

使用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 Chiral-T 色谱柱对乳酸钠进行手性分析

作者

William J. Long 和 Carl Griffin
安捷伦科技有限公司

前言

加快对映异构体的分离速度对于生化分析和制药行业的重要性日益凸显。随着越来越多的光学活性药物化合物的出现以及政府监管的加强，设计出快速、灵敏、可靠的分析方法至关重要。当前正在使用的药物中，有一半以上是手性化合物，而手性化合物中近 90% 是由两种对映异构体的等摩尔混合物组成的外消旋体。尽管它们具有相同的化学结构，但大多数手性药物的异构体在生物活性方面具有明显差异。

虽然许多手性分离采用基于纤维素或直链淀粉的手性选择固定相 (CSP) 和正相溶剂（如己烷），但经常需要寻找其他固定相以便使用更常用的溶剂（如甲醇）进行分离，这些流动相更容易纳入实验室运行的反相方法中。

基于糖肽的手性色谱柱，例如 Agilent InfinityLab Poroshell 120 Chiral-T（替考拉宁）和 Agilent InfinityLab Poroshell 120 Chiral-V（万古霉素），可用于反相和正相高效液相色谱 (HPLC) 以及超临界流体色谱 (SFC) 领域的各种溶剂中。糖肽为两性物质，含有可离子化的酸性和碱性官能团。因此，它们可以带正电荷、负电荷或为中性，具体取决于流动相的 pH。这使得在使用这类 CSP 材料进行离子化合物分离时，可以通过离子相互作用进行手性识别。在这类 CSPs 的手性识别中发挥了重要的作用。使用抗生素作为 CSPs 材料进行手性识别时，其他可能的相互作用包括氢键、空间、偶极-偶极和 π - π 相互作用以及疏水相互作用。这些相互作用可能以不同的组合形式出现，具体由各个分析物的特性和所使用的流动相模式决定。每种分离模式同时提供不同的相互作用以实现手性识别。大量手性分离以及通过此类 CSP 成功分离的各种类型的手性化合物都基于此原理。

糖肽替考拉宁与表面多孔二氧化硅颗粒共价键合，形成稳定且耐溶剂的色谱介质。这些共价键合相可耐受常用的 HPLC 流动相和添加剂，例如甲醇、乙醇、IPA、THF、磷酸盐、甲酸盐、乙酸盐、甲酸、TFA、TEA 和 NH_4OH 。在本应用简报中，使用 InfinityLab Poroshell 120 Chiral-T 开发并优化了乳酸钠作为乳酸的分离方法。

实验部分

本研究采用低扩散配置的 Agilent 1290 Infinity 液相色谱仪。表 1 列出了仪器配置。所有化合物均以对映体混合物以及单标的形式进样以完成鉴定。

D,L-乳酸钠和 L-乳酸钠购自 Sigma-Aldrich。L 对映异构体溶解浓度为 1 mg/mL，D 和 L 对映异构体的混合物溶于甲醇中，浓度为 2 mg/mL。乳酸钠的结构如图 1 所示。乙酸钠和甲酸钠（LC/MS 级）也购自 Sigma-Aldrich。HPLC 级甲醇购自 Honeywell。将 2 g 甲酸钠或乙酸钠溶于甲醇中，制得浓度为

0.2% w:v 的流动相。同样以类似方法配制了浓度较低的流动相。

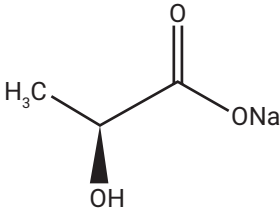


图 1. 乳酸钠的结构

结果与讨论

总的来说，InfinityLab Poroshell 120 Chiral-T 色谱柱上展示了酸性手性化合物（如氨基酸和其他化合物）的良好分离。在本研究中，使用 InfinityLab Poroshell 120 Chiral-T 和三种流动相进行了初步筛选。

1. MeOH/20 mmol/L 甲酸钠，pH 4.0 90/10 RP
2. MeOH/20 mmol/L 甲酸钠，pH 4.0 30/70 RP
3. 含 0.2% w:v 甲酸钠的 MeOH 流动相

表 1. 仪器配置和分析条件

1290 Infinity 液相色谱系统	
Agilent 1290 全能泵 (G7104A)	
安捷伦高性能自动进样器 (G4226A)	- 针座组件，超低扩散，用于 Agilent 1290 Infinity 自动进样器 G4226A (货号 4226-87030) - 自动进样器和加热器：毛细管，不锈钢，0.075 × 220 mm (货号 5067-4784) - 样品瓶，螺口，棕色，带书写签，经认证，2 mL，100/包 (货号 5182-0716) - 瓶盖，螺口，蓝色，PTFE/红色硅橡胶隔垫，100/包 (货号 5182-0717)
安捷伦高容量柱温箱 (MCT) (G7116B)	- 超低扩散加热器 (货号 7116-60021) - 加热器和色谱柱：InfinityLab Quick Connect 快速连接组件，105 mm，0.075 mm (货号 5067-5961) - 色谱柱和 ELSD 毛细管，不锈钢，0.075 × 220 mm，SV/SLV (货号 5067-4784)
Agilent 1290 ELSD II (G7102A)	- 蒸发器温度 30 °C - 雾化器温度 30 °C - 气体流速 1 SLM - 40 Hz
Agilent OpenLab CDS, C.01.07 版	

使用 0.2% 甲酸铵进行初步筛选对 L 乳酸钠获得了成功，但 D,L-乳酸钠的色谱峰形较差（图 2）。在第二项实验中，将甲酸铵改为 0.2% 乙酸铵。实验获得了出色的峰形，三个峰都有良好的分离度（图 3）。尝试通过降低乙酸铵浓度进行优化，但最后一个峰的保留时间大幅增

加，而分离度没有明显提高（图 4）。最后一个峰为钠峰，由进样氯化钠样品后产生（图 5）。这种分离方式称为极性离子分离。极性离子分离通常需要使用有机溶剂（例如甲醇或乙腈），并添加少量酸和碱。通常通过使用乙酸/三乙胺或氢氧化铵改变酸碱比，来优化分离。也可以在流

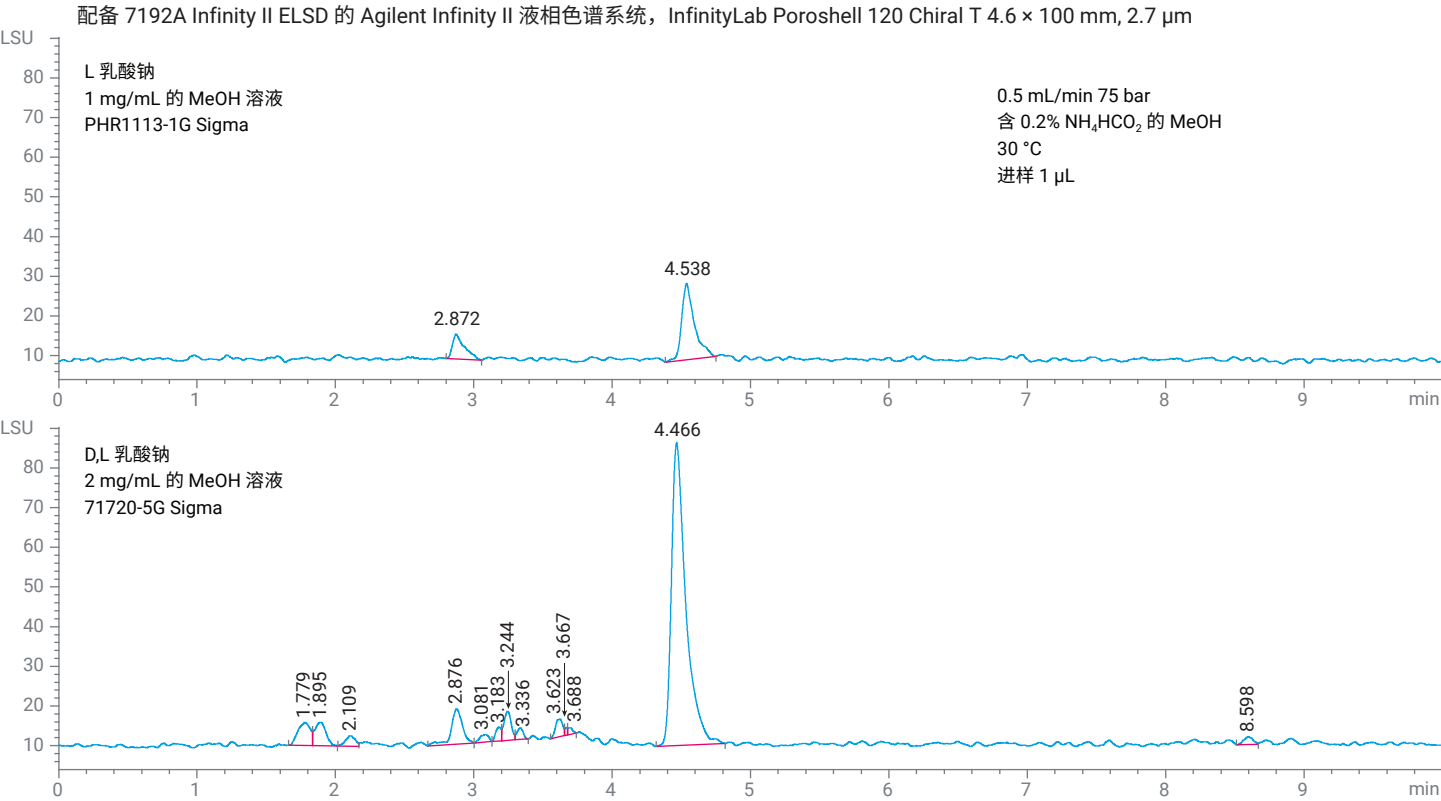


图 2. D,L-乳酸钠在 0.2% 甲酸铵中的分离

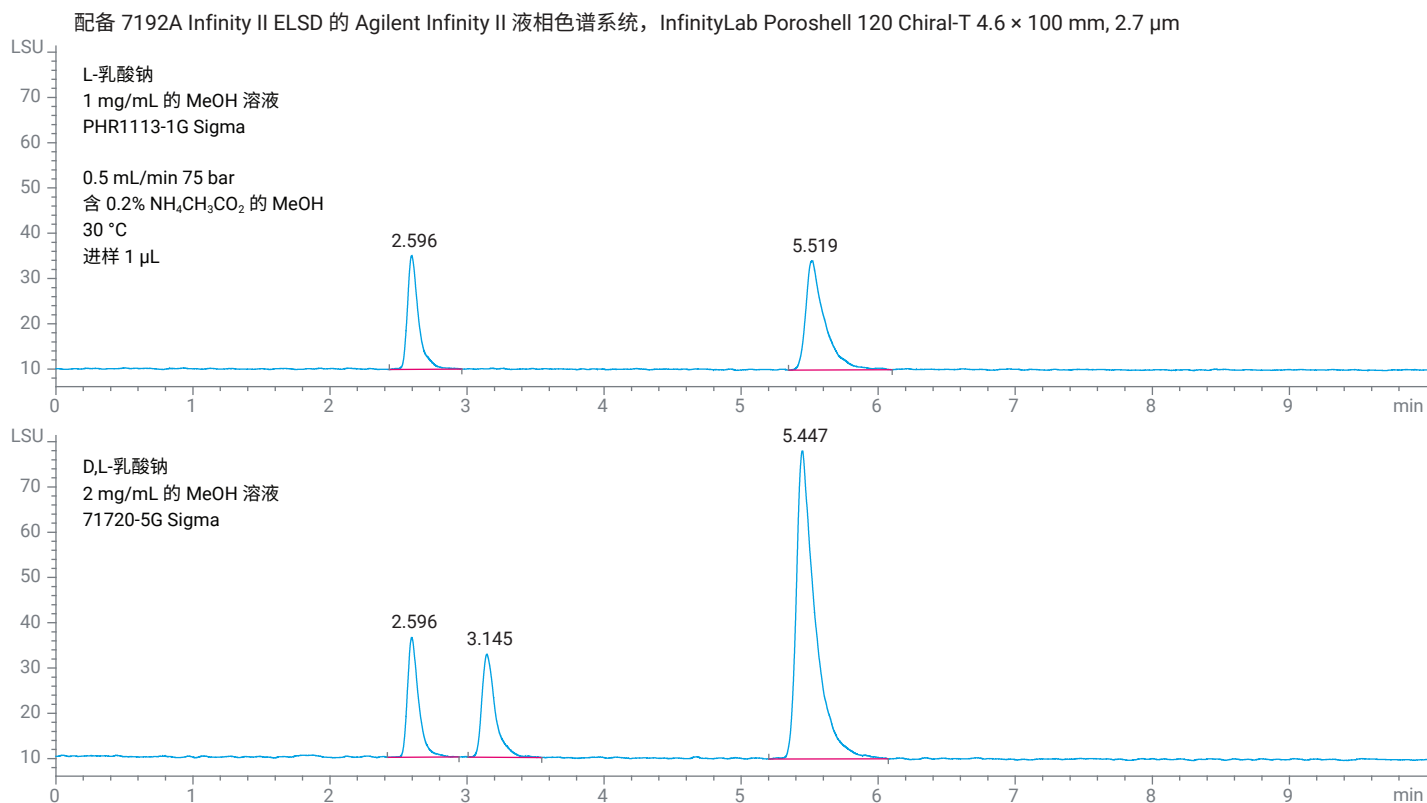


图 3. D,L-乳酸钠在 0.2% 乙酸铵中的分离

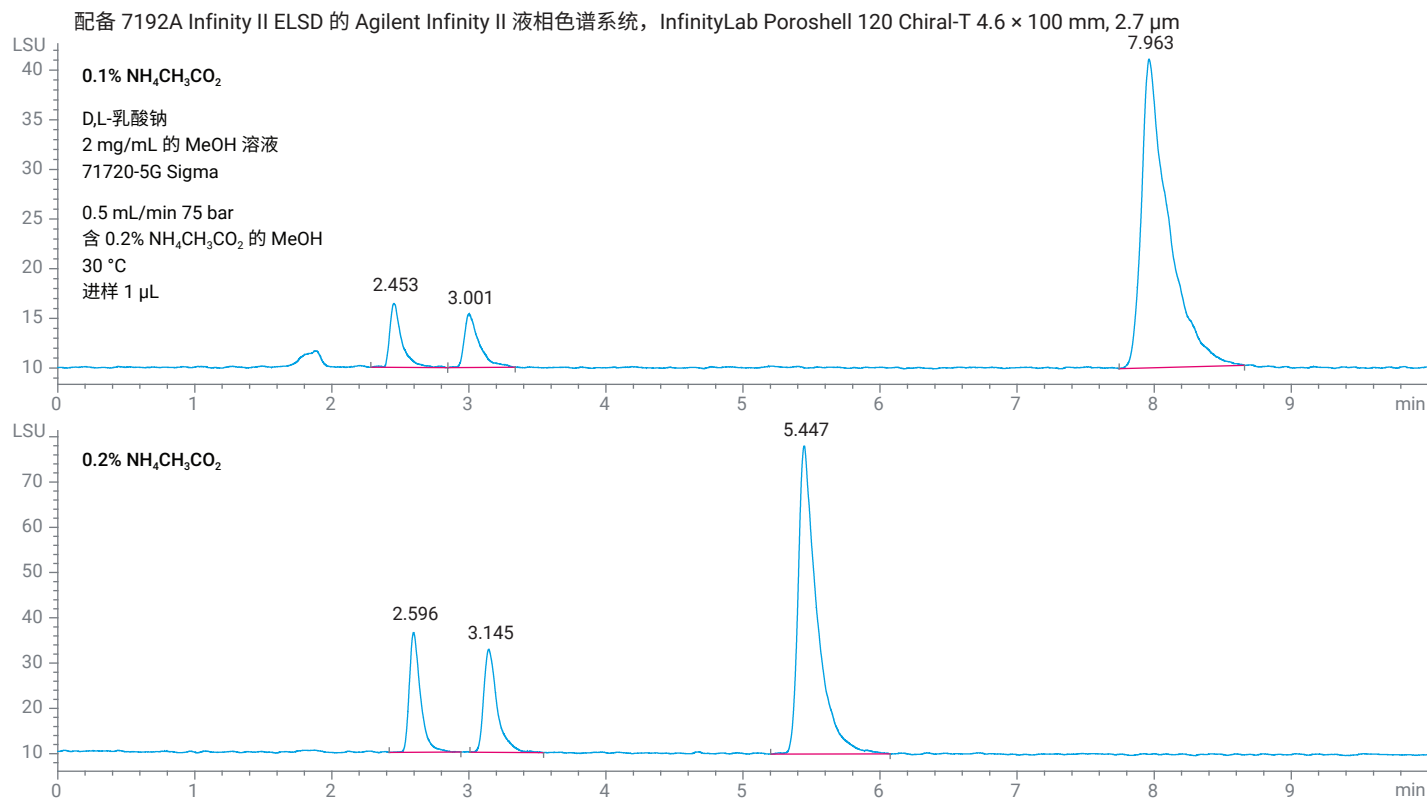


图 4. 乙酸铵浓度评估

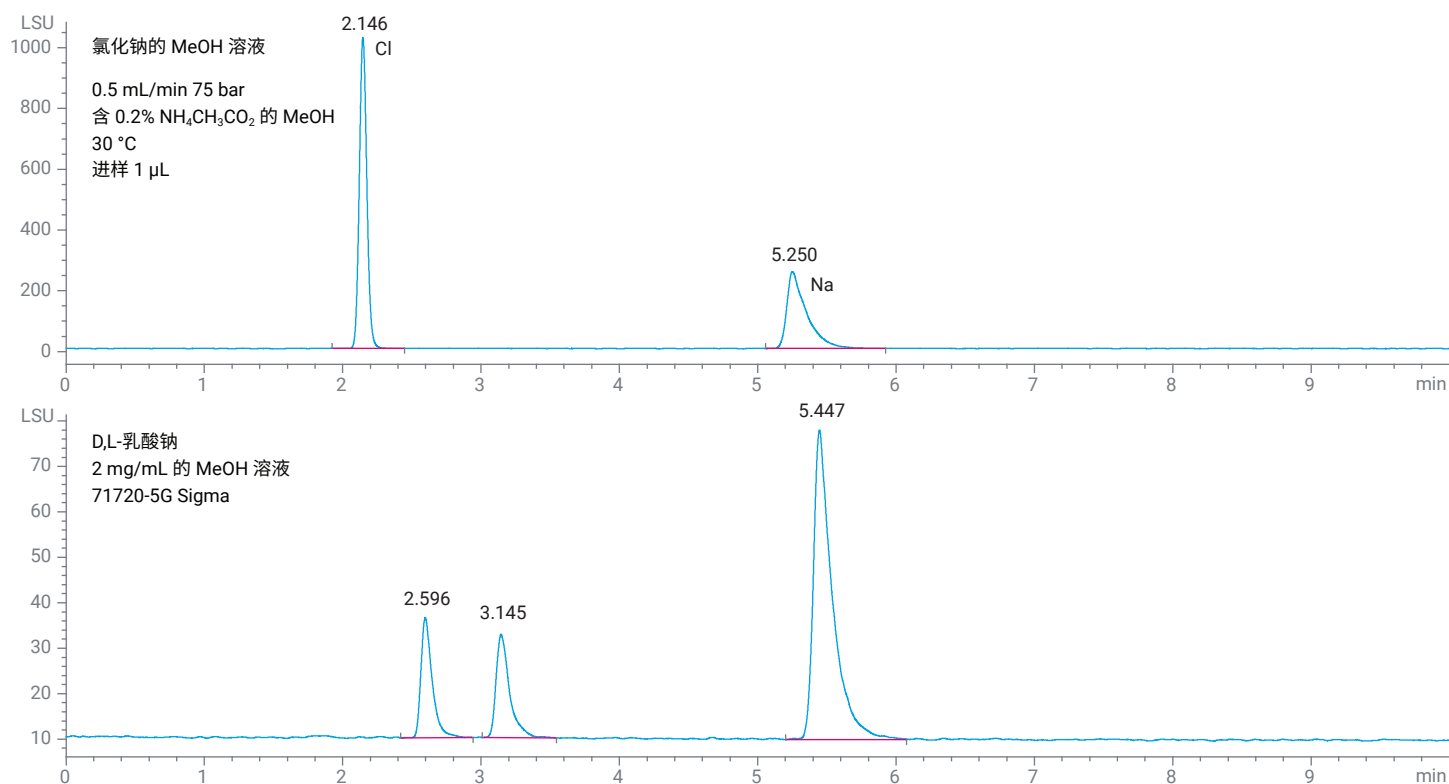


图 5. 钠和乳酸对映体峰的鉴定

结论

Agilent InfinityLab Poroshell 120 Chiral-T 色谱柱提供了一种稳定的乳酸钠分离方法。该色谱柱为所有化合物提供了良好的分离度和峰形，且与质谱分析兼容。

参考文献

1. Bonner, W. A. Parity Violation and the Evolution of Biomolecular Homochirality. *Chirality* **2000**, 114
2. InfinityLab Poroshell 120 Chiral 创新技术应对挑战性的手性分离，安捷伦科技公司应用文集，出版号 5991-8450ZHCN, **2017**

www.agilent.com

DE80318618

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2022
 2022 年 10 月 6 日，中国出版
 5994-5421ZHCN

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn