

α 氨基酸在冠醚手性固定相上定量 结构 对映体保留相关性的研究

施介华^{*1,2} 肖科科¹ 吕园园¹

(浙江工业大学药学院¹, 浙江工业大学绿色合成技术国家重点实验室培育基地², 杭州 310032)

摘 要 运用量子化学中的 Hartree-Fock 程序 (6-31G 基组) 方法计算质子化 α 氨基酸溶质的分子结构参数, 借助于多元线性回归法建立了 α 氨基酸对映体在冠醚手性固定相上的色谱保留与其分子结构参数之间的定量结构 对映异构体保留 (QSERR) 模型。结果表明, α 氨基酸光学异构体的容量因子对数 ($\log k$) 与质子化 α 氨基酸溶质的分子结构描述参数之间具有较好的线性相关性。在 QSERR 模型中, 溶质结构描述参数 E_{HOMO} , DIP, ElcE, Ang 和 $\log P$ 具有较为明确的物理意义, 这些参数反映了固定相与溶质分子之间的静电作用、 π - π 作用力、色散力、立体位阻和疏水作用, 能较好地解释 α 氨基酸对映体在联萘冠醚 CSP 上保留机理。建立的 QSERR 模型具有较好的稳定性和预测能力。

关键词 定量结构 对映异构体保留关系, α 氨基酸, 冠醚手性固定相, 色谱保留机理, Hartree-Fock 程序

1 引 言

运用高效液相色谱 (HPLC) 分离对映异构体已成为现代合成化学、生物医药学及农业化学等领域中常用的分析方法。大部分色谱手性分离很大程度上依赖于分析测试者的经验。建立具有明确物理含义的定量结构 对映体保留关系 (QSERR) 能有效地预测色谱保留值, 可以为选择最佳分离条件提供理论依据, 还有助于理解色谱保留及手性识别的机理^[1~4]。近年来, 随着计算机技术和量子化学方法的不断发展, 量化计算已越来越受到人们的关注^[5~7]。在 QSRR / QSERR 研究中, 独自应用量化参数或将量化参数与其它常规参数联合已经越来越多地被使用。文献 [8, 9] 应用量化参数建立了 QSERR 模型, 研究了 α 氨基磷酸酯类化合物在两种不同的衍生化环糊精固定相上手性识别机理; Suzuki 等^[10] 通过 2D 和 3D 分子描述参数建立了一系列芳基醇类化合物在 4 种刷型固定相上的 QSERR 模型, 指出影响容量因子 (k) 和分离因子 (α) 的分子描述参数不同; 施介华等^[6, 11] 运用量化参数分别建立烃类和酯类化合物的色谱保留关系的 QSRR 模型。

冠醚作为一类色谱手性固定相, 常被用来识别具有 $-\text{NH}_2$ 官能团的对映体^[12~16], 其独特的冠环结构对客体分子的选择性识别起着重要作用。但有关手性冠醚类固定相上 α 氨基酸的色谱保留和对映异构体结构间的定量构效关系的报道鲜见。本研究运用量子化学方法中的 Hartree-Fock 程序 (6-31G 基组) 计算了 20 个质子化 α 氨基酸溶质分子的结构描述参数, 通过多元线性回归建立了 α 氨基酸类化合物在键合联萘冠醚手性固定相 (CSP) 上的定量结构与对映体保留的 QSERR 模型, 探讨了 α 氨基酸对映体在键合联萘冠醚固定相上的色谱保留机理。

2 实验部分

2.1 数据来源

本研究所用 α 氨基酸化合物在新型联萘冠醚手性柱上的色谱保留数据取自文献 [15] (见表 1)。

2.2 溶质分子描述参数的计算及 QSERR 模型建立

由于 α 氨基酸的 $-\text{NH}_2$ 基团在酸性流动相中将发生质子化, 形成强极性的铵离子 (NH_4^+), 实际上色谱分离过程中与冠醚类手性固定相发生相互作用的是质子化的氨基酸^[16] (见图 1b)。所有质子化

2008-12-16 收稿; 2009-04-24 接受

* E-mail: shijh@zjut.edu.cn

表 1 α 氨基酸在联萘冠醚手性固定相上保留值^[15]Table 1 Retention value of α -amino acids on the crown chiral stationary phase^[15]

Na	氨基酸 Amino acid	$\log k'_1$	$\log k'_2$	Na	氨基酸 Amino acid	$\log k'_1$	$\log k'_2$
1	丙氨酸 Alanine	- 0. 2366	0. 3385	11	甲硫氨酸 Methionine	- 0. 1135	0. 5391
2	精氨酸 Arginine	- 0. 2366	- 0. 0458	12	苯基丙氨酸 Phenylalanine	- 0. 1024	0. 3766
3	天冬酰胺 Asparagine	- 0. 5528	- 0. 3372	13	苯甘氨酸 Phenylglycine	0. 1549	0. 5988
4	天冬氨酸 Aspartic acid	- 0. 3768	0. 0086	14	脯氨酸 Proline	- 0. 6383	- 0. 6383
5	半胱氨酸 Cysteine	- 0. 4202	- 0. 0132	15	丝氨酸 Serine	- 0. 5686	- 0. 3010
7	谷氨酸 Glutamic acid	- 0. 2291	0. 5416	16	苏氨酸 Threonine	- 0. 6198	- 0. 1938
6	谷氨酰胺 Glutamine	- 0. 4437	0. 2455	17	色氨酸 Tryptophan	0. 1461	0. 6053
8	组氨酸 Histidine	- 0. 4815	- 0. 3098	18	酪氨酸 Tyrosine	- 0. 2076	0. 2810
9	异亮氨酸 Isoleucine	- 0. 5086	- 0. 2366	19	缬氨酸 Valine	- 0. 5528	- 0. 2840
10	亮氨酸 Leucine	- 0. 1938	0. 4997	20	4-羟基苯甘氨酸 4-Hydroxyphenylglycine	- 0. 1739	0. 6730

k'_1 : L -氨基酸容量因子 (Capacity factor of L -Amino acid), k'_2 : D -氨基酸容量因子 (Capacity factor of D -Amino acid)。

的 α 氨基酸分子结构首先用 ChemDraw 作出平面图,然后用 Chem3D 中的 MOPAC 8.00 对分子几何结构进行初步优化后,再用 Gaussian 03 软件包中的 Hartree-Fock 程序 (6-31G 基组) 进行结构优化,振动分析计算的结果中无虚频,证明优化得到的分子结构对应于能量极小点。获取质子化氨基酸溶质的量子化学参数: DIP (分子总体偶极距)、 TE (分子总能量)、 E_{LUMO} (最低分子空轨道的能量)、 E_{HOMO} (最高分子占有轨道的能量)、 Ang (原子 $N-C^+-C$ 之间平面角)、 MR (分子折射率)、 $\log P$ (疏水性参数) 和 $ElcE$ 等分子描述参数在 Chem3D 中计算得到。所有量化参数的计算和分子模拟在 PD2.80 PC 机上运行完成。

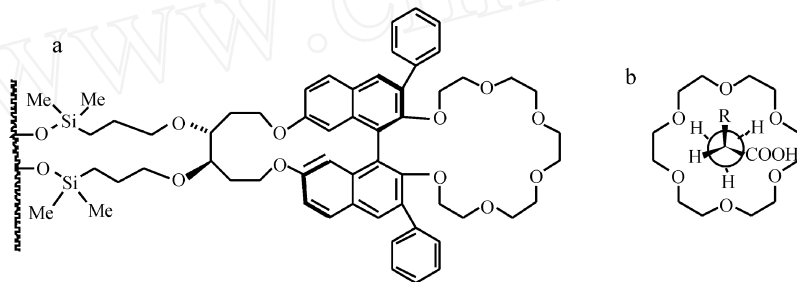


图 1 联萘冠醚手性固定相结构 (a) 和质子化氨基酸与冠醚手性固定相相互作用 (b)

Fig 1 Structure of binaphthyl crown chiral stationary phase (a) and interaction between amino acid cation and the crown chiral stationary phase (b)

运用 SPSS 统计分析软件包中线性回归法建立 α 氨基酸类化合物在键合联萘冠醚手性固定相 (CSP) 上的 QSERR 模型。

3 结果与讨论

3.1 QSERR 模型的建立

由于分子“手性”的差别,手性分子与手性固定相相互作用的过程中存在着一定差异,即手性分子的结构参数与色谱参数之间存在一定相关性这一假设是完全合理的^[6]。在 QSERR 模型建立过程中,最大的困难是如何找到能够区分不同对映体的手性分子结构参数,因为对映体分子诸多性质参数 (如分子尺寸、形状、电性参数和疏水性参数等) 有时很接近,甚至完全相同。与许多手性分子一样, α 氨基酸对映体分子结构参数大部分相同。本研究通过 Gaussian 03 和 Chem3D 软件计算,提取了质子化后的 L 型和 D 型 α 氨基酸的分子结构描述参数 (见表 2 和表 3)。

为保证所选取的结构参数与容量因子对数 ($\log k$) 之间有良好的相关性,尽量选择与容量因子相关性较大,彼此之间相关性较小的参数。本研究首先对各参数进行相关性分析,发现 MR 与 $ElcE$ 和 TE 之间有明显相关性,因此分别选取 MR 、 $ElcE$ 和 TE 与其它结构描述参数进行多元线性回归,得到 α 氨基酸对映体在键合联萘冠醚 CSP 上的色谱保留参数的 QSERR 模型为:

$$\log k_1' = -13\,400 - 0.402E_{\text{HOMO}} - 0.047\text{DIP} + 0.115\text{Ang} - 5.90 \times 10^{-5}\text{ElcE}$$
$$(n = 20, r = 0.959, \text{SD} = 0.067)$$

(1)

表 2 质子化 L-α 氨基酸分子参数
Table 2 Molecular descriptors of L-α-amino acid cations

Na	DIP	ElcE	E _{HOMO}	E _{LUMO}	TE	logP	MR	Ang
1	3.8840	-4882.0	-1.4246	1.8078	-1340.9	-1.409	1.9489	108.47
2	2.1710	-12247.4	-1.3241	1.5128	-2447.1	-2.725	4.2690	105.31
3	3.0044	-8496.3	-1.0870	1.4144	-2009.9	-2.923	2.8171	107.30
4	2.4240	-8797.0	-1.3802	0.9798	-2110.0	-2.281	2.6015	106.82
5	2.0069	-5938.5	-1.6021	0.7928	-1534.8	-1.306	2.7552	106.22
7	3.7806	-12972.2	-1.4983	1.1399	-2266.0	-1.825	3.0653	105.40
6	5.1110	-9873.5	-0.7688	1.2623	-2165.3	-2.467	3.2809	106.62
8	4.0373	-10590.2	-0.7097	1.1597	-2164.1	-2.235	3.6785	106.35
9	2.4120	-12247.4	-1.3241	1.5128	-2447.1	-2.725	4.2690	105.31
10	4.2044	-8616.1	-1.2537	1.6917	-1808.1	-0.293	3.3403	105.32
11	3.1407	-11670.7	-1.4675	0.6253	-1846.4	-0.860	3.9776	105.20
12	2.8048	-11314.1	-1.4541	0.5860	-2163.3	0.066	4.4601	105.48
13	3.8687	-9734.0	-1.8934	1.0413	-2007.8	-0.390	3.9963	105.15
14	2.1267	-6106.1	-0.7076	1.5282	-1624.3	-0.733	2.7878	106.30
15	2.2410	-6260.0	-1.1027	1.5618	-1661.3	-2.574	2.1020	107.88
16	2.2684	-7661.3	-1.0713	1.5946	-1816.9	-2.316	2.5658	107.80
17	2.0277	-16153.7	-1.5680	0.2930	-2658.5	0.012	5.5776	105.32
18	2.1460	-11972.2	-1.4346	0.5580	-2483.8	0.012	5.5776	105.47
19	2.7089	-7398.3	-1.3520	1.7728	-1652.2	-0.749	2.8765	104.00
20	4.8453	-11317.9	-1.6789	0.8915	-2328.3	-0.779	4.1494	104.95

氨基酸编号同表 1 (The number of aminoacids are the same as in Table 1)。DIP: Dipole moment (debye); ElcE: Electronic energy (eV); E_{HOMO}: Highest occupied molecular orbital (eV); E_{LUMO}: Lowest unoccupied molecular orbital(eV); TE: Total energy(eV); logP: Hydrophobic parameters; MR: Molar refractivity; Ang: Plane angle between N—C*—C。

表 3 质子化 D-α 氨基酸分子参数
Table 3 Molecular descriptors of D-α-amino acid cations

Na	DIP	ElcE	E _{HOMO}	E _{LUMO}	TE	logP	MR	Ang
1	3.8840	-4882.0	-1.4246	1.8078	-1340.9	-1.409	1.9489	108.47
2	4.6479	-12434.9	-1.3765	1.6640	-2446.7	-2.725	4.2690	105.35
3	4.9688	-8683.7	-1.0787	1.4656	-2010.0	-2.923	2.8171	105.39
4	3.3375	-8778.1	-1.3533	0.9993	-2110.1	-2.281	2.6015	105.10
5	4.1003	-6003.3	-1.7188	1.1331	-1534.9	-1.306	2.7552	105.88
7	2.4210	-8975.6	-1.4124	1.1824	-2266.0	-1.825	3.0653	106.62
6	4.5995	-10063.5	-0.7989	1.2942	-2165.3	-2.467	3.2809	106.84
8	5.2507	-10341.6	-0.7781	1.1240	-2164.0	-2.235	3.6785	106.72
9	2.4178	-8763.7	-1.2538	1.7056	-1808.0	-0.293	3.3403	105.30
10	2.0560	-9885.9	-1.2695	1.7896	-1808.0	-0.293	3.3403	105.50
11	1.4739	-9856.2	-1.4074	0.6897	-1846.4	-0.560	3.9776	105.40
12	2.0574	-11057.1	-1.4710	0.5698	-2163.3	0.066	4.4601	106.13
13	4.4709	-9734.1	-2.0133	1.06065	-2007.8	-0.390	3.9963	105.15
14	1.4072	-7050.5	-0.8215	1.49175	-2624.4	-0.733	2.9939	106.00
15	3.0155	-6337.3	-1.1891	1.83419	-1661.2	-2.574	2.1020	105.68
16	3.0100	-7655.7	-1.1543	1.84352	-1816.9	-2.316	2.5658	105.56
17	1.1809	-15376.4	-1.3334	0.39064	-2639.0	0.012	5.5776	106.18
18	4.7489	-11324.2	-1.4454	0.53019	-2483.8	0.012	5.5776	106.20
19	2.1864	-7455.0	-1.2582	1.68774	-1652.2	-0.749	2.8765	104.48
20	4.7489	-11316.3	-2.01577	1.00182	-2328.37	-0.779	4.1494	105.00

氨基酸编号同表 1 (The number of aminoacids are the same as in Table 1)。

$$\log k_2' = -15\,279 - 0.696E_{\text{HOMO}} - 0.200\text{DIP} + 0.127\text{Ang} - 6.40 \times 10^{-5}\text{ElcE} + 0.244\log P$$
$$(n = 20, r = 0.959, \text{SD} = 0.13)$$

(2)

式中, *n*为线性回归样本的个数, *r*为拟合方程的相关系数, *SD*为标准偏差。由式 (1)和 (2)可知,所建立的 α 氨基酸对映体在键合联萘冠醚 CSP 上的色谱保留参数的 QSERR 模型具有较好的多元线性相关性。同时,为了识别异常值,对参与回归样本的保留值进行去一法检验,未出现异常值。这表明此

QSERR 模型具有较好的稳定性。

3.2 手性识别机理的探讨

根据液相色谱分离原理,溶质在色谱柱上的保留行为主要由溶质与固定相以及流动相之间的分子作用力所决定的。所建立的 α 氨基酸对映体在键合联萘冠醚 CSP 上的色谱保留参数的 QSERR 模型中,每个分子描述参数均表征色谱过程中溶质同固定相或流动相的某种相互作用。在液相色谱中 E_{LUMO} 和 E_{HOMO} 表示溶质和固定相之间电荷的传递反应,也就是在溶质和固定相之间存在氢键作用力或 π - π 相互作用^[17]。 $\log P$ 与溶质疏水性相关,体现了溶质分子与固定相之间的疏水作用。 Ang 表示对映体色谱保留过程中对分子构象的要求^[9]。 DIP 可以表示溶质分子和固定相之间的静电相互作用能力的大小^[21]。 MR 反映了溶质分子参与分子色散力的能力^[18],而 ElcE 和 TE 与 MR 具有较好的相关性,因此 ElcE 和 TE 包含一定色散力的信息,也可以表示溶质分子参与色散力的能力。

尽管对分子间力(包括氢键力、范德华力、空间位阻、疏水作用等)的研究已比较深入、全面,但是如何协同这些作用力而增加或减弱非对映体络合物的稳定性却并不很清楚。从所建立的 QSERR 模型可知,在联萘冠醚 CSP 上,质子化氨基酸的保留行为主要取决于固定相与溶质分子之间的静电作用、 π - π 作用力、色散力、立体位阻和疏水作用。

3.3 保留值的预测

所建立的 QSERR 模型可预测 α 氨基酸对映体在联萘冠醚手 CSP 上的色谱保留值,即通过计算 α 氨基酸对映体的结构描述参数来预测其对映体的色谱保留值。结果表明,在这种手性冠醚固定相上, α 氨基酸对映体的容量因子对数 ($\log k$) 的预测值与实验值之间具有较好的线性相关性(图 2),其线性回归方程分别为:

$$\log k_1(\text{pred}) = 0.9201 \log k_1(\text{exp}) + 0.0069$$

$$(n = 20, r = 0.9572, \text{SD} = 0.064) \quad (3)$$

$$\log k_2(\text{pred}) = 0.9199 \log k_2(\text{exp}) + 0.0161$$

$$(n = 20, r = 0.9566, \text{SD} = 0.064) \quad (4)$$

两者回归方程的斜率接近于 1,基本通过原点,这表明所建立的 QSERR 模型用于预测 α 氨基酸对映体在这两种手性冠醚固定相上的保留行为是切实可行的。

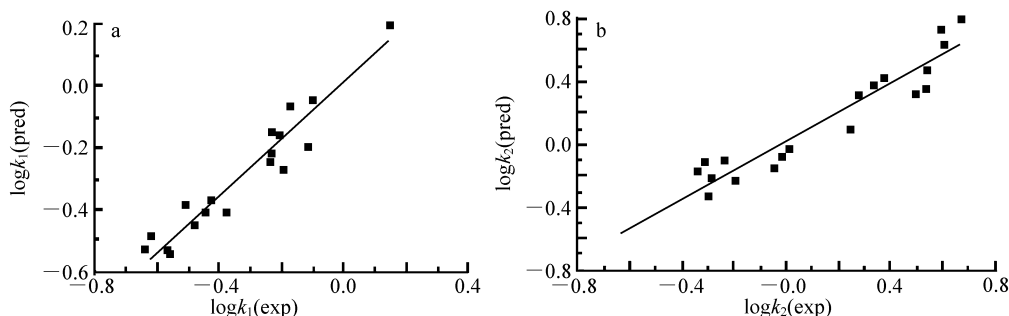


图 2 预测值和测定值

Fig 2 Plot of experimental vs predicted $\log k$ values

3.4 小结

本研究建立了 α 氨基酸对映体在键合联萘冠醚 CSP 上的色谱保留参数的 QSERR 模型,各结构描述参数具有明确的物理含义。能较好地解释 α 氨基酸对映体在联萘冠醚 CSP 上保留机理。所建模型在预测其保留值时具有较好的准确性和稳定性。

References

- 1 Jiang Feng(江峰), Shi Jie-Hua(施介华), Yan Wei(严巍), Li Bing(李兵). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), 2004, 32(11): 1550 ~ 1555

- 2 Gao Ru-Yu(高如瑜), Wang He-Fang(王荷芳). *Chinese Journal of Organic Chemistry* (有机化学), **1999**, 19 (2): 135 ~ 140
- 3 Lipkowitz K B. *J. Chromatogr A*, **1994**, 666: 493 ~ 503
- 4 Lipkowitz K B. *J. Chromatogr A*, **1995**, 694: 15 ~ 37
- 5 Ouyang L iang(欧阳亮), He Gu(何谷), Guo L i(郭丽). *Acta Chim. Sinica* (化学学报), **2006**, 64: 1379 ~ 1384
- 6 Shi Jie-Hua(施介华), Jiang Feng(江峰), Yan Wei(严巍), Wang Ji-Kang(王纪康), Wang Gui-Lin(王桂林). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2005**, 33 (2): 181 ~ 186
- 7 Zeng Xiao-Lan(曾小兰), Liu Hong-Xia(柳红霞), Liu Hong-Yan(刘红艳). *Acta Chim. Sinica* (化学学报), **2007**, 65: 1797
- 8 Huang Jun-Min(黄君珉), Chen Hui(陈慧), Gao Ru-Yu(高如瑜), Wang Qin-Sun(王琴孙). *Chem. J. Chinese Universities* (高等学校化学学报), **2001**, 22 (11): 1838 ~ 1842
- 9 Chen Hui(陈慧), Lü Xian-Yu(吕宪禹), Huang Jun-Min(黄君珉), Gao Ru-Yu(高如瑜), Wang Qin-Sun(王琴孙). *Chem. J. Chinese Universities* (高等学校化学学报), **2000**, 21 (4): 562 ~ 565
- 10 Suzuki T, Timofei S, Iuoras B E, Uray G, Verdino P, Fabian Walter M E. *J. Chromatogr A*, **2001**, 922 (1-2): 13 ~ 23
- 11 Shi Jie-Hua(施介华), Jiang Feng(江峰), Wang Gui-Lin(王桂林), Yan Wei(严巍). *J. Zhejiang University of Technology* (浙江工业大学学报), **2004**, 32 (4): 418 ~ 422
- 12 Chen Juan-Juan(陈娟娟), Zhang Da-Tong(张大同), Shen Bao-Chun(沈报春), Zhang Xue-Jun(张雪君), Xu Bei-Jia(徐贝佳), Xu Xiu-Zhu(徐秀珠). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2006**, 34 (11): 1535 ~ 1540
- 13 Machida Y, Nishi H, Nakamura K, Nakai H, Sato T. *J. Chromatogr A*, **1998**, 805 (1-2): 85 ~ 92
- 14 Hyun M H, Jin J S, Koo H J, Lee W. *J. Chromatogr A*, **1999**, 837 (1-2): 75 ~ 82
- 15 Hyun M H, Han S C, Lipshutz B H, Shin Y J, Welch C J. *J. Chromatogr A*, **2001**, 910 (2): 359 ~ 365
- 16 Sousa L R, Sogah G D Y, Hoffman D H, Cram D J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 100 (14): 4569 ~ 4576
- 17 Matlin S A, Tiritan M E, Crawford A J, Cass Q B, Boyd D R. *Chirality*, **1994**, 6: 135
- 18 Wang Peng(王鹏). *Method of study quantitative structure-activity-relationships* (定量构效关系及研究方法), Harbin(哈尔滨): Harbin Ind Tech Press(哈尔滨工业大学出版社), **2004**: 118

Quantitative Structure-Enantiomers Retention Relationships of α -Amino Acids on Crown Chiral Stationary Phases

SHI Jie-Hua^{*1,2}, XIAO Ke-Ke¹, LÜ Yuan-Yuan¹

(¹ College of Pharmaceutical Sciences, ² State Key Laboratory Breeding Base of Green Chemistry Synthesis Technology, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032)

Abstract The α -amino acids solute-related structure parameters were computed by means of Hartree-Fock program (6-31G method) in quantum chemistry. The quantitative structure-enantiomers retention relationships (QSERR) of enantiomers of a series of α -amino acids on the crown chiral stationary phase were set with multiple linear regression method. The results show there is better linear relationship between capacity factors logarithm ($\log k'$) of enantiomers of a series of α -amino acids and their molecular structure descriptor parameters. The physical meaning of these molecular structure descriptor parameters containing E_{HOMO} , DIP, ElcE, Ang and $\log P$ in the QSERR modeling is definite, and these parameters indicate the electrostatic force, π - π interaction, dispersion force, steric hindrance and interaction between chiral stationary phase and solute molecule, from which the chromatographic retention mechanism of α -amino acids on the crown chiral stationary phase can be explained. The QSERR modelings have good stability and accuracy for prediction of the chromatographic retention of α -amino acids on the crown chiral stationary phase.

Keywords Quantitative structure-enantioselectivity retention relationships, α -amino acid, crown chiral stationary phase, chromatographic retention mechanism, Hartree-Fock program

(Received 16 December 2008; accepted 24 April 2009)