

Chirale Kupfer(II)-Komplexe für die Enantiomerentrennung von DL-Dansyl-Aminosäuren durch HPLC**

Von Rosangela Marchelli*, Arnaldo Dossena,
Giuseppe Casnati, Francesco Dallavalle und
Shulamith Weinstein

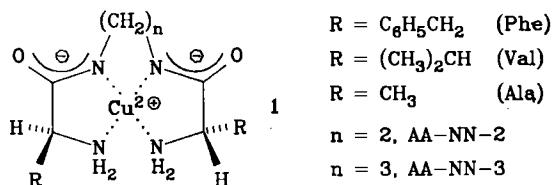
Die Trennung von freien oder derivatisierten DL-Aminosäuren durch HPLC ist hauptsächlich auf zwei Wegen vorgenommen worden: mit chiralen komplexierenden stationären Phasen^[1] oder mit chiralen Metallkomplexen als Zusatz zur mobilen Phase^[2]. In beiden Fällen wurde die Enantiomerentrennung auf einen Ligandenaustausch zurückgeführt.

Wir berichten hier über vorläufige Ergebnisse einer systematischen Untersuchung, die zum Verständnis des molekularen Mechanismus der chiralen Erkennung beitragen soll. Die verwendeten Liganden wurden speziell entworfen, um Struktur und Stabilität ihrer Kupfer(II)-Komplexe mit deren Fähigkeit zur Trennung von DL-Dansyl-Aminosäuren korrelieren zu können und Einblick in die Natur der Wechselwirkungen zu gewinnen, die bei der chiralen Erkennung wichtig sind.

Das Hauptmerkmal der neuen Liganden vom Typ AA-NN-2 und AA-NN-3 ist, daß zwei L-Aminosäureamid-Moleküle an den Amid-N-Atomen durch eine Ethylen- bzw. eine Trimethylenbrücke verknüpft sind. Diese Liganden haben unterschiedliche Lipophilie und Raumerfüllung in Abhängigkeit von der Seitenkette (AA=Alanin, Valin, Phenylalanin). Die Liganden lassen sich leicht als Hydrochloride in hohen Ausbeuten (> 90%) durch Kondensation von L-Z-Aminosäure-hydroxysuccinimidestern (Z=Benzoyloxycarbonyl) mit 1,2-Ethan- bzw. 1,3-Propandiamin und anschließende Abspaltung der Schutzgruppen durch Hydrogenolyse und Behandlung mit HCl in Methanol erhalten.

In Einklang mit dem Verhalten ähnlicher Liganden^[3] entsteht aus AA-NN-3 im pH-Bereich 7–8 nur ein Komplex mit Kupfer(II), und zwar vom Typ CuLH₂ 1, während AA-NN-2 zwei Kupfer(II)-Komplexe bildet, (Cu₂L₂H₂)²⁺ und CuLH₂. Da im pH-Bereich der besten Enantiomerentrennung (pH 7.5–8) jedoch die Spezies CuLH₂ überwiegt, nehmen wir an, daß diese Spezies bei beiden Typen von Liganden an der Trennung beteiligt ist.

Die Enantiomerentrennung von DL-Dansyl-Aminosäuren (Dansyl=5-Dimethylamino-1-naphthylsulfonyl) wurde an einer C₈-Kolonne (Perkin-Elmer) mit Wasser/Ace-



[*] Prof. Dr. R. Marchelli, Dr. A. Dossena, Prof. Dr. G. Casnati
Istituto di Chimica Organica dell'Università

Via M. D'Azeglio 85, I-43100 Parma (Italien)

Prof. Dr. F. Dallavalle

Istituto di Chimica Generale dell'Università

Via M. D'Azeglio 85, I-43100 Parma (Italien)

Dr. S. Weinstein

Department of Organic Chemistry, The Weizmann Institute of Science
Rehovot 76100 (Israel)

[**] Diese Arbeit wurde vom Ministero Pubblica Istruzione (Italien) und von der Minerva, Gesellschaft für die Forschung mbH (Bundesrepublik Deutschland) unterstützt. Wir danken Prof. E. Gil-Av für Diskussionen.

tonitrit-Lösungen der Liganden und Kupferacetat bei verschiedenen pH-Werten durchgeführt. Tabelle 1 zeigt, daß recht hohe α -Werte erreicht wurden. Ein typisches Beispiel der Trennung einer racemischen Mischung mehrerer Aminosäuren ist in Abbildung 1 wiedergegeben.

Tabelle 1. Trennfaktoren α von DL-Dansyl-Aminosäuren [a].

DL-Dansyl-Aminosäure	$L = \text{Phe-NN-2}$	$L = \text{Phe-NN-3}$
	α	α
Glutaminsäure	2.20	1.23
Asparaginsäure	2.48	1.36
Serin	2.00	1.29
Threonin	1.50	1.11
α -Aminobuttersäure	1.23	1.00
Valin	1.16	1.00
Methionin	1.27	1.00
Phenylalanin	1.47	1.10
Tryptophan	2.01	1.20

[a] Säule: 24 × 0.46 cm, C₈, 10 μm; Eluens: H₂O:CH₃CN (67:27), Cu(OAc)₂ 2 mM, L 2 mM, NaOAc 0.3 M; pH = 7.5; Durchfluß 1.3 mL/min; Raumtemperatur; $\alpha = R_L/R_D$ (R_L und R_D sind die Retentionszeiten des L- und des D-Enantiomers).

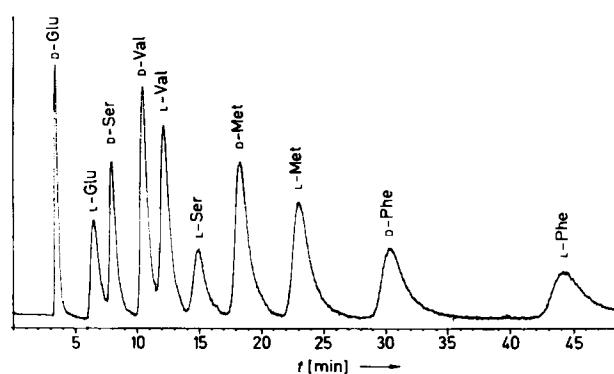


Abb. 1. HPLC-Trennung einer Mischung von DL-Dansyl-Aminosäuren. Bedingungen siehe Tabelle 1; Durchfluß 1.2 mL/min.

Im allgemeinen ergeben Kupfer(II)-Komplexe der Liganden AA-NN-2 bessere Resultate als die AA-NN-3-Analoga. Phe-NN-2 und Val-NN-2 trennen die meisten DL-Aminosäuren ähnlich gut, während Ala-NN-2 überhaupt nicht oder schlecht trennt. Die Trennfaktoren sind pH-abhängig; sie steigen von pH 6.3 bis etwa pH 7.5–8. Daraus wird geschlossen, daß die Deprotonierung der Dansyl-substituierten Aminogruppe ebenfalls am Erkennungsprozeß beteiligt ist. Für einen gegebenen Liganden ist die Reihenfolge der Elution der Enantiomere gleich: D-Aminosäuren werden immer vor L-Aminosäuren eluiert. Erwartungsgemäß ist die Wechselwirkung der aromatischen Aminosäuren Phenylalanin und Tryptophan mit den Kupfer-Ligand-Komplexen 1 und der Säule am stärksten, so daß die Retentionszeiten sich verlängern. Die Enantiomere werden jedoch bei den polaren Aminosäuren Asparaginsäure, Glutaminsäure und Serin besser unterschieden; sie haben die höchsten Trennfaktoren α .

CPK-Modelle zeigen, daß die Komplexe 1 sehr starr sind. Die AA-NN-2-Liganden umfassen das Kupfer-Ion nicht vollständig, so daß es für die zu trennenden Aminosäuren leicht zugänglich ist, während die AA-NN-3-Liganden das Kupfer-Ion etwa kreisförmig umschließen. Es sei angemerkt, daß der schwächere Komplex 1 ($\log \beta = -6.04(3)$ für $L = \text{Phe-NN-2}$) die Enantiomere besser als der stärkere Komplex trennt ($\log \beta = -2.73(2)$ für Phe-NN-3); anscheinend sind Wechselwirkungen zwischen den Aminosäuren und dem stärkeren Komplex weniger leicht möglich.

Darüber hinaus muß der Kupfer(II)-Komplex 1 an der Grenzfläche zwischen mobiler Phase und „organischer“ Umkehrphase lokalisiert sein; zumindest muß er teilweise in die organische Phase eingebettet sein und somit eine spezifische diastereofaciale Selektivität aufweisen.

In diesem Zusammenhang ist es schwierig anzunehmen, daß die Enantiomerentrennung durch Austausch des vierzähligen Liganden im Komplex 1, der an der organischen Phase adsorbiert ist, gegen die Enantiomere stattfindet. Es ist leichter vorstellbar, daß die zu trennende Dansyl-Aminosäure zunächst über ihre Carboxylatgruppe in Wechselwirkung mit der apicalen Position des Kupferkomplexes tritt, die für eine Koordination zugänglich ist. Danach bilden sich H-Brücken mit der terminalen NH₂-Gruppe des Liganden, oder diese Gruppe wird von ihrer äquatorialen Position verdrängt. Wir haben noch nicht genug Argumente für den einen oder den anderen Mechanismus, doch nehmen wir an, daß das vorliegende Modell für weitere Entwicklungen auf diesem Gebiet nützlich sein wird.

Eingegangen am 6. August 1984,
in veränderter Fassung am 22. Januar 1985 [Z 951]

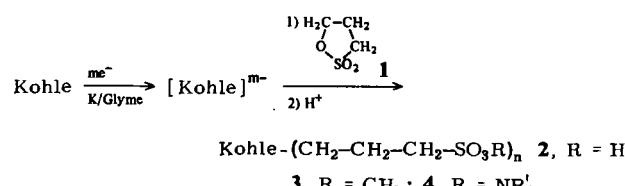
- [1] V. A. Davankov, Yu. A. Zolotarev, *J. Chromatogr.* 155 (1978) 285, 295, 303.
- [2] E. Gil Av, A. Tishbee, P. E. Hare, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 5115; S. Lam, F. Chow, A. Karmen, *J. Chromatogr.* 199 (1980) 295; S. Weinstein, *Angew. Chem.* 94 (1982) 221; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 21 (1982) 218; *Angew. Chem. Suppl.* 1982, 425.
- [3] K. Sun Bai, A. E. Martell, *J. Am. Chem. Soc.* 91 (1969) 4412; M. Briemann, A. D. Zuberbühler, *Helv. Chim. Acta* 65 (1982) 46.

Reduktive Alkylierung von Steinkohle: Kohle-Propansulfonsäuren mit bemerkenswerten Löslichkeiten

Von Matthias W. Haenel*, Udo-Burckhard Richter und
Heribert Hiller

Professor Günther Wilke zum 60. Geburtstag gewidmet

Für chemische Untersuchungen von Steinkohle werden lösliche Derivate benötigt, deren ursprüngliche Kohlestruktur noch weitgehend erhalten ist. Teilweise beachtliche Löslichkeiten in Pyridin zeigen Kohle-Derivate, die durch Reduktion von Steinkohle mit der „blauen Lösung“, die Kalium in oligomeren Polyethylenglykoldimethylethern bildet, und Umsetzen der gebildeten „Kohle-Anionen“ mit Dimethylsulfat oder Alkylhalogeniden hergestellt wurden^[1]. Interessante Löslichkeitseigenschaften versprachen Produkte der reduktiven Alkylierung von Steinkohle mit dem γ-Sulton der 3-Hydroxypropansulfonsäure 1. Nucleophile, auch Organometall-Carbonanionoide, öffnen den Sulton-Ring unter Bildung von 3-substituierten Propansulfonsäuren^[2]. Dementsprechend wurden aus einer mittleren Fettkohle des Ruhrgebietes (Tabelle 1) durch Reduktion der feingemahlenen Kohle mit Kalium im Gemisch (6 : 1) von Dimethoxyethan und „Octaglyme“^[1] bei



[*] Priv.-Doz. Dr. M. W. Haenel, Ing. grad. U.-B. Richter, H. Hiller
Max-Planck-Institut für Kohlenforschung
Kaiser-Wilhelm-Platz 1, D-4330 Mülheim a. d. Ruhr

–25 °C und anschließende Zugabe von 1 Kohle-Propansulfonsäuren 2 erhalten.

Laut Elementaranalysen und acidimetrischer Bestimmung der Säure-Gruppen (Tabelle 1) ändert sich die mittlere Zusammensetzung – unter Vernachlässigung der Heteroatome – von C₁₀₀H₆₃ in der Ausgangskohle nach C₁₀₀H₇₆(CH₂-CH₂-CH₂-SO₃H)_n in 2. Zusätzlich zur Alkylierung mit 1 wurde daher die Kohle hydriert, wobei ca. 13 H-Atome pro 100 C-Atome durch Birch-Hückel-Reduktion polycyclischer Arene und/oder reduktive Spaltung von Ether- und benzylischen C-C-Bindungen^[3] aufgenommen wurden. In der analog durchgeführten reduktiven Methylierung mit [¹³C]Methyliodid wurden laut ¹³C-NMR-Spektren überwiegend aliphatische (benzylische) C-Atome der „Kohle-Anionen“ alkyliert^[1b]. Die Mehrzahl der Propansulfonsäure-Gruppen in 2 sollte daher in gleicher Weise an C-Atome des Kohle-Skeletts gebunden sein.

2 und seine Natrium-Salze sind zu 89% in Wasser löslich, so daß bei Berücksichtigung der mineralischen Bestandteile (4.1% Asche, Tabelle 1) nur etwa 7% der Kohle ungelöst bleiben. Verantwortlich für diese überraschende Wasserlöslichkeit ist offenbar die Solvatation dissoziierter Ionen, denn durch konzentrierte Salzsäure werden die Säuren 2 ausgefällt und ihre Methylester 3 (Tabelle 1, hergestellt aus 2 und Orthoameisensäuretrimethylester^[4]) sind wasserunlöslich. Quartäre organische Ammoniumsalze wie Hyamine 10-X^[5] fallen 4 (Tabelle 1) aus der schwarzen wäßrigen Lösung der Natriumsalze von 2 so vollständig aus, daß die Lösung über dem schwarzen Niederschlag wasserklar ist. Die Ammoniumsalze 4 sind in polaren organischen Lösungsmitteln wie Pyridin, Methanol und Ethanol löslich, wobei offenbar undissozierte Ionenpaare vorliegen^[6]. Da sich Salze von 2 je nach Kation sowohl in Wasser als auch in organischen Lösungsmitteln lösen, sind sie attraktive Steinkohle-Derivate für weitere chemische und spektroskopische Untersuchungen.

Tabelle 1. Zusammensetzung, angegeben als normalisierte Atomverhältnisse, und Löslichkeiten von Ausgangskohle und Kohle-Derivaten 2, 3 und 4 [Flöz Robert der Schachtanlage Westerholt, 23.6% flüchtige Bestandteile, 4.1% Asche, 0.7% Wasser, 89.4% C, 4.7% H, 1.8% N, 3.8% O, 1.9% S]. a, b: repräsentative Beispiele.

	C	H	N	O	S	H ⁺ /100C	n/100C	Löslichkeit [e]
	[a]			[b, c]		[c]		
Ausgangs-								
kohle	100	63	1.7	3.2	0.8	—	—	12% (P)
2a	100	102.5	0.8	23.3	5.4	5.3	≈ 5	89% (W)
2b	100	98.1	1.3	19.5	5.0	5.6	≈ 5	
3a	100	110.0	0.4	21.5	5.2	—	< 5% (P)	
4a [d]	100	130.5	2.8	13.0	2.4	≈ 5	> 90% (PME)	
4b	100	128.8	2.6	13.3	2.3	≈ 5		

[a] Direkt bestimmt. [b] Acidimetrisch bestimmt. [c] Bezogen auf 100C der Ausgangskohle. [d] R₄N⁺ = Kation von Hyamine 10-X. [e] In Pyridin (P), Wasser (W), Methanol (M), Ethanol (E).

Die Löslichkeit der Ammoniumsalze 4 in Pyridin wurde genutzt, um Informationen über Molmassen mit Hilfe von präparativer Gel-Permeations-Chromatographie (Säule: Durchmesser 5.3, Länge 125 cm, Volumen 2750 cm³, Sephadex LH 60, Pyridin, 60 °C) und anschließender Molekulargewichtsbestimmung der einzelnen GPC-Fraktionen mit Dampfdruck-Osmometrie (Pyridin, 60 °C) zu gewinnen^[7]. Die befriedigende lineare Korrelation zwischen den Logarithmen der gemessenen Molmassen M_{ni} und den Elutionsvolumina EV_i (Abb. 1) deutet an, daß die Trennung im wesentlichen über Ausschlußchromatographie nach Molekülgrößen stattfand und Störungen durch po-