

# 巯基-烯点击反应制备手性多亚胺大环键合手性固定相用于高效液相色谱对映体分离

吴嘉蕾, 俞力琴, 谢生明, 王帮进, 章俊辉, 袁黎明

(云南省现代分离分析与物质转化重点实验室, 云南师范大学化学化工学院, 昆明 650500)

**摘要** 以(S)-2,2'-二羟基-1,1'-联萘基-3,3'-二醛和1,2-苯二胺通过一步缩合反应合成了一种手性多亚胺大环(BINOL-CPM), 将其修饰后利用巯基-烯点击反应键合到巯基硅胶表面, 制得了一种高效液相色谱手性固定相(CSP). 该CSP填充的色谱柱在正相(NP)和反相(RP)洗脱模式下均具有较好的手性拆分性能, 有12种外消旋体在NP洗脱模式下实现了拆分, 6种外消旋体在RP洗脱模式下实现了拆分. 将该柱对这些外消旋体的拆分效果与两种常用的商品柱(Chiralpak AD-H和Chiralcel OD-H)进行了比较. NP洗脱模式下拆分的12种外消旋体中有1-(3-氟苯基)乙醇、1-苯乙醇、3-羟基-2-丁酮和1-(4-氟苯基)乙醇4种不能在Chiralpak AD-H柱上获得拆分, 有1-(3-氟苯基)乙醇、3-羟基-2-丁酮和1-(4-氟苯基)乙醇3种外消旋体不能在Chiralcel OD-H柱上获得拆分; RP洗脱模式下拆分的6种外消旋体中1-苯乙醇不能在Chiralpak AD-H柱上获得拆分, 一些手性化合物在该柱上的分离度( $R_s$ )也高于这两种商品柱. 因此, 该制备柱与两种商品柱之间具有良好的手性拆分互补性, 可拆分它们不能拆分或不能很好拆分的一些手性化合物. 此外, 该柱还表现出优秀的拆分重现性和稳定性, 在经历数百次进样使用后, 对扁桃酸乙酯拆分的两个对映体色谱峰的保留时间( $t_R$ )和 $R_s$ 与柱使用之初无显著变化, 其色谱峰 $t_R$ 的相对标准偏差 $RSD(n=5)<0.49\%$ ,  $R_s$ 的 $RSD(n=5)<2.88\%$ . 此外, 该色谱柱的柱间重现性也较好, 不同批次制备的柱对扁桃酸乙酯拆分的两个对映体色谱峰的 $t_R$ 和 $R_s$ 的 $RSD(n=3)$ 分别小于1.09%和5.75%. 研究结果表明BINOL-CPM是一种良好的HPLC手性分离材料, 具有重要的研究价值, 也为新型高效液相色谱CSP的研究提供了参考.

**关键词** 高效液相色谱; 手性分离; 手性固定相; 手性多亚胺大环

中图分类号 O657 文献标志码 A doi: 10.7503/cjcu20250102

## Preparation of a Chiral Polyimine Macrocycle Bonded Chiral Stationary Phase *via* Thiol-ene Click Reaction for Enantioseparation in High-performance Liquid Chromatography

WU Jialei, YU Liqin, XIE Shengming, WANG Bangjin\*, ZHANG Junhui\*, YUAN Liming  
(Yunnan Key Laboratory of Modern Separation Analysis and Substance Transformation,  
College of Chemistry and Chemical Engineering, Yunnan Normal University, Kunming 650500, China)

**Abstract** In this study, a chiral polyimine macrocycle, BINOL-CPM, was synthesized *via* a one-step condensation of (S)-2, 2'-dihydroxy-[1, 1'-binaphthalene]-3, 3'-dialdehyde and 1, 2-phenylenediamine. After modification, it was bonded to the surface of thiolated silica *via* thiol-ene click reaction to fabricate a chiral stationary phase (CSP) for

收稿日期: 2025-04-06. 网络首发日期: 2025-09-03.

联系人简介: 王帮进, 男, 博士, 高级实验师, 主要从事手性色谱分析方面的研究. E-mail: wangbangjin711@163.com

章俊辉, 男, 博士, 教授, 主要从事手性识别材料与色谱分析方面的研究. E-mail: zjh19861202@126.com

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 22064020, 22364022, 22174125)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 22064020, 22364022, 22174125).

high-performance liquid chromatography (HPLC). The CSP-packed column exhibits good chiral separation performance in both normal-phase (NP) and reversed-phase (RP) elution modes, with 12 racemates resolved in the NP mode and 6 racemates resolved in the RP mode. The chiral separation performance of this column for these resolved racemates was compared with two commonly used commercial columns, Chiralpak AD-H and Chiralcel OD-H. Among the 12 racemates resolved in the NP mode, 4 racemates, [1-(3-fluorophenyl)ethanol, 1-phenylethanol, 3-hydroxy-2-butanone and 1-(4-fluorophenyl)ethanol], could not be resolved on the Chiralpak AD-H column, and 3 racemates, [1-(3-fluorophenyl)ethanol, 3-hydroxy-2-butanone and 1-(4-fluorophenyl)ethanol], could not be resolved on the Chiralcel OD-H column. Among the 6 racemates resolved in the RP mode, one racemate (1-phenylethanol), could not be resolved on the Chiralpak AD-H column. Moreover, the resolution values ( $R_s$ ) of some racemates on this column were higher than those on the two commercial columns. Therefore, this prepared column demonstrates good complementarity in chiral separation, enabling the separation of some chiral compounds that cannot be resolved or be well resolved by these two commercial columns. In addition, the column also demonstrates excellent reproducibility and stability in chiral separation. After hundreds of injections, the retention time ( $t_R$ ) and  $R_s$  of the two enantiomeric peaks for the separation of ethyl mandelate show no significant changes compared to the initial use of the column. The relative standard deviation (RSD,  $n=5$ ) of  $t_R$  for the chromatographic peaks of the two enantiomers was less than 0.49%, and the RSD of  $R_s$  ( $n=5$ ) was less than 2.88%. Moreover, the column-to-column reproducibility was also good, with the RSD ( $n=3$ ) of  $t_R$  and  $R_s$  for the two enantiomeric peaks of ethyl mandelate separation on columns prepared from different batches being less than 1.09% and 5.75%, respectively. This study indicates that BINOL-CPM is a promising chiral separation material for HPLC and has good research significance and value. It also provides a reference for the development of novel HPLC CSP.

**Keywords** High-performance liquid chromatography; Chiral separation; Chiral stationary phase; Chiral polyimide macrocycle

不同构型的对映体药物在生命体内会表现出不同的生物活性、代谢过程和毒理作用,因此对手性化合物的分离分析研究不仅是药物安全与疗效的保障,也是手性合成化学、生命科学研究及制药工业的核心需求<sup>[1,2]</sup>. 高效液相色谱法(HPLC)具有分离效率高、应用范围广等优点,被广泛应用于手性分离分析<sup>[3-5]</sup>. HPLC用于手性分离分析的关键在于高选择性手性固定相(CSP)的研究与开发. 大环化合物是一类结构呈环状且具有分子内腔结构的化合物. 自1967年合成大环冠醚化合物以来<sup>[6]</sup>,许多新型大环化合物被相继报道,如环糊精、杯芳烃、柱芳烃和葫芦脲等<sup>[7-10]</sup>. 由于大环化合物具有可容纳客体分子的独特内腔结构,其在分子识别<sup>[11]</sup>、分离<sup>[12,13]</sup>、催化<sup>[14]</sup>和传感<sup>[15]</sup>等领域展现出广阔的应用前景. 在手性色谱分离领域,大环化合物也充当极为重要的角色,如环糊精<sup>[16]</sup>、大环抗生素<sup>[17]</sup>及冠醚<sup>[18]</sup>等大环化合物都有商品化的手性色谱柱. 近年来,一些新型大环化合物也被研究用作色谱固定相,并展现出优良的手分离性能<sup>[19-22]</sup>. 多亚胺大环化合物(PMs)是由多元醛和多元胺缩合形成的具有多个亚胺键( $-C=N-$ )的一类新型大环化合物<sup>[23,24]</sup>. 因为醛与胺缩合反应是一个由热力学控制的简单可逆反应,因此合成PMs通常只需经过一步缩合反应,且副产物少、合成产率高. 而许多传统大环化合物(如冠醚、杯芳烃、柱芳烃和葫芦脲等)都是由动力学控制的不可逆反应合成,其合成过程通常需要多步反应,并且产率不高. 另外,亚胺键的刚性使PMs的内腔结构也更为稳固. 由于PMs的这些独特性质,其在分子识别和分离等领域也引起了广泛关注<sup>[25-28]</sup>.

1,1'-联萘酚及其衍生物是一类典型的具有 $C_2$ 对称轴的轴手性化合物,也是一类重要的手性试剂<sup>[29]</sup>,已被广泛应用于新型手性材料的构建<sup>[30-33]</sup>,并且在手性识别与分离方面展现出良好的性能. 点击化学反应是一种重要的有机合成方法,具有反应效率高、产率高、反应条件温和及产物稳定等优点,可方便地将反应单元连接在一起合成目标产物<sup>[34]</sup>. 巯基-烯点击反应作为一种典型的点击反应,不仅具有点击反应的优点,还避免了金属催化剂的使用,已被应用在诸多合成领域. 利用巯基-烯点击反应可方便、高效地将功能性分子键合到色谱基质表面,是制备色谱固定相的一种广泛应用的合成方法<sup>[35,36]</sup>.

本文以(S)-2,2'-二羟基-1,1'-联萘基-3,3'-二醛和1,2-苯二胺为原料,通过一步醛胺缩合反应制

备了一种基于联萘衍生物的手性多亚胺大环(BINOL-CPM);将其烯基功能化修饰后通过巯基-烯点击反应键合到巯基硅胶表面,制备了一种新型高效液相色谱CSP.在正相(NP)和反相(RP)洗脱模式下,对该CSP填充色谱柱的手性拆分性能进行了评估,并与商品化的Chiralcel OD-H和Chiralpak AD-H色谱柱进行了对比.此外,还探讨了进样量对该手性柱分离效果的影响,评价了手性柱的重现性和稳定性.

## 1 实验部分

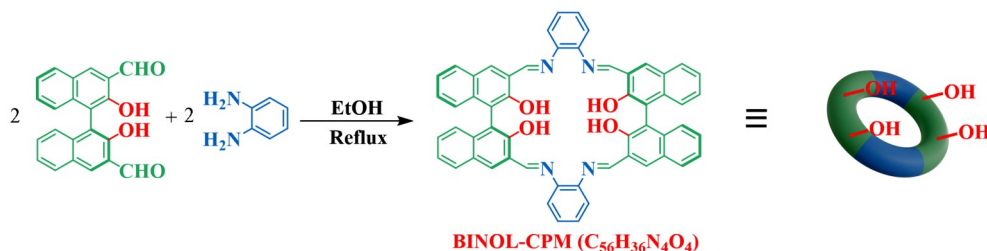
### 1.1 试剂与仪器

(S)-2,2'-二羟基-1,1'-联萘基-3,3'-二醛,纯度98%,吉林中科延伸科技有限公司;1,2-苯二胺(纯度98%)、1-烯丙基咪唑(纯度98%)、1,4-二溴丁烷(纯度99%)、(3-巯基丙基)三甲氧基硅烷(纯度99%)、偶氮二异丁腈(AIBN,纯度98%)和碳酸钾( $K_2CO_3$ ,分析纯),上海Adamas试剂公司;氯仿、甲苯、甲醇(MeOH)、乙醇(EtOH)、吡啶、丙酮和盐酸(HCl)均为分析纯,天津风船化学试剂科技有限公司;甲醇(MeOH)、正己烷(*n*-HEX)和异丙醇(IPA)均为色谱纯,上海Sigma-Aldrich试剂公司;测试用外消旋体,纯度 $\geq 98\%$ ,购于上海Adamas,Aladdin,TCI和Macklin试剂公司;球形硅胶(粒径5  $\mu m$ ,孔径12 nm,300  $m^2/g$ ),苏州纳微生物科技有限公司.

LC-16型高效液相色谱仪(HPLC,配备SPD-16 UV-Vis检测器、CTO-16柱温箱、Lab Solution LC色谱软件),日本Shimadzu公司;1666型高效液相色谱装柱机和不锈钢高效液相色谱空柱(250 mm $\times$ 2.0 mm i. d.),美国Alltech公司;Avance NEO 500 MHz型核磁共振波谱仪(NMR),德国Bruker公司;Nicolet iS20型傅里叶变换红外光谱仪(FTIR),美国Thermo Fisher公司;SDT-650型热分析仪(TGA),美国Taber公司;LTQ-Orbitrap XL型质谱仪(ESI-MS),美国Thermo Fisher公司;Vario EL III型元素分析仪(EA),德国Elementar公司.

### 1.2 实验过程

1.2.1 BINOL-CPM的制备 通过醛胺缩合一步反应合成了手性大环BINOL-CPM( $C_{56}H_{36}N_4O_4$ ),合成路线如Scheme 1所示<sup>[37]</sup>.在氮气保护下,将1,2-苯二胺(43.20 mg,0.40 mmol)和(S)-2,2'-二羟基-1,1'-联萘基-3,3'-二醛(136.8 mg,0.40 mmol)分散在EtOH(10 mL)中,于78  $^{\circ}C$ 回流反应10 h.反应结束后,经过滤得到黄色固体产物,用低温EtOH洗涤多次得到BINOL-CPM(160 mg,产率97%). $^1H$  NMR(500 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$ : 12.62(s, 4H), 8.79(s, 4H), 8.05(s, 4H), 7.84(d, 4H), 7.38(m, 4H), 7.27(d, 8H), 7.15~7.20(m, 8H);  $^{13}C$  NMR(125 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$ : 163.44, 154.82, 143.69, 135.93, 135.00, 129.06, 128.71, 127.79, 127.55, 124.52, 123.34, 121.50, 119.51, 116.90(NMR谱图见本文支持信息图S1).



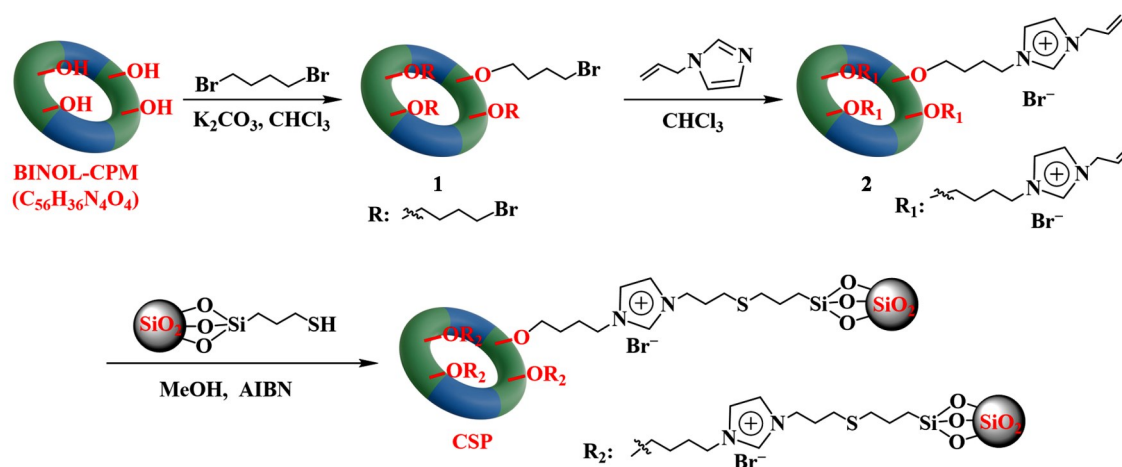
Scheme 1 Synthesis of the BINOL-CPM

1.2.2 巯基硅胶的制备 参照文献[38]方法制备巯基硅胶( $SiO_2$ -SH).取5.0 g球形硅胶分散到50 mL 10% HCl溶液中.在氮气气氛下,将该体系于100  $^{\circ}C$ 回流过夜.待体系冷却至室温后抽滤,收集固体.用去离子水洗涤固体直至洗涤液呈中性,所得固体经真空干燥10 h,得到活化的硅胶.

在氮气条件下,将干燥的活化硅胶(4.0 g)、无水甲苯(50 mL)、(3-巯基丙基)三甲氧基硅烷(3.0 mL)和无水吡啶(2.0 mL)依次加入100 mL圆底烧瓶中.将反应体系缓慢升温至100  $^{\circ}C$ ,搅拌反应1 d.反应结束并冷却至室温后,过滤除去溶剂,所得固体依次用甲苯、甲醇和丙酮洗涤数次后,在

100 °C真空条件下干燥 12 h, 得到SiO<sub>2</sub>-SH.

1.2.3 CSP的制备 通过巯基-烯点击反应制备CSP, 合成路线如Scheme 2所示. 在氮气气氛下, 将合成的BINOL-CPM(0.50 g)溶解于无水氯仿(60 mL)中, 加入K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(0.42 g), 升温至60 °C后加入1,4-二溴丁烷(0.54 g), 保持60 °C回流反应48 h. 待反应结束并冷却至室温后, 除去反应溶液, 所得固体转移至真空干燥箱中于80 °C干燥6 h, 得到化合物1.



Scheme 2 Synthetic route of the CSP

在氮气气氛下, 将化合物1(0.50 g)溶解于无水氯仿(60 mL)中, 升温至60 °C后加入1-烯丙基咪唑(0.26 g), 保持60 °C反应48 h. 反应结束后, 除去反应溶剂, 所得的固体于80 °C真空干燥8 h, 得到化合物2.

在氮气气氛下, 将化合物2(0.50 g)、SiO<sub>2</sub>-SH(1.50 g)和AIBN(70 mg)的混合物加入甲醇(60 mL)溶液中于60 °C回流72 h. 反应结束后, 除去反应溶剂, 所得固体依次用甲醇和丙酮洗涤, 于80 °C干燥过夜后得到CSP.

1.2.4 色谱柱的填充 将制备的CSP(1.35 g)与*n*-HEX/IPA(体积比90:10, 30 mL)溶液混合, 超声处理5 min得到均匀悬浮液. 将悬浮液快速转移至连有高压泵的匀浆罐中, 以*n*-HEX/IPA(体积比90:10)为推进溶剂, 保持50 MPa高压将填料压入空的不锈钢色谱柱中; 5 min后调整系统压强为25 MPa, 并保持30 min. 填充完成后, 将色谱柱连接到HPLC系统, 以*n*-HEX/IPA(体积比90:10)为流动相, 在0.1 mL/min流速下冲洗至基线平稳后进行分离实验.

## 2 结果与讨论

### 2.1 BINOL-CPM和CSP的表征

采用多种分析技术对合成的BINOL-CPM及CSP进行了表征. FTIR光谱[图1(A)]显示, 1620 cm<sup>-1</sup>处吸收峰归属于BINOL-CPM中亚胺键(—C=N—)的伸缩振动吸收, 3410 cm<sup>-1</sup>处的宽吸收峰归属于酚羟基(—OH)的伸缩振动, 1510和1440 cm<sup>-1</sup>处的吸收峰则归属于萘环骨架振动, 3060 cm<sup>-1</sup>处的吸收峰归属于苯环上碳氢(C—H)的伸缩振动吸收. 根据BINOL-CPM的分子式(C<sub>56</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>)计算得出其分子量为828.2737. 在ESI-MS谱图[图1(B)]中, *m/z*=415.1404处的信号归属于[M+2H]<sup>2+</sup>离子峰, 这与BINOL-CPM的理论计算值基本一致. 结合BINOL-CPM的<sup>1</sup>H NMR和<sup>13</sup>C NMR谱进一步确认目标产物已合成. 同时, 为了考察BINOL-CPM在酸性或碱性溶液中的稳定性, 将其在不同pH值(3~11)的水溶液中浸泡24 h, 所得<sup>1</sup>H NMR谱图与浸泡前基本保持不变(图S2, 见本文支持信息), 表明BINOL-CPM在酸/碱溶液(pH 3~11)中具有良好的稳定性.

对比CSP, SiO<sub>2</sub>-SH和BINOL-CPM的FTIR谱图[图1(C)]发现, CSP在2926, 2850和1620 cm<sup>-1</sup>处的特征峰明显增强, 这是由于键合的BINOL-CPM中的一CH<sub>2</sub>、—CH—和—C=N—基团的红外吸收所致;

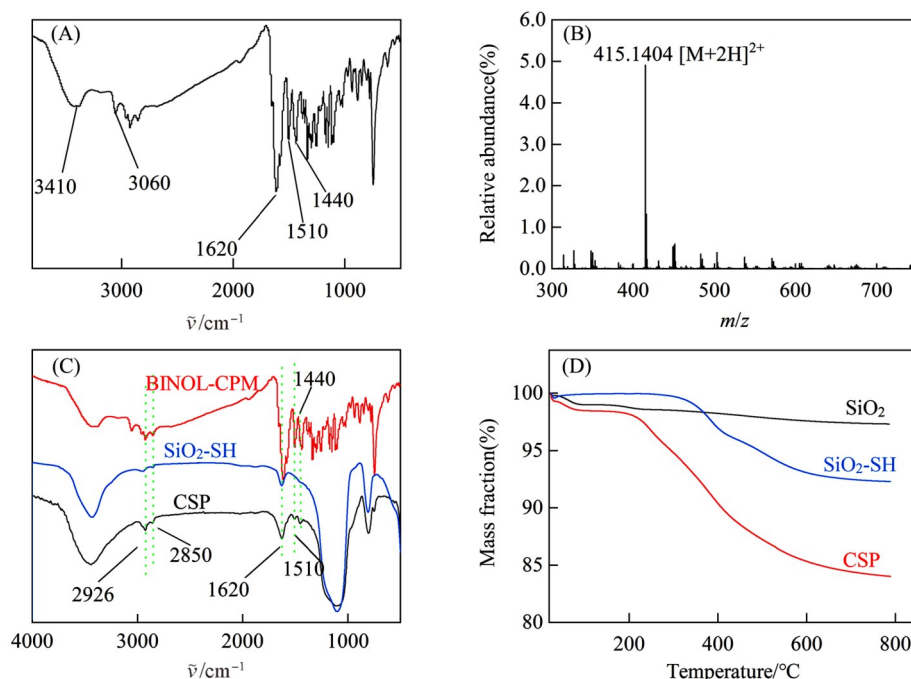


Fig. 1 FTIR spectrum of BINOL-CPM(A), ESI-MS spectrum of BINOL-CPM(B), FTIR spectra of BINOL-CPM, SiO<sub>2</sub>-SH and CSP(C), and TGA curves of SiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>-SH and CSP(D)

同时 CSP 在 1510 和 1440 cm<sup>-1</sup> 处出现新的吸收峰则是由于 BINOL-CPM 中萘环的骨架振动所致. TGA 曲线[图 1(D)]显示, 与 SiO<sub>2</sub>-SH 相比, CSP 有显著失重, 这是由于键合的 BINOL-CPM 有机组分分解所导致的. 结合表 1 中的元素分析结果, CSP 中 C, N 和 H 的含量与 SiO<sub>2</sub>-SH 相比显著增加, 进一步表明利用巯基-烯点击反应已将 BINOL-CPM 键合到了 SiO<sub>2</sub>-SH 上. 根据如下公式计算 CSP 的表面键合量( $\omega$ ,  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ )<sup>[16,39]</sup>

$$\omega = \frac{C \times 10^6}{S \times 12.001 \times N_c \times (100 - \frac{C}{N_c \times 12.001} \times M_r)} \quad (1)$$

式中:  $C(\%)$  代表 CSP 与 SiO<sub>2</sub>-SH 相比所增加的碳含量;  $N_c$  为修饰咪唑基团后 BINOL-CPM 的碳原子数;  $M_r$  为修饰咪唑基团后 BINOL-CPM 的分子量;  $S$  为硅胶表面积 (300 m<sup>2</sup>/g). 计算结果表明, CSP 的表面键合量为 0.26  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ . 此外, 为了探究 CSP 在流动相中的稳定性, 将其分别在 *n*-HEX/IPA (体积比 90:10)、MeOH/H<sub>2</sub>O (体积比 70:30) 和纯水中浸泡 36 h, 然后再进行红外光谱测试, 并将所得谱图与未经处理的 CSP 的 FTIR 图进行对比(图 S3, 见本文支持信息). 对比结果显示, 浸泡后的 CSP 的 FTIR 谱图与未经处理的相比, 峰形无明显变化, 2926, 2850, 1620, 1510 和 1440 cm<sup>-1</sup> 处的特征吸收峰仍然存在, 表明该 CSP 在流动相和纯水中均具有良好的稳定性. 测定了该自制柱的柱效. 在 NP-HPLC 模式下, 用苯测得其理论塔板数为 15500 块/米; 在 RP-HPLC 模式下, 用苯测得其理论塔板数为 13200 块/米.

Table 1 Element analysis data of SiO<sub>2</sub>-SH and CSP

Sample	Elemental composition (%)		
	C	N	H
SiO <sub>2</sub> -SH	4.36	<0.05	1.79
CSP	10.14	1.09	2.63

## 2.2 正相洗脱模式下柱的手性拆分性能评价

以 *n*-HEX/IPA 作为流动相, 评估了该手性柱在 NP 洗脱模式下的手性拆分性能. 实验结果显示, 在 NP 模式下该手性柱对包含醇类、酮类、酯及酚类等 12 种手性化合物具有较好的手性拆分效果, 拆分的色谱图见图 2, 拆分的色谱数据列于表 2 中. 由图 2 和表 2 可知, 12 种手性化合物中有 9 种实现了基线分离 ( $R_s > 1.5$ ), 表明该柱在 NP 洗脱模式下具有较好的手性拆分性能. 将 12 种测试物在 Chiralpak AD-H

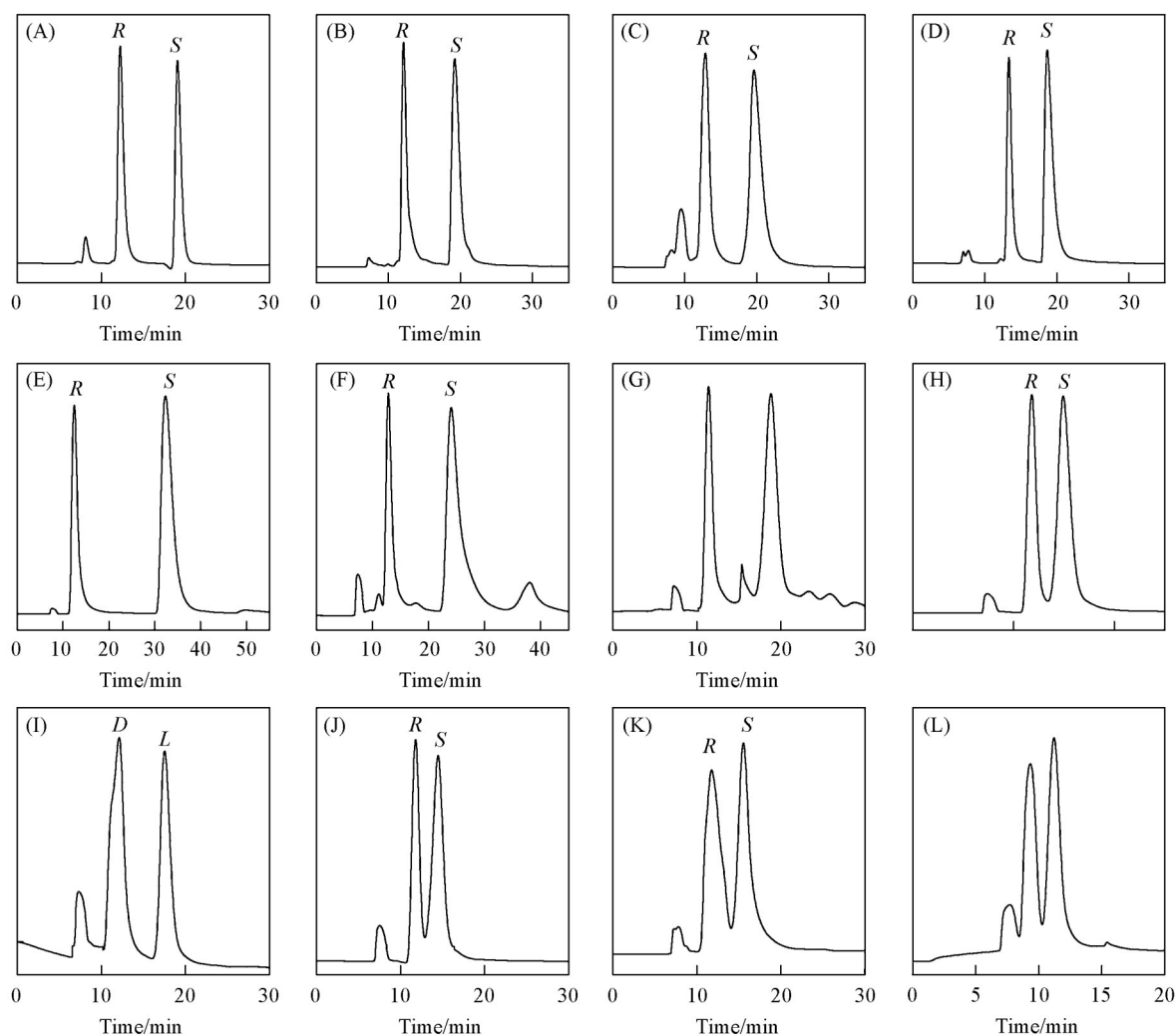


Fig. 2 Chromatograms of the 12 racemates on the BINOL-CPM column under NP-HPLC conditions

The names of compounds A-L are shown in Table 2.

Table 2 Chromatographic data of racemates separated on BINOL-CPM column, Chiralpak AD-H and Chiralcel OD-H columns in NP elution mode

Serial number	Racemate	BINOL-CPM			Chiralpak AD-H			Chiralcel OD-H		
		$k_1$	$\alpha$	$R_s$	$k_1$	$a$	$R_s$	$k_1$	$\alpha$	$R_s$
A	Ethyl mandelate <sup>a</sup>	0.99	2.13	5.67	1.92	1.08	1.63	1.45	2.04	7.68
B	1-(3-Fluorophenyl)ethanol <sup>b</sup>	0.97	2.19	3.51	0.83	1.00	— <sup>c</sup>	0.62	1.00	— <sup>c</sup>
C	2-Methoxy-2-phenylethanol <sup>b</sup>	1.09	2.00	2.64	0.91	1.23	2.70	0.81	1.13	0.69
D	1-Phenylethanol <sup>b</sup>	1.17	1.74	3.27	0.84	1.00	— <sup>c</sup>	0.90	1.22	1.29
E	1,2-Bis(4-fluorophenyl)-2-hydroxyethanone <sup>a</sup>	1.02	4.19	4.89	4.36	1.10	2.09	1.81	1.09	0.93
F	1,1'-Bi-2-naphthol <sup>a</sup>	1.09	2.68	3.82	7.44	1.03	0.10	3.80	1.11	1.25
G	3-Hydroxy-2-butanone <sup>a</sup>	0.86	2.41	3.40	1.29	1.00	— <sup>c</sup>	0.84	1.00	— <sup>c</sup>
H	1-(4-Chlorophenyl)ethanol <sup>a</sup>	0.93	1.54	1.53	0.86	1.04	0.19	0.78	1.13	0.67
I	Mandelic acid <sup>a</sup>	0.98	1.90	2.15	2.95	1.19	2.30	1.67	1.29	2.14
J	1-(4-Fluorophenyl)ethanol <sup>a</sup>	0.92	1.47	1.29	0.83	1.00	— <sup>c</sup>	0.74	1.00	— <sup>c</sup>
K	Methyl mandelate <sup>a</sup>	0.92	1.67	1.22	1.92	1.08	1.63	1.45	2.04	7.68
L	3-Chloro-2-butanone <sup>a</sup>	0.52	1.59	1.04	0.40	1.34	1.03	0.33	1.97	2.82

<sup>a</sup>. Mobile phase: *n*-HEX/IPA (volume ratio 90:10); <sup>b</sup>. mobile phase: *n*-HEX/IPA (volume ratio 95:5); <sup>c</sup>. cannot be separated. The analytes were separated on Chiralpak AD-H and Chiralcel OD-H columns with *n*-HEX/IPA (volume ratio 90:10) as the mobile phase at a flow rate of 0.5 mL/min.

和 Chiralcel OD-H 商品柱上进行了拆分对比, 数据列于表 2, 部分对比色谱图见图 S4 (见本文支持信息). 由表 2 和图 S4 可知, 在 NP 洗脱模式下 BINOL-CPM 柱拆分的 12 种手性化合物中, 1-(3-氟苯基)乙醇、1-苯乙醇、3-羟基-2-丁酮和 1-(4-氟苯基)乙醇这 4 种化合物不能在 Chiralpak AD-H 柱上获得拆分, 1-(3-氟苯基)乙醇、3-羟基-2-丁酮和 1-(4-氟苯基)乙醇化合物不能在 Chiralcel OD-H 柱上获得拆分; 并且该柱还能拆分这两种商品柱均不能拆分的 1-(3-氟苯基)乙醇、3-羟基-2-丁酮和 1-(4-氟苯基)乙醇这 3 种外消旋体. 此外, BINOL-CPM 柱实现了对 9 种外消旋体的基线分离, 而 Chiralpak AD-H 柱实现了对 5 种外消旋体的基线分离, Chiralcel OD-H 柱实现了对 4 种外消旋体的基线分离. 一些外消旋体在该柱上拆分的  $R_s$  值也高于两种商品柱, 如扁桃酸乙酯、1,2-双(4-氟苯基)-2-羟基乙酮、1,1'-联-2-萘酚、1-(4-氯苯基)乙醇和 3-氯-2-丁酮在 Chiralpak AD-H 柱上获得的  $R_s$  值低于 BINOL-CPM 柱; 2-甲氧基-2-苯乙醇、1-苯乙醇、1,2-双(4-氟苯基)-2-羟基乙酮、1,1'-联-2-萘酚、1-(4-氯苯基)乙醇和扁桃酸在 Chiralcel OD-H 柱上拆分的  $R_s$  值也低于 BINOL-CPM 柱. 由此可见, 该手性柱与两种商品柱之间存在较好的手性拆分互补关系, 能拆分它们不能拆分或不能很好拆分的一些外消旋体, 因此具有一定的研究意义和价值.

色谱手性分离的机制通常较复杂, 是多因素协同作用的结果. 该 CSP 对手性化合物具有良好的拆分效果与 BINO-CPM 的独特分子空腔和内环境有关. BINO-CPM 是由 (S)-2,2'-二羟基-1,1'-联萘基-3,3'-二醛和 1,2-苯二胺缩合而成的, 其中 (S)-2,2'-二羟基-1,1'-联萘基-3,3'-二醛构筑单元凭借联萘基的  $C_2$  轴形成手性中心, 同时通过亚胺键 ( $-C=N-$ ) 连接形成刚性具有分子空腔的稳定大环骨架结构, 并且 BINO-CPM 分子结构中还有多个苯环基团. 当分析物进入其空腔后, 可与 BINO-CPM 产生丰富的主客体分子识别作用, 包括氢键、 $\pi-\pi$  相互作用及偶极-偶极作用等. 对测试物的结构分析表明, 大多数被分离的手性化合物都是醇类, 具有氢键供体基团 ( $-OH$ ), 能与 BINO-CPM 中的氢键受体 (N 和 O 原子) 发生氢键作用, 因而被较好地拆分. 如, 3-羟基-2-丁酮和 3-氯-2-丁酮具有相似的分子结构, 3-氯-2-丁酮中的 Cl 原子与 BINO-CPM 的氢键作用比 3-羟基-2-丁酮的  $-OH$  与 BINO-CPM 的氢键作用弱, 表 2 中分离结果显示该柱对 3-氯-2-丁酮的拆分效果不如其对 3-羟基-2-丁酮的拆分效果, 也进一步证实氢键作用对手性拆分具有重要的作用. 在 12 种测试物中, 1,2-双(4-氟苯基)-2-羟基乙酮和 1,1'-联-2-萘酚具有多个苯环结构, 能与 BINO-CPM 产生较强的  $\pi-\pi$  相互作用, 表 2 中拆分数据显示该柱对这 2 种分析物的拆分效果也优于其它分析物, 表明  $\pi-\pi$  相互作用对手性拆分也具有重要作用. 总之, 手性识别过程比较复杂, 不只是某种单一作用力的结果, 而是多种作用力协同作用的分离识别过程, 该 CSP 与分析物之间的氢键、 $\pi-\pi$ 、偶极-偶极和静电吸引等相互作用将共同影响着其对分析物的手性拆分效果.

### 2.3 反相洗脱模式下柱的手性拆分性能评价

以 MeOH/H<sub>2</sub>O 作为流动相, 测试了该手性柱在 RP 洗脱模式下的手性拆分性能. 结果显示, 4,4'-二甲基安息香、4-甲基二苯基甲醇、2-甲氧基-2-苯乙醇、苯偶姻、扁桃酸乙酯和 1-苯乙醇这 6 种手性化合物在该洗脱模式下获得了拆分. 图 3 为拆分的色谱图, 表 3 列出了拆分的色谱数据. 由图 3 和表 3 可知, 有 5 种手性化合物实现了基线分离. 由表 2、表 3、图 2 和图 3 可知, 扁桃酸乙酯、2-甲氧基-2-苯乙醇和 1-苯乙醇这 3 种手性化合物在 NP 和 RP 洗脱模式下均被拆分, 且都是在 NP 洗脱模式下的保留时间长于 RP 洗脱模式, 拆分效果也是 NP 洗脱模式优于 RP 洗脱模式. 这可能是由于反相洗脱模式下流动相中的 MeOH 和 H<sub>2</sub>O 对 CSP 上氢键位点的竞争加剧, 优先占据 CSP 上的氢键位点, 使得分析物与 CSP 的相互作用减弱, 拆分效果变差. 此外, 还对这 6 种手性化合物在 Chiralpak AD-H 和 Chiralcel OD-H 柱上进行了分离测试, 对比色谱图列于图 S5 (见本文支持信息), 其对比数据列于表 3. 一些手性化合物在该柱上的拆分效果也优于 Chiralpak AD-H 和 Chiralcel OD-H 柱. 如, Chiralpak AD-H 不能拆分 1-苯乙醇; 4-甲基二苯基甲醇在该 CSP 柱上的分离度 ( $R_s=1.99$ ) 大于 Chiralpak AD-H 柱 ( $R_s=1.66$ ) 和 Chiralcel OD-H 柱 ( $R_s=1.46$ ); 扁桃酸乙酯在该 CSP 柱上的分离度 ( $R_s=1.92$ ) 大于 Chiralpak AD-H ( $R_s=1.80$ ), 2-甲氧基-2-苯乙醇在该柱上的分离度 ( $R_s=1.89$ ) 大于 Chiralcel OD-H 柱 ( $R_s=0.69$ ). 结果表明, 该手性柱在

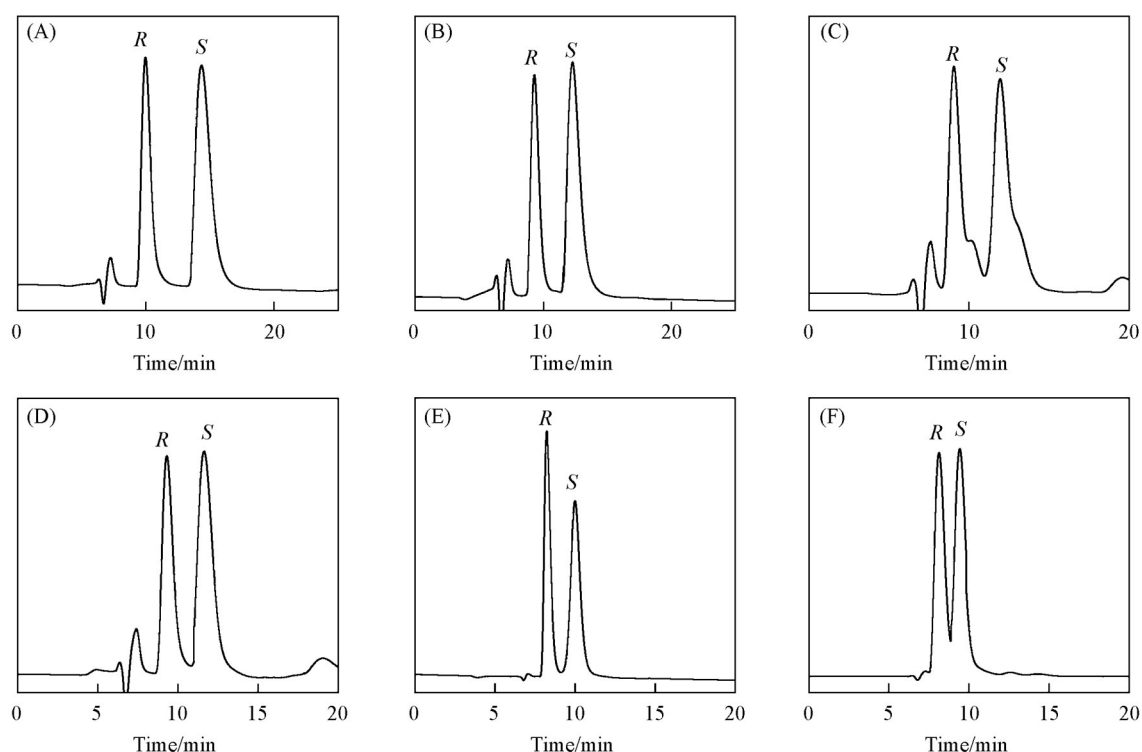


Fig. 3 Chromatograms of 6 racemates on the BINOL-CPM column under RP-HPLC condition

The names of compounds A-F are shown in Table 3.

Table 3 Chromatographic data of racemates separated on the BINOL-CPM column in RP elution mode and on Chiralpak AD-H and Chiralcel OD-H columns in NP elution mode

Serial number	Racemate	BINOL-CPM			Chiralpak AD-H			Chiralcel OD-H		
		$k_1$	$\alpha$	$R_s$	$k_1$	$a$	$R_s$	$k_1$	$\alpha$	$R_s$
A	4,4'-Dimethylbenzoic acid <sup>a</sup>	0.62	2.15	2.55	5.06	1.10	2.74	1.69	1.36	2.39
B	4-Methylbenzhydrol <sup>a</sup>	0.52	1.93	1.99	1.66	1.11	1.66	1.74	1.13	1.46
C	2-Methoxy-2-phenylethanol <sup>b</sup>	0.48	1.99	1.89	0.91	1.23	2.70	0.81	1.13	0.69
D	Benzoic acid <sup>a</sup>	0.52	1.73	1.56	4.53	1.28	5.22	2.52	1.58	6.69
E	Ethyl mandelate <sup>a</sup>	0.34	1.84	1.92	1.66	1.12	1.80	0.62	1.78	3.54
F	1-Phenylethanol <sup>a</sup>	0.33	1.65	1.08	0.84	1.00	— <sup>c</sup>	0.90	1.22	1.29

<sup>a</sup>. Mobile phase: MeOH/H<sub>2</sub>O (volume ratio 70/30); <sup>b</sup>. Mobile phase: MeOH/H<sub>2</sub>O (volume ratio 60/40); <sup>c</sup>. cannot be separated. The analytes were separated on chiralpak AD-H and Chiralcel OD-H column with *n*-HEX/IPA (volume ratio 90/10) as the mobile phase at a flow rate of 0.5 mL/min.

NP和RP洗脱模式下均具有较好的手性拆分能力,且与Chiralpak AD-H和Chiralcel OD-H柱存在良好的手性拆分互补性,具有潜在的应用价值.

#### 2.4 分析物进样量对手性拆分的影响

选取扁桃酸乙酯为分析物,在NP和RP洗脱模式下设置梯度进样量(1~20 μg),考察了分析物进样量变化对该手性柱拆分效果的影响.如图4(A)和(B)所示,随着进样量的增加,分析物的保留时间变化较小,在该进样量范围内分离效果无显著下降,并且分析物单一构型异构体的峰面积与进样量之间也具有较好的线性关系.因此,该手性柱在一定进样量范围内对分析物的拆分效果稳定,在手性化合物定量分析中具有应用潜力.

#### 2.5 柱的重现性和稳定性

为了评估该手性柱在不同洗脱模式下分离的重现性和稳定性,选取扁桃酸乙酯为分析物进行了性能验证.如图S6(见本文支持信息)所示,在该手性柱经历多次(100, 200, 300和400次)的进样实验

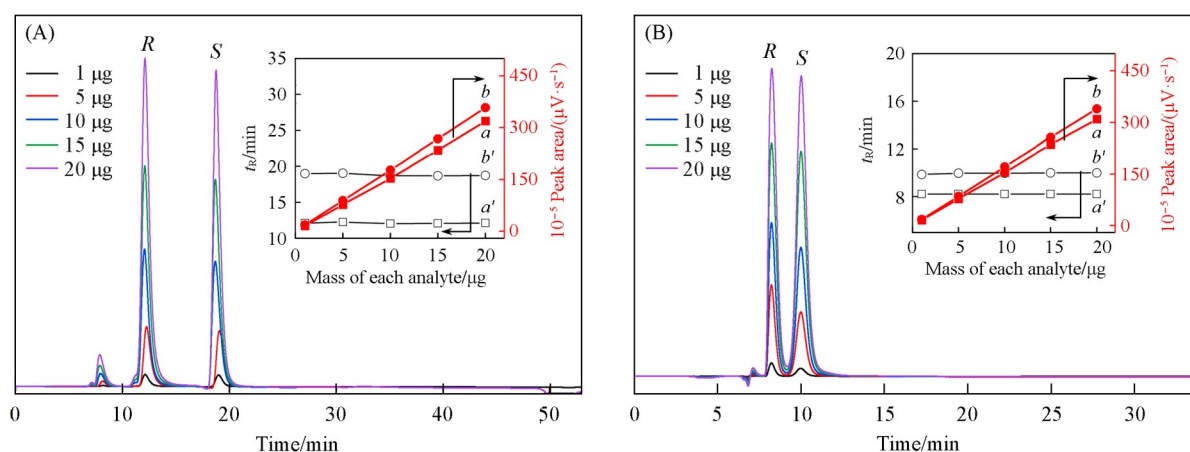


Fig. 4 Separation chromatograms of ethyl mandelate with different injection masses under NP-HPLC condition(A) and RP-HPLC condition(B)

Effect of injection mass on retention time and chromatographic peak area [Insets in (A) and (B): a, a'. R-ethyl mandelate; b, b'. S-ethyl mandelate].

后, 再对扁桃酸乙酯进行拆分测试, 其拆分的两个对映体色谱峰的保留时间( $t_R$ )和分离度( $R_s$ )与柱使用之初无显著变化, 其 $t_R$ 和 $R_s$ 的RSD( $n=5$ )分别小于0.49%和2.88%(表S1, 见本文支持信息). 此外, 为了评估该色谱柱的柱间重现性, 在不同批次制备的CSP填充的3个色谱柱(柱1, 2和3)上对扁桃酸乙酯进行了拆分, 得到的色谱图如图S7(见本文支持信息)所示, 两个对映体色谱峰的 $t_R$ 和 $R_s$ 的RSD( $n=3$ )分别小于1.09%和5.75%(表S2, 见本文支持信息). 实验结果表明, 该柱具有良好的重现性和稳定性.

### 3 结 论

基于巯基-烯点击化学策略, 将一种新型手性多亚胺大环BINOL-CPM键合到巯基硅胶表面, 成功制备了一种HPLC CSP. 该CSP填充柱具有良好的手性拆分性能, 在NP与RP洗脱模式下, 可拆分醇、酯、酮、酚及有机酸等多种类型的手性化合物. 与Chiralcel OD-H和Chiralpak AD-H两种HPLC商品柱的对比结果显示, 在NP洗脱模式下该柱拆分的12种外消旋体中有4种不能在Chiralpak AD-H柱上获得拆分, 有3种不能在Chiralcel OD-H柱上获得拆分; 在RP洗脱模式下该柱拆分的6种外消旋体中有1种不能在Chiralpak AD-H柱上获得拆分. 另外, 一些外消旋体在该柱上拆分的 $R_s$ 值也高于两种商品柱. 因此, 该柱与两种商品柱具有良好的手性拆分互补性, 能拆分它们不能拆分或不能很好拆分的一些手性化合物. 该柱还具有优秀的重现性和稳定性. 研究结果表明, BINOL-CPM是一种良好的HPLC手性分离材料, 具有一定的研究意义和价值, 也可为新型HPLC CSP的研究提供参考.

支持信息见 <http://www.cjcu.jlu.edu.cn/CN/10.7503/cjcu20250102>.

### 参 考 文 献

- [1] Qian H. L., Xu S. T., Yan X. P., *Anal. Chem.*, **2023**, 95(1), 304—318
- [2] Alvarez-Rivera G., Bueno M., Ballesteros-Vivas D., Cifuentes A., *TrAC-Trends Anal. Chem.*, **2020**, 123, 115761
- [3] Shen J., Okamoto Y., *Chem. Rev.*, **2016**, 116(3), 1094—1138
- [4] Shi G., Xu X., Dai X., Zhang J., Sheng J., Yuan X. H., *Chem. J. Chinese Universities*, **2021**, 42(8), 2673—2682(史歌, 徐茜, 代泉, 张洁, 沈军, 宛新华. 高等学校化学学报, **2021**, 42(8), 2673—2682)
- [5] Zhou M., Xu X. Y., Long Y. D., *Chem. J. Chinese Universities*, **2018**, 39(6), 1164—1171(周敏, 徐小英, 龙远德. 高等学校化学学报, **2018**, 39(6), 1164—1171)
- [6] Pedersen C. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89(26), 7017—7036
- [7] Liu S. J., Li Q., Cui K., Ma Z., Zhang D. W., Wang H., Li Z. T., *Chem. J. Chinese Universities*, **2023**, 44(10), 20230211(刘诗佳, 李倩, 崔崑, 马志, 张丹维, 王辉, 黎占亭. 高等学校化学学报, **2023**, 44(10), 20230211)



- [ 8 ] Kumar R., Sharma A., Singh H., Suating P., Kim H. S., Sunwoo K., Shim I., Gibb B. C., Kim J. S., *Chem. Rev.*, **2019**, *119*(16), 9657—9721
- [ 9 ] Ogoshi T., Yamagishi T., Nakamoto Y., *Chem. Rev.*, **2016**, *116*(14), 7937—8002
- [10] Murray J., Kim K., Ogoshi T., Yao W., Gibb B. C., *Chem. Soc. Rev.*, **2017**, *9*, 2479—2496
- [11] Sun G., Zhang X., Zheng Z., Zhang Z. Y., Dong M., Sessler J. L., Li C. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **2024**; *146*(38), 26233—26242
- [12] Wu J. R., Yang Y. W., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2021**, *60*(4), 1690—1701
- [13] Liu Y. Z., Wang H. L., Shangguan L. Q., Liu P. R., Shi B. B., Hong X., Huang F. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2021**, *143*(8), 3081—3085
- [14] Wang C. H., Xu L., Jia Z. H., Loh T. P., *Chin. Chem. Lett.*, **2024**, *35*(4), 109075
- [15] Radujević A., Penavic A., Pavlović R. Z., Badjić J. D., Anzenbacher P., *Chem.*, **2022**, *8*(8), 2228—2244
- [16] Yao X. B., Zheng H., Zhang Y., Ma X. F., Xiao Y., Wang Y., *Anal. Chem.*, **2016**, *88*(9), 4955—4964
- [17] Armstrong D. W., Tang Y. B., Chen S. S., Zhou Y. W., Bagwill C., Chen J. R., *Anal. Chem.*, **1994**, *66*(9), 1473—1484
- [18] Hyun M. H., *J. Chromatogr. A*, **2016**, *1467*, 19—32
- [19] Huang B., Li K., Ma Q. Y., Xiang T. X., Liang R. X., Gong Y. N., Wang B. J., Zhang J. H., Xie S. M., Yuan L. M., *Anal. Chem.*, **2023**, *95*(35), 13289—13296
- [20] Li Y., Yang X. R., Jiang W., Huang G. P., Wang Y., Xiao Y., *Anal. Chem.*, **2024**, *96*(31), 12622—12629
- [21] Li T., Li H., Chen J., Yu Y. L., Chen S., Wang J. H., Qiu H. D., *J. Chromatogr. A*, **2024**, *1727*, 465011
- [22] Sun T., Ba M. Y., Song Y. L., Li W., Zhang Y. Y., Cai Z. Q., Hu S. Q., Liu X. M., *Anal. Chim. Acta*, **2024**, *1291*, 342221
- [23] Kwit M., Grajewski J., Skowronek P., Zgorzelak M., *Chem. Rec.*, **2019**, *19*(2/3), 213—237
- [24] Szymkowiak J., Warzajtis B., Rychlewska U., Kwit M., *Chem. Eur. J.*, **2018**, *24*(23), 6041—6046
- [25] Dey A., Chand S., Maity B., Bhatt P. M., Ghosh M., Cavallo L., *J. Am. Chem. Soc.*, **2021**, *143*(11), 4090—4094
- [26] He D. L., Clowes R., Little M. A., Liu M., Cooper A. I., *Chem. Commun.*, **2021**, *57*, 6141—6144
- [27] Zhang Y. P., Li K., Xiong L. X., Wang B. J., Xie S. M., Zhang J. H., Yuan L. M., *J. Chromatogr. A*, **2022**, *1683*, 463551
- [28] Chen J., Zhang Y. P., Yu L. Q., Wang B. J., Xie S. M., Zhang J. H., Yuan L. M., *Talanta*, **2024**, *280*, 126781
- [29] Brunel J. M., *Chem. Rev.*, **2005**, *105*(3), 857—898
- [30] Yu Y. B., Hu Y. N., Ning C. B., Shi W. D., Yang A., Zhao Y. B., Cao Z. Y., Xu Y. Z., Du P. W. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2024**, *63*(29), e202407034
- [31] Pu L., *Acc. Chem. Res.*, **2012**, *45*(2), 150—163
- [32] Cui D. X., Geng Y., Kou J. N., Shan G. G., Sun C. Y., Zhang K. H., Wang X. L., Su Z. M., *Nat. Commun.*, **2022**, *13*, 4011
- [33] Wu X. W., Han X., Xu Q. S., Liu Y. H., Yuan C., Yang S., Liu Y., Jiang J. W., Cui Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, *141*(17), 7081—7089
- [34] Kolb H. C., Finn M. G., Sharpless K. B., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, *40*(11), 2004—2021
- [35] Cui Y. Y., Yang C. X., Yan X. P., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2020**, *12*(4), 4954—4961
- [36] Wang Y., Chen J. K., Xiong L. X., Wang B. J., Xie S. M., Zhang J. H., Yuan L. M., *Anal. Chem.*, **2022**, *94*(12), 4961—4969
- [37] Zhang H. C., Huang W. S., Pu L., *J. Org. Chem.*, **2001**, *66*(2), 481—487
- [38] Liang R. X., Zhang Y. P., Zhang J. H., Gong Y. N., Huang B., Wang B. J., Xie S. M., Yuan L. M., *J. Chromatogr. A*, **2023**, *1711*, 464444
- [39] Siles B. A., Halsall H. B., Dorsey J. G., *J. Chromatogr. A*, **1995**, *704*(2), 289—305

(Ed.: F, K)