

5. Zusammenfassung

Das Problem der enantioselektiven Trennung chiraler Verbindungen ist eine besondere Aufgabe der organisch-chemischen Analytik. Bei der Diskriminierung von Enantiomeren haben sich die Cyclodextrine und ihre Derivate als chirale stationäre Phasen besonders bewährt.

In der Gaschromatographie (GC) kamen bislang sowohl alkylierte als auch gemischt alkyliert/acylierte α -, β - und γ -Cyclodextrine zum Einsatz.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden erstmals zwei δ -Cyclodextrinderivate [Nonakis(2,3,6-tri-*O*-methyl)- (**9**) und Nonakis(6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-methyl)- δ -cyclodextrin (**11**)] synthetisiert und als chirale Selektoren in der GC eingesetzt. Es konnten an ihnen keine Enantiomerentrennungen beobachtet werden. Die Wirt-Gast – Wechselwirkungen dieser Derivate mit den Enantiomeren der eingesetzten Racemate waren zu schwach für eine chirale Diskriminierung.

In der HPLC wurden bislang hauptsächlich immobilisiertes, natives β -Cyclodextrin und einfache Derivate wie methylierte und acetylierte- β -Cyclodextrine verwendet. Diese wurden in der Regel nicht als reine Verbindungen, sondern als Gemische von unterschiedlichem Substitutionsgrad eingesetzt.

Ein Ziel dieser Arbeit war die Darstellung von Mono(2-*O*-oct-7-enyl)- β - (**15**) und γ -cyclodextrin (**27**). Diese dienten als Ausgangsmaterial für die Synthese einer hydroxypropylierten β -Cyclodextrinphase (**18**) und anderer Derivate. So konnten erstmalig Heptakis(2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -cyclodextrin, Heptakis(2,3,6-tri-*O*-acetyl)- β -cyclodextrin, Heptakis(2,3-di-*O*-acetyl)- β -cyclodextrin und Octakis(3-*O*-butyryl-2,6-di-*O*-pentyl)- γ -cyclodextrin hergestellt und über Position 2 an Kieselgel gebunden in der HPLC als chirale stationäre Phasen eingesetzt werden. Ferner wurde über Position 3 immobilisiertes Octakis(3-*O*-butyryl-2,6-di-*O*-pentyl)- γ -cyclodextrin synthetisiert. Analoge Cyclodextrinderivate wurden bisher schon mit großem Erfolg in der Gaschromatographie (Heptakis(2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -cyclodextrin, Octakis(3-*O*-butyryl-2,6-di-*O*-pentyl)- γ -cyclodextrin) und der Kapillarelektrophorese (Heptakis(2,3-di-*O*-acetyl)- β -cyclodextrin) eingesetzt.

Die Trennleistungen dieser Phasen in der Enantiomerenanalytik waren von unterschiedlicher Qualität. Generell ließen sich Racemate polarer aromatischer Amine bei Verwendung geringer Mengen von organischem Modifier gut in ihre Enantiomere auftrennen.

Mit hydroxypropyliertem β -Cyclodextrin (**18**) konnten insbesondere Verbindungen mit dem Grundmuster R-N-CH-C*-OH wie die β -Blocker Pindolol und Metoprolol und Verbindungen mit dem Strukturelement NH-CO-C* (z.B. Ephedrin und Methylephedrin) getrennt werden. Dieses Strukturelement trat auch häufig bei Verbindungen auf, die sich an Octakis(3-O-buteryl-2,6-di-O-pentyl)- γ -cyclodextrin (**24**, **31**) in ihre Enantiomere trennen ließen.

Mit an Kieselgel gebundenem Heptakis(2,3-di-O-acetyl-6-O-*tert.*-butyldimethylsilyl)- β -cyclodextrin (**34**) ließen sich neben Racematen mit dem Strukturelement N-CH*-CH₃ (z.B. Ephedrin, Amphetamin) auch gehäuft Verbindungen mit dem Baumuster N-C*H-CO trennen, das beispielsweise in den Lokalanästhetika Prilocain und Bupivacain vorkommt.

Das Vorhandensein dieser Strukturelemente ist jedoch weder eine notwendige noch hinreichende Bedingung für eine erfolgreiche Enantiomerentrennung.

Für das Racemat von Methadon konnte an Heptakis(2,3-di-O-acetyl)- β -cyclodextrin (**40**) eine Elutionsfolge der Enantiomere festgestellt werden, die der an hydroxypropylierten- β -Cyclodextrin (**18**) entgegengesetzt war.

Des Weiteren wurde festgestellt, dass für die guten Trenneigenschaften acetylierter β -Cyclodextrinphasen offenbar nicht das peracetylierte Derivat **37** verantwortlich ist. An diesem Derivat konnten keine Racemattrennungen erzielt werden. Vielmehr scheinen hierfür die Anteile an unteracetylierten Derivaten wie Heptakis(2,3-di-O-acetyl)- β -cyclodextrin (**40**) verantwortlich zu sein.

Ferner wurde im Rahmen dieser Arbeit eine analytische HPLC-Säule auf Basis von Amino-Chromolith[®] (Merck) mit per-Methyl- β -Cyclodextrin (**50**) modifiziert. Die Trennergebnisse an diesem aus einem monolithischen Kieselgelstab bestehenden neuen HPLC-Säulen-Typus wurden mit Literaturdaten einer herkömmlichen Kapillarsäule aus partikulärem Kieselgel verglichen. Dabei wurde festgestellt, dass Chromolith-Säulen in der Enantiomerentrennung mit Cyclodextrinen weniger geeignet sind als herkömmliche Kapillarsäulen. Ihr Vorteil von kurzen Analysezeiten aufgrund einer höheren Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase wirkt sich nachteilig auf die Enantiomerentrennung aus, da die Enantiomere zur Trennung eine längere Zeit mit dem Cyclodextrin wechselwirken müssen. Diese Wechselwirkungsdauer ist deutlich länger als bei achiralen Trennungen an Chromolith-Säulen.

In einem weiteren Teil der Arbeit wurden verschiedene HPLC-Kapillarsäulen auf ihre Verwendbarkeit in der Elektrochromatographie untersucht. Hierzu wurde die vorhandene Micro-HPLC-Anlage zu einer kombinierten HPLC/Elektrochromatographie-Anlage erweitert. Bei den elektrochromatographischen Untersuchungen stellte sich heraus, dass sich lediglich

an kommerziell erhältlichen RP-18-Kieselgelmaterial sowie an nativem Kieselgel der für den Stofftransport so wichtige elektroosmotische Fluss aufbaut, während dies bei 3-Aminopropyl- und 3-Glycidoxypropyl-Kieselgel nicht der Fall ist. Enantiomerentrennungen konnten mit den eingesetzten Cyclodextrinphasen bisher jedoch nicht erzielt werden.

6. Summary

Enantiomer separations of chiral compounds play an important role in analytical organic chemistry. Cyclodextrins and their derivatives have been successfully applied as chiral stationary phases in the discrimination of enantiomers.

In gas chromatography (GC) alkylated and alkylated/acetylated α -, β - and γ -cyclodextrins were used.

In the present study two δ -cyclodextrin derivatives, (Nonakis(2,3,6-tri-*O*-methyl)- (**9**) and Nonakis(6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-methyl)- δ -cyclodextrin (**11**), were synthesized and tested as chiral selectors in GC. No separation was observed. The host-guest interactions of these derivatives were too weak for chiral discrimination.

Up to now in HPLC only immobilized native β -cyclodextrin and simple derivatives like methylated or acetylated β -cyclodextrins were used. These chiral stationary phases generally consist of mixtures of phases with different substitution patterns and are not homogenous derivatives.

During this work Mono(2-*O*-oct-7-enyl)- β - (**15**) and γ -cyclodextrin (**27**) were synthesized. These cyclodextrins were the starting materials for the development of a hydroxypropylated β -cyclodextrin phase **18**. Also Heptakis(2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -cyclodextrin, Heptakis(2,3,6-tri-*O*-acetyl)- β -cyclodextrin, Heptakis(2,3-di-*O*-acetyl)- β -cyclodextrin and Octakis(3-*O*-butyryl-2,6-di-*O*-pentyl)- γ -cyclodextrin with a linker at position 2 of one glucose unit could be synthesized. For Octakis(3-*O*-butyryl-2,6-di-*O*-pentyl)- γ -cyclodextrin it was also tried to introduce a spacer in position 3. Analogous cyclodextrin derivatives have been successfully introduced as chiral selectors in GC (Heptakis(2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -cyclodextrin, Octakis(3-*O*-butyryl-2,6-di-*O*-pentyl)- γ -cyclodextrin) and capillary electrophoresis (Heptakis(2,3-di-*O*-acetyl)- β -cyclodextrin) during recent years.

In the present study the properties of the cyclodextrin phases as chiral selectors in HPLC were investigated for the first time and allowed separation of different quality. With hydroxypropylated β -cyclodextrin **18**, Heptakis(2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -cyclodextrin and Octakis(3-*O*-butyryl-2,6-di-*O*-pentyl)- γ -cyclodextrin performed a number of enantiomeric separations were achieved. Especially polar aromatic amines were separated. Only small amounts of organic modifier (acetonitrile) were necessary for these separations.

With hydroxypropylated β -cyclodextrin racemates displaying the partial structure R-N-C*-OH like the β -blocker pindolol or metoprolol could be separated. Analytes with the basic structure NH-CO-C* like ephedrine (sympathomimetic) or methylephedrine (analgesic) were also separated. These substances could also be separated using immobilized Octakis(3-*O*-butyryl-2,6-di-*O*-pentyl)- γ -cyclodextrin as stationary phase.

With Heptakis(2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert.*-butyldimethylsilyl)- β -cyclodextrin as chiral selector racemates with the structural element N-C*H-CH₃ like ephedrine or amphetamine and substances with an N-C*H-CO-element like the local anesthetics prilocaine or bupivacaine were separated.

However, the existence of these structural elements are neither indispensable nor sufficient conditions for successful separations of enantiomers.

For the racemate of methadone the order of elution of the single enantiomers could be determined. An inverted elution order was found for the hydroxypropylated β -cyclodextrin **18** and Heptakis(2,3-di-*O*-acetyl)- β -cyclodextrin as chiral stationary phases.

Furthermore, it was found that the good separation properties of acetylated β -cyclodextrin phases is based on partially acetylated cyclodextrins like Heptakis(2,3-di-*O*-acetyl)- β -cyclodextrin and not on the presence of pure Heptakis(2,3,6-tri-*O*-acetyl)- β -cyclodextrin as this phase does not separate any racemate.

In the present study an analytical HPLC column based on Amino-Chromolith[®] (*Merck*) was modified with per-Methyl- β -cyclodextrin. The results of separations with this new monolithic silica block were compared to published results of a common capillary column based on silica gel particles. It was found that monolithic columns are less suitable for enantiomeric separations than common silica columns. The advantage of Chromolith columns are shorter retention times resulting from higher flow rates of the mobile phases. This behaviour has a detrimental effect on the enantiomeric separation because the enantiomers need a longer time to interact with the cyclodextrin than analytes in a non-chiral separation.

In addition, different HPLC capillary columns based on silica gel were evaluated in electrochromatography. For these investigations a combined HPLC/electrochromatography system was developed. It was found that only with commercially available RP-18 material and native silica gel an electroosmotic flow was generated, which is necessary for transporting the mobile phase. On 3-aminopropyl- and 3-glycidopropyl silica no EOF was found. No enantiomeric separations on the used cyclodextrin stationary phases could be observed at all.