

Zusammenfassung

Native und derivatisierte Cyclodextrine nehmen als chirale Selektoren in der Mehrzahl der enantioselektiven Trenntechniken eine überragende, in manchen Bereichen sogar eine führende Rolle ein. In der Gaschromatographie wurden lipophile Cyclodextrinderivate 1988 erfolgreich eingeführt^[48]. Ihre den früheren chiralen Phasen überlegenen Trenneigenschaften führten zur Entwicklung einer großen Anzahl von Cyclodextrinderivaten, um den Einfluß des Substitutionsmusters auf die Enantioselektivität zu untersuchen. Permethyliertes β -Cyclodextrin (Perme- β -CD) fand aufgrund eines einfachen Syntheseweges bei gleichzeitig großer Anwendungsbreite besonders vielfältige Verwendung. Doch nehmen andere regioselektiv substituierte Cyclodextrinderivate wie z.B. Heptakis(6-O-*tert*-butyldimethylsilyl-2,3-di-O-methyl)- (6-TBDMS-2,3-Me- β -CD), Heptakis(2,6-di-O-methyl-3-O-pentyl)- (2,6-Me-3-Pe- β -CD) und Heptakis(6-O-methyl-2,3-di-O-pentyl)- β -cyclodextrin (6-Me-2,3-Pe- β -CD) an Bedeutung zu. Mit Ausnahme von 6-TBDMS-2,3-Me- β -CD, das *Dönnecke et al.* nach Immobilisierung an Kieselgel in der enantioselektiven Micro-HPLC einsetzen^[68c,71], wurden bisher hauptsächlich per-substituierte Derivate in statistisch ablaufenden Reaktionen für die enantioselektive HPLC an Trägermaterialien immobilisiert^[72], nicht jedoch die in der GC etablierten lipophilen Derivate mit komplizierterem Substitutionsmuster. Statistische Reaktionen zur Immobilisierung besitzen zudem den Nachteil, daß die Reproduzierbarkeit chromatographischer Trennungen von Charge zu Charge nicht gesichert ist. Im Rahmen der hier vorliegenden Dissertation wurden monofunktionalisierte β -Cyclodextrinderivate unterschiedlichen Substitutionsmusters (Perme- β -CD, 2,6-Me-3-Pe- β -CD, 6-Me-2,3-Pe- β -CD, 6-TBDMS-2,3-Me- β -CD, 6-TBDMS- β -CD und 2,3-Me- β -CD) mit jeweils einem reaktionsfähigem Spacer an definierter Position hergestellt und an kommerziell erhältliche Kieselgele kovalent gebunden. Nach Aufbau eines micro-HPLC-Systems wurde die Eignung der immobilisierten β -Cyclodextrinderivate als chirale stationäre Phasen untersucht.

Zur Monofunktionalisierung von 6-TBDMS-2,3-Me- β -CD und Perme- β -CD über Position 6 wurde 2,3-Me- β -CD (**4**) mit 8-Brom-1-octen zum 6'-Octenyl-2,3-Me- β -CD (**5**) und mit 1-Brom-5-cyanopentan zum 6'-Cyanopentyl-2,3-Me- β -CD (**9**) umgesetzt. Silylierung beider Verbindungen lieferte 6'-Octenyl-6*-TBDMS-2,3-Me- β -CD (**6**) und 6'-Cyano-

pentyl-6*-TBDMS-2,3-Me- β -CD (**10**), welche zu den gewünschten Zielverbindungen 6'-Epoxyoctyl-6*-TBDMS-2,3-Me- β -CD (**7**) und 6'-Aminohexyl-6*-TBDMS-2,3-Me- β -CD (**11**) epoxidiert bzw. reduziert wurden. Methylierung von **9** statt Silylierung unter Beibehaltung des abschließenden Reaktionsschrittes führte zum 6'-Aminohexyl-perme- β -CD (**39**). Das in 6-Position mit einem ω -Epoxyoctylrest versehene Perme- β -CD wurde aus 6'-OH-perme- β -CD (**35**) durch Reaktion der letzten freien Hydroxygruppe in Position 6 mit 8-Brom-1-octen und abschließende Epoxidierung dargestellt. 6'-OH-perme- β -CD (**35**) selbst wurde aus β -Cyclodextrin durch Monosilylierung der Position 6, Permethylierung der übrigen 20 Hydroxylgruppen und Abspaltung der 6-Silylgruppe hergestellt^[79b].

Die Monofunktionalisierung von 6-TBDMS-2,3-Me- β -CD und Perme- β -CD über die Position 2 erfolgte auf zwei unterschiedlichen Wegen. Das bei der Darstellung von 6-TBDMS- β -CD (**1**) als Nebenprodukt isolierte 2',6-TBDMS- β -CD (**2**) wurde mit Trifluormethansulfonsäuremethylester zu 2',6-TBDMS-2*,3-Me- β -CD (**19**) methyliert^[68c,71]. Nach Desilylierung und Wiedereinführung der TBDMS-Gruppe in Position 6 wurde das mono-OH-freie Derivat 2'-OH-6-TBDMS-2*,3-Me- β -CD (**22**) erhalten^[68c,71], das nach Einführung eines Octenylrestes und Epoxidierung 2'-Epoxyoctyl-6-TBDMS-2*,3-Me- β -CD (**14**) ergab. Cyanopentyl-Substitution und Reduktion von **22** lieferte zusätzlich 2'-Aminohexyl-6-TBDMS-2*,3-Me- β -CD (**18**). Nach Desilylierung, Methylierung und Reduktion von 2'-Cyanopentyl-6-TBDMS-2*,3-Me- β -CD (**17**) konnte 2'-Aminohexyl-perme- β -CD (**42**) erhalten werden. Im zweiten beschrittenen Weg zur Darstellung der in Position 2 monofunktionalisierten Derivate wurde 6-TBDMS- β -CD (**1**) direkt mit dem entsprechenden Bromid zu 2'-Cyanopentyl-6-TBDMS- β -CD (**16**) und 2'-Octenyl-6-TBDMS- β -CD (**12**)^[144] umgesetzt. Methylierung der restlichen 13 sekundären OH-Gruppen in **12** und **16** lieferte die bereits auf dem ersten Wege als Zwischenprodukte aufgetretenen Derivate. Methylierung der freien OH-Gruppen in 2',6-TBDMS- β -CD (**2**) mit Methyljodid induzierte die Wanderung der einzelnen Silylgruppe von der 2- in die 3-Position, wobei das umgelagerte Derivat 3',6-TBDMS-2,3*-Me- β -CD (**23**) erhalten wurde^[120]. Die Übertragung der an 2',6-TBDMS-2*,3-Me- β -CD (**19**) durchgeführten Reaktionen auf **23** lieferte 3'-Epoxypropyl-6-TBDMS-2,3*-Me- β -CD (**28**), 3'-Epoxyoctyl-6-TBDMS-2,3*-Me- β -CD (**29**), 3'-Aminohexyl-6-TBDMS-2,3*-Me- β -CD (**31**) und 3'-Aminohexyl-perme- β -CD (**46**).

Zur Darstellung von 6'-Epoxyoctyl-2,6*-Me-3-Pe- β -CD (**54**) wurde zunächst 6-TBDMS- β -CD (**1**) unter schwach basischen Bedingungen regioselektiv in Position 2 methyliert^[84,87]. Nach Pentyl-Substitution der noch freien 3-Position und Desilylierung konnte 2-Me-3-Pe- β -CD (**51**) erhalten werden, welches erfolgreich mit einem Octenylrest in 6-Position monofunktionalisiert wurde. Methylierung der restlichen 6 Hydroxylgruppen in Position 6 und Epoxidierung der Doppelbindung lieferte das Zielmolekül.

6'-Aminohexyl-6*-Me-2,3-Pe- β -CD (**63**) entstand durch Monosubstitution von 2,3-Pe- β -CD (**56**) mit 1-Brom-5-cyanopentan, Methylierung der restlichen OH-Gruppen und Reduktion der Cyano- zur Aminogruppe.

Schließlich konnte 6'-Cyanopentyl-2,3-Me- β -CD (**9**) durch basische Hydrolyse in die entsprechende Säure **47** überführt werden.

6-TBDMS-2,3-Me- β -CD mit einem ω -Epoxyalkylrest in 2-, 3- und 6-Position sowie Perme- und 2,6-Me-3-Pe- β -CD mit einem ω -Epoxyoctylrest in Position 6 wurden durch nukleophile Epoxidöffnung *in batch* an 3-Aminopropyl-Kieselgel gebunden. In einem zu dieser Immobilisierungstechnik inversen Verfahren wurden 6'-Aminohexyl-6*-TBDMS-2,3-Me- β -CD (**11**), 6'-Aminohexyl-perme- β -CD (**39**) und 6'-Aminohexyl-6*-Me-2,3-Pe- β -CD (**63**) an 3-Glycidoxypropyl-Kieselgel immobilisiert. 2,3-Me- β -CD mit einer 5-Carboxypentylgruppe in 6-Position wurde dagegen über eine Amidbindung an Aminopropyl-Kieselgel gebunden. Die Immobilisate wurden wie auch das unmodifizierte Kieselgel getrocknet und gleichfalls einer Elementaranalyse unterworfen. Aus der Differenz des Kohlenstoffanteils von unmodifiziertem und modifiziertem Kieselgel wurden die Immobilisierungsraten bestimmt, die von 80 bis 120 μmol CD-Derivat / g Immobilisat reichten.

In 6-Position mit einem ω -Aminohexylrest monosubstituiertes Perme- β -CD und 6-TBDMS-2,3-Me- β -CD wurden zusätzlich *on-column* durch reduktive Aminierung an Aldehyd-Kieselgel in bereits gepackten Kapillaren immobilisiert^[201]. Dabei wurde das Aldehyd-Kieselgel ebenfalls *on-column* durch Periodatspaltung von Diol-Kieselgel erhalten^[201]. Im Gegensatz zu den als *Batch*-Verfahren durchgeführten Immobilisierungen, die ca. 100 mg an Cyclodextrinderivat benötigen, kommt die Immobilisierung auf der Säule mit Mengen zwischen 2 und 5 mg aus. Ihr großer Nachteil besteht jedoch darin, daß die Menge des gebundenen Cyclodextrins elementaranalytisch nicht bestimmt werden kann.

Mit Ausnahme von 6-TBDMS- β -CD eigneten sich alle immobilisierten Derivate als chirale stationäre Umkehrphasen für die Kapillar-HPLC. An 6-TBDMS-2,3-Me- β -CD konnten Phenylhydantoin, Mofebutazon und Pemolin sowie zahlreiche chirale Barbiturate getrennt werden. Perme- β -CD und 2,3-Me- β -CD wiesen ähnliche Enantioselektivitäten auf. Neben Barbituraten konnten insbesondere atropisomere Verbindungen wie z.B. 2,2'-*ortho*-disubstituierte Benzidine und 2'-substituierte Diazaparacyclophane an ihnen getrennt werden. An immobilisiertem Perme- β -CD gelang darüber hinaus die Trennung von Etozolin und Ciprofibrat, das als Methylester auch von 2,3-Me- β -CD bis zur Grundlinie getrennt wurde. 2,3-Me- β -CD wurde ferner zur Trennung von Pemolin und Carprofen verwendet. Die Trennung von Pemolin wurde jedoch an 6-TBDMS-2,3-Me- β -CD, die von Carprofen an 2,6-Me-3-Pe- β -CD mit höherem α -Wert und weitaus besserer Auflösung durchgeführt. 2,6-Me-3-Pe- β -CD erwies sich als Phase mit der größten Anwendungsbreite für enantioselektive Trennungen. An ihr wurden Barbiturate und andere heterocyclische Wirkstoffe (Tiberal, Ethotoin, Oxapadol, Glutethimid) sowie Profene und sekundäre arylsubstituierte Alkohole in ihre Enantiomere getrennt. Ersatz der Methylgruppen in 2-Position durch Pentylreste zum 6-Me-2,3-Pe- β -CD führte zu einem fast vollständigen Verlust der Selektivität. An 6-Me-2,3-Pe- β -CD ließen sich nur noch Barbiturate enantioselektiv trennen. Wie in der GC so ist auch in der HPLC das Substitutionsmuster der Cyclodextrine der die Enantioselektivität maßgeblich beeinflussende Faktor. Verwendetes Kieselgelmaterial sowie Position und Länge des Spacers spielen eine nur unwesentliche Rolle. Schließlich wurde für 2,2'-Diiodbenzidin eine Rotationsbarriere von 93 kJ/mol durch dynamische enantioselektive micro-HPLC an Perme- β -CD und 2,3-Me- β -CD und anschließende Simulation geeigneter Plateaus ermittelt.

Summary

Native as well as derivatized cyclodextrins (CDs) are predominant as chiral selectors in the majority of enantioselective separation techniques. In gas chromatography hydrophobic cyclodextrin derivatives were successfully introduced in 1988^[48]. Their superior properties as compared to previous chiral stationary phases initiated the development of a great number of CD derivatives to investigate the influence of the substitution pattern on enantioselectivity. Because of the simple way of preparation and general applicability permethylated β -CD (perme- β -CD) took a leading role, but the importance of other selectively substituted CD derivatives like heptakis(6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-methyl)- (6-TBDMS-2,3-Me- β -CD), heptakis(2,6-di-*O*-methyl-3-*O*-pentyl)- (2,6-Me-3-Pe- β -CD) and heptakis(6-*O*-methyl-2,3-di-*O*-pentyl)- β -cyclodextrin (6-Me-2,3-Pe- β -CD) should not be underestimated. Except for 6-TBDMS-2,3-Me- β -CD linked via amide bond formation to aminopropyl silica by *Dönnecke et al.*^[68c,71], persubstituted derivatives were generally immobilized in statistical reactions onto polymeric materials for enantioselective HPLC^[72]. In contrast, the lipophilic derivatives with more complicated substitution patterns established in enantioselective GC have been totally ignored so far. Furthermore, statistical reactions for immobilization are disadvantageous for warranting batch-to-batch reproducibility of chromatographic separation results. Within the scope of this work β -cyclodextrin derivatives with different substitution patterns have been monofunctionalized by the defined attachment of reactive spacer groups which allowed the immobilization to commercially available silica gels. After building-up a micro-HPLC-system the immobilized derivatives were evaluated as chiral stationary phases.

For the monofunctionalization of 6-TBDMS-2,3-Me- β -CD and perme- β -CD over position 6 2,3-Me- β -CD (**4**) was treated with 8-bromo-1-octene to obtain 6'-octenyl-2,3-Me- β -CD (**5**). Reaction of **4** with 1-bromo-5-cyano-pentane instead of the 8-bromo-1-octene afforded 6'-cyanopentyl-2,3-Me- β -CD (**9**). Silylation of both compounds yielded 6'-octenyl-6*-TBDMS-2,3-Me- β -CD (**6**) and 6'-cyanopentyl-6*-TBDMS-2,3-Me- β -CD (**10**), which were epoxidized and reduced, respectively, obtaining the desired end products 6'-epoxyoctyl-6*-TBDMS-2,3-Me- β -CD (**7**) and 6'-aminohexyl-6*-TBDMS-2,3-Me- β -CD (**11**). Methylation instead of silylation of **9** maintaining the last reaction step gave 6'-aminohexyl-perme- β -CD (**39**). Perme- β -CD with one ω -octenyl

group attached to position 6 was synthesized starting from 6'-OH-perme- β -CD (**35**) by reaction of the last free OH-group with the corresponding ω -alkenyl bromide and epoxidation of the double bond. 6'-OH-perme- β -CD (**35**) itself was prepared from β -cyclodextrin by monosilylation of the primary side, permethylation of the residual 20 OH-groups and, finally, cleavage of the 6-TBDMS-group^[79b].

For the monofunctionalization of 6-TBDMS-2,3-Me- β -CD and perme- β -CD over the 2-position two strategies were applied. 2',6-TBDMS- β -CD (**2**) isolated as side product in the synthesis of 6-TBDMS- β -CD (**1**) was converted into 2',6-TBDMS-2*,3-Me- β -CD (**19**) by methylation with methyl trifluoromethanesulfonate^[68c,71]. Cleavage of the silyl groups and subsequent re-introduction into the 6-position gave 6-TBDMS-2,3-Me- β -CD with only one unreacted hydroxy group in position 2 (2'-OH-6-TBDMS-2*,3-Me- β -CD, **22**)^[68c,71], to which an octenyl group was attached. Epoxidation of the double bond led to 2'-epoxyoctyl-6-TBDMS-2*,3-Me- β -CD (**14**). Additionally, 2'-aminohexyl-6-TBDMS-2*,3-Me- β -CD (**18**) was formed by introduction of a cyanopentyl group and reduction of **22**. Desilylation, methylation and reduction of 2'-cyanopentyl-6-TBDMS-2*,3-Me- β -CD (**17**) were the reaction steps used for the preparation of 2'-aminohexyl-perme- β -CD (**42**). The second pathway for the preparation of the derivatives monofunctionalized over position 2 consisted in the direct attachment of both the 7-octenyl and the 5-cyanopentyl group by reaction of 6-TBDMS- β -CD (**1**) with the corresponding bromide. Methylation of the residual 13 secondary OH-groups of 2'-cyanopentyl-6-TBDMS- β -CD (**16**) and 2'-octenyl-6-TBDMS- β -CD (**12**)^[144] provided derivatives also appearing as intermediates from the first pathway. Methylation of the hydroxy groups of 2',6-TBDMS- β -CD (**2**) with iodomethane induced the (2-O $\rightarrow$ 3-O)-migration of the single silyl group obtaining the rearranged derivative 3',6-TBDMS-2,3*-Me- β -CD (**23**)^[120]. The application of the reactions carried out for 2',6-TBDMS-2*,3-Me- β -CD (**19**) to **23** gave 3'-epoxypropyl-6-TBDMS-2,3*-Me- β -CD (**28**), 3'-epoxyoctyl-6-TBDMS-2,3*-Me- β -CD (**29**), 3'-aminohexyl-6-TBDMS-2,3*-Me- β -CD (**31**) and 3'-aminohexyl-perme- β -CD (**46**).

For the synthesis of 2,6-Me-3-Pe- β -CD with one 7-epoxyoctyl residue in position 6 (6'-epoxyoctyl-2,6*-Me-3-Pe- β -CD, **54**) the 2-position of 6-TBDMS- β -CD (**1**) was selectively methylated using iodomethane and moderately basic conditions^[84,87]. After introduction of pentyl groups to the remaining hydroxy groups at position 3 and cleavage of the TBDMS-groups 2-Me-3-Pe- β -CD (**51**) was obtained and monofunctionalized by

introduction of one octenyl group at the primary side. Methylation of the residual 6 OH-groups at position 6 and epoxidation of the double bond yielded the target derivative.

6'-Aminohexyl-6*-Me-2,3-Pe- β -CD (**63**) was prepared by monosubstitution of 2,3-Pe- β -CD (**56**) using 1-bromo-5-cyano-pentane, methylation of the residual OH-groups, and reduction of the cyano to the amino moiety.

Finally, 6'-cyanopentyl-2,3-Me- β -CD (**9**) was converted into the corresponding acid **47** by hydrolysis under basic conditions.

The monofunctionalized 6-TBDMS-2,3-Me- β -CD derivatives with one ω -epoxyalkyl group at position 2, 3 and 6 and perme- and 2,6-Me-3-Pe- β -CD with one ω -epoxyoctyl group at position 6 were covalently bound to 3-aminopropyl silica gel via a nucleophilic epoxide opening reaction. The inverse immobilization technique was used for the immobilization of 6'-aminohexyl-6*-TBDMS-2,3-Me- β -CD (**11**), 6'-aminohexyl-perme- β -CD (**39**) and 6'-aminohexyl-6*-Me-2,3-Pe- β -CD (**63**) to 3-glycidoxypentyl silica gel. In comparison 2,3-Me- β -CD with a 5-carboxypentyl group attached to position 6 was linked to 3-aminopropyl silica by the formation of an amide bond. The immobilized cyclodextrins were dried under the same conditions as the unmodified silica gels and also subjected to elemental analysis. The difference in the carbon content of modified and unmodified silica was used to calculate the immobilization ratios, which reached from 80 up to 120 μmol CD derivative / g immobilized silica.

Perme- β -CD and 6-TBDMS-2,3-Me- β -CD monofunctionalized over the 6-position with a ω -aminohexyl group were additionally bound *on-column* to aldehyde silica^[201], which was prepared *in situ* inside the packed capillary by periodate cleavage of diol silica before immobilization via reductive amination^[201]. In contrast to the immobilizations carried out *in batch*, which approximately consume 100 mg of the cyclodextrin derivative, amounts of only 2 to 5 mg of the selector are necessary for the "*on-column*"-procedure. A disadvantage of this procedure consists in the lack of possibility to determine the amount of immobilized cyclodextrin by elemental analysis.

It was found out that except for 6-TBDMS- β -CD all immobilized cyclodextrin derivatives were suitable as chiral stationary phases for capillary HPLC in the "*reversed phase*"-mode. 6-TBDMS-2,3-Me- β -CD was used for the separation of phenylhydantoin,

mofebutazone, pemoline and several chiral barbiturates. Perme- and 2,3-Me- β -CD showed similar enantioselective properties. Apart from barbiturates they showed enhanced recognition capabilities for atropisomeric compounds like 2,2'-*ortho*-disubstituted benzidines and 2'-substituted diazaparacyclophanes. In addition, perme- β -CD was used for the separation of etozoline and ciprofibrate, which also was base-line separated as methyl ester by 2,3-Me- β -CD. Furthermore, 2,3-Me- β -CD was used for the enantioseparation of pemoline and carprofene. Nevertheless, the separation of pemoline was performed on 6-TBDMS-2,3-Me- β -CD, that of carprofene on 2,6-Me-3-Pe- β -CD with higher α -values and increased resolutions. 2,6-Me-3-Pe- β -CD proved to be the phase with the broadest range of application for enantioselective separations. It was successfully applied as CSP for micro-LC enantioseparation of barbiturates and other heterocyclic drugs (tiberal, ethotoin, oxapadol, glutethimide), profenes and chiral aryl-substituted alcohols. Displacement of the methyl groups in 2-position by pentyl groups under formation of 6-Me-2,3-Pe- β -CD caused almost complete loss of enantioselectivity. Only barbiturates could be separated enantioselectively by 6-Me-2,3-Pe- β -CD. Similarly to GC, the substitution pattern of the cyclodextrin derivatives seems to be the most important factor affecting enantioselectivity. The applied silica gel and position and length of the spacer used for immobilization do not play an important role in the recognition process. Finally, a rotation barrier of 93 kJ/mol for 2,2'-diiodobenzidine was determined by dynamic enantioselective micro-HPLC using perme- β -CD and 2,3-Me- β -CD as stationary phases and subsequent simulation of suitable plateaus.