

手性配体高效液相色谱法拆分扁桃酸 对映体的热力学性质

李桂银^{a, b} 黄可龙^{a*} 蒋玉仁^a 丁萍^a

(^a中南大学化学化工学院 长沙 410083 ^b湖南科技职业学院轻化工程学院 长沙)

摘 要 在对称 C_{18} 高效液相色谱柱上, 以 L-苯丙氨酸和硫酸铜为手性配体流动相, 在温度 293 ~ 313 K 范围内, 考察了扁桃酸对映体的保留和分离行为。在实验范围内, 温度升高对分离不利, 随着温度的升高, 对映体的保留时间、分离度和选择性因子均减少; 用 $\ln k'$ 对 $1/T$ 作图, 得 Van't Hoff 曲线具有良好的线性关系, 相关系数 $R > 0.99$ 。计算了扁桃酸对映体在色谱柱分离的焓变、焓变差值和熵变差值等热力学参数。在 293 K < T < 313 K 温度范围内, 扁桃酸对映体满足 $|\Delta_{SR}\Delta H| > |\Delta_{SR}\Delta S|$, 故手性拆分过程为焓控过程。

关键词 手性配体, 扁桃酸, 对映体拆分, 热力学性质

中图分类号: O642

文献标识码: A

文章编号: 1000-0518(2008)01-0009-04

α -羟基苯乙酸 (Mandelic acid 简称 MA), 俗称扁桃酸, 是合成血管扩张剂环扁桃酯、尿路消毒剂扁桃酸乌洛托品等药物的中间体。由于扁桃酸为手性分子, 有 DMA 和 LMA 2 种构型。单一构型的扁桃酸被广泛应用于光学纯的氨基酸、血管紧张肽转化酶抑制剂和辅酶 A 的不对称合成^[1]。如 DMA 用于头孢菌素系列抗生素羟苄四唑头孢菌素的侧链修饰剂; LMA 是合成 S-奥昔布宁的前体, S-奥昔布宁临床用于治疗尿急、尿频和尿失禁^[2]。研究扁桃酸的手性拆分对其生物不对称合成及单一对映体的药理和药效具有重要的意义^[3]。扁桃酸对映体的手性拆分有化学拆分法^[4]、毛细管电泳^[5]和色谱法^[6~9]。色谱法中又以手性配体交换色谱法为主, 配体交换色谱法可分为手性固定相配体交换色谱法和手性流动相配体交换色谱法^[10]。关于其分离过程的热力学研究却很少, 而且大都集中研究手性固定相配体交换色谱法的热力学性质。本文以 L-苯丙氨酸和硫酸铜溶液为手性配体流动相, 考察了 293 ~ 313 K 温度范围, 扁桃酸对映体在对称 C_{18} 高效液相色谱柱上拆分的热力学性质。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

扁桃酸外消旋体 (国药集团化学试剂有限公司, 分析纯), R-扁桃酸 (Sigma 公司), 硫酸铜为分析纯试剂, L-苯丙氨酸为生化试剂, 甲醇为色谱纯。

LC-10A 型液相色谱仪 (日本岛津公司), 配有 SPD-10AV 检测器和 LC-solution 色谱软件, 色谱柱为 VP-ODS C_{18} 柱 (ϕ 4.6 × 150 mm), DC-3005A 型低温恒温槽 (宁波市海曙天恒仪器厂), 18100 型超纯水装置 (上海申生科技有限公司), B2200 S-T 型超声波清洗器 (BRANSON 超声上海有限公司)。

1.2 实验方法

取 0.990 g L-苯丙氨酸和 0.750 g $CuSO_4$ 用二次蒸馏水, 超声溶解后定容至 1 L, 经 0.45 μm 滤膜过滤并超声波脱气后作为流动相的手性配体试剂。淋洗时采用甲醇和手性配体试剂双泵分别进入方式, 流速 0.8 mL/min。扁桃酸样品用二次蒸馏水溶解, 0.45 μm 滤膜过滤, 色谱柱温度 (293 ~ 313 K) 由低温恒温槽控制, 检测波长 269 nm, 进样量 20 μL 。

2007-01-18 收稿, 2007-04-16 修回

国家自然科学基金资助项目 (20376085), 湖南省教育厅资助项目

通讯联系人: 黄可龙, 男, 教授, 博士生导师; E-mail: huangkelong@yahoo.com.cn; 研究方向: 生物功能材料

2 结果与讨论

2.1 典型色谱图及不同温度的色谱数据

扁桃酸对映体的出峰顺序以相同条件下光学纯 D 构型标样的出峰时间来确定, 并且是 D 构型先被洗脱, 色谱柱的死时间 t_0 由基线的波动记录。保留因子 K' 、分离因子 α 、分离度 R_s 的计算公式如下:

保留因子: $k'_i = (t_i - t_0) / t_0$ (1)

分离因子: $\alpha = k'_2 / k'_1$ (2)

分离度: $R_s = 2(t_2 - t_1) / (w_1 + w_2)$ (3)

式中, t_0 为色谱柱的死时间; k'_1 和 k'_2 分别为 D-MA 和 L-MA 的保留因子; t_1 和 t_2 为 D-MA 和 L-MA 的保留时间; w_1 和 w_2 分别为 D-MA 和 L-MA 色谱峰的基线宽度。图 1 为其典型色谱图。表 1 为所测色谱数据。

表 1 MA 异构体的色谱数据
Table 1 Chromatographic data of mandelic acid enantiomers

Column temp /K	t_0 /min	t_1 /min	t_2 /min	w_1	w_2	k'_1	k'_2	α	R_s
293	1.611	15.235	17.822	2.342	1.973	8.457	10.063	1.19	1.199
298	1.609	13.008	14.719	1.693	1.388	7.085	8.148	1.15	1.110
303	1.528	11.062	12.206	1.130	1.026	6.240	6.988	1.12	1.061
308	1.525	10.007	10.684	0.880	0.673	5.562	6.006	1.08	0.872
313	1.524	8.959	9.258	0.529	0.387	4.879	5.074	1.04	0.653

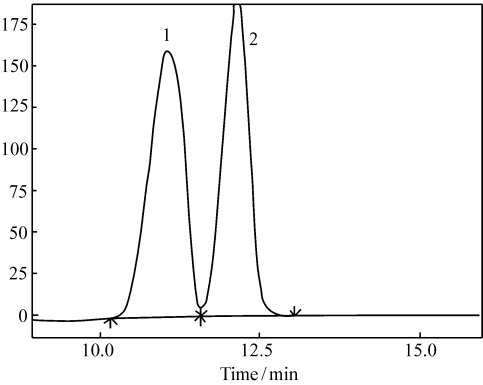


图 1 303 K 时扁桃酸对映体的色谱图
Fig 1 HPLC chromatogram of mandelic acid enantiomers at 303 K

V(Chiral ligand agent):V(Methanol) = 85:15
Column temperature: 303 K Flow: 0.8 mL/min
Injection: 20 μ L Wavelength: 269 nm
1: D-mandelic acid 2: L-mandelic acid

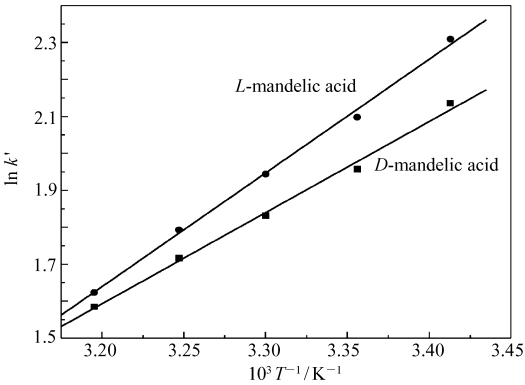


图 2 扁桃酸对映体的 $\ln k' - 1/T$ 关系图
Fig 2 Plots of $\ln k' - 1/T$ for mandelic acid enantiomers

2.2 柱温对保留因子的影响

溶质的保留因子 (k') 和温度 (T) 的关系服从 Van't Hoff 方程 (4):

$$\ln k' = -\frac{\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R} + \ln \varphi \tag{4}$$

式中, ΔH° 和 ΔS° 分别为溶质在固定相与流动相间分配的焓变和熵变, φ 为色谱相比率 (固定相和流动相的相体积比)。用 $\ln k'$ 对 $1/T$ 作图, 为一直线, 相关系数 R 均大于 0.99。说明在本实验条件下, 扁桃酸对映体的保留机理不随温度变化。MA 的对映体发生交换反应是手性配体与金属离子形成的配合物, 所形成的配合物的稳定性不同, 即 $k'_1 \neq k'_2$ 。这种稳定性的差异是由于 2 种混配物的空间构型不同所决定的, 从结构模型上看, L 型对映体比 D 型对映体的空间位阻要小, 因此其稳定性更好, 在手性配体流动相的洗脱下保留时间要比 D 型对映体长, 后洗脱。

由图 2可以看出, 2种光学异构体的 $\ln k'$ 随温度升高均逐渐减少, 可能是因为随温度升高, 溶质的结构(包括空间结构)不发生变化, 而溶质与流动相中的手性配体试剂形成的配合物的焓差与固定相相互作用的焓差值小。

由图 2的 Van't Hoff 曲线的斜率和截距可得扁桃酸对映体的 ΔH° 和 $\Delta S^\circ + R^\circ \ln \varphi$ 值(见表 2)。热力学参数 ΔH° 表示溶质从流动相转移到固定相时的热效应, 若为负值, 表示溶质在固定相上的吸附是一个放热过程。在相同的色谱条件下, 测得 L构型的扁桃酸的 ΔH° 比 D构型的小, 这与图 1的 L构型比 D构型更难洗脱的实验结果得到确证。

表 2 扁桃酸对映体的 ΔH° 和 $\Delta S^\circ + R^\circ \ln \varphi$ 值
Table 2 ΔH° and $\Delta S^\circ + R^\circ \ln \varphi$ values for mandelic acid enantiomers

Enantiomer	$\Delta H^\circ / (\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	$\Delta S^\circ + R^\circ \ln \varphi / (\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$	Regression correlation coefficient
D-mandelic acid	-20.491	-52.324	0.997
L-mandelic acid	-25.564	-68.168	0.998

2.3 温度对分离度的影响

图 3表示扁桃酸对映体分离度与温度的关系。图中可见, 随着温度的升高, 扁桃酸对映体的分离度逐渐减小。可能随着温度升高, 溶质的结构(包括空间结构)不发生变化, 而对映体与手性配体形成的配合物的稳定性减弱, 解离速度加快, 故扁桃酸对映体的分离度逐渐减小。

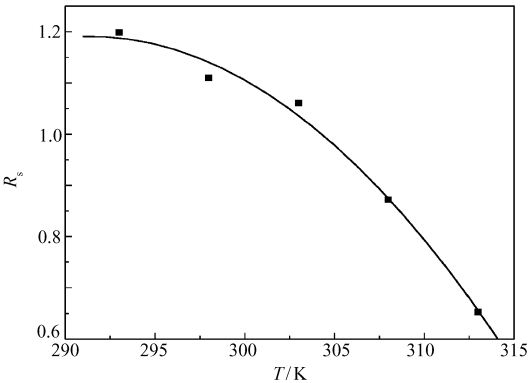


图 3 温度对扁桃酸对映体拆分分离度的影响
Fig 3 Effect of temperature on the chiral resolution of mandelic acid enantiomers

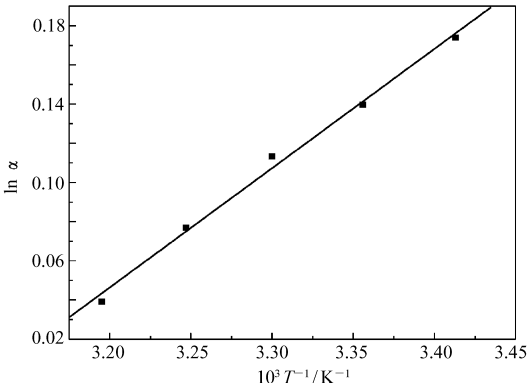


图 4 扁桃酸对映体的 $\ln \alpha - 1/T$ 关系图
Fig 4 Plot of $\ln \alpha - 1/T$ for mandelic acid enantiomers

2.4 温度对分离因子的影响

由式 (2)和式 (4)得:

$$\ln \alpha = -\frac{\Delta_{SR} \Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta_{SR} \Delta S^\circ}{R} \tag{5}$$

式中, $\Delta_{SR} \Delta H^\circ$ 、 $\Delta_{SR} \Delta S^\circ$ 分别为扁桃酸 2个对映体在手性配体拆分过程中的焓变和熵变的差值。将 $\ln \alpha - 1/T$ 作图, 为一条直线, 相关系数 $r=0.991$, 如图 4所示。由图 4曲线的斜率和截距可得扁桃酸对映体的 $\Delta_{SR} \Delta H^\circ = -5.063 \text{ kJ/mol}$ 和 $\Delta_{SR} \Delta S^\circ = 15.813 \text{ J/(mol} \cdot \text{K)}$ 。可见, 在 293 ~ 313 K温度范围内, 扁桃酸对映体拆分的焓变和熵变的差值均为 $|\Delta_{SR} \Delta H^\circ| > |\Delta_{SR} \Delta S^\circ|$, 故手性拆分过程为焓控过程。二异构体与流动相中的手性配体、金属离子形成一对非对映的配合物, 二者的热力学稳定性差异导致了色谱分离。

参 考 文 献

1 LIGUI-YIN(李桂银), HUANG KE-LONG(黄可龙), JIANG YU-REN(蒋玉仁). Chem Eng(化学工程师)[J], 2006 1: 25
2 Abernethy G, McCullough J R, Fang Y. US 5 677 346[P], 1997

3 XU Guan-Yu(许关煜), LIM in-Hua(李敏华), LIU Ling-Ling(刘玲玲), Handbook of Pharmacy Intermediate(医药中间
体手册)[M]. Beijing(北京): Chemical Industry Press(化学出版社), 2000: 164

4 ZHANG Jian(臧健), WANG Zhi-Jun(王志军), WU Yi-Zu(吴怡祖), J Chem Ind & Eng(化学工业与工程技术)
[J], 2005 26(1): 5

5 HUANG Ya-Yan(黄雅燕), XIAO Mei-Tian(肖美添), SHI Xian-Ai(石贤爱), Chinese J Pharmacy Anal(药物分析杂
志)[J], 2004 24(5): 460

6 NIE Meng-Yan(聂孟言), ZHOU Liang-Mo(周良模), WANG Qing-Hai(王清海), Chinese J Anal Chem(分析化学)
[J], 2000 28(11): 1366

7 ZHAO Yan-Fang(赵艳芳), LIU Chun-Hui(柳春晖), ZHANG Hong-Li(张红丽), Chinese J Anal Chem(分析化学)
[J], 2005 33(7): 955

8 Jandera P, Buncickova S, Mhlbachler K, J Chromatogr A [J], 2001 925: 19

9 Kezic S, Jakasa I, Wenker M, J Chromatogr B [J], 2000: 38

10 ZHU Xin-Yi(祝馨怡), CHEN Li-Ren(陈立仁), LIU Chun-Hui(柳春晖), Chinese J Anal Chem(分析化学)[J],
2003 31(6): 650

Thermodynamic Studies on Enantiomer Separation of Mandelic Acid by Chiral Ligand-exchange HPLC

LI Gui-Yin^{a, b}, HUANG Ke-Long^{a*}, JIANG Yu-Ren^a, DING Ping^a

(^a College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha 410083;

^b Hunan Vocational College of Science and Technology, Changsha)

Abstract The effect of temperature (293 ~313 K) on chromatographic separation of mandelic acid over a C₁₈ column was investigated with L-phenylalanine-CuSO₄ aqueous solution and methanol as the chiral ligand/mobile phase. Higher column temperature was found to be disadvantageous to the enantiomer separation. The retention time, resolution and selectivity of the chiral separation were decreased with temperature increase. The Van't Hoff plots of the ln k' versus 1/T of the enantiomers have a good linearity with a correlation coefficient of 0.99. The thermodynamic functions (ΔH°, Δ_{S,R}ΔH°, Δ_{S,R}ΔS°) were calculated and in the examined temperature range, the enthalpy contribution to the enantiomer transfer energy was found to be more significant than the entropy one. Therefore, the enantiomeric separation is an enthalpy controlling process.

Keywords chiral ligand; mandelic acid; enantiomer separation; thermodynamic property