

تهیه آلانین متیل استر-کالیکس[۴]آرن پیوند شده به سیلیکا به عنوان فاز ساکن دستوار در سوانگاری مایع با کارایی بالا

صادق یعقوب‌نژاد^۱، کوروش تبارحیدر^{۲*}، سیدحمید احمدی^۳ و رضا زادمرد^۴

- ۱- دکترای شیمی تجزیه، پژوهشکده فناوری‌های پاک، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران، تهران، ایران
- ۲- دانشیار، پژوهشکده فناوری‌های پاک، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران، تهران، ایران
- ۳- دانشیار، پژوهشکده فناوری‌های پاک، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران، تهران، ایران
- ۴- دانشیار، گروه شیمی آلی، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران، تهران، ایران

دریافت: آذر ۱۳۹۶، بازنگری: دی ۱۳۹۶، پذیرش: بهمن ۱۳۹۶

چکیده: در این پژوهش، روش تهیه یک‌فاز ساکن دستوار جدید بر پایه کالیکس[۴]آرن به منظور استفاده در سوانگاری مایع با کارایی بالا (HPLC) گزارش شده است. در این فاز ساکن از مولکول کالیکس[۴]آرن مخروطی مشتق شده با ۲ گروه L-آلانین متیل استر در لبه بالایی، به عنوان انتخاب‌گر دستوار استفاده شده است. پیوند انتخاب‌گر دستوار به سطح سیلیکا با استفاده از گروه‌های آلایل جانشین شده در لبه پایینی کالیکس[۴]آرن و تشکیل پل سولفیدی انجام شده است. نتایج تجزیه عنصری، پیوند ۱۲۰ میکرومول از انتخاب‌گر دستوار بر هر گرم از سیلیکاژل را نشان داد. از ۱-هگزن برای پوشاندن گروه‌های مرکاپتو واکنش نداده در سطح سیلیکا استفاده شد. از آنجایی که انتخاب‌گر دستوار به صورت شیمیایی با سطح سیلیکا پیوند دارد، از این فاز ساکن می‌توان در هر دو حالت فاز نرمال و معکوس روش سوانگاری مایع با کارایی بالا استفاده کرد. فاز ساکن تهیه‌شده قابلیت جداسازی مطلوبی را برای جداسازی انانتیومرهای اسیدهای آمینه مشتق شده با ۵،۳-دی‌نیتروفنیل (DNB) از خود نشان داد.

واژه‌های کلیدی: کالیکس[۴]آرن، فاز ساکن دستوار، سوانگاری مایع با کارایی بالا، HPLC

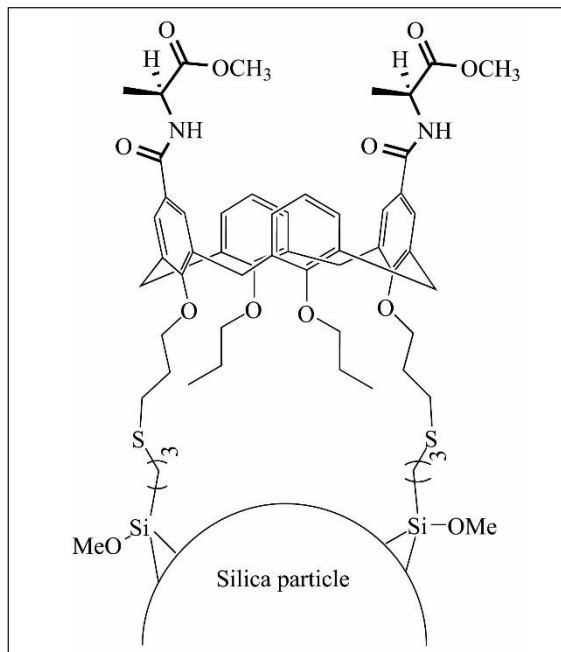
مقدمه

جداسازی ترکیب‌های دستوار^۱، سوانگاری^۲ مایع با کارایی بالا (HPLC) مهم‌ترین و کارآمدترین روش برای تجزیه ترکیب‌های دستوار و به‌دست آوردن ایزومرهای خالص است. توسعه فازهای ساکن دستوار HPLC با توانایی تشخیص دستوارگی بالا به منظور جداسازی مولکول‌های دستوار متفاوت، در زمینه‌های زیادی مانند

انانتیومرهای^۱ ترکیب‌های راسمیک^۲ می‌توانند دارای مقدار سمیت و عملکرد متفاوت در سامانه‌های زیستی باشند. بر این اساس، لازم است تا انانتیومرها در مخلوط‌های راسمیک اندازه‌گیری یا جداسازی شوند. در میان روش‌های متفاوت

1. Enantiomers 2. Racemic compounds 3. Chiral 4. Chromatography

لبه بالایی در شکل ۱ گزارش شده است. از این بستر می‌توان به‌عنوان یک‌فاز ساکن دستوار جدید برای HPLC استفاده کرد. یکی از برتری‌های این فاز ساکن نسبت به برخی از فازهای ساکن دستوار رایج در این است که انتخاب‌گر دستوار در این فاز ساکن با سیلیکا پیوند شیمیایی دارد. از این رو، می‌توان از این فاز ساکن در حلال‌هایی با قطبیت‌های متفاوت (حالت‌های فاز نرمال و معکوس در روش HPLC) استفاده کرد. این فاز ساکن گزینش‌پذیری مناسبی را برای جداسازی انانتیومرهای برخی از ترکیب‌های راسمیک مانند اسیدهای آمینه مشتق شده با ۵،۳-دی نیتروفنیل (DNB) از خود نشان داد.



شکل ۱ ساختار فاز ساکن آلانین متیل استرکالیکس[۴]آرن

بخش تجربی

مواد مورد استفاده

کالیکس[۴]آرن ۱ بر اساس روش گزارش شده [۲۰]، تهیه شد. سیلیکا عامل‌دار شده با گروه‌های مرکاپتو با ۶۲۵ میکرومول از

پژوهش در مورد ترکیب‌های طبیعی، صنعت داروسازی، علوم غذایی و مطالعات زیست‌محیطی بسیار اهمیت دارد. کالیکس[n] آرن‌ها، الیگومرهای حلقوی^۲ یا متاسیکلوفان‌هایی^۳ هستند که از پیوند بخش‌های فنلی با پل‌های متیلنی در موقعیت ارتو نسبت به گروه‌های هیدروکسی ساخته شده‌اند [۱]. کالیکس[n]آرن‌ها پس از سیکلودکسترتین‌ها^۴ و اترهای تاجی^۵ به‌عنوان سومین دسته از درشت‌مولکول‌های گیرنده در نظر گرفته می‌شوند [۲]. علاقه به استفاده از مشتقات کالیکس[n]آرن‌ها به‌عنوان فاز ساکن، روزبه‌روز در حال افزایش است. زیرا مشتق‌های آن‌ها توانایی تشکیل کمپلکس‌های دربرگیرنده^۶ و برهم‌کنش‌های آب‌گریز^۷ و π - π را با آنالیت‌ها دارند. به همین دلایل، تعدادی از مشتق‌های کالیکس[n]آرن‌ها تهیه شده و کاربردشان در زمینه‌های متفاوت سوانگاری مانند سوانگاری گاز^۸ [۳ تا ۵]، الکتروفورز موئینه^۹ [۶ تا ۸]، سوانگاری جنبشی برقی موئینه^{۱۰} [۹] و سوانگاری مایع [۱۰ تا ۱۵] گزارش شده است. به تازگی، گروه ما توانسته یک‌فاز ساکن HPLC جدید را برای جداسازی مشتق‌های ۹-فلوئوریل متوکسی کربونیل (Fmoc) اسیدهای آمینه معرفی کند [۱۶]. در سال‌های اخیر، گزارش‌هایی در رابطه با استفاده از کالیکس[۴]آرن در طراحی فازهای ساکن دستوار برای سوانگاری مایع آورده شده است. دو گیرنده جدید ترکیبی β -سیکلودکسترتین/کالیکس[۴]آرن با موفقیت تهیه شدند و به‌عنوان فاز ساکن دستوار HPLC برای جداسازی داروهای دستوار مورد استفاده قرار گرفتند. این نوع از فازهای ساکن گزینش‌پذیری بسیار خوبی را برای جداسازی ایزومرهای موضعی ترکیب‌های آروماتیک و انانتیومرهای ترکیب‌های دستوار از خود نشان دادند [۱۷ و ۱۸]. در یک گزارش دیگر، ۴ فاز ساکن دستوار از پیوند کالیکس[۴]آرن به آلکالوئیدهای سینچونا^{۱۱} با پیوندهای کاربامات^{۱۲} و اوره^{۱۳} تهیه شدند. این فازهای ساکن ظرفیت جداسازی بالایی را برای انانتیومرهای اسیدهای آمینه از خود نشان دادند [۱۹].

در این پژوهش، مسیر تهیه سیلیکا پیوند خورده به کالیکس[۴]آرن مخروطی^{۱۴} مشتق شده با ۲ گروه L-آلانین متیل استر در

1. Calix[4]arene 2. Cyclic oligomers 3. Metacyclophanes 4. Cyclodextrins 5. Crown ethers 6. Inclusion complexes 7. Hydrophobic 8. Gas chromatography 9. Capillary electrophoresis 10. Capillary electrokinetic chromatography 11. Cinchona alkaloids 12. Carbamate 13. Urea 14. Cone

تهیه ۱۷،۵- دیبرمو ۲۷،۲۵- دیپروپیلاکسی کالیکس [۴]آرن ۳ به محلول ترکیب ۲ (۵،۶۲ گرم، ۱۱،۰۵ میلی مول) در ۲۲۵ میلی لیتر کلروفرم خشک، محلولی از برم (۳،۵۵ گرم، ۲۲،۱۰ میلی مول) در ۲۲۵ میلی لیتر از کلروفرم خشک به صورت قطره قطره در دمای صفر درجه سانتی گراد و در مدت ۲ ساعت افزوده شد. سپس، مخلوط واکنش به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق هم‌زده شد. رسوب سفید تشکیل شده با کاغذ صافی جداسازی و با ۵۰ میلی لیتر دیکلرومتان شسته شد. بازده واکنش ۸۳٪ به دست آمد.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz, ppm) δ : 8.36 (s, 2H, OH), 7.16 (s, 4H, ArH), 6.93 (d, 4H, ArH), 6.80 (t, 2H, ArH), 4.25 (d, 4H, ArCH_2Ar), 3.95 (t, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3.32 (d, 4H, ArCH_2Ar), 2.06 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.29 (t, 6H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

تهیه ۱۷،۵- دیبرمو ۲۷،۲۵- دیپروپیلاکسی کالیکس [۴]آرن ۲- به یس/پروپ ۲-ان-۱- ایل اکسی کالیکس [۴]آرن ۴ به مخلوط تعلیقه ترکیب ۳ (۳،۳۵ گرم، ۵،۰۳ میلی مول) در حلال خشک DMF، سدیم هیدرید (۱،۲۱ گرم، ۵،۰۳ میلی مول) و آلایل برمید (۴،۸۷ گرم، ۴،۰۲۶ میلی مول) افزوده و مخلوط واکنش به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۹۰ °C هم‌زده شد. پس از اتمام واکنش، ۱۰۰ میلی لیتر هیدروکلریک اسید ۰،۱ نرمال به مخلوط واکنش افزوده و محتویات ظرف به مدت ۴۵ دقیقه هم‌زده شد. در ادامه، رسوب تشکیل شده با استفاده از کاغذ صافی جداسازی و با متانول شسته شد. بازده واکنش ۸۹٪ به دست آمد.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz, ppm) δ : 7.18 (s, 4H, ArH), 6.41 (m, 6H, ArH and $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.32 (d, 2H, ArH), 5.17 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 4.61 (d, 4H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 4.39 (d, 4H, ArCH_2Ar), 3.73 (t, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3.14 (d, 4H, ArCH_2Ar), 1.93 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.09 (t, 6H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

SH در یک گرم از سیلیکا بر اساس دستور کار گزارش شده [۲۱] و با استفاده از LiChrosper Si100 (5 μm) خریداری شده از شرکت مرک آماده سازی شد. آزیسیازوبوتیرونیتریل (AIBN)، سدیم هیدرید (NaH)، $\text{N}\cdot\text{N}$ -دی متیل فرمامید (DMF) و تمامی حلال های مصرفی از شرکت مرک خریداری شدند. لیتیم n -بوتیل (n-BuLi)، ۱-یدوپروپان، برم، تری اتیل آمین (NEt_3) و برمید آلایل از شرکت آلد ریج خریداری شدند. اگزالیل کلرید و L-آلانین متیل استر هیدروکلرید از شرکت فلوکا تهیه شدند. همه مواد بدون هیچ فراوری خاصی استفاده شدند.

تهیه ۲۷،۲۵- دیپروپیلاکسی کالیکس [۴]آرن ۲ به مخلوط تعلیقه کالیکس [۴]آرن ۱ (۶ گرم، ۱۴،۱۴ میلی مول) و پتاسیم کربنات (۷،۸ گرم، ۵۶،۴ میلی مول) در ۲۰۰ میلی لیتر استونیتریل به صورت قطره قطره ۱- یدوپروپان (۹،۵۸ گرم، ۵۶،۴ میلی مول) افزوده شد. سپس، مخلوط واکنش به مدت ۲۴ ساعت بازروانی^۱ شد. حلال پس از اتمام واکنش، با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخان تحت خلأ حذف شد. سپس، به باقی مانده ظرف واکنش ۱۰۰ میلی لیتر هیدروکلریک اسید ۱۰٪ به همراه ۱۰۰ میلی لیتر دی کلرومتان افزوده و محتویات ظرف به مدت نیم ساعت هم‌زده شد. فاز آلی با قیف جداکننده جداسازی و دو بار و هر بار با ۱۰۰ میلی لیتر آب شسته شد. در ادامه، از سدیم سولفات برای حذف آب باقی مانده در فاز آلی استفاده و حلال دی کلرومتان با دستگاه تبخیرکننده چرخان حذف شد. با استفاده از حلال های دی کلرومتان و متانول و تبلور مجدد ماده جامد سفیدرنگ با بازده ۶۴٪ به دست آمد.

Mp: 268-270 °C; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz, ppm) δ : 8.32 (s, 2H, OH), 7.10 and 6.95 (d, 8H, ArH meta), 6.78 and 6.70 (t, 4H, ArH para), 4.38 (d, 4H, ArCH_2Ar), 4.02 (t, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3.43 (d, 4H, ArCH_2Ar), 2.13 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.36 (t, 6H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

(۰٫۴۹ گرم، ۳٫۵۰ میلی مول) و تریاتیلآمین (۰٫۵۶ گرم، ۵٫۶ میلی مول) در ۳۰ میلی لیتر حلال دیکلرومتان خشک در دمای صفر درجه سانتی گراد افزوده شد. در ادامه، مخلوط واکنش به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق هم زده شد. ترکیب ۷ با استفاده از سوانگاری ستونی سیلیکاژل با نسبت حلال ۶ به ۱ از حلال‌های دیکلرومتان و اتیل استات خالص سازی شد. بازده واکنش ۶۵٪ به دست آمد. نتایج به دست آمده برای آلانین متیل استر-کالیکس[۴]آرن به شرح زیر است.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz, ppm) δ : 7.57 (d, 4H, aromatic), 6.70 (d, 2H, NH), 6.39 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 6.22 (t, 2H, aromatic), 6.13 (dd, 4H, aromatic), 5.10 (m, 4H, OCH₂CHCH₂), 4.82 (m, 2H, CH, alanine), 4.68 (d, 4H, OCH₂CHCH₂), 4.40 (d, 4H, H_{ax} of ArCH₂Ar), 3.81 (s, 6H, OCH₃), 3.68 (t, 4H, OCH₂CH₂CH₃), 3.22 (d, 4H, H_{eq} of ArCH₂Ar), 1.89 (m, 4H, OCH₂CH₂CH₃), 1.55 (d, 6H, CH₃, alanine), 1.09 (t, 6H, OCH₂CH₂CH₃). HR-ESI-MS (pos, MeOH): m/z [M⁺] calcd. for C₅₀H₅₈N₂O₁₀: 846.4091; found: 846.4083.

آماده سازی فاز ساکن دستوار

از دستور کار زیر، به منظور پیوند آلانین متیل استر-کالیکس[۴] آرن به سطح سیلیکا استفاده شد: به مخلوط تعلیق ۲٫۵ گرم از سیلیکا عامل دار شده با گروه‌های مرکاپتو در ۱۰۰ میلی لیتر از کلروفرم خشک، ۰٫۹ گرم از آلانین متیل استر-کالیکس[۴]آرن به همراه ۱۰۰ میلی گرم از AIBN افزوده شد. سپس، مخلوط واکنش به مدت ۲۴ ساعت تحت جریان گاز آرگون بازروانی شد. پس از اتمام واکنش ذره‌های سیلیکا با صافی جداسازی و به ترتیب با کلروفرم (۲×۲۵ ml)، متانول (۳×۲۵ ml)، استون (۳×۲۵ ml)، تتراهیدروفوران (۳×۲۵ ml) و دی اتیل اتر (۳×۲۵ ml) شسته شدند. در ادامه، تحت شرایط خالص در دمای ۶۰ °C به مدت ۱۲ ساعت خشک شدند. برای کاهش فعالیت گروه‌های مرکاپتو باقی مانده در سطح سیلیکا،

تهیه ۱۷،۵- دیکربوکسی ۲۷،۲۵- دیپروپیلاکسی ۲۸،۲۶- به یس(پروپ - ۲- ان - ۱- ایل اکسی) کالیکس[۴]آرن ۵ به محلول ترکیب ۴ (۳٫۹۷ گرم، ۵٫۳۳ میلی مول) در ۲۰۰ میلی لیتر حلال تتراهیدروفوران در دمای ۷۸ °C- و تحت جریان گاز آرگون، لیتمپ n-بوتیل (۹٫۳ میلی لیتر، ۱٫۵۱ مولار، ۱۴ میلی مول) افزوده شد. محلول زرد رنگ به دست آمده، به مدت ۱۵ دقیقه تحت جریان گاز آرگون و در دمای ۷۸ °C- هم زده شد. سپس، به مدت ۳۰ دقیقه جریان گاز کربن دی اکسید از درون محلول عبور داده شد. پس از اتمام واکنش ۲۰۰ میلی لیتر هیدروکلریک اسید ۲ مولار به ظرف واکنش افزوده و محتویات ظرف واکنش طی دو مرحله با ۱۰۰ میلی لیتر دیکلرومتان استخراج شد. در ادامه، فاز آلی طی دو مرحله با ۱۰۰ میلی لیتر آب شسته شد در نهایت، با سدیم سولفات خشک و حلال آن با استفاده از دستگاه تبخیر کننده چرخان حذف شد. با استفاده از تبلور مجدد با حلال اتانول، ماده مورد نظر خالص سازی شد. بازده واکنش ۶۵٪ به دست آمد.

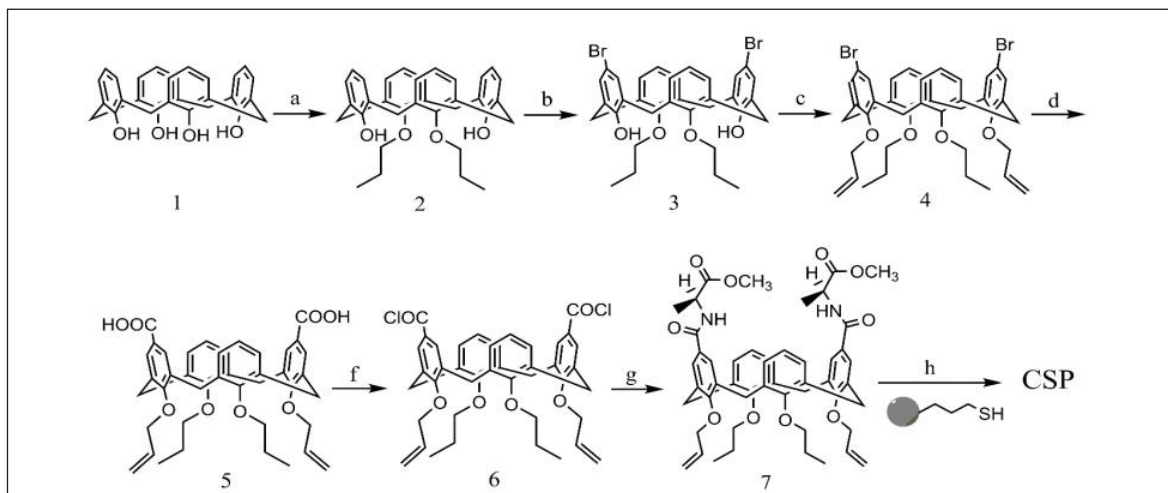
¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz, ppm) δ : 12.80 (s, 2H, COOH), 7.19 (d, 4H, ArH), 7.05 (t, 2H, ArH), 6.82 (s, 4H, ArH), 6.15 (m, 2H, OCH₂CHCH₂) 5.33 (m, 4H, OCH₂CHCH₂), 4.45 (d, 4H, ArCH₂Ar), 4.27 (d, 4H, OCH₂CHCH₂), 4.02 (t, 4H, OCH₂CH₂CH₃), 3.19 (d, 4H, ArCH₂Ar). 1.94 (m, 4H, OCH₂CH₂CH₃), 0.89 (t, 6H, OCH₂CH₂CH₃).

تهیه آلانین متیل استر-کالیکس[۴]آرن ۷

۳ میلی لیتر اگزالیل کلرید به محلول ترکیب ۵ (۱ گرم، ۱٫۴۷ میلی مول) در ۵۰ میلی لیتر دیکلرومتان خشک افزوده و در ادامه، مخلوط واکنش به مدت ۵ ساعت بازروانی شد. سپس، با حذف حلال واکنش با دستگاه تبخیر کننده چرخان، ترکیب ۶ به دست آمد. به منظور پیوند L-آلانین متیل استر به ترکیب ۶ محلولی از ۶ (۱ گرم، ۱٫۴۰ میلی مول) در ۳۰ میلی لیتر دیکلرومتان خشک به صورت قطره قطره به محلولی از L-آلانین متیل استر هیدروکلرید

صافی جداسازی شده و به ترتیب با کلروفرم (۳×۲۵ ml)، متانول (۳×۲۵ ml)، استون (۳×۲۵ ml)، تتراهیدروفوران (۳×۲۵ ml) و دیاتیل اتر (۳×۲۵ ml) شسته شدند. در ادامه، تحت شرایط خلأ در دمای ۶۰°C به مدت ۱۲ ساعت خشک شدند.

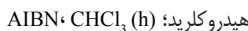
ذره‌های سیلیکا مرحله پیش را به درون ۱۰۰ میلی‌لیتر کلروفرم خشک به‌همراه ۵ میلی‌لیتر ۱-هگزن و ۱۰۰ میلی‌گرم از AIBN افزوده و سپس، مخلوط واکنش به مدت ۲۴ ساعت تحت جریان گاز آرگون بازروانی شد. ذره‌های سیلیکا پوشش داده‌شده با



شکل ۲- مسیر واکنش برای آماده سازی فاز ساکن آلانین متیل استر-کالیکس[۴]آرن



NaH/DMF ، $\text{C}_3\text{H}_7\text{Br}$ ، DMF (c)؛ Br_2 ، CHCl_3 (b)



اکزالیل کلرید؛ CO_2 ، $n\text{-BuLi}$ ، THF (d)؛ L-NEt_3 ، CH_2Cl_2 (g)

پروپیل استخلاف شده‌اند و دواتم اکسیژن باقی‌مانده نیز با رابط $(-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}-)$ به سطح سیلیکا متصل شده‌اند. بنابراین، انتظار صورت‌بندی مخروطی را برای فاز ساکن تهیه‌شده داریم که این امر نیز با دو شکافت دوتایی (۴ ppm، ۳٫۲۲ ppm) در طیف $^1\text{H-NMR}$ ترکیب ۵ تأیید می‌شود.

نتیجه‌ها و بحث

ساختار فاز ساکن دستوار آلانین متیل استر-کالیکس[۴]آرن

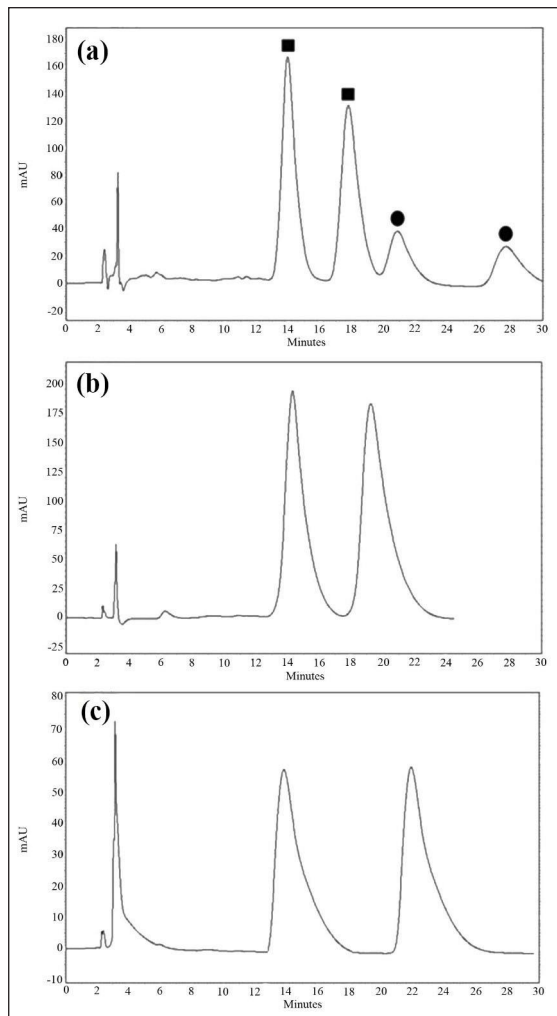
کالیکس[۴]آرن به دلیل چرخش آزاد گروه متیلنی دور پیوندهای خود، چهار صورت‌بندی متفاوت را از خود نشان می‌دهد. این چهار صورت‌بندی مخروطی، نیم‌مخروطی، ۱-۲، ۲-۱ در میان ۳ و ۳-۱ در میان ۴ هستند. هنگامی که گروه‌های OH در لبه پایینی کالیکس[۴]آرن با گروه‌های پروپیل جایگزین می‌شوند، تنها صورت‌بندی مخروطی مشاهده می‌شود [۲۲] که این صورت‌بندی به صورت دو شکافت دوتایی برای پروتون‌های متیلن‌های پل در طیف $^1\text{H-NMR}$ قابل مشاهده است [۱ و ۲۳]. در ساختار تهیه‌شده حاضر، دواتم اکسیژن در لبه پایینی با گروه‌های

محاسبه مقدار پیوند/انتخاب‌گر دستوار به سطح سیلیکا

مقدار گروه‌های پیوند خورده به سطح سیلیکا با استفاده از معادله برندنسن و دی گالن به‌دست می‌آید [۲۱]:

$$\alpha \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{m}^2} \right) = \frac{10^6 p_c}{1200 n_c - p_c (M - 1)} * \frac{1}{S}$$

1. Cone 2. Partial Cone 3. 1,2-Alternate 4. 1,3-Alternate



شکل ۳ سوانگاشت‌های مربوط به جداسازی (a) DNB- آلانین (■)، DNB- متیونین (●)، (b) DNB- لوسین، (c) DNB- والین. (شرایط سوانگاری: فاز متحرک: هگزان-۲، پروپانول تری فلونور استیک اسید با نسبت حجمی- حجمی ۰/۱۱۵/۸۵، سرعت فاز متحرک: ۱ ml.min⁻¹، طول موج دتکتور: ۲۵۴ nm)

که در آن p_c درصد کربن لیگاند پیوندی، n_c تعداد اتم‌های کربن لیگاند پیوندی، M وزن مولکولی لیگاند پیوند خورده و S مساحت سطح ویژه سیلیکا است. با توجه با نتایج تجزیه عنصری برای سیلیکا عامل‌دار شده با گروه‌های مرکاپتو (C: % ۴٫۷۶، H: % ۰٫۸۲) و سیلیکا پیوند خورده به انتخاب‌گر دستوار (C: % ۱۰٫۵۹، H: % ۱٫۴۸) و با معادله یادشده مقدار انتخاب‌گر پیوند خورده به سطح سیلیکا برابر با $۰٫۴۱ \mu\text{mol.m}^{-2}$ به دست آمد. همچنین، با توجه به مساحت سطح ویژه سیلیکا مورد استفاده ($۳۰۰ \text{m}^2.\text{g}^{-1}$)، می‌توان عدد $۱۲۰ \mu\text{mol.g}^{-1}$ را نیز به دست آورد.

کارایی فاز ساکن تهیه شده در جداسازی انانتیومرها

برای بررسی توانایی فاز ساکن تهیه شده در جداسازی انانتیومرها، مخلوط‌های راسمیک چند اسید آمینه مشتق شده با ۳-۵ دی‌نیتروفنیل (DNB) به ستون تزریق شد. در شکل ۳، سوانگاشت‌های مربوط به جداسازی اسیدهای آمینه مشتق شده نشان داده شده است.

نتیجه گیری

فاز ساکن دستوار جدیدی بر پایه کالیکس[۴]آرن برای استفاده در HPLC با موفقیت تهیه شد. نتایج به دست آمده از جداسازی مشتق‌های اسیدهای آمینه نشان می‌دهد که این فاز ساکن دارای پتانسیل خوبی برای جداسازی ترکیب‌های دستوار است. به طور کلی، کالیکس[۴]آرن‌ها گزینه مناسبی برای توسعه فازهای ساکن هستند زیرا می‌توان مشتق‌های متفاوتی را به سهولت در لبه بالا و پایین کالیکس[۴]آرن تهیه کرد و در نتیجه برهم کنش‌های متفاوتی را از آن‌ها با آنالیت‌ها انتظار داشت.

مراجع

- [1] Gutsche, C.D.; "Calixarenes: an introduction", Royal Society of Chemistry, London, 2008.
- [2] Sirit, A.; Yilmaz, M.; Turkish Journal of Chemistry 33, 159-200, 2009.
- [3] Yu, X.; Fang, H.; Lin, L.; Han, H.; Wu, C.; Chromatographia 53, 519-524, 2001.
- [4] Delahousse, G.; Peulon-Agasse, V.; Debray, J.-C.; Vaccaro, M.; Cravotto, G.; Jabin, I;

- Cardinael, P.; *Journal of Chromatography A* 1318, 207-216, 2013.
- [5] Fan, J.; Wang, Z.; Li, Q.; Qi, M.; Shao, S.; Fu, R.; *Journal of Chromatography A* 1362, 231-240, 2014.
- [6] Wang, Z.; Chen, Y.; Yuan, H.; Huang, Z.; Liu, G.; *Electrophoresis* 21, 1620-1624, 2000.
- [7] Yang, W.C.; Yu, X.D.; Yu, A.M.; Chen, H.Y.; *Journal of Chromatography A* 910, 311-318, 2001.
- [8] Zhou, X.; Li, X.; Zeng, Z.; *Journal of Chromatography A* 1104, 359-365, 2006.
- [9] Hamilton, K.; Ph.D. thesis, Louisiana State University, 2003.
- [10] Barc, M.; Śliwka-Kaszyńska, M.; *Journal of Chromatography A* 1216, 3954-396, 2009.
- [11] Erdemir, S.; Yilmaz, M.; *Talanta* 82, 1240-1246, 2010.
- [12] Hu, K.; Zhang, Y.; Liu, J.; Chen, K.; Zhao, W.; Zhu, W.; Song, Z.; Ye, B.; Zhang, S.; *Journal of Separation Science* 36, 445-453, 2013.
- [13] Lu, J.; Zhang, W.; Zhang, Y.; Zhao, W.; Hu, K.; Yu, A.; Liu, P.; Wu, Y.; Zhang, S.; *Journal of Chromatography A* 1350, 61-67, 2014.
- [14] Śliwka-Kaszyńska, M.; Ślebioda, M.; *Journal of Separation Science* 37, 543-550, 2014.
- [15] Deng, Z.; Liu, J.; Hu, C.; Yang, L.; Du, H.; Hu, K.; Huang, Y.; Yang, X.; Jiang, Q.; Zhang, S.; *Journal of Separation Science* 37, 3268-3275, 2014.
- [16] Zadward, R.; Tabar-Heydar, K.; Imani, M.; *Journal of Chromatographic Science* 53, 702-707, 2014.
- [17] Chelvi, S.T.; Yong, E.; Gong, Y.; *Journal of Chromatography A* 1203, 54-58, 2008.
- [18] Chelvi, S.T.; Zhao, J.; Chen, L.; Yan, S.; Yin, X.; Sun, J.; Yong, E.; Wei, Q.; Gong, Y.; *Journal of Chromatography A* 1324, 104-108, 2014.
- [19] Krawinkler, K.H.; Maier, N.M.; Sajovic, E.; Lindner, W.; *Journal of Chromatography A* 1053, 119-131, 2004.
- [20] Mohindra Chawla, H.; Srinivas, K.; *Indian Journal of Chemistry -Section B* 32, 1162-1164, 1993.
- [21] Huang, G.; Ou, J.; Zhang, X.; Ji, Y.; Peng, X.; Zou, H.; *Electrophoresis* 35, 2752-2758, 2014.
- [22] Ikeda, A.; Shinkai, S.; *Chemical Reviews* 97, 1713-1734, 1997.
- [23] Iwamoto, K.; Araki, K.; Shinkai, S.; *The Journal of Organic Chemistry* 56, 4955-4962, 1991.

Synthesis of alanine methyl ester-calix[4]arene-appended silica particles as a chiral stationary phase for HPLC

Sadegh Yaghoubnejad¹, Kourosh Tabar Heydar^{2,*}, Seyyed Hamid Ahmadi³, Reza Zadmand⁴

1. Ph.D. Institute of Clean Technologies, Chemistry and Chemical Engineering Research Center of Iran, Tehran, Iran
2. Assistant Prof. Institute of Clean Technologies, Chemistry and Chemical Engineering Research Center of Iran, Tehran, Iran
3. Assistant Prof. Institute of Clean Technologies, Chemistry and Chemical Engineering Research Center of Iran, Tehran, Iran
4. Assistant Prof. Department of Organic Chemistry, Chemistry and Chemical Engineering Research Center of Iran, Tehran, Iran

Received: November 2017, Revised: December 2017, Accepted: January 2018

Abstract: Here we report the synthesis of a novel covalently immobilized calix[4]arene derivative as a chiral stationary phase (CSP) for HPLC. In the structure of CSP, the upper rim of calix[4]arene is substituted with two L-alanine units and the lower rim of calix[4]arene is linked to the silica gel by thiol-ene click chemistry. Elemental analysis of the CSP showed 120 μmol of chiral selector bonded per gram of silica gel. 1-Hexene was used for end-capping of unreacted mercapto groups on silica gel. The CSP is chemically bonded to the silica and can be used in the normal-phase mode, reversed-phase mode, and with halogenated solvents mobile phases, if desired. The chromatographic performance of the CSP was evaluated with enantioseparation of the 3,5-dinitrobenzoyl (DNB) derivatives of some amino acids.

Keywords: Calix[4]arene, chiral stationary phase, high-performance liquid chromatography, HPLC