

Politechnika Wrocławska
Wydział Chemiczny
Zakład Materiałów Polimerowych i Węglowych

Analiza składu enancjomerów

Wrocław 2012

1. Związki optycznie czynne.

Zjawisko skręcania płaszczyzny drgań światła spolaryzowanego odkryto na początku 19 w. Zdolność skręcania płaszczyzny polaryzacji promieni świetlnych zaobserwowano najpierw w przypadku niektórych kryształów (pary kryształów enancjomorficznych, będących wzajemnymi odbiciami lustrzanymi), co wynika z ich specyficznej „asymetrycznej struktury”. Przeprowadzenie takiego kryształu w stan ciekły, przez stopienie lub rozpuszczenie wiąże się z zanikiem czynności optycznej.

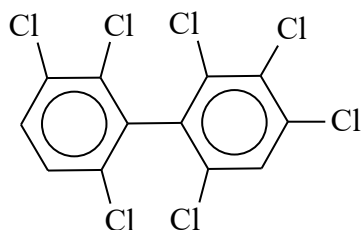
Czynność optyczna wykazują jednak niektóre związki nie tylko w stanie stałym a również ciekłym i gazowym. Za to jest już jednak odpowiedzialna asymetria struktury związków na poziomie mikroskopowym, molekularnym – mówimy tu o izomerii optycznej, jednym z trzech rodzajów izomerii stereoizomerii (oprócz izomerii *cis-trans* i diastereoizomerii). Jakościowo zjawisko czynności optycznej cząsteczek możemy wyjaśnić następująco. Poprzeczne do kierunku rozchodzenia się, drgania fali elektromagnetycznej w płaszczyźnie spolaryzowanej liniowo wiązki, możemy rozłożyć na dwie fale składowe spolaryzowane kołowo w lewo i prawo. Te dwie składowe przechodząc przez optycznie asymetryczny ośrodek, przez różnice w oddziaływaniach z asymetrycznym polem generowanym przez elektrony, poruszają się z różną szybkością (lub różnią się współczynnikami załamania światła, co na jedno wychodzi). Po wyjściu z ośrodka, ponowne „złożenie” składowych promieniowania daje falę spolaryzowaną liniowo, ale w innej płaszczyźnie. I stąd obserwowane w skali makroskopowej skręcenie płaszczyzny światła spolaryzowanego.

Optycznie czynne są cząsteczki posiadające swe nie nakładające się odbicie lustrzane. Z geometrycznego punktu widzenia warunek taki spełniają struktury nie posiadające ani środka inwersji (i), ani płaszczyzny symetrii (σ). Posługując się

nomenklaturą teorii grup, ogólnie cząsteczki, bez niewłaściwej osi obrotu S_n , co jest warunkiem koniecznym i wystarczającym.

W chemii, szczególnie organicznej, szeroko rozpowszechnione jest pojęcie *chiralnego atomu węgla*, czyli atomu węgla z czterema różnymi podstawnikami. Struktura taka z reguły implikuje achiralność cząsteczki. Trzeba jednak zdawać sprawę, że to bardzo użyteczne pojęcie, nie jest w sensie ogólnym ani warunkiem koniecznym ani dostatecznym czynności optycznej cząsteczki. Posiadają chiralne węgle mezomery (proszę sobie przypomnieć co to jest!, i dlaczego tak jest!), a jednak nie tworzą par enancjomerów. Z drugiej strony czynność optyczną wykazują na przykład pochodne difenyli, węgli chiralnych nie posiadające. Ten ostatni przypadek rzadko omawiany zasługuje na kilka dodatkowych uwag.

Odpowiednio „duże” podstawniki w cząsteczce difenyli w pozycjach 2,2',6,6' uniemożliwiają w niskich temperaturach swobodną rotację pierścieni fenylowych wokół wiązań C1-C1'. Na przykład 2,3,6,2',3',4',6'-heptachlorodifenyli:



Takie izomery, a ściśle biorąc konformery nazywane są tradycyjnie atropiizomerami. Dają się rozdzielić, nie ulegają racemizacji w temperaturze pokojowej i skręcają płaszczyznę światła spolaryzowanego. Gdyby jednak podejść do omawianej struktury związku w mniej formalny sposób, to można uznać, że atomy C1 i C2 rozpatrywane wspólnie są centrum asymetrii o czterech różnych podstawnikach. Niejako zastępują chiralny atom węgla.

Istnieje specjalny system, stworzony przez Cahn, Ingolda i Preloga, jednoznacznego określania absolutnej konfiguracji, czyli określania przestrzennego ułożenia atomów lub grup dookoła dyssymetrycznej części molekuly. Pozwala to przypisać każdemu enancjomerowi, korzystając z opracowanych reguł (warto je sobie przypomnieć!), absolutną konfigurację R (*rectus* – prawy) lub S (*sinister* – lewy). Konfiguracja R i S jest w gruncie rzeczy formalnym systemem nomenklatury i sensie ogólnym nie ma nic wspólnego z na przykład kierunkiem skręcalności płaszczyzny światła spolaryzowanego przez dany związek, co zależy od wielu czynników. Z kolei przypisanie rzeczywistej, fizycznej konfiguracji określonemu, enancjomerowi jest przedsięwzięcie złożonym, trudnym. Korzysta się w tym celu z zaawansowanych metod rentgenowskich, badając strukturę optycznie czynnych związków w postaci krystalicznej. Inne, liczne metody, zwykle charakterze półempirycznym, dają mniej pewne wyniki.

Znaczenie występowania izomerii optycznej, szczególnie dla przyrody ożywionej ma trudne do przecenienia znaczenie. Optycznie czynne są białka, zarówno na poziomie ich podstawowego budulcowego monomeru, aminokwasów jak i struktur wyżej zorganizowanych. Podobnie określone enancjomery, a nie ich racemiczne mieszaniny, są podstawą budowy naturalnych węglowodanów, terpenów, alkaloidów i innych składników żywych organizmów. Enancjomery tego samego związku z reguły wysoce selektywnie podlegają procesom metabolicznym. Ten sam związek może być lekarstwem, trucizną lub tylko niepotrzebnym balastem, może mieć zapach miły lub odrażający, wszystko zależy od jego struktury, konfiguracji optycznej. Stąd wielkie znaczenie enancjoselektywnych syntez różnych preparatów w nowoczesnym przemyśle farmaceutycznym, spożywczym, perfumeryjnym a nawet produkcji przyjaznych dla środowiska naturalnego insektycydów.

2. Oznaczanie składu enancjomerów.

Pamiętajmy jedna podstawową zasadę! Enancjomer od jego lustrzanego odbicia można odróżnić tylko za pomocą optycznie czynnego narzędzia. I to zarówno w sensie enancjoselektywnej syntezy, analizy, dowolnej chemicznej przemiany czy też detekcji metodami czysto fizycznymi. Optycznie nieczynna skarpetka nie jest przypisana formalnie ani do nogi lewej ani prawej. W zasadzie lewa i prawa są nierozróżnialne. Rękawiczkę prawą od lewej bez trudu rozróżnimy i po ciemku. Podobnie selektywnie reaguje nasz optycznie czynny organizm (jego szlaki metaboliczne, zmysły: smak, zapach) różnicując związki optycznie czynne.

2.1. Pomiar skręcalności optycznej.

Kierunek skręcalności płaszczyzny światła spolaryzowanego przez dany związek zależy od temperatury, długości fali światła i rodzaju rozpuszczalnika. Pomiarów dokonuje się polarymetrem. Zmiana któregoś z tych parametrów może nawet zmienić znak kąta skręcalności. Nie jest więc to w żadnym razie właściwość bezwzględna, przypisana danej substancji. Charakteryzując pod tym względem określony związek posługujemy się skręcalnością właściwą $[\alpha]$, która określa skręcalność powodowana przez 1g substancji w zawartej w 1ml roztworu wypełniającego rurkę polarymetru o długości 10 cm. Wyniki pomiaru należy uzupełnić podaniem informacji o rodzaju użytego rozpuszczalnika, stężenia substancji, długości fali użytego światła i temperaturze pomiaru

Dokonując pomiaru kąta skręcalności płaszczyzny światła spolaryzowanego, w ściśle określonych warunkach i znając skręcalność właściwą analizowanego

enancjomeru, możemy obliczyć jego stężenie, a ściśle nadmiar w porównaniu do drugiego enancjomeru, definiowany jak niżej.

$$ee = \frac{|[A] - [B]|}{[A] + [B]}$$

gdzie: [A], [B] to stężenia poszczególnych enancjomerów

ee, nadmiar enancjomeru lub czystość optyczna (enantiomeric excess)

Bez trudu też, o ile wartość ta jest stabilizowana można określić konfigurację absolutną związku.

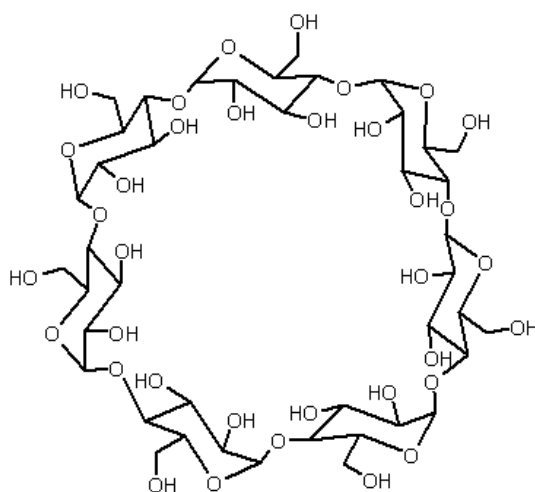
2.2. Oznaczanie czystości optycznej związku.

Nie zawsze niestety próbując oznaczyć wzajemny stosunek poszczególnych enancjomerów możemy skorzystać z polarymetru. Problemy pojawiają się gdy analizowana próbka substancji jest bardzo mała, skręcalność płaszczyzny światła spolaryzowanego bliska 0 (duże błędy pomiaru) czy wręcz brak wartości standardowej skręcalności właściwej. Wtedy można skorzystać z innych technik pomiarowych.

Spektroskopia NMR. Metoda najczęściej stosowana w przypadku optycznie czynnych alkoholi, które przeprowadza się w pary enancjomerów z pochodnymi kwasu migdałowego (kwas fenylohydroksyoctowy – odczynnik Moshera). W takim układzie pojawiają się różnice w przesunięciu chemicznym określonych protonów enancjomerów R i S, spowodowane różnicami ich przesłaniania przez najbliższe otoczenie (m. in. różna podatność na tworzenie wiązań wodorowych spowodowana przeszkodami sterycznymi). Generalnie jest to technika trudna i użyteczna tylko w specyficznych przypadkach.

HPLC (High Performance Liquid Chromatography) – wysokosprawna chromatografia cieczowa. Pozwala rozdzielać pary enancjomerów w temperaturze pokojowej (ważne bo w wielu przypadkach podwyższona temperatura racemizuje związki). Można tym sposobem analizować substancje o niskiej lotności. HPLC preparatywna pozwala uzyskiwać próbki rozdzielonych enancjomerów, podobnie jak stosowana jeszcze niekiedy w tym celu klasyczna chromatografia cienkowarstwowa.

Podstawą możliwości stosowanie metod chromatograficznych, również w fazie gazowej, jest stosowanie optycznie czynnej fazy aktywnej. Najczęściej wykorzystuje się w tym celu cyklodekstryny, pierścieniowe oligomery glukozy, otrzymywane na drodze specyficznej, enzymatycznej degradacji skrobi. α -cyklodekstryna ma pierścień zbudowany z 6, β -cyklodekstryna z 7 a γ -cyklodekstryna z 8 cząsteczek monosacharydu.



β - cyklodekstryna

Dlaczego chromatograficzna faza aktywna zawierająca optycznie czynne cyklodekstryny może rozdzielać enancjomery ? – jest chyba przynajmniej jakościowo, intuicyjnie zrozumiałe.

GC – chromatografia gazowa. Ta techniką można w wielu przypadkach skutecznie analizować stężenie poszczególnych enancjomerów, o ile dysponujemy odpowiednią,

optycznie czynną kolumną. Ograniczeniem chromatografii gazowej jest niewątpliwie możliwość stosowania do związków lotnych i trwałych w temperaturze pomiaru. GC stosowana do rozdzielenia enancjomerów ma natomiast liczne zalety, w porównaniu do innych metod:

- pozwala analizować próbki o masie nawet $10^{-2}\mu\text{g}$
- nie wymaga przygotowania próbek, wydzielania analizowanych związków
- jest technicznie prosta i szybka
- bardzo precyzyjna
- tania

Łatwo jest metodą GC oznaczyć nadmiar określonego enancjomeru, ale by stwierdzić, „który jest który” trzeba posiadać próbkę jednego z enancjomerów.

3. Przebieg ćwiczenia.

3.1. Zadania analityczne

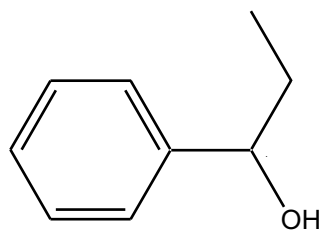
Student otrzymuje dwie próbki optycznie czynnych związków, rozpuszczonych w inertnym optycznie, węglowodorowym rozpuszczalniku, z czym są związane dwa zadania analityczne.

Próbka 1. Zawiera racemiczną mieszaninę związku. Zadaniem jest znalezienie możliwie najwyższej temperatury kolumny, w której następuje dostateczne (całkowite) rozdzielenie enancjomerów. Maksymalna temperatura pomiaru, dla danego związku, zostanie podana. Kolejne analizy należy wykonywać w temperaturach niższych – co 15°C . Proszę notować czasy retencji, dla poszczególnych temperatur i obserwowany kształt sygnałów!

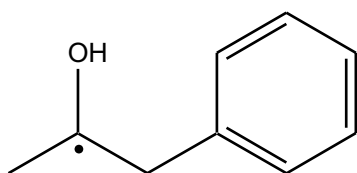
Próbka 2. Zawiera nierównomolowa mieszaninę enancjomerów. Korzystając z parametrów pracy chromatografu, ustalonymi w 1 części ćwiczenia, należy podać

próbkę analizie. Uzyskane wyniki pozwolą obliczyć czystość optyczną związku, co kończy ćwiczenie.

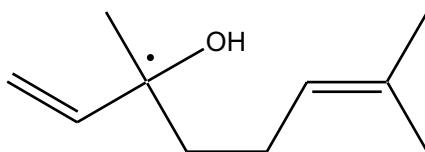
3.2. Struktura analizowanych związków



R/S-1-fenylopropan-1-ol, $T_{\max} = 170^{\circ}\text{C}$



R/S-1-fenylopropan-2-ol, $T_{\max} = 150^{\circ}\text{C}$



R/S-linalol, $T_{\max} = ?^{\circ}\text{C}$

3.3. Parametry pracy chromatografu.

Dozownik:

- objętość dozowanej próbki 1 μ l
- gaz nośny: azot
- split: 1:50
- temperatura dozownika: 250°C

Kolumna:

- HP-Chiral, 25m, ID 0,32 mm
- stałe ciśnienie 10 psi

Program temperaturowy:

- pomiar w stałej temperaturze

Detektor:

- temperatura 280°C
- przepływ H₂ – 30ml/min
- przepływ N₂ – 25ml/min
- przepływ powietrza – 400ml/min