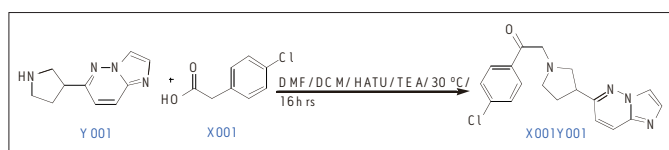


PoraPak Rxn CX分离氨基酸缩合反应中碱性目标化合物的研究

庄淑萁, 宋兰坤, 黄静, 李建中, Yap Swee Lee
沃特世科技, 上海, 中国

前言

氨基酸缩合反应是有机合成反应中最常用的反应之一。反应化学式和使用材料如下图:



Reaction Scheme

Material Table

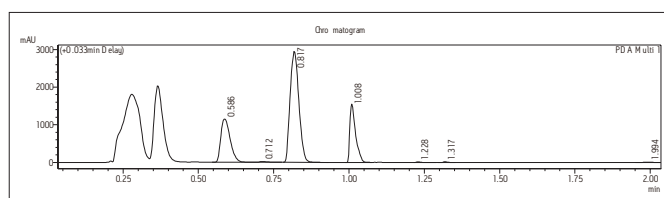
Reagent	M. W.	amount. (mg)	umol	note
X001	170	18.7	110	1.1eq
Y001	188.2	18.8	100	1.0eq
HATU	380	41.8	110	1.1eq
TEA	102	30ul	300	3.0eq
DMF		400ul		
DCM		400ul		

PoraPak Rxn 小柱是聚合物填料, 有强阳离子交换PoraPak Rxn CX和反相PoraPak Rxn RP两种键合相, 主要用在药物开发研究中净化和分离合成反应过程中的混合物。该聚合物填料对溶剂和极端pH条件保持极小的膨胀或收缩, 克服硅胶基质在极端pH条件下会溶解或C₁₈链水解的缺陷。经过实验证明, 该小柱在有机合成中, 具有以下几点应用:

- 合成反应中转移高沸点溶剂, eg. DMSO, DMF...
- 碱性产物与反应物和副产物的分离, 可除去中性和酸性化合物
- 清除用于反应过程中或制备色谱流动相中的TFA
- 有机溶剂的转换, 将合成过程中的有机溶剂转换成制备色谱流动相需要的溶剂
- 有机合成中除水作用

在此实验中, PoraPak Rxn CX小柱基于强阳离子交换作用用于氨基酸缩合反应中转移高沸点溶剂并可以分离其中的碱性目标化合物。

经过缩合反应溶液直接进LC-MS得到的色谱图1、图2所示, 目标化合物保留时间为0.817min, 质谱分子量为340.9。从PDA积分可以看出, 目标化合物在反应液中的浓度为56.2%。



PDA ch1 220nm 4nm (+0.033min Delay)

Peak#	Ret. Time	Height	Height%	USP Width	Area	Area%
1	0.586	1148575	20.037	0.059	2477068	23.246
2	0.712	22371	0.390	0.045	37747	0.354
3	0.817	2950557	51.474	0.058	5987328	56.187
4	1.008	1552866	27.090	0.038	2077901	19.500
5	1.228	20247	0.353	0.031	23344	0.219
6	1.317	25377	0.443	0.030	26392	0.248
7	1.994	12160	0.212	0.062	26255	0.246

图1 反应后混合液直接进样的PDA色谱图

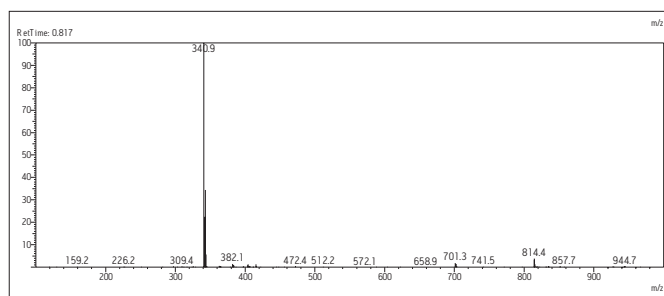


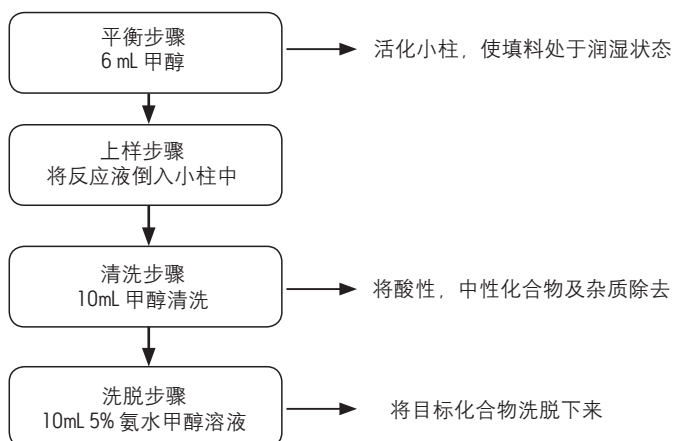
图2 反应后混合液直接进样质谱图

实验方法

试剂与和材料：甲醇，浓氨水，PoraPak Rxn CX柱 400mg/6cc；

样品：按照Reaction Scheme反应后得到的反应液。

样品净化分析步骤：



结果与讨论

实验过程中收集上样，清洗，洗脱步骤的溶液，分别进行LC/MS分析，得到谱图见图3-图8，研究了每一步实验在分离目标化合物的情况。图3和图4为上样收集液+3mL甲醇清洗液进样得到的液相色谱图和质谱图，从图中可以看出目标化合物已经吸附保留在了PoraPak Rxn CX小柱上，淋洗反应液中的部分杂质已流出。

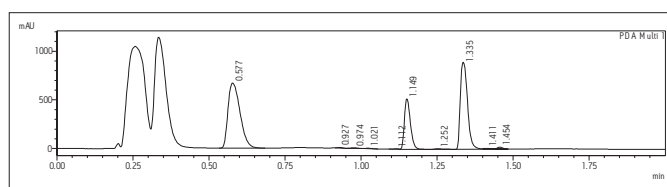


图3 上样步骤收集液+3mL甲醇清洗液进样PDA色谱图

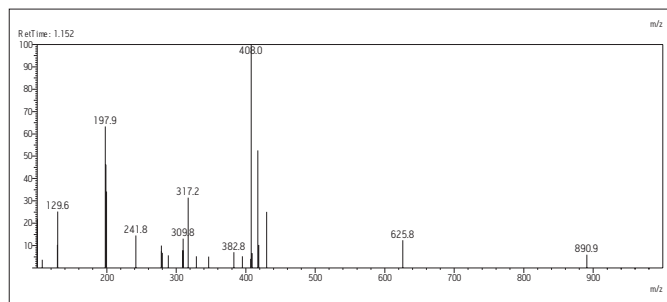


图4 上样步骤收集液+3mL甲醇清洗液进样质谱图

[应用纪要]

图5和图6为清洗步骤中收集液进样得到的液相色谱图和质谱图，从图中看出目标化合物在清洗过程中仍然吸附保留在小柱上，清洗除去反应过程中的过剩溶剂、催化剂和其他杂质。

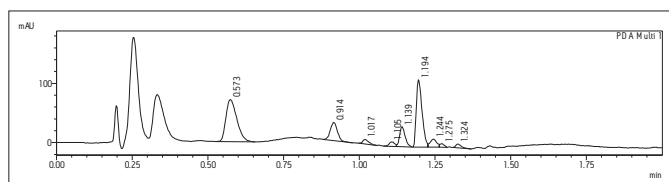


图5 清洗步骤收集液进样PDA色谱图

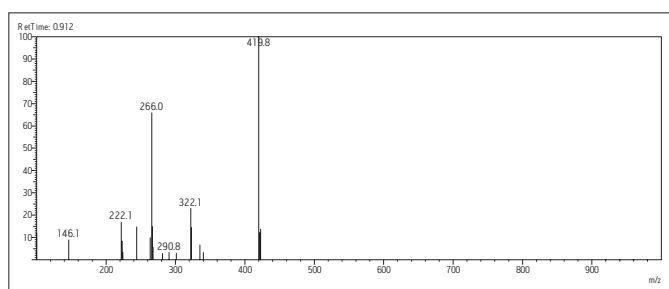


图6 清洗步骤收集液进样质谱图

图7和图8为10mL 5%氨化甲醇溶液洗脱步骤收集液的LC/MS分析，从PDA、ELSD和MS谱图中都可以看出，在溶液中只存在碱性目标化合物，保留时间为0.952min，质谱分子量为341.1，纯度可以达到98.8%。

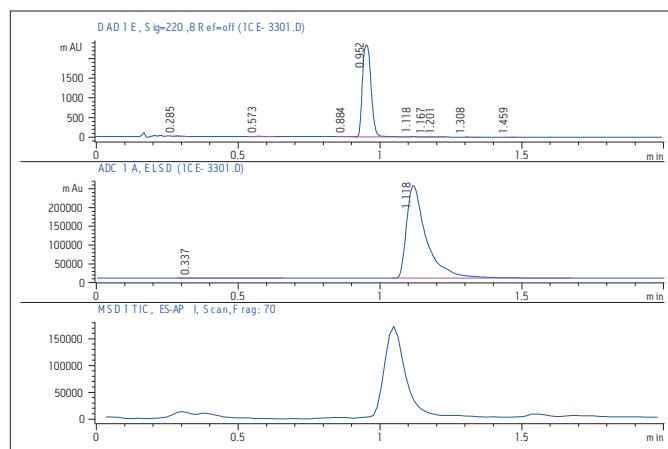


图7 洗脱步骤收集液PDA, ELSD, ES-API色谱图

Signal 1: DAD1 E, Sig=220,8 Ref=off

Peak#	RT [min]	Area	Height	Height %	Width [min]	Area %
1	0.285	15.366	8.650	0.364	0.028	0.309
2	0.573	10.370	5.180	0.218	0.030	0.209
3	0.884	10.367	5.118	0.215	0.028	0.209
4	0.952	4906.450	2337.395	98.401	0.033	98.803
5	1.118	10.312	6.893	0.290	0.023	0.208
6	1.167	3.996	3.704	0.156	0.016	0.080
7	1.201	3.445	2.997	0.126	0.017	0.069
8	1.308	2.528	2.246	0.095	0.017	0.051
9	1.459	3.071	3.207	0.135	0.015	0.062

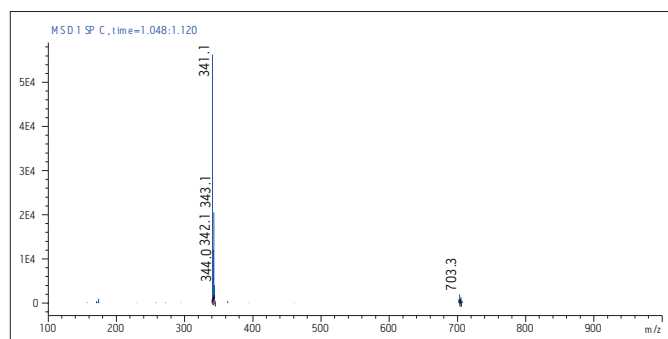


图8 洗脱步骤收集液质谱图

将最后得到的洗脱收集液浓缩得到32.3mg的纯净碱性化合物，理论计算应得34mg，经过PoraPak Rxn CX小柱的分离，我们得到了回收率高达95%的碱性目标化合物。

结论

本实验采用PoraPak Rxn CX小柱对有机合成反应中最常见的氨基酸缩合反应中的碱性化合物进行分离。PoraPak Rxn CX小柱能有效的转移有机合成反应中的高沸点溶剂，简单的方法即可清除中性和酸性等不相关杂质，分离得到纯度很高的碱性化合物。在有机合成反应中即节省了清除高沸点溶剂的时间，又高效的得到了纯度高达95%以上的碱性目标化合物，在有机合成领域可以有很广泛的应用。

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



Waters, ACQUITY UPLC, 和UPLC 是沃特世公司的注册商标。Empower和The Science of What's Possible是沃特世公司的商标。所有其它商标属于各自的所有者。

©2008 沃特世公司 中国印刷
2009年2月

沃特世中国有限公司
沃特世科技（上海）有限公司

北京：010-8586 8899
上海：021-6879 5888
广州：020-8626 6678
香港：852-2964 1800

免费售后服务热线：800(400)820 2676
www.waters.com