

Extreme flüssigkeitschromatographische Trenneffekte bei diastereomeren Amiden mit polaren Substituenten^{**}

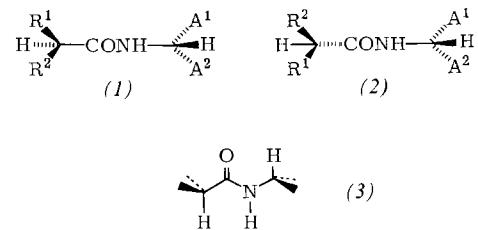
Von Günter Helmchen, Günter Nill, Dieter Flockerzi, Willi Schühle und Mohamed S. K. Youssef^[*]

Im Gegensatz zur fraktionierenden Kristallisation diastereomerer Salze kann die Enantiomeren trennung chiraler Carbonsäuren und Amine durch Flüssigadsorptionschromatographie diastereomerer Amide gezielt durchgeführt werden, d. h. unter Vorausabschätzung des Trennerfolgs^[1a] sowie unter simultaner Bestimmung der Enantiomerenreinheit^[1b] und der absoluten Konfiguration^[1c]. Neben der geringen Effizienz der – nunmehr überholten – konventionellen Säulenchromatographie^[2] waren nicht optimale Trennfaktoren und besonders die sehr schwierige Hydrolyse^[3] der Amide Hindernisse zur breiten präparativen Anwendung der Methode.

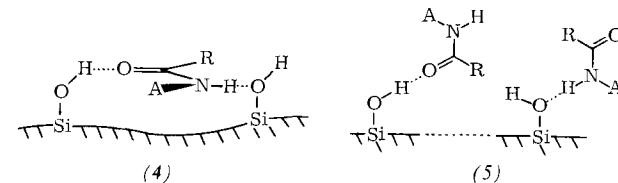
Wir entwickelten nun Reagentien, die sowohl sehr hohe Trennfaktoren als auch leichte Hydrolysierbarkeit gewährleisten (vgl. ^[4]).

Zur Demonstration der Effekte eignen sich besonders diastereomere Amide (1)/(2), da ihre Konformation in Lösung, der Ausgangspunkt unserer Modellvorstellungen, gut definiert ist^[1a] und die Substituenten R und A leicht variiert werden können. Aus chromatographischen Meßdaten (Adsorbens: Kieselgel^[5]) wurden vier einfache Postulate abgeleitet, die die Basis für die Suche nach den für hohe Trenneffekte notwendigen Strukturmerkmalen liefern.

1. Die Konformation der Amide im gelösten und adsorbierenden Zustand ist gleich^[6]. In Fällen (1)/(2) ist sie für beide Diastereomere durch das planare Strukturelement (3) (gemeinsame Ebene) determiniert, sofern weder R¹ noch R² eine Wasserstoffbrückenbindung zur Amidgruppe bilden^[7].



2. Die Bindung an Kieselgel findet vorzugsweise über Wasserstoffbrücken statt^[8]. Deshalb ist der Beitrag der Amidgruppe, die in Zuständen (4) und (5) vorliegen kann, besonders hoch.



3. Signifikante Diastereoselektivität ist nur für den Zustand (4) zu erwarten. Diese Anordnung wird durch Substituenten R und A mit schwacher Bindung zum Kieselgel zugunsten ungebundener oder einfach gebundener Zustände (5) gestört.

[*] Dr. G. Helmchen, Dipl.-Chem. G. Nill, Dipl.-Chem. D. Flockerzi, W. Schühle, Dr. M. S. K. Youssef
Institut für Organische Chemie, Biochemie und Isotopenforschung der Universität
Pfaffenwaldring 55, D-7000 Stuttgart 80

[**] Gezielte Trennung von Enantiomeren via Flüssigkeitschromatographie diastereomerer Derivate, 4. Mitteilung. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt (Projekt He 880/6) – 3. Mitteilung: [1a].

Die Störwirkung eines Substituenten muß empirisch ermittelt werden. Formal bewerten wir sie durch die Bezeichnungen chromatographisch-groß (cL) und -klein (cS), da sie für Alkyl- und Arylgruppen ungefähr mit der Raumerfüllung in Richtung der Normalen zur Amidgruppe parallel geht^[9].

4. (Konfigurationsregel) Die Gruppen R¹ und R² bzw. A¹ und A² werden nach ihrer Störwirkung als R^{cL} und R^{cS} bzw. A^{cL} und A^{cS} klassifiziert. Infolge besserer Abschirmung der Amidgruppe wird das Diastereomer zuerst eluiert, dessen Gruppen R^{cL}/A^{cL} auf verschiedenen Seiten der gemeinsamen Ebene stehen.

Welche Strukturmerkmale sollten nach diesen Postulaten zu besonders guten Trenneffekten, beurteilt durch den Trennfaktor α , führen? Postulat 3 impliziert, daß α mit dem Unterschied in der Störwirkung zwischen A¹ und A² oder R¹ und R² ansteigt. Bei den Amiden (a) und (b) (vgl. Tabelle 1) ist dies der Fall, in der Reihe (c)–(e) aber nicht, obwohl Postulat 4 richtig bleibt. Offensichtlich vermindert sich der Anteil an diastereoselektiv wirkenden Zuständen (4) für beide Diastereomere mit zunehmender Vergrößerung – speziell Verbreiterung – der apolaren Substituenten. Ein extremer Fall ist (f).

Tabelle 1. Hochdruckflüssigkeitschromatographische Trennung [a] diastereomerer Amide (1)/(2) [b] an Kieselgel (23°C; Hexan-Ethylacetat (x:y) [c]).

R ¹ (cS)	R ² (cL)	A ¹ (cS)	A ² (cL)	α [d] [cal]	$-\Delta(\Delta G)$ [e]	(x:y)
(a) Et	Ph	Me	Ph	1.51	242	4:1
(b) Et	Ph	Me	p-C ₆ H ₄ Ph	1.70	313	4:1
(c) Me	Ph	Me	Ph	1.81	348	4:1
(d) Me	CH ₂ Ph	Me	Ph	1.68	306	4:1
(e) Me	CHPh ₂	Me	Ph	1.45	220	4:1
(f) Me	CHPh ₂	Me	CHPh ₂	1.15	82	4:1
(g) Me	Ph	CH ₂ OH	Ph	2.56	553	1:1
(h) Me	CH ₂ Ph	CH ₂ OH	Ph	2.56	553	1:1
(i) Me	CHPh ₂	CH ₂ OH	Ph	2.73	591	1:1
(j)	CH ₂ OH	Ph	Me	3.06	658	4:1
(k)	(CH ₂) ₂ OH	Ph	Me	2.81	608	1:1
(l)	(CH ₂) ₃ OH	Ph	Me	2.83	613	1:1
(m)	CH ₂ OAc	Ph	Me	2.13	445	1:1
(n)	CH ₂ CO ₂ Me	Ph	Me	2.06	424	4:1
(o)	(CH ₂) ₂ CO ₂ Me	Ph	Me	1.91	380	1:1
(p)	(CH ₂) ₂ OH	Ph	CH ₂ OH	1.71	314	1:1
(q)	CH ₂ CO ₂ Me	Ph	CH ₂ OH	5.77	1031	0:1
				3.36	713	1:1

[a] Apparaturen: siehe [1b]; Druck: 150 bar; Inertsubstanz: Pentan; Trennsäulen: 30 × 0.3 cm für (a)–(f), 20 × 0.3 cm für (g)–(q), gepackt mit Merckosorb SI 60, 5 µm. [b] Alle neuen Verbindungen wurden diastereomer rein hergestellt und ergaben korrekte Analysenwerte und passende Spektren; die Konfiguration wurde für (l) und (o) durch ¹H-NMR (Methode: G. Helmchen, Tetrahedron Lett. 1974, 1527), sonst durch Synthese gesichert. [c] Die Eluenszusammensetzung konnte wegen der unterschiedlichen Polarität der Verbindungen nicht konstant gehalten werden. Wie Fall (i) belegt, vermindert sich α mit zunehmendem Ethylacetat-Gehalt. [d] $\alpha = (t_2 - t_0)/(t_1 - t_0)$; t_1 , t_2 : Retentionszeit des erst- und zweiteluierten Amids; t_0 : Retentionszeit von Pentan. [e] $\Delta(\Delta G) = -RT\ln\alpha$.

Um diesem unerwünschten Effekt entgegenzuwirken, wurden zur Stabilisierung von (4) polare Gruppen eingeführt. Als besonders günstig erweist sich die OH-Gruppe. So zeigt die zu (c)–(e) korrespondierende Reihe (g)–(i) (Vergleich: A¹ = CH₃ mit A¹ = CH₂OH) nicht nur ein beträchtlich höheres α -Niveau, sondern auch die erwartete Steigerung mit zunehmendem Größenunterschied der apolaren Substituenten. Ebenso günstig wie im Amin-Molekülteil wirkt sich eine polare Gruppe im Acylteil aus, vgl. (a) mit (j) oder (k).

Wie aufgrund der vorgeschlagenen Struktur (4) zu erwarten, ist der Einfluß der polaren Gruppe entfernungsabhängig. Dieses zeigt sich für die OH-Gruppe in der Reihe (j)–(l) und für die Estergruppe, deren Wirkung insgesamt schwächer ist, in der Reihe (m)–(o). Daß der Effekt bei relativ zum Carbo-

nyl-C γ -ständiger Hydroxylgruppe besonders groß ist, ermöglicht seine „chemische Nutzung“.

Eine weitere Steigerung beobachtet man bei Verbindungen mit polarer Gruppe in beiden Molekülteilen, siehe (p) und (q). Auch für diese bezüglich der Trennfaktoren extremen Fälle gelten die Postulate 1–4 im Wortlaut, wenn man die polaren Gruppen formal zur cS-Klasse rechnet.

Trennfaktoren $\alpha > 2$ werden selbst für cyclische Diastereomere selten gefunden. Die Signifikanz solcher Werte für die Praxis muß in Relation zur Bodenzahl des Chromatographie-Systems^[2] beurteilt werden. Typische Bedingungen ($k'_2 = 5$) angenommen, benötigt man für eine Grundlinientrennung ($R_S = 1.2$) bei $\alpha = 1.05, 1.2, 1.5, 2.0$ bzw. 5 ca. 15000, 1200, 300, 130 bzw. 50 theoretische Böden^[8]. Trennungen ab $\alpha \approx 2$ können demnach selbst auf primitiven Säulen gut durchgeführt werden.

Eingegangen am 25. Oktober 1978 [Z 122a]

- [1] a) G. Helmchen, H. Völter, W. Schühle, *Tetrahedron Lett.* 1977, 1417; b) G. Helmchen, W. Strubert, *Chromatographia* 7, 713 (1974), siehe auch Fußnote 13 in [1c]; c) G. Helmchen, R. Ott, K. Sauber, *Tetrahedron Lett.* 1972, 3873.
- [2] Langlebige (> 1 Jahr) präparative Glassäulen (45×4 cm; 300 g Kieselgel Merck LiChroprep 15–25 μm) mit der Testbodenzahl 10000 ± 1000 (Naphthalin, Hexan/Ethylacetat (95:5), 50 ml/min) können auch von Anfängern reproduzierbar hergestellt werden: B. Glatz, G. Helmchen, noch unveröffentlicht. Konventionelle offene Säulen besitzen unter denselben Testbedingungen 50–300, DC-Platten oder Merck-Lobar-Säulen 600–1200 theoretische Böden.
- [3] Einzige Alternative war bisher die Nitrosamidumlagerung der Amide, bei der das Amin zerstört wird: G. Helmchen, V. Prelog, *Helv. Chim. Acta* 55, 2599 (1972), speziell S. 2601, 1. Absatz.
- [4] a) G. Helmchen, G. Nill, D. Flockerzi, M. S. K. Youssef, *Angew. Chem.* 91, 65 (1979); *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 18, Nr. 1 (1979); G. Helmchen, G. Nill, *ibid.* 91, 66 (1979) bzw. 18, Nr. 1 (1979).
- [5] Für andere Adsorbentien, insbesondere Umkehrphasen, müssen die Postulate möglicherweise modifiziert werden.
- [6] Es ist uns bewußt, daß diese Aussage zum Widerspruch reizt. Wir haben aber in weit über 100 Fällen keinen damit unvereinbaren Befund erhalten. Der ohne Konformationsbetrachtungen auskommende Ugi-Ruch-Ansatz ist nicht anwendbar: H. Völter, Dissertation, Universität Stuttgart 1978.
- [7] Nach IR- und NMR-Spektren liegt eine solche Wasserstoffbrückebindung bei keiner der in Tabelle 1 aufgeführten Verbindungen vor.
- [8] L. R. Snyder: *Principles of Adsorption Chromatography*. Marcel Dekker, New York 1968.
- [9] Gegenüber Aluminiumoxid ist die Störwirkung der Arylgruppen geringer; bekanntlich werden Arene an Aluminiumoxid auch stärker als an Kieselgel adsorbiert^[8].

Gezielte präparative Trennung enantiomerer Carbonsäuren und Lactone via Flüssigkeitschromatographie und nachbargruppenunterstützte Hydrolyse diastereomerer Amide^[**]

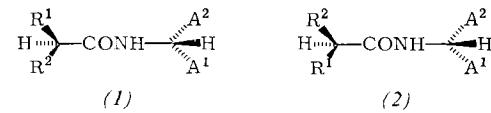
Von Günter Helmchen, Günter Nill, Dieter Flockerzi und Mohamed S. K. Youssef^[*]

Diastereomere Amide (1)/(2) mit OH-Gruppen in γ - oder δ -Stellung zur Carbonylgruppe [R^1 oder $R^2 = (\text{CH}_2)_n\text{OH}$ und/oder A^1 oder $A^2 = (\text{CH}_2)_{n-1}\text{OH}$, $n = 2, 3$] weisen bei der Flüssigkeitsabsorptionschromatographie besonders hohe, zum Teil extreme Trennfaktoren auf^[1]. Wir berich-

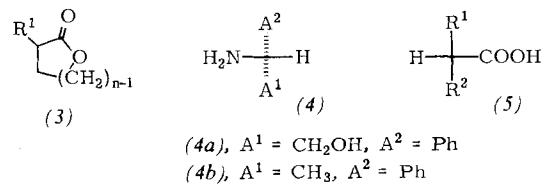
[*] Dr. G. Helmchen, Dipl.-Chem. G. Nill, Dipl.-Chem. D. Flockerzi, Dr. M. S. K. Youssef
Institut für Organische Chemie, Biochemie und Isotopenforschung der Universität
Pfaffenwaldring 55, D-7000 Stuttgart 80

[**] Gezielte Trennung von Enantiomeren via Flüssigkeitschromatographie diastereomerer Derivate, 5. Mitteilung. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt (Projekt He 880/6). – 4. Mitteilung: [1].

ten hier, daß die chemischen Eigenschaften dieser Amide ebenfalls günstig sind: Die Amid-Spaltung findet unter genügend milden sauren Bedingungen statt, so daß auch relativ empfind-



liche Verbindungen bearbeitet werden können, aber nicht unter so milden Bedingungen, daß die Amide bereits auf dem schwach sauren Adsorbens Kieselgel reagieren. In Fällen R^1 oder $R^2 = (\text{CH}_2)_n\text{OH}$, $n = 2, 3$, werden mit 0.5–1 N Mineralsäure bei 50–90°C Lactone (3), $n = 2, 3$ ^[2], und Aminen (4) gebildet. In Fällen A^1 oder $A^2 = (\text{CH}_2)_{n-1}\text{OH}$, $n = 2, 3$, tritt *N,O*-Acylierung^[3] gefolgt von einer Esterhydrolyse zu Carbonsäuren (5) und Aminen (4) ein. Je nach den Eigenschaften von R^1 und R^2 ist 0.5–3 N Mineralsäure bei ca. 50–100°C erforderlich. Die Ausbeuten sind in der Regel praktisch quantitativ.



Mit diesen Resultaten ist die angestrebte Methode (vgl. [1]) zur gezielten Trennung enantiomerer Carbonsäuren oder Aminen im Prinzip realisiert, ein Verfahren zur Trennung enantiomerer Lactone ist zusätzlich angefallen:

1. Racemische Carbonsäuren (5) werden über übliche aktivierte Derivate (Acylchloride, -imidazolide etc.) mit Aminoalkoholen (4), A^1 oder $A^2 = (\text{CH}_2)_n\text{OH}$, $n = 1, 2$, zu diastereomeren Amiden (1)/(2) umgesetzt, die man chromatographisch trennt und anschließend hydrolysiert. Als Reagens ist (–)(R)-Phenylglycinol (4a) ausgezeichnet geeignet, da es UV-aktiv (Detektion), kommerziell erhältlich^[4] und leicht praktisch quantitativ zurückzugewinnen ist (vgl. Tabelle 1 und Arbeitsvorschrift). Auch andere aus Aminosäuren herstellbare Verbindungen, z. B. Phenylalaninol, Alaninol, Valinol, Leucinol und Amide oder Ester des Serins ergeben gute Resultate^[5]. Die Nitrosamidumlagerung, bei extrem empfindlichen Carbonsäuren eine Alternative zur Hydrolyse, kann auch auf die *N*-Acyl-derivate von Aminoalkoholen angewendet werden, vgl. (5d) in Tabelle 1.

2. Racemische Lactone (3) lassen sich mit Aminen (4) direkt zu Amiden (1)/(2), R^1 oder $R^2 = (\text{CH}_2)_n\text{OH}$, $n = 2, 3$, umsetzen (Katalysator: 2-Hydroxypyridin^[6]). Da diese Amide bereits im Falle apolarer Substituenten A^1 , A^2 hohe Trennfaktoren aufweisen^[1], sind schon Amine wie (–)(S)-1-Phenylethylamin (4b)^[7] gute Trennreagentien. Die Rückspaltung der chromatographisch getrennten Amide ergibt, außer im Falle $R^1 = \text{Ph}$, enantiomer reine Lactone (3) (vgl. Arbeitsvorschrift und Tabelle 1).

Derartige Lactone neigen stark zur Racemisierung. Wir haben deshalb die Enantiomereneinheit des besonders gefährdeten Lactons (3c) folgendermaßen bestimmt: (+)-(3c) (Daten siehe Tabelle 1) wurde mit Bromwasserstoff/Eisessig, danach mit Zink/Eisessig behandelt; die gebildete 2-Benzylbuttersäure war >99.9% enantiomer rein [HPLC diastereomerer Amide mit (4h)^[8]].

3. Enantiomer reine Lactone (3) sind nun erstmals leicht zugänglich. Sie eignen sich aber nicht als Trennreagentien