



УДК 547.466:543.544+541.632

ЛИГАНДОБМЕННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ РАЦЕМАТОВ
НА ДИССИММЕТРИЧЕСКИХ СОРБЕНТАХ
С ТРИФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ АМИНОКИСЛОТНЫМИ
ГРУППИРОВКАМИ (ГИСТИДИН, МЕТИОНИН,
МЕТИОНИНСУЛЬФОКСИД)

Яжков И. А., Рогожин С. В., Даванков В. А.

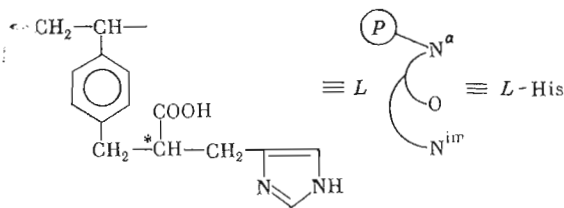
*Институт элементоорганических соединений
Академии наук СССР, Москва*

Три типа диссимметрических сорбентов с группировками *L*-гистидина, *D*-метионина и *D*-метионинсульфооксида на шпитем полистирольном каркасе испытывались в лигандообменном хроматографическом разделении оптических антиподов различных аминокислот в присутствии двухвалентных ионов *Cu* и *Ni*. С ионами *Cu* более стабильными, как правило, оказываются сорбционные комплексы со стационарным и подвижным лигандами противоположной конфигурации. В практическом расщеплении рацемических соединений перспективны сорбенты с гистидином и метионинсульфооксидом.

Способность диссимметрических сорбентов расщеплять рацемические органические соединения в условиях лигандообменной хроматографии [1] в значительной степени определяется структурой и дентатностью стационарного лиганда сорбента. В данном сообщении описывается применение сорбентов с трифункциональными группировками α -аминокислотного типа — *L*-гистидином, *D*-метионином, *D*-метионин-*DL*-сульфооксидом — в шпитем полистирольном каркасе для разделения рацематов аминокислот. Синтез и основные свойства таких сорбентов были описаны ранее [2—4].

Лигандную хроматографию рацематов проводили при одной и той же степени заряженности сорбента ионами двухвалентных металлов (*Me*) (*Cu*, *Ni*, *Zn*, *Cd*), достигаемой обработкой ионита 1 н. аммиачным раствором их солей. При этом в фазе сорбента образуются комплексы типа *Me*(стационарный лиганд)₂. Мы ограничились подбором таких условий элюирования, при которых используемый на первой стадии хроматографии элюент обладал способностью вымывать из колонки фракции, содержащие вещества только одного знака вращения. После снижения оптической активности элюата до нуля в колонку, как правило, вводился более сильный элюент (обычно раствор *NH*₄*OH*), полностью десорбирующий с ионита оставшуюся часть рацемата. Такой ступенчатый способ элюирования позволяет повысить достигаемую степень расщепления рацемата (отношение наблюдаемой оптической активности элюата к теоретически возможной величине). Ниже обсуждаются полученные результаты.

Сорбент с *L*-гистидином.



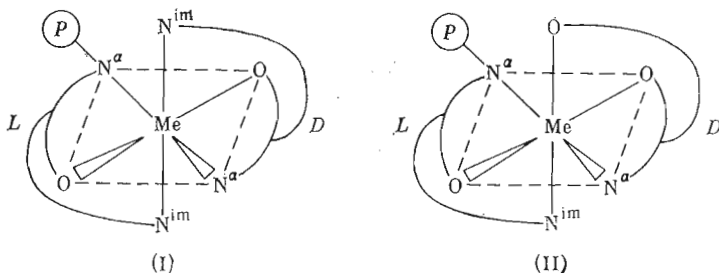
где *P* — полимерный каркас.

Известно, что гистидин координируется с ионами меди как тридентантный лиганд, причем в основной координационной плоскости хелатирование осуществляется преимущественно через аминный (N^a) и имидазольный (N^{im}) атомы азота, а карбоксильная группа (O) координируется в апикальной позиции. В комплексах с никелем гистидин также тридентантен; донорные атомы аминокислоты занимают три соседние вершины в октаэдрическом окружении иона металла.

Результаты лигандной хроматографии рацематов на сорбенте с *L*-гистидином (таблица) показывают, что стереоселективные эффекты в смешанных комплексах меди с *L*-гистидином и бидентатными аминокислотами — валином, изовалином, изолейцином, треонином и *алло*-треонином — невелики (степени расщепления α при выбранном соотношении количеств сорбента и рацемата (50 : 1, 60 : 1) составляют 7—14%). Первыми с колонки элюируются *L*-антиподы, что свидетельствует о несколько большей прочности смешанного комплекса $LCuD$ с противоположными конфигурациями стационарного и подвижного лигандов. В октаэдрических комплексах Ni^{2+} с *L*-гистидином и бидентатными аминокислотами наблюдается противоположная по знаку стереоселективность, т. е. более стабильными являются комплексы типа $LNiL$.

Стереоселективный эффект при образовании $[(L-His)Cu(Pro)]$ чрезвычайно велик (α 94%). Для пролина при переходе от медной к никелевой, цинковой и кадмиевой формам сорбента степень стереоселективности постепенно падает, так что достигаемое разделение в указанном ряду составляет соответственно 94, 47, 5 и 1%, однако обращения порядка выхода антиподов не наблюдается, т. е. комплекс $[(L-His)Me(D-Pro)]$ всегда более стабилен, чем $[(L-His)Me(L-Pro)]$.

Хроматография рацемического гистидина на сорбенте, заряженном ионами меди, сопровождается значительным стереоселективным эффектом (α 29%). В присутствии ионов никеля степень расщепления гистидина еще выше (α 54%). В обоих случаях смешанный комплекс $[(L-His)Me(D-His)]$ оказался более стабильным. Известно, что при образовании бис-комплексов гистидина в растворе $[LMeD]$ -структура более стабильна, причем степень стереоселективности равна 44% [5, 6]. Так же как и в растворе, наблюдаемый нами эффект, по-видимому, обуславливается тем, что при противоположных конфигурациях стационарного и подвижного лигандов может образоваться энергетически наиболее выгодная *транс, транс*-структура (I), в которой объемные имидазольные и одноименно заряженные карбоксильные группы удалены друг от друга.



**Расщепление рацематов сорбентами с *L*-гистидином,
D-метионином и *D*-метионин-*DL*-сульфоксидом**

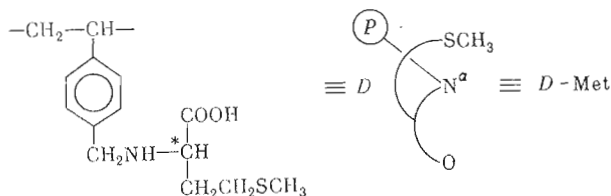
Стационарный лиганд	Раце-мат	Cu ²⁺ -форма сорбента		Ni ²⁺ -форма сорбента	
		Условия элюирования антиподов	Степень расщепления, %	Условия элюирования антиподов	Степень расщепления, %
<i>L</i> -His	Pro	<i>L</i> — 0,2 н.; <i>D</i> — 2 н.	94	<i>L</i> — 0,2 н.; <i>D</i> — 2 н.	47
<i>D</i> -Met		<i>D</i> — рН 9,0; <i>L</i> — рН 9,0	48	<i>D</i> — 0,2 н.; <i>L</i> — 0,2 н.	7
<i>D</i> -Met(O)		<i>D</i> — рН 7,5; <i>L</i> — рН 7,5	60	<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 1 н.	8
<i>L</i> -His	Val	<i>L</i> — в.; <i>D</i> — 1 н.	7	<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 1 н.	4
<i>D</i> -Met		<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 1 н.	30	<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 1 н.	4
<i>D</i> -Met(O)		<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 1 н.	60	<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 1 н.	9
<i>D</i> -Met	Ala	<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 1 н.	7	—	—
<i>D</i> -Met(O)		<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 1 н.	8	—	—
<i>L</i> -His	IVa	<i>L</i> — в.; <i>D</i> — 1 н.	9	<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 1 н.	4
<i>D</i> -Met		<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 1 н.	27	—	0
<i>D</i> -Met(O)		<i>D</i> — 0,15 н.; <i>L</i> — 0,15	15	—	0
<i>L</i> -His	Ile	<i>L</i> — 0,2 н.; <i>D</i> — 0,2 н.	3	<i>D</i> — 0,2 н.; <i>L</i> — 0,2 н.	15
<i>D</i> -Met		<i>D</i> — 1 н.; <i>L</i> — 1 н.	9	—	—
<i>D</i> -Met(O)		<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 1 н.	52	—	—
<i>L</i> -His	Мин-даль-ная кислота	<i>D</i> — рН 7,2; <i>L</i> — 1 н.	8	<i>D</i> — рН 7,2; <i>L</i> — 1 н.	1
<i>D</i> -Met		<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 1 н.	17	<i>D</i> — в.; <i>L</i> — н.	4
<i>D</i> -Met(O)		<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 0,5 н.	16	<i>D</i> — в.; <i>L</i> — в	2
<i>L</i> -His	Asp	<i>D</i> — рН 9,15; <i>L</i> — 1 н.	35	<i>L</i> — рН 9,15; <i>D</i> — 1 н.	36
<i>D</i> -Met		—	0	<i>L</i> — 1 н.; <i>D</i> — 1 н.	6
<i>D</i> -Met(O)		—	0	<i>L</i> — в.; <i>D</i> — в	60
<i>L</i> -His	Glu	<i>D</i> — рН 9,15; <i>L</i> — 1 н.	15	<i>D</i> — рН 9,15; <i>L</i> — 1 н.	10
<i>L</i> -His	Orn	<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 1 н.	18	<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 1 н.	8
<i>L</i> -His	Thr	<i>L</i> — рН 11; <i>D</i> — рН 11	10	<i>D</i> — рН 11; <i>L</i> — рН 11	14
<i>D</i> -Met		<i>L</i> — в.; <i>D</i> — 1 н.	11	<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 0,5 н.	3
<i>D</i> -Met(O)		<i>L</i> — в.; <i>D</i> — 1 н.	14	<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 1 н.	10
<i>L</i> -His	α Thr	<i>L</i> — в.; <i>D</i> — 0,65 н.	14	<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 0,65 н.	12
<i>D</i> -Met		—	—	<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 0,5 н.	21
<i>D</i> -Met(O)		—	—	<i>D</i> — в.; <i>L</i> — 1 н.	24
<i>L</i> -His	His	<i>L</i> — рН 11; <i>D</i> — рН 11	29	<i>L</i> — рН 11; <i>D</i> — 0,7 н.	54
<i>D</i> -Met	Ser	<i>D</i> — 1 н.; <i>L</i> — 1 н.	2	—	—
<i>D</i> -Met(O)		<i>D</i> — 1 н.; <i>L</i> — 1 н.	3	—	—

Примечание. Здесь *L* и *D* — абс. конфигурации антиподов, приведенные в порядке их элюирования; в — вода; 1 н., 0,2 н. и т. д. — концентрации раствора NH₃. При элюировании изомеров в буферной системе 0,1 М CH₃COONH₃ — NH₃ приведены значения рН системы.

При расщеплении тридентатной *DL*-аспарагиновой кислоты в присутствии ионов меди более стабильным оказался комплекс [(*L*-His) Cu(*L*-Asp)] (α 35%), а в присутствии никеля — его диастереомер [(*L*-His)Ni(*D*-Asp)] (α 36%). В первом случае предпочтительность образования комплекса с одинаковыми конфигурациями лигандов, возможно, объясняется тем, что эта структура стабилизируется внутримолекулярной водородной связью между β -карбоксом аспарагиновой кислоты и $N_{(3)}$ -атомом гистидина. В комплексе с никелем энергетически наиболее выгодной будет структура (II) с *транс*-расположением лигирующих атомов. В этой структуре реализуется тридентатность как стационарного, так и подвижного лигандов.

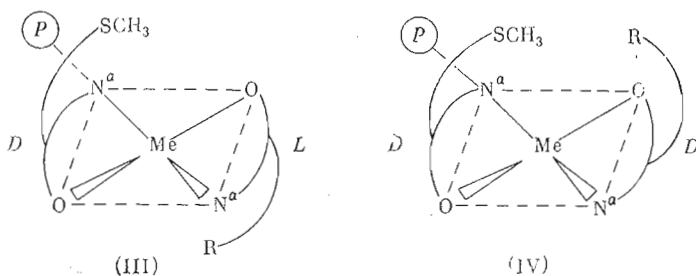
При расщеплении рацемических орнитина и глутаминовой кислоты более прочными оказываются комплексы, содержащие подвижный лиганд с *L*-конфигурацией. Возможно, что они также стабилизируются за счет водородных связей функциональных групп боковых радикалов.

Сорбент с D-метионином.



В противоположность гистидину метионин координируется с катионами металлов первого переходного ряда через атомы азота и кислорода, т. е. выступает как бидентатный лиганд. Тиоэфирная группа не участвует в комплексообразовании.

Из представленных в таблице результатов расщепления рацематов сорбентом с *D*-метионином видно, что в присутствии обоих типов ионов в случае бидентатных аминокислот (за исключением Thr) более прочно удерживается тот антипод, абсолютная конфигурация которого противоположна абсолютной конфигурации стационарного лиганда. По-видимому, в основной координационной плоскости комплекса меди и никеля реализуется *транс*-расположение донорных атомов, и [*DCuL*]-структура (III) с удаленными друг от друга радикалами



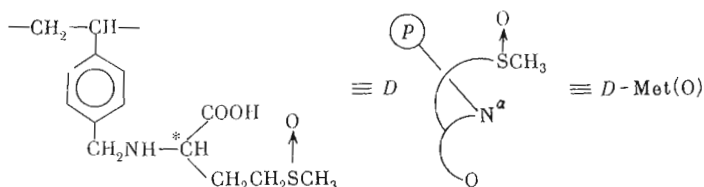
при α -углеродных атомах оказывается энергетически более выгодной.

При расщеплении одних и тех же бидентатных аминокислот стереоселективный эффект максимален при использовании сорбента, заряженного ионами меди: степени расщепления рацемических изовалина, валина и пролина равны соответственно 27, 30 и 48%.

Рацемические лизин, орнитин и глутаминовая кислота не расщепляются сорбентом с *D*-метионином.

При расщеплении *DL*-треонина сорбентом в медной форме более стабильный комплекс со стационарным лигандом образует *D*-изомер, в то время как для рацемического серина соблюдается обычный порядок — более прочный комплекс дает *L*-изомер.

Сорбент с D-метионин-DL-сульфоксидом. В литературе отсутствуют данные о дентатности S-окиси метионина в комплексах с металлами. Чтобы выяснить, участвует ли сульфоксидная группа в координации, мы изучили ИК-спектры сорбента с *D*-метионин-*DL*-сульфоксидом до и после координации с никелем. Неизменное положение максимума полосы поглощения сульфоксидных групп (в области 1035 см^{-1}) свидетельствует против их участия в комплексообразовании. Действительно, координация сульфоксидных групп приводила бы к образованию малоустойчивого семичленного хелатного кольца. Это дало нам основание считать, что S-окись метионина при координации с металлами ведет себя аналогично метионину. В таком случае неоднозначность конфигурации асимметрического атома серы не должна снижать стереоселективность процессов комплексообразования.



Полученные результаты (см. таблицу) показывают, что комплексы образуемые стационарными лигандами сорбентов с *D*-метионином и *D*-метионин-*DL*-сульфоксидом в присутствии обоих типов ионов, имеют одинаковый характер. Однако стереоселективные эффекты при использовании второго сорбента выше. Это может быть связано с большим объемом сульфоксидной группы S-окиси по сравнению с объемом сульфидной группы метионина, вследствие чего различие в стабильности диастереомерных структур, аналогичных структурам (III) и (IV), возрастает.

Рацемическая аспарагиновая кислота не расщепляется сорбентом, заряженным Cu^{2+} . Напротив, при использовании никелевой формы сорбента при элюции водой достигается высокая степень расщепления антиподов (60%).

Степени расщепления в стандартных условиях пролина, валина и изолейцина на сорбенте, заряженном ионами меди (II), также достигают 60%.

Экспериментальная часть

Для хроматографического расщепления рацематов использовали колонки размером $1 \times 40 \text{ см}$.

Фиксировались такие параметры процесса хроматографии, как объем колонки, заполненный 30 мл гранулированного сорбента, что соответствует 10–12 г сухого сорбента; объемная скорость элюирования (15 мл/ч) и загрузка рацемата (0,2 г) в колонку. С помощью коллектора каждые 45 мин отбирали фракции, которые испытывали на реакцию с нингидрином. Оптическое вращение фракций, содержащих аминокислоту, измеряли на поляриметре Quick polarimetre Roussel Jouan (Франция). Точность измерения $\pm 0,001^\circ$.

Рацемические аминокислоты наносили на колонку в виде 10% водных растворов, за исключением растворов аспарагиновой кислоты (3%), изолейцина (4%), валина (5%), глутаминовой кислоты (5%), гистидина (5%).

Результаты хроматографии оценивали с помощью расчета по формуле Био [7] по выходу оптически активного вещества в каждой из противоположно вращающих фракций. Определение «оптического выхода» проводили в кислой среде, чтобы исключить образование комплексов аминокислоты с металлом, выносимым иногда с колонки в процессе хроматографии. Для повышения точности определения выхода в ряде случаев объединен-

ные фракции упаривали и их оптическое вращение определяли в растворе объемом 25 мл.

Для выяснения типа комплексов, образуемых стационарным лигандом сорбентов с ионами металлов, нами изучались изотермы сорбции двухвалентных ионов меди и никеля сорбентами с *L*-гистидином и *D*-метионин-*DL*-сульфоксидом. Для этого навески ионита (5—9 навесок весом ~ 1 г) заливали растворами соли металла в 1 н. NH_3 различной концентрации. После перемешивания в течение 24 ч гранулы ионита отфильтровывали. Количество металла в фильтрате определяли комплексометрическим титрованием раствором этилендиамина тетрауксусной кислоты в присутствии мурексида в качестве индикатора [8].

Количество металла, связанного ионитом, в каждом случае определяли как разность количества металла в исходном растворе и в фильтрате. Было установлено, что максимальные количества ионов меди и никеля, связанные сорбентом с *L*-гистидином, равны соответственно 0,83 и 0,87 мг-экв/г. Из этих данных, зная аналитическую емкость сорбента (1,7 ммоль остатков аминокислоты на 1 г сухого веса сорбента), можно определить отношение стационарный лиганд : Ме. Оказалось, что это отношение для Cu^{2+} равно 2 : 1, для Ni^{2+} — 1,95 : 1. Для сорбента с *D*-метионин-*DL*-сульфоксидом с аналитической емкостью 2,2 ммоль/г эти отношения составляют соответственно 2 : 1 и 1,93 : 1.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рогожин С. В., Даванков В. А. (1970) Докл. АН СССР, 192, 1288—1290.
2. Рогожин С. В., Даванков В. А., Ямсков И. А. (1971) Изв. АН СССР. Сер. хим., 2325—2327.
3. Даванков В. А., Рогожин С. В., Ямсков И. А., Кабанов В. П. (1971) Изв. АН СССР. Сер. хим., 2327—2329.
4. Рогожин С. В., Даванков В. А., Ямсков И. А., Кабанов В. П. (1972) Ж. общ. химии, 42, 1614—1617.
5. Morris P. I., Martin R. B. (1970) J. Inorg. Nucl. Chem., 32, 2891—2897.
6. Ritsma J. H., van De Grampel J. C., Jellinek F. (1969) Rec. trav. chim., 88, 411—416.
7. Гринштейн Дж., Вивиц М. (1965) Химия аминокислот и пептидов, с. 784, «Мир», М.
8. Шварценбах Г. (1958) Комплексометрия, с. 107, Госхимиздат, М.

Поступила в редакцию
5. XIII. 1976

LIGAND-EXCHANGE CHROMATOGRAPHY OF RACEMATES ON THE ASYMMETRIC SORBENTS WITH TRIFUNCTIONAL AMINO ACID RESIDUES (HISTIDINE, METHIONINE, METHIONINE SULFOXIDE)

YAMSKOV I. A., ROGOZHIN S. V., DAVANKOV V. A.

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

Three types of asymmetric resins with the groupings of *L*-histidine, *D*-methionine or *D*-methionine sulfoxide in the cross-linked polystyrene matrix have been used in the ligand-exchange chromatography of optical antipods of different amino acids in the presence of Cu(II) or Ni(II) ions. As a rule, sorption complexes with the Cu(II) ions are more stable if the fixed and mobile ligands possess the opposite configurations. For practical purposes a resolution of racemic compounds on the resins with histidine and methionine sulfoxide seems most perspective.