上客体 **4** 拆分色谱图

Figure 6 The chromatograms for the enantioseparation of compounds **4**

Mobile phase, $V(n\text{-hexane}) : V(\text{chloroform}) : V(\text{ethanol}) = 78.5 : 20 : 1.5$; flow rate, 1.0 mL/min; column temperature, 35 °C; detection wavelength, 254 nm

客体 **5**, **6** 对映体和 CSP 的最佳结合构象(未列出)与客体 **4** 类似, (*R*)-型复合分子的生成焓比(*S*)-型都低(见表 1), (*R*)-型复合分子更稳定. 从表 1 对映体生成焓差值可知: 客体 **4**~**6** 对映体与 CSP 形成复合分子的生成焓差值分别为 2.73, 1.89 和 0.42 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, 推断 CSP 对 **3** 个客体具有较强的手性识别能力, 客体 **4** 和客体 **5** 可发生手性识别拆分, 而客体 **6** 的手性识别较弱, 实验也证明了此结论. 客体 **4**~**6** 对映体在流动相组成为: $V(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3) : V(\text{CHCl}_3) : V(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}) = 78.5 : 20 : 1.5$ 时的分离因子分别为 1.23, 1.26 和 1.09, 可见除了客体 **6**, 其它两个客体在 Chirex 3001 手性固定相上都能得到很好的拆分, 且先出峰的异构体经标准品确认为(*S*)-构型.

总之, 通过分子模拟客体 **1**~**6** 与固定相 Chirex 3001 的复合结构较好地揭示了该体系的手性识别机理. 客体中的羟基(或醚基)的空间取向决定着与(*R*)-CSP 的结合程度. (*S*)-客体 **1**~**3** 和(*R*)-客体 **4**~**6** 能较好地与(*R*)-构型的手性固定相形成三点作用, 而(*R*)-客体 **1**~**3** 和(*S*)-客体 **4**~**6** 仅与(*R*)-构型的手性固定相形成二点作用, 另外, 从图 3 和图 5 可以清楚地看出, 与(*R*)-CSP 结合时(*S*)-**3** 比(*R*)-**3**, (*R*)-**4** 比(*S*)-**4** 在构型上匹配得更为合适, 这表明范德华作用在维持结合物稳定性中起着不可忽视的作用. 因此(*S*)-客体 **1**~**3** 和(*R*)-客体 **4**~**6** 与(*R*)-CSP 结合力较强, 实验结果显示(*S*)-客体 **1**~**3** 和(*R*)-客体 **4**~**6** 在手性固定相上后出峰, 而(*R*)-客体 **1**~**3** 和(*S*)-客体

4~**6** 则先被洗脱, 实验结果和分子模拟推断相吻合. 可见该体系的分子识别作用的推动力主要来自于手性分子和 CSP 之间的范德华、氢键和 π - π 堆积等作用的差异, 佐证了 Dalglish 等提出的“三点作用”理论.

实验结果显示客体 **4**~**6** 的分离因子明显大于客体 **1**~**3**, 分别为 1.23, 1.26, 1.09 和 1.02, 1.04, 1.11, 这可能归因于客体 **4**~**6** 萘环的 π -碱性较大, 具有较强的给电子能力, 与固定相 Chirex 3001(属于 π -酸性的手性固定相^[1])相互作用较强, 因此分离因子较大, 在此固定相上客体 **4**~**6** 能完全发生手性识别拆分; 与客体 **4**~**6** 比较, 客体 **1**~**3** 苯环的 π -碱性较小, 其给电子能力较弱, Chirex 3001 固定相对其识别拆分能力相对较弱. 基于客体 **1**~**6** 的结构特征和与固定相的作用机理, 预计具有芳香环等 π 碱性基团, 以及能提供氢键受体和给体的手性化合物, 将在 Chirex 3001 固定相上得到良好的识别拆分.

References

- Lipkowitz, K. B. *J. Chromatogr. A* **2001**, *906*, 417.
- Zhou, A.-L.; Lu, X.-Y.; Huang, J.-M.; Wang, X.-S.; Gao, R.-Y. *Chin. J. Chromatogr.* **2002**, *20*(6), 502 (in Chinese). (周爱玲, 吕宪禹, 黄君珉, 王新省, 高如瑜, 色谱, **2002**, *20*(6), 502.)
- Pirkle, W. H.; Finn, J. M. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 2935.
- Zhao, G.-H.; Yan, Q.-J. *Chin. J. Chromatogr.* **1993**, *11*(5), 296 (in Chinese). (赵国辉, 闫庆金, 色谱, **1993**, *11*(5), 296.)
- Dalglish, C. E. *J. Chem. Soc.* **1952**, 3940.
- Topiol, S.; Sabio, M.; Moroz, J.; Caldwell, W. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 8367.
- Lipkowitz, K. B.; Demeter, D. A.; Zegara, R.; Larter, R.; Darden, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 3446.
- Zheng, W.-L.; Song, H.; Liang, Y.-M.; Fu, C. *Chin. J. Chromatogr.* **2003**, *21*(3), 239 (in Chinese). (郑文丽, 宋航, 梁彦明, 付超, 色谱, **2003**, *21*(3), 239.)
- Han, D.-X.; Yang, P. *Sci. China, Ser. B* **2000**, *30*, 392 (in Chinese). (韩大雄, 杨频, 中国科学(B 辑), **2000**, *30*, 392.)
- Yang, G.-S.; Yan, B.; Lei, L.; Wang, W.-G.; Liu, C.-P. *Chem. J. Chin. Univ.* **2000**, *21*, 1745 (in Chinese). (杨国生, 严波, 雷林, 王文刚, 刘成卜, 高等学校化学学报, **2000**, *21*, 1745.)
- Yan, B.; Lai, C.-M.; Lin, S.-F.; Li, Z.-M. *Chem. J. Chin. Univ.* **1992**, *13*, 1555 (in Chinese). (严波, 赖城明, 林少凡, 李正名, 高等学校化学学报, **1992**, *13*, 1555.)

(A0712117 LI, L. T.; DONG, H. Z.)