

# **ENANTIOMER AYIRIM METODLARI**

# Enantiomerlerin Ayrılması

[Şeker](#) ve [amino asitler](#) gibi biyolojik sistemlerin yapı taşlarının birçoğu yalnızca bir [enantiyomer](#) olarak üretilir.

Canlı sistemler yüksek derecede [kimyasal kiralılığa sahiptir](#) ve genellikle belirli bir bileşiğin çeşitli enantiyomerleriyle farklı şekilde reaksiyona girer.

- **Lezzet:** [yapay tatlandırıcı aspartamın](#) iki enantiyomeri vardır. L- aspartam tatlıdır, D- aspartam tatsızdır.
- **Koku:** *R* - (-) - [carvon nane](#) gibi kokarken , *S* - (+) - carvone [kimyon](#) gibi kokar.
- **İlaç etkinliği:** [antidepresan](#) ilaç olan [Citalopram rasemik bir](#) karışım halinde satılmaktadır. İlacın faydalı etkilerinden sadece (*S*) - (+) enantiyomerinin sorumlu olduğunu göstermiştir.
- **İlaç güvenliği:** [D-penisilamin şelasyon tedavisinde](#) ve [romatoid artrit](#) tedavisinde kullanılırken, L-penisilamin, temel bir B vitamini olan [piridoksinin](#) etkisini engellediği için toksiktir.

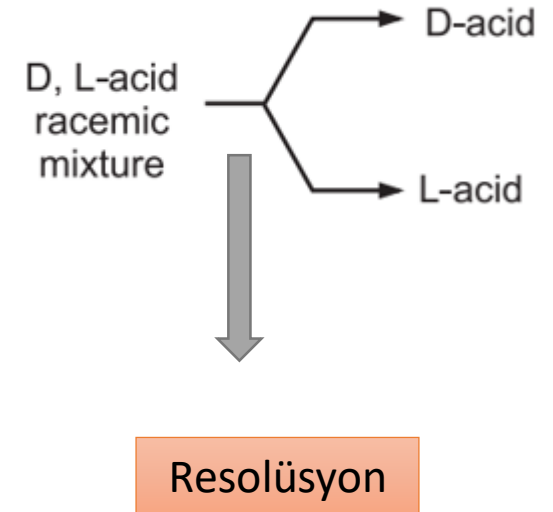
# Enantiomerlerin Ayrılması

**Resolüsyon:** Bir rasemik karışımdaki enantiomerlerin ayrılması işlemine denir.

Enantiyomerler aynı fiziksel özelliklere sahiptir:

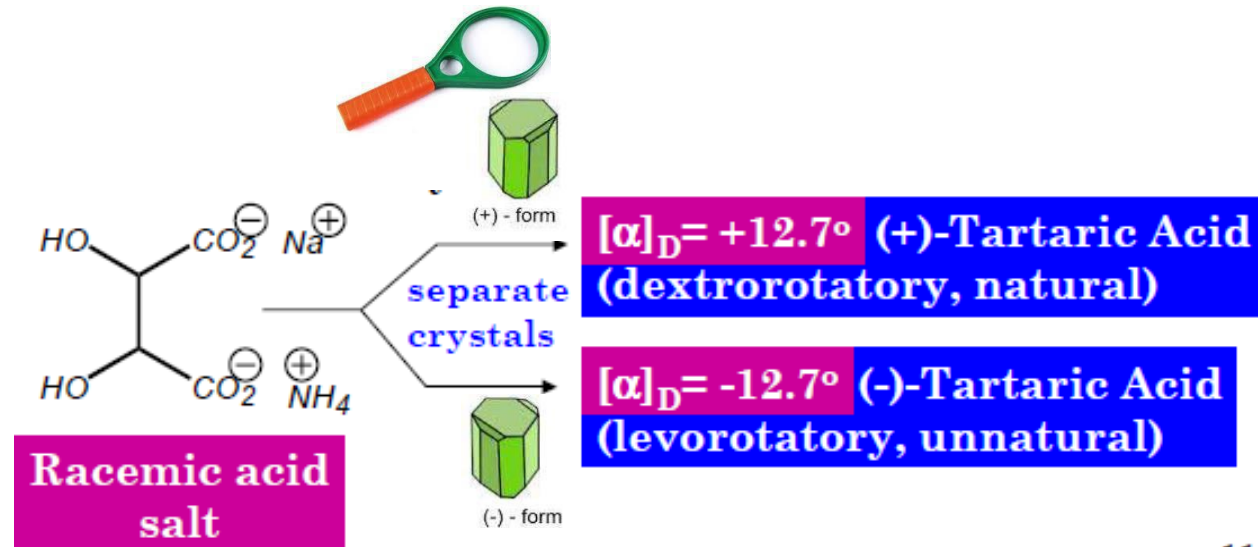
- çözünürlük
- kaynama noktası
- kromatografik retansiyon zamanı

Bu nedenle organik bileşikleri ayırmada kullanılan kristalizasyon ve distilasyon gibi bilinen yöntemler rasemik karışımlara uygulandığında başarılı sonuçlar elde edilememektedir.



# Enantiomerlerin Ayrılması

- Eğer iki enantiyomerin kristal yapıları farklıysa ve gözle ya da mikroskop altında seçilebilir büyüklükte kristaller oluşturuyorsa bunlar mikroskop altında ayrılabilirler. Örn: d ve l sodyum amonyum tartarat Pasteur tarafından (1849) ayrılmıştır. Sonrasında enantiyomerizm kavramı doğmuştur.



# Enantiomerlerin Ayrılması

- Enantiyomerleri ayırmaya veya karakterize etmeye yönelik tüm yöntemler, diastereomerik etkileşimlerin oluşumundan yararlanır.
- Prensip olarak, A ve B arasındaki *iyonik bağ*, *kovalent bağ* ve *zayıf koordine bağ* gibi (hidrojen bağı, dipol-dipol etkileşim, pi/pi etkileşim gibi) herhangi bir etkileşim türü ile oluşturulan diastereoizomerik ara ürünler enantiomer ayırımında yararlı olur.

## Rasemik Karışımların Ayrılması

Saf enantiomer ajan ile diastereomerik tuz oluşturma

Saf enantiomer ajan ile diastereomerik madde oluşturma

Uygun bir enzimle Enzimatik Resolüsyon

Kiral stasyonere faz kullanarak rasemik karışımın kromatografik ayrımı

# Diastereomerlere Dönüştürme

- Enantiomerleri ayırmada kullanılan en etkili yöntemlerden biri rasemik karışımı başka bir bileşiğin tek bir enantiomeri (*chiral reagent-resolving reagent*) ile reaksiyona sokarak diastereomerlerden oluşan bir karışıma dönüştürmektir.
- Diastereomerlerin erime, kaynama noktaları ve çözünürlükleri farklı olduğundan klasik yöntemlerle kolayca ayrılabilirler.

# Diastereomerlere Dönüştürme

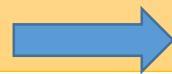
- Enantiyomerleri birbirinden ayırmak için genellikle kullanılan yöntem, bunları değişik fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip diastereomer karışımlarına dönüştürmektir.
- Rasemik bileşik, optikçe aktif bir madde ile muamele edilir ve elde edilen diastereomerler, çözünürlük farkından dolayı fraksiyonlu kristalizasyon ile birbirlerinden ayrılırlar.
- Elde edilen enantiyomerler alkalilerle veya anorganik asitlerle hidroliz edilerek tekrar serbest asitlere dönüştürülürler.

Rasemik asitlerin resolüsyonu



optikçe aktif amin kullanarak

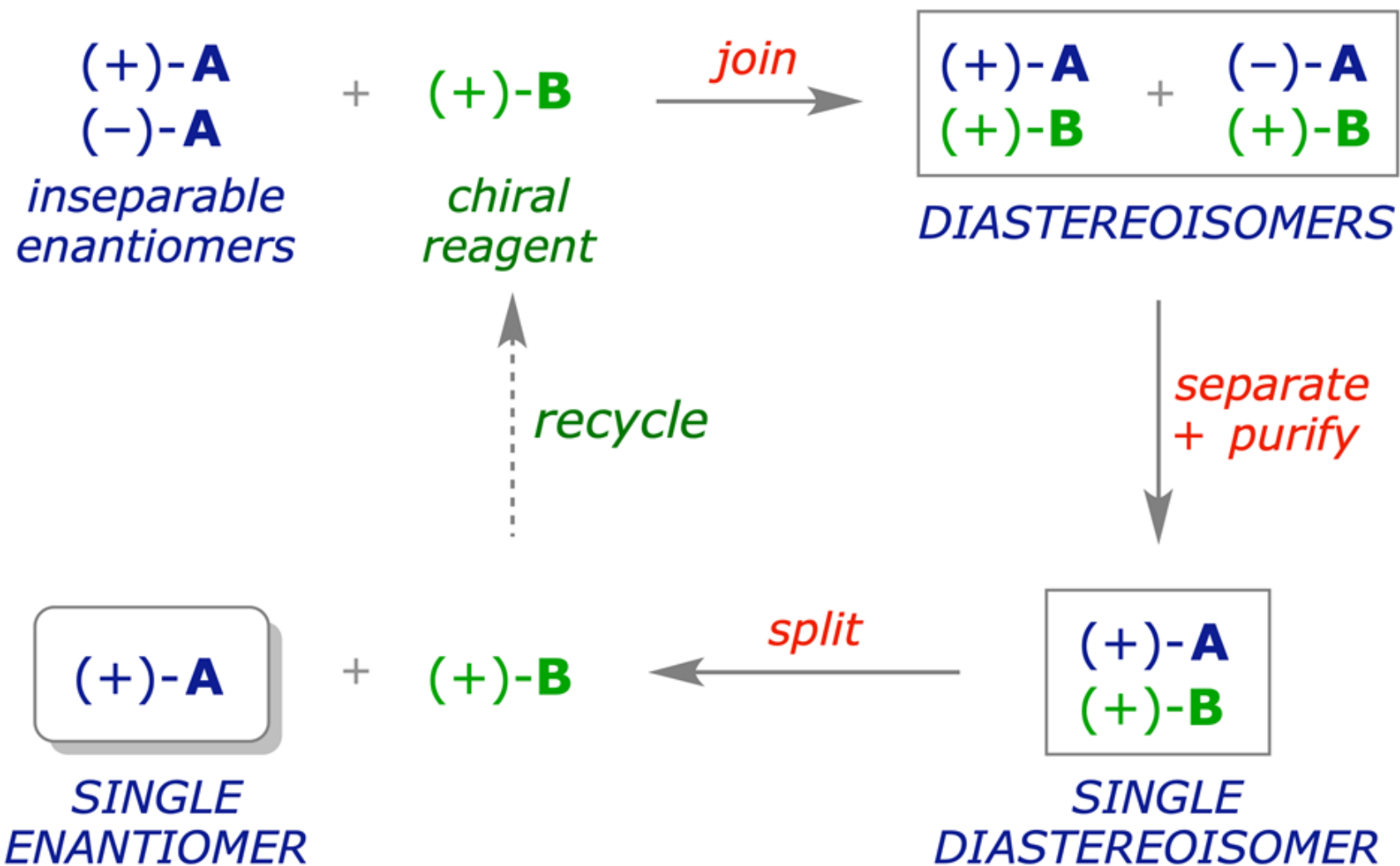
Rasemik bazların resolüsyonu



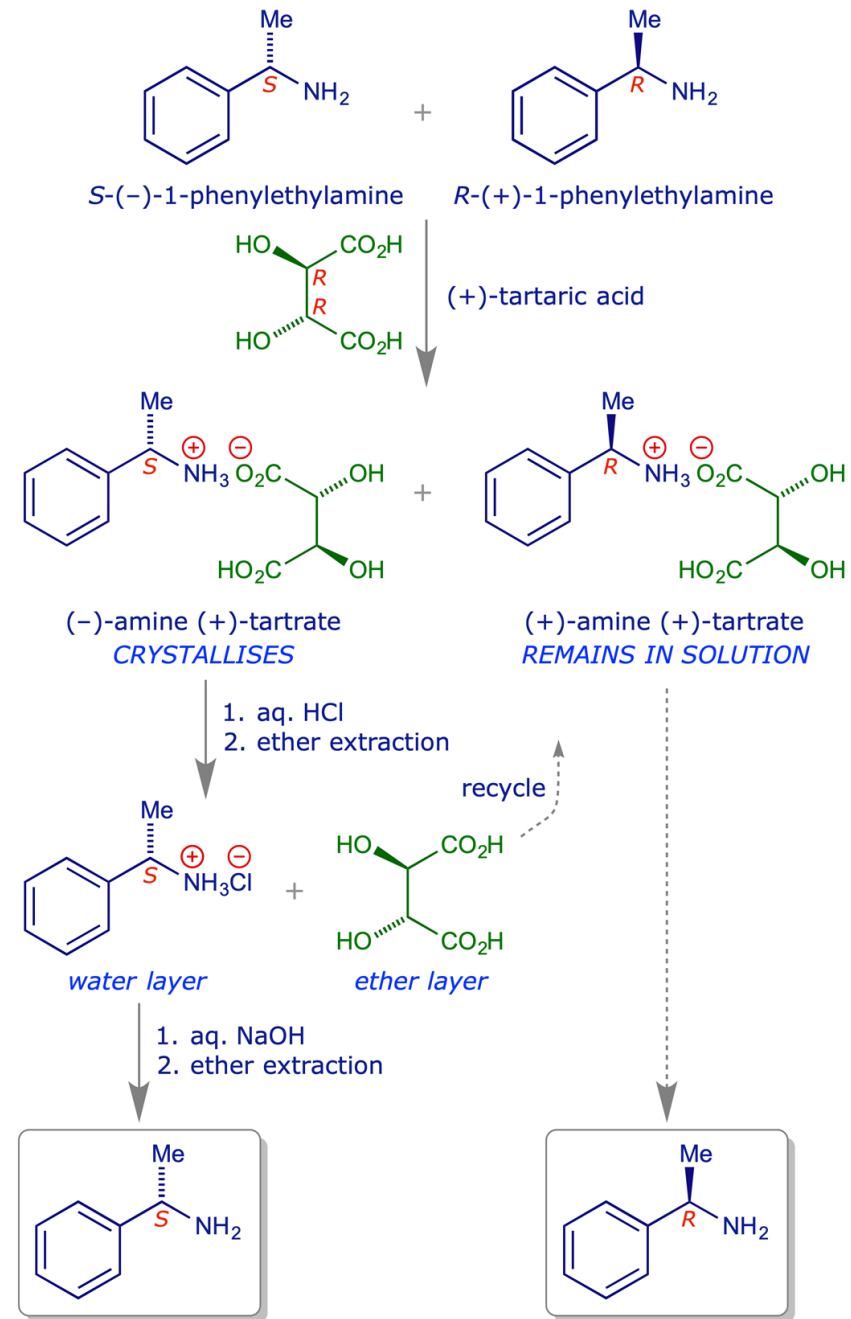
optikçe aktif baz kullanarak



## RESOLUTION: A GENERALISED SCHEME

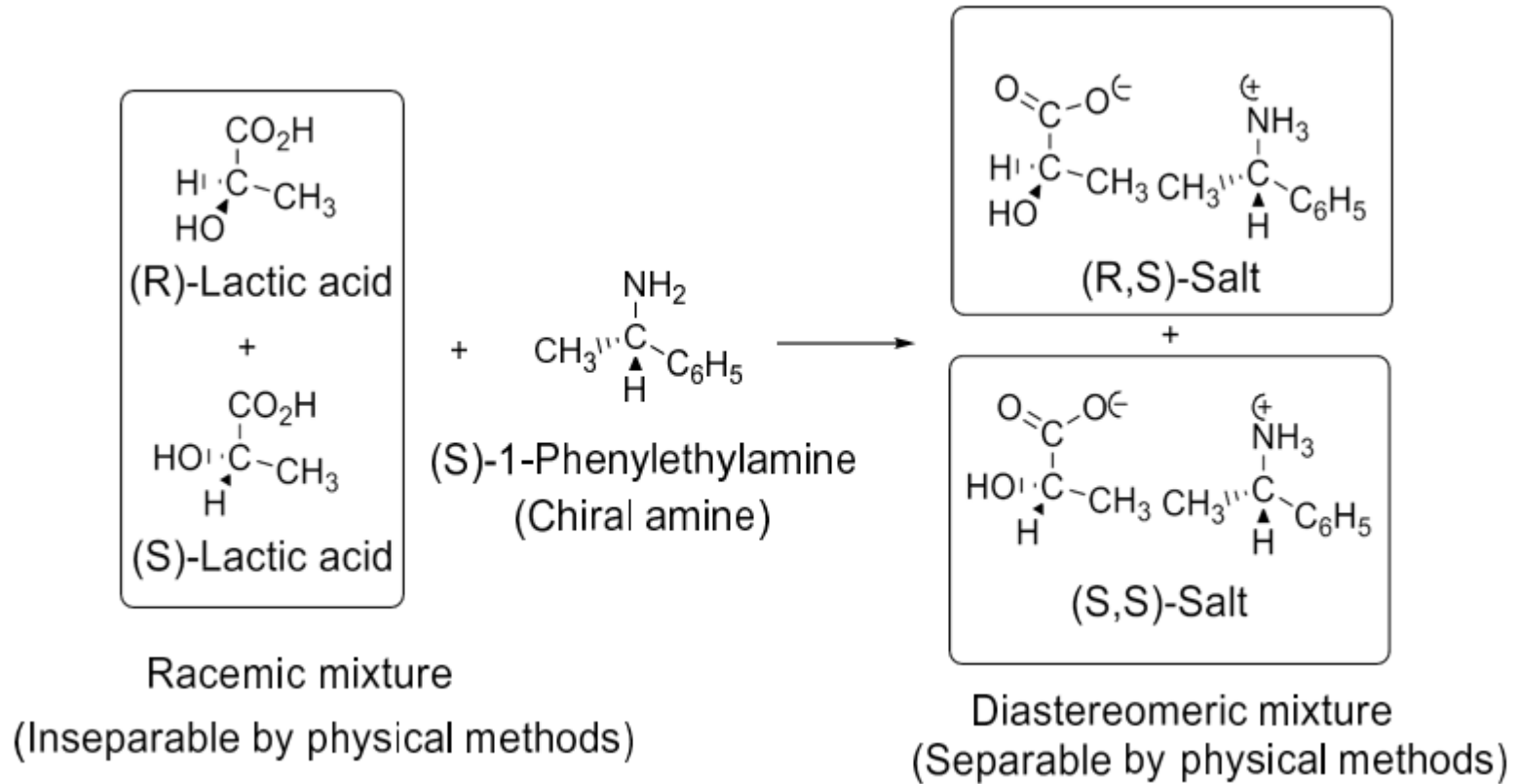


### RESOLUTION OF 1-PHENYLETHYLAMINE

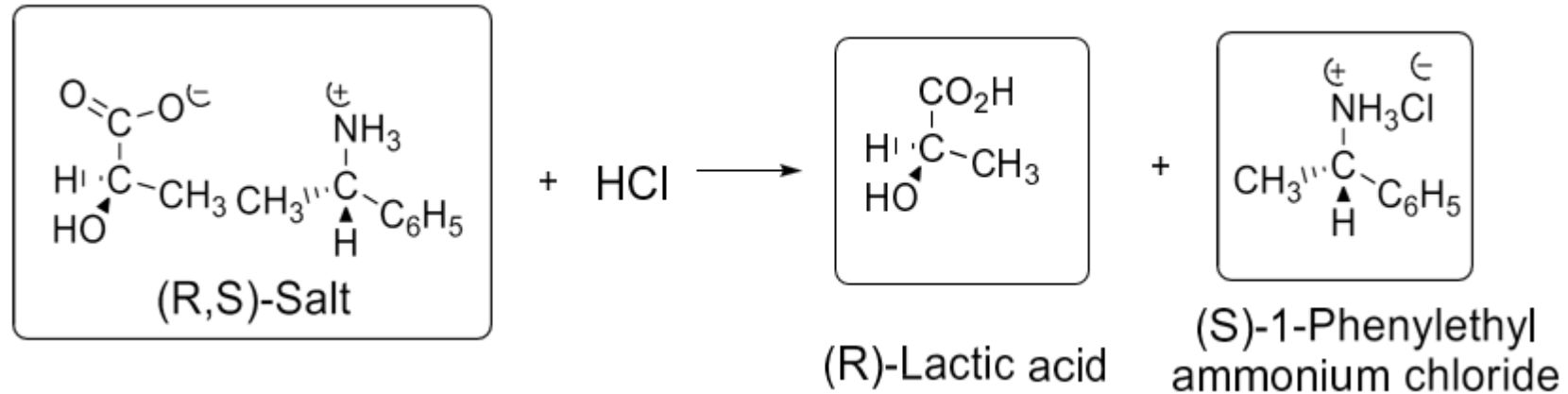


- Feniletilamin uzun zamandır çok yönlü bir kiral reaktif olarak kabul edilmektedir, her iki saf enantiyomeri de ucuzdur ve miktar olarak yeterlidir.
- Tartarik asit kullanılarak enantiomer ayırımı yapılabilmektedir.

- 1-Feniletamin, diastereomerik tuzlar oluşturmak için rasemik bir laktik asit karışımı ile birleşir.
- Oluşan diastereomerler kristalizasyonla ayrılır.

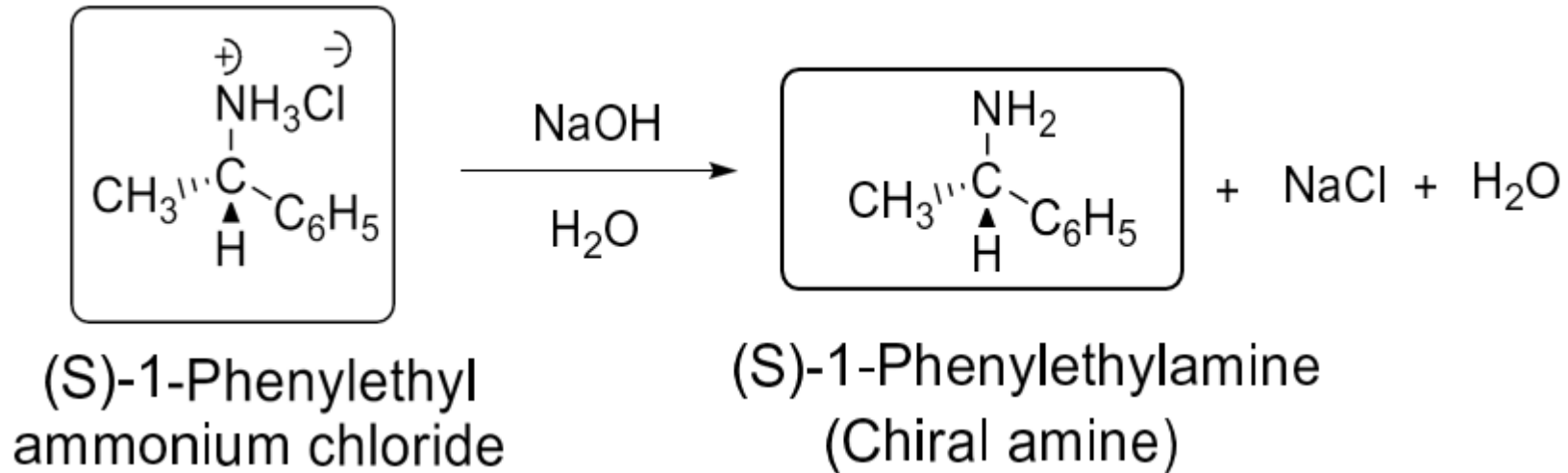


Ayırma işleminden sonra, diastereomerlerin her biri karşılık gelen laktik asit enantiyomerini yeniden oluşturmak için HCl gibi güçlü bir asitle muamele edilir.

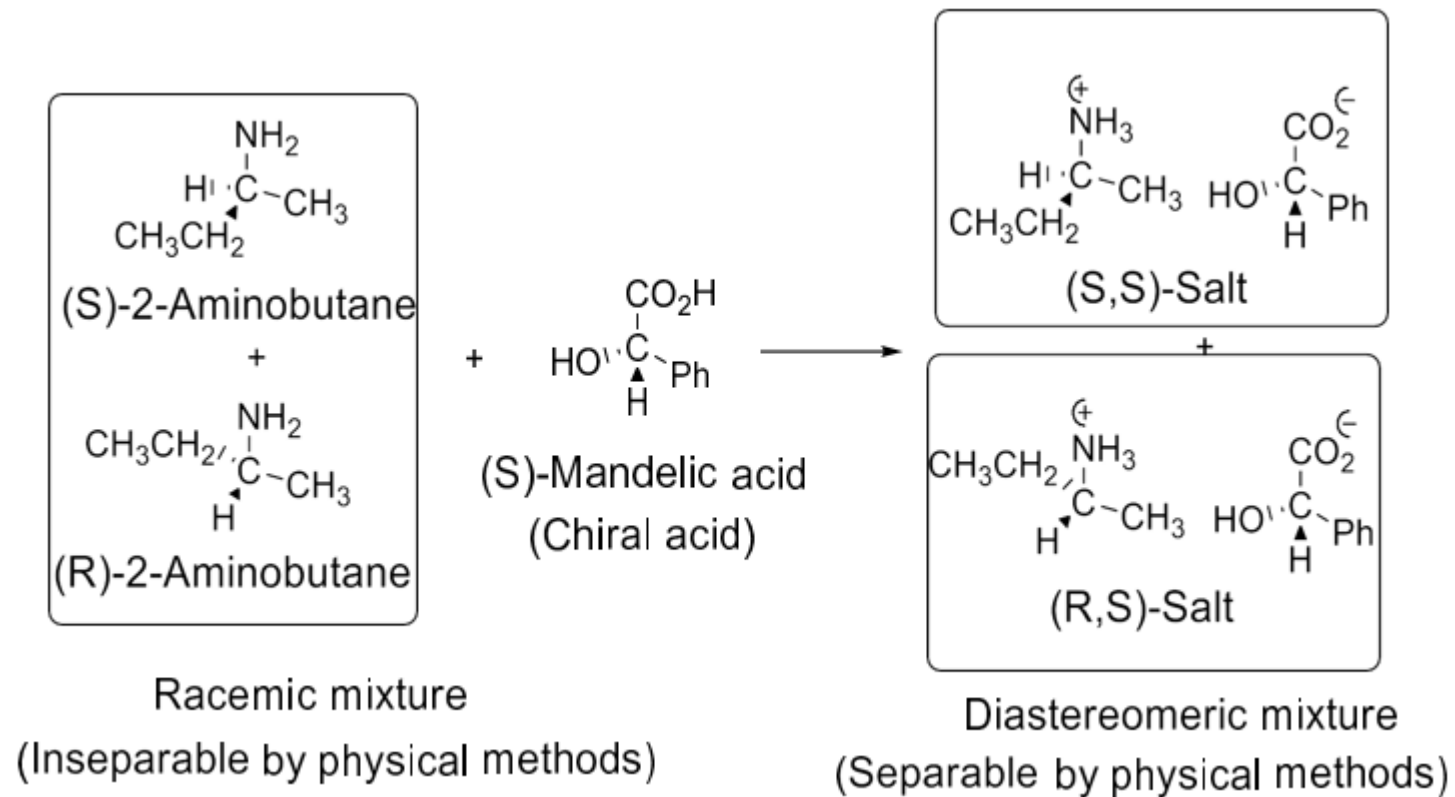


Saf enantiomer feniletilamin'in amonyum tuzu suda, laktik asit ise organik çözücünde çözüneceğinden, standart ekstraksiyon işlemi ile ayırım mümkün olacaktır.

- Enantiyomerik olarak saf bileşikler çok pahalı olduğundan, kiral aminin geri kazanılması ve yeniden kullanılması genellikle gereklidir.
- (S)-1-feniletıl amonyum klorür tuzunun sodyum hidroksit gibi güçlü bir bazla muamelesi ile kiral amini yeniden kazanılır.

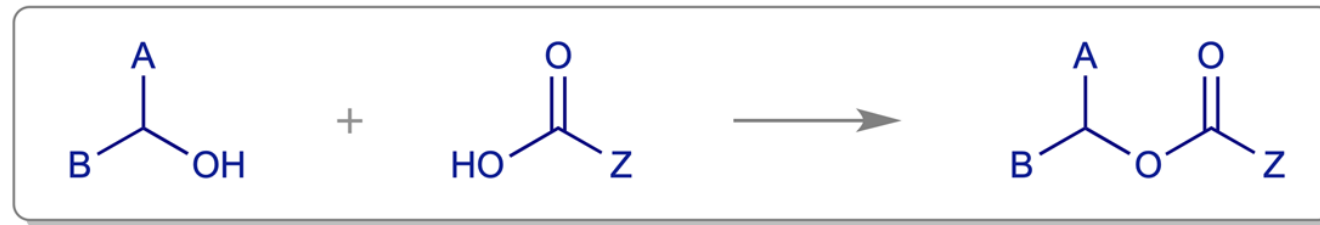


The natural enantiomer, (S)-(+)-mandelic acid (sweet almonds), combines with a racemic mixture of 2-aminobutane to form diastereomeric salts.



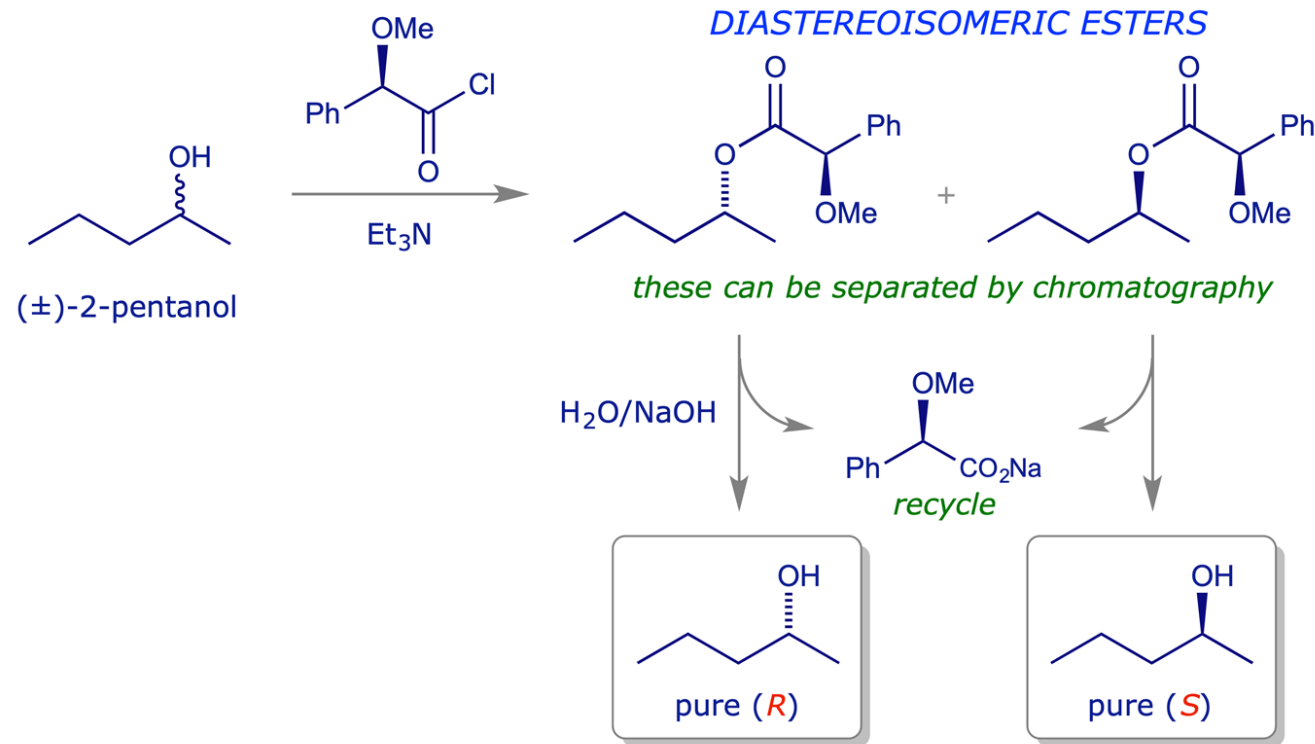
# Diastomerik bileşik oluşturma

- Prensip olarak, bir rasemik bileşiğin herhangi bir fonksiyonel grubu, daha sonra ayrılabilir olabilen diastereoizomerik ürünler oluşturmak üzere kiral bir reaktif ile reaksiyona sokulabilir.



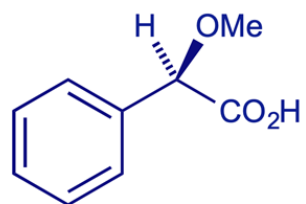
- |      |  |  |   |
|------|--|--|---|
| (i)  | ( <i>R,S</i> )-alcohol<br><i>ENANTIOMERS</i>             | ( <i>R</i> )-carboxylic acid<br><i>chiral derivatising agent</i> | ( <i>R</i> )-alcohol ( <i>R</i> )-carboxylate<br>( <i>S</i> )-alcohol ( <i>R</i> )-carboxylate<br><i>DIASTEREOISOMERS</i> |
| (ii) | ( <i>R</i> )-alcohol<br><i>chiral derivatising agent</i> | ( <i>R,S</i> )-carboxylic acid<br><i>ENANTIOMERS</i>             | ( <i>R</i> )-alcohol ( <i>R</i> )-carboxylate<br>( <i>R</i> )-alcohol ( <i>S</i> )-carboxylate<br><i>DIASTEREOISOMERS</i> |

- Bununla birlikte, etkili bir çözünürlük için, diastereoizomer oluşumu için kullanılan reaksiyonun tersine çevrilmesi mümkün olmalıdır.
- Kullanılan en yaygın reaksiyon esterleşmedir. Kiral alkolleri ve asitlerin ayrılmasında kullanılır.

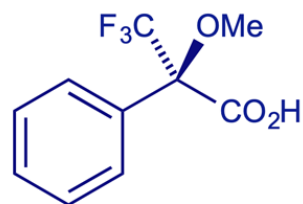




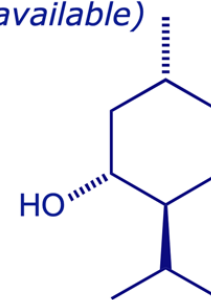
Typical resolving agents (inexpensive, both enantiomers available)



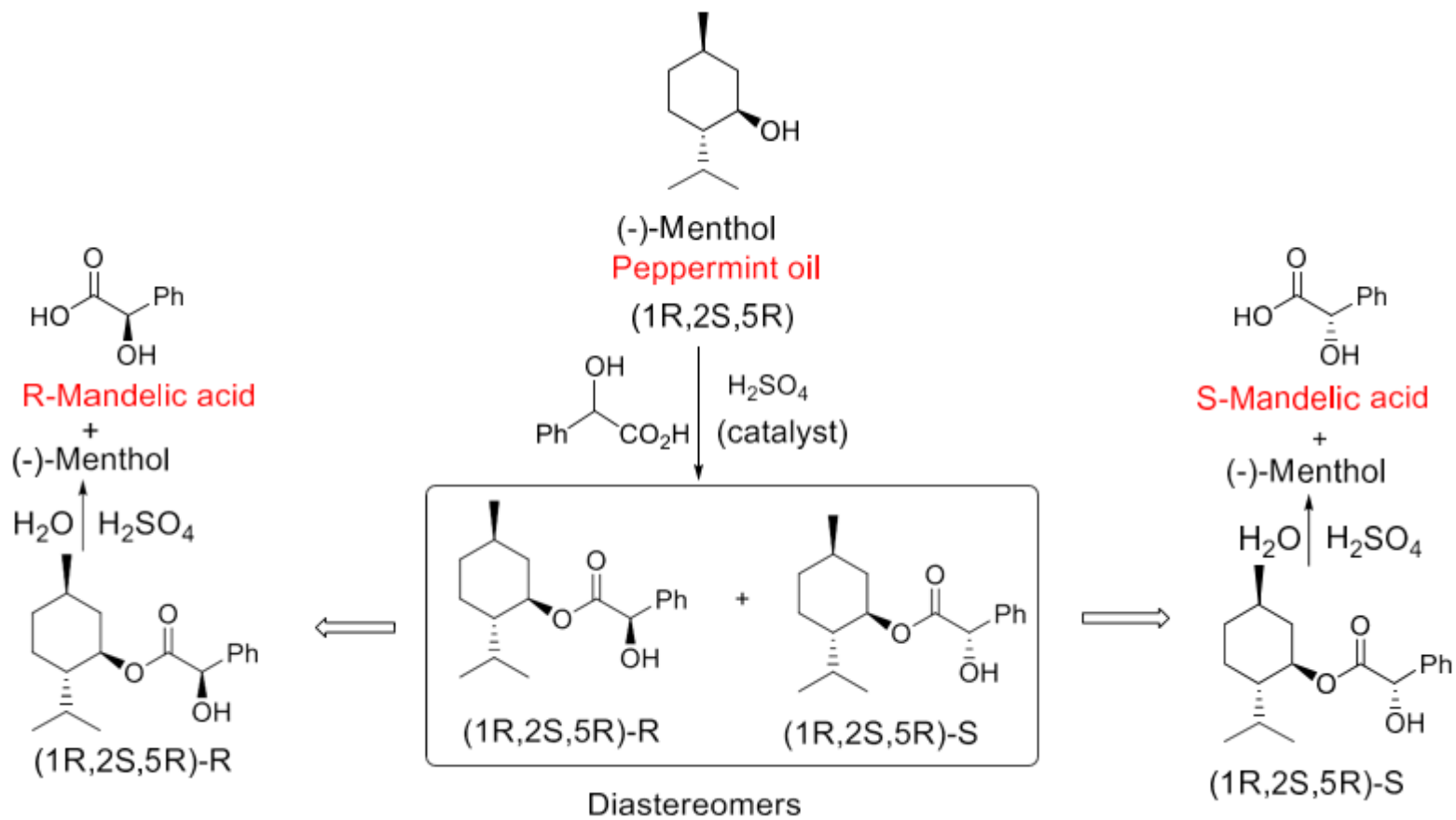
O-methylmandelic acid



Mosher's acid

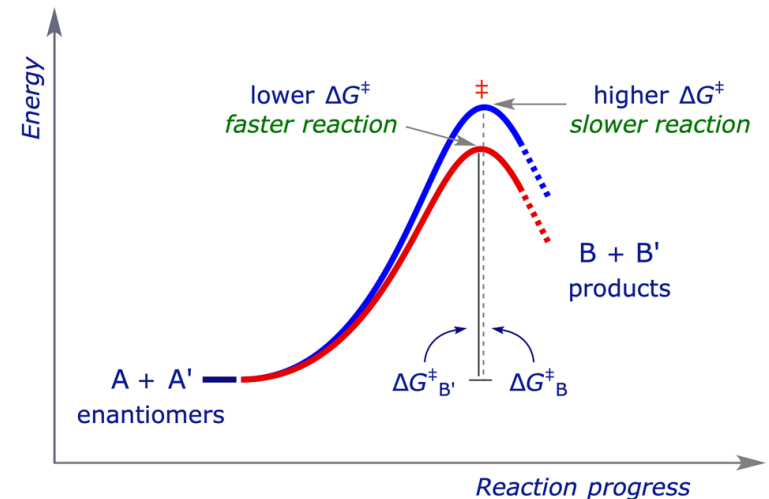
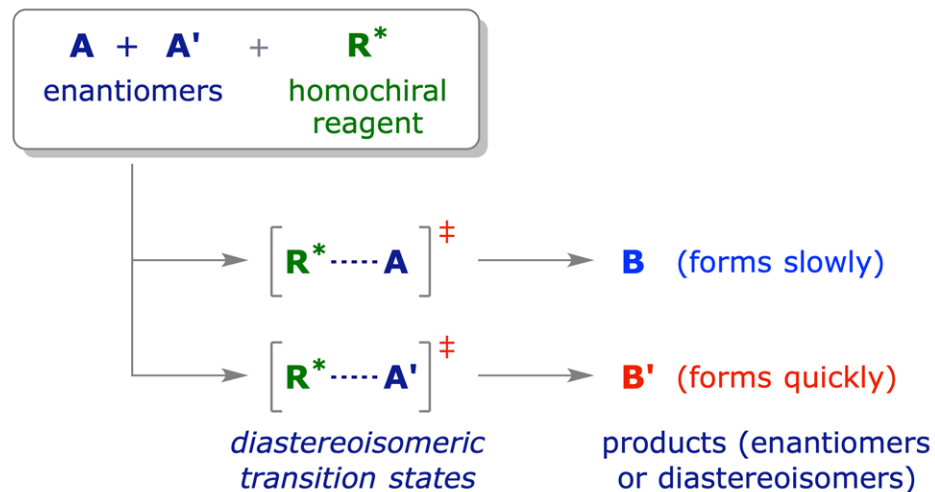


menthol



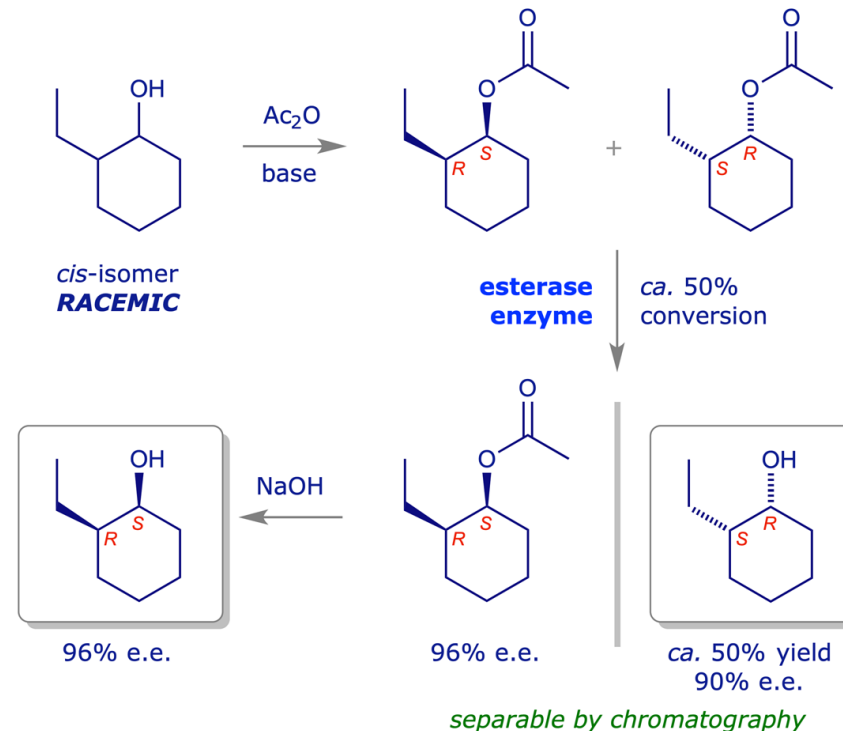
# Enzimatik / Kinetik Ayırım

- Bu metod iki enantiomerin kiral bir madde ile farklı hızlarda reaksiyona girmesine dayanmaktadır.
- Bu reaksiyonlar enzim veya mikroorganizma gibi bir biyokatalizör yada kimyasal katalizör varlığında yürütülür. Sekonder alkollerin enzim veya metal katalizör kullanılarak yürütülen kinetik resolüsyonu buna örnektir

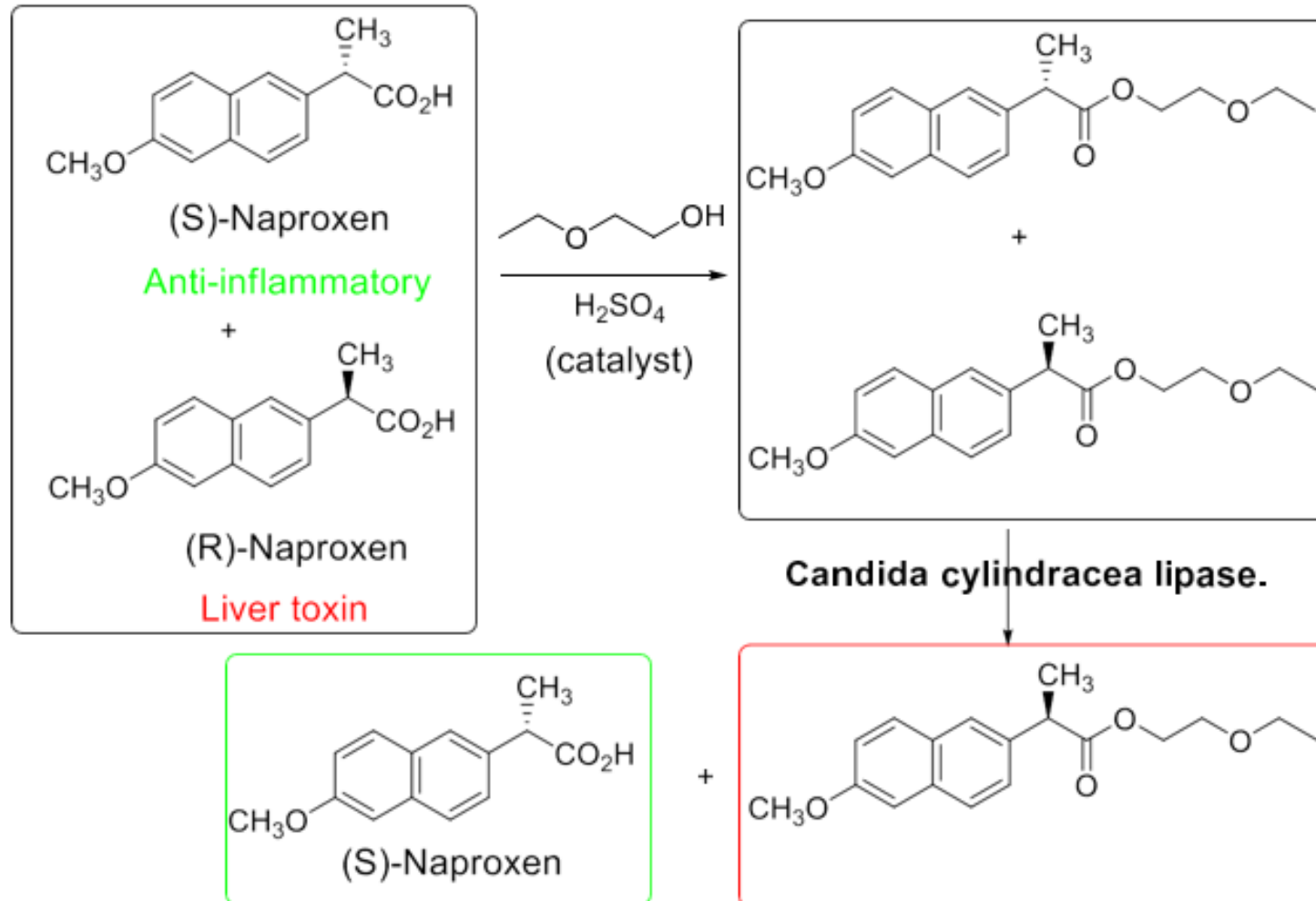


*N.B.* For a 10-fold rate difference at 25°C,  $\Delta\Delta G^\ddagger = 5.7 \text{ kJ mol}^{-1}$

- Rasemik bileşiğin seyreltik çözeltisine yerleştirilen canlı bir organizma, bir enantiyomerini diğerinden daha hızlı bir şekilde yok eder. Ancak, biyokimyasal işlem için uygun canlı organizmayı bulmak her zaman kolay değildir.
- Ayrıca enantiyomerlerden biri devamlı olarak yok edilirken diğer enantiyomerin de tahribi söz konusu olabilir.
- Bu yöntemde her zaman yüksek verim elde edilemeyebilir.
- Kofaktör gerektirmeyen hidrolaz ve lipazlar gibi saf enzimlerin bulunduğu ortamlarda geliştirilmiştir.



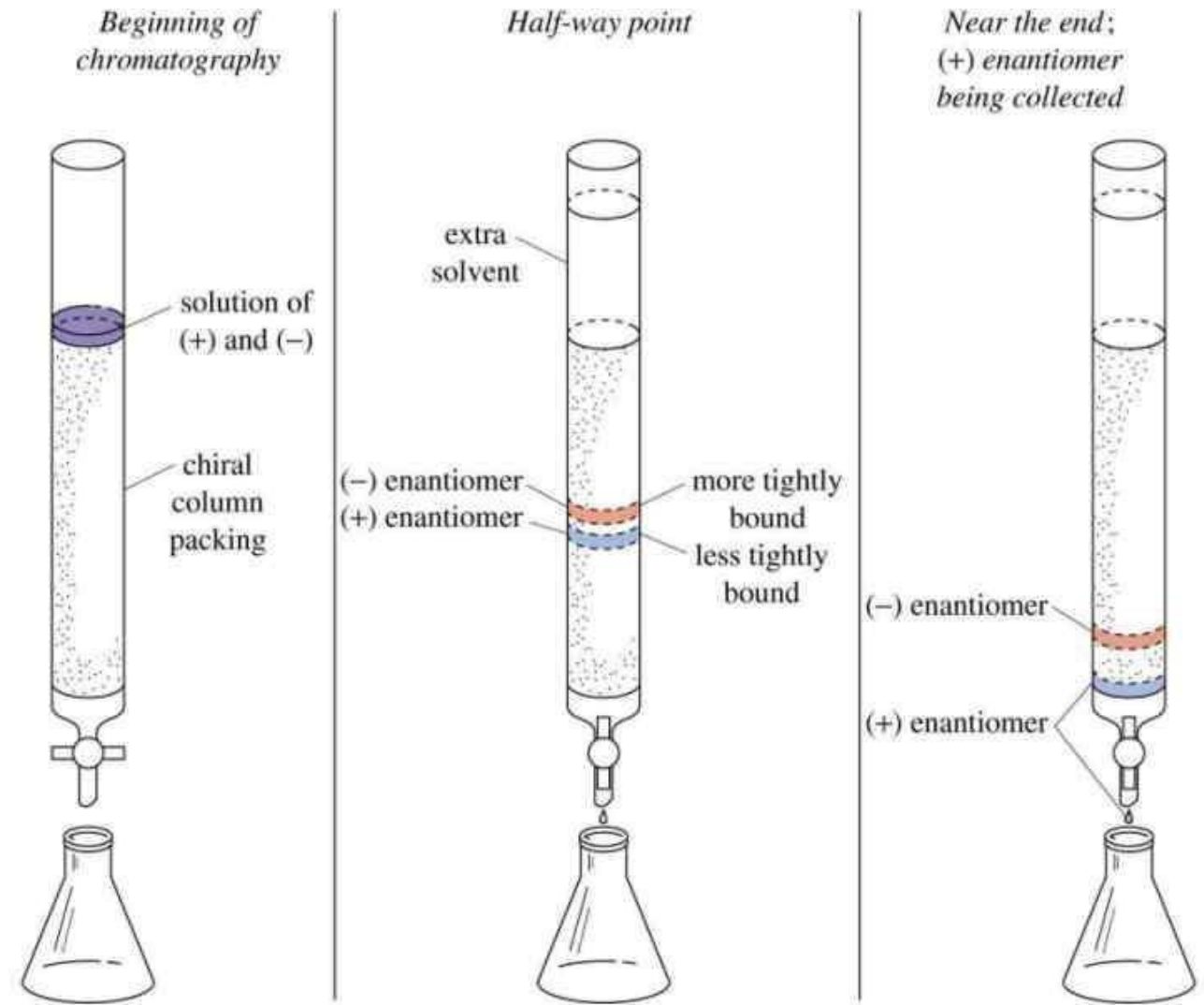
# Enzimatik / Kinetik Ayırım



# Kiral Stasyoner Faz ile Kromatografik Ayırım

- Rasemik karışım, kiral bir madde ile doldurulmuş kromatografi kolonuna yerleştirildiğinde, enantiyomerler diastereomerlere dönüşmeden kolonda farklı oranlarda ayrılırlar.
- Bu ayırım; kağıt, ince tabaka , kolon, gaz ve sıvı kromatografisi ile yapılabilir.
- Rasemik **2-aminobutan'ın** kromatografik sistemde ayrılması için mandelik asit enantiomeri stasyoner faza aklenir.
- 2-Aminobutan ile stasyoner faz arasındaki diastomerik etkileşimler farklı retansiyon zamanlarına sahip diastomerlerin ayrılmasını sağlar.

- Rasemik solüsyon kolondan geçerken, enantiomerler kiral kolonla zayıf etkileşimler (hidrojen bağı vs.) yaparlar.
- Bu diastomerik kompleksler farklı fiziksel özelliklere sahiptir.
- Kiral kolona daha güçlü bağlanan enantiomer, kolondan daha sonra çıkar.
- Daha zayıf bağlanan enantiomer ise daha önce çıkar.



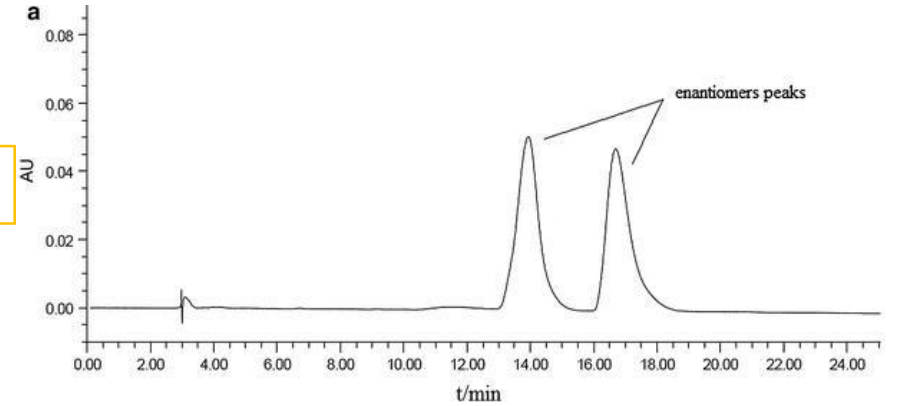
*Chromatographic resolution of enantiomers. The enantiomers of the racemic compound form diastereomeric complexes with the chiral material on the column packing. One of the enantiomers binds more tightly than the other, so it moves more slowly through the column.*

# Enantiomerik Ayırımın Değerlendirilmesi

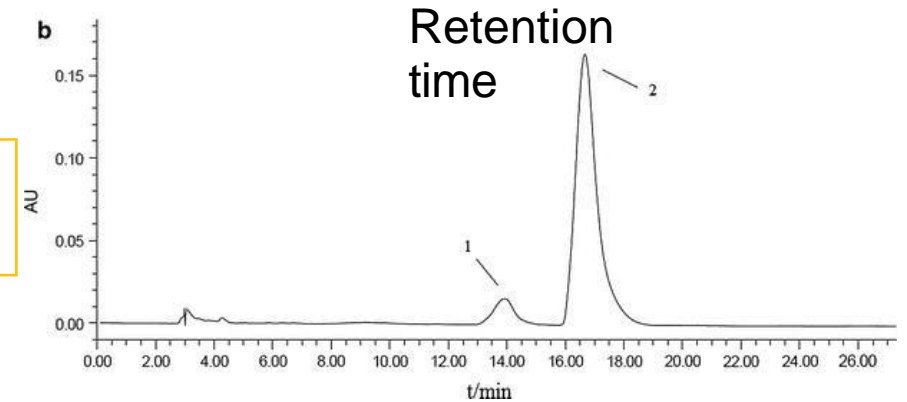
➤ Kromatografi ile ayrılmış olan bileşiğin yüzde oranı belirlenebilir.

- Bir rasemik karışımı ayırmak için kullanılan yöntemin etkinliği, elde edilen enantiyomerlerin her birinin saflığının değerlendirilmesiyle belirlenebilir.
- Enantiyomerlerin her birinin saflığı genellikle enantiyomerik fazlalık (ee) olarak ifade edilir.

Racemic mixture



Enantiomerically enriched



# Enantiomerik Aşırılık (ee) Hesaplanması

- Enantiyomerik aşırılık (optik saflık), bir enantiyomerin ne kadar saf olduğunun bir ölçüsüdür (yani, bir enantiyomerin rasemik karışımda ne kadar fazla olduğu).
- ee sembolü ile gösterilir ve % olarak hesaplanır.
- Karışımdaki iki enantiyomerin her birinin yüzdeleri, bir kromatogramdaki pikin altındaki alandan hesaplanırsa, enantiyomerik fazlalık doğrudan aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanabilir.

$$ee = \% \text{ of major enantiomer} - \% \text{ of the minor enantiomer.}$$



# Enantiomerik Aşırılık (ee)

- Bir enantiyomerin %95'ini ve diğerinin %5'ini içeren bir karışımın durumunu ele alalım, karışımın enantiyomerik fazlalığı:

***ee = % of major enantiomer - % of the minor enantiomer.***

$$95\% - 5\% = 90\%.$$

# Enantiomerik Aşırılık (ee) Kütle ile Hesaplanması

- Bir karışımın enantiyomerik fazlalığı (saflığı), karışımdaki her bir enantiyomerin kütlesi kullanılarak hesaplanabilir.
- Ayırma işleminden sonra izole edilen saf enantiyomerlerin her birinin kütlesi biliniyorsa, enantiyomerik fazlalık aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanabilir.

$$ee = \left( \frac{(R - S)}{(R + S)} \right) \times 100$$

# Enantiomerik Aşırılık (ee) Hesaplanması

- Bir karışımın özgül çevirmesi  $[\alpha]$  ve saf bir enantiyomerin özgül çevirmesi  $[\alpha]$  biliniyorsa, enantiomerik fazlalık da hesaplanabilir.

$$\text{Optikçe saflık} = \frac{\text{gözlenen özgül çevirme}}{\text{saf enantiyomerin özgül çevirmesi}} \times 100$$

- Bir polarimetrede analiz edilen bir mandelik asit numunesi, -75 derecelik gözlemlenen bir özgül çevirmesi verdi. (S)-mandelik asidin özgül çevirmesi +154 derece ise;
  - (i) Hangi enantiomer fazladır ? (R or S)
  - (ii) Karışımın enantiomerik aşırılığını hesaplayınız.
  - (iii) Karışımındaki her bir enantiyomerin yüzdesini hesaplayın.

# Enantiomerik Aşırılık (ee) Hesaplanması

- (S)-mandelik asidin +154 derecelik bir özgül çevirmesi varsa, o zaman enantiyomerinin özgül çevirmesi -154 derecedir. Karışımın özgül dönüşü negatif olduğundan (R)- mandelik asit baskındır.

$$\text{Optikçe saflık} = \frac{\text{gözlenen özgül çevirme}}{\text{saf enantiyomerin özgül çevirmesi}} \times 100$$

$$ee = (75 / 154) \times 100 = 48.7\%$$

- Let the % of R-enantiomer be R, that of the S-enantiomer be S, then  $R + S = 100$ , while  $R - S = \text{enantiomeric excess}$ .

$$R - (100 - R) = \text{enantiomeric excess} = 48.7 \quad 2R - 100 = 48.7,$$

$$\text{which implies that } 2R = 148.7 \quad \text{The major R-enantiomer} = 74.4\%$$

$$\text{The minor S-enantiomer} = (100 - R) = 25.6\%$$

**ÖRN:** (R)-(-)-2-Bütanol ve (S)-(+)-2-Bütanol karışımı içeren bir örnek polarimetrede ölçülüyor. Gözlenen özgül çevirme  $+6,76^\circ$  olarak ölçülüyor. Buna göre, optikçe saflık nedir? (S)-(+)-2-Bütanol'ün özgül çevirmesi  $+13,52^\circ$ 'dir.

**ÇÖZÜM:**

$$\text{Optikçe saflık} = \frac{\text{gözlenen özgül çevirme}}{\text{saf enantiyomerin özgül çevirmesi}} \times 100$$

$$=(6,76^\circ/13,52^\circ).100$$

=%50 (Kabın içinde bulunan (S)-(+)-2-Bütanol'ün fazlasıdır. Biri diğerinden bu kadar fazla demektir.

Yani geriye kalan % 50'nin % 25'i (R)-(-)-2-Bütanol ve % 25'i (S)-(+)-2-Bütanol demektir. Kabın içerisinde toplamda %75 (S)-(+)-2-Bütanol ve % 25 (R)-(-)-2-Bütanol olmalıdır.