

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ ПРОЦЕССОВ
РАЗДЕЛЕНИЯ. ХРОМАТОГРАФИЯ

УДК 543.544

**ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ОРГАНИЧЕСКОГО МОДИФИКАТОРА
ВОДНО-ЭТАНОЛЬНОЙ ПОДВИЖНОЙ ФАЗЫ НА УДЕРЖИВАНИЕ
И ТЕРМОДИНАМИКУ АДсорбЦИИ ЭНАНТИОМЕРОВ
ГИДРОКСИКИСЛОТ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ НА ХИРАЛЬНОМ
АДсорбЕНТЕ С ПРИВИТЫМ АНТИБИОТИКОМ ЭРЕМОМИЦИНОМ**

© 2019 г. О. Ш. Гоголишвили^{а,*}, Е. Н. Решетова^{а,**}

^а Российская академия наук, Уральское отделение, Институт технической химии, 614013, Пермь, Россия

* e-mail: otar5993@mail.ru

** e-mail: lenire@yandex.ru

Поступила в редакцию 27.08.2018 г.

После доработки 10.10.2018 г.

Принята к публикации 17.10.2018 г.

Исследованы закономерности удерживания и термодинамика адсорбции энантиомеров ароматических гидроксикислот и их производных на хиральной неподвижной фазе с привитым макроциклическим антибиотиком эремомицином из водно-этанольных элюентов в условиях линейной жидкостной хроматографии. Выявлены зависимости характеристик удерживания, разделения и термодинамических величин от концентрации органического модификатора в элюенте. Показана взаимосвязь строения исследуемых адсорбатов с удерживанием и селективностью разделения их энантиомеров. Продемонстрировано, как экстратермодинамические корреляции могут быть использованы для получения информации о механизме адсорбции. Установлено различие механизма адсорбции энантиомеров гидроксикислот и их эфиров, а также гидроксикислот, имеющих противоположный порядок элюирования S- и R-энантиомеров.

Ключевые слова: эремомицин, хиральная хроматография, энантиомеры, гидроксикислоты

DOI: 10.1134/S0044453719060128

Гидроксикислоты (ГК) представляют собой один из наиболее важных классов хиральных соединений в фармацевтической, косметической [1] и агрохимической промышленности [2]. Подавляющее большинство ГК и их производных проявляют биологическую активность и требуются в виде индивидуальных оптических изомеров. Энантиомерно чистые α -ГК применяются в качестве прекурсоров для производства хиральных лекарственных соединений [3, 4], биоразлагаемых полимеров [5], сольватирующих и разделяющих агентов [6]. R-Миндальная кислота является основным промежуточным соединением для получения полусинтетических пенициллинов и цефалоспоринов, используется для синтеза противоопухолевых, снижающих вес препаратов и других фармацевтических соединений [7, 8]. S-Миндальная кислота может применяться для получения стабильной сокристаллической твердой формы антиангинального препарата гидрохлорида ивабрадина [9].

Эффективным методом разделения энантиомеров является высокоэффективная жидкостная хроматография на хиральных неподвижных фазах (ХНФ). Одними из наиболее перспективных ХНФ, используемых в жидкостной хроматографии для разделения энантиомеров биологически активных соединений, являются хиральные адсорбенты на основе привитых к поверхности силикагеля макроциклических гликопептидных антибиотиков [10]. Молекулы антибиотиков содержат множество функциональных групп и хиральных центров (ХЦ), обеспечивающих успешное разделение энантиомеров различных классов соединений, в особенности, содержащих карбоксильные группы [11–14]. Одним из таких адсорбентов является разработанная российскими учеными [15] ХНФ “Nautilus-E” с привитым к поверхности силикагеля макроциклическим антибиотиком эремомицином. Указанная ХНФ продемонстрировала разделяющую способность по отношению к энантиомерам аминокислот [12, 15, 16], профенов [17, 18] и α -фенилкарбоновых кислот [19, 20]. Общей чертой изученных соеди-

нений является наличие карбоксильной группы и ароматического кольца. Карбоксильная группа создает возможность образования дипольных взаимодействий и водородных связей, а ароматическая часть молекул способствует образованию π - π -комплексов между адсорбатом и неподвижной фазой (НФ). Наличие обеих групп в молекуле адсорбата позволяет реализовывать наиболее сильное взаимодействие адсорбата с эремомицином [16]. При этом энантиораспознавание усиливается, если разделяемое соединение содержит карбонильную группу или ароматическое кольцо в непосредственной близости к стереоцентру (т.е. в α -, β -, или γ -положении) [21].

Проявление хиральным адсорбентом "Nautilus-E" высокой селективности разделения по отношению к энантиомерам миндальной и α -метоксифенилуксусной кислот [19, 20] обусловило интерес к подробному изучению хроматографического поведения энантиомеров ГК и их производных с различным набором заместителей у ХЦ. Закономерности удерживания и механизм энантиораспознавания в этом случае могут различаться для ГК и их производных. Выявить особенности механизмов удерживания и энантиораспознавания позволяет анализ термодинамических зависимостей при адсорбции энантиомеров родственных соединений.

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния концентрации органического модификатора в элюенте на характеристики удерживания, разделения и термодинамику адсорбции энантиомеров ГК и их производных на ХНФ с привитым антибиотиком эремомицином. В качестве тестовых адсорбатов выбраны энантиомеры ГК и их замещенных: миндальной (1), 2-хлорминдальной (2), 2-гидрокси-2-фенилпропановой (атромолочной) (3), 2-гидрокси-3-фенилпропановой (4), α -метоксифенилуксусной (5), 3-гидрокси-3-фенилпропановой (9), α -ацетилминдальной (10) и α -метокси- α -(трифторметил)фенилуксусной (кислота Мошера) (11), а также энантиомеры эфиров миндальной кислоты: метилового (6), этилового (7) и бензилового (8) (табл. 1)

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оборудование. Эксперименты выполнены на жидкостном хроматографе Agilent 1100 Series (Agilent Technologies, США), оснащенным прецизионным насосом, диодно-матричным детектором, автоматическим дозатором и термостатом колонок, обеспечивающим постоянство температуры (± 0.2 К). Для дегазации подвижных фаз (ПФ) использовалась ультразвуковая ванна УЗВ-3/100-ТН-РЭЛТЕК.

Хиральная неподвижная фаза. Хроматографическая колонка (250 \times 4.6 мм) производства ЗАО "БиоХимМак СТ" заполнена силикагелем с привитым макроциклическим гликопептидным антибиотиком эремомицином. Диаметр частиц сорбента 5 мкм.

Реагенты. Для приготовления элюентов использовали уксусную кислоту и ацетат аммония квалификации "х.ч.", бидистиллированную воду и ректификованный этанол (96%, "высш. оч.").

В исследовании использовались энантиомеры миндальной, α -метоксифенилуксусной, 2-гидрокси-3-фенилпропионовой, 3-гидрокси-3-фенилпропионовой кислот, R-энантиомеры 2-хлорминдальной, α -метокси- α -(трифторметил)фенилуксусной, 2-ацетилминдальной кислот, S-энантиомер 2-гидрокси-2-фенилпропионовой кислоты фирмы "Alfa Aesar", S-энантиомер 2-хлорминдальной кислоты, R-энантиомер 2-гидрокси-2-фенилпропионовой кислоты, энантиомеры метилового, этилового и бензилового эфиров миндальной кислоты фирмы "Sigma-Aldrich".

Методика работы. В качестве ПФ использовали смеси водного 0.1 М ацетата аммония (с добавкой уксусной кислоты 0.175 М) с этанолом в соотношениях 90 : 10, 60 : 40, 40 : 60, 30 : 70, 20 : 80, 10 : 90 (v/v). Влияние концентрации этанола в элюенте на термодинамические характеристики адсорбции исследовали с ПФ составов ацетатный буфер-этанол 60 : 40, 40 : 60, 20 : 80.

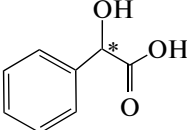
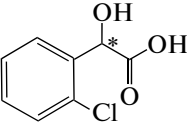
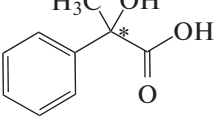
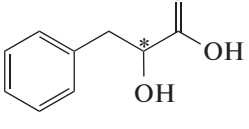
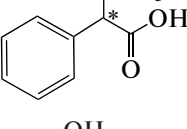
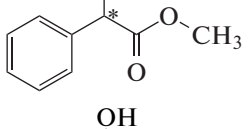
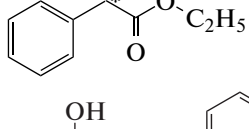
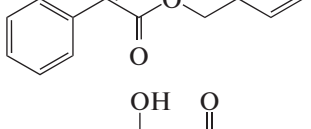
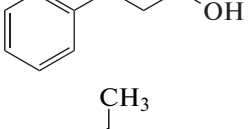
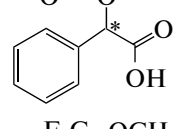
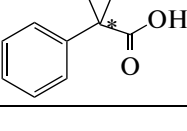
Температурный диапазон исследований 22–50°C. Скорость потока элюента 0.5 мл/мин. Концентрация исследуемых аналитов 0.5 мг/мл. Объем вводимой пробы 2 мкл. Детектирование энантиомеров всех исследуемых соединений осуществляли при длине волны 254 нм. Каждое измерение повторяли 3 раза. Для определения мертвого времени использовали три-*трет*-бутилбензол [22].

Термодинамические характеристики адсорбции (стандартную энтальпию ΔH^0 и энтропию ΔS^0) определяли по уравнению Вант-Гоффа, пользуясь линейной зависимостью между логарифмом фактора удерживания k' и обратной температурой. Для регистрации хроматограмм и обработки результатов использовалась программа ChemStation Rev.A.08.03Rus.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Влияние структуры адсорбатов на удерживание и энантиоселективность разделения. Исследуемые соединения – ароматические α - и β -ГК и их производные отличаются строением заместителей у ХЦ (табл. 1), поэтому закономерности удерживания и селективности разделения их оптических изомеров будут определяться природой всех за-

Таблица 1. Характеристики удерживания (k'), селективности разделения (α) и разрешения пиков (R_S) энантиомеров гидроксикислот и их производных в элюенте с концентрацией этанола 80 об. %, $T = 22^\circ\text{C}$

№	Соединение	Формула	k'		α	R_S
			S	R		
1	Миндальная кислота		3.41	4.81	1.41	4.08
2	2-Хлорминдальная кислота		3.65	5.52	1.51	7.70
3	2-Гидрокси-2-фенил-пропановая кислота		3.06	3.32	1.09	0.96
4	2-Гидрокси-3-фенил-пропановая кислота		2.60	9.35	3.60	15.87
5	α -Метоксифенилуксусная кислота		2.58	6.34	2.46	17.71
6	Метилвый эфир миндальной кислоты		0.13	0.13	1.03	0.13
7	Этиловый эфир миндальной кислоты		0.09	0.10	1.03	0.11
8	Бензиловый эфир миндальной кислоты		0.08	0.10	1.15	0.30
9	3-Гидрокси-3-фенил-пропановая кислота		1.86	1.42	1.31	5.14
10	α -Ацетилминдальная кислота		2.36	2.20	1.07	1.42
11	α -Метокси- α -трифторметил-фенилуксусная кислота		1.17	1.16	1.01	0.14

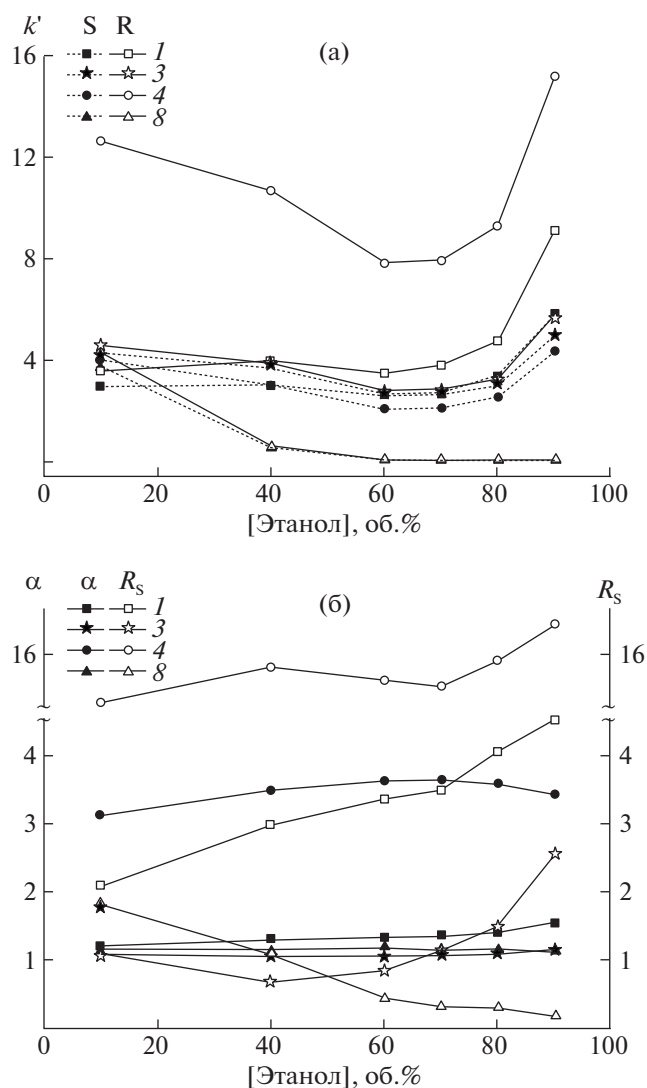


Рис. 1. Зависимости фактора удерживания k' (а), селективности разделения α и разрешения пиков R_s (б) энантиомеров гидроксикислот и их производных от концентрации этанола в подвижной фазе при 22°C.

местителей в функциональных группах и при ХЦ молекул ГК и их производных.

Сравнение хроматографических характеристик энантиомеров соединений 1–11 (табл. 1) показало, что S-энантиомер адсорбатов 1–8 элюируется первым. Для энантиомеров кислот 9–11 наблюдается изменение порядка элюирования (табл. 1). Для кислоты 9, очевидно, это связано с β -положением гидроксигруппы к карбоксильной группе. На инверсию порядка элюирования энантиомеров кислот 10 и 11, вероятно, влияют стерические затруднения, создаваемые сложноэфирной и $-\text{CF}_3$ -группами в соответствующих структурах молекул.

По фактору удерживания (k') первого элюируемого S-энантиомера адсорбаты 1–8 располага-

ются в ряду: $8 < 7 < 6 < 5 < 4 < 3 < 1 < 2$ (табл. 1). Наиболее сильное удерживание S-энантиомеров кислот 1–4 обусловлено наличием в α -положении у ХЦ молекул полярных гидроксигрупп и карбоксигрупп, способных к взаимодействию с активными центрами хирального селектора (ХС). Этерификация карбоксильной группы приводит к снижению k' энантиомеров эфиров ($8 < 7 < 6 < 1$) и энантиоселективности разделения (α) 6 – 8, вплоть до полной ее потери для 6 и 7 (табл. 1), что свидетельствует о значительном вкладе в механизм энантиораспознавания ионообменных взаимодействий между карбоксигруппой адсорбата и полярными группами ХС [14]. Более высокие значения α для эфира 8, очевидно, связаны с дополнительным вкладом π - π -взаимодействий бензильного заместителя с ароматическими кольцами ХС.

Метилирование гидроксильной группы у ХЦ приводит к более слабому удерживанию S-энантиомеров: $5 < 1$, но способствует росту α для кислоты 5 по сравнению с кислотой 1 (табл. 1), в то же время ее ацилирование ведет к потере селективности разделения кислоты 10 (табл. 1). Данный феномен можно объяснить изменением электронодонорной способности заместителя [23] и потенциального участка водородной связи [6], что способствует хиральному распознаванию, либо ограничивает его.

При 80 об. % этанола в элюенте удлинение боковой цепи в ряду S- α -ГК (4 > 1) на группу $-\text{CH}_2$ (табл. 1) приводит к уменьшению факторов удерживания k' (1) > k' (4), что обусловлено снижением прочности ионных взаимодействий между ХС и адсорбатом при усилении его гидрофобности, поскольку при высоких концентрациях органического модификатора в элюенте удерживание на ХНФ “Nautilus-E” определяется, преимущественно, сильными ионными взаимодействиями [13]. При уменьшении концентрации этанола в ПФ до 40 об. % (и ниже) удерживание ГК описывается закономерностями обращенно-фазовой (ОФ) ВЭЖХ и определяется, главным образом, гидрофобными взаимодействиями между адсорбатом и макроциклическим антибиотиком, поэтому увеличение длины боковой цепи на группу $-\text{CH}_2$, напротив, ведет к более сильному удерживанию S-энантиомеров: $k' (1) < k' (4)$ (рис. 1а).

Представленная последовательность элюирования S-энантиомеров нарушается для сильнее удерживаемых R-энантиомеров адсорбатов: $8 \approx 7 < 6 < 3 < 1 < 2 < 5 < 4$ (табл. 1), что может свидетельствовать о различном механизме удерживания S- и R-оптических изомеров. Наиболее сильное удерживание наблюдается для R-энантиомера кислоты 4 (табл. 1). Для нее разность $k'_R - k'_S$, отражающая отличия в удерживании энантиомеров за счет селективного связывания составляет

72% от величины k'_R и слабо зависит от условий эксперимента. Очевидно, строение центра хирального распознавания селектора предпочтительно для образования адсорбционного комплекса с R-конфигурацией α -ГК, содержащих —CH₂-группу между ароматическим кольцом и ХЦ, поскольку R-энантиомер кислоты **1**, гомологичного строения, удерживается слабее и энантио-разделение характеризуется невысокими значениями α (табл. 1). Аналогичные результаты были получены авторами [12] для адсорбции энантиомеров аминокислот на ХНФ “Nautilus-E”. Поэтому логично допустить, что центром хирального распознавания для ГК, как и для аминокислот, является гидрофобный “карман”, локализованный между углеводными остатками эремомидина [12].

Наличие у ХЦ заместителей, создающих стерические затруднения (кислоты **3** и **11**) приводит к полной потере энантиоселективности разделения (табл. 1). Кроме того, длина связи C*—CH₃ и C*—CF₃ у ХЦ молекул кислот **3** и **11** равна 1.5 Å и превышает длину симметрично расположенной связи C*—H (1.1 Å) у ХЦ молекул остальных исследуемых адсорбатов. Это обстоятельство может являться причиной потери энантиоразделения этих кислот.

Влияние концентрации органического модификатора в элюенте на удерживание и энантиоселективность. На рис. 1а приведены зависимости фактора удерживания энантиомеров кислот **1**, **3**, **4** и эфира **8** от концентрации этанола в элюенте. Зависимость k' энантиомеров ГК **1**, **3** и **4** от содержания этанола в элюенте имеет экстремальный характер с минимумом при 60 об. % этанола (рис. 1а). Это связано с тем, что при содержании органического модификатора в элюенте до 60 об. % реализуется истинно ОФ вариант хроматографии: с понижением полярности элюента повышается его способность к вытеснению молекул адсорбатов с активных центров НФ, что ведет к снижению k' энантиомеров кислот. Дальнейший рост концентрации органического модификатора в элюенте приводит к заполнению им полостей ХС эремомидина [13]. Удерживание энантиомеров ГК в этом случае определяется более сильными ионными взаимодействиями, на что указывает восходящая ветвь зависимости (рис. 1а). Подобный характер зависимости наблюдался для удерживания энантиомеров аминокислот [13, 24, 25] и ароматических аминов [26] на ХНФ с привитыми антибиотиками тейкопланином [24, 25], ванкомицином [26] и эремомидином [13].

Состав ПФ почти не влияет на энантиоселективность разделения ГК **1**, **3**, **4** (рис. 1б). Фактор разрешения пиков (R_S) более чувствителен к изменению состава элюента. При увеличении содержания этанола в элюенте от 10 до 90 об. % R_S

энантиомеров кислот **1**, **3** и **4** заметно увеличивается и наблюдается слабая тенденция к увеличению α кислот **1** и **3**, что указывает на лучшую растворимость кислот в этаноле. Вероятно, электростатические силы, отвечающие за хиральное распознавание ГК, ослабевают в обогащенных водой фазах [24]. Аналогичные закономерности были получены для аминокислот и их производных на ХНФ с тейкопланином [14, 24]. В работе [12], напротив, обнаружено снижение α аминокислот на ХНФ “Nautilus-E” при увеличении концентрации органического модификатора в элюенте. Авторы [12] объяснили это реализацией взаимодействий сорбатов с неселективными центрами в антибиотике.

Для эфира **8** зависимости факторов k' (рис. 1а), α и R_S от концентрации этанола в элюенте (рис. 1б) имеют монотонно-убывающий характер, указывая на ослабевание ионных взаимодействий с полярными группами селектора.

Влияние концентрации этанола в элюенте на термодинамические характеристики адсорбции. На основании линейного характера температурных зависимостей фактора удерживания энантиомеров всех исследуемых соединений (коэффициенты корреляции $r^2 > 0.97$) определены термодинамические характеристики адсорбции по уравнению Вант-Гоффа, которое для величины k' записывается следующим образом:

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

где ΔH^0 и ΔS^0 — стандартные энтальпия и энтропия адсорбции, R — универсальная газовая постоянная, T — среднеарифметическая температура (в данном исследовании $T = 308.5$ К), ϕ — фазовое отношение (отношение объемов неподвижной и подвижной фаз в колонке).

Параметр ϕ , как правило, сложно определить с высокой точностью, поскольку его значение может изменяться с температурой [22, 27]. Однако линейность температурной зависимости факторов удерживания свидетельствует о стабильности механизма удерживания, отсутствии структурных трансформаций ХС в исследованном диапазоне температур [11] и инвариантности значений ΔH^0 и ΔS^0 при изменении температуры [28].

В табл. 2 приведены значения термодинамических величин адсорбции энантиомеров ГК и их производных для разных составов ПФ. Наблюдается общая тенденция к снижению теплового эффекта адсорбции S- и R-энантиомеров соединений **1–11** с увеличением доли этанола в ПФ от 40 до 80 об. %. Однако характер зависимостей термодинамических величин ΔH^0 и ΔS^0 от концентрации этанола в элюенте различен для энантиомеров кислот (**1–5**, **9–11**) и эфиров (**6–8**), что может свидетельствовать о различии механизма

Таблица 2. Термодинамические характеристики адсорбции (кДж/моль) энантиомеров гидроксикислот и их производных при различной концентрации этанола в подвижной фазе

[Этанол], об. %	$-\Delta H^0$		$-\Delta \Delta S^0$		ΔG^0		$\Delta(\Delta H^0)$	$T\Delta(\Delta S^0)$	$-\Delta(\Delta G^0)$	T_{iso} , град	
	S	R	S	R	S	R					
1											
40	14.07	15.70	10.73	11.77	-3.34	-3.93	-1.63	-1.04	0.59	211	
60	11.29	13.09	8.23	9.37	-3.06	-3.72	-1.80	-1.14	0.66	213	
80	9.37	11.60	5.55	7.00	-3.82	-4.60	-2.23	-1.45	0.78	200	
2											
40	14.57	16.10	10.60	11.76	-3.97	-4.34	-1.53	-1.16	0.37	133	
60	11.40	13.71	8.01	9.80	-3.39	-3.92	-2.31	-1.79	0.52	126	
80	9.35	14.12	5.36	9.34	-3.99	-4.79	-4.77	-3.98	0.79	97	
3											
40	15.81	16.18	12.02	12.32	-3.78	-3.86	-0.37	-0.30	0.07	111	
60	12.17	12.47	9.12	9.30	-3.06	-3.18	-0.30	-0.18	0.12	243	
80	9.70	10.05	6.18	6.33	-3.52	-3.72	-0.35	-0.15	0.20	442	
4											
40	15.44	28.31	12.19	22.44	-3.25	-5.87	-12.87	-10.25	2.62	114	
60	11.14	25.17	8.62	19.98	-2.52	-5.19	-14.03	-11.36	2.67	108	
80	8.70	23.99	5.55	18.27	-3.15	-5.72	-15.29	-12.72	2.57	98	
5											
40	11.09	18.00	8.57	13.60	-2.52	-4.39	-6.91	-5.03	1.87	150	
60	8.38	16.04	6.14	11.83	-2.24	-4.20	-7.66	-5.70	1.96	142	
80	6.50	14.34	3.26	9.16	-3.24	-5.18	-7.85	-5.90	1.94	137	
6											
40	13.48	13.63	15.90	16.01	2.42	2.38	-0.15	-0.11	0.04	160	
60	12.20	12.11	16.65	16.50	4.45	4.39	0.09	0.15	0.06	-86	
80	10.96	10.91	15.62	15.50	4.65	4.59	0.05	0.12	0.07	-141	
7											
40	14.22	14.25	16.79	16.79	2.57	2.53	-0.03	0.01	0.04	-2056	
60	14.44	14.21	19.64	19.31	5.20	5.10	0.23	0.33	0.10	-57	
80	13.84	13.66	19.41	19.14	5.57	5.48	0.18	0.28	0.09	-67	
8											
40	20.17	21.05	21.39	21.97	1.22	0.92	-0.88	-0.58	0.30	197	
60	21.40	22.00	26.69	26.85	5.28	4.85	-0.60	-0.16	0.43	864	
80	16.56	16.38	22.48	21.95	5.92	5.57	0.18	0.53	0.35	-168	
9											
40	11.55	10.54	9.67	9.14	-1.87	-1.40	-1.01	-0.54	0.47	306	
60	8.17	6.74	6.78	5.89	-1.40	-0.84	-1.44	-0.88	0.56	230	
80	6.75	4.95	4.36	3.17	-2.39	-1.78	-1.80	-1.19	0.61	194	
10											
40	14.08	13.65	11.49	11.08	-2.59	-2.58	-0.42	-0.41	0.01	42	
60	10.41	9.43	8.34	7.44	-2.07	-1.99	-0.98	-0.90	0.08	61	
80	8.26	7.00	5.33	4.20	-2.93	-2.81	-1.26	-1.14	0.12	68	
11											
40	12.84	12.83	10.70	10.70	-2.14	-2.13	-0.007	-0.003	0.004	477	
60	7.20	7.10	6.37	6.29	-0.83	-0.81	-0.10	-0.08	0.02	110	
80	4.72	4.62	3.42	3.34	-1.30	-1.28	-0.10	-0.08	0.02	97	

адсорбции ионогенных и нейтральных соединений на исследуемой ХНФ (табл. 2).

Для энантиомеров кислот (**1–5**, **9–11**) монотонное снижение $|\Delta H^0|$ сопровождается восходящей ветвью зависимости k' от концентрации этанола в элюенте в диапазоне 60–80 об. % (рис. 1а), что связано с реализацией ионных взаимодействий, которые, вероятно, являются термодинамически более выгодными, чем гидрофобные взаимодействия. Известно, что при адсорбции из водно-органических растворов взаимодействие адсорбата с поверхностью адсорбента и сольватация молекул адсорбата в элюенте, как правило, вносят сопоставимый вклад в суммарный тепловой эффект [29, 30]. Так, увеличение содержания этанола в элюенте способствует обогащению сольватных оболочек адсорбатов и адсорбционного слоя его молекулами [31, 32]. Поэтому уменьшение абсолютной величины $|\Delta H^0|$ для энантиомеров ГК с ростом концентрации этанола в элюенте, вероятно, обусловлено увеличением энергетических затрат на разрушение сольватных оболочек молекул адсорбатов и вытеснение молекул этанола молекулами адсорбатов из поверхностного слоя в объемный раствор в силу конкурентного характера адсорбции из водно-спиртовых растворов.

Уменьшение абсолютной величины энтропийного терма с увеличением концентрации этанола в элюенте является дополнительным аргументом в пользу данного предположения (табл. 2). То есть при увеличении степени обогащения поверхностного слоя молекулами этанола, адсорбция энантиомера приводит к вытеснению в объемный раствор большего числа молекул модификатора, и, следовательно, сообщению молекулам элюента большего числа степеней свободы [31, 32]. Последнее, вероятно, компенсирует снижение числа степеней свободы молекулы энантиомера при переходе в адсорбированное состояние.

Зависимости теплоты и энтропии адсорбции от концентрации этанола в ПФ для энантиомеров эфиров **6–8** имеют максимум при 60 об. % этанола (табл. 2), что может свидетельствовать об изменении механизма удерживания. Вероятно, адсорбция **6–8** протекает не по конкурентному механизму. То есть адсорбция энантиомеров эфиров на модифицированной молекулами этанола поверхности хирального адсорбента не приводит к вытеснению молекул модификатора в объемный раствор и энергия взаимодействия адсорбционных центров с адсорбатом увеличивается. Как следствие, отсутствуют энергетические затраты, связанные с преодолением взаимодействия органический модификатор-адсорбент [32]. В результате чего число степеней свободы в

системе уменьшается, приводя к увеличению энтропийного терма (табл. 2).

Взаимосвязь термодинамики адсорбции с удерживанием и селективностью. Удерживание адсорбатов связано с изменением стандартной энергии Гиббса (ΔG^0) при адсорбции:

$$-RT \ln k' = \Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0.$$

Вклад энтропии в свободную энергию адсорбции ГК **1–5**, **9–11** больше половины величины ΔH^0 , а в случае эфиров **6–8** энтропийный терм превышает энтальпийный (табл. 2), указывая на рост разупорядоченности в системе и образование нестабильного поверхностного комплекса адсорбат-адсорбент. Поэтому стерические факторы оказывают большее влияние на удерживание энантиомеров исследуемых соединений, чем энергетические изменения. О значимости стерического фактора в энантиоразделении свидетельствует тот факт, что в элюентах с концентрацией этанола 60 и 80 об. % абсолютные значения теплоты и энтропии адсорбции слабее удерживаемого S-энантиомера эфиров **6–8** превышают значения $|\Delta H^0|$ и $|T\Delta S^0|$ для сильнее удерживаемого R-энантиомера, при этом порядок элюирования не изменяется [30]. Максимальными значениями $|\Delta H^0|$ и $|T\Delta S^0|$ обладают энантиомеры эфира **8**, содержащего два ароматических фрагмента в молекуле, что свидетельствует об определяющей роли структурных преобразований в адсорбционной системе, связанных с реализацией дополнительных π - π -взаимодействий адсорбат-адсорбент.

Разности термодинамических характеристик адсорбции оптических антиподов ($\Delta\Delta H^0$, $\Delta\Delta S^0$ и $\Delta\Delta G^0$) связаны с селективностью ХНФ следующим образом:

$$\begin{aligned} -RT \ln \alpha &= \Delta\Delta G^0 = \Delta G_R^0 - \Delta G_S^0 = \\ &= \Delta\Delta H^0 - T\Delta\Delta S^0. \end{aligned} \quad (2)$$

При всех исследуемых условиях энтальпийный терм меньше нуля и определяет энантиоразделение кислот **1–5**, **9–11**, так как значительно превышает энтропийный вклад, который корректирует α в сторону уменьшения. Для эфиров **6–8** с ростом концентрации этанола в элюенте энтропийный терм начинает определять энантиоразделение, поскольку для них $\Delta\Delta H^0 > 0$ (табл. 2).

Термодинамические характеристики уравнения (2) позволяют определить изоэнантиоселективную температуру (T_{iso}), при которой энантиомеры не разделяются. Выше значения T_{iso} порядок элюирования энантиомеров может измениться на обратный [33]:

$$T_{iso} = \frac{\Delta\Delta H^0}{\Delta\Delta S^0},$$

T_{iso} для всех рассматриваемых соединений (табл. 2) находится вне рабочего диапазона температуры (22–50°C). Исключением является кислота **10**, для которой T_{iso} равна 42°C в элюенте с концентрацией этанола 40 об. % (табл. 2). Действительно, экспериментальные данные показывают, что в элюенте с концентрацией этанола 40 об. % при температуре 30°C первым элюируется R-энантиомер, при 40°C – S-энантиомер (данные не приводятся).

Для кислот **1–5**, **9**, **11** значения T_{iso} находятся выше исследуемого температурного диапазона (табл. 2), указывая на то, что механизм энантиоразделения не изменяется в исследуемом температурном интервале и более низкая температура предпочтительна для лучшего энантиоразделения [34]. Обратное наблюдается для эфиров **6–8**.

Энтальпийно-энтропийная компенсация. Известно, что в ряду родственных соединений может наблюдаться явление энтальпийно-энтропийной компенсации (компенсационного эффекта (КЭ)) [35, 36], что выражается линейной зависимостью между термодинамическими характеристиками адсорбции, указывая на сходство механизма адсорбции в группе соединений:

$$\Delta H^0 = \beta \Delta S^0 + \Delta G_{\beta}^0,$$

где β – компенсационная температура, ΔG_{β}^0 – энергия Гиббса адсорбции при температуре β .

Показано [36–38], что статистический эффект, связанный с погрешностями определения величин ΔH^0 и ΔS^0 по уравнению (1), может вести к проявлению ложного КЭ [19]. Более надежный метод поиска экстратермодинамических корреляций заключается в расчете характеристик ΔH^{\neq} и ΔG^{\neq} с помощью уравнения (3) и проверки линейности зависимости ΔH^{\neq} от ΔG^{\neq} [38]:

$$\ln \frac{k'}{\phi} = -\frac{\Delta H^{\neq}}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{hm}} \right) - \frac{\Delta G^{\neq}}{RT_{hm}}, \quad (3)$$

где k' – фактор удерживания, ϕ – фазовое отношение.

Уравнение КЭ в данном случае имеет вид:

$$\Delta H^{\neq} = \gamma \Delta G^{\neq} + (1 - \gamma) \Delta G_{\beta}^0.$$

При соблюдении условия линейности угловой коэффициент и свободный член этой зависимости равны $\gamma = 1/(1 - T_{hm}/\beta)$ и $\Delta G_{\beta}^0(1 - \gamma)$, соответственно [38].

На рис. 2 представлены термодинамические зависимости в координатах $\Delta H^0 - \Delta S^0$ (рис. 2а, б) и $\Delta H^{\neq} - \Delta G^{\neq}$ (2в, г) при различной концентрации этанола в элюенте. КЭ наблюдается для S- и R-энантиомеров трех отдельных групп адсорбатов (табл. 3). Эфиры миндальной кислоты **6–8** со-

ставляют отдельную группу III, кислоты образуют две компенсационные серии I и II, состав которых различен для S- и R-энантиомеров. Для слабее удерживаемых S-энантиомеров точки, соответствующие кислотам **3**, **4**, **9–11** образуют компенсационную серию II, на некотором удалении от которой находятся точки кислот **1**, **2** и **5**. S-Энантиомеры последних образуют компенсационную серию I с коэффициентом корреляции $r^2 \geq 0.90$ (рис. 2а, в, табл. 3). Однако, ранее нами [19, 20] выявлено различие в механизме адсорбции S-энантиомеров кислот **1** и **5**, связанное с особенностями их пространственного строения. Поэтому в данном случае мы не можем утверждать о существовании КЭ для кислот **1**, **2** и **5**. Для более конкретных выводов необходимо исследование адсорбции энантиомеров большего числа производных ГК.

Отдельную компенсационную серию II образуют точки, соответствующие R-энантиомерам кислот **9–11**, удерживаемых слабее по сравнению с их оптическими антиподами (рис. 2б, г), что свидетельствует о различии механизма адсорбции ГК, имеющих противоположный порядок элюирования энантиомеров.

Наблюдаемые компенсационные закономерности, на наш взгляд, следует отнести к истинному КЭ, поскольку линейные корреляции ($r^2 > 0.92$) для S- и R-энантиомеров трех групп соединений в координатах $\Delta H^0 - \Delta S^0$ (табл. 3, рис. 2а, б) при всех экспериментальных условиях подтверждаются наличием линейных корреляций (в большинстве случаев $r^2 > 0.90$) между величинами ΔH^{\neq} и ΔG^{\neq} (табл. 3, рис. 2в, г). Достоверность полученных экспериментальных данных подтверждает удовлетворительная сходимость значений компенсационной температуры β и β' , рассчитанных двумя методами (табл. 3) [37].

К доказательству истинности КЭ также относится неравенство компенсационной температуры и среднегармонической температуры (T_{hm}) исследуемого температурного интервала (308.14 К), что характеризуется величиной достигнутого уровня значимости нуль-гипотезы $\beta = T_{hm}(\gamma)$ (табл. 3) [36]. Чем меньше эта величина, тем меньше вероятность правильности нуль-гипотезы $\beta = T_{hm}$. Условие неравенства компенсационной температуры температуре T_{hm} лучше соблюдается для ряда S-энантиомеров II группы кислот (**3**, **4**, **9–11**) (рис. 2а, в) и для R-энантиомеров I группы кислот (**1–5**) (рис. 2б, г). Условие $\beta \neq T_{hm}$ определенно не соблюдается для S- и R-энантиомеров эфиров **6–8** в элюенте с концентрацией этанола 60 об. % (табл. 3).

Существенное различие значений компенсационной температуры для энантиомеров группы эфиров (III) и групп кислот (I и II) подтверждает

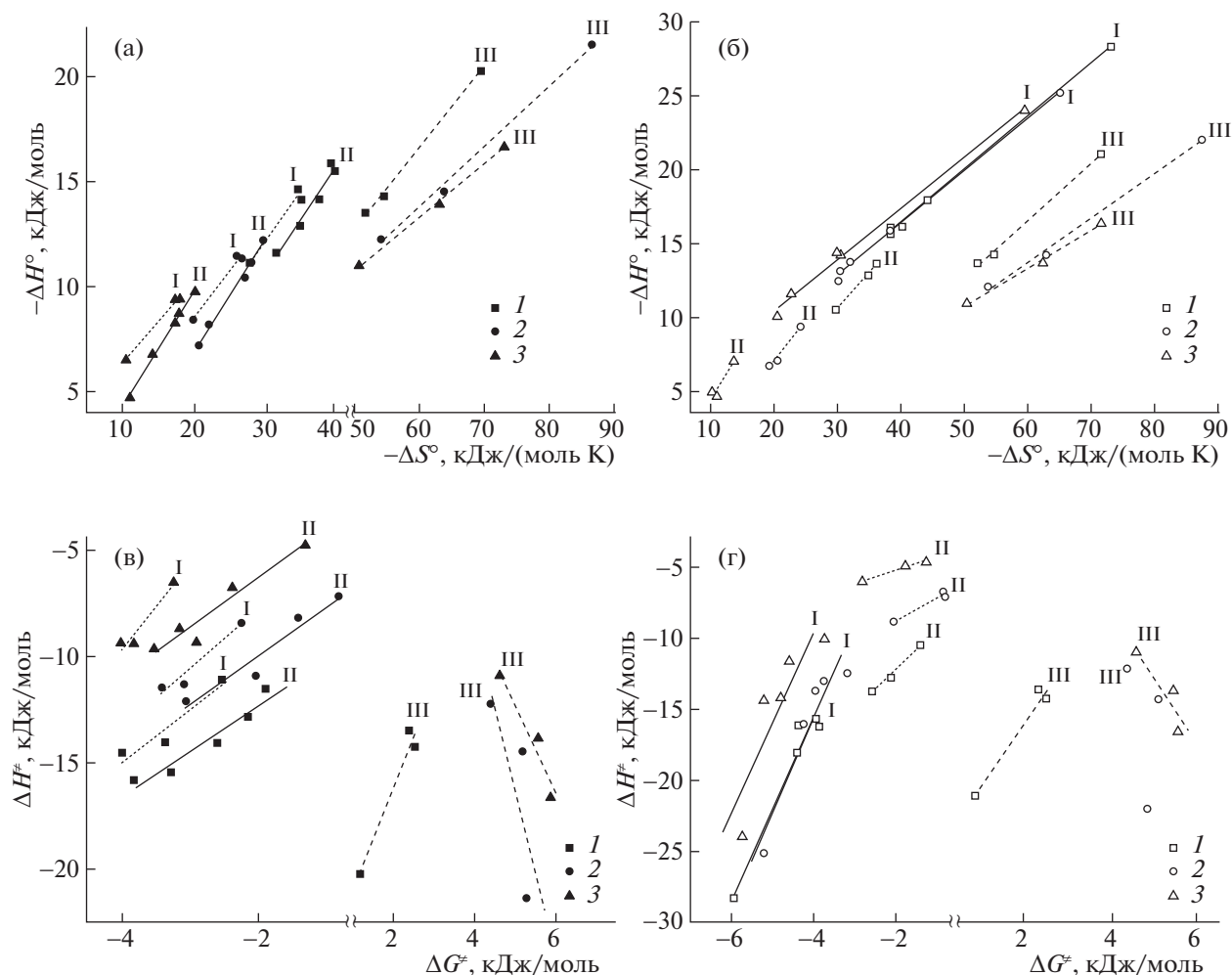


Рис. 2. Компенсационные зависимости для энантиомеров гидроксикислот и их производных в координатах $\Delta H^0 - \Delta S^0$ (а, б) и $\Delta H^\ddagger - \Delta G^\ddagger$ (в, г) при содержании этанола в элюенте 40 об. % (I), 60 об. % (II) и 80 об. % (III); S-энантиомеры отмечены темными символами, R-энантиомеры – светлыми символами. Римскими цифрами отмечены компенсационные группы соединений.

качественное различие механизма адсорбции нейтральных и ионогенных соединений [39]. Кроме того, значения компенсационной температуры различаются для R-энантиомеров I и II групп кислот 1–5 и 9–11 соответственно (табл. 3), подтверждая выдвинутое выше предположение о различии механизма адсорбции кислот, имеющих обратный порядок элюирования энантиомеров.

Таким образом, в работе получены новые данные об особенностях разделения, удерживания и термодинамики адсорбции энантиомеров ароматических ГК и их производных на ХНФ “Nautilus-E” с привитым антибиотиком эремодицином из водно-этанольных элюентов. Показано, что хроматографическое поведение и термодинамика адсорбции ГК и их производных зависит от природы заместителей в функциональных группах и

при ХЦ молекул адсорбатов. Выявлено, что этерификация карбоксильной группы ГК и наличие у ХЦ заместителей, создающих стерические затруднения, снижают энантиоселективность разделения, а дополнительный вклад π - π -взаимодействий и наличие группы $-\text{CH}_2$ между ароматическим кольцом и ХЦ в структуре молекулы способствуют росту селективности. Установлено, что α - и β -ГК имеют противоположный порядок элюирования энантиомеров. Характер зависимостей удерживания и термодинамических величин адсорбции энантиомеров исследуемых ГК и их производных указывает на изменение механизма адсорбции при увеличении концентрации этанола в элюенте, вследствие изменения состава поверхностного слоя ХНФ. Установлено, что стерические факторы оказывают большее влияние на удерживание энантиомеров нейтральных соеди-

Таблица 3. Значения компенсационной температуры (β и β'), коэффициентов корреляции (r^2) и достигнутого уровня значимости гипотезы $\beta = T_{hm}(\gamma)$ для компенсационных зависимостей, построенных в координатах $\Delta H^0 - \Delta S^0$ и $\Delta H^\ddagger - \Delta G^\ddagger$

[Этанол], об. %	Группа	Соединения	$\Delta H^0(\Delta S^0)$			$\Delta H^\ddagger(\Delta G^\ddagger)$		
			β, K	r^2	γ	β', K	r^2	γ
S-энантиомеры								
40	I	1, 2, 5	471	0.9657	0.1185	519	0.9053	0.1991
	II	3, 4, 9, 10, 11	519	0.9622	0.0032	569	0.9347	0.0072
	III	6, 7, 8	383	0.9974	0.0326	388	0.9589	0.1300
60	I	1, 2, 5	456	0.9836	0.0819	479	0.9384	0.1597
	II	3, 4, 9, 10, 11	530	0.9918	3.17×10^{-4}	539	0.9455	0.0055
	III	6, 7, 8	287	0.9966	0.0374	274	0.5565	0.4639
80	I	1, 2, 5	401	0.9951	0.0446	409	0.9507	0.1426
	II	3, 4, 9, 10, 11	551	0.9953	1.35×10^{-4}	541	0.9355	0.0071
	III	6, 7, 8	251	0.9980	0.0284	249	0.9443	0.1516
R-энантиомеры								
40	I	1, 2, 3, 4, 5	362	0.9984	2.63×10^{-5}	365	0.9513	0.0046
	II	9, 10, 11	483	0.9947	0.0465	490	0.9840	0.0806
	III	6, 7, 8	391	0.9980	0.0286	395	0.9736	0.1040
60	I	1, 2, 3, 4, 5	356	0.9973	5.88×10^{-5}	363	0.9017	0.0135
	II	9, 10, 11	558	0.9839	0.0809	786	0.9665	0.1172
	III	6, 7, 8	300	0.9961	0.0400	—	0.1205	—
80	I	1, 2, 3, 4, 5	348	0.9944	1.78×10^{-4}	365	0.7682	0.0511
	II	9, 10, 11	697	0.9247	0.1769	-2836	0.9929	0.0538
	III	6, 7, 8	260	0.9949	0.0454	253	0.8189	0.2799

нений, чем энергетические изменения, в то время как адсорбция энантиомеров ионогенных соединений управляется энтальпийным термом. Статистический анализ термодинамических данных позволил выявить различие в механизме адсорбции энантиомеров ионогенных и нейтральных соединений, а также энантиомеров ГК, имеющих противоположный порядок элюирования S- и R-энантиомеров.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (код проекта № 18-03-00053-А).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Draeos Z.D.* // *Dermatol. Ther.* 2000. V. 13. P. 154.
2. *Lamberth C., Jeanguenat A., Cederbaum F. et al.* // *Bioorg. Med. Chem.* 2008. V. 16. P. 1531.
3. *Zheng Z., Sheng B., Gao C. et al.* // *Sci. Rep.* 2013. V. 3. P. 3401.
4. *Coppola G.M., Schuster H.F.* α -Hydroxy Acids in Enantioselective Synthesis. Wiley-VCH. Weinheim, 1997. P. 494.
5. *Pişkin E.* // *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 1995. V. 6. P. 775.
6. *Kacprzak K., Maier N., Lindner W.* // *J. Sep. Sci.* 2010. V. 33. P. 2590.
7. *Choi W.J., Lee K.Y., Kang S.H. et al.* // *Sep. Purif. Technol.* 2007. V. 53. P. 178.
8. *Yadav G.D., Sivakumar P.* // *Biochem. Eng. J.* 2004. V. 19. P. 101.
9. *Sládková V., Dammer O., Sedmak G. et al.* // *Crystals.* 2017. V. 7. P. 13.
10. *Armstrong D.W., Tang Y., Chen S. et al.* // *Anal. Chem.* 1994. V. 66. P. 1473.
11. *Berthod A., He B.L., Beesley T.E.* // *J. Chromatogr. A.* 2004. V. 1060. P. 205.
12. *Кузнецов М.А., Нестеренко П.Н., Васяров Г.Г., Староверов С.М.* // *Журн. аналит. химии.* 2008. Т. 63. № 1. С. 64.

13. Шаповалова Е.Н., Федорова И.А., Припорова А.А. и др. // Аналитика и контроль. 2016. Т. 20. № 2. С. 168.
14. Hui F., Ekborg-Ott K.H., Armstrong D.W. // J. Chromatogr. A. 2001. V. 906. P. 91.
15. Staroverov S.M., Kuznetsov M.A., Nesterenko P.N. et al. // J. Chromatogr. A. 2006. V. 1108. P. 263.
16. Федорова И.А., Шаповалова Е.Н., Староверов С.М., Шнигун О.А. // Сорбц. хромат. процессы. 2015. Т. 15. № 6. С. 769.
17. Решетова Е.Н., Аснин Л.Д. // Журн. физ. химии. 2009. Т. 83. № 4. С. 643.
18. Решетова Е.Н., Аснин Л.Д. // Там же. 2011. Т. 85. № 8. С. 1552.
19. Reshetova E. // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 2016. V. 39. P. 145.
20. Блинов А.С., Решетова Е.Н. // Журн. физ. химии. 2014. Т. 88. № 10. С. 1593.
21. Ali I., Kumerer K., Aboul-Enein H.Y. // Chromatographia. 2006. V. 63. P. 295.
22. Nikitina Y.K., Ali I., Asnin L.D. // J. Chromatogr. A. 2014. V. 1363. P. 71.
23. Aneja R., Luthra P.M., Ahuja S. // Chirality. 2010. V. 22. P. 479.
24. Berthod A., Liu Y., Bagwill C., Armstrong D.W. // J. Chromatogr. A. 1996. V. 731. P. 123.
25. Jandera P., Škavrada M., Klemmová K. et al. // Ibid. 2001. V. 917. P. 123.
26. Beesley T.E., Lee J.T. // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 2009. V. 32. P. 1733.
27. Chester T.L., Coym J.W. // J. Chromatogr. A. 2003. V. 1003. P. 101.
28. Fornstedt T. // Ibid. 2010. V. 1217. P. 792.
29. Аснин Л.Д., Качмарски К., Решетова Е.Н. // Изв. Акад. наук, сер. Хим. 2009. № 8. С. 1678.
30. Asnin L., Sharma K., Park S.W. // J. Sep. Sci. 2011. V. 34. P. 3136.
31. Сайфутдинов Б.Р., Пимерзин А.А. // Журн. физ. химии. 2013. Т. 87. № 12. С. 2047.
32. Сайфутдинов Б.Р., Курбатова С.В., Емельянова Н.С. // Там же. 2010. Т. 84. № 4. С. 760.
33. Rojkovičová T., Lehotay J., Meričko D. et al. // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 2004. V. 27. № 16. P. 2477.
34. Rojkovičová T., Lehotay J., Armstrong D. W., Čížmárik J. // Ibid. 2004. V. 27. № 20. P. 3213.
35. Vailaya A., Horvath C. // J. Phys. Chem. B. 1998. V. 102. P. 701.
36. Krug R.R., Hunter W.G., Grieger R.A. // J. Phys. Chem. 1976. V. 80. P. 2335.
37. Miyabe K. // Anal. Sci. 2009. V. 25. P. 219.
38. Krug R.R., Hunter W.G., Grieger R.A. // J. Phys. Chem. 1976. V. 80. P. 2341.
39. Ranatunga R., Vitha M.F., Carr P.W. // J. Chromatogr. A. 2002. V. 946. P. 47.