

薯蓣皂苷及两种衍生固定相的制备、表征及性能评价

谷晓娟¹, 张荷兰¹, 沈报春^{2*}

¹楚雄医药高等专科学校药理学系, 楚雄 675000;

²昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 昆明 650500

摘要:本研究采用“一锅法”, 制备薯蓣皂苷键合硅胶固定相(D), 苯基异氰酸酯、3,5-二甲苯基异氰酸酯分别对其衍生, 制备苯基异氰酸酯-薯蓣皂苷键合硅胶固定相(Phe-D)和3,5-二甲苯基异氰酸酯-薯蓣皂苷键合硅胶固定相(DMP-D)。采用元素分析、电镜、热重分析和红外光谱等手段对三种固定相进行结构表征。以苯同系物、多环芳烃等溶质为探针, 初步考察了三种新型固定相的色谱性能。结果表明薯蓣皂苷配体已键合至硅胶基质上, 根据元素分析结果, 按照含碳量计算得到D的表面键合量为152.61 μmol/g, Phe-D的表面键合量为140.68 μmol/g, DMP-D的表面键合量为151.97 μmol/g; 薯蓣皂苷及其衍生物固定相的反相色谱性能类似于十八烷基键合硅胶固定相(ODS), 分离原理与疏水性作用有关。该衍生化反应简便易行, 有望为薯蓣皂苷及其衍生物功能化色谱固定相的大规模制备提供方法学参考。

关键词:薯蓣皂苷; 键合硅胶固定相; 结构表征; 色谱性能评价

中图分类号: O657

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.8.029

Preparation, Characterization and Evaluation of Stationary Phases Prepared by Dioscin and Its Two Derivative Functionalized Silica Gel

GU Xiao-juan¹, ZHANG He-lan¹, SHEN Bao-chun^{2*}

¹Chuxiong Medical College, Chuxiong 675000, China; ²School of Pharmaceutical Science &

Yunnan Key Laboratory of Natural Products, Kunming Medical University, Yunnan 650500, China

Abstract: A kind of new stationary phase was prepared by one-pot reaction method which was dioscin bonded stationary phase(D), and two derivative stationary phases were prepared using phenyl isocyanate and 3,5-dimethyl phenyl isocyanate based on D, namely the phenyl isocyanate-dioscin bonded silica stationary phase(Phe-D) and the 3,5-dimethyl phenyl isocyanate-dioscin bonded silica stationary phase(DMP-D). Elemental analysis, scanning Electron Microscope (SEM), thermogravimetric Analysis and infrared spectroscopy were done to investigate the structural characteristics of dioscin and its derivative stationary phases. The results verified that the dioscin ligand has successfully bonded to the silica base material and the derivatization reactions had taken place properly. Benzene homologues and PAHs were used as solute probes to evaluate the chromatographic performance of three new stationary phases. The results showed that three new stationary phases had typical reversed-phase chromatographic performance, which were similar to the ODS, and the separation principle was related to hydrophobic effect. According to the results of elemental analysis, the surface bonding amount of D was 152.61 μmol/g, the phe-D was 140.68 μmol/g, and the DMP-D was 151.97 μmol/g. The bonding and derivatization methods were considered simple to apply, and provided the methodological reference for preparing stationary phases of dioscin and its two derivative functionalized silica gel on a large scale.

Key words: dioscin; bonded silica stationary phase; structural characteristics; chromatographic evaluation

高效液相色谱(HPLC)具有分离效能高、分离模式灵活和对药物及生化样品兼容性好等特点, 已

发展成为无机、有机、生化、环境、食品和药物分析等领域最活跃的分 离分析方法之一^[1,2]。作为色谱分离最为核心的影响因素, 新型键合固定相的设计、合成、性能、应用及分离机理研究一直是该领域的重要课题^[3]。

活性功能成分键合到硅胶基质表面, 可制备同时具有色谱功能和活性功能的固定相。1994年,

收稿日期: 2017-12-28 接受日期: 2018-03-16

基金项目: 国家自然科学基金(81102408); 省应用基础研究昆医联合专项(2017FE468(-172)); 昆明医科大学营养与食品安全科技创新团队(CXTD201603)

* 通信作者 E-mail: shen_baochun@126.com

Armstrong 等首次制备了具有抗菌活性的万古霉素等大环抗生素键合硅胶固定相^[4],被证明是一类非常有效的 HPLC 手性固定相^[5-7]。House 等^[8]将萝芙木生物碱育亨宾及其同系物的羟基通过氨基甲酸乙酯键合到硅胶表面,制备含中草药配基具有较高的手性识别能力的色谱固定相,连续申请了 5 个美国专利。李来生等以药用植物中的大蒜素、黄芩苷、姜黄素、大黄素、靛红和厚朴酚为配体,制备和评价了其色谱分离功能^[9-13]。沈报春等以天然产物人参皂苷 R_{g1}、薯蓣皂苷等为配体,制备了一系列天然产物键合硅胶固定相,并应用于三七总皂苷中皂苷的分离,以及氨基酸、氨基醇的对映体分离^[14-16]。与常用的 ODS 相比较,这类固定相除疏水作用外,还能为溶质提供氢键作用、 π - π 共轭作用和 n - π 超共轭作用等位点,对性质相似的水溶性和极性化合物有较高的分离选择性,具有快速分离等特点^[10]。由此可见,天然化合物独特的结构使其具有作为色谱配体的开发前景。

薯蓣皂苷(即重楼皂苷Ⅲ)属于甾体皂苷,主要存在于薯蓣科、蔷薇科、石竹科等植物的根茎中^[17]。现代研究证实其具有抗肿瘤、抗艾滋病、改善心血管功能、降血脂、抗血小板聚集、免疫调节等多种药理作用,化学结构见图 1,结构中存在活泼的羟基,为键合反应的顺利进行提供了有利的条件。薯蓣皂苷化学结构为平面刚性结构,有利于增大与平面溶质分子的有效作用面积,提高其立体选择性,含有多个羟基和双键,能与溶质产生氢键作用、偶极-偶极作用、 π - π 作用等多种作用;而且结构体积较大,在一定程度上能屏蔽固定相上残留的酸性硅醇基的影响,更有利于化合物的分离。

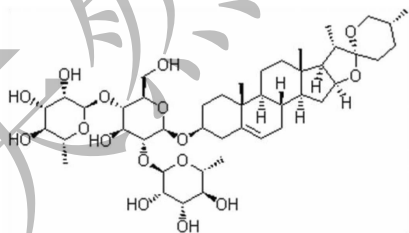


图 1 薯蓣皂苷结构式

Fig. 1 Structures of diosgenin

本研究以天然产物薯蓣皂苷作为配体,将其键合至硅胶上再进行衍生,得到三种新型固定相:薯蓣皂苷键合硅胶固定相(D)、苯基异氰酸酯-薯蓣皂苷键合硅胶固定相(Phe-D)和 3,5-二甲基苯基异氰酸

酯-薯蓣皂苷键合硅胶固定相(DMP-D);采用元素分析、电镜、红外光谱、热重分析等手段对三种固定相进行结构表征;并采用 Kimata 等^[18]提出的相关方法,评价三种固定相的基本色谱性能。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

安捷伦 1260 高效液相色谱仪,包括 G1322A 真空脱气机, G1312C 二元泵, G1329B 标准型自动进样器, G1316A 柱温箱, G1315D 检测器, Agilent 1200LC 色谱工作站;电子天平(BS224S):北京赛多利斯仪器系统有限公司;超声清洗仪(SK3200H):上海科导超声仪器有限公司;色谱柱:安捷伦 C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μ m)、自制苯基异氰酸酯-薯蓣皂苷键合硅胶色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μ m)、自制 3,5-二甲基苯基异氰酸酯-薯蓣皂苷键合硅胶色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μ m)。

甲醇(江苏汉邦科技有限公司,色谱纯);水(娃娃哈哈纯净水);硅胶(青岛美高化工有限公司,平均粒径 5 μ m,平均孔径 92 Å,比表面积 260 m²/g)。

1.2 实验方法

1.2.1 薯蓣皂苷及衍生固定相的合成

薯蓣皂苷固定相(D)的合成参见文献^[16]。

薯蓣皂苷固定相 3.0 g 分别与过量的苯基异氰酸酯和 3,5-二甲基苯基异氰酸酯在干燥的吡啶溶液中 120 $^{\circ}$ C 反应 2 h,冷却至室温。过滤,分别用吡啶、水、甲醇、丙酮、二氯甲烷洗涤,干燥得苯基异氰酸酯-薯蓣皂苷键合硅胶固定相(Phe-D)和 3,5-二甲基苯基异氰酸酯-薯蓣皂苷键合硅胶固定相(DMP-D)。

1.2.2 色谱柱的制备

将 3.30 g 固定相分散到 50 mL 氯仿:丙酮(1:1, v/v)溶液中,超声 5 min。以乙醇为顶替液,6 000 psi(约 4.15×10^7 Pa)压力下匀浆法装柱(250 mm × 4.6 mm)。

1.2.3 固定相的色谱性能评价

以甲醇-水为流动相平衡色谱柱,直至基线平稳。流动相流速为 0.4 mL/min,检测波长为 254 nm,柱温为 25 $^{\circ}$ C(另注明者除外)。溶质探针甲醇溶解,流动相稀释,配制成浓度为 50 ~ 250 mg/L 的溶液,0.45 μ m 微孔滤膜过滤,进样量 10 μ L,以溶剂峰的出峰时间为死时间(检测波长 203 nm),所有样品都至少被平行测定两次。

表 1 固定相的元素分析结果

Table 1 The results of stationary phase elemental analysis

固定相 Stationary phase	元素分析结果 Results of elemental analysis			
	C (%)	N (%)	H (%)	键合量 Bonding amount ($\mu\text{mol/g}$)
正相硅胶 Silica gel	0.190	0.358	0.378	-
硅烷化硅胶 Silanized silica gel	2.899	1.070	0.811	-
D	10.590	3.175	1.717	152.61
Phe-D	11.610	3.200	1.841	140.68
DMP-D	12.480	3.248	1.953	151.97

2 结果与讨论

2.1 固定相的结构表征

2.1.1 固定相的元素分析

固定相的元素分析结果见表 1。从表 1 可见,键合后,C、N、H 的含量均有所增加,说明薯蓣皂苷及其衍生化试剂均被成功键合到硅胶上。

2.1.2 固定相的电镜扫描分析

固定相的电子显微镜扫描结果见图 2。由图 2 可明显观察到键合前后硅胶颗粒的表层形态存在明显差异。键合前硅胶颗粒的表面光滑圆润,键合后硅胶颗粒表面变得粗糙不平,被一层物质覆盖。结合固定相的元素分析和热重分析可知,薯蓣皂苷及其衍生物已成功键合到硅胶上。

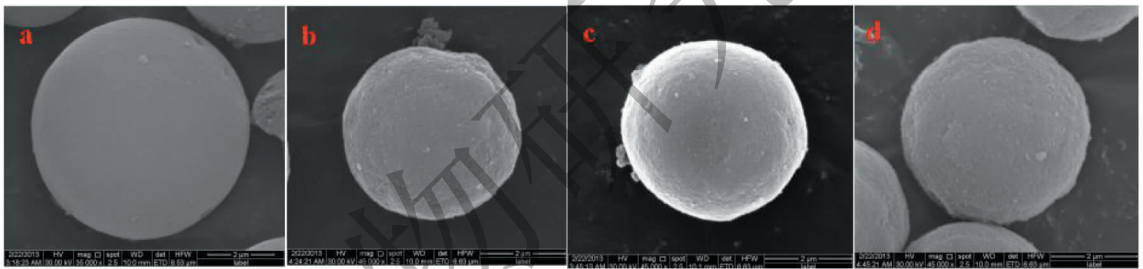


图 2 固定相的电镜扫描图

Fig. 2 The scanning electron microscope of stationary phase

注:a—正相硅胶;b—D;c—Phe-D;d—DMP-D。

Note: a—silica gel;b—D;c—Phe-D;d—DMP-D.

2.1.3 固定相的红外光谱分析

三种固定相的红外光谱结果见图 3。键合后硅胶的红外光谱数据与硅烷化硅胶相比, $\sim 2940\text{ cm}^{-1}$ 出现强吸收峰,归属为 C-H 伸缩振动,表明硅烷化硅胶表面键合上了有机物。Phe-D 和 DMP-D 在 $\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ 及 $\sim 1500\text{ cm}^{-1}$ 附近均有吸收峰,为苯环骨架(C=C)伸缩振动的重要特征峰,应该归因于苯基异氰酸酯及 3,5-二甲基苯基异氰酸酯的苯环结构。

2.1.4 固定相的热重分析

固定相的热重分析结果见图 4。在 $176\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右时,三种固定相均有明显的失重,说明硅胶表面的有机物随着温度的逐渐升高,有机物分解,产生失重。但三种固定相均在温度达到 $175\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以后才开始失

重,出现失重时温度较高,说明自制固定相有较好的热稳定性和化学稳定性,这为稳定的色谱性能奠定了基础。

2.2 固定相的色谱性能评价

2.2.1 柱效与稳定性考察

柱效是色谱柱重要的分离指标,与测试条件和溶质的选择有关。本研究选用常见的联苯为溶质探针,甲醇-水(65:35, v/v)为流动相,流速为 0.4 mL/min ,测得理论塔板数 D 为 4 558 块/米, Phe-D 为 4 776 块/米, DMP-D 为 5 028 块/米。色谱柱的柱效偏低,可能与硅胶基质、封尾处理和筒易装填等因素有关。采用甲醇交替冲洗(一个月),发现联苯保留时间变化很小,说明该固定相上薯蓣皂苷配体及其衍生试剂在流动相中是稳定的,色谱保留重现性好。

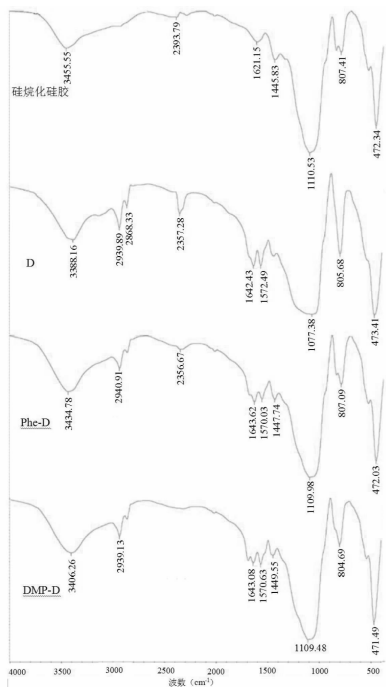


图3 固定相的红外光谱图

Fig. 3 The infrared spectrum of stationary phases

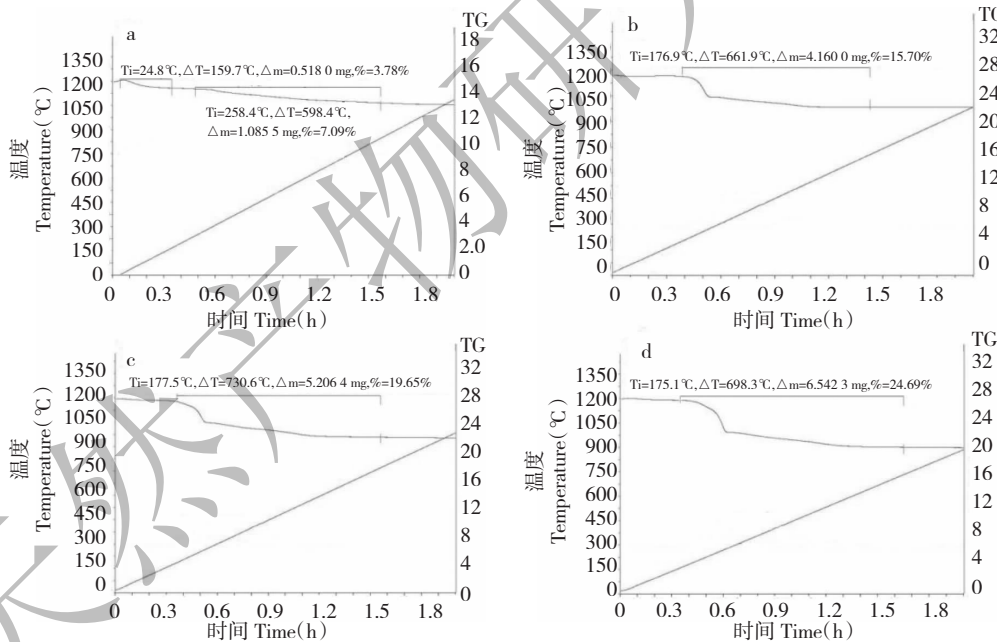


图4 固定相的热重分析图谱

Fig. 4 The thermogravimetric analysis graph of stationary phase

注: a—正相硅胶; b—D; c—Phe-D; d—DMP-D

Note: a—silica gel; b—D; c—Phe-D; d—DMP-D

2.2.2 疏水性考察

2.2.2.1 对苯的同系物的分离

固定相的疏水性大小常用疏水选择性因子 α 值来衡量,它与色谱上相邻同系物的保留因子 k' 间存在的关系如下^[18]:

$$\text{Log}K' = Pn + q \text{ 和 } \alpha = \frac{k'_{n+1}}{k'_n} = 10^p$$

其中, α 为疏水选择性因子, n 是同系物烷基链中的亚甲基数, p 是线性关系的斜率。一般通过苯的同系物如正丙苯、正丁苯、戊苯等探针来评价。

本文以正丙苯、正丁苯和戊苯为溶质探针,考察三种固定相对苯的同系物的分离能力,进而探讨固定相的疏水性,结果见图5。在甲醇-水(60:40, v/v)流动相中,苯同系物的 $\text{Log} K'$ 与 n (n 是同系物烷基链中的亚甲基数)之间具有良好的线性关系,符合碳数规律。相同条件下,三种薯蓣皂苷固定相与 ODS 柱在分离苯的同系物时,各物质的出峰顺序均相同,说明薯蓣皂苷及其衍生固定相在分离非极性化合物时,表现出典型的反相色谱特性,其分离原理

主要基于疏水作用。三种固定相的疏水性从弱到强依次为 D、Phe-D、DMP-D,这是键合相上逐步增加了疏水基团,非极性区域面积逐渐增大的缘故。

2.2.2.2 对多环芳烃的分离

以苯、甲苯、二甲苯、萘、联苯、芴、荧蒹为溶质探针,考察三种固定相对多环芳烃的分离能力(色谱图见图6),进而探讨固定相的色谱性能,结果见表2。在甲醇-水(60:40, v/v)流动相条件下,七种芳香

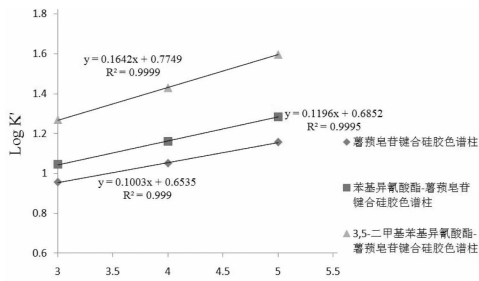


图5 烷基苯的 $\log k'$ 与亚甲基数 (n) 在三种薯蓣皂苷类色谱柱上的线性关系

Fig. 5 The linear relation of alkyl benzene's $\log k'$ and number of methylene (n) on three new dioscin chromatographic columns

表2 7种多环芳烃在自制色谱柱和 ODS 上的保留行为的比较

Table 2 The retention comparison of 7 kinds of aromatic hydrocarbons on self-made chromatographic columns and ODS

溶质 Solute	Log k'			
	D	Phe-D	DMP-D	ODS
苯 Benzene	0.743 0	0.778 0	0.882 9	1.064 0
甲苯 Toluene	0.811 9	0.864 2	1.007 6	1.315 7
二甲苯 Xylene	0.887 3	0.956 8	1.139 7	1.512 7
萘 Naphthalene	1.083 0	1.153 1	1.358 4	1.537 9
联苯 Biphenyl	1.174 1	1.276 2	1.531 0	1.749 7
芴 Fluorene	1.318 3	1.420 6	1.709 3	-
荧蒹 Fluoranthene	1.697 4	1.793 2	-	-

注:流动相:甲醇-水(60:40),流速:0.4 mL/min,UV:254 nm;“-”表示溶质在 200 min 内不能被洗脱出来。

Note: mobile phase: methanol-water(60:40), flow rate: 0.4 mL/min, UV:254 nm;“-” means the solute can not be eluted in 200 min.

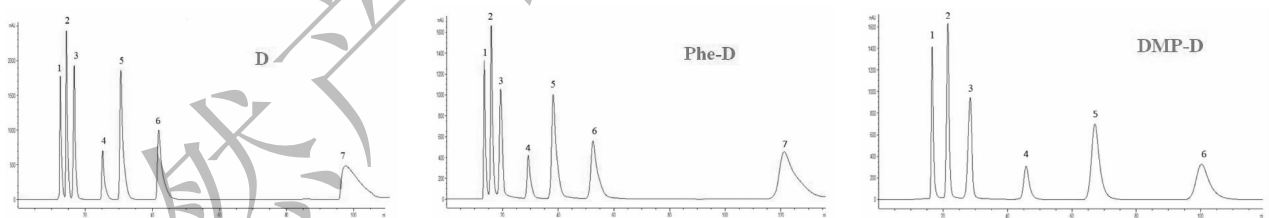


图6 7种芳香族烃类化合物在自制色谱柱上的分离色谱图

Fig. 6 The chromatograms of 7 kinds of aromatic hydrocarbons on self-made chromatographic columns

2.2.3 基本色谱性能评价

由于固定相的种类繁多及其配体结构和性质的差异较大,从原理上说,不同类型的色谱固定相适用不同的评价体系^[18-20]。1989年, Kimata等^[18]以基于溶质探针对保留值变化,建立用于评价色谱柱基本色谱性能的方法(表3),该方法简便有效,是目前采用较多的评价方法之一。本论文基于自制色谱柱反相色谱主要特征,采用了上述评价方法,实验结果

烃在自制色谱柱和 ODS 上的出峰顺序一致。随着流动相中甲醇含量的增加,溶质保留值迅速减小,进一步说明薯蓣皂苷及其衍生固定相本质上是一种反相色谱分离材料,其在分离非极性化合物时,主要基于疏水作用。在反相色谱中使用商业化 ODS 柱洗脱强保留物质时,一般采用延长分析时间、较高比例有机相流动相和梯度洗脱等方法;而采用自制的色谱柱,则可以采用较低比例有机相流动相在较短时间内将这些强保留物质等度洗脱出来,既节约了分析时间,又减少了有机溶剂的使用,降低环境污染,而且可以避免梯度洗脱时产生的色谱图基线漂移现象,保证测试结果的重现性。

见表4,同时列出了几种商业 RP-C₁₈(ODS)的相关数据,便于反相柱间对照分析^[18]。

2.2.3.1 烷基链的量

薯蓣皂苷及其衍生固定相的 K_{AB}' 比表中其他商品化 ODS 固定相都要低。因为 ODS 柱是十八烷基硅烷键合硅胶填料,属长链烷基键合相,且采用活性很强的十八烷基氯硅烷制备,键合量较高,因此其具有较高的烷基链的量。

表3 常用液相色谱固定相的基本色谱性能评价方法

Table 3 The basic chromatographic performance evaluation methods for commonly used liquid chromatographic stationary phase

测定参数 Measurement parameters	测定对象 Measurement object 流动相条件 Mobile phase condition	评价的色谱性能 Chromatographic performance evaluation
K'_{AB}	K' (戊苯 Amylbenzene) 80% CH ₃ OH	烷基链的量 Quantity of alkyl chain
$\alpha_{(CH_2)}$	K' (戊苯 Amylbenzene)/ K' (丁苯 Butylbenzene) 80% CH ₃ OH	疏水作用 Hydrophobic interaction
$\alpha_{T/O}$	K' (三苯苯 Triphenylene)/ K' (邻联三苯 Prtho-terphenyl) 80% CH ₃ OH	立体选择性 Stereoselectivity
$\alpha_{C/P}$	K' (咖啡因 Caffeine)/ K' (苯酚 Phenol) 30% CH ₃ OH	氢键作用 Hydrogen bonding
$\alpha_{A/P}$	K' (苯胺 Benzylamine)/ K' (苯酚 Phenol) 30% CH ₃ OH, PH7.6 *	pH > 7 时的离子交换能力 pH > 7 Ion exchange capacity
$\alpha_{A/P}$	K' (苯胺 Benzylamine)/ K' (苯酚 Phenol) 30% CH ₃ OH, PH2.7 *	pH < 3 时的离子交换能力 pH < 3 Ion exchange capacity

表4 自制色谱柱和常用 C₁₈柱的主要色谱性能参数对比

Table 4 The contrast of main chromatographic performance parameters for self-made chromatographic columns and ODS

色谱柱 Chromatographic column	K_{AB}'	$\alpha_{(CH_2)}$	$\alpha_{T/O}$	$\alpha_{C/P}$	$\alpha_{A/P}$ (pH > 7)	$\alpha_{A/P}$ (pH < 3)
D	0.61	1.05	2.93	0.29	0.17	0.14
Phe-D	0.66	1.07	2.61	0.41	0.15	0.14
DMP-D	0.80	1.13	3.57	0.38	0.14	0.12
安捷伦 C ₁₈ (Agilent C ₁₈)	6.09	1.55	1.77	0.53	0.63	0.23
* Nucleosil300-7C ₁₈	2.05	1.49	1.94	0.66	0.62	0.03
* μ Bondapak C ₁₈	3.29	1.43	1.24	0.72	0.55	0.11
* LlehosorbRP-18	5.14	1.48	1.81	0.80	2.13	0.74
* Cosmosil5 C ₁₈ -P	3.61	1.43	1.22	0.76	0.26	0.05
* Hypersil ODS	4.16	1.46	1.75	1.29	2.49	1.43
* ZorbaxBP-ODS	9.30	1.52	1.58	0.46	0.74	0.15

2.2.3.2 疏水性

薯蓣皂苷及其衍生固定相的 $\alpha_{(CH_2)}$ 与 ODS 相差较小,说明薯蓣皂苷及其衍生固定相具有一定的疏水性。因此可以预见,该系列固定相在反相色谱条件下分离化合物时,疏水作用将对分离起重要影响。

2.2.3.3 立体选择性

薯蓣皂苷及其衍生固定相的 $\alpha_{T/O}$ 远远大于各商品化的 ODS 柱,说明薯蓣皂苷及其衍生固定相显示出较强的立体选择性。这主要得益于薯蓣皂苷配体具有一定的空间效应,能与溶质之间形成 π - π 、氢键、体积排阻等具有方向性的空间识别作用,且平面刚性较好,从而增进了该类固定相的分离选择性,使得薯蓣皂苷及其衍生固定相具备良好的立体选择性。

2.2.3.4 氢键作用

薯蓣皂苷及其衍生固定相的 $\alpha_{C/P}$ 与商品化 ODS 柱相比相对较小。虽然薯蓣皂苷中含有较多的糖羟基,但是由于空间位阻较大,与溶质间形成氢键的难度增加。

2.2.3.5 离子交换作用

$\alpha_{A/P}$ (pH > 7) 和 $\alpha_{A/P}$ (pH < 3) 的离子交换能力来源有所不同,前者不仅包括配体的离子交换能力,同时已电离的硅醇羟基也有贡献。薯蓣皂苷及其衍生固定的 $\alpha_{A/P}$ (pH > 7) 和 $\alpha_{A/P}$ (pH < 3) 相近,说明薯蓣皂苷及其衍生固定相具有一定的离子交换作用能力,也暗示薯蓣皂苷配体能较好地屏蔽表面残存的硅醇羟基,抑制硅胶基质上的负面的离子交换效

应,这主要得益于薯蓣皂苷配体的多种作用及其分子的平面刚性结构,分子体积较大,对硅胶表面残余的羟基起到了很好的屏蔽作用。硅醇羟基活性的抑制,有助于该类固定相在分离极性化合物,如碱性化合物时,保持良好的色谱峰型,不仅有利于进行定性分析与定量分析,而且在制备级色谱中将更有优势。

综上所述,与广谱型 ODS 固定相相比,薯蓣皂苷及其衍生固定相,疏水性和氢键作用较弱,但立体选择性优于 ODS,在位置异构体的分离中有较好的效果。薯蓣皂苷及其衍生固定相具有丰富的作用位点,能与溶质发生较强的 π - π 和 n - π 电荷转移等作用,可以解决仅仅基于疏水作用分离的 C_{18} 柱难以解决的问题,比如疏水性太强或者太弱的溶质,在 ODS 中保留时间过短或过长,分离选择性有限等。所以薯蓣皂苷配体的分子结构适合做色谱配体。

3 结论

采用“一锅法”以天然植物药用成分薯蓣皂苷为配体,制备出三种新型固定相,通过元素分析、电镜扫描、热重分析、红外光谱分析,对 D、Phe-D、DMP-D 进行结构表征,确认薯蓣皂苷配体以及相应的衍生试剂已成功键合到硅胶表面。根据元素分析结果,按照含碳量计算得到 D 的表面键合量为 $152.61 \mu\text{mol/g}$, Phe-D 的表面键合量为 $140.68 \mu\text{mol/g}$, DMP-D 的表面键合量为 $151.97 \mu\text{mol/g}$ 。根据热重分析结果可知,新制备的固定相具备良好的热稳定性和化学稳定性。从固定相的基本色谱性能评价结果可知,D、Phe-D、DMP-D 的烷基链的量依次增大,疏水作用依次增强,pH > 7 和 pH < 3 时的离子交换能力依次减小;立体选择性从强到弱依次为 DMP-D、D、Phe-D;氢键作用从强到弱依次为 Phe-D、DMP-D、D。薯蓣皂苷的天然结构为它的色谱应用创造了条件,其色谱功能的开发具有广阔的前景,如天然产物的分离及手性化合物的拆分等。本研究为三种固定相后续的应用奠定了基础。

参考文献

- 1 Snyder LR, Kirkland J, Glajeh JL. Practical HPLC method development [J]. *John Wiley & Sons Inc*, 1997, 30(5): 67-70.
- 2 Zou HF(邹汉法), Zhang YK(张玉奎), Lu PZ(卢佩章). HPLC(高效液相色谱法) [M]. Beijing: Science Press, 1998: 79-125.
- 3 Li LS(李来生), Chen XQ(陈雄泉), Yang HR(杨汉荣),

- et al.* Preparation and characterization of a baicalin-bonded stationary phase for high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Anal Chem*(分析化学), 2007, 35: 1279-1284.
- 4 Armstrong DW, Tang YB, Chen SS, *et al.* Macrocyclic antibiotics as a new class of chiral selectors for liquid chromatography [J]. *Anal Chem*, 1994, 66: 1473-1484.
- 5 Ekborg-Ott KH, Armstrong DW. Evaluation of the concentration and enantiomeric purity of selected free amino acids in fermented malt beverages (beers) [J]. *Chirality*, 1996, 8(1): 49-57.
- 6 Ekborg-Ott KH, Liu Y, Armstrong DW. Highly enantioselective HPLC separations using the covalently bonded macrocyclic antibiotic, ristocetin A, chiral stationary phase [J]. *Chirality*, 1998, 10: 434.
- 7 Ekborg-Ott KH, Kullman JP, Wang X, *et al.* Evaluation of the macrocyclic antibiotic avoparcin as a new chiral selector for HPLC [J]. *Chirality*, 1998, 10: 627.
- 8 House David W. Chiral stationary phase based on yohimbine [P]. US6132606, 2000-10-17.
- 9 Liu MF(刘妙芬), Li LS(李来生), Yang HR(杨汉荣). Study on the preparation and evaluation of a thioether-bonded silica gel stationary phase via bisalkoxysilyl coupling reagent for HPLC [J]. *Chin J Anal Lab*(分析实验室), 2009, 28(4): 1-5.
- 10 Chen HM(陈会明), Li LS(李来生), Ma HP(马海萍), *et al.* Study on the preparation of emodin-bonded silica stationary phase and its application in separation of nucleoside bases by HPLC [J]. *Chin J Anal Lab*(分析实验室), 2010, 29(3): 14-18
- 11 Li LS(李来生), Chen H(陈红), Ma HP(马海萍), *et al.* Preparation, characterization and evaluation of the magnolol bonded silica gel liquid chromatography stationary phase [J]. *Chem J Chinese U*(高等学校化学学报), 2012, 33: 707-713.
- 12 Zhou RD(周仁丹), Li LS(李来生), Cheng BP(程彪平), *et al.* Preparation and evaluation of a novel boiss (β -cyclodextrin)-bonded SBA-15 chiral stationary phase for HPLC [J]. *Acta Chimica Sinica*(化学学报), 2014, 72: 720-730.
- 13 Zhou RD(周仁丹), Li LS(李来生), Cheng BP(程彪平), *et al.* Preparation and evaluation of a new nitroaniline derivative (β -cyclodextrin)-bonded SBA-15 chiral stationary phase for HPLC [J]. *Chem J Chinese U*(高等学校化学学报), 2014, 35: 1152-1160.
- 14 Gu XJ(谷晓娟), Han YQ(韩亚琼), Shen BC(沈报春), *et al.* Preparation, characterization and application of ginsenoside Rg1-bonded silica gel stationary phase (II) [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2014, 26: 824-829.