



Сорбенты получали взаимодействием макросетчатого хлорметилированного полистирола с соответствующими тетрааминами и метиловыми эфирами в системе диоксан — метанол в присутствии катализатора NaI и избытка сухого  $\text{NaHCO}_3$ , с последующим гидролизом сложioэфирных групп в сорбентах III и IV. Чтобы уменьшить вероятность реагирования сразу нескольких аминогрупп аминирующего компонента с хлорметильными группами полистирола, использовали жесткие полимеры достаточно высокой степени сшивки (табл. 1). Макросетчатая структура каркаса [3], позволяющая ввести до 0,7—1,6 ммоль объемистых стационарных лигандов на 1 г конечного сорбента, способствует набуханию сорбентов в средах различной полярности. Лишь сорбент III не обладал достаточной набухасмостью в водных средах и потому был подвергнут дополнительному частичному сульфированию.

Основные свойства сорбентов, примененных для лигандообменной хроматографии аминокислот, суммированы в табл. 1.

Изучением электронных спектров, ДОВ и КД комплексов СЛ (I), (II) и (III) [4, 5] было показано, что эти лиганды координируются стереоспецифически с переходными металлами, занимая четыре места в координационной сфере металла и давая структуру  $\Lambda$ -*uns-cis* для тетрааминов (I) и (II) *R*-конфигурации и  $\Delta$ -*trans(o)* — СЛ (III) *S,S*-конфигурации. Поэтому было интересно изучить, проявляют ли образующиеся комплексы энантиоселективность при координировании энантиомеров аминокислот по двум вакантным позициям координационной сферы.

Метод лигандообменной хроматографии чрезвычайно удобен для изучения лабильных смешанных комплексов. Сорбенты заряжали ионами металла, в хроматографическую колонку поочередно вводили энантиомеры различных аминокислот. Различие в объемах удерживания энантиомеров позволило количественно оценить энантиоселективные эффекты в смешанных комплексах величиной

$$\delta\Delta G^0 = -RT \ln \frac{V_S}{V_R} [2].$$

Лигандообменная хроматография на ионите с группировками (I), заряженными ионами  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$ , показала (табл. 2), что энантиоселективные эффекты в медных комплексах тетраамина (I) со всеми исследованными аминокислотами выше, чем в никелевых комплексах. Максимальные значения энантиоселективности для ионита I наблюдаются в смешанных комплексах с фенилаланином: для медных комплексов  $\delta\Delta G$  440 кал/моль, для никелевых 420 кал/моль, большую прочность имеют структуры [*(R-CЛ)Mt(R-Phe)*]. Ярко выражено преимущество в сорбируемости *R*-лейцина, *R*-треонина, *R*-пролина. Меньшая по величине и противоположная по знаку энантиоселективность наблюдается в комплексах с Val и Met.

При использовании сорбента II в медной форме аминокислоты вымывались в объеме, близком к  $V_0$  (свободный объем колонки), даже при элюировании водой. Это сделало невозможным определение с достаточной точностью величины энантиоселективности в комплексах [*(R-CЛ)Cu(АК)*]. Поэтому в дальнейшем этот сорбент использовался только в никелевой форме. Результаты хроматографии (табл. 2) показали, что для большинства исследованных аминокислот большей прочностью обладают комплексы [*(R-CЛ)Ni(R-АК)*]. Наибольшая энантиоселективность обнаружена для фенилаланина, лейцина, пролина и треонина.

Сорбенты с группировками (III) и (IV), напротив, использовали только в медной форме, так как на этих сорбентах в никелевой форме аминокислоты не удерживаются.

При хроматографии на сорбенте III для всех изученных аминокислот большей прочностью обладают комплексы [*(S,S-CЛ)Cu(S-АК)*], за исключением метионина, для которого порядок стабильности диастереомер-

Таблица 1

## Свойства диссимметрических сорбентов

Сорбент	Степень сшивки, %	Емкость, ммоль/г	Набухаемость, вес. %					
			H <sub>2</sub> O	0,5 н. HCl	0,5 н. NaOH	MeOH	EtOH	диогсан
I	43	0,7	65	75	59	29	27	70
II	7,5	1,6	56	64	53	29	25	66
III	11	0,7	51	50	53	45	43	56
IV	11	1,1	70	68	75	52	48	64

Таблица 2

## Результаты лигандообменной хроматографии энантиомеров аминокислот

Аминокислота	СЛ	Металл	$V_S^*$	$V_R^*$	$K_{S/R}$	$\Delta\Delta G_{298}$ , кал/моль	Элюент
Pro	(I)	Cu	2,54	3,59	0,71	200	H <sub>2</sub> O
		Ni	2,62	3,11	0,84	100	0,05
	(II)	Ni	2,90	1,67	1,74	330	0,05
	(III)	Cu	10,4	13,2	0,79	140	0,1
Val	(I)	Cu	2,88	4,29	0,67	240	0,1
		Ni	4,03	2,86	1,41	200	0,1
	(II)	Ni	3,74	3,02	1,24	130	0,05
	(III)	Cu	2,55	3,18	0,80	130	0,05
Ala	(I)	Cu	15,5	9,60	1,61	280	0,1
		Ni	4,36	3,15	1,38	190	0,1
	(II)	Cu	3,05	2,45	1,24	130	0,1
	(IV)	Cu	2,16	2,57	0,84	100	0,1
Leu	(I)	Cu	1,31	2,25	0,58	320	0,1
		Ni	1,90	2,71	0,70	210	0,05
	(II)	Ni	2,02	1,12	1,80	350	0,05
	(III)	Cu	12,8	8,45	1,51	240	0,1
Phe	(I)	Cu	5,81	7,52	0,77	150	0,1
		Ni	1,80	3,82	0,47	440	0,1
	(II)	Ni	1,06	2,17	0,49	320	0,05
	(III)	Cu	2,80	5,14	0,54	390	0,05
Met	(I)	Cu	23,8	19,0	1,25	130	0,1
		Ni	27,3	23,6	1,16	90	0,1
	(II)	Cu	3,70	2,84	1,30	160	0,1
	(IV)	Cu	16,5	19,5	0,85	120	0,1
His	(I)	Cu	4,58	3,98	1,15	80	0,1
		Ni	11,4	8,8	1,30	150	0,1
	(II)	Cu	2,68	2,56	1,05	30	0,1
	(IV)	Cu	3,28	5,40	0,61	290	H <sub>2</sub> O
Thr	(I)	Cu	2,50	1,50	1,67	300	0,05
		Ni	2,30	2,02	1,14	80	0,1
	(II)	Cu	1,35	1,55	0,87	80	0,1
	(IV)	Cu	2,69	1,79	1,50	240	0,1
Ser	(I)	Cu	8,11	10,6	0,76	160	0,1
Tyr	(I)	Cu					

Примечание.  $V_S^*$  и  $V_R^*$  — безразмерные отношения  $V_S/V_0$  и  $V_R/R_0$ , где  $V_0$  — свободный объем колонки. Элюент — водный аммиак, приведена концентрация, M.

ных комплексов меняется на противоположный. Наибольшие энантиоселективные эффекты нашли для валина и лейцина ( $\Delta\Delta G$  280 и 240 кал/моль соответственно).

Хроматография энантиомеров аминокислот на сорбенте IV с гексафункциональными группировками показала наличие значительных энантиоселективных эффектов в комплексах с серином и пролином ( $\Delta\Delta G$  240

и 220 кал/моль соответственно). Сорбционные комплексы с *R*-конфигурацией подвижных лигандов [(*S,S*-(IV)Cu(*R*-АК)] имеют большую прочность для пролина, аланина, лейцина, треонина и тирозина, тогда как для валина, фенилаланина, метионина, гистидина и серина более стабильны комплексы [(*S,S*-(IV)Cu(*S*-АК)].

Данные табл. 1 показывают, что величины весовой набухаемости сорбентов лежат в области, предельно допустимой для хроматографии (~50 вес. %), поэтому, чтобы практически использовать для разделения аминокислот системы, показавшие высокую энантиоселективность, необходимо использовать сорбенты с малым размером частиц.

### Экспериментальная часть

*R*-1,2-Пропилендиамин получали по методике [6]. Оптическая чистота 95 %, выход 50 %.

Оптическая чистота исходного *S*-валина составляет 98 %, *S*-аспарагиновой кислоты — 97 %.

*R*-1,2-Бис(3'-аминопропиламино)пропан (I) получали по методике [7]. Выход 15 %, т. кип. 130° (1–2 мм рт. ст.).

*R*-1,2-Бис(2'-пиколиламино)пропан (II) получали по методике [4]. Выход 40 %, т. кип. 180–190° (1 мм рт. ст.).

*N,N'*-Этилен-бис(*S*-валин) (III) получали по методике [5]. Выход 45 %, т. пл. 275–300° (с разложением). Найдено, %: С 55,0; Н 9,3; N 10,4. Вычислено, %: С 55,5; Н 9,2; N 10,7.

*N,N'*-Этилен-бис(*S*-аспарагиновую кислоту) (IV) получали по методике [8]. Выход 25 %. Найдено (для моногидрата), %: С 38,5; Н 6,0; N 8,9. Вычислено, %: С 38,7; Н 5,8; N 9,0.

Хлоргидраты метиловых эфиров (III) и (IV) получали кипячением в метаноле, насыщенном сухим HCl, в течение 3–4 ч до исчезновения в ИК-спектре полосы поглощения карбоксильной группы при 1700 см<sup>-1</sup>.

*Ионит I* получали взаимодействием 9,6 г хлорметилированного сополимера стирола (7 % хлора, 30 мол. % сшивающего агента *n,n'*-ксилилендихлорида) и 5 г (0,02 моль) амина (I) в смеси 100 мл диоксана и 20 мл метанола в присутствии катализатора NaI (1,8 г, 0,013 моль) и избытка сухого NaHCO<sub>3</sub> (30,2 г, 0,38 моль). Реакцию проводили 39 ч при 60°. Содержание азота в полимере 4,0 %, что соответствует аналитической емкости 0,7 ммоль остатков СЛ на 1 г сухого вещества.

*Ионит II* получали следующим образом: тетраамин (II) (4,5 г, 0,0176 моль) растворили в 50 мл метанола, добавили 200 мл диоксана, 50 г (0,6 моль) NaHCO<sub>3</sub>, 11,5 г хлорметилированного полимера (20 % хлора, 7,0 мол. % *n,n'*-ксилилендихлорида) и 1,9 г (0,013 моль) NaI. Реакцию проводили 45 ч при 70°. Содержание азота в полимере 9,0 %, что соответствует аналитической емкости 1,6 ммоль остатков СЛ на 1 г сухого вещества.

*Сорбенты с группировками (III) и (IV)* получали взаимодействием хлоргидратов их метиловых эфиров (1 моль) с хлорметилированным полистиролом (21 % хлора, 10 мол. % сшивающего агента монохлордиметилового эфира) (1 моль) в смеси диоксан — метанол (6:1), в присутствии избытка NaHCO<sub>3</sub> (6 моль) и 0,2 моль катализатора NaI при 60° в течение 45 ч. Содержание азота в полимере III 2 %, что соответствует аналитической емкости 0,7 ммоль остатков СЛ на 1 г сухого вещества, в полимере IV 3,2 %, аналитическая емкость 1,1 ммоль/г. Гидролиз сложноэфирных групп сорбента III проводили 30 ч 0,5 н. NaOH в смеси метанол — диоксан при 60°.

Сульфирование осуществляли при 15° хлорсульфоновой кислотой в среде дихлорэтана в течение 1,5 ч. Содержание серы в полимере 3,3 %, что соответствует 1 ммоль SO<sub>3</sub>H-групп на 1 г сухого полимера. Содержание азота не изменилось.

Гидролиз эфирных групп сорбента IV проводили 5 сут 0,5 н. NaOH в системе диоксан — вода при 20°. Контроль полноты гидролиза осуществляли по ИК-спектрам. Содержание азота в полимере после гидролиза не изменилось.

Набухаемость сорбентов определяли весовым методом [9].

Для лигандообменной хроматографии использовали колонки размером 0,8×15 см; объем колонки, заполненной сорбентом, ~8 см<sup>3</sup>, что соответствует 4—6 г сухого сорбента.

Хроматографию проводили следующим образом: в колонку с сорбентом, заряженным ионами металла, вводили поочередно растворы *R*- и *S*-изомеров аминокислот (~2 мг). В качестве элюента использовали 0,1 н. NH<sub>3</sub>, содержащий 20—50 мкмоль/л CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O для компенсации вымываемой меди, 0,05 н. NH<sub>3</sub>, содержащий 2 мкмоль/л NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, а также воду. Скорость элюирования 10 мл/ч.

Оптическую плотность элюата регистрировали на УФ-анализаторе «UV-analyzer» (ЧССР).

Сорбенты заряжали ионами меди и никеля, выдерживая их в 0,015 н. растворах их солей в 0,5 н. аммиаке. Количество металла, связанного с ионитами после зарядки в течение 3 ч, определяли комплексометрическим титрованием с комплексоном III в присутствии мурексида по методу [10].

Отношение стационарный лиганд — металл определено для ионита I для меди 1 : 0,6; для никеля 1 : 0,18; для ионита II для никеля 1 : 0,5; для ионита III 1 : 0,6 (часть ионов меди, очевидно, связана с сульфогруппами) и для ионита IV 1 : 0,5.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ямсков И. А., Рогожин С. В., Даванков В. А. (1977) Биоорган. химия, 3, 200—205.
2. Ямсков И. А., Березин Б. Б., Тихонов В. Е., Даванков В. А. (1978) Биоорган. химия, 4, 149—153.
3. Davankov V. A., Tsygupa M. P., Rogozhin S. V. (1976) Angew. Makromol. Chem., 53, 19—23.
4. Cragel J., Brubaker G. B. (1972) Inorg. Chem., 11, 303—310.
5. Magee R. J., Mazurek W., O'Connor M. J., Phillip A. (1974) Austr. J. Chem., 27, 1885—1893.
6. Dwyer F., Garvan E., Shulman A. (1959) J. Amer. Chem. Soc., 81, 290—294.
7. De Hayes L. J., Busch D. H. (1973) Inorg. Chem., 12, 2010—2015.
8. Neal J. A., Rose N. J. (1968) Inorg. Chem., 7, 2405—2412.
9. Рогожин С. В., Даванков В. А., Вырбанов С. Г., Коршак В. В. (1968) Высокомолекулярн. соедн., 10А, 1277—1282.
10. Шварценбах Г. (1958) Комплексометрия, с. 107, Госхимиздат.

Поступила в редакцию  
11.IX.1978

#### LIGAND-EXCHANGE CHROMATOGRAPHY OF AMINO ACID ENANTIOMERS ON THE SORBENTS BEARING CHIRAL GROUPINGS OF POLYFUNCTIONAL AMINO ACIDS AND TETRAAMINES

YAMSKOV I. A., BEREZIN B. B., TIKHONOV V. E.,  
DAVANKOV V. A.

*Institute of Organo Element Compounds, Academy of Sciences  
of the USSR, Moscow*

The asymmetric sorbents with tetrafunctional groupings of 4,7-diaza-(*R*)-5-methyl-1,10-decanediamine (I); N,N'-bis(2-picolyl)-(R)-1-methylethanediamine (II); N,N'-ethylene-bis(*S*-valine) (III) and hexafunctional groupings of N,N'-ethylene-bis(*S*-aspartic acid) (IV) in the cross-linked polystyrene matrix were prepared and used for ligand-exchange chromatography of amino acid enantiomers in the presence of Cu<sup>2+</sup> and Ni<sup>2+</sup> ions. The enantioselectivity effects in the mixed complexes of fixed ligand and amino acid enantiomers were evaluated by  $\delta\Delta G$  values. The highest enantioselectivity was found in the complexes of Cu<sup>2+</sup> and Ni<sup>2+</sup> ions of I with Phe and Leu,  $\delta\Delta G$  being equal to 440 and 320 cal/mol for copper and 420 and 210 cal/mol for nickel complexes. In the nickel complexes of II with Phe, Leu and Pro it amounts to 390, 350 and 330 cal/mol, whereas in the copper complexes of III with Val and Leu to 280 and 240 cal/mol, respectively.