

合成高分子作为手性固定相在高效液相色谱中的应用

王 辉, 徐晓冬*

(高分子材料研究中心, 哈尔滨工程大学材料科学与化学工程学院, 哈尔滨 150001)

摘要:具有旋光活性的合成高分子基于它的手性结构而具有广泛的应用, 其中最实际和广泛的应用是在高效液相色谱中作为手性固定相来拆分对映异构体, 目前已成为合成化学、分析化学以及制药化学领域必不可少的分离材料。本文简要介绍了高效液相色谱手性固定相拆分法, 综述了合成高分子, 包括加聚物特别是聚甲基丙烯酸酯类和聚甲基丙烯酸酰胺类聚合物、聚酰胺及其它合成聚合物, 在高效液相色谱中作为手性固定相的应用进展, 并展望了该领域今后的发展趋势。

关键词:合成高分子; 手性固定相; 高效液相色谱; 手性分离

引言

具有旋光活性的合成高分子基于它的手性结构而具有广泛的应用, 合成旋光活性聚合物是大分子科学中一个很重要的领域, 其中一个很重要的应用领域就是手性识别, 手性聚合物的这种识别能力已经应用于催化和分离化学中。其中手性聚合物最实际和最广泛的应用是在高效液相色谱中作为手性固定相来分离外消旋化合物^[1]。迄今为止, 已经设计并合成了许多作为手性固定相的聚合物, 其中超过 100 种已经商业化, 并且成为合成化学、分析化学以及制药化学领域里越来越必不可少的分离材料。本文简要介绍了高效液相色谱手性固定相拆分法, 主要综述了合成高分子, 包括加聚物、缩聚物及其它合成聚合物, 在高效液相色谱中作为手性固定相的应用进展。

1 高效液相色谱手性固定相拆分法简介

与经典的对映体拆分法相比, 色谱法具有许多明显的优越性, 可以满足各种条件下对映体分离和测定的要求, 能够进行简便快速的定性和定量分析, 也能进行制备规模的分离和微量测定。目前, 色谱法已成为光学拆分最有效的方法, 包括高效液相色谱法、气相色谱法、薄层色谱法、毛细管电泳等。其中, 高效液相色谱法不会因高温而使溶质构型发生变化和失去生物活性, 且柱容量高, 具有发展成实验室和工业规模对映体制备分离的巨大潜力^[2]。

液相色谱手性拆分依据其原理可分为手性衍生化法、手性流动相法和手性固定相法三种。其中手性固定相法是基于样品与固定相表面的手性选择剂形成暂时的非对映体配合物的能量差异或稳定性不同而达到手性分离, 是不经过转变成非对映体的直接拆分的方法。手性固定相拆分法的优点是制备方便, 能适用于各类化合物的拆分。缺点是目前还没有一种广谱的色谱固定相, 需根据样品的结构选择合适的手性柱。尽管如此, 手性固定相法仍是目前最具优势的光学异构体拆分方法, 已经成功分离出几十类、上万种手性化合物的对映体, 超出了过去 100 多年分离出约 7000 种手性化合物对映异构体的总和。

手性固定相的手性识别能力可以从对映异构体的分离色谱图来评价。在高效液相色谱法中, 对映异构体的分离效果可由三个特征参数来评价: 容量因子 k' 、分离因子 α 和分离度 R_s , 分别定义如下:

$$k'_1 = \frac{t_1 - t_0}{t_0}, k'_2 = \frac{t_2 - t_0}{t_0}, \alpha = \frac{t_2 - t_0}{t_1 - t_0}, R_s = \frac{2(t_2 - t_1)}{w_1 + w_2}$$

基金项目:哈尔滨市科技创新人才研究专项资金项目(2008RFQXG034);

作者简介:王辉(1989—), 女, 本科生, 研究方向为光学活性高分子的合成与应用;

* 通讯联系人: E-mail: xuxiaodong@hrbeu.edu.cn.

式中 t_1 、 t_2 为对映异构体的保留时间; t_0 是死时间; w_1 、 w_2 为峰宽。

在分离色谱图中, α 与手性固定相的手性识别能力有关, 而 R_s 不仅与手性固定相的手性识别能力有关, 还与柱效率有关。

2 合成高分子作为手性固定相在高效液相色谱中的应用进展

2.1 加聚物

2.1.1 聚甲基丙烯酸酯类 1979年 Okamoto 等^[3]通过不对称阴离子聚合反应在以正丁基锂和(-)-金雀花碱(Sp)形成的络合物作为手性催化剂的条件下合成了第一个光学活性仅来自于主链螺旋结构的乙烯基类聚合物—聚甲基丙烯酸三苯甲酯(PTrMA), 其合成过程如图1所示。TrMA 单体并不具有手性中心, 但是和以前合成的具有手性中心的乙烯基类聚合物相比, PTrMA 具有特别高的光学活性和手性识别能力。此项研究成为合成高分子手性固定相领域重要的里程碑。不仅许多不同种类的外消旋化合物, 特别是那些芳香族化合物, 能够通过以 PTrMA 作为手性固定相的高效液相色谱中得到分离, 而且对于一些用其它方法难以分离的化合物而言, PTrMA 也显示出了一定的手性识别能力^[4]。研究表明, TrMA 的手性识别能力是由稳定的主链螺旋结构和三苯基甲基结构共同产生的^[5]。

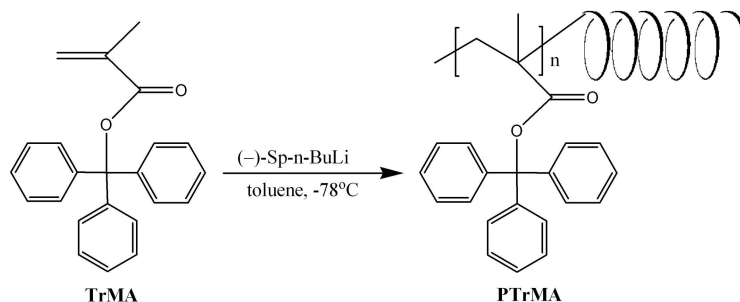


图1 TrMA 的不对称阴离子聚合反应示意图

Figure 1 Asymmetric anionic polymerization of TrMA

评价 PTrMA 在高效液相色谱中作为手性固定相的手性识别能力主要有两种方式: 第一种是将不溶性 PTrMA 制成微球填充在色谱柱中^[4], 虽然用此种方式能够分离许多外消旋化合物, 但是由于 PTrMA 具有较高的脆性, 使得它很难成为有效的色谱柱填充材料。另一种方式是以大孔硅胶作为支持材料, 将可溶性聚合物涂覆在大孔硅胶上, 通过这种方式制备的手性固定相能够有效的承受色谱柱中的压力, 并且具有更高的使用寿命^[6]。由于大体积的 TrMA 在硅胶表面有不同的取向, 使得用这两种方式制备的手性固定相对于一些化合物具有不同的手性识别能力^[7]。

就手性固定相的性能而言, 其耐久性除分离能力之外的另一重要因素。尽管具有光学活性的 PTrMA 能够分离很多外消旋化合物, 但是它支链上的酯键很容易在以甲醇作为流动相的色谱柱中发生醇解^[6]。为了提高手性固定相的耐久性, 许多 PTrMA 的类似物相继出现。Okamoto 等发现用吸电子的吡啶基替代 TrMA 上的一个苯基所形成的单体, 如甲基丙烯酸二苯基-2-吡啶酯(D2PyMA)^[8]、甲基丙烯酸二苯基-3-吡啶酯(D3PyMA)^[9](其结构见图2)能够有效地抑制其在甲醇流动相中的醇解。在相同的条件下, 它们在甲醇中的醇解速率要远低于 TrMA^[10]。在单体支链上引入氮杂环确实能够提高聚合物的耐久性, 但是由于支链上氮杂环和反离子之间的相互作用与手性配体的有效配位作用存在竞争, 使得在极性氮杂环存在的情况下, 不易控制聚合物的立体规整度。如单体 D2PyMA 在手性配体(-)-金雀花碱、(+)-和(-)-2,3-二甲氧基-N,N',N'-四甲基-1,4-丁二胺(DDB)作用下, 只能得到等量左手螺旋和右手螺旋聚合物的混合物, 而在这两种手性配体作用下, 均可以得到单手螺旋的 PTrMA。尝试了多种手性配体后发现, 以(+)-1-(2-吡咯烷基甲基)吡咯烷(PMP)作为手性配体的不对称阴离子聚合反应能够得到几乎完全单手螺旋的 PD2PyMA^[8]。通过这种方法得到的 PD2PyMA 具有与 PTrMA 相近的手性识别能力。

1996 年 Nakano 等^[11]发现,在非手性条件下由传统的自由基聚合反应能够得到几乎完全等规的聚甲基丙烯酸-1-苯基-2-苯并环庚酯(PDBSMA, 其结构见图 2), 通过高效液相色谱以键合在硅胶上的 PTrMA 为手性固定相可以实现左手螺旋和右手螺旋聚合物的完全分离, 表明自由基聚合产物是由等量的左手螺旋体和右手螺旋体构成。经研究发现, 在手性引发剂、手性溶剂和手性链转移剂存在的手性条件下, 采用自由基聚合反应能够得到具有螺旋选择性的聚合产物。在相同色谱条件下, PDBSMA 和 PTrMA 相比具有更高的耐久性, 但手性识别能力明显低于 PTrMA。不过, 以 PDBSMA 作为高效液相色谱的手性固定相仍然可以实现一些手性化合物的分离。

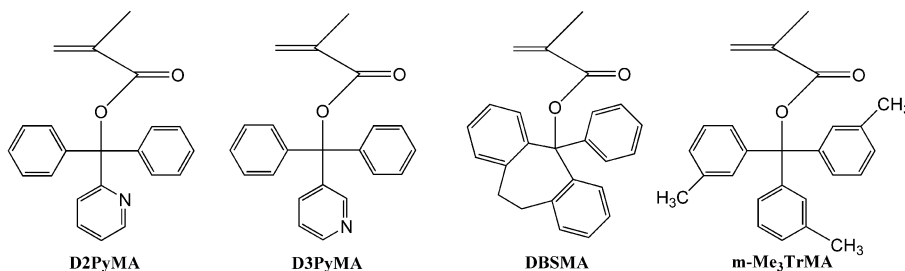


图 2 几种甲基丙烯酸酯类单体的结构示意图

Figure 2 Structure of several methacrylate monomers

尽管单手螺旋的 PTrMA 对于许多类型的化合物都显示了很高的手性识别能力, 但是同样是螺旋结构的聚甲基丙烯酸间三甲苯甲酯[P(*m*-Me₃TrMA), 其单体结构见图 2]几乎没有手性识别能力^[12], 另一方面, 尽管具有手性联萘酚侧基的光学活性聚甲基丙烯酸酯并非螺旋结构, 但是将其涂覆在硅胶上, 作为高效液相色谱中的手性固定相仍旧能够有效地分离许多外消旋化合物, 如 3,5-二硝基苯基-氨基甲酸酯类衍生物^[13]。这表明主链螺旋结构并不是具有手性识别能力的必要条件。

2.1.2 聚(甲基)丙烯酰胺类 1974 年, Blaschke 等^[14]合成了具有光学活性侧基的聚丙烯酰胺, 该聚合物对扁桃酸显示了很高的手性识别能力。从此, 许多手性聚丙烯酰胺和聚甲基丙烯酰胺类化合物开始作为手性固定相应用于高效液相色谱手性分离中, 其中一些典型的聚丙烯酰胺类聚合物如图 3 所示。

1980 年, Blaschke 等^[15]首次将具有光学活性的聚甲基丙烯酰胺应用于药物对映异构体的手性分离。事实上, 大多数手性合成药物都是对映异构体, 并且对映异构体之间往往具有不同的药理学特征。所以, 将具有手性识别能力的物质应用于对映异构体药理学行为鉴别的研究具有十分重要的意义。

具有光学活性的聚丙烯酰胺类化合物作为手性固定相, 其制备方法主要有两种: 第一种是在交联剂存在的情况下, 通过自由基悬浮聚合反应将光学活性单体聚合成凝胶, 所形成的凝胶首先在流动相中膨胀, 然后作为手性固定相装填到低压色谱柱中。此种手性固定相在制备规模上能够分离许多种重要的药物消旋体并且能够解析对映异构体之间的药理学特征。例如, 用此种方法制备的手性固定相(图 3 中化合物 1)能够解析沙利度胺(反应停)的致畸作用, 而这种致畸作用主要是由左旋异构体引起的^[16]。另一种方法是将(甲基)丙烯酰基通过化学键结合到硅胶表面^[17], 在此种官能化的硅胶存在下进行光学活性单体的自由基聚合反应, 最后用苯洗涤没有键合到硅胶表面的聚合物。聚合物在硅胶表面的固定也可以在未官能化的硅胶存在下通过简单的聚合反应而完成, 在此种情况下, 聚合物在硅胶表面的固定是通过增长链在硅胶孔穴上的机械缠结而实现的, 可以耐受正己烷、甲苯、二氧六环、异丙醇等溶剂的洗提。此种方法制备的手性固定相所适用的色谱柱压力范围较广。

目前, 由于一些聚丙烯酰胺类化合物拥有活性酰胺质子, 使得只能通过自由基聚合反应合成这些聚丙烯酰胺类化合物。虽然自由基聚合反应能够应用于许多不同种类单体的聚合^[18], 但是并不适于合成高立构规整性的聚合物。而具有光学活性的聚丙烯酰胺类化合物的手性识别能力很大程度上受到聚合物立构规整性的影响。因此, 研究控制聚合物的立构规整性的因素, 提高聚合物的立构规整度以获得具有更高识别能力的手性固定相是一项很重要的研究。Okamoto 等^[19,20]经过研究发现: 一些路易斯酸如三氟甲基磺酸铕(Yb(OTf)₃)和三氟甲基磺酸钇(Y(OTf)₃)能够显著地提高聚甲基丙烯酰胺类聚合物的

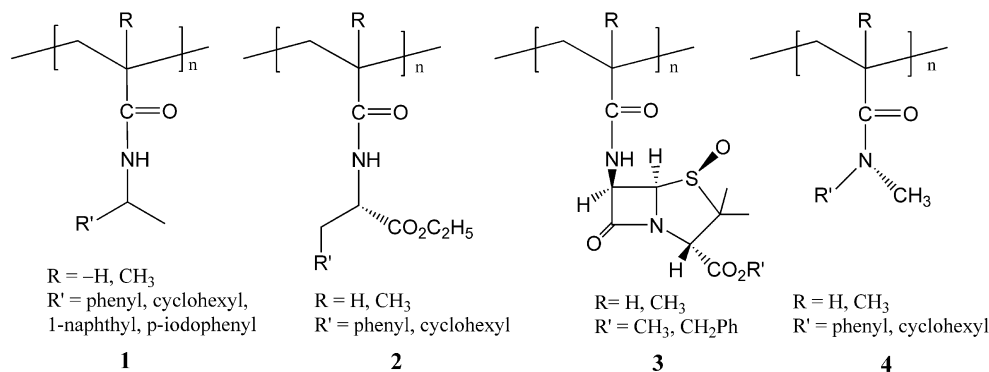


图3 典型的用作手性固定相的聚甲基丙烯酸酰胺

Figure 3 Typical polymethacrylamides used as chiral stationary phase

立构规整性,从而提高聚合物的手性识别能力。

2.1.3 其它加聚物 具有光学活性侧基的有规立构聚(α 烯烃)往往呈现单手螺旋结构,溶质和手性固定相的螺旋构象在识别方面发挥很重要的作用。如不溶性的和结晶性的(+)-聚(S)-3-甲基-1-戊烯能够分离等量的聚(R)-4-甲基-1-己烯和聚(S)-4-甲基-1-己烯^[21]。

将具有亚砷结构单元的光学活性聚苯乙烯衍生物(图4中化合物5)制成微球,作为手性固定相填充在高效液相色谱柱中,能够分离许多芳香醇和芳香胺,如邻-(1-甲基苄基)苯酚和 α -异丙基苄胺,但不能分离脂肪醇和脂肪胺^[22]。

由手性二乙烯醚环化聚合得到的聚冠醚(图4中化合物6)对一些 α -氨基酸表现出手性识别能力,作为色谱柱的手性固定相能够分离一些外消旋体,如苯甘氨酸、缬氨酸和蛋氨酸的甲酯^[23]。

单手螺旋的光学活性聚三氯乙醛可以在手性引发剂下,通过三氯乙醛的阴离子聚合反应得到,该聚合物能够部分分离等规的(±)-聚(苯乙基甲基丙烯酸酯)^[24]和反式氧化吡烯。

在对位上拥有光学活性取代基的聚苯基乙炔衍生物(图4中化合物7)可以在 $[RhCl(nbd)]_2$ (nbd:降冰片二烯)作为催化剂的条件下得到,该聚合物由于主链的共轭结构而显现很强的圆二色(CD)谱峰,这表明聚合物拥有单手螺旋结构。将其作为手性固定相涂覆在硅胶上能够分离许多包括 Tröger 碱和螺吡喃衍生物在内的对映异构体^[25]。迄今为止已经合成了许多具有光学活性的聚乙炔衍生物用作手性固体膜来拆分对映异构体^[26]。

将通过阴离子环化聚合反应制备的类似多聚糖的聚醚(图4中化合物8)键合到硅胶上形成手性固定相,这种手性固定相能够分离许多 α -氨基酸,如色氨酸、苯基甘氨酸等^[27]。

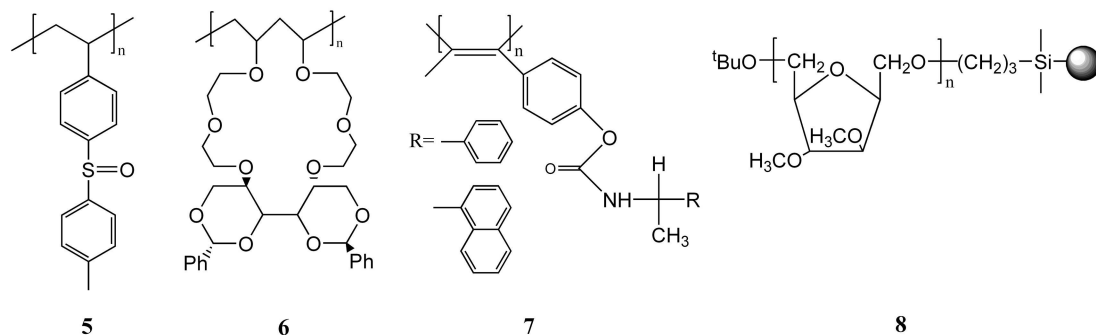


图4 其它用作手性固定相的加聚物

Figure 4 Other addition polymers used as chiral stationary phase

2.2 聚酰胺

许多具有光学活性的聚酰胺包括聚 α -氨基酸(多肽)在高效液相色谱中作为手性固定相也显示了很高的手性识别能力。将聚 N-苄基-L-谷氨酰胺键合到交联多孔聚苯乙烯球粒上,作为手性固定相已经用

来分离扁桃酸和乙内酰脲衍生物^[28],其手性识别能力来自于 *N*-苄基-*L*-谷氨酰胺所具有的 α -螺旋结构。将聚 *L*-亮氨酸或聚 *L*-苯丙氨酸通过化学方法键合到聚甲基丙烯酸酯大孔空心球粒上或者仅仅是附着有多肽的微球均可以作为手性固定相来分离许多氨基酸的衍生物^[29]。

由手性的二胺和手性的二羧酸或酯缩合制备的聚酰胺(图 5 中化合物 **9-11**)^[30~32]能够分离一些和手性固定相有氢键作用的极性外消旋体,其手性识别能力取决于手性单元的结构以及与手性单元相连的基团。例如,在二胺结构单元中含有偶数个亚甲基的聚酰胺(图 5 中化合物 **11**)具有很高的手性识别能力,但是含有奇数个亚甲基的聚酰胺却并非如此。这可以归因于聚酰胺的结晶能力受二胺结构单元中亚甲基数量的制约,而结晶能力越强,手性识别能力越高。

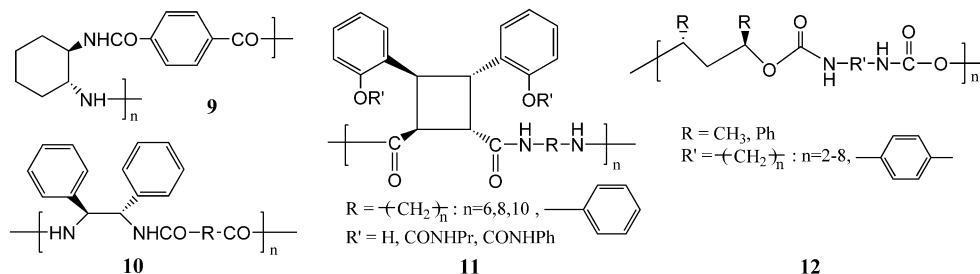


图 5 几种用作手性固定相的聚酰胺和聚氨酯

Figure 5 Several polyamides and polyurethanes used as chiral stationary phase

2.3 其它合成聚合物

具有光学活性的聚氨酯(图 5 中化合物 **12**)可通过手性二醇和多种二异氰酸酯的聚加成反应来制备,他们的手性识别能力依赖于二异氰酸酯残基的结构。来源于 1,3-二苯基丙二醇和脂肪族异氰酸酯的聚氨酯对于联萘酚的衍生物显示了很高的手性识别能力,而由芳香族异氰酸酯制备的聚氨酯则手性识别能力很弱^[33]。

2008 年, Xi 等^[34]合成了 *N*-噁唑啉苯基马来酰亚胺和甲基丙烯酸甲酯的共聚物,并将其涂覆到大孔硅胶上制备成手性固定相,检测了其手性识别能力。结果表明,当手性固定相含有足够的手性单元时,在反相高效液相色谱条件下可以部分分离缬氨酸、天冬氨酸、苹果酸等,然而在正相色谱条件下能够分离联萘酚。

3 结束语

许多不同种类的光学活性聚合物已经作为手性固定相应用于高效液相色谱中,其中有超过 100 种已经实现了商业化,可以满足分析和制备规模的手性拆分,每种手性固定相都有其手性识别的特征结构。虽然像 PTrMA 这样的手性固定相能够分离相当多的外消旋体,但是能够分离所有物质的理想手性固定相并不存在。因此,不仅要设计一些适用于分离大多数化合物的手性固定相,还要设计一些适用于分离具体化合物的特定手性固定相。

鉴于光学活性聚合物的立构规整性对其手性识别能力的影响很大,而大多数的光学活性聚合物只能通过难于控制立构规整性的自由基聚合获得。通过选择不同的聚合反应催化剂和应用立体控制的自由基聚合方法,可以控制聚合物的立构规整性,从而提高聚合物的手性识别能力,这方面的研究具有重要的理论意义和实用价值。另外,对于手性识别机理的理解不仅可以在很大程度上促进新药的研发,而且也可以推动与手性相关的科学技术的发展。

参考文献:

- [1] Okamoto Y, Ikai T. Chem Soc Rev, 2008, 37(12): 2593~2608.
- [2] 陈立仁. 液相色谱手性分离. 北京: 科学出版社, 2006.
- [3] Okamoto Y, Suzuki K, Ohta K, Hatada K, Yuki H. J Am Chem Soc, 1979, 101(16): 4763~4765.
- [4] Yuki H, Okamoto Y, Okamoto I. J Am Chem Soc, 1980, 102(20): 6356~6358.

- [5] Yamamoto C, Okamoto Y. Bull Chem Soc Jpn, 2004, 77(2); 227~257.
- [6] Okamoto Y, Honda S, Okamoto I, Yuki H, Murata S, Noyori R, Takaya H. J Am Chem Soc, 1981, 103(23); 6971~6973.
- [7] Okamoto Y, Hatada K. J Liq Chromatogr, 1986, 9(2&3); 369~384.
- [8] Okamoto Y, Mohri H, Nakano T, Hatada K. Chirality, 1991, 3(4); 277~284.
- [9] Nakano T, Taniguchi K, Okamoto Y. Polym J, 1997, 29(6); 540~544.
- [10] Nakano T. J Chromatogr A, 2001, 906(1~2); 205 - 225.
- [11] Nakano T, Shikisai Y, Okamoto Y. Polym J, 1996, 28(1); 51~60.
- [12] Okamoto Y, Yashima E, Ishikura M, Hatada K. Polym J, 1987, 19(10); 1183~1190.
- [13] Tamai Y, Qian P, Matsunaga K, Miyano S. Bull Chem Soc Jpn, 1992, 65(3); 817~823.
- [14] Blaschke G. Chem Ber, 1974, 107(1); 237~252.
- [15] Blaschke G. Angew Chem Int Ed, 1980, 19(1); 13~24.
- [16] Blaschke G, Kraft H P, Fickentscher K, Kohler F. Arzneim Forsch, 1979, 29; 1640~1642.
- [17] Blaschke G, Broker W, Fraenkel W. Angew Chem Int Ed, 1986, 25(9); 830~831.
- [18] Hatada K, Kitayama T, Ute K. Prog Polym Sci, 1988, 13(3); 189~276.
- [19] Isobe Y, Suito Y, Habaue S, Okamoto Y. J Polym Sci, Part A: Polym Chem, 2003, 41(7); 1027~1033.
- [20] Morioka K, Isobe Y, Habaue S, Okamoto Y. Polym J, 2005, 37(4); 299~308.
- [21] Pino P, Ciardelli F, Lorenzi G P, Natta G. J Am Chem Soc, 1962, 84(8); 1487~1488.
- [22] Kunieda N, Chakihara H, Kinoshita M. Chem Lett, 1990, 19(2); 317.
- [23] Kakuchi T, Takaoka T, Yokota K. Polym J, 1990, 22(3); 199~205.
- [24] Hatada K, Shimizu S, Yuki H, Harris W, Vogl O. Polym Bull, 1981, 4(3); 179~183.
- [25] Yashima E, Huang S, Okamoto Y. J Chem Soc, Chem Commun, 1994, (15); 1811~1812.
- [26] Aoki T, Kobayashi Y, Kaneko T, Oikawa E, Yamamura Y, Fujita Y, Teraguchi M, Nomura R, Masuda T. Macromolecules, 1999, 32(1); 79~85.
- [27] Umeda S, Satoh T, Saitoh K, Yokota K, Kakuchi T. J Polym Sci, Part A: Polym Chem, 1998, 36(6); 901~909.
- [28] Doi Y, Kuniwa H, Nishikaji T, Ogata N. J Chromatogr A, 1987, 396; 395~398.
- [29] Hirayama C, Ihara H, Tanaka K. J Chromatogr A, 1988, 450(3); 271~276.
- [30] Okamoto Y, Nagamura Y, Fukumoto T, Hatada K. Polym J, 1991, 23(10); 1197~1207.
- [31] Saigo K, Chen Y, Kubota N, Tachibana K, Yonezawa N, Hasegawa M. Chem Lett, 1986, 15(4); 515~518.
- [32] Saigo K. Prog Polym Sci, 1992, 17(1); 35~86.
- [33] Kobayashi T, Kakimoto M, Imai Y. Polym J, 1993, 25(9); 969~975.
- [34] Xi X J, Liu G X, Lu W, Jiang L M, Sun W L, Shen Z Q. Polymer, 2009, 50(2); 404~409.

Application of Synthetic Polymers as Chiral Stationary Phase in High Performance Liquid Chromatography

WANG Hui, XU Xiao-dong

(Polymer Materials Research Center, College of Materials Science and Chemical Engineering,
Harbin Engineering University, Harbin 150001, China)

Abstract: Optical active synthetic polymers were widely applied based on their chiral structure. The most practical and extensive application of them was using as chiral stationary phases (CSP) in high performance liquid chromatography (HPLC) for the resolution of enantiomers. Recently, optical active synthetic polymers have become necessary separation materials in the fields of synthetic chemistry, analytical chemistry and pharmaceuticals. In this paper, the resolution method of enantiomers by CSP in HPLC was briefly introduced. The progress and application of synthetic polymers, which included addition polymers, especially polymethacrylates and polymethacrylamide, polyamides and other synthetic polymers, in CSPs for HPLC were reviewed in detail, as well as the future prospect of this field was outlined.

Key words: Synthetic polymer; Chiral stationary phase; High performance liquid chromatography; Chiral separation