

Temperaturabhängige Umkehr der Elutionsfolge bei der Trennung von α -Aminosäure-Enantiomeren an chiralen Diamid-Selektoren

Von Katsunori Watabe, Rosita Charles und Emanuel Gil-Av*

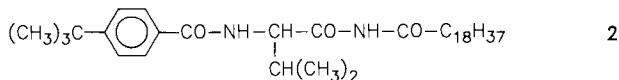
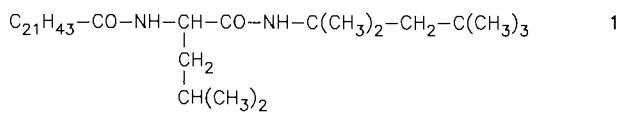
Stereoselektivität wird in der chiralen Chromatographie durch den Trennungskoeffizienten α beschrieben, der zudem die Elutionsfolge eines Enantiomerenpaares (Selektand) an einer Phase (Selektor) gegebener Händigkeit spezifiziert^[1]. An vielen Selektoren war die Konfiguration des zuerst eluierten Enantiomers für eine gegebene Verbindungsklasse immer dieselbe.

In allen bisherigen Untersuchungen wurde die Trennung mit steigender Temperatur schlechter. Die Gibbs-Helmholtz-Beziehung (a)^[2] sagt voraus, daß, falls $\Delta\Delta H^0$

$$\ln \alpha = \frac{\Delta\Delta S^0}{R} - \frac{\Delta\Delta H^0}{R} \frac{1}{T} \quad (a)$$

und $\Delta\Delta S^0$ sich von Null unterscheiden, das gleiche Vorzeichen haben und temperaturunabhängig sind (der allgemeine Fall), eine Trennung bei der Temperatur $T_{iso} = \Delta\Delta H^0 / \Delta\Delta S^0$ unmöglich wird ($\ln \alpha = 0$, isoenantioselektiver Punkt), aber auch, daß bei weiterer Erhöhung der Temperatur Peakinversion und eine Verbesserung der Trennung resultieren sollten. Dieses für achirale Verbindungen bekannte Verhalten^[3] wurde bisher bei der Trennung von Enantiomeren an chiralen Selektoren^[4,5] nicht beobachtet. Der Nachweis einer solchen Peakinversion in chiralen Systemen war von prinzipiellem Interesse und ist vor allem bedeutsam für die Abschätzung des Einflusses von Temperatur, $\Delta\Delta H^0$ und $\Delta\Delta S^0$ auf die Stereoselektivität der chromatographischen Enantiomerentrennung.

1985 wurde beobachtet^[6], daß die Enantiomere von *N*-Acetylvalin-*tert*-butylamid bei 170°C von einer Diamid-Phase in der umgekehrten Reihenfolge eluiert wurden wie eine Reihe von früher untersuchten *N*-TFA- α -aminosäure-*tert*-butylamiden^[7] (TFA = Trifluoracetyl). Daraufhin untersuchten wir^[8] die Temperaturabhängigkeit der Trennungskoeffizienten an *N*-Docosanoyl-L-leucin-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)amid **1** (bis zu 220°C) und *N*-*para*-*tert*-Butylbenzoyl-L-valin-octadecylamid **2** (bis zu 200°C), mit de-



nen „whisker-walled“ Glaskapillaren von 2–8 m Länge (bis zu 40 000 Trennböden) belegt waren. Die untersuchten Selektanden waren optisch angereicherte *N*-Acyl-*tert*-butylamide von α -Aminosäuren (Abb. 1) sowie *N*-TFA-isopropylester von α - und γ -Aminosäuren und *O*-Pivaloyl-*N*-TFA-2-aminoalkan-1-ole (Abb. 2).

Die Auftragungen in Abbildung 1 (für Phase **1**) zeigen, daß alle Kurven für Diamid-Selektanden mit Ausnahme der des Prolinderivats einen linearen Abschnitt, der die $\ln \alpha = 0$ -Linie schneidet, und danach eine Inversion der Elutionsfolge in Einklang mit der Gibbs-Helmholtz-Gleichung aufweisen. Die isoenantioselektiven Temperaturen

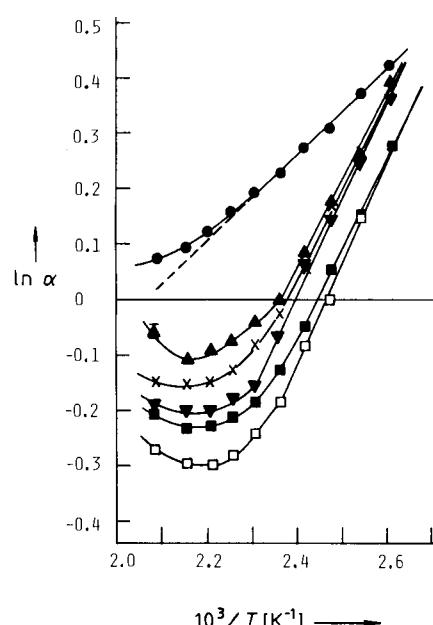


Abb. 1. Auftragungen von $\ln \alpha$ gegen $1/T$ für *N*-TFA-aminosäure-*tert*-butylamide an Phase **1**. ● = Prolin, ▲ = Alanin, ✕ = α -Aminobuttersäure, ▽ = Leucin, ■ = Valin, □ = *N*-Acetylvalin-*tert*-butylamid.

liegen im Bereich von 130–150°C. Entsprechende Messungen an Phase **2** bestätigten diese Ergebnisse. Die Überprüfung früherer Befunde^[7] ergab Hinweise auf ein ähnliches Verhalten der Diamid-Selektanden mit anderen Diamid-Selektoren^[9], und kürzlich wurden in anderen Gruppen Beweise für das Auftreten der Inversion bei weiteren Verbindungsklassen^[10] und anderen Selektoren^[11] gefunden.

Daß bisher keine Inversion beobachtet worden war, dürfte im wesentlichen mit den hohen T_{iso} -Werten zusammenhängen, da bei diesen Temperaturen die Phase oder der Selektand instabil sein könnten. Zusätzlich nehmen die Kapazitätsquotienten k' mit steigender Temperatur stark ab. Entsprechend wird der Term $k'_2/(k'_2 + 1)$ in Gleichung

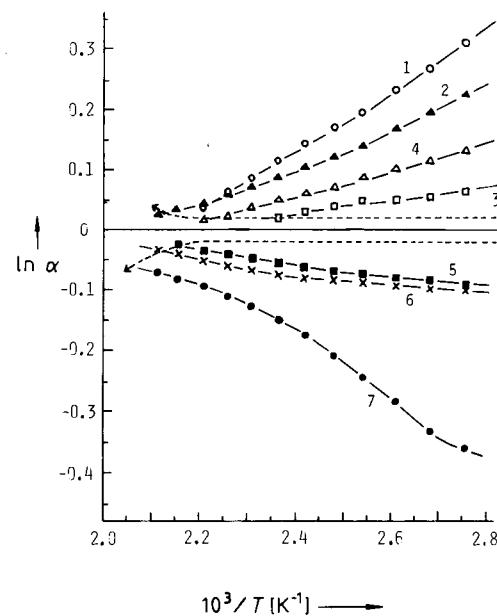


Abb. 2. Auftragungen von $\ln \alpha$ gegen $1/T$ für *N*-TFA-aminosäure-isopropylester (1, 2, 3, 4, 6) und *O*-Pivaloyl-*N*-TFA-aminokohole (5, 7) an Phase **1**. 1 = Alanin, 2 = Glutaminsäure, 3 = Asparaginsäure, 4 = Phenylglycin, 5 = 2-Aminoheptan-1-ol, 6 = γ -Amino- δ -methylheptancarbonsäure, 7 = Leucinol. Im Bereich zwischen den gestrichelten Linien ist keine Trennung möglich.

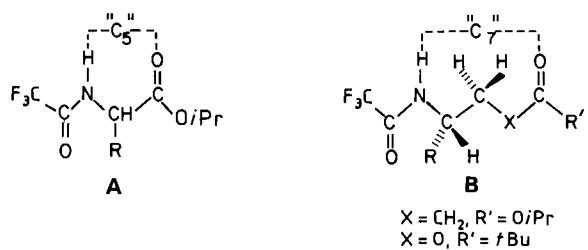
[*] Prof. Dr. E. Gil-Av, Dr. K. Watabe, R. Charles

Department of Organic Chemistry, Weizmann Institute of Science
Rehovot 76100 (Israel)

(b) für den Peakrennfaktor R kleiner, und für eine erkennbare Trennung sind größere minimale α -Werte erforderlich.

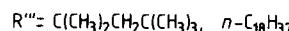
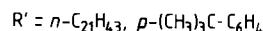
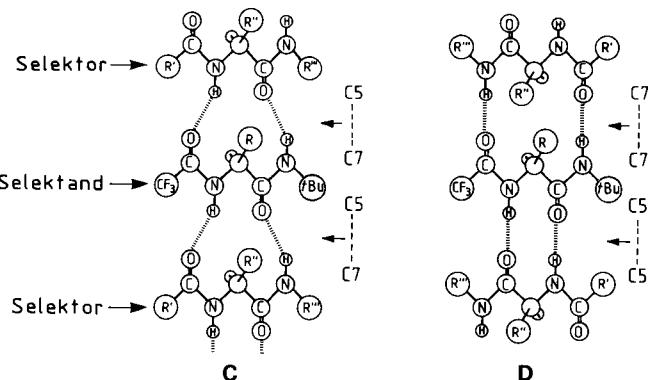
$$R = \frac{\sqrt{N}}{4} \frac{\alpha - 1}{\alpha} \frac{k'_2}{k'_1 + 1} \quad (b)$$

lich. Die punktierten Linien in Abbildung 2 umgrenzen schematisch die sich mit steigender Temperatur verbreiternde Zone, innerhalb derer für eine gegebene Bodenzahl N die Peaks nicht getrennt werden und daher die α -Werte nicht bestimmt werden können. Überdies könnten die thermodynamischen Parameter temperaturabhängig sein, was zur Nichtlinearität der Gibbs-Helmholtz-Auftragungen führen sollte^[2, 12]. Die Kombination dieser Effekte könnte die Nichtlinearität der Kurven in Abbildung 2 für *N*-TFA-aminosäureester und für Derivate der 2-Aminoalkan-1-ole an Phase 1 erklären, die sich mit steigender Temperatur der Nichtauflösungszone nähern und zum Teil sogar mit ihr verschmelzen. Die Auftragungen, die eine Inversion zeigen (Abb. 1), haben einen nichtlinearen Teil, der einen Wendepunkt aufweist und sich in der Folge der x -Achse nähert. Diese Kurvenform könnte durch das gleichzeitige Auftreten von zwei Trennungsmechanismen mit entgegengesetzter Enantioselektivität zu erklären sein. Es ist einerseits bekannt^[14], daß Verbindungen, die sich im Typ der Assoziation, die sie mit der Diamid-Phase eingehen, unterscheiden, entgegengesetzte Elutionsfolgen der Enantiomere aufweisen können. So haben die *N*-TFA-isopropylester von α -Aminosäuren, die der Phase eine „C₅“-Einheit (A) präsentieren, ein $\alpha > 1$, *N*-TFA- γ -aminosäureester und die veresterten 2-Aminoalkan-1-ole mit einer „C₇“-Einheit (B) dagegen ein $\alpha < 1$ (Abb. 2).



Andererseits kann eine Phase (auch) Assoziate mit entgegengesetzter Stereoselektivität mit dem gleichen Selektanden bilden. So können die *N*-TFA-*tert*-butylamide von α -Aminosäuren in einen Diamid-Selektor „parallel“ (**C**) oder „antiparallel“ (**D**) intercalieren (Schema 1). Die resultierenden wasserstoffverbrückten Strukturen und die Orientierung der asymmetrischen Zentren zueinander sind unterschiedlich. Jeder dieser beiden Arten der Intercalation sollte eine $\ln \alpha / T$ -Auftragung analog den Kurven mit $\alpha > 1$ beziehungsweise $\alpha < 1$ der Abbildung 2 entsprechen. Die Überlagerung solcher Einzelbeiträge zur Trennung könnte bei entsprechender Größenordnung zu einer Gesamtkurve führen, wie sie experimentell gefunden wurde, d.h. einen linearen Bereich, Inversion und einen Wendepunkt einschließen.

Dieser Vorschlag wird gestützt durch das Verhalten des *N*-TFA-*tert*-butylamids von Prolin. Dieser Diamid-Selektand kann nicht zwischen die Moleküle des Selektors, wie in Schema 1 gezeigt, intercalieren und verhält sich durchaus anders als andere Diamid-Selektanden (siehe Abb. 1). Es sollte hervorgehoben werden, daß ein Doppel-Mechanismus der Trennung (Schema 1) keine Bedingung für die Beobachtung von Inversion ist, daß er aber den T_{iso} -Wert in ein günstiges Gebiet verschieben kann.



Schema 1. Parallele (**C**) und antiparallele (**D**) Intercalation eines *N*-TFA- α -aminosäure-*tert*-butylamids in einen Diamid-Selektor mit Wasserstoffbrücken des Typs „C₅-C₅“ (**C**) und „C₅-C₅“ + „C₅-C₅“ (**D**).

Zusammenfassend ist also der Sinn der Stereoselektivität eines chiralen Selektand-Selektor-Systems nicht als konstante Eigenschaft, sondern als temperaturabhängig zu betrachten, was für die Bestimmung der Konfiguration aus chromatographischen Daten von Bedeutung ist. In vielen Fällen wird jedoch die Inversion der Elutionsfolge hauptsächlich aufgrund zu hoher T_{iso} -Werte nicht beobachtet. Es ist erwähnenswert, daß bei bestimmten stereoselektiven Reaktionen eine temperaturabhängige Inversion der Chiralität der Produkte beobachtet wurde^[15, 16] und in analoger Weise über die Gibbs-Helmholtz-Beziehung unter Berücksichtigung thermodynamischer Parameter relevanter Übergangszustände interpretiert wurde^[16].

Eingegangen am 12. August 1988 [Z 2924]

CAS-Registry-Nummern:

- 1: 93492-01-4 / 2: 118043-88-2 / DL-*N*-TFA-prolin-*tert*-butylamid: 77122-72-6 / DL-*N*-TFA-alanine-*tert*-butylamid: 118138-67-3 / DL-*N*-TFA- α -aminobuttersäure-*tert*-butylamid: 118043-89-3 / DL-*N*-TFA-leucin-*tert*-butylamid: 118138-68-4 / DL-*N*-TFA-valine-*tert*-butylamid: 89886-55-5 / DL-*N*-Acetylvaline-*tert*-butylamid: 118138-69-5 / DL-*N*-TFA-alanine-isopropylester: 6823-43-4 / DL-*N*-TFA-glutaminsäure-isopropylester: 88438-61-3 / DL-*N*-TFA-asparaginsäure-isopropylester: 37666-85-6 / DL-*N*-TFA-phenylglycin-isopropylester: 81187-80-6 / (rac)-*O*-Pivaloyl-*N*-TFA-2-aminoheptan-1-ol: 73061-02-6 / *N*-TFA- γ -amino- δ -methylheptancarbonsäure-isopropylester: 118043-90-6 / (rac)-*O*-Pivaloyl-*N*-TFA-leucinol: 73061-11-7.

- [1] In dieser Zuschrift ist $\alpha = \alpha_{L/D}$, d.h. das Verhältnis der adjustierten Retentionsvolumina von L- und D-Enantiomer. Für $\alpha > 1$ wird das D- vor dem L-Isomer eluiert, für $\alpha < 1$ gilt das Umgekehrte.
[2] M. Lederer (*Proc. Int. Congr. Surf. Act. 2nd 1957, S. J78*) benutzte die Gibbs-Helmholtz-Beziehung, um die Variation von R_t -Werten mit der Temperatur zu korrelieren.
[3] M. R. Hoare, Y. H. Purnell, J. H. Purnell, *Trans. Faraday Soc.* 52 (1956) 222.
[4] B. Koppenhöfer, E. Bayer, *Chromatographia* 19 (1984) 123.
[5] V. Schurig, R. Link, unveröffentlicht.
[6] R. Charles, E. Gil-Av, unveröffentlichte Ergebnisse.
[7] S.-C. Chang, R. Charles, E. Gil-Av, *J. Chromatogr.* 202 (1980) 247.
[8] Vorläufige Mitteilung; siehe K. Watabe, R. Charles, E. Gil-Av, *Int. Symp. Adv. Chromatogr.* 23rd 1986 (Chiba, Japan), Abstracts S. 83.
[9] S.-C. Chang (Gainesville, FL, USA), persönliche Mitteilung.
[10] B. Koppenhöfer (Tübingen), persönliche Mitteilung.
[11] Wir danken Professor V. Schurig für die Vorabmitteilung seiner relevanten Beobachtungen in der Komplexierungs-Gaschromatographie; siehe V. Schurig, J. Ossig, R. Link, *Angew. Chem.* 101 (1989) 197; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 28 (1989) Nr. 2.

[12] Die Verdünnung der Diamid-Selektoren durch unpolare Verbindungen führt zu einer Erhöhung der Trennungskoeffizienten der *N*-TFA- α -aminoäurester [13]. Dies wurde auf die Zerstörung des Selektornetzwerks durch die Spaltung der Wasserstoffbrücken und auf die höhere Stereo-selektivität der nichtassoziierten Form zurückgeführt. Eine ähnliche Strukturänderung könnte durch Temperaturerhöhung zustandekommen. Dies hätte eine aufwärts gerichtete Kurvatur der Gibbs-Helmholtz-Auftragung zur Folge und impliziert, daß $\Delta\Delta H^0$ und/oder $\Delta\Delta S^0$ von der Temperatur abhängen.

- [13] T. Hobo, S. Suzuki, K. Watabe, E. Gil-Av, *Anal. Chem.* 57 (1985) 364.
 [14] B. Feibusch, A. Balan, B. Altman, E. Gil-Av, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 1979, 1230.
 [15] H. Pracejus, A. Tille, *Chem. Ber.* 96 (1963) 854.
 [16] I. Ugi, *Chimia* 40 (1986) 340.

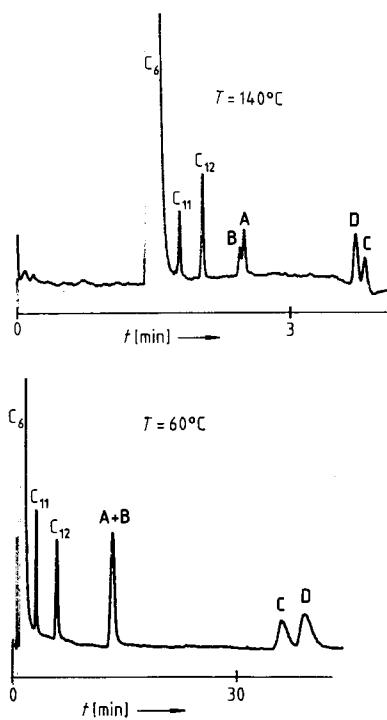


Abb. 1. Temperaturabhängige Umkehr der Enantioselektivität von **2b** (ungefähr 0.15 M in OV-101) bei der Trennung von **1b** (D-angereichert) durch Komplexierungs-Gaschromatographie. Säule: 25 m \times 0.25 mm Quarzkapillare, 0.2 μ Stationärphase; Trägergas: N₂. C₆ = n-Hexan (Lösungsmittel), C₁₁ = n-Undecan, C₁₂ = n-Dodecan.

Temperaturabhängige Umkehr der Enantioselektivität bei der Komplexierungs-Gaschromatographie an chiralen Phasen**

Von Volker Schurig*, Joachim Ossig und Rainer Link

Eine temperaturabhängige Umkehr der Enantioselektivität (d. h. des Vorzeichens von $\Delta_{R,S}(\Delta G^0)$) einer definierten, nichtracemischen Stationärphase (Selektor) bei der chromatographischen Trennung eines chiralen Substrats (Selektand) wurde aufgrund des Temperaturterms der Gibbs-Helmholtz-Gleichung (a) vorausgesagt^[1] (**R** steht willkürlich für das Enantiomer, das nach seinem Antipoden **S** von einer chiralen Säule eluiert wird). Bei $\Delta_{R,S}(\Delta G^0)=0$ ($K_R=K_S$; keine Enantiomerentrennung) ist die isoenantioselektive Temperatur T_{iso} [Gl. (b)] erreicht.

$$T_{iso}=\Delta_{R,S}(\Delta H^0)/\Delta_{R,S}(\Delta S^0) \quad (b)$$

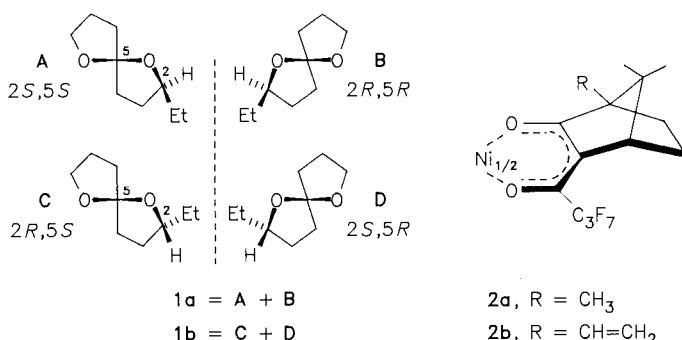
Bei T_{iso} tritt Peak-Koaleszenz („der dritten Art“^[2]) auf; unterhalb davon wird die Elutionsfolge durch $-\Delta_{R,S}(\Delta H^0)$, oberhalb durch $\Delta_{R,S}(\Delta S^0)$ bestimmt. Bei der Koaleszenztemperatur T_{iso} wechselt das Vorzeichen des Trennungskoeffizienten^[3].

Der erste Nachweis einer temperaturabhängigen Umkehr der Enantioselektivität einer chiralen stationären Phase in der Gaschromatographie wurde von *Watabe, Charles und Gil-Av* in einem wasserstoffbrückebildenden Selektand-Selektor-System erbracht^[4]. Wir berichten hier über ein weiteres Beispiel. Es wurde bei der enantioselektiven Koordination in der Komplexierungs-Gaschromatographie gefunden und ist durch eine niedrige Temperatur T_{iso} charakterisiert.

Bei der gaschromatographischen Trennung der Enantiomere von (*E*)-2-Ethyl-1,6-dioxaspiro[4.4]nonan **1b** an Nickel(II)-bis[3-heptafluorbutanoyl)-(1*S*)-10-methylencamphaterat] **2b**^[5] nimmt die koordinative Wechselwirkung ($K_{mittel}=(K_C+K_D)/2$) zwischen 30°C und 150°C stetig ab. Zwischen 70°C und 90°C wird keine Trennung der Enantiomere **C** und **D** beobachtet; bei 60°C wird **D** nach **C**, bei 140°C jedoch vor **C** eluiert (vgl. Abb. 1). Besonders wichtig ist die Beobachtung, daß die Enantiomerdiskriminierung oberhalb der Koaleszenzregion mit zunehmender Temperatur zunimmt (Abb. 2), obwohl die gesamte koordinative Wechselwirkung wie erwartet abnimmt. Damit ist die Forderung der Gibbs-Helmholtz-Beziehung nach einer Zunahme von $+\Delta_{D,C}(\Delta G^0)$ oberhalb T_{iso} erfüllt. Leider konnten wegen der Abnahme der Selektand-Selektor-Koordination und wegen der konfigurativen Labilität des chiralen Spirozentrum von **1** (die charakteristische Interkonversionsprofile verursacht^[2,6] (vgl. oberstes Chromatogramm in Abb. 2)) nur Untersuchungen bis 150°C durchgeführt werden.

Die Bestimmung der Gibbs-Helmholtz-Parameter der enantioselektiven Assoziation zwischen **1b** und **2b** aus relativen Retentionsdaten^[2,7] ergab eine lineare Beziehung zwischen $R \ln(K_D/K_C)$ und $1/T$ (gemessen in 5 K-Intervallen zwischen 50 und 65°C) mit $-\Delta_{D,C}(\Delta H^0)=0.62$ kcal mol⁻¹ und $\Delta_{D,C}(\Delta S^0)=-1.75$ cal mol⁻¹ K⁻¹^[8], woraus sich T_{iso} zu 354 K (80°C) berechnet^[9] (Abb. 3); dieser Wert ist in Einklang mit dem Experiment (Abb. 2). Peak-Koaleszenz für die Enantiomere **A** und **B** des (*Z*)-Diastereomers **1a** wird bei 60°C beobachtet (Abb. 1).

Diese Befunde dürften von beträchtlicher Bedeutung für das Verständnis mechanistischer Aspekte der Enantioselektivität in der Chromatographie im besonderen und für die Enantiomeren-Erkennung in chiralen Umgebungen im allgemeinen sein. Der Einfluß der Temperatur auf die Diskriminierung von Enantiomeren muß künftig bei der chromatographischen Chiralitätserkennung berücksichtigt wer-



* Prof. Dr. V. Schurig, Dipl.-Chem. J. Ossig, Dr. R. Link
 Institut für Organische Chemie der Universität
 Auf der Morgenstelle 18, D-7400 Tübingen

** Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Schu 395/11) und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Wir danken Professor E. Gil-Av, Rehovoth, Israel, für die Vorabmitteilung seiner Ergebnisse.