

Chiralcel OD-RH 手性柱拆分安息香 对映体的热力学研究

成 芳, 邱进坤, 阮源萍*

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

摘 要: 利用 Chiralcel OD-H 手性柱拆分外消旋安息香化合物制备单一对映体标样, 并对其进行圆二色光谱表征。在此基础上, 采用甲醇、乙醇、乙腈为流动相考察了安息香在 Chiralcel OD-RH 柱上的色谱拆分行为和热力学特性。结果表明: 以纯甲醇为洗脱液时, (*S*)-构型先出峰, 安息香的拆分过程为焓控; 以纯乙醇为洗脱液时, (*R*)-构型先出峰, 拆分过程为熵控; 而以纯乙腈为洗脱液时, 虽然也是(*R*)-构型先出峰, 但焓和焓对拆分均有贡献。文中还对比了安息香在 Chiralcel OD-H 柱的拆分性能。

关键词: 对映体拆分; 色谱热力学; 安息香; 反相液相色谱

中图分类号: O657.72 **文献标识码:** A

Chiralcel OD-H 和 Chiralcel OD-RH 是日本 Daicel 公司推出的两种大孔硅基涂敷纤维素-三(3, 5-二甲苯基氨基甲酸酯)手性固定相商品柱, 前者用于正相色谱拆分, 后者用于反相色谱拆分^[1]。它们具有良好的手性拆分性能, 应用广泛^[2]。但由于纤维素类手性固定相的复杂性, 人们对其手性识别机理的认识还远远不够, 而流动相组成及温度是影响对映体选择性的重要因素, 因此通过色谱热力学研究可以帮助人们进一步认识和理解手性识别机理^[3-5]。

作为典型的手性样品, 外消旋安息香常用于评价各种液相色谱手性固定相性能^[6-10], 但相关的热力学研究^[3, 10]和对映体出峰顺序^[11]的报道比较少见。本文从热力学角度对安息香在 Chiralcel OD-RH 手性柱上的拆分进行研究, 考察了不同极性有机溶剂甲醇、乙醇和乙腈, 以及柱温对安息香色谱拆分的影响, 根据 Van't Hoff 曲线计算出对映体之间的 $\Delta \Delta H^0$ 和 $\Delta \Delta S^0$ 等热力学参数。同时, 对安息香在 Chiralcel OD-H 手性柱上的拆分特性也作了比较。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

日本岛津公司高效液相色谱仪, 附 LG-10ATVP 高压梯度泵, SPD-M10AVP 二极管阵列检测器, CT O-10ASVP 柱温箱, Rheodyne 7725i 进样阀, CLASS-VP 色谱工作站; 日本 DAICEL 公司的 Chiralcel OD-H 和 Chiralcel OD-RH 手性色谱柱(250 × 4.6 mm i. d., 5 μm); 日本 JASCO 公司的 MODEL J-810 型 CD 光谱仪; PE Polarimeter 341 微量旋光仪。

外消旋安息香(化学纯)为上海化学试剂公司产品; 甲醇、乙腈为国产液相色谱淋洗剂; 正己烷、乙醇、异丙醇为分析纯试剂, 经重蒸后使用; 实验用水为 Milipore 纯水系统制备。

1.2 色谱条件

采用甲醇、乙醇、乙腈及其含水流动相, 流速 0.5 mL/min, 检测波长 247 nm, 进样 20 μL。每次更换

收稿日期: 2006-06-13 修回日期: 2006-09-01

基金项目: 福建省自然科学基金(No. 0510001)

通讯联系人: 阮源萍, 男, 教授, 主要研究方向: 手性色谱分析。

流动相或改变柱温时, 色谱柱至少平衡 30 min 后进样分析。色谱柱的死时间由基线扰动峰测定。

2 结果与讨论

2.1 安息香对映体的色谱制备和光学表征

采用 Chiralcel OD-H 柱^[1], 正己烷-乙醇(70/30, V/V) 流动相, 流速 1.0 mL/min, 每隔 3 min 连续进 40 μ L 4.7 mg/mL 外消旋安息香样品液, 分别收集两个单一对映体组分。然后通过旋光测定与 Beilstein 数据库中(*R*)-安息香在乙醇中对应的 ORP 数据的旋光符号进行关联, 以及对单一安息香对映体样品在 Chiralcel AD-H 柱上的流出顺序确定它们的立体构型^[11]。

图 1 中的(*R*)-安息香在 227 nm、280 nm 和 369 nm 处呈正的 Cotton 效应, 在 251 nm 和 315 nm 处呈负的 Cotton 效应, 而(*S*)-安息香恰好与其相反, 呈镜像对称, 表明它们是一对在结构上完全对映的异构体。

2.2 流动相对安息香拆分的影响

在考察流动相中有机溶剂-水组成对安息香在 Chiralcel OD-RH 柱上拆分的影响时观察到: 随着流动相中有机溶剂含量的下降, 安息香对映体在 Chiralcel OD-RH 柱上保留值增大, 反映出反相色谱的保留特性。在乙腈-水与乙醇-水体系中, 分离选择性随极性有机溶剂含量下降而下降; 而甲醇-水体系中, 分离选择性随甲醇含量下降反而上升。

当采用纯乙醇和纯乙腈流动相时, 安息香的出峰顺序均是(*S*)-安息香在前, (*R*)-安息香在后。而采用纯甲醇流动相时, 出峰顺序发生翻转(图 2)。对比纯乙醇和纯甲醇流动相分离的色谱图, (*R*)-安息香保

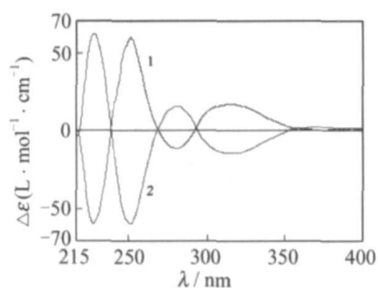


Fig. 1 CD Spectra of benzoic acid in ethanol

1. (*S*)-(+)-Benzoic acid; 2. (*R*)-(-)-Benzoic acid.

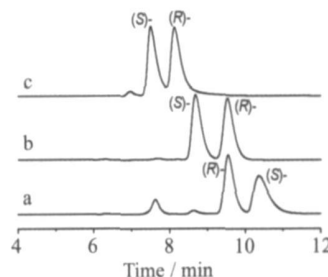


Fig. 2 Chromatograms of benzoic acid

Mobile phase: a. methanol, b. ethanol, c. acetonitrile; Temperature: 25 °C.

留值基本不变, 而(*S*)-安息香保留值则发生较大变化, 造成出峰顺序发生改变, 这是一个很有趣的实验现象。为此, 进一步考察了流动相从纯甲醇分段过渡到纯乙醇时安息香的分离特性。如图 3 所示, 随着流动相中乙醇含量的增大, (*R*)-安息香的保留因子变化不大, 而(*S*)-安息香却呈现明显的变化。实验还观察到流动相从甲醇切换到乙醇, Chiralcel OD-RH 柱的平衡时间较长(约 6 h); 而乙腈与甲醇或乙醇间切换后的平衡时间均比较短(约 1 h)。这些实验结果表明: 甲醇、乙醇和乙腈对 Chiralcel OD-RH 手性固定相可能有不同的溶胀作用, 它们改变了纤维素-三(3, 5-二甲基苯基氨基甲酸酯)的手性空腔大小, 使安息香在 Chiralcel OD-RH 柱上的色谱保留和手性识别能力发生变化。

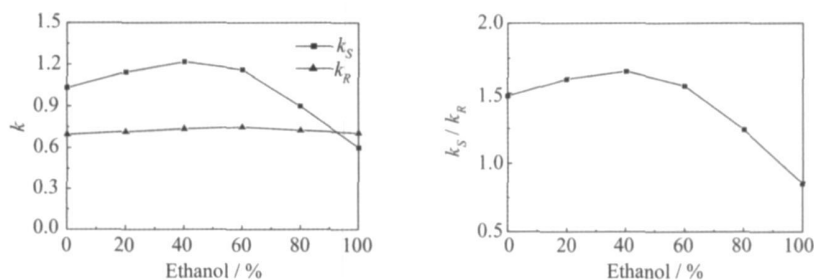


Fig. 3 Effect of ethanol content in mobile phase on enantioseparation of benzoic acid

Mobile phase: methanol-ethanol; Temperature: 5 °C.

2.3 温度对安息香拆分的影响

分别以甲醇、乙醇和乙腈纯溶剂为流动相,在温度 5~ 40℃范围内考察了安息香在 Chiralcel OD-RH 柱上色谱拆分的热力学性质。在实验的温度范围内,用 $\ln k$ 和 $\ln \alpha$ 对 $1/T$ 作图得到的 Van't Hoff 实验曲线均呈现良好的线性关系(图 4),相关系数大于 0.99,其热力学参数见表 2。

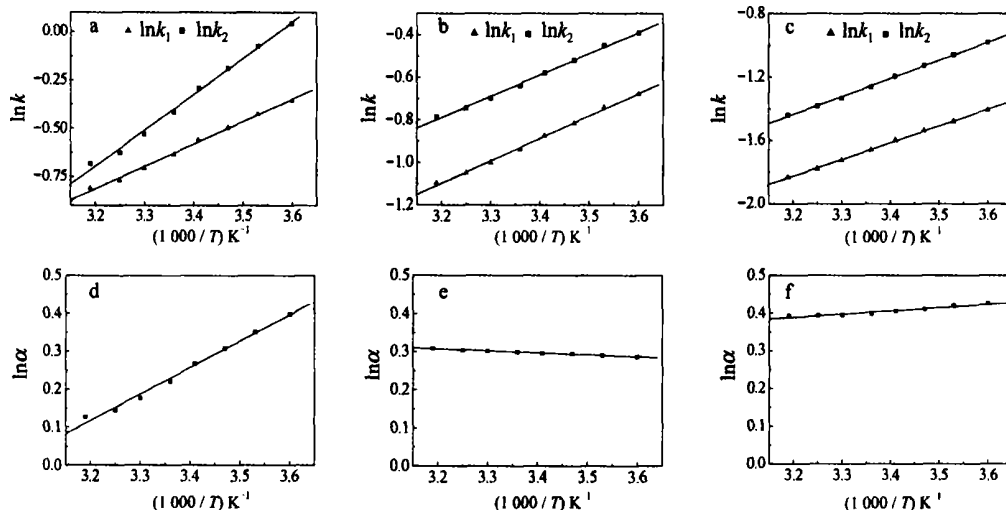


Fig. 4 Plots of $\ln k$ and $\ln \alpha$ versus $1/T$ for benzoin on Chiralcel OD-RH

Mobile phase: a&d. methanol; b&e. ethanol; c&f. acetonitrile.

Table 1 Thermodynamic parameters for benzoin enantiomers on Chiralcel OD-RH

Mobile Phase	$\Delta \Delta H^0$ (kJ·mol ⁻¹)	$\Delta \Delta S^0$ (J·K ⁻¹ ·mol ⁻¹)	r^2	ΔH_R (kJ·mol ⁻¹)	ΔS_R^* (J·K ⁻¹ ·mol ⁻¹)	r^2	ΔH_S (kJ·mol ⁻¹)	ΔS_S^* (J·K ⁻¹ ·mol ⁻¹)	r^2
CH ₃ OH	- 5.81	- 17.63	0.992	- 9.65	37.65	0.994	- 15.46	- 55.28	0.994
CH ₃ CH ₂ OH	0.43	3.93	0.990	- 8.32	- 33.19	0.994	- 8.77	- 37.21	0.996
CH ₃ CN	- 0.72	0.95	0.931	- 9.49	- 42.33	0.999	- 8.80	- 43.35	0.999

$$\ln k = - \left(\frac{\Delta H^0}{RT} \right) + \left(\frac{\Delta S^0}{R} \right) + \ln \varphi; \Delta S^* = \Delta S^0 + R \ln \varphi; \ln \alpha = - \left(\frac{\Delta \Delta G^0}{RT} \right) = - \frac{\Delta \Delta H^0}{RT} + \frac{\Delta \Delta S^0}{R}.$$

从表 1 数据可以看出,采用甲醇流动相时, $\Delta \Delta H^0$ 和 $\Delta \Delta S^0$ 均为负值,表明分离过程为焓控,分离因子随温度降低而明显增大(图 4d),而且 ΔH_S 绝对值大于 ΔH_R ,表明(S)-安息香与固定相之间的作用强,这与安息香对映体出峰顺序相符。此时氢键、 $\pi\pi$ 以及偶极-偶极等作用方式对对映体的拆分起了重要的作用^[12]。当采用乙醇流动相时, $\Delta \Delta H^0$ 和 $\Delta \Delta S^0$ 均为正值,即分离过程为熵控,分离因子随温度降低略有上升(图 4e),可能是安息香与固定相手性空穴形成包含物的难易程度对拆分起主要作用^[12]。当采用乙腈流动相时,安息香的分离因子随温度升高缓慢下降(图 4f), $\Delta \Delta H^0$ 和 $\Delta \Delta S^0$ 值一负一正,说明焓和熵对安息香的拆分均有贡献,氢键作用与手性空穴包络对安息香拆分共同起作用。由于采用乙腈流动相时呈现焓和熵共控过程,这也可以较好地解释 2.2 节提到的流动相在甲醇-乙醇之间切换时需要较长的平衡时间,而采用乙腈切换流动相可缩短平衡时间等实验现象。

2.4 比较安息香在 Chiralcel OD-H 柱上拆分

采用正己烷-乙醇(或异丙醇)为流动相考察安息香在 Chiralcel OD-H 柱上的拆分行。随着醇含量的升高,安息香对映体的保留时间和分离度减小,分离因子增大,出峰顺序均为(S)-构型在前,(R)-构型在后。图 5 给出纯乙醇为流动相时安息香在 Chiralcel OD-H 柱和 Chiralcel OD-RH 柱上拆分数谱图,它们的出峰顺序相同,拆分特性并没有表现出明显的差异。

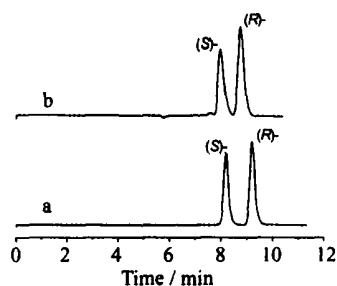


Fig. 5 Chromatograms of benzoin on Chiralcel OD-H and Chiralcel OD-RH

Mobile phase: ethanol; Column: a. Chiralcel OD-H, b. Chiralcel OD-RH; Temperature: 25℃.

参考文献:

- [1] Okamoto Y, Kaida Y. J. Chromatogr. A [J], 1994, **666**: 403.
- [2] Tachibana K, Ohnishi A. J. Chromatogr. A [J], 2001, **906**: 127.
- [3] Stringham R W, Blackwell J A. Anal. Chem. [J], 1997, **69**: 1414.
- [4] O'Brien T, Crocker L, Thompson R, Thompson K, Toma P H, Conlon D A, Feibush B, Moeder C, Bicker G, Grinberg N. Anal. Chem. [J], 1997, **69**: 1999.
- [5] YAN Quan-hong(严全鸿), WU Cai-juan(吴彩娟), SU Bao-gen(苏宝根), REN Qi-long(任其龙). Chinese Journal of Chromatography(色谱) [J], 2004, **22**: 408.
- [6] CHEN Xiao-ming(陈小明), YANG Li(杨利), ZOU Han-fa(邹汉法), ZHANG Qiang(张强), NI Jian-yi(倪坚毅). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学) [J], 2000, **28**: 1074.
- [7] QIN Feng(秦峰), CHEN Xiao-ming(陈小明), LIU Yue-qi(刘月启), KONG Liang(孔亮), ZOU Han-fa(邹汉法). Chinese Journal of Chromatography(色谱) [J], 2004, **22**: 569.
- [8] RUAN Yuan-ping(阮源萍), ZHANG Xue-man(张雪曼), CHEN An-qi(陈安齐), QIU Hai-yuan(邱海源), HUANG Pei-qiang(黄培强). Chinese Journal of Chromatography(色谱) [J], 2004, **22**: 420.
- [9] YE Ming-liang(叶明亮), ZOU Han-fa(邹汉法), LEI Zheng-deng(雷政登), WU Ren-an(吴仁安), NI Jian-yi(倪坚毅). Chinese Journal of Chromatography(色谱) [J], 2001, **19**: 390.
- [10] WENG Wen(翁文), YAO Bi-xia(姚碧霞), LIU Feng(刘锋), ZHU Jin(朱津), LI Sai-qing(李赛清). Chinese Journal of Applied Chemistry(应用化学) [J], 2005, **22**: 800.
- [11] Demir A S, e enoglu Ö, Eren E, Hosrik B, Pohl M, Janzen E, Kolter D, Feldmann R, D nkelmann P, M ller M. Adv. Synth. Catal. [J], 2002, **344**: 96.
- [12] Weng W, Zeng Q L, Yao B X, Wang Q H, Li S Q. Chromatographia [J], 2005, **61**: 561.

Thermodynamic Study on the Enantioseparation of Benzoin on a Chiralcel OD-RH Column

CHENG Fang, QIU Jin-kun, RUAN Yuan-ping*

(Key Laboratory of Analytical Sciences, Ministry of Education, and Department of Chemistry, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005)

Abstract: This paper reports the thermodynamic study on enantioseparation of benzoin on a Chiralcel OD-RH column under the reversed phase mode. The effects of different mobile phases and the column temperature on the retention and enantioseparation were investigated. It was found that (*S*)-benzoin was first eluted and the enantioseparation was typical enthalpy driven with methanol as eluent, but (*R*)-benzoin was first eluted and the enantioseparation was typical entropy driven with ethanol as eluent. However, when acetonitrile was used as mobile phase, (*R*)-benzoin was first eluted, but enthalpy and entropy terms were all favorable to enantioseparativity. The comparison of enantioseparation of benzoin was also investigated on a Chiralcel OD-H column.

Keywords: Enantioseparation; Chromatographic thermodynamics; Benzoin; Reversed phase liquid chromatography