

## 液相手性色谱技术—手性分离方法

- 1. 手性源合成法：**以单一对映体的手性化合物为原料合成另外手性化合物的单一对映体，这是化学家最常采用的方法。但是由于天然手性物质的种类有限，使合成多种多样的目的产物受到很大的限制。
- 2. 不对称合成法：**在催化剂或酶的作用下，可得到过量的单一对映体手性化合物。这种方法在近 20 年来得到很大的发展，有些反应已开始用于工业化生产。但是要达到高旋光收率的反应（ $ee$  值大于 90%），仍然有许多困难。生物不对称合成具有很高的对映体选择性，但对底物的要求高，反应慢，产物分离困难。
- 3. 外消旋体拆分法：**这是一种在手性助剂的作用下将外消旋体化合物拆分为纯对映体化合物。自从 Louis Pasteur 于 1848 年报告了首例光学对映体分离以来，已分离了 7000 多种化合物。主要用的是非对映盐的分级结晶法。酶或微生物拆分法也已用于某些对映体，如氨基酸的制备分离。据统计，大约有 65% 的非天然手性药物的纯对映体是由外消旋体或中间产物拆分得到的<sup>[7]</sup>。外消旋体拆分的方法主要有：

**(1) 化学拆分法：**这种方法是先将对映异构体与纯手性物质形成非对映异构体。然后利用非对映异构体的性质差异进行分离（如分级结晶），再将衍生物还原为纯对映体。这种古老的方法至今仍在使用，但操作周期长，适用的化合物也多限于酸碱类物质。

**(2) 酶或微生物法：**利用酶或微生物对对映体具有专一识别能力的性质，消耗掉一种对映体而得到另一种对映体。

**(3) 色谱拆分法：**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用的方法。这些方法包括高效液相色谱法<sup>[8-10]</sup>、气相色谱法<sup>[11]</sup>、薄层色谱法<sup>[12]</sup>、超临界色谱法<sup>[13]</sup>、毛细管电泳<sup>[14]</sup>和逆流色谱—离心分配色谱法<sup>[15]</sup>。表 1.3 列出了色谱法分离手性化合物的发展史<sup>[16]</sup>。

在这些色谱方法中，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，柱容量高，具有发展成实验和工业规模对映体制备分离的巨大潜力<sup>[17]</sup>。

液相色谱法手性拆分依据其原理可分为以下三种类型：

**1. 手性衍生化法：**利用待分离的两个对映体反应生成一对非对映体，然后在普通色谱柱（非手性柱）上实现分离。该方法的优点是分离条件相对简单，只需采用普通 HPLC 的色谱分离条件即可，通过衍生化后，也有利于提高检测（紫外或荧光）灵敏度。缺点是需要高纯度的衍生化试剂及各对映体衍生化的速率不同。

表 1.3 色谱手性分离的发展史

1939 年	Henderson 和 Rule 在乳糖上色谱分离外消旋樟脑衍生物
1952 年	Dalgliesh: 提出氨基酸在纸色谱上光学分离的三点作用假设
1966 年	Gil-Au 等: 用 GC 直接分离对映体
1971 年	Davankov 和 Rogozhin: 引入手性配体交换色谱
1972 年	Wulff 和 Sarhan: 制备出手性 LC 的酶模拟聚合物
1973 年	Hesse 和 Hagel: 制备出手性拆分的纤维素三乙酸酯
1973 年	Stewart 和 Dherty: 把琼酯糖键合的牛血清清蛋白 (BSA) 用于手性拆分
1974 年	Blaschke: 由光学活性单体合成出用手性 LC 的手性聚合物
1975 年	Gram 等: 用手性冠醚发展出主-客体色谱
1979 年	Dirkle 和 House: 合成出第一个硅胶键合手性固定相, 并应用于手性 LC 分离
1979 年	Okamoto 等: 合成出手性 LC 的螺旋形聚合物
1982 年	Allenmark 等: 把琼酯键合的 BSA 用于手性 LC
1983 年	Hermansson: 把硅胶键合的 $\alpha_1$ -酸糖蛋白用于手性拆分
1984 年	Armstrong 和 DeMond: 制备出硅胶键合环糊精固定相

**2. 手性流动相法** 将手性添加剂加入到流动相中, 与溶质的对映体生成一对非对映络合物, 在普通色谱柱上进行分离。手性添加剂与溶质生成的络合物虽然不及生化法形成的衍生物牢固, 但所依据的手性识别作用络合物的非对映异构体性质却基本相同。常用的手性添加剂有: 环糊精, 配体交换型添加剂等。该方法的优点是无需进行柱前衍生, 对色谱柱填料无特殊要求。缺点是如添加剂选择不当会干扰溶质的检测, 可拆分的化合物有限。

**3. 手性固定相法:** 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性的色谱固定相, 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, 截至目前用这种方法已分离出几十类, 上万种手性化合物的对映体, 超出了过去近 100 多年分离出约 7000 种手性化合物对映异构体的总和。

**参考文献:**

[1] G.Allenmark, Chromatographic Enantioseparation Methods and Applications, Ellis Horwood, Chichester, 1988, Chapter 1, P15

[2] E.J.Corey, N.H. Weinschenker, T.K.Schaaf, W.Huber, J.AM.Chem.soc. 1969, 91:567

- [3] E.J.Corey,U.Koelliker,J.Neuffer,J.Am.Chem.Soc.1971,93:1489
- [4] B.Knoche,G.Blaschke,J. J.Chromatogr.,1994,666:235-246
- [5] A.M.Krstulovic,Chiral separations by HPLC ,Ellis Horwood,Chichestes,1989,P32
- [6] Chirality,1992,4:388
- [7] S.C.Stinson,Chem.Eng.News,1994,19:38
- [8] V.M.Meyer,Chirality,1995,7:567
- [9]E. R. Francott, in: S. Ahujia (Ed.), Chiral separation,Applications and Technology, American Chemical Society,Washington, DC,1997,p271
- [10] L. Miller, C. Orhuela, R. Fronck, D. Honda, O. Dapremont, J. Chromatogr. A, 1999, 849: 309 - 317
- [11] V. Schuring, J. Chromatogr. , 1994, 666: 111-129
- [12] R. Bushan, G.T.Thiongo, Biomed.Chromatogr.,1999,13: 276-281
- [13] K. L. Williams, L. C. Sander, J. Chromatogr. A, 1997, 785: 149-158
- [14] S. Fandli, J.Chromatogr.,1996, 735: 77-121
- [15] A. P. Foucault, L. Chevolut, J. Chromatogr. A 1998, 08:3-22
- [16] S. Ahuja, Chiral separation by chromatography, Oxford University Press. Inc., New York, 2000, 7.
- [17] D. Seebach, M. Hoffmann, A. R. Sting, J. N. Kinkel, M. Schulte, E. Kusters, J. Chromatogr. A, 796: 299-304



上海纳诺实业有限公司  
Shanghai Nano Industrial Co.,Ltd.

上海总部

地址: 上海市闵行区金都路1165弄123号21幢5001室  
电话: 021-60900829 60900830 61131051  
邮箱: info@nano-instru.com  
传真: 021-61131052  
邮编: 201108

浙江办事处: 杭州市拱墅区祥园路39号1号楼307室  
电话: 0571-81954578 传真: 0571-81954579  
江苏办事处: 苏州市金门路158号协和大厦2107室  
电话: 0512-87772272 传真: 0512-87772270



免费服务热线: 4009-217-117



网址: <http://www.nano-instru.com> <http://nanoinstru.instrument.com.cn>