

УДК 541.64:547.466:543.544

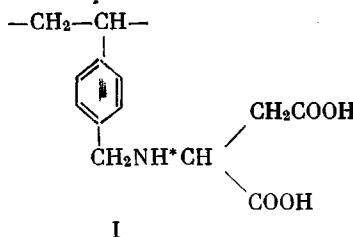
**ЛИГАНДНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ РАЦЕМАТОВ
НА ДИСИММЕТРИЧЕСКИХ СОРБЕНТАХ С *L*-АСПАРАГИНОВОЙ
И *L*-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТАМИ**

***C. В. Рогожин, И. Я. Ямков, В. А. Даванков,
Т. Ф. Колесова, В. М. Воеводин***

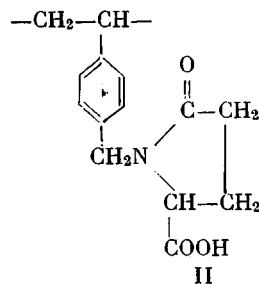
Реакцией аминирования хлорметилированного спиртого полимера стирола диметиловыми эфирами *L*-аспарагиновой и *L*-глутаминовой кислот синтезированы дисимметрические комплексообразующие сорбенты с *L*-аспарагиновой и *L*-проглатаминовой кислотами. Показано, что первый сорбент пригоден для расщепления рацемических аминокислот методом лигандообменной хроматографии.

В продолжение работ по дисимметрическим сорбентам с трифункциональными аминокислотными группировками [1–4] нами синтезированы и исследованы в процессах лигандообменной хроматографии рацематов иониты, содержащие в качестве стационарных лигандов остатки *L*-аспарагиновой и *L*-глутаминовой кислот.

Для получения сорбентов с высокой обменной емкостью необходимо было предварительно выяснить влияние времени и температуры на скорость и полноту реакции аминирования хлорметилированного спиртого макросетчатого полимера стирола хлоргидратами диметиловых эфиров аспарагиновой и глутаминовой кислот. При аминировании эквивалентным по отношению к хлорметильным группам полимера количеством хлоргидрата диметилового эфира *L*-аспарагиновой кислоты в присутствии NaI и NaHCO₃ [5] при 50° в течение 5, 14 и 40 час. оказалось, что аналитическая емкость анионита, получаемого в смеси диоксана с метанолом, возрастает со временем и составляет 1,0; 1,8 и 2,8 мг-экв/г соответственно. Повышение температуры благоприятно сказывается на скорости реакции — в аналогичных условиях при 60° за 14 час. был получен анионит с аналитической емкостью 2,1 мг-экв/г. Поэтому синтез укрупненной партии ионита проводили при 60° в течение 30 час. с использованием 1,5 моля хлоргидрата аминоэфира на 1 моль хлорметильных групп. В результате были получены анионит с аналитической емкостью 2,5 мг-экв/г. Реакция гидролиза сложноэфирных групп анионита полностью завершается при комнатной температуре за 10 суток при использовании 2 н. водной щелочи (контроль полноты гидролиза вели по ИК-спектрам [1]). Элементарное звено полученного сорбента имело структуру I



При аминировании хлорметилированного полимера 1,5-кратным мольным избытком хлоргидрата диметилового эфира *L*-глутаминовой кислоты в присутствии NaI и NaHCO₃ при 60° за 30 час. был получен анионит с аналитической емкостью 1,8 мг-экв/г, а за 40 час.—с емкостью 2,0 мг-экв/г. Партия дисимметрического сорбента была получена при продолжительности реакции 40 час. Однако ИК-спектр полученного ионита показал, что процесс аминирования, по-видимому, сопровождается циклизацией аминокислотной группировки сорбента с образованием фрагментов метилового эфира N-замещенной пироглутаминовой кислоты. Наряду с полосой поглощения сложноэфирной группы при 1745 см⁻¹ наблюдаются полосы поглощения с максимумом при 1700 см⁻¹, типичные для амидных групп. Гидролиз сложноэфирных групп остатков пироглутаминовой кислоты удается провести при комнатной температуре за 5 суток 2 н. водной щелочью. При этом пирролидоновый цикл пироглутаминовой кислоты не разрушается (полоса поглощения в области 1700 см⁻¹ сохраняется). Гидролиз лактамного цикла не удалось осуществить даже кипячением в 6 н. HCl в течение 24 час. Таким образом, полученный с использованием *L*-глутаминовой кислоты сорбент имеет структуру II



Одной из важнейших характеристик дисимметрических сорбентов является величина их набухаемости в различных растворителях, которая, в частности, определяет возможности применения того или иного растворителя для хроматографических процессов. Малая величина набухания (менее 50 вес.%) затрудняет диффузию молекул разделяемых соединений внутрь гранул сорбента, что резко снижает эффективность процесса расщепления рацематов. В табл. 1 приведены значения набухаемости сорбентов с *L*-аспарагиновой и *L*-глутаминовой кислотами, полученных на основе стандартных полистирольных каркасов, содержащих 2 мол.% дивинилбензола, и таких же сорбентов, полученных на основе нового типа макросетчатого полистирольного каркаса, содержащего 5 мол.% *n,n'*-бисхлорметилдифенила в качестве спивающего агента [6].

Из табл. 1 видно, что использование нового типа макросетчатого каркаса обеспечивает высокие величины набухания сорбентов, содержащих слабо сольватируемые функциональные группировки.

Таблица 1

Набухаемость дисимметрических сорбентов с *L*-аспарагиновой и *L*-глутаминовой кислотами на стандартном (СК) и макросетчатом каркасах (МК)

Стационарный лиганд	Набухаемость, вес.%											
	вода		0,5 н. HCl		0,5 н. KOH		диоксан		метанол		этанол	
	СК	МК	СК	МК	СК	МК	СК	МК	СК	МК	СК	МК
Аспарагиновая кислота	16	139	41	155	41	166	41	110	31	105	49	94
Глутаминовая кислота	19	95	27	151	46	132	70	100	40	83	39	80

Таблица 2

Расщепление рацематов сорбентами с *L*-аспарагиновой (I) и с *L*-глутаминовой (II) кислотами

Сорбент	Рацемат	Cu^{2+}		Ni^{2+}	
		абсолютные конфигурации антиподов * (элюент)	степень расщепления рацемата, %	абсолютные конфигурации антиподов * (элюент)	степень расщепления рацемата, %
I	Пролин	<i>L</i> (рН 9) **; <i>D</i> (рН 9)	90	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (1 н. NH_3)	6
II	»	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (1 н. NH_3)	4	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (1 н. NH_3)	2
I	Аланин	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (1 н. NH_3)	8	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (1 н. NH_3)	6
I	Изовалин	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (1 н. NH_3)	40	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (1 н. NH_3)	3
II	Валин	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (1 н. NH_3)	2	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (вода)	0
I	Изолейцин	<i>L</i> (0,12 н. NH_3); <i>D</i> (0,35 н. NH_3)	27	<i>L</i> (0,12 н. NH_3); <i>D</i> (0,55 н. NH_3)	18
I	Миндальная кислота	<i>L</i> (0,3 н. NH_3); <i>D</i> (0,3 н. NH_3)	21	<i>D</i> (0,3 н. NH_3); <i>L</i> (0,3 н. NH_3)	1
II	То же	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (вода)	3	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (вода)	0
I	Аспарагиновая кислота	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (вода)	12	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (вода)	12
II	То же	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (вода)	0	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (вода)	0
I	Глутаминовая кислота	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (вода)	0	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (вода)	0
I	Орнитин	<i>L</i> (0,2 н. NH_3); <i>D</i> (0,2 н. NH_3)	0	<i>L</i> (2 н. NH_3); <i>D</i> (2 н. NH_3)	0
I	Треонин	<i>D</i> (вода); <i>L</i> (вода)	16	<i>L</i> (0,05 н. NH_3); <i>D</i> (1 н. NH_3)	2
II	»	<i>D</i> (вода); <i>L</i> (вода)	4	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (вода)	0
II	Алло-треонин	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (1 н. NH_3)	5	<i>L</i> (вода); <i>D</i> (вода)	—

* *L* и *D* — абсолютные конфигурации антиподов, приведенные в порядке их элюирования.
** рН 9 — буферная система 0,1 M $\text{CH}_3\text{COONH}_4 + \text{NH}_3$.

На синтезированных сорбентах проводили лигандную хроматографию рацематов некоторых α -амино- и α -оксикислот [7]. Результаты расщепления рацематов сорбентами I и II, предварительно заряженными двухвалентными ионами меди или никеля, приведены в табл. 2.

Из табл. 2 видно, что степени расщепления рацемических соединений сорбентом с *L*-глутаминовой кислотой в условиях лигандной хроматографии крайне малы. Кроме того, при проведении хроматографии рацематов происходит сильная десорбция ионов металла с колонки. Это объясняется тем, что стационарный лиганд (СЛ) сорбента II не может образовывать хелатных колец при координации с металлами (по стерическим причинам) и в связывании металлов участвует, по-видимому, только карбоксильной группой, находящейся в пятом положении пирролидонового цикла. Прочность связывания металлов в этом случае, естественно, ниже стабильности комплексов, образуемых подвижными лигандами (ПЛ). Равновесие



сильно сдвинуто вправо, и металл в виде бис-комплекса с подвижным лигандом элюируется с колонки. Содержание смешанного сорбционного комплекса $[\text{Me}(\text{СЛ})(\text{ПЛ})]$, при образовании которого проявляются стереоселективные эффекты, мало, что и приводит к низким степеням расщепления рацематов.

При хроматографии рацематов бифункциональных аминокислот, дисимметрическим сорбентом с *L*-аспарагиновой кислотой (как в медной, так и в никелевой форме) болееочно удерживаются *D*-антиподы, что свидетельствует о большей прочности комплексов $[(L-\text{СЛ})\text{Me}(D-\text{ПЛ})]$ по сравнению с $[(L-\text{СЛ})\text{Me}(L-\text{ПЛ})]$ [7]. Степень расщепления рацематов изолейцина, изовалина и пролина медной формой сорбента I достигает 27, 40 и 90% соответственно.

Оптическая чистота исходной аспарагиновой кислоты составляла 96%, глутаминовой кислоты — 94%.

Хлоргидрат диметилового эфира *L*-аспарагиновой кислоты получали по методике [8], выход 94%, т. пл. 116–118°, лит. данные 116–117° [8].

Хлоргидрат диметилового эфира *L*-глутаминовой кислоты получали по методике [9], выход 91%.

Ионит с *L*-аспарагиновой кислотой получали при взаимодействии хлорметилированного макросегментного полимера стирола (содержание хлора — 19,65%, размер гранул — 0,1–0,2 мм) с хлоргидратом диметилового эфира *L*-аспарагиновой кислоты в присутствии избытка NaHCO₃ в смеси диоксан — метanol (6:1) при 60°. Продолжительность реакции — 30 час. Каталитатор — NaI. На 1 моль хлорметильных групп брали 1,5 моля хлоргидрата эфира, 6 молей NaHCO₃ и 0,2 моля NaI. Ионит содержал 3,5% азота, аналитическая емкость составляла 2,5 мг-экв остатков аспарагиновой кислоты на 1 г сухого вещества. Гидролиз эфирных групп проводили 2н. KOH в воде в течение 10 суток при 20°. После гидролиза содержание азота составляло 3%, аналитическая емкость — 2,1 мг-экв остатков аспарагиновой кислоты на 1 г сухого вещества.

Ионит с *L*-глутаминовой кислотой получали аналогично. Использовали макросетчатый сополимер с содержанием Cl 21,2% и размером гранул — 0,1–0,2 мм. Продолжительность реакции 40 час. Гидролиз эфирных групп проводили 2н. KOH в воде в течение 5 суток. После гидролиза содержание азота составляло 3,2%, аналитическая емкость — 2,3 мг-экв на 1 г сухого вещества.

Расщепление рацематов проводили на колонках объемом 30 мл. Скорость элюирования — 15 мл/час. Загрузка рацематов — 0,05–0,2 г.

Институт элементоорганических соединений
АН СССР

Поступила в редакцию
11 XI 1973

ЛИТЕРАТУРА

1. С. В. Рогожин, В. А. Даванков, И. А. Ямков, Изв. АН СССР, серия химич., 1971, 2325.
2. В. А. Даванков, С. В. Рогожин, И. А. Ямков, В. П. Кабанов, Изв. АН СССР, серия химич. 1971, 2327.
3. С. В. Рогожин, В. А. Даванков, И. А. Ямков, В. П. Кабанов, Высокомолек. соед., Б14, 472, 1972.
4. С. В. Рогожин, В. А. Даванков, И. А. Ямков, В. П. Кабанов, Ж. общ. химии, 42, 1614, 1972.
5. В. А. Даванков, С. В. Рогожин, И. И. Песлякас, Высокомолек. соед., Б14, 276, 1972.
6. В. А. Даванков, С. В. Рогожин, М. П. Цюрупа, Пат. Бельгии 756082, 1969; Chem. Abstrs, 75, 6841b, 1971.
7. В. А. Даванков, С. В. Рогожин, Докл. АН СССР, 193, 94, 1970.
8. W. Grassmann, E. Wünsch, Chem. Ber., 91, 449, 1958.
9. G. Hillmann, Z. Naturforsch., 1, 682, 1946.