

УДК 539.144.7:543.544

Влияние типа связывания хиральных селекторов на основе карбамата цинхония на параметры хирального распознавания*

К.-Х. Кравинклер, Е. Гавиоли, Н. Н. Майер, В. Линднер

КАРЛ-ХАНЦ КРАВИНКЛЕР (Karl-Heinz Krawinkler) — аспирант кафедры аналитической химии Университета Вены. Область научных интересов: жидкостная хроматография, синтез и исследование хиральных фаз.

ЕЛЕНА ГАВИОЛИ (Elena Gavioli) — аспирантка кафедры аналитической химии Университета Вены. Область научных интересов: жидкостная хроматография, синтез и исследование хиральных фаз.

НОРБЕРТ Н. МАЙЕР (Norbert N. Maier) — кандидат химических наук, научный сотрудник кафедры аналитической химии Университета Вены. Область научных интересов: жидкостная хроматография, разделение энантиомеров, синтез хиральных фаз.

ВОЛЬФГАНГ ЛИНДНЕР (Wolfgang Lindner) — профессор, заведующий кафедрой аналитической химии Университета Вены. Область научных интересов: науки о разделении веществ, хиральная хроматография, электрохроматография, капиллярный электрофорез.

Institute of Analytical Chemistry, University of Vienna, Währingerstraße 38, A-1090, Vienna, Austria, norbert.maier@univie.ac.at

Введение

Разработка и оптимизация селективных сорбентов с иммобилизованными лигандами представляет собой сложную задачу. Это особенно относится к хиральным стационарным фазам так называемого шеточного типа, которые включают энантиоселективный рецептор — хиральный селектор и используются для прямого хроматографического разделения энантиомеров. Собственная энантиоселективность хирального селектора по отношению к данной паре разделяемых энантиомеров подвержена влиянию физико-химических свойств подложки, на которой он закреплен, а также зависит от химической природы и типа закрепления. В общем случае сильные взаимодействия анализируемых веществ с материалом подложки и функциональными группами связующего фрагмента приводят к значительному неселективному удерживанию на матрице, что увеличивает общее удерживание, но уменьшает энантиоселективность разделения [1–5].

Материал подложки и закрепленные на ней функциональные фрагменты, ответственные за ковалентное связывание хирального селектора, не обязательно должны уменьшать способность хирального распознавания исходной системы. Есть несколько примеров, когда разумный выбор твердого носителя и удачный дизайн химического связывания обеспечивали улучшение рабочих характеристик хирального сорбента. Так, Пиркл и сотр. показали на примере напроксена, что для синтезированного ими хирального селектора замещение легкоподвижного спейсера C_{11} на C_3 -«ножку» заметно улучшает энантиоселективность сорбента [6]. Основываясь на рациональном механизме распознавания, предложенного для комбинации хиральный селектор-анализируемое соединение, авторы объяснили повышенную энантиоселективность кооперативным эффектом поверхности, дестабилизирующим преимущественно «неправильный» из двух образуемых диастереомеров. Благоприятный эффект, вызываемый поверхностью матрицы, наблюдался также и с другим хиральным селе-

* Перевод с английского докт. хим. наук А.А. Курганова.

тором π -донорного типа на основе дифенилэтилендиамин, где укорочение длины алкильного спейсера от C_{11} до C_5 приводило к улучшению характеристик энантиоразделения арилкарбинолов [7].

В работе, посвященной изучению влияния поливалентности рецептора в хиральном распознавании, группа Фрише [8] продемонстрировала заметный синергический эффект для стационарных фаз, имеющих хиральный селектор, связанный с макропористым метакрилатным сополимером посредством сложного фрагмента на основе дендримеров [8]. Положительный кооперативный эффект был объяснен как следствие многоточечного связывания анализируемого вещества с селектором, который в свою очередь был частично «предорганизован» дендримерной связывающей конструкцией.

Несомненно, что информация о том, как дополнительная функциональность влияет на общую энантиоселективность, является исключительно важной для разработки проектов, посвященных включению известных хиральных селекторов в новые области приложения, такие как создание полимерных хиральных фаз, получение хиральных подвижных фаз для разделения методом жидко-жидкостной экстракции, создание энантиоселективных сенсорных устройств. Решение этих задач может потребовать альтернативного и/или многократного химического модифицирования фрагмента хирального селектора для того, чтобы получить подходящие мономер и сшивающий агент, иметь возможность регулировать соотношение растворимость/липофильность, ввести специальный функциональный датчик, преобразующий акт хирального распознавания в детектируемый сигнал. Однако включение новых структурных фрагментов в оптимизированные энантиоселективные системы влияет на их внутренние свойства, ответственные за хиральное распознавание. Недавно Ли и сотр. сообщили, что их попытки по включению исключительно селективной хиральной структуры шеточного типа в полимерную матрицу привели к потере значительной доли энантиоселективности (от 10,18 к 2,74) [9].

Исходя из нековалентной природы явления хирального распознавания при хроматографическом разделении энантиомеров, можно предположить, что даже незначительные изменения в структуре хирального селектора могут повлиять на высокочувствительный ансамбль относительно слабых и действующих совместно взаимодействий, определяющих процесс энантиоселективного связывания. В отдельных случаях введение дополнительных химических фрагментов может изменить энантиоселективные взаимодействия, например, за счет ограничения доступно-

сти связывающих центров, конкурентных связываний анализируемого соединения или вынужденных изменений связываемой конформации энантиомера. Чтобы оценить и решить эти проблемы, нужны знания о чувствительных/нечувствительных центрах системы хирального селектора и вся совокупность знаний «мягкой химии», совместимой с механизмом хирального распознавания, лежащим в основе функционирования хиральных селекторов.

С целью разработки новых приложений хиральных селекторов типа анионообменных карбаматов цинхония нами проведены структурные исследования доменов в этих рецепторах, чтобы осуществить модификацию хирального селектора без значительного изменения его энантиоселективности. Для прояснения этого ключевого вопроса мы определили характеристики разделения энантиомеров для серии структурно родственных хиральных стационарных фаз, отличающихся только фрагментом хирального селектора, используемым для химической прививки на поверхность твердой фазы.

В данной статье описаны дизайн и синтез серии новых C_9 -карбаматсвязанных хиральных стационарных фаз. Для обширной серии анализируемых кислых веществ определены профили хроматографического разделения на карбаматцинхониевых фазах с C_9 -связыванием и сопоставлены с соответствующими профилями C_{11} -связанных аналогов, имеющих сходные мотивы связывающих центров. Кроме того, для фаз, имеющих в своей структуре дополнительную ароматическую группу в C_9 -карбаматной «ножке», изучено влияние структурной модификации в непосредственной близости к атому азота карбаматной группы.

ЭКСПЕРИМЕНТ

Использованные вещества и материалы

Хинин, производство фирмы «Buchler GmbH» (Брауншвайг, Германия).

6'-Неопентоксицинхонидин, синтезирован по методике [10].

2,2-Диметилпентеноил-4-хлорид, синтезирован по методике Кримминса и сотр. [11].

Силикагель, модифицированный 3-меркаптопропильными группами (степень покрытия 0,85 ммоль тиольных групп/г), используемый для синтеза фаз ХСФ1—ХСФ6, получен из силикагеля Кромасил 100, размер частиц 5 мкм (ЕКА Nobel, Бохус, Швеция), по методике [12].

3-Изопропенил- α,α -диметилбензилизотиоцианат (95%).

Дибутилоловодилаурат (95%).

Палладий (10%) на активированном угле (Pd-C).

Формиат аммония (97%), азид натрия (99%), гексен-1 (97%), магния сульфат моногидрат (MgSO₄), производство фирмы «Aldrich» (Вена, Австрия).

Азо-бис-изобутиронитрил, производство фирмы «Merck» (Дармштадт, Германия).

Подвижные фазы для тестирования хиральных стационарных фаз приготовлены из метанола (хроматографически чистый) и ледяной уксусной кислоты (аналитически чистая) производства фирмы «Merck» и из ацетата аммония производства фирмы «Fluka» (Бухс, Швейцария).

Рацемические и энантимерно обогащенные соединения для тестирования хиральных стационарных фаз различных производителей.

N-Производные аминокислот, получены по стандартным методикам.

Синтез хиральных селекторов

Аналитическое обеспечение

Спектры ¹H ЯМР получены на приборе фирмы «Bruker» модель DRX (400 МГц) при 300 К и концентрации вещества в пробе 10 мг/мл. Химический сдвиг протонов δ (в м.д.) представлен относительно тетраметилсилана как инертного стандарта.

ИК-спектры записаны на приборе фирмы «Perkin-Elmer», модель Спектр 2000.

Масс-спектры получены на спектрометре PESCIEX API 365 (тройной квадруполь) фирмы «PESCIEX» (Торнхил, Канада), ионизация методом электрораспыления при напряжении 5250 В. Растворы проб в подходящем растворителе (концентрация ~ 0,1 мг/мл) инжигировали в систему с помощью шприцевого насоса (фирма «Harvard Apparatus», Натик, США) со скоростью 5 мкл/мин.

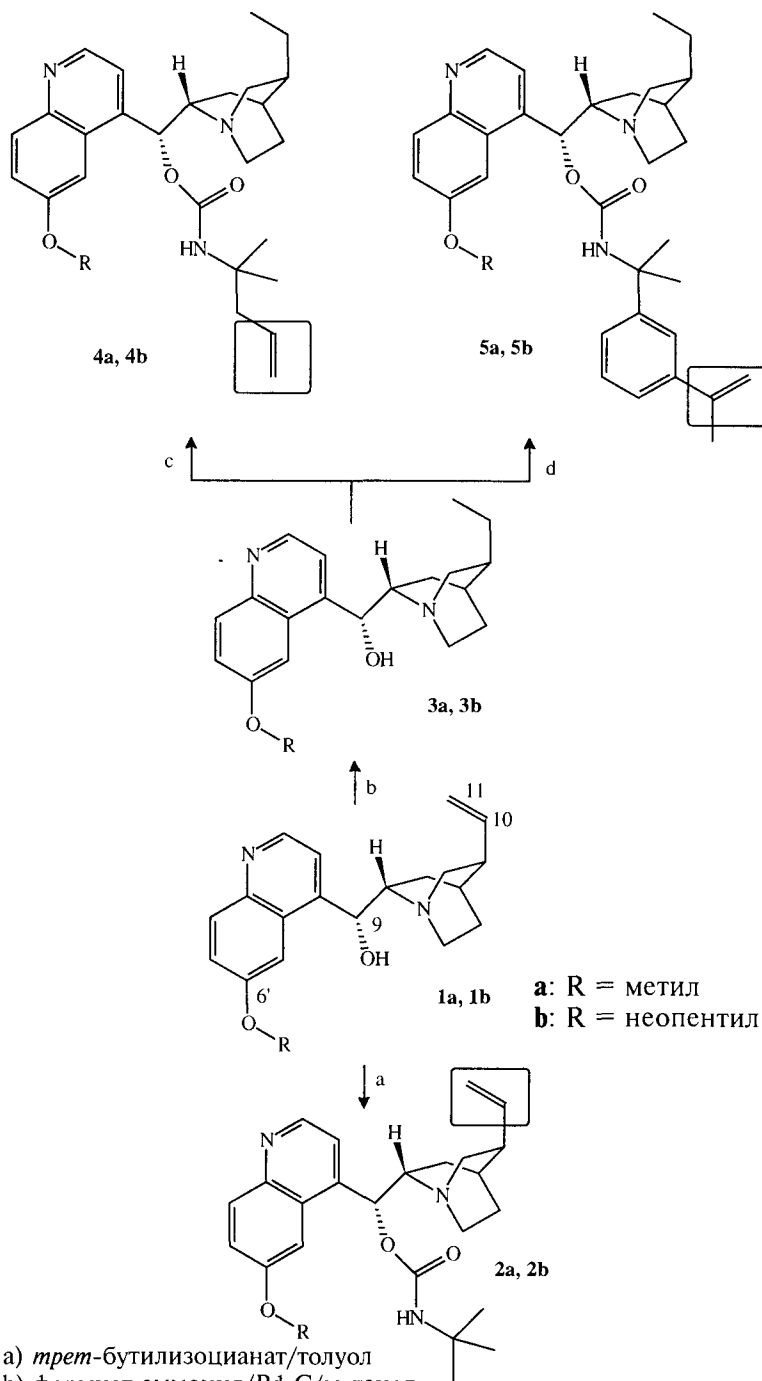
Величину оптического вращения измеряли на поляриметре, модель 341 фирмы «Perkin-Elmer» при 292 К. Температуру плавления измеряли на приборе Кфлера, снабженном микроскопом фирмы «Leica».

Тонкослойную хроматографию проводили на алюминиевых пластинках, покрытых силикагелем 60 F₂₅₄ фирмы «Merck». Флеш-хроматографическую очистку осуществляли на силикагеле 60 (0,043—0,063 мм) производства фирмы «Merck» (Дармштадт, Германия).

В синтезе и хроматографии использовали растворители с чистотой не ниже 95%, их осушали по стандартной процедуре и перед применением перегоняли.

10,11-Дигидрохинин (3a)

Пути синтеза хиральных селекторов 3a/b—5a/b на основе хинина 1a и 6'-неопентоксицинонидина 1b представлены на схеме.



- a) трет-бутилизоцианат/толуол
 b) формиат аммония/Pd-C/метанол
 c) 1,1-диметилбутенил-3-изоцианат/толуол
 d) 3-изопропенил-α,α-диметилбензилизоцианат/толуол

Схема синтеза хиральных селекторов 3a/3b—5a/5b на основе хининового и цинхониевого алкалоидов.

Концевая олефиновая группа, заключенная в рамку, использовалась для иммобилизации на силикагель, модифицированный меркаптопропильными группами

Хинин (4,0 г, 12,33 моль) растворяли в метаноле (60 мл) и смешивали с формиатом аммония (15,0 г, 236 моль). В раствор вносили палладий на активированном угле (400 мг) и смесь кипятили с обратным холодильником при перемешивании в течение 1 ч. Катализатор отфильтровывали и растворитель отгоняли под вакуумом. К остатку добавляли 2 М водный раствор NaOH (100 мл) (pH > 14) и полученную суспензию экстрагировали хлороформом (2×50 мл). Объединенные органические вытяжки высушивали (MgSO₄), и затем растворитель отгоняли под вакуумом. Сырой продукт перекристаллизовывали из смеси этилацетат/гексан (1:1 об.). Выход — 3,45 г бесцветного твердого продукта (10,60 ммоль, 85%).

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8,56 (д, 1H); 7,93 (д, 1H); 7,47 (д, 1H); 7,27 (м, 1H); 7,22 (д, 1H); 5,49 (д, 1H); 4,33 (широкий, с, 1H); 3,87 (с, 3H); 3,43 (м, 1H); 3,09—2,99 (м, 2H); 2,60 (м, 1H); 2,33 (м, 1H); 1,75—1,68 (м, 3H); 1,43—1,40 (м, 3H); 1,24 (м, 2H); 0,79 (т, 3H); т.пл. 170 °С.

б'-Неопентокси-10,11-дигидроцинхонидин (3b)

б'-Неопентоксицинхонидин (0,5 г, 1,31 ммоль) гидрировали в тех же условиях, как это описано выше для синтеза **3a**. Выход — 420 мг белой пенной массы (1,10 ммоль, 84%).

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8,61 (д, 1H); 7,80 (д, 1H); 7,56 (д, 1H); 7,16 (дд, 1H); 7,042 (д, 1H); 6,00 (широкий, с, 1H); 4,03 (широкий, с, 1H); 3,62 (к, 2H); 3,22 (м, 2H); 2,86 (м, 1H); 2,53 (м, 1H); 2,05—1,89 (м, 4H); 1,63—1,58 (м, 2H); 1,37—1,30 (м, 1H); 1,26—1,18 (м, 2H); 1,06 (с, 9H); 0,79 (т, 3H). Оптическое вращение [α]₅₈₉ = -128,0; [α]₅₄₆ = -157,9; [α]₅₄₆ = -322,5 (с = 1,00, CHCl₃), т.пл. 82—87 °С.

9-[(1,1-Диметилбутен-3)-ил]-карбамоил-10,11-дигидрохинин (4a) и 9-[(1,1-диметилбутен-3)-ил]-карбамоил-б'-неопентокси-10,11-дигидроцинхонидин (4b)

1. Получение 1,1-диметилбутенил-3-изоцианата непосредственно в реакционной смеси.

К охлажденному льдом раствору 2,2-диметилпентеноил-4-хлорида (0,65 г, 4,5 ммоль) в ацетоне (7 мл) добавляли азид натрия. Полученную суспензию перемешивали при 0 °С в течение 1,5 ч. Затем реакционную смесь разбавляли толуолом, охлажденным в ледяной бане, (100 мл) и промывали водой (3×10 мл). Органический слой тщательно высушивали (MgSO₄) и затем кипятили в течение 3 ч с обратным холодильником для завершения перегруппировки ацилазида в соответствующий изоцианат.

Проба реакционной смеси дает интенсивную полосу в ИК-спектре при 2259 см⁻¹, что указывает на успешное превращение в изоцианат. Толуольный раствор сырого изоцианата непосредственно использовали для получения хиральных селекторов **4a** и **4b**.

2. Получение селекторов **4a** и **4b**.

Толуольный раствор сырого 1,1-диметилбутенил-3-изоцианата кипятили с обратным холодильником с соответствующим дигидропродуктом **3a/3b** (4,5 ммоль) и 10 мкл дибутиловодилаурата в течение 15 часов. Затем растворитель отгоняли под вакуумом. Сырые продукты очищали методом флеш-хроматографии на силикагеле (70 г) с элюентом CHCl₃/MeOH = 20:1 (об.).

Выход селектора **4a** — 600 мг белого пенного продукта (1,33 ммоль, 30% в расчете на 2,2-диметилпентеноил-4-хлорид), ¹H ЯМР (250 МГц, CDCl₃): δ = 8,751 (д, 1H); 8,02 (д, 1H); 7,50 (д, 1H); 7,39 (м, 1H); 7,36 (д, 1H); 6,45 (д, 1H); 5,72 (м, 1H); 5,10—4,98 (м, 2H); 4,75 (с, 1H); 3,98 (с, 3H); 3,30 (м, 1H); 3,12—3,02 (м, 2H); 2,67 (м, 1H); 2,38 (м, 3H); 1,82—1,69 (м, 3H); 1,63—1,55 (м, 1H); 1,48—1,41 (м, 2H); 1,39—1,31 (м, 2H); 1,29 (с, 6H); 0,86 (т, 3H); ИК-спектр (Si): (см⁻¹) = 3237, 2932, 1716, 1622, 1510; масс-спектр, *m/z* [M+H]⁺ = 452,3; [M+Na]⁺ = 474; [M-H]⁻ = 450,3. Оптическое вращение [α]₅₈₉ = +4,6; [α]₅₄₆ = +5,9; [α]₅₄₆ = +12,3 (с = 1,00, CHCl₃).

Выход селектора **4b** — 1,43 г бежевого пенного продукта (2,84 ммоль, 63% в расчете на 2,2-диметилпентеноил-4-хлорид). ¹H ЯМР (250 МГц, CDCl₃): δ = 8,71 (д, 1H); 7,98 (д, 1H); 7,43 (д, 1H); 7,39—7,33 (м, 2H); 6,42 (д, 1H); 5,70 (м, 1H); 5,03 (м, 2H); 4,72 (широкий, с, 1H); 3,75 (к, 2H); 3,27 (м, 1H); 3,17—3,01 (м, 2H); 2,65 (м, 1H); 2,40—2,33 (м, 3H); 1,80—1,58 (м, 3H); 1,59 (м, 1H); 1,53—1,41 (м, 2H); 1,35—1,29 (м, 2H); 1,27 (с, 6H); 1,08 (с, 9H); 0,85 (т, 3H); масс-спектр, *m/z* [M+H]⁺ = 508,5; [M+Na]⁺ = 530,5. Оптическое вращение [α]₅₈₉ = +3,4; [α]₅₄₆ = +4,9; [α]₅₄₆ = +6,6 (с = 1,00, CHCl₃).

9-(3-Изопропенил-α,α-диметилбензил)карбамоил-10,11-дигидрохинин (5a) и 9-(3-изопропенил-α,α-диметилбензил)-карбамоил-б'-неопентокси-10,11-дигидроцинхонидин (5b)

Соответствующие дигидросоединения **3a/3b** (6,13 ммоль) растворяли в 150 мл толуола и раствор упаривали до 50 мл, чтобы азеотропно отогнать следы воды. Затем добавляли 3-изопропенил-α,α-диметилбензилизоцианат (6,13 ммоль) и 50 мкл дибутиловодилаурата и смесь кипятили с обратным холодильником при перемешивании. Через 10 ч проводили анализ пробы методом тонкослойной хроматографии (CHCl₃/MeOH = 20:1). Анализ показал полное превращение исходных продуктов. Раствор концентрировали под вакуумом и сырой продукт очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (70 г) с элюентом CHCl₃/MeOH=20:1 (об.).

Выход селектора **5a** — 2,50 г белого пенистого продукта (4,74 ммоль, 78%). ^1H ЯМР (d_6 -диметилсульфоксид, 333 К): δ = 8,67 (с, 1H); 7,93 (д, 1H); 7,60 (широкий, с, 1H); 7,46 (д, 1H); 7,42–7,39 (м, 2H); 7,37 (д, 1H); 7,27 (м, 1H); 7,23–7,19 (м, 2H); 6,17 (д, 1H); 5,24 (с, 1H); 5,02 (с, 1H); 3,84 (с, 3H); 3,16 (м, 1H); 2,98 (м, 1H); 2,84 (м, 1H); 2,44 (м, 1H); 2,18 (м, 1H); 2,03 (с, 3H); 1,75–1,65 (м, 3H); 1,55–1,49 (д, 6H); 1,35–1,27 (м, 5H); 0,85 (т, 3H). ИК-спектр (Si): ν (см^{-1}) = 3250, 2954, 2345, 1729, 1622, 1510. Оптическое вращение $[\alpha]_{589} = +12,8$; $[\alpha]_{546} = +16,3$; $[\alpha]_{546} = +36,6$ ($c = 1,00$, CHCl_3).

Выход селектора **5b** — 2,80 г белого пенистого вещества (4,84 ммоль, 79%). ^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 8,71 (д, 1H); 7,92 (д, 1H); 7,43 (м, 1H); 7,41–7,33 (м, 3H); 7,30 (м, 1H); 7,27–7,21 (м, 2H); 6,42 (широкий, с, 1H); 5,25 (с, 1H); 5,04 (с, 1H); 3,68 (с, 2H); 3,30 (м, 1H); 3,16–2,95 (м, 2H); 2,77–2,31 (м, 2H); 2,08 (с, 3H); 1,80–1,65 (м, 3H); 1,57 (м, 6H); 1,38–1,23 (м, 5H); 1,06 (с, 9H); 1,29 (с, 6H); 0,86 (м, 3H); ИК-спектр (Si): ν (см^{-1}) = 3250, 2954, 1729, 1622, 1510. Масс-спектр, m/z $[\text{M}+\text{H}]^+ = 584,3$.

Получение хиральных стационарных фаз

Стационарные хиральные фазы ХСФ2, ХСФ4, ХСФ5 и ХСФ6 получали иммобилизацией селекторов **4a**, **4b**, **5a** и **5b** на силикагеле, модифицированном меркаптопропильными группами (рис. 1).

Суспензировали 2,0 г модифицированного силикагеля (0,85 ммоль тиольных групп/г) в CHCl_3 (30 мл), в суспензию вводили соответствующий селектор, добавляли азо-*бис*-изобутиронитрил (АИБН) (5% мол. в расчете на взятый селектор) и суспензию кипятили с обратным холодильником в течение 20 ч при перемешивании. Силикагель отфильтровывали и промывали CHCl_3 (5×30 мл). Для дозакрытия силанольных групп хиральную стационарную фазу снова суспензировали в CHCl_3 и кипятили с гексеном-1 и АИБН (20 мг, 0,12 ммоль). После кипячения реакционной смеси в течение 7 ч при перемешивании силикагель отфильтровывали, промывали CHCl_3 (5×30 мл), MeOH (3×30 мл), диэтиловым эфиром (3×30 мл) и высушивали при 70 °С в течение 15 ч.

Степень модификации хиральным селектором определяли из результатов элементного анализа по содержанию азота: для ХСФ2 С 11,97%, Н 1,80%, N 1,08%, степень закрытия 0,26 ммоль/г; для ХСФ4 С 12,28%, Н 1,92%, N 0,90%, степень закрытия 0,22 ммоль/г; для ХСФ5 С 14,66%, Н 2,08%, N 0,99%, степень закрытия 0,24 ммоль/г; для ХСФ6 С 12,87%, Н 1,98%, N 0,78%; степень закрытия 0,19 ммоль/г.

Фазы ХСФ1 и ХСФ3 получали иммобилизацией соответствующих хиральных селекторов **2a** и **2b** по методике [10, 13]. Степень закрытия, рассчитанная по содержанию азота, составляет 0,27 и 0,24 ммоль/г, соответственно.

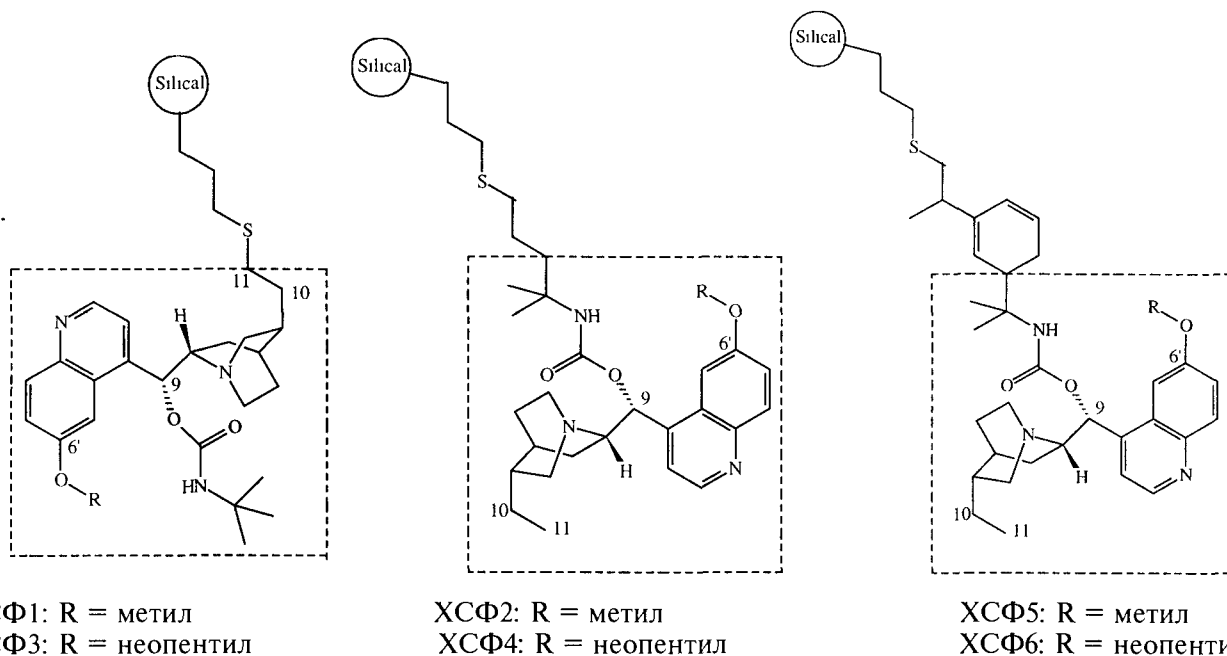


Рис. 1. Химические структуры хиральных стационарных фаз (ХСФ), использованных для изучения влияния различных типов связывания селекторов на основе карбамата хинина, на их способность разделять энантимеры.

Пунктирной линией выделен C_6/C_9 -энантиоселективный связывающий центр

Хроматография энантимеров на хиральных стационарных фазах

Хиральные стационарные фазы ХСФ1—ХСФ6 упаковывали в колонки из нержавеющей стали (150 × 4,0 мм), используя стандартную процедуру набивки из суспензии (Австрийский исследовательский центр, Сайбердорф, Австрия). Хроматографический процесс проводили на ВЭЖХ-системе серии Merck-Hitachi L-7000 (фирма «Merck»). В комплект ВЭЖХ-системы входят насос L-7150, программируемый автодозатор L-7250, детектор на диодной матрице L-7455, интерфейс D-7000. Величину рН подвижной фазы (кажущийся рН—рН_а) измеряли рН-метром фирмы WTW, модель 540 (WTW, Вайльхайм, Германия).

В качестве элюента использовали смесь метанол/0,1 М водный раствор ацетата аммония = 80:20 (об.), рН которой доводили до рН_а = 6 с помощью ледяной уксусной кислоты. Объемная скорость потока элюента составляла 1 мл/мин. Температура колонки 298 ± 0,1 К поддерживалась с помощью термостата. Объем пробы составлял 10 мкл. Пробу готовили растворением в подвижной фазе (1 мг/мл). Мертвый объем колонки устанавливали по ацетону как неудерживаемому соединению.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Дизайн хиральных стационарных фаз на основе цинхонина, связанного через C₉-карбаматную группу

Дизайн хиральных селекторов на основе карбамоильных производных цинхонина с использованием связывающих групп, не взаимодействующих с твердым носителем, базировался на информации о термодинамике процесса хирального распознавания и о структурных требованиях к энантиоселективным связывающим центрам **2a** и **2b** и их C₁₁-связанным хиральным стационарным фазам ХСФ1 и ХСФ2. Чтобы дать представление о концепции дизайна, приведем некоторые аспекты этой информации.

Как было установлено, термодинамическая энантиоселективность, определенная для *трет*-бутилкарбамоилхонина **2a** и энантимеров DNB-лейцина методом микрокалориметрии в метаноле, находится в отличном согласии с хроматографическим фактором энантиоселективности, наблюдаемым для тех же соединений на стационарной фазе ХСФ1 с использованием водно-органической подвижной фазы [14]. Этот факт является неопровержимым доказательством того, что на собственной энантиоселективности рецептора **2a** незначительно сказывается его закрепление

на поверхности силикагеля через C₁₁-связывающий фрагмент. Соответственно, данные по хроматографической энантиоселективности, полученные для C₁₁-связанных фаз ХСФ1 и ХСФ3, могут представлять отличную реперную шкалу для оценки возможной потери (улучшения) стереодискриминирующей способности, вызываемой структурными изменениями.

Изучение N¹ ЯМР-спектров твердых образцов и молекулярное моделирование, а также определение кристаллической структуры более устойчивого комплекса хирального селектора с DNB-лейцином дали детальную картину хирального распознавания и хирального связывания N¹ ациламинокислот с селекторами **2a** и **2b** [10]. Модель хирального распознавания предполагает, что энантиоселективное связывание с **2a/2b** происходит в очень локализованной форме в хорошо определенном домене между C₆-алкильным и C₉-карбаматным сегментами хирального сорбента. Соответствующая конформационная преорганизация элементов рассматриваемых хиральных селекторов — хинуклидинового бицикла, хинолинового кольца и карбаматной функции — является критическим параметром, обеспечивающим стабилизацию взаимодействия хиральный сорбент-энантиомер посредством ион-парного и π-π-взаимодействий и водородных связей. Более того, специальный алгоритм молекулярного моделирования, позволяющий количественно оценить индивидуальные энергетические вклады структурных элементов хирального селектора, предполагает, что взаимодействие с *трет*-бутилкарбаматным фрагментом в **2a** и **2b** является главным вкладом в процесс хирального распознавания [10]. Жесткие структурные требования, обнаруживаемые данной моделью, объясняют тот факт, почему химическое модифицирование C₁₁-атома не влияет на собственную энантиоселективность сорбента. В своей связывающей конформации хинуклидиновый атом азота направлен в сторону C₆/C₉-связывающего центра, имеющего щелевую форму, что заставляет сегмент C₁₀-C₁₁ занять позицию, удаленную от чувствительных элементов связывающего домена. Более того, C₁₁-тип связывания ориентирует связывающий домен хирального селектора в фазах ХСФ1 и ХСФ3 в сторону от поверхности носителя в направлении подвижной фазы. Ясно, что при подобной ориентации связывающего центра в сторону подвижной фазы неблагоприятные взаимодействия, вызванные ограниченной доступностью связывающего центра, и/или взаимодействия с поверхностью сорбента маловероятны.

Для дизайна стационарных фаз с алкалоидным селектором ряда цинхония, которые не приводят к взаимодействию сорбента с носителем, C₉-гидроксильная группа представляется

наиболее удобной для модифицирования вследствие легкости ее функционализации. Ясно, что центральная роль карбаматной группы в организации архитектуры связывающего центра и в связывании энантиомеров требует такой схемы связывания C₉-фрагмента, при которой обе эти важные функции — гидроксильная и карбаматная — сохранялись бы неприкосновенными. Кроме того, подходящая конструкция C₉-связывания должна обеспечивать наличие приемлемой функциональной группы для закрепления хирального селектора на поверхности носителя в мягких условиях и достаточный уровень конформационной подвижности всего селектора после иммобилизации.

С учетом этих требований и были синтезированы хиральные селекторы и на их основе фазы ХСФ2 и ХСФ4 **4a** и **4b** (см. рис. 1). Структура этих хиральных селекторов, содержащая *трет*-бутилкарбаматную группу в положении C₉, воспроизводит центральный связывающий домен, найденный в ХСФ1 и ХСФ3 с высокой точностью. В отличие от фрагмента C₉ в ХСФ1 и ХСФ3, который имеет концевую двойную связь, пригодную для иммобилизации на силикагель, модифицированный меркаптопропильными группами по реакции радикального присоединения, в ХСФ2 и ХСФ4, связывающие домены фрагмента C₉ направлены к поверхности твердого носителя (ориентация «хиральный селектор к поверхности»). В этом случае меняется доступ к поверхности сорбента, что должно привести к изменениям в хиральном распознавании фазами ХСФ2 и ХСФ4 в сравнении с ХСФ1 и ХСФ3.

Чтобы проверить влияние дополнительных, потенциально конкурентных структурных элементов во фрагменте присоединения C₉, были синтезированы селекторы **5a** и **5b** и на их основе фазы ХСФ5 и ХСФ6 (см. рис. 1). *Трет*-бутилкарбамат в этих структурах модифицирован путем замещения одной из метильных групп на ароматический фрагмент, являющийся потенциальным местом конкурентных взаимодействий с энантиомером и удаленный от энантиоселективного связывающего фрагмента.

Изучение общих закономерностей в изменении внутренней энантиоселективности стационарных фаз на основе хинина и б'-неопентоксицинхонидина показало, что цинхонидиновые селекторы в общем случае демонстрируют более высокую энантиоселективность по отношению к N-ациламинокислотам вследствие более ярко выраженной преорганизации связывающего домена. Увеличение энантиоселективности выражается в том, что объемный б'-неопентокси-заместитель дестабилизирует связывание менее предпочтительного энантиомера.

Влияние альтернативных типов связывания хиральных селекторов типа карбамата цинхония на профиль хирального распознавания

Хиральные стационарные фазы на основе карбамата цинхония особенно подходят для разделения энантиомеров N-ациламинокислот с использованием водно-органической подвижной фазы [15]. Природа энантиоселективного связывания N-ациламинокислот с хиральными селекторами типа карбамата цинхония подробно изучена [10]. Мы надеялись, что хроматографические данные по разделению этих соединений помогут в интерпретации (на молекулярном уровне) изменений в энантиоселективности, вызванных группами, связывающими хиральный селектор с поверхностью (силикагеля).

В число тест-соединений были включены также некоторые α-арил(окси)карбоновые кислоты (рис. 2). Эти соединения менее подходят для изучения селективности сорбентов на основе карбамата цинхония с C₁₁-связывающей группой (для них имеется ограниченная информация о механизме хирального распознавания). Однако тот факт, что для этих соединений наблюдалась относительно низкая величина энантиоселективности, предполагает особенно тонкий баланс вкладов межмолекулярного энантиоселективного связывания. В связи с этим мы полагаем, что арил(окси)карбоновые кислоты могут являться чувствительным зондом для обнаружения изменений в энантиоселективном связывании, вызванных альтернативными схемами иммобилизации хиральных селекторов.

Изучение эффективности и энантиоселективности хроматографического разделения энантиомеров широкого круга N-ацилированных аминокислот, а также арил(окси)карбоновых кислот на стационарных фазах ХСФ1 и ХСФ3 с C₁₁-связывающим фрагментом и на ХСФ2 и ХСФ4 C₉-связывающим фрагментом показывает практически идентичный профиль хирального разделения с точки зрения предпочтительного связывания энантиомеров и энантиоселективности для всех исследованных соединений. Это наблюдение показывает, что фрагмент хирального селектора, ориентированный к поверхности в ХСФ2/ХСФ4, не испытывает какой-либо потери в энантиоселективности в сравнении с хиральным рецептором, ориентированным в подвижную фазу в ХСФ1/ХСФ3. Таким образом, значительные изменения внутренней энантиоселективности, вызванные C₉-типом присоединения, могут быть исключены (из рассмотрения). Очевидно, что химическая природа и выбранная длина C₉-карбаматного связывающего фрагмента обеспечивают достаточную подвижность для выполнения всех критических конформационных требований целевидного связывающего центра C₆/C₉ и тем самым гарантируют неизменную

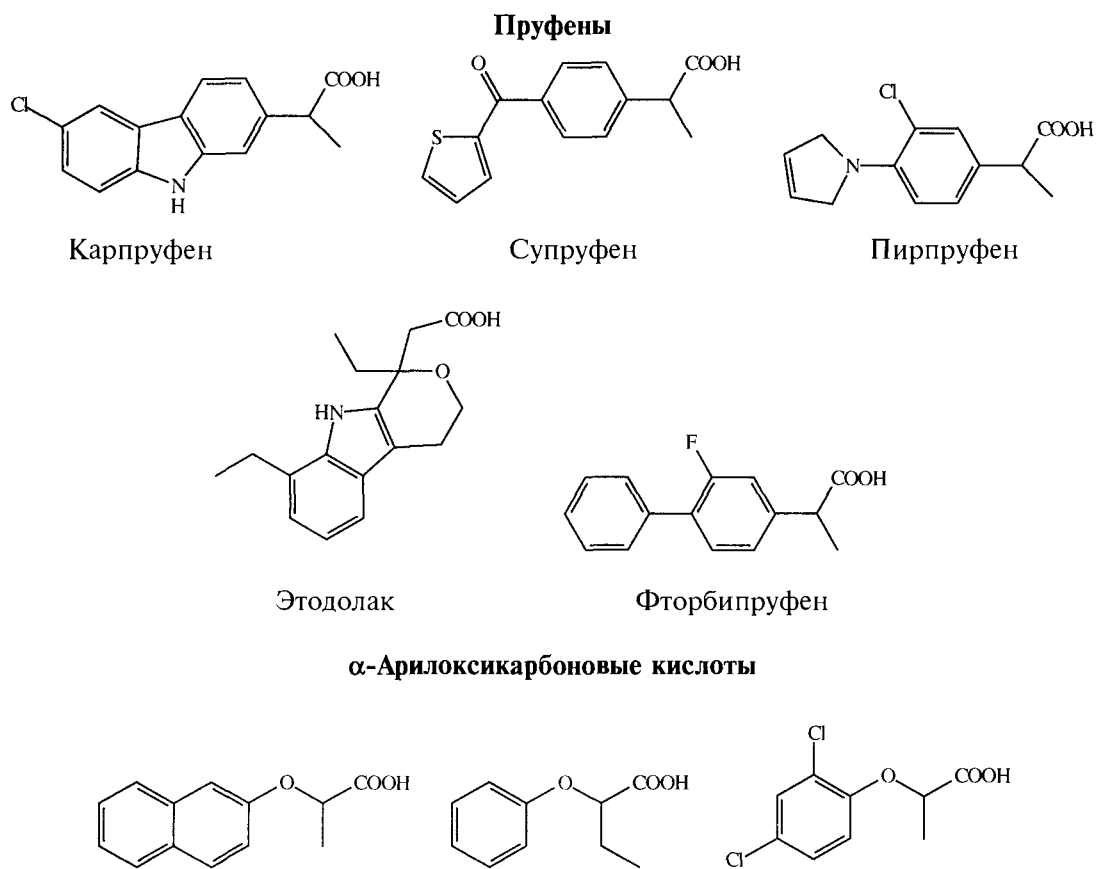


Рис. 2. Арилоксикарбоновые кислоты, использованные в качестве тест-соединений в хроматографии с хиральными стационарными фазами на основе карбамата цинхония

доступность и энантиоселективность. Тот факт, что хиральные селекторы на основе хинина и б'-неопеноксидинхонида обнаруживают одинаковое поведение, показывает, что альтернативная схема связывания с поверхностью также может применяться к селекторам на основе производных цинхония, имеющих более сложно модифицированную структуру.

Введение дополнительной ароматической группы в S_9 -карбаматный фрагмент в ХСФ5/ХСФ6 приводит к относительно небольшим изменениям в энантиоселективности связывания в сравнении с ХСФ2/ХСФ4. Однако некоторые закономерности все же отмечены. Так, например, сравнение энантиомерного профиля для ХСФ2 с таковым для ХСФ5 показывает, что введение в *трет*-бутильную группу фенила улучшает энантиоселективность по отношению к *N*-ацетиламинокислотам. Вместе с тем в сравнении с ХСФ4 энантиоселективность в некоторой степени ослабляется при введении ароматического остатка в S_9 -фрагмент. Эти наблюдения дают основания полагать, что α -позиция вблизи карбаматного фрагмента очень чувствительна к возможным химическим модификациям.

Влияние альтернативного метода связывания хирального селектора типа карбамата цинхония на удерживание

Как указывалось в экспериментальной части, при закреплении на тиол-модифицированном силикагеле хиральных селекторов в одинаковых условиях и при одном и том же удельном количестве тиольных групп на поверхности силикагеля получаются все же различные степени иммобилизации селектора на силикагеле. Следовательно, проведение прямого сравнения времен удерживания на полученных хиральных стационарных фазах встречает определенные трудности. Как общую закономерность можно отметить, что стационарные фазы, содержащие хиральный селектор, связанный через S_9 -карбаматный фрагмент, имеют меньшую плотность покрытия, чем фазы с тем же селектором, связанным с поверхностью силикагеля через S_{11} -фрагмент. С учетом этого факта заслуживает внимания то обстоятельство, что все S_9 -связанные фазы показывают более сильное удерживание анализируемых веществ, чем их S_{11} -аналоги. Частично этот эффект может быть объяснен смешанным механизмом удерживания на хиральных стационар-

ных фазах на основе карбамата цинхония, общее сродство которых к анализируемому веществу обуславливается как ионообменным, так и обращенно-фазным механизмом. В сравнении с C_{11} -связанными фазами стационарные фазы, полученные связыванием через C_9 -фрагмент, имеют дополнительный « C_2 -инкремент» за счет присутствия гидрированной C_{10} — C_{11} -винильной двойной связи в хинуклидиновом бицикле. Кроме того, после реакции дозакрытия более гидрофобные гексановые цепи могут образовываться на поверхности менее плотно модифицированной фазы с C_9 -связывающим фрагментом. Оба эти эффекта могут приводить к усилению гидрофобного вклада и к увеличению удерживания в целом.

Геометрическое различие в проекции фрагмента хирального селектора (на поверхность носителя) в стационарной фазе с C_9 - и C_{11} -типами связывания может быть альтернативным и/или дополнительным объяснением этого необычного поведения. В то время как в фазах с C_{11} -типом связывания C_6/C_9 -связывающий домен ориентируется, по крайней мере в среднем, в сторону подвижной фазы, «расщелина», где происходит хиральное взаимодействие в фазе с C_9 -карбаматным типом связывания, принимает ориентацию по направлению к поверхности (силикагеля). Разумно предположить, что энантиомеры, находящиеся в подвижной фазе, приближаясь к хиральному селектору, быстро связываются или вытесняются из направленного в сторону подвижной фазы связывающего центра молекулами конкурирующего электролита, при этом исключается взаимодействие с гидрофобным связывающим фрагментом. В том случае, когда связывающий центр направлен в сторону поверхности (силикагеля), анализируемые молекулы для энантиоселективного связывания должны включиться в щелевую полость, образованную хиральным селектором, связывающим фрагментом и поверхностью носителя. В таком специфическом микроокружении тесный контакт между гидрофобной частью анализируемой молекулы и гидрофобным связывающим фрагментом более вероятен, и гидрофобные взаимодействия могут усиливаться. Этот особый, инициированный поверхностью носителя механизм может играть заметную роль в увеличении гидрофобного вклада в общее удерживание.

Заключение

Практически одинаковый профиль хирального распознавания, обнаруженный для хиральных стационарных фаз, представляющих со структурной точки зрения квазиидентичные фрагменты хиральных селекторов и различающихся только типом связывания с поверхностью силикагеля, ясно показывает, что механизм

энантиоселективного связывания селекторов типа карбамата цинхония мало чувствителен к химической модификации в положениях C_9 и C_{11} . Вероятно, различные типы связывания не ослабляют также конформационные требования, важные для преорганизации связывающего центра, и не ухудшают доступность связывающего домена.

Более отчетливая зависимость времени удерживания от типа связывания, наблюдавшаяся для стационарной фазы с C_9 -связыванием в сравнении с соответствующими C_{11} -аналогами, может отражать вторичные, неэнантиоселективные типы взаимодействия анализируемых веществ с гидрофобной мостиковой цепью, вызванные частичным вовлечением ее в область, ограниченную поверхностью силикагеля и связывающим центром цинхония. Важным практическим следствием этого наблюдения является то обстоятельство, что оба C_{11} - и C_9 -положения в хиральном селекторе типа карбамата цинхония могут быть использованы для введения дополнительных функциональных групп. Это открывает новые области приложения рассматриваемых селекторов для создания, например, полимерных хиральных фаз, хиральных транспортных систем, устройств с энантиоселективными сенсорами.

* * *

Работа поддержана Австрийским исследовательским фондом (проект № P14179 CHE)

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Gotmar G, Albareda N R, Fornstedt T *Anal Chem*, 2002, v 74 p 2950
- 2 Fornstedt T, Sajonz P, Guiochon G *J Am Chem Soc*, 1997, v 119, p 1254
- 3 Fornstedt T, Gotmar G, Andersson G, Guiochon G *Ibid*, 1999, v 121, p 1664
- 4 Gotmar G, Fornstedt T, Guiochon G *Chirality*, 2000, v 12, p 558
- 5 Gotmar G, Fornstedt T, Guiochon G *Anal Chem*, 2000, v 72, p 3098
- 6 Pirkle W H, Welch C J *J Liquid Chromatogr*, 1992, v 15, p 1947
- 7 Uray G, Maier H M *Enantiomer*, 1996, v 1, p 211
- 8 Ling F H, Lu V, Svec F, Frechet J M J *J Org Chem*, 2002, v 67, p 1993
- 9 Lee K -P, Choi S -H, Kim S -Y *et al* *J Chromatogr A*, 2002, in press
- 10 Maier N M, Schefzick S, Lombardo G M *et al* *J Am Chem Soc*, 2002, v 124, p 8611
- 11 Crimmins M T, Carraoill C A, Wells A J *Tetrahedron Lett*, 1998 v 39, p 7005
- 12 Veigl E, Bohs B, Mandl A, Krametter D, Lindner W *J Chromatogr A*, 1995, v 696, p 151
- 13 Maier N M, Nicoletti L, Lammerhofer M, Lindner W *Chirality*, 1999, v 11, p 522
- 14 Lah J, Maier N M, Lindner W, Vesnaver G *J Phys Chem B*, 2001, v 105, p 1670
- 15 Lammerhofer M, Maier N M, Lindner W *Am Lab*, 1998, p 71