

**Enantiomerentrennung****Modifizierte lineare Dextrine („Acyclodextrine“) als chirale Selektoren zur gaschromatographischen Trennung von Enantiomeren\*\***

*Giuseppe Sicoli, Zhengjin Jiang, Laszlo Jicsinsky und Volker Schurig\**

*In memoriam József Szejtli*

Durch Alkylierung, Acylierung oder Silylierung modifizierte  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Cyclodextrine (CDs) stellen bedeutende chirale stationäre Phasen (CSPs) für die gaschromatographische Trennung von Enantiomeren dar.<sup>[1]</sup> Die Cyclodextrine sind dabei in semipolaren Polysiloxanen gelöst<sup>[2a]</sup> oder an Polydimethylsiloxane chemisch angebunden (Chirasil-Dex).<sup>[2b]</sup> Der Mechanismus der Enantiomerenerkennung ist zurzeit noch unverstanden, und die Rolle der Kavität der Cyclodextrine ist vor allem für die, am häufigsten beobachteten, Beispiele geringer Enantioselektivität ( $\alpha < 1.1$ ) umstritten.<sup>[1a]</sup> Wir vermuten deshalb, dass die Existenz einer Kavität keine Voraussetzung der Chiralitätserkennung durch Cyclodextrine darstellt. Dies wurde nunmehr bestätigt anhand der Verwendung von linearen Dextrinen („Acyclodextrinen“) als eine neue Generation Kohlenhydrat-basierter chiraler Selektoren für die gaschromatographische Trennung von Enantiomeren.

Es ist eine bekannte Eigenschaft von Cyclodextrinen, verschiedene organische Verbindungen in ihre Kavität einzuschließen.<sup>[3]</sup> Dennoch erscheint es plausibel, auch modifizierte lineare Oligosaccharide als Selektoren für die enantioselektive Chromatographie in Betracht zu ziehen, da sie in helicalen Konformationen vorliegen, die als „Halbkavitäten“ fungieren können, oder geeignete funktionelle Gruppen enthalten können. So wurden schon früher sowohl per-*n*-pentylierte Amylose<sup>[4a]</sup> als auch Amylosetris(*n*-butylcarbamat)<sup>[4b]</sup> für GC-Enantiomerentrennungen eingesetzt, wobei mit nur geringer Enantioselektivität. Überdies wurde die Eignung von nativem, acyclischem  $\alpha$ -1,4-verknüpftem Dextrin (Maltoheptaose) zur Bildung molekularer Komplexe und zur Verwendung für die Enantiomerentrennung durch

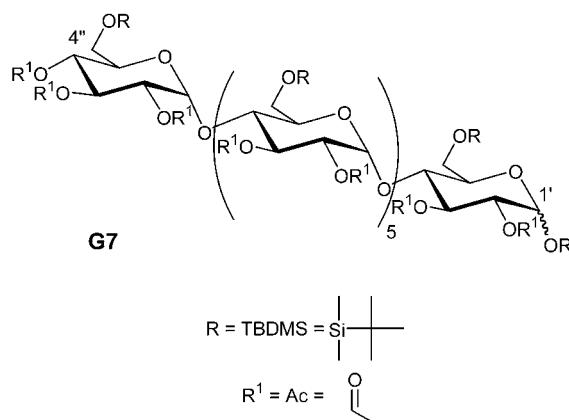
[\*] G. Sicoli, Dr. Z. Jiang, Prof. Dr. V. Schurig  
Institut für Organische Chemie  
Universität Tübingen  
Auf der Morgenstelle 18, 72076 Tübingen (Deutschland)  
Fax: (+49) 7071-297-6257  
E-mail: volker.schurig@uni-tuebingen.de

Dr. Z. Jiang  
King's College  
Department of Pharmacy  
Micro Separations Group  
Franklin-Wilkins Building  
Stamford Street 150, SE1 9NN London (Großbritannien)  
Dr. L. Jicsinsky  
CYCLOLAB Ltd.  
Illatos út 7, 1097 Budapest (Ungarn)

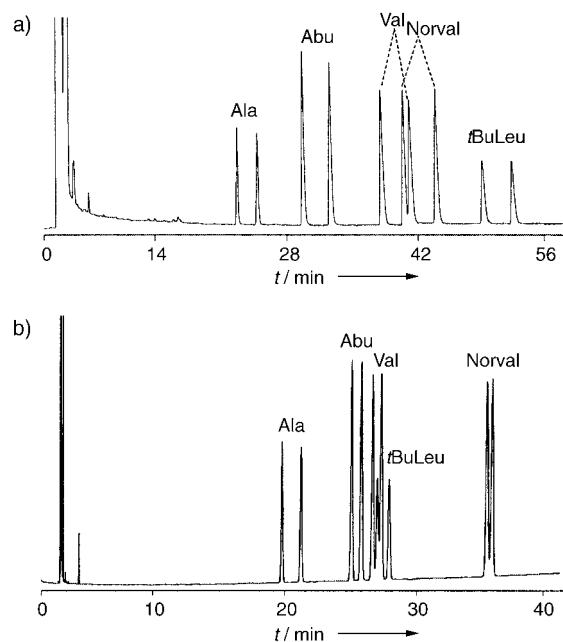
[\*\*] Diese Arbeit wurde vom Graduiertenkolleg „Chemie in Interphasen“ der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Kapillarzonenelektrophorese aufgezeigt,<sup>[5a]</sup> und zwar für racemische 1,12-Dimethylbenzo[*c*]phenanthren-5,8-dicarbonsäure.<sup>[5b]</sup> Schließlich bestätigten NMR-spektroskopische Untersuchungen an modifizierten Cyclodextrinen in Lösung, dass Wechselwirkungen mit der äußeren Oberfläche eine wichtige Rolle bei der Chiralitätserkennung spielen.<sup>[6]</sup>

In dieser Arbeit wird die Enantioselektivität des effektiven cyclischen chiralen Selektors Heptakis(2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin (**CD7**)<sup>[7]</sup> mit denjenigen des acyclischen Dextrin-Gegenstücks Heptakis[(1'-*O*, 6-*O*)-*tert*-butyldimethylsilyl-(2,3-di-*O*,4''-*O*)-acetyl]-maltoheptaose (**G7**, G=Glucose) verglichen, das zum ersten Mal durch eine zweistufige, für cyclische Oligosaccharide etablierte, Derivatisierungsprozedur erhalten wurde.<sup>[8]</sup> So wurde Maltoheptaose zuerst mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (TBDMSCl) an den primären Hydroxygruppen verethert und danach mit Acetanhydrid an den sekundären Hydroxygruppen verestert. Spektroskopische Befunde zeigen, dass die Derivatisierung der endständigen 1'- und 4''-Hydroxygruppen hauptsächlich zu dem 1'-*O*-TBDMS-''-*O*-acetyl-Derivat führt. Der lineare Selektor **G7** wurde in Polysiloxan PS86 gelöst, und eine Quarzkapillarsäule (20 m × 0.25 mm Innendurchmesser (I.D.)) wurde damit nach der statischen Methode belegt.<sup>[2a]</sup>



Der neue Selektor eignet sich zur Enantiomerentrennung derivatisierter  $\alpha$ -Aminosäuren. So wurden racemische *N*-Trifluoracetyl-*O*-methylester von  $\alpha$ -Aminosäuren sowohl an **CD7** als auch an dem analogen linearen Dextrin-Gegenstück **G7** mithilfe eines jeweils optimierten Temperaturprogramms getrennt (Abbildung 1). Unter isothermen Bedingungen (Tabelle 1) erreichte das cyclische **CD7** einen größeren Enantiomerentrennfaktor  $\alpha$  als das acyclische **G7**. Der Retentionsfaktor  $k'$  der Enantiomere war unterschiedlich für **CD7** und **G7**, und die Reihenfolge der Elution von *tert*-Butylleucin und Norvalin war umgekehrt (Tabelle 1). Bei allen anderen Trennungen wurden die D-Enantiomere nach den L-Enantiomeren eluiert. Auffälligere Unterschiede wurden für die Trennung der racemischen *N*-Trifluoracetyl-*O*-ethylester von  $\alpha$ -Aminosäuren beobachtet (Tabelle 2). Während die Enantioselektivität für Alanin (Ala) am cyclischen **CD7** höher war als am acyclischen **G7**, wurden am cyclischen **CD7** lediglich die beiden Diastereomere von Isoleucin (IsoLeu) getrennt.



**Abbildung 1:** Gaschromatographische Trennung der racemischen *N*-Trifluoracetyl-*O*-methylester von  $\alpha$ -Aminosäuren an **CD7** (a) und an **G7** (b); jeweils 20 Gew.-% in PS 86. Säulen: 20 m × 0.25 mm I.D. Quarzkapillare, Filmdicke 0.25  $\mu\text{m}$ . Für (a): Trägergas: 0.8 bar Wasserstoff; Ofentemperatur: 90°C (5 min), Temperaturprogramm bis 120°C, 0.5 K min $^{-1}$ . Für (b): Trägergas: 0.5 bar Wasserstoff; Ofentemperatur: 80°C (5 min), Temperaturprogramm bis 120°C, 0.5 K min $^{-1}$ .

**Tabelle 1:** Retentionsfaktor  $k'$  (zuerst eluiertes Enantiomer), Enantiomerentrennfaktor  $\alpha$  und Auflösungsfaktor  $R_s$  für die *N*-Trifluoracetyl-*O*-methylester einiger  $\alpha$ -Aminosäuren.<sup>[a]</sup>

	<b>CD7</b>			<b>G7</b>		
	$k'$	$\alpha$	$R_s$	$k'$	$\alpha$	$R_s$
Ala	10.2	1.18	5.59	9.9	1.10	5.21
2-Abu	16.9	1.23	4.69	14.2	1.04	2.44
Val	28.4	1.09	1.75	15.6	1.04	2.02
Norval	34.1	1.14	2.65	15.9	1.05	2.75
tBuLeu	51.1	1.25	12.8	24.8	1.02	1.25

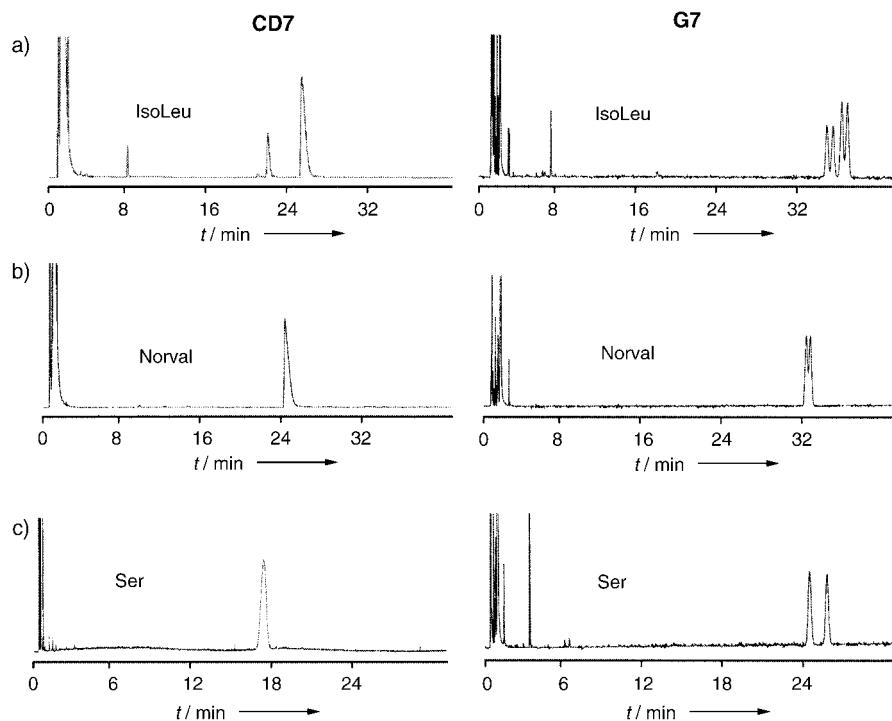
[a] Experimentelle Bedingungen: 85°C (isotherm), 0.6 bar H<sub>2</sub>.

**Tabelle 2:** Retentionsfaktor  $k'$  (zuerst eluiertes Enantiomer), Enantiomerentrennfaktor  $\alpha$  und Auflösungsfaktor  $R_s$  für die *N*-Trifluoracetyl-*O*-ethylester einiger  $\alpha$ -Aminosäuren.

	<b>CD7</b>			<b>G7</b>		
	$k'$	$\alpha$	$R_s$	$k'$	$\alpha$	$R_s$
Ala <sup>[a]</sup>	26.4	1.60	13.6	10.0	1.08	4.17
IsoLeu <sup>[a]</sup>	14.3	1.00	—	27.0	1.02	1.25
	16.7	1.00	—	28.3	1.02	1.04
Thr <sup>[a]</sup>	52.9	1.34	8.50	24.6	1.02	0.94
Norval <sup>[a]</sup>	21.7	1.00	—	24.9	1.01	0.84
Val <sup>[a]</sup>	11.7	1.08	1.60	16.6	1.03	1.70
Pro <sup>[b]</sup>	20.1	1.16	6.64	39.4	1.02	1.83
Ser <sup>[b]</sup>	27.3	1.00	—	25.3	1.06	3.03
Leu <sup>[b]</sup>	15.5	1.01	0.51	20.2	1.00	—
Asp <sup>[c]</sup>	37.8	1.03	1.15	44.2	1.03	2.08
Met <sup>[d]</sup>	143.8	1.04	1.66	45.7	1.00	—

[a] Experimentelle Bedingungen: 90°C (isotherm), 0.6 bar H<sub>2</sub>; [b] 100°C (isotherm), 0.8 bar H<sub>2</sub>; [c] 110°C (isotherm), 0.6 bar H<sub>2</sub>; [d] 120°C (isotherm), 0.6 bar H<sub>2</sub>.

Am acyclischen **G7** wurden diese jedoch zusätzlich in die Enantiomere getrennt (Abbildung 2a). Norvalin (Norval, Abbildung 2b) und Serin (Ser, Abbildung 2c) wurden am acyclischen **G7**, jedoch nicht am cyclischen **CD7**, getrennt.



**Abbildung 2.** Gaschromatographische Trennung der racemischen *N*-Trifluoracetyl-*O*-ethylester von  $\alpha$ -Aminosäuren an **CD7** (links) und an **G7** (rechts; jeweils 20 Gew.-% in PS86). Säulen: 20 m  $\times$  0.25 mm I.D. Quarzkapillare, Filmdicke 0.25  $\mu\text{m}$ . Siehe Tabelle 2 für weitere experimentelle Bedingungen.

Weitere Unterschiede in den Retentionsfaktoren  $k'$  und Enantiomerentrennfaktoren  $\alpha$  gehen aus Tabelle 2 hervor.

Die Rolle des Moleküleinschlusses kann nicht ignoriert werden für Beispiele mit extremer Enantioselektivität, deren Ausmaß mit der Größe der Kavität variiert. So wurde der ungewöhnlich hohe Enantiomerentrennfaktor  $\alpha = 4.08$  für racemisches 2-(Fluormethoxy)-3-methoxy-1,1,1,3,3-pentafluorpropan („Compound B“, ein Zersetzungsprodukt des Narkotikums Sevofluran) an **CD7** beobachtet (Abbildung 3a). Der Trennfaktor sinkt auf  $\alpha = 2.70$  für das  $\gamma$ -Cyclodextrin-Analogon (**CD8**) und auf  $\alpha = 1$  (keine Enantiomerendiskriminierung) für das  $\alpha$ -Cyclodextrin-Analogon (**CD6**, Tabelle 3). Überraschenderweise findet eine Enantiomerentrennung von „Compound B“ auch an **G7** statt, wenngleich mit reduzierter Enantioselektivität (Abbildung 3b). Während zwischen **CD7** und **CD8** ein drastischer Unterschied der Enantioselektivität beobachtet wird, gilt dies nicht für **G7** und **G8**. Interessanterweise wird Enantioselektivität durch die acyclischen **G7** und **G8**, jedoch nicht durch das cyclische **CD6** bewirkt (Tabelle 3).

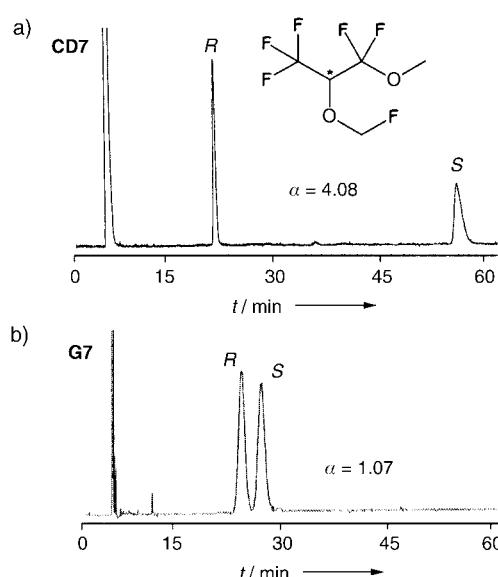
Derivatisierte lineare Dextrine („Acyclodextrine“) stellen eine neue Klasse von Kohlenhydrat-basierten Selektoren für die gaschromatographische Enantiomerentrennung dar. Wie am Beispiel von **G7** und **CD7** gezeigt wurde, ermöglichen

sie auch vergleichende Untersuchungen über die Rolle des Moleküleinschlusses. Nicht nur *N*-Trifluoracetyl-Aminosäureester, sondern auch andere Racemate wie Lactone, Alkohole, Diole und Amide sind der Enantiomerentrennung durch **G7** zugänglich. Derzeitige Untersuchungen konzentrieren sich auf den Einfluss der Zahl an Glucose-Einheiten in den linearen Dextrinen auf die Enantiomerenerkennung.

### Experimentelles

Gaschromatographische Experimente wurden an einem HP-5890-Gaschromatographen, versehen mit einem Flammenionisationsdetektor (250 °C), durchgeführt. Als Trägergas wurde Wasserstoff (99.996 %, Messer-Griesheim, Frankfurt) ohne weitere Reinigung verwendet. Das Splitverhältnis betrug 1:100 (bei 220 °C). Retentionszeiten wurden mit einem Shimadzu-C-R6A-Datenprozessor (Kyoto, Japan) bestimmt. *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (TBDMSCl) und Acetanhydrid wurden von Aldrich bezogen.

Heptakis[(1'-*O*,6'-*O*)-*tert*-butyl-dimethylsilyl]-maltoheptaose: Getrocknete Maltoheptaose (1 g, 0.87 mmol) wurde unter starkem Rühren in wasserfreiem Pyridin (15 mL) gelöst. Die Lösung wurde mit einem Eishbad gekühlt, und TBDMSCl (1.6 g, 10.6 mmol) in wasserfreiem Pyridin (20 mL) wurde tropfenweise über 4 h zu der gekühlten Reaktionsmischung zugegeben. Nach weiteren 2 h unter Kühlung wurde die



**Abbildung 3.** Gaschromatographische Trennung von racemischem 2-(Fluormethoxy)-3-methoxy-1,1,1,3,3-pentafluorpropan („Compound B“) an **CD7** (a) und an **G7** (b); jeweils 20 Gew.-% in PS86. Säulen: 20 m  $\times$  0.25 mm I.D. Quarzkapillare, Filmdicke 0.25  $\mu\text{m}$ . Trägergas: 0.3 bar Wasserstoff; Ofentemperatur: 30 °C.

**Tabelle 3:** Enantiomerentrennfaktor  $\alpha$  für „Compound B“ an modifizierten cyclischen und acyclischen Dextrinen.<sup>[a,b]</sup>

CSP	CD6	CD7	CD8	G7	G8
$\alpha$	1.00	4.08	2.70	1.07	1.06

[a] Jeweils 20 Gew.-% CSP in PS 86. [b] Säulen: 20 m × 0.25 mm I.D. Quarzkapillare, Filmdicke 0.25 µm, Trägergas 0.3 bar Wasserstoff, Ofentemperatur 30°C.

Lösung 12 h bei Raumtemperatur belassen, bevor das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt und der weiße Rückstand in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30 mL) gelöst wurde. Die Mischung wurde erst mit wässriger KHSO<sub>4</sub>-Lösung (20 mL, 1M) und anschließend mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, um Reste von Pyridin zu entfernen. Die CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Schicht wurde abgetrennt und zur Trockne eingedampft. Ausbeute: 1.61 g (85%). Dieses Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet. Die Mischung besteht aus drei silylierten linearen Dextrinen mit 7 (M<sup>1</sup>), 8 (M<sup>2</sup>) oder 9 (M<sup>3</sup>) *tert*-Butyldimethylsilyl-Substituenten (massenspektrometrische Analyse (ESI-MS): *m/z*: 993 [M<sup>1</sup>+2Na]<sup>2+</sup>, 1056 [M<sup>2</sup>+2Na]<sup>2+</sup>, 1113 [M<sup>3</sup>+2Na]<sup>2+</sup>). Aus der Elementaranalyse geht hervor, dass als Hauptspezies (95%) das lineare Oligosaccharid Octa-*tert*-butyldimethylsilylether entsteht. C,H-Analyse (%) für C<sub>90</sub>H<sub>184</sub>O<sub>36</sub>Si<sub>8</sub>: ber.: C 52.29, H 8.97; gef.: C 52.20, H 9.35. Die Abweichung des Wasserstoffwerts deutet auf Lösungsmittelrückstände hin.

Heptakis[(1'-*O*,6-*O*)-*tert*-butyldimethylsilyl-(2,3-di-*O*,4''-*O*)-acetyl]-maltoheptaose (**G7**): Ungereinigte Heptakis[(1'-*O*,6-*O*)-*tert*-butyldimethylsilyl]-maltoheptaose (1.5 g) wurde in wasserfreiem Pyridin (20 mL) und Acetanhydrid (18 mL) gelöst. Die Lösung wurde 5 h bei 100°C gerührt und danach konzentriert. Der Rest der Lösungsmittel wurde nach Zugabe von Toluol als Coevaporans entfernt. Säulenchromatographie des Rückstands mit Toluol/Ethanol (95:5) ergab amorphes **G7**. Als Folge der Acetylierung der Hydroxygruppen in 2- und 3-Position konnte die Struktur des gemischten Acetyl/TBDMS-Selektors durch <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie bestimmt werden. Die Hauptkomponente (95%) der Mischung trägt eine endständige Silylethergruppe am reduzierenden Terminus C1 und eine endständige Acetylgruppe am nichtreduzierenden Terminus C4. ESI-MS: *m/z*: 1365 [M+2Na]<sup>2+</sup> (Hauptkomponente); C,H-Analyse (%) für C<sub>120</sub>H<sub>214</sub>O<sub>51</sub>Si<sub>8</sub>: ber.: C 53.43, H 8.00; gef.: C 53.35, H 8.17.

Eingegangen am 10. Februar 2005  
Online veröffentlicht am 25. Mai 2005

**Stichwörter:** Chirale stationäre Phasen · Cyclodextrine · Enantiomerentrennung · Gaschromatographie · Lineare Dextrine

- [1] a) V. Schurig, H.-P. Nowotny, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 969–986; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 939–1076; b) W. A. König, *Enantioselective Gas Chromatography with Modified Cyclodextrins*, Hüthig, Heidelberg, **1992**; c) W. A. König, *TrAC Trends Anal. Chem.* **1993**, *12*, 130–137; d) V. Schurig, *TrAC Trends Anal. Chem.* **2002**, *21*, 647–661.
- [2] a) V. Schurig, H.-P. Nowotny, *J. Chromatogr.* **1988**, *441*, 155–163; b) H. Cousin, J. C. Combret, O. Trapp, V. Peulon-Agasse, X. Pannecoucke, L. Banspach, G. Trapp, Z. Jiang, V. Schurig, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, *3273*–3287.
- [3] H. J. Schneider, F. Racket, V. Rüdiger, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1755–1785.
- [4] a) V. Schurig, H.-P. Nowotny, M. Schleimer, D. Schmalzing, *J. High Resolut. Chromatogr.* **1989**, *12*, 549–551; b) V. Schurig, J. Zhu, V. Muschalek, *Chromatographia* **1993**, *35*, 237–240.
- [5] a) K. Kano, K. Minami, K. Horiguchi, T. Ishimura, M. Kodera, *J. Chromatogr. A* **1995**, *694*, 307–313; b) K. Kano, S. Negi, R.

Takaoka, H. Kamo, T. Kitae, M. Yamaguchi, H. Okubo, M. Hirama, *Chem. Lett.* **1997**, 715–716.

- [6] G. Uccello-Barretta, L. Ferri, F. Balzano, P. Salvadori, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 1741–1748.
- [7] A. Dietrich, B. Maas, V. Karl, P. Kreis, D. Lehmann, B. Weber, A. Mosandl, *J. High Resolut. Chromatogr.* **1992**, *15*, 176–179.
- [8] a) K. Takeo, H. Mitoh, K. Uemura, *Carbohydr. Res.* **1989**, *187*, 203–221; b) A. R. Khan, P. Forgo, K. J. Stine, V. T. D'Souza, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1977–1996.