Farmacie 1-06 18.1.2006 13:47 Str. 12
proLékaře.cz | 31.12.2025

ČESKÁ A SLOVENSKÁ FARMACIE
Ročník LV – Číslo 1 – LEDEN 2006

INTERKONVERZIA STEREOCHEMICKY NESTÁLYCH CHIRÁLNYCH LIEČIV – VYUŽITIE CHROMATOGRAFICKÝCH TECHNÍK NA ŠTÚDIUM ENANTIOMERIZÁCIE ČASŤ II: PRAKTICKÉ APLIKÁCIE*

FEDURCOVÁ A., LEHOTAY J., ČIŽMÁRIK J.[1]

Univerzita Komenského v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Katedra analytickej chémie, SR
[1]Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutickej chémie, SR

SÚHRN

Interkonverzia stereochemicky nestálych chirálnych liečiv – využitie chromatografických techník na štúdium enantiomerizácie
Časť II: Praktické aplikácie

Enantiomerizácia je reakciou prvého poriadku, ide o tzv. interkonverziu jedného enantioméru na druhý a naopak. Tento jav typický pre konfiguračne nestále chirálne zlúčeniny a predstavuje komplikáciu pri separácii racemických zmesí. Na štúdium tohto procesu boli použité jednak chromatografické separačné metódy, konkrétne – GC, SFC, CE, MEKC, HPLC ale aj NMR. Chromatografické metódy možno rozdeliť do dvoch skupín, prvú tvorí dynamická chromatografia (ak je rýchlosť enantiomerizácie približne rovnaká ako rýchlosť separácie), alebo tzv. metóda zastavenia prietoku (stopped – flow), kedy je rýchlosť enantiomerizácie a separácie rôzna. Táto práca poskytuje prehľad výskumu tejto problematiky od roku 1975, kedy boli publikované práce podrobnejšie opisujúce tento fenomén až po súčasnosť. Dnes sa bežne používajú zložité matematické funkcie a počítačové dekonvolučné programy pre opis tohto procesu, výpočet termodynamických parametrov (ΔGapp, ΔHapp, ΔSapp) a určenie rýchlostných konštánt enantiomerizácie (k1app, k(-1)app). Cieľom väčšiny prác bolo nielen získať termodynamické údaje t. j. hodnotu energetickej bariéry enantiomerizácie, ale v niektorých prípadoch sa skúmal vplyv chirálnej stacionárnej fázy na enantiomerizáciu, resp. enantiomerizácia sa použila na preparatívne účely, konkrétne na získanie čistého enantioméru, čím sa obišla náročná syntéza.

K ľ ú č o v é s l o v á: enantiomerizácia – interkonverzia – konfiguračne nestále liečivá – rýchlostné konštanty – chromatografické metódy

Čes. slov. Farm., 2006; 55, p. 12–17

SUMMARY

Interconversion of Stereochemically Unstable Chiral Drugs: Utilization of Chromatographic Techniques for the Study of Enantiomerization
Part II: Practical Applications

Enantiomerization is a first-order reaction; it means interconversion of one enantiomer into another (and vice versa). This phenomenon is a typical feature of some configurationally unstable chiral compounds and it complicates separation of racemic mixtures. For the study of enantiomerization, chromatographic separation techniques (GC, SFC, CE, MEKC, HPLC) and NMR can be used. Chromatographic methods suitable for investigation of enantiomerization include dynamic chromatography (if time scales of enantiomerization and separation are the same) and stopped-flow chromatography (time scales of both processes are different). The present paper surveys the research of enantiomerization from 1975, when papers describing enantiomerization in greater detail were published, to the present. Today, mathematical approaches and computer-assisted deconvolution procedures are commonly used for evaluation of enantiomerization – calculation of thermodynamic parameters (ΔGapp, ΔHapp, ΔSapp) and rate constants (k1app, k(-1)app). The aim of many publications was not only determination of the enantiomerization energy barrier, but the influence of the chiral stationary phase on enantiomerization was studied as well. In some cases, enantiomerization was used for preparative purposes – a pure enantiomer was obtained and thus complicated synthesis was excluded.

K e y w o r d s: enantiomerization – interconversion – configuration unstable drugs – kinetic rate constants – chromatographic methods

Čes. slov. Farm., 2006; 55, p. 12–17 *Má*

*I. časť: Čes., slov. Farm., 2005, 54, 256–261.

proLékaře.cz | 31.12.2025

Cieľom enantioselektívnej chromatografie je kvantitatívna separácia enantiomérov v chirálnom prostredí pre analytické a preparatívne účely. Podmienkou úspešnej separácie je to, aby chirálny selektor (stacionárna fáza) bol schopný rozlíšiť oba enantioméry, niekedy však môžu nastať situácie, kedy na chromatografickom zázname pozorujeme iba jeden pík, dochádza ku koelúcii enantiomérov, ale nie vinou zlej voľby separačných podmienok, ale dôvodom sú špecifické, tzv. koalescenčné fenomény:

– interkonverzia (napr.: enantiomerizácia);

– entalpicko-entropická kompenzácia – existuje tzv. izoenantioselektívna teplota, kedy je príspevok entalpie a entropie k separácii enantiomérov rovnaký a zmena voľnej Gibbsovej energie je rovná nule, čo v praxi znamená, že na chromatografickom zázname pozorujeme iba jeden pík. Nad touto teplotou dochádza k výmene elučného poradia enantiomérov;

– prídavok chirálneho selektora do mobilnej fázy, resp. pri tandemovom usporiadaní chromatografických kolón, prítomnosť druhého chirálneho selektora s opačnou enantioselektivitou môže spôsobiť koelúciu.

Predmetom tejto práce je koalescencia spôsobená enantiomerizáciou, na jej štúdium je možné použiť niekoľko experimentálnych prístupov:

– klasická kinetika spolu s enantioselektívnou separáciou [1],

– metóda kontinuálneho prietoku [2, 3] I.,

– porovnanie experimentálne získaných chromatogramov so simulovanými (analýza tvaru píkov) [4–6],

– metóda zastaveného prietoku [7–13] I.,

– stochastické metódy [7, 14–18] I.,

– AF [19] – umožňujú výpočet priamej a protismernej rýchlostnej konštanty (k_1^{approx}) enantiomerizácie priamo z chromatografických parametrov (t_R^A, t_R^B, w_h^A, w_h^B, $h_{plató}$, N), ktoré sú vstupnými údajmi pri výpočte. Schurig et al. [19] validoval použitie AF na umelo vytvorených súboroch pozostávajúcich z 15 625 chromatogramov,

– dekonvolučné metódy [20, 21] I., ich použitie je veľmi zložité a do určitej miery obmedzené správnou pre – estimáciou (počiatočným odhadom) rýchlostnej konštanty.

Metódy označené rímskou I. sú podrobnejšie vysvetlené v I. časti.

Plynová chromatografia (GC)

Prvá zmienka o vzniku tzv. reakčnej zóny (plató) počas chromatografickej separácie pochádza od Schuriga et al. [22], ktorý zaviedol pojem enantiomerizácia.

Bürkle et al. [4] uskutočnil prvú dekonvolúciu chromatografických záznamov použitím počítačovej simulácie.

Weseloh [23, 24] a Mariot [25, 26] opísali izomerizačný proces zlúčenín chrómu a aldoxímov v plynovo-chromatografickom reaktore. Informácie o použití programu SIMUL a jeho aplikácie pri určovaní energetickej bariéry 1,2,3,3-tetrametylaziridínu, 1-izopropyl-3,3-dimetylaziridínu sú publikované v literatúre [27]. Roth et al. [28] použil program SIMUL pri separácii 2,6-dimetylén-bicyclo[3.1.0]hexánu. Enantiomerizácia konfiguračne nestálych zlúčenín bola študovaná a kvantifikovaná pomocou komplexačnej GC [29].

Trapp [30] aplikoval AF pre rýchle určenie termodynamických parametrov (k_1, k_{-1}, ΔG^{app}) z chromatografických parametrov bez náročnej počítačovej simulácie. Študoval axiálne chirálne alény. Elučné profily získané počas experimentu vykazovali znaky enantiomerizácie (plató medzi dvoma píkmi). Na separáciu enantiomérov bola použitá kvapalná chirálna stacionárna fáza Chirasil-β-Dex. Hodnoty boli porovnané s doplnokovou simuláciou pomocou počítačového programu ChromWin. Eyringové aktivačné parametre boli vypočítané nasledovne: ΔG^{app}(298,15 K) = 103,6±0,9 kJ/mol, ΔH^{app} = 44,7 ±0,4 kJ/mol, ΔS^{app} = -198±7 J/K.mol pre dimetyl-1,3-alléndikarboxylát, a ΔG^{app}(298,15 K) = 103,5± 1,1 kJ/mol, ΔH^{app} = 44,7±0,5 kJ/mol, ΔS^{app} = -197 ±9 J/K.mol pre dietyl-1,3-alléndikarboxylát.

Reist et al. [31] vyhodnotila chromatografické záznamy 2,2'-diizopropylbifenylu pomocou programu SIMUL a porovnala získané údaje s polarimetrickými meraniami. Rotačná energetická bariéra (ΔG^{app}) racemátu mala hodnotu 114,6–115,0 kJ/mol (75100 °C), rovnakú ako hodnota energetickej bariéry určená predchádzajúcimi meraniami, žiaden merateľný katalytický alebo inhibičný efekt stacionárnej fázy nebol preukázaný. Hochmuth [32] určil rotačnú energetickú bariéru dioxa[11]paracyklofánu, cyklického karboxy[11]paracyklofánu, Trapp a Schurig [6, 7] určili rotačnú energetickú bariéru Törgerových báz, kombináciou DGC a sfGC určili rotačnú energetickú bariéru thalidomidu.

Trapp [33] použil dynamickú chromatografiu a metódu zastaveného prietoku (stopped-flow, sf) pre určenie enantiomerizačnej energetickej bariéry thalidomidu v teplotnom intervale 190–220 °C. K získaniu rýchlostných konštánt z experimentálnych údajov bol použitý program ChromWin. Enantiomerizačná bariéra mala hodnotu ΔG^{app} = 154±2 kJ/mol v DGC a 150±3 kJ/mol v sfGC technike pri 200 °C. Koncept retenčného inkrementu *R*' bol aplikovaný pre lepšie rozlíšenie enantiomerizačnej bariéry thalidomidu v jeho rozpustenom a komplexonom stave s chirálnou stacionárnou fázou.

Schurig et al. [34] určil energetickú bariéru enantiomerizácie 2,2', 3,3', 4,6' -hexachlórobifenylu (PCB 132). GC separácii predchádzala predseparačná úprava použitím HPLC a permetylovaného-β-cyclodextrínu zakotveného na polysiloxáne (Chirasil-Dex) ako chirálnej stacionárnej fázy, iba jeden enantiomér bol predmetom štúdia kinetiky enantiomerizácie pomocou chirálnej CG.

Reich et al. [35] určila enantiomerizačnú bariéru 1-chlóro-2,2-dimetylaziridínu teplotnou štúdiou a vypočítala aktivačné parametre pomocou počítačovej simulácie programom ChromWin. Enantioselektívna multidimenzionálna GC s technikou zastavenia prietoku (sfMDGC) bola použitá k určeniu enantiomerizačnej (interkonverznej) bariéry. Po kompletnej GC separácii enantiomérov v prvej kolóne, v druhej kolóne za zvýšenej teploty nastala enantiomerizácia heart-cut frakcií jednotlivých enantiomérov v plynnej fáze, následne boli tieto frakcie separované na jednotlivé enantioméry v tretej kolóne. Zo získaných de novo plôch píkov prislúchajúcim jednotlivým enantiomérom a_j, z enantiomerizačného času t a enantiomerizačnej teploty T, boli vypočítané termodynamické parametre enantiomerizačná bariéra v plynnej

proLékaře.cz | 31.12.2025

fáze (dusíku) – $\Delta G^{app}_{gas}(T)$, aktivačná entalpia ΔH^{app}_{gas} a aktivačná entropia ΔS^{app}_{gas}: ΔG^{app}_{gas}(353 K)=110,5±0,5 kJ/mol, ΔH^{app}_{gas}=71,0±3,8 kJ/mol a ΔS^{app} = -109±11 J/K.mol. Doplnkovou metódou GC bola určená zdanlivá enantiomerizačná (inverzná) bariéra 1-chlóro-2,2-dimetylaziridínu v dvojfázovom systéme plyn – kvapalina, ΔG^{app} (353 K)=108 kJ/mol. Hodnoty získané touto metódou v plynnej fáze boli použité na výpočet aktivačných parametrov interkonverzie 1-chlóro-2,2-dimetylaziridínu v kvapalnej faze v prítomnosti chirálneho selektora Chirasil–nickel(II): ΔG^{app}_{liq}(353 K) = 106,0 ±0,4 kJ/mol, ΔH^{app}_{liq}=68,3±1,4 kJ /mol a ΔS^{app}_{liq}= -106±3,0 J/K.mol.

Marriott et al. [36] použil dvojrozmernú plynovú chromatografiu pre získanie informácií o dynamickom správaní sa oxímov (GCxGC). Interkonverzný proces nastal v oboch kolónach. Experiment vyžadoval úpravu rozmerov kolón a nájdenie takých experimentálnych podmienok, ktoré by boli vhodné pre obe kolóny. V tomto prípade dlhšie kolóny bežne používané v GCxGC umožnili dostatočné trvanie retencie, na druhej strane poskytli priestor pre enantiomerizáciu. Rozsah interkonverzie závisel od teploty, retenčného času a type stacionárnej fázy. Polyetylén-glykolové stacionárne fázy poskytovali vysokú hodnotu interkonverzie, naopak v prítomnosti polyetylén-glykolovej stacionárnej fázy zakončenej kyselinou tereftalovou bol rozsah interkonverzie menší. Najmenší rozsah interkonverzie bol pozorovaný v prítomnosti fenyl-metylpolysiloxánovej a cyklodextrínovej stacionárnej fázy. Sú ukázané príklady rôznych rozsahov interkonverzie v dvojrozmernom systéme, zahrňujúc koalescenciu píkov v prvej kolóne s následnou nízkou interkonverziou v druhej kolóne.

Reich a Schurig [9, 37] určili bariéru enantiomerizácie 2,2', 3,5', 6-pentachlórobifenylu (PCB 95), 2,2', 3,3', 4,6-hexachlórobifenylu (PCB 132), 2,2', 3,3', 6,6-hexachlórobiphenylu (PCB 136), 2,2', 3,4', 5', 6-hexachlórobifenylu (PCB 149), rotačná bariéra ΔG^{app} (T) štyroch atropoizomérnych polychlórovaných bifenylov bola určená via on-line enantiomerizáciou v sfMDGC, pre separáciu enantiomérov použili Chirasil-Dex ako chirálnu stacionárnu fázu. Vypočítaná rotačná energetická bariéra ΔG^{app} (T) trichloro-orto-substitutovaných atropizomérov bola 184±2 kJ/mol pre PCB 95, 189±4 kJ/mol pre PCB 132, a 184±1 kJ/mol pre PCB 136 pri 300 °C. Rotačná energetická bariéra ΔG^{app} (T) tetrachloro-orto-substituovaných derivátov bola 210 kJ/mol pri teplote 320 °C.

Schurig et al. [38] určili enantiomerizačnú bariéru dimetyl-2,3-pentadienoátu. Chirálne allény podliehali interkonverzii v prítomnosti dvoch polymérnych chirálnych stacionárnych fáz Chirasil-Nickel a Chirasil-Dex pri laboratórnej teplote. Enantiomerizačná bariéra dimetyl-2,3-pentadienoátu bola určená DGC via počítačovou simuláciou interkonverzného elučného profilu a pomocou sfMDGC. Výsledky porovnané s NMR spektroskopiou boli rovnaké.

Vysokoúčinná kvapalinová chromatografia (HPLC)

Gasparrini et al. [39] opisuje výhody použitia HPLC metódy pre štúdium enantiomerizačných procesov v porovnaní s DGC a DCE.

Melander et al. [40] napísal teoretický článok o určení rýchlostných konštánt dipeptidov obsahujúcich prolín v dynamickej chromatografii za použitia obrátených fáz. Lebl [43] prezentoval metódu pre výpočet rýchlostných konštánt z plôch interkonverzného profilu pre anomér muramyldipeptidu.

Moriyasu et al. [41, 42] aplikovali metódu z literatúry [43] pre ohodnotenie elučného profilu muramyldipeptidu, Stephan et al. [14] určili energetickú bariéru cis-trans o-substituovaných acetanilidov pomocou dynamickej HPLC, Venciana et al. [15] určili energetickú bariéru 2,2'-spirobichrómanov, tris(2,4,6-trichlofenyl)metánu pomocou dynamickej HPLC. Böhmer et al. [44] pozorovali on-column interkonverziu enantiomérov racemických tetrabenzoxazínových derivátov s elučným profilom (plató medzi dvoma eluujúcimi píkmi) použitím Chiralpak AD column.

Cabrera et al. [45, 46] určili energetickú bariéru perchlóro-1,3-bisdifenylmetylbenzénu, fenylhydantoín-fenylalanínu, chlórtalidonu, oxazepamu pomocou dynamickej HPLC a porovnal experimentálne chromatogramy so simulovamými použitím programu SIMUL. Enantioméry boli separované HPLC použitím chemicky viazaného β-cyclodextrínu (ChiraDex) ako chirálnej stacionárnej fázy. Získané chromatogramy vykazovali typické plató medzi dvoma píkmi separovaných enantiomérov indikujúce enantiomerizáciu, t. j. reverzibilnú interkonverziu. Pomocou počítačovej simulácie experimentálneho elučného profilu bola určená rýchlostná konštanta a zodpovedajúca enantiomerizačná bariéra zlúčenín. Získané údaje boli kompatibilné s nezávisle určenými hodnotami, ale je nutné poznamenať, že dané výsledky záviseli od použitého rozpúšťadla.

Friaty et al. [47] študovali enantiomerizáciu prominalu pomocou dynamickej HPLC a programu (SIMUL). Prominal je chirálny, pretože vykazuje odchýlky od planarity, ktoré sú dôsledkom existencie osi chirality. To je dôvodom existencie krátko „žijúcich" atropoizomérov, ktoré ľahko podliehajú interkonverzii. Atropoizoméry tvoriace diastereoizomérne komplexy s (*R*)-(-)-2,2,2-trifluoro-1-(9-anthryl)etanolom, boli určené ^{1}H NMR spektroskopiou. Pomocou kvapalinovej chromatografie použitím chirálnej kolóny na báze ovomucoidu sa podarilo rozdeliť racemickú zmes na jednotlivé enantioméry. Opakované dávkovanie enantiomérov do tej istej kolóny (držanej v termostate pri teplote 10 °C) zabezpečilo, že každý enantiomér sa premieňal na druhý. Za rovnakých chromatografických podmienok oba stereoizoméry nezávisle znovu vytvorili racemickú zmes. Simulácia získaných chromatogramov nepriamo viedla k určeniu polčasu života (interkonverzie). Polčas interkonverzie enantiomérov bol 1,6 min pri teplote 37 °C. Chromatogramy boli modelované pomocou programu SIMUL. Tiež boli určené rýchlostné konštanty a zodpovedajúce Gibbsové aktivačné pri všetkých rôznych teplotách. Pri teplote 37 °C hodnota rýchlostnej konštanty 0,213 min^{-1} a zodpovedajúcej voľnej Gibbsovej energii bola 90,43 kJ/mol. Arheniov graf bol lineárny. Farmakologické, biologické a chemické dôsledky molekulárnej nesymetrie vlastné študovaným liečivám boli v tomto prípade nulové.

proLékaře.cz | 31.12.2025

Gasparrini et al. [48] určili energetickú bariéru 10-(3--chlórofenyl)-6,8,9,10-tetrahydrobenzo[*b*]-[1,8]naftyridin-5(7H)-ónu (telenzepínu), atropoizomérnych naftalimidov, sulfónov, pomocou DHPLC a počítačom asistovanej simulácie (SIMUL). Chirálne atropoizomérne naftalénamidy boli použité ako modelová látka pre výskum interkonverzie v roztoku a počas separácie na chirálnej stacionárnej fáze. Energetická bariéra meraná v mobilnej fáze (tepelná racemizácia obohatenej vzorky) bola v intervale 1,26–5,44 kJ/mol.

Oxelbark a Allenmark [49] určili energetickú bariéru sulfónov a N-aryl-1,3,2-benzoditiazol-1-oxidu pomocou DHPLC a počítačovej asistencie programu (SIMUL), Thede et al. [50] použili empirické rovnice pre určenie termodynamických parametrov viackrokových následných reakcií použitím chromatografických, Gasparrini et al. [51] určili energetickú bariéru Spirochému pomocou DHPLC a prezentoval aplikácie programu SIMUL.

Torre et al. [52] využili enantiomerizáciu ako jednoduchú a účinnú stratégiu konvertovať racemickú zmes 8-chloro-2-(2,6-difluórofenylmetyl)-2,3-dihydro-3--metyl-1,2,5-benzotiadiazepín-4(5*H*)-ón 1,1-dioxidu, nové anti-HIV-1 činidlo, na viac aktívny (*S*)-enantiomér. Metóda pozostávala z dvoch nasledovných krokov:

1) semipreparatívna enantioseparácia pomocou HPLC použitím chirálnej stacionárnej fázy;

2) zásaditá racemizácia menej aktívneho (*R*)-enantioméru.

Cirilli et al. [53] vyvinuli sfHPLC procedúru pre určenie rýchlostnej konštanty a Gibbsovej voľnej energetickej bariéry enantiomerizácie 8-chlóro-2-(3-metyl-but-2--enyl)-2,3-dihydro-3-metyl-1,2,5-benzothiadiazepín--4(5*H*)-thión-1,1-dioxidu v prítomnosti Chiraspher a Chiralcel OD ako chirálnych stacionárnych fáz. Bola uskutočnená semipreparatívna chromatografická separácia. Určenie absolútnej konfigurácie bolo empiricky pevne stanovené porovnaním spektier CD jednotlivých enantiomérov s tými, ktoré boli získané od štruktúrnych analógov.

Trapp [54] využil DHPLC pre určenie enantiomerizačnej bariéry oxazepamu. Dynamický elučný profil a prejavoval vznikom platá a/alebo rozmývaním chromatografických zón v teplotnom intervale 20 a 60 °C pri pH 2,6 a pH 8, na separáciu sa použila chirálna stacionárna fáza Nucleodex-β-PM (permetylovaný β-cyclodextrín chemicky viazaný na silikagél), mobilná fáza bola zmesou fosforečnanového tlmivého roztoku a metanolu (6:4). Vyhodnotenie chromatogramov bolo vykonané použitím aproximačnej funkcie (AF) bez počítačovej simulácie a stochastickým modelom pomocou programu ChromWin (s počítačovou simuláciou). Z rýchlostných konštánt $k_1^{app}(T)$, meraných pri rôznych teplotách, boli získané kinetické aktivačné parametre: $\Delta G(T)^{app}$, ΔH^{app} and ΔS^{app} enantiomerizácie oxazepamu. Variáciou prietoku mobilnej fázy bola prvýkrat demonštrovaná očakávaná nezávislosť enantiomerizačnej bariéry z chromatografického časového hľadiska.

Kiesswetter et al. [55] opísali niektoré nové príklady pochádzajúce z aplikácií dekonvolučných programov: určenie optickej čistoty počas separácie v kvapalinovej chromatografii (LC), on-line analýzu, súhrnnú optickú čistotu vzorky, čistotu chromatografického píku, enantiomerizáciu počas LC. Experimentálne krivky (chromatografické záznamy) môžu byť dekonvoluované, t. j. transformované do kriviek enantiomérov, bez akéhokoľvek prepokladu týkajúceho sa tvaru latentných píkov. Bežná fotometrická UV detekcia (Absorbancia A), polarimetrická alebo CD detekcia (poskytujúca rotáciu $\Delta\alpha$ alebo diferenčnú absorbanciu ΔA) je podmienkou pre použitie dekonvolučných programov. Presnosť pomeru α/A alebo $\Delta A/A$ pre čisté enantioméry je nevyhnutná pre kvalitnú dekonvolúciu. Zároveň sú spomenuté podmienky limitujúce možnosť dekonvolúcie .

Irurre [56] testoval niekoľko chirálnych stacionárnych fáz v rôznych podmienkach pre rozlíšenie perchlórtrifenylmetylových radikálov (PTM) pomocou HPLC. PTM vykazujú enantiomerizáciu z dôvodu obmedzenej vnútornej rotácii. Iba poly(trifenylmetyl) metakrylát poskytoval dostatočné rozlíšenie. Racemizácia (+)- a (-)-PTM bola detegovaná polarimetricky v závislosti od času. Proces bol riadený kinetikou prvého poriadku. Hodnoty voľnej Gibbsovej energie $\Delta G^{app}_{303,8}$ = 98,81 kJ/mol sa zhodovali s tými, ktoré boli určené HPLC metódou zastavenia prietoku (Crespo, Doctoral Thesis, CETS Institut Químic de Sarrià, 1991).

Abatangelo et al. [57] použili HPLC chirálne kolóny CHIRIS AD1 a CHIRIS AD2 pre separáciu racemickej zmesi a konfiguračne nestálej zlúčeniny etyl-7-chlór-2--oxo-5-fenyl-2,3-dihydro-1H-1,4-benzodiazepín-3-karboxylátu [A] a jeho 3-metylovaného derivátu [B]; bola pozorovaná rýchla enantiomerizácia [A]. Prídavkom 0,1% kyseliny octovej do elučnej zmesi došlo k inhibícii enantiomerizácie, zatiaľ čo ten istý percentuálny prídavok trietylamínu kompletne zabránil separácii jednotlivých enantiomérov. Dôvodom je pravdepodobne zásaditá katalýza voľnými aminoetylovými skupinami, prítomnými v malom percentuálnom zastúpení v chirálnej stacionárnej fáze. Rýchlosť enantiomerizácie v prostredí CHIRIS AD2 bola určená pri 25 °C.

Trapp [58] študoval chirálne tetrabenzoxazínové deriváty, ktoré vykazujú charakteristické plató počas enantioselektívnej separácie na chirálnej stacionárnej fáze Chiralpak AD. Pomocou počítačom asistovanej analýze tvaru píkov chromatogramov získaných DHPLC, pomocou programu bola určená energetická bariéra ΔG^{app}(298 K)=92±2 kJ/mol a aktivačné parametre ΔH^{app}=53,0±1,8 kJ/mol and ΔS^{app}= -131±14 J/K.mol.

Superkritická fluidná chromatografia (SFC)

Oswald et al. [59] separovali racemáty lorazepamu, temazepamu, oxazepamu na chirálnej (*R*,*R*)-Whelk-O1 kolóne so superkritickým oxidom uhličitým obsahujúcim 12,5 % metanolu a 0,5 % dietylamínu ako mobilnou fázou. Plochy píkov boli dekonvoluované pomocou počítača.

Kapilárna elektroforéza (CE)

Weseloh et al. [23, 24] určili energetickú bariéru 4,4'-diammonio-2,2'-bis(trifluóro-metyl)bifenylu a 4,4'-diamino-2,2'-diisopropylbi-fenylu pomocou metódy zastavenia prietoku (sfCE), táto metóda nevyžaduje čisté enantiomé-

proLékaře.cz | 31.12.2025

ry ani počítačom asistovanú dekonvolúciu. Schoetz et al. [60] opísali experiment v dynamickej micelárnej elektrokinetickej chromatografii (DMEKC) a následnú simulácii pomocou programu ChromWin, bol študovaný chlórtalidon a benzodiazepínové deriváty: lorazepam, temazepam. Schoetz et al. [61] študoval enantiomerizačnú bariéru thalidomidu pomocou DMEKC, DEKC. Rathore a Horváth [62] odhadli rýchlostnú konštantu dipeptidov obsahujúcich prolín pomocou dynamickej CE s pomocou tzv. Damköhlerových čísel, ktoré sú pomerom doby pobytu migrantu k reakčnému času v kapiláre.

Scharwächter et al. [63] študovali racemáty rôzne monosubstituovaných 1,n-diaza[n]paracyklofánov, ktoré vykazujú planárnu chiralitu a atropoizomerizáciu kvôli zabrzdenej rotácii okolo jednoduchej väzby, v kyslých fosfátových tlmivých roztokoch (pH 2,5–4,5) s použitím permetylovaného β- a γ-cyklodextrínu ako chirálneho prídavku. Enantiomerizácia sa uskutočnila metódou zastavenia prietoku v zahriatej kapiláre. Rotačné energetické bariéry (ΔG^{app}) mali hodnotu v intervale 113 až 126 kJ/mol v závislosti od substituenta na benzénovom jadre a stupňa ionizácie aminoskupiny. Energetická bariéra vzrastala v poradí substituentov $NO_2 >> CF_3 > Br > Cl > CH_3 \sim F$, rotačná energetická bariéra klesala približne o 6–8 kJ/mol v prítomnosti chirálneho selektora.

ZÁVER

Nevyhnutnou podmienkou pre aplikáciu dynamickej metódy (D) a metódy zastavenia prietoku (sf) je kvantitatívna separácia enantiomérov pri zvýšenej teplote, pri ktorej sa proces enantiomerizácie v chirálnom prostredí uskutočňuje. Chirálne prostredie može mať za následok katalytický vplyv na proces enantiomerizácie. V kontraste s obyčajnými polarimetrickými metódami DHPLC a DNMR sú vhodné pre látky s nízkou alebo žiadnou optickou aktivitou. DSFC je použiteľná v širšom intervale teplôt ako DHPLC a niekedy môže zasahovať do širokého intervalu DGC. Použitie DSFC má výhody oproti HPLC – rýchlejšie difúzne koeficienty a nižšia viskozita superkritických kvapalín poskytuje vyššie účinnosti za jednotku času ako HPLC. Zmena teploty v SFC je ľahšia ako v HPLC a neovplyvňuje retenčné charakteristiky tak veľmi ako v GC. Napriek existencii týchto výhod, niekedy je výber metódy limitovaný tepelnou stabilitou analytu, nízkou energetickou bariérou študovaného interkonverzného procesu napr. u špecifických rotácii – z týchto dôvodov je jedinou aplikovateľnou metódou HPLC.

Zoznam použitých skratiek

AF	– aproximačné funkcie (approximation functions)
CD	– cirkulárny dichroizmus (circulair dichroism)
CE	– kapilárna elektroforéza (capillary electrophoresis)
EKC	– elektrokinetická chromatografia (electrokinetic chromatography)
GC	– plynová chromatografia (gas chromatography)
HPLC	– vysokoúčinná kvapalinová chromatografia (high pressure liquid chromatography)
LC	– kvapalinová chromatografia (liquid chromatography)
MDGC	– viacrozmerná plynová chromatografia (multidimensional gas chromatography)
MEKC	– micelárna elektrokinetická chromatografia (micellar electrokinetic chromatography)
NMR	– nukleárna magnetická rezonancia (nuclear magnetic resonance)
SFC	– superkritická fluidná chromatografia (supercritical fluid chromatography)
UV	– ultrafialový (ultra violet)
predpona D	– dynamická (dynamic)
predpona sf	– zastavenie prietoku (stopped – flow)

Pozn.: Niektoré skratky sú kombináciou predpony (sf, D) a inej skratky, napr.: DCE – dynamická kapilárna elektroforéza

Význam symbolov

ΔG^{app}	– zmena zdanlivej Gibbsovej energie (z angl. apparent = zdanlivý)
ΔH^{app}	– zmena zdanlivej enatalpie (z angl. apparent = zdanlivý)
ΔS^{app}	– zmena zdanlivej entropie (z angl. apparent = zdanlivý)
t_R	– elučný čas
w_h	– šírka píku
$h_{plató}$	– výška plateau
N	– počet teoretických priehradiek
T	– teplota (K)
$k_{1(-1)}^{app}$	– zdanlivá rýchlostná konštanta priamej (protismernej) enantiomerizácie
$index_{lig\ (gas)}$	– kvapalina (plyn)
$index_{A\ (B)}$	– enantiomér eluujúci ako prvý (druhý)

Táto práca je podporovaná grantmi VEGA 1/2460/05, VEGA 1/1186/04.

LITERATÚRA

1. **Eliel, E. L. et al.:** Stereochemistry of organic compounds. New York, Wiley, 1994.
2. **Jacobson, J., Melander, W., Vaisnys, G., Horváth, C.:** J. Phys. Chem., 1984; 88, 4536.
3. **Rathore, A. S., Horváth, C.:** Electrophoresis, 1997; 18, 2935.
4. **Bürkle, K., Karfunkel, H., Schurig, V.:** J. Chromatogr., 1984; 288, 1-14.
5. **Trapp, O., Schurig, V.:** J. High Resolution Chromatogr., 2000; 23, 291.
6. **Trapp, O., Schurig, V.:** Computers and chemistry, 2001; 25, 187-195.
7. **Trapp, O., Schoetz, G., Schurig, V.:** Chirality, 2001; 13, 403-414.
8. **Schurig, V., Reich, S.:** Chirality, 1998; 10, 425-429.
9. **Reich, S., Schurig, V.:** J. Microcol. Sep., 1999; 11, 475-479.
10. **Reich, S., Schurig, V.:** GIT Lab. J, 1999; 3, 39.
11. **Reich, S., Trapp, O., Schurig, V.:** J. Chromatogr. A, 2000; 892, 487-497.
12. **Reich, S., Schurig, V.:** Proceedings of the 20th International Symposium on capillary chromatography, I. O. P. M. S. vzw., Kortrijk, Belgium, 1998; J.13.
13. **Wolf, Ch., Koenig, W. A., Roussel, C.:** Chirality, 2004; 7, 610-611.
14. **Stephan, B., Zinner, H., Kastner, F., Mannschreck, A.:** Chimia, 1990; 10, 336-338.

proLékaře.cz | 31.12.2025

15. **Venciana, J., Crespo, M. I.:** Angew. Chem. Int. Ed., 1991; 30, 74-77.
16. **Venciana, J., Crespo, M. I.:** Angew. Chem., 1991; 103, 85.
17. **Kramer, R.:** J. Chromatogr., 1975; 107, 241.
18. **Cremer, E., Kramer, R.:** J. Chromatogr., 1975; 107, 253.
19. **Schurig, V., Trapp O.:** J. Chromatogr. A, 2001; 911, 167-175.
20. **Trapp, O., Schurig, V.:** J. Am. Chem. Soc., 2000; 122, 1424-1430.
21. **Kostyanovsky, R.G., Kadorkina, G. K., Kostyanovsky, V. R. et al.:** Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 2000; 39, 2938.
22. **Schurig, V., Bürkle, W.:** J. Am. Chem. Soc., 1982; 104, 7573-7580.
23. **Weseloh, O., Wolf, C., König, W. A.:** Angew. Chem. Int. Ed., 1995; 34, 1635-1636.
24. **Weseloh, O., Wolf, C., König, W. A.:** Chirality, 1996; 8, 441-445.
25. **Marriot, P. J., Lai, Y-H.:** J. Chromatogr., 1988; 447, 29-41.
26. **Marriot, P. J., Lai, Y-H.:** Chem. Aust., 1994; 386-389.
27. **Jung, M.:** Program SIMUL, No. 620. Quantum Chemistry program exchamnge. QCPE Bull 1992;3,12.
28. **Roth, A., Winzer, M., Korrel, M., Wildt, H.:** Liebigs. Ann., 1995; 897-919.
29. **Schurig, V.:** J. Chromatogr. A, 2002; 965, 315-356.
30. **Trapp, O.:** Chirality, 2002; 14, 465-470.
31. **Reist, M., Christiansen, L. H., Christoffersen, P. et al.:** Chirality, 1995; 7, 469-473.
32. **Hochmuth, D. H., König, W. A.:** Liebigs. Ann., 1995; 947-951.
33. **Trapp, O., Schoetz, G., Schurig, V.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 2002; 27, 497-505.
34. **Schurig, V., Glausch, A., Fluck, M.:** Tetrahedron Asymmetry, 1995; 6, 2161-2164.
35. **Fischer, Ch., Modler, A., Moinet, Ch., Fiaud, J.-C.:** J. Chromatogr. A, 1996; 728, 433-439.
36. **Marriott, P.:** J. Chromatogr. A, 2004; 1033, 135-143.
37. **Schurig, V., Reich, S.:** Chirality, 1998; 10, 316-320.
38. **Schurig, V., Keller, F., Reich, S., Fluck, M.:** Tetrahedron Assymmetry, 1997; 8, 3475-3480.
39. **Gasparrini, F., Lunayyi, L. Misiti, D., Villani, C.:** Acc. Chem. Res., 1995; 28, 163-170.
40. **Melander, W. R., Lin, H.-J., Jacobson, J., Horváth, C.:** J. Phys. Chem., 1984 ; 88, 4527-4536.
41. **Moriyasu, M., Kawanishi, K., Kato, A. et al.:** Bull. Chem. Soc. Jpn., 1985; 58, 3351-3355.
42. **Moriyasu, M., Hashimoto, Z., Endo, M.:** Bull. Chem. Soc. Jpn., 1983; 56, 1972-1977.
43. **Lebl, M., Gut, V.:** J. Chromatogr., 1983; 260, 478-482.
44. **Böhmer, V., Caccamese, S., Principato, G., Schmidt, C.:** Tetrahedron Letters, 1999; 40, 5927-5930.
45. **Cabrera, K., Jung, M., Fluck, M., Schurig, V.:** J. Chromatogr. A, 1996; 731, 315-321.
46. **Cabrera, K., Lubda, D.:** J. Chromatogr. A, 1994 ; 666, 433-438.
47. **Friaty, O., Spangler, M., Osterman, R. et al.:** Chirality, 1996; 8, 364-371.
48. **Gasparrini, F., Misiti, D., Pierini, M., Villani, C.:** Tetrahedron Assymmetry, 1997; 8, 2069-2073.
49. **Oxelbark, J., Allenmark, S.:** J. Org. Chem., 1999; 64, 1483-1486.
50. **Thede, T., Haberland, D., Fischer, C.:** J. Liquid Chromatogr. Rel. Technol., 1998; 21, 2089-2102.
51. **Gasparrini, F., Lunazzi, L., Mazzanti, A. et al.:** J. Am. Chem. Soc., 2000; 122, 4776-4780.
52. **Torre la, F., Cirrili, R., Ferretti, R. et al.::** Chirality, 2003; 15, 429-432.
53. **Cirilli, R. Costi, R., Santo, Di R. et al.:** J. Chromatogr. A, 2003 ; 993, 17-28.
54. **Trapp, O.:** J. Biochem. Biophys. Meth., 2002; 54, 301-313.
55. **Kiesswetter, R., Brandl, F., Kastner-Pustet, N., Mannschreck, A.:** Chirality, 2003; 15, S40-S49.
56. **Irurre, J., Santamaría, J., González-Rego, M. C.:** Chirality, 1995; 7, 154-157.
57. **Abatangelo, A., Zanetti, F., Navarini, L. et al.:** Chirality, 2002; 14, 12-17.
58. **Trapp, O.:** Tetrahedron Assymmetry, 2001; 12, 1395-1398.
59. **Oswald, P., Desmet, K., Sandra, P. et al.:** Chirality, 2002; 14, 334-339.
60. **Schoetz, G., Trapp, O., Schurig, V.:** Enantiomer, 2000; 5, 391-396.
61. **Schoetz, G., Trapp, O., Schurig, V.:** Anal. Chem., 2000; 2758-2764.
62. **Rathore, A. S., Horváth, C.:** Electrophoresis, 1999; 20, 2691-2697.
63. **Scharwächter, K. P., Hochmuth, D. H., Dittmann, H., König, W. A.:** Chirality, 2001; 13, 679-690.

Došlo 13. 5. 2005.
Přijato ke zveřejnění 18. 7. 2005.

prof. RNDr. Jozef Čižmárik, PhD.
Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, SR
e-mail: cizmarik@fpharm.uniba.sk

Abstrakta z akcí ČFS v časopisu Česká a slovenská farmacie

Redakce časopisu Česká a slovenská farmacie nabízí možnost zveřejňovat limitované množství abstrakt z odborných akcí pořádaných Českou farmaceutickou společností, například sympozií, seminářů, pracovních dnů apod.
Jednotlivá abstrakta (písmo Courier New, velikost 12, řádkování 2, formát A4), by neměla přesáhnout 1,5 rukopisné strany, při prezentaci více než 10 abstrakt 1 rukopisnou stranu.
Počet abstrakt předem dohodnou předsedové příslušných sekcí, které akci pořádají, případně osoby zodpovědné za akci s redakcí časopisu, která poskytne i bližší informace. Souhrny je možné po dohodě (sedlarova@greenplanet.cz) zveřejnit rovněž na internetových stránkách ČFS (www.cfs-cls.cz)

Kontakt:
doc. RNDr. Pavel Komárek, PhD., vedoucí redaktor, Katedra farmaceutické technologie a kontroly léčiv IPVZ
100 05 Praha 10, Ruská 85, e-mail: komarek@ipvz.cz, tel.: 271 019 278