

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ  
ПОВЕРХНОСТНЫХ ЯВЛЕНИЙ

УДК 543.544.5 + 544.723.23

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ЭНАНТИОСЕЛЕКТИВНОГО УДЕРЖИВАНИЯ  
ХИРАЛЬНЫХ ОКСАЗОЛОПИРРОЛОХИНОЛОНОВ НА НЕПОДВИЖНОЙ  
ФАЗЕ С ПРИВИТЫМ АНТИБИОТИКОМ РИСТОЦЕТИНОМ А

© 2021 г. М. В. Степанова<sup>а</sup>, Л. Д. Аснин<sup>а,\*</sup>, А. А. Ботева<sup>а</sup>, О. П. Красных<sup>а</sup>, И. В. Фефилова<sup>а</sup>

<sup>а</sup> Пермский национальный исследовательский политехнический университет, 614990 Пермь, Россия

\*e-mail: asninld@mail.ru

Поступила в редакцию 07.02.2020 г.

После доработки 07.02.2020 г.

Принята к публикации 17.03.2020 г.

Изучены механизмы удерживания и разделения энантиомеров ряда хиральных оксазолопирролохинолонов на неподвижной фазе с привитым макроциклическим антибиотиком ристоцетином А в условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии с подвижными фазами состава вода–ацетонитрил. Установлено, что зависимость фактора удерживания от концентрации  $\text{CH}_3\text{CN}$  в подвижной фазе имеет U-образную форму, дано объяснение этого явления. Изучена термодинамика адсорбции оксазолопирролохинолонов на разных участках указанной зависимости. Предположено, что адсорбционный комплекс образуется путем вхождения оксазольного фрагмента молекулы адсорбата внутрь хиральной полости привитого селектора. Обсуждено влияние природы заместителя у хирального атома углерода оксазолопирролохинолонов на энантиоразделение.

*Ключевые слова:* хиральная хроматография, 4-хинолоны, энантиомеры, механизм удерживания, ристоцетин

DOI: 10.31857/S0044453721010271

Хиральные неподвижные фазы (ХНФ) с привитыми гликопептидными макроциклическими антибиотиками используются для хроматографического разделения оптических изомеров разных классов хиральных соединений [1–4]. Наиболее подробно исследованы механизмы удерживания и закономерности хроматографического поведения на этих адсорбентах аминокислот и их производных [4], арилпропановых кислот [5, 6] и гидроксикарбоновых кислот [7, 8]. Обсуждался механизм энантиораспознавания антибиотиковыми селекторами дипептидов [9]. Недавно была продемонстрирована возможность разделения на ХНФ с привитыми макроциклическими антибиотиками эремомицином [10] и ристоцетином А [11] энантиомеров оксазолопирролохинолонов (далее для краткости пирролохинолонов) – производных аннелированного с пирролом 4-хинолона (табл. 1). По-видимому, это первые примеры энантиоразделения аннелированных хинолонов на подобных ХНФ и одни из немногих примеров энантиоразделения данной группы соединений [12], привлекая внимание исследователей благодаря перспективам применения в лекарственных средствах [10, 12]. В этой связи представляло интерес изучить механизмы удерживания и энантиораспознавания пирролохинолонов на антибиотиковых адсорбентах. Дополни-

тельный интерес вызывало расположение асимметрического атома углерода – в месте сочленения двух циклов, что обуславливало особую “жесткую” структуру хирального центра. Такие вещества редко становились предметом исследований в хиральной хроматографии.

В качестве исследуемого адсорбента в представленной работе мы выбрали силикагель с привитым ристоцетином А (Nautilus-R) (рис. 1), поскольку он характеризовался более высокой энантиоселективностью по отношению к рассмотренным соединениям, чем эремомициновая неподвижная фаза.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Эксперименты выполняли на жидкостном хроматографе LC-20 ADXR (Shimadzu, Япония), оснащенном прецизионным насосом, диодно-матричным детектором, автодозатором и термостатом колонок. Измерения проводили на колонке Nautilus-R (4.6 × 250 мм) с привитым ристоцетином А с размером частиц насадки 6 мкм производства ЗАО “БиоХимМак СТ” (Москва). Подвижными фазами (ПФ) служили смеси деионизованной воды с ацетонитрилом (“х.ч.”). Концентрацию ацетонитрила варьировали в диапазоне от 20 до 100% (здесь и далее указаны объ-

**Таблица 1.** Факторы удерживания и коэффициент разделения энантимеров пирролохинолонов для различных составов подвижной фазы

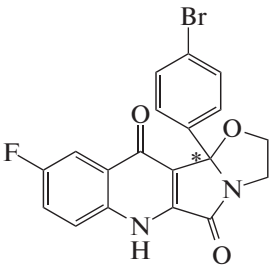
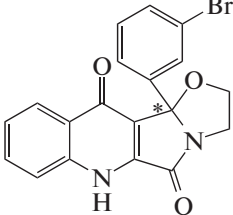
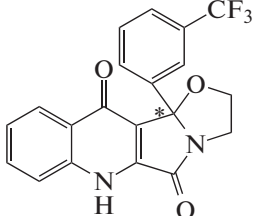
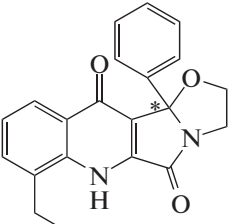
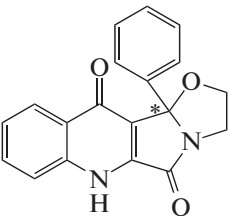
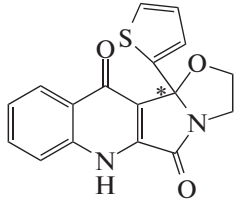
Соединение (lg $K_{ow}$ )	Структурная формула*	CH <sub>3</sub> CN, %	$k_1$	$k_2$	$\alpha$
<b>I (2.32)</b>		20	7.71	7.71	1.00
		30	2.00	2.00	1.00
		40	0.59	0.59	1.00
		50	0.17	0.17	1.00
		60	0.00	0.00	—
		70	-0.06	-0.06	—
		90	0.16	0.16	1.00
		98	1.70	1.70	1.00
		100	5.80	5.80	1.00
		<b>II (2.17)</b>		20	4.69
30	1.21			1.34	1.11
40	0.43			0.43	1.00
50	0.12			0.12	1.00
80	-0.02			-0.02	—
90	0.19			0.19	1.00
95	0.59			0.63	1.08
98	1.44			1.59	1.10
100	4.38			4.38	1.00
<b>III (2.26)</b>				20	2.57
		30	0.69	0.69	1.00
		40	0.16	0.16	1.00
		80	-0.09	-0.09	—
		90	0.08	0.08	1.00
		95	0.35	0.35	1.00
		98	0.84	0.89	1.06
		100	2.28	2.28	1.00
<b>IV (2.24)</b>		20	2.70	3.37	1.25
		30	0.75	0.94	1.25
		40	0.22	0.29	1.31
		50	0.05	0.05	1.00
		80	-0.06	-0.06	—
		90	0.11	0.11	1.00
		95	0.35	0.39	1.12
		98	0.80	0.91	1.14
		100	2.27	2.27	1.00
		<b>V (1.34)</b>		20	2.64
30	0.88			1.06	1.21
40	0.34			0.42	1.24
50	0.13			0.16	1.30
70	0.00			0.00	—
80	0.04			0.04	1.00
90	0.26			0.29	1.12
95	0.70			0.80	1.15
98	1.60			1.88	1.17
100	4.21			4.85	1.15

Таблица 1. Окончание

Соединение (lg $K_{ow}$ )	Структурная формула*	CH <sub>3</sub> CN, %	$k_1$	$k_2$	$\alpha$
VI (1.32)		20	3.31	3.31	1.00
		30	1.12	1.12	1.00
		40	0.46	0.46	1.00
		50	0.19	0.19	1.00
		80	0.07	0.07	1.00
		90	0.31	0.31	1.00
		98	1.73	1.88	1.08
		100	5.32	5.32	1.00

\* Звездочкой отмечен хиральный центр

емные проценты). Расход ПФ составлял 1 мл/мин. Хроматограммы записывали на длине волны 254 нм. Объем пробы был 2 мкл. Фактор удерживания аналитов ( $k$ ) определяли с боль-

шинством составов ПФ при температуре 25°C, однако при содержании ацетонитрила 30 и 98% измерения выполняли при 20, 25, 30 и 40°C для вычисления термодинамических характеристик

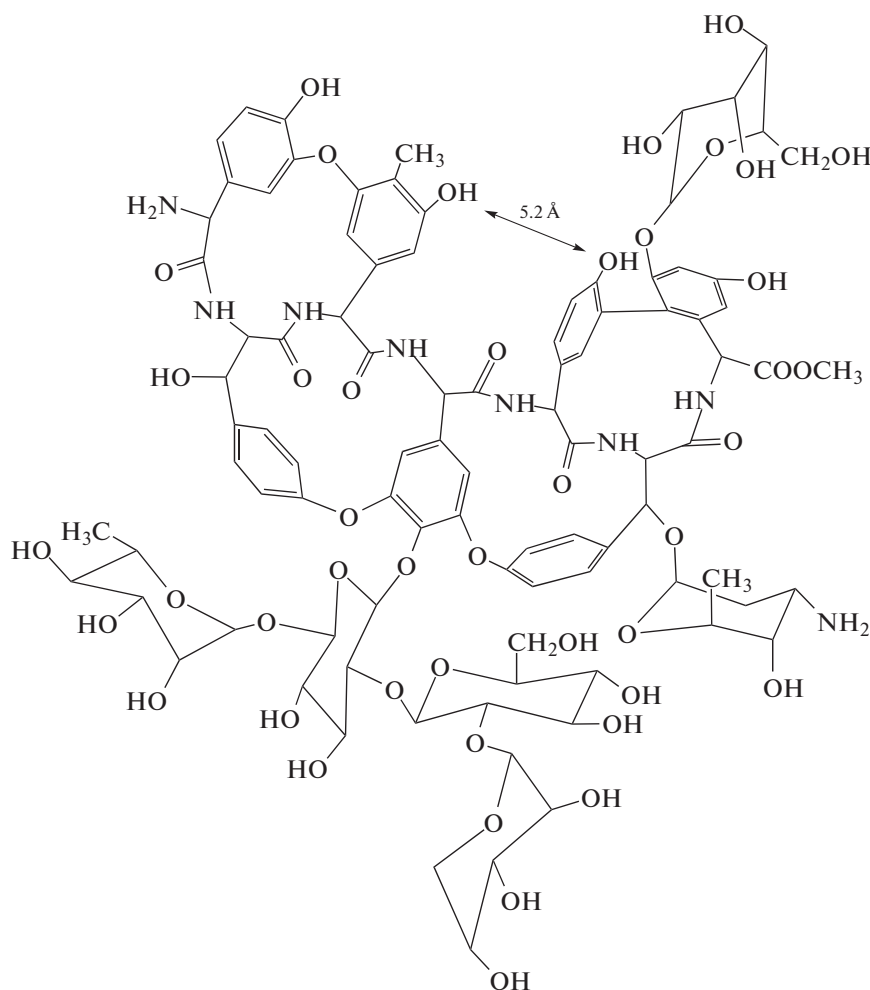


Рис. 1. Хиральный селектор ристоцетин А. Двусторонней стрелкой показано минимальное расстояние между функциональными группами на противоположных стенках хиральной полости.

адсорбции. Исследуемые соединения получали в виде рацематов известным методом [13] и очищали двойной перекристаллизацией. Для измерений использовали их растворы в ацетонитриле, концентрация которых не превышала 1 мг/мл и подбирались таким образом, чтобы ее двукратное увеличение не изменяло заметно времени удерживания пиков. Соблюдение этого условия обеспечивает нахождение концентрации адсорбата в линейной области изотермы адсорбции. Каждое измерение повторяли 3 раза. Мертвый объем колонки ( $V_0$ ) определяли по 1,3,5-три-*трет*-бутилбензолу (ТтББ), элюируя его чистым метанолом (“х.ч.”) [14]. В расчеты вносили поправку на внеколоночный объем, который определяли в системе без колонки. Стандартные энтальпию ( $\Delta H^0$ ) и энтропию ( $\Delta S^0$ ) адсорбции из раствора вычисляли по уравнению Вант-Гоффа:

$$\ln k = -\frac{\Delta H^0}{RT} + \frac{\Delta S^0}{R} + \ln \beta, \quad (1)$$

где  $T$  – абсолютная температура колонки,  $R$  – универсальная газовая постоянная, а  $\beta$  – фазовое отношение. Его рассчитывали через геометрический ( $V_{\text{col}}$ ) и мертвый объемы колонки как  $\beta = (V_{\text{col}} - V_0)/V_0$ . Линейная зависимость в координатах  $\ln k - 1/T$  с коэффициентом корреляции не меньше 0.998 наблюдалась для всех исследованных систем.

Расчет геометрии молекул осуществляли методом MM2 для условий газовой фазы, используя модуль ChemBio 3D из программного пакета ChemOffice 2008 (Perkin Elmer Informatics Inc.). Коэффициент распределения пирролохинолонов в системе *n*-октанол/вода ( $K_{ow}$ ) находили методом инкрементов, встроенным в модуль ChemBioDraw программного пакета ChemOffice 2008.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

*Общие закономерности удерживания и энантио-разделения.* Рассмотрены шесть пирролохинолонов (табл. 1), отличающихся природой заместителя у хирального центра и положением и природой боковых заместителей. Их характеристики удерживания и энантиоселективности приведены в табл. 1 как функции состава ПФ. Видно, что для всех соединений наблюдается U-образная зависимость фактора удерживания от содержания ацетонитрила, причем для пирролохинолонов I–IV с относительно высокой общей гидрофобностью ( $\lg K_{ow} = 2.2–2.3$ ) удерживание в чистом ацетонитриле меньше, чем в 20%  $\text{CH}_3\text{CN}$ . Обратная закономерность наблюдается для менее гидрофобных ( $\lg K_{ow} \approx 1.3$ ) соединений V и VI, что, вероятно, объясняется различием в сольватации молекул с разной гидрофобностью в водной и органической подвижных фазах. В чистой воде ни

один из исследованных пирролохинолонов не растворяется и из колонки не элюируется. В общем, растворимость пирролохинолонов в водно-ацетонитрильных смесях невелика, тем не менее в элюентах, содержащих 20–30% воды, они практически не удерживаются и даже характеризуются незначительными отрицательными значениями  $k$ , т.е. элюируются быстрее неудерживаемого трейсера. В сопоставимых условиях наибольшее удерживание демонстрируют соединения I и II с объемным бромфенильным радикалом у хирального атома углерода. В то же время соединение III также с объемным *m*-трифторметилфенильным радикалом у хирального центра характеризуется наименьшим удерживанием. При этом общая гидрофобность всех трех молекул примерно одинакова (табл. 1). Можно предположить, что в отличие от меньшего по размеру атома Br разветвленная  $\text{CF}_3$ -группа препятствует оптимальному, необходимому для прочного связывания, расположению молекулы аналита относительно привитого селектора.

Отчетливо прослеживается влияние заместителя у хирального центра на селективность разделения энантиомеров, характеризуемую коэффициентом разделения  $\alpha = k_2/k_1$  (индексы 1 и 2 указывают на первый и второй элюируемый энантиомер). Лучше всего расщепляются на исследуемой ХНФ рацематы пирролохинолонов с фенильным заместителем (IV и V). Меньшую энантиоселективность, и в более узких диапазонах состава ПФ, демонстрируют пирролохинолоны с более крупным фенильным радикалом, модифицированным в *meta*-положении (II и III). Природа модифицирующей группы (Br или  $\text{CF}_3$ ) не сильно влияет на энантиоселективность, но влияет на удерживание. Положение модифицирующей группы, наоборот, оказывает некоторое влияние на энантиоразделение. Так, энантиомеры I с *n*-бромфенильным заместителем у асимметрического центра не разделяются ни при каких условиях. Полагаем, что боковая группа в *para*-положении не приводит к стерическим затруднениям при вращении заместителя вокруг связи, соединяющей его с хиральным атомом углерода, когда молекула аналита взаимодействует с хиральным селектором. В то же время при вращении *m*-бромфенильного радикала такие затруднения могут возникать. Стерические осложнения часто оказываются благоприятными для энантиоразделения, хотя и приводят к образованию менее прочных адсорбционных комплексов.

Замена фенильного радикала тиенильным приводит к ухудшению энантиоселективности – соответствующий тиенилзамещенный пирролохинолон VI демонстрирует слабую способность к разделению энантиомеров только с ПФ, содержащей 98%  $\text{CH}_3\text{CN}$ . Мы связываем это с (а) мень-

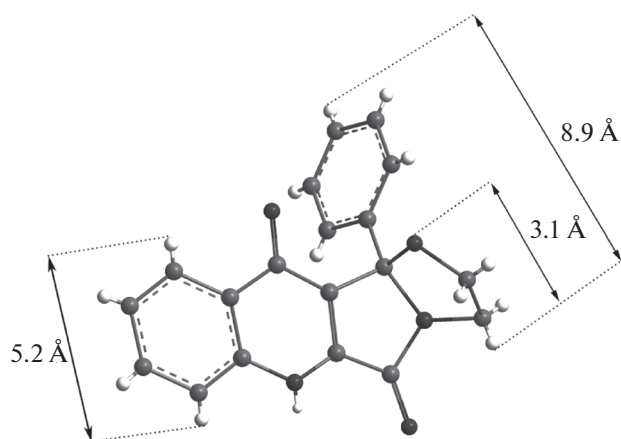


Рис. 2. Структура пирролохинолонов на примере соединения V.

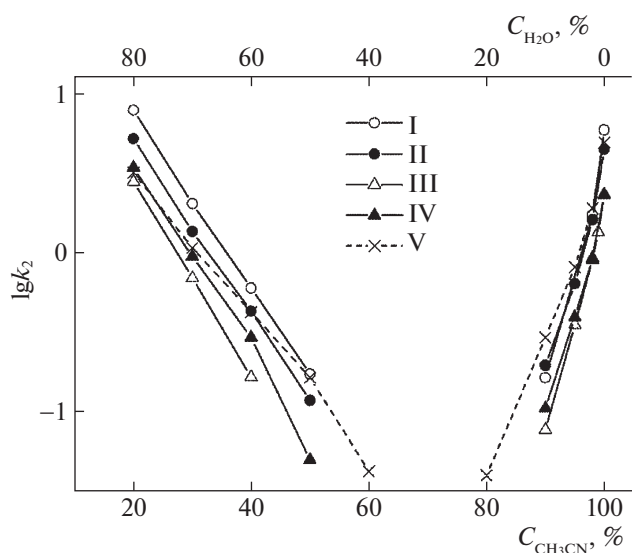
шим размером тиенильного радикала и (б) лучшей способностью этого радикала по сравнению с фенильной группой к  $\pi$ -взаимодействию (сольватохромный параметр  $\pi$ -взаимодействия тиофена превышает таковой бензола [15]). Действительно, тиенилпроизводное VI прочнее удерживается в колонке, чем его фенилзамещенный аналог V. Возможно, оба зеркальных изомера тиенил- и фенилпроизводных пирролохинолонов участвуют в  $\pi$ -донорно-акцепторном взаимодействии между данным заместителем и одной из групп ристоцетина А. При этом формирование более прочной связи и отсутствие стерических ограничений вследствие меньшего размера тиенильного радикала стабилизируют такую структуру комплекса “гость–хозяин” для VI, прочность которой оказывается менее чувствительной к стереоконфигурации “гостя”. Отметим, что в исследованных системах более прочное удерживание в целом ассоциируется с меньшими значениями  $\alpha$ .

Приведенные выше рассуждения основаны на гипотезе, согласно которой, исследуемые соединения входят в хиральную полость привитого селектора оксазольным фрагментом, содержащим асимметричный атом углерода. Указанная полость образована четырьмя макроциклическими кольцами, составляющими агликоновый скелет ристоцетина А (рис. 1). Ее отверстие имеет сложную изогнутую форму с минимальным диаметром 5.2 Å [16]. Включение пирролохинолонов внутрь этой полости через хинолоновый конец маловероятно по стерическим соображениям, так как ширина этого фрагмента составляет 5.1 Å (рис. 2) и принимает еще большие значения при наличии боковых заместителей как в IV. В то же время ширина оксазольного фрагмента в наибольшем сечении составляет  $\sim 3.1$  Å; хинолоновая группа и арильный заместитель отклоняются от

него на угол 110–120°, позволяя этому фрагменту входить в полость агликоновой части селектора. Арильный заместитель играет при этом модулирующую роль за счет взаимодействия с периферийными группами макроцикла. Косвенно это подтверждается сравнением аналогов IV и V. Несмотря на наличие боковой этильной группы в положении С7 у IV, мы не наблюдаем существенного различия в разделении энантиомеров данных соединений, что указывает на отсутствие взаимодействия хинолонового фрагмента с центром хирального распознавания.

*Влияние состава подвижной фазы на удерживание.* U-образная зависимость  $k$  от содержания органического компонента ПФ наблюдалась на антибиотиковых ХНФ как для относительно гидрофобных (5-метил-5-фенилгидантоин [1, 17]), так и для более гидрофильных (аминокислоты [18, 19]) соединений. Такое поведение авторы объясняли тем, что в растворах с высоким содержанием воды удерживание определяется гидрофобными взаимодействиями, вклад которых уменьшается с увеличением доли органического компонента. При некотором составе ПФ они перестают влиять на удерживание аналитов. При дальнейшем увеличении содержания органического компонента, однако, начинает расти вклад электростатических взаимодействий, благодаря уменьшению диэлектрической проницаемости, и фактор удерживания возрастает. В случае апротонного растворителя ацетонитрила уменьшение содержания воды в ПФ ниже 30% способствует образованию водородных связей между аналитом и соответствующими группами ХНФ, что также вносит существенный вклад в рост  $k$  [2].

Действительно, логично предположить, что наличие убывающей и возрастающей ветвей на графике зависимости  $k$  от  $\phi$  (объемная доля органического растворителя) свидетельствует о действии разнонаправленных факторов, являющихся функциями состава ПФ. Указанная зависимость представлена на рис. 3 в координатах  $\lg k - \phi$  (за исключением точек с отрицательным значением  $k$ ). Как видно,  $\lg k$  линейно уменьшается в диапазоне  $\phi$  от 20 до 50%, т.е. до концентрации ацетонитрила, при которой наблюдается потеря удерживания. Считается, что такое поведение характерно для обращенно-фазного режима хроматографии [20] и свидетельствует об увеличении элюирующей силы бинарного растворителя за счет улучшения его сольватирующей способности по отношению к аналиту. Действительно, гидрофобные пирролохинолоны должны хуже сольватироваться водой и лучше органическим растворителем. На практике мы наблюдали улучшение растворяющей способности смесей  $H_2O - CH_3CN$  в отношении исследуемых веществ с ростом доли ацетонитрила. В то же время данные,

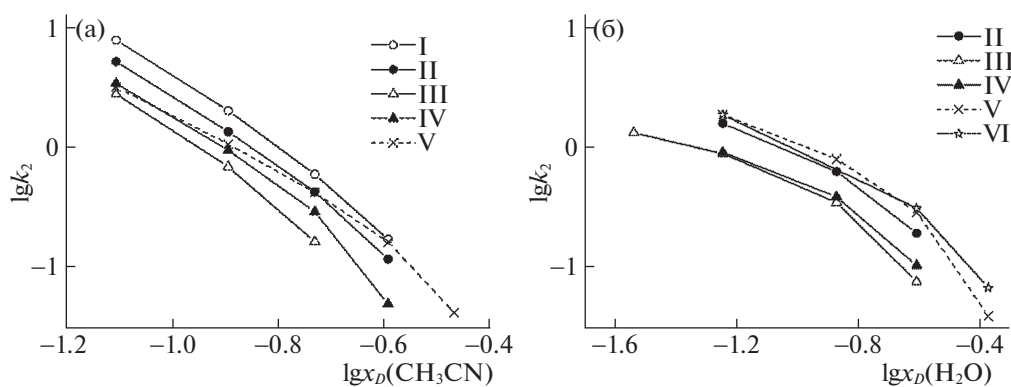


**Рис. 3.** Зависимость логарифма фактора удерживания второго элюируемого энантиомера от состава ПФ. На нижней шкале показана концентрация ацетонитрила, на верхней шкале — концентрация воды (объемные доли). Данные для соединения VI не отличались в масштабе графика от данных для соединения V, поэтому не показаны на рисунке.

представленные в координатах модели нормально-фазовой хроматографии Снайдера—Сочевинского [21], также демонстрируют близкую к линейной зависимость в диапазоне  $\phi < 50\%$  (рис. 4а). В указанной модели  $\lg k$  является линейной функцией  $\lg x_D$ , где  $x_D$  — мольная доля компонента ПФ, играющего роль десорбента. Логично в качестве такового на убывающей ветви принять ацетонитрил, а на возрастающей ветви — воду. В отличие от обращенно-фазовой модели в модели Снайдера—Сочевинского элюирующая

сила ПФ зависит от адсорбционного сродства к неподвижной фазе, определяющего ее способность вытеснять молекулы аналита с поверхности адсорбента [21]. Хотя очевидно, что механизм удерживания в хиральной хроматографии адсорбционный, поскольку для энантиоразделения требуется непосредственный контакт разделяемых энантиомеров и хирального селектора, трудно поверить, что сольватирующая способность растворителя не влияет на его элюирующую силу, особенно учитывая отмеченную выше связь между составом подвижной фазы и растворимостью в ней исследуемых аналитов. Возможно, это обстоятельство и объясняет худшую линейность графиков на рис. 4а по сравнению с рис. 3 (коэффициенты корреляции в последнем случае были выше, чем для графиков на рис. 4а для всех рассмотренных соединений).

В области высокой концентрации ацетонитрила (низкой концентрации воды, меньше 20%) элюирующая сила ПФ увеличивается с ростом содержания воды, т.е. изменяется обратно увеличению растворяющей и, следовательно, сольватирующей способности ПФ. Как видно на рис. 3, линейная связь между  $\lg k$  и  $\phi$ , а также между  $\lg k$  и  $(100 - \phi)$  (объемной долей воды) в этом диапазоне отсутствует. Сочетание этих фактов показывает, что изменение сольватирующей способности ПФ более не определяет изменение ее элюирующей силы. Более значимыми оказываются факторы, влияющие на адсорбционное взаимодействие. Во-первых, вода выступает в качестве сильного десорбента, конкурируя с молекулами аналита за взаимодействие с протондонорными/акцепторными группами привитого селектора. Влияние этого фактора примерно постоянно, пока содержание воды в ПФ, а, следовательно, и в адсорбционном слое, велико, но становится зависимым от концентрации воды при ее суще-



**Рис. 4.** Зависимость фактора удерживания второго элюируемого энантиомера от состава подвижной фазы для убывающей ветви зависимости  $k(\phi)$  как функция мольной доли ацетонитрила (а) и для возрастающей ветви зависимости  $k(\phi)$  как функция мольной доли воды (б) в координатах модели Снайдера—Сочевинского. На вкладке (а) не показаны данные для соединения VI (совпадают в масштабах графика с данными для V), на вкладке (б) не показаны данные для соединения I (совпадают в масштабах графика с данными для II).

Таблица 2. Термодинамические характеристики адсорбции пирролохинолонов (Дж/моль)

Вещество	$-\Delta H_1$	$-T\Delta S_1^*$	$\Delta G_1$	$-\Delta H_2$	$-T\Delta S_2^*$	$\Delta G_2$
ПФ: 30% CH <sub>3</sub> CN						
I	21150	18110	-3040	21150	18110	-3040
II	15910	14530	-1390	17200	15570	-1620
III	15590	15620	30	15590	15620	30
IV	13920	13690	-230	16550	15710	-840
V	14550	13920	-630	16440	15330	-1100
VI	16380	15080	-1300	16380	15080	-1300
ПФ: 98% CH <sub>3</sub> CN						
I	9470	7150	-2320	9470	7150	-2320
II	8020	6030	-1990	8910	6700	-2220
III	6820	6190	-630	8990	8230	-760
IV	8170	7600	-570	9600	8720	-880
V	9020	6750	-2270	10460	7810	-2650
VI	9230	6770	-2450	9740	7100	-2650

\*  $T = 301.6$  К (среднегармоническая температура исследованного температурного интервала).

ственном уменьшении. Измерения изотерм адсорбции воды из смеси H<sub>2</sub>O–CH<sub>3</sub>CN на ХНФ с привитыми антибиотиками показывают, что содержание воды в адсорбционном слое практически не меняется в интервале ее концентраций от 60 до 20%, но начинает резко уменьшаться при дальнейшем падении доли воды в растворе [22, 23]. Именно в этом диапазоне низких концентраций воды наблюдается увеличение  $k$  с уменьшением  $(100 - \varphi)$ . Во-вторых, на поверхности привитых ХНФ может существовать небольшая фракция особо активных центров, образовавшаяся благодаря конформационным изменениям в структуре хиральных селекторов [24]. Молекулы воды, прочно адсорбируясь внутри хиральной полости таких частиц селектора, предотвращают их сильное взаимодействие с молекулами аналита. Удаление воды из ПФ освобождает эти селекторы для образования прочного адсорбционного комплекса. На это указывает резкий рост  $k$  при уменьшении доли воды в ПФ от 2 до 0%. Отметим, что адсорбция на таких центрах сильного связывания приводит к потере энантиоселективности по отношению ко всем изученным соединениям, кроме V.

Несмотря на адсорбционный механизм удерживания, результаты, представленные в координатах графика Снайдера–Сочевинского, демонстрируют явную нелинейность в области низкого содержания воды (рис. 4б). Очевидно, допущения данной модели не выполняются. Во-первых, распределение адсорбционных центров по энергии адсорбции не является равномерным и изменяется с изменением концентрации воды в ПФ. Кроме того, вода – не единственный десорбент. Та-

кую же роль выполняют, возможно, в меньшей степени молекулы ацетонитрила.

Термодинамика адсорбции изучалась для двух составов ПФ, содержащих 30 и 98% CH<sub>3</sub>CN. Выбранные составы отвечали сопоставимым значениям  $k$ , но находились на разных ветвях зависимости  $k$  от  $\varphi$ . Значения  $\Delta H^0$  и  $\Delta S^0$  представлены в табл. 2. Для всех рассмотренных примеров адсорбция была экзотермической ( $\Delta H^0 < 0$ ). Изменение энтропии в результате адсорбции тоже имеет отрицательное значение, т.е. в силу уравнения Гиббса–Гельмгольца ( $\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0$ ), уменьшает удерживание. Другими словами, часть энергии, которая выделяется в результате перехода аналита из жидкой фазы на поверхность адсорбента, расходуется на структурные преобразования в системе, понижающие прочность адсорбционного комплекса. Тем не менее, для всех аналитов за исключением III в 30% CH<sub>3</sub>CN энтальпийный вклад в свободную энергию адсорбции несколько выше, чем энтропийный. Для III эти два вклада равны в пределах погрешности измерения. Относительно высокий вклад энтропийного терма для данного вещества в ПФ с высоким содержанием воды мы связываем с наличием гидрофобной группы CF<sub>3</sub>, оказывающей сильный хаотропный эффект на окружающий объем жидкой фазы.

Энтальпия адсорбции в ПФ с высоким содержанием воды в 1.7–2.2 раза выше, чем в маловодной ПФ. Вероятно, это связано с различием в энтальпиях сольватации, которые входят в величину  $\Delta H^0$  с обратным знаком, так как для адсорбции необходимо разрушение сольватной оболочки

**Таблица 3.** Разности термодинамических характеристик адсорбции для энантиомеров (Дж/моль)

Вещество	$-\Delta\Delta H$	$-T\Delta\Delta S^*$	$-\Delta\Delta G$
ПФ: 30% CH <sub>3</sub> CN			
I	0	0	0
II	1280	1050	230
III	0	0	0
IV	2630	2020	610
V	1890	1410	470
VI	0	0	0
ПФ: 98% CH <sub>3</sub> CN			
I	0	0	0
II	890	670	220
III	2170	2050	120
IV	1430	1120	310
V	1440	1060	370
VI	520	330	190

\*  $T = 301.6$  К (среднегармоническая температура исследованного температурного интервала).

аналита. В ПФ с высоким содержанием воды энтальпия сольватации не должна быть высокой, учитывая плохую растворимость пирролохинолонов в таких смесях. Наоборот, в 98% CH<sub>3</sub>CN энтальпия сольватации будет иметь более высокое (и отрицательное) значение и будет понижать теплоту адсорбции.

Рассчитав разность термодинамических показателей адсорбции,  $\Delta\Delta X^0 = \Delta X_2^0 - \Delta X_1^0$ , где  $X = H$ ,  $S$  или  $G$ , можно оценить вклады энтальпийного и энтропийного факторов в энантиоразделение, характеризуемое величиной  $\Delta\Delta G^0$ ; чем она отрицательнее, тем выше коэффициент разделения, поскольку  $\ln \alpha = -\Delta\Delta G^0/RT$ . Данные табл. 3 показывают, что энантиоразделение, так же как и удерживание, контролируется энтальпийным фактором, т.е. различием в прочности образующихся комплексов между энантиомерами и хиральным селектором. Этот вывод справедлив для обоих рассмотренных составов ПФ, и такая ситуация наиболее часто встречается в хиральной хроматографии [24]. Энтропийный терм, характеризующий структурные изменения в системе, оказывает негативное влияние на энантиоселективность ( $T\Delta\Delta S^0 < 0$ ). Его вклад составляет 63–94% от величины  $\Delta\Delta H^0$ . Как отмечалось выше, процессы, определяющие изменение энтропии, снижают прочность адсорбционного комплекса. Для сильнее удерживаемого энантиомера это снижение больше, чем для слабее удерживаемого, поэтому  $(-\Delta S_2^0) > (-\Delta S_1^0)$  и  $\Delta\Delta S^0 < 0$ . Такое поведение понятно, так как образование более прочной связи с селектором спо-

собствует более сильному ограничению подвижности аналита в составе комплекса включения.

Таким образом, показано, что удерживание пирролохинолонов на ристоцетиновой ХНФ из смесей вода–ацетонитрил подчиняется разным механизмам в разных диапазонах состава ПФ. В области высоких содержаний воды удерживание определяется сольватирующей способностью ПФ, зависящей от объемной доли ацетонитрила. В области умеренно низкой концентрации воды, от ~20 до 2%, важную роль в элюировании начинает играть ее десорбционная активность, а при дальнейшем уменьшении доли воды проявляется влияние небольшой фракции сильных адсорбционных центров, экранированных молекулами воды при более высоком ее содержании. На основании геометрических соображений выдвинуто предположение, что адсорбционный комплекс образуется путем вхождения оксазольного фрагмента молекулы адсорбата внутрь хиральной полости привитого селектора, при этом остальные фрагменты молекулы адсорбата играют модулирующую роль, взаимодействуя с периферийными участками селектора, что и определяет механизм энантиораспознавания.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (код проекта № 19-33-90133).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Armstrong D.W., Tang Y., Zhou Y. et al.* // *Anal. Chem.* 1994. V. 66. P. 1473.
2. *Ekborg-Ott K.H., Liu Y., Armstrong D.W.* // *Chirality.* 1998. V. 10. P. 434.
3. *Шаповалова Е.Н., Федорова И.А., Ананьева И.А., Шпигун О.А.* // *Журн. аналит. химии.* 2018. Т. 73. С. 843.
4. *Plisz I., Berkecz R., Péter A.* // *J. Sep. Sci.* 2006. V. 29. P. 1305.
5. *Решетова Е.Н., Аснин Л.Д.* // *Журн. физ. химии.* 2009. Т. 83. № 4. С. 643.
6. *Кузнецов М.А., Нестеренко П.Н., Васяров Г.Г., Староверов С.М.* // *Прикл. биохим. микробиол.* 2006. Т. 42. № 6. С. 615.
7. *Гоголивили О.Ш., Решетова Е.Н.* // *Журн. физ. химии.* 2019. Т. 93. № 6. С. 913.
8. *Reshetova E.* // *J. Liq. Chrom. Rel. Technol.* 2016. V. 39. Is. 3. P. 145.
9. *Williams D.H., Bardsley B.* // *Angew. Chem. Int. Ed.* 1999. V. 38. P. 1172.
10. *Степанова М.В., Аснин Л.Д., Ботева А.А., Кудинов А.В.* // *Вестн. ПНИПУ. Хим. технол. биотехнол.* 2018. № 4. С. 20.
11. *Asnin L.D., Boteva A.A., Krasnykh O.P. et al.* // *J. Chromatog. A.* 2019. V. 1592. P. 112.
12. *Ali I., Suhail M., Asnin L.* // *J. Sep. Sci.* 2017. V. 40. P. 2863.



13. Ботева А.А., Красных О.П., Солодников С.Ю. Пат. РФ № 2381229 // Б.И. 2010. № 4.
14. Asnin L.D., Stepanova M.V. // J. Sep. Sci. 2018. V. 41. P. 1219.
15. Abraham M.H., Whiting G.S., Doherty R.M., Shuely W.J. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2. 1990. P. 1451.
16. Gasper M.P., Berthod A., Nair U.B., Armstrong D.W. // Anal. Chem. 1996. V. 68. P. 2501.
17. Armstrong D.W., Liu Y., Ekborgott K.H. // Chirality. 1995. V. 7. P. 474.
18. Berthod A., Liu Y., Bagwill Ch., Armstrong D.W. // J. Chromatogr. A. 1996. V. 731. P. 123.
19. Péter A., Árki A., Tourwé D. et al. // J. Chromatogr. A. 2004. V. 1031. P. 159.
20. Snyder L.R., Dolan J.W., Gant J.R. // J. Chromatogr. 1979. V. 165. P. 3.
21. Snyder L.R., Poppe H. // J. Chromatogr. 1980. V. 184. P. 363.
22. Poplewska I., Kramarz R., Piatkowski W. et al. // J. Chromatogr. A. 2007. V. 1173. P. 58.
23. Nikitina Y.K., Ali I., Asnin L.D. // J. Chromatogr. A. 2014. V. 1363. P. 71.
24. Asnin, L.D., Cavazzini, A., Marchetti, N. // Adv. Chromatogr. 2017. V. 53. P. 1.