



学 校 代 码 10459

学号或申请号 201322232779

密 级

郑 州 大 学

专业硕士学位论文

纤维素衍生物类手性固定相的合成与评价

作 者 姓 名：朱进科

导 师 姓 名：蒋登高 教授

专业学位名称：工程硕士

培 养 院 系：化工与能源学院

完 成 时 间：2016 年 5 月

A thesis submitted to Zhengzhou University for the degree of Master

Preparation and Evaluate of A New Class of Brush Chiral Stationary
Phase

By Jinke Zhu

Supervisor: Prof. Denggao Jiang

Chemical Technology

School of Chemical Engineering and Energy

May, 2016

学位论文原创性声明

本人郑重声明：所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的科研成果。对本文的研究作出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本声明的法律责任由本人承担。

学位论文作者：朱进科

日期：2016年5月31日

学位论文使用授权声明

本人在导师指导下完成的论文及相关的职务作品，知识产权归属郑州大学。根据郑州大学有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留或向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅；本人授权郑州大学可以将本学位论文的全部或部分编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或者其他复制手段保存论文和汇编本学位论文。本人离校后发表、使用学位论文或与该学位论文直接相关的学术论文或成果时，第一署名单位仍然为郑州大学。保密论文在解密后应遵守此规定。

学位论文作者：朱进科

日期：2016年5月31日

摘要

绝大部分的生命活动都是在手性环境中进行的，手性药物的不同对映体之间对生命活动产生的影响不同，这就促使我们必须实现对手性药物不同对映体之间的分离。目前，高效液相色谱技术，在对手性药物的分离、分析方面发挥着重要作用。

本文分别将邻乙酰水杨酰氯、3, 5-二硝基苯甲酰氯与纤维素不同位置的羟基反应合成新型纤维素衍生物[6-(2-乙酰氧基苯甲酸酯)-2,3-(3,5-二硝基苯甲酸酯)]-纤维素 (CLD-4)。以此为手性识别剂，硅胶为载体，以 γ -氨丙基三乙氧基硅烷 (KH-550) 和 γ -(2,3-环氧丙氧) 丙基三甲氧基硅烷 (KH-560) 为硅胶修饰剂，分别采用涂敷和键合两种方式，合成出两种新型纤维素衍生物类手性固定相 CSP-1 和 CSP-2，并且确定了合成两种固定相的工艺条件。通过热重分析，红外分析，元素分析和粒径分析等手段对制备的中间体以及目的产物进行了表征，说明了预期产物的合成是成功的。

为考察所合成固定相的性能以及应用范围，首先利用涂敷型固定相CSP-1对N-乙酰-DL-苯基甘氨酸、DL-3-苯基乳酸、噻康唑、特布他林、益康唑等五种对映体进行了拆分，并且考察了各个对映体较合适的流动相组合流以及动相流速对拆分效果的影响。

其次利用键合型固定相 CSP-2 对环仑特罗、妥洛特罗、异丙肾上腺素、异丙嗪、益康唑、特非那丁、DL-2-苯甘氨酸、2-苯基-3-羟基丙酸等八种手性对映体进行拆分分离，不仅实现了成功分离，同时还比较了正向反应和反向反应制备的固定相对相关对映体的拆分效果，发现正向键合的固定相的拆分效果优于反向。

研究发现了，键合柱在流动相的选择范围上以及拆分的效果来看，均优于涂敷柱；拆分的手性药物的种类，两种固定相所拆分的范围不同，但具有一定的互补性。

关键词：纤维素衍生物；手性固定相；涂敷；键合；手性分离

Abstract

Most of the life activities are carried out in a chiral environment, chiral drugs affect different between enantiomers of different life activities, which prompted rival drug we must achieve between different pairs of enantiomers separation. Currently, high performance liquid chromatography in the separation of chiral drugs analysis plays an important role.

This article will o respectively acetylsalicylic acid chloride, the reaction 3,5-hydroxy-nitrobenzoyl chloride with different positions of cellulose synthesis of novel cellulose derivatives [6- (2-acetoxy benzoate) -2, 3- (3,5-dinitrophenyl formate)] - cellulose (CLD-4). As a chiral recognition agent, silica gel as a carrier, γ - aminopropyl triethoxysilane (KH-550) and γ - (2,3- glycidoxypopyl) trimethoxysilane (KH- 560) for the silicone modifier, coating and bonding were used in two ways, synthesized two novel cellulose derivatives chiral Stationary phase CSP-1 and CSP-2, and determines the two fixed-phase synthesis process condition. By thermal gravimetric analysis, infrared analysis, means of elemental analysis and particle size analysis, and the purpose of the intermediate products prepared were characterized illustrates the synthesis of the desired product is successful.

In order to investigate the synthesis and application performance stationary phases, firstly coated Stationary Phase CSP-1 solution of N- acetyl -DL- phenylglycine, DL-3- phenyl lactic acid, tioconazole, terbutaline, econazole other five enantiomers were split and examined the individual enantiomers more suitable mobile phase composition and the effect of mobile phase flow velocity on the effect of the split.

Secondly, the use of Bonded Stationary Phase CSP-2 pair of rings Lunte Luo, tulobuterol, isoproterenol, promethazine, econazole, terfenadine, DL-2- benzene Gan ammonia alcohol, 2 fixed-phenyl-3-hydroxy acid, eight kinds of chiral separation of enantiomers split, not only to achieve a successful separation, and also compare the preparation of the forward reaction and the reverse reaction relative relevance enantiomer split effect and found a positive effect of the split-bonded stationary phase than the reverse.

The study found, the bonding column on the choice of mobile phase and split effect, are better than coated column; species split chiral drugs of two different phases of the split range, but a certain complementarity.

Keywords: cellulose derivatives; chiral stationary phase; coating; bonding; chiral separation

目录

1. 绪论.....	1
1.1 前言.....	1
1.2 手性分离方法.....	2
1.3 外消旋体拆分方法.....	3
1.3.1 常用的外消旋体拆分的方法比较.....	3
1.3.2 色谱拆分法.....	4
1.4 手性固定相的分类.....	5
1.4.1 刷型手性固定相.....	5
1.4.2 手性配体交换型手性固定相.....	6
1.4.3 多糖类手性固定相.....	8
1.4.4 蛋白质类手性固定相.....	9
1.4.5 环糊精类手性固定相.....	10
1.4.6 其他类手性固定相.....	10
1.5 本文研究的意义和方法.....	11
2 CSP-1 的合成及其拆分性能.....	13
2.1 主要试剂与仪器.....	13
2.2 CSP-1 的合成.....	15
2.2.1 硅胶的活化与除水.....	15
2.2.2 氨丙基硅胶的合成.....	16
2.2.3 邻乙酰水杨酰氯的制备.....	16
2.2.4 微晶纤维素的溶解.....	17
2.2.5 (6-氧-三苯基甲基)-纤维素的合成.....	18
2.2.6 [6-氧-三苯基甲基-2,3-(3,5-二硝基苯甲酸酯)]-纤维素的合成.....	19
2.2.7 [6-氧-三苯基甲基-2,3-(3,5-二硝基苯甲酸酯)]-纤维素去 6-位保护.....	19
2.2.8 [6-(2-乙酰氧基苯甲酸酯)-2, 3-(二硝基苯甲酸酯)]-纤维素的合成.....	20

2.2.9 CSP-1 的涂敷与装柱	20
2.3 CSP-1 的表征	20
2.3.1 APS 的表征	21
2.3.2 CLD-1 的表征	23
2.3.3 CLD-3 的表征	25
2.3.4 终产物 CSP-1 的表征	26
2.4 CSP-1 拆分性能的探究	27
2.4.1 液相色谱的基本参数	27
2.4.2 色谱柱的死时间的考察	28
2.4.3 CSP-1 对手性化合物的拆分	28
2.5 本章小结	35
3. CSP-2 的合成及其拆分性能	37
3.1 CSP-2 的合成	37
3.2 CSP-2 的表征	39
3.2.1 CSP-2 的红外表征与分析	39
3.2.2 CSP-2 的热重表征与分析	40
3.2.3 CSP-2 的元素分析	41
3.2.4 CSP-2 的粒径分析	42
3.3 CSP-2 拆分性能的考察	42
3.3.1 色谱柱死时间的考察	42
3.3.2 对儿茶酚胺类药物的拆分	42
3.3.3 对异丙嗪、益康唑、特非那丁的拆分	45
3.3.4 CSP-2 对 DL-2-苯甘氨酸、2-苯基-3-羟基丙酸、文拉法辛的拆分	47
3.3.5 反向反应制备 CSP-2 的拆分性能	49
3.4 本章小结	50
4. 结论	52

1. 绪论

1.1 前言

人们很早之前就已经认识到手性是自然界的基本属性，许多生命现象和相关定律都是由手性产生的^[1]。人们在观察手性分子时发现，它们的结构很像我们的左右手的关系：具有手性结构的两种分子看起来没什么不同，但是不能够完全重合，我们把这种具有互为镜像关系的化合物叫做对映异构体^[2-4]。

人们通过研究发现，手性化合物在物理学上的表现性质没有什么区别，例如说密度、溶解度、熔沸点等。如果是和非手性化合物作用的时候，他们的化学性质也是相同的，但是当手性分子在与其它具有手性结构的分子作用时，此时不同的对映体，就会表现出不同性质^[5]。特别是在与生命有关活动中，几乎都是在手性环境中进行的，不同对映体的在分子间的识别和相互作用时，产生的效果不同。

蛋白质与核酸是构成我们生命体的基本物质。而它们的基本的构成基本分子氨基酸、DNA 等都具有手性。当具有这种手性对应结构的化合物进入我们身体里面，身体内部这些具有手性识别功能的蛋白质、或者核酸分子就会与之发生反应^[6-7]。这样，不同的对映体在人体的手性环境中，产生不同的化学作用，不同的生理反应就会发生。

真正让人们认识到不同对映体之间对身体产生的效果不同，是发生在上个世纪的“反应停”事件。“反应停”也叫做沙利度胺，它的分子具有手性中心，对于怀孕的妇女来说，“反应停”的 R-异构体有一定的安眠和镇静的作用，但是，其 S-异构体则会对胎儿的生长不利^[8]。由于人们在使用时没有区分两种异构体的特征，致使有很多畸形儿童的出生。还有很多这样的例子：人们可以利用 R-甲状腺钠来降低血液里的脂肪含量，但是 L-甲状腺钠就会对心脏造成不利后果^[9]；药物氧氟沙星另外一种对映体会威胁人类的肝肾的健康；巴比妥酸盐的其中一种构型能够使人镇静，但另外一种构型则会使人兴奋^[10]；青霉素胺是人们治疗关节炎的良药，但是，R-构型所对应的这种对映体会导致机体细胞的基因突变^[11]。基于以上惨痛的教训，美国政府在 1990 的时候，对手性药物做了第一个政策性的规定：对于手性药物，对于它的每一种对映体都要实施测定和评价。此后，世界各国也对手性药物做出了相关的规定。

想要对手性化合物的各个对映体进行测定和评价，首先要实现对手性化合物的分离。人们对于手性药物的越来越多的关注推动着手性分离的继续研究。同时，人们对于单一对映体的手性化合物的需求也随之增长，单一手性药物的销售额也在快速的增长。并且，在全世界药材市场的占比中，单一药物的总销售额，在 2001 的时候就已经占了总体的 36%。在目前全球销售额处于前 500 种的药物中，单一手性的药物已经达到了 270 多种^[12]，对于手性药物的研究已经是越来越受到重视。在药物的研究、开发和销售的各个环节，都具有很大的影响力。因此，我们研究手性对映体的分离，不仅可以促进人类对于单一对映体的药物研究，并且在这整个研究的过程中，对于社会和人类的发张都产生了巨大的效益。当然，也会对相关的行业和学科具有很好的促进作用。

1.2 手性分离方法

想要得到手性化合物，人们可以通过以下三种途径:手性源制备法，不对称合成法，外消旋体拆分法^[13]。

表 1.1 手性分离方法的比较

分离方法	方法简介	优缺点
手性源制备法	以自然界原有的手性化合物，通过分离，提纯等步骤，制备手性对映体	优点：原料丰富且低廉，制备过程方便，产品单一性好。 缺点：种类有限
不对称合成法	不对称合成法就是指通过改变不同的合成的条件，在普通分子中合成单一的手性对映体	优点：可以根据需求，选择性的合成结构不同的对映体。 缺点：反应速率慢，终产率低，分离提纯困难，大规模生产比较困难 ^[14] 。
外消旋体拆分法	外消旋体拆分法是指利用其他外部的的方法对已经存在的外消旋体进行拆分的方法	优点：拆分时可以利用的方式多，并且针对的外消旋体种类多。 缺点：限制条件比较多，拆分的范围窄。

1.3 外消旋体拆分方法

1.3.1 常用的外消旋体拆分的方法比较

目前，此种分离的方法有多种，比如：结晶拆分法、化学拆分法、微生物酶拆分法、膜技术拆分法、色谱拆分法^[15]。

表 1.2 外消旋体的拆分方法

外消旋体拆分方法	简介	优缺点
结晶拆分法	对于空间构型不同的对映体，虽然在溶液中的溶解度是一样的，但是当溶液中加入纯的对映体的时候，与这些不同的对映体之间，产生的作用力也会不同，这样，加热浓缩之后，对映体会因为作用力的不同，先后结晶出来，从而实现不同对映体的分离 ^[16] 。	优点：操作简单，能耗低，能够实现对于特点手性对映体的大规模分离。但是由于所需的时间太长，并没有得到广泛的应用 ^[16] 。
化学拆分法	对于外消旋体的各个对映体，它们在与手性剂之间作用时，反应速度也是不同的。这样我们可以通过控制反应时条件的不同，生成不同非对应异构体，这样使外消旋体分离开来。	优点：拆分的范围较广，但是，本身的限制因素比较多，而且化学拆分法的分离过程费时较多，难以满足目前手性拆分的需要。
微生物酶拆分法	微生物酶拆分法 酶本身也是具有催化作用的蛋白质，具有手性且具有高度的立体专一性，在与手性化合物发生作用时，会选择性的与其中一个对映体发生作用，从而实现外消旋体的分离。	优点：反应条件要求十分温和，且对环境没有污染 ^[17] 。 缺点：筛选合适的酶很困难，并且酶的选择范围局限。
膜技术拆分法	不同的对映体在与膜上的手性选择剂作用时，作用力的不同会导致经过膜的时间不同，从而达到分离。	优点：在连续化生产当中，膜技术拆分法很有优势，并且能耗较低。 缺点：膜的稳定性不好，且难以在规模和分离效果上同时满足要求。

续表

外消旋体拆分法	简介	优缺点
色谱拆分方法	色谱拆分方法利用对映体之间的不同活性转化为非对映体而实现拆分的或是在手性选择剂上与对映体建立手性识别关系而实现拆分。	优点: 自动化操作易于实现, 同时可以兼顾选择性和再现性。

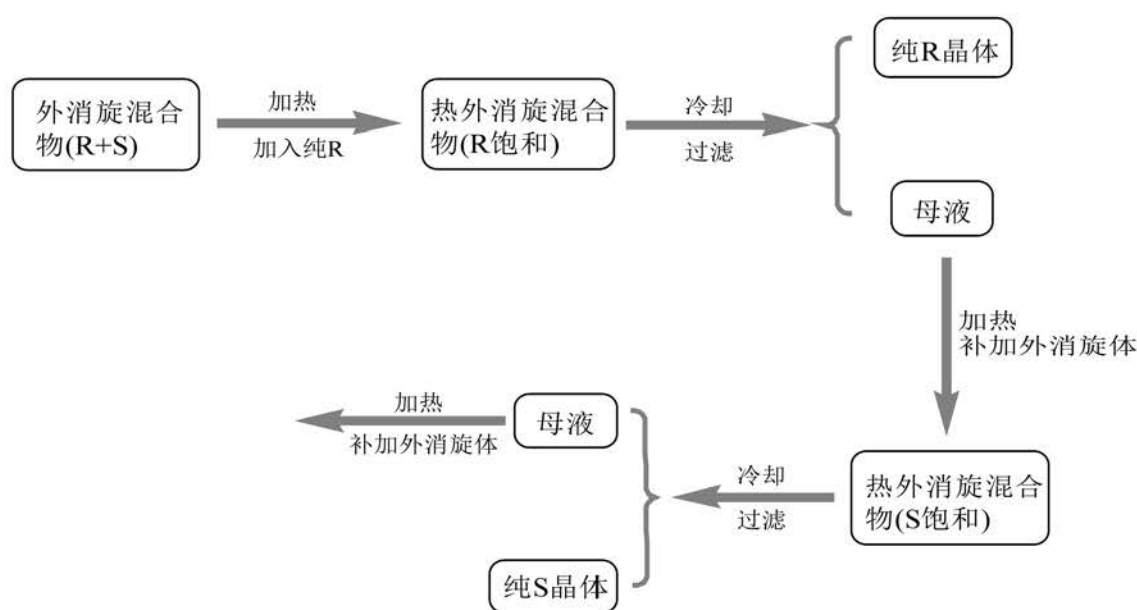


图 1.1 结晶拆分法示意图

1.3.2 色谱拆分法

目前，常用的色谱拆分方法有：液相色谱法（HPIC）；气相色谱拆分法（GC）；毛细管电色谱法（CEC）；薄层色谱法（TLC）；电色谱法（CE）；超临界流体色谱法（SFC）^[18]。其中，液相色谱法得到了最广泛的应用。

对于高效液相色谱拆分来说，可以有两种主要的拆分方式：间接拆分和直接拆分^[19]。间接拆分要求我们把首先对两种手性对映体之间进行柱前的衍生化，成为非对映体，然后在进柱拆分，这个时候，所选择的固定相柱就不要求一定是手性分离柱，在非手性柱上就可以实现拆分。这种方法可以直接选择普通的色谱柱进行分离，并且效果还不错。但是由于制备衍生化试剂的严格性以及本

身的局限性，比如所选的外消旋体必须有易于衍生化的官能团，同时也要考虑不同的对映体衍生化速度不同的问题。因此，人们对于间接法拆分手性物质的吸引力越来越低。直接拆分法包含两种：流动相拆分和固定相拆分。所谓的流动相拆分就是在流动相里加入特定的手性添加剂，这些手性的添加剂可以和特定的对映体结合，并且可以在一般的色谱柱上拆分的方法^[20]。该方法的优点在对色谱柱的填料要求不大并且省去了对外消旋体装柱前的衍生化环节；缺点在于不仅对于所选择的添加剂要求苛刻，而且对外消旋化合物的拆分种类有限。固定相拆分法是通过合成特定的固定相对外消旋体进行拆分的方法。这种方法不再要求转化为非对映体，并且适用于几乎所有手性化合物外消旋体的拆分。此种方法的应用推广也是最好的^[21-23]。虽然在分离样品的时候，要按照其性质选择合适的手性柱，但是操作的简便性以及低廉的成本，都使手性固定相在进行外消旋体拆分的过程中，具有很大的优势。

1.4 手性固定相的分类

手性固定相应用在高效液相色谱的技术经过人们的不断的探索，已经形成了一套完备的体系。实现商品化的手性柱也有很多，总体可以分为：刷型手性固定相、蛋白质手性固定相、糖类手性固定相、环糊精类手性固定相、大环抗生素类手性固定相、手性配体交换类固定相、冠状醚类手性固定相，分子印迹手性固定相^[24]等。

1.4.1 刷型手性固定相

在人们对 HPLC 手性固定性的研究当中，刷型手性固定相是最早进入人类视野并且研究的较为深入的，其重要性当然也是不言而喻的。通过观察可以得出他们的共有性质：在分子结构的基团中要含有芳香型的代表；要能形成氢键，就是要含有相对应的基团或则原子；偶极的相互作用或者是大体积之间产生的相互作用^[25]。总体概括起来，正是这些共有的结构产生的相互作用力，是进行手性分离的基础。

在对拆分机理的研究当中，人们逐渐对三点相互作用这一机理达成了共识，如下图 1.2 所展示的一样。同时，这些作用里面，不能没有立体化学结构的参与。这个原理是由 Dalglish 提出的^[26]。

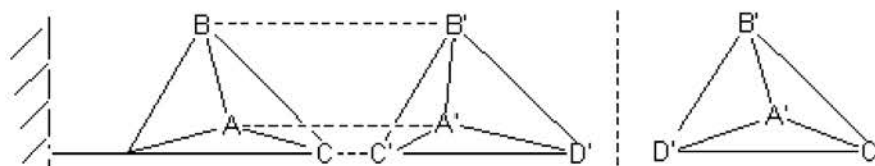


图 1.2 三点相互作用原理图

从上图 1.2 可以看到，两种手性识别剂与需要被拆分的物质之间的相互对应的过程。可以肯定的是，溶质中的对映体一定会有两个点可以与固定相产生相互作用，但是，能够同时发生三点相互作用的而只有一个，从而产生立体的选择性。而与手性识别剂发生作用的对映体的停留时间，会因为这样的选择性而改变，时间改变的方向以及程度，完全取决于第三点的作用的方式与大小^[27-28]。

Pirkle 课题组，成功的完成了三代刷型固定相的制作，对这种固定相的贡献是有目共睹的^[29]。Pirkle 等人在研究单个对映体与外消旋体的络合作用时，认识到络合物中含有可以有助于稳定性的手性 π - π 相互作用。第一代的手性固定相也因为这一发现从而制备而成，并成功的将很多 π -酸性外消旋体化合物拆分^[30]。后来，Pirkle 在第一代的基础之上，在互为反作用的指导下，制成了第二代的刷型固定相。它们对于带有醚基、烷基以及氨基取代的给电子芳香环的对映体显示出了很好的拆分能力^[31-32]。同时，Pirkle 通过对末端基团的探索，总结出当在末端用 3, 5-二硝基苯甲酰氯作为封闭基团的时候，拆分效果最好。之后 Pirkle 根据互为反作用的原则，合成了第三代刷型手性固定相^[33]。

硅胶的机械刚性以及承受酸的能力都是出类拔萃的，正因为这样，C. Daban Haurou 等以此为载体，同时以 3-氨丙基三乙氧基硅烷 (KH-550) 为连接臂，通过键合的方法，将不同类型的 L-脯氨酸作为手性识别剂制备成为了四种手性固定相^[34]。对合成的固定相进行了核磁共振的表征，通过多次实验确定合适的流动相。C. Daban Haurou 通过一系列实验得出：在对映体和手性识别相互作用的过程中，它们之间的引力和斥力作用在手性拆分中占有很大的影响；同时，不同的封端基团、不同的烷基链长以及所形成的不同的空间结构都会对手性固定相的拆分能力造成影响^[35-36]。

Zilin Chen 等同样把硅胶作为载体，以甘氨酸作为手性源，键合成了七种 3, 5-二甲基苯基甘氨酸手性固定相。通过对八种对映体的拆分，发现固定相含有的仲胺的数量，以及烷基链的长度对固定相柱的拆分能力的影响很大。同时，随

着烷基链的长度的增加，仲胺数量对拆分造成的影响会逐渐变弱。在研究的过程中，同时发现，一些有机添加剂也会对拆分的结果造成很大的影响^[37]。

Kenichiro Todoroki 等把脯氨酸作为手性源，合成出了稳定的 Dress-up 手性柱，以此拆分了七种氨基酸^[38]。并且在实验的过程中，该柱表现出的洗脱性和在现性都比较好，不仅应用于微量分析，对于大量的拆分也很有帮助。例外，徐修容等以 L-缬氨酸为手性源制备了不同基团的酰胺型键合固定相，认识到单纯的酰胺固定相没有任何拆分作用；Hoffmann 等人制备出了奎宁和它的结构类似物的刷型手性固定相^[39]；Tambute 等人同样也制备成功了以磷原子为手性中心的固定相^[40]。此外还有很多研究人员在此方面做出了相应的贡献，如吴邦桂、唐琴梅、刘晋钊等等^[41-43]。

现如今，随着人们对刷型固定相研究的深入，原来的通过先合成固定相再去通过一系列的实验寻找可以拆分的外消旋体已经不合适了。现在已经可以做到根据不同外消旋体的特征及拆分原理定向的设计一个全新的固定相，从而进行定向的拆分^[44]。

1.4.2 手性配体交换型手性固定相

上个世纪 60 年代，Helferich 发明了配体交换色谱技术 (LEC)^[45]，如今该技术可以对没有衍生化的氨基酸进行有效的拆分。配体交换是该技术的分离机制。被拆分的对映体、中心金属离子和手性配体之间形成三元络合物。不同的对映体的空间结构不同，因而所形成的三元络合物的稳定性也会不同，在分离柱的滞留时间也不同，从而实现对映体的分离。在设计的过程中，三元络合物的稳定性适中，稳定性太强，固定相与对映体的作用力也强，会使得出峰时间过长或者没有出峰。稳定性太差，则识别作用弱，对映体很快随着流动相流出，不能达到拆分要求。常用于配体交换固定相的中心金属离子有 Cu^+ ， Cu^{2+} ， Ni^{2+} ， Ag^+ ， Co^{2+} 等^[46]，各个金属离子的适用性不同，但一般来说， Cu^{2+} 作为中心金属离子是比较常用的。

涂敷和键合是制备配体交互型色谱固定相的两种主要方式。Davankov 等作为最早研制成涂敷型的固定相，他们把脯氨酸的一种衍生物涂敷在反相的色谱柱上，实验结果是能够拆分 7 种不同的氨基酸^[47]。美中不足的是，涂敷柱的先天的缺点很明显：很多有机溶剂不能作为流动相来使用；涂敷型的色谱柱的寿命要明显偏短。后来，Davankov 在实验过程中发现，如果我们把单一的手性对

映体通过键合的方式连接到烯苯树脂上。对氨基酸类衍生物的分离有很好的效果。这种以聚合物为载体的固定相寿命长，固定相的容量大，但是在机械强度上很差。1981 年 Gübitz 等把用硅胶作为手性配体的键合载体，完美的把机械强度差的问题给解决了^[48]。

陈磊、万谦宏^[49]将氨基酸衍生物涂敷到硅胶载体上合成了 3 种手性配体交换色谱固定相。并且对 5 种 β -氨基酸进行了拆分。此外，为了对色谱条件进一步优化，还分别对中心金属离子浓度、涂敷量、流动相 pH 等因素进行了探讨。祝馨怡等合成了键合型的 L-苯丙氨酸手性配体交换色谱固定相以及 L-脯氨酸手性配体交换色谱固定相^[50]。这两种固定相的共同特征是中心金属离子都是 Cu^{2+} 。对多种 DL-氨基酸进行了有效分离，并用红外光谱以及元素分析进行定性和定量的分析。同时，该文将金属离子浓度、流动相的 PH、流动相流速、柱温和进样量等因素进一步优化。并通过考察不同键合量下的 L-脯氨酸固定相的拆分能力，表明固定相的键合量的不同会使得手性拆分能力有很大的差异。

手性配体交换色谱技术是最早建立的，并且发展迅速，也是最早具有实际应用意义的技术^[51]。随着刷型、蛋白质类、环糊精类、和多糖类等手性固定相的建立和发展，使得在研究手相的固定相方面有了更多的选择性，对手性配体交换技术的关注减少了许多。但是在此项研究上形成的基本理论，对于探索手性拆分领域的分离机理有很大积极作用^[52]。

1.4.3 多糖类手性固定相

在高效液相色谱中以及制备液相色谱的手性分离柱中，多糖类的发展是最好的也是应用最多的。目前，多糖类物质是制备液相色谱的手性分离柱中使用最广泛的分离材料。直链淀粉、纤维素以及它们的衍生物是最常见多糖类手性识别剂。作为天然的手性分离材料，纤维素和淀粉可以直接分离一些手性化合物，只是不能满足大多数的拆分要求。如果对多糖类材料进行化学修饰和改性后，它们的分离性能便会得到很大的提高。由于这类物质的分离性能不理想，得不到实验所需要的分离效果，因此对多糖类分离材料进行改性和修饰，是提高材料分离性能的有效方法。

同时，作为可再生的原料，纤维素和淀粉价廉易得，因而吸引了许多研究人员从事这方面手性固定相的研究工作。

纤维素作为地球上含量最丰富的光学活性生物多聚物，本身就具有较低的

手性识别能力。1973 年 Hesse 和 Hagel 首先制备出了具有实用价值的微晶纤维素三乙酸酯，用合适的溶剂溶解涂敷在硅胶上面后，对 Tröger 碱进行了成功的拆分^[53]。此后，人们对于制备多糖类衍生物的兴趣逐渐增大，一般来说，多糖类衍生物合成的过程也就是自身的羟基通过酯化或醚化被取代的过程。其中，苯基氨基甲酸酯和苯甲酸酯是最为重要的两类材料。

依据合成的原理方法不同，可将多糖类手性固定相分成三种方法：

(1) 整体成球法：此方法最主要的特点是不用载体，而是把纤维素衍生物的凝聚在一块的颗粒作为固定相使用。最初，Francotte^[54]等研究人员设计出了纤维素三苯基甲酸酯的微球型固定相，日本 Daicel 公司在 Francotte 等人的基础上进一步发展了此种固定相^[55]。此类固定相的优点在于制作过程简单，并且前期投入少，效果好；但是缺点在于使用次数有很大限制，且拆分速度慢^[56]。

(2) 涂敷法：用合适的有机溶剂溶解合成的多糖类衍生物，然后通过旋转蒸发有机溶剂或自然沉淀的方式将多糖衍生物均匀涂敷在固态载体上。这种方法 Okamoto^[57]等提出的。因为硅胶具有很好的机械强度和足够大的比表面积，因此经常被当作多糖类衍生物的载体。涂敷法在一定的程度上，确实促进了多糖类衍生物固定相的发展。但是由于多糖类衍生物本身的溶解特性，在流动相的选择上面，就会有限制作用。譬如，三氯甲烷或四氢呋喃的溶液能将纤维素衍生物溶胀或溶解。

(3) 化学键合法：为了解决涂敷法中多糖类衍生物可能被流动相溶解的问题，研究人员通过间隔臂键合或本身的交联作用将多糖类衍生物固定在载体上。这种方法制成的固定相没有了流动相的限制，同时防止手性识别剂的流失，逐渐成为了人们的研究热点。但是键合型的固定相也有不足的地方，同种多糖类衍生物的手性固定相的手性拆分能力往往低于涂覆型的固定相。很可能的原因是，起到连接作用的间隔臂使衍生物原有的空间结构发生了变化，从而导致手性识别能力的下降。

1.4.4 蛋白质类手性固定相

蛋白质作为一类有生物活性的高分子化合物，氨基酸是蛋白质的组成单位。L-氨基酸的手性特性能够选择性的结合小分子，这赋予了蛋白质具有很强的拆分能力^[58]。在对蛋白质的研究中，研究人员发现固定化的蛋白质在免疫分析、亲和色谱以及固相酶催化方面有重要的作用。随着研究的深入，研究人员发现利

用蛋白质的独特的拆分能力，蛋白质固定化后也可以用来拆分手性对映体。随着色谱技术的发展，特别是高效液相色谱手性分离技术的飞速进步，目前，蛋白质类手性固定相在对手性化合物的分析方面有较多的应用。目前已制备出了牛血清白蛋白（BSA）、抗生物素类蛋白（AVI）等手性固定相^[59]，并且已经商品化。但是，能够被利用的蛋白质的种类还是很有限的。不过，由于蛋白质自身对于某些手性化合物的高选择性以及蛋白质的应用范围较宽，使得对蛋白质类手性固定相的研究始终是个热点。

在反相色谱条件下，蛋白质类手性固定相的溶质分子不需要进一步衍生化，特别是能够很好的拆分一些生化样品^[60]。此类固定相的不仅稳定性好、立体选择性强而且柱效高。但蛋白质类手性固定相受流动相的影响很大，这些因素包括缓冲液的组成、温度、pH 等；另外蛋白质类分子是大分子，占用的空间很大，造成它的固载量是比较低的，色谱柱的柱容相对较低，可以用来分析而不适合于制备性分离^[61-62]；而且制备成本太高，这些原因限制了此类手性固定相的应用。

1.4.5 环糊精类手性固定相

环糊精是一种包含一类环状的寡糖类化合物，是由 1, 4-糖苷键相连的吡喃葡萄糖组成化合物，葡萄糖单元个数通常有 6-12 个，不同数目中，葡萄糖单元数目达到 6、7、8 个才具有研究意义，分别为 α 、 β 、 γ -环糊精^[63]。环糊精的分子具有笼状结构，由于 α -1, 4-糖苷键的作用，笼状结构腔内的电子云密度很高，具有疏水性，而羟基的存在让腔外具有亲水的性质，这样使其他分子全部或者部分进入环糊精的空腔内部，会产生手性识别能力。因为每 1 个葡萄糖单元不止含有一个对称中心，因此环糊精分子天生就为手性分离的良好平台，这样一来，主体化合物拥有了好的立体选择性，手性识别能力也同时随着增强。并且，研究人员在环糊精的表面羟基上键合上不同的基团，增强其相互作用，从而提高了手性拆分能力，研究价值增大。1965 年，Solms^[64]等学者第一次将合成出的环糊精聚合物制备成为了 HPLC 的手性固定相。但是，这种固定相的柱效不高同时机械强度差。1983 年，Fujimura 的团队第一次通过键合的方式把环糊精固定到硅胶上，此种做法的手性固定相消除了柱效低和机械强度差的缺点^[65]。但是，此类手性固定相的稳定性差，特别容易水解^[66]。后来，通过进一步研究，Armstrong^[67]等通过醚键成功制备出的固定相，完全没有了水解的顾虑，并且使

其手性拆分能力得到进一步的增强，至今这一方法仍被采用。目前，环糊精类手性固定相开发应用速度很快，商品化的柱形较多，在手性对映体的分离方面有很大贡献^[68-69]。

1.4.6 其他类手性固定相

除此此外，常见的固定相还有大环抗生素类手性固定相以及冠醚和杯芳烃类手性固定相^[70-71]。这两种手性固定相发现和应用的时间都比较晚，但是，在手性化合物拆分中的重要性越来越大。

1.5 本文研究的意义和方法

对于手性药物来讲，药物的空间结构不一样，作用效果也会有很大的差异。随着经济社会的发展，人们对于药品的要求也会越来越高，对于高效低毒的单一手性药物的需求越来越大，人们对于手性药物对映体的拆分的研究也越来越重视。高效液相色谱（HPLC）技术因为其简便，高效的特点，在手性药物的拆分中扮演着重要的角色。高效液相色谱中最为核心是色谱柱的制作。本文以合成的纤维素衍生物为识别剂分别合成了涂敷型以及键合型手性固定相，并分别对其拆分性能进行了研究。

利用三苯基氯甲烷对伯羟基的保护作用，使纤维素的 6-位羟基与邻乙酰水杨酰氯反应，2-, 3-位羟基与 3,5-二硝基苯甲酰氯反应，最终生成纤维素衍生物 CLD-4，作为固定相的手性识别材料。本文所用的手性载体是硅胶，但必须对硅胶上大量的硅羟基进行修饰。在制备涂敷柱时，本文选择用 γ -氨丙基三乙氧基硅烷（KH-550）作为修饰基团。而在制备键合柱的时候，选择用的是 γ -(2,3-环氧丙氧)丙基三甲氧基硅烷（KH-560）作为间隔臂。同时在实验的过程中，用红外、热重、元素、粒径等多种分析方法对制备的方法进行表征与分析。

本文主要工作可以总结为：

① 以硅胶为载体，以 KH-550 为硅胶修饰剂，以制备合成的 CLD-4 为手性识别剂，制备成涂敷型的纤维素衍生物类手性固定相 CSP-1，并考察了其对手性化合物的拆分效果。

② 以硅胶为载体，以 KH-560 为间隔臂，以制备合成的 CLD-4 为手性识别剂，制备成键合型的纤维素衍生物类手性固定相 CSP-2，并考察了其对手性化合

物的拆分效果。

2. CSP-1 的合成及其拆分性能

2.1 主要试剂与仪器

表 2.1 实验所用主要试剂

名称	规格	生产厂家
硅胶(5 um, 110 Å, 300 m ² /g)	色谱级	郑州英诺生物有限公司
微晶纤维素	分析纯	郑州英诺生物有限公司
KH-560	纯度 99%	阿拉丁试剂
kH-550	纯度 99%	阿拉丁试剂
二氯亚枫	纯度 99%	天津风船化学试剂科技有限公司
邻乙酰水杨酸	分析纯	天津科密欧化学试剂有限公司
三苯基氯甲烷	分析纯	阿拉丁试剂
3,5-二硝基苯甲酰氯	分析纯	阿拉丁试剂
无水 CaCl ₂	分析纯	天津风船化学试剂科技有限公司
三氟化硼乙醚络合物	纯度 99%	Merck 试剂
氢化钙	分析纯	阿拉丁试剂
无水 LiCl	分析纯	阿拉丁试剂
N-N-二甲基甲酰胺	纯度 99%	天津科密欧化学试剂有限公司
N-N-二甲基乙酰胺	纯度 99%	天津科密欧化学试剂有限公司
吡啶	纯度 99%	天津科密欧化学试剂有限公司

续表

名称	规格	生产厂家
丙酮	纯度 99%	天津科密欧化学试剂有限公司
四氢呋喃	纯度 99%	天津科密欧化学试剂有限公司
甲苯	纯度 99%	Merck 试剂
名称	规格	生产厂家
甲醇	纯度 99%	Merck 试剂
正己烷	纯度 99%	Merck 试剂
异丙醇	纯度 99%	Merck 试剂
乙醇	纯度 99%	Merck 试剂

要求必须用去离子水进行室验。另外，在实验的过程中，还用到了烧瓶、烧杯、玻璃棒、搅拌棒、冷凝管、蒸馏头、空心塞、沙芯漏斗、抽虑瓶等实验室常用物品。

表 2.2 实验仪器

设备	型号	生产厂家
高效液相色谱仪	LC-20A	日本岛津公司
元素分析仪	JSB-2A	南京第四分析仪器有限公司
热重分析仪	TG-500	美国 Waters 公司
傅立叶变换红外光谱仪	FT-IR370	美国 Thermo 公司
电动搅拌器	D8401-ZH	天津市华兴科学仪器厂
电子天平	TE6101-L	赛多利克斯仪器(北京)有限公司
PH 计	PHS-3C	上海宏盖仪器公司
真空干燥箱	DEF-6020	上海精宏实验设备有限公司

2.2 CSP-1 的合成

2.2.1 硅胶的活化与除水

硅烷偶联剂的键合量，与硅胶表面裸露的硅羟基的数量有密切关系，硅胶具有相当大的比表面积，这赋予了硅胶极强的吸附能力。但是，未经活化处理的硅胶表面上吸附的金属离子会降低硅烷偶联剂的键合量，且未活化的硅胶表面含有大量的 Si-O-Si 键，造成的影响也不可忽略^[72]。因此，本实验采用酸洗的办法对硅胶进行处理。具体做法为：用大量的浓度为 1mol/L 的盐酸溶液与硅胶充分混合，在适当的转速下，搅拌中浸泡 10 小时；真空抽滤后，用大量的去离子水进行洗涤；静置 0.5-1 小时，待大部分硅胶自然沉淀后，倒去上清液，以除去颗粒较小的硅胶，抽滤，并去除留在底部的颗粒较大的硅胶。重复操作，使硅胶颗粒尽可能达到均一，可以防止在装柱后沟流的产生。以提高柱效。直到抽滤得到的去离子水为中性，得到活化硅胶。

硅胶巨大的吸附能力同时也吸附了很多水分子，而硅烷试剂很容易与水分子发生反应。一般的真空干燥很难将硅胶内的水分降到最低，本文采用共沸除水法解决这个问题，具体的实验装置如图 2.1 所示。具体的操作：将之前干燥处理过的 100ml 无水甲苯与 5g 硅胶混合放入图 2.1 中的三口烧瓶中，油浴加热到 120℃ 共沸，待有 25ml 左右的液体蒸馏到下图 2.1 的双口烧瓶中时，停止加热，自然冷却备用。

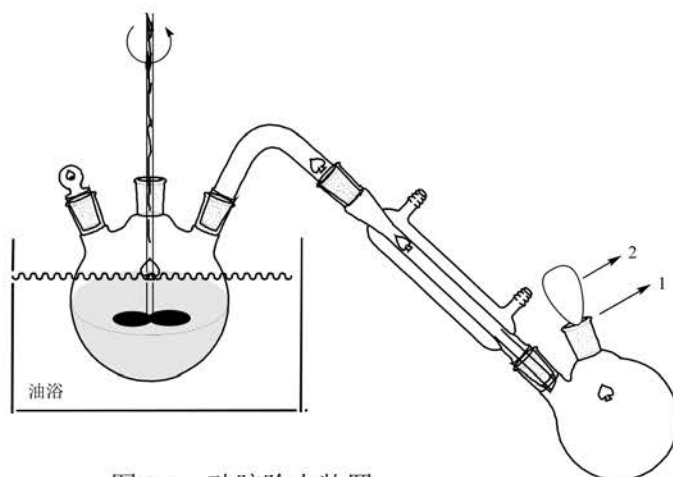


图 2.1 硅胶除水装置

2.2.2 氨丙基硅胶的合成

本实验要求的过程都是无水的，因此，本文设计如下图 2.2 所示的装置来保证实验的进行：实验的过程中，所有的接口都是密封；在开始加热反应之前，打开氮气瓶的阀门，排除装置内多余的气体；实验的过程中，用氮气排出气泡的多少，来控制氮气的流速，防止氮气的流速过快，带走大部分的溶剂。

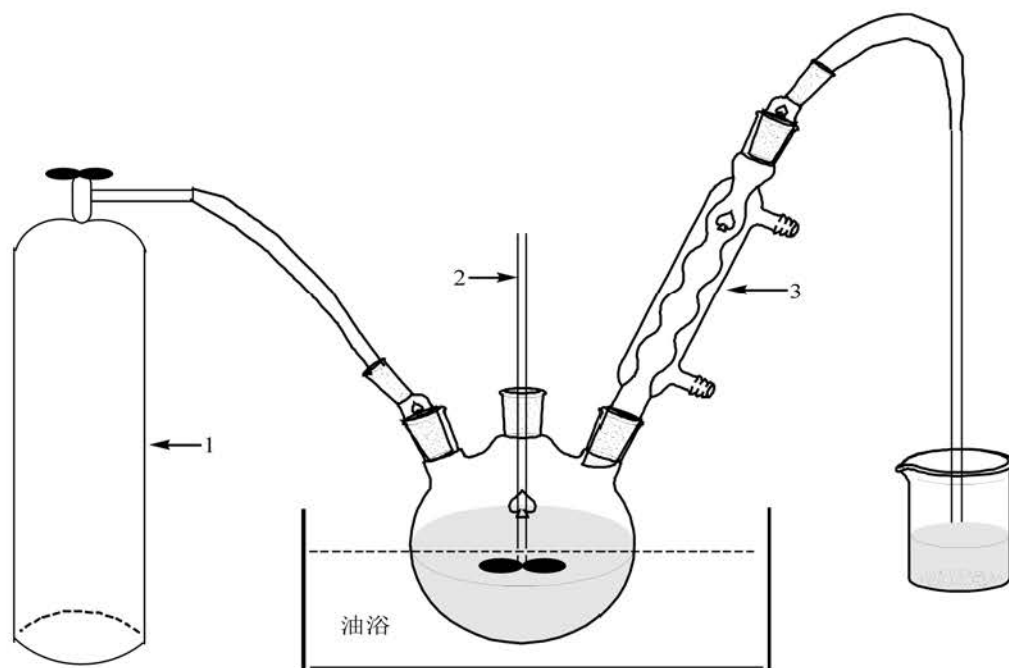


图 2.2 氨丙基硅胶合成装置

上图 2.2 所示的反应容器内中，放置已经活化好的硅胶以及除水后的甲苯，再放入 5ml 的 KH550；以吡啶为催化剂（用胶头滴管滴加两滴即可）。在 110℃ 的条件下，搅拌反应 10 小时；反应结束后，静置到室温，用足量的甲苯、甲醇和丙酮依次洗涤；后真空 80℃ 干燥 5 小时，保存备用即制备成功氨丙基硅胶 APS。

2.2.3 邻乙酰水杨酰氯的制备

在冰水浴的条件下，取 5g 邻乙酰水杨酸，置于 50ml 的三口烧瓶中，连接回流冷凝管。同时，在冷凝管的上端连接装有无水 CaCl_2 的干燥球；缓慢滴加 6.5ml 的二氯亚砷溶液，0.5ml 的 N-N—二甲基甲酰胺（DMF）；油浴缓慢加热至

77℃—80℃，维持两个小时，直至冷凝管出口没有气体冒出；反应完成后，用真空泵减压蒸除未参加反应的二氯亚砷，此时产物为淡黄色晶体，密封保存以备用。

我们可以利用邻乙酰水杨酸的羧基的活泼性，在与二氯亚砷的作用中合成邻乙酰水杨酰氯^[73]。在反应的过程中，为保证邻乙酰水杨酸的完全反应，二氯亚砷的用量是过量的，那么如何利用除去未反应完的二氯亚砷为整个实验的关键。

本实验开始的时候，在处理二氯亚砷问题的时候，在 80℃的条件下，旋转蒸发出过量的二氯亚砷，但在试验的过程中，旋转蒸发三小时后，酰氯并没有以晶体的方式出现。提高温度，又可能是反应得到的酰氯受热分解。因此，本实验不采用旋转蒸发的方式将二氯亚砷除去。

由于邻乙酰水杨酰氯的熔沸点较低（熔点 44-49℃，沸点 107-110℃），采用减压的方法除去二氯亚砷，邻乙酰水杨酰氯也会随着温度的不断上升而蒸发出来。在常温下对反应的混合物进行减压蒸馏三十分钟，则降至室温后，得到是一种粘稠状的混合物，说明二氯亚砷并没有完全的除去。本文针对这种情况，通过一系列实验，得出邻乙酰水杨酰氯在丙酮的溶解度很低，而二氯亚砷则很容易溶解在丙酮之内。因此，本文把减压蒸馏后得到的粘稠状的混合物，放入沙芯漏斗中尽可能的摊开，同时，用过量的无水丙酮进行淋洗，快速抽滤后，即可得到接近白色的邻乙酰水杨酸晶体。

2.2.4 微晶纤维素的溶解

纤维素中由于存在氢键的作用，使得纤维素在常规的有机溶剂的溶解性很差。本实验在进行纤维素的衍生化过程中，纤维素溶解程度的高低，很大程度上决定了纤维素衍生物的衍生化程度，即为纤维素单元上羟基的反应率。

本文首先选择了无水吡啶，作为反应溶剂进行实验。取 1g 微晶纤维素与 40ml 的无水吡啶混合在 100ml 的烧瓶中，在氮气保护下油浴加热到 80℃，持续 3 个小时，纤维素只能被泡胀；在超声清洗机超声震荡 2 小时，溶胀后的纤维素分散均匀，但不能溶解。而且，我们也要考虑到吡啶本身的恶臭气味，吸入人体后也会对研究者的健康造成伤害。所以，本文放弃了以吡啶当做反应溶剂的方法。

本实验在纤维素衍生化的过程中，由于有酰氯的存在，所以，必须选择非

水溶剂体系来溶解纤维素。通过查阅文献，得知 LiCl/DMAc 的溶剂体系中，由于 Cl⁻的存在与纤维素结构上的羟基的氢结合，从而破坏了纤维素原有的氢键结构，有利于纤维素的直接溶解。在溶解纤维素的过程中，高温活化的过程是必要的。本文通过一系列的实验，发现在 130℃ 的条件下，1g 纤维素与 40ml 的 DMAc 溶液活化 3 个小时，效果最佳。

纤维素在高温活化后呈现只是呈现溶胀状态，必须通过降温冷却加入 LiCl 才能溶解。并且要保证 LiCl 的干燥性。LiCl 固体具有潮解性，本身易结合空气中的水分子，且熔点较高。因此，本文采用在马弗炉中，180℃ 的条件下，放置 3 小时的方法，彻底除掉 LiCl 的水分。加入的 LiCl 的重量与体系中纤维素的重量相关联。经过多次的实验，发现，当纤维素与 LiCl 的重量之比为 1:3 的时候，得到的纤维素的溶液体系中最为透亮。为了增加体系的流动性，加入适量的无水吡啶。

2.2.5 (6-氧-三苯基甲基)-纤维素的合成

取微晶纤维素 1g，放入 250ml 的三口烧瓶中，加入 40ml 的无水 DMAc(N,N-二甲基乙酰胺)中，加热到 130℃ 回流溶胀 3 小时；冷却至 100℃，然后加入 3g 无水 LiCl，搅拌，继续降温至室温，直到溶液呈现出透明颜色；重新加热到 100℃，加入 5g 的三苯基氯甲烷以及 15ml 的吡啶溶液以增加反应过程中的流动性；在 N₂ 的保护下，匀速搅拌，反应 24h，反应体系呈现出浅褐色透明溶液。反应过程的方程式见图 2.1 所示。

反应结束以后，降温至室温，在 1000ml 的烧杯中，用 5-10 倍的无水甲醇混合搅拌 20min；将产物放置于砂芯漏斗上，利用水泵抽滤得到所需的沉淀产物；用无水甲醇重复上述过程 3 次，将产物洗涤干净；将得到的白色固体产物在 70℃ 的情况下，真空干燥 3 小时，得到纤维素衍生物备用，称重后得 3.6g 产物。

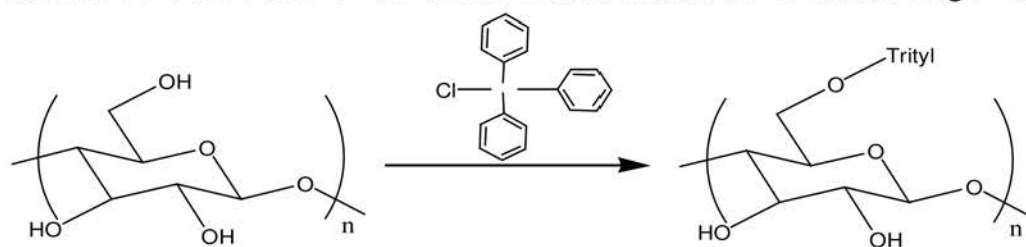


图 2.1 (6-氧-三苯基甲基)-纤维素的制备 (CLD-1)

2.2.6 [6-氧-三苯基甲基-2,3-(3,5-二硝基苯甲酸酯)]-纤维素的合成

取出 1g 重的纤维素衍生物 CID-1 放置到容积为 50ml 的三口烧瓶中,在 80℃ 的条件下,放置于真空干燥箱里烘干 6 个小时;加入无水吡啶 30ml;油浴加热至 90℃,在回流的状态下,搅拌直至 CLD-1 完全溶解;加入 2.5g 过量的 3, 5-二硝基苯甲酰氯,油浴 100℃ 搅拌反应 24 小时。整个反应是在 N₂ 的情况下进行的。反应过程见图 2.2。

冷却至室温,用大量的无水甲醇混合搅拌形成沉淀,过程如同 QHT-1 所示;之后洗涤,真空干燥,称重后,保存备用,即为 CLD-2。

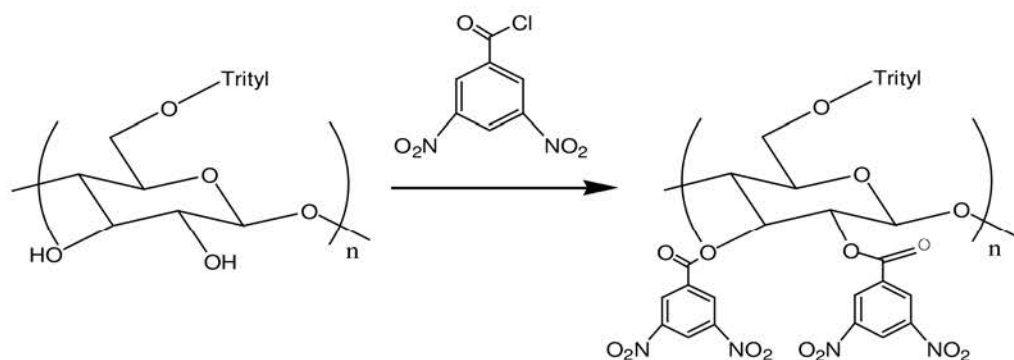


图 2.2 [6-氧-三苯基甲基-2,3-(3,5-二硝基苯甲酸酯)]-纤维素 (CLD-2) 的合成

2.2.7 [6-氧-三苯基甲基-2,3-(3,5-二硝基苯甲酸酯)]-纤维素去 6-位保护

称取制备成功的 CLD-2,加入含有 3% 盐酸的甲醇溶液中,约 50ml,油浴加热到 50℃,均匀搅拌反应 24 小时,以除去 6-位上的保护基团。结束后,降至室温,用大量的无水甲醇搅拌洗涤,并在砂芯漏斗中过滤,真空 70℃ 干燥 5 小时,称重后,保存备用即可得到[6-羟基-2,3-(3,5-二硝基苯甲酸酯)]-纤维素 (CLD-3)。

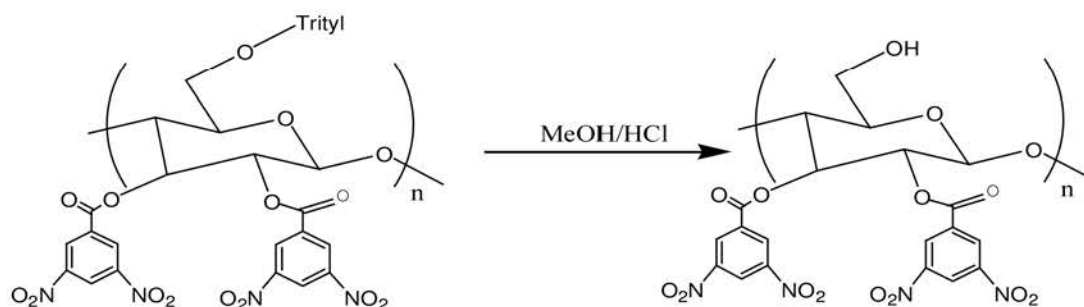


图 2.3 [6-羟基-2,3-(3,5-二硝基苯甲酸酯)]-纤维素 (CLD-3) 的合成

2.2.8 [6-(2-乙酰氧基苯甲酸酯)-2, 3-(3,5-二硝基苯甲酸酯)]-纤维素的合成

称取 1g CLD-3 于 50ml 的三口烧瓶中，在 80℃ 的条件下，放置于真空干燥箱中 6 小时后，添加干燥后的吡啶 30ml；油浴加热至 90℃，在回流状态下，搅拌直至 CLD-3 完全溶解；把事先已经准备好的邻乙酰水杨酰氯放置于反应容器；油浴加热至 100℃，在搅拌的条件下，反应 16 小时。待溶液降至室温，同大量的无水甲醇混合形成沉淀。洗涤，过滤，干燥，形成最后 CLD-4。

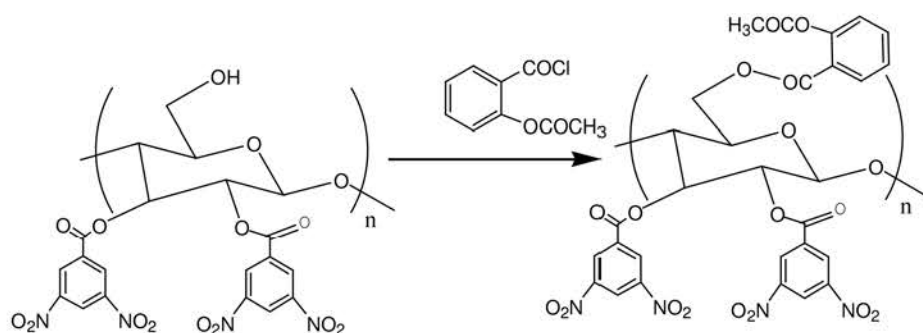


图 2.4 CSP-4 的合成

2.2.9 CSP-1 的涂敷与装柱

1. 涂敷

在干燥的烧杯内，放入 1g 制备成功的纤维素衍生物 CLD-4；用适量的四氢呋喃溶解进行溶解；再称取 4g 制备好的氨丙基硅胶，放入 250ml 的单口圆底烧瓶中。将四氢呋喃溶解液分次放入与氨丙基硅胶充分融合，尽量让硅胶能最大量的分散开；将单口烧瓶置于旋转蒸发仪上，缓慢加热至 60℃，旋转，蒸干溶剂；重复操作，直至四氢呋喃溶液全部涂敷完成。最后，真空终干燥制取得到的暗黄色纤维素衍生物手性固定相，理论的涂敷量为 20%。

2. 装柱

色谱柱的装填要求：要求紧密可以保证在色谱柱在长时间的分离过程中不会出现塌陷，从而影响拆分效果；要求均匀可以保证色谱柱在进行手性化合物的分离中，不会产生很大的涡流，从而使峰线的宽度明显变大。

现在，色谱柱的装填主要有干法装填和湿法装填两种情况。一般情况下，湿法装填的应用范围要大于干法装填。本文采用的匀浆法装填，就是湿法装填

的一种。浓度太高的匀浆液，会使固定相的填料不能完全分散，结果使装填的色谱柱质地不均匀；匀浆液的浓度太低，则会导致匀浆液的用量过大，造成在制备色谱柱的过程中，床层可能会发生分层的现象。因此，要根据固定相填料的不同选择合适的浓度。同时，在装填的过程中，也要留意去除匀浆液的底部可能含有的较大颗粒的固定相，确保固定相填充中的完美^[74]。

同时，在进行色谱柱的装填中，也要考虑所装填的固定相材料的性质。如果所填装的是正向的色谱柱，即色谱柱中固定相的极性大于流动相，那么匀浆液中所选择的溶剂应为极性比较强的。如果色谱柱所填的固定相的填料是反相的，即流动相的极性大于固定相的极性，那就应选择极性较为弱的溶剂。

(1) 匀浆液的制备：本实验所用的是 5×150mm 的色谱柱管。一般来说，2g 固定相填料，就足以装满^[75]。考虑到有可能的损失，取 2.5g 填料。将甲醇作为分散介质，至于超声波清洗器中震荡 2 至 3 分钟，将填料均匀分散。注意震荡的时间不能太长，以防止固定相的颗粒破碎，影响拆分的效果。

(2) 清洗空色谱柱管：必须保证色谱柱管光滑无划痕，才能达到理想的拆分效果。因此，对于色谱柱管的清洗很重要。本实验在清洗的过程中先用丙酮对色谱柱管进行淋洗，然后用大量纯水进行冲洗，最后再次用丙酮淋洗，烘干备用。

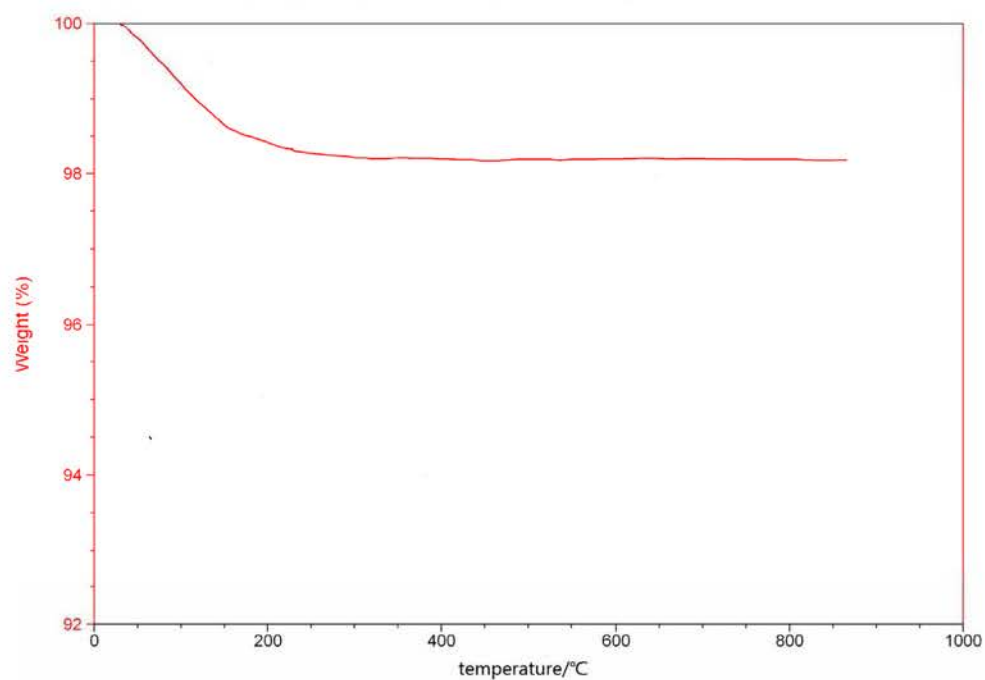
(3) 装柱操作：首先用甲醇对整个管道进行清洗，将甲醇用做顶替液，以脉冲形式，在 37 MPa 的压力下进行色谱柱的装填。完成后取下色谱柱，观察装住情况。然后连接色谱柱头，标明色谱柱的流动方向，至此，色谱柱的制作就完成了。

2.3 CSP-1 的表征

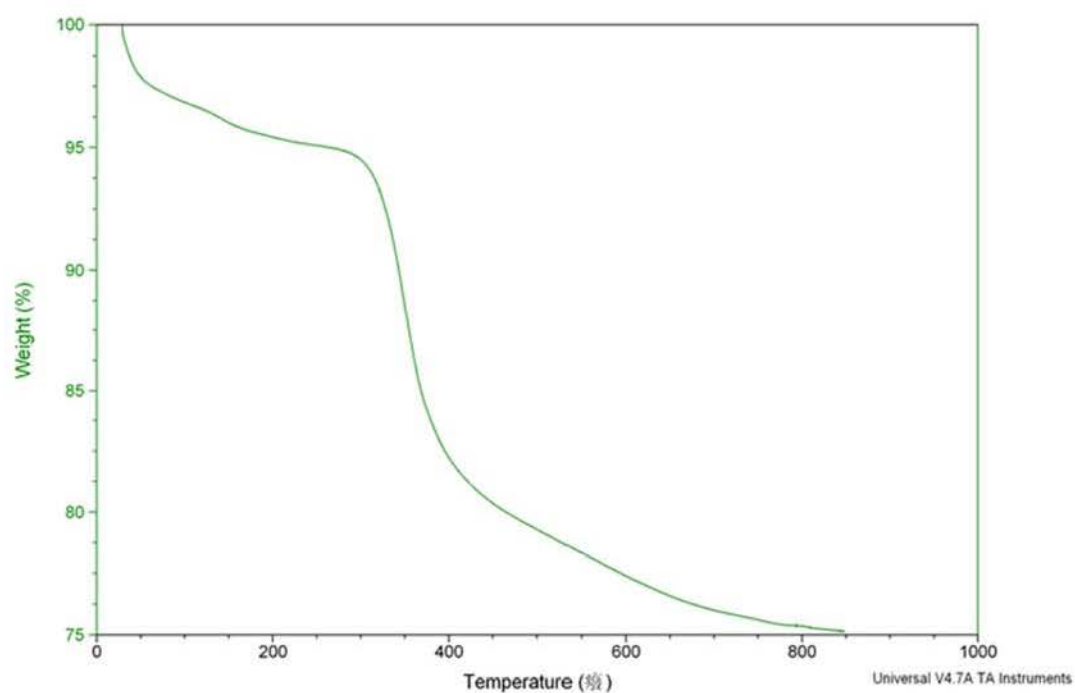
2.3.1 APS 的表征

热重分析：在本实验利用美国 Waters 公司生产的 TG-500 型热重分析仪，对空白硅胶以及合成的 APS 放入铝制坩埚中，以氮气作为保护气，在同等条件下，升温至 800℃ 进行热重分析。所得到的热失重结果如图 2.5，可以看出空白硅胶的在 800℃ 时，热失重基本上保持不变，维持在 1.82%，可以认为，失重完全。而合成的 APS 的热失重在升温到 800℃ 的时候，热失重维持在 7.43%。本文之前已经对产物 APS 进行了多种有机溶剂的大量清洗，这样一来，就会把残

留的 KH-550 完全的洗去。因此，键合到硅胶表面的 KH-550 的占比为 6.41%。可以确定本实验已经成功的将 KH-550 键合到硅胶上面。



a



b

图 2.5 热重分析图(a: 空白硅胶热重图; b: APS 热重图)

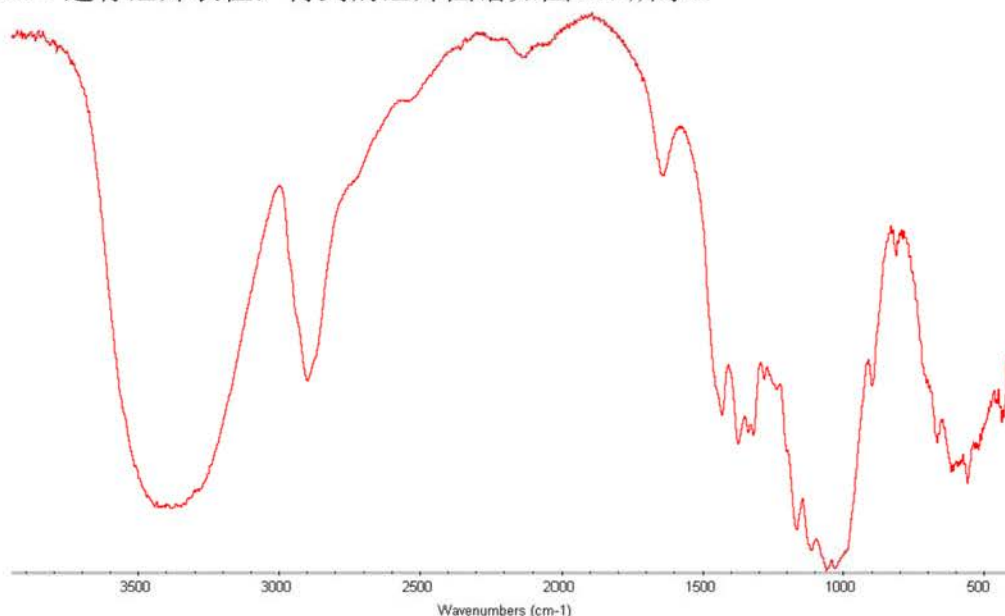
元素分析：为了对合成的产物进行进一步的验证，我们采用元素分析的方法对合成的产物进行分析。所测结果为：C, 2.57%; N, 0.96%; H, 0.69%。从理论上可以计算出，羟基在空白硅胶的表面浓度在 $8.3 \text{ } \mu\text{mol}/\text{m}^2$ 左右。但在空间位阻效应的影响下，只有 50%左右的羟基能够参加反应，即为 $4.15 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ 。我们在计算的过程中，可以认为反应是按照单分子进行的，在硅胶表面相应的 kH-550 的反应覆盖率 V 可以用下式来表示

$$V = \left[\left(\frac{W}{M} \right) \div (4.15 \times 300 \times 10^{-6}) \right] \times 100\% = 54.68\%$$

可以得到硅胶表面参与反应的羟基占整个可以羟基的 54.68%，由硅胶表面的覆盖率通过计算得到羟基的反应浓度为 $2.269 \text{ } \mu\text{mol}/\text{m}^2$ ，通过查询文献资料得出单分子层的羟基键合反应浓度一般为 $2-4 \text{ } \mu\text{mol}/\text{m}^2$ ^[76]，可以看出计算得出的数据包含在理论范围内，可以证明该键合反应确实是按单分子层的方式进行的。

2.3.2 CLD-1 的表征

本实验利用傅立叶变换红外光谱仪对空白微晶纤维素以及合成之后的 CLD-1 进行红外表征，得到的红外图谱如图 2.6 所示。



a

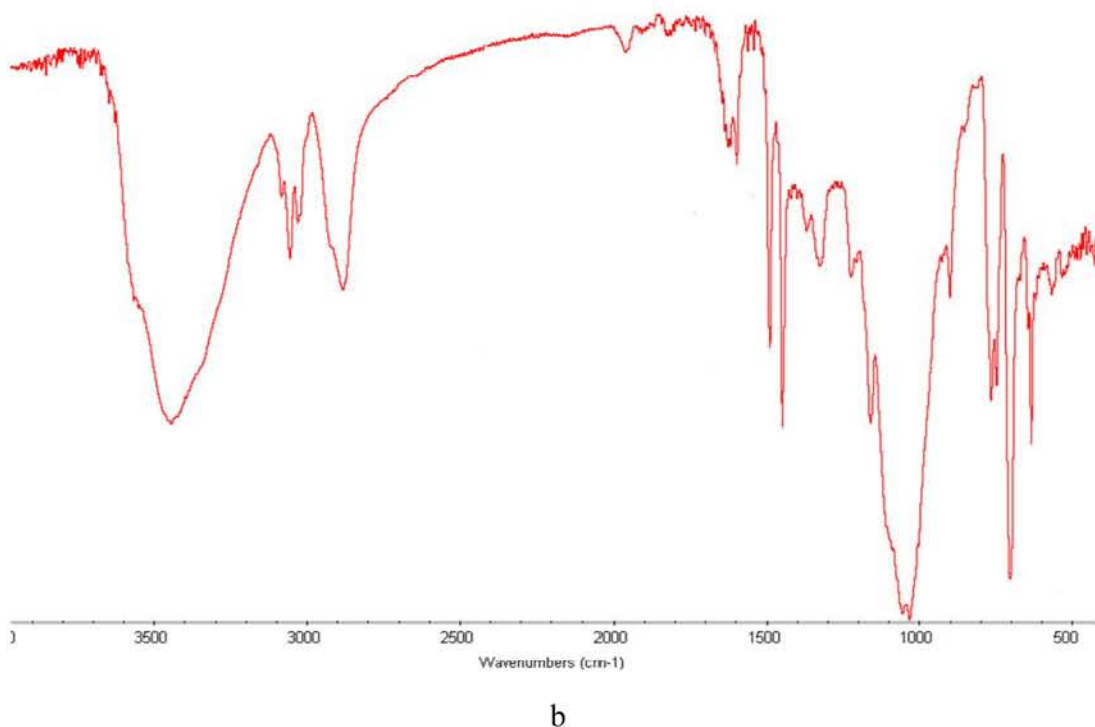


图 2.6 红外分析图 (a: 空白纤维素; b: CLD-1)

如上图，可以看出，产物图与微晶纤维素的红外图相比，出现了芳香族化合物的特征峰振动 1597cm^{-1} 、 1491cm^{-1} 、 1449cm^{-1} 等处。并且出现了芳环的特征面外弯曲振动 702cm^{-1} ，从而证明了三苯基氯对纤维素 6-位的成功衍生化。

同时，为了对合成的 CLD-1 进行进一步的验证，本实验用元素分析的方法对合成的产物进行分析。委托郑州大学分析测试中心对合成的 CLD-1 进行元素分析的表征

表 2.3 元素分析结果

物质	C%	H%
纤维素	44.56	6.13
CLD-1	59.68	6.31

由元素分析的结果可知，三苯基氯甲烷中的碳元素的占比较高，在 CLD-1 中，碳元素的占比明显提高，说明三苯基氯甲烷和纤维素发生了反应。

2.3.3 CLD-3 的表征

红外分析：对合成的 CLD-3 进行红外光谱的表征，并与空白纤维素的红外谱图进行对照，如下图 2.6 所示

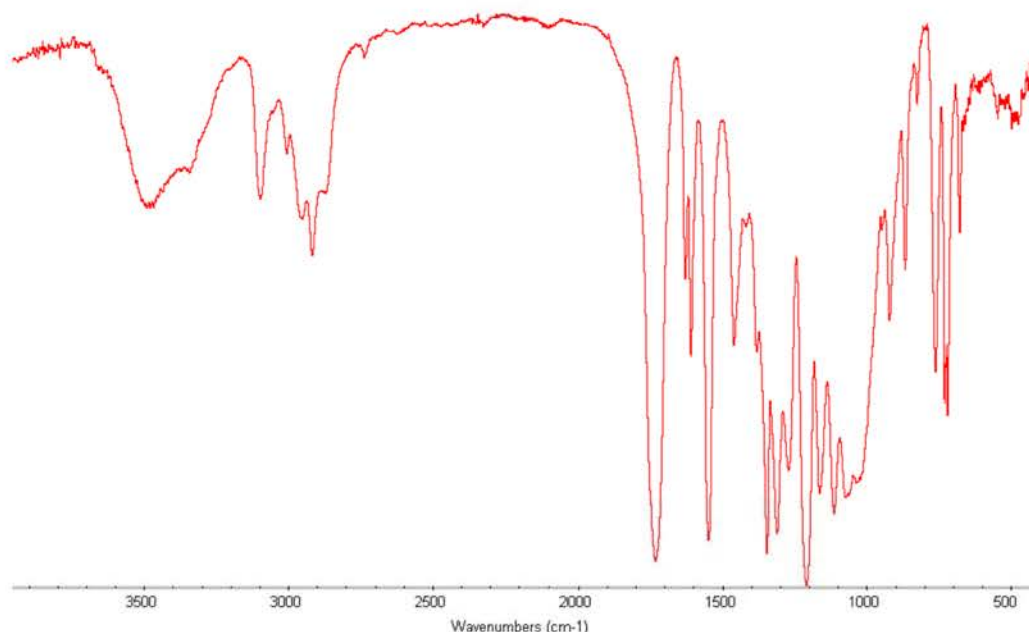


图 2.6 CLD-3 红外图谱

从图中的中可以看出，空白纤维素和纤维素衍生物 CLD-3 比较中， 3410cm^{-1} 处的-OH 的吸收峰在衍生物中，明显减弱。说明空白纤维素中的很大比重的-OH 成功的被反应物质取代：衍生物 CLD-3，在 3100cm^{-1} ， 1720cm^{-1} ， 1602cm^{-1} ， 1545cm^{-1} ， 915cm^{-1} ， 821cm^{-1} ， 780cm^{-1} ， 749cm^{-1} ， 726cm^{-1} 等处的苯甲酸酯的特征吸收峰，强力的说明了邻乙酰水杨酰氯已经成功的取代了纤维素结构中的羟基； 1465cm^{-1} ， 1305cm^{-1} ， 872cm^{-1} 处的特征吸收峰说明了 3, 5-二硝基苯甲酸酯在纤维素衍生物 CLD-3 中的存在，说明 CLD-3 的合成是成功的。

元素分析：本文委托郑州大学分析测验中心，对合成的 CLD-3 进行元素分析，并且空白纤维素，CLD-1，CLD-2，CLD-3，CLD-4 进行元素分析的结果，如表 2.4 所示：

表 2.4 纤维素衍生物的元素分析结果

物质	C%	H%	N%
空白纤维素	44.56	6.13	---
CLD-1	59.68	6.31	---
CLD-2	58.97	4.16	4.34
CLD-3	44.29	3.74	10.32
CLD-4	48.76	4.07	8.34

从表格中，可以看出，CLD-2 中，氮元素的比例的产生，说明二硝基苯甲酰氯是成功键合上去的；同时，在 CLD-3 中，碳元素的比例的大幅度下降，说明去保护的环节也是成功的；CLD-4 中氢元素的比例增加，则说明邻乙酰水杨酰氯的键合成功。

2.3.4 终产物 CSP-1 的表征

热重分析：本文对最后的手性固定相柱 CSP-1 进行热重分析，如下图 2.7 所示，可以看出在 800℃的情况下，CSP-1 的失重为 25%，减去氨丙基硅胶的失重 7.43%，得到 CLD-4 的涂敷量为 17.57%。

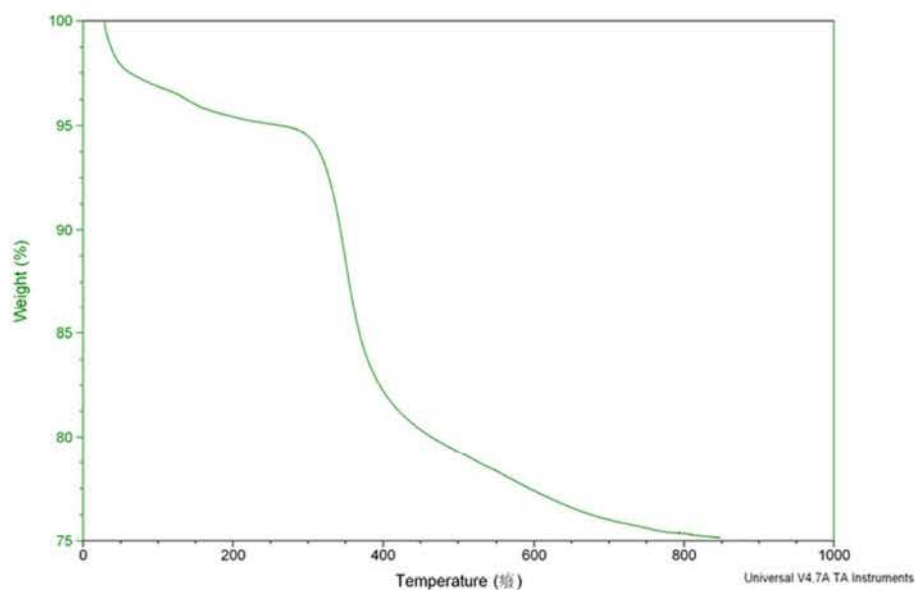


图 2.7 CSP-1 热重分析图

粒径分析：对所合成的 CSP-1 进行粒径分析，可以得出合成的硅胶固定相的平均粒度在 6.3 μm 左右，并且由粒径的正态分布的图来看，粒径分布集中，证明在 CLD-4 涂敷在硅胶的过程中，涂敷的十分均匀。

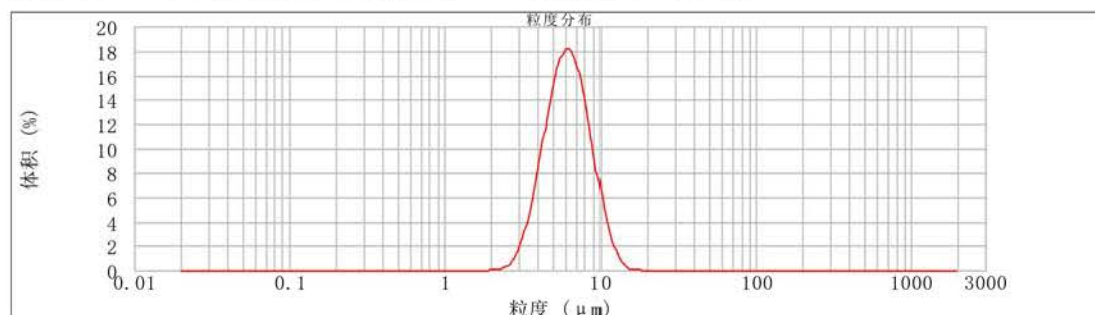


图 2.8 CSP-3 粒径分析图

2.4 CSP-1 拆分性能的探究

2.4.1 液相色谱的基本参数

(1) 死时间 t_M 、保留时间 t_R 和调整保留时间 t'_R

死时间与色谱柱的空隙体积相关。死时间的测定对于正相色谱常用的是三叔丁基苯，反相色谱则常用尿嘧啶。

t_R 来表示品的保留时间，时间单位也是分钟。在确定的色谱条件下，不同的样品的保留时间不同，因此，可以通过保留时间对物质进行定性分析。在减去死时间，可得 t'_R ，相应的计算公式为：

$$t'_R = t_R - t_M$$

(2) 容量因子 k

组分在固相与液相中的质量比叫做容量因子。用 k 进行表示，相应的计算公式为：

$$k = m_s / m_M = t'_R / t_M$$

在高效液相色谱中，柱温、以及固定相和流动相的性质决定了容量因子的大小，而色谱柱的尺寸大小以及流动相的流速对容量因子没有影响。

(3) 分离因子 α

$$\alpha = k_2 / k_1 = t'_{R(2)} / t'_{R(1)}$$

在色谱定性分析中， α 体现了固定相的选择性。

(4) 分离度 R_S

常用 R_S 来表示相邻的两组分的拆分效果，相应的计算公式为：

$$R_S = 2 \times [t_{R(2)} - t_{R(1)}] / (W_1 + W_2) = 1.18 \times [t_{R(2)} - t_{R(1)}] / [W_{1/2(1)} + W_{1/2(2)}]$$

当 $R_S=1$ 时，代表着分离程度可达 98%；当 $R_S=1.5$ 时，所代表的分离程度为 99.7%，此时就可以认为两组分达到了基线分离；而当 $R_S<1$ 时，则表示相邻的色谱峰之间有重叠的部分，即为两个组分分离没有完全。

R_S 的基本方程式可以用如下的公式来表示

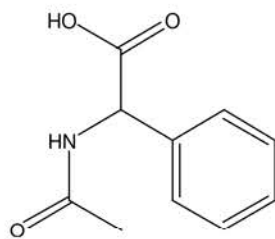
$$R_S = \sqrt{n} / 4 \times [(\alpha - 1) / \alpha] \times [k / (1 + k)]$$

2.4.2 色谱柱的死时间的考察

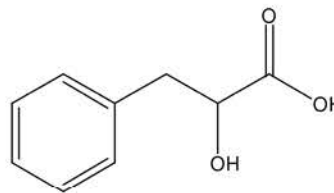
对手性拆分色谱柱的性能考察中，死时间是一个必要参数。本实验采用三叔丁基苯进行测定，流动相的选择为正己烷：异丙醇=90:10。进入 1,3,5-三叔丁基苯，可以测定出保留时间为 1.8min，这个时间即为所制备的手性固定相的保留时间。

2.4.3 CSP-1 对手性化合物的拆分

考察了五种手性化合物在植 CSP-1 的拆分效果，这五种手性化合物分别为 N-乙酰-DL-苯基甘氨酸、DL-3-苯基乳酸、噻康唑、特布他林、益康唑。此相应的结构如下图 2.9 所示。



N-乙酰-DL-苯基甘氨酸



DL-3-苯基乳酸

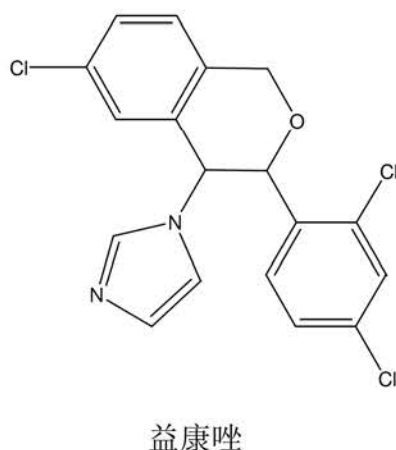
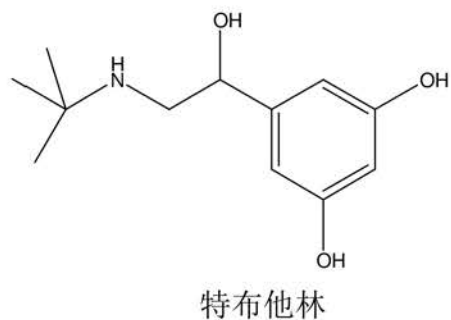
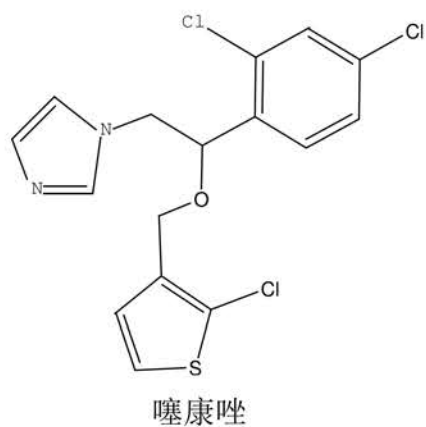


图 2.9 被拆分化合物的结构式

(1) N-乙酰-DL-苯基甘氨酸的拆分

为了达到最理想的拆分效果，本文采用了四种不同的流动相配比对 N-乙酰-DL-苯基甘氨酸进行了拆分。实验结果表明，流动相构成拆分效果的最好的为正己烷：异丙醇：甲醇：（60：20：20），同时加入少量的三氟乙酸（0.1%）。由光电二极管阵列检测器自动调节最佳波长。相应的流动相的流速为 1.0ml/min。拆分的色谱图如图 2.10 所示。可以看出，在此条件下，N-乙酰-DL-苯基甘氨酸拆分完全。

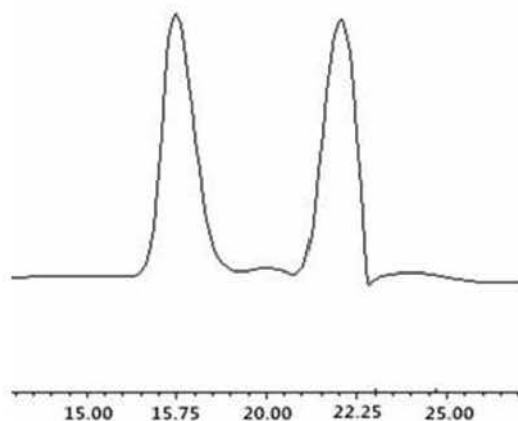


图 2.10 N-乙酰-DL-苯基甘氨酸拆分色谱图

流动相的构成为正己烷-异丙醇、正己烷-乙醇和正己烷-甲醇这三种情况先并不能完成对 N-乙酰-DL-苯基甘氨酸对映体的拆分。分析其中的原因，应该是乙醇和异丙醇作为单一的溶剂能提供的极性选择的范围很少，而对于当把异丙醇和甲醇进行混合的时候，经过不同比例的调配，会得到单一极性溶剂得不到的效果。这种作用会使得异丙醇与甲醇的混合物与对映体形成的氢键的作用变强。因此，在异丙醇和甲醇混合的条件下，可以对 N-乙酰-DL-苯基甘氨酸进行拆分，而其他单一溶剂则不可以。

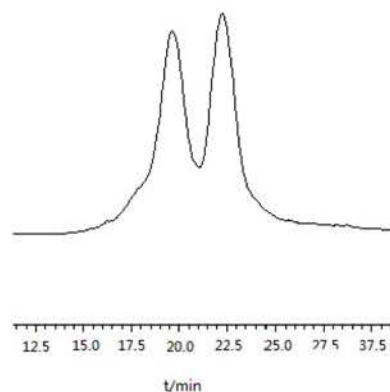
(2) 对咪唑类抗真菌药物的拆分

本文利用所合成的手性固定相，咪唑类抗真菌的药物噻康唑以及益康唑进行拆分实验。首先采用不同比例的正己烷、异丙醇以及甲醇的混合物，都不能使此类药物进行有效的拆分。之后，本文，在正己烷：异丙醇：甲醇为 50：25：25 的流动相中，加入了少量的添加剂三乙胺（0.1%）。柱温为室温的条件下，对两种咪唑类抗真菌的药物进行拆分，拆分的色谱图如下图 2.11 所示。

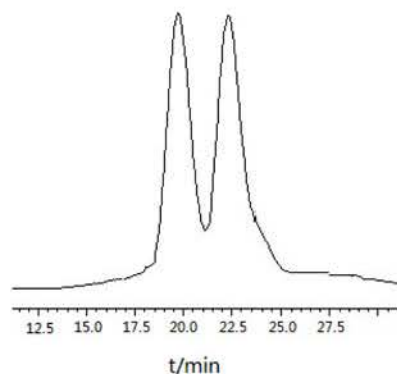
表 2.5 两种咪唑类抗真菌药物的拆分结果

对映体	k_1	α	R_s
噻康唑	9.61	1.17	1.04
益康唑	10.02	1.15	1.13

k_1 代表容量因子 (capacity factor); α 代表分离代表子(selectivity factor); R_s 代表分离度 (resolution) 流动相组成为正己烷：异丙醇：甲醇：三乙胺= (50：25：25：0.1)。



a



b

图 2.11 两种咪唑类抗真菌药物拆分图 (a: 噻康唑; b: 益康唑)

以上两种药物是加入三乙胺之后才有明显的拆分效果。分析之后本文认为，三乙胺作为一种碱性物质，会对硅胶上残留的硅羟基产生抑制作用，从而使手性对映体与手性识别材料之间的作用得到加强，使拆分顺利进行。在一系列的实验中，确定的最佳的流动相比例为正己烷：异丙醇：甲醇的比例为 50：25：25 以及 0.1% 的三乙胺作为添加剂。

从上表 2.5 以及上图 2.11 中，得出噻康唑以及益康唑的拆分结果比较理想。分析其原因，可以得出这两种药物的手性碳原子附近都含有共同的基团苯环，并且由吸电子的作用的基团对苯环进行取代，这些就促使了 π -酸性的芳香基团的形成。促使这两类咪唑类药物能够进行有效的拆分。

(4) 对于 DL-3 苯基乳酸的拆分

本实验采用了三种不同比例的正己烷、异丙醇以及甲醇的混合物进行拆分。选择室温作为色谱分离的条件，在最佳波长为 220nm 时进行检验，设流动相的流速为 1.0ml/min。分离的结果如下表，色谱图如下图 2.12。

表 2.6 DL-3 苯基乳酸在不同流动相比比例中的拆分结果

流动相比比例（正己烷：异丙醇：甲醇）	k_1	α	R_s
50: 25: 25	5.95	-	-
60: 20: 20	9.83	1.12	0.52
90: 5: 5	8.17	1.23	1.35

k_1 : 容量因子 (capacity factor); α : 分离因子(selectivity factor); R_s : 分离度 (resolution)

此种手性对映体结构中，手性原子附近既有能形成氢键的羰基、羧基、羟基等基团，又有能形成 π - π 作用的苯环。能和 CSP-1 上的手性中心发生作用，使得手性对映体能够被拆分。由下图 2.12 可以看出，当正己烷的比例在 50% 的时候，DL-3 苯基乳酸不能被拆分。当正己烷的比例在 60% 的时候，有拆分的意向；当正己烷的比例达到 90% 的时候，拆分的效果较好。可见随着正己烷浓度的增大，DL-3 苯基乳酸在 CSP-1 的拆分效果越好，可能的原因在于正己烷浓度的增大，相应的有洗脱作用的异丙醇和甲醇的比例就会变小，使手性对映体与手性固定相的作用时间变长，从而使手性对映体能够拆分开。

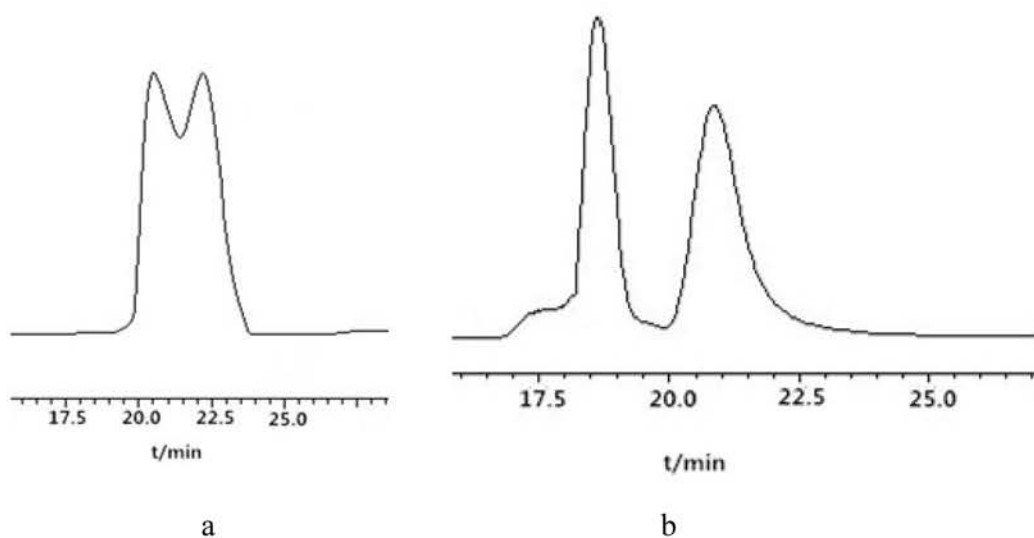


图 2.12 DL-3-苯基乳酸的拆分色谱图 (a:正己烷：异丙醇：甲醇=60: 20: 20; b: 正己烷：异丙醇：甲醇=90: 5: 5)

(4) 对特布他林的拆分

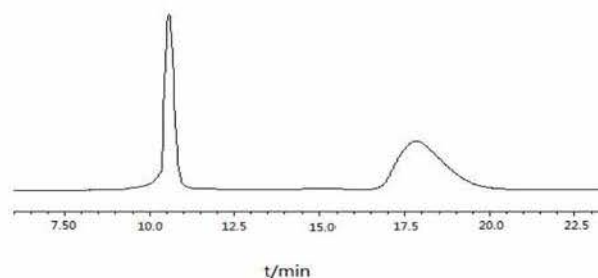
特布他林在治疗慢性支气管炎，支气管哮喘等方面有不错的疗效。本实验考察了特布他林在三种不同的流动相里的拆分。实验的结果如下表 2.7，色图拆分图如下图 2.13。

由得出的数据可知，特布他林在正己烷和乙醇混合流动相中拆分的效果最好；在流动相为正己烷、异丙醇与甲醇的混合物时，拆分效果次之；流动相为正己烷、甲醇与二氯甲烷的混合物，则不能被拆分。可以得出，在三种流动相中，甲醇与二氯甲烷的混合物没有区分能力，乙醇的拆分能力比甲醇高，但是区分能力，甲醇比乙醇的高。

表 2.7 特布他林在 CSP-1 上的拆分结果

流动相	k_1	α	R_s
正己烷：异丙醇：甲醇（80:10:10）	4.56	1.86	2.14
正己烷：乙醇（90:10）	6.22	2.61	3
正己烷：甲醇：1,2-二氯乙烷（80:10:10）	4.05	--	--

k_1 : 容量因子 (capacity factor); α : 分离因子(selectivity factor); R_s : 分离度 (resolution)



a

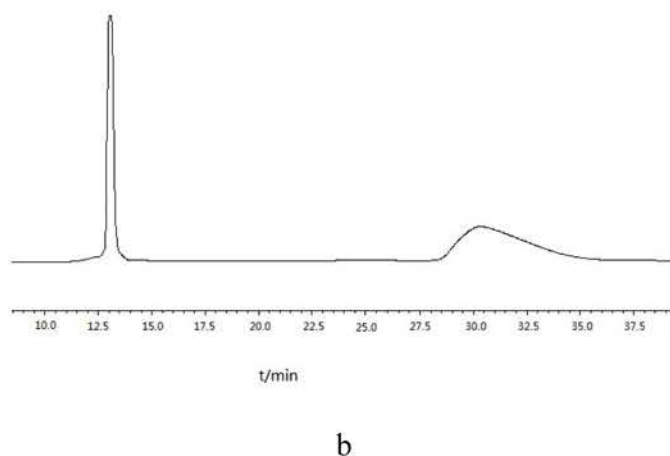


图 2.13 特布他林在 CSP-1 的拆分色谱图

(5) 考察流速对拆分效果的影响

为了得出所合成的色谱柱的较佳的流动相流速，本实验考察了四种手性对映体在最理想流动相流速对拆分效果的影响。其中，N-乙酰-DL-苯基甘氨酸、益康唑、DL-3 苯基乳酸和特布他林所对应的流动相分别为正己烷：异丙醇：异丙醇：甲醇：三氟乙酸（60:20:20：0.1）、正己烷：异丙醇：甲醇：三乙胺（50:25:25:0.1）、正己烷：异丙醇：甲醇（90:5:5）和正己烷：乙醇（90:10）。拆分的结果见表 2.6。

表 2.8 流动相流速对拆分效果的影响

对映体	0.5 ml/min			1.0 ml/min			1.5 ml/min		
	k_1	α	R_S	k_1	α	R_S	k_1	α	R_S
N-乙酰-DL-苯基甘氨酸	0.74	3.11	4.21	0.68	3.04	4.14	0.56	2.93	4.05
益康唑	14.62	1.17	1.08	14.15	1.15	1.04	14.03	1.06	0.82
DL-3 苯基乳酸	16.18	1.09	0.81	16.13	1.07	0.85	15.99	1.08	0.64
特布他林	2.28	1.16	0.92	2.17	1.20	0.91	1.94	1.09	0.82

k_1 : 容量因子 (capacity factor); α : 分离因子(selectivity factor); R_S : 分离度 (resolution)

从上表 2.8 可以看出，如果减小流动相的流速，则会延长所要拆分的手性对映体与色谱柱的相互作用的时间，相当于增加了保留时间；当流速增大到 1.5ml/min 时，其中三种化合物的在色谱柱的保留时间减小，分离度也会相应的减小。其中的原因可以理解为当流动相增大的时候，两者之间的作用的时间会相应的减少，会导致拆分过程中拆分的效果不好。致使拆分的过程中，拆分的

不充分。但是，由于特布他林的分离度本身比较大，所以，可以抵消由于流速增大带来的分离不充分的影响。因此，本实验所合成的固定相，流动相的流速以 1ml/min 为准。

2.5 本章小结

本章首先利用邻乙酰水杨酸合成邻乙酰水杨酸酐，对实验过程中除去过量二氯亚砷的方法进行优化：之后在空白纤维素的 6-位羟基上定向的引入三苯基氯甲烷合成 CLD-1，在合成的过程中，考察了用什么溶剂能够更好的溶解纤维素，最终选定的溶剂体系为 DMAc-LiCl 体系；在 CLD-1 的 2-位，3-位引入 3,5-二硝基苯甲酰氯合成了 CLD-2；CLD-2 的 6-位去保护后，得到 CLD-3；CLD-3 的 6-位羟基引入邻乙酰水杨酸酐合成 CLD-4；CLD-4 涂敷在氨基硅胶上成为 CSP-1。

在实验过程中，利用红外分析仪，热重分析仪，元素分析仪以及粒径分析仪等对制备过程中的关键步骤进行定性与定量的表征与分析。证明了制备过程中的顺利进行。

利用制备出的 CSP-1 分别对 N-乙酰-DL-苯基甘氨酸、DL-3-苯基乳酸、噻康唑、特布他林、益康唑、氯苯那敏进行拆分，得到如下结论：

(1) 所制备的 CSP-1 对 N-乙酰-DL-苯基甘氨酸在流动相为正己烷-异丙醇-甲醇时具有良好的拆分效果。而当流动相为正己烷-异丙醇、正己烷-乙醇和正己烷-甲醇并没有拆分效果，可能的原因在于，混合型的流动相在极性范围选择上，能够有更多的选择范围。这种作用会使得异丙醇与甲醇的混合物与对映体形成的氢键的作用变强。

(2) CSP-1 对两种咪唑类抗真菌药物有很不错的拆分效果，这种效果与在正己烷-异丙醇-甲醇组成的流动相中加入三乙胺有很大的关系。三乙胺的碱性性质，会减弱两相之间的非手性作用，从而使手性作用得到加强，使拆分顺利进行。

(3) 考察了 DL-3 苯基乳酸在不同的正己烷浓度的流动相中的拆分效果。发现随着流动相正己烷浓度的提高，DL-3 苯基乳酸的拆分效果也逐渐提高。当正己烷的比例达到 90%的时候，拆分的效果较好。可能的原因在于正己烷浓度的增大，相应的有洗脱作用的异丙醇和甲醇的比例就会变小，使液相中物质与固定相之间的作用变长，从而使手性对映体能够拆分开。

(4) 考察了特布他林在三种流动相中的拆分效果。特布他林在正己烷和乙醇混合流动相中分离的情况最好；在正己烷、异丙醇与甲醇的混合物中，分离效果次之；流动相为正己烷、甲醇与二氯甲烷的混合物，则不能被拆分。可以得出，在三种流动相中，甲醇与二氯甲烷的混合物没有区分能力，乙醇的拆分能力比甲醇高。

(5) 考察流动相的流速对拆分效果的影响，发现当流动相的流速在 1ml/min 的时候，拆分的效果最好。

3. CSP-2 的合成及其拆分性能

本实验第二章合成的涂敷柱，对 N-乙酰-DL-苯基甘氨酸、咪唑类化合物、DL-3 苯基乳酸、特布他林等药物具有十分优秀的拆分能力。但同时也具有很好的溶解性能，这样，在选择流动相的问题时，就会遇到极大的限制。使制备的色谱柱的寿命也会相应的缩短。本章在涂敷型固定相柱的基础上，合成键合型固定相柱。本实验在 CLD-4 的基础上，以 γ -(2,3-环氧丙氧) 丙基三甲氧基硅烷 (KH-560) 为连接臂，将 CLD-4 键合到硅胶上，形成键合型手性固定相柱。此外，采用热重分析，元素分析，红外分析的方式，同样利用匀浆法制成手性固定相柱，并对此固定相的拆分能力进行了考察。

3.1 CSP-2 的合成

(1) 硅胶改性反应

取已经干燥过的活化硅胶 6g 放入三口烧瓶中，同时加入 100 ml 除水后甲苯。放入合适的搅拌棒，在电动机的带动下，调至合适的搅拌速度（速度不能过快，以免硅胶被打碎）；搅拌均匀后，加入 9ml 的 KH-560，加入 0.5ml 的无水吡啶作为催化剂。在 100℃ 的条件并且氮气保护，反应 5h。反应结束以后，静置到室温，用沙芯漏斗进行抽虑；之后对沉淀物依次用甲苯、甲醇、丙酮等洗涤多次；真空干燥，在 80℃ 的条件下，干燥 6 个小时，即可得到所需的改性硅胶。称量后，密封封存备用。

本实验对硅胶与 KH-560 的反应条件进行了单因素的优化：在 100℃ 条件下，反应 5h，即反应温度与反应时间相同的情况下，考察反应物配比的不同对改性硅胶含碳量的影响。图 3.1 为当反应物浓度配比硅胶 (g)：KH-560 (ml) 等于 1.5：1，1：1，1：1.5，1：2，1：3 时所对应的改性硅胶的元素分析的含碳量的折线图。可以得出，硅胶与 KH-560 之间比例为 1:1.5 的时候，含碳量是最高的，即键合量也是最高的。

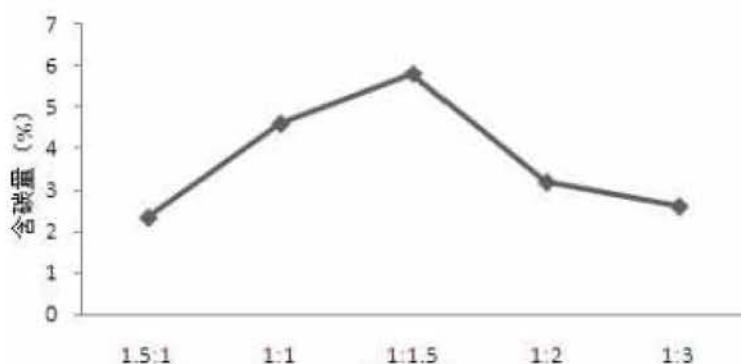


图 3.1 不同反应物配比对反应产物含碳量的影响

在其他条件都相同的情况下，本实验比较了不同反应时间下 KH-560 键合量的数值。同样是以反应产物的元素分析的含碳量作为参考标准。由图 3.2 可知，KH-560 的键合量最大的时候，反应的时间在 5h 左右。说明该反应的最佳反应时间为 5h。

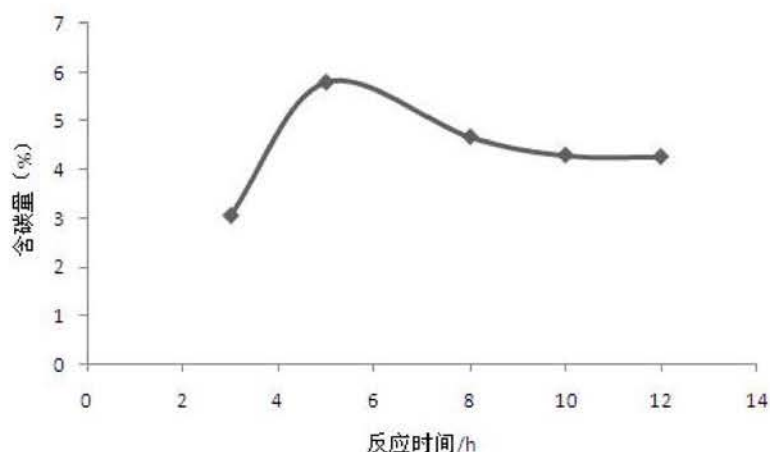


图 3.2 反应时间对反应产物含碳量的影响

(2) CLD-4 与改性硅胶合成 CSP-2

取 1g 纤维素衍生物 CLD-4，充分溶解在无水四氢呋喃的溶液中。将此溶液与所合成的改性硅胶充分混合后，过旋转蒸发，将 CLD-4 均匀的涂敷在改性硅胶之上。真空 80℃的条件下，干燥 5-7 小时；称量后，将适量的除水后的无水甲苯放入 250ml 的三口瓶；加入 0.5ml 的三氟化硼-乙醚溶液作为催化剂，在 100℃

下反应 16h；静置到室温后，取出合成物，并用大量的吡啶、四氢呋喃、丙酮溶液充分洗涤；真空 80℃下，干燥 8h；称量备用，即可得到 CSP-2。

本实验也用了相反的过程中合成出了 CSP-2，即让 KH-560 首先与 CLD-4 进行反应后再一起键合到活化的硅胶之上。过程如下：将 1 ml KH-560 和 1 g 的 CLD-4 加入到 100ml 三口烧瓶中，之后放入 30ml 的无水甲苯，并加入适量的三氟化硼-乙醚络合物作为催化剂；在 85℃的条件下，在氮气的保护之下反应 8h；反应结束之后，静置到室温，用沙芯漏斗过滤出混合物，用甲苯，丙酮充分洗涤之后，真空干燥；将键合上 KH-560 的 CLD-4 充分均匀涂敷在活化硅胶之上，之后在 100ml 的无水甲苯中，以吡啶为催化剂，将 CLD-4 与活化硅胶连在一起，得到反向合成的 CSP-2。用砂芯漏斗抽滤，然后依次用吡啶，四氢呋喃溶液洗涤；在真空 80℃的条件下，干燥 8h，称量后备用。

3.2 CSP-2 的表征

对 CLD-4 合成过程中的表征见 2.3

3.2.1 CSP-2 的红外表征与分析

本实验分别对空白硅胶以及终产物 CSP-2 进行了红外分析。如图 3.3 所示，A 与 B 分别是空白硅胶与 CSP-2 的红外图。不论在硅胶上还是在 CSP-2 上，含量最多都是硅羟基， 1110cm^{-1} 即为硅氧键的峰值。 $3200\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ 为硅醇基。硅胶特有的介空结构硅氧键的峰在 $473\text{-}800\text{cm}^{-1}$ 处出现。正是这些硅胶特有的吸收峰把 $1250\text{-}1140\text{cm}^{-1}$ 的碳碳键的吸收峰和 $3500\text{-}3300\text{cm}^{-1}$ 的氮氢键的吸收峰给掩盖了。但是，仍然能看到碳氢键的伸缩振动峰即 2926cm^{-1} 。说明，键合是成功的。

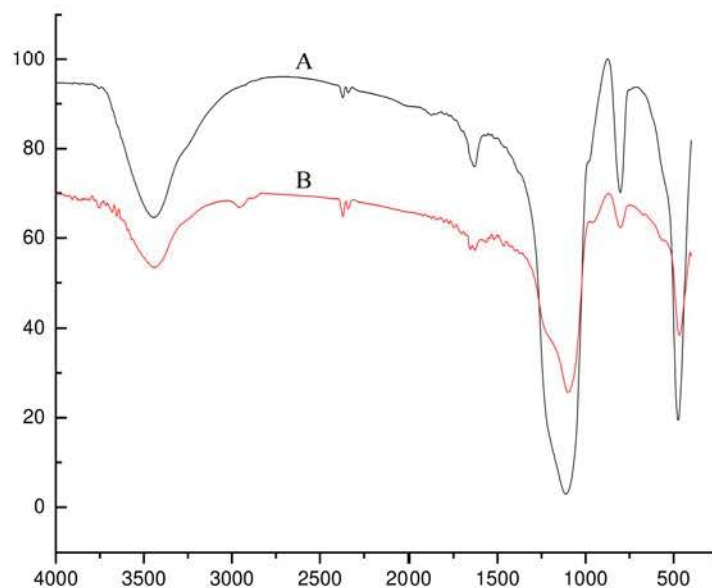
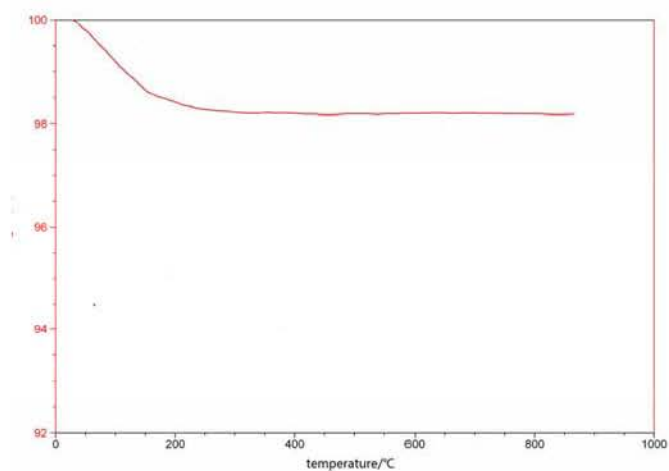


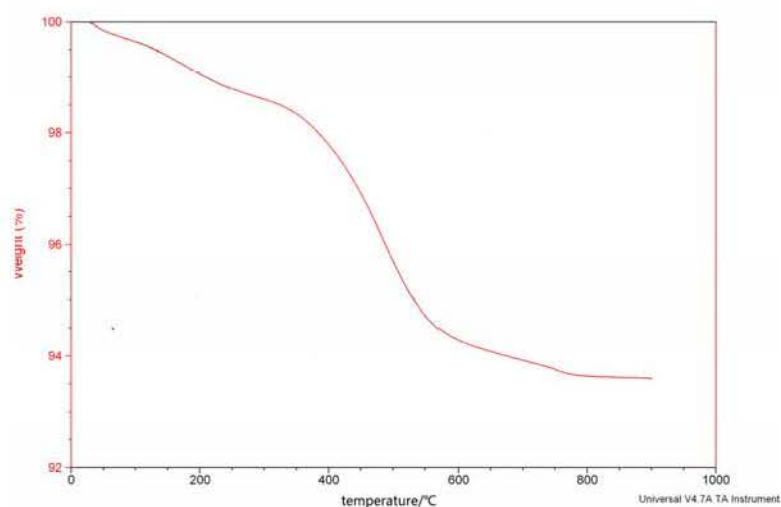
图 3.3 红外图(A: 空白硅胶; B: CSP-1)

3.2.2 CSP-2 的热重表征与分析

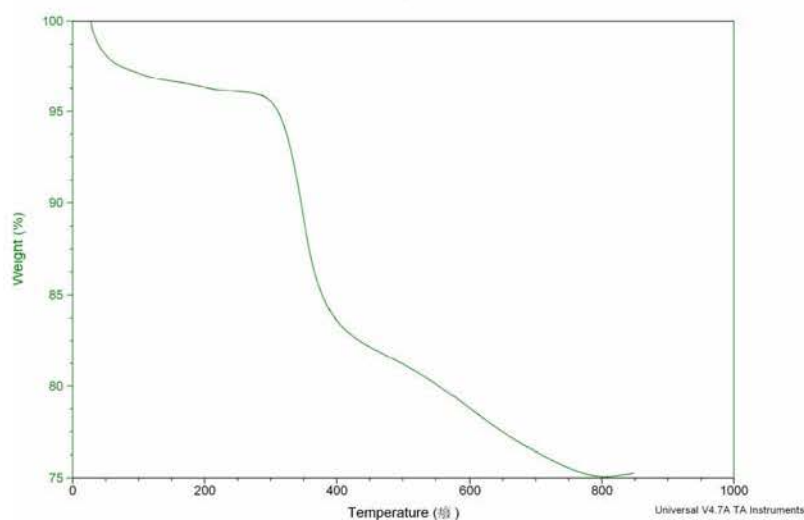
本实验对空白硅胶、改性硅胶、以及终产物 CSP-2 进行热重分析，如图 3.4 所示。



a



b



c

图 3.4 热重分析图 (a:空白硅胶; b: 改性硅胶; c: CSP-2)

有上图 3.4 可以看出，图中空白硅胶的失重为 1.82%，改性硅胶的失重率为 6.83%，可知键合到硅胶上的 KH-560 的失重率为 5.01%，既说明 KH-560 成功的键合在硅胶上面；CSP-2 的失重率为 25.0%，键合到硅胶上的 CLD-4 的失重率为 18.17%，说明 CSP-2 合成也是成功的。

3.2.3 CSP-2 的元素分析

用元素分析仪对反应产物做了进一步的表征，结果见表 3.1。

表 3.1 元素分析结果

反应	C%	H%
改性硅胶	5.79	0.93
正向第一步反应	15.92	2.41
反向终产物	27.54	3.69

由元素分析结果可知，随着反应的进行，碳元素的占比逐渐增加。说明 KH-560 和 CLD-4 都成功键合上去了。

3.2.4 CSP-2 的粒径分析

对所合成的 CSP-2 进行粒径分析，可以得出合成的硅胶固定相的平均粒度在 7.1 μm 左右，并且由粒径的正态分布的图来看，粒径分布集中，证明在纤维素衍生物在硅胶表面分布的十分均匀。

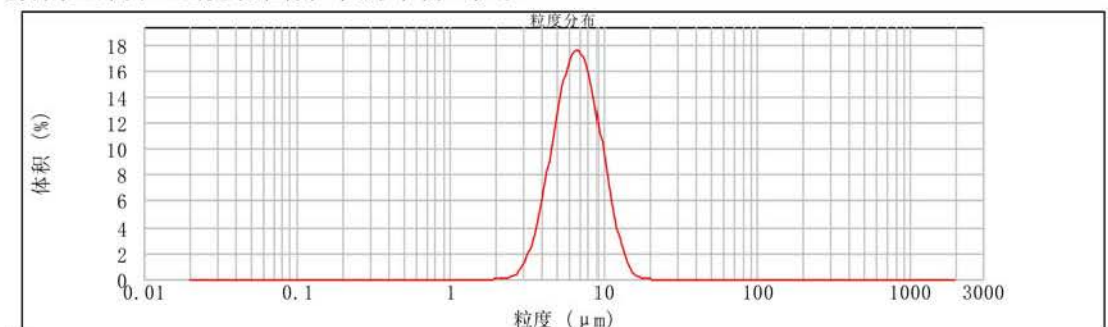


图 3.5 CSP-2 的粒径分析图

3.3 CSP-2 拆分性能的考察

本实验同样也用湿法来进行色谱柱的装填，以正己烷和异丙醇比例为 9:1 的混合液为匀浆液。装填色谱柱的时候，同样也在 37Mpa 下以脉冲的形式进行装填。

3.3.1 色谱柱死时间的考察

用 1,3,5 三叔丁基来测定手性固定相的死时间 t_m ，测定时，流动相的组成为正己烷：异丙醇=90:10，等到的色谱柱的死时间 t_m 为 1.8min。

3.3.2 对儿茶酚胺类药物的拆分

为检测所合成的 CSP-2 的拆分性，本实验对儿茶酚胺类药物环仑特罗、妥

洛特罗、异丙肾上腺素进行了拆分实验，三种对应物的结构式如下。

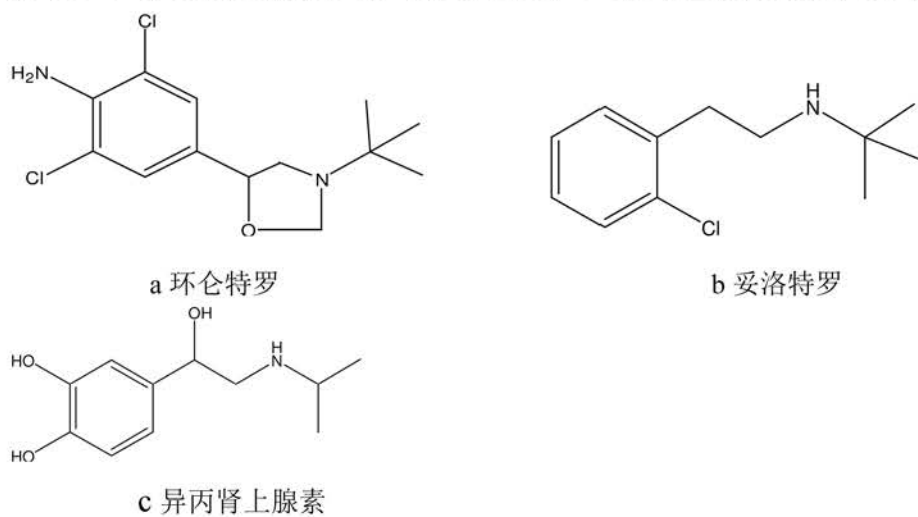
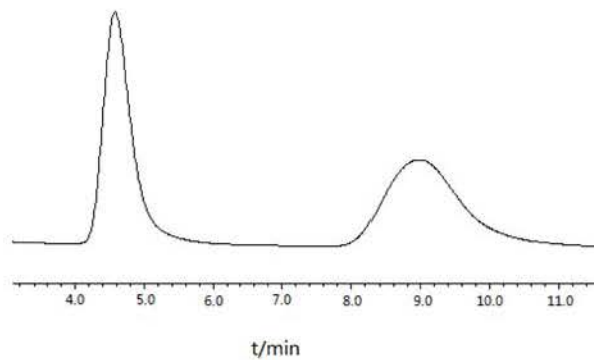
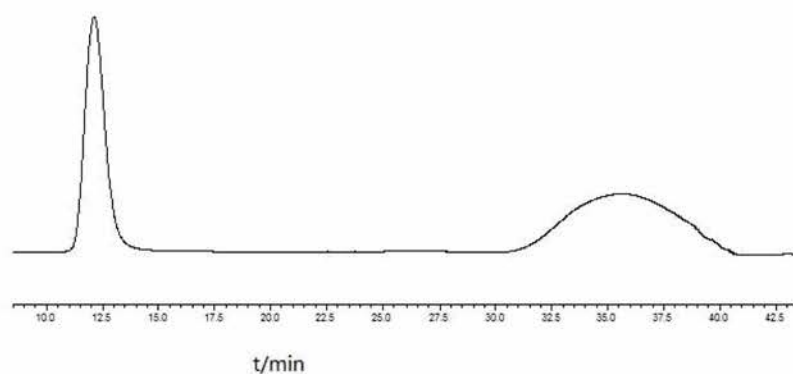


图 3.6 三种儿茶酚胺类药物的结构式

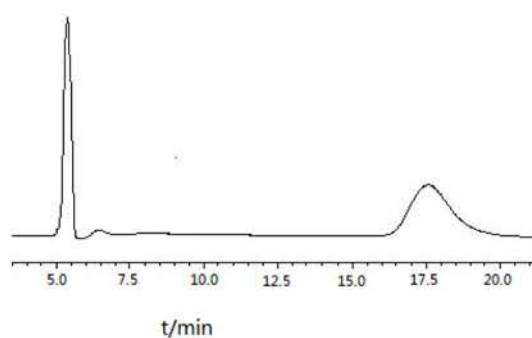
在流动相的组成为正己烷：正己烷：甲醇等于 70:15:15 的时候，选择室温为拆分温度，流速为 1.0ml/min，得到的拆分示意图如图 3.7 所示。



a



b



c

图 3.7 三种的儿茶酚胺类药物拆分色谱图

(a: 环仑特罗; b: 妥洛特罗; c: 异丙肾上腺素)

异丙肾上腺素、环仑特罗和妥洛特罗在相同的流动相比比例条件下，都取得了良好的分离效果，尤其是妥洛特罗与异丙肾上腺素的分离效果明显优于环仑特罗。如下表，这是二者的结构不同造成的。环仑特罗上的有两个氯离子吸电子，而妥洛特罗的苯环上只有一个氯离子吸电子，因此与 3, 5-二硝基苯的 π - π 作用，妥洛特罗要强于环仑特罗，因此拆分效果也最好，并且环仑特罗的手性中心存在于一个五元环中，结构固定，不利于手性中心与固定相的相互作用，因此拆分的效果也不如妥洛特罗。而异丙肾上腺素的结构中含有三个羟基，这样和手性固定相间形成了很强的氢键的作用，因此，异丙肾上腺素的拆分效

果最好。同时，拆分结果也证明了该固定相善于分离儿茶酚胺类药物，并且分离度良好。

表 3.2 三种儿茶酚胺类药物的拆分结果

对映体	k_1	α	R_s
环仑特罗	1.50	2.67	3.01
妥洛特罗	5.39	3.42	4.70
异丙肾上腺素	2.06	4.23	6.00

k_1 : 容量因子 (capacity factor); α : 分离因子(selectivity factor); R_s : 分离度 (resolution)

3.3.3 对异丙嗪、益康唑、特非那丁的拆分

本实验分别用正己烷、异丙醇、甲醇 (85: 7.5: 7.5) 混合液以及正己烷与四氢呋喃的混合液作为流动相，对异丙嗪、益康唑、特非那丁进行手性拆分的考察。这三种物质的结构如下图所示 3.8 所示。

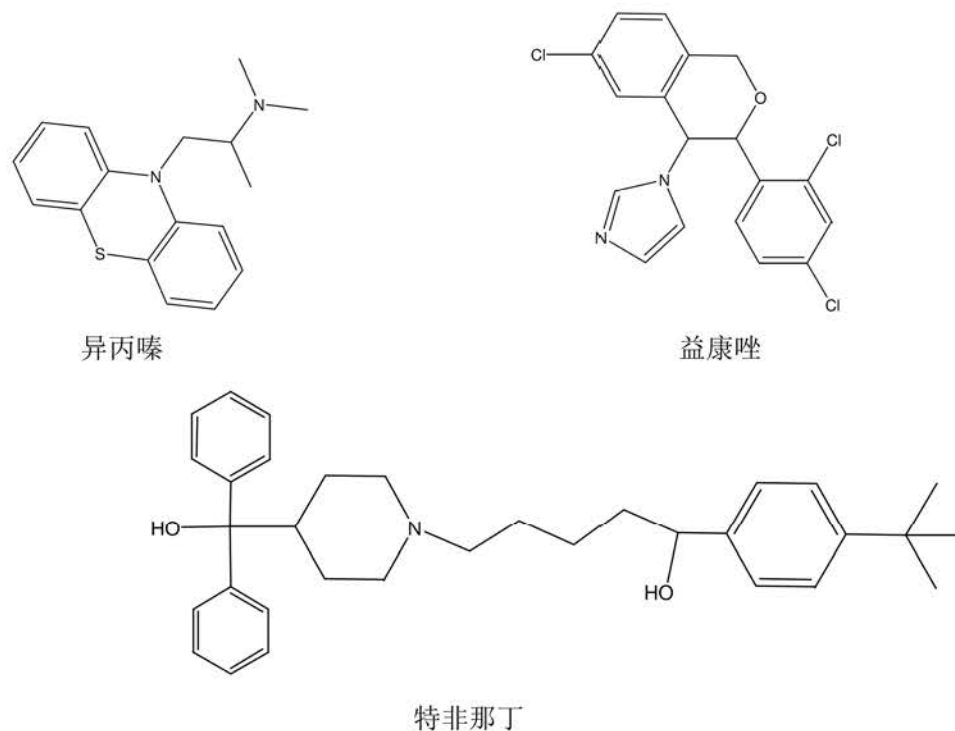
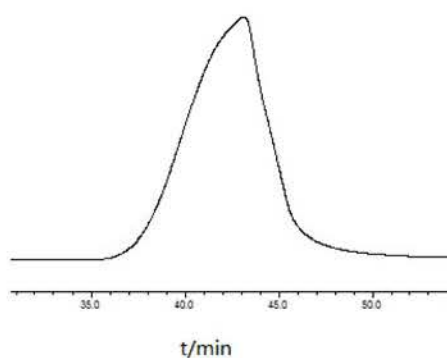


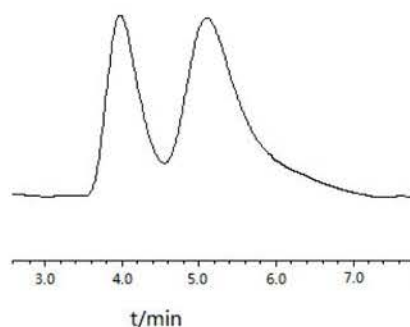
图 3.8 三种手性对映体的结构式

在室温下，拆分的色谱图如下图所示 3.9 所示，可以看出异丙嗪在正己烷—甲醇

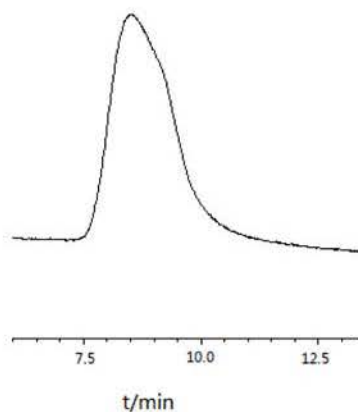
—异丙醇流动相中未能获得有效分离，但在正己烷—四氢呋喃中却能获得良好的分离效果，这与四氢呋喃分子上氧原子上的孤对电子是有密切关系，孤对电子能够亲密结合手性分子中缺少电子的基团，通过对左右旋体结合的难易程度达到区分的目的，在这里，四氢呋喃既有洗脱能力又有区分能力，是比醇类有优势的。益康唑与特非那丁的拆分也是同样的道理：益康唑在正己烷—异丙醇—甲醇流动相中未见拆分迹象，但是在正己烷—四氢呋喃溶液的流动相中，拆分的效果很好；而特非那丁虽然能够在正己烷—异丙醇—甲醇的混合溶剂中拆分，但是拆分的效果远没有在正己烷—四氢呋喃流动相中效果好。这也是键合柱比涂敷柱的优势所在——流动相选择范围广泛，通过流动相选择的范围扩大弥补本身拆分能力不如涂敷柱的劣势。



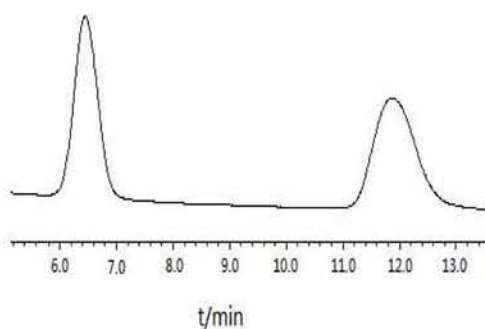
a



b



c



d

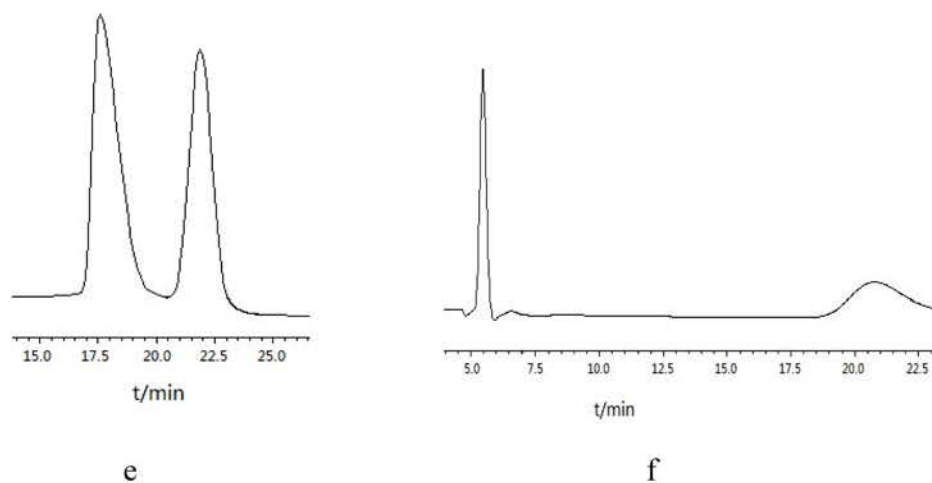


图 3.9 三种手性对映体的拆分色谱图

(a、c、e 分别为异丙嗪、益康唑、特非那丁在正己烷：异丙醇：甲醇的流动相中拆分色谱图；b、d、f 分别为异丙嗪、益康唑、特非那丁在正己烷：四氢呋喃的流动相中拆分色谱图)

同时，本实验对异丙嗪在不同的正己烷—四氢呋喃的流动相的比例中的拆分效果进行了考察。拆分效果如表 3.3 所示。可以看出当正己烷和四氢呋喃的比例在 85：15 的时候，拆分的效果最佳。四氢呋喃的比例少了，则与异丙嗪的接触变少，氧原子的孤对电子的作用减少；四氢呋喃的比例多了，则洗脱的过程太快，与手性固定相的接触的时间太短，也不利于拆分。

表 3.3 异丙嗪在不同比例的流动相中的拆分效果

正己烷：四氢呋喃	k_1	α	R_s
90：10	3.24	1.37	1.06
85：15	2.61	1.53	1.53
80：20	1.22	1.69	0.81

k_1 : 容量因子 (capacity factor); α : 分离因子(selectivity factor); R_s : 分离度 (resolution)

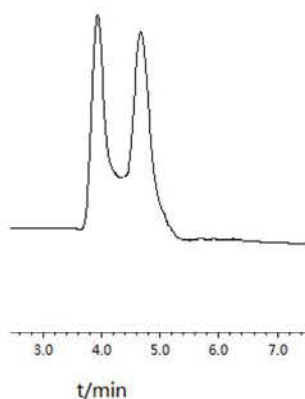
3.3.4 CSP-2 对 DL-2-苯甘氨酸、2-苯基-3-羟基丙酸、文拉法辛的拆分

DL-2-苯甘氨酸是制作药品的常用的物质；2-苯基-3-羟基丙酸是制作降血糖助剂药物 15N-标记苯基丙氨酸以及英格列酮的起始物；文拉法辛对治疗各种抑郁症状有很好的疗效。三种化合物的结构如图 3.10 所示。

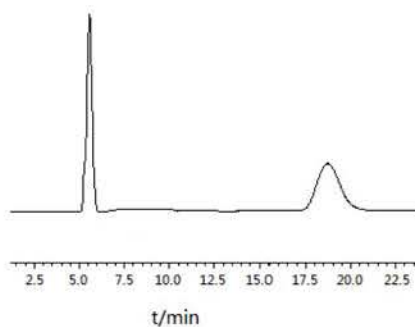


图 3.10 三种手性化合物的结构图

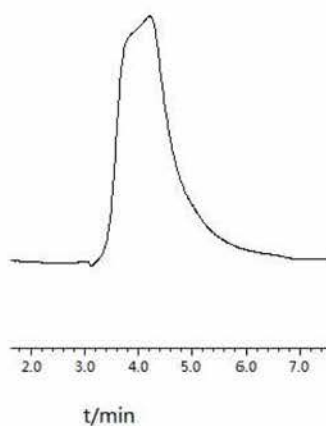
本实验利用合成的 CSP-2 对这三种物质进行拆分，得到的拆分色谱图如下图 3.11 所示。可以看出文拉法辛也表现出了一定的拆分迹象，但最终没有获得拆分，这是因为文拉法辛结构中手性碳原子的周围的活性基团距离较远，不易与手性固定相发生相互作用。DL-2-苯甘氨酸、2-苯基-3-羟基丙酸也在键合柱上获得了良好的拆分效果，这是键合柱比涂敷柱的优点。可见，制成键合柱后，拆分能力不一定下降，从拆分药物的种类来看，键合柱甚至要强于涂敷柱，由此可知，拆分能力的强弱都是相对的，是根据拆分的对象而定的，二者拆分的范围不一样，因此不具有可比性，很可能的原因是键合柱在合成的过程中，破坏了原有的纤维素的空间结构。但两种不同类型的柱子在使用的时候，可以相互配合，扩充拆分的范围以及提高拆分的效果。



a



b



c

图 3.11 三种手性对应体的拆分色谱图

3.3.5 反向反应制备 CSP-2 的拆分性能

本实验利用反向反应制成的手性固定相，用同样的方法进行装柱。同在，相同的条件下，与正向反应制备的手性固定相拆分相同的对映体，拆分的结果下表 3.4 所示。

表 3.4 拆分对比结果

对映体	正向制备 CSP-2			反向制备 CSP-2		
	k_1	α	R_s	k_1	α	R_s
环仑特罗	1.5	2.67	3.01	1.67	2.68	3.07
妥洛特罗	5.39	3.42	4.70	5.48	3.24	4.30
异丙嗪	2.61	1.53	1.53	2.49	1.35	1.43
益康唑	3.04	1.86	2.54	2.85	1.78	2.39

虽然反向反应比正向反应有更高的键合量。但是从表中可以看出，拆分效果并没有相应的提高，对大多数的对映体的拆分效果要低于正向反应制备的 CSP-2。虽然理论上讲，随着键合量的提高，固定相的拆分效果也会相应的提高，但是像 KH560 之类的硅烷偶联剂来说，其结构上并不是所有的三甲氧基会与硅胶进行反应，未与硅胶反应的三甲氧基在以后处理中逐渐水解，会与手性对映体之间产生一些非手性的作用。正是这些会使手性作用的氢键作用、偶极-偶极作用和 π - π 作用等变弱，进而使手性固定相的选择性与柱效下降。

3.4 本章小结

本章在上一章的基础上，利用合成的 CLD-4，以 KH560 为间隔臂，硅胶为载体，制备了一种新型的纤维素衍生物类手性固定相。通过拆分实验，成功了拆分了环仑特罗、妥洛特罗、异丙肾上腺素、异丙嗪、益康唑、特非那丁、DL-2-苯甘氨酸、2-苯基-3-羟基丙酸八种手性对映体。

本文利用红外分析、热重分析、元素分析、粒径分析等分析方法，对制备的 CSP-2 进行了表征与分析：从红外表征图中，在 2926cm^{-1} 出现碳氢键的伸缩振动峰；在热重表征图中，可以得到 KH550 间隔臂的失重率为 5.01%。而 CLD-4 纤维素衍生物的失重率为 18.17%，证明了键合反应是成功的；通过元素分析；通过粒径分析，可以看出键合后的 CSP-2 的粒径平均为 $7.1\mu\text{m}$ 左右。

CSP-2 拆分能力的考察

(1) 对三种儿茶酚胺类药物环仑特罗、妥洛特罗、异丙肾上腺素进行拆分，显示出很强的拆分能力，三种药物通过 CSP-2 都能完全的分离。以异丙肾上腺素的分离效果最好，妥洛特罗的分离效果次之。

(2) 在对异丙嗪、益康唑、特非那丁三种药物进行拆分的时候，发现三种药物在流动相为正己烷-异丙醇-甲醇时，都不能被拆分。在流动相为正己烷-四氢呋喃的流动相中，却能得到良好的拆分效果。这证明了以四氢呋喃作为流动相，有利于提高 CSP-2 的拆分能力，同时，也反映出键合柱流动相定相选择范围广的优势。同时，考察了流动相四氢呋喃浓度最异丙嗪拆分效果的影响，发现在正己烷：异丙嗪为 85：15 时，拆分的效果最佳。

(3) 制备的 CSP-2 也对 DL-2-苯甘氨酸、2-苯基-3-羟基丙酸展现出了良好的拆分效果。可见，制成键合柱后，拆分能力不一定下降，从拆分药物的种类来看，

键合柱甚至要强于涂敷柱，由此可知，拆分能力的强弱都是相对的，是根据拆分的对象而定的，二者拆分的范围不一样，但二者可以互为补充，共同使用达到更佳的效果。

（4）通过相同条件下对几种手性化合物的拆分效果的对比可知，反向反应制备的手性固定相的拆分能力普遍比正向反应的拆分能力低。可能的原因在于未参加反应的三甲氧基水解之后，与对映体之间形成的非手性的相互作用，消弱了原本的手性作用，从而使选择能力的下降。

4. 结论

1. 本文以自行设计合成的CLD-4为手性识别剂,分别采用涂敷和键合两种方式合成出两种新型的纤维素衍生物类手性固定相CSP-1和CSP-2。得到两种固定相的制备条件如下CSP-1: ① 甲苯做为溶剂,硅胶与KH-550,在110℃下搅拌反应10h,即得氨丙基硅胶;② 邻乙酰水杨酸与二氯亚砷在77-80℃的条件下,以DMF为催化剂,反应两个小时,合成邻乙酰水杨酰氯;③ 微晶纤维素溶解在DMAc-LiCl中,与三苯基氯甲烷在100℃下反应24h,合成CLD-1;④ 以吡啶作为溶剂,CLD-1与3,5-二硝基苯甲酰氯在100℃反应生成CLD-2;⑤ CLD-2在3%的甲醇溶液中,50℃的条件下,搅拌24小时,去6-保护得到CLD-3;⑥ 在吡啶溶液中,100℃的条件下,CLD-3与邻乙酰水杨酰氯反应16小时,得到CLD-4。⑦以四氢呋喃作为溶剂,将CLD-4均匀的涂敷在氨丙基硅胶上制备CSP-1。CSP-2: ① 甲苯做为溶剂,硅胶与KH-560在110℃反应10h,合成改性硅胶;② 将CLD-4涂敷在硅胶上,并在甲苯溶液中,以三氟化硼-乙醚络合物为催化剂,键合12h制备成CSP-2。

2. 通过元素、热重、红外和粒径分析等手段,对合成过程中的关键步骤进行了表征。实验所测数据与预定设计路线的理论值表明实验所得的产物与设计路线符合要求,两种固定相的合成是成功的。

3. CSP-1成功的拆分了N-乙酰-DL-苯基甘氨酸、DL-3-苯基乳酸、噻康唑、特布他林、益康唑等五种对映体,并且得出:N-乙酰-DL-苯基甘氨酸只有在正己烷-异丙醇-甲醇的流动相中才能够被CSP-1手性固定相拆分,且分离完全;在加入添加剂三乙胺后,CSP-1对两种咪唑类手性化合物噻康唑和益康唑即具有了拆分能力;在对DL-3-苯基乳酸进行拆分时,流动相最佳的拆分比例为正己烷:异丙醇:丙醇为90:5:5;对于特布他林的拆分,选择正己烷-乙醇的流动相组合,拆分的效果最好;本实验也得到流动相流速为1ml/min时的拆分效果较好。

4. CSP-2成功的拆分了环仑特罗、妥洛特罗、异丙肾上腺素、异丙嗪、益康唑、特非那丁、DL-2-苯甘氨酸、2-苯基-3-羟基丙酸等八种手性对映体,并且得出:CSP-2对儿茶酚胺类药物环仑特罗、妥洛特罗、异丙肾上腺素有极佳的拆分性能,拆分的分离度都高于标准分离度;在正己烷-四氢呋喃的流动相里,异丙嗪、益康唑、特非那丁能够得到很好的拆分,这显示出键合柱流动相选择范围广的优势;CSP-2对DL-2-苯甘氨酸、2-苯基-3-羟基丙酸也有很好的拆分效果。

5. 本文对两种手性固定相的拆分性能进行了比较,发现二者所适用的拆分对象有所不同,但具有一定的互补性;从流动相的选择范围,拆分手性化合物的

种类以及拆分的效果来看，键合柱 CSP-2 明显优于涂敷柱 CSP-1。

对今后研究的建议

- 1、本文所合成的两种纤维素类手性固定相存在的问题是固定相键合量不高，在今后的工作中希望能有所改善。
- 2、对于有些手性化合物的拆分，并没有找出最佳拆分条件，还需进一步探索。

参考文献

- [1] 陆雄鹰. 纤维素类手性固定相的研制与对安息香及反-2,3-二苯环氧乙烷的分离[D]. 浙江 : 浙江大学, 2006
- [2] 陈平. 高效液相色谱手性分离[D]. 兰州: 西北师范大学, 2003
- [3] 侯经国, 邓启良, 邓晓蓉等. 纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)涂敷手性固定相的制备表征及评价[J]. 色谱, 2001, 19 (2): 154~156
- [4] William H B, Christopher S F. Organic Chemistry[M]. USA: Sunders College Publishing, 1998
- [5] Brocks D R, Jamali F. Stereochemical aspects of pharmacotherapy[J]. Pharmacotherapy, 1995, 15 (5): 551~555
- [6] 袁黎明手性识别材料[M].北京: 科学出版社, 2010, 2~3
- [7] Kitahara T, Seung-Hyun K. Synthesis of Both the Enantiomers of 4-Methyl-1-nonanol, the Sex Pheromone of the Yellow Mealworm Proceedings of the Japan Academy[J]. Ser B, 1994, 70: 181~184
- [8] Kitahara T, Seung-Hyun K, Tamogami S, et al. Synthesis of Both Enantiomers of Methyl 3-methyloctanoate, Key Component for the Scent of African Orchids and Determination of their Absolute Configuration[J]. Nat prod Lett, 1994, 5 (2): 157~164
- [9] 林国强, 陈耀全, 陈新滋等. 手性合成-不对称反应及其应用[M]. 北京: 科学出版社, 2001
- [10] Maier N M, Franco P, Lindner W. Separation of enantiomers:needs, challenges,perspectives[J]. J Chromatogr A, 2001, 906 (1-2): 3~33
- [11] 傅若农. 色谱分析概论[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005
- [12] 屈海涛. 纤维素苯基氨基甲酸酯类手性固定相的合成及手性识别能力研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学, 2010
- [13] Ikai T, Okamoto Y. Structure Control of Polysaccharide Derivatives for efficient separation of enantiomers by chromatography[J]. Chem Rev, 2009, 109 (11): 6077~6101
- [14] Okamoto Y J. Chiral polymers for resolution of enantiomers[J]. J Polym Sci, Part A: Polym Chem, 2009, 47: 1731~1739
- [15] Stringham R W. The use of polysaccharide phases in the separation of enantiomers[J]. Adv Chromatogr, 2006, 44: 257~290
- [16] Francotte E. Enantioselective chromatography as a powerful alternative for the preparation of drug enantiomers. J Chromatogr A, 2001, 906: 379~397
- [17] Hassan Y, Aboul E. High-Performance liquid chromatographic enantioseparation of drugs containing multiple chiral centers on polysaccharide-type chiral stationary phases[J]. J Chromatogr A, 2001, 906: 185~193
- [18] 孟磊, 袁黎明. 纤维素及其衍生物作为高效液相色谱手性固定相的研究进展[J]. 化学试剂, 2001, 23 (4): 220~223
- [19] Ye Y K, Slzingham R W, Wirth M J. Origin of enhanced chiral selectivity by acidic additives for a polysaccharide-based stationary phase[J]. J Chromatogr A, 2004, 1057(1/2): 75~82
- [20] 周英珍, 单文志, 王兴涌. 刷型手性固定相及其在手性化合物分离中的应用[J]. 福建分

- 析测试, 2007, 16 (3): 49~53
- [21] Dalgliesh C. J Chem Soc, 1952, 137: 3940
- [22] Burlingame T G, Pirkle W H. The nonequivalence of physical properties of enantiomers in optically active solvents. Differences in proton magnetic resonance spectra. II[J]. J Am Chem Soc. 1966, 88 (18): 4294~4294
- [23] 杨柳青, 何南. 手性药物的生物转化[J]. 中国新药杂志, 2000, 9 (12): 817~820
- [24] 陈晓楠. 第二代刷型手性固定相 DNB-Leucine CSP 合成及柱填装的研究[D]. 四川: 四川大学, 2005
- [25] [25] W H Pirkle, C J Welch, M H Hyun. A chiral recognition model for the chromatographic resolution of N-acylated l-aryl-l-aminoalkanes[J]. J Org Chem, 1983, 38: 5022~5026
- [26] [26] Pirkle W H, Hyun M H. Preparation and use of hydantion-based chiral stationary phases[J]. J Chromatogr, 1985, 322: 309~320
- [27] W H Pirkle, M H Hyun. A chiral stationary phase for the facile resolution of amino acids, amino alcohols and amines as the N-3,5-dinitrobenzoyl derivatives[J]. J Org Chem, 1984, 49 (17): 3043~3046
- [28] M H Hyun, PhD Dissertation[D]. University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, I- L, 1984
- [29] W H Pirkle, L J Brice, Salvatore Caccamese. et al. Facile separation of the enantiomers of diethyl N-(aryl)-l-amino-l-arylmethanePhos Phonates on a rational designed chiral stationary phase[J]. J Chromatogr A, 1996, 721: 241~246
- [30] W H Pirkle, K Z Gan. Facile and predictable means of separating the enantiomers of 5-arylhydantoins[J]. J Chromatogr A, 1997, 790 (1-2): 65~71
- [31] R Ferretti, B Gallinella, F La Torre, et al. Direct enantiomeric resolution of diphosphine and diphosphine oxide ligands by high-performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr A, 1998, 795 (2): 289~295
- [32] C Wolf, W H Pirkle. Enantioseparations by subcritical fluid chromatography at cryogenic temperatures[J]. J Chromatogr A, 1997, 785 (1-2): 173~178
- [33] Gasparrini F, Misiti D, Villani C, et al. High-performance liquid chromatography on chiral packed microbore columns with the 3,5-dinitrobenzoyl derivative of trans-1,2-diaminocyclohexane as selector[J]. J Chromatogr A, 1988, 457 (0): 235~245
- [34] Oi N, Kitahara H. Enantiomer separation by HPLC with some urea derivatives of L-Valine as novel chiral stationary phases[J]. J Chromatogr, 1986, 9: 511~517
- [35] Oi N, Kitahara H, Aoki F. Direct enantiomer separations by high-performance liquid chromatography with chiral urea derivatives as stationary phases[J]. J Chromatogr A, 1995, 694: 129~134
- [36] Hoffmann C V, Pell R, Lämmerhofer M, et al. Synergistic effects on enantioselectivity of zwitterionic chiral stationary phases for separations of Chiral Acids, Bases, and Amino Acids by HPLC[J]. Analytical Chemistry, 2008, 80 (22): 8780~8789
- [37] Hoffmann C V, Reischl R, Maier N M, et al. Stationary phase-related investigations of quinine based zwitterionic chiral stationary phases operated in anion-, cation-, and zwitterion-exchange modes[J]. J Chromatogr A, 2009, 1216 (7): 1147~1156
- [38] Tambute A, Begos A, Lienne M, et al. New chiral stationary phases containing a phosphorus atom as an asymmetric centre: I. Synthesis and first chromatographic results[J]. J

- Chromatogr, 1987, 396: 65~81
- [39] 侯经国, 周志强, 陈立仁等. 高效液相色谱手性拆分中的“刷型”手性固定相[J]. 色谱 1997, 15 (3): 206~211
- [40] Hesse G, Hagel R.. A complete separation of a racemic mixture by elution chromatography on cellulose triacetate[J]. Chromatographia, 1973, 6: 277~280
- [41] 陈小明. 纤维素衍生物手性固定相的制备及其手性对映体分离[D]. 大连: 中国科学院研究生院, 2003
- [42] Francotte E, Wolf R M. Chromatographic resolution on methylbenzoylcellulose beads-modulation of the chiral recognition by variation of the position of the methyl-group on the aromatic ring[J]. J Chromatogr, 1992, 595: 63~75
- [43] Okamoto Y, Kawashima M, Hatada K. Chromatographic resolution. 7. Useful chiral packing materials for high-performance liquid chromatographic resolution of enantiomers: phenylcarbamates of polysaccharides coated on silica gel[J]. J Am Chem Soc, 1984, 106: 5357~5359
- [44] 秦峰. 多糖衍生物类手性固定相的制备及其在高效液相色谱和毛细管电色谱中的应用 [D]. 大连: 中国科学院研究生院, 2006
- [45] Yamamoto C, Okamoto Y. Optically active polymers for chiral separation[J]. Bull Chem Soc Jpn, 2004, 77: 227~257
- [46] Cai Y, Yan Z H, Lv Y C, et al. High-speed countercurrent chromatography for purification of single-walled carbon nanotubes[J]. Chin Chem Lett, 2008, 19: 1345~1348
- [47] Cai Y, Yan Z H, Zi M, et al. Preparative purification of single-walled carbon nanotubes by High-Speed countercurrent chromatography[J]. J Liq Chromatogr&Rel Tech, 2009, 3- 2(3): 399~406
- [48] 童林芸. 环糊精化学[M]. 北京: 科学出版社, 2001, 10
- [49] Solms J, Egli R H. Resins with inclusion chambers having cyclic-dextrin-structures[J]. Helv Chim Acta, 1965, 48: 1225~1228
- [50] 余光艳. 环糊精型手性固定相的制备及色谱拆分与保留机理研究[D]. 漳州: 漳州师范学院, 2011
- [51] 陈立仁. 液相色谱手性分离[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 107~108
- [52] Nowik W, Tchapla A. Separation of 9,10-anthraquinone derivatives: evaluation of functionalised stationary phases in reversed phase mode [J]. J Chromatogr A, 2011, 1218 (23): 3636~3647
- [53] Armstrong D W, Tang Y B, Chen S S, et al. Macrocyclic antibiotics as a new class of chiral selectors for liquid chromatography [J]. Anal Chem, 1994, 66: 1473~1484
- [54] Beesley T E, Lee J T. Method development strategy and applications update for chirobiotic chiral stationary phases[J]. J Liq Chromatogr&Rel Tech, 2009, 32: 1733~1767
- [55] 丁国生, 黄晓佳, 刘莺等. 硅胶键合手性配体交换色谱固定相拆分 α -氨基酸[J]. 分析测试学报, 2003, 22 (6): 32~35
- [56] Davankov V A, Bochkov A S, Kuranov A A, et al. Dealing with the ligand-exchange chromatography: Separation of unmodified α -amino-acid enantiomers by reverse phase HPLC [J]. Chromatographia, 1980, 13 (11): 677~685
- [57] 赵敏. 配体交换和多糖类 CSPs 手性分离性能的研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学, 2012
- [58] 霍艳敏. L-脯氨酸配体交换色谱和四唑基亲和色谱固定相的制备及色谱性能[D]. 西安:

西北大学, 2007

- [59] Sousa L R, Sogah G D Y, Hoffman D H, et al. Host-guest complexation. 12. Total optical resolution of amine and amino ester salts by chromatography[J]. *J Am Chem Soc*, 1978, 100: 4569~4576
- [60] Sogah G D Y, Cram D J. Host-guest complexation. 14. Host covalently bound to polystyrene resin for chromatographic resolution of enantiomers of amino acid and ester salts[J]. *J Am Chem Soc*, 1979, 101: 3035~3042
- [61] Behr J P, Girodeau J M, Hayward R C, et al. Molecular receptors functionalized and chiral macrocyclic polyethers derived from tartaric acid[J]. *Helvetica Chimica Acta*, 1980, 63 (7): 2096~2111
- [62] Machida Y, Nishi H, Nakamura K, et al. Enantiomer separation of amino compounds by a novel chiral stationary phase derived from crown ether[J]. *J Chromatogr A*, 1998, 805 (1-2): 85~92
- [63] Hyun M H, Jin J S, Lee W. A new HPLC chiral stationary phase for the direct resolution of racemic quinolone antibacterials containing a primary amino group[J]. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 1998, 19 (8): 819~821
- [64] 张俊俊. 多糖衍生物及 Pirkle 型手性固定相的制备及分离性能[D]. 武汉: 武汉工程大学, 2013
- [65] 李来生, 达世禄, 冯玉琦等. 杯芳烃在液相色谱、毛细管电泳和电色谱中的应用进展[J]. *化学进展*, 2005, 17 (3): 523~530
- [66] Barc M, Kaszynska M S. Preparation and evaluation of 1,3-alternate 25,27-bis-(pentafluorobenzyloxy)-26,28-bis-(3-propyloxy)-calix[4]arene-bonded silica gel high performance liquid chromatography stationary phase[J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216 (18): 3954~3960
- [67] Andersson L I. Application of molecular imprinting to the development of aqueous buffer and organic solvent based radioligand binding assays for (S)-propranolol[J]. *Analytical Chemistry*, 1996, 68: 111~117
- [68] Ansell R J, Kuah J K L, Wang D Y, et al. Imprinted polymers for chiral resolution of ($\pm$)-ephedrine, 4: Packed column supercritical fluid chromatography using molecularly imprinted chiral stationary phases[J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1264: 117~123
- [69] 欧阳睿熙. 硅胶键合刷型手性固定相的制备与应用研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2011
- [70] 王冲. 分离生物大分子液相色谱填料的合成与评价[D]. 北京: 北京化工大学, 2008
- [71] 于世林. 高效液相色谱方法及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005
- [72] 吴海波. 类寡肽手性固定相对映选择性的研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2013
- [73] Bristow P A. Packing. Performance and Pennealility of larger and wider liquid chromatography column and their use in preparing samples for in dentification[J]. *J Chromatogr*, 1978, 149: 13~28
- [74] Ravindranath B. Principles and Practice of chromatography[M]. Ellis Horwood Limited, 1989
- [75] 徐贝佳. 高效液相色谱手性固定相法分离药物对映体[D]. 浙江: 浙江大学, 2007
- [76] 沈利斌. N-噁唑啉苯基丙烯酰胺型手性固定相的制备及其手性拆分能力研究[D]. 浙江: 浙江大学, 2007

个人简历、在校期间发表的学术论文

个人简历

姓名：朱进科 籍贯：河南周口商水县 性别：男 出生年月日：1990.5.12

2009.9-2013.7 广西大学生命科学与技术学院 生物工程 工学学士

2013.9-2016.7 郑州大学化工与能源学院 化学工程 工学硕士

发表论文：

- [1] 朱进科, 付丽丽, 蒋登高. 两步法合成棕榈酸甲酯[J]. 精细石油化工, 2015, (04): 49-52
- [2] 黄德友, 朱进科. 一种反应釜旋塞阀门: 中国, ZL2014 2 0589359.2[P]. 2015-01-21
- [3] 李杨, 朱进科, 封华等. 新型纤维素邻乙酰水杨酸酯类手性固定相的合成及评价 [J]. 分析化学, 2015, (8) :1162-1168
- [4] 李杨, 朱进科, 蒋登高. 关于修订中国药典中两个鉴别实验的建议[J]. 中国药典, 2014, (6): 403-404

致谢

三年时光已过，转眼已到毕业的前夕。回头看看，当年那个刚刚毕业的毛头大学生，已经成为了一位肩负责任与使命的研究生了。这三年里的学到的东西，让我终生收益。临别之际，必须向关心和帮助我成长老师、同学、家人和朋友表达我内心最诚挚的感谢。

首先是要感谢我的导师蒋登高教授：本论文的工作是在导师蒋登高教授的悉心指导下完成的。从论文的选题、实验方案的确立、实验操作以及毕业论文的撰写，都得到了蒋老师认真的指导与用心的培养。蒋老师渊博的学识，在学习和科研上给予了我帮助和指导，严谨的治学态度使我养成了良好的科研习惯与态度，丰富了自己的专业知识。蒋老师的敬业精神、对学生强烈的责任感和认真的工作作风使我受益匪浅，值得我一生去学习。另外，师母李老师在我的学习和生活中也给予了很大的帮助。在此谨向蒋老师和李老师表示衷心的感谢，并祝他们二老身体健康！

同时，黄明贤老师对我论文的选题、实验方案的确立以及论文的撰写也给予了很大的帮助。在此还要感谢课题组的其他老师，他们在整个科研实验中给予了宝贵的意见。在此真诚的感谢诸位老师！

整个实验能够顺利地完成也离不开在这一期间帮助和支持我的人：李杨师兄、田俊峰师兄、付丽丽师姐、白银鸽师兄、黄德友师兄、李连杰师兄。在此表示深深的感谢！

最后，诚挚对我的家人说声谢谢，寒窗苦读 20 载，是他们给予了我精神和物质上支持，使我顺利完成了学业。

再次真诚感谢各位关心我的亲人、老师以及同学。