

环糊精在手性药物分离分析研究中的应用

刘治岐¹, 王鸣刚¹, 薛明², 李剑勇³

(1. 兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃 兰州 730050; 2. 首都医科大学基础医学院, 北京 100069;
3. 中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所, 甘肃 兰州 730050)

摘 要: 环糊精由于自身特殊的手性环境和结构特征, 已广泛运用于手性化合物的对映体拆分及分析. 对近年来环糊精在各种色谱、质谱及核磁等分析方法中的应用进行了归纳总结, 综述了环糊精及其衍生物在手性药物的分离分析方面的研究进展.

关键词: 环糊精; 手性药物; 手性化合物; 分离分析

中图分类号: O655.4

文献标识码: A

文章编号: 1006-3757(2012)01-0014-06

环糊精(CD)是一类由数个 D -吡喃糖单元通过 α -(1,4)-糖苷键构成的腔内疏水、腔外亲水的“锥筒状”大环分子化合物. 组成环糊精的每个葡萄糖单元有 5 个手性碳原子, 为客体分子提供良好的不对称环境, 尤其对手性化合物具有很好的识别能力^[1]; 端口 C-2、C-3、C-6 羟基的衍生化后随取代基的不同可以改变环糊精空腔开口的大小和环糊精的亲水性, 这种结构与性质的变化使环糊精的手性识别范围更为广泛. 目前, 环糊精手性分离的原理还没有一个统一的理论, 但环糊精和手性化合物两者构象的匹配与相互作用的强弱起着关键的作用. 随着对手性药物的研究和认识, 环糊精作为手性识别物应用越来越广泛.

1 利用质谱研究环糊精的手性识别

质谱具有快速、灵敏、高效、低成本和样本用量少等优点, 被广泛地应用于手性药物研究^[2]. 张敏等^[3]研究了 α -环糊精、 β -环糊精、 γ -环糊精作为手性拆分试剂对 (R) 、 (S) -2-丁醇进行的分子识别作用. 结果表明 γ -环糊精与 (R) -2-丁醇、 (S) -2-丁醇间的超分子力最弱, 有一定的手性识别能力, 这一结果与 Rekharsky 等^[4]用量热法

报道的结果吻合. 随着 CapEx 电压的增加, 环糊精对 (R) 或 (S) -2-丁醇的识别能力先强后弱, 这可能是随着 CapEx 电压的增加, 离子的传输能力增加有关. 干燥气温度对环糊精对手性识别的影响很大, 研究表明干燥气温度为 100 °C、雾化气压力为 560kPa 时效果较佳.

任素梅等^[5]研究了不同的 Cone 电压下, 3 种环糊精对于甲基麻黄碱的手性识别能力. 结果表明, γ -环糊精做手性选择剂时随着电压的变化明显, α 、 β -环糊精手性选择能力对于电压的变化不敏感. 于湛等^[6]利用电喷雾质谱研究了七(2,6-二- O -甲基)- β -环糊精(DM - β -环糊精)作为手性识别试剂对薄荷醇对映体的手性识别效应. 实验结果表明, DM - β -环糊精手性选择性强, 且与薄荷醇复合物结合稳定. 在研究 DM - β -环糊精对 1,1'-联萘酚对映体手性识别中发现, β -环糊精不能识别联萘酚对映体, 而 DM - β -环糊精对联萘酚对映体有较强手性识别效应. 进一步研究表明 DM - β -环糊精与联萘酚对映体混合比例以及碰撞诱导解离能量对于手性识别并无影响^[7]. 赵秀苔等^[8]利用质谱研究了 β -环糊精和全甲基- β -环糊精对 α -苯基甘氨酸对映体的手性识别. 结果表明, 在气相条件

收稿日期: 2011-10-14; 修订日期: 2012-01-09.

基金项目: 国家自然科学基金(30772611)暨北京市属高等学校人才强教计划资助项目(PHR2010007111), 甘肃省自然科学基金(1107RJA125).

作者简介: 刘治岐(1986-), 男, 硕士研究生, 从事手性药物研究. E-mail: liuzhiqi210@163.com

通讯作者: 王鸣刚(1962-), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 为本文并列第一作者, 从事分子生物学研究. E-mail: mgwang@163.com

薛明(1962-), 男, 博士, 教授, 博士生导师. 从事药物代谢研究. E-mail: xuem@ccmu.edu.cn

下, β -环糊精及全甲基- β -环糊精都可以与 α -苯基甘氨酸形成1:1的复合物,但2种不同的环糊精对 α -苯基甘氨酸的识别能力存在较大差异。

2 利用核磁共振研究环糊精的手性识别

核磁共振法与色谱法相比具有快速、方便的特点,是色谱法的有效补充。利用核磁共振研究手性化合物的方法主要有2种:一种是通过衍生化反应,使对映异构体转化为非对映异构的衍生物;另一种是直接法,即给对映体提供一个手性的环境,在手性环境中对映体的核磁共振谱可能不完全相同。产生手性环境的方法有:1)手性位移试剂;2)手性溶解剂(Chiral Solvating Agent, CSA)。在溶液中手性溶解剂与底物形成瞬态缔合物,使对映体的某些核磁共振谱有所区别,该方法操作简单,适用范围广^[9-10]。

黄少华等^[11]对 β -环糊精识别*D/L*-樟脑磺酸的研究表明,主客体各个信号的化学位移随着它们之间的相对比例的变化而改变。主体的各个质子中变化最大的是位于空腔内的 H_3 和 H_5 质子,这说明确实产生了包合作用,若只是在空腔外的结合,化学位移不可能产生大的偏移^[12]。当溶液中仅存在樟脑磺酸时,*L*和*D*-樟脑磺酸质子的化学位移相同,不能被识别,这时, H_8' 和 H_9' 质子的化学位移分别为 δ 0.881和 δ 1.086。当樟脑磺酸对映体与主体发生作用后*L*-樟脑磺酸的 H_8' 和 H_9' 的化学位移分别为 δ 0.957和 δ 1.181,而*D*-樟脑磺酸的 H_8' 和 H_9' 的化学位移分别为 δ 0.969和 δ 1.191,2个对映体的 H_8' 和 H_9' 具有不同的化学位移,显然能够为 β -环糊精所识别^[22]。王恩举等^[13]报道了利用核磁共振法研究 β -环糊精对布洛芬的手性识别,研究发现外消旋布洛芬与 β -环糊精形成包合物后,其 1H -NMR和 ^{13}C -NMR图谱的化学位移和峰形都有所变化,手性碳附近的某些原子所对应的吸收峰裂分为两组信号,这2组信号分别对应布洛芬的两种对映异构体。结果显示,对于布洛芬, β -环糊精是一个方便而有效的手性溶解剂。

核磁共振研究环糊精的手性识别机理是由于自身的手性内环境, β -环糊精内的2,3位羟基形成了闭合的分子内氢键所以更具有指向性和刚性,若客体分子与2,3位羟基发生氢键作用,则会产生更强

的手性选择性^[14]。

3 利用计算机分子模拟研究环糊精的手性识别

近年来,通过计算机模拟从分子水平解释环糊精对映体手性识别作用的报道日渐增多,是手性识别研究的一个有益补充。计算机模拟可以摆脱某些实验条件的限制,直观地预测环糊精与手性药物分子形成包结物的三维结构,包结物的稳定性,并能对包结物形成的驱动力进行分析。

聂孟言等^[15]对 α -溴丙酸甲酯与 β -环糊精衍生物手性识别过程的模拟研究中参考了Kohler等人的研究结果,发现 α -氯丙酸甲酯以不同取向方式放入环糊精空腔内所建立的起始构象,经过分子动力学模拟得到的最后构象都是相同的,发现所述对映体与环糊精衍生物的手性识别发生在环糊精空腔的内部。郝雅琼^[16]等报道了桥联双 β -环糊精对*N*-[4-(1-苈基)]丁酰-*D/L*-苯丙氨酸的手性识别及机理研究,通过分子力学模拟得出了对映体与双环糊精形成复合物的三维结构。结果显示对映体的绝大部分位于双环糊精两个空腔之间,但是两个复合物中苯环与苈环形成的二面角不同。此外,含碲双环糊精与对映体的氢键相互作用强于含硒双环糊精。

余江河^[17]等研究发现分子柔性在手性识别中的作用不可忽视,Gold柔性对接的模拟结果能很好的和实验结果吻合。对模拟的结合能数据分析发现对映体手性识别的主要驱动力是氢键作用。刘铁兵等^[18]报道用Gold柔性对接在模拟环糊精对映体手性识别方面要优于Dock刚性对接。同时以氢键作用作为分子识别模型则预测结果正确率为45.5%,如以分子间氢键作用和范德华力作用为预测模型,预测正确率为81.8%,结果显示手性识别的驱动力不仅有氢键作用,也存在范德华力作用。

4 环糊精在色谱法分离异构体中的应用

4.1 在气相色谱法分离异构体中的应用

1961年,Sand等^[19]首次把环糊精用于气相色谱分离脂肪族化合物,由于天然环糊精熔点高达290℃,因此在气相色谱的应用上一直不被看好。直到1983年才开始使用 α -环糊精与甲酰胺的混

合物用作填充柱用于气相色谱固定相对 α -、 β -蒎烯的外消旋体进行了分离。由于其良好的选择性,使得环糊精越来越被人们所重视^[20]。自 1987 年环糊精及其衍生物用于对映异构体的分离以来,已合成和使用了 50 余种环糊精衍生物气相色谱固定相,被拆分的手性化合物达数百种,目前,不断有新的环糊精手性固定相被合成。

国内王东新等^[21]合成了 4 种以环糊精为侧链的含氢聚甲基硅氧烷为固定相的气相色谱手性柱,考察了对手性化合物 ($\pm$)- γ -苯基- γ -丁内酯的手性选择性。研究发现环糊精以圆台较小的一端与含氢硅油相连,连接臂中不含苯氧基而含有醚键,连接臂较短的固定相具有最好的手性分离效果。周美扬等^[22]报道合成了噻吩杂环衍生化 β -环糊精手性固定相,在采用气相色谱法分离芳香族位置异构及对映异构体时有较好的分离效果,同时对含多手性中心的菊酸衍生物有较强的立体选择能力,有一定的分离效果。

朱小波等^[23]将全甲基- β -环糊精分别与全乙基- β -环糊精、全丁基- β -环糊精和全戊基- β -环糊精混合作为气相色谱固定相,测试了这 4 根毛细管柱的柱效、极性和手性分离性能。结果表明随着环糊精的烷基链长增长,固定相极性逐渐降低,手性分离能力减小,但 16 种含苯环的手性化合物在这 4 根柱上均得到了较好的分离。该课题组还合成了新的环糊精衍生物 2,6-二-*O*-乙氧乙基-3-*O*-三氟乙酰基- β -环糊精,并采用静态法涂渍毛细管气相色谱柱考察了柱性能和分离效果。该固定相对 Grob 试剂、苯的二取代位置异构体等 10 余种手性化合物具有良好的分离效果^[24]。

4.2 在液相色谱法分离异构体中的应用

环糊精也被广泛应用于液相色谱的对映异构体的分离。Ramos 等^[25]研究 γ -丁内酯的衍生物在液相色谱中的拆分使用的手性识别剂是 2,3-二-*O*-甲基-6-*O*-特丁基二甲基硅烷基- β -环糊精。发现其手性识别能力更加取决于化合物几何构型,而化合物极性几乎不起什么作用,因而环糊精的包结作用比环糊精空腔外的极性相互作用更加重要。Berkecz 等^[26]用 3,5-二甲基苯基胺基甲酰基 β -环糊精为固定相,用高效液相色谱分离了 1-(α -氨基苯基)-2-萘酚及 2-(α -氨基苯基)-1-萘酚的对映体。用醇对流动相的极性进行调节可以使分离得到优化,发现 1-萘酚和 2-萘酚上 α -

氨基苯基的位置与极性影响着色谱分离中的保留值和选择性。

国内阮源萍等^[27]利用合成的 2,6-二-*O*-戊基- β -环糊精涂渍 Symmetry C₈ 色谱柱,研究了扁桃酸及其类似物等 6 种外消旋对映体的反相高效液相色谱拆分。结果表明,采用优化后的甲醇-水或甲醇-0.5% 三乙胺-乙酸缓冲液流动相等色谱条件,扁桃酸、扁桃酸甲酯、苯基甘氨酸、苯基琥珀酸和安息香等 5 种外消旋对映体达到或接近基线分离,其中前 4 种对映体均为 (*S*)-构型先出峰,该法可用于实际样品的对映体纯度测定。施介华等^[28]以 *S*-羟丙基- β -环糊精手性柱,采用反相高效液相色谱法研究了联二萘胺和联二萘酚光学异构体的手性分离,考察了流动相组成、流速以及柱温对异构体分离的影响,并且证实了联二萘胺和联二萘酚光学异构体的分离是焓驱动过程。马海萍^[29]等采用五厘米较短的全苯基异氰酸酯衍生化的 β -环糊精键合硅胶手性柱,用高效液相色谱法对烯丙洛尔、普萘洛尔、美西律、美托洛尔和吲哚心安 5 种 β -受体阻滞剂类药物进行了手性分离研究,结果显示除烯丙洛尔外,其它 4 种药物在 5 分钟内实现了对映异构体的分离,具有高效重复性好的优点。

5 环糊精在毛细管电泳分离手性药物中的应用

20 世纪 80 年代以来,由于毛细管电泳技术具备高效、快速、简便等优点而被广泛应用于手性药物的拆分。应用过程中最关键的是选择合适的手性选择试剂,目前最常用的手性选择试剂包括环糊精及其衍生物,毛细管电泳手性分离基本策略是通过引入环糊精来构建手性分离环境。

Palmarskottir^[30]用 2-羟丙基- β -环糊精作手性选择剂分离特布他林、班布特罗、普萘洛尔、麻黄素等药物的对映异构体,证实了衍生后的 β -环糊精水溶性有了明显增加,更适合做毛细管电泳的手性选择剂。Mikus 等^[31]以 3 种 *N*-甲基胺基 β -环糊精为手性选择剂用毛细管区带电泳分离了 2,4-二硝基苯基氨基酸的对映体。单取代和三取代的胺基 β -环糊精对单独的对映体分离效果最好,单取代的胺基 β -环糊精对氨基酸混合物的对映体能达到最好的分离,而位置异构体的最好分离是在单取代和二取代的胺基 β -环糊精上得到的,此结果表

明手性选择剂中胺基的甲基化程度的对分离效果有很大的影响。国内郑志侠等^[32]以环糊精为手性选择剂,采用毛细管电泳对扑尔敏、异丙嗪和二氧异丙嗪对映体进行了分离。结果表明 α -环糊精对各药品无手性识别作用, β -环糊精可以拆分扑尔敏和异丙嗪对映体,二氧异丙嗪在10 mmol/L γ -环糊精条件下可实现完全分离。添加有机改性剂甲醇或乙腈后,各对映体的分离度均未得到改善,其变化与包合物的平衡改变程度有关。张锴等^[33]以4种中性环糊精和3种高硫酸盐环糊精手性选择剂分离6种药物对映体。结果表明,采用HS- β -环糊精作手性选择剂可以使6种药物对映体得到基线分离,最佳pH值为2.5。周文峰等^[34]在10 mmol/L β -环糊精和20 mmol/L 硼酸盐条件下,实现了8种单磷酸核苷酸的分离测定,讨论了pH值、 β -环糊精浓度、硼酸盐浓度及分离电压对分离和络合作用的影响。

6 展望

环糊精由于其分子结构中含有特殊的空腔结构和手性环境,且含有多个羟基,因此具有较强的手性识别能力和手性分离能力。环糊精以其品种多、价格低、高手性识别范围等优点在医药、化工、环境保护等领域有广泛而重要的应用。目前,环糊精新的衍生物不断被合成,新的分离分析手段不断涌现,应用范围也日渐广泛。虽然环糊精手性分离的机理还还有待于进一步的研究,但环糊精及其衍生物作为手性选择剂依然有巨大的发展空间。

参考文献:

- [1] 李霞,周智明,孟子晖. β -环糊精衍生物的超分子体系识别机理及其在手性分离中的应用[J]. 色谱, 2010, 28(4): 413-421.
- [2] Mc Lafferty F W. Tandem mass spectrometry [J]. Science, 1981, 214: 280-287.
- [3] 张敏,史真,白银娟,等. 环糊精对(R)、(S)-2-丁醇手性分子识别的电喷雾电离质谱研究[J]. 分析测试学报, 2006, 25(5): 56-58.
- [4] Rekharsky M V, Scharz F P, Tewari Y B, et al. A thermodynamic study of the reactions of cyclodextrins with primary and secondary aliphatic alcohols, with D- and L-phenylalanine, and with L-phenylalanineamide [J]. J Phys Chem, 1994, 98: 10 282-10 288.
- [5] 任素梅,姜廷福. 环糊精对甲基麻黄碱手性识别的电喷雾质谱研究[J]. 分析测试技术与仪器, 2008, 14(2): 96-99.
- [6] 于湛,闫存玉,宋凤瑞,等. 七-(2,6-二-O-甲基)- β -环糊精对薄荷醇对映体手性识别的电喷雾质谱研究[J]. 分析化学, 2006, 34: 671-674.
- [7] 于湛,闫存玉,宋凤瑞,等. 七-(2,6-二-O-甲基)- β -环糊精对1,1'-联萘酚对映体手性识别的电喷雾质谱研究[J]. 化学学报, 2006, 64(14): 1 507-1 512.
- [8] 赵秀苔,曹洁. 电喷雾质谱研究 β -环糊精和全甲基- β -环糊精对 α -苯基甘氨酸对映体的手性识别[J]. 中国科学院研究生院学报, 2008, 25(2): 284-287.
- [9] Pham D T, Clements P, Easton C J, et al. ^1H -NMR studies of enantioselective host-guest complexation by modified beta-cyclodextrins and their europium(III) complexes [J]. Tetrahedron - Asymmetry, 2008, 19: 167-175.
- [10] 朱全红,邵伟艳,何建峰,等. β -环糊精包合物的 ^1H -NMR研究[J]. 波谱学杂志, 2001, 18(4): 377-382.
- [11] 黄少华,柏正武,冯继文. β -环糊精手性识别D/L-樟脑磺酸的NMR研究[J]. 波普学杂志, 2009, 26(4): 157-164.
- [12] Su Ke-man, Jing Xiang-dong, Cai Shui-hong. Determination of enantiomeric excess of chiral compounds by ^1H -NMR [J]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory, 1999, 16(6): 604-610.
- [13] 王恩举,陈光英,彭明生. NMR研究 β -环糊精对布洛芬的手性识别[J]. 波谱学杂志, 2009, 26(2): 216-222.
- [14] Armstrong D W, Ward T J, Armstrong R D, et al. Separation of drug stereoisomers by formation of β -Cyclo-dextrin inclusion complexes [J]. Science, 1986, 232: 1132-1135.
- [15] 聂孟言,周良模,王清海,等. α -溴丙酸甲酯与 β -环糊精衍生物手性识别过程的模拟研究[J]. 化学学报, 2001, 59(2): 268-273.
- [16] 郝雅琼,王立旭,马立军,等. 桥联双 β -环糊精对N-[4-(1-萘基)]丁酰-D/L-苯丙氨酸的手性识别及机理研究[J]. 高等学校化学学报, 2006, 27(5): 920-924.
- [17] 余江河,张志强,何华,等. β -环糊精对N-苯甲氧羰基-L-天冬氨酸对映体手性识别的计算机模拟研究[J]. 药物生物技术, 2008, 15(6): 453-457.
- [18] 刘铁兵,张志强,潘和蹇,等. 不同模拟方法研究 β -环糊精识别对映体分子[J]. 计算机与应用化学,

- 2011, 28(4): 390–394.
- [19] Sand D M, Schlenk H. Acylated cyclodextrins as tolar stationary phases for gas chromatography [J]. Anal Chem, 1961, 33: 1624–1624.
- [20] Koscielski T, Sybilska D, Jurczak J. Separation of α - and β -pinene into enantiomers in gas-liquid chromatography systems via α -cyclodextrin inclusion complexes[J]. J Chromatogra, 1983, 261:357–362.
- [21] 王东新, Malik A. 接枝聚硅氧烷环糊精固定相溶液-凝胶毛细管气相色谱柱分离内酯对映体[J]. 分析化学研究报告, 2007, 35(3): 360–364.
- [22] 周美扬, 凌云, 申刚义, 等. 新型噻吩杂环衍生化 β -环糊精手性固定相合成及其气相色谱分离性能[J]. 高等学校化学学报, 2008, 29(3): 493–497.
- [23] 朱小波, 陈福良, 尹明明. 全烷基化 β -环糊精混合固定相上一些取代苯类手性化合物的气相色谱分离研究[J]. 分析测试学报, 2009, 28(4): 409–413.
- [24] 尹明明, 朱小波, 刘勇良, 等. 2,6-二-O-乙氧乙基-3-O-三氟乙酰基- β -环糊精气相色谱手性固定相的制备及应用[J]. 分析测试学报, 2011, 30(3): 298–301.
- [25] Ramos M D, Teixeira L H P, Neto F R D, *et al.* Chiral separation of butyrolactone derivatives by gas chromatography on 2, 3-di-O-methyl-6-O-tertbutyldimethylsilyl- β -cyclodextrin [J]. J Chromatogra A, 2003, 985 (1/2): 321–331.
- [26] Berkecz R, Ilisz I, Ivanov - Sztojkov A, *et al.* HPLC enantioseparation of 1-(α -aminobenzyl)-2-naphthol and -2(α -aminobenzyl)-1-naphthol analogs on a beta-cyclodextrin-based chiral stationary phase[J]. Chromatographia, 2007, 65 (5/6): 337–341.
- [27] 阮源萍, 张雪曼, 陈安齐, 等. 2, 6-二-O-戊基- β -环糊精涂渍 Symmetry C₈柱拆分扁桃酸及其类似物对映体[J]. 色谱, 2004, 22(4): 420–423.
- [28] 施介华, 程向炜, 严巍. S-羟丙基- β -环糊精手性柱上联二萘胺和联二萘酚光学异构体的反相高效液相色谱法直接分离[J]. 分析测试学报, 2008, 27(7): 772–775.
- [29] 马海萍, 李来生, 陈会明, 等. 高效液相色谱-全苯基衍生化 β -环糊精短柱分离 5 种手性 β -受体阻滞剂[J]. 分析化学研究报告, 2010, 38(2): 158–162.
- [30] Palmarskottir S, Edholm L - E. Capillary zone electrophoresis for separation of drug enantiomers using cyclodextrins as chiral selectors: Influence of experimental parameters on separation [J]. J Chromatogr A, 1994, 666(1–2): 337–339.
- [31] Mikus P, Kaniansky D. Capillary zone electrophoresis resolutions of 2,4-dinitrophenyl labeled amino acids enantiomers by *N*-methylated amino-beta-cyclodextrins[J]. Analytical Letters, 2007, 40(2): 335–347.
- [32] 郑志侠, 汪家权, 程红, 等. 基于环糊精手性选择剂的几种手性药物对映体的毛细管电泳拆分[J]. 化学研究, 2010, 21(1): 76–79.
- [33] 张锴, 张智超, 王琴孙, 等. 环糊精毛细管区带电泳法分离 6 种药物对映体的研究[J]. 中国药学杂志, 2002, 37(1): 52–54.
- [34] 周文峰, 李向军, 张裕平, 等. 核苷酸与 β -环糊精及硼酸盐的络合作用在高效毛细管电泳分离核苷酸中的应用[J]. 分析测试学报, 2003, 22(3): 8–10.

Application of Cyclodextrin in Separation and Analysis of Chiral Enantiomers

LIU Zhi - qi¹, WANG Ming - gang¹, XUE Ming², LI Jian - yong³

(1. Academy of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China;

2. Department of Pharmacology, School of Basic Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China;

3. Lanzhou Institute of Animal Science and Veterinary Pharmaceuticals, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730050, China)

Abstract: Cyclodextrin (CD) has been widely used for the separation and analysis of chiral enantiomers due to its special structural features and chiral environment. In this paper the application and progress in the research of CD and its derivatives in the analysis of chiral drugs by various chromatographic, mass spectrometric and NMR methods in recent years are reviewed.

Key words: cyclodextrin; chiral drug; chiral compound; separation and analysis

Classifying number: O655.4

