

嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

RTILs 修飾移動相之 HPLC 效能分析

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：CNAC9502

執行期間：95 年 1 月 1 日至 95 年 12 月 31 日

子計畫主持人：葉錦芬

共同主持人：李美貴、郭玉萍、黃春美

執行單位：醫化系、職安系

中 華 民 國 96 年 2 月 27 日

關鍵字：RTILs、GC、HPLC

前言

室溫-離子液體(room-temperature ionic liquids, RTILs)係由一含有有機官能基的陽離子與陰離子組合而成離子性介質，它們在室溫下以液體的形式存在。F. H. Hurley 引用英國 Seddon 教授的理論[1]，若陽離子分子本身較大且具有不對稱性，使晶格排列呈較不規則性，造成凡得瓦吸引力(van der waals force)變小，而使熔點大為降低。RTILs 不像傳統熔融的無機鹽類如 NaCl(超過 800°C 才會熔化)在室溫下會結晶，但因為 RTILs 具有陽離子不對稱性的結構才阻止了其在室溫下結晶；RTILs 具有很高的庫倫作用力，所以在液體表面沒有蒸氣壓，所以為非揮發性的溶劑。RTILs 在分離科學上的應用主要在作為氣相層析(gas chromatography, GC)之固定相和毛細管電泳(capillary electrophoresis, CE)與液相層析(liquid chromatography, LC)之移動相的添加劑[2-4]。氣相層析之靜相必須具有低蒸氣壓與化學安定性(chemically stable)，而 RTILs 皆符合上述特性且其黏度甚大，因此可被塗佈在毛細管壁上。首位將有機鹽類當做氣相層析的靜相的是在 1959 年 Barber[5]，而 Armstrong 等人從 1999 年，開始以烷基咪唑陽離子為主之離子液體應用在氣相層析上，當作管柱的靜相[6]，發現其具備不錯的熱安定性(~200°C)及特殊極性選擇(dual natural solubility)能力，即由於 ILs 具有溶合大範圍極性與非極性的分子。當認定它們為極性的固定相時，可分離極性分子；若它們用作為非極性固定相時，即可分離非極性分子。此 ILs 作為 GC 固定相時比商業化的 DB-17 管柱在對於有機異構物的分離上，更具有不錯的分離效率。2001 年以[Bmim][Cl]和環糊糖精混合而成具有鏡像選擇之離子液體，2003 年合成高熱穩定性之離子液體[MPmim][OTf]與[Bemim][OTf]最高可以耐熱至 250°C。2004 年又合成有鏡相選擇之離子液體。2005 年又發表將室溫離子液體以交聯(cross-link)的方式增加其熱穩定性，最高可耐熱至 350°C。

RTILs 的主要特性之一係可依實驗需求被設計、合成。因此，目前有愈來愈多新離子液體被合成開發。為了有效將其應用在分析化學領域，研究該離子液體之物化性質為重要的工作。Armstrong 等人之前的研究只有探討 C₄、C₆、C₈，因此在本研究中嘗試合成較長的烷基陽離子，配合 NTf₂ 陰離子形成室溫融鹽，所合成的碳鏈長度分別為 C₈、C₁₀、C₁₂，並將所合成的 RTILs 製備於氣相層析管柱。

本研究以[C₈MIM][NTf₂]、[C₁₀MIM][NTf₂]、[C₁₂MIM][NTf₂]為主體，利用特定陽離子和陰離子構成本研究所需之離子液體，並利用離子液體之非揮發性、低熔點、高的熱穩定性與非燃性等特性以及可回收合乎環保之特性，應用、塗佈於毛細管內，藉以測試其在氣相層析中之分析能力。本計畫除了合成不同碳數之 RTILs 作為氣相層析的固定相外，亦同時進行光敏感藥物的研究。光敏感藥物(photosensitivity drug)一直是學者有興趣的研究主題，了解藥物使病患對

光敏感而引起皮膚癌或藥物因本身之光解反應而產生毒性物質或副作用等，都是重要課題。目前常見光敏感藥物如 diuretic、antibacterial、及非固醇類消炎藥物(NSAIDs)等均含有環狀不飽和結構，因此易產生 $\pi \rightarrow \pi^*$ 躍遷而吸收 UV 光，進而引發一系列光化學反應。根據文獻報導其中又以 2-arylpropinoic acid 衍生物系列的 NSAIDs 光敏感性最明顯[11]。選擇的光敏感藥物為 Naproxen (Ia)，其是一種具有 arylalkanoic 酸結構的非固醇類消炎藥(NSAIDs)，研究發現此藥物光解產物對生物及皮膚是有毒的。之後，再嘗試以所合成之 RTILs 加入分離系統 LC 之移動相內，探討其對光分解產物分離的影響。在此部份實驗中，以 HPLC 法分析 Naproxen 的光解產物含量並探討其光解速率。因為光解光源能量不同、藥物結構不同、再加上其他共存藥物以及藥物附形劑的影響不同，造成不同光解系統的反應機構及產物和所產生藥理現象均不同，所以光敏感藥物光活性的領域真是非常多變化且有趣，值得深入探討。

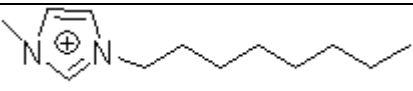


實驗方法

一、 RTILs 作為 GC 靜相的探討

A. RTILs 之合成

本研究所選用之離子液體共有三種，此三種離子液體皆是固定同一種陰離子 $[\text{NTf}_2]$ ，而陽離子的部份則藉由接上辛烷基、癸烷基和十二烷基，三個不同直鏈烷基之離子液體分別表示為 $[\text{C}_8\text{MIM}][\text{NTf}_2]$ 、 $[\text{C}_{10}\text{MIM}][\text{NTf}_2]$ 、 $[\text{C}_{12}\text{MIM}][\text{NTf}_2]$ ，這三種離子液體皆為自行合成所得。其結構、分子量及密度為表 1 所示；光譜部份共測得 (1) NMR(Bruker Avancetm DPX-200 MHz NMR)譜圖，所用之溶劑為氘溶劑(CDCl_3)，而化學位移之校正是以氘溶劑(CDCl_3)內的氫 $^{\text{TM}}7.24$ 或以四甲基矽烷(TMS) $^{\text{TM}}0.00$ 為內標準，化學位移(δ)的單位為 ppm，偶合常數(J)單位為 Hz。碳光譜化學位移是以 $\text{CDCl}_3\delta 77.00$ 為內標準。其多重性(multiplicity)是使用 DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer)脈衝的次序技巧測定之。此外，氫光譜中符號 s 表示單重峰(singlet)，d 表示雙重峰(doublet)，t 表示三重峰(triplet)，q 表示四重峰(quartet)，m 表示多重峰(multiplet)，br 表示寬光譜，dd 表示雙重二重峰。碳光譜中符號 s 表示四級碳(C)，d 表示三級碳(CH)，t 表示二級碳(CH_2)，q 表示一級碳(CH_3) (2) FT-IR (PerkinElmer 公司所製，型號為 RX I)譜圖。

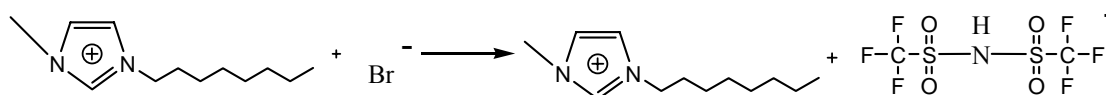
表 1 室溫離子液體的性質

離子液體	結構	分子量	密度
[C ₈ MIM][NTf ₂]	 $\text{CF}_3\text{SO}_2\text{-N-SO}_2\text{CF}_3^-$	475	1.38
[C ₁₀ MIM][NTf ₂]	 $\text{CF}_3\text{SO}_2\text{-N-SO}_2\text{CF}_3^-$	503	1.35
[C ₁₂ MIM][NTf ₂]	 $\text{CF}_3\text{SO}_2\text{-N-SO}_2\text{CF}_3^-$	531	1.38

以合成[C₈MIM][NTf₂]**1**的步驟為例子：

其中陽離子部分經由 1-methylimidazole(ACROS, 純度 99%)與 C₈H₁₇Br 反應。其實驗步驟為取 1-methylimidazole (2.05 g, 25 mmol)先與少量 ethyl acetate (Fluka) 4 mL 混合，再以 1-methylimidazole : C₈H₁₇Br=1 : 1.2 之比例與 C₈H₁₇Br(5.79g, 30 mmol)反應。完成後，先加入二次去離子水 20 mL (離子液體：水=1:2)，再利用 ethyl Acetate (Fluka)25 mL 萃取水層，並以減壓濃縮機純化，最後得到[C₈MIM][Br] 21.53 g。再將所得之[C₈MIM][Br]部分利用陰離子交換的原理，使用 NTf₂⁻置換 Br⁻。先將[NTf₂]⁻ 22.40 g 粉末用少許的二次去離子水溶解後，再加入[C₈MIM][Br]中，以[C₈MIM][Br] : [NTf₂]⁻=1 : 1.2 之比例進行置換，並再加入二次去離子水 198 mL。完成後，先加入 EA(30 mL)，再以約 40 mL 二次去離子水萃取有機層，並以減壓濃縮機純化，得到最後產物即為[C₈MIM][NTf₂]離子液體化合物 **1**(圖 1)。

1-methyl-3-octylimidazolium bis(trifluoromethylsulfonyl)amide (1)



1

圖 1 離子液體化合物[C₈MIM][NTf₂]

B. GC 靜相之塗佈

本研究所使用儀器包含管柱製備用之設備和用來測試管柱之氣相層析儀—火焰游離偵測器。本研究所使用的空毛細管柱為 Polymicro 公司所製，管柱規格為外徑 353 μm 、內徑 250 μm 、長度 10 m 之融矽石英毛細管柱，填充管柱之 5 mL 注射針為 HAMILTON 公司製造。用於封管柱口之真空膏為 APIEZON 公司所製造，M 級。去除管柱溶劑所用之真空抽氣馬達為 PANCHUM 公司製造，型號 VP-60D。恆溫水槽為 WISDOM 公司製造，型號 BO-2D。用於活化管柱處理之注射式幫浦為 KD 公司所製造，型號 101。

1. 管柱活化—在管柱製備之前必須先活化管柱，以利離子液體塗佈管壁的效果。利用注射式幫浦依序將 0.1M NaOH 5 mL、二次水 10 mL、Acetone 5 mL 注入管柱內，流速約 150 $\mu\text{L}/\text{min}$ 。利用 NaOH 將管柱侵蝕造成管壁腐蝕產生凹洞後，利用二次水將 NaOH 洗淨避免殘留造成管壁阻塞，最後再利用 Acetone 將水揮發，最後利用真空幫浦將管柱溶劑完全抽乾即完成活化管柱的部份。
2. 管柱製備—先配製所須濃度之靜相溶液後將配製好的靜相填充入管柱內，再將管柱內的溶劑去除，最後將管柱預處理 (pre-condition)，即完成管柱製備。
3. 靜相濃度配製—本實驗選用塗佈靜相方法為靜態塗佈法 (static method)，先設定所須膜厚，利用公式(1)、(2)計算出欲配製靜相濃度，將已配好之靜相溶液填充入毛細管內後再用真空抽氣馬達將溶劑抽乾，使其在毛細管壁上形成薄膜。而本實驗所有管柱膜厚都固定為 0.33 μm ，利用公式(2)計算[公式(2)由公式(1)經單位換算而得，公式(1)中 d_f 為管柱的膜厚，單位 μm ； c 為靜相濃度以體積百分比表示； r 為管柱的內徑，單位 μm ；公式(2)中 C 為靜相濃度，單位 mg/mL ； ρ 為靜相密度，單位 g/mL]各靜相所須配製濃度皆以二氯甲烷(dichloromethane)為溶劑(TEDIA，ABSLOV 級)，其結果列於下表 2。

$$d_f = rc / 200 \dots\dots\dots(1)$$

$$C(\text{mg}/\text{mL}) = 2000\rho d_f / r \dots\dots\dots(2)$$

表 2 靜相配製濃度

靜相種類	密度 ρ (g/mL)	濃度 C(mg/mL)	膜厚(μm)
[C ₈ MIM][NTF ₂]	1.38	3.60	0.33
[C ₁₀ MIM][NTF ₂]	1.35	3.61	0.33
[C ₁₂ MIM][NTF ₂]	1.38	3.60	0.33

- 管柱填充及溶劑去除—將配製好之靜相溶液以注射針由活化後之毛細管一端注入，至溶液完全充滿毛細管柱後，以真空膏將另一端封口；移去 A 端之注射針再將毛細管連接至真空抽氣馬達，而毛細管柱浸泡在溫度設定在二氯甲烷的沸點約 40.6 °C 中的水浴內，開始抽氣，抽氣 12~24 小時直到管柱內二氯甲烷(廠牌 TEDIA，ABSLOV 級)完全乾燥。
- 管柱預處理—管柱需經預處理才算製備完成，將管柱一端連接氣相層析儀之注射口，以流速 1.2 mL/min，40 °C 恆溫吹氮氣 4 小時，再將管柱以起始溫度由 40 °C 以 10 °C/min 升溫至 100 °C 停留 30 分鐘，再以 10 °C/min 升溫至 150 °C 停留 20 分鐘，最後以 10 °C/min 升溫至 180 °C 停留 10 分鐘之升溫程式預處理管柱，待管柱降溫後方可進行管柱測試。

C. RTILs-GC 靜相之分離效能的評估

- 本研究所使用之氣相層析儀(Gas Chromatography)為 Agilent 6890N，所用管柱為毛細管管柱長 10 m，內徑 250 μm ，膜厚 0.33 μm ，以氮氣為載流氣體(carrier gas)，流量 1.2 mL/min，偵測器(detector)為火燄游離偵測器(Flame ionization Detector，FID)，氮氣 40 mL/min，空氣 400 mL/min，注射口及偵測器溫度皆設為 250 °C，以分流(split)注射模式，分流比為 1：20。將測試管柱之藥品可以分為：(I)滯留指數指標分析物，以直鏈烷類由 8 烷至 20 烷(稀釋於 Hexane，500 ppm)，直鏈烷類化合物(C₈~C₂₀)—8 烷(octane)、9 烷(nonane)、10 烷(decane)、11 烷(undecane)、12 烷(dodecane)、13 烷(tridecane)、14 烷(tetradecane)、15 烷(pentadecane)、16 烷(hexadecane)、17 烷(heptadecane)、18 烷(octadecane)、19 烷(nonadecane)、20 烷(cosane)，皆購自 AccuStandard；(II)苯類，所用測試藥品皆以二硫化碳(Fluka，純度 99.5%，GC 級)稀釋至 800 ppm，苯環系列之探測分析物—苯(benzene)：Aldrich，ACS

級，甲苯(toluene)：TEDIA，ACS 級，二甲苯(p-xylene)：Aldrich，99%，乙苯(ethyl benzene)：Aldrich，99%；(III)管柱極性測定，以十二種極性大小不同之物質(稀釋於 CH₂Cl₂，500 ppm)。極性分析物 Octanol、Nonanal、2,6-Dimethyl phenol、2-Ethyl hexanoic、2,6-Dimethylaniline、Methyl decanoate、Dicyclohexylamine、Methyl decanoate、Methyl undecanoate、2,3-Butanediol、n-Undecane，皆購自 AccuStandard。

2. 分離條件的設定—將 I、II、III 類測試藥品依下列升溫程式操作條件，分析 C₈~C₁₂ 以起始溫度 30 °C 停留 1 分鐘，再以每分鐘 10 °C 之升溫率加熱至 90 °C 進行實驗，以得各分析物之滯留時間；分析 C₁₃~C₂₀ 以起始溫度 70 °C 不停留，再以每分鐘 10 °C 之升溫率加熱至 170 °C 進行實驗，以得各分析物之滯留時間；分析苯類以起始溫度 40 °C 停留 3 分鐘，再以每分鐘 10 °C 之升溫率加熱至 60 °C 進行實驗，以得各分析物之滯留時間；分析極性物質以起始溫度 30 °C 停留 5 分鐘，再以每分鐘 5 °C 之升溫率加熱至 160 °C 進行實驗，以得各分析物之滯留時間。

二、 Naproxen 藥物之光解實驗

A. HPLC 對光解產物的分離條件—實驗方法係採用操作簡單、應用對象廣且準確性高之 HPLC 作為分析物之分離方法，並以傳統 UV 光源照射，以偵測光敏感藥物照光前、後系統物種之變化。Naproxen 購自 SIGMA；Acetonitrile 和 Methanol 購自 ECHO，皆為 HPLC 等級而其純度皆大於 99.9%；Acetic acid 購自 Fluka，為分析級而其純度大於 99.8%。

1. HPLC (Spectra SERIES P100，層析總管軟體 UV150)，管柱 C18—4.6*150 mm、偵測器(UV)波長 $\lambda = 262 \text{ nm}$ ，流速 1 mL/min，範圍(Range) 0.2，Mobile phase 為 H₂O：Acetonitrile：冰醋酸(50：49：1)。
2. 分別偵測未光解一支樣品，和已光解 5 支樣品。光解反應所使用之光源乃中壓汞燈 (ACE GLASS 之 7825 型 medium pressure Hg lamp，其中 220 ~ 280 nm 約 27.0 W、280 ~ 320 nm 約 28.7 W、320 ~ 400 nm 約 28.0 W、400 ~ 600 nm 約 75.7 W、IR range 1000 ~ 1400 nm 含 16.4 W)。照光時間因 Hg 燈強度而為 0.5 至 3 小時不等。
3. 將已光解好之樣品，以 mobile phase 為溶劑，分別稀釋至 20 ppm 並用鋁箔紙包起，另外配製 10 ppm 咖啡因作為內標物。將分析物加入內標進行 HPLC 分析。

B. 光源的校正—先 MeOH 作為稀釋溶劑配製 5000 ppm 之 Naproxen 儲

備溶液。分別吸取 1mL (A 溶液)至 12 個保存瓶，用鋁箔紙包住瓶身以避免陽光的照射。將 MeOH 揮發，使 Naproxen 呈固體狀才進行光分解，光解時間固定為 30 min。

C. 光解時間的影響—先 MeOH 作為稀釋溶劑配製 5000 ppm 之

Naproxen 儲備溶液。分別吸取 1mL (A 溶液)至 12 個保存瓶，用鋁箔紙包住瓶身以避免陽光的照射。將 MeOH 揮發，使 Naproxen 呈固體狀才進行光分解，光解時間分別為 0、30、60、90、150、210 min。

結果與討論

一、 RTILs 作為 GC 靜相的探討

A. RTILs 之合成

本研究所合成之離子液體，最後經由 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 以及 FT-IR 光譜圖交叉判讀確認官能基和碳、氫數。

離子液體化合物 **1**[C₈MIM][NTf₂]的光譜資料：**IR**(neat)：3176，2924，2852，1575，1466，1348，1329，1194，1141，1055 cm⁻¹； **^1H NMR**(200MHz,CDCl₃)： δ 8.62(sbr,1H)，7.32~7.27(m,2H)，3.91(s,3H)，1.88~1.82(m,2H)，1.30~1.26(m,10H)，0.87(t,3H, J =5.8Hz)； **^{13}C NMR**(50MHz,CDCl₃)： δ 135.7(d)，123.8(d)，122.9(s)，122.4(d)，116.6(s)，50.2(t)，36.1(q)，31.6(t)，30.0(t)，28.9(t)，28.8(t)，26.0(t)，22.5(t)，13.9(q)；離子液體化合物 **2**[C₁₀MIM][NTf₂]的光譜資料：**IR**(neat)：3160，3120，2924，2852，1575，1466，1348，1329，1197，1141，1060 cm⁻¹； **^1H NMR**(200MHz,CDCl₃)： δ 8.61(sbr,1H)，7.32~7.27(m,2H)，3.91(s,3H)，1.88~1.85(m,2H)，1.30~1.25(m,14H)，0.87(t,3H, J =6.0Hz)； **^{13}C NMR**(50MHz,CDCl₃)： δ 135.7(d)，123.9(d)，122.9(s)，122.4(d)，116.5(s)，50.2(t)，36.2(q)，31.8(t)，30.0(t)，29.4(t)，29.3(t)，29.2(t)，28.9(t)，26.1(t)，22.6(t)，14.0(q)

離子液體化合物 **3**[C₁₂MIM][NTf₂]的光譜資料：**IR**(neat)：3160，3120，2924，2852，1572，1466，1343，1186，1133，1055 cm⁻¹； **^1H NMR**(200MHz,CDCl₃)： δ 8.67(sbr,1H)，7.36~7.32(m,2H)，3.95(s,3H)，1.88~1.85(m,2H)，1.31~1.26(m,20H)，0.87(t,3H, J =6.1Hz)； **^{13}C NMR**(50MHz,CDCl₃)： δ 135.9(d)，123.9(d)，123.0(s)，122.4(d)，116.7(s)，50.2(t)，36.3(q)，32.0(t)，30.1(t)，29.6(t)，29.5(t)，29.4(t)，28.9(t)，26.2(t)，22.7(t)，14.1(q)

B. RTILs-GC 靜相之分離效能的評估

本研究所自製之管柱經由 I、II、III 類分析物測試後，以理論板數(N)、容量因子(K')、解析度(Rs)等參數對此分析管柱進行效能評估。各個參數之公式及代表之意義如下：

$N=16(t_R/W)^2$ N 為理論板數，其值愈高，代表分離效率佳； t_R 為滯留物種時間；W 為滯留峰寬。

$K'=(t_R-t_M)/t_M$ K' 為容量因子，其值愈高，與靜相間交互作用能力強使得滯留時間長，此值應該介於 1~10； t_M 為非滯留物種時間； t_R 為滯留物種時間。

$Rs=2[(t_R)_A-(t_R)_B]/(W_A+W_B)$ Rs 為解析度，其值愈高，代表物種 A、B 之層析峰不重疊分得愈開，此值應該大於 1.5； $(t_R)_A$ 、 $(t_R)_B$ 為物種 A、B 調整後滯留時間； W_A 、 W_B 為物種 A、B 滯留峰寬

1. 直鏈烷類化合物(C₈~C₂₀)

(1) C₈~C₁₂ 之烷類混合液，將此分析物分別注入以三種不同離子液體作為靜相的氣相層析儀內，所得之分離層析圖如圖 2；各種評估參數的結果如表 3。從圖上可以發現，隨著管柱所塗佈的離子液體上 imidazolium 之烷基鏈長增加，分析物之滯留時間也明顯增加。另外，從表 3-1 可以發現，每個分析物在不同碳數支離子液體作為氣相層析之靜相下，所得之 N 值各有不同，其中 C₈ 烷在 [C₈MIM][NTf₂] 和 C₁₂ 烷在 [C₁₂MIM][NTf₂] 中可以高達 10000 以上，但 C₈~C₁₁ 烷類之 N 值卻在 [C₈MIM][NTf₂] 較高，原因可能是在低碳數下之烷類與 [C₈MIM][NTf₂] 之交互作用力較弱，在管柱停留時間短，造成峰變寬的現象機會少，使得峰寬窄，所導致的；亦可發現 C₈、C₉ 烷類在此 10 m 長的靜相下，滯留時間太短，尤其 C₈ 烷在此以三種不同離子液體作為氣相層析的靜相上，其層析峰出現在溶劑(正己烷)層析峰之拖尾端上。至於解析度上，除了 C₈ 與溶劑(正己烷)解析度較差外，其他分析物彼此間之 Rs 值皆大於 2.5。另外，亦發現不管在何種氣相層析的靜相下，隨著烷類碳數之增加與其相鄰烷之 Rs 值亦有增加的趨勢。

(2) C₁₃~C₂₀ 之烷類混合液，將此分析物分別注入以三種不同離子液體作為靜相的氣相層析儀內，所得之分離層析圖如圖 3；各種評估參數的結果如表 4。如圖 3 所示，其烷類之 t_R 隨著管柱所塗佈的離子液體上 imidazolium 之烷基鏈長增加而增加。如表 4 所示，各烷類在膜厚相近之 [C₈MIM][NTf₂]、[C₁₀MIM][NTf₂]、[C₁₂MIM][NTf₂]，所得之 N 值皆大於 6900，而且以 C₂₀ 烷層析峰所得之 N 值為最高，由此可知，在此三種靜相下，C₂₀ 烷雖然滯留時間長使得 N 值變大，但相對地其層析峰之峰寬並沒有因為時間變長而加寬所致。另外，亦發現在此氣相層析操作系統下，C₁₃~C₂₀ 烷類在 [C₁₂MIM][NTf₂] 之管柱效率優於其他兩種氣相層

析靜相。而其 K' 值的表現亦皆大於 1.2，雖然 K' 值最大值在 11.42，表示 C_{20} 烷在 $[C_{12}MIM][NTf_2]$ 靜相之容量因子大，會造成分離時間過長，但實際發現， C_{20} 烷之層析峰於 9.115 分鐘出現，分離時間於 10 分鐘內完成！至於 R_s 值的表現，除了 C_{13} 烷與溶劑(正己烷)大於 5 以外，其它之烷類與其相鄰之烷類的 R_s 值呈現一穩定的狀態，皆落在 5 左右。

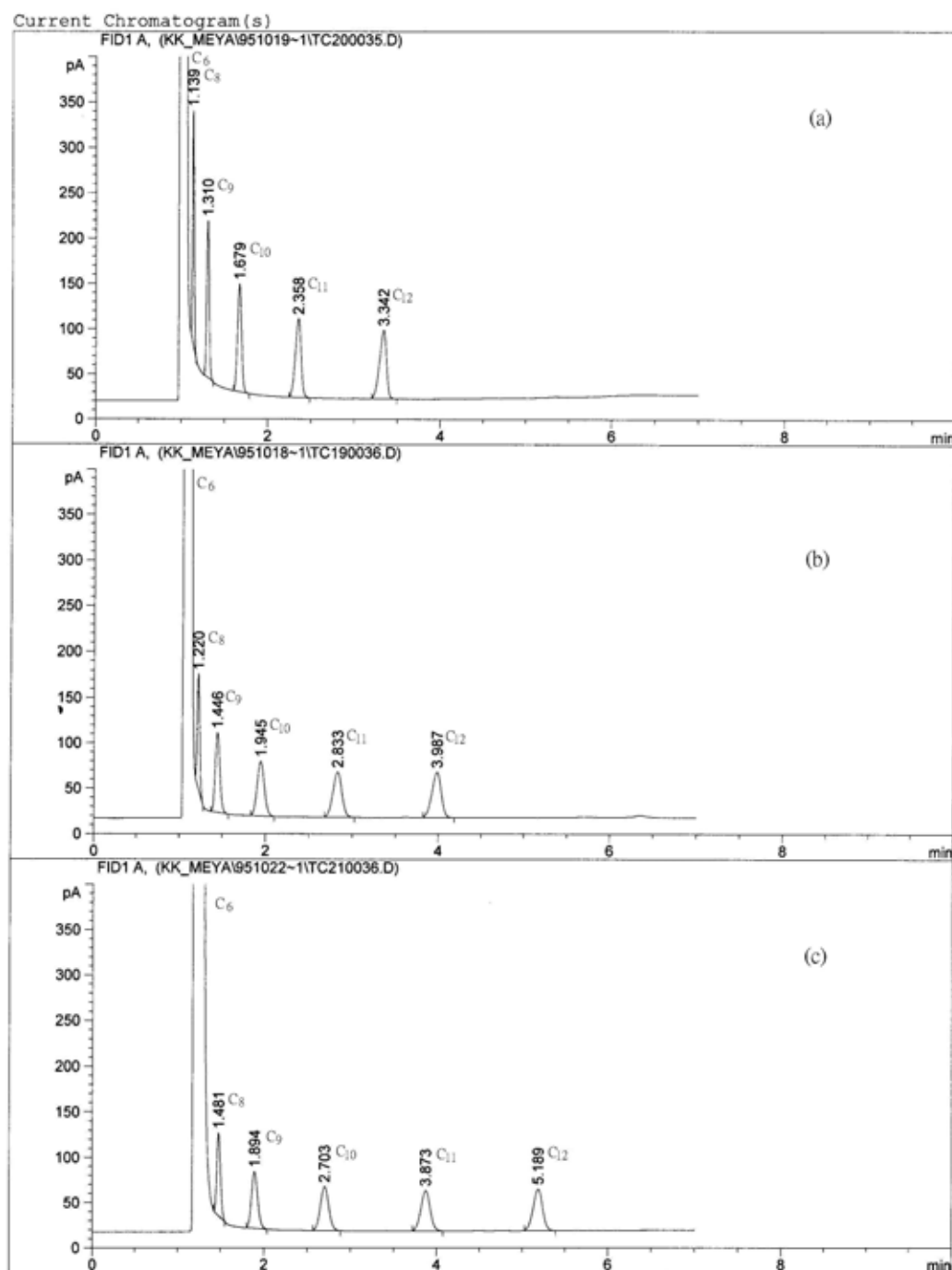


圖 2 $[C_8MIM][NTf_2]$ 、 $[C_{10}MIM][NTf_2]$ 、 $[C_{12}MIM][NTf_2]$ 管柱對分析物 $C_8 \sim C_{12}$ 之分析效能比較層析圖。(a) $[C_8MIM][NTf_2]$ ，(b) $[C_{10}MIM][NTf_2]$ ，(c) $[C_{12}MIM][NTf_2]$ 。層析條件： N_2 的 Flow 為 0.8 mL/min，起始溫度 $30^\circ C$ ，

停留 1 分鐘後再以每分鐘 10 °C 升溫，最終溫度 90 °C。

表 3 [C₈MIM][NTf₂]、[C₁₀MIM][NTf₂]、[C₁₂MIM][NTf₂]管柱對 C₈~C₁₂ 烷類混合

管柱		[C ₈ MIM][NTf ₂]	[C ₁₀ MIM][NTf ₂]	[C ₁₂ MIM][NTf ₂]
樣品				
Plates	C ₈	17479	8247	5678
	C ₉	8775	3504	3381
	C ₁₀	6043	2636	3789
	C ₁₁	5998	3566	6106
	C ₁₂	8239	6470	10651
管柱		[C ₈ MIM][NTf ₂]	[C ₁₀ MIM][NTf ₂]	[C ₁₂ MIM][NTf ₂]
樣品				
K'	C ₈	0.69	0.82	1.20
	C ₉	0.95	1.15	1.82
	C ₁₀	1.50	1.90	3.02
	C ₁₁	2.51	3.22	4.76
	C ₁₂	3.97	4.94	6.71
管柱		[C ₈ MIM][NTf ₂]	[C ₁₀ MIM][NTf ₂]	[C ₁₂ MIM][NTf ₂]
樣品				
Resolution	C ₆ vs C ₈	1.54	1.67	2.58
	C ₈ vs C ₉	3.78	2.96	3.95
	C ₉ vs C ₁₀	5.17	4.00	5.28
	C ₁₀ vs C ₁₁	6.52	5.20	6.25
	C ₁₁ vs C ₁₂	7.30	5.94	6.58

液之測定數據

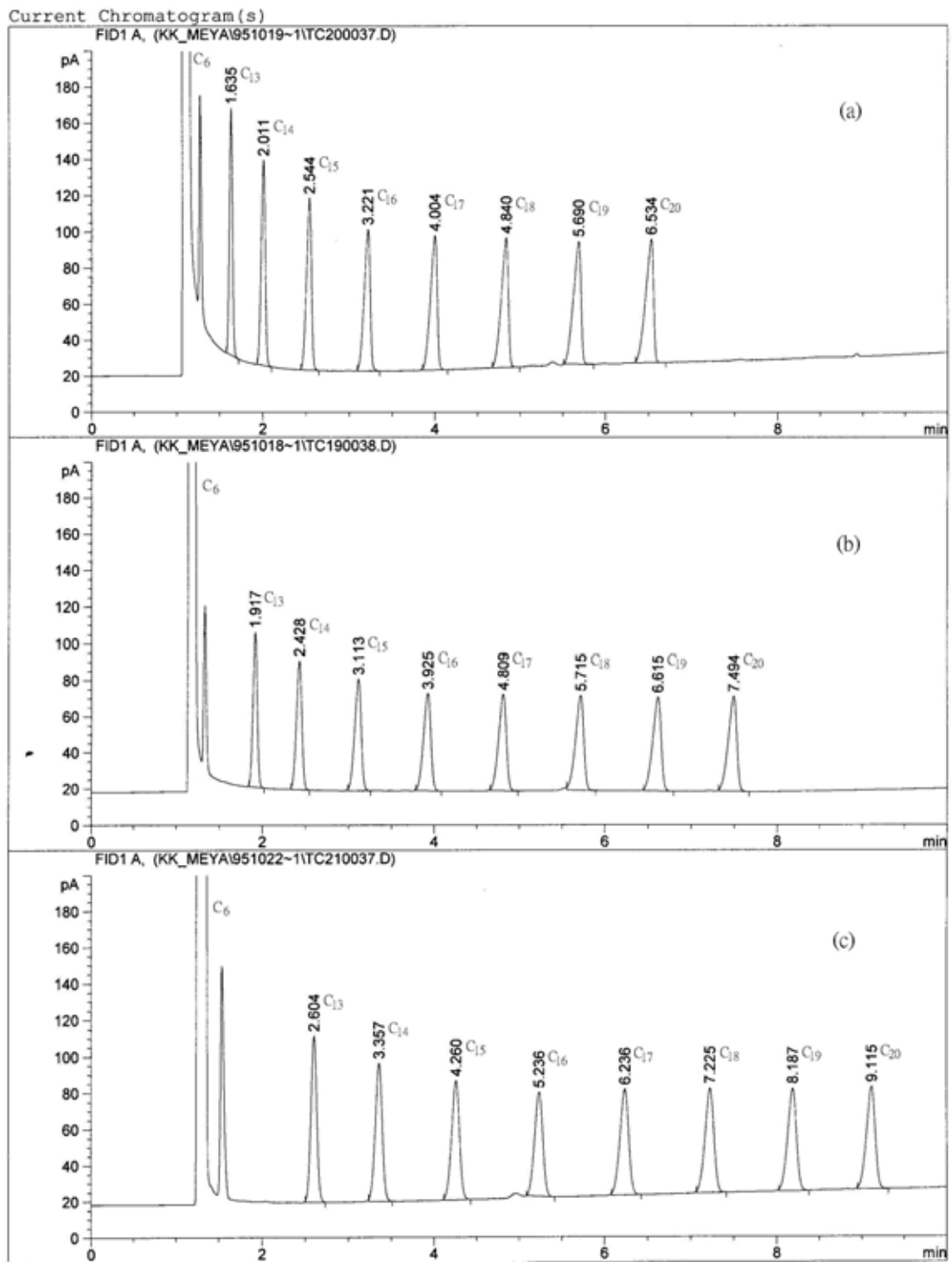


圖 3 $[C_8MIM][NTf_2]$ 、 $[C_{10}MIM][NTf_2]$ 、 $[C_{12}MIM][NTf_2]$ 管柱對分析物 $C_{13}\sim C_{20}$ 之分析效能比較層析圖。(a) $[C_8MIM][NTf_2]$ ，(b) $[C_{10}MIM][NTf_2]$ ，(c) $[C_{12}MIM][NTf_2]$ 。層析條件： N_2 的 Flow 為 0.8 mL/min ，起始溫度 $70\text{ }^\circ\text{C}$ ，以每分鐘 $10\text{ }^\circ\text{C}$ 升溫，最終溫度 $170\text{ }^\circ\text{C}$ 。

表 4 [C₈MIM][NTf₂]、[C₁₀MIM][NTf₂]、[C₁₂MIM][NTf₂]管柱對 C₁₃~C₂₀ 烷類混

管柱 樣品		[C ₈ MIM][NTf ₂]	[C ₁₀ MIM][NTf ₂]	[C ₁₂ MIM][NTf ₂]
		C ₁₃	9650	7049
C ₁₄	8811	6996	8154	
C ₁₅	9177	8050	10221	
C ₁₆	9996	9975	13559	
C ₁₇	12053	12600	18081	
C ₁₈	15732	16949	23898	
C ₁₉	18553	21304	29781	
C ₂₀	23653	27776	36912	

管柱 樣口		[C ₈ MIM][NTf ₂]	[C ₁₀ MIM][NTf ₂]	[C ₁₂ MIM][NTf ₂]
		C ₁₃	1.23	1.62
C ₁₄	1.74	2.32	3.57	
C ₁₅	2.47	3.25	4.80	
C ₁₆	3.39	4.36	6.13	
C ₁₇	4.46	5.57	7.50	
C ₁₈	5.60	6.80	8.84	
C ₁₉	6.75	8.03	10.16	
C ₂₀	7.90	9.23	11.42	

管柱 樣口		[C ₈ MIM][NTf ₂]	[C ₁₀ MIM][NTf ₂]	[C ₁₂ MIM][NTf ₂]
		C ₆ vs C ₁₃	6.60	8.14
C ₁₃ vs C ₁₄	4.93	4.92	5.50	
C ₁₄ vs C ₁₅	5.55	5.36	5.68	
C ₁₅ vs C ₁₆	5.75	5.48	5.60	
C ₁₆ vs C ₁₇	5.69	5.37	5.47	
C ₁₇ vs C ₁₈	5.57	5.22	5.30	
C ₁₈ vs C ₁₉	5.28	5.03	5.10	
C ₁₉ vs C ₂₀	5.00	4.86	4.88	

合液之測定數據

二、 Naproxen 藥物之光解實驗

A. 層析條件的選擇

實驗中曾嘗試不同之分離條件測定 Naproxen 未加內標物，移動相為 MeOH、波長 262 nm，結果 MeOH 之滯留時間為 2.82 min 而且層析峰有拖尾的現象。由此結果可推知 Naproxen 較極性，所使用的移動相屬於較極性；亦嘗試使用梯度流析，條件為波長設定在 262 nm；而移動相為一開始以 50/50 (v/v%) 之 H₂O/MeOH 切換至 3.5 min 而達到 100%MeOH，但此方法之效果不理想。因為 Naproxen 官能基上帶有 COOH 鍵，移動相需加點酸性溶劑防止解離，並加以分離。Naproxen 光解後之分析物皆稀釋至 20 ppm 並以 10 ppm 咖啡因作為內標物加以混合，依序以 HPLC 進行偵測，移動相改以 49/50/1 (v/v%) 之乙腈/水/冰醋酸混合溶液，而偵測時由光解時間較短為優先，如圖二。由圖二之層析圖得知可得到三支完全分離之層析峰，咖啡因內標定物出現的層析峰之滯留時間大約是 2 分鐘，而未分解之 Naproxen 藥物大約在 6 分鐘左右出現，而光解產物出現的時間約 8 分鐘左右。

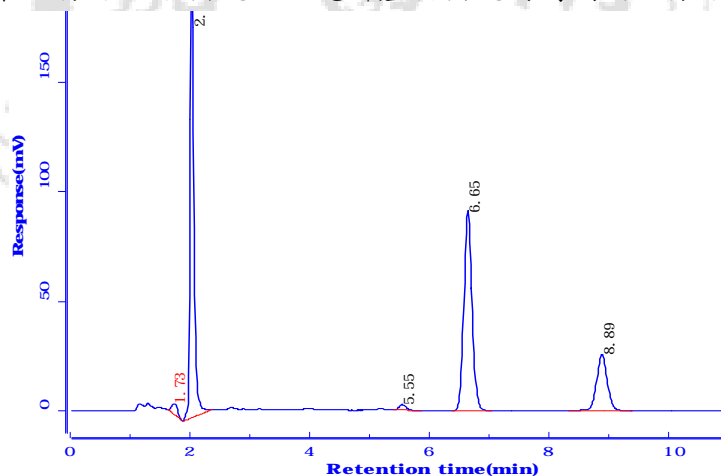


圖 4 Naproxen 光解產物之層析圖 (其實驗條件：樣品注入體積為 20 μ L；移動相為 49/50/1 (v/v%) 之乙腈/水/冰醋酸混合溶液)

B. 光源的校正

為了探討光源強度之均勻性，以相同濃度的樣品放置於不同位置(標示 A, B, C, D, E) 下進行相同時間的光解實驗。實驗結果發現放置在光源下正中央(C 位置)的光解產物含量最多，置於兩側(A, E 位置)的產物量最少。如此發現後，需要將不同位置的光解產物的含量除上該位置下之光源校正因子，如下表所示。

表 5 不同位置下之光源校正因子

光解樣品	A	B	C	D	E
比值 ^a	0.070	0.117	0.202	0.107	0.042
校正因子% ^b	34.5	57.9	100	53.2	20.2

^a 比值=分析物面積/內標物面積

^b 校正因子%=(光解產物比值/光解產物量最多比值)×100%

C. 光解時間的影響

另外，將所得不同時間之光解結果做圖，如圖 7 所示。在實驗中發現 Naproxen 藥物會隨光照時間增加而產量漸漸變少；而光解產物則隨光照時間增加而變多。並進行光源在不同位置之強度改變的校正實驗，所得之結果乘上此光源的校正因子，對分析物做一級動力學之探討，如圖 8 所示。

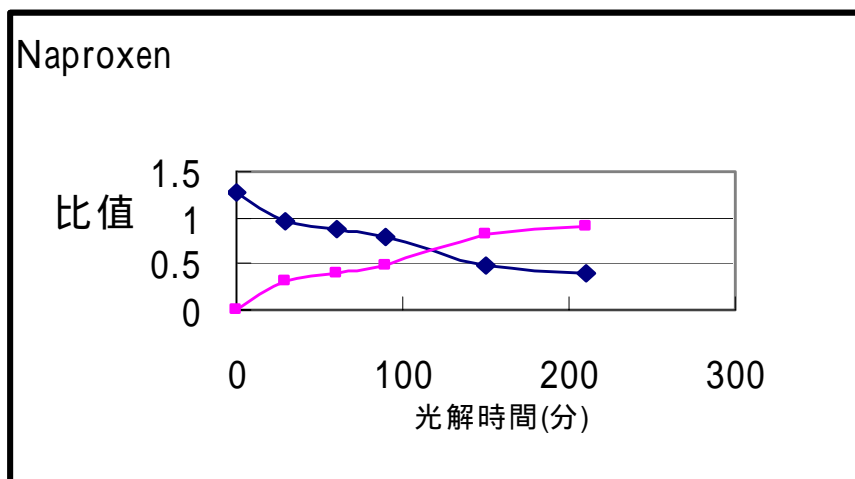
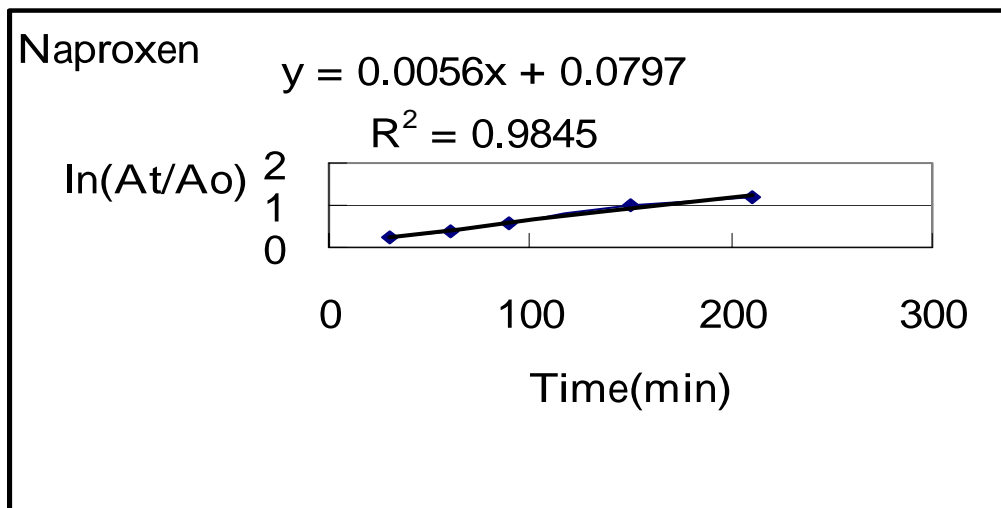


圖 5 光解產物隨時間之趨勢圖



結論

由上所述，雖實驗未進行至將 RTILs 作為 HPLC 的移動相之修飾劑。但目前為止，本研究已能成功合成不同碳數之 RTILs，並建立其塗佈於 GC 靜相之技術，亦將 RTILs-GC 靜相對不同極性之分析物的分離效能加以探討。實驗結果發現，由於滯留現象是由極為複雜之機制綜合所有結果所呈現出來的圖譜，因此本研究藉由理論板數(theoretical plates)、容量因子(capacity factor)、解析度(resolution)等多項數據交叉比較所有的滯留現象以及管柱分析能力。經由 I、類分析物測定後，根據數據顯示無論在容量因子、理論板數和解析度方面，都證明管柱分析能力與測試分析物間有著密切的關係。而 II、III 類分析物測定則需要進一步實驗，其結果再加以探討。從目前所得實驗結果，推測本研究之氣相層析的靜相應屬於非極性管柱，希望未來能與商業化的氣相層析管柱(如：DB-1、DB-5 等)比較其分離效能。

另外，同時進行光敏感藥物之光解實驗，當然此實驗改進空間尚有如控制光源穩定性，改進光解 filter 的種類、調整光解反應時樣品周遭環境控制，並需進一步再測試初步產物的穩定性，以確認更準確的光解反應機構。以本實驗為一開始，未來將可繼續其他光敏感藥物之光解反應條件，希望能夠藉由對各藥物光穩定性及光解產物研究，以為藥物臨床研究及醫療效提供一些基礎參考資料。如此將本研究之觸腳予以多方面地延伸，期許在未來的研究中能探討 RTILs 於藥物之光解實驗的影響。

謝誌

感謝教育部及嘉南藥理科技大學提供經費，使本實驗得以完成。

參考文獻

1. F. H. Hurley, J. P. Wir,; *J. Electrochem.Soc.*, **1951**, 98, 203
2. A. M. Stalcup, B. Caboveska, *J. Liq. Chromatogr. Rel. Tech.* 2004, 27, 1443
3. J. -F. Liu, J. A. Jonnson, G. -B. Jiang, *Trends Anal. Chem.* 2005, 24, 20
4. G. A. Baker, S. N. Baker, S. Pandey, F. V. Bright, *Analyst* 2005, 130, 800
5. A. Berthod, L. He, D. W. Armstrong *Chromatographia* **2001**, 53, 63
6. J Ding, T. Welton, D. W. Armstrong *Anal. Chem* **2004**, 76, 6681
7. Anderson, J. L.; Armstrong, D. W.; *Anal. Chem.* **2005**, 77, 6453
8. D. E. Moore, *Drug Safety*, **2002**, 25, 345 and its references