



手性配体立体选择性萃取分离扁桃酸对映体

唐课文^{*,1} 陈国斌¹ 周春山²

(¹ 湖南理工学院化学化工系, 岳阳 414000)

(² 中南大学化学化工学院, 长沙 410083)

关键词: 配体交换 萃取 手性分离 扁桃酸对映体
分类号: O614.121 O652.63

手性成为当前国际学术界最热门的课题, 受到人们的高度关注^[1,2]。随着药物手性和药效关系的深入研究, 人们愈来愈认识到手性的临床意义。含手性因素的药物对映体在人体内的药理活性、代谢过程及毒性存在显著的差异^[3,4]。目前, 临床用药含有手性因素的超过 50%, 其中 85% 以上以外消旋体形式存在。不对称合成是获得单一对映体药物的重要方法, 但要为每个手性化合物开发一个合适的路径, 无疑会导致相当大的成本和开发时间, 尤其在开发新药的初期阶段。在工业化生产以前, 有一定量的单一对映体用于前期药理试验通常是至关重要的。可见手性药物或其手性中间体的制备性分离显得十分必要^[5]。

结晶法、酶促拆分法、色谱法等手性分离方法的研究开发促进了手性化合物的研究和发展, 但仍存在一些不足, 难以实际应用。结晶法操作过程复杂、费时、消耗大, 适用化合物种类多局限于酸、碱类外消旋体; 酶促拆分法受到酶专一性影响, 拆分成本较高; 色谱法由于手性固定相或流动相及衍生试剂价格昂贵, 成本较高。手性萃取分离外消旋体具有相当大的潜力, 近年来受到众多研究者的高度重视^[6-10]。本文采用手性配体交换萃取用于手性分离, 研究了扁桃酸(Ma)对映体在含有 Cu^{2+} 和 *N-n*-十二烷基-*L*-羟基脯氨酸手性配体(Li)两相系统中的分配行为。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

扁桃酸外消旋体购自中国南化化学试剂厂, 含量大于 99%; *L*-羟基脯氨酸购自上海伯奥生物科技有限公司, 生化试剂, $[\alpha]_D^{20} = -73^\circ \sim -77^\circ$; *n*-十二醛为 Fluka Chemika 公司产品, 含量为 97%; 5% 钨碳粉购自上海化学试剂公司(进口分装产品); 其余试剂均为分析纯。

HP1100 型高效液相色谱仪(美国惠普公司), 4 mm $\times$ 250 mm C_{18} 柱, 20 μL 定量环; PHS-29A 型酸度计(上海雷磁仪器厂); JJ-1 增力电动搅拌器(金坛市节能分析仪器厂)。

1.2 *N-n*-十二烷基-*L*-羟基脯氨酸的合成

N-n-十二烷基-*L*-羟基脯氨酸参考文献^[11]合成。0.1 mol *n*-十二醛溶于 80 mL 无水乙醇中, 然后加入 0.06 mol *L*-羟基脯氨酸和 0.75 g 5% 的钨碳粉。反应混合物磁力搅拌, 同时通入氢气鼓泡, 在室温下反应 10 d。过滤除去钨碳, 用乙醇洗涤, 合并滤液, 减压除去乙醇, 得白色产物。用乙醚洗涤 3 次, 然后用水重结晶, 得蜡状产品 12 g。

1.3 萃取分离实验

所有分离实验在 4 $^\circ\text{C}$ 进行, 水相中 NaAc 浓度维持 0.1 mol $\cdot$ L⁻¹。分别取 3 mL 含有 Cu^{2+} 的水相和含有 *N-n*-十二烷基-*L*-羟基脯氨酸有机相置于离心试管中, 电动搅拌 6 min, 然后往其中加入扁桃酸外消

收稿日期: 2003-09-02。收修改稿日期: 2003-12-12。

国家自然科学基金资助项目(No.20376085), 湖南省自然科学基金资助项目(No.03JJY3020)及湖南省教育厅重点资助项目(No.03A014)。

* 通讯联系人。E-mail: tangkewen@sina.com

第一作者: 唐课文, 男, 博士, 副教授; 研究方向: 手性分离及天然物质分离提取。

旋体,再搅拌 10 min,离心 5 min。用 HPLC 分析水相中两对映体的浓度,有机相中对映体浓度采用差减法求得。

1.4 分析方法

水相中 Cu^{2+} 浓度可用 EDTA,以 1-(2-吡啶基偶氮)-2-萘酚(PAN)作指示剂进行体积滴定来测定;有机相中 Cu^{2+} 浓度通过把样品用乙醇进行稀释,然后以 PAN 作指示剂,用 EDTA 进行滴定来测定。

水相中对映体浓度用手性流动相 HPLC 来测定。色谱条件如下:6 mmol·L⁻¹ L-苯丙氨酸和 3 mmol·L⁻¹ CuSO_4 的水-甲醇(85:15)流动相;流速 0.6 mL·min⁻¹;UV 检测波长为 300 nm。

2 结果与讨论

2.1 Cu^{2+} 分布与二元平衡生成常数

在手性配体交换萃取系统中,首先水相中的铜离子与有机相中的手性配体(L)通过配位反应生成铜二元配合物 L_2Cu 进入有机相,



这表明每一个铜离子分配到有机相中,就释放 2 个氢离子到水相中。因此,水相中 pH 对 Cu^{2+} 在两相中的分配有重要影响。图 1 反映了在不同 pH 条件下,铜离子在水相和有机相中的分配。从图 1 可看出,从 pH=3.0 开始,水相中 Cu^{2+} 浓度急剧减少,而有机相中 Cu^{2+} 浓度迅速增多;pH>5.7 时,铜离子基本上分配到有机相中。这表明,在手性配体萃取分离体系中,可通过改变水相 pH 来调节铜离子分布,从而达到改善分离效果。

在正辛醇相中二元双 *N-n*-十二烷基-L-羟基

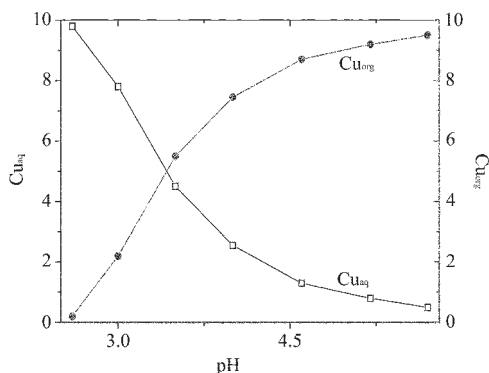


图 1 不同 pH 值条件下铜在水-正辛醇两相中的分布

Fig.1 Copper concentrations as a function of pH in an water/*n*-octanol two-phase

$c(\text{LH})_{\text{ini}}=20.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; $c(\text{Cu})_{\text{ini}}=10.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$.

脯氨酸铜配合物(L_2Cu)的平衡生成常数(β)根据式 $\lg P_{\text{Cu}} = \lg \beta + 2(\lg c(\text{LH}_{\text{org}}) + \text{pH}_{\text{aq}})^{[12]}$,其中 P_{Cu} 为 Cu 在两相中的分配系数,在不同 pH 条件下,作 $\lg P_{\text{Cu}}$ 对 $\lg c(\text{LH}_{\text{org}}) + \text{pH}_{\text{aq}}$ 图,通过线性拟合,从截距得到 $\lg \beta = -1.6$ (图 2)。实验发现,当 pH 高于 6 时,有铜的配合物析出,因此,pH 高于 6 的实验测量可省略。在水相中,存在单和双二元两种铜配合物;而在有机相中,只存在 L_2Cu 二元铜配合物。质量作用定律表明有机相中铜二元配合物的平衡生成常数更高。

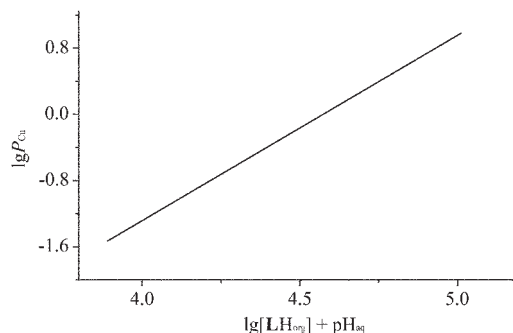


图 2 $\lg P_{\text{Cu}}$ 对 $\text{pH}_{\text{aq}} + \lg c(\text{LH}_{\text{org}})$ 关系曲线

Fig.2 Plot of $\lg P_{\text{Cu}}$ with $\text{pH}_{\text{aq}} + \lg c(\text{LH}_{\text{org}})$

$c(\text{LH})_{\text{ini}}=20.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$;

$c(\text{Cu})_{\text{ini}}=10.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

2.2 pH 对 K 和 α 的影响

在水相中 Cu^{2+} 与有机相中手性配体生成铜二元配合物后,然后进行真正意义上的外消旋体手性配体萃取分离。此时 *D,L* 对映体与 L_2Cu 通过配体交换生成两个铜三元配合物 *D*-Cu-L 和 *L*-Cu-L,即 *D*,*L* 对映体转变成了两个非对映体配合物



扁桃酸对映体在有机相中的分配是由于对映体与铜二元配合物形成了铜三元配合物 L-Cu-Ma 。前面讨论可知,在手性配体萃取分离系统中,pH 影响铜离子在水相和有机相中的分布。因此,水相中 pH 必将影响扁桃酸对映体在两相中的分配。为考察 pH 对扁桃酸对映体分配系数(K)和(α)的影响,研究了扁桃酸对映体在不同 pH 条件下,在含有 20 mmol·L⁻¹ *N-n*-十二烷基-L-羟基脯氨酸和 10 mmol·L⁻¹ Cu^{2+} 的水-正辛醇两相系统中的分配行为(见图 3 和图 4)。从图 3 可发现,扁桃酸两对映体分配系数均随着 pH 升高而增大。由于随着 pH 的升高, Cu^{2+} 在有机相中的分布增大,铜二元配合物 L_2Cu 浓度增大,从铜

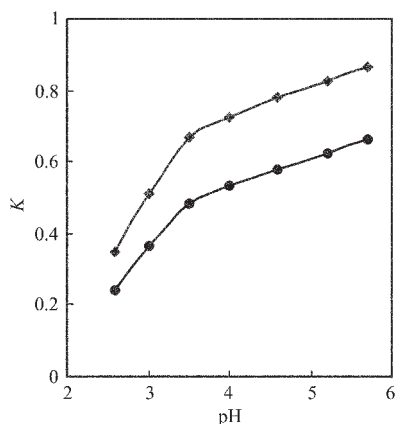


图3 pH对K的影响

Fig.3 Influence of pH on K
 $c(DL-Ma)_{in}=8\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,
 $c(\text{NaAc})=0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$
 ◆: K_D ; ●: K_L

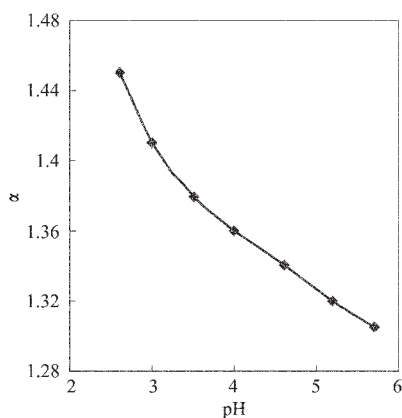
图4 pH对 α 的影响

Fig.4 Influence of pH on α
 $c(DL-Ma)_{in}=8\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,
 $c(\text{NaAc})=0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

三元配合物配体交换反应平衡可知,有机相中铜三元配合物 $L-Cu-Ma$ 浓度增大,因而扁桃酸对映体在有机相中的分配增大,即分配系数增大。从图4可见,扁桃酸对映体分离因子(α)随着 pH 升高而下降。

2.3 铜离子浓度对 K 和 α 的影响

铜离子浓度影响铜二元配合物(L_2Cu)的形成,铜离子浓度必将影响扁桃酸对映体与铜二元配合物发生配体交换反应生成三元配合物 $Li-Cu-Ma$ 。因此铜离子浓度对扁桃酸对映体分配系数和分离因子有较大影响。为此,在 $\text{pH}=4.0$ 条件下,考察了扁桃酸对映体在含有 $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ N - n -十二烷基- L -羟基脯

氨酸和不同浓度的 Cu^{2+} 的水-正辛醇两相系统中的分配系数和分离因子(图5和图6)。从图5、图6看出,随着 Cu^{2+} 浓度增大,分配系数和分离因子增大; Cu^{2+} 浓度为 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右,即手性配体和 Cu^{2+} 浓度比为 2:1 时,分配系数和分离因子达到最大;然后随着 Cu^{2+} 浓度增大,分配系数和分离因子反而降低。这可能是因为,在 Cu^{2+} 浓度小于 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以前,随着 Cu^{2+} 浓度增大,正辛醇有机相中以铜配合物形式存在的手性配体浓度增大,所以扁桃酸两对映体分配系数和分离因子增大; Cu^{2+} 浓度在 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,手性配合物浓度将近达到最大,然后随着 Cu^{2+} 浓

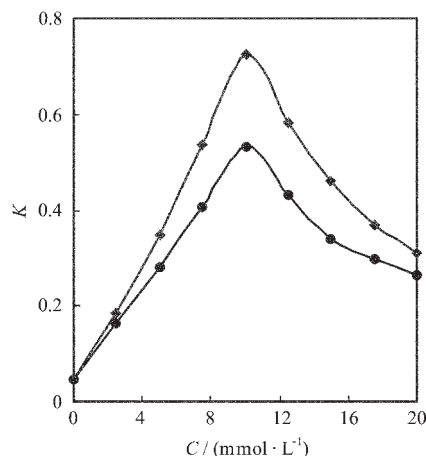
图5 Cu^{2+} 浓度对 K 的影响

Fig.5 Influence of copper(II) ions on K
 $c(DL-Ma)_{in}=8\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$;
 $c(L)_{in}=20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
 ◆: K_D ; ●: K_L

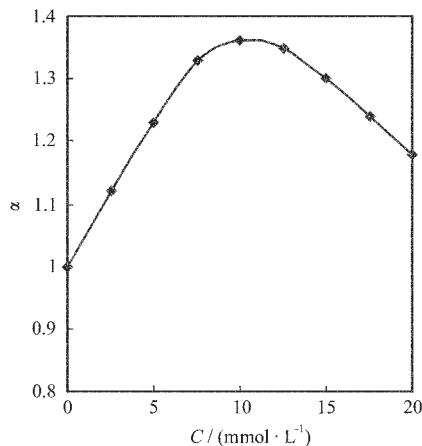
图6 Cu^{2+} 浓度对 α 的影响

Fig.6 Influence of copper(II) ions on α
 $c(DL-Ma)_{in}=8\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$;
 $c(L)_{in}=20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

度增大,手性配合物浓度基本维持不变,而水相中 Cu^{2+} 浓度增大,水相中的 Cu^{2+} 与扁桃酸对映体形成铜配合物,水相中游离的扁桃酸对映体的浓度降低,导致扁桃酸对映体与铜二元配合物 L_2Cu 形成三元配合物 Li-Cu-Ma 的浓度减小,因而,扁桃酸两对映体分配系数和分离因子减小。综上所述,当手性配体浓度和 Cu^{2+} 浓度达到 2:1 左右,扁桃酸两对映体分配系数和分离因子达最大。

2.4 有机溶剂对 K 和 α 的影响

在手性配体萃取体系中,扁桃酸对映体萃取分离的依据是对映体与铜二元配合物 L_2Cu 生成的两个非对映体 $D\text{-Cu-L}$ 和 $L\text{-Cu-L}$ 在有机相中的稳定性不同,即自由能差 ($-\Delta(\Delta G)$)。有机溶剂的性质对两非对映体的稳定性有较大的影响。在 $\text{pH}=4.0$ 条件下,研究了 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的扁桃酸对映体在含有 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ N - n -十二烷基- L -羟基脯氨酸和 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cu^{2+} 的水-不同有机相溶剂体系中的分配系数和分离因子(见表 1)。从表 1 可知在以醇为溶剂的萃取体系中,随着醇碳原子数的增加,分配系数和分离因子同时减小。

表 1 有机溶剂对 K 和 α 的影响

Table 1 Influence of Organic Solvents on K and α

solvents	K_D	K_L	α
n -nonanol	0.683	0.510	1.34
n -octanol	0.726	0.534	1.36
n -heptanol	0.795	0.576	1.38
n -hexanol	0.887	0.634	1.40
n -pentanol	1.16	0.811	1.43
n -butanol	1.58	1.082	1.46

2.5 手性配体浓度对 K 和 α 的影响

分两种情况考察手性配体浓度对 K 和 α 的影响。在 Cu^{2+} 浓度保持 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 从 $0 \sim 30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 改变 N - n -十二烷基- L -羟基脯氨酸, 研究了扁桃酸对映体在两相中的分配行为(见图 7 和图 8)。从图 7 可知, 扁桃酸两对映体在两相中的分配系数先随着手性配体浓度的增加而增大, 当到达 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 即手性配体浓度和 Cu^{2+} 浓度比为 2:1 时, 分配系数达到最大; 然后随着手性配体浓度的增大, 分配系数几乎没有增加, 反而有缓慢下降趋势。这证实了扁桃酸对映体在两相中的分配行为直接受铜二元配合物 CuL_2 浓度的影响。当手性配体浓度达到 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 铜二元配合物的浓度达到最大, 之后随着

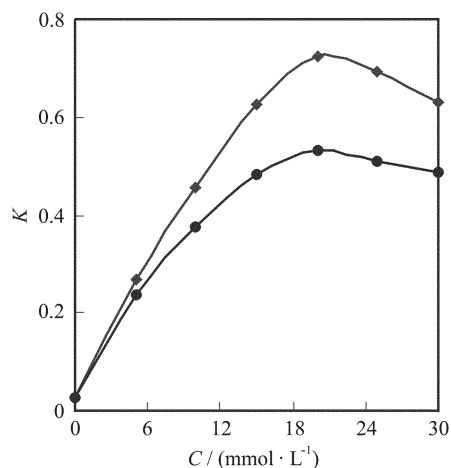


图 7 手性配体浓度对 K 的影响

Fig.7 Influence of the concentrations of chiral ligand on K

$c(\text{Cu}^{2+})_{\text{m}}=10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

◆: K_D ; ●: K_L

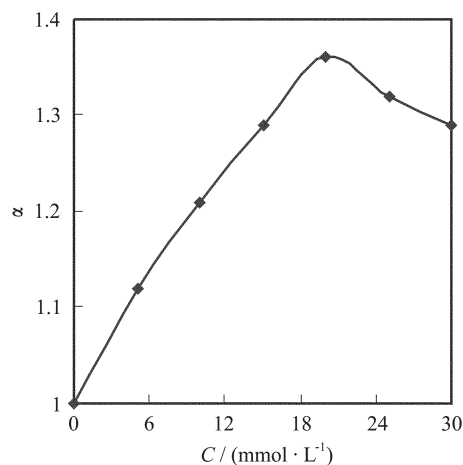


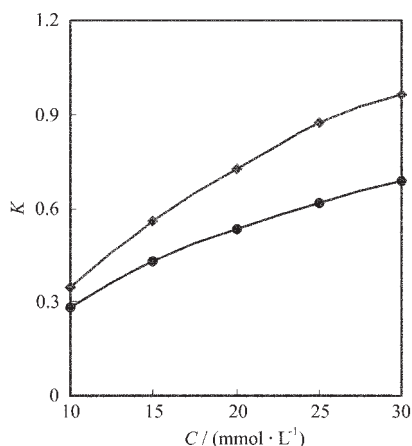
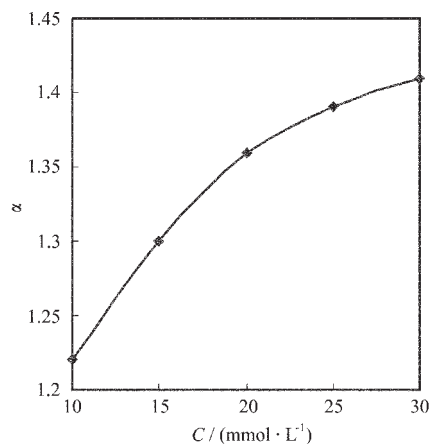
图 8 手性配体浓度对 α 的影响

Fig.8 Influence of the concentrations of chiral ligand on α

$c(\text{Cu}^{2+})_{\text{m}}=10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

手性配体浓度的增加, 即有机相中游离的手性配体浓度增加, 手性配体交换平衡(2)和(3)向左方向移动, 铜三元配合物 L-Cu-Ma 的浓度反而减小。因此当手性配体浓度大于 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 随着手性配体浓度的增大, 分配系数反而下降。从图 8 可以看出, 随着手性配体浓度的增加, 分离因子增大, 超过 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 分离因子反而缓慢下降。

另外在手性配体浓度和 Cu^{2+} 浓度比为 2:1 的条件下, 考察了手性配体浓度对 K 和 α 的影响(见图 9 和图 10)。从图 9 和图 10 可以发现, 在保持手性配体浓度和铜离子浓度比为 2:1 的前提下, 随着手性配体浓度的增加, 分配系数和分离因子均增大。在实

图9 手性配体浓度对 K 的影响Fig.9 Influence of the concentrations of chiral ligand on K
 $c(\text{Cu}^{2+}):c(\text{L})=1:2$ ◆: K_D ; ●: K_L 图10 手性配体浓度对 α 的影响Fig.10 Influence of the concentrations of chiral ligand on α
 $c(\text{Cu}^{2+}):c(\text{L})=1:2$

际生产操作中, 希望拥有较大的分配系数和分离因子, 以减小萃取分离所需的相比和传质单元数, 但单纯依靠增大手性配体的浓度来获得较大的 K 和 α 是不现实的, 因为手性配体在有机相中的溶解度是有限的, 并且过高的浓度会导致手性配体在萃取过

程中析出。

3 结 论

N - n -十二烷基- L -羟基脯氨酸适合萃取分离扁桃酸对映体, 具有较大的分配系数和分离因子, 对 D -扁桃酸对映体萃取能力大于对 L -扁桃酸对映体的萃取能力。萃取时 pH 宜大于 3.5; 手性配体和 Cu^{2+} 物质的量之比为 2:1, 萃取效果最好, 分配系数和分离因子最大。另外, 溶剂、手性配体浓度等因素对分配系数和分离因子的影响比较大。

参 考 文 献

- [1] Michael J. *Chemistry & Industry*, **1996**,5(20),374.
- [2] Miriam L. *Manufacturing Chemist*, **1995**,10,25.
- [3] Rosa H. H., Pilar C. F. *J Chromatogr B*, **2000**,740,169.
- [4] Abolfazl S. M., Robert T. F. *Internal J. Pharm*, **2000**,22,97.
- [5] James E. R. *AIChE J.*, **2001**,47(1), 2.
- [6] CEN Zhe-Zhong(岑浙仲), CAI Shui-Hong(蔡水洪) *Huagong Xuebao (Chinese J. Chem. Industry and Engineering)*, **2000**, **51**,418.
- [7] Vladimir P., Miče K., Martin E. *Angew Chem*, **1989**,28, 1 147.
- [8] Jérôme L., Catherine G. G., Sonya T. H. *Angew Chem*, **2000**,39(20),3 695.
- [9] TANG Ke-Wen(唐课文), ZHOU Chun-Shan(周春山), JIANG Xin-Yu(蒋新宇) *Zhongguo Kexue (Science in China B)*, **2002**,36(6),491.
- [10] TANG Ke-Wen(唐课文), ZHOU Chun-Shan(周春山), JIANG Xin-Yu(蒋新宇) *Yaoxue Xuebao (Chinese Acta Pharmaceutica Sinica)*, **2002**,37(12),967.
- [11] Ding H. B., Carr P. W., Cussler E. L. *AIChE J.*, **1992**,38 (10),1 493.
- [12] Jürgen K., Charles A. H. *Chemical Engineering Science*, **2001**,56,5 853.

Enantioselective Separation of Mandelic Acid Enantiomers by Chiral Ligand

TANG Ke-Wen^{*,1} CHEN Guo-Bin¹ ZHOU Chun-Shan²

(¹Department of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan Institute of Science and Technology, Yueyang 414000)

(²College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha 410083)

Based on chiral ligand exchange, the distribution behavior of mandelic acid enantiomers in the two-phase system containing copper ion(II)(Cu²⁺) and *N*-*n*-dedecane-*L*-hydroxyproline (**L**), was studied. At different pH, the partition of Cu²⁺ in the two-phase system containing *N*-*n*-dedecane-*L*-hydroxyproline, was investigated. The formation constant of binary complex(Li₂Cu) was obtained by regression. The influence of pH, concentrations of Cu²⁺ and chiral ligand, and solvents on partition coefficients(*K*) and separation factor(α), was discussed. The experimental results show that Li forms more stable ternary complex with *D*-mandelic acid than with *L*-mandelic acid. There is a large influence of pH on *K* and α . At low pH values (<3.5), formation of binary complexes is thermodynamically unfavourable. *K* and α are best when pH values are above 3.5 and the molar ratio of chiral ligand to Cu²⁺ is 2:1. At the same time, solvents influence *K* and α very much.

Keywords: ligand exchange extraction chiral separation mandelic acid enantiomers