



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115436511 A

(43) 申请公布日 2022.12.06

(21) 申请号 202211058781.0

(22) 申请日 2022.08.31

(71) 申请人 汉瑞药业(荆门)有限公司

地址 448000 湖北省荆门市掇刀区兴化三路1号

(72) 发明人 柴金柱 胡进 梅青 关丹莢子

(74) 专利代理机构 武汉凌达知识产权事务所
(特殊普通合伙) 42221

专利代理师 刘念涛

(51) Int. Cl.

G01N 30/02 (2006.01)

G01N 30/56 (2006.01)

G01N 30/60 (2006.01)

B01D 15/38 (2006.01)

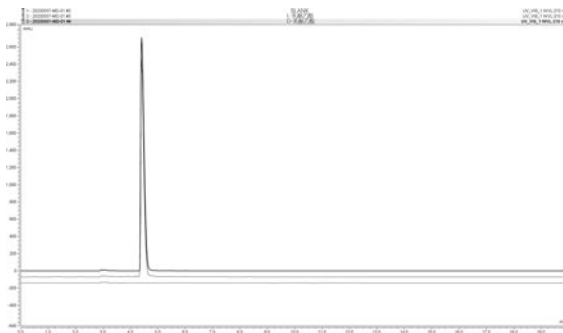
权利要求书1页 说明书3页 附图2页

(54) 发明名称

一种乳酸乙酯及其对映异构体手性纯度的HPLC检测方法

(57) 摘要

本发明公开了一种乳酸乙酯及其对映异构体手性纯度的HPLC检测方法,取乳酸乙酯,用乙醇溶解,配制成样品溶液,取5 μ L样品溶液注入液相色谱仪,完成乳酸乙酯及其对映异构体的分离,检测手性纯度ee%值;本方法采用涂敷型多糖衍生物手性柱,正己烷/乙醇正相色谱体系,等度洗脱进行分离,可以快速的分离乳酸乙酯与其对映异构体,保证了乳酸乙酯化学纯度ee%值的准确可靠性。



1. 一种乳酸乙酯及其对映异构体手性纯度的HPLC检测方法,其特征在于,检测条件为:
色谱柱:DAICEL CHIRALCEL AD-H,4.6*250mm,5 μ m涂敷型多糖衍生物手性柱,柱温为20 $^{\circ}$ C;

流动相:乙醇:正己烷=5:95(v/v),流速为1.0 mL/min;

洗脱程序:5%乙醇等度洗脱15min;

检测波长:210nm;

包括以下步骤:

(1)取乳酸乙酯,用乙醇溶解,配制成每1mL乙醇含乳酸乙酯30mg的样品溶液;

(2)取5 μ L样品溶液注入液相色谱仪,完成乳酸乙酯及其对映异构体的分离,检测手性纯度ee%值。

2. 根据权利要求1所述的一种乳酸乙酯及其对映异构体手性纯度的HPLC检测方法,其特征在于,所述的色谱柱是固定相表面涂敷了直链淀粉-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)的球形硅胶色谱柱。

3. 根据权利要求1或2所述的一种乳酸乙酯及其对映异构体手性纯度的HPLC检测方法,其特征在于,所述的液相色谱仪为Thermo Ultimate 3000,DAD检测器。

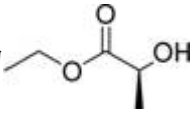
一种乳酸乙酯及其对映异构体手性纯度的HPLC检测方法

技术领域

[0001] 本发明属于高效液相色谱(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)方法,尤其是一种用HPLC检测乳酸乙酯与其对映异构体分离的方法。

背景技术

[0002] 乳酸乙酯是我国规定允许使用的食用香料,常用于调制果香型、乳酸型食用和酒用香精。

[0003] 乳酸乙酯的化学结构式为,分子式为 $C_5H_{10}O_3$,分子量为118.13,其有1个手性碳原子,其异构体含量是产品的重要质量指标,截止目前为止,市场上没有分离该异构体的方法。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供一种分离乳酸乙酯与其对映异构体的HPLC检测方法,用于测定乳酸乙酯的手性纯度ee%值。

[0005] 本发明解决其技术问题所采用的技术方案是:一种乳酸乙酯及其对映异构体手性纯度的HPLC检测方法,检测条件为:色谱柱:DAICEL CHIRALCEL AD-H,4.6*250mm,5 μ m涂敷型多糖衍生物手性柱,柱温为20 $^{\circ}$ C;流动相:乙醇:正己烷=5:95(v/v),分离度最佳,流速为1.0 mL/min;洗脱程序:5%乙醇等度洗脱15min;检测波长:210nm;包括以下步骤:

(1)取乳酸乙酯适量,用乙醇溶解样品,配制成每1mL乙醇含乳酸乙酯约30mg的样品溶液;

(2)取步骤(1)的5 μ L样品溶液注入液相色谱仪,完成乳酸乙酯及其对映异构体的分离,进行检测记录色谱图,从而检测手性纯度ee%值。

[0006] 进一步,所述的色谱柱是固定相表面涂敷了直链淀粉-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)的球形硅胶色谱柱。

[0007] 进一步,所述的液相色谱仪为Thermo Ultimate 3000,DAD检测器。

[0008] 本发明的有益效果是:

本发明采用DAICEL CHIRALCEL AD-H,4.6*250mm,5 μ m手性柱,不仅提高了色谱峰的对称性,而且能有效分离乳酸乙酯及其对映异构体;柱温选择20 $^{\circ}$ C,缩短了分析时间。

[0009] 本发明选择乙醇溶解样品,能有效避免样品溶液在高比例的非极性流动相正己烷中析出的可能性。

[0010] 本发明进样体积5 μ L,该体积可根据样品浓度大小适当调整,流速选择1.0mL/min,有效的节省了分析时间及试剂的消耗。

[0011] 本发明方法能简单、快速、准确的测定乳酸乙酯的手性纯度ee%值,解决了乳酸乙酯及其对映异构体的分离问题,从而保证了乳酸乙酯化学纯度ee%值的准确可靠性。

附图说明

- [0012] 图1为本发明对比例1流动相正己烷和异丙醇的洗脱HPLC图；
图2为本发明对比例2流动相正己烷和乙醇，柱温20℃的洗脱HPLC图；
图3为本发明对比例3流动相正己烷和乙醇，柱温40℃的洗脱HPLC图。

具体实施方式

- [0013] 下面结合附图和具体实施例对本发明作进一步的说明。
- [0014] 申请人发现，以涂敷型多糖衍生物手性柱，正己烷/乙醇作为流动相体系，等度洗脱，可以将乳酸乙酯及其对映异构体进行有效分离，从而可以准确测定乳酸乙酯的手性纯度ee%值。
- [0015] 本发明HPLC检测方法，可按照以下方法实现：
- (1) 取乳酸乙酯L和其对映异构体乳酸乙酯D适量，用乙醇溶解，配制成每1mL乙醇含乳酸乙酯L和乳酸乙酯D约30mg的样品溶液。
- [0016] (2) 设置流动相流速为1.0 mL/min，检测波长210nm，色谱柱柱温20℃。
- [0017] (3) 取(1)的样品溶液5μL注入液相色谱仪，完成乳酸乙酯及其对映异构体的分离，从而检测手性纯度ee%值。
- [0018] 其中检测条件为：
- 高效液相色谱仪：Thermo Ultimate 3000，DAD检测器；
色谱柱：DAICEL CHIRALCEL AD-H，4.6*250mm，5μm手性柱；
流动相：正己烷(通道一)、乙醇(通道二)；
洗脱程序：5%乙醇，洗脱15min；
检测波长：210nm；
流速：1.0mL/min；
柱温：20℃；
进样体积：5μL。
- [0019] 本发明采用常用的AD-H色谱柱和常用的中性试剂实现分离，且配制方法简单易操作，使得该起始物料的手性质量控制的效率显著提高。
- [0020] 对比例1
- 仪器与条件：
- 高效液相色谱仪：Thermo Ultimate 3000，DAD检测器；
色谱柱：DAICEL CHIRALCEL AD-H，4.6*250mm，5μm手性柱；
流动相：正己烷(通道一)、异丙醇(通道二)；
洗脱程序：15%异丙醇，洗脱15min；
检测波长：全扫；
流速：1.0mL/min；
柱温：20℃；
进样体积：5μL。
- [0021] 实验步骤：
- 取乳酸乙酯L和乳酸乙酯D各300mg，分别置于10mL容量瓶中，加乙醇溶解并稀释至

刻度,摇匀,作为方法开发用的样品溶液。

[0022] 取上述样品溶液,按上述条件进行高效液相色谱分析,记录色谱图。结果见附图1,图1中1号峰为乳酸乙酯L,2号峰为乳酸乙酯D,从图中可看出,该条件下,乳酸乙酯与其对映异构体完全重合。

[0023] 对比例2

仪器与条件:

高效液相色谱仪:Thermo Ultimate 3000,DAD检测器;

色谱柱:DAICEL CHIRALCEL AD-H,4.6*250mm,5 μ m手性柱;

流动相:正己烷(通道一)、乙醇(通道二);

洗脱程序:5%乙醇,洗脱15min;

检测波长:全扫;

流速:1.0mL/min;

柱温:20 $^{\circ}$ C;

进样体积:5 μ L。

[0024] 实验步骤:取乳酸乙酯L和乳酸乙酯D各300mg,置于同一10mL容量瓶中,加乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为方法开发用的样品溶液。

[0025] 取上述样品溶液,按上述条件进行高效液相色谱分析,记录色谱图。结果见附图2,图2中1号峰为乳酸乙酯L,2号峰为其对映异构体乳酸乙酯D,从图中可看出,该条件下,乳酸乙酯与其对映异构体分离度明显改善,可以基线分离。

[0026] 对比例3

仪器与条件:

高效液相色谱仪:Thermo Ultimate 3000,DAD检测器;

色谱柱:DAICEL CHIRALCEL AD-H,4.6*250mm,5 μ m手性柱;

流动相:正己烷(通道一)、乙醇(通道二);

洗脱程序:5%乙醇,洗脱15min;

检测波长:210nm;

流速:1.0mL/min;

柱温:40 $^{\circ}$ C;

进样体积:5 μ L。

[0027] 实验步骤:取乳酸乙酯L和乳酸乙酯D各300mg,置于同一10mL容量瓶中,加入乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为方法开发用的样品溶液。

[0028] 取上述样品溶液,按上述条件进行高效液相色谱分析,记录色谱图。结果见附图3,图3中1号峰为乳酸乙酯L,2号峰为其对映异构体乳酸乙酯D,从图中可看出,该条件下,乳酸乙酯与其对映异构体可实现分离,但未实现基线分离,分离效果不如对比例2。

[0029] 上述实施例仅例示性说明本发明的原理及其功效,以及部分运用的实施例,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明创造构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。

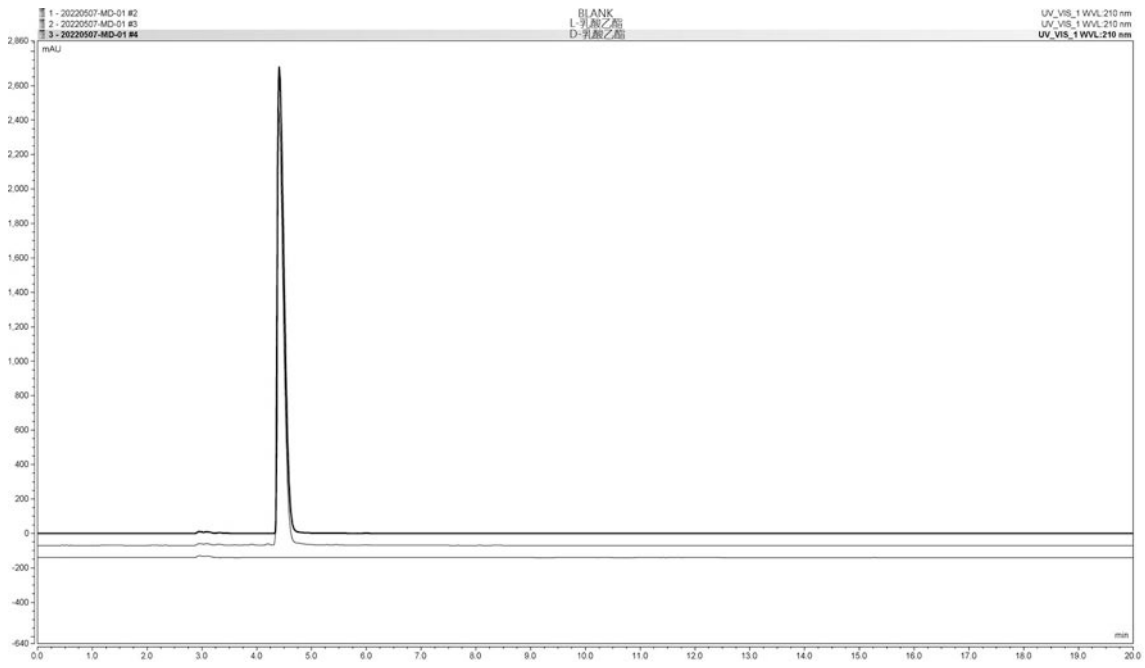


图1

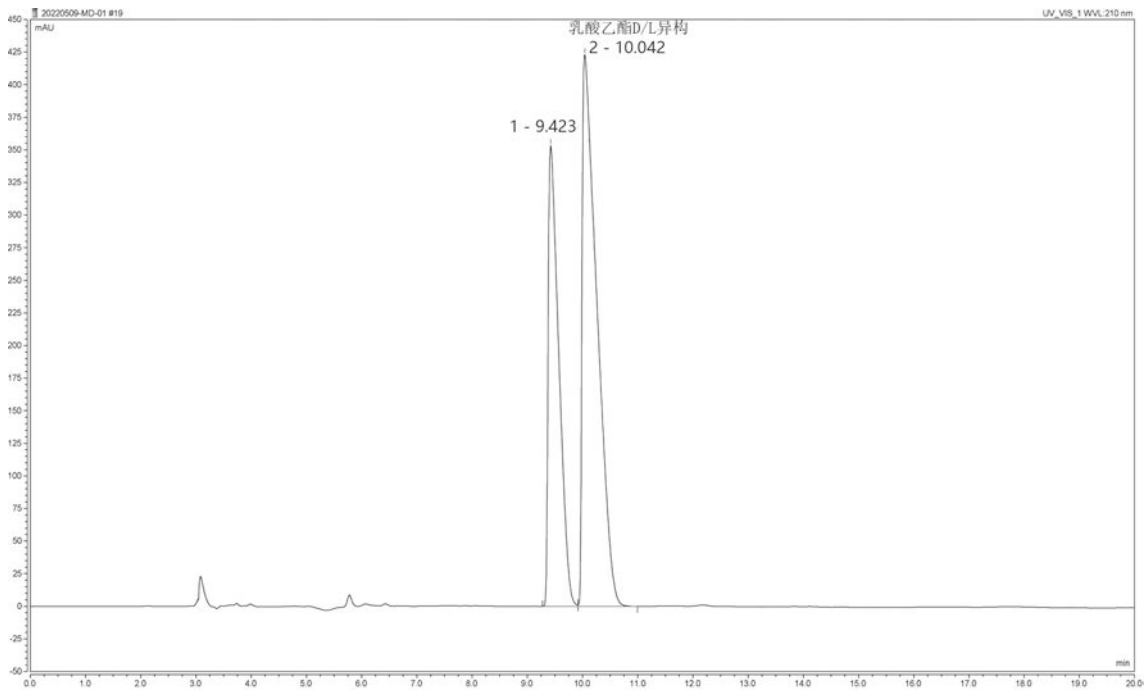


图2

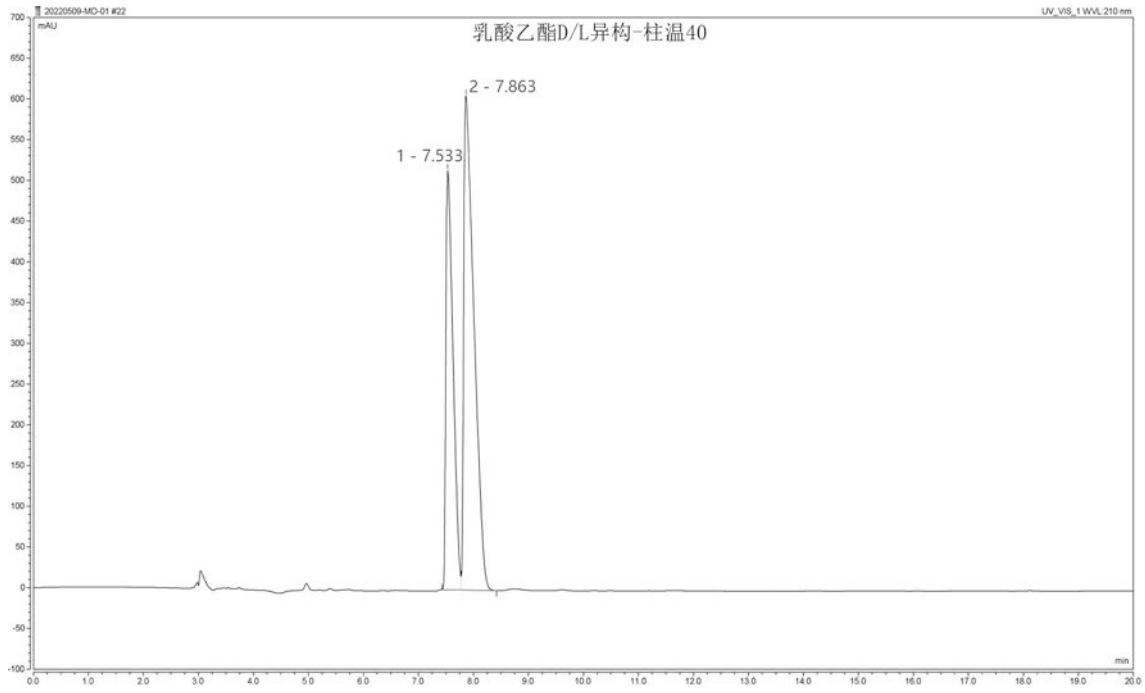


图3