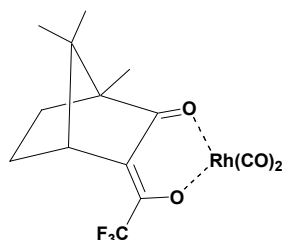


Φασματοσκοπική διάκριση εναντιομερών

Ένα χειρικό μόριο που βρίσκεται σε ισότροπο περιβάλλον αλληλεπιδρά με ισότροπη ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία με μη χειρικό τρόπο, δηλαδή όπως ακριβώς και το εναντιομερές του. Για πολλές χειρικές ουσίες η κατάσταση αυτή προσεγγίζεται όταν η ουσία μελετάται υπό μεγάλη αραιώση σε ένα μη χειρικό διαλύτη. Στην πραγματικότητα όμως κάθε χειρικό μόριο αντιδρά με άλλα χειρικά μόρια τα οποία βρίσκονται στο περιβάλλον του και οι διαστερεοτοπικές σχέσεις που αναπτύσσονται ανάμεσα στα δύο μόρια διαφοροποιούν τις ιδιότητες ώστε το διαστερεοτοπικό ζεύγος να δίνει απορροφήσεις σε διαφορετικές συχνότητες, όπως ακριβώς διαφέρουν οι συχνότητες απορρόφησης συγκεκριμένης ομάδας στα διαστερεοϊσομερή της ίδιας ουσίας. Η αλληλεπίδραση αυτή μπορεί να είναι τύπου διπόλου-διπόλου είτε υδροφοβική αλληλεπίδραση είτε δεσμού υδρογόνου και μπορεί να είναι μεταξύ μορίων του ίδιου εναντιομερούς (ομοιοχειρική αλληλεπίδραση) είτε μεταξύ εναντιομερών (ετεροχειρική αλληλεπίδραση). Έτσι εξηγείται η εξάρτηση των μετρήσεων της στροφικής ικανότητας από τη συγκέντρωση του δείγματος για ένα εναντιοκαθαρό δείγμα ή η εξάρτηση του φάσματος από την οπτική καθαρότητα του δείγματος δηλαδή την αναλογία των δύο εναντιομερών.

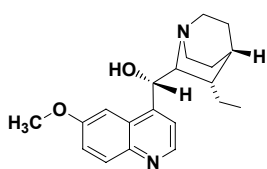
Ένα ρακεμικό μίγμα μπορεί ακόμα να έχει διαφορετικό χρώμα από ότι τα συστατικά του εναντιομερή. Τέτοια διαφοροποίηση παρατηρήθηκε π.χ. για το χηλικό σύμπλοκο του μονοσθενούς δικαρβονυλορόδου με 3-τριφθοροακετυλοκαμφορά στις ορατές συχνότητες.



Το στερεό καθαρό εναντιομερές είναι κίτρινο ενώ το στερεό ρακεμικό μίγμα είναι κοκκινοπράσινο. Τα τήγματα και των δύο όμως είναι παρομοίου καστανού χρώματος. Αυτή η παρατήρηση δεν πρέπει να προκαλεί έκπληξη καθώς είναι αναμενόμενο οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μορίων να μεγιστοποιούνται στη στερεή φάση λόγω της στενής γειτνίασης.

Τα φάσματα ^{13}C NMR σε στερεά κατάσταση αφ' ενός μεν οπτικά καθαρού τρυγικού οξέος αφ' ετέρου δε ρακεμικού μίγματος διαφέρουν σημαντικά. Έτσι είναι δυνατό να προσδιορισθεί η οπτική καθαρότητα ενός στερεού δείγματος με τη χρήση φασματοσκοπίας NMR χωρίς την ανάγκη χειρικών βοηθημάτων (π.χ. χειρικός διαλύτης ή συμπλεκτικά αντιδραστήρια). Βεβαίως η συνήθης πρακτική είναι η λήψη φασμάτων NMR σε διάλυμα και εδώ σε αντίθεση με τα φάσματα στερεού η διαφοροποίηση μεταξύ καθαρού και εναντιοκαθαρού και μη ρακεμικού (ή και ρακεμικού δείγματος) ελαχιστοποιείται, ώστε συνήθως τα φάσματα εναντιομερούς και ρακεμικού είναι πρακτικά ταυτόσημα.

Σε ειδικές περιπτώσεις όπου υπάρχει ισχυρή διαμοριακή αλληλεπίδραση (π.χ. υδροξυλαμίνες, αμίδια, καρβοξυλικά οξέα) και ο διαλύτης που χρησιμοποιείται είναι σχετικά άπολος, παρατηρείται ανισοχρονία, δηλαδή διάσχιση των σημάτων που αντανακλά την εναντιομερική σύσταση του δείγματος η οποία και μπορεί κατ' αυτόν τον τρόπο να μετρηθεί.



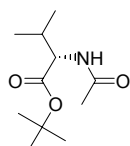
διυδροκινίνη

Έτσι π.χ. ένα διάλυμα οπτικά καθαρής διυδροκινίνης σε CDCl_3 δίνει φάσμα NMR που διαφέρει στις χημικές μετατοπίσεις όλων των χαρακτηριστικών κορυφών σε σχέση με τα φάσματα δειγμάτων που περιέχουν ένα ποσοστό και του άλλου αντίποδα.

Το ότι πρόκειται για αλληλεπιδράσεις μεταξύ μορίων διυδροκινίνης υποστηρίζεται και από τις ακόλουθες δύο παρατηρήσεις.

1. τα φάσματα ρακεμικής και ενεργής διυδροκινίνης τείνουν να ταυτισθούν σε μεγάλη αραίωση.
2. Αλλαγή του διαλύτη από το σχετικά άπολο και απρωτικό χλωροφόρμιο στον πολικό πρωτικό CD_3OD οδηγεί σε ταυτόσημα φάσματα για τη ρακεμική και την ενεργή ουσία, καθώς και για όλα τα μείγματα (+) και (-) διυδροκινίνης.

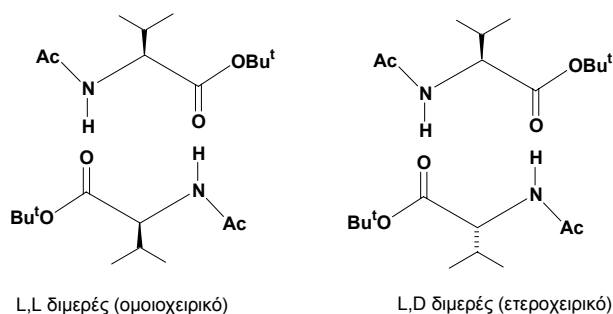
Προφανώς ο πολικός πρωτικός διαλύτης καταστρέφει τα προσεταιριστικά διμερή (ή ολιγομερή) της διυδροκινίνης. Αυτός ο αυτοεπαγόμενος ανισοχρονισμός στο φάσμα προϋποθέτει τη δημιουργία των διαστερεομερών συμπλεγμάτων που προαναφέρθηκαν και μπορεί να εμφανισθεί έντονα μόνο όταν υπάρχει η δυνατότητα δημιουργίας δεσμών υδρογόνου ή άλλου σχετικά ισχυρού τύπου αλληλεπίδρασης. Η δημιουργία-αποσύνθεση τέτοιων διμερών (+,+),(+,-),(-,-) είναι μια δυναμική ισορροπία και η συχνότητα του σήματος κάθε πυρήνα είναι ο σταθμισμένος μέσος όρος των συχνοτήτων που θα έδειχνε ο πυρήνας στο κάθε διμερές αν δεν υπήρχε η γρήγορη εναλλαγή (fast exchange). Η αναλογία των (ομοιοχειρικών και ετεροχειρικών) διμερών στην ισορροπία εξαρτάται από την αναλογία των εναντιομερών στο μίγμα και αυτή η εξάρτηση επιτρέπει τον προσδιορισμό της οπτικής καθαρότητας από τη μετατόπιση $\Delta\nu$ στη συχνότητα ενός πυρήνα σε σχέση με τη συχνότητα του ίδιου πυρήνα στο ομοιοχειρικό διμερές(δηλαδή στο οπτικά καθαρό δείγμα).



AcNH-(L)-Val-OBu[†]

Αναλόγου τύπου διαφοροποίηση έχει παρατηρηθεί και για τα εναντιομερή του t-βουτυλεστέρα της N-ακετυλοβαλίνης.

Η διαφοροποίηση και εδώ αποδίδεται σε δημιουργία των ομοιο- και ετεροχειρικών διμερών με ισχυρούς δεσμούς υδρογόνου μεταξύ εστερικού καρβονυλίου και αμιδίου.



Σχήμα 1. Τα δύο διαστερομερή διμερή σύμπλοκα της (±)-AcNH-Val-OBu^t

Στο σχήμα1 παραπάνω φαίνεται καθαρά η διαστεροτοπική σχέση των ομολόγων θέσεων στα δύο είδη διμερών.(Το διμερές D,D είναι ισοδύναμο με το L,L, ως κατοπτρικό είδωλο του, όπως αντιστοίχως ισοδύναμα είναι και τα L,D και D,L).

Παρόμοια διμερή (ή και ολιγομερή) αλλά μεταξύ διαφορετικών ουσιών μπορούν επίσης να δημιουργηθούν και εξηγούν παρατηρήσεις του είδους π.χ. : προσθήκη οπτικά ενεργού μηλικού οξέος σε ρακεμικό γαλακτικό οξύ προκαλεί την εμφάνιση δύο σημάτων για τη μεθυλομάδα του γαλακτικού. Επίσης εμφανίζονται δύο σήματα για τη μεθυλομάδα του γαλακτικού νατρίου με προσθήκη στο διάλυμα EuCl₃. Η σύμπλεξη με το στοιχείο μετάπτωσης (Eu) δημιουργεί εντονότερο συνωστισμό και μεγέθυνση των διαστεροτοπικών διαφορών στα διμερή (ολιγομερή). Ωστε η “ αυτοαναγνώριση” μεταξύ εναντιομερών είναι ένα φαινόμενο που υπάρχει και λειτουργεί αλλά δε γίνεται πάντα ορατό. Γι’ αυτό έχει διαδοθεί η λανθασμένη εντύπωση ότι εναντιομερή και ρακεμικά (ή μίγματα εναντιομερών ενδιάμεσης σύστασης) δίνουν πάντα ταυτόσημα φάσματα NMR.

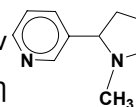
Όσον αφορά τα φάσματα υπερύθρου σε διάλυμα και εκεί είναι μερικές φορές εμφανής η διαφοροποίηση στερεοϊσομερών. Οι εντάσεις και οι συχνότητες δόνησης ομάδων που δίνουν εύκολα προϊόντα προσεταιρισμού είναι αυτές που δείχνουν τις εμφανέστερες διαφοροποιήσεις. Π.χ τα φάσματα υπερύθρου του προαναφερθέντος παραγώγου της βαλίνης διαφέρουν ανάλογα με το αν εξετάζεται εναντιομερικά καθαρό προϊόν ή όχι. Ομοίως σε διαλύτη χλωροφόρμιο που επιτρέπει τη δημιουργία σημαντικών συγκεντρώσεων δι- και ολιγομερών μιας χειρικής αλκοόλης, τα φάσματα υπερύθρου διαφέρουν ανάμεσα σε οπτικά καθαρή και ρακεμική αλκοόλη.

Χρωματογραφική διάκριση διαχωρισμός εναντιομερών

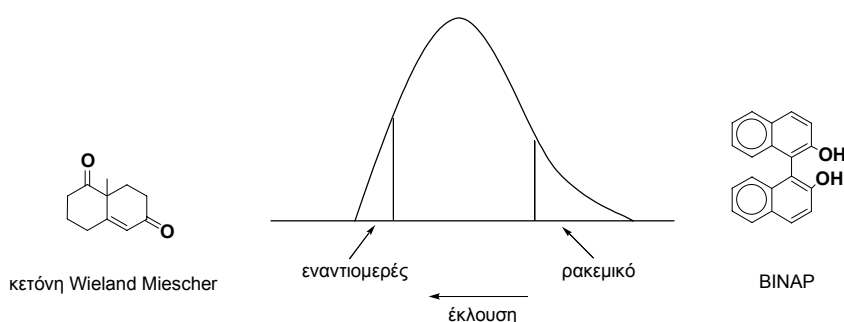
Στη συντριπτική πλειοψηφία των περιπτώσεων δεν παρατηρείται χρωματογραφική διαφοροποίηση των εναντιομερών μιας χειρικής ουσίας εφόσον βέβαια χρησιμοποιείται χειρική ακίνητη φάση και χειρικός διαλύτης έκλουσης. Δηλαδή δεν παρατηρείται χρωματογραφικός διαχωρισμός ή τουλάχιστον διαφοροποίηση της σύστασης των εκλουόμενων κλασμάτων κατά τη χρωματογράφιση μη ρακεμικών δειγμάτων. Εν τούτοις, χρωματογραφία υψηλής απόδοσης HPLC σε συνήθεις χειρικές στήλες (π.χ. silica gel με

αχειρικούς άπολους διαλύτες όπως εξάνιο, αιθέρα) δείχνει για κάποιες χειρικές ουσίες διαφοροποίηση στους χρόνους κατακράτησης των δύο εναντιομερών.

π.χ. η νικοτίνη εκλούεται από στήλες ανάστροφης φάσης ως μια κορυφή όταν είναι ρακεμική, ενώ εκλούεται ως δύο κορυφές, όταν χρωματογραφούνται μη ρακεμικά δείγματα.



Ακόμη και ουσίες που δεν έχουν τη δυνατότητα δημιουργίας ισχυρών διαμοριακών χηλικών δεσμών υδρογόνου δείχνουν διαφοροποίηση π.χ. η κετόνη Wieland-Miescher σε μη ρακεμική μορφή εκλούεται από στήλη silica gel ως μια σχετικά ευρεία μη συμμετρική κορυφή της οποίας το μέτωπο τείνει να περιέχει καθαρό εναντιομερές ενώ η "ουρά" αποτελείται από ρακεμικό μίγμα.



Σχήμα 2. Χρωματογραφικός διαχωρισμός του εναντιομερούς σε περίσσεια από μη ρακεμικό δείγμα μιας χειρικής ουσίας

Παρόμοιος εμπλουτισμός ενός κλάσματος με το επικρατέστερο εναντιομερές παρατηρείται και κατά τη χρωματογράφιση μη ρακεμικής διναφθόλης (BINAP)

Ωστε, αν και συνηθέστατα τα εναντιομερή εκλούνται μαζί από μη χειρικές στήλες, σε μερικές περιπτώσεις είναι εμφανής η διαφοροποίηση σε υψηλής ποιότητας χρωματογραφήσεις. Η διαφοροποίηση θεωρείται ότι οφείλεται και εδώ (όπως και προηγουμένως αναφέρθηκε για τα φάσματα) στη δημιουργία ομοιο- και ετεροχειρικών διμερών (ή ολιγομερών) που έχουν (ως διαστεροϊσομερή) διαφορετικές ιδιότητες και συνεπώς διαφορετικά R_f .

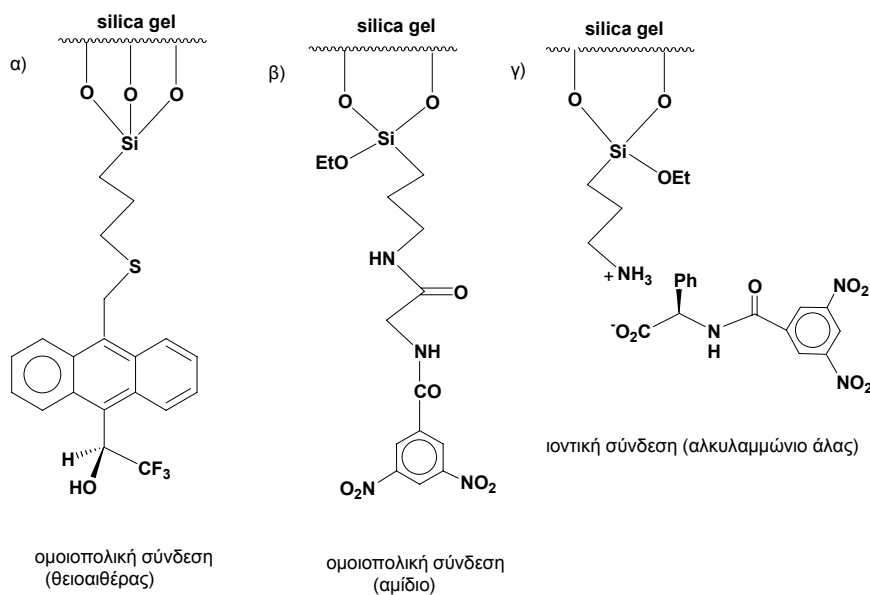
Εναντιοεκλεκτικές στάσιμες φάσεις.

Εάν η ακίνητη φάση (υλικό πλήρωσης της στήλης) της χρωματογράφησης είναι χειρική τότε υπάρχει η δυνατότητα της άμεσης διαφοροποίησης των εναντιομερών μιας χειρικής ένωσης κατά την αντιστρεπτή προσρόφησή τους στη χειρική επιφάνεια των κόκκων της στήλης. Εάν όλα τα χειρικά κέντρα (ή τουλάχιστον τα περισσότερα) της επιφάνειας έχουν την ίδια χειρικήτητα τότε το υλικό πλήρωσης χαρακτηρίζεται ως εναντιοεκλεκτική στάσιμη φάση και η στήλη ως οπτικά ενεργή στήλη. Η διαφοροποίηση των δύο εναντιομερών στηρίζεται κυρίως στη διαφορετική (διαστεροεκλεκτική) αλληλεπίδραση που συζητήθηκε στη προηγούμενη παράγραφο. Η διάκριση που επιτυγχάνεται μεταξύ εναντιομερών επιτρέπει την κατευθείαν μέτρηση της οπτικής καθαρότητας χειρικών δειγμάτων και έχει έτσι διαγνωστική- αναλυτική

κυρίως εφαρμογή, χωρίς βεβαίως να αποκλείεται και η παρασκευαστική χρήση για το διαχωρισμό και παραλαβή των εναντιομερών ενός ρακεμικού μίγματος.

Η κυρίως τεχνική που χρησιμοποιείται είναι αυτή της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) και οι στάσιμες φάσεις είναι τα συνήθη υλικά πλήρωσης τροποποιημένα όμως με κατάλληλα οπτικά ενεργά αντιδραστήρια.

Στο σχήμα 3 παρατίθενται ενδεικτικά μερικές συνήθεις χειρικές φάσεις εμπορικά διαθέσιμες και δείχνεται ο τρόπος σύνδεσης του ενεργού μορίου με το αδρανές φέρον υλικό της στήλης (silica gel σε όλα τα παραδείγματα).



Σχήμα 3. Χειρικές στάσιμες φάσεις με τροποποιημένο silica gel, για αναλυτική χρήση HPLC (προσδιορισμός ee)

Εκτός από τη μέτρηση της αναλογίας εναντιομερών είναι δυνατόν να διατυπωθούν και εμπειρικοί κανόνες για τη σειρά έκλουσης των εναντιομερών μιας συγκεκριμένης (και συνήθως περιορισμένης) κατηγορίας ενώσεων. Π.χ. στις δευτεροταγείς χειρικές αρυλακανόλες ($\text{ArCH}(\text{OH})\text{R}$) όταν αυτές χρωματογραφούνται σε στήλες του τύπου γ, σχήμα 3 “το πρώτο εναντιομερές που εκλύεται έχει R στερεοχημεία στο χειρικό άνθρακα της καρβινόλης”. Μια τέτοια διατύπωση ισοδυναμεί με πρόβλεψη της απόλυτης στερεοχημείας της χειρικής αλκοόλης. Όμως το εύρος ισχύος τέτοιων κανόνων είναι αρκετά περιορισμένο, καθώς τα φαινόμενα που εμπλέκονται στην αλληλεπίδραση εναντιομερούς- χειρικής στήλης είναι πολλά και πολύπλοκα.

Πρέπει να διευκρινισθεί, τελειώνοντας ότι οι χειρικές στήλες διακρίνουν κατ' ευθείαν (όταν το επιτυγχάνουν) τα δυο εναντιομερή ενός μίγματος. Εάν αντιθέτως το μίγμα των εναντιομερών (ρακεμικό ή μη) μετατραπεί ποσοτικά σε αντίστοιχο μίγμα διαστερομερών μετά από αντίδραση με ένα κατάλληλο εναντιοκαθαρό αντιδραστήριο, το μίγμα αυτό των διαστεροεπαγωγών μπορεί να αναλυθεί σε μη χειρική (κοινή διαστεροεξελεκτική) στήλη και η αναλογία διαστερομερών να αναχθεί σε μια ίδια αναλογία των αρχικών εναντιομερών.