2026 年 10 月 色 谱 Vol.44 No.10
October 2026 Chinese Journal of Chromatography 1212～1222

研究论文 DOI：10.3724/SP.J.1123.2026.01017

[2+4]型手性多孔有机笼 Pim 高效液相色谱固定相的制备及其手性拆分性能评价

陈 春，巩亚楠，王帮进，谢生明，章俊辉*，袁黎明*

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

摘要：多孔有机笼（POCs）是一类由分立的三维笼状分子通过分子间作用组装形成的新型多孔材料，具有良好的溶解性和独特的多孔结构，在气体吸附、分子识别、分离、催化、传感等领域展现出良好的应用前景。本文以酚酞为底物，三氟乙酸和六次甲基四胺为甲酰化试剂，由 Duff 反应合成了基于酚酞的四醛基化合物，再与（1*R*，2*R*）-（-）-1，2-环己二胺通过亚胺缩合反应合成了一种基于酚酞的[2+4]型手性亚胺多孔有机笼（Pim，$C_{72}H_{68}N_8O_8$）。将合成的 Pim 用 5-溴-1-戊烯修饰烯基功能化后与巯基硅胶通过巯基-烯点击反应制得了一种新型高效液相色谱（HPLC）手性固定相（CSP），并评价了其在正相高效液相色谱（NP-HPLC）和反相高效液相色谱（RP-HPLC）分离模式下的手性拆分性能。结果表明，该 CSP 填充的 Pim 柱在 NP-HPLC 和 RP-HPLC 分离模式下均表现出良好的手性分离性能。其中，在 NP-HPLC 分离模式下成功拆分了 10 种外消旋体，在 RP-HPLC 分离模式下成功拆分了 9 种外消旋体。所制备的 Pim 柱与两种广泛使用的 Chiralpak AD-H 和 Chiralcel OD-H 商品柱具有良好的手性拆分互补性，能拆分这两种商品柱不能拆分或拆分效果不理想的一些手性化合物。此外，所制备的 Pim 柱还具有良好的分离重复性和稳定性。历经数百次进样使用后，其对外消旋体拆分的保留时间和分离度与柱使用之初相比无明显变化，相对标准偏差（RSD，n=5）分别≤1.50% 和≤1.92%；在柱放置保存 1 个月后，其分离效果与柱使用之初的分离效果也无显著改变，保留时间和分离度的 RSD（n=3）分别≤1.88% 和≤2.26%。本研究证明手性 POC Pim 是一种良好的 HPLC 手性分离材料，为基于 POCs 的新型 HPLC 手性固定相的开发提供了重要的理论与实验依据，也对拓展 POCs 类 CSPs 具有重要意义。

关键词：高效液相色谱；手性固定相；对映体分离；手性多孔有机笼

中图分类号：O658 **文献标识码**：A

Preparation and chiral separation performance evaluation of a high performance liquid chromatography stationary phase based on a [2+4]-type chiral porous organic cage Pim

CHEN Chun, GONG Yanan, WANG Bangjin, XIE Shengming, 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: Porous organic cages (POCs) represent a class of emerging porous materials assembled from discrete three-dimensional cage-like molecules via intermolecular interactions. Owing to their good solubility and unique pore structures, they show great potential in gas adsorption, molecular recognition, separation, catalysis, and sensing. In this study, a phenolphthalein-based tetraaldehyde compound was synthesized via the Duff reaction using phenolphthalein as the substrate and trifluoroacetic acid (TFA) combined with hexamethylenetetramine (HMTA) as the formylation reagent. Subsequently, a [2+4]-type chiral imine POC, Pim ($C_{72}H_{68}N_8O_8$), was constructed by reacting the

收稿日期：2026-01-22

* **通信联系人**. E-mail：zjh19861202@126.com（章俊辉）；E-mail：yuan_limingpd@126.com（袁黎明）.

基金项目：国家自然科学基金项目（22564021，22364022，22174125）.

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (Nos. 22564021, 22364022, 22174125).

tetraaldehyde precursor with (1*R*,2*R*)-(−)-1,2-diaminocyclohexane via imine condensation. The synthesized Pim was functionalized with alkenyl groups using 5-bromo-1-pentene and then immobilized onto thiol-modified silica via thiol-ene click chemistry to afford a novel chiral stationary phase (CSP) for high performance liquid chromatography (HPLC). The successful syntheses of tetraaldehyde compound, Pim, and CSP were characterized by nuclear magnetic resonance (NMR), fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS), thermogravimetric analysis (TGA), and elemental analysis (EA). The chiral separation performance of this CSP was evaluated under both normal-phase (NP) and reversed-phase (RP) HPLC separation modes. The results demonstrated that the CSP exhibits excellent chiral separation capabilities in both two separation modes. Under NP-HPLC conditions, ten racemates were resolved, including five with baseline separation. Under RP-HPLC conditions, nine racemates were resolved, of which eight achieved baseline separation. Furthermore, this CSP exhibits good chiral separation complementarity with two widely used commercial columns, Chiralpak AD-H and Chiralcel OD-H, showing the ability to resolve some chiral compounds that cannot be resolved or are poorly resolved by the two commercial columns. The effects of analyte injection mass and column temperature on chiral separation performance of the column were also investigated. Additionally, the prepared HPLC column exhibits good repeatability and stability. After hundreds of injections, no significant changes were observed in the retention times and resolutions compared to its initial performance, with relative standard deviations (RSDs, n=5) of ≤1.50% and ≤1.92%, respectively. Meanwhile, after the column was placed and stored for one month, its separation performance showed no significant change compared with that at the initial stage of column use, and the RSDs (n=3) of retention time and resolution were ≤1.88% and ≤2.26%, respectively. This study confirms that the chiral POC Pim is a promising material for HPLC chiral separation, providing significant theoretical and experimental support for the development of novel POC-based CSPs and holding great significance for expanding the POC-based CSPs.

Keywords: high performance liquid chromatography (HPLC); chiral stationary phase (CSP); enantioseparation; chiral porous organic cage

由于同一手性化合物的两个对映体在生物体内的药理活性、代谢途径及毒性等方面可能表现出显著差异，甚至会表现出完全相反的作用效果，因此通过手性分离获取单一构型对映体在生物医药、有机合成、农业化学、食品科学等领域具有重要的意义[1-3]。在当前应用的各种手性分离方法中，基于手性固定相(CSP)的高效液相色谱(HPLC)法因其具有分离效率高和适用性广等优点，被公认为是手性分离的主流方法之一[4,5]。CSP的综合性能直接决定了手性分离的选择性与分离效率，因此研究高性能新型CSP也是该方法的研究核心，并引起了极大的研究兴趣。近年来，以金属有机框架(MOFs)[6-9]、共价有机框架(COFs)[10-13]及微孔有机网络聚合物(MONs)[14]为代表的多孔材料凭借其具有的高比表面积、明确规整的多孔结构以及优良的主-客体识别特性，被广泛用作固定相用于色谱分离研究。

多孔有机笼(POCs)是由两种及以上有机构筑单元经亚胺缩合或硼酸酯缩合或烯/炔烃复分解等反应合成的分立三维笼状分子通过分子间作用力

引用本文：陈春，巩亚楠，王帮进，谢生明，章俊辉，袁黎明. [2+4]型手性多孔有机笼Pim高效液相色谱固定相的制备及其手性拆分性能评价. 色谱，2026，44(10)：1212-1222.
CHEN Chun, GONG Yanan, WANG Bangjin, XIE Shengming, ZHANG Junhui, YUAN Liming. Preparation and chiral separation performance evaluation of a high performance liquid chromatography stationary phase based on a [2+4]-type chiral porous organic cage Pim. Chinese Journal of Chromatography, 2026, 44(10): 1212-1222.

组装形成的一类新型多孔固体材料[15-17]。与MOFs、COFs、MONs等多孔框架材料相比，POCs是借助较弱的分子间作用力而非强配位键或共价键将分立的笼状分子组装形成多孔固体，其典型特点是具有良好的溶解性，因此POCs溶解形成溶液后更易于结构修饰、化学键合、制备多孔复合材料、涂敷成膜等[18]。另外，POCs不但具有笼状分子的分子内固有空腔，而且分立的笼分子间不紧密的组装还能形成多样的外部堆积孔隙结构。由于POCs的这些特性，近些年来其在气体吸附[19,20]、分子识别[21,22]、分离[23]、催化[24]、荧光传感[25]、生物医药[26]等领域被广泛研究和应用。POCs也是一类极具潜力的色谱分离材料。2015年，本课题组将一种手性POC（CC3-R）作为固定相涂覆制备了毛细管气相色谱（GC）柱，实现了50多种外消旋体的高效拆分[27]，并与商品β-DEX 120毛细管GC柱进行了对比，可拆分β-DEX 120柱不能拆分的许多外消旋体，表明其优异的GC手性拆分性能和良好的应用前景。随后，一些不同结构和孔径的手性POCs（如CC9、CC10、NC1-R等）也相继被研究作为GC手性固定相[28-31]，并展现出优秀的手性拆分性能。相比之下，POCs在HPLC中的应用研究相对较晚，其原因是POCs具有良好的溶解性和低骨架密度，通常需要化学键合于硅胶基质上制备HPLC手性固定相，而合成含-OH、-NH_2、-COOH等可用于化学修饰或键合的活性官能团的手性POCs存在很大挑战性。直到2022年，我们将一种含-OH官能团的手性POC NC1-R通过化学键合于巯基硅胶上制备了CSP用于HPLC手性分离，证实了POCs作为HPLC手性固定相的潜在应用价值[32]。此后，RCC2-S[33]、CC19-R[34]、CC3-R[35,36]等手性POCs也被研究用于HPLC手性分离。然而，目前将手性POCs用于HPLC手性分离的研究仍然有限。研究具有不同手性识别位点、空腔微环境及拓扑结构的手性POCs用于HPLC手性分离，对丰富和发展基于POCs的新型HPLC手性固定相仍然具有重要的科学意义与应用价值。

本研究首先以酚酞作为反应底物，三氟乙酸和六次甲基四胺为甲酰化试剂，经Duff反应合成了一种基于酚酞的四醛基化合物。随后，将该四醛基化合物与（1*R*,2*R*）-（-）-1,2-环己二胺通过亚胺缩合反应制备得到了基于酚酞的[2+4]型手性亚胺POC Pim。将合成的Pim烯基功能化修饰后通过巯基-烯点击反应策略键合在巯基化硅胶表面制备了HPLC手性固定相，评价了其在正相高效液相色谱（NP-HPLC）和反相高效液相色谱（RP-HPLC）分离模式下对外消旋体的手性拆分性能，并与商品Chiralcel OD-H和Chiralpak AD-H手性柱进行了对比。除此之外，还探讨了柱温和进样量对手性分离效果的影响，并评价了柱的重复性和稳定性。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂和材料

LC-16高效液相色谱仪（日本Shimadzu公司）；1666型高效液相色谱装柱机（美国Alltech公司）；Avance NEO 500 MHz核磁共振波谱仪（NMR，德国Bruker公司）；Nicolet iS10傅里叶红外光谱仪（FT-IR）、LTQ-Orbitrap XL电喷雾电离质谱仪（ESI-MS，美国Thermo Fisher公司）；SDT-650热重分析仪（TGA，美国Taber公司）；Vario EL Ⅲ元素分析仪（EA，德国Elementar公司）。

酚酞（纯度≥99%）购自上海Aladdin生化科技股份有限公司；5-溴-1-戊烯（纯度≥99%）、（3-巯基丙基）三甲氧基硅烷（纯度≥98%）、偶氮二异丁腈（AIBN，纯度≥98%）、三乙胺（纯度≥99%）、氢化钠（NaH，纯度60%）、六次甲基四胺（HMTA，纯度≥99%）、（1*R*,2*R*）-（-）-1,2-环己二胺（纯度≥99%）和三氟乙酸（TFA，纯度≥99%）购自上海Adamas-beta试剂公司；盐酸（纯度≥36%）、甲苯（纯度≥99.5%）、吡啶（纯度≥99%）、乙醇（EtOH，纯度≥99%）、二氯甲烷（CH_2Cl_2，纯度≥99.5%）、丙酮（纯度≥99.5%）和三氯甲烷（$CHCl_3$，纯度≥99%）购自天津风船化学试剂科技有限公司；HPLC级正己烷（*n*-HEX）、异丙醇（2-PrOH）、甲醇（MeOH）和乙腈（MeCN）购自上海Sigma-Aldrich公司；外消旋体（纯度≥98%）购自上海Adamas-beta试剂公司、Sigma-Aldrich公司、TCI公司及Aladdin生化科技股份有限公司；硅胶（5 μm，比表面积300 m^2/g）购自苏州纳微科技有限公司；Chiralpak AD-H色谱柱（250 mm×4.6 mm）和Chiralcel OD-H色谱柱（250 mm×4.6 mm）购自上海大赛璐药物手性技术有限公司；HPLC空柱（250 mm×2.1 mm）购自大连日普利科技仪器有限公司。

1.2 实验过程

1.2.1 [2+4]型手性POC Pim的合成

[2+4]型手性POC Pim的合成参考文献[37]，合成流程见图1。在氮气保护下，向25 mL TFA溶

液中加入酚酞（2.38 g，7.48 mmol）和 HMTA（15.75 g，11.22 mmol），随后将反应体系升温至 100 ℃，搅拌回流反应 48 h。反应结束后，待体系冷却至室温，向其中缓慢加入 150 mL 浓度为 4 mol/L 的盐酸溶液，继续在 100 ℃条件下回流 2 h。冷却至室温后，采用真空抽滤对反应混合物进行分离，得到黄色固体粉末，通过柱色谱（CH_2Cl_2-MeOH，10∶1，体积比）纯化获得基于酚酞的四醛基化合物 1。

将上述制得的四醛基化合物 1（0.30 g，0.70 mmol）溶解于 150 mL MeCN 中，另取（1*R*，2*R*）-（-）-1，2-环己二胺（0.16 g，1.40 mmol）溶解于 60 mL EtOH 中。将这两种溶液充分混合后，在 N_2 保护下 70 ℃回流反应 24 h。反应结束后冷却至室温，通过过滤收集反应生成的黄色固体产物，并用 MeCN 洗涤，干燥，最终得黄色固体为[2+4]型手性 POC Pim。

1.2.2　CSP 的制备

通过巯基-烯点击反应将所合成的[2+4]型手性 POC Pim 化学键合于巯基化硅胶表面制备高效液相色谱 CSP，具体制备路线如图 2 所示。首先参照文献[34，38]报道的方法制备巯基化硅胶（SiO_2-SH）。然后，用 5-溴-1-戊烯对手性 Pim 进行烯基功能化，具体过程如下：在 N_2 保护下，向 100 mL 双颈圆底烧瓶中依次加入 NaH（0.6 g）和 30 mL 无水 $CHCl_3$，并将烧瓶置于 0 ℃冰浴中搅拌 20 min。通过恒压滴液漏斗逐滴加入 20 mL 预先溶解有手性 Pim（0.62 g，0.53 mmol）的无水 $CHCl_3$ 溶液，滴加完毕后继续在 0 ℃冰浴下搅拌 30 min，再加入 1.4 mL 5-溴-1-戊烯，体系升温至 60 ℃搅拌回流 72 h。反应结束后，向体系中加入 30 mL 去离子水，分液得有机相，再用 30 mL $CHCl_3$ 对水相进行 3 次重复萃取，合并所有收集的有机相。向收集的有机相中加入无水 $MgSO_4$ 进行干燥处理，抽滤，滤液旋蒸除去溶剂，所得的固体用正己烷反复洗涤数次，最后在 60 ℃真空条件下干燥 12 h，即得到烯基功能化修饰的手性 Pim 产物。

同样在 N_2 氛围下，向 100 mL 圆底烧瓶中加入上述制得的烯基功能化修饰的手性 Pim（0.5 g）、SiO_2-SH（0.98 g）、AIBN（0.08 g）和 50 mL MeOH，缓慢升温至 60 ℃搅拌回流反应 3 天。反应结束后，抽滤，得到的固体产物依次用 MeOH 和丙酮进行多次洗涤，然后在 100 ℃真空干燥箱中干燥 18 h，得到 CSP。

1.2.3　色谱柱的填充和 HPLC 条件

称取 1.2 g 制备的 CSP 置于烧杯中，加入 30 mL *n*-HEX-2-PrOH（90∶10，体积比），通过超声处理使其均匀分散在溶剂中制得匀浆液。以相同配比

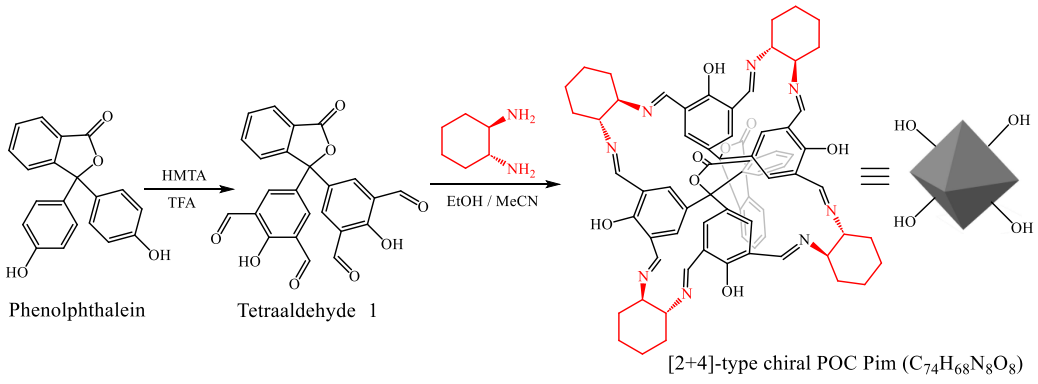


图 1　[2+4]型手性 POC Pim 的合成

Fig. 1　Synthesis of [2+4]-type chiral porous organic cage (POC) Pim

HMTA：hexamethylenetetramine；TFA：trifluoroacetic acid；EtOH：ethanol；MeCN：acetonitrile.

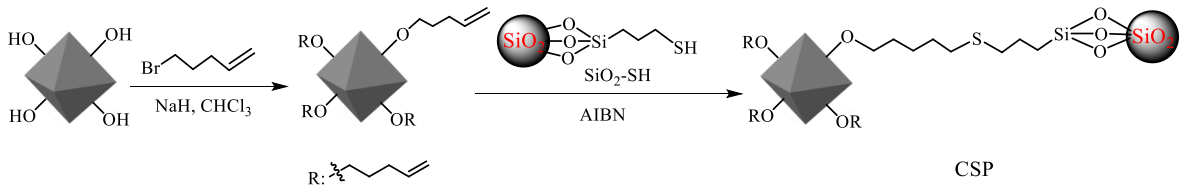


图 2　CSP 的制备

Fig. 2　Preparation of CSP

SiO_2-SH：thiolated silica；AIBN：azobisisobutyronitrile；CSP：chiral stationary phase.

的溶液作为推进溶剂，在 50 MPa 的高压条件下将上述匀浆液均匀压入 HPLC 空柱内。维持该压力 5 min 后，将系统压力调节至 25 MPa，恒压保持 30 min，即完成色谱柱的填充。将填充完成的色谱柱接入 HPLC 分析系统，以 *n*-HEX-2-PrOH（90∶10，体积比）为流动相冲洗至基线平稳。

HPLC 测试条件：NP-HPLC 分离模式下，选用不同体积比的 *n*-HEX-2-PrOH 作为流动相；RP-HPLC 分离模式则采用不同体积比的 MeOH-H_2O 作为流动相；两种模式下均设定流速为 0.1 mL/min，检测波长 254 nm，柱温控制为 25 ℃。

2 结果与讨论

2.1 四醛基化合物 1、手性 Pim 和 CSP 的表征

采用 NMR、FT-IR、ESI-MS、TGA、EA 等方法对合成的四醛基化合物 1、手性 Pim 及 CSP 进行了表征。其中，四醛基化合物 1 的 NMR 数据如下：^{1}H NMR（500 MHz，$CDCl_3$）δ：11.17（s，OH，2H），10.22（s，CHO，4H），8.05（d，ArH，1H），7.95（s，ArH，4H），7.84（td，ArH，1H），7.69（td，ArH，1H），7.64（dt，ArH，1H）；^{13}C NMR（125 MHz，$CDCl_3$）δ：168.37，163.74，149.82，135.38，132.30，130.59，126.93，125.18，123.57，88.88，53.29，20.44（谱图见附图 S1，https://www.chrom-China.com）。Pim 的 ESI-MS 图（图 3）中，*m/z* 1 173.525 5 和 *m/z* 587.264 7 处的特征信号分别对应 Pim 的$[M+H]^+$和$[M+2H]^{2+}$离子峰，这与 Pim 分子式 $C_{72}H_{68}N_8O_8$ 的理论计算值（$[M+H]^+=[C_{72}H_{68}N_8O_8+H]^+$，*m/z* 1 173.523 8；$[M+2H]^{2+}=[C_{72}H_{68}N_8O_8+2H]^{2+}$，*m/z* 587.265 9）相吻合。在 Pim 的 FT-IR 谱图（图 4a）中，3 423 cm^{-1} 处的宽吸收峰是-OH 的伸缩振动，2 930 cm^{-1} 和 2 857 cm^{-1} 处的吸收峰为 -CH_2- 和 -CH- 的伸缩振动，1 766 cm^{-1} 和 1 636 cm^{-1} 处的吸收峰分别为-C=O 和-C=N-的伸缩振动特征峰，1 522、1 461 和 1 364 cm^{-1} 处为苯环骨架振动吸收峰。此外，Pim 的 ^{1}H NMR 谱图（见附图 S2）数据也与文献报道一致。上述系列表征结果证实 Pim 已成功合成。

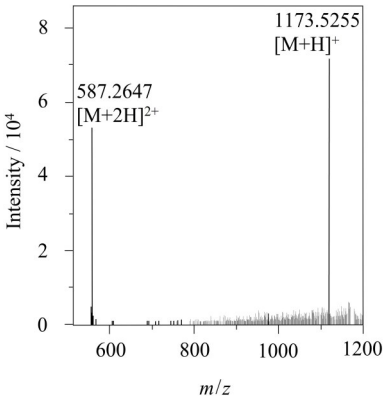


图 3 Pim 的 ESI-MS 图

Fig. 3 ESI-MS spectrum of Pim

Pim、SiO_2-SH 和 CSP 的 FT-IR 光谱对比图如图 4a 所示。从图中可观察到，与 SiO_2-SH 相比，CSP 在 1 766、1 636、1 522、1 461 和 1 364 cm^{-1} 处出现了新的特征吸收峰，并且在 2 930 cm^{-1} 和 2 857 cm^{-1} 处吸收峰显著增强，表明 Pim 已成功键合在 SiO_2-SH 上。由 Pim、SiO_2-SH 和 CSP 的 TGA 对比曲线可以看出（图 4b），CSP 的质量损失显著高于 SiO_2-SH，这是由于 CSP 上键合的有机组分 Pim 的分解所致。同时表 1 中元素分析结果显示 CSP 中 C、H 和 N 3 种元素的含量均明显高于 SiO_2-SH，这些结果均证实了 Pim 成功键合在 SiO_2-SH 上。根据表面键合量计算公式[39]，计算得到 CSP 表面键合量为 0.41 μmol/m^2。为了测定该 CSP 填充制备的 Pim 柱的柱效，以 *n*-HEX-2-PrOH（90∶10，体积比）

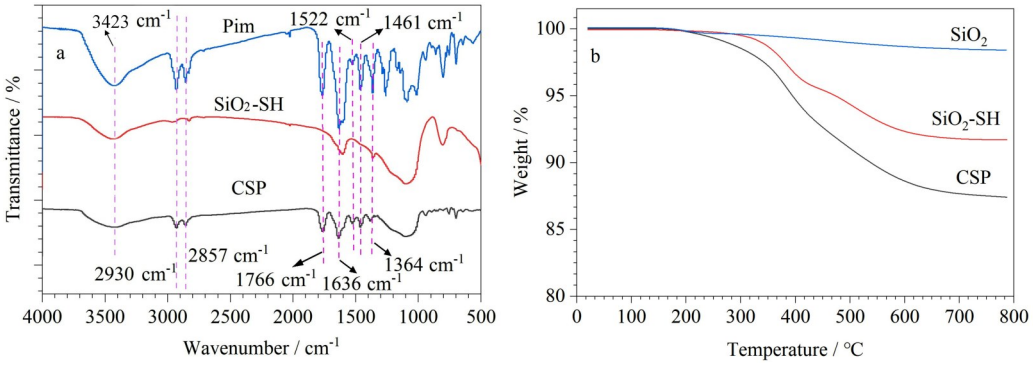


图 4 （a）Pim、SiO_2-SH 和 CSP 的 FT-IR 图；（b）SiO_2、SiO_2-SH 和 CSP 的 TGA 图

Fig. 4 （a）FT-IR spectra of Pim，SiO_2-SH and CSP；（b）TGA curves of SiO_2，SiO_2-SH and CSP

为流动相的 NP-HPLC 分离模式下,用苯为分析物测得其理论塔板数为 14 200 块/m;以 MeOH-H_2O(80∶20,体积比)为流动相的 RP-HPLC 分离模式下,用萘为分析物测得其理论塔板数为 15 500 块/m。

表 1　SiO_2-SH 和 CSP 的元素分析数据
Table 1　Elemental analysis data of SiO_2-SH and CSP

Sample	Contents/%		
	C	H	N
SiO_2-SH	4.791	0.305	<0.05%
CSP	18.458	1.941	1.920

2.2　Pim 柱在 NP-HPLC 模式下对外消旋体的拆分

为了评估所制备的 Pim 柱在 NP-HPLC 分离模式下的对映体拆分性能,以 *n*-HEX-2-PrOH(90∶10,体积比)为流动相,对包括醇、胺、酯、环氧化合物等在内的多种外消旋体进行了拆分实验。结果显示,在该分离模式下,Pim 柱对 10 种外消旋体(分子结构见附图 S3)具有良好的手性拆分效果,它们的拆分色谱图如图 5 所示,相关的色谱性能评价参数见表 2。由图 5 和表 2 可知,这 10 种外消旋体中 4-氟-α-甲基苄胺、氧化苯乙烯、扁桃酸乙酯、安息香和 4-甲基二苯基甲醇这 5 种得到了基线分离(分离度 R_s>1.5)。为凸显所制备的 CSP 的潜在价值,上述被拆分的 10 种外消旋体也在两种常用商品手性柱(Chiralpak AD-H 柱和 Chiralcel OD-H 柱)上进行了拆分测试,3 种色谱柱对这 10 种外消旋体拆分的对比色谱数据列于表 2 中,对比色谱图见附图 S4。因为 Pim 柱的内径(2.1 mm)与 Chiralpak AD-H 柱和 Chiralcel OD-H 柱的内径(4.6 mm)不同,所以它们所使用的流速也不相同,均采用它们的较优的流速。分析对比结果发现,Chiralpak AD-H 柱无法拆分 4-氟-α-甲基苄胺、1-苯基-1-戊醇和 1-(4-氟苯基)乙醇这 3 种外消旋体,但它们在 Pim 柱上可获得拆分;Chiralcel OD-H 柱未能对氧化苯乙烯、1-苯基-1-戊醇和 1-(4-氟苯基)乙醇这 3 种外消旋体实现拆分,而 Pim 柱可拆分这 3 种外消旋体。另外,一些外消旋体在 Pim 柱上拆分的 R_s 值也高于其在 Chiralpak AD-H 柱或 Chiralcel OD-H 柱上拆分的 R_s 值。例如,氧化苯乙烯、扁桃酸乙酯、安息香和 4-甲基二苯基甲醇在 Pim 柱上拆分的 R_s 值高于它们在 Chiralpak AD-H 柱上拆分的 R_s 值;4-氟-α-甲基苄胺、2-甲氧基-2-苯基乙醇、安息香和 4-甲基二苯基甲醇在 Pim 柱上拆分的 R_s 值也高于它们在 Chiralcel OD-H 柱上拆分的 R_s 值。综上可得,该手性 Pim 柱的手性拆分性能与这两种商品手性柱具有良好的互补效应,能拆分这两种商品柱不能拆分或拆分效果不理想的一些手性化合物,具有潜在的应用价值。

2.3　Pim 柱在 RP-HPLC 模式下对外消旋体的拆分

以甲醇-水(MeOH-H_2O)作为流动相,我们也评价了 Pim 柱在 RP-HPLC 分离模式下的手性拆分性能。实验结果表明,Pim 柱在 RP-HPLC 分离模式下对包括醇类、酮类、含氮杂环、环氧化合物等不同类型的 9 种外消旋体(分子结构见附图 S5)具较好的手性拆分效果。由表 3 中的分离数据和图 6 的色谱图可知,这 9 种外消旋体中有 8 种在 Pim 柱上获得了基线分离。通常情况下,Chiralpak AD-H 和

表 2　在 NP-HPLC 分离模式下外消旋体在 Pim、Chiralpak AD-H 和 Chiralcel OD-H 柱上的分离数据
Table 2　Separation data of racemates on the Pim, Chiralpak AD-H, and Chiralcel OD-H columns under NP-HPLC

Racemate	Pim			Chiralpak AD-H			Chiralcel OD-H		
	k_1	α	R_s	k_1	α	R_s	k_1	α	R_s
4-Fluoro-α-methylbenzylamine	0.75	1.53	2.64	1.62	1.00	–	0.93	1.13	0.73
Styrene oxide	0.63	1.52	2.48	0.41	1.10	0.50	0.64	1.00	–
Ethyl mandelate	1.26	1.34	1.95	1.92	1.08	1.63	1.45	2.04	7.68
1-Phenyl-1-pentanol	0.17	1.57	1.12	0.78	1.00	–	0.74	1.00	–
2-Methoxy-2-phenylethanol	0.43	1.30	1.14	0.91	1.23	2.70	0.81	1.13	0.69
Benzoin	1.38	3.45	10.35	4.54	1.34	6.35	2.52	1.58	6.53
4-Methylbenzhydrol	1.27	1.46	2.44	1.66	1.11	1.48	1.74	1.14	1.27
1-(4-Fluorophenyl)ethanol	1.08	1.17	0.96	0.83	1.00	–	0.74	1.00	–
Benzoin ethyl ether	0.53	1.20	0.92	0.82	1.17	2.31	0.39	1.17	1.52
Troger's base	2.90	1.07	0.53	0.66	1.83	6.99	1.07	1.26	1.71

Mobile phase: *n*-HEX-2-PrOH (90∶10, volume ratio) for the three columns. Flow rates: 0.1 mL/min for the Pim column, and 0.5 mL/min for Chiralpak AD-H and Chiralcel OD-H columns. NP-HPLC: normal-phase high performance liquid chromatography; k_1: retention factor of the first enantiomer; α: separation factor; R_s: resolution value; –: no separation.

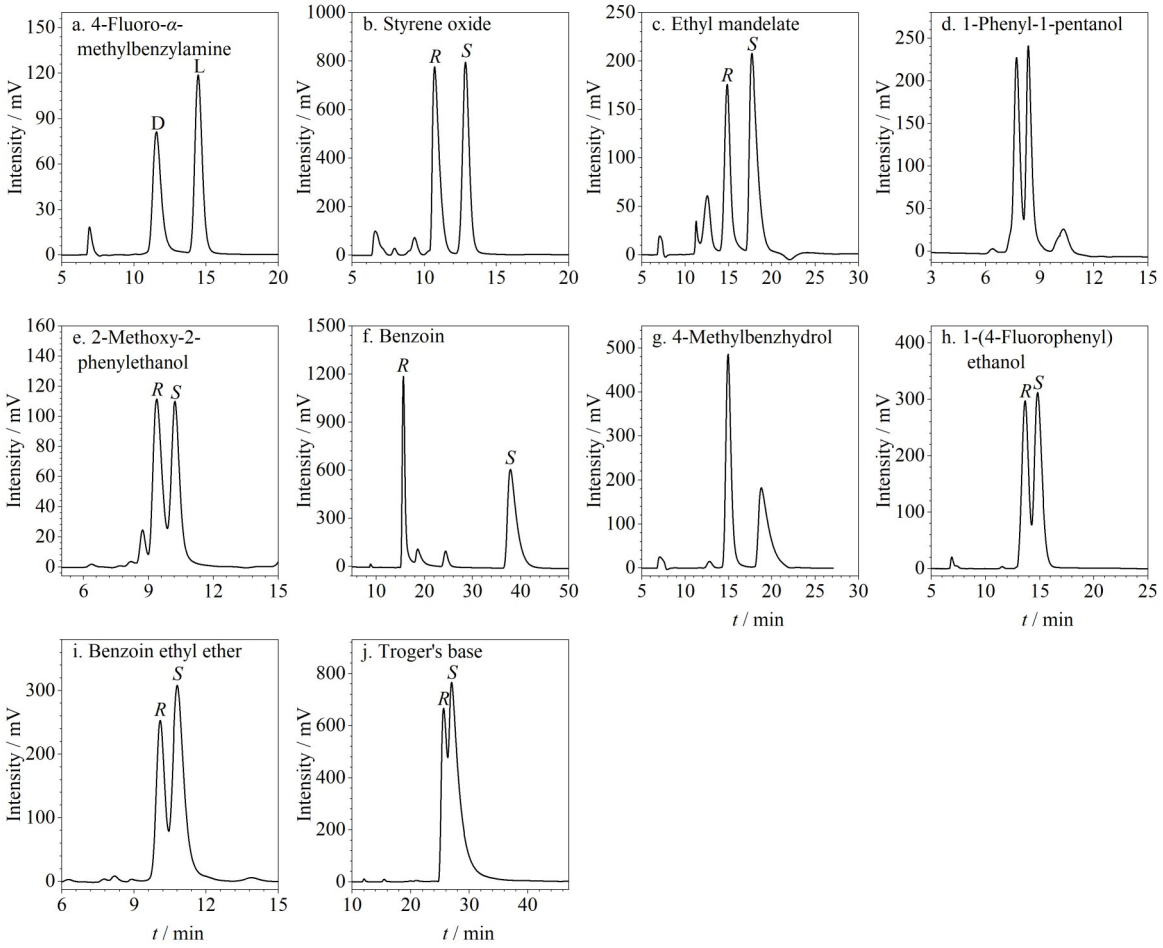


图 5 NP-HPLC 分离模式下外消旋体在 Pim 柱上的色谱图

Fig. 5 Chromatograms of racemates on the Pim column under NP-HPLC

Chiralcel OD-H 柱在正相分离模式下的对映选择性优于反相分离模式。因此,我们也将这 9 种外消旋体在 Chiralpak AD-H 和 Chiralcel OD-H 柱上在 NP-HPLC 分离模式下进行了分离测试,所得的分离结果与 Pim 柱进行了对比,表 3 中列出了它们分离的对比色谱数据,附图 S6 是它们的分离对比色谱图。对比结果显示,Chiralpak AD-H 柱未能拆分 1-(4-氟苯基)乙醇、1-苯基-1-戊醇、1-苯基乙醇和佐匹克隆这 4 种外消旋体,Chiralcel OD-H 柱未能拆分 1-(4-氟苯基)乙醇、1-苯基-1-戊醇、佐匹克隆、4-氯二苯甲醇和氧化苯乙烯这 5 种外消旋体。更有意义的是,Pim 柱可拆分这两种商品柱均不能拆分的 1-(4-氟苯基)乙醇、1-苯基-1-戊醇和佐匹克隆这 3 种外消旋体。此外,部分外消旋体在 Pim 柱上的分离效果也优于这两种商品柱。例如,4,4′-二甲基安息香和氧化苯乙烯在 Pim 柱上拆分的 R_s 值高于其在 Chiralpak AD-H 柱上拆分的 R_s 值;4,4′-二甲基安息香、1-苯基乙醇和 2-甲氧基-2-苯乙醇在 Pim 柱上拆分的 R_s 值也高于其在 Chiralcel OD-H 柱上拆分的 R_s 值。以上实验结果充分表明 Pim 柱在 NP-HPLC 和 RP-HPLC 分离模式下均具有良好的手性分离性能,还与 Chiralpak AD-H 和 Chiralcel OD-H 两种商品手性柱形成良好的手性拆分互补,表明 Pim 材料在 HPLC 手性分离领域具有良好的研究意义和价值。

2.4 柱温对手性拆分的影响

柱温是影响色谱分离效果的重要因素之一。为研究柱温对 Pim 柱手性拆分效果的影响,本研究以 4-氟-α-甲基苄胺和安息香为目标分析物,在 25~45 ℃范围内进行手性拆分试验(图 7a、7c)。随着柱温逐步升高至 45 ℃,4-氟-α-甲基苄胺和安息香在 Pim 柱上的保留时间逐渐缩短,R_s 值也相应减小(见附图 S7),这一现象表明这两种对映体在 Pim 柱上的手性分离过程属于放热过程。进一步对两种分析物进行 van't Hoff 方程拟合分析,其 van't Hoff 曲线(图 7b、7d)中 $1/T$ 与 $\ln k$ 呈现良好的线

表 3　RP-HPLC 分离模式下外消旋体在 Pim、Chiralpak AD-H 和 Chiralcel OD-H 柱上的分离数据

Table 3　Separation data of racemates on the Pim, Chiralpak AD-H, and Chiralcel OD-H columns under RP-HPLC

Racemate	Pim			Chiralpak AD-H			Chiralcel OD-H		
	k_1	α	R_s	k_1	α	R_s	k_1	α	R_s
4,4′-Dimethylbenzoin	0.99	1.66	2.87	5.06	1.10	2.74	1.69	1.36	2.39
1-(4-Fluorophenyl)ethanol	0.57	1.35	1.36	0.83	1.00	–	0.74	1.00	–
1-Phenyl-1-pentanol	0.82	1.57	2.90	0.78	1.00	–	0.74	1.00	–
1-Phenylethanol	0.60	1.40	1.79	0.84	1.00	–	0.90	1.22	1.29
Zopiclone	0.90	2.73	9.46	1.71	1.00	–	2.09	1.00	–
4-Chlorobenzhydrol	0.59	1.38	1.77	1.65	1.14	2.01	2.05	1.00	–
Styrene oxide	1.19	1.40	2.60	0.41	1.10	0.50	0.64	1.00	–
2-Methoxy-2-phenylethanol	1.71	1.26	2.41	0.91	1.23	2.70	0.81	1.13	0.69
Benzoin	0.83	1.49	1.91	4.54	1.34	6.35	2.52	1.58	6.53

Mobile phases: MeOH-H_2O (80∶20, volume ratio) for Pim column; *n*-HEX-IPA (90∶10, volume ratio) for Chiralpak AD-H and Chiralcel OD-H columns. Flow rates: 0.1 mL/min for the Pim column, and 0.5 mL/min for Chiralpak AD-H and Chiralcel OD-H columns. RP: reversed-phase.

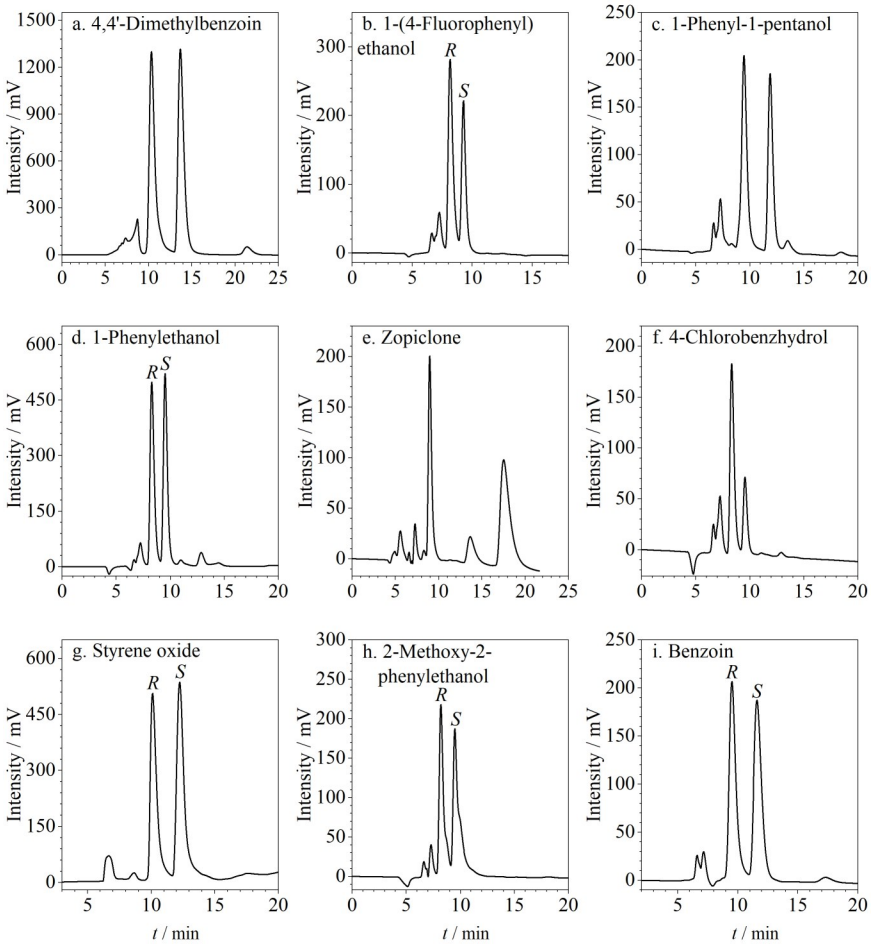


图 6　在 RP-HPLC 分离模式下外消旋体在 Pim 柱上的色谱图

Fig. 6　Chromatograms of racemates on the Pim column under RP-HPLC

性关系,证明在此温度区间内 Pim 柱的手性分离机制未发生改变。计算得到的相关热力学数据列于表 4。由表 4 可知,两种分析物对映体的 ΔG 值均为负值,说明分析物从流动相向 CSP 转移过程具有热力学自发性。从理论来讲,ΔG 绝对值越大,分析物越易与 CSP 发生相互作用并转移至其表面,对应保留时间越长。L-4-氟-α-甲基苄胺的 ΔG 绝对值比 D-4-氟-α-甲基苄胺的更大,*S*-安息香的 ΔG 绝对值

大于 *R*-安息香的，该热力学规律与 4-氟-α-甲基苄胺和安息香对映体在 Pim 柱上的实际洗脱顺序完全吻合。

2.5 进样量对手性拆分的影响

为了研究分析物进样量对 Pim 柱手性拆分效果的影响，我们选取 4-氟-α-甲基苄胺和安息香作为分析物，在柱温为 25 ℃，将进样量从 1 μg 逐步增加至 20 μg，所得的分离色谱图如图 8a、8c 所示。在进样量增加过程中，两种分析物在 Pim 柱上分离的保留时间未发生明显改变，手性拆分效果也基本保持稳定，分析物色谱峰面积与进样量之间呈现出良好的线性递增关系（图 8b、8d）。当进样量增加到 20 μg 时，Pim 柱对这两种分析物仍可实现较好的分离。色谱柱的柱容量对其实际应用具有重要的意义，对于不同的分析物，色谱柱对其分离的柱容量会有不同。Pim 柱在 NP-HPLC 分离模式下对 4-氟-α-甲基苄胺的柱容量约为 50 μg，在 RP-HPLC 分离模式下对安息香的柱容量约为 30 μg。因此，Pim 柱不仅在一定进样量区间内具备稳定的手性拆分效能，还拥有良好的柱容量和定量分析特性。

2.6 柱的重复性和稳定性

为评价 Pim 柱的重复性和稳定性，我们以 4-氟-α-甲基苄胺和安息香为目标分析物，在柱历经不同次数进样使用后再次对其进行分离测试。实验结果显示，在柱历经 100、200、300 和 400 次进样使用后对这两种分析物分离的保留时间和分离度与

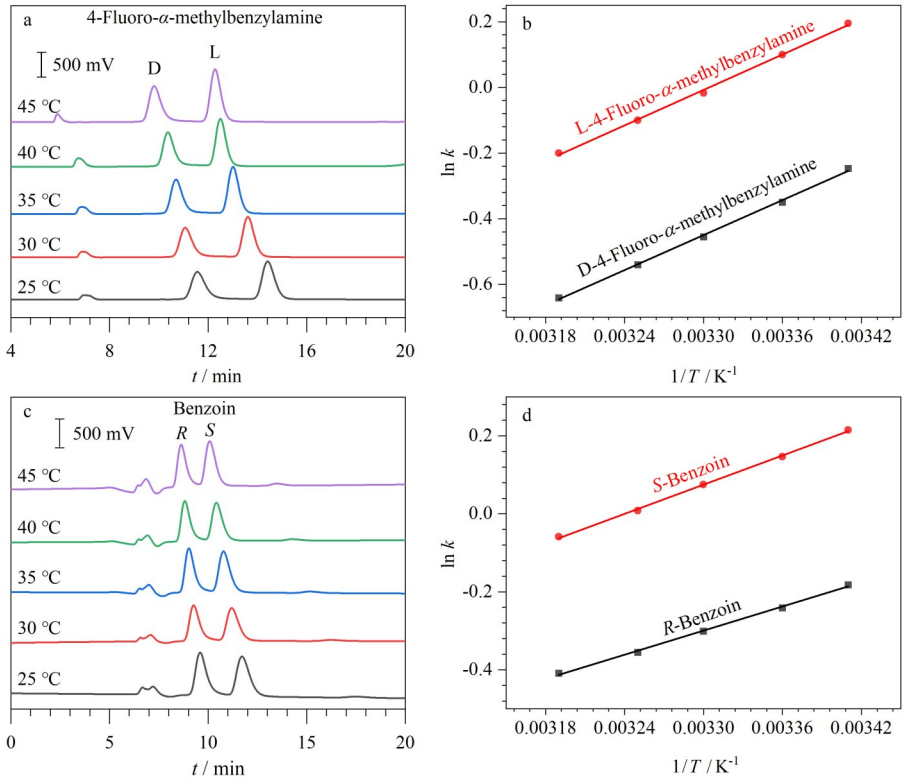


图 7 柱温对 Pim 柱手性分离效果的影响

Fig. 7 Effect of column temperature on the chiral separation performance of Pim column

a. enantioseparation of 4-fluoro-α-methylbenzylamine under NP-HPLC at different column temperatures. Other chromatographic conditions are the same as those in Table 2. b. van't Hoff plots of 4-fluoro-α-methylbenzylamine; c. enantioseparation of benzoin under RP-HPLC at different column temperatures. Other chromatographic conditions are the same as those in Table 3; d. van't Hoff plots of benzoin.

表 4 NP-HPLC 下拆分 4-氟-α-甲基苄胺和 RP-HPLC 下拆分安息香的热力学数值

Table 4 Thermodynamic values for the resolution of 4-fluoro-α-methylbenzylamine under NP-HPLC and benzoin under RP-HPLC

Analyte	ΔH/(kJ/mol)	ΔS/(J/(mol·K))	ΔG/(kJ/mol)	R^2
D-4-Fluoro-α-methylbenzylamine	−14.77±0.33	−45.94±1.10	−1.08±0.33	0.9980
L-4-Fluoro-α-methylbenzylamine	−14.96±0.33	−42.89±1.10	−2.17±0.33	0.9980
R-Benzoin	−8.58±0.22	−24.24±0.71	−1.35±0.22	0.9975
S-Benzoin	−10.38±0.19	−27.07±0.63	−2.31±0.19	0.9987

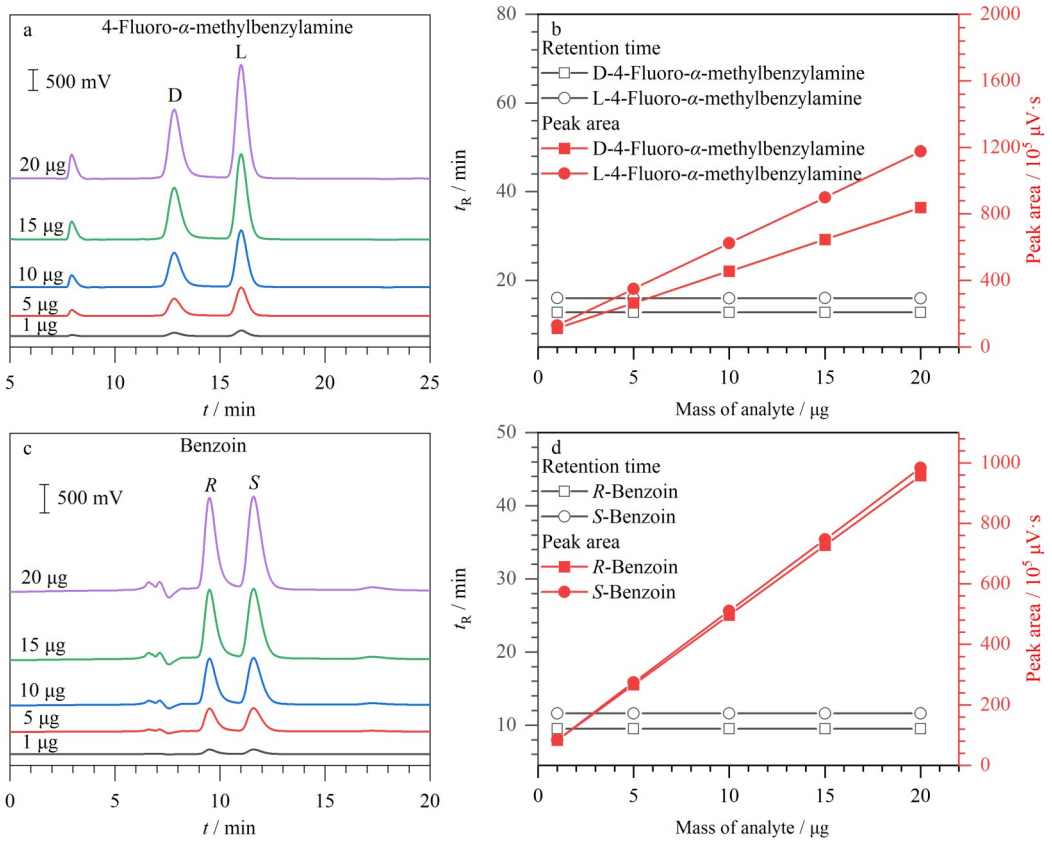


图 8　进样量对 Pim 柱手性分离效果的影响

Fig. 8　Effect of injection mass on the chiral separation performance of Pim column

a, b. enantioseparation of 4-fluoro-α-methylbenzylamine under NP-HPLC with different injection masses. Other chromatographic conditions are the same as those in Table 2. c, d. enantioseparation of benzoin under RP-HPLC with different injection masses. Other chromatographic conditions are the same as those in Table 3.

柱使用之初对它们的分离效果相比无明显变化(图 9),其分离的保留时间和分离度的相对标准偏差(RSD,n=5)分别低于 1.50% 和 1.92%。在柱放置保存 1 个月后,其分离效果与柱使用之初的分离效果也无显著改变,对这两种分析物分离的保留时间和分离度的 RSD(n=3)分别低于 1.88% 和 2.26%。以上结果表明 Pim 柱具有较好的分离重复性和稳定性。

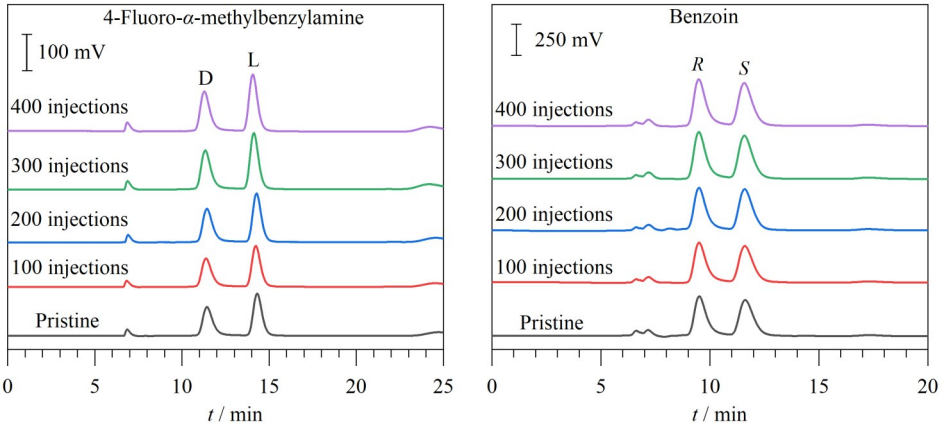


图 9　Pim 柱分离的重复性和稳定性

Fig. 9　Repeatability and stability of Pim column

For enantioseparation of 4-fluoro-α-methylbenzylamine under NP-HPLC, chromatographic conditions are the same as those in Table 2. For enantioseparation of benzoin under RP-HPLC, chromatographic conditions are the same as those in Table 3.

3 结论

本文将合成的一种[2+4]型手性 POC Pim 作为手性选择剂，通过巯基-烯点击反应将其键合到巯基硅胶基质表面制备了高效液相色谱 CSP，并评价了其在 NP-HPLC 和 RP-HPLC 分离模式下的手性拆分性能。结果表明，所制备的 Pim 柱展现出良好的手性拆分性能，在 NP-HPLC 分离模式下有 10 种外消旋体获得了拆分，RP-HPLC 分离模式下有 9 种外消旋体获得了拆分，并且与 Chiralcel OD-H 和 Chiralpak AD-H 两种商品手性柱有良好的手性拆分互补性，能拆分这两种商品柱无法拆分或拆分效果不理想的一些外消旋体。此外，该 Pim 柱在历经数百次进样使用和一段时间放置保存后仍具有较好的分离重复性和稳定性。本研究不仅证实了手性 POC Pim 是一种良好的手性分离材料，也为 POCs 类新型高效液相色谱 CSP 的研究提供了重要参考。

参考文献：

[1] Huang B, Li K, Ma Q Y, et al. Anal Chem, 2023, 95(35): 13289
[2] Qian H L, Xu S T, Yan X P. Anal Chem, 2023, 95: 304
[3] Li H, Wang X P, Shi C X, et al. Chin Chem Lett, 2023, 34(3): 107606
[4] Zhang J H, Xie S M, Yuan L M. J Sep Sci, 2022, 45(1): 51
[5] Zhang J H, Liang R X, Huang B, et al. Chin Chem Lett, 2026, 37(1): 111146
[6] Sun G, Luo Y, Yan Z, et al. Chin Chem Lett, 2024, 35(12): 109787
[7] Zheng D S, Tang W Q, Zhu J P, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2024, 42(6): 524
郑德圣, 汤雯淇, 朱建平, 等. 色谱, 2024, 42(6): 524
[8] Yang M F, Zheng K N, Long Y X, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2025, 43(4): 335
杨梅芳, 郑康妮, 龙怡幸, 等. 色谱, 2025, 43(4): 335
[9] Tang W Q, Cheng Y, Zhu J P, et al. Angew Chem Int Ed, 2024, 63(42): e202409588
[10] Qian H L, Yang C X, Yan X P. Nat Commun, 2016, 7: 12104
[11] Tang B, Wang W, Hou H, et al. Chin Chem Lett, 2022, 33(2): 898
[12] Zhou S Q, Kuang Y X, Zheng J, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2024, 42(1): 1
周素馨, 况逸馨, 郑娟, 等. 色谱, 2024, 42(1): 1
[13] Yuan C, Wang Z, Xiong W Q, et al. J Am Chem Soc, 2023, 145(34): 18956
[14] Li X, Cui Y Y, Yang C X. Talanta, 2021, 224: 121914
[15] Tozawa T, Jones J T A, Swamy S I, et al. Nat Mater, 2009, 8(12): 973
[16] Mastalerz M. Angew Chem Int Ed, 2010, 49(30): 5042
[17] Yang X C, Ullah Z, Stoddart J F, et al. Chem Rev, 2023, 123: 4602
[18] Wang H, Jin Y, Sun N, et al. Chem Soc Rev, 2021, 50(16): 8874
[19] Kong Q D, Liu L L, Li Z Y. Chem Eur J, 2024, 30: e202400947
[20] Cao X, Jin Y, Wang H, et al. Chin Chem Lett, 2024, 35(9): 109201
[21] Zhao X, Cui H Y, Guo L L, et al. Angew Chem Int Ed, 2024, 63(47): e202411613
[22] Mohan M, Pham D-J, Fluck A, et al. Chem Eur J, 2024, 30: e202400458
[23] Zhang Z Y, Ying Y, Li Y F, et al. Angew Chem Int Ed, 2026, 65(3): e22364
[24] Guo Z X, Kong W X, Zhou L Y, et al. ACS Catal, 2025, 15: 3955
[25] Xu Y, Dai C, Xu Z F. Talanta, 2025, 286: 127518
[26] Kelabi D A, Dey A, Alimi L O, et al. Chem Sci, 2022, 13: 7341
[27] Zhang J H, Xie S M, Chen L, et al. Anal Chem, 2015, 87(15): 7817
[28] Xie S M, Zhang J H, Fu N, et al. Anal Chim Acta, 2016, 903: 156
[29] Zhang J H, Xie S M, Wang B J, et al. J Chromatogr A, 2015, 1426: 174
[30] Wang Y, Li H X, Xie S M, et al. Microchem J, 2021, 170: 106650
[31] Huang B, Chen J, Wang B J, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2024, 42(9): 891
黄斌, 陈娟, 王帮进, 等. 色谱, 2024, 42(9): 891
[32] Wang Y, Chen J K, Xiong L X, et al. Anal Chem, 2022, 94(12): 4961
[33] Zhang H C, Zhang J H, Gong Y N, et al. Chem Eur J, 2025, 31(31): e202500977
[34] Liang R X, Zhang Y P, Zhang J H, et al. J Chromatogr A, 2023, 1711: 464444
[35] Li Z, Tang Z, Cao J, et al. J Chromatogr A, 2024, 1737: 465441
[36] Jiang Z, Zhang G, Yang Y, et al. J Chromatogr A, 2025, 1740: 465561
[37] Zhang L, Jia Y, Meng F S, et al. Dyes Pigments, 2022, 206: 110578
[38] Yao X, Tan T T, Wang Y. J Chromatogr A, 2014, 1326: 80
[39] Siles B A, Halsall H B, Dorsey J G. J Chromatogr A, 1995, 704: 289