

减压柱层析在新杀虫剂 HNPC-A9835 创制中的应用

柳爱平^{1,2} 于正英¹

(¹湖南化工研究院 长沙 410007 ²华中师范大学有机合成研究所 武汉 430079)

摘 要 研究了减压柱层析分离纯化方法在新药合成中的应用。利用薄层层析硅胶 H 为吸附剂, 石油醚和乙酸乙酯为混合洗脱剂, 通过减压柱层析, 分离纯化新型杀虫剂 HNPC-A9835, 纯度达 96.72%。减压柱层析分离纯化方法具有快速、简便的特点, 并可达到理想的分离效果。

关键词 减压柱层析 分离纯化 新杀虫剂 HNPC-A9835 新药创制

Application of Pressure Reducing Column Chromatography in the Formulation of New Pesticide HNPC-A9835

Liu Aiping^{1,2} Yu Zhengying¹

(¹Hunan Institute of Chemical Industry Changsha 410007 ²Central China Normal University Wuchan 430079)

Abstract The application of pressure reducing column chromatography (PRCC) in the formulation of new pesticides has been studied. Using silica gel H for thin-layer chromatography (TLC) as absorbent and petroleum ether and ethyl acetate as mixed washing agent, New pesticide HNPC-A9835 has been separated and purified with the content of 96.72% by PRCC, the method of PRCC is rapid and simple and its result is desirable.

Key words Pressure reducing column chromatography (PRCC), Separation and purification, New pesticide HNPC-A9835, Formulation of new pesticides

分离纯化是新药合成中极其重要的一步, 由于合成困难或原材料难得等原因, 一般所合成得到的目标化合物数量少, 通常其纯度亦较低。故传统的萃取、精馏、重结晶等纯化方法难以发挥其优势。尽管高效(压)液相制备色谱能满足新药合成中化合物分离纯化的要求, 但由于其仪器设备昂贵、同时使用过程中耗费大, 目前难以在一般实验室使用。鉴于以上原因, 柱层析技术则成为新药创制中一种极其重要的分离纯化手段。柱层析分为常压柱层析、加压柱层析^[1, 2]和减压柱层析三种: 常压柱层析是洗脱剂依靠重力将样品混合物中各组分依次洗脱下来, 当使用颗粒较大的吸附剂时, 对难以分离的组分, 分离效果不理想; 而使用颗粒较小的吸附剂, 又非常费时, 不实用。加压柱层析是洗脱剂在加于柱顶的压力作用下, 快速分离混合物, 该方法快速且有相当的分离效果, 但需在加压的条件下才得以实现, 操作不方便。减压柱层析是利用泵如普通水泵、循环水泵等抽气降低吸滤瓶中的压力, 洗脱剂借助外界大气压快速将样品中各组分依次洗脱下来, 可达到理想的分离效果。有关加压柱层析, 文献已有报道, 但对减压柱层析却未见详细报道, 本文将就减压柱层析方法及其在新农药创制中的应用进行较详细报道。新

柳爱平 女, 36 岁, 副研究员, 博士生, 现从事新农药创制研究。

国家“九五”攻关专题(96-A02-03-02-B03)和湖南省自然科学基金重点项目(01JJY1001)

2002-07-11 收稿, 2003-03-24 修回

药创制的首步是合成所设计的目标新化合物并对其进行分离纯化, 获得一定量的纯样。减压柱层析能快速而简便地满足新药创制中目标化合物分离纯化这一要求。

1 仪器与试剂

ZF-I 型三用紫外分析仪(上海顾村电光仪器厂); HP6890GC-5793MS 联用仪(美国安捷伦公司); INOVA-300 ^1H NMR(Varian); 薄层层析硅胶 H(化学纯, 青岛海洋化工有限公司); 石油醚(60~90°C)和乙酸乙酯皆为市售分析纯试剂。

2 减压柱层析技术

根据样品的性质和量, 选择合适种类的吸附剂、洗脱剂和合适大小的减压柱, 进行装柱、加样、洗脱。

对 HNPC-A9835 进行减压柱层析分离纯化时, 选择薄层层析硅胶 H 为吸附剂, 不同配比的石油醚(60~90°C)和乙酸乙酯为洗脱剂。

3 新型杀虫剂 HNPC-A9835 的减压柱层析纯化

3.1 HNPC-A9835 样品

HNPC-A9835 为一种高效、广谱、低毒新型杀虫剂^[3-5], 其合成收率低, 杂质多, 气谱归一法含量约为 18%, 且其中有一难以分离的副产物 A9835F, 其归一法含量约为 13%。本文主要研究 A9835 和 A9835F 的减压柱层析分离。所用样品是已经过粗提的 A9835 样品: A9835 62.00%, A9835F 32.00%, 另外还有约 6.00% 的 4 个杂质。

3.2 洗脱剂

用硅胶薄层层析, 得到图 1 所示结果: 展开剂为石油醚/乙酸乙酯, 体积比分别为(1)15/1; (2)25/1; (3)35/1。A 为第一次展开, B 为经第一次展开后的薄板待展开剂挥干后再置于同一体积比的展开剂中进行第二次展开的结果, C 则是经第二次展开后的薄板待展开剂挥干后再置于同一体积比的展开剂中进行第三次展开的结果。从图 1 可看出: 只经一次展开, 两待分离组分 A9835 和 A9835F 的 R_f 差值 <0.05 , 薄板上两斑点基本上没分开。经第二次展开后, 其 R_f 差值亦不明显。而经第三次展开后, 明显可见两主斑点, 大 R_f 值的斑点相应于目标物 A9835, 另一斑点为 A9835F。

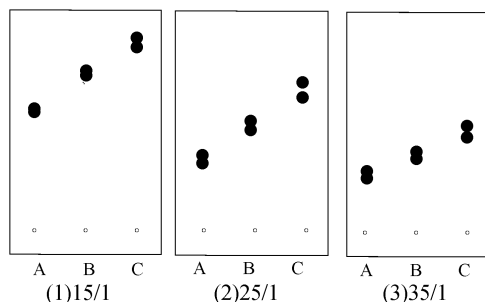


图 1 样品薄层层析结果

Fig.1 TLC Result of the Sample

3.3 HNPC-A9835 和 HNPC-A9835F 的减压柱层析分离

经粗提后的 A9835 样品 0.85g 加至内径为 10mm 的柱中, 以 50/1 的石油醚/乙酸乙酯为洗脱剂进行洗脱, 每次所用洗脱剂为 10~15mL。开始流出的数份接收液中不含任何物质(薄层点样, 紫外分析仪下无可见斑点), 随后的接收液含有非 A9835 和非 A9835F 的杂质(薄层检测或 GC-MS 联用仪检测)。待杂质出完后, 改用 40/1 的石油醚/乙酸乙酯进行洗脱, 先流出的数份接收液不含任何物质, 接着流出的 3~4 份接收液只含 A9835, 然后的数份接收液同时含有 A9835 和 A9835F, 待 A9835 流完后, 换用 25/1 的石油醚/乙酸乙酯进行洗脱, 数份接收液只含 HNPC-A9835F。经气谱测定纯度后, 合并相应样品, 旋蒸, 可得含量为 96.72% 的 A9835 0.32g, 同时可得含量为 95.60% 的 A9835F 0.14g。

4 结果与讨论

4.1 柱内径与待分离样品量的关系

减压柱层析装柱时, 一般根据待分离样品粗样的重量选取合适内径的减压柱, 使装填的硅胶层高度约为 17~19cm, 粗样重量(g)与柱内径(mm)的关系见表 1。

装样量与待分离样品的性质有关, 对同一型号的减压柱, 如果粗样薄层时, 待纯化组分与其它杂质分离效果颇好, 特别是所需组分与其它杂质的 R_f 差值较大, 则装样量可稍多些; 而对于薄层时, 分离效果很不理想。对杂质含量很高的粗样, 装样量应少些; 对于极难分离的样品, 可先进行粗提纯, 再进行第二次甚至第三次减压柱层析直至得到所需含量的目标产物。

表 1 粗样重量与柱内径的关系

Tab.1 Relationship of weight of the sample with ID of the column

柱内径/mm	10	14	20	25
粗样量/g	0.5~1.0	1.5~3.0	6.0~8.0	14.0~18.0

4.2 加样与洗脱

首先样品需充分溶解且粘度适中, 样品中所含溶剂量应尽可能少, 且其中所含溶剂的极性亦应尽可能小; 加样应在没有抽气的条件下进行, 加样完毕, 马上在出口处抽真空, 使样品完全均匀地分布在石英下的一薄层硅胶中, 待样品中所含溶剂被完全抽干, 卸下所抽真空, 加入第一份洗脱剂后, 再在出口处抽真空进行洗脱, 前 1~3 份洗脱剂的加入最好在卸下所抽真空条件下进行, 在没有接收液流出之前, 所加入洗脱剂的量可相对少些, 柱中的洗脱剂前沿稍先于第一组分在柱中的前沿即可。这样既可节省洗脱剂又可节省洗脱时间, 每份洗脱剂的量可根据所加入样品的量在 8~30mL 范围内变化; 洗脱时可根据样品薄层时的结果考虑是否采用梯度洗脱, 即洗脱过程中根据需要改变洗脱剂中组份的比例, 从而使洗脱剂的极性不同。

5 结论

通过对大量新化合物和已知化合物的减压柱层析分离纯化实验, 证明该层析法可用于 $R_f > 0.05$, 甚至 R_f 值更小的组分的分离。对经过一次或二次、三次甚至更多次重复薄层层析后, 目测可分开的组分, 利用减压柱层析基本可达到分离纯化的目的。

减压柱层析简便、实用、快速且有相当的分离效果, 特别适用于新药创制中目标化合物或中间体的分离纯化。

参考文献

- [1] W C Still, M Kahn, A Mitra. J. Org. Chem., 1978,43:2943.
- [2] D F Teber. J, Org. Chem 1982,47:1351.
- [3] 柳爱平, 龙胜佑, 欧晓明 等. CN:1250046A, 1998.
- [4] 柳爱平, 龙胜佑, 欧晓明 等. CN:1288002, 1999.
- [5] A Liu, S Long, X Ou et al. EP:1125931A1, 2000.