

Synthesis of New Phenylalaninol, Tryptophanol and Threoninol Derived Chiral Stationary Phases

Jeong Jae Yu[†] and Jae Jeong Ryoo^{‡,*}

[†]Department of Chemistry, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea.

[‡]Department of Chemistry education, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea.

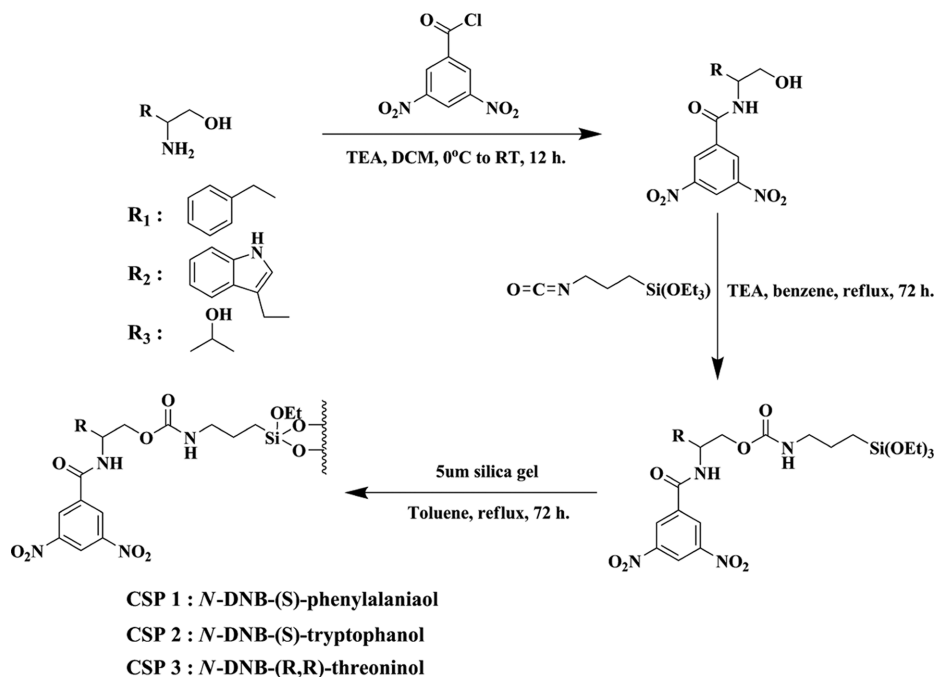
*E-mail: jjryoo@knu.ac.kr

(Received December 3, 2017; Accepted December 8, 2017)

Key words: Phenylalaninol, Tryptophanol, Threoninol, Chiral separation, HPLC

우리들의 몸을 구성하는 주성분인 단백질은 다양한 L-아미노산으로 제조된 거대한 키랄 고분자이다.¹ 따라서 우리는 서로 다른 두 거울상 이성질체를 달리 인식하게 되어서 키랄 식품 첨가제인 경우 단맛과 쓴맛의 차이로 인식하기도 하지만 의약품에 있어서는 심각한 부작용을 유발하기도 한다.² 따라서 거울상 이성질체 혼합물을 분리하기 위한 다양한 연구가 많이 진행되어, ³⁻⁵ brush/Pirkle type,⁶ polysaccharides,⁷ ligand exchange,⁸ crown ethers,⁹ proteins,¹⁰ cyclodextrin¹¹ 그리고 cyclofructan¹² 등의 다양한 형태의 키랄 정지상들이 상품화 되거나 소개되었다. 본 연구진에서는 오래 전부터 키랄 아미노 알코올을 출발물질로 사용한 다양한 정지상들을 개발하였는데, 지금까지 개발한 대부분의 정지상들은 phenylglycinol이나 leucinol을 출발물질로 사

용한 것이 대부분이었고,¹³⁻¹⁷ alaninol 이나 *t*-butyl-leucinol 등 다른 형태의 아미노 알코올을 키랄 정지상의 출발물질로 사용한 예는 phenylglycinol이나 leucinol로부터 제조된 키랄 정지상의 효능을 비교하기 위하여 단 한번 있었다.⁸ 본 연구에서는 phenylglycinol과 유사한 분리 효과를 보일 것으로 예상되는 phenylalaninol과 지금까지 시도해보지 않았던 염기성 작용기를 가지는 tryptophanol, 그리고 간단하지만 두자리의 키랄 중심을 가지는 threoninol 을 키랄 정지상 제조의 출발물질로 사용하여 각각의 물질에 강한 pi-산성 작용기인 3,5-dinitro benzoyl기를 도입한 새로운 키랄 정지상으로 제조하여 몇 종의 대표적인 키랄 화합물의 광학분할에 적용하였다. 새로 개발된 정지상들의 제조과정을 Scheme 1에 간단히 요약하였고, 상세한 제조과



Scheme 1.

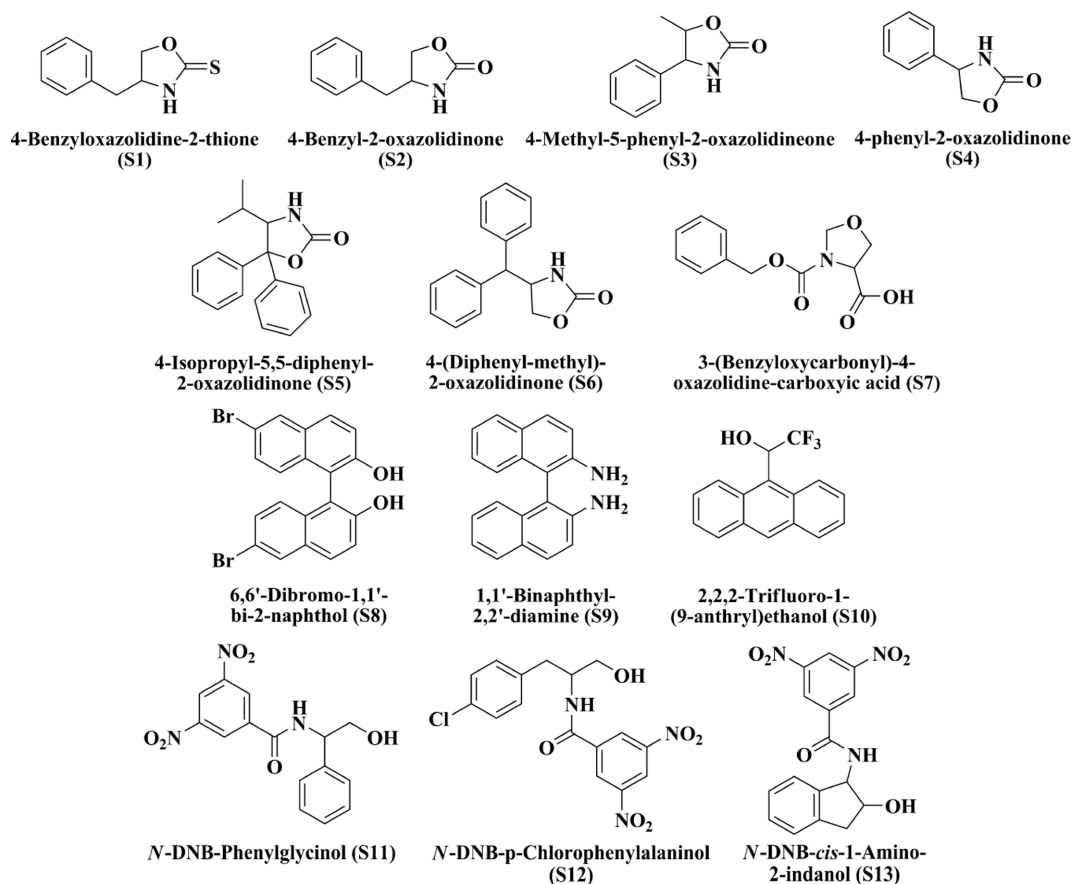


Figure 1. Structure of chiral analytes used in this study.

정은 실험부분에 기술하였다.

새로 제조한 키랄 정지상의 테스트에 이용된 13종 키랄 시료의 명칭과 구조를 Fig. 1에 나타내었다. 이들 시료들은 본 연구실에서 새로운 키랄 정지상을 개발하면 많은 키랄 시료들을 분석하기에 앞서 개발한 키랄 정지상들의 성능을 살펴보기 위해 사용되는 대표적인 키랄 화합물들이다.

제조한 키랄 정지상들의 원소분석 결과를 Table 1에 나타내었다.

Table 1에서 볼 수 있듯이 제조된 정지상에 각 키랄 선택제들이 실리카 겔 1 g당 0.1 mmole 이상 실리카 겔에 잘 결합되어 있음을 확인할 수 있었다. 제조한 키랄 정지상들을 이용하여 1,1'-binaphthyl-2,2'-diamine (S9)의 두 거울상 이성질체의 분리를 실시한 결과를 Fig. 2에 나타내었다.

그림에서 볼 수 있듯이 CSP 1에서는 1,1'-binaphthyl-2,2'-diamine 두 거울상 이성질체가 뚜렷이 분리 되었으나

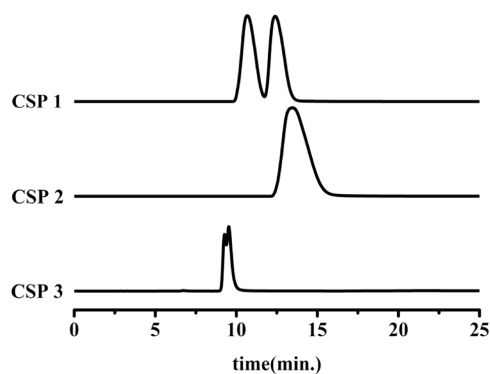


Figure 2. Resolution of 1,1'-binaphthyl-2,2'-diamine (S9) on CSP 1~3. Eluent; 5% IPA in hexane, flow rate; 1.2 mL/min.

CSP 2에서는 분리가 되지 않았고, CSP 3에서는 피이크 꼭대기 부분에서 약간의 분리가 이루어졌다. 이들 결과를 토대로 나머지 12개의 키랄 시료들에 대한 분리분석 실험

Table 1. Results of elemental analysis for CSP 1~3

	C (%)	N (%)	Based on C (mmol/g)	Based on N (mmol/g)
CSP 1	3.757	0.637	0.114	0.156
CSP 2	4.365	0.934	0.172	0.133
CSP 3	4.005	0.962	0.222	0.172

Table 2. Resolution of chiral samples on four chiral stationary phases (CSP 1~4)

	CSP 1		CSP 2		CSP 3		CSP 4	
	k_1	α	k_1	α	k_1	α	k_1	α
S1	7.05	1.00	6.02	1.05	2.92	1.00	9.20	1.08
S2	7.93	1.00	5.21	1.05	7.51	1.00	4.82	1.00
S3	7.60	1.00	4.78	1.06	6.80	1.00	15.4	1.00
S4	7.71	1.00	5.53	1.00	6.18	1.01	9.49	1.00
S5	6.98	1.00	6.27	1.00	2.55	1.00	2.60	1.04
S6	6.99	1.00	6.20	1.00	1.15	1.02	4.64	1.16
S7	ND ^a	-	ND ^a	-	5.94	1.03	ND ^a	-
S8	3.81	1.00	7.18	1.00	2.06	1.00	2.34	1.16
S9	5.36	1.10	4.40	1.00	2.62	1.03	2.56	1.08
S10	1.68	1.20	2.17	1.00	3.66	1.02	0.82	1.16
S11	1.51	1.00	1.76	1.00	4.54	1.00	1.90	1.61
S12	2.31	1.00	1.76	1.00	4.75	1.00	5.57	1.14
S13	5.22	1.00	1.75	1.00	3.50	1.00	2.49	1.35

Detection at 210 to 400 nm. CSP 1, CSP 2 and CSP 3 analyses were performed on 5% IPA in hexane, flow 1.2 ml/min. Analysis on a phenylglycinol derived CSP 4 was performed by 10% IPA in hexane, flow 1.5 ml/min. The CSP 4 is a (3,5-dinitrobenzoyl)phenylglycinol-derived CSP and the data of CSP 4 are from ref. 13 and 14. ^aND; not detected.

험을 실시하여 그 결과를 선행연구에서 제조된(3,5-dinitrobenzoyl)phenylglycinol 키랄 정지상(CSP 4)에서의 결과와 함께 Table 2에 나타내었다.

Table 2에서 볼 수 있듯이 CSP 1에서는 13개의 분석 시료 중에 2개가 분리되었고, CSP 2에서는 3개의 시료, CSP 3에서는 5개의 시료가 분리되었다. 이들 결과들을 이전에 제조된 phenylglycinol 을 출발물질로 사용한 키랄 정지상(CSP 4)에서의 결과와 비교하면 새로 제조한 세 정지상에서 분리된 시료의 개수가 적고, 분리인자(α) 값도 작아서 전반적으로 분리가 나빴다. CSP 4의 구조는 Scheme 1에서 보여준 CSP 1의 구조에서 알킬기(R)가 Ph-CH₂- 대신에 Ph-이 결합되어 있는 것이다. 따라서 CSP 1은 이미 보고된 phenylglycinol 유도체 정지상인 CSP 4와 유사한 분석결과를 기대했지만 이보다 좋지 못한 결과를 보였는데, CSP 4에서 좋은 분리 결과를 보인 이유는 phenyl기가 키랄 탄소에 곧바로 결합되어 있어서 키랄 탄소와 phenyl기 사이에 탄소가 하나 더 들어 있는 phenylalaninol 유도체 정지상에 비해 효과적인 입체장애 효과를 통해 보다 분명하게 두 거울상 이성질체 시료들을 구분하였기 때문으로 생각된다. Tryptophanol은 phenylalaninol의 phenyl기 대신에 indole기가 도입되어 있는 것인데, 이것은 phenyl기 대신에 phenyl기를 포함한 특징적인 염기성 작용기가 있어서 또다른 결과를 보일 것으로 예측되었으나 이것의 분리 결과도 지금까지 보고된 phenylglycinol이나 leucinol 유도체 키랄 정지상들에 비해 분리능이 떨어졌다. 또한 CSP 3의 경우는 키랄 중심을 하나만 갖는 기존 아미노 알콜 정지상과는 구조적으로 달라서 전혀 새로운 결과를

보일 것으로 예상하였으나 일단 본 연구결과를 통해서서는 이전의 결과에 비해 긍정적인 연구결과를 얻지 못하였으므로 추가적인 연구를 통해 그 원인 등을 살펴보아야 할 것으로 생각된다.

결론적으로 본 연구에서는 지금까지 전혀 연구되지 않았던 새로운 아미노 알코올을 출발 물질로 사용하여 새로운 키랄 정지상 세 종류를 제조하였고, 이들을 키랄 분리기에 적용하였다. 이들은 이미 보고된 이 계통의 키랄 정지상들 중에서 좋은 분리 결과를 보였던 phenylglycinol의 3,5-dinitro benzoyl 유도체 키랄 정지상(CSP 4) 보다는 좋지 못한 결과를 보였지만 나름대로 몇몇 키랄 화합물들을 분리할 수 있었기에 키랄 정지상으로서 유용하게 이용될 수 있음을 확인하였고, 특히 3,5-dinitro benzoyl기가 아닌 새로운 유도체들을 도입할 경우 다양한 키랄 시료들의 광학분할에 적용할 수 있는 효과적인 키랄 정지상으로서 이용될 수 있는 가능성은 충분히 확인할 수 있었다.

EXPERIMENTAL

시약

본 실험에서 사용한 amino alcohol 시료들과 3-(triethoxysilyl)propyl isocyanate, 3,5-dinitrobenzoyl chloride, chloroform-d는 Sigma-Aldrich Korea(Seoul, Korea)에서 구입하였으며, 5 μ m spherical silica gel은 Fijisilysia chemical ltd.(Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다. Triethylamine, methylene chloride, benzene, toluene은 Junsei(Tokyo, Japan)에서 구입하여 정제하지 않고 사용하였다.

기기

본 실험에서 이용한 High Performan Liquid Chromatography (HPLC)는 Waters HPLC system을 사용하였으며, 2690 separation module과 WATERS 996 photodiode array detector로 구성되어 있다.

실험 방법

250 ml 둥근 플라스크에 amino alcohol 시료 1.5 g과 methylene chloride 75 ml, triethylamine 1.1몰당량 넣고 amino alcohol이 다 녹을 때까지 교반시킨다. Amino alcohol 시료가 완전히 녹으면 3,5-dinitrobenzoyl chloride 1.1몰당량을 methylene chloride에 녹여 dropping funnel을 이용하여 천 천히 가한다.

TLC로 반응이 종료된 것을 확인한 후 1.2 M HCl 수용액, 1.0 M NaOH 수용액, 증류수 순으로 추출하여 유기 층을 모아 무수 $MgSO_4$ 로 건조시키고 여과 및 감압 농축한다. 이렇게 얻어진 반응 혼합물은 관 크로마토그래피로 분리하여 순수한 시료를 얻는다. 얻어진 amino alcohol DNB 유도체 1.5 g과 benzene 100 ml, triethylamine 0.1 몰당량, 3-(triethoxysilyl)propyl isocyanate 1.2몰당량을 넣고 72시간 동안 reflux 시킨다. TLC로 반응이 종료된 것을 확인한 후 바로 감압 농축하여 용매를 제거하고, ethylacetate와 hexane 혼합용매를 용리액으로 사용하여 칼럼 크로마토그래피를 통해 순수한 시료를 얻은 다음 NMR로 기존 정지상의 결과와 비교하여 합성여부를 판단하였다. 250 ml 이구 둥근 플라스크에 5 μ m spherical silica gel 5 g과 toluene 120 ml를 넣고 dean-stark trap을 이용하여 6시간 동안 물을 제거한 후 식힌다. 이후 플라스크에 얻어진 amino alcohol DNB silyl 유도체를 가한 후 72시간 동안 교반시킨다. 반응 종료 후 glass filter를 이용하여 거르고 methylene chloride, diethyl ether, ethyl acetate, methanol, ethyl acetate, diethyl ether 순으로 세척하여 진공 오븐에서 80°C로 건조시켜 chiral stationary phase(CSP)를 얻는다.

Bonded silica gel 3.5 g을 4.6*250 mm 크기의 HPLC용 stainless steel column에 CSP를 슬러리 충전법으로 충전한 후 chiral HPLC 분리분석에 이용하였다.

결과

제조한 각 정지상의 공유결합에 사용된 각각의 실릴 화합물의 NMR 데이터를 아래에 나타내었다.

CSP 1 : H-NMR($CDCl_3$): δ : 0.64 (t, 2H), 1.21 (t, 9H), 1.64 (f, 2H), 2.86 (dd, 1H), 3.18 (dd, 1H), 3.26 (q, 2H), 3.80 (q, 6H), 4.17-4.28 (m, 2H), 4.44 (m, 1H), 5.33 (t, 1H), 7.25-7.35 (m, 5H), 8.05 (d, 1H), 8.99 (d, 2H), 9.15 (t, 1H).

CSP 2 : H-NMR($CDCl_3$): δ : 0.62 (t, 2H), 1.23 (t, 9H), 1.58-1.67 (m, 4H), 3.06 (dd, 1H), 3.16 (q, 3H), 3.24 (td, 2H), 3.32 (dd, 1H), 3.82 (q, 6H), 4.22 (dd, 1H), 4.34 (dd, 1H), 4.43 (t, 1H), 4.53-4.61 (m, 1H), 5.24 (t, 1H), 7.11 (d, 1H), 7.15 (td, 1H), 7.21 (td, 1H), 7.38 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.94 (d, 1H), 8.20(s, 1H), 8.96 (d, 2H), 9.13 (t, 1H).

CSP 3 : H-NMR($CDCl_3$): δ : 0.47 (m, 2H), 1.07 (d, 3H), 1.12 (t, 9H), 1.40 (m, 2H), 2.91 (dd, 2H), 3.70 (q, 6H), 3.88 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 4.18-4.23(m, 2H), 4.90 (d, 1H), 7.14 (d, 1H), 8.92 (d, 1H), 8.97 (t, 1H), 9.11 (d, 2H).

Acknowledgments. 이 논문은 2015학년도 경북대학교 복원학술연구비의 지원에 의하여 연구되었음.

REFERENCES

1. Tem, C.; Whitesides, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6409.
2. Charl, R.; McDonagh, A. F. In *The Porphyrins*; Dolphin, D., Ed.; Academic Press: New York, U. S. A., 1979; Vol. 6, p 258.
3. Czad, D. D.; Armarego, W. L. F. *Purification of Laboratory Chemicals*; Pergamon Press: Oxford, U. K., 1988; p 19.
4. Ward, T. J.; Ward, K. D. *Analytical Chemistry* **2010**, *82*, 4712.
5. Ward, T. J.; Ward, K. D. *Analytical Chemistry* **2012**, *84*, 626.
6. Han, H. K.; Hong, J. H.; Carey, J. R.; Kang, J. S.; Lee, W. J. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **2014**, *37*, 2725.
7. Ahn, S. A.; Hyun, M. H. *Chirality* **2015**, *27*, 268.
8. Hettergger, H.; Kohout, M.; Mimini, V.; Lindner, W. *Journal of Chromatography A* **2014**, *1337*, 85.
9. Song, W. J.; Wei, J. P.; Wang, S. Y.; Wang, H. S. *Analytica Chimica Acta* **2014**, *832*, 58.
10. Tan, Y.; Han, J.; Lin, C.; Yu, H.; Zheng, S.; Zhang, W. *Journal of Separation Science* **2014**, *37*, 488.
11. Yao, X.; Tan, T. T. Y.; Wang, Y. *Journal of Chromatography A* **2014**, *1326*, 80.
12. Sun, P.; Wang, C.; Breitbach, Z. S.; Zhang, Y.; Armstrong, D. W. *Analytical Chemistry* **2009**, *81*, 10215.
13. Ryoo, J. J.; Im, S. H.; Lee, K. P.; Park, J. H.; Hyun, M. H. *Microchemical Journal* **199**, *63*, 128.
14. Ryoo, J. J.; Kim, T. H.; Im, S. H.; Jeong, Y. H.; Park, J. Y.; Choi, S. H.; Lee, K. P.; Park, J. H. *Journal of Chromatography A* **2003**, *987*, 429.
15. Yu, J. J.; Lee, J. M.; Ryoo, J. J. *Chirality* **2016**, *28*, 276.
16. Yu, J. J.; Ryoo, D. H.; Lee, J. M.; Ryoo, J. J. *Chirality* **2016**, *28*, 186.
17. Yu, J. J.; Armstrong, D. W.; Ryoo, J. J. *Chirality* 2017 in press.