

KERNRESONANZ-DIASTEREOTOPIEEFFEKTE UND FLÜSSIGKEITSCHROMATO-
GRAPHISCHE TRENNUNG VON DIASTEREOMEREN CARBONSÄUREDERIVATEN

EINE UNTERSUCHUNG DER METHODISCHEN UND THEORETISCHEN
GRUNDLAGEN AM BEISPIEL VON CARBONSÄUREAMIDEN

Habilitationsschrift
zur Erlangung der Lehrberechtigung
(venia legendi)
für Organische Chemie
an der Universität Stuttgart

vorgelegt von
Dr.sc.techn.ETHZ Günter Helmchen
Januar 1980

DIE IN DIESER ARBEIT BESCHRIEBENEN UNTERSUCHUNGEN WURDEN
IN GROSSZÜGIGER WEISE DURCH DIE LEITUNG UND VIELE MITAR-
BEITER DES INSTITUTS FÜR ORGANISCHE CHEMIE, BIOCHEMIE UND
ISOTOPENFORSCHUNG SOWIE DURCH DIE DEUTSCHE FORSCHUNGSGE-
MEINSCHAFT UNTERSTÜTZT.

ALLEN BETEILIGTEN GILT MEIN HERZLICHER DANK.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. <u>EINLEITUNG, ÜBERSICHT UND PROBLEMSTELLUNG</u>	1
1.1 <u>Methoden zur Herstellung enantiomer reiner bzw. angereicherter Verbindungen</u>	2
1.1.1 Stereoselektive Umwandlung chiraler Verbindungen	2
1.1.2 Asymmetrische Synthese	3
1.1.3 Trennung von Enantiomeren	7
Physikalische Trennung diastereomerer Derivate oder Assoziate; Kristallisationsverfahren	9
Chromatographische Methoden	12
Herstellung enantiomer beliebig reiner Verbindungen: "Verdoppelung" nach Horeau	18
Mechanische (manuelle) Trennung oder kinetisch gesteuerte Kristallisation von Konglomeraten; Verbesserung der enantiomeren Reinheit durch Umkristallisieren; Unterschiede der Eigenschaften von enantiomer reinen und racemischen Verbindungen	19
Kinetische Racematspaltung	23
1.2 <u>Stereochemische Charakterisierung chiraler Verbindungen: Methoden zur Bestimmung der enantiomeren Reinheit und absoluten Konfiguration</u>	26
1.2.1 Enantiomere Reinheit	26
1.2.2 Absolute Konfiguration	40
1.3 <u>Ausgangspunkte und Ziele der vorliegenden Arbeit</u>	43
2. <u>DIASTEREOTOPIEEFFEKTE UND CHROMATOGRAPHISCHE DIA- STEREOSELEKTIVITÄT BEI EINFACHEN AMIDEN, $\text{C}_6\text{H}_5(\text{CH}_3)\text{HC-CONH-CH}(\text{CH}_3)\text{A}$ und $\text{R}(\text{CH}_3)\text{HC-CONH-CH}(\text{CH}_3)\text{C}_6\text{H}_5$ (A,R = Alkyl); TECHNISCH-METHODISCHE GESICHTSPUNKTE</u>	55
2.1 <u>Zur Methodik: Racemisierungsfreie Herstellung, flüssigkeitschromatographische Trennung (analytisch/präparativ) und Kernresonanzspektren von diastereomeren Amidn</u>	60
2.1.1 Racemisierungsfreie Herstellung von Amidn	63
2.1.2 Analytische und präparative Flüssigkeitschromatographie	71
2.1.3 Zur Aufnahme der Kernresonanzspektren von Amidn	79

	Seite
2.2 <u>Kernresonanzspektren</u>	84
2.2.1 Meßresultate; empirische Auswertung	84
2.2.2 Grundsätzliches zur Analyse von Diastereotopieeffekten	90
2.2.3 Konformationen einfacher Amide $R_3C-CONH-CA_3$, R,A = Alkyl, Aryl	93
Konformation der Amidgruppe (τ_1)	93
Konformation des Aminteils (τ_2)	96
Konformation des Acylteils (τ_3)	111
Die Konformation der Arylgruppe in Verbindungen Ar-CHR ¹ R ² , R ¹ ,R ² ≠H, (τ_4)	122
2.2.4 Analyse der Diastereotopieeffekte; Begründung einer Regel zur Konfigurationsbestimmung	124
Konformation der Amide <u>1-15</u>	124
Diastereotopieeffekte	129
Zur Formulierung der Regeln zur Konfigurations- bestimmung; Beispiel einer Anwendung	143
Anwendungsbereich/Grenzen	146
2.3 <u>Flüssigkeitschromatographische Trennung</u>	151
2.3.1 Meßresultate, empirische Auswertung	151
2.3.2 Grundsätzliches zur Theorie der Flüssigadsorp- tionschromatographie; zum Zusammenhang zwischen Molekülstruktur und Retentionsverhalten	156
2.3.3 Modell zur Rationalisierung des Zusammenhangs zwischen chromatographischer Elutionsabfolge und relativer Konfiguration bei diastereome- ren sekundären Amidien; Anwendung auf die Ami- de <u>1-15</u>	164
3. <u>ERWEITERUNGEN UND ANWENDUNGEN</u>	184
4. <u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	192
5. <u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	197

ANHANG I

1. EINLEITUNG, ÜBERSICHT UND PROBLEMSTELLUNG

Enantiomer reine¹⁾, konfiguratativ (relativ und absolut) definierte chirale Verbindungen werden im Bereich der organischen Chemie in steigendem Maße benötigt. Dieses dürfte im wesentlichen auf zwei Gründe zurückzuführen sein. Zum einen ist ihr Einsatz zur Aufklärung geometrischer Aspekte von Reaktionsabläufen zur Routine geworden [2], zum anderen wird aus dem alten Erkenntnis, daß Enantiomere im allgemeinen unterschiedliche pharmakologische und physiologische Wirkung besitzen [3], neuerdings generell die Konsequenz gezogen, sie rein zu isolieren oder herzustellen und getrennt zu untersuchen²⁾.

Man benötigt folglich effektive Methoden zur Herstellung und Charakterisierung (Bestimmung der enantiomeren Reinheit und absoluten Konfiguration) chiraler Verbindungen. Von industrieller Seite wird zusätzlich die Forderung nach "chiraler Ökonomie" bei Synthesen, d. h. vollständiger Überführung des Ausgangsmaterials in das gewünschte Enantiomere erhoben [4]. Viele der bekannten Verfahren sind weder effektiv noch chiral ökonomisch. Dieses hängt ursächlich mit einem charakteristischen Zug fast aller stereochemischer Methoden zusammen: sie sind weitgehend empirisch und von relativ geringer Vorhersagekraft; es fehlt also noch an der vertieften Durcharbeitung, an verfeinerten Modellvorstellungen.

In der vorliegenden Arbeit werden neue Methoden zur Enantiomeren-trennung und zur Bestimmung der absoluten Konfiguration und enantiomeren Reinheit für wichtige Verbindungsklassen (Carbonsäuren, Amine, Alkohole, Thiole) vorgestellt. Um dem Leser die Einordnung

1) Soweit nicht anders vermerkt, sind stereochemische Termini technici in dieser Arbeit nach [1] definiert.

Als "enantiomere Reinheit" ER bezeichnet man den prozentualen Überschub der überwiegenden Komponente eines Gemisches von Enantiomeren:

$$ER = 100 \frac{|[E^+] - [E^-]|}{[E^+] + [E^-]}$$

In analoger Weise ist die "diastereomere Reinheit" DR für Gemische von Diastereomeren definiert.

2) Triebkräfte dieser Bemühungen sind neben dem Streben nach Erkenntnis auch ständig verschärfte gesetzliche Auflagen.

in den gegenwärtigen Stand der Entwicklung zu erleichtern, sei dieser zunächst im Überblick kurz dargestellt. Relativ stark betont wird dabei der oben angesprochene empirische Charakter des Gebiets.

1.1 Methoden zur Herstellung enantiomer reiner bzw. angereicherter Verbindungen

Es ist zweckmäßig, die bekannten Verfahren in drei Gruppen einzuteilen und diese getrennt zu diskutieren:

- Synthese aus einer oder mehreren anderen enantiomer angereicherten chiralen Verbindungen,
- Herstellung aus einer achiralen Verbindung durch asymmetrische Synthese,
- Trennung der Enantiomeren des racemischen Gemisches.

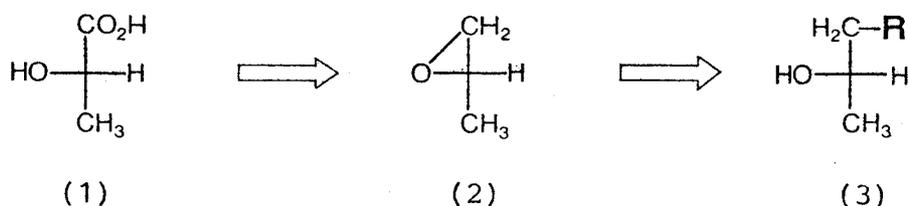
1.1.1 Stereoselektive Umwandlung chiraler Verbindungen

Der erste Weg muß ad hoc geplant werden und ist durch die Zugänglichkeit des Ausgangsmaterials stark beschränkt. Er ist im allgemeinen nur dann vorteilhaft, wenn ein billiger enantiomer reiner Naturstoff der Zielverbindung strukturell nahe steht. Enantiomere Reinheit und absolute Konfiguration der Zielverbindung lassen sich durch stereoselektive¹⁾ Reaktionsführung in der Regel sichern.

Seebach und Kalinowski haben für die Gesamtheit der billigen enantiomer reinen Naturstoffe den Ausdruck "chiral pool" geprägt und zahlreiche Beispiele für die Synthese von komplizierten Naturstoffen aus dem "chiral pool" zusammengestellt [5]. Eine Erweiterung dieser Konzeption ließe sich durch den analog plakativen Ausdruck "chirales Synthon"²⁾ kennzeichnen: die Bereitstellung von Verbindungen, welche häufig vorkommende chirale Strukturelemente synthetisch möglichst vielseitig und in möglichst wenigen Stufen

-
- 1) Die Ausdrücke "stereoselektiv" und "stereospezifisch" werden entsprechend der Definition von Eliel ([1], S.109 f) verwendet.
 - 2) Der Begriff "Synthon" wurde von Corey [6] eingeführt: "structural unit within a molecule which is related to possible synthetic operations" bzw. "unit which can be synthesized, modified or joined by known or conceivable synthetic operations". In der Literatur hat sich aber weitgehend eingebürgert, hiervon abweichend als Synthone Moleküle bzw. Verbindungen zu bezeichnen, mit denen bestimmte strukturelle Einheiten realisiert werden können.

einzubauen gestatten. Es gibt bereits einige schöne Ansätze, aber noch keine systematische Ausgestaltung dieser Richtung. Ein Beispiel ist die Einfügung der in vielen komplizierten Naturstoffen vorkommenden Einheit $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ durch nukleophile Substitution am C-1 des Synthons "Methyloxiran", welches seinerseits aus L-Milchsäure leicht zugänglich ist [7].



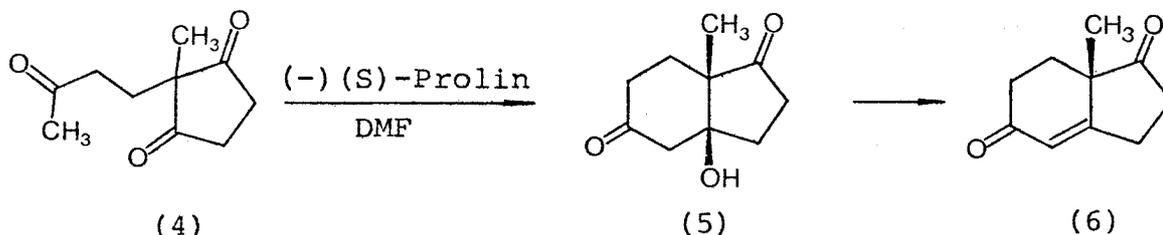
1.1.2 Asymmetrische Synthese

Enantio- und diastereoselektive Reaktionen zur Herstellung enantiomer angereicherter chiraler aus achiralen Verbindungen sind in den letzten Jahren Gegenstand intensiver Forschung von Industrie- und Hochschullaboratorien geworden¹⁾. Das zur Zeit große Interesse an diesem Gebiet dürfte auf folgende Punkte bzw. Erkenntnisse zurückzuführen sein: 1. Voraussetzung zu wirkungsvoller Forschung sind zuverlässige und schnelle Methoden zur Bestimmung der enantiomeren Reinheit und absoluten Konfiguration. Solche Methoden sind erst in den letzten 10-15 Jahren bekannt geworden. 2. Eine vollständige asymmetrische Synthese ist chiral ökonomisch. 3. In der Regel muß man sich mit einer partiellen asymmetrischen Synthese begnügen. Für die Praxis nützlich kann, bei guter chemischer Ausbeute, bereits eine enantiomere Ausbeute²⁾ ab ca. 50 % sein (3:1-Enantiomergemisch), sofern die weitere Anreicherung des überwiegenden Enantiomeren bzw. Diastereomeren auf einfache Weise, z. B. durch Umkristallisieren, gelingt. 4. In einigen Fällen wurden enantiomere Ausbeuten >90 % erreicht. Besonders spektakulär ist etwa die Cyclisierung des prochiralen Ketons (4) mit (S)-Prolin als Katalysator zu 93.4 % enantiomer reinem (5), dessen zweimalige Umkristallisation und Dehydrati-

1) Die ältere Literatur des Gebiets (bis 1968) ist nahezu erschöpfend von Morrison und Mosher [8] dargestellt worden. Auswertungen, insbesondere nach praktischer Nützlichkeit, der neueren Literatur stammen von Inch [9] sowie Scott und Valentine Jr. [10]. Eine sehr nützliche Diskussion der Grundlagen geben Izumi und Tai [11].

2) Die "enantiomere Ausbeute" eines Produktes einer asymmetrischen Synthese entspricht seiner enantiomeren Reinheit, wobei ein enantiomer reiner chiraler Induktor vorausgesetzt ist.

sierung das enantiomer reine Keton (6) ergibt [12]. Dieses ist ein wichtiges CD-Ring-Synthon für die Synthese von Steroiden.



Ähnlich gute, praktisch verwertbare Resultate wurden erzielt z. B.: durch katalytische Hydrierung von Enamiden, speziell N-Acyl-dehydroaminosäuren, mit löslichen Rhodium-Komplexen von chiralen Phosphinen (As. Synth. von Aminosäuren) [13], bei durch Lewis-Säuren katalysierten Diels-Alder-Reaktionen von chiralen Acryl- und Fumarsäureestern [14], der Hydroborierung von Olefinen mit Diisopinocampheylboran [15], bei der Seitenketten-Alkylierung von chiralen 2-Alkyl-oxazolinen (As. Synth. von Alkylfettsäuren und Alkylbutyrolaktonen) [16], bei der C-Alkylierung von chiralen Enaminen [17], Iminen [18], Hydrazonen [19] und chiral substituierten 2-Imidazolin-5-onen (As. Synth. von α -Alkyl- α -aminosäuren) [20].

Diese und einige weitere besonders gute Ergebnisse haben den Eindruck erweckt, es sei nicht allzu schwierig, eine enantiomere Ausbeute von 80 % und mehr zu erreichen¹⁾. Der Eindruck täuscht. In der überwiegenden Zahl der Fälle liegt die enantiomere Ausbeute um und unter ca. 30 %. Hohe Werte werden im allgemeinen nur bei relativ speziellem Zusammentreffen von Substrat, Reaktionsbedingungen und chiraler induzierender Komponente erzielt. Vorhersagen sind außer im Falle linearer Alkylhomologen im allgemeinen nicht möglich. Belohnt wird deshalb oft die geduldige Optimierung (s. z. B. [21]), gelegentlich wird auch im Falle eines vorher noch nicht erprobten Substrats oder Substrat-

1) Ausdruck dieser Meinung ist die weithin kolportierte Äußerung eines prominenten Chemikers (1977): "Publizierbar sind nur noch asymmetrische Synthesen mit enantiomerer Ausbeute über 80 %."

typs sehr hohe enantiomere Ausbeute mittels einer Methode erzielt, die sich vorher nur mäßig bewährt hatte (s. z. B. [22]).

Die Produkte einer asymmetrischen Synthese sind durch die Reaktion selbst im allgemeinen noch nicht stereochemisch charakterisiert. Allerdings lassen sich oft grobe formal mechanistische Modelle aufstellen, welche eine Vorhersage bzw. Rationalisierung der absoluten Konfiguration liefern. Die Proliferation derartiger Modelle in der Literatur täuscht leicht darüber hinweg, daß nur in Ausnahmefällen Versuche zur Aufklärung des Reaktionsmechanismus unternommen wurden. So findet man nicht selten Formulierungen, die gegen etablierte Grundprinzipien, wie das des Rückseitenangriffs bei der S_{N2} -Reaktion, verstoßen (s. z. B. [18b,20]) und trotzdem die Konfiguration richtig wiedergeben. Auch führen zur Verbesserung der enantiomeren Ausbeuten angestellte Überlegungen nur allzuoft zu schlechteren Ergebnissen; glücklicherweise resultieren aus den Experimenten im allgemeinen genügend gute Befunde in anderer Richtung als erwartet, so daß am Ende der Vorteil überwiegt¹⁾. Als Beispiel sei die Reaktion (4) → (5) angeführt. Aufgrund geistreicher Überlegungen vorgeschlagene und mühsam synthetisierte Katalysatoren als Alternativen zum ersten "guten Griff" Prolin, haben sämtlich zu drastisch schlechteren Resultaten, aber zu interessanten Einsichten in die räumliche Struktur von Enaminen geführt [12c,23].

Der Grund für diese Unsicherheiten ist klar zu erkennen: zum einen fehlt, was oben bereits angesprochen wurde, die eingehende Kenntnis reaktionsmechanistischer Details²⁾, zum anderen ist die Problematik der Stereoselektivität, insbesondere bei nicht-cyclischen Systemen, grundsätzlich noch weitgehend ungeklärt. Die gängigen Modellvorstellungen sind noch heute im wesentlichen

1) Es sei in diesem Zusammenhang an die "Paulingsche Regel" erinnert, nach der Maßnahmen zur Verbesserung einer quantenchemischen Methode zunächst zu schlechten Resultaten (Energieeigenwerte, Dipolmoment etc.) führen; erst in einem weiteren Verbesserungsschritt wird die Güte der ursprünglichen Methode wieder erreicht bzw. übertroffen. Derartige mehr oder weniger scherzhafte "Regeln" charakterisieren den Zustand eines Wissensgebiets im Pionierstadium recht treffend.

2) Dieses trifft in besonderem Maße auf Reaktionen metallorganischer Verbindungen zu; gerade hier findet man sehr oft hohe enantiomere Ausbeuten. Ein beredtes Beispiel für die überaus große Komplexität derartiger Systeme geben die Arbeiten der Mülheimer Schule [24] über stereoselektive C-C-Verknüpfungen.

Modifizierungen der klassischen Cram-Prelog-Betrachtungsweise (Cramsche Regel [25], Prelogsche Regel zur Atrolactinsäuresynthese [26])¹⁾. Zu dieser Beobachtung konform geht die Tatsache, daß es nur sehr wenige "a priori konstruierte" asymmetrische Synthesen gibt (z. B. [28,29]), und in diesen wenigen Fällen induzierendes und erzeugtes Chiralitätselement durch einen Ring gekoppelt sind. Das Erfordernis der Ringbildung und -lösung macht diese Methoden relativ aufwendig und beschränkt sie auf bifunktionelle Verbindungen wie Aminosäuren. Sie haben daher trotz sehr hoher enantiomerer Ausbeuten bis heute praktisch keine Anwendung gefunden.

Weitgehende Universalität und quantitative Vorhersage verspricht neuerdings das "stereochemische Strukturmodell" von Ugi und Ruch [30]. Im Rahmen dieses Modells werden Konkurrenzreaktionen mit diastereomeren Übergangszuständen²⁾ bzw. Gleichgewichte zwischen Diastereomeren als Black-box-Vorgänge betrachtet, d. h. klassische Konzeptionen wie "Konformation", "sterische Wechselwirkung" etc. kommen nicht vor. Zur Beschreibung der Stereoselektivität dient eine lineare Freie-Enthalpie-Beziehung, das sogenannte Chiralitätsprodukt, in die lediglich empirisch bestimmte Parameter eingehen. Die Parameter sind Substituenten zugeordnet, durch deren Permutation die Reaktions- bzw. Gleichgewichtspartner formal ineinander überführt werden. Der volle mathematische Ansatz des Modells ist für die Praxis zu kompliziert; es kommt ein sog. "verkürzter Ansatz" zur Anwendung, in dem jedem Substituenten nur ein Parameter zugeordnet ist. Das ist eine sehr grobe Näherung.

Experimentell konnte das Ugi-Ruch-Modell bisher nur an einer Reaktion verifiziert werden [30c]. Andere Anwendungsversuche scheiterten, in der Regel, weil die Voraussetzungen²⁾ zur Anwendung nicht erfüllt waren [31]. Ein neues Beispiel, der Ver-

1) Von Theoretikern vorgebrachte neue Konzepte [27], wie "steric congestion", stellen oft nur mathematische Formulierungen ohne neuen physikalisch-chemischen Gehalt dar.

2) Eine wichtige Voraussetzung ist, daß die diastereomeren Übergangszustände den Produkten der Reaktion eindeutig zuzuordnen sind ("korrespondierende Reaktionen" in der Terminologie von Ugi und Ruch).

such einer Anwendung auf die chromatographische Trennung von Diastereomeren, wurde im Zusammenhang mit der Thematik dieser Arbeit untersucht.

Asymmetrische Synthesen¹⁾ unter Katalyse durch Enzyme oder Mikroorganismen sind in vielen, besonders industriellen Arbeitskreisen untersucht worden²⁾. Hauptproblem ist hier, daß die meisten Enzyme auf ihr natürliches Substrat "maßgeschneidert" und daher in der Anwendungsbreite beschränkt sind. Deshalb erreicht man keineswegs, wie immer wieder zu hören ist, in allen Fällen hohe oder gar quantitative enantiomere Ausbeute. Ein weiteres Problem ist ferner oft mangelnde Löslichkeit des Substrats in wässrigen Medien³⁾. Einige Lyasen (Katalyse von Additionen bzw. Eliminierungen) und Oxidoreduktasen sind indessen erstaunlich unempfindlich auf die Konstitution des Substrats. Als Labormethode verwertbar ist die Reduktion von Ketonen mit Hefe (Hefe-Alkoholdehydrogenase [33]) oder mit käuflicher⁴⁾ Alkoholdehydrogenase aus Pferdeleber [32]. Neuerdings ist es sogar möglich geworden, Mikroorganismen als Katalysatoren für die stereospezifische katalytische Hydrierung ungesättigter Carbonsäuren einzusetzen [34].

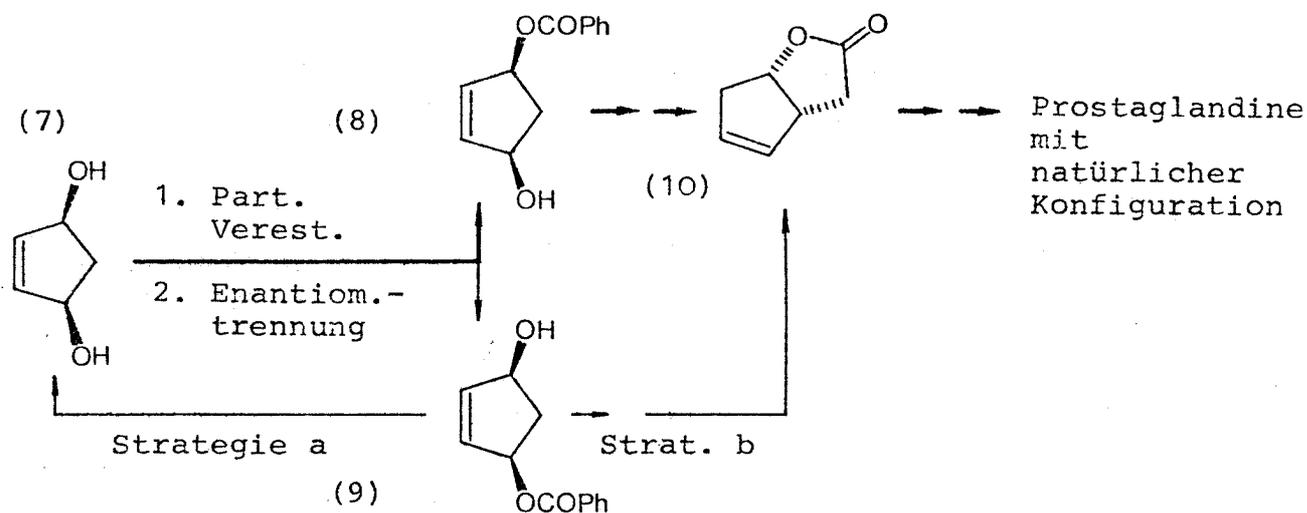
Im organisch-chemischen Laboratorium haben sich die biochemischen Methoden nicht durchgesetzt, wohl hauptsächlich deswegen, weil die Arbeitstechnik von der üblichen abweicht. Ihre industrielle Anwendung wird dagegen sehr stark forciert, insbesondere seit immobilisierte Enzyme oder sogar Mikroorganismen verfügbar sind [35]. Mit solchen Systemen kann kontinuierlich, z. T. in Kreisläufen, gearbeitet werden. So wird in Japan L-Asparaginsäure bereits kontinuierlich unter Verwendung von Säulen erzeugt, die mit immobilisierten Mikrobenzellen gepackt sind [36].

1.1.3 Trennung von Enantiomeren

Trotz schöner Erfolge auf den obigen Gebieten ist die Trennung von Enantiomeren das weitaus am meisten benutzte Verfahren zur Herstellung enantiomer reiner Verbindungen geblieben. Als grundsätzlicher Mangel für industrielle Zwecke und für Naturstoff-

-
- 1) Von asymmetrischen Synthesen prinzipiell zu unterscheiden sind kinetische Racematspaltungen, die mit Enzymen ebenfalls oft durchgeführt werden. In der biochemischen Literatur werden die beiden Problemkreise im allgemeinen zusammen behandelt.
 - 2) Eine ausgezeichnete Zusammenfassung, "vom Biochemiker für den organischen Chemiker", mit experimentellen Vorschriften und sehr viel nützlichem vorher unveröffentlichtem Material über Alkoholdehydrogenasen findet man in [32].
 - 3) Viele Enzyme "vertragen" glücklicherweise hohe Anteile organischer Lösungsmittel, z. B. Dimethylsulfoxid, im wässrigen Reaktionsmedium.
 - 4) Den organischen Chemiker dürften allerdings die Preise von Enzymen und Coenzymen abschrecken.

synthesen erscheint heute die chirale Unökonomie der Enantiomerentrennung, denn logischerweise fällt die gewünschte Verbindung primär nur zu maximal 50 % an. Dieses Problem läßt sich bei geschickter Strategie allerdings oft umgehen. So kann man in geeigneten Fällen das unerwünschte Enantiomere racemisieren¹⁾, was u. a. bei der Herstellung von Aminosäuren [36] oder des Pantolactons [38] im industriellen Maßstab durchgeführt wird. Viel Aufmerksamkeit wird neuerdings Strategien gewidmet, bei denen (a) der chiralen eine achirale Stufe vorgeschaltet ist, derart, daß das unerwünschte Enantiomere in die achirale Verbindung zurückgeführt werden kann (s. z. B. [39]) oder (b) das "falsche" Enantiomere über chirale Stufen (also ohne Racemisierung) in das "richtige" Enantiomere bzw. eine seiner Folgestufen überführt wird²⁾ (s. z. B. [40]). Als nahezu virtuos muß das folgende Beispiel bezeichnet werden [42], in dem sowohl Strategie (a) als auch (b) für die Synthese von Prostaglandinen nutzbar gemacht wurden:



1) Bei Verbindungen mit einem relativ labilen Chiralitätselement lassen sich Enantiomerentrennung und Racemisierung in einen Schritt vereinen (asymmetrische Transformation 2. Art [1]). Ein besonders raffiniertes Beispiel wurde für das α -Amino- ϵ -caprolactam (Lysin-Vorstufe) kürzlich beschrieben [37].

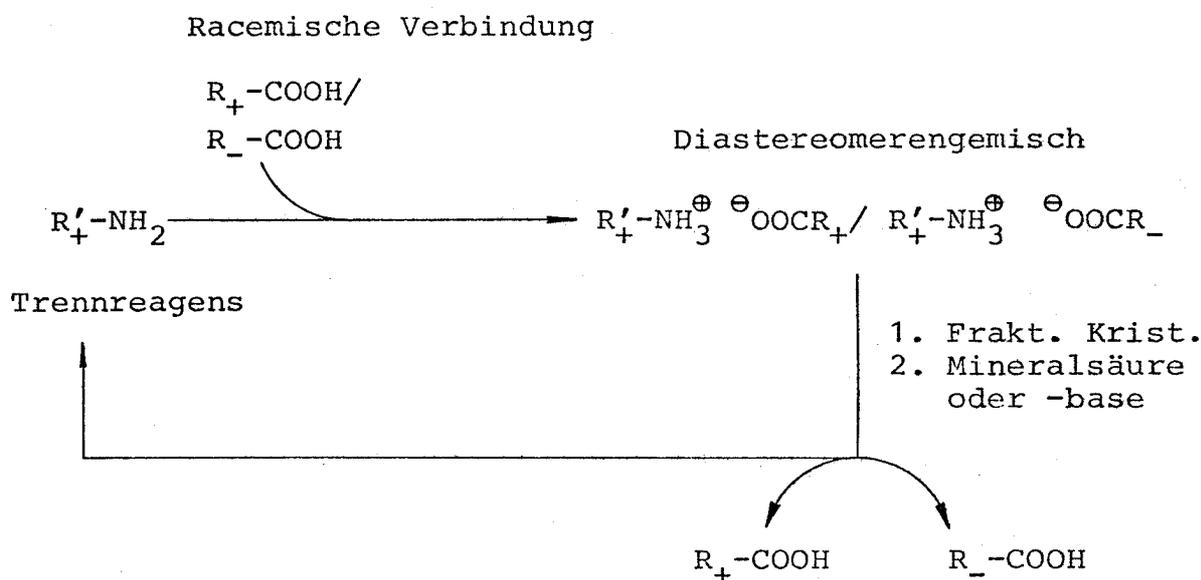
2) Vom stereochemischen Standpunkt gesehen, handelt es sich hier nicht um neue Methoden - bekanntlich wurde Variante (b) bereits von E.Fischer [41] beschrieben.

Die vielen Methoden bzw. Methodenvarianten zur Enantiomeren-trennung lassen sich nach ihrer physiko-chemischen Grundlage in drei große Gruppen klassifizieren

- Physikalische Trennung diastereomerer Derivate oder Assoziate,
- mechanische (manuelle) Trennung oder kinetisch gesteuerte Kristallisation von Konglomeraten,
- kinetische Racematspaltung.

Beurteilt nach Breite und Zahl der Anwendungen, ist die erste Gruppe bei weitem die wichtigste.

Physikalische Trennung diastereomerer Derivate oder Assoziate; Kristallisationsverfahren¹⁾. - Nach wie vor am häufigsten zur Anwendung kommen die klassischen Verfahren der fraktionierten Kristallisation von Salzen aus Carbonsäuren (gelegentlich Sulfo- und Phosphonsäuren bzw. Phosphorsäureester) und Aminen. Zur Erinnerung möge das Schema 1 dienen.



Schema 1 Klassisches Verfahren (Pasteur) zur Trennung von enantiomeren Carbonsäuren.

1) Die Literatur bis 1971 ist recht umfassend in einem Buch [43], die neueste Literatur in einem ausgezeichneten Übersichtsartikel [44] zusammengefaßt; in [44] sind, nach eigenen Erfahrungen beurteilt, gute praktische Hinweise gegeben. Ein vorerst vierbändig geplantes Werk über Enantiomerentrennung befindet sich im Entstehen. Band 1 (Amine) ist bereits erschienen [45].

In analoger Weise lassen sich Alkohole bzw. Ketone trennen, indem man sie z. B. in Dicarbonsäurehalbester oder Oximinocarbonsäuren überführt. Trennungen über kovalente diastereomere Derivate werden seltener durchgeführt, hauptsächlich über Ester¹⁾, gelegentlich Urethane, selten Acetale. Verfahren über diastereomere Assoziate, wie Einschlußverbindungen oder die Kristallisation aus optisch aktiven Lösungsmitteln [46] haben wenig Bedeutung erlangt, können aber bei Verbindungen ohne zur Derivatisierung geeignete funktionelle Gruppen²⁾ von Nutzen sein.

Die klassischen Kristallisationsverfahren sind apparativ einfach und unterliegen im Substanzmaßstab praktisch keiner Beschränkung. Diesen wichtigen Vorteilen stehen eine Reihe von Nachteilen gegenüber, die die erstmalige Enantiomerentrennung einer Verbindung, besonders für den Ungeübten, nicht selten zu einer frustrierenden Angelegenheit machen³⁾. Es sind hauptsächlich die folgenden drei Probleme zu nennen:

- (a) Die fraktionierte Kristallisation ist ein Trial-and-error-Verfahren, d. h. eine Vorhersage über das Gelingen der Trennung ist für den Einzelfall praktisch nicht möglich. Üblicherweise müssen mehrere Reagentien erprobt werden und man erhält nur eines der Enantiomeren in guter enantiomerer Reinheit. Die chemische Ausbeute ist in der Regel schlecht und variiert in starkem Maße mit der Geschicklichkeit des Experimentators.

-
- 1) Hauptproblem bei der Trennung von Alkoholen über Ester ist die Schwierigkeit, kristalline Verbindungen zu bekommen. Besonders gut als Reagens bewährt hat sich neuerdings Camphansäure [47].
 - 2) Einige seltene Fälle ausgenommen, dürfte bei derartigen Verbindungen eine chromatographische Trennung (s. u.) oder eine Trennung über eine verwandte funktionalisierte Verbindung günstiger sein.
 - 3) Einer der Altmeister der Enantiomerentrennung, J. Kenyon, hat in seinen Arbeiten gelegentlich graphische Schemata der fraktionierten Kristallisation angegeben; ein eindrucksvolles Beispiel für die obige Aussage findet man z. B. in [48].

Um die Systematisierung und wissenschaftliche Ausgestaltung der Kristallisationsverfahren bemüht sich vor allem die französische Schule um Jacques am Collège de France, Paris [44]. Methodische Mittel sind die Bestimmung von Phasen- bzw. Löslichkeitsdiagrammen durch Mikrokolorimetrie¹⁾, die Erstellung von Listen bereits durchgeführter Trennungen [43] und, neuerdings, Röntgenstrukturanalysen von Reihen verwandter diastereomerer Salze [49].

- (b) Der Anreicherungsgrad der Diastereomeren bzw. die enantiomere Reinheit der Endprodukte kann durch den Kristallisationsprozeß selbst nicht bestimmt werden.

Laufende Kontrolle des Fortgangs der Trennoperation ist eine wichtige Voraussetzung für die effiziente Durchführung einer Enantiomerentrennung. Optische Drehung und Schmelzpunkt sind, insbesondere bei Salzen, ganz ungeeignete Reinheitskriterien (s. u.). Glücklicherweise wurden in den letzten Jahren mehrere Methoden bekannt, die eine schnelle und genaue Bestimmung der enantiomeren Reinheit erlauben. Diese sind auf kovalente Diastereomeren oft direkt anwendbar; bei Salzen ist in der Regel eine Zerlegung in Säure und Base erforderlich²⁾.

- (c) Die relative Konfiguration der Diastereomeren bzw. die absolute Konfiguration der Enantiomeren läßt sich aus dem Kristallisationsprozeß nicht ableiten.

Es hat nicht an Versuchen gefehlt, Zusammenhänge zwischen Molekülstruktur (Konfiguration, Konformation) und Kristallstruktur sowie daraus abzuleitende physikalische Eigenschaften wie Löslichkeit aufzufinden [51]. Das Problem ist natürlich extrem kompliziert und ebenso kompliziert wird vermutlich die Methode einer zufriedenstellenden Lösung sein. Einfache Regeln dürften keine Chance haben. So erscheint es etwa intuitiv als plausibel, daß engverwandte Verbindungen z. B. kernsubstituierte Mandelsäuren, mit demselben Trennreagens "konfigurativ analoges" Kristallisationsverhalten³⁾ aufweisen, d. h. die schwerer löslichen Salze homochirale Anionen besitzen sollten (Regel von Winther [52]). Nach

-
- 1) Dieses setzt allerdings voraus, daß zumindest Milligrammengen der reinen Enantiomeren bereits vorliegen.
- 2) Nicht selten unterscheiden sich die Kernresonanzspektren von diastereomeren Salzen [50]. Die Differenzen in den Signallagen sind aber im allgemeinen zu gering, um mit üblichen 60- oder 100-MHz-Spektrometern ausgenutzt werden zu können.
- 3) Zur Definition der Begriffe "homo- und heterochiral" s. [53].

neueren Untersuchungen [54] gibt es so viele Ausnahmen von dieser Regel, daß eine zuverlässige Konfigurationsbestimmung nicht möglich ist. Es sei hinzugefügt, daß für engverwandte Verbindungen auch durchaus nicht immer dasselbe Trennreagens brauchbar ist [55].

Neben der fraktionierten Kristallisation sind wohl alle anderen Trennverfahren auch auf Diastereomere oder Enantiomere angewendet worden. So konnten Diastereomere z. B. durch Craig-Verteilung [56a], Zonenschmelzen [56b], Destillation [56c], Enantiomere z. B. durch Transportphänomene in festen [56d] oder flüssigen [56e] chiralen Membranen, Elektrophorese mit Lösungen chiraler Elektrolyte [56f] oder Verteilung zwischen zwei flüssigen Phasen (mit gelöstem chiralem Kronenether) [56g] getrennt werden. Für alle diese Verfahren gibt es nur wenige Beispiele, keines spielt in der Praxis bisher eine Rolle - vielleicht zu Unrecht.

Als wesentlich günstiger erscheint die Situation im Bereich der chromatographischen Methoden. Da die vorliegende Arbeit den bisher umfangreichsten Beitrag zur chromatographischen Trennung von Diastereomeren darstellt, wird der Leser sich ein eigenes Urteil bilden können. In dieser einleitenden Übersicht vorweggenommen sei eine kurze Gegenüberstellung Kristallisation - Chromatographie sowie eine Diskussion der Chromatographie an chiralen Phasen, ein Gebiet, das später nicht mehr behandelt werden wird.

Physikalische Trennung diastereomerer Derivate oder Assoziate; chromatographische Methoden. - Die chromatographischen Methoden, Gas-(GC) und Flüssigkeitschromatographie (LC), sind den Kristallisationsverfahren in einem Punkt prinzipiell überlegen: da jede chromatographische Apparatur mit einem Detektor ausgerüstet werden kann, läßt sich simultan mit der Trennung die diastereomere bzw. enantiomere¹⁾ Reinheit bestimmen (vgl. Punkt (b) des vori-

1) Im Falle der Trennung von Enantiomeren an einem chiralen Adsorbens ist es bei simultaner Detektion mittels Polarimeter und UV-Gerät möglich, direkt die optische Reinheit, d. h. die spezifische optische Drehung der Enantiomeren zu bestimmen. Die Methodik wird nach Anregung durch diesen Autor z. Z. von Mannschreck und Mitarbeitern ausgearbeitet [57].

gen Abschnitts). Genereller Nachteil der üblichen chromatographischen Methoden ist ihre Beschränkung im Substanzmaßstab. Nimmt man seltene Spezialfälle aus, dürfte der maximale Mengendurchsatz derzeit bei ca. 30 g pro Tag liegen. Dieses gilt in etwa gleich für die GC und LC. Allerdings gibt es trotzdem einen wichtigen Unterschied. Die Entwicklung der präparativen GC wird als nahezu abgeschlossen angesehen - wobei die Zahl der Anwendungen sogar stark rückläufig ist, die der präparativen LC steht erst am Anfang.

Seit Einführung der Kapillarsäulen, speziell der Glaskapillarsäulen, sind extreme Trennleistungen (ca. 500 000 th. Böden) in der analytischen GC verfügbar. Leider ist diese Technik für präparative Trennungen nicht verwertbar. Hier arbeitet man mit gepackten Säulen. Diese lassen sich um so schlechter packen, je größer ihr Durchmesser ist; in der Vergangenheit (ca. 1950-1970) konnten trotz intensiver Bemühungen Bodenzahlen von 5000-10000 [58], was in der Regel eine Chromatographiedauer von mehreren Stunden bedingt, nicht überschritten werden. Als weiteres Problem kommt die "natürliche" Beschränkung der GC auf flüchtige thermisch stabile Verbindungen hinzu. Es verwundert nicht, daß nach der Entwicklung der modernen Spaltrohr-Destillationskolonnen die Weiterentwicklung der präparativen GC praktisch aufgegeben wurde.

Ganz anders sieht die Situation für die präparative LC aus. Nach Ergebnissen von anderen und uns, die in Anhang I ausführlich dargestellt sind, nimmt bei LC-Säulen die Trennleistung mit dem Durchmesser zu. Wie wir zeigen konnten, lassen sich mit sehr einfachen Mitteln präparative Kieselgelsäulen mit bis zu 30000 theoretischen Böden herstellen. Unter Anwendung sogenannter Recycling-Techniken¹⁾ können fast beliebige Bodenzahlen erreicht werden. Bedenkt man zusätzlich, daß die Entwicklung des Gebietes erst am Anfang steht²⁾, so darf man ihm wohl eine glänzende Zukunft voraussagen. Schon nach dem derzeitigen Stand des Wissens wäre es mit Sicherheit möglich, eine vollautomatische Apparatur mit einem Mengendurchsatz von ca. 1 kg/Woche (und totaler Lösungsmittelrückgewinnung) zu konstruieren. Leider haben die Gerätehersteller offenbar noch nicht erkannt, daß hier ein großer Bedarf und damit potentieller Markt vorliegt.

1) Als Recycling bezeichnet man eine Technik, bei der die zu trennenden Substanzen ein Ensemble von mindestens zwei Säulen mehrfach durchlaufen. Effektiv entspricht das Recycling einer Säulenverlängerung.

2) Es gibt nur etwa 10 ernstzunehmende Publikationen über präparative, dagegen Tausende über analytische LC.

Wie bereits angedeutet, ist es üblich und sinnvoll, die chromatographischen Methoden zur Enantiomerentrennung in zwei Klassen einzuteilen:

- Trennung chiraler Stoffe an chiralen stationären Phasen
- Trennung von vorgebildeten Diastereomeren an achiralen stationären Phasen¹⁾.

Für die erste Klasse beginnt sich die Bezeichnung "direkte Enantiomerentrennung" (direct resolution) durchzusetzen. Damit wird auf den Hauptvorteil gegenüber der zweiten Klasse hingewiesen: es ist keine Derivatisierung und Rückspaltung der zu trennenden Substanzen erforderlich. Direkte GC-Enantiomerentrennungen sind nach den obigen Ausführungen nur für den analytischen Bereich nützlich und werden daher im Abschnitt "Methoden zur Bestimmung der enantiomeren Reinheit" vorgestellt.

Nach einer infolge mangelnder chromatographischer Technik und des Fehlens von guten Methoden zur Bestimmung der enantiomeren Reinheit etwas wirren Anfangsphase²⁾, haben sich mehrere LC-Methoden als reproduzierbar und für präparative Zwecke (mg-Bereich) brauchbar herausgestellt³⁾. Der Stand der Forschung ähnelt demjenigen des Gebietes "Asymmetrische Synthese". Auf der einen Seite gibt es praktisch verwertbare, doch weitgehend empirische Trial-and-error-Methoden, auf der anderen Seite existieren bereits für bestimmte Substrate "maßgeschneiderte", z. T. a priori

-
- 1) Weitere Fallunterscheidungen lassen sich durchführen, z. B. "Trennung chiraler Verbindungen in chiralen mobilen Phasen an achiralen stationären Phasen" (vgl. z. B. [59]) oder die "Trennung vorgebildeter Diastereomere an chiralen Phasen" (vgl. z. B. [60]). Diese Verfahren besitzen bisher keine praktische Bedeutung und werden deshalb im allgemeinen nicht explizit behandelt.
 - 2) Eine ausgezeichnete Darstellung der Frühphase (bis. ca. 1968) findet man in [61].
 - 3) Zusammenstellungen der neueren Literatur existieren [62]; sie sind aber allesamt als inkompetent zu bezeichnen.

konzipierte, aber aufwendige Verfahren.

Der Entwicklungsgang der Verfahren der ersten Gruppe ist dadurch gekennzeichnet, daß der frühen partiell erfolgreichen Erprobung eines Adsorbens eine Phase der Verfeinerung der Methodik und Erweiterung des Substratbereichs folgt und schließlich Regeln zur Rationalisierung der Trenneffekte aufgestellt werden. Die erfolgreichsten Adsorbentien dieser Gruppe sind (entfettete) Kartoffelstärke [63] und Cellulosetriacetat¹⁾ [65]²⁾. Beide sind billig, gut zugänglich und ergeben in gewissen Stoffbereichen manchmal geradezu erstaunlich gute Trennungen. Cellulosetriacetat zeichnet sich durch eine ungewöhnliche Spezifität für unpolare Verbindungen mit Arylsubstituenten aus, ein Verbindungstyp also, auf den andere Trennverfahren besonders schlecht anzuwenden sind. So konnte mit diesem Adsorbens eine vollständige Trennung der enantiomeren 1,5-Di-*t*-butyl-1,5-diphenyl-pentatetraene erreicht werden [66]. Ein gewisser Nachteil von Stärke und Celluloseacetat ist ihre mechanische Instabilität, was schnelle Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) ausschließt³⁾.

Den obigen Adsorbentien verwandt sind Perlpolymerisate von Acrylsäureamiden, die in verhältnismäßig großer Anzahl und Variationsbreite hergestellt wurden [67]. Es konnten zahlreiche partielle, aber kaum eine vollständige Trennung erzielt werden.



- 1) Früher wurde hauptsächlich zwei- bis dreifach acetylierte Cellulose eingesetzt [64]. Sehr gute Trenneffekte wurden mit Cellulose erzielt (DC, Papierchromatographie) [61]. Leider läßt sich dieses Material nur sehr schlecht in Säulen packen und daher eine präparative Chromatographie nicht durchführen.
- 2) In Ergänzung zur Aussage der Fußn. 3 auf S. 14 sei angemerkt, daß diese Adsorbentien in [62] nicht einmal erwähnt sind.
- 3) Besser druckstabile quervernetzte Materialien, wie Sephadex dürften sich erheblich in ihren chromatographischen Eigenschaften von den "natürlichen" Polymeren unterscheiden.

Als nachteilig erscheint, daß durch die Polymerisation Chiralitätszentren in unmittelbarer Nachbarschaft zur "chromatographisch aktiven" Amidgruppe¹⁾ erzeugt werden. Die Konfiguration dieser Zentren dürfte von erheblichem Einfluß, aber kaum bei wechselnder chiraler Gruppe R^* steuerbar oder auch nur bestimmbar sein²⁾.

Die zweite Gruppe von Verfahren beruht auf Assoziationsphänomenen, die vor den chromatographischen Experimenten bereits an niedermolekularen Verbindungen gefunden und intensiv studiert worden waren. Das chirale Adsorbens erhält man durch Verknüpfen eines der Assoziatpartner mit einem chromatographischen Träger (z. B. Kieselgel, makroporöse Styrol-Divinylbenzol-Polymerisate, Polyacrylamide). Es liegt auf der Hand, daß spektroskopische Studien der niedermolekularen Assoziante in Kombination mit chromatographischen Untersuchungen ausgezeichnete Möglichkeiten zur Deutung der Trennphänomene bieten.

Für die praktische Anwendung fast ausgereift und glücklicherweise verhältnismäßig unaufwendig ist die Trennung von α -Aminosäuren und analogen bifunktionellen Verbindungen über Kupferkomplexe von polymergebundenen α -Aminosäuren, im allg. Prolin (Ligandenaustausch-Chromatographie) [69]. In manchen Fällen sind die Trenneffekte derart gut, daß die Chromatographie in eine Filtration übergeht. Ebenfalls sehr hohe Trennfaktoren für Amine $R^*-\text{NH}_2$ (speziell Aminosäureester) zeigen gewisse polymergebundene chirale Kronenäther (Host-guest-Komplexe, Cram) [70]. Eine praktische Verwertung dürfte allerdings von der Synthese der sehr komplizier-

1) Die Stereoselektivität der Trennungen wird offenbar wesentlich durch Wasserstoffbrückenbindungen zur Amidgruppe beeinflusst.

2) Bei Polyestern, -amiden und -urethanen gibt es ein solches Problem nicht. Interessanterweise lassen sich aromatische Isocyanate und Diole in Säulen direkt zu offenporigen sphärischen Polyurethanen mit hervorragenden chromatographischen Eigenschaften umsetzen. Es wurden auch bereits von racemischem Propylenoxid abgeleitete Diole eingesetzt [68]. Die Wiederholung dieser Versuche mit dem nunmehr verhältnismäßig gut zugänglichen (S)-Methyloxiran (2), vgl. S. 3, müßte sich lohnen.

ten Kronenäther bestimmt werden¹⁾; für die nahe Zukunft erscheint sie ausgeschlossen. Analoge Verfahren wurden für die Trennung von Helicenen (Charge-transfer-Komplexe) [71] und Sulfoxiden [72] entwickelt; in diesen beiden Fällen sind die Trennfaktoren jedoch klein.

Erwartungsgemäß erlauben die "rational konstruierten" Systeme der zweiten Gruppe recht gut eine Deutung der Trennphänomene, für Reihen verwandter Verbindungen insbesondere Korrelationen von chromatographischer Elutionsabfolge und Konfiguration der Enantiomeren. Man überwindet hier also nicht nur Defekt (b) der Kristallisationsverfahren, sondern auch (a) und (c) (vgl. S.10 f.), d. h. es sind Trennungen mit Vorausabschätzung der Trenngüte und simultaner Bestimmung von enantiomerer Reinheit und absoluter Konfiguration möglich. Ein Verfahren mit diesen Eigenschaften soll als "gezielte Trennung von Enantiomeren" bezeichnet werden.

Trotz der schon erreichten schönen Erfolge muß vor Euphorie gewarnt werden, denn neben den oben angedeuteten speziellen Schwierigkeiten gibt es ein generelles Problem, das bei der üblichen Chromatographie, etwa an Kieselgel, nur selten auftaucht: fast immer besitzen chirale Adsorbentien schlechte chromatographische Eigenschaften, d. h. geringe theoretische Bodenzahl der Trennsäule und ausgeprägt unsymmetrische Peakform. Der Grund hierfür ist in der Regel zu langsamer Stoffaustausch zwischen Eluens und Adsorbens, der Chromatographiespezialist spricht von schlechtem Massentransfer. Die Überwindung dieser Schwierigkeit wird die nähere Zukunft des Gebiets vermutlich weitgehend bestimmen. In Ansätzen sind bereits jetzt Lösungen zu erkennen. So konnte die Peakform bei der Trennung von Carbonsäuren und Phenolen (Biphenyl-Reihe) an Stärke durch Variation des pH-Wertes bzw. der Pufferzusammensetzung und/oder der Temperatur erheblich verbes-

1) Gute Differenzierung von enantiomeren Aminen (chiral recognition) ist bei Kronenäthern offenbar an sehr spezifische strukturelle Voraussetzungen gebunden. So mußten Cram und Mitarbeiter eine riesige Zahl unverwandter Verbindungen testen, bis ein geeignetes System (chirale Basis: Binaphthol) gefunden wurde. Aus diesem Grunde ist es nicht sehr wahrscheinlich, daß von billigen chiralen Naturstoffen (Weinsäure [70d]), Zucker [70e]) abgeleitete Kronenäther erfolgreich sein werden.

sert werden [63]¹⁾. Ebenfalls durch Temperaturerhöhung ließ sich bei der Ligandenaustausch-Chromatographie von Aminosäuren die Peakform verbessern [69c]. Der Einsatz sog. Gradienten-Techniken, die sowohl in der GC (Temperaturprogrammierung) als auch in der LC seit langem bekannt sind, dürfte generell von Nutzen sein.

Herstellung enantiomer beliebig reiner Verbindungen; "Verdoppelung" nach Horeau. - Für viele Zwecke ist es wichtig, enantiomer hochreine Verbindungen einzusetzen. Deshalb sind Trennverfahren, die einen beliebig hohen en. Reinheitsgrad garantieren, von großem Interesse. Unter den oben besprochenen besitzen nur die direkten chromatographischen Methoden diese Eigenschaft: in getrennten Zonen wandernde Enantiomere sind immer enantiomer absolut rein, unabhängig von der enantiomeren Reinheit der Trennphase. Wegen der sehr geringen Anwendungsbreite der bekannten direkten chromatographischen Verfahren, ist eine von Horeau und Mitarbeitern [73] aufgezeigte Alternative sehr willkommen.

Das als Verdoppelung (im Original: doublement) bezeichnete Verfahren beruht auf folgendem ebenso einfachen wie originellen Prinzip. Bei konstitutionell symmetrischer Dimerisierung einer chiralen Verbindung, z. B. der Bildung eines Carbonats aus einem Alkohol, entsteht ein Gemisch von Diastereomeren, meso- und d,l-Isomeres; das meso-Isomere wird abgetrennt und ergibt nach Rückzerlegung notwendigerweise die racemische Ausgangsverbindung. Logischerweise ist das nach Rückspaltung des d,l-Isomeren erhaltene Material enantiomer reiner als die Ausgangsverbindung. Gute chemische Ausbeute und verlustfreie chromatographische Trennung²⁾ der Diastereomeren vorausgesetzt, können mehrere solche Cyclen durchgeführt werden. Wie man leicht ausrechnet [73], erhält man z. B. ausgehend von einer 60 % reinen Verbindung zunächst 88 %, dann 99.2 %, im dritten Schritt bereits 99.997 % enantiomer reines Material³⁾.

Obwohl das Verfahren zur Nachreinigung von Produkten asymmetrischer Synthesen recht interessant erscheint, ist eine Anwendung diesem Autor noch nicht zur Kenntnis gekommen.

-
- 1) Auch die Trennselektivität wird stark beeinflusst. Aus den in [63] dargestellten Bildern errechnet sich für Dinitrodiphenylsäure eine Trennstufenhöhe von 0.27 mm, was, bei einem Teilchendurchmesser von ca. 0.06 mm, selbst für Kieselgel als gut, wenn auch nicht optimal, zu bezeichnen wäre. Möglicherweise ließe sich durch Erhöhung der Geschwindigkeit des Eluens noch eine signifikante Verbesserung erreichen (vgl. Anhang I, S.8).
 - 2) Eine Trennung durch Kristallisation führt nie sicher zu einer reinen Verbindung, da Mischkristallbildung im Gebiet hoher Reinheit auftreten kann.
 - 3) Hierbei ist vorausgesetzt, daß keine kinetische Racematspaltung auftritt, d. h. die Geschwindigkeitskonstante für die Bildung der Diastereomeren gleich ist.

Mechanische (manuelle) Trennung oder kinetisch gesteuerte Kristallisation von Konglomeräten; Verbesserung der enantiomeren Reinheit durch Umkristallisieren; Unterschiede der Eigenschaften von enantiomer reinen und racemischen Verbindungen. - Kristalline racemische¹⁾ Verbindungen können bekanntlich als Konglomerat (Eutektikum), Racemat (feste Verbindung) oder Mischkristall (feste Lösung) der Enantiomeren vorliegen [74]. Aus der Lösung oder Schmelze einer konglomeratbildenden Verbindung kristallisieren die Enantiomeren als enantiomorphe Kristalle²⁾ (Hemiedrie) und können im Prinzip manuell sortiert werden (Pasteur 1848 [75]). Wesentlich günstiger ist es, eine staubfreie übersättigte Lösung mit dem Kristall eines reinen Enantiomeren³⁾ anzuimpfen; auf diesem wächst infolge kinetischer Kontrolle dasselbe Enantiomere weiter und kann bei rechtzeitiger Entfernung der Mutterlauge weitgehend rein isoliert werden (Gernez 1866 [76]). Die am anderen Enantiomeren angereicherte Mutterlauge impft man nun mit diesem an usw. (Velluz 1953 [77]).

Für eine erstmalige Enantiomerentrennung und als Routinemethoden sind beide Verfahren nicht geeignet, da konglomeratbildende Verbindungen relativ selten sind und man gegebenenfalls viel Erfahrung für die Durchführung der Trennung braucht⁴⁾. In neuerer Zeit wurden vor allem Helicene [79]⁵⁾ und Heterohelicene [79] durch Aus-

-
- 1) Es sei daran erinnert, daß das Adjektiv "racemisch" mit "äquimolares Gemisch von Enantiomeren" synonym ist, hiervon sollte der Begriff "Racemat" streng unterschieden werden, der eine spezielle Verbindung im Sinne der Phasenregel bezeichnet.
 - 2) Man spricht etwas irreführend von "spontaner Racematspaltung"; natürlich wird die Kristallisation durch Keime, z. B. Staub, ausgelöst. Da die Keime in der Regel chiral sind, erhält man bei kurzzeitiger Kristallisation die Enantiomeren nicht im Verhältnis 1:1.
 - 3) Manchmal erfüllt der chirale Kristall einer anderen Verbindung denselben Zweck.
 - 4) Im Zeitraum 1848-1972 sind offenbar nur 124 derartige Trennungen bekannt geworden [78].
 - 5) In einem Fall wurden Kristalle der Masse 0.2-0.6 mg aufgrund der optischen Drehung sortiert!

lesen erstmalig getrennt. Die Methode kam allerdings nur deshalb zur Anwendung, weil Versuche zur Derivatisierung gescheitert waren und die direkte chromatographische Trennung, vgl. S. 17, wegen technischer Mängel zunächst unbefriedigend gefunden wurde. Daß es sich bei diesen Beispielen um gyrosymmetrische Verbindungen handelt (zweizählige Achse) ist signifikant, da bei diesen nach einer in [78] angeführten Statistik eine besonders hohe Wahrscheinlichkeit der Konglomeratbildung besteht¹⁾.

Sehr viel günstiger als für die Ersttrennung ist die obige Methodik, wenn bereits reine Enantiomere vorliegen. Mit Hilfe moderner Methoden, am besten Differential-Mikrokalorimetrie, kann mit Submilligramm-Mengen das Phasendiagramm erstellt werden, welches die Grundlage zur Beurteilung der Möglichkeit und zur Planung der Enantiomerentrennung bildet. Natürlich erfordert auch das einen beträchtlichen speziellen Aufwand, der nur für industrielle Zwecke²⁾ oder dann lohnen dürfte, wenn eine große Substanzmenge, etwa als Ausgangsmaterial für eine Naturstoffsynthese, benötigt wird. Die Methodik ist glücklicherweise kompetent und umfassend (bis 1971) von Autoren der erwähnten französischen Schule dargestellt worden [78]. Auf einige sehr bemerkenswerte neuere Beispiele sei zusätzlich hingewiesen. Die Lysin-Vorstufe α -Amino- ϵ -caprolactam kann, wie bereits erwähnt, unter simultaner Racemisierung vollständig in die gewünschte L-konfigurierte Verbindung überführt werden [37]. In analoger Weise läßt sich 2,2-Binaphthyl durch "spontane Racematspaltung" unter Racemisierung aus der Schmelze oder sogar durch eine spezielle fest-fest-Phasenumwandlung in die (+)- oder (-)-Verbindung umwandeln, wobei die enantiomere Reinheit nicht bekannt, wahrscheinlich aber hoch ist ($[\alpha]_D = 220^\circ$, höchster bekannter Drehwert $[\alpha]_D = 245^\circ$) [81]. Eine erstaunliche Trennung

1) Als weiteres interessantes Beispiel findet man in der Literatur 1,5-Di-*t*-butyl-1,5-di-(4-chlorphenyl)-pentatetraen [80]. Nach neueren Ergebnissen handelt es sich bei der beschriebenen Verbindung um ein nicht gyrosymmetrisches isomeres Allen [66].

2) Großindustriell werden beispielsweise Dopa, Glutaminsäure und Menthol (als Benzoat) nach der Gernez-Velluz-Variante getrennt.

wurde unlängst von chinesischen Autoren beschrieben [82]. Gemische einiger racemischer Benzyloxycarbonyl-aminosäuren mit racemischem Ephedrin können nach der Gernez-Variante in zwei diastereomer und enantiomer reine Salze¹⁾ getrennt werden. Das entspricht einer simultanen Enantiomerentrennung sowohl der Aminosäure als auch des Ephedrins. Man darf gespannt sein, ob dieses Konzept sich ausbauen lassen wird.

Es sei nochmals betont, daß Trennungen wie die obigen keineswegs als Routinearbeit durchgeführt werden können. Weit weniger stringent hinsichtlich physikalischer Vorbedingungen und speziellem Arbeitsaufwand ist die weitere Anreicherung durch Umkristallisieren einer partiell racemischen Verbindung, wie sie etwa bei einer guten asymmetrischen Synthese anfällt. Bei einer konglomeratbildenden Verbindung führt jeder Kristallisations-schritt notwendigerweise zur Erhöhung der enantiomeren Reinheit des Kristallisats. Bei Racematbildung aber wird je nach Zusammensetzung der Startkristalle die enantiomere Reinheit erhöht oder vermindert. Im letzteren Fall ist die Verbesserung der enantiomeren Reinheit in der Regel schwierig, fast immer ist sie verlustreich. Bei Mischkristallen ist eine Anreicherung natürlich nicht oder nur begrenzt möglich²⁾.

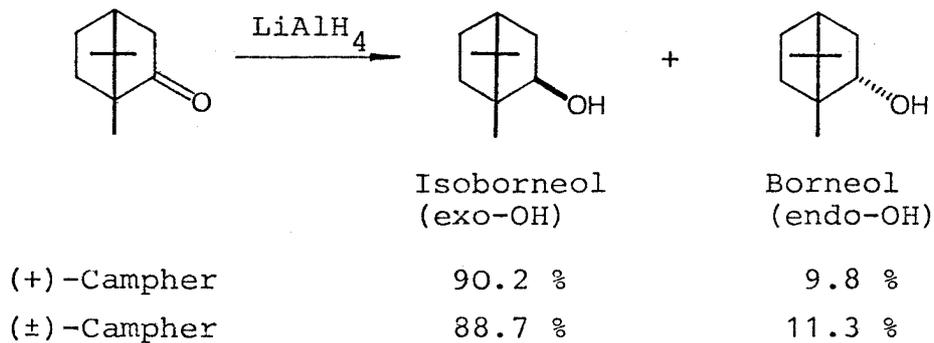
Die Unterscheidbarkeit von Racemat und reinem Enantiomerem beruht auf der Tatsache, daß die Kristalle diastereomorph zueinander sind. Das entsprechende Phänomen wird auch bei Flüssigkeiten bzw. Lösungen als "Abweichung vom idealen Verhalten" beobachtet; erste Untersuchungen wurden bereits von Pasteur durchgeführt. Der Effekt ist in der Regel gering und schwer festzustellen, daher für viele Fälle kontrovers. Er manifestiert sich indessen gelegentlich recht "augenscheinlich". So unterscheiden sich die Kernresonanz- [83] oder IR-Spektren [84] der Lösungen mancher racemischer sehr deutlich von denen der enantiomer reinen Verbindungen. Das faszinierende Gebiet dieser Effekte wurde 1974 von Horeau und Guetté kritisch gesichtet [85]. Von diesen Autoren ist auch eine sehr wichtige Konsequenz für die Praxis aufgezeigt worden: die optische Drehung ist in manchen Fällen

1) In Lösung liegen 4 paarweise ineinander umwandelbare Stereoisomere vor; die Trennung ist also sowohl diastereo- als auch enantioselektiv.

2) Stetige Mischkristallbildung über den gesamten Zusammensetzungsbereich ist glücklicherweise selten. Allerdings findet man im Grenzbereich hoher Reinheit oft auch bei Konglomeraten und Racematen Mischkristalle.

der enantiomeren Reinheit nicht proportional; anders ausgedrückt: optische und enantiomere Reinheit¹⁾ sind numerisch nicht gleich.

Eine weitere Manifestation desselben Phänomens wurde erst kürzlich experimentell nachgewiesen: enantiomer reine und racemische Verbindungen ergeben bei Reaktionen mit achiralen Reagentien unterschiedliche Produktverteilungen [86]. Diese wichtige Entdeckung bringt eines der gängigsten, bisher als selbstverständlich akzeptierten, chemischen Dogmen²⁾ zu Fall; zur Illustration möge das folgende Beispiel dienen:



Es gibt zwei weitere, allerdings etwas komplizierte Beispiele. Ohne Zweifel wird man solche Effekte in Zukunft auch bei "alltäglichen" Experimenten berücksichtigen müssen.

1) Im Unterschied zu dem physikalisch "unbelasteten" Begriff "enantiomere Reinheit" ER (vgl. S.1) ist der Begriff "optische Reinheit" OR durch eine Meßvorschrift definiert:

$$OR = \frac{[\alpha]_{\lambda}^t}{[\alpha]_{\lambda_{max}}^t} \cdot 100$$

$[\alpha]_{\lambda}^t$: Optische Drehung der Probe,
 $[\alpha]_{\lambda_{max}}^t$: Optische Drehung der enantiomer reinen Substanz unter gleichen physikalischen Bedingungen.

2) Man findet es in vielen Lehrbüchern explizit ausgesprochen und an (theoretisch konstruierten) Beispielen veranschaulicht.

Kinetische Racematspaltung. - Als kinetische Racematspaltung bezeichnet man die Tatsache, daß Enantiomere mit einem chiralen Reagens bzw. unter "chiralen physikalischen Bedingungen" verschieden schnell reagieren¹⁾. Auch die, mit unterschiedlicher Geschwindigkeit verlaufenden, Reaktionen von Diastereomeren seien hier einbezogen. Typisches Beispiel für eine kinetische Racematspaltung ist etwa die Umsetzung eines racemischen Alkohols mit einem enantiomer reinen Acylderivat. Infolge unterschiedlicher Bildungsgeschwindigkeit erhält man bei unvollständigem Umsatz diastereomere Ester in ungleicher Menge sowie entsprechend nicht-racemischen Restalkohol. Von einer Enantiomerentrennung kann man erst dann sprechen, wenn der Alkohol isoliert, d. h., ein Trennschritt vorgenommen wird.

Sieht man von enzymkatalysierten Reaktionen (s. u.) zunächst ab, so sind kinetische Racematspaltungen verhältnismäßig selten zur Trennung von Enantiomeren herangezogen worden²⁾. Besonders bekannte Beispiele sind Eliminierungen mit Alkaloiden als Base [43b] und die Methode von Wegler [87], d. h. die partielle Acetylierung von Alkoholen Ar-CHOH-Alkyl unter Katalyse mit Brucin³⁾.

Neuerdings hat das Gebiet in mehreren Arbeitskreisen wieder Beachtung gefunden. Der Grund ist die "Wiederentdeckung" einer an sich schon lange bekannten Tatsache: bei einer nach erster oder pseudoerster Reaktionsordnung verlaufenden kinetischen Racematspaltung reichert sich das langsamer reagierende Enantiomere

-
- 1) Unterscheidendes Merkmal zur asymmetrischen Synthese: bei einer kinetischen Racematspaltung werden keine stereogenen Elemente gebildet. Es erscheint als nicht zweckmäßig, weitere Kategorien, wie "asymmetrische Destruktion", zu bilden, da damit wenig gewonnen, das Grundsätzliche jedoch verwischt wird.
 - 2) Offenbar gibt es auch keinen Übersichtsartikel; entsprechende Kapitel in umfassenden Übersichten, vgl. z. B. [43b] S.120, sind in der Regel sehr lückenhaft.
 - 3) Obwohl die Wegler-Methode recht gute Resultate ergibt (enantiomere Reinheit: > 50 %) ist sie heute obsolet, da dieselben Alkohole durch asymmetrische Reduktion mit "chiral modifizierten" Lithium-hydridoaluminaten einfacher und in höherer enantiomerer Reinheit erhalten werden können (eigene Arbeiten, s. z. B. auch [88]).

(oder Diastereomere) im Edukt stetig an¹⁾. Der Anreicherungsgrad, also die erreichbare enantiomere Reinheit, ist eine nichtlineare Funktion des Umsatzes und des Verhältnisses der Geschwindigkeitskonstanten. Im Prinzip lassen sich enantiomer beliebig reine Verbindungen erhalten. Analytische und numerische Lösungen für die wichtigsten kinetischen Modelle²⁾ wurden von Ugi und Mitarbeitern [91], ein praktisches Beispiel von Horeau [92] kürzlich angegeben. Euphorie, wie sie in [91] durchklingt, erscheint allerdings als ungerechtfertigt. Im Ugi'schen Arbeitskreis wurde eine Reaktion gefunden, bei der Diastereomere mit Selektivitäten $k_1:k_2$ von 1:50 [93a] und 1:230 [93b] reagieren³⁾. Solche Werte sind außerordentlich selten; im "Normalfall" findet man $k_1:k_2 \approx 1:1.5 - 1:5$ (s. [95]), Werte, bei denen eine kinetische Racematspaltung als Methode zur Enantiomerentrennung nicht gut geeignet ist. Auch die Nachreinigung von bereits hoch angereicherten Verbindungen (asymmetrische Synthese) ist in solchen Fällen sehr verlustreich, da man zu hohen Umsätzen gehen muß, um einen signifikanten Effekt zu erzielen⁴⁾.

Erheblich höhere Stereoselektivität als oben angegeben findet man in der Regel bei enzymkatalysierten kinetischen Racematspaltungen⁵⁾. Speziell einige hydrolytische Enzyme (Proteasen, Glycosidasen) zeichnen sich durch niedrigen Preis, hohe Stabilität und sehr einfache Reaktionsdurchführung aus. Die Hydrolyse wird in einer wässrigen⁶⁾ Pufferlösung unter automatischer

-
- 1) Die explizite Durchrechnung und graphische Veranschaulichung findet man bereits in dem bekannten Lehrbuch von Mislow [89].
 - 2) In Umkehrung der hier im Vordergrund stehenden Problematik, läßt sich die kinetische Racematspaltung auch zur Aufklärung von Reaktionsmechanismen einsetzen; ein interessantes Beispiel wurde von King publiziert [90].
 - 3) Ein weiterer Fall mit vermutlich ähnlich guter Selektivität wurde bei einer Naturstoffsynthese gefunden [94].
 - 4) Dieses gilt u.U. nicht für autokatalysierte Reaktionen, wie sie in evolutionstheoretischen Arbeiten diskutiert werden. Aus dieser Arbeitsrichtung sind neue Impulse für den Problembereich kinetische Resolution zu erwarten [96].
 - 5) Eine ausgezeichnete Übersicht gibt die schon empfohlene, vgl. S. 7, Arbeit von Jones und Beck [32].
 - 6) Zur Verbesserung der Löslichkeit des Substrats können im allgemeinen ohne schädliche Wirkung organische Lösungsmittel zugesetzt werden.

Adjustierung des pH-Wertes mittels eines sog. pH-Stat¹⁾ durchgeführt. Der Reaktionsumsatz ergibt sich aus dem Verbrauch an Lauge bzw. (seltener) Säure.

Besonders gründlich untersucht und für viele Enantiomerentrennungen im präparativen Maßstab eingesetzt wurden die Enzyme α -Chymotrypsin sowie Acylase I und II²⁾, welche die Hydrolyse von N-Acylderivaten und Estern von Aminosäuren und verwandten Verbindungen katalysieren. Die Möglichkeit der Anwendung kann man an Hand von Tabellen bereits erprobter Substrate recht gut beurteilen. Darüber hinaus ist der Mechanismus der enzymatischen Katalyse für diese Enzyme sehr gut erforscht³⁾, was eine Vorausabschätzung der Konfigurationspezifität aufgrund von Active-site-Modellen ermöglicht.

Wie bereits bei der Besprechung von enzymkatalysierten asymmetrischen Synthesen (S. 7) hervorgehoben wurde, sinkt die Stereoselektivität mit der "strukturellen Entfernung" vom natürlichen Substrat. Dieser wichtige Punkt wurde für kinetische Racematspaltungen bisher nicht genügend beachtet. Man findet nämlich bei der Durchsicht der Literatur, vgl. [32], daß es übliche Praxis ist, die Reaktionen kurz nach Erreichen von 50 % Umsatz zu stoppen. Bei den extrem stereoselektiven Reaktionen der natürlichen Substrate führt das zu enantiomer hochreinen Verbindungen. Bei den vergleichsweise geringen Stereoselektivitäten⁴⁾ vieler unnatürlicher Substrate jedoch nicht. Hier kommt man nur zu einer enantiomer reinen Verbindung, wenn die oben diskutierten Grundsätze der Reaktionskinetik beachtet werden, d. h., wenn man die Reaktion so weit fortschreiten läßt, bis das langsamer reagierende Edukt enantiomer rein ist. Zur Gewinnung der reinen, schneller reagierenden Verbindung sollte das Hydrolyseprodukt erneut acyliert bzw. verestert und partiell enzymkatalysiert umgesetzt werden.

Natürlich sind enzymkatalysierte kinetische Racematspaltungen nicht auf Hydrolysereaktionen beschränkt. Sie sind hier aber besonders gut durchführbar, weil die Trennung von langsamer reagierendem Enantiomerem (z. B. ein Carbonsäureester) und Reaktionsprodukt des schneller reagierenden Enantiomeren (Carbonsäure) leicht ist. Für viele andere Reaktionstypen ist das nicht der Fall.

-
- 1) Ein solches Gerät gehört zur Standardausrüstung des biochemischen Laboratoriums.
 - 2) Acylasen spielen für die großtechnische Herstellung enantiomer hochreiner Aminosäuren eine wichtige Rolle. Es sei darauf hingewiesen, daß die als Waschmittelzusätze verwendeten Subtilisine (Proteasen aus Bakterien) für kinetische Racematspaltungen offenbar gut geeignet [97], bisher aber praktisch nicht zur Anwendung gekommen sind.
 - 3) Als provokative Meinung sei angeführt: der Mechanismus mancher Enzymkatalyse ist besser bekannt als der der Modellreaktionen, die man zu seiner Erklärung studiert; vgl. dazu z. B. [98]. Mag diese Äußerung allgemein überspitzt sein, hinsichtlich der Stereoselektivität von Reaktionen ist sie sicher richtig.
 - 4) Relativ zu den nicht enzymkatalysierten Racematspaltungen sind die Selektivitäten meistens aber immer noch sehr gut.

Bei den Reaktionen mit Oxidoreduktasen z. B. besteht das Reaktionsgemisch im allgemeinen aus einem Keton und mehreren diastereomeren Alkoholen, deren Trennung oft nicht einfacher als eine übliche Enantiomerentrennung über diastereomere Ester ist. Auch dieser wichtige Punkt, die Notwendigkeit der Trennung von Edukt und Produkt, wird bei der Bewertung enzymatischer (und anderer) kinetischer Racematspaltung oft vergessen.

1.2 Stereochemische Charakterisierung chiraler Verbindungen: Methoden zur Bestimmung der enantiomeren Reinheit und absoluten Konfiguration

1.2.1 Enantiomere Reinheit

Die Wichtigkeit effizienter Methoden zur Bestimmung der enantiomeren Reinheit (ER, Definition s. S. 1) wurde in den vorangehenden Ausführungen mehrfach hervorgehoben. Die Kenntnis der ER ist notwendig u. a. zur Kontrolle des Fortgangs bzw. des Enderfolgs von Enantiomerentrennungen (s. S. 11), zur Beurteilung des Erfolgs von asymmetrischen Synthesen (s. S. 3), zur Kontrolle der Edukte für Synthesen - besonders wichtig bei Peptidsynthesen - und für reaktionsmechanistische Studien. Ein umfangreicher und besonders anspruchsvoller Bereich ist in den letzten Jahren die pharmazeutische Forschung und Produktkontrolle geworden.

Die letzte Übersicht über die Methodik stammt aus dem Jahre 1967 [99]. Den Autoren, Raban und Mislow, gelang eine hervorragende zusammenfassende Darstellung des damaligen Wissensstandes¹⁾ von der bis heute vieles relevant geblieben ist. Allerdings lagen, wie der Titel der Arbeit zeigt ("Modern Methods for the Determination of Optical Purity"), die wichtigen Entdeckungen der französischen Schule (s. S. 21 f.), insbesondere der experimentelle Nachweis der Nichtäquivalenz von enantiomerer und optischer Rein-

1) In der Dekade 1961-1970 war ein enormer Sprung (Höhepunkt 1965-67) in der Entwicklung zu verzeichnen, da die modernen spektroskopischen und gaschromatographischen Methoden zur Anwendung kamen. Man kann das z. B. daran erkennen, daß Eliel ([74], S. 83 f.) in seinem noch heute viel benutzten Lehrbuch lediglich drei relativ spezielle Methoden zur Bestimmung der ER anführen konnte, Raban und Mislow bereits mehr als 10 neue, z. T. breit anwendbare Methoden referierten.

heit (OR, Definition s. S. 22) noch nicht vor. Die neuen grundsätzlichen Erkenntnisse, einige technische Neuerungen sowie die Wichtigkeit des Problemkreises "enantiomere Reinheit" für die vorliegende Arbeit lassen eine kurze Zusammenfassung bzw. Übersicht hier als wünschenswert erscheinen. Einer Anregung von Raban und Mislow folgend, wird dabei die folgende Einteilung gewählt: Die Bestimmung der ER kann durch Trennung der Enantiomeren F, \bar{F} ¹⁾ oder am Gemisch, dabei mit oder ohne Überführung in isolierbare diastereomere Derivate FG, \bar{FG} vorgenommen werden. Methoden ohne Derivatisierung mit einem chiralen Reagens G werden als "direkte" Methoden bezeichnet (vgl. S. 14).

Die Methoden zur Bestimmung der ER durch Trennung von Enantiomeren, direkt oder über diastereomere Derivate, sind im Prinzip identisch mit solchen Methoden zur Enantiomerentrennung, die eine quantitative Detektion erlauben. Von den in Abschnitt 1.1.3 besprochenen kommen also nur die chromatographischen Verfahren in Betracht. Unter diesen muß man weiter selektionieren, denn, wie die Lösung jeder analytischen Aufgabe, soll die Bestimmung der ER gewisse Anforderungen hinsichtlich Zeitbedarf (wünschenswert: < 1 h), Genauigkeit (wünschenswert: besser als 1 %) und Empfindlichkeit (wünschenswert: µg-Bereich) erfüllen. Von den auf S. 14-18 vorgestellten direkten LC-Methoden kommt lediglich die sehr spezielle Methode zur Trennung von Helicenen [71] diesen Spezifikationen nahe. Bei allen anderen ist wegen der erwähnten schlechten chromatographischen Eigenschaften analytische Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) nicht möglich²⁾.

Auf beträchtliche Schwierigkeiten stößt auch die direkte GC-Enantiomerentrennung. Gerade umgekehrt zur LC, sind die chromatographischen Eigenschaften der Trennphasen fast immer gut, die

- 1) Hier und im folgenden werden chirale/achirale Molekeln, Verbindungen oder Gruppen durch zweidimensional chirale/achirale Blockbuchstaben repräsentiert, dabei Enantiomerie durch einen Querstrich gekennzeichnet (vgl. Anhang II, S.4 und [100]).
- 2) Diese Beurteilung steht nicht im Gegensatz zu der früheren Aussage, daß die enantiomere Reinheit bei chromatographischen Verfahren durch den Trennschritt bestimmt werde.

Trenneffekte dagegen sehr klein. Frühe Versuche mit gepackten Trennsäulen führten ausnahmslos zu frustrierenden Fehlschlägen. Erst durch Einsatz langer Kapillarsäulen gelang Gil-Av und Mitarbeitern (1966 [101]) die Trennung von N-Perfluoralkanoyl-aminosäureestern an von Aminosäuren bzw. Peptiden abgeleiteten niedermolekularen Trennphasen. Dieses sehr spezielle System wurde in den vergangenen Jahren in zäher Arbeit von Gruppen um Gil-Av (Weizmann-Institut) und Bayer (Univ. Tübingen) so weit vervollkommen, daß praktische Anwendungen möglich wurden [102,103]. Das zur Zeit beste Ergebnis ist eine bis 240°C stabile Phase, an der die obigen Derivate aller natürlicher Aminosäuren sowie verwandte bifunktionelle Verbindungen wie chirale Aminoalkohole, z. B. Ephedrin, oder derivatisierte α -Hydroxysäuren, z. B. O-Pentafluor-propionyl-milchsäurecyclohexylamid, trennbar sind [103].

Wie das letzte - typische - Beispiel zeigt, ist recht extensive Derivatisierung erforderlich, einerseits zur Verbesserung der Trenneffekte, andererseits zur Erhöhung der Flüchtigkeit. Nun ist auch die Derivatisierung mit achiralen Reagentien bei hochpolaren Verbindungen wie den obigen nicht unbedenklich, denn nach den auf S. 21 f. geschilderten Tatsachen kann die ER dadurch verändert werden, sofern der Reaktionsumsatz nicht vollständig ist; auf Umsatz wird bei GC-Untersuchungen wegen der extremen Empfindlichkeit der Detektoren im allgemeinen nicht geachtet. Obwohl die Verfälschung durch nicht-ideales Verhalten gering sein dürfte, sollte man darum wissen und zumindest bei Präzisions-Untersuchungen Vorsicht walten lassen.

Die direkte GC-Trennung underivatisierter monofunktioneller Verbindungen scheint sehr schwierig zu sein. Ein erfolgversprechender Ansatzpunkt, von einem Mitglied beider obiger Schulen erarbeitet, ist erst in allerjüngster Zeit sichtbar geworden: unter Einsatz extrem langer Kapillaren gelang die Enantiomerentrennung von 3-Methylcyclopenten [104a], trans-2,3-Epoxybutan [104b] sowie Epoxypropan [104b,c] an Rhodium- bzw. Nickelkomplexen von 3-Trifluoracetylcampher (Squalan-Lösungen).

In der Praxis sehr viel einfacher als die direkte, ist die chromatographische Trennung (GC, HPLC) von vorgebildeten Diastereomeren FG, $\bar{F}\bar{G}$ an üblichen achiralen Phasen. Da keine spezifisch chromatographischen Probleme auftauchen, kann die Trennung selbst bei geringer Diastereoselektivität im allgemeinen erzwungen werden. Gegenüber der direkten Trennung bestehen allerdings die folgenden prinzipiellen Nachteile: (a) Das Mengenverhältnis der

Diastereomeren, $m_{FG}:m_{\bar{F}G}$, entspricht nur dann dem Mengenverhältnis der Enantiomeren $m_F:m_{\bar{F}}$, wenn das chirale Derivatisierungsreagens G enantiomer rein ist. Bei der direkten Trennung ist dagegen, vgl. die Ausführungen auf S. 18, das chromatographisch ermittelte Mengenverhältnis $m_F:m_{\bar{F}}$ unabhängig von der ER der chiralen stationären Phase¹⁾. Man spricht in einem solchen Fall von einer absoluten Bestimmung der enantiomeren Reinheit²⁾.

(b) Bei der Umsetzung einer chiralen Verbindung (F, \bar{F}) mit einem chiralen Reagens (G) tritt praktisch immer kinetische Racematspaltung auf, d. h. die Diastereomeren bilden sich verschieden schnell. Dieses führt zur Verfälschung der ER, wenn der Umsatz nicht vollständig oder, auch bei quantitativer Ausbeute, wenn das Reagens G nicht enantiomer rein ist. Ein Fehler nach (a) kann deshalb nicht trivial rechnerisch aufgrund nur der Kenntnis der ER von G korrigiert werden. (c) Bei chromatographischen Methoden weniger wichtig, bei den später zu besprechenden Kernresonanzmethoden aber von großer Bedeutung ist die Tatsache, daß Gemische von Enantiomeren vor der Bestimmung der ER chemisch gereinigt werden können, wobei allerdings Kristallisation oder Sublimation nicht eingesetzt werden dürfen. Bei diastereomeren Derivaten darf keine Trennoperation der Analyse vorgeschaltet werden. (d) Chromatographische Detektoren sprechen auf Enantiomere F, \bar{F} gleich, auf Diastereomere $FG, \bar{F}G$ im allgemeinen verschieden an. Für letztere muß daher u. U. ein Eichfaktor bzw. eine Eichkurve erstellt werden³⁾.

-
- 1) Hohe ER der Trennphase ist natürlich wichtig, damit die ohnehin kleinen Trennfaktoren nicht auch noch wesentlich unter ihrem Maximalwert (bei enantiomer reiner Trennphase) liegen.
 - 2) Bei der Derivatisierungsmethode gibt es allerdings einen speziellen Fall, in dem die absolute Festlegung der ER möglich ist: Falls bei der Umsetzung von Substrat und Reagens nur eines der beiden Diastereomeren entsteht, müssen Reagens und Substrat enantiomer rein sein.
 - 3) Diese Vorsichtsmaßnahme ist für gaschromatographische Bestimmungen nicht erforderlich, sofern ein Ionisationsdetektor eingesetzt wird. In der Flüssigkeitschromatographie verwendet man im allgemeinen den stark substanzspezifischen UV-Detektor. Die Wahrscheinlichkeit für ungleiche Ansprache auf Diastereomere ist hier relativ hoch.

Wie kann man die obigen Fehlerquellen ausschalten? Folgende Maßnahmen erscheinen nach eigenen Erfahrungen als empfehlenswert: (1) Das chirale Derivatisierungsreagens sollte enantiomer rein sein¹⁾. (2) Zur Bestimmung der kinetischen Racematspaltung sollte racemisches Substrat F, \bar{F} mit racemischem Reagens G, \bar{G} umgesetzt werden. Das Verhältnis der Diastereomeren, $m_{FG, \bar{FG}} : m_{\bar{FG}, FG}$, ist in diesem Fall dem Verhältnis ihrer Bildungsgeschwindigkeiten, $v_{FG} : v_{\bar{FG}}$, exakt gleich²⁾. Falls das Verhältnis $v_{FG} : v_{\bar{FG}}$ stark von 1 abweicht, sollte man die Reaktion nur für qualitative Zwecke verwenden³⁾ oder (3) die beiden Reaktionen $(F, \bar{F}) + G \rightarrow FG + \bar{FG}$ und $(F, \bar{F}) + \bar{G} \rightarrow \bar{FG} + FG$ mit der Substanzprobe, deren ER bestimmt werden soll, durchführen; Übereinstimmung des Diastereomerenverhältnisses schließt kinetische Racematspaltung sicher aus. Bei Beachtung dieser drei Punkte, kurz gesagt: bei sorgfältiger Arbeit, ist die Bestimmung der ER über diastereomere Derivate eine vorzügliche Methode, bei Nichtbeachtung kann sie zu schlimmen Fehlern führen.

Bestimmungen der ER über die GC-Trennung diastereomerer Derivate wurden ab 1959/60 in vielen Laboratorien durchgeführt [105]. Die umfangreiche Literatur (bis 1973/74) ist in einem ausgezeichneten Übersichtsartikel von Gil-Av und Nurok [106] nahezu lückenlos referiert. Bei weitem die wichtigsten Derivate sind Ester und Amide (Bestimmung der ER von Carbonsäuren, Alkoholen und Aminen). Vergleichsweise selten wurden Acetale und Dithioacetale eingesetzt (Bestimmung der ER von Carbonylverbindun-

-
- 1) Kommerzielle Produkte, bei deren Herstellung eine konventionelle Enantiomerentrennung durch fraktionierte Kristallisation vorkommt (z.B. 1-Phenyläthylamin), besitzen in der Regel nur eine ER von 95-99 %; das gilt selbst für Verbindungen, die als "Reagens zur Bestimmung der ER" angeboten werden.
 - 2) Manchmal ist nur eines der Enantiomeren vorhanden (Naturstoff). In diesem Fall kann man die kinetische Racematspaltung approximativ durch Abstoppen nach geringem Umsatz (< 10 %) feststellen.
 - 3) Als Beispiel sei genannt: die Prüfung auf Spuren eines Enantiomeren in einem hochreinen Präparat. Hier ist kinetische Racematspaltung ein Vorteil, vorausgesetzt, man setzt das "richtige" Enantiomere des Reagens ein.

gen¹⁾); andere Verbindungsklassen wurden praktisch nicht untersucht.

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) wurde zuerst von diesem Autor (1971/72 [108]) zur Bestimmung der ER von Carbonsäuren und Aminen über diastereomere Amide herangezogen. Die Methode hat inzwischen viele Anwendungen gefunden; darüber wird in späteren Teilen dieser Arbeit ausführlich berichtet. Für andere Derivate, wie Ester, Urethane und Acetale, ist sie weniger gut geeignet.

Kinetische Racematspaltung ist ein Ärgernis bei den obigen Methoden, sie kann ihrerseits aber auch zur Grundlage von Verfahren zur Bestimmung der ER gemacht werden. Bereits klassisch, aber heute weitgehend bedeutungslos ist die Bestimmung der ER von α -Aminosäuren durch enzymkatalysierte Oxidation [99]. Auch auf vergleichsweise geringe kinetische Differenzierung, wie sie z. B. bei der Umsetzung von Alkoholen mit Acylchloriden auftritt, lassen sich solche Methoden aufbauen. Sie wurden fast ausschließlich von Horeau und seiner Schule entwickelt und angewendet [109]. Obwohl diese Verfahren praktisch keine Bedeutung erlangt haben²⁾, verdienen sie wegen ihrer geistreichen Herleitung Interesse.

Die Bestimmung der ER an Enantiomergemischen ist in vielfältiger Weise möglich. Wegen ihrer großen Anwendungsbreite und Einfachheit herausragend, sind kernresonanzspektroskopische (NMR) Methoden und - nach wie vor - die klassische Polarimetrie.

Zwischen den NMR-Methoden und den oben diskutierten chromatographischen Methoden besteht weitgehend Analogie. Schwerpunktmäßig anders als bei den letzteren sind aber die direkten einfacher und weiter einsetzbar als die Derivatisierungsmethoden. Grund dafür sind die ungewöhnlich günstigen Eigenschaften von chiralen paramagnetischen Verschiebungsreagentien. Sonst selten bei neuen Konzeptionen, waren schon die ersten Reagentien ([110], 1970/71), 3-Alkanoyl- bzw. 3-Perfluor-alkanoylcampherato-europium(III)-Komplexe, durchschlagend erfolgreich, wurden unverzüg-

-
- 1) Von Nachteil ist hier die Tatsache, daß die Umsetzung von Aldehyden und Ketonen, neuerdings auch Lactonen [107], zu Acetalen relativ schwierig und daher selten vollständig ist. Ferner erhält man nur einigermaßen gute Ausbeuten bei Einsatz von 1,2-Diolen bzw. 1,2-Dithiolen. Diese müssen C_2 -Symmetrie besitzen, da andernfalls zusätzliche Diastereomerie auftritt.
 - 2) Die neueste Variante [109e], eine Verknüpfung von kinetischer Racematspaltung und GC-Diastereomerentrennung, könnte Bedeutung für den Bereich ER >99% erlangen.

lich vom Chemikalienhandel angeboten und unverändert beibehalten¹⁾. Lanthaniden - im allgemeinen Eu(III) oder Pr(III) - als harte Säuren sind gute Komplexbildner für harte Basen. Deshalb findet man gute Signaldifferenzierung für extern enantiotope Protonen (0.1 bis >1 ppm) z. B. bei Aminen, Alkoholen, Sulfoxiden, Ketonen und Estern, während der Effekt bei Carbonsäuren, Ethern, Thiolen und Nitrilen oft zu gering ist, um nützlich zu sein²⁾. Auch intern enantiotope Protonen³⁾ werden differenziert [111b] was im Prinzip die Bestimmung der ER von Verbindungen erlaubt, deren Chiralität nur durch Isotopie bedingt ist (z. B. bei $CD_3SO(CH_3)$). Allerdings ist der Effekt z. B. gerade bei den für biosynthetische Zwecke wichtigen primären Alkoholen RCHDOH oft klein. Derivatisierungsmethoden (s. u.) sind hier u. U. besser geeignet⁴⁾.

Sieht man vom Problemkreis Isotopenmarkierung ab, muß die Methode zur Beurteilung ihrer Güte an den direkten chromatographischen Methoden gemessen werden. Sie ist ihnen hinsichtlich Genauigkeit und Empfindlichkeit prinzipiell unterlegen. Die Spektren sind im allgemeinen sehr "signalreich" und zusätzlich durch Eigensignale der Verschiebungsreagentien sowie Verunreinigungen (z. B. aus dem Lösungsmittel) so "angefüllt", daß überlappungsfreie Signale nur selten auftreten⁵⁾. Dieses macht die ohnehin relativ ungenaue NMR-Integration zusätzlich ungünstig⁶⁾. Die

-
- 1) Zwei ausführliche Publikationen mit Material auch über verwandte Komplexe, den Anwendungsbereich und technische Einzelheiten sind 1974 erschienen [111]. Seither sind offenbar keine signifikanten Versuche zur Weiterentwicklung unternommen worden; eine neuere Übersicht s. [112].
 - 2) Aus diesem Grunde wären - bisher offenbar nicht hergestellte - chirale Komplexe mit weichem Zentralatom, z. B. Uran [114], von großem Interesse.
 - 3) Zur Definition der Begriffe "intern" und "extern" enantiotop s. [113] sowie Anhang II.
 - 4) Kinetische Racematspaltung spielt bei isotopen Unterschieden keine Rolle.
 - 5) Bei sehr hoher Konzentration an Verschiebungsreagens ist auch mit Linienverbreiterung und zusätzlichen Verunreinigungen aus dem Reagenz zu rechnen.
 - 6) Hilfreich ist oft die Umsetzung zu einem Derivat (z. B. durch Acylierung oder Veresterung) mit einer Gruppe, welche eine intensive Singulett-Resonanz verursacht (z. B. OCH_3 , t-Bu).

Genauigkeit der ER-Bestimmung dürfte bestenfalls bei ca. 2 % (absolut), im allgemeinen erheblich darunter liegen. Aus denselben Gründen und wegen des schlechten NMR-Signal/Rausch-Verhältnisses ist auch die Nachweisgrenze des unterschüssigen Enantiomeren relativ hoch, ca. 2-4 %. Alle diese spezifisch analytischen Probleme gibt es bei direkten chromatographischen Methoden in der Regel nicht. Hier treten logischerweise nur zwei Signale auf¹⁾, deren Integration mit einer Genauigkeit von mindestens 0.5 % routinemäßig zu gewährleisten ist. Die Nachweisgrenze des unterschüssigen Enantiomeren liegt - vollständige Trennung vorausgesetzt - bei mindestens 0.1 % (LC) (GC:0.01 %), wenn man sich etwas Mühe gibt bei 0.01 % (LC) (GC:ppm-Bereich). Nach Erfahrungen mit beiden Methoden besteht für diesen Autor kein Zweifel daran, daß die NMR-Methoden in absehbarer Zeit weitgehend durch chromatographische Methoden ersetzt sein werden.

Wegen ihrer Käuflichkeit und bequemen Handhabung haben die paramagnetischen Verschiebungsreagentien die früher eingeführte [115] direkte NMR-Methode von Pirkle [116]²⁾ nahezu vollständig verdrängt. Nach Pirkle verwendet man als Reagentien Alkohole vom Typ $\text{CF}_3\text{CH}(\text{OH})\text{Ar}$ (wobei $\text{Ar} = 9\text{-Anthryl}$ besonders günstig ist [116e]), die über Wasserstoffbrücken Assoziante mit Lewis-Basen bilden. Infolge diamagnetischer Abschirmung durch die Arylgruppe tritt eine geringe Differenzierung ($\sim 0.01\text{-}0.1$ ppm) extern enantiotoper³⁾ Kerne auf⁴⁾. Der Substratbereich der Methode fällt ziemlich genau mit dem der paramagnetischen Verschiebungsreagentien zusammen, da das Proton der OH-Gruppe, wie deren Zentralatom, eine harte Säure ist. Sind auch die Pirkle'schen Reagentien für die Praxis der ER-Bestimmung nicht mehr sonderlich nützlich, so bieten sie doch interessante Aspekte in verwandten Bereichen: Der Richtungssinn der Signaldifferenzen (Sense of Non-equivalence [116b]) läßt sich mit der Konfiguration der Substrate korrelieren [116a]. Entsprechendes scheint im Falle der paramagnetischen Verschiebungsreagentien nicht möglich zu sein [112]. Auch können in geeigneter Weise modifizierte Pirkle-Reagentien zur direkten flüssigkeitschromatographischen Enantiomerentren-

-
- 1) Genau genommen sind natürlich auch Signale von Lösungsmitteln und Verunreinigungen vorhanden. Deren Einfluß auf die Substanzsignale läßt sich aber fast immer leicht ausschalten, da die Bandbreite eines Chromatogramms, verglichen mit der eines NMR-Spektrums, sehr hoch ist.
 - 2) Seit 1966 sind mehr als 20 Arbeiten zu diesem Thema von Pirkle publiziert worden; zitiert sind hier nur die wichtigsten.
 - 3) Dieser Ausdruck bezieht sich natürlich auf das isolierte Substrat; im Gemisch Substrat/Reagens sind alle konstitutionsäquivalenten Kerne equi- oder diastereotop.
 - 4) Nichtäquivalenz enantiotoper Kerne findet man sowohl im ^1H - als auch im ^{19}F -Spektralbereich.

nung ausgenutzt werden, vgl. S. 17 [72]¹⁾.

Auf die Tatsache, daß die NMR-Spektren diastereomerer Salze sich gelegentlich deutlich unterscheiden, wurde bei der Diskussion von Verfahren zur Trennung von Enantiomeren bereits hingewiesen (vgl. S. 11, Fußnote 2). Das Phänomen wurde zur direkten Bestimmung der ER ausgenutzt. Doch wird es so selten beobachtet und so wenig studiert²⁾, daß man von einer Methode noch nicht sprechen kann.

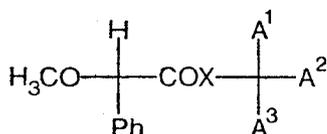
Unlängst wurden auch bei Elektronen-Donor-Acceptor-Assoziaten aus chiralen Komponenten ¹H-NMR-Signalaufspaltungen, von maximal 0.04 ppm bei -68°C, beobachtet. Für ER-Bestimmungen sind Effekte in dieser Größenordnung zu gering³⁾; sie verdienen aber im Zusammenhang mit den auf S. 17 (oben) erwähnten direkten chromatographischen Trennungen von Helicenen Interesse.

Neben den direkten NMR-Verfahren spielen Methoden, bei denen die Nichtäquivalenz der Signallagen konstitutionsäquivalenter Kerne von Diastereomeren (extern diastereotope Kerne) ausgenutzt wird, nur noch eine relativ kleine Rolle. Derartige Derivatisierungsmethoden wurden 1965 von Mislow und Raban eingeführt, weshalb die Frühphase ihrer Anwendung (bis 1966) in dem erwähnten Übersichtsartikel [99] in großer Breite behandelt ist. Wie die analogen chromatographischen Methoden, weisen sie die auf S. 29 aufgezählten Nachteile (a)-(c) gegenüber direkten Verfahren auf. Ferner bestehen die oben angegebenen analytischen Schwierigkeiten der NMR-Spektroskopie natürlich in gleicher Weise.

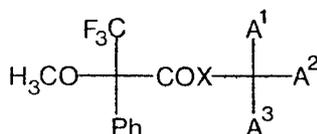
Substratbereich der NMR-Derivatisierungsmethoden sind im wesentlichen Alkohole und Amine, die mit chiralen Acylchloriden zu diastereomeren Estern und Amidien umgesetzt werden⁴⁾. Erstes allgemein anwendbares Reagens war O-Methylmandelsäure, deren Derivate (11) im allgemeinen eine ausreichende Differenzierung der

-
- 1) Direkte Enantiomerentrennungen mit - in geeigneter Weise modifizierten - paramagnetischen Verschiebungsreagentien als stationärer Phase sind durch GC, vgl. S. 28, aber offenbar noch nicht durch LC realisiert worden.
 - 2) Einige interessante Bemerkungen zur Ursache des Effekts findet man in [117].
 - 3) Diastereotopieeffekte sind im ¹⁹F- im allgemeinen einfacher zu erfassen als im ¹H-NMR-Bereich. Die Einfügung der, zudem stark elektronenanziehenden, CF₃-Gruppe dürfte daher günstig sein.
 - 4) Von Mislow und Raban wurden auch Arensulfinat- und -phosphinate erfolgreich bearbeitet [99,119].

Signale der OCH_3 -Gruppe aufweisen¹⁾. Die Anwendung ist allerdings mit dem Nachteil behaftet, daß das Acylchlorid bei unsachgemäßer Arbeitsweise u. U. unrein und partiell racemisiert [121] erhalten wird²⁾. Später wurde als günstigeres Reagens α -Methoxy- α -trifluormethylphenyllessigsäure (MTPA) von Mosher und Mitarbeitern entwickelt [122]. Es erfreut sich bis heute relativ großer Popularität³⁾, da beide Enantiomere kommerziell erhältlich sind⁴⁾, Racemisierung bei der Herstellung der Derivate (12) ausgeschlossen ist und zusätzlich die Option der ^{19}F -Kernresonanzspektroskopie⁵⁾ besteht.



(11)



(12)

X = O, NH, S

Der Überflügelung durch chirale paramagnetische Verschiebungsreagentien standgehalten haben die Derivatisierungsmethoden bei der Anwendung auf Verbindungen, deren Chiralität auf isotopen Unterschieden beruht, speziell auf primäre Alkohole und Amine RCHDX , X=OH oder NH_2 ⁶⁾. Ob ausreichende Signaldifferenzierung vorliegt, läßt sich²⁾ an den Derivaten (11) oder (12), $\text{A}^1=\text{A}^2=\text{H}$,

- 1) Die Signaldifferenzierung kann notfalls durch Zugabe von achiralen paramagnetischen Verschiebungsreagentien erheblich verstärkt werden (s. a. w. u.).
- 2) Eine Anweisung zur Herstellung, die peinlichst genau befolgt werden muß, findet man in [120].
- 3) Es ist sehr zu bedauern, daß deswegen die eigentlichen Pioniere - Mislow und Raban - heute kaum noch zitiert werden.
- 4) Leider nicht in enantiomer hochreiner (> 99.9 %) Form.
- 5) Auf diese Möglichkeit wurde bereits von Raban und Mislow in ihrer ersten Publikation zur vorliegenden Problematik hingewiesen [123b].
- 6) Dieser wichtige Fall wurde bereits von Mislow und Raban in ihrer zweiten Publikation zur vorliegenden Thematik [123a] sowie fast gleichzeitig von Gerlach [124c] behandelt. Eine neuere Übersicht findet man in [124a].

der entsprechenden undeutierten Verbindungen leicht feststellen. Im allgemeinen ist die Signalaufspaltung der intern diastereotopen Protonen gering¹⁾. Wie zuerst von Gerlach und Zagalak an Camphansäure-, später von Mosher und Mitarbeitern an MTPA-estern gezeigt wurde, wird der Effekt durch Zugabe von achiralen paramagnetischen Verschiebungsreagentien sehr beträchtlich verstärkt [124a].

Die bisherige Darstellung wurde auf neuere Verfahren zur Bestimmung der ER beschränkt, weil die älteren optimal in [99] behandelt sind und gegenüber den neueren mehr und mehr in den Hintergrund treten²⁾. Beides trifft nicht zu auf die klassische Methode der Polarimetrie, d. h. die Bestimmung der ER über die optische Drehung. Allerdings ist diese Methode nicht wie die obigen "ab initio", da sie die Kenntnis der optischen Drehung der enantiomer reinen Verbindung voraussetzt. Die polarimetrische ist im Prinzip eine schnelle und genaue Methode. Leider gibt es eine ziemlich große Zahl von Fehlerquellen, die häufig nicht bekannt sind oder unbeachtet bleiben. Die wichtigsten Punkte seien daher hier erörtert.

(a) In der Literatur wird oft zwischen den Begriffen "enantiomere Reinheit" ER und "optische Reinheit" OR nicht unterschieden. Als ER bezeichnet man, vgl. S. 1 (Fußn. 1), den prozentualen Überschuss der überwiegenden Komponente eines Gemisches von Enantiomeren. Dieses ist eine rein mathematische Definition. Im Gegensatz dazu wird die OR durch eine spezielle physikalische Messung definiert, vgl. S. 22 (Fußn.1): sie bezeichnet den Prozentsatz der optischen Drehung der Meßprobe relativ zur Drehung eines der reinen Enantiomeren. Die traditionelle Annahme der Gleichheit von OR und ER wurde, wie erwähnt, erst 1969 von Horeau [125] experimentell am Beispiel 2-Ethyl-2-methylbernsteinsäure widerlegt. Der Unterschied zwischen ER und OR

1) Diese Aussage gilt für Ester und Amide. Bei einem speziellen, deshalb allerdings umständlich herzustellenden Derivat des Benzylamins beträgt die Signaldifferenz der diastereotopen Protonen 1.67 ppm [124c].

2) Als anschauliches Beispiel für diese Aussage sei angeführt: In [99] (Tab. I) sind die bis 1967 bekannt gewordenen ER-Bestimmungen nach der sog. Isotopenverdünnungsmethode, ein sehr aufwendiges aber zuverlässiges Verfahren, zusammengestellt. Von den aufgeführten 11 Fällen würden sich heute mindestens 10 mit einem der obigen neuen Verfahren in wenigen Tagen erledigen lassen.

ist bei diesem Beispiel erstaunlich groß (Lösungsmittel Chloroform): bei ER = 50 % gilt z. B. OR = 35.5 %! Dieser Befund hat Konsequenzen, da der berechtigte Verdacht besteht, daß bei anderen polaren Verbindungen, wie Alkoholen, Aminen, Monocarbonsäuren etc., ebenfalls beträchtliche Abweichungen vorliegen. Die Anfertigung von Eichkurven für präzise Messungen erscheint als notwendig.

(b) Für die Anfertigung einer Eichkurve, erst recht bei Messungen unter der Annahme ER=OR, muß gesichert sein, daß der Bezugswert der optischen Drehung, der Wert $[\alpha]_{\lambda_{\max}}^t$ (s. S. 22) des reinen Enantiomeren, korrekt ist. Die früher übliche und auch heute noch häufig praktizierte Vorgehensweise, den höchsten bekannten Drehwert als $[\alpha]_{\lambda_{\max}}^t$ zu deklarieren, kann nicht mehr akzeptiert werden, auch dann nicht, wenn für beide Enantiomere der entgegengesetzt gleiche Wert gefunden wird. Besser, aber nicht optimal ist es, die enantiomere Reinheit einer optisch aktiven Probe mit Hilfe einer der oben vorgestellten Methoden zu bestimmen und die Drehung des reinen Enantiomeren nach $[\alpha]_{\lambda_{\max}}^t = [\alpha]_{\lambda}^t \cdot 100/ER$ zu berechnen. Selbst vorausgesetzt, daß die lineare Beziehung, d. h. ER=OR gilt, tritt hier wegen der trivialen Tatsache, daß ER im Nenner steht, das unangenehme Problem auf, daß sich der Fehler der ER-Bestimmung um so stärker auswirkt, je kleiner die ER der Meßprobe ist¹⁾. Ein numerisches Beispiel möge das illustrieren. Bei einer zu ER=20±2% bestimmten Probe mit $[\alpha]_{\lambda}^t = 20.0^\circ$ ergibt sich $[\alpha]_{\lambda_{\max}}^t = 100 \pm 10^\circ$, bei ER=90±2% und $[\alpha]_{\lambda}^t = 90.0^\circ$ dagegen $[\alpha]_{\lambda_{\max}}^t = 100 \pm 2.2^\circ$. Die Konsequenz: eine genaue Bestimmung der optischen Drehung der enantiomeren reinen Substanz ist nur mit einer hochangereicherten Probe (ER >99.9 %) möglich²⁾.

1) Vernachlässigt man den Fehler von $[\alpha]_{\lambda}^t$, so gilt:

$$\Delta[\alpha]_{\lambda_{\max}}^t = 100[\alpha]_{\lambda}^t \frac{\Delta(ER)}{(ER)^2}$$

2) Selbst dann sind aber noch Probleme vorhanden. Als wichtigstes erscheint das folgende. Entnimmt man einen vertrauenswürdig bestimmten $[\alpha]_{\lambda_{\max}}^t$ -Wert der Literatur, so kann dieser Wert manchmal nicht reproduziert werden, da der Drehwert bei - wie es meistens vorkommt - Lösungen sehr stark mit der Zusammensetzung des Lösungsmittels variieren kann. Wir haben z. B. bei Amin-Hydrochloriden in Äthanol eine sehr beträchtliche Abhängigkeit vom Wassergehalt festgestellt. In einem solchen Fall ist z. B. die in "absol." Äthanol gemessene Drehung aus der Literatur nahezu wertlos.

(c) Ein weiterer wichtiger Punkt ist die Sicherung der chemischen Reinheit der Probe, insbesondere das Ausschließen von optisch aktiven Verunreinigungen. Diese Forderung ist weniger selbstverständlich als es auf den ersten Blick aussehen mag, wenn man bedenkt, daß Eigenschaften der festen Phase, wie Umkristallisieren, nicht oder nur unter großer Vorsicht, z. B. Sublimation, ausgenutzt werden dürfen¹⁾. Die z. Z. wohl universellste Reinigungsoperation dürfte die präparative Hochleistungsflüssigkeitschromatographie sein. Sehr erwünscht ist nachfolgende Destillation, um Lösungsmittelreste entfernen zu können. Das Problem der chemischen Reinheit ist besonders gravierend für die Bestimmung der enantiomeren Ausbeute von asymmetrischen Synthesen, da hier die Verunreinigungen fast stets optisch aktiv sind. Es sind mehrfach sehr böse Fehler bekannt geworden²⁾, die Dunkelziffer ist wahrscheinlich sehr hoch. Modellverbindungen für asymmetrische Synthesen sollten, wenn immer es chemisch sinnvoll ist, zu flüssigen (s. u.), gut chromatographier- und destillierbaren Verbindungen führen.

(d) Der absolute Meßfehler der üblichen lichtelektrischen Polari-
meter beträgt, weitgehend unabhängig vom Meßwert, ca. 0.01° . Bezogen auf einen Meßbereich von 90° ist das ein sehr kleiner Fehler. Er wirkt sich dennoch im allgemeinen stark aus, da mit Lösungen gearbeitet werden muß, deren Drehwerte typisch im Bereich $\pm 2^\circ$ (589 nm) liegen. Es ist ein sehr häufig zu beobachtender Fehler, daß ohne speziellen Grund mit sehr verdünnten Lösungen gearbeitet wird. Nicht selten errechnen sich aus Literaturangaben Ablesewerte von $0.1-0.2^\circ$, was einen Fehler von ca. 3-10 % in der spezifischen Drehung befürchten läßt. Es gilt daher die wichtige Regel: wenn

-
- 1) So muß beispielsweise schon das Herauskratzen einer nach Eindampfen erhaltenen kristallinen Verbindung aus Gefäßen als "gefährliche" Operation eingestuft werden.
 - 2) Einer dieser Fälle sei hier angeführt, da der Fehler sich noch heute auswirkt. Durch Umsetzung von Benzaldehyd mit Trimethylsulfoniumjodid wurden unter dem Einfluß des Phasentransferkatalysators N-Ethyl-N-methyl-ephedriniumbromid Phenyoxiran erhalten [126a], dessen enantiomere Ausbeute gemäß optischer Drehung 97 % betrug; das sensationelle Ergebnis wurde durch einen "eleganten Reaktionsmechanismus" überzeugend begründet (vgl. dazu die Ausführungen auf S. 5). Es stellte sich wenig später heraus, daß die hohe optische Drehung durch ein aus dem Katalysator gebildetes Epoxid verursacht worden war [126b]. Ein Gaschromatogramm der Substanz hätte dieses sofort gezeigt.

genügend Substanz vorhanden ist, sollte die höchstmögliche Konzentration¹⁾ gewählt werden; Flüssigkeiten sollten möglichst unverdünnt vermessen werden²⁾.

Der hier aufgestellte Fehlerkatalog mag manchen erschrecken. In der Tat gilt das Polarimeter³⁾ bei nicht wenigen Adepten der asymmetrischen Synthese geradezu als "Teufelswerk". Nun sind Fehler wie die obigen im Prinzip schon behoben wenn man sie kennt. Nach Meinung dieses Autors liegt es in der Verantwortung des Leiters einer Arbeitsgruppe, Novizen, die im allgemeinen vollkommen unbefangen an die "Black-box Polarimeter" herangehen, sorgfältig zu instruieren. Sachgerechte Arbeit vorausgesetzt, dürfte die Polarimetrie noch immer die universellste, schnellste und für viele Fälle genaueste Methode zur Bestimmung der enantiomeren Reinheit sein.

-
- 1) Allerdings sollte die Lösung nicht gesättigt sein, da die Gefahr des Auskristallisierens während der Messung besteht.
 - 2) Es gibt mehrere andere Fehlerquellen, z. B. starke Lichtabsorption oder Trübung der Probe. Derartige Punkte sind in der Regel in der Gebrauchsanweisung zum Gerät diskutiert. Ferner sind die meisten Polarimeter, da sie in vielen Instituten nur gelegentlich benutzt werden, seit ihrer oft mehr als 10 oder 20 Jahre zurückliegenden Anschaffung nie überprüft worden.
 - 3) Manches gilt ebenso für die Messung der optischen Rotationsdispersion (ORD) und des Circular dichroismus (CD). Man sollte solche Messungen möglichst von einem erfahrenen Spezialisten durchführen lassen. Immer nur von einem solchen dürfen stark absorbierende Proben vermessen werden, da zumindest ältere Geräte auf "Lichtschwäche" in der Regel mit "reproduzierbaren Artefakten" reagieren.

1.2.2 Absolute Konfiguration¹⁾

Eine nicht racemische chirale Verbindung kann heute nur dann als voll charakterisiert gelten, wenn ihre enantiomere Reinheit und ihre absolute Konfiguration bekannt sind. Eine eingehende kritische Diskussion der Methoden zur Konfigurationsbestimmung, analog zur obigen der Methoden zur ER-Bestimmung, ist nicht möglich, da das Gebiet zu breit ist: im Prinzip kann jeder physikalische Effekt bei dem Enantiomere oder Diastereomere differenziert werden, sowie jede enantio- oder diastereoselektive Reaktion zur Konfigurationsbestimmung ausgenutzt werden. Die Vielfalt der Methoden ist derart groß und ihre physikalisch-chemische Grundlage derart verschieden, daß eine adäquate kritische Übersicht nur noch in größerem Rahmen von Autoren mehrerer Arbeitsrichtungen bzw. Disziplinen gegeben werden kann [129]³⁾. Es seien aber einige allgemeine Gesichtspunkte vorgebracht, um den Standpunkt der eigenen Beiträge zu diesem Gebiet grundsätzlich zu beleuchten.

Für die Bewertung einer Methode zur Bestimmung der absoluten Konfiguration sollte der Punkt Sicherheit vorrangig sein, daneben sind Zeitbedarf und Aufwand von sekundärer und nach der speziellen Anwendung zu bewertender Bedeutung.

-
- 1) Als absolute Konfiguration wird hier verstanden: die Verknüpfung des Chiralitätssinnes [100] eines Aggregats gleichartiger Molekeln mit dem Chiralitätssinn eines chiralen makroskopischen Objekts (rechte Hand). Diese Verknüpfung kann methodisch durch die anormale Beugung von Röntgenlicht (Bijvoet [127]) oder durch chiroptische Methoden (CD, ORD)²⁾, also grundsätzlich über den Chiralitätssinn von Photonen vorgenommen werden. Alle anderen Methoden erfassen primär nur die relative Konfiguration, d. h. die Relation des Chiralitätssinnes verschiedenartiger Molekeln oder stereogener Bereiche von Molekeln. Sekundär folgt hieraus natürlich die absolute Konfiguration aller Partner der Relation, wenn sie für einen bekannt ist.
 - 2) Von chiroptischen Eigenschaften einer einzelnen Molekel kann streng genommen nicht gesprochen werden; vgl. [128]. Deshalb wurde die obige Definition auf ein "Aggregat gleichartiger Molekeln" bezogen.
 - 3) Ein mehrbändiges Werk ist z. Z. im Entstehen begriffen, Teile sind bereits erschienen [129a].

Bis heute gibt es nur zwei prinzipiell sichere Methoden: die Röntgenstrukturanalyse und die "synthetische Verknüpfung mit einer Verbindung sicher bekannter absoluter Konfiguration" (chemische Korrelation)¹⁾. Die Röntgenstrukturanalyse niedermolekularer Verbindungen kann heute wohl als Routinemethode betrachtet werden. In den meisten Fällen ist nicht mehr die Diffraktionsuntersuchung und Auswertung sondern die Züchtung eines geeigneten Kristalls der limitierende Faktor. Unangenehm ist, daß man natürlich nicht vorhersagen kann, ob und wann sich der Kristall erhalten läßt. Über die chemische Korrelation kann natürlich allgemein nichts ausgesagt werden. Je nach der "synthetischen Nähe" der Bezugsverbindung kann sie einfach, schwierig oder auch praktisch unmöglich sein³⁾.

Alle anderen Verfahren zur Bestimmung der absoluten Konfiguration beruhen auf mehr oder weniger gut begründeten Modellvorstellungen oder stellen rein empirische Korrelationen dar. Leider muß man fast von einer Inflation solcher "Methoden" sprechen. Z. B. können nur wenige "Finder" einer erfolgreichen und konfigurativ einigermaßen regelmäßigen asymmetrischen Synthese der Versuchung widerstehen, ihre Befunde als Methode zur Bestimmung der absoluten Konfiguration zu deklarieren⁴⁾. Mit dieser Kritik soll

-
- 1) Auch bei diesen Methoden ist natürlich noch mit der Gefahr trivialer menschlicher Irrtümer zu rechnen. So kommen z. B. recht häufig fehlerhafte Spezifikationen nach der Cahn-Ingold-Prelog-Konvention vor²⁾. Aber auch die Angabe von Stereoformeln hat schon zu Fehlern geführt, z. B. durch "Spiegelung" bei der Drucklegung. Welch unangenehme und zeitraubende Folgen ein derartiger Fehler haben kann, möge man aus [130] ersehen (Synthese des Pumiliotoxin C).
 - 2) Diese Gefahr ist wegen sehr sorgfältiger Prüfung bei Beilsteins Handbuch der organischen Chemie minimal. Es empfiehlt sich, hier nachzuschlagen bzw. verwandte Verbindungen herauszusuchen.
 - 3) Eine Zusammenstellung von Beispielen für chemische Korrelationen findet man in [131]. Neuerdings werden auch Kataloge von Verbindungen mit bekannter absoluter Konfiguration erstellt [132]; das ist eine sehr wichtige Hilfe, denn es gibt sonst keine systematische Methode, geeignete Bezugsverbindungen aufzuspüren.
 - 4) Analoges gilt für das Gebiet der chromatographischen Enantiomerentrennung. Als extremes Beispiel sei [104d] angeführt. Dort wird aufgrund der Trennung von zwei(!) trivial verwandten chiralen Oxiranen eine allgemeine Regel für chirale Dreiringheterocyclen aufgestellt.

nicht gesagt sein, daß es falsch ist, solche Korrelationen aufzustellen. Im Gegenteil - sie sind in der Regel der erste Anhaltspunkt für das Verständnis eines enantio- oder diastereoselektiven Prozesses. Aber ihre Deklaration zur Regel oder nicht selten gar Methode täuscht einen Anspruch auf Allgemeingültigkeit vor, der meistens nicht gerechtfertigt ist. Nach Meinung dieses Autors sollten die folgenden Kriterien bzw. Punkte beachtet werden, bevor das Etikett "Methode zur Bestimmung der absoluten Konfiguration" beansprucht wird.

(a) Vollständig empirische Korrelationen, d. h. solche, für die kein vernünftiges physikochemisches Modell vorliegt, oder nur eines, das sich ausschließlich auf die Korrelation selbst stützt, sollten nicht zur Konfigurationsbestimmung herangezogen werden.

(b) Auch wenn ein durch von der Konfigurationsbestimmung unabhängige Erfahrungsbereiche begründetes Modell aufgestellt werden kann, sollte es durch ein je nach der Güte des Modells mehr oder weniger engmaschiges Netz von nicht trivial verwandten (Homologe, p-substituierte Arene etc.) Beispielen überprüft werden.

(c) Wenn eine vergleichbare, aber besser begründete Methode mit demselben Substratbereich bereits vorliegt, sollte eine neue Methode entsprechend Punkt (b) nur dann entwickelt werden, wenn sie mit der älteren Methode möglichst direkt kombiniert werden kann.

(d) Die Anwendung der Methode sollte auf Fälle beschränkt bleiben, für die sie einfacher und schneller als eine mögliche sichere chemische Korrelation¹⁾ ist.

Der Autor hat sich bemüht, die eigenen Arbeiten nach diesen 4 Gesichtspunkten auszurichten.

1) Die Anwendung einer Röntgenstrukturanalyse zu fordern - die Existanz eines Kristalls vorausgesetzt - wäre nicht ganz realistisch, da diese Technik dem organischen Chemiker in der Regel nur vermittels des Fachmannes zugänglich ist.

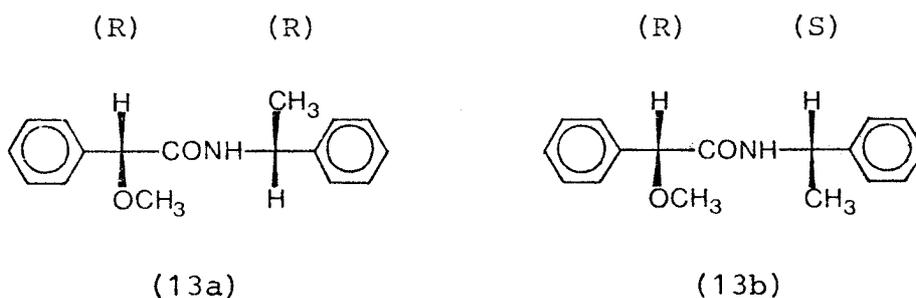
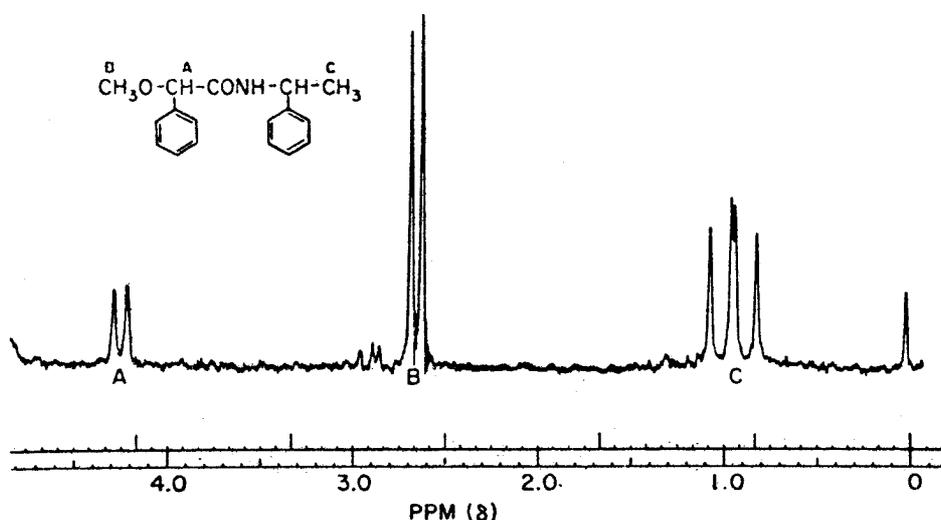
1.3 Ausgangspunkte und Ziele der vorliegenden Arbeit

Die vorangehenden Ausführungen dienen dem Zweck, den Leser mit den Ansichten des Autors über das gesamte Gebiet, in das die vorliegenden Forschungsbemühungen eingebettet sind, bekannt zu machen. Der eigene Beitrag zur Weiterentwicklung läßt sich, wie bei den meisten organisch-chemischen Arbeiten, a posteriori als "logisch" geschlossenes Ganzes aufbauen, er ließ sich aber - und das war und ist einer der Anreize zur Forschung - nicht logisch planen¹⁾. Am Anfang standen eine relativ spezifische Frage und eine Beobachtung, die manchem als trivial erscheinen mag. Diese zunächst vagen Ansätze führten zu einer Konzeption, die ein verhältnismäßig hoch gestecktes Ziel als erreichbar erscheinen ließ.

Die Frage. - In einem früheren Abschnitt, S. 34/35, ist kurz die von Mislow und Mitarbeitern entwickelte Methode zur Bestimmung der enantiomeren Reinheit von Alkoholen und Aminen durch ¹H-NMR-Analyse diastereomerer Ester bzw. Amide beschrieben. Als Parade-fall wurde von obigen Autoren mehrfach das hier in Abb. 1 wiedergegebene Spektrum eines 1:1-Gemisches der diastereomeren Amide (13a)/(13b) präsentiert²⁾. Angesichts eines solchen Spektrums muß fast notwendig die Frage auftauchen: Gibt es einen allgemein formulierbaren Zusammenhang zwischen dem Richtungssinn der Signaldifferenzen (Sense of Nonequivalence, vgl. S. 33) und der Konfiguration? Damit verwandt ist die Frage nach der Beziehung zwischen dem Betrag der Signaldifferenzen und der Struktur der Verbindungen.

-
- 1) Georg Wittig hat diesen Gesichtspunkt vor einiger Zeit sehr treffend ausgedrückt [133]: "The paths of research rarely lead in straightforward fashion from starting point to desired goal. Although intention predisposes the route, chance or occurrences along the way often enforce a change of course. Just such an interplay of intent and chance has dominated my chemical career, begun approximately 50 years ago". (Einleitung eines Vortrages anlässlich der Verleihung des Roger Adams Award).
 - 2) Abb. 1 ist dem Übersichtsartikel [99] entnommen. Dort findet man zusätzlich eine Tabelle (Table III) mit Absolutwerten der Signaldifferenzen von diastereomeren Estern und Amidien (je 4) der O-Methylmandelsäure.

Abb. 1 Ausschnitt aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum eines 1:1-Gemisches der diastereomeren Amide (13a)/(13b); übernommen aus [99].



Natürlich wurden diese Fragen auch im Mislow'schen Arbeitskreis aufgeworfen. Die Möglichkeit einer Beantwortung wurde relativ pessimistisch beurteilt ([99], S. 219):

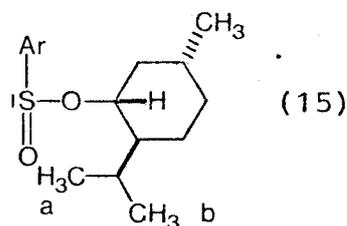
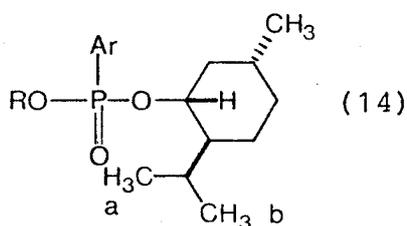
"Although the factors which determine the magnitude of the non-equivalence are many and complex and a detailed analysis is not possible, the data [.....] do reflect some of the factors which seem to be involved. Two factors which are clearly implicated are the "conformer population" distribution [.....] and the effect of highly anisotropic groupings. Although it is not possible to analyze in detail the conformational distributions of the compounds listed, it seems likely that, ceteris paribus, the greater the conformational restriction due to bulky groups, the greater the nonequivalence of the diastereotopic groups."

Als einziger spezifischer Hinweis findet sich eine Fußnote ([134], Fußnote 30), den Fall (13a)/(13b) betreffend:

"(30) Both the methoxymethine and the methoxy proton resonances of the diastereomer derived from (R)-O-methylmandel chloride and (+)-(R)-1-phenylethylamine are shifted upfield relative to the corresponding signals of the diastereomer derived from (R)-O-methylmandel chloride and (-)-(S)-1-phenylethylamine. The same behavior is exhibited by the analogous derivatives of 1-(1-naphthyl)ethylamine, as which the signals of the diastereomer derived

[.....] from (R) acid chloride and (R) amine [.....] are shifted up-field relative to those of the diastereomer derived from (S) acid chloride and (R) amine (and consequently to those of the diastereomer derived from (R) acid chloride and (S) amine)."

Die Unergiebigkeit dieser Bemerkungen - beide aus dem Jahre 1968 - befremdet etwas, denn im gleichen Jahr wurde von derselben Gruppe eine große Arbeit über die Analyse der Kernresonanzspektren diastereomerer Menthylphosphinate und -sulfinate vom Typ (14) bzw. (15) publiziert [119].



Für diese Verbindungen wurde eine Korrelation zwischen der Konfiguration des P- bzw. S-Chiralitätszentrums und der Signallage der Protonen a und b vorgenommen. Begründet wurde sie anhand der Kristallstruktur-Konformation eines Menthylsulfins [135a] sowie durch den diamagnetischen Abschirmeffekt der Arylgruppe. In Hinsicht auf die obigen Amide bzw. Ester erstaunlich ist die Tatsache, daß die Argumente nicht auf diesen Stoffbereich übertragen wurden, denn man wußte 1968 weit mehr über die Konformationen von Carbonsäureestern und -amiden (Peptide!) als über die der Phosphor- bzw. Schwefel-Analoga ¹⁾.

Mislow verließ das Gebiet der Kernresonanzuntersuchung diastereomerer Verbindungen um 1968/69. Das Erbe wurde von Mosher und Mitarbeitern angetreten. Diese Gruppe bemühte sich vor allem um praktische Verbesserungen der Methodik zur Bestimmung der ER (vgl. S. 35). Der obigen Frage wurde Aufmerksamkeit zuteil, die Möglichkeit einer Beantwortung aber fast noch pessimistischer als von Mislow angesehen ([121], S. 3736):

"It is difficult to recognize any trend in the chemical shift differences between the various ester derivatives of a particular carbinol, nor is there any obvious relation to direction of the shift in going from the R,R to R,S diastereomer."^{2 1}

1) Die erste Kristallstrukturanalyse eines Phosphinats wurde erst 1972 [135b] publiziert.

(21) This is not surprising in such conformationally mobile molecules as these, especially when the groups being compared are as different as alkyl, trifluoromethyl, methoxy, etc. An attempted conformational analysis based upon these spectra would be entirely speculative at this time."

Die nächste Arbeit zu dieser Problematik erschien erst 1973 (s. w. u.).

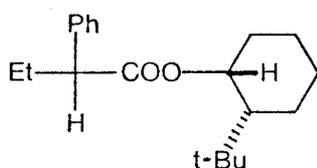
Dieser Autor begann um 1970, sich für das Problem zu interessieren. Durch die pessimistische Aussage in [99] herausgefordert, wurde mehr oder weniger als "Denksportaufgabe" für das Diastereomerenpaar (13a)/(13b) eine Konformationsanalyse nach den von Pauling [136] und Mizushima [137] für Peptide aufgestellten Regeln¹⁾ durchgeführt. Unter der Annahme eines Konformeren als dem dominierenden, konnten die relativen Signallagen der diastereotopen Gruppen durch Analyse des Abschirmeffektes der Arylgruppe vorhergesagt werden. Es handelte sich tatsächlich um eine Vorhersage, weil sowohl von Mislow als auch von Mosher in fast allen Fällen nur Signaldifferenzen ohne Vorzeichen angegeben wurden²⁾. Dieser Umstand erwies sich, wie weiter unten begründet wird, als glücklich, denn er machte die erneute Herstellung und Untersuchung von (13a) und (13b) zur Notwendigkeit. Die Vorhersage war für die Signale der drei Gruppen A, B, C (Abb. 1) und darüber hinaus für die der NH- und Aryl-Protonen richtig. Leider konnte die Thematik wegen anderer Aufgaben erst ab Anfang 1972 wieder aufgenommen werden. Es wurden dann analoge, konfigurativ eindeutig definierte diastereomere Amide hergestellt. Ihre spektroskopischen Eigenschaften entsprachen ebenso gut den Modellvorstellungen wie der erste Fall (13a)/(13b). Die Ergebnisse wurden 1972 publiziert [108a]. Sie stellen eine ebenso einfache wie sichere Methode zur Bestimmung der absoluten Konfiguration von Aminen

1) Um der historischen Gerechtigkeit willen sei hier angemerkt, daß die sehr wesentlichen Beiträge von Mizushima zur Konformationsanalyse von Peptiden im allgemeinen nicht genügend gewürdigt werden. Grund dafür dürfte die überragende Stellung von L. Pauling sein, insbesondere sein Postulat der Helixstruktur.

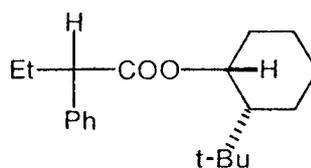
2) Die oben zitierte Fußnote 30 aus [134] war zu dieser Zeit von diesem Autor noch nicht "entdeckt" worden. In der Tat wäre sie wenig hilfreich gewesen, denn die ohnehin dürftige Information betrifft gerade die "aussageschwachen" Signale der Protonen A und B (vgl. Abb. 1) von (13a)/(13b).

$H_2N-CHA^1A^2$, z. B. α -Aminosäuren, dar. Besonders befriedigend in Hinsicht auf die in Abschnitt 1.2.2 hervorgehobenen Punkte war die Tatsache, daß es sich nicht lediglich um eine empirische Korrelation handelte und daß die Methode mit der Bestimmung der ER sowie einer unten zu besprechenden anderen Methode kombiniert werden konnte.

Eine Ausdehnung dieser Untersuchung auf diastereomere Ester, bei denen z. T. andere konformationelle Verhältnisse als bei Amiden bestehen, war naheliegend. Als Substrate wählte man Ester der 2-Phenylbuttersäure vom Typ $(Et)(Ph)HCCOOCHA^1A^2$, wie die folgenden Beispiele:



(16a)



(16b)

Diese Wahl wurde aus zwei Gründen getroffen: (a) Mislow und Raban hatten bereits für sehr ähnliche Verbindungen (Derivate der 2-Phenyl-propionsäure) signifikante Diastereotopieeffekte festgestellt [123b], so daß die Voraussetzungen wie für die obigen Amide gegeben schienen. (b) Diastereomere Ester der 2-Phenylbuttersäure entstehen bei der Anwendung der Methode von Horeau (kinetische Racematspaltung), der seit ca. 1965 wohl am häufigsten verwendeten Methode zur Bestimmung der absoluten Konfiguration von sekundären Alkoholen $HO-CHA^1A^2$ [138].

Wie in späteren Abschnitten dieser Arbeit beschrieben ist, ließ sich die gesuchte Korrelation auffinden [139]. Die hierdurch begründete Methode kann in Fällen mit nicht zu komplizierten Kernresonanzsignalen direkt mit der Horeau-Methode kombiniert werden. Sie besitzt, und das macht die Kombination besonders wertvoll, vollkommen andere Grundlagen als die Horeau-Methode; insbesondere setzt sie nicht, wie diese, Unterschiede in der sterischen

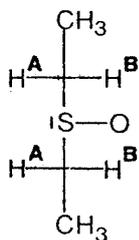
Raumerfüllung zwischen A^1 und A^2 voraus¹⁾.

Während dieser Untersuchungen war die Gruppe um Mosher nicht untätig geblieben. 1973, ein Jahr nach unserer ersten Publikation, erschien eine größere Arbeit, in der die $^1\text{H-NMR}$ -Signallagen von diastereomeren Estern der Mandel- und O-Methyl-mandelsäure mit ihrer Konfiguration korreliert wurden [140]. Man beschränkte sich allerdings auf eine rein empirische Korrelation.

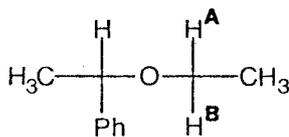
Diastereotopieeffekte wurden von Mislow und Raban für die stereochemische Methodik und damit für die experimentelle organische Chemie nutzbar gemacht. Sie waren schon mehrere Jahre vorher bekannt, wurden aber fast ausschließlich von physikochemisch orientierten Kernresonanz-Fachleuten und von Peptidchemikern studiert. Obwohl sich die Fragestellungen der drei Bereiche naturgemäß stark ähneln, fand und findet eine erstaunlich geringe Wechselwirkung statt²⁾.

Die routinemäßige Anwendung der hochauflösenden Kernresonanzspektroskopie auf organische Verbindungen, ab Mitte der fünfziger Jahre, machte die Entdeckung des Diastereotopieeffekts zum zwangsläufigen Ereignis [141]. Abgesehen von den beiden ersten ($\text{CF}_2\text{XCHX}(\text{C}_6\text{H}_5)$, $\text{X}=\text{Cl}, \text{Br}$), handelt es sich bei den frühen Fällen im allgemeinen um Nichtäquivalenz der chemischen Verschiebung der geminalen Protonen von Ethylgruppen (typische Beispiele: (17) und (18)). Nachdem man sich mit der Deutung des Phänomens anfänglich recht schwer getan hatte [141, 142], brachten Arbeiten von Pople, Waugh und Cotton sowie Gutowsky (1962) [143]³⁾ weitgehende Klärung. Diese frühen Arbeiten waren auf Äthanderivate beschränkt und wurden offenbar nur von wenigen Kernresonanzspezialisten beachtet. Eine klare allgemeine Formulierung der geometrischen Grundlagen und die Bereitstellung einer für alle Anwender der Kernresonanzspektroskopie verständlichen Terminologie ist Mislow und Raban zu verdanken [113]⁴⁾.

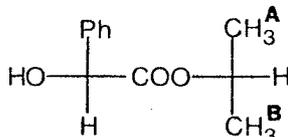
- 1) Die $^1\text{H-NMR}$ -Methode ist auch auf Amine und Thiole anwendbar; die Horeau-Methode versagt hier.
- 2) Diese Aussage betrifft vor allem die Peptidchemiker. So wurde in der Sammlung dieses Autors über "Diastereotopieeffekte bei Peptiden", ca. 20 Arbeiten, bei expliziter Durchsicht kein Zitat der Mislow'schen oder Mosher'schen Arbeiten gefunden.
- 3) Die Gutowsky'sche Arbeit enthält den Versuch, die Aspekte "Konformerengleichgewicht" und "Asymmetrie" durch eine einfache mathematische Behandlung zu trennen. Obwohl auf einen speziellen Fall beschränkt und grundsätzlich nicht exakt (vgl. [143d]), hat diese Arbeit für Kernresonanzfachleute nahezu dogmatischen Charakter angenommen und bildet den Ausgangspunkt praktisch aller Arbeiten über Diastereotopieeffekte.
- 4) Übersichtsartikel s. [144].



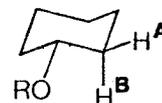
(17)



(18)



(19)



(20)

Der wesentliche Unterschied in der Interessenlage von organischen Experimentalchemikern und Kernresonanzspezialisten läßt sich mit Hilfe zweier von Mislow und Raban geprägter Begriffe, "interne" und "externe" Diastereotopie, gut charakterisieren. Bei den oben angeführten Beispielen (13) - (16) handelt es sich um externe Diastereotopie, d. h. Nichtäquivalenz der Signallage von konstitutionell äquivalenten, aber durch Symmetrieoperatoren nicht aufeinander abbildbaren Kernen verschiedener Stereoisomere. Das Interesse der Kernresonanzfachleute (s. [144]) beschränkt sich fast ausschließlich auf Fälle der internen Diastereotopie, d. h. Signalunterschiede von konstitutions- aber nicht symmetrieäquivalenten Kernen ein und derselben Verbindung. Typische Beispiele sind die Protonen H^A/H^B von (17) - (20).

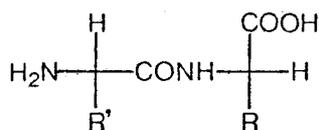
Soweit es um die physikalische Deutung, das "Verständnis" der Diastereotopieeffekte geht, besteht zwischen internem und externem Fall kein grundsätzlicher, aber ein sehr wesentlicher praktischer Unterschied. Voraussetzung für fruchtbare Arbeit ist die Zuordnung der Signale¹⁾. Sie ist für extern diastereotope Kerne im allgemeinen sehr einfach durch konfigurativ eindeutige Synthese sowie Aufnahme der Spektren möglich. Für intern diastereotope Kerne ist sie noch verhältnismäßig einfach (z. B. über die Kopplungskonstanten) bei vielen cyclischen Verbindungen, z. B. (20), sehr schwierig aber bei offenkettigen wie (17) - (19). Hier führt in der Regel nur die experimentell sehr aufwendige stereospezifische Isotopenmarkierung sicher zum Ziel²⁾. Wenige Fälle ausgenommen (Beispiele s. [123b,124]), fand keine Signalzuordnung statt. Man beschränkte sich auf das Studium von

1) Keine Rolle spielt die Signalzuordnung für Untersuchungen, bei denen diastereotope Kerne als Sonden zur Erkennung von Konformationsänderungen dienen, z. B. in der dynamischen Kernresonanzspektroskopie (DNMR) [145] und in der Peptidchemie (hier finden Studien zur Ausnutzung der Nichtäquivalenz der diastereotopen Protonen des Glycylrestes ---CONHCH^AH^BCONH--- neuerdings besondere Aufmerksamkeit [146]).

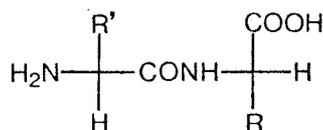
2) Grundsätzlich gesehen, handelt es sich dabei um die "Umwandlung" des internen in den externen Fall, vgl. S. 35 unten.

Temperatur- und Lösungsmittelabhängigkeit des Effekts. Gemessen an der (sehr großen) Zahl derartiger Arbeiten (vgl. [144]), ist der Erkenntnisgewinn gering¹⁾.

Die kernresonanzspektroskopische Untersuchung von diastereomeren Dipeptiden²⁾, also speziellen diastereomeren Amiden des Typs (21a)/(21b)³⁾, ist ein traditionelles Gebiet der Peptidchemie (erstes Beispiel 1959 [147a])



(21a) Konf. DL



(21b) Konf. LL

Es wurde schon früh erkannt, daß große Diastereotopieeffekte besonders bei von aromatischen Aminosäuren abgeleiteten Peptiden vorkommen [147] (z. B. (21a,b) = Leucyltyrosin). Das Phänomen wurde und wird hauptsächlich als methodisches Hilfsmittel zur Konformationsanalyse von Peptiden, insbesondere zum Vergleich der üblichen LL- mit LD-Sequenzen, die z. B. in cyclischen Peptidantibiotika häufig vorkommen (Gramicidin S, Valinomycin) studiert [148]. In der Regel interessiert hierbei die Abhängigkeit des (externen) Diastereotopieeffekts von Parametern wie pH-Wert, Ionenstärke und Temperatur, um Konformationsänderungen sichtbar zu machen. Kein Interesse besteht offenbar an der Ausnutzung des Richtungssinns der Signaldifferenzen zur Konfigurationsbestimmung. Das ist verständlich: die Konfiguration (früher relativ, heute absolut) der wichtigeren Aminosäuren ist seit Jahrzehnten bekannt. Weniger verständlich ist die Tatsache, daß eine Ausnutzung der unterschiedlichen Signallagen zur Bestimmung der Zusammensetzung von DL/LL-Peptidgemischen erst verhältnismäßig spät Beachtung fand⁴⁾ [149]. Der Grund dürfte wohl sein, daß im allgemeinen ein Nachweis geringer Anteile (< 2 %) des DL-Isomeren erwünscht ist, was nur mit modernen Geräten (PFT-Technik) einigermaßen gut möglich ist.

1) Damit ein Mißverständnis ausgeschlossen ist, sei hinzugefügt: dieses Urteil betrifft nicht die in Fußnote 1, S. 49 angeführten Gebiete.

2) Es wurden Verbindungen mit und ohne Schutzgruppen untersucht.

3) Die Formeln beschreiben die Strukturen nur in formaler Weise; bekanntlich existieren hier z. T. sehr komplizierte Gleichgewichte zwischen unterschiedlich protonierten Spezies.

4) Zur Bestimmung von Racemisierung bzw. Epimerisierung bei Peptidsynthesen s. w. u.

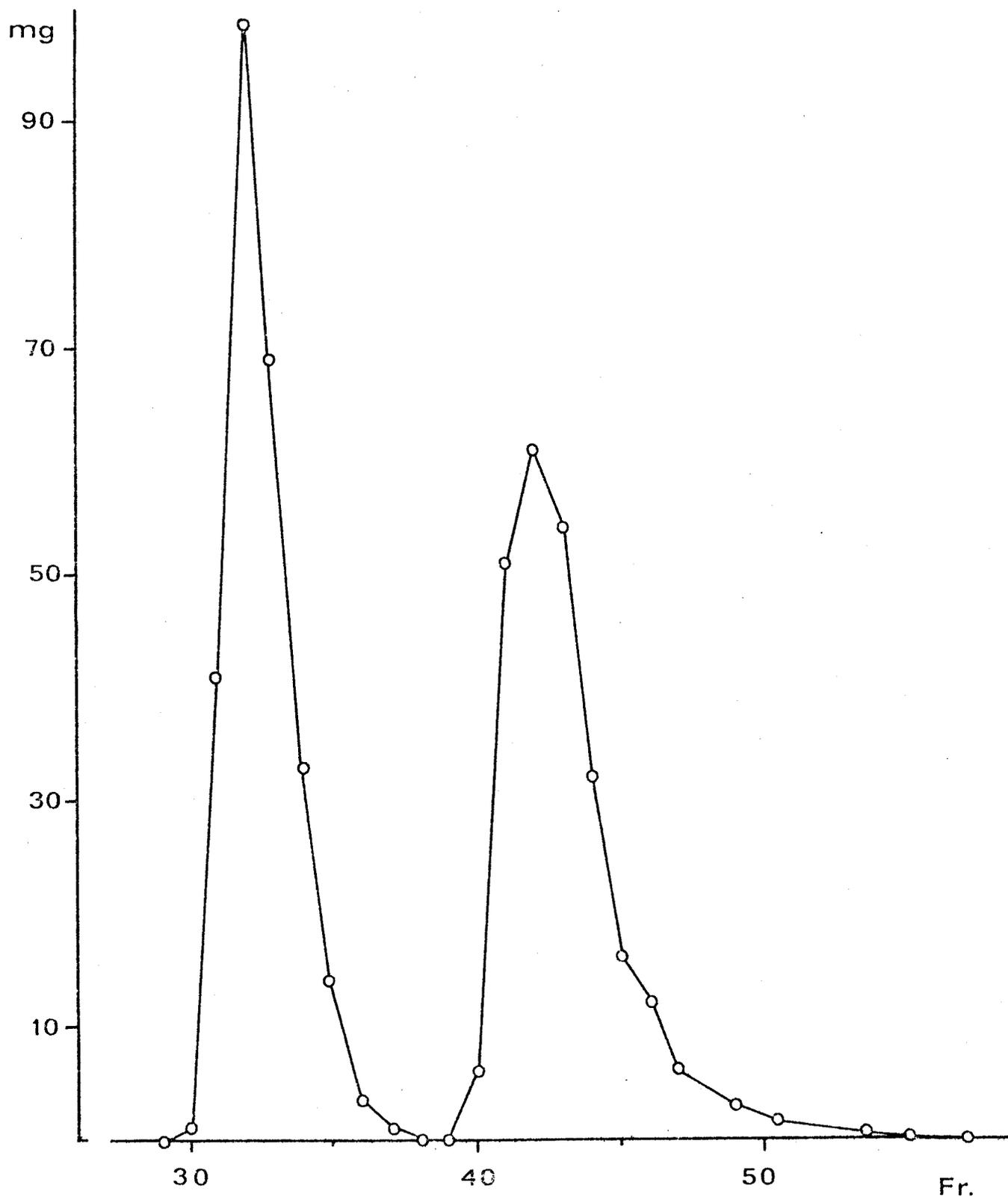
Die Beobachtung. - Es wurde oben ausgesagt, daß die Amide (13a)/ (13b) glücklicherweise erneut hergestellt werden mußten. Glücklicherweise deshalb, weil dabei entdeckt wurde, daß sie durch Dünnschichtchromatographie (DC) sehr leicht getrennt werden können. Auch die vollständige präparative Trennung auf Schichten oder den, damals (um 1970) noch üblichen, konventionellen Säulen gelang, allerdings nur mit einer geringen Substanzmenge und unter großem Zeitaufwand. Das als Abb. 2 wiedergegebene Chromatogramm, besonders die zugehörige Legende, dürfte dieses erkennen lassen. In Anbetracht der Tatsache, daß es sich hier um nicht-cyclische Diastereomere handelte, erschien die Trennung dennoch als ungewöhnlich gut.

Ähnlich gute Trennbarkeit wurde bei allen für die Kernresonanzuntersuchungen hergestellten diastereomeren Amiden der O-Methylmandelsäure und später auch vieler anderer Carbonsäuren beobachtet¹⁾. Mit zunehmender Zahl der Fälle kristallisierte sich deutlich ein Zusammenhang zwischen der relativen Konfiguration und der Elutionsabfolge der Diastereomeren heraus²⁾. Bemerkenswerterweise konnte die Korrelation an Hand derselben qualitativen Konformationsanalyse durchgeführt werden, die sich für die Deutung der Kernresonanzspektren eignet. Zusätzlich mußten allerdings Modellvorstellungen über die Wechselwirkung der Amide mit dem Adsorbens entwickelt werden.

Die verhältnismäßig gute chromatographische Trennbarkeit im Verein mit der obigen Korrelation eröffnete die Aussicht, über diastereomere Amide Enantiomerentrennungen von Carbonsäuren und Aminen gezielt (vgl. S. 17) durchführen zu können, d. h. mit Vorausabschätzung der Trenngüte und unter simultaner Bestimmung der absoluten Konfiguration und der enantiomeren Reinheit. Der hierzu nötige Kenntnisstand mußte auch erlauben, "maßgeschneiderte" Reagentien zur Erreichung besonders hoher Trennfaktoren vorschlagen zu können.

-
- 1) Analoge Ester, Carbamate und N,N'-disubstituierte Harnstoffe besitzen in der Regel wesentlich geringere Trennfaktoren; die präparative Trennung mit konventionellen Säulen ist oft nicht oder nur unter sehr großem Zeitaufwand bzw. mit sehr bescheidenem Substanzdurchsatz möglich.
 - 2) Bei Verbindungen unbekannter Konfiguration: ein Zusammenhang zwischen dem Richtungssinn der ¹H-NMR-Signaldifferenzen und der Elutionsabfolge.

Abb. 2 Präparative Trennung der diastereomeren N-(1-Phenyl-ethyl)-O-methylmandelamide (13a)/(13b) durch konventionelle Säulenchromatographie. Adsorbens: Kieselgel Merck 0.05-0.2 mm, 200 g; Eluens: Hexan-Ethylacetat 1:1, 15 ml/Std. (1 Fr.); Dosierung: 480 mg; Detektion: Auswaage der eingedampften Fraktionen.



Man erfuhr nur allzu bald, daß der Realisierung dieses Vorhabens große Hindernisse entgegenstanden: die Unvollkommenheit der konventionellen Säulenchromatographie und die sehr schwierige, in vielen Fällen unter hydrolytischen Bedingungen sogar unmögliche Rückzerlegung der Amide in Carbonsäure und Amin¹⁾. Beide Probleme machten die Arbeit auf diesem Gebiet zunächst zu einer sehr mühseligen, gelegentlich sogar frustrierenden Angelegenheit. Sie stellten andererseits aber auch eine Herausforderung dar, deren Annahme sinnvoll erschien; einerseits, weil sich einer der interessanten Teilaspekte, die Korrelation mit der Konfiguration bzw. mit Diastereotopieeffekten, an den Amidien selbst mittels DC studieren ließ, andererseits, weil sich ab ca. 1970 sehr bedeutende Fortschritte auf dem Gebiet der Flüssigkeitschromatographie abzuzeichnen begannen (vgl. S. 13). Hinsichtlich der Amidspaltung verließ man sich offen gestanden auf den Fortschritt der Wissenschaft bzw. darauf, daß "einem schon noch etwas einfallen werde".

Wegen ihrer schwierigen Hydrolyse haben Amide als Derivate zur Enantiomerentrennung vor dieser Arbeit wenig Beachtung gefunden. So sind die wenigen vorhandenen Fälle in älteren Übersichtsartikeln (vor 1970) nicht erwähnt. An echten Enantiomerentrennungen, durch fraktionierte Kristallisation diastereomerer Amide und deren Rückzerlegung, fanden sich drei, aus den Jahren 1905, 1937 und 1967 [150a-c]. Möglicherweise gibt es weitere Beispiele. Die obigen konnten durch systematisches Recherchieren nicht gefunden werden, sie wurden im Laufe der Jahre mehr oder weniger zufällig "entdeckt".

Die Literatur über flüssigkeitschromatographische (LC) Trennungen diastereomerer Amide war reichhaltiger. Das erste Beispiel ausgenommen (1938, [151a]), handelte es sich durchgehend um Peptide, vor allem Dipeptide²⁾, mit und ohne Schutzgruppen. Das Diastereomerieproblem macht sich bei der Peptidsynthese in der sehr unerwünschten Weise bemerkbar, daß durch Racemisierung neben den LL- in mehr oder minder großem Ausmaß DL-Isomere entstehen [152]. Das Studium der LC-Trennung diastereomerer Peptide wurde und wird deshalb vorwiegend unter dem Aspekt des Nachweises kleiner Anteile von DL- neben LL-Isomeren betrieben. Methodisch wurde anfänglich vor allem die Papier- [153a] und Ionenaustausch- [153b]³⁾, ab 1964

- 1) Durch irreführende Darstellung in Lehrbüchern verursacht, ist dieses Problem vielen Chemikern nicht bekannt.
- 2) Auch für die LC-Trennung diastereomerer Ester fand sich ein sehr frühes Beispiel (1942 [151b]). Über Trennungen (DC) diastereomerer Carbamate wurde offenbar erst 1969 [151c] erstmals publiziert.
- 3) Es findet sich auch ein Beispiel mit einem Polystyrolharz als stationärer Phase (Reversed-phase-Chromatographie) [153c].

überwiegend die Dünnschichtchromatographie [154] eingesetzt. Die außerordentlichen Möglichkeiten der HPLC werden erst seit 1977 von den Peptidchemikern genutzt [155]¹⁾.

1) Wie bei den verwandten Kernresonanzuntersuchungen, ist auch bei den chromatographischen Studien eine erstaunliche Engung des Gesichtskreises der Peptidchemiker festzustellen. Verwandte Untersuchungen werden schlicht nicht zur Kenntnis genommen bzw. nicht zitiert.

2. DIASTEREOTOPIEEFFEKTE UND CHROMATOGRAPHISCHE DIASTEREOSELEKTIVITÄT BEI EINFACHEN AMIDEN, $C_6H_5(CH_3)HC-CONH-CH(CH_3)A$ UND $R(CH_3)HC-CONH-CH(CH_3)C_6H_5$ ¹⁾ (A, R=ALKYL); TECHNISCH-METHODISCHE GESICHTSPUNKTE

Wie in der Einleitung ausgeführt wurde, stand am Anfang dieser Arbeit die Untersuchung von Verbindungen, welche nach Hinweisen von Mislow und Mitarbeitern oder durch ihren Zusammenhang mit der Methode von Horeau interessant erschienen, z. B. (13a,b) und (16a,b). Nachdem man über die Erfolgsaussichten der skizzierten Konzeption Klarheit gewonnen hatte, bemühte man sich vor allem bei den Amidem um ein geschlossenes Feld von Strukturen, weil über die flüssigkeitschromatographische Trennung von Diastereomeren nur sehr wenig bekannt war. Selbst einfachste Fragen, wie etwa der Einfluß der Kettenlänge oder des Verzweigungsgrades von Alkylsubstituenten, konnten nicht ohne spezielle experimentelle Untersuchung beantwortet werden. Für die Untersuchung der Diastereotopieeffekte, bei der die Klärung des Zusammenhangs mit der Konfiguration im Vordergrund stand, wäre eine strenge Struktursystematik nicht notwendig gewesen. Da man jedoch die Amide ohnehin diastereomer rein hergestellt hatte, bedeutete die Messung und Auswertung der Kernresonanzspektren eine vergleichsweise geringe Mühe. Bei den Diastereomeren der anderen interessierenden Stoffklassen, vor allem Ester und Thiolester, ist die Trennung im präparativen Maßstab erst in allerjüngster Zeit möglich geworden. Man befaßte sich in diesem Bereich fast ausschließlich mit eher exemplarischen Kernresonanzuntersuchungen. Wegen der offensichtlichen strukturellen Analogie bildete das systematische Material über Amide auch für diese Stoffklassen ein ausgezeichnetes "Koordinatensystem" zur Beurteilung bzw. Verallgemeinerung der Resultate. Die Strukturen der Amide werden deshalb den roten Faden bilden, an dem der Aufbau der Arbeit orientiert ist.

1) Hier und im folgenden werden die üblichen Konventionen der linearen Schreibweise von Formeln nicht eingehalten, da durch die spezielle Anordnung als wesentlich erachtete Strukturmerkmale hervorgehoben werden sollen.

Ein systematisches Vorgehen auf experimentell und theoretisch nicht geklärtem Gebiet sollte vernünftigerweise vom Einfachen zum Komplizierten fortschreiten. Als "einfachste" seien die strukturell einfachsten Amide betrachtet, bei denen sowohl chromatographische Trennbarkeit als auch ein mit Routinegeräten reproduzierbar meßbarer Diastereotopieeffekt beobachtet wird. Ein dieser Definition entsprechender Satz von Verbindungen ist im Schema 2 zusammengestellt. Zum Verständnis des Schemas bedarf es einiger Hinweise zu technischen und grundsätzlichen Gesichtspunkten.

- Im Gegensatz zur bisherigen Gepflogenheit sind die Verbindungen durch unterstrichene Zahlen numeriert. Jede so gekennzeichnete Verbindung ist rein hergestellt und durch Elementaranalyse sowie übliche spektroskopische und andere physikalische Daten charakterisiert worden. Stereoisomere besitzen dieselbe Nummer. Enantiomere werden durch das Vorzeichen der optischen Drehung und/oder den Deskriptor der Konfiguration (R,S), Diastereomere durch Suffixe a und b zu den Zahlen gekennzeichnet, wobei a stets der chromatographisch weniger polaren, d. h. auf einer Säule früher eluierten Verbindung (Eluentien: Hexan-Ethylacetat)¹⁾ zugeordnet ist. Durch diese einfache "Nomenklatur" wird im folgenden "automatisch" ein Zusammenhang zwischen chromatographischer Elutionsabfolge und Richtungssinn der ¹H-NMR-Signaldifferenzen sichtbar werden.

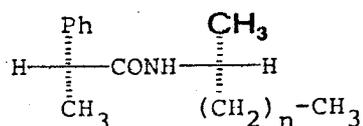
Die früher gebrauchte Numerierung durch eingeklammerte Zahlen wird beibehalten, aber nur für allgemeine Zwecke, z. B. zur Bezeichnung von Strukturfragmenten oder nicht isolierbaren Spezies, verwendet.

- Abgesehen von 1 (¹H-NMR-Referenz), enthält jede Verbindung des Schemas 2 eine Phenylgruppe. Sie, allgemeiner eine Gruppe mit hohem (induz.) magnetischem Moment, ist notwendig, um signifi-

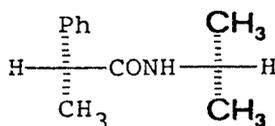
1) Diese Bezeichnung ist eindeutig, denn es wurde in keinem Fall eine Umkehrung der Elutionsabfolge bei Wechsel des Eluens beobachtet.

kante Diastereotopieeffekte zu gewährleisten¹⁾. Dieses war aus der älteren Literatur (vgl. S. 44) bereits bekannt. Auch die chromatographische Untersuchung profitiert von der Anwesenheit der Phenylgruppe, da sie UV-Absorption im für die Detektion günstigen Bereich um 255 nm bewirkt²⁾.

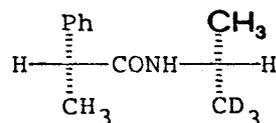
- Der Aufbau des in Schema 2 angegebenen Verbindungssatzes dürfte aus der Anordnung ersichtlich sein. Nicht ohne Erläuterung erkennbar ist vermutlich die Funktion der beiden Isopropylderivate 2 und 8, bei denen Diastereomere nicht möglich sind. Sie sind von großem Interesse für das Studium der Diastereotopieeffekte. Dieses sei für die Reihe 2-7 anhand des folgenden kleinen Schemas erklärt.



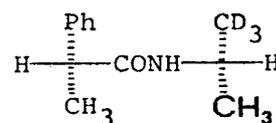
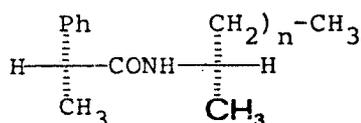
(22)



2



(23)



1) Diese Aussage bezieht sich auf Carbonsäurederivate, sie wird im folgenden noch präzisiert werden.

2) Diastereomere Amide ohne eine Arylgruppe, $R^1R^2\text{HC}-\text{CONH}-\text{CHA}^1\text{A}^2$ mit $R^1, R^2, A^1, A^2 = \text{Alkyl}$ und $R^1 \neq R^2, A^1 \neq A^2$, lassen sich im allgemeinen ebenfalls gut trennen. Zur Detektion ist ein Differentialrefraktometer erforderlich. Wir haben uns an einigen Beispielen davon überzeugt, daß aus dem Studium dieser Amide keine Einsichten zu erwarten sind, die nicht auch aus der Untersuchung der Verbindungen des Schemas 2 hervorgehen.

Das Schema bildet eine spezielle Anwendung der schon im ersten Kapitel angesprochenen Problematik "externe und interne Diastereotopie" (vgl. S. 49). Die fett gedruckten Methylgruppen sind in der Isopropylverbindung 2 intern, in den durch (22), $n=1\dots 13$, repräsentierten Paaren 3a,b-7a,b extern diastereotop. Wir betrachten nun 2 als Spezialfall $n=0$ von (22). Vorausgesetzt, daß die Signallagen der extern diastereotopen Methylgruppen der Paare (22) in durchsichtiger Weise mit n variieren, sollte die Signalzuordnung für die Methylgruppen von 2 durch Extrapolation möglich sein. Hierdurch könnte die sehr aufwendige, aber natürlich vollkommen sichere Methode der Signalzuordnung durch Vergleich konfigurativer eindeutig festgelegter deutrierter Verbindungen (23) umgangen bzw. eine sehr einfache Methode zur Konfigurationsbestimmung von Aminen $(\text{CH}_3)(\text{CD}_3)\text{CHNH}_2$ erhalten werden¹⁾. Für die vorliegende Arbeit war ein anderer Aspekt interessanter, die Umkehrung des obigen Gedankens: wenn die Extrapolation auf den Fall $n=0$ brauchbar ist, müßte das einfache Amid 2 ein Modell für die gesamte Reihe (22) sein, zumindest hinsichtlich der Situation der Methylgruppen. Wie man im folgenden mehrfach belegt sehen wird, wurde die Erwartung erfüllt.

Vor der Wiedergabe und Diskussion der Meßresultate soll die Herstellung der diastereomeren Amide sowie die mehr technische Seite der Methodik, vor allem die präparative und analytische Flüssigkeitschromatographie besprochen werden. Man wird dabei auch Ergebnisse anführen, die mit Verbindungen als Substraten erhalten wurden, welche nicht in Schema 2 vorkommen. Die oben begonnene systematische Entwicklung wird dadurch nicht berührt.

1) In der Praxis würde man im Falle (23) mit Diastereomeren arbeiten, die im Aminmolekülteil gleiche und im Acylteil inverse Konfiguration besitzen.

2.1 Zur Methodik: Racemisierungsfreie Herstellung, flüssigkeitschromatographische Trennung (analytisch/präparativ) und Kernresonanzspektren von diastereomeren Amiden

Um dem Leser einen möglichst praxisnahen Eindruck von der Technik des Umgangs mit diastereomeren Amiden zu geben und um Anschauungsmaterial für das folgende bereitzustellen, werden Chromatogramme und Kernresonanzspektren eines der Fälle von Schema 2, der Diastereomeren 3a und 3b, zur Illustration vorangestellt.

Durch Umsetzung von racemischem 2-Phenylpropanoylchlorid mit racemischem 2-Aminobutan erhielt man ein Gemisch von 3a und 3b. Die Trennung war mittels Dünnschichtchromatographie nicht möglich, mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) vollständig, vgl. Abb. 3. An Kieselgel-Fertigsäulen gelang auch die präparative Auftrennung, allerdings nur im bescheidenen Durchsatz von 250 mg/2 Std., vgl. Abb. 4. Zur Bewertung muß hinzugefügt werden, daß die verwendeten Säulen zur ersten Generation von uns selbst hergestellter moderner Chromatographiesäulen gehörten. Auch sind die Amide 3a,b die am schwierigsten zu trennenden aus Schema 2. Ihre Trennung ist insbesondere unvergleichbar schwieriger als die der früher vorgestellten Amide (13a)/(13b), die bereits im DC weit getrennte Flecken ergeben. Eine Trennung mit klassischen Säulen, wie in Abb. 2 (S. 52) dargestellt, wäre für 3a/3b nicht möglich.

Die Kernresonanzspektren von 3a und 3b sind in Abb. 5 ausschnittsweise wiedergegeben. Für alle Signale der Protonen der 2-Butylgruppe sind signifikante Unterschiede festzustellen. Obwohl die Spektren von 3a,3b in Vergleich zu denen anderer Amide des Schemas 2 verhältnismäßig signalarm sind, wäre eine genaue Bestimmung der Zusammensetzung eines Gemisches zur Bestimmung der enantiomeren Reinheit der Carbonsäure oder des Amins bereits hier schwierig. Mit lediglich 2 Signalen ist das HPLC wesentlich günstiger. Die Konfrontation der Abb. 3 und 5 veranschaulicht die auf S. 32/33 geführte Diskussion über die Eignung der beiden Methoden zur ER-Bestimmung.

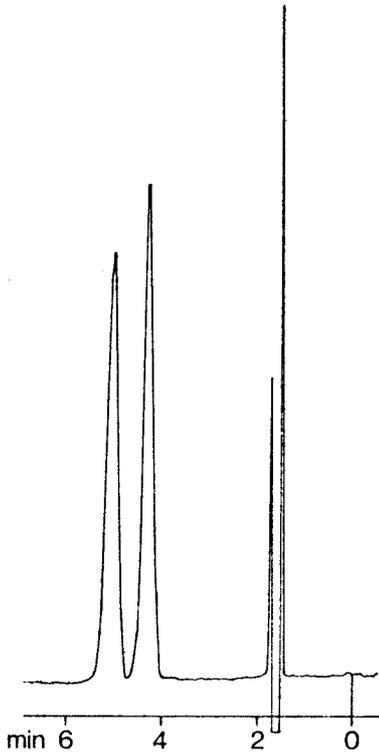


Abb. 3 Analytische flüssigkeitschromatographische Trennung (HPLC) der diastereomeren Amide 3a, 3b (Formeln umseitig).

Säule: 20 × 0.3 cm, Edelstahl;
Adsorbens: Kieselgel Merck LiChrosorb SI 60, 5 µm;
Eluens: Hexan-Ethylacetat 8:2;
Durchfluß: 1.2 ml/min;
Druck: 100 bar;
Detektor: UV, 254 nm;
Substanzbeladung: 100 µg.

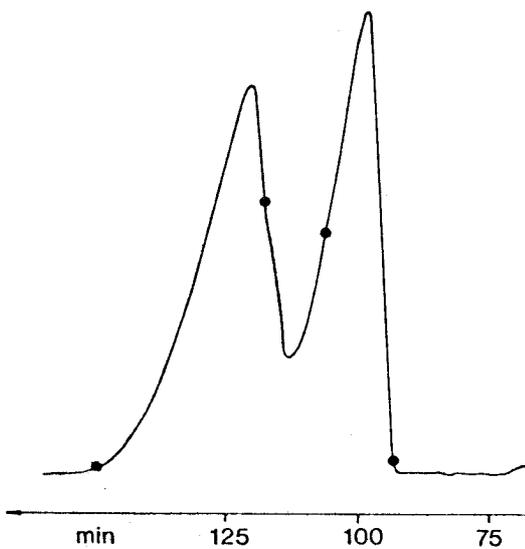


Abb. 4 Präparative flüssigkeitschromatographische Trennung der diastereomeren Amide 3a, 3b.

Säule: 50 × 2.4 cm, Glas (2 Fertigsäulen Typ B');
Adsorbens: Merck Kieselgel 60, Korngröße 63-71 µm;
Eluens: Petrolether (tiefs.)-Ethylacetat 8:2;
Durchfluß: 8.2 ml/min;
Detektor: UV, 254 nm;
Substanzbeladung: 250 mg.

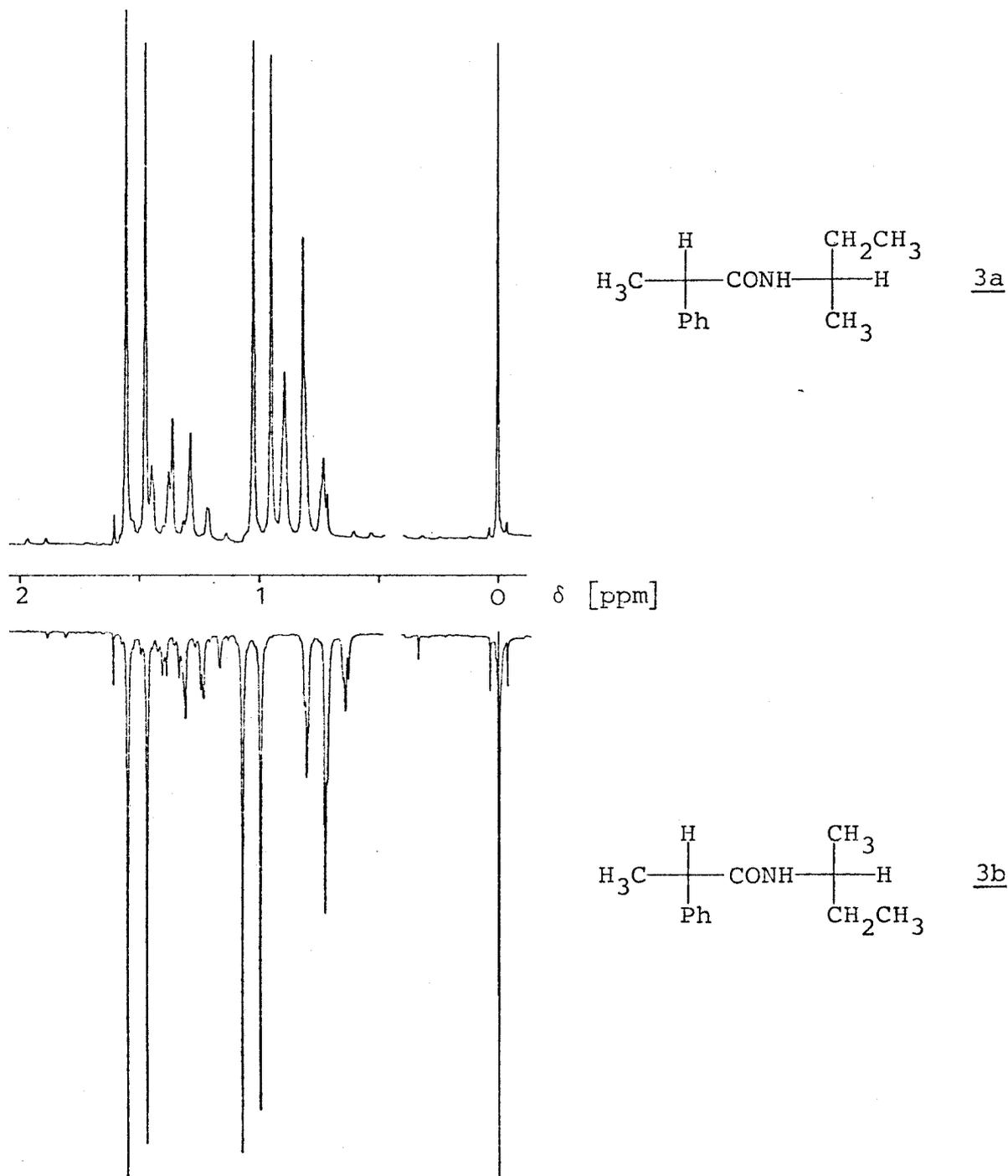


Abb. 5 ^1H NMR-Spektren der diastereomeren Amide **3a** und **3b** im Bereich 0-2 ppm (90 MHz, CDCl_3 , 0.04 M).

2.1.1 Racemisierungsfreie Herstellung von Amiden

Die chromatographische Trennbarkeit der Amide ermöglicht, wie schon in der Einleitung ausgeführt wurde und wie es durch das obige Beispiel 3a/3b illustriert ist, sowohl die Bestimmung der enantiomeren Reinheit (ER) als auch die Enantiomerentrennung von Carbonsäuren und Aminen - letzteres unter der Voraussetzung, daß die Rückzerlegung der Amide in Carbonsäure und Amin gelingt. Eine essentielle Vorbedingung für beide Zwecke ist der Einsatz enantiomer hochreiner Reagentien und ihre racemisierungsfreie Umsetzung zu Amiden. Dieser Punkt wurde bereits im ersten Kapitel, S. 28 f., ausführlich diskutiert. Ein Blick auf das Schema 2 sowie flüchtiges Blättern in folgenden Teilen dieser Arbeit zeigt, daß fast alle vorkommenden Amide zum Typ $R^1R^2HC-CONH-A$ gehören, d. h. ein Wasserstoffatom in der α -Stellung zur Carbonylgruppe besitzen. In einem solchen Fall besteht immer die Gefahr der Racemisierung bzw. Epimerisierung¹⁾ bei der Aktivierung der Carbonsäure (Enol-, Enolat- oder Ketenbildung)²⁾.

Nun sind für die Herstellung von Amiden, die Knüpfung der Peptidbindung, zahlreiche Methoden entwickelt worden und alle wichtigen sind auf Racemisierungsanfälligkeit überprüft worden - leider fast ausschließlich bei N-geschützten α -Aminosäuren [152]³⁾. Bei diesen findet Racemisierung im allgemeinen auf der Stufe intermediär gebildeter 1,3-Oxazolin-5-one (Azlactone) statt⁴⁾. Geringe Racemisierungstendenz bedeutet deshalb in der Regel: Geringe Neigung zur Ausbildung von Azlactonen (Beispiel: Azidmethode). Wegen dieser sehr speziellen strukturellen Situation bei Aminosäurederivaten, eignen sich bewährte Methoden der Peptidchemie für die hier interessierenden Carbonsäuren oft nicht.

-
- 1) Da die Unterscheidung von Racemisierung und Epimerisierung (bei Vorhandensein weiterer Chiralitätselemente) hier weitgehend formal ist, wird im folgenden allgemein nur von Racemisierung gesprochen.
 - 2) Für den speziellen Fall "Bestimmung der ER von Aminen" läßt sich das Problem umgehen, indem man chirale α -trisubstituierte Carbonsäuren (z. B. MTPA, vgl. S.35) oder Arencarbonsäuren (z. B. aus der Biphenyl- oder Paracyclophanreihe), deren diastereomere Amide unter bestimmten Voraussetzungen ebenfalls gut trennbar sind, einsetzt. Für die Bestimmung der ER von Carbonsäuren ist dieser Ausweg natürlich nicht möglich.
 - 3) Eine Besprechung der wichtigsten Racemisierungsteste und Tabellen mit Resultaten findet man in [152], Bd.15/2, S.429 ff.
 - 4) Welcher Racemisierungsmechanismus im speziellen Fall dominiert, ist eine Funktion der N-Schutzgruppe, der Gruppe X des aktivierten Derivats RCOX und der Reaktionsbedingungen (Lösungsmittel, Temperatur). So racemisieren z. B. N-Phthalylaminosäureester und Carbonsäureazide offenbar nicht via Azlacton sondern direkt durch Enolatbildung [156].

Unter den in dieser Arbeit vorkommenden Carbonsäuren tritt das Racemisierungsproblem am stärksten bei α -substituierten Phenyl-essigsäuren hervor, wie der oben als "Standardcarbonsäure" vorgestellten 2-Phenyl-propionsäure (Hydratropasäure). Da diese Verbindungen für stereochemische Untersuchungen und als Arzneimittel (Antiphlogistika [157]) traditionell eine wichtige Rolle spielen, lagen einige Untersuchungen vor, allerdings sämtlich mit sehr ungenauen Angaben. Diese und unsere eigenen Erfahrungen werden im folgenden kurz beschrieben. Man wird dabei um einiges über den Stoffbereich des Schemas 2 hinausgehen, um die späteren Ausführungen von diesem - leidigen - Problem freizuhalten. Eine systematische Untersuchung wurde nicht durchgeführt; das ist angesichts der großen Zahl der in Betracht kommenden, untereinander sehr verschiedenen Methoden kaum möglich¹⁾. Zunächst an Beispielen aus der Literatur orientiert, ging man nach dem Trial-and-error-Prinzip vor, bis ein Verfahren gefunden wurde, das durchgehend befriedigende Resultate zeitigte.

Das Wort 'befriedigend' bedarf der Qualifizierung. Ein Verfahren soll als befriedigend gelten, wenn es racemisierungsfrei aktivierte Carbonsäurederivate ergibt, mit denen sich in hoher Ausbeute, wiederum racemisierungsfrei, Amine und möglichst auch die schwächer nucleophilen Alkohole²⁾ und Thiole acylieren lassen. Als Racemisierungsgrad R sei das Zweifache des Prozentsatzes an Molekeln verstanden, deren Konfiguration in den Reaktionsprodukten invertiert erscheint.

Es gibt vier verschiedene Möglichkeiten zur Messung des Racemisierungsgrades R:

(A) Umsetzung einer Carbonsäure RCOOH bekannter ER zum aktivierten Derivat RCOX und Bestimmung von dessen ER: $R = ER(RCOOH) - ER(RCOX)$. Dieses Verfahren ist wegen der in der Regel hohen Reaktivität und schwierigen Reinigung von RCOX nur selten durchführbar.

(B) Wie unter (A), zusätzlich Umsetzung mit einem achiralen

1) Beispielsweise sind in [152] nicht weniger als 47 grundsätzlich verschiedene Aktivierungssysteme aufgezählt. Für viele gibt es mehrere Varianten. Obwohl sich vermutlich alle Peptidchemiker seit Emil Fischer mit dem Problem der Racemisierung auseinandergesetzt haben - es ist das wichtigste Problem in diesem Gebiet - ist man von einer echten Lösung noch weit entfernt.

2) Auch die Acylierung von Alkoholen wurde im Rahmen der Peptidchemie studiert, zur Synthese von Peptoliden (Depsipeptide). Viele der sonst bewährten Methoden zur Knüpfung der Peptidbindung versagen. Eine ausgezeichnete Übersicht findet man in [152], Bd.15/2, S.369 ff.

Nukleophil A-YH und Bestimmung der ER des Produktes:
 $R=ER(RCOOH)-ER(RCOYA)$. Im einfachsten Fall ist $A-YH=H_2O$, es wird zur Ausgangsverbindung hydrolysiert. In der Regel wird man die ER-Bestimmung polarimetrisch vornehmen. Starke Racemisierung läßt sich so leicht erkennen. Das Verfahren ist wenig brauchbar im Gebiet $R < 2\%$, da eine direkte Bestimmung der ER mit besser als 1-prozentiger Genauigkeit nur selten möglich ist.

(C) Wie unter (A), zusätzlich Umsetzung mit einem enantiomer reinen chiralen Nukleophil F-YH zu Diastereomeren $\overline{RCOYF}/RCOYF$ ¹⁾ und Bestimmung ihrer Zusammensetzung (diastereomere Reinheit DR^2): $R = ER(RCOOH)-DR(\overline{RCOYF}/RCOYF)$. Dieses Verfahren ist sehr einfach, aber nur sehr genau, wenn man eine enantiomer hochreine ($ER > 99.9\%$) Carbonsäure einsetzt. Die DR-Bestimmung ist bei Amiden sehr gut durch HPLC (Beispiel 3a/3b), bei flüchtigen Amiden und Estern auch oft durch GC möglich. Als Nukleophil eignet sich besonders gut (-)(S)-1-Phenylethylamin, da es mit $ER > 99.95\%$ leicht zu erhalten ist³⁾ und seine diastereomeren N-Acylderivate im allgemeinen sowohl durch HPLC als auch durch GC gut getrennt werden können.

(D) Wie (C), aber Verwendung eines enantiomer nicht reinen Nukleophils. Dieses Verfahren erlaubt die Erkennung starker Racemisierung, ist aber für eine genaue Bestimmung ungeeignet, da kinetische Racematspaltung ins Spiel kommt (vgl. S. 29).

Die eigenen Untersuchungen zur Auffindung eines racemisierungsfreien Verfahrens zur Aktivierung von Carbonsäuren wurden hauptsächlich nach Verfahren (C) durchgeführt. Die Ergebnisse sind im folgenden unter fünf Punkten abgehandelt, die zugehörigen Formeln im Schema 3 (s. S. 66) zusammengefaßt. In Schema 3 werden chirale und achirale Nukleophile durch A-YH symbolisiert.

1. Nach Kleimann [159] versagt die Azidmethode im Falle (a) wegen zu geringer Reaktionsgeschwindigkeit, im Falle (b) wegen starker Racemisierung. Allerdings wurde das Carbonsäureazid (25b) über das Carbonsäurehydrazid hergestellt, wobei dieses durch Erhitzen des Methylesters mit Hydrazin erhalten wurde. Wahrscheinlich tritt bereits auf dieser Stufe Racemisierung ein. Diese Resultate, die umständliche Herstellung sowie die bekannte Instabilität der Carbonsäureazide schieden die Methode für die hier verfolgten Zwecke aus⁴⁾. Weitere, wegen starker

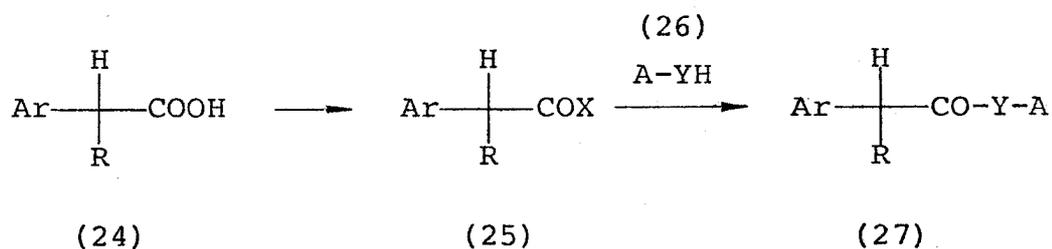
1) Zur Notierung s. S. 27, Fußnote 1.

2) Definition s. S. 1, Fußnote 1.

3) Handelsprodukte sind in der Regel nicht enantiomer hochrein ($ER \sim 96-99\%$). Material mit der o. a. ER ($[\alpha]_D^{22} = -40.36^\circ$, unverd.) erhält man aus ihnen durch einmaliges Umkristallisieren (aus Methanol oder Wasser) des D-Hydrogentartrats [158].

4) Ganz analoge Schwierigkeiten treten bei der Aktivierung der Lysergsäure auf [160]. Zwar ist die Azidmethode im Gebiet der Mutterkornalkaloide eine Schlüsselreaktion von großer technischer Bedeutung, man brauchte aber mehrere Jahre, um ihre Tücken zu überwinden. Die Methode wird vor allem deshalb angewendet, weil sich Lysergsäure- bzw. das epimere Isolysergsäurehydrazid durch Hydrazinolyse aus den natürlichen Alkaloiden gewinnen läßt.

Schema 3. Formelzusammenstellung zur Erläuterung der Thematik "Racemisierung bei der Aktivierung von Carbonsäuren".



	Ar	R	X	A-YH
(a)	Ph	CH ₃	N ₃	Ph(CH ₃)HC-NH ₂
(b)	Ph	NHCOOCH ₂ Ph	N ₃	Ph(CH ₃)HC-NH ₂
(c)	Ph	C ₂ H ₅	OSO ₂ CH ₃	Ph(CH ₃)HC-NH ₂
(d)	Ph	C ₂ H ₅	OTos	Ph(CH ₃)HC-NH ₂
(e)	Ph	Alkyl, andere	OCOOC ₂ H ₅	1-Arylethylamine, andere
(f)	Ph	c-C ₆ H ₁₁	OCOOC ₂ H ₅	Ph(CH ₃)HC-NH ₂
(g)	Ph	F	OCOOC ₂ H ₅	Ph(CH ₃)HC-NH ₂
(h)			OCOOC ₂ H ₅	Ph(CH ₃)HC-NH ₂
(i)	Ph	F		Ph(CH ₃)HC-NH ₂
(j)	Ph	OCH ₃		Ph(CH ₃)HC-NH ₂
(k)	Ph	OCH ₃	Cl	A ¹ A ² HC-OH, A ¹ A ² , mehrere Beispiele
(l)	Ph	OCH ₃	Cl	Ph(CH ₃)HC-NH ₂
(m)	Ph	CH ₃	Cl	H-OH
(n)	Ph	t-Bu od. CF ₃	Cl	H-NH ₂ oder Ph-NH ₂
(o)	Ph	CH ₃	Cl	(n-C ₆ H ₁₃)(CH ₃)HC-OH
(p)	Ph	c-C ₆ H ₁₁	Cl	(n-C ₆ H ₁₃)(CH ₃)HC-OH
(q)	Ph	c-C ₆ H ₁₁	Cl	Ph(CH ₃)HC-NH ₂

Racemisierung ungeeignete aktivierte Derivate sind nach [159] Carbonsäure-Sulfonsäure-Anhydride (vgl. (c), (d)). Die Aktivierung der 2-Phenylbuttersäure mittels 1,2-Phenylen-chlor-phosphit gelang nicht.

2. Nach den obigen Fehlschlägen wurde von Kleimann [159,95a] schließlich die Mischanhydridmethode entsprechend (e) für die Herstellung einer relativ großen Zahl diastereomerer Amide eingesetzt. Es wurde keine Racemisierung festgestellt¹⁾, die Ausbeuten waren gut (um 90 %). Bei Einsatz von überschüssigem Mischanhydrid traten Ethylcarboxylate als Nebenprodukte auf.

Unsere eigenen Erfahrungen mit der Mischanhydridmethode in der Ausführung nach [95a] waren weniger günstig. Im Falle (f) (ER der eingesetzten Carbonsäure >99.9 %, Bestimmung der DR mittels GC) wurde ein Racemisierungsgrad $R=0.4$ % ermittelt. Das Amid entstand in 42 % Ausbeute, daneben ~50 % O-Ethyl-N-(1-phenylethyl)-carbamate, d. h. das Mischanhydrid reagiert mit der falschen Acylgruppe, eine bekannte Schwäche der Mischanhydridmethode. Eine solche Nebenreaktion darf bei einer ER-Bestimmung nicht auftreten (kinetische Racematspaltung). In den Fällen (g) und (h) (Bestimmung der DR mittels HPLC) wurde $R=60$ % und $R >90$ % gefunden. Die Mischanhydridmethode muß aufgrund dieser Resultate als ungeeignet abqualifiziert werden.

3. Eine sehr saubere und milde, auch im allgemeinen bei tiefer Temperatur (-30°C) durchführbare Aktivierung ist mittels der Imidazolidmethode nach Staab möglich [161]. Leider ist Racemisierung nicht ausgeschlossen. Unter Standard-Testbedingungen (Reaktion der Carbonsäure mit N,N'-Carbonyldiimidazol in absol. Tetrahydrofuran, Zugabe des Amins nach 1 Std., Bestimmung der DR mittels HPLC) wurde in den Fällen (i) und (j) $R=30$ % und $R=21$ % gefunden. Bei der Umsetzung der N-Acylimidazole mit Alkoholen zu Estern dürfte R wegen der erforderlichen längeren Reaktionszeiten noch größer sein. Auch die Imidazolidmethode erweist sich also als nicht sehr brauchbar für unsere Zwecke.

4. Carbonsäurechloride besitzen in der Peptidchemie nur eine geringe Bedeutung; die Racemisierungsanfälligkeit der Umsetzungen über N-Acyl- α -amino-säurechloride wurde deshalb offenbar nicht näher untersucht²⁾. Größere Bedeutung kommt ihnen zur Synthese von Peptoliden zu (vgl. S. 64, Fußn. 2). Zur Aktivierung von α -substituierten Phenyllessigsäuren wurden sie vielfach verwendet, wobei die Herstellung in der Regel durch Umsetzen der Carbonsäure mit Thionylchlorid erfolgte. Dieses Verfahren wurde besonders eingehend in der Anwendung auf

1) Es wurde Verfahren C herangezogen, die diastereomere Reinheit jedoch nur aufgrund der optischen Drehung und des Schmelzpunktes beurteilt. Ein Racemisierungsgrad < 5 % dürfte sich so kaum erkennen lassen.

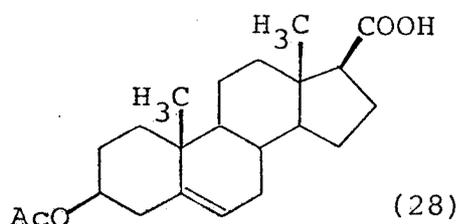
2) Z. B. sind sie in den in [152], Bd. 15/2, S. 429 ff, prä-sentierten Tabellen nicht aufgeführt.

O-Methylmandelsäure, dem von Mislow und Mitarbeitern eingeführten Reagens zur ER-Bestimmung von Alkoholen und Aminen (vgl. S. 34f.) untersucht. Bei Umsetzungen von O-Methylmandelylchlorid (Herstellung: Reaktion der Carbonsäure in siedendem unverdünntem Thionylchlorid während 5 Minuten [120]¹⁾ oder Erhitzen einer Lösung der Carbonsäure in Benzol-Thionylchlorid 10:1 während 1 Std. zum Sieden [121]) entsprechend (k) in Benzol/Pyridin wurde in der Regel ein Racemisierungsgrad $R < \text{ca.} 2 \%$ (¹H-NMR-Analyse, Methode (D) gefunden²⁾). Wegen des im Vergleich zu (j) so guten Resultats haben wir die Untersuchung entsprechend (l) verfeinert (Herstellung des Carbonsäurechlorids nach [120], HPLC-Analyse der diastereomeren Amide). Die sehr sorgfältige Untersuchung ergab absolut sicher $R < 0.1 \%$.

α -Alkyl-phenylelessigsäuren lassen sich unter den üblichen Bedingungen mit Thionylchlorid nicht racemisierungsfrei in Carbonsäurechloride überführen. Für Hydratropasäure (vgl. (m)) wird $R=3 \%$ angegeben [162]³⁾ (Methode (B), Kochen der Lösung in Petrolether(tiefs.)-Thionylchlorid 5:1 während 2.5 Std., Vakuumdestillation, Hydrolyse des Carbonsäurechlorids mit feuchtem Ether). In einem eigenen Experiment entsprechend (m) wurde $R=10 \%$ gefunden (Kochen der Lösung in reinem Thionylchlorid während 20 min, Abziehen des Reagens bei Raumtemp., Hydrolyse mit Dioxan-Wasser⁴⁾). Bei den Reaktionen entsprechend (n) (Kochen der Lösung in reinem Thionylchlorid während 45 min) fanden Mosher und Mitarbeiter [163] starke Racemisierung. Die entsprechenden Umsetzungen führen im Falle der Hydratropasäure nur zu geringer Racemisierung (vgl. z. B. [164]). Nach Mosher steigt die Racemisierungstendenz der α -Alkylphenylacetylchloride mit zunehmender sterischer Raumerfüllung der Alkylgruppe⁵⁾. Diese Ergebnisse, denen nur sehr grobe präparative Untersuchungen zugrundeliegen, werden durch eigene Experimente bestätigt. Bei den Umsetzungen entsprechend (o) bzw. (p) wurde $R=20 \%$ bzw. $R=60 \%$ gefunden (Kochen der Lösung in reinem Thionylchlorid während 1 Std., Umsetzung des nicht destillierten Säurechlorids mit (+)-2-Octanol in Tetrachlorkohlenstoff unter Zusatz von Magnesiumoxid bei Raumtemp., GC-Analyse der diastereomeren Ester). Ein Versuch entsprechend (p), bei dem das Carbonsäurechlorid destilliert worden war (10 Torr, 160-180°C, Kugelrohr) ergab $R=87 \%$.

-
- 1) Wie alle in α -Stellung zur Carbonylgruppe stark kationenstabilisierende Substituenten tragende Carbonsäurechloride ist O-Methylmandelylchlorid thermisch instabil. Längeres Erhitzen führt daher zu einem unreinen Produkt.
 - 2) Nach [121] gilt $R < 2 \%$ für die Fälle (vgl. (k)): $A^1 = \text{CH}_3$ sowie $A^2 = \text{c-C}_6\text{H}_{11}$, $n\text{-C}_6\text{H}_{13}$, CF_3 , $i\text{-Pr}$ und $A^1 = \text{Ph}$, $A^2 = t\text{-Bu}$. Für die Kombinationen $A^1 = \text{CH}_3$, $A^2 = t\text{-Bu}$ und $A^1 = \text{Ph}$, $A^2 = t\text{-Bu}$ wurde dagegen $R=100 \%$ gefunden. Es gibt bis heute keine Erklärung für diesen seltsamen Befund.
 - 3) Die in [162] aufgeführten Ergebnisse sind z. T. nicht zuverlässig, denn für Hydratropasäure ist eine um ca. 20 % zu hohe optische Drehung angegeben.
 - 4) Unter diesen Bedingungen ist die Hydrolyse racemisierungsfrei (s. w. u.).
 - 5) Das deutet auf Ketenbildung als Ursache der Racemisierung hin.

5. In der Naturstoffchemie wird anstelle von Thionylchlorid oft das etwas tiefer siedende und ebenfalls nur gasförmige Nebenprodukte gebende (teurere) Oxalylchlorid verwendet. Ein Beispiel, an dem beide Reagentien erprobt wurden, ist 3 β -Acetoxy-5-androsten-17 β -carbonsäure (28)¹⁾. Nach [166] führt die Um-



setzung mit Thionylchlorid (Raumtemp., 4 Std.) zum Carbonsäureanhydrid, mit Oxalylchlorid unter vergleichbaren Bedingungen (Raumtemp., 8 Std.) zum Carbonsäurechlorid. In eigenen Experimenten wurde beobachtet, daß die Umsetzung von (28) mit Oxalylchlorid (Raumtemp.) bereits nach 3-10 Minuten beendet ist²⁾.

Über eine Anwendung in der Phenyllessigsäure-Reihe berichten Horeau und Weidmann [167], [95b] S.76: Herstellung von 2-Phenylbutyrylchlorid durch Umsetzung von Natrium-2-phenylbutyrat mit Oxalylchlorid. Trotz einer stark "racemisierungsfördernden" Aufarbeitung³⁾ trat nur 12 % Racemisierung ein (Methode (B)).

Dieses Resultat veranlaßte zu eigenen Untersuchungen. Die Umsetzung von 2-Phenylpropionsäure (ER >99 %) mit reinem Oxalylchlorid während 1 Std. bei Raumtemp. sowie Rückhydrolyse des Produktes ergab die Carbonsäure mit unveränderter optischer Drehung, woraus $R < 1$ % folgt. Durch GC-Analyse der Umsetzung bei 0 °C wurde bereits nach Reaktionszeiten um 1 Minute vollständiger Umsatz festgestellt. Der Test entsprechend (q), mit dem stärker racemisierungsanfälligen Cyclohexyl-phenylacetylchlorid zeigte $R < 0.1$ % (Reaktion der Carbonsäure während 6 Minuten mit Oxalylchlorid bei Raumtemp.; GC-Analyse der diastereomeren Amide). In Übereinstimmung mit [166], ließ sich bei beiden Carbonsäuren das Anhydrid als Zwischenprodukt nicht nachweisen (GC-Analyse).

In der Folge wurde eine große Zahl enantiomer hochreiner Carbonsäuren mit Oxalylchlorid umgesetzt. Racemisierung konnte in keinem Fall festgestellt werden⁴⁾. Das Reagens eignet sich nicht für N-Acyl-aminosäuren, da die Amidgruppe angegriffen wird.

1) Diese Carbonsäure wird häufig zur Enantiomerentrennung von Alkoholen verwendet, vgl. z. B. [165].

2) Limitierender Zeitfaktor ist das Auflösen der Carbonsäure.

3) Das überschüssige Reagens wurde durch mehrfaches Abdestillieren von Benzol bei Atmosphärendruck entfernt.

4) Eine genaue Bestimmung (Methode (C)) war nicht möglich bei α -Fluorphenyllessigsäure und 1-Indancarbonsäure, da diese nur mit ER=94 % und 92 % zur Verfügung standen.

Es genügt nicht, in der Lage zu sein, Carbonsäurechloride racemisierungsfrei herzustellen. Sie müssen auch unter Bedingungen gehandhabt werden, die Racemisierung ausschließen¹⁾. So ist es seit der Jahrhundertwende bekannt (Beispiel: 2-Benzylpropionylchlorid [168]), daß Dialkylacetylchloride bereits bei Temperaturen um 100°C thermisch racemisieren. Man sollte optisch aktive Carbonsäurechloride deshalb grundsätzlich nicht destillieren. Ferner wird die Racemisierung (Raumtemp.) sowohl durch tertiäre Amine [162,169] als auch durch Mineralsäuren [162] katalysiert, wobei das Ausmaß stark mit dem Lösungsmittel und mit der Struktur variiert. Z. B. racemisieren α -Alkylphenylacetylchloride in Benzol/Pyridin innerhalb weniger Minuten vollständig²⁾, α -Methoxy- [163] und α -Fluor-phenylacetylchlorid [170] dagegen nicht.

Wie die unter Punkt 4 und 5 angeführten Resultate belegen, ist es auch mit leicht racemisierenden Carbonsäurechloriden möglich, primäre Amine racemisierungsfrei zu acylieren³⁾. Problematisch ist die Acylierung der vergleichsweise unreaktiven Alkohole und Thiole. Der entstehende Halogenwasserstoff muß ohne Verwendung tertiärer Amine entfernt werden. Geeignete Methoden werden im Zusammenhang mit der Kernresonanzanalyse diastereomerer Ester angegeben.

-
- 1) Eine eingehende Untersuchung der thermischen und basenkatalysierten Racemisierung mehrerer für die Praxis wichtiger α -C-substituierter Carbonsäurechloride findet man in [162].
 - 2) Ebenso auch in Dioxan/Triethylamin oder Dioxan/Hünig-Base (eigene Untersuchung); dasselbe gilt für die entsprechenden Carbonsäureanhydride [169]. Nach Literaturangaben [171a] sollen 2-(3-Phenoxy-phenyl)- und 2-(2-Benzoyl-phenyl)-propionsäure (Fenoprofen und Ketoprofen) nach "Erhitzen in reinem Thionylchlorid auf 80°C während 45 min, Lösen des nach Eindampfen resultierenden Produktes in Triethylamin, Zusatz von 1-Phenylethylamin" racemisierungsfrei diastereomere Amide ergeben. Andere mit den oben geschilderten Erfahrungen ähnlich schlecht vereinbare Ergebnisse findet man z. B. in [171b] (2-Phenylbuttersäure) und [171c] (Tabelle 2).
 - 3) Zweckmäßigerweise wird eine Lösung des Carbonsäurechlorids in die Lösung des Amins getropft. Bei inverser Zugabe tritt u. U. das N,N-Diacylamin als Nebenprodukt auf.

2.1.2 Analytische und präparative Flüssigkeitschromatographie

Die Grundbegriffe der Flüssigkeitschromatographie (LC) findet man im Anhang I (Abschnitte 1.1 und 1.2) systematisch und ausführlich behandelt. Die speziellen Ausführungen sind dort auf das dem neuesten Stand (in diesem Laboratorium) entsprechende System zur präparativen LC beschränkt.

Hier soll ein kurzer vergleichender Überblick über alle Formen der LC gegeben werden, die in dieser Arbeit zum Einsatz kamen. Ein für diesen Zweck und für die späteren Ausführungen über die Trennung diastereomerer Amide weitgehend ausreichendes Instrumentarium an Begriffen ist in kompakter Form in Abb. 6 zusammengestellt. Anhaltspunkte für den Vergleich und die Bewertung der verschiedenen LC-Systeme bietet die Tabelle 1.

Tab. 1. Charakteristische Daten verschiedener LC-Systeme (Kieselgel 60 [a]).

Typ	Korngröße [μ]	Säulen- dimension [cm]	Adsorbens- inhalt [g]	Arbeits- druck [atü]	N [b]
Dünnschicht	5- 25	(10x0.02)			(700)
HPLC (analytisch)	4- 7	20x0.3	1.6	50-250	8000
konventionelle SC	50-200	40x4	200	0	400
Merck-Lobar B	50	26x2.5	60	2- 6	800
Eigene Entw.					
B'	63- 71	25x2.4	60	2- 6	1000
C'	63- 71	40x4.0	270	2- 6	2200
D'	63- 71	65x6	1000	2- 6	3000
B	15- 25	29x2.4	60	5- 15	6600
C	15- 25	45x4	250	5- 15	10000

[a] Kieselgel mit Poren vom Durchmesser 60 Å.

[b] Testsubstanz: Naphthalin (~0.3 g pro 1 g Adsorbens);
Eluens: Petrolether(tiefs.)-Ethylacetat 95:5.

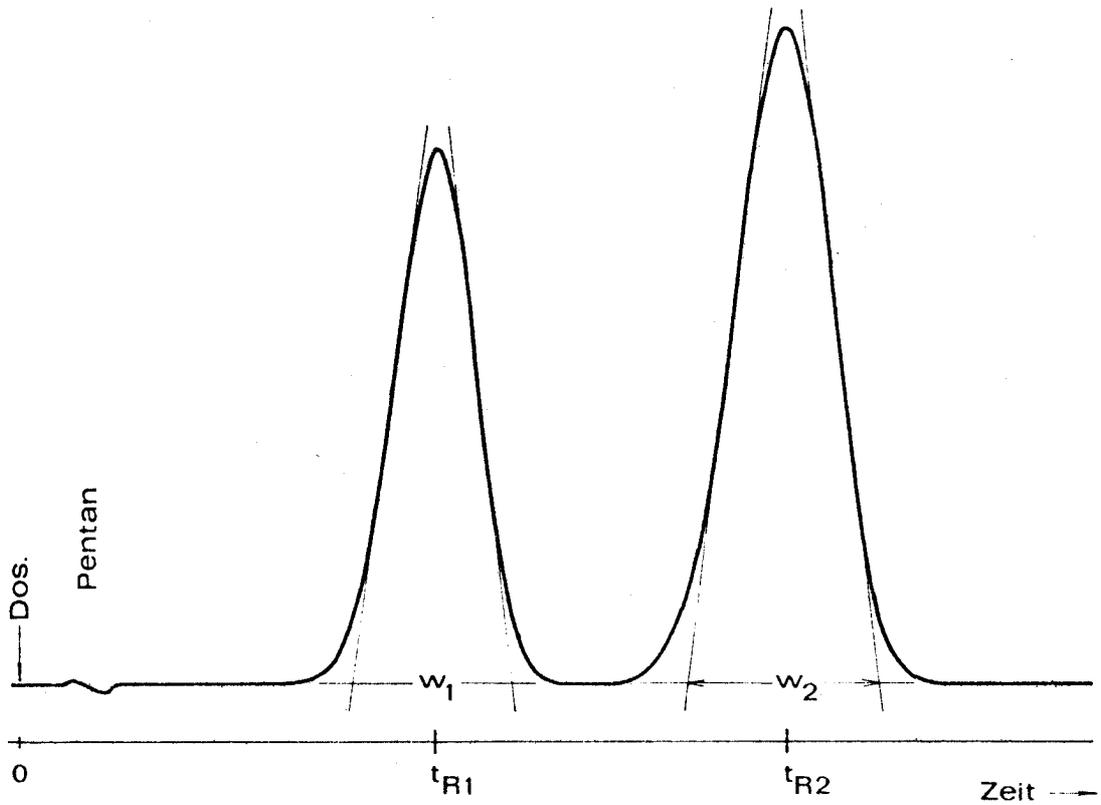


Abb. 6 Chromatogramm zur Veranschaulichung einiger wichtiger Grundbegriffe der Flüssigkeitschromatographie (UV-Detektor; Pentan wird infolge einer Änderung des Brechungsindex als "Welle" auf der Grundlinie registriert).

t_R	Retentionszeit	Zeit zwischen Dosierung und Auftreten des Peakmaximums im Detektor;
w	Peak-Basisbreite	Zeit zwischen den Schnittpunkten der Wendetangenten mit der Grundlinie
N	Zahl der theoretischen Böden	$N = (t_R/w)^2 \cdot 16$
R_S	Auflösung	$R_S = 2(t_{R2} - t_{R1}) / (w_1 + w_2)$
t_o	Totzeit	Retentionszeit einer nicht adsorbier- ten Substanz (meßtechnisch $t_o = t_R$ (Pentan))
k'	Kapazitätsfaktor	$k' = (t_R - t_o) / t_o$
α	Trennfaktor	$\alpha = k'_2 / k'_1 = (t_{R2} - t_o) / (t_{R1} - t_o)$

Dünnschichtchromatographie (DC). - Die Methode ist als analytisches Hilfsmittel in allen Stadien dieser Arbeit von großem Wert gewesen. Sie eignet sich besonders gut zum Aufsuchen optimaler Eluentien und zur Beurteilung des Schwierigkeitsgrades einer Trennung. Kennzeichnende, für alle Formen der modernen LC wichtige Parameter sind k' (Kapazitätsfaktor) und α (Trennfaktor). Sie können aus den R_F -Werten approximativ bestimmt werden¹⁾ (Index 1: oberer Fleck):

$$k' = \frac{1}{R_F} - 1 \qquad \alpha = \frac{\frac{1}{R_{F2}} - 1}{\frac{1}{R_{F1}} - 1} \approx \frac{R_{F1}}{R_{F2}}$$

Die Kenntnis von α erlaubt eine Vorausberechnung der für eine Grundlinientrennung ($R_S > 1$) notwendigen Zahl an theoretischen Böden des chromatographischen Systems²⁾. Die Beziehung $N(\alpha)$ ist in Abb. 6 von Anhang I (S.17) dargestellt. Wie man der Grafik entnimmt, lassen sich durch DC, Trennleistung ca. $N = 700$ th. Böden (Tabelle 1), Stoffpaare mit $\alpha > 1.2$ als getrennte Flecken erkennen.

Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC). - Die Methode kam ab 1974 zum Einsatz und diente drei Zwecken:

(a) Prüfung auf Trennbarkeit bei Fällen, für welche die DC nicht ausreicht ($\alpha < 1.2$). Für den in Tabelle 1 angegebenen Wert der Trennleistung, $N = 8000$ th. Böden, errechnet sich $\alpha = 1.07$ als Grenz-Trennfaktor, bei dem noch eine vollständige Trennung zu erzielen ist. In der Praxis ist der Grenzfall allerdings schon bei $\alpha \approx 1.1$ erreicht, da die der Berechnung zugrunde liegende Voraussetzung einer symmetrischen Peakform in der Regel nicht erfüllt ist³⁾.

-
- 1) Dieses gilt nicht für Lösungsmittelgemische mit einer Komponente von wesentlich höherer Polarität als der des Gemisches. In einem solchen Fall tritt auf der DC-Platte Entmischung ein, wodurch zu geringe Polarität vorgetäuscht wird.
 - 2) Organische Chemiker machen von derartigen einfachen Beziehungen - zu ihrem Schaden - in der Regel keinen Gebrauch.
 - 3) Ferner ist die Zahl der theoretischen Böden einer LC-Säule nicht ganz substanzunabhängig. Es dürfte nicht verwundern, daß man für Testzwecke besonders günstige Bedingungen wählt.

(b) Bestimmung der Zusammensetzung von Diastereomergemischen/ER-Bestimmung von Carbonsäuren und Aminen. Die für eine ER-Bestimmung zu beachtenden allgemeinen Gesichtspunkte wurden bereits in der Einleitung erörtert (vgl. S.29 f.), die Methodik der quantitativen HPLC-Bestimmung findet man in einschlägigen Lehrbüchern beschrieben¹⁾. Um weiteres Anschauungsmaterial bereitzustellen, sind in Abb. 7 Chromatogramme zu einer ER-Bestimmung des 1-Phenyl-ethylamins, mit O-Methyl-mandelsäure als Reagens, wiedergegeben. Bei den Amiden handelt es sich also um die bereits mehrfach vorgestellten Verbindungen (13a)/(13b); vgl. Abb.1 (S. 44, Kernresonanzspektrum), Abb. 2 (S. 52, präp. Chromatogramm).

(c) Präzise Messung von k' und α . Der Kapazitätsfaktor k' ist die fundamentale Stoffkonstante²⁾ zur Erfassung der Wechselwirkung zwischen Substrat und Adsorbens. Man kann zeigen [172], daß k' der Gleichgewichtskonstanten K für die Verteilung einer Substanz zwischen Eluens und Adsorbens proportional ist; aus K läßt sich die Freie-Adsorptionenthalpie ΔG berechnen:

$$K \sim k' \qquad \Delta G = -RT \ln K + C^3)$$

Aus diesen fundamentalen Beziehungen ergibt sich über den Trennfaktor α (vgl. Angaben zu Abb. 6) die Freie-Adsorptionenthalpie-Differenz $\Delta(\Delta G)$ zweier zu trennender Verbindungen:

$$\alpha = k'_2/k'_1 \qquad \Delta(\Delta G) = -RT \ln \alpha$$

$\Delta(\Delta G)$ ist das geeignete Maß zur Charakterisierung der Trennung von diastereomeren Verbindungen. Eine eingehende Beschreibung der Meßmethodik findet man in [173].

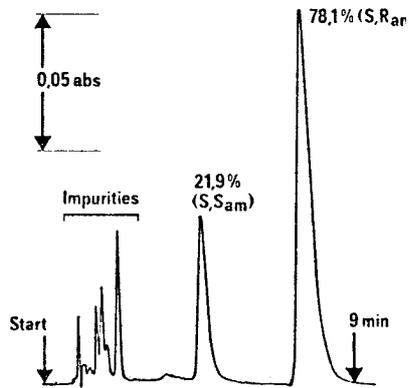
1) Eine Zusammenstellung s. Anhang I, Ref. [3].

2) Als physikalische Bedingungen sind zu spezifizieren: Adsorbens, Eluens und Temperatur.

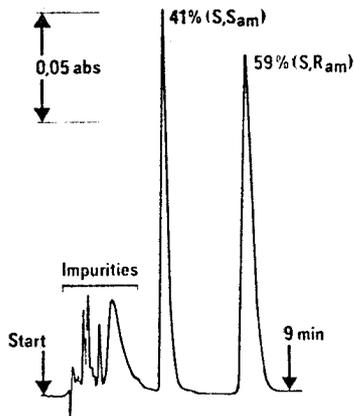
3) Die Konstante C bzw. der Proportionalitätsfaktor in $K \sim k'$ sind durch die Wahl der physikalischen Einheiten festzulegen.

Abb. 7 Hochdruckflüssigkeitschromatographische Trennung der diastereomeren Amide (13a)/(13b) (Formeln s. S. 44) zur Bestimmung der enantiomeren Reinheit von 1-Phenylethylamin (vgl. [108b]).

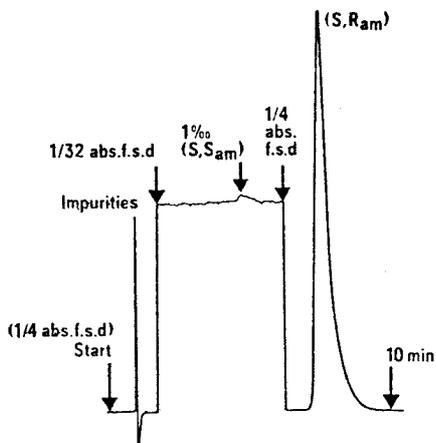
Säule: 30 × 0.3 cm; Adsorbens: Kieselgel Merckosorb SI 60, 5µm; Eluens: Isooctan-Ethylacetat 8:2; Durchfluß: 3.0 ml/min; Druck: 120 bar; Detektor: UV, 255 nm.



a (R)-Phenylethylamin: Ber. 77.9 %
Gef. 78.1 ± 0.4 %



b (S)-Phenylethylamin: Ber. 59.4 %
Gef. 59.0 ± 0.5 %



c Nachweis von 0.1 % (S)- in (R)-Phenylethylamin.

Präparative Flüssigkeitschromatographie. - Es kamen nacheinander die folgenden drei Systeme zur Anwendung:

(a) Die konventionelle Säulenchromatographie (SC). Die Methode ist hinlänglich bekannt und braucht nicht beschrieben zu werden. Ihre Hauptnachteile sind die geringe Reproduzierbarkeit und der sehr hohe Zeitaufwand. Man kann lange Säulen mit guter Trennleistung erhalten¹⁾, wenn man die "richtige" Packtechnik²⁾ anwendet. Mit der unter organischen Chemikern üblichen Methode des Einschlämmens ist dieses nicht möglich.

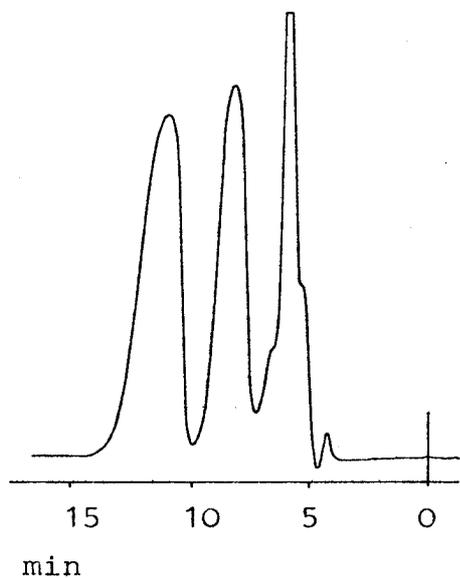
(b) Lobar-Fertigsäulentechnik. Diese Methode wurde 1974 von der Fa. Merck eingeführt. Obwohl der konventionellen SC in der Trennleistung nur wenig überlegen, stellte die Fertigsäulentechnik einen einschneidenden Fortschritt dar, denn es konnte erstmals in einfacher Weise kontrolliert und reproduzierbar, d. h. in von der Geschicklichkeit des Ausführenden unabhängiger Weise gearbeitet werden. Das Vorbild regte zu eigenen Untersuchungen an. In Zusammenarbeit mit B.Glatz gelang es in verhältnismäßig kurzer Zeit, ein in der Trennleistung in etwa äquivalentes, aber wesentlich billigeres und apparativ verbessertes System zu entwickeln (Tabelle 1, B',C',D'). Es ist in [174] ausführlich beschrieben. Das Chromatogramm einer schon recht anspruchsvollen Trennung ($\alpha=1.3$) ist in Abb. 4 dargestellt.

(c) Mitteldruck-Fertigsäulentechnik. Ein entscheidender Sprung vorwärts (ab Mitte 1977) gelang mit der Entwicklung des in Anhang I beschriebenen Systems (Tabelle 1, B,C). Mit diesem kann jede durch HPLC nachweisbare Trennung im präparativen Maßstab reproduziert werden.

1) Man beachte, daß die in Tabelle 1 angegebene Bodenzahl $N=400$ sich auf eine Säule der Länge 40 cm bezieht. Da die Bodenzahl der Säulenlänge näherungsweise proportional ist, können mit langen, gut gepackten und optimal betriebenen konventionellen Säulen durchaus bis zu ca. 1500 th. Böden erreicht werden. Für die Peaks in Abb. 2 gilt z. B. $N=ca.1000$.

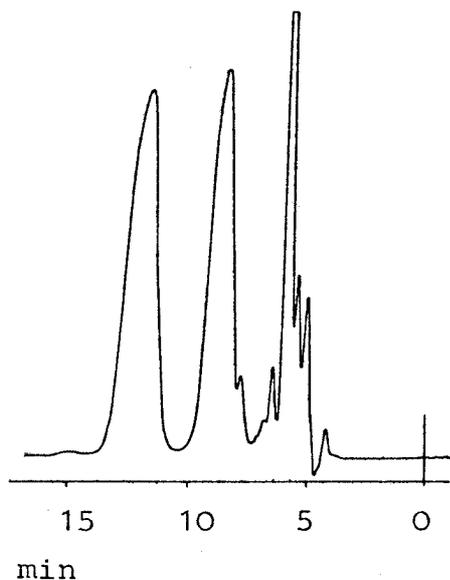
2) Eine gute Methode ist in [174] beschrieben.

Abb. 8 Präparative flüssigkeitschromatographische Trennung der diastereomeren Amide (13a)/(13b) (Formeln s. S. 44, anal. Tr. s. S. 75) auf Fertigsäulen.



Eluens: Hexan-Ethylacetat 1:1;
Durchfluß: 18.5 ml/min;
Detektor: UV, 254 nm;
Substanzbeladung: 150 mg.

a Säule Typ B' (s. Tab. 1);
Druck: 1.5 bar.



b Säule Typ B (s. Tab. 1);
Druck 4.5 bar.

Um das Gesamtspektrum der Methoden an einem Beispiel aufzuzeigen, sind in Abb. 8 Chromatogramme der präparativen Trennung der Amide (13a)/(13b) auf Fertigsäulen entsprechend (b) und (c) wiedergegeben. Eluens und Substanzbeladung¹⁾ wurden genau gleich wie für das in Abb. 2 dargestellte Chromatogramm gewählt. Der Vergleich der Zeitachsen von Abb. 2 und Abb. 8 dürfte den Fortschritt durch die neuen Systeme eindrücklich belegen. Auf den ersten Blick irritieren mag die Tatsache, daß die HPLC-Trennung (Abb. 7) deutlich besser ist als die Mitteldruck-Fertigsäulen-Trennung (Abb. 8), obwohl die Zahl der Trennstufen laut Tabelle 1 für beide Säulentypen fast gleich ist (dieses gilt auch für den Trennfaktor α). Der Grund für das schlechtere Abschneiden der präparativen Säule ist die viel höhere Substanzbeladung²⁾.

1) Substanzbeladung = "Masse zu trennender Substanz"/Masse Adsorbens.

2) Ab einer kritischen Schwelle (ca. 0.3 mg Substanz/1 g Kieselgel) der Substanzbeladung tritt, unabhängig von der Korngröße, eine drastische Verringerung der Trennleistung ein (vgl. Anhang I, S. 18).

2.1.3 Zur Aufnahme der Kernresonanzspektren von Amiden

Sekundäre Amide wie die Verbindungen des Schemas 2 sind sowohl gute Wasserstoffbrückendonatoren (NH) als auch -akzeptoren (CO). Sie liegen in Lösung im allgemeinen assoziiert vor, was sich IR- oder ¹HNMR-spektroskopisch gut nachweisen läßt [175]. Wie aufgrund qualitativer Argumente leicht einzusehen ist, sinkt der Assoziationsgrad mit abnehmender Konzentration, steigender Fähigkeit des Lösungsmittels zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen¹⁾ sowie zunehmender Zahl und sterischer Raumerfüllung von apolaren Substituenten in den α-Positionen der Amidgruppe.

Für die Aufnahme der Kernresonanzspektren mußte der Eigenassoziation Rechnung getragen werden, denn sie beeinflusst die ¹HNMR-Signallagen von Diastereomeren in unterschiedlicher Weise²⁾. Von den zur Vermeidung spezieller starker Solvatationseffekte erwünschten unpolaren Lösungsmitteln kam nur Deuteriochloroform in Betracht³⁾. Es ist nicht völlig inert, da eine schwache Wasserstoffbrückenbindung zum Carbonylsauerstoff von Amiden ausgebildet wird [175a,b]. Deren Einfluß auf die Konformation der Amide dürfte gering sein⁴⁾. Amide sind in Chloroform in der Regel gut löslich und Konzentrationsunabhängigkeit der Signallagen wird - anders als bei Kohlenwasserstoffen und bei Tetrachlorkohlenstoff [175c] - schon unterhalb $c=0.05$ mol/l, für die

-
- 1) Relativ gering, aber bei Konzentrationen $c > 0.1$ mol/l noch deutlich nachweisbar, ist die intermolekulare Assoziation beim Vorliegen einer intramolekularen Wasserstoffbrückenbindung.
 - 2) Deshalb sind die Signaldifferenzen für diastereotope Protonen bei $c > 0.1$ mol/l im allgemeinen nicht konzentrationsunabhängig. Dieses gilt sowohl für Gemische als auch für gleich konzentrierte Lösungen der reinen Diastereomeren.
 - 3) Das Spektrometer war nur über einen Service-Betrieb zugänglich. Schon deshalb konnten Bedingungen, die eine spezielle Aufnahmetechnik erfordern (z. B. externes Locksignal bei Tetrachlorkohlenstoff) nicht angewendet werden.
 - 4) Nicht unberücksichtigt darf für polare Verbindungen das Dipolmoment des Chloroforms bleiben.

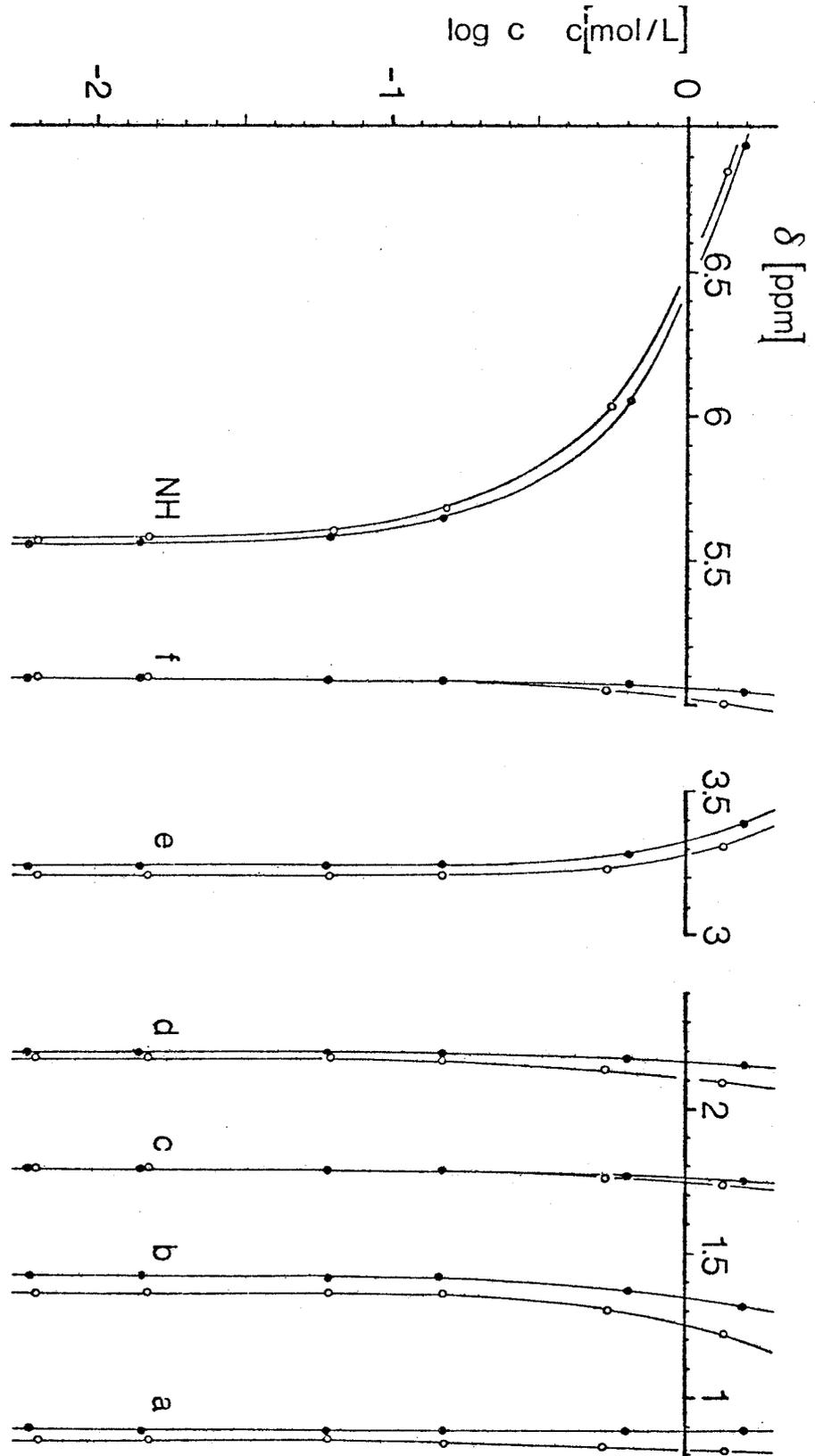


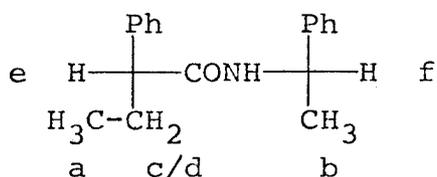
Abb. 9

Kernresonanzspektroskopie bereits eine sehr niedrige Konzentration¹⁾, erreicht. Ein typisches Beispiel für die Variation der Signallagen diastereomerer Amide mit der Konzentration ist in Abb. 9 dargestellt.

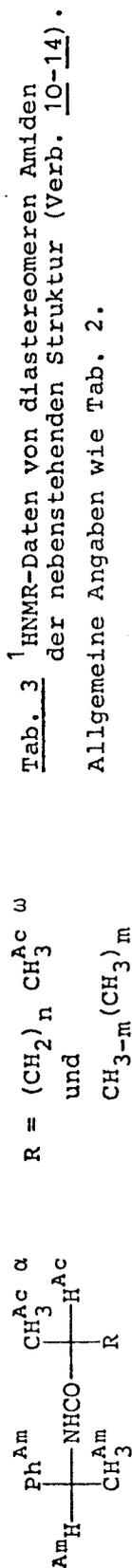
Die Spektren sämtlicher Amide ohne starke intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung wurden bei Probekonzentrationen im Bereich $c=0.01-0.04$ mol/l aufgenommen (Bruker-90-Gerät in Fourier-Transform-Arbeitsweise, 1000-5000 Pulse). Zur Überprüfung der Lage des besonders stark konzentrationsabhängigen NH-Signals wurden in der Regel zwei Messungen bei unterschiedlicher Konzentration (Konzentrationsverhältnis 2:1) durchgeführt. Danach beurteilt beträgt die Abweichung vom Endwert (stets zu tiefem Feld) bei $c \rightarrow 0$ für das NH-Signal maximal 0.1 ppm. Für die Signale anderer Protonen wurde im oben angegebenen Bereich keine Konzentrationsabhängigkeit beobachtet.

Die Auswertung der Kernresonanzspektren erfolgte nach den üblichen Methoden. Bei komplizierten Spinsystem wurde in allen Fällen mit dem LAOCN-Computerprogramm (maximal 7 Protonen) [176] gearbeitet.

Abb. 9 (S. 80) Ein Beispiel zur Konzentrationsabhängigkeit der ¹H-NMR-Signallagen (90 MHz, CDCl₃) von diastereomeren Amiden [N-(1-Phenylethyl)-2-phenylbutanamide; -○- (R,S)-, -●- (S,S)-Konfiguration]



1) Mit älteren Geräten, wie dem Varian-A 60-Spektrometer, sind Messungen im Bereich $c < 0.1$ mol/l nur noch in speziellen Fällen möglich.



Tab. 3 $^1\text{HNMR}$ -Daten von diastereomeren Amidinen
 der nebenstehenden Struktur (Verb. 10-14).
 Allgemeine Angaben wie Tab. 2.

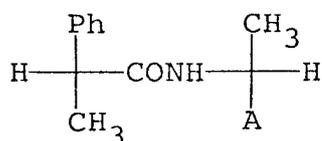
n (m)	NH		Ph ^{Am} [a]		H ^{Am}		CH ₃ ^{Am}		H ^{Ac}	
	$\delta(\underline{a})$	$\delta(\underline{b})$	$\delta(\underline{a})$	$\delta(\underline{b})$	$\delta(\underline{a})$	$\delta(\underline{b})$	$\delta(\underline{a})$	$\delta(\underline{b})$	$\delta(\underline{a})$	$\delta(\underline{b})$
0	5.60	5.60	7.311	7.311	5.138	5.138	1.490	1.490	2.341	2.341
1	5.66	5.63	7.317	7.315	5.156	5.152	1.496	1.490	2.089	2.089
2	5.60	5.61	7.315	7.313	5.148	5.144	1.492	1.487	2.133	2.142
8	5.61	5.62	7.314	7.312	5.149	5.145	1.492	1.487	2.111	2.114
(0)	5.60	5.60	7.311	7.311	5.138 (7.74)	[b]			2.341	2.341
(1)	5.66	5.63	7.317	7.315	5.156	5.152	1.496	1.490	2.089	2.089
-					(7.93)	(7.93)				
(3)	5.55	5.55	7.315	7.314	5.144	5.128	1.493	1.482	1.902	1.915
					(7.93)	(7.80)				

[a], [b] wie für Tab. 2.

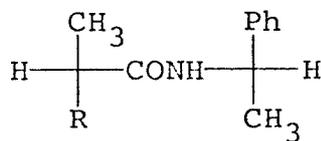
2.2 Kernresonanzspektren

2.2.1 Meßresultate; empirische Auswertung

Nach Besprechung der technischen Punkte kann man sich den Verbindungen des Schemas 2 wieder zuwenden. Die Resultate der spektroskopischen Messungen sind tabellarisch und graphisch dargestellt. Die wohl ohne Erläuterung klare Bezeichnung der Protonen ist in den Tabellen 2 und 3 angegeben. In diesen Tabellen sind die chemischen Verschiebungen von Gruppen mit sehr geringen Diastereotopieeffekten zusammengestellt. Es sind dies die Protonen der 1-Phenylethyl- und der NH-Gruppe sowie H^{Ac} und H^{Am} . Besonderheiten zeigen sich hier lediglich in der chemischen Verschiebung von H^{Ac} und in den Kopplungskonstanten J_{NHCH} der Reihe 2-9. Diese Daten sind hervorgehoben. Tabelle 4 enthält die Daten der Referenzverbindungen 1 und 15. Die Signallagen der Gruppen mit signifikanten Diastereotopieeffekten findet man in Abb. 10 als Strichspektren wiedergegeben.



2 - 9



10 - 14

A, R = $(\text{CH}_2)_n \text{CH}_3$
und
 $\text{CH}_3\text{-}_m(\text{CH}_3)_m$

Tab. 4 $^1\text{HNMR}$ -Daten der Amide 1 und 15a,b (Allgem. Bem. und Bezeichnung der Protonen s. Tab. 2 und 3).

Pr.	$\delta(\underline{a})$	$\delta(\underline{b})$	$\delta(\underline{a}) - \delta(\underline{b})$	c
$(\text{CH}_3)_2\text{HC}-\text{CONH}-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ <u>1</u>	NH	5.20 [a]		0.04
	$\text{CH}_3^{Ac, Am}$	1.141		
	H^{Ac}	2.284		
	H^{Am}	4.073		
$\begin{array}{c} \text{Ph} \qquad \qquad \text{Ph} \\ \qquad \qquad \\ \text{H} - \text{C} - \text{CONH} - \text{C} - \text{H} \\ \qquad \qquad \\ \text{CH}_3 \qquad \qquad \text{CH}_3 \end{array}$ <u>15a,b</u>	NH	5.50 [b]	5.51 [b]	0.05
	H^{Ac}	3.532	3.573	-0.041
	CH_3^{Ac}	1.512	1.511	+0.001
	H^{Am}	5.089	5.085	+0.004
	CH_3^{Am}	1.347	1.398	-0.046

[a] $J_{NHCH^{Am}} = 7.96 \text{ Hz}$

[b] $J_{NHCH^{Am}} = 8.0 \pm 0.3 \text{ Hz}$

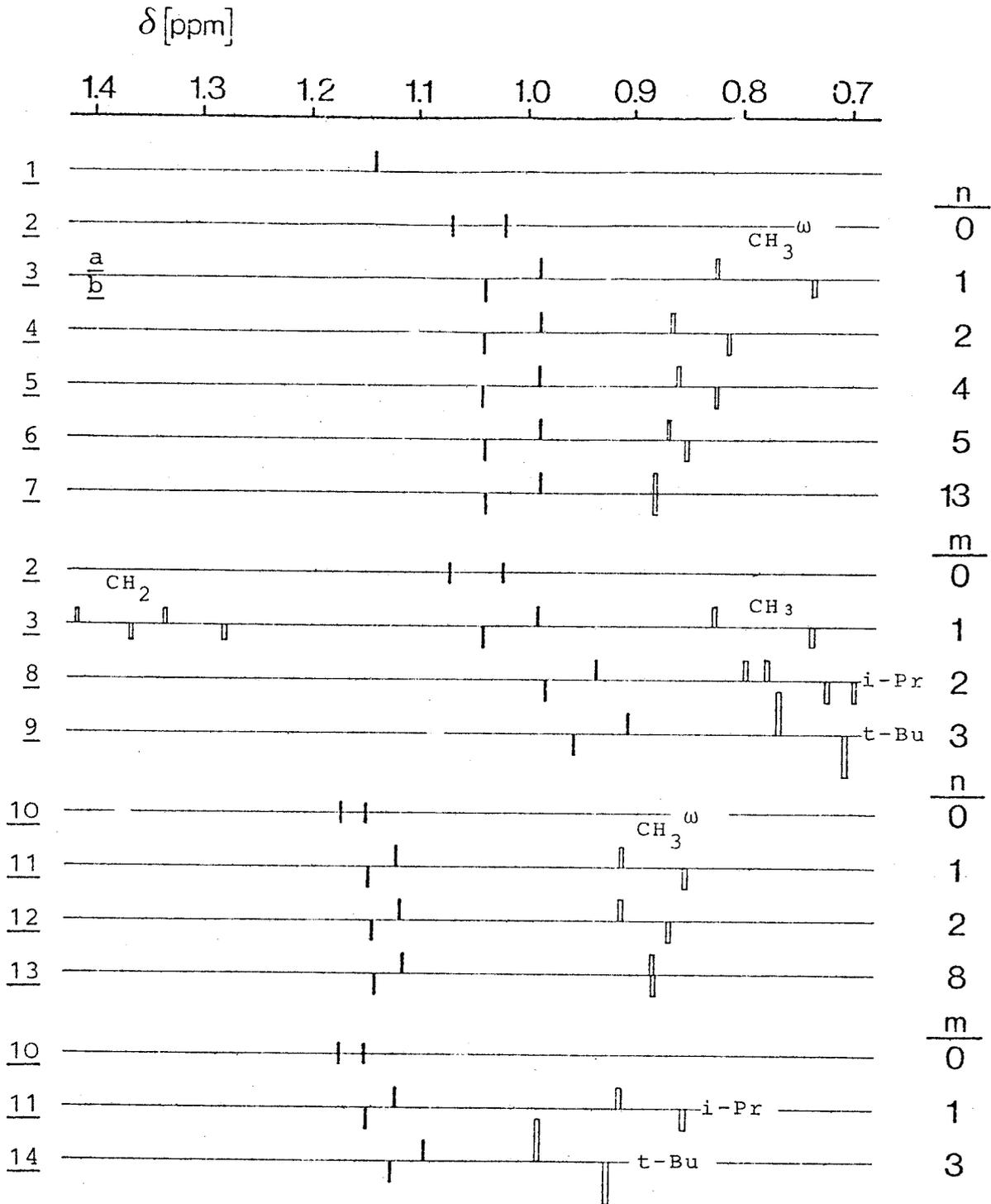


Abb. 10 ^1H NMR-Signale von diastereotopen Gruppen der Amide 2-14

zu den Bezeichnungen s. Angaben in Tab. 2 u. 3 (S. 82),

volle Striche: Methylgruppen CH_3^{Ac} und CH_3^{Am} , unausgefüllte Striche: Gruppen A und R; Striche nach oben: a, nach unten: b.

Voraussetzung zur Auswertung des Datenmaterials ist die Kenntnis der konfigurativen Zusammenhänge. Sie sind nur indirekt, durch die Buchstaben a und b angegeben, die die chromatographische Elutionsabfolge bezeichnen (vgl. S. 56). Unabhängige Konfigurationsbestimmungen, vgl. Schema 2, wurden für die Paare 3,6,9,11,12,14 und 15 durchgeführt. Für diese gilt sämtlich:

a: R,S/S,R

b: R,R/S,S.

In den Daten aller Gruppen zeigt sich ein so hoher Grad an Regelmäßigkeit, daß diese Zuordnung ohne den geringsten Zweifel auf alle Diastereomerenpaare des Schemas 2 verallgemeinert werden kann¹⁾.

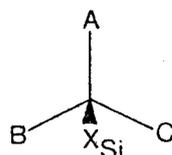
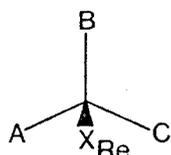
Die Deskriptoren R und S erlauben es nicht, die intern diastereotopen Methylgruppen der Amide 2 und 10 konfiguratив zu beschreiben. Dieses ist mit Hilfe des ReSi-Systems möglich. Das ReSi-System ist umfassender als das RS-System und enthält dieses als Subsystem. Es gestattet eine einheitliche Darstellung der konfigurativen Verhältnisse für sämtliche Gruppen (Topizität) aller Amide des Schemas 2.

Das ReSi-System ist ausführlich in [100] dargestellt. Kurzbeschreibungen findet man in [177] und im einführenden Lehrbuch [1] (S. 94). Um dem Leser das eventuell notwendige Nachschlagen zu ersparen, seien die wichtigsten Punkte kurz angegeben und an einem hier relevanten Beispiel illustriert.

- (1) Das tetraedrische Zentralatom, an welches die zu bezeichnende Gruppe gebunden ist, spielt für die Spezifikation keine Rolle.

1) Die Angabe der Konfiguration mittels der Methoden des RS-Systems gilt im Prinzip nur für jeweils ein Stereomodell. Die Erfassung ganzer Reihen, wie 3-9 bzw. 11-14, ist aber möglich, wenn sich die Priorität der variablen Gruppe, hier A bzw. R, relativ zu den Prioritäten der anderen Gruppen desselben stereogenen Elements nicht ändert. Im vorliegenden Fall gilt stets: $\text{CO} > \text{R} > \text{CH}_3 > \text{H}$ und $\text{N} > \text{A} > \text{CH}_3 > \text{H}$. 15 kann in die eine oder andere Gruppe gerechnet werden (R oder A = Ph). Es wäre nicht erlaubt, die obige Spezifikation z. B. auf den Fall $\text{R} = \text{CH}_2\text{Cl}$ auszudehnen, da dann die Prioritätsabfolge $\text{R} = \text{CH}_2\text{Cl} > \text{CO} > \text{CH}_3 > \text{H}$ gilt.

- (2) Man blicke von der zu spezifizierenden Gruppe (X) auf das aus den drei verbleibenden Substituenten desselben Zentralatoms gebildete Dreieck (ABC). Entspricht die Cahn-Ingold-Prelog-Rangfolge der Substituenten A,B,C dem Uhrzeigersinn, so liegt X in Re, andernfalls in Si:



Rangfolge:
A > B > C

- (3) Das Verfahren entsprechend (2) ist auf Chiralitätszentren $Z(A,B,C,X)$ oder Prochiralitätszentren $Z(X,X,B,C)$ in gleicher Weise anwendbar. Nur beim ersteren kann die konfigurative Situation jeder der Gruppen A,B,C,X auch durch die Konfiguration des Chiralitätszentrums, R oder S, eindeutig festgelegt werden¹⁾.
- (4) Sofern die zu spezifizierende Gruppe einen intern oder extern diastereotopen Partner besitzt, muß ein weiteres Chiralitätselement vorhanden sein. Dessen Deskriptor (R oder S) wird dem Symbol Re oder Si hinzugefügt. Man beachte Punkt (3): Sofern die zu spezifizierende Gruppe an einem Chiralitätszentrum durch Re oder Si bezeichnet wird, darf der Deskriptor, R oder S, dieses Zentrums nicht verwendet werden.

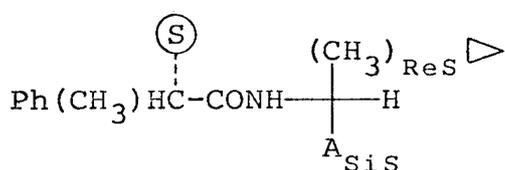
Mit Hilfe des ReSi-Systems lassen sich die in den Tabellen 2-4 sowie Abb. 10 enthaltenen Daten einfach und vollständig empirisch, d. h. ohne Präjudizierung durch konformationelle Bilder²⁾, diskutieren.

1) Es scheint ein verbreiteter Irrtum zu sein, vgl. z. B. [178], speziell S. 74, daß die Symbole Re,Si mit den von Hanson [179] eingeführten pro-R, pro-S gleichzusetzen seien. Wie oben die Rangfolge $A > B > C$ angenommen, ist diese Äquivalenz nur - zufällig - im Falle $Z(A,B,C,C)$, nicht jedoch z. B. für $Z(A,B,B,C)$ gegeben. Die beiden Systeme besitzen ganz verschiedene Grundlagen.

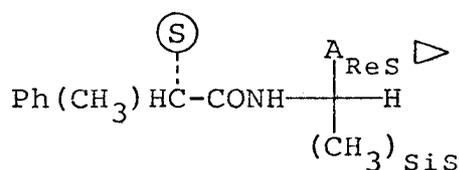
2) Dieser Punkt ist von erheblicher allgemeiner Bedeutung. So wurde und wird eine allgemeine, aus Erfahrungstatsachen abgeleitete Regel zur Beschreibung konfigurativer Zusammenhänge häufig durch konformationelle Bilder wiedergegeben (z. B. die Atrolactinsäuresynthese nach Prelog-McKenzie). In späteren Arbeiten wird dann die rein formale Angabe nicht selten als physikalisch relevante Konformationsbetrachtung interpretiert.

Die stärksten Diastereotopieeffekte und in hohem Grade regelmäßiges Verhalten zeigen die Gruppen, deren Signale in Abb. 10 wiedergegeben sind. Der in der Abbildung durch das "Auf" und "Ab" der Striche beschriebene Zusammenhang zwischen dem "Sinn der Nichtäquivalenz" der Signallagen und der Konfiguration kann auf das im Schema 4 dargestellte einfache Muster zurückgeführt werden. Mehrere bemerkenswerte Punkte werden hier sichtbar:

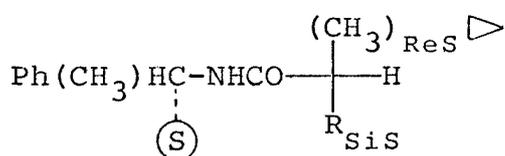
(a) Soweit die Zuordnung der Signale möglich war, wurden für sämtliche Protonen in A und in R gleichsinnige Diastereotopieeffekte gefunden¹⁾.



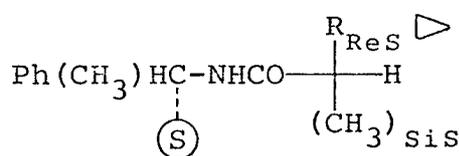
3 - 9 a



b



11 - 14 a

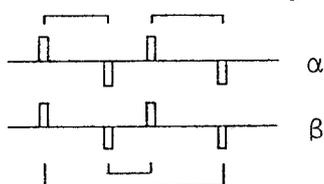


b

Bedeutung von \triangleright : Das Signal der so gekennzeichneten Gruppe liegt bei höherem Feld als das Signal der konstitutionell äquivalenten Gruppe des diastereomeren Partners

Schema 4 Aus Abb. 10 entnommene empirische Regel zur Korrelation des Sinnes der Diastereotopieeffekte mit der Konfiguration (die Ersetzung von R durch S und Re durch Si bzw. Si durch Re, was einer Spiegelung entspricht, läßt die Regel unverändert.

1) Nicht eindeutig ist die Zuordnung für die intern und extern diastereotopen Protonen der CH₂-Gruppe im Falle A=CH₂-CH₃ (3a,b). Es gibt zwei Möglichkeiten α und β, von denen β aber aufgrund der Analogie von α zu den anderen Fällen (vgl. Abb.10 als unwahrscheinlich gelten kann.



- (b) Der Sinn der Signaldifferenzen von A/R ist dem der an dasselbe C-Atom gebundenen Methylgruppe stets entgegengesetzt. Die Gruppierungen N-C-H und H-C-CO bilden also quasi Knotenflächen.
- (c) Sieht man von numerischen Unterschieden ab, bestehen für den Aminmolekülteil und den Acylteil vollständig gleiche Verhältnisse. Dieses ist aus Schema 4 ersichtlich, zeigt sich aber auch in den Vorzeichen der sehr kleinen Signaldifferenzen der Tabellen 2 und 3; die Signallagen korrespondierender Protonen sind daher in derselben Spalte angegeben.
- (d) Der Betrag der Signaldifferenz der Methylgruppen, $\delta(\text{CH}_3)_{\text{Res}} - \delta(\text{CH}_3)_{\text{Sis}}$, ist bemerkenswert konstant: -0.050 ± 0.001 in der Reihe 3-9, -0.028 ± 0.002 in der Reihe 11-14.

Die Isopropylderivate 2 und 10 mit intern diastereotopen Methylgruppen fügen sich völlig zwanglos in die Reihen 2-9 und 10-14 ein, vgl. Abb. 10. Dieses ist an den Serien mit verzweigtem Substituenten, A oder R = $\text{CH}_{3-m}(\text{CH}_3)_m$ besonders gut zu erkennen, da jede Methylgruppe in A oder R mit etwa gleichem Inkrement zur chemischen Verschiebung der CH_3 -Gruppe von $\text{CH}_3\text{-C-A(R)}$ beiträgt. Anknüpfend an die auf S. 59 geführte Diskussion läßt sich aussagen:

- Durch die Extrapolation $m = 3, 2, 1-0$ für A oder R = $\text{CH}_{3-m}(\text{CH}_3)_m$ folgt für die Isopropylgruppen von 2 und 10: Die $(\text{CH}_3)_{\text{Res}}$ -Resonanz liegt bei höherem Feld als die $(\text{CH}_3)_{\text{Sis}}$ -Resonanz. Im Sinne des Schemas 4 handelt es sich hier lediglich um den speziellen Fall R oder A = CH_3 . Der experimentelle Beweis dieser Behauptung, über deuterierte Verbindungen (vgl. S. 58), wurde nicht geführt. Deshalb ist die Zuordnung weder in Abb. 10 noch in Schema 4 eingetragen.
- Bezüglich des Betrages der Signaldifferenzen der Methylgruppen stellen die Amide 2 und 10 gute Modelle für die diastereomeren Amide dar¹⁾. Wie schon betont wurde, und wie im folgenden mehrfach sichtbar werden wird, bringt die Arbeit mit den Iso-

1) Es handelt sich aber nicht um Modelle für alle Gruppen. Man vgl. etwa Abb. 10, die Fälle A = t-Bu und R = t-Bu.

propylderivaten, wegen der "lokalen" Symmetrie der Isopropylgruppe, sowohl Vorteile für die Praxis als auch für die Deutung der Resultate.

Schema 4 stellt eine rein empirische Regel zur Bestimmung der absoluten Konfiguration von Carbonsäuren und Aminen dar. Gemessen an den im Abschnitt 1.2.2 "Absolute Konfiguration" aufgestellten Forderungen (S. 42), kann von einer Methode zur Bestimmung der absoluten Konfiguration noch keineswegs gesprochen werden. Es fehlt das physikalische Modell zur Begründung. Um dieses wird man sich nun bemühen. Die wichtigsten empirischen Gesichtspunkte sind mit der obigen Auswertung des Datenmaterials erfaßt. Auf die in Tabelle 2 eingerahmten sowie die bisher unbeachtet gebliebenen Daten der Referenzverbindungen 1 und 15 wird man im folgenden noch eingehen.

2.2.2 Grundsätzliches zur Analyse von Diastereotopieeffekten

Als "flexibel" sei eine Verbindung bzw. Molekel bezeichnet, bei der zumindest potentiell mehrere (j) im Gleichgewicht stehende Konformere vorkommen (x_j = Molenbruch des Isomeren j). Sofern die Geschwindigkeit der Gleichgewichtseinstellung bezüglich der Kernresonanzzeitskala schnell ist, gilt für die chemische Verschiebung $\delta(H^X)$ eines Kerns

$$\delta(H^X) = \sum_j x_j \delta(H^X)_j \quad \text{Gl. 1}$$

Die hier interessierenden Amide sind ohne Zweifel als flexibel einzustufen. Die physikalische Deutung der externen Diastereotopieeffekte zerfällt daher in zwei Teilaufgaben:

- die Bestimmung oder Abschätzung der Größen j und x_j , d. h. eine Konformationsanalyse für jedes Mitglied eines Diastereomerenpaares und
- eine Abschätzung der chemischen Verschiebung $\delta(H^X)_j$ des interessierenden Kerns H^X für jedes Konformere beider Diastereomere.

Grundsätzlich gleicher Natur, aber technisch einfacher ist der Fall der internen Diastereotopie zweier Kerne H^A , H^B .

Gleichung 1 drückt klar die grundsätzlich notwendige Vorgehensweise aus. Sie wird im folgenden aber nicht mehr vorkommen, da die Behandlung jeder Verbindung als Einzelfall praktisch unmöglich ist und dem Zweck dieser Arbeit nicht dienlich sein kann. Auch ist die exakte Konformationsanalyse sowie eine Berechnung bzw. Bestimmung der $\delta(H^X)$ -Werte derzeit für so komplizierte Verbindungen wie 1-15 gar nicht möglich. Man wird folgendermaßen vorgehen:

1. Es wird untersucht werden, welche sicheren allgemeinen Angaben sich über die Konformationen von Amiden einfachen Typs machen lassen.
2. Hierauf aufbauend wird der Versuch unternommen, den Fall des Gleichgewichtes mit mehreren Konformeren zumindest formal auf den Fall "ein Konformer pro Verbindung" zurückzuführen. Dieses entspricht der Ersetzung der flexiblen durch eine starre Molekel.
3. Im Rahmen der 2. Approximation wird untersucht, ob sich die Diastereomerie als Permutationsisomerie behandeln läßt.

In der Essenz entspricht diese Vorgehensweise einer Kombination der Methoden von Cram-Prelog und (qualitativ) Ugi-Ruch (vgl. S.6). Erst nach Klärung der konformationellen Probleme wird man sich der Frage nach der chemischen Verschiebung zuwenden. Hier wird es dann das Ziel sein, die empirische Regel des Schemas 4 abzuleiten, möglichst, ohne von den Angaben im Abschnitt 2.2.1 Gebrauch zu machen.

Wie bereits in der Einleitung erwähnt wurde, vgl. S. 48, hat sich das Interesse der Kernresonanzfachleute an Diastereotopieeffekten fast vollständig auf die interne Diastereotopie beschränkt. Man versuchte vor allem, aus der Temperaturabhängigkeit des Effektes Schlüsse zu ziehen. Einer approximativen Behandlung von Gutowsky [143c] folgend, ging man folgendermaßen vor. Die Differenz $\Delta\delta(A,B)$ zweier intern diastereotoper Kerne, H^A und H^B , ergibt sich nach Gleichung 1 zu:

$$\Delta\delta(A,B) = \sum_{j=1}^n x_j \Delta\delta(A,B)_j \quad \text{Gl. 2}$$

Gl. 2 kann in trivialer Weise so umgeformt werden, daß ein Term $\Delta\delta(A,B)_{\text{int}}$ entsteht, in den die Größen x_j , die die Population der Konformerer beschreiben, nicht eingehen:

$$\begin{aligned} \Delta\delta(A,B) &= \sum_{j=1}^n \left(x_j - \frac{1}{n}\right) \Delta\delta(A,B)_j + \sum_{j=1}^n \frac{1}{n} \Delta\delta(A,B)_j \quad \text{Gl. 3} \\ &= \Delta\delta(A,B)_{\text{con}} + \Delta\delta(A,B)_{\text{int}} \end{aligned}$$

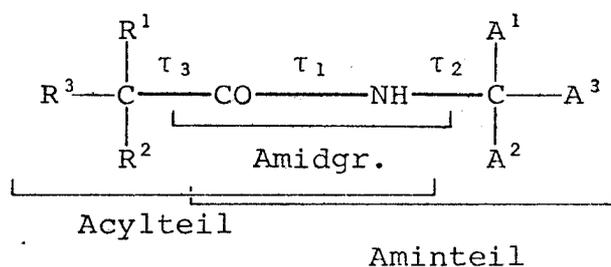
Der erste Term wird als "konformationeller", der zweite als "intrinsischer" bezeichnet¹⁾. Man gab sich der Hoffnung hin, daß es möglich wäre, $\Delta\delta(A,B)_{\text{int}}$ in einfacher Weise festzulegen. Z. B. wurde für Äthanderivate einfach $\Delta\delta(A,B)_{\text{int}} = 0$ angesetzt oder postuliert, daß $\Delta\delta(A,B)_{\text{con}}$ bei hoher Temperatur wegen der Äquipopulation der Konformerer vernachlässigbar klein wäre, d. h. der intrinsische Term extrapolativ bestimmbar sei. Binsch und Mitarbeiter [143d,180] haben gezeigt, daß alle mit der Unterteilung nach Gl.(3) verknüpften derartigen Hoffnungen unberechtigt sind. Sogar die plausible Annahme, daß $\Delta\delta(A,B)_{\text{int}}$ temperaturunabhängig sei, wurde experimentell widerlegt. Man kann aus der Funktion $\Delta\delta(A,B) = f(T)$ ohne weitere Kenntnis der Größen von Gl. 2 nichts, aber auch gar nichts schließen.

Der unbefangene Leser mag sich über die Ausführlichkeit der Erörterung als unfruchtbar erkannter Wege wundern. Dieses erschien notwendig, da sich das Ritual der Produktion von Diastereotopieeffekt-Temperatur-Kurven samt ihrer Interpretation in den veralteten Begriffen so eingebürgert hat, daß deren Abwesenheit geradezu als ein Mangel ausgelegt werden könnte.

1) Im Englischen: "conformational" und "intrinsic" term. Es ist für die Situation der Forschung auf dem Gebiet der Diastereotopieeffekte nicht ganz unbezeichnend, daß offenbar keine deutschsprachige Arbeit existiert, in der diese Begriffe vorkommen.

2.2.3 Konformationen einfacher Amide $R_3C-CONH-CA_3$, $R, A = \text{Alkyl, Aryl}$

Die Konformation eines sekundären Amids wird im wesentlichen durch die Torsionswinkel τ_1, τ_2, τ_3 um die drei in der untenstehenden Formel hervorgehobenen Bindungen festgelegt. Da zwischen den drei Parametern, wie man im folgenden begründen wird, eine verhältnismäßig geringe Abhängigkeit besteht¹⁾, erscheint es zweckmäßig, die Amide in drei sich partiell überlappende Strukturbereiche zu gliedern: den Acylteil, die Amidgruppe und den Aminteil.



Unter den Substituenten A und R am "Rückrat" der Amide spielt die Phenylgruppe, wie schon mehrfach angedeutet wurde, eine wichtige Rolle für die Deutung der Diastereotopieeffekte. Der Diskussion ihrer Konformation (Torsionswinkel τ_4) wird man im folgenden ebenfalls einen speziellen Abschnitt widmen.

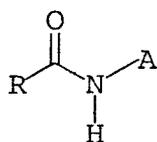
Für die Konformationen bezüglich τ_2, τ_3 und τ_4 besteht ein hoher Grad an Analogie, da in jedem Fall eine sp^2-sp^3 -Bindung vorliegt. Sichere Aussagen sind hier vor allem dann möglich, wenn einer der Substituenten des sp^3 -Zentrums ein Wasserstoff ist.

Konformation der Amidgruppe (τ_1)

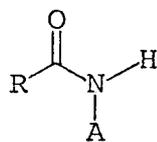
Der großen Bedeutung der Amidgruppe als Teilstruktur von Proteinen entsprechend, wurden konformationelle Aspekte dieser Gruppe sehr eingehend untersucht. Schon aus frühen Dipolmoment-, UV-, IR- und ramanspektroskopischen Studien (Zusammenfassung s. [137], S.118-124)

1) Für die folgenden Ausführungen wird vorausgesetzt, daß zwischen den Substituenten des Acyl- und des Aminteils keine chemische Bindung besteht, d. h. Lactame sollen nicht in die Diskussion einbezogen sein.

wurde auf eine planare Z-Konformation¹⁾ geschlossen²⁾.



Z ($\tau_1 = 0^\circ$)



E ($\tau_1 = 180^\circ$)

Dieses wurde durch die berühmten Kristallstrukturstudien von Pauling und seiner Schule [136] bestätigt. Bis heute gibt es offenbar keine Kristallstruktur, in der eine sekundäre Amidgruppe in der E-Konformation vorkommt. Bedenkt man die große Zahl der Beispiele (>500), die beträchtlichen Unterschiede in der Struktur und die Tatsache, daß besonders in Peptid- und Proteinkristallen in der Regel sehr starke Wasserstoffbrückenbindungen vorhanden sind, so läßt sich auf eine beträchtliche energetische Bevorzugung (> 3 kcal/mol) der Z-Form schließen.

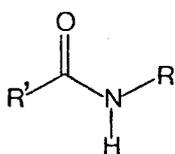
In Lösungen spezieller Amide ist das E-Konformere nachgewiesen worden. So enthalten N-Formylamine es in der Regel zu einem Anteil von 5-15 % (IR [181]³⁾, NMR [183]). Für N-Methylformamid gilt: $\Delta G(Z) - \Delta G(E) = -1.5$ kcal/mol [183c,d]. Der Anteil des E-Konformeren sinkt mit steigender Substitution im Acylteil stark ab. Durch ¹HNMR sicher nachgewiesen wurde es nur noch bei N-Methylacetamid, $\Delta G(Z) - \Delta G(E) = -2.5$ kcal/mol [183b,c]. Die Zahlenangaben besitzen nur bedingt Signifikanz, da die Messungen mit Rein-

- 1) Die Z/E-Nomenklatur [1] ist strenggenommen auf Doppelbindungssysteme beschränkt. Sie ist aber auch bei Amiden eindeutig und erlaubt - im Gegensatz zu der in der Peptidchemie üblichen Bezeichnung cis/trans bzw. syn/anti - eine eindeutige Festlegung der Konformation.
- 2) Dieses gilt nicht, wenn der Wasserstoff durch eine andere Gruppe ersetzt ist. Z. B. ist in Proteinen bzw. Peptiden gelegentlich Sarkosin (N-Methylglycin) eingebaut, deshalb manchmal H durch CH₃ ersetzt. Peptidchemiker pflegen diesen Fall mit dem obigen gleichzusetzen und das Auffinden einer E-Konformation als "Ereignis" hervorzuheben.
- 3) Sauber begründete Regeln für die Unterscheidung der IR-Signale von Z- und E-Konformeren sind von Mizushima und seiner Schule erarbeitet worden [181a]. In der Vergangenheit sind häufig Fehlinterpretationen vorgekommen, da die E-Form ziemlich willkürlich den häufig vorkommenden Zweitbanden im NH-Valenzschwingungsgebiet ($\sim 3400-3470$ cm⁻¹) zugeschrieben wurde. Tatsächlich ist das Vorkommen mehrerer Banden in der Regel durch Konformere bezüglich τ_2 und τ_3 verursacht (vgl. z. B. [182a] mit [181b]). Einer beträchtlichen Beliebtheit erfreut sich auch die ebenso willkürliche Postulierung von nicht-planaren Strukturen (vgl. z. B. [182b]).

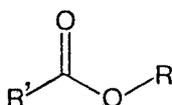
substanzen oder konzentrierten Lösungen durchgeführt wurden, in denen die Amide praktisch vollständig assoziiert sind (vgl. S. 79). Daten für die Gasphase liegen offenbar nicht vor. Aus qualitativ hochwertigen quantenchemischen Rechnungen folgen aber Werte, die recht gut mit den obigen übereinstimmen [184].

Der Frage, inwieweit die Z-Amidgruppe als planar betrachtet werden kann, wurde in jüngster Zeit viel Beachtung geschenkt [185]. Daß in Lactamen mittlerer Ringgröße starke Verzerrungen auftreten [185a], verwundert nicht. Eine statistische Analyse der Kristallstrukturdaten von globulären Proteinen ergab eine mittlere Abweichung (τ_1) von nur 3.5° [185b]. Aus semiempirischen quantenchemischen Rechnungen wurde auf eine nichtplanare Struktur für einfache Amide geschlossen [185c,d], was aber aufgrund einer neueren Rechnung höchster Qualität als widerlegt gelten kann. Aufgrund der bekannten Rotationsbarriere bezüglich τ_1 ($E_{\text{max}} = 15\text{-}20 \text{ kcal/mol}$ [184]) läßt sich die Potentialkurve $E(\tau_1)^{\text{max}}$ ziemlich genau angeben. Danach beträgt die Energiezunahme bei Auslenkung von τ_1 um $\pm 15^\circ$ nur ca. 1 kcal/mol ¹⁾. In dieser Größenordnung liegen auch die für Kristalle beobachteten maximalen Auslenkungen.

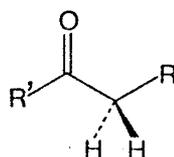
Die obigen Ausführungen belegen, daß die konformationelle Situation der Amidgruppe experimentell recht gut erforscht ist. Wie steht es mit der theoretischen Deutung? Klarheit besteht über die Ursache der hohen Rotationsbarriere der Z/E-Isomerisierung - Delokalisation des einsamen Elektronenpaares am Stickstoff in die Carbonylgruppe; diese primär naive Vorstellung wird durch alle modernen quantenchemischen Berechnungen bestätigt. Eine Analyse der Ursache für die Bevorzugung der Z- über die E-Konformation aufgrund moderner MO-Berechnungen liegt in der Literatur offenbar nicht vor²⁾. Eine Erklärung in einfachen qualitativen Begriffen ist aber möglich, wenn man die Amide (29) in Analogie zu den strukturell verwandten Estern (30), Aldehyden bzw. Ketonen (31) und Olefinen (32) setzt. In allen diesen Fällen ist eine Konformation mit syn-planarer Stellung des Substituenten R zur Doppelbindung bevorzugt.



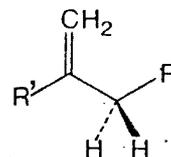
(29)



(30)



(31)

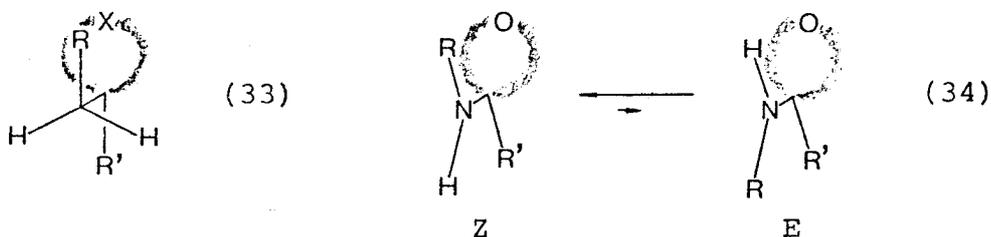


(32)

Pauling hat anscheinend als erster darauf hingewiesen [186], daß sich die Bevorzugung der syn-planaren Stellung verstehen läßt, wenn man die Doppelbindung im Bent-bond-Modell ("Bananenbindungen")

-
- 1) Mit der Verdrillung bezüglich τ_1 ist eine leichte Pyramidalisierung am Stickstoff und am Carbonyl-C verbunden.
 - 2) In einer eigenen Untersuchung mit Hilfe der PCILO-Methode [184a] konnte eine Erklärung im Rahmen dieser Methode gefunden werden. Eine einfache qualitative Vorstellung ließ sich nicht ableiten.

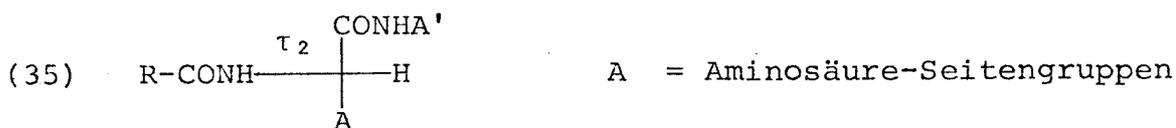
statt im üblichen σ - π -Schema betrachtet:



Ordnet man den bent-bonds bzw. der Bindung C-R' von (33)/(34) die sterische Raumerfüllung klein, klein bzw. mittel/groß zu und wendet man die üblichen für Ethanderivate geltenden Regeln an, so folgen die obigen Konformere als stabilste; bei (34) allerdings nur, wenn man, was aus dem Bent-bond-Modell nicht folgt, Planarität der Amidgruppe voraussetzt.

Konformation des Aminteils (τ_2)

Einsicht in die konformationellen Verhältnisse wichtiger Strukturelemente wird im allgemeinen aus der Untersuchung einfacher Modellverbindungen gewonnen. Für den vorliegenden Fall wären dies N-Alkylformamide oder -acetamide. Über diese liegt wenig Material bezüglich τ_2 vor. Das Interesse ist verständlicherweise weitgehend auf Peptide und Proteine konzentriert, die im Sinne dieser Arbeit einen Spezialfall darstellen:



Die Bestimmung von τ_2 ¹⁾ erfolgt im allgemeinen durch Kristallstrukturanalyse in Verbindung mit Kernresonanzuntersuchungen (Kopplungskonstante J_{HNCH}). Leider läßt das umfangreiche Erfahrungsmaterial über das Strukturelement (35) nur sehr begrenzt Schlüsse auf einfache Verbindungen wie 1-15 zu, da die Konformation von Peptiden/Proteinen erheblich durch in der Regel starke Wasserstoffbrückenbindungen bestimmt ist.

N-Isopropylamide, Modellverbindungen. - Um gerade für die einfachen Verbindungen eine Diskussionsbasis zu gewinnen, wurde eine

1) In der Peptidchemie wird dieser Torsionswinkel durch den Buchstaben φ bezeichnet [187].

theoretische Konformationsanalyse mit Hilfe der PCILO-Methode [188], die sich unter den semiempirischen quantenchemischen Methoden für Konformationsberechnungen am besten bewährt hat [184b], durchgeführt¹⁾. Als Modelle wurden die N-Alkylformamide HCONHA, A=CH₃, C₂H₅, CH(CH₃)₂, C(CH₃)₃, (36)-(39), gewählt. Die Potentialkurven der "starren" Rotation²⁾ bezüglich τ_2 ³⁾ sind zusammen mit Newman-Projektionen der als wichtig erachteten Konformationen in Abb. 11 dargestellt.

Für den Formamiden (36)-(39) entsprechende Alkylformiate, für die sehr genaue experimentelle Daten vorliegen, ergab die Berechnung nach demselben Ansatz bei weitem zu hohe Energiebarrieren. Die vertiefte Untersuchung zeigte, daß im Bereich der Maxima der Potentialkurve bei Estern ein "konzertiertes" Auslenken der Formylgruppe ($\tau_1 \neq 0$) auftritt, was infolge einer Verminderung von sterischer Abstoßung die Gesamtenergie beträchtlich verringert. Um diesen wichtigen Punkt zu überprüfen, wurden für die Amide (36)-(39) sog. Ramachandran-Flächen, d. h. die Funktionen $E(\tau_1, \tau_2)$ berechnet. Ein Beispiel ist in Abb. 12 dargestellt (N-Isopropylformamid). Diese Funktion enthält die experimentell recht genau bekannten Potentialkurven $E(\tau_1)$, was eine willkommene Kontrolle ermöglicht. In allen Fällen wird sowohl die Barriere (16-17 kcal/mol) als auch die Grundzustandsenergiedifferenz (1.0-1.5 kcal/mol) der Z/E-Isomerisierung recht gut beschrieben (vgl. den vorausgehenden Abschnitt). Anders als bei Estern, ist die Energiebarriere bezüglich τ_1 sehr viel größer als die bezüglich τ_2 (~ 3 kcal/mol)⁴⁾ daher ist die "Wechselwirkung" der Bewegungen gering und die Funktion $E(\tau_2, \tau_1=0^\circ)$ stellt eine ausreichend gute Näherung zur Beurteilung der konformationellen Verhältnisse des Aminteils dar.

Wegen seiner Wichtigkeit für die vorliegende Arbeit soll die Diskussion hauptsächlich auf das N-Isopropylamid (38) konzentriert werden. Man darf erwarten, daß die PCILO-Resultate grob das richtige Bild vermitteln. Um eine möglichst genaue Aussage für die Regionen um die Minima der Potentialkurve zu erhalten, wurden zu-

1) In Zusammenarbeit mit Frau E. Golka, Institut für Theoretische Chemie der Universität Stuttgart [188a].

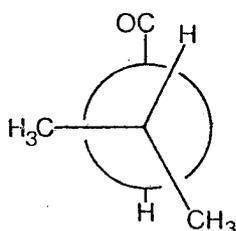
2) Als starre Rotation wird eine Bewegung bezeichnet, bei der ein Torsionswinkel sich ändert, alle anderen geometrischen Parameter aber konstant bleiben.

3) Zur Definition des Torsionswinkels τ_2 : Aus Gründen, die mit dem Rechenprogramm zusammenhängen, wurde an Stelle der Standardfestlegung nach Klyne-Prelog [189] (τ_2^\dagger) hier die folgende getroffen: $\tau_2 = \tau_2^\dagger$ im Bereich $\tau_2 = 0-180^\circ$, $\tau_2 = 360 + \tau_2^\dagger$ im Bereich $\tau_2 > 180^\circ$.

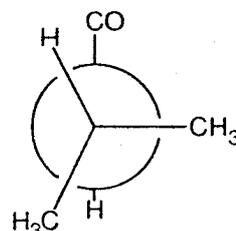
4) Bei Estern betragen beide Barrieren ca. 6-8 kcal/mol.

sätzlich Berechnungen mit dem bewährten, vor allem sehr schnellen ab initio-SCF-LCAO-Programm von Pople und Mitarbeitern [190] durchgeführt (Basissätze: STO-3G und 4-31G)¹⁾. Die Potentialkurven sind in Abb. 13 dargestellt. Bei weitem das größte Vertrauen verdient die Berechnung mit dem 4-31G-Basissatz²⁾. Als Konformationen minimaler Energie wären demnach die spiegelbildlichen Strukturen (38c') und (38c'') anzusetzen.

(verdecktes Atom = N)



(38c') $\tau_2 = 80^\circ$



(38c'') $\tau_2 = 160^\circ$

Dieser Ansatz ist nur als Vorschlag zu werten, da die Potentialkurve in der Region $\tau_2=120\pm 50^\circ$ flach ist. Eine genauere Analyse würde die Minimierung der Energie nach allen geometrischen Parametern erfordern. Dieses ist mit dem Basissatz 4-31G derzeit nicht möglich. Daß FCIL0 die entsprechende Region zu breit wiedergibt, liegt an einer für diese Methode typischen leichten Unterschätzung sterischer Wechselwirkungen.

Ein weiteres signifikantes Minimum der Potentialkurve entspricht dem symmetrischen Konformer (38d), $\tau_2=300^\circ$ (vgl. Abb. 11)³⁾. Es sollte im thermischen Gleichgewicht (Raumtemp.) keine Rolle spielen.

1) Es wurden dieselben geometrischen Parameter für sämtliche Rechnungen angesetzt.

2) Der Aufwand ist in diesem Fall beträchtlich: Man benötigt eine Rechenzeit von 55 Minuten (Großcomputer CDC 6600) für einen Punkt der Potentialkurve (STO-3G: 9 Minuten, PCIL0: 2 Sekunden).

3) Weitere lokale Minima um $\tau_2=0, 120$ und 240° besitzen vermutlich keine physikalische Relevanz, da hier Wechselwirkungen zwischen der Carbonylgruppe und den Wasserstoffen der Methylgruppen auftreten, die bei der Berechnung ohne Geometrieoptimierung völlig falsch wiedergegeben werden können.

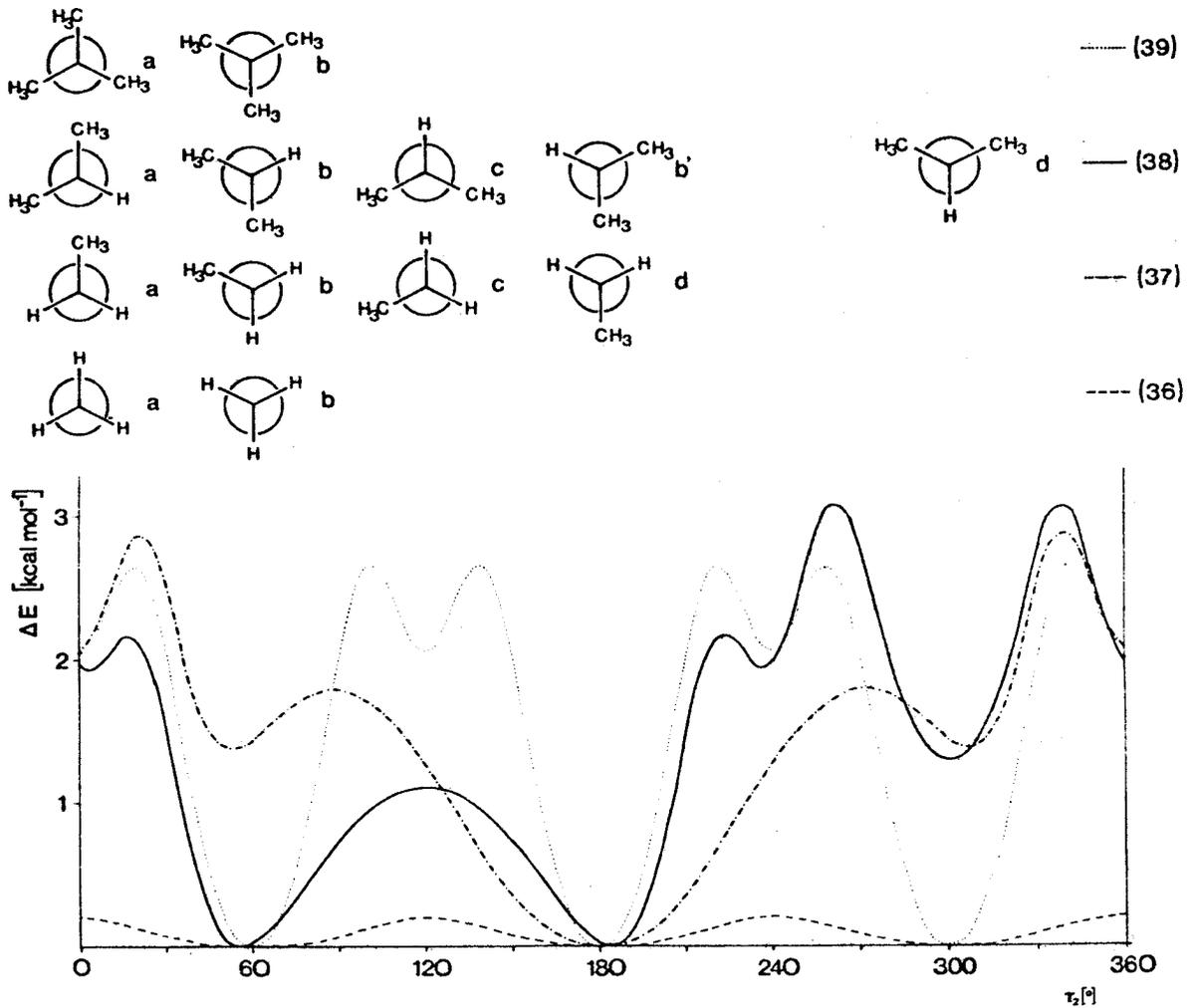
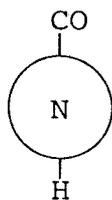


Abb. 11 Mittels der PCILO-Methode berechnete Potentialkurven der starren Rotation bezüglich τ_2 für N-Methyl- (.....), N-Ethyl- (-----), N-Isopropyl- (—) und N-t-Butylformamid (— · — · —), (36)-(39).

Zur Definition des Torsionswinkels τ_2 s. S. 97, Fußn. 3; im Falle (38) bezieht sich τ_2 auf die Gruppe $(\text{CH}_3)_{\text{Si}}$. In den am Kopf der Abbildung angegebenen Newman-Projektionen ist aus zeichnerischen Gründen die Projektion der Formylgruppe fortgelassen worden. Alle obigen Darstellungen müssen der nebenstehenden überlagert gedacht werden.



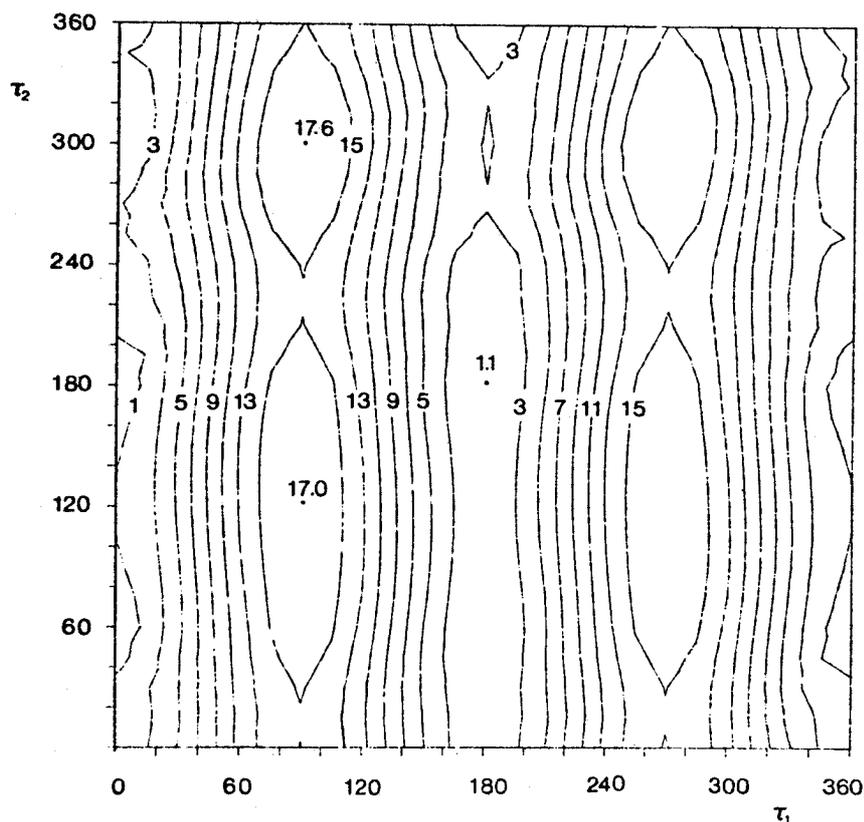


Abb. 12 Mittels der PCILO-Methode berechnete Funktion $\Delta E(\tau_1, \tau_2)$ für N-Isopropyl-formamid (Zahlenangaben: kcal/mol; Definition von τ_1 : wie für τ_2 , s. S. 97, Fußn. 3).

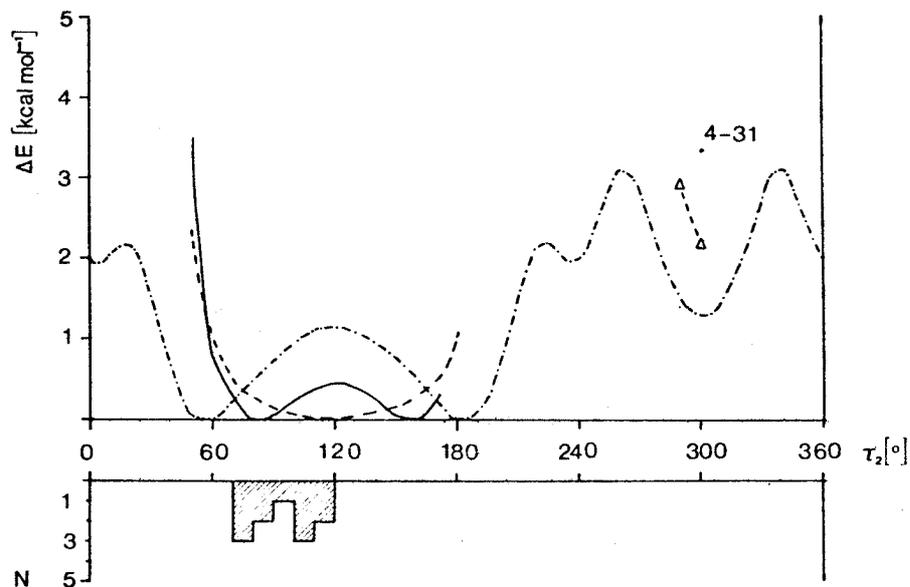


Abb. 13 (Oben) Mittels verschiedener quantenchemischer Methoden berechnete Potentialkurven der starren Rotation bezüglich τ_2 für N-Isopropyl-formamid, ---- PCILO, - - - - STO-3G, — 4-31G (vgl. S. 98);

(Unten) Häufigkeitsverteilung des Torsionswinkels τ_2 in Kristallstrukturen von N-Isopropyl-carbonsäureamiden (vgl. Ta. 5, S. 102); N: Zahl der Fälle in Intervallen von 10° .

Eine direkte Kontrolle für die Richtigkeit der berechneten Potentialkurve ist derzeit nicht möglich, da über N-Isopropylformamid keine experimentellen Daten (bezüglich τ_2) vorliegen. Die Relevanz als Modell für die Konformationen von komplizierteren N-Isopropylamiden läßt sich aber aufgrund von zwei dem organischen Chemiker gut zugänglichen Informationsquellen überprüfen:

- Röntgen-Kristallstrukturen, in denen das Strukturelement $-\text{CONHCH}(\text{CH}_3)_2$ vorkommt,
- Auswertung der $^1\text{HNMR}$ -Kopplungskonstanten J_{HNCH} mit Hilfe einer Karplus-Beziehung.

Der Einsatz der Kristallstrukturanalyse zur Konformationsanalyse beruht auf dem Gedanken, daß Störungen durch das Kristallgitter bei Mittelung über viele Strukturen statistisch unregelmäßig, der Situation in Lösung analog, wirken. Das gehäufte Auftreten einer bestimmten Konformation für ein Strukturelement¹⁾, obwohl dieses in sonst völlig verschiedenen Molekülen vorkommt, deutet insbesondere an, daß das entsprechende Minimum der Potentialkurve durch lokale Wechselwirkungen bestimmt ist. Für das Fragment $\text{CONH-CH}(\text{CH}_3)_2$ fanden sich 11 Beispiele [191]. Die Werte des Torsionswinkel τ_2 sind als Häufigkeitsverteilung der quantenchemisch berechneten Potentialkurve in Abb. 13 gegenübergestellt. Die Einzelwerte findet man in Tabelle 5. Die Mittelwerte für τ_2 betragen 94° und 143° . Sie stimmen recht gut mit den Werten aus der 4-31G-Berechnung überein.

Für die Auswertung der $^1\text{HNMR}$ -Daten folgen wir der Standard-Methode der Peptidchemiker. Bystrov, Ovshinnikov und Mitarbeiter [148a,193] haben die folgende Karplus-Beziehung für die Abhängig-

1) Hauptschwierigkeit für derartige Untersuchungen war bis vor kurzem die Literaturrecherche. Sie ist neuerdings in sehr einfacher Weise mittels elektronischer Datenverarbeitung möglich (Cambridge Crystallographic Data File [192]). Leider ist die in Stuttgart vorhandene Datenbank seit 1977 nicht mehr ergänzt worden. Der überwiegende Teil der im folgenden zitierten Röntgen-Kristallstrukturen wurde daher in "klassischer" Weise ermittelt.

Tabelle 5. Torsionswinkel der Gruppierung $-\text{CONHCH}(\text{CH}_3)_2$ aus Röntgen-Kristallstrukturen.

Nr.	$\tau'_{2\text{Si}}$ [a]	$\tau'_{2\text{Re}}$ [a]	$ \tau'_{2\text{Si}} + \tau'_{2\text{Re}} $	Ref. [191]
1	- 74	166	240	(b)
2	- 76	168	244	(d)
3	- 79	159	238	(a)
4	84	-136	220	(c)
5	- 87	149	236	(d)
6	97	-140	237	(a)
7	-101	137	238	(c)
8	103	-143	246	(c)
9	-105	130	235	(e)
10	111	126	237	(f)
11	115	-123	238	(d)

[a] Nach Klyne-Prelog definierter Torsionswinkel, $\tau'_{2\text{Si}}$ [(OC)-N-C-(CH₃)₂Si], $\tau'_{2\text{Re}}$ [(OC)-N-C-(CH₃)₂Re]

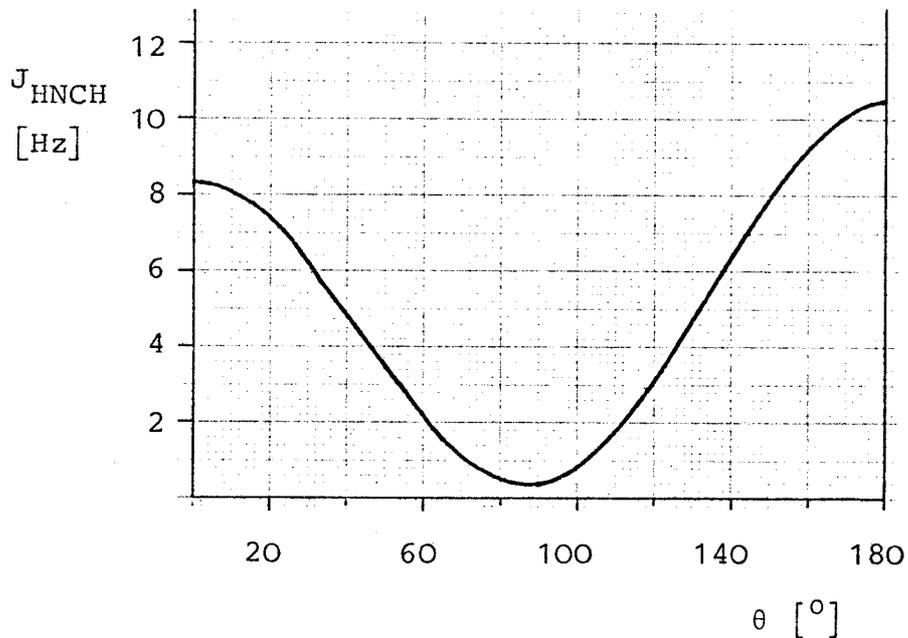


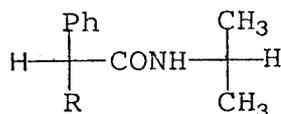
Abb. 14 Zusammenhang zwischen vicinaler Kopplungskonstante J_{HNCH} und Torsionswinkel θ [H-N-C-H] bei Amiden (Bystrov-Graph).

keit der Kopplungskonstanten J_{HNCH} vom Torsionswinkel $\theta[\text{H-N-C-H}]$ ¹⁾ erstellt:

$${}^3J_{\text{HNCH}}(\theta) = (9.8 \cos^2\theta - 1.1 \cos\theta + 0.4) \cdot 0.92 \quad \text{Gl. 4}^{3)}$$

Der Graph der Funktion ist in Abb. 14 dargestellt.

Im Verlaufe dieser Arbeit wurden ca. 30 N-Isopropylamide hergestellt und untersucht. Die Kopplungskonstante J_{HNCH} ist nahezu invariant gegen Strukturänderungen im Acylteil. Für voneinander so verschiedene Verbindungen wie die einfachen Strukturen $\text{RCONHCH}(\text{CH}_3)_2$, $\text{R}=\text{CH}_3$, $\text{c-C}_6\text{H}_{11}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ (1), und die Mitglieder der Reihe



$\text{R}=\text{CH}_3$ (2), Et, i-Pr, c-C₆H₁₁, t-Bu, Cl, Br

fällt sie in den sehr engen Bereich $J_{\text{HNCH}} = 7.95 \pm 0.1$ Hz (Chloroform⁴⁾. Unter der oben begründeten Annahme, daß Konformationen

- 1) Man beachte, daß von den Torsionswinkeln bezüglich der N-C-Bindung sich θ auf die Wasserstoffe, $\theta[\text{H-N-C-H}]$, τ_2 auf das Carboxyl-C und das $(\text{CH}_3)_{\text{Si}}-\text{C}$ bezieht, $\tau_2[(\text{OC})-\text{N-C}-(\text{CH}_3)_{\text{Si}}]$. Die Umrechnung erfordert die Kenntnis der Projektion γ des Bindungswinkels $(\text{CH}_3)-\text{C}-\text{H}^{\text{Am}}$ auf eine zur Bindung N-C senkrechte Ebene. Für die quantenchemischen Berechnungen wurde eine regulär-tetraedrische Struktur um das C-Atom $\text{CH}(\text{NHCHO})(\text{CH}_3)_2$ angesetzt, was $\gamma=120^\circ$ entspricht. Daß diese Maßnahme realistisch ist, wird durch die Röntgen-Kristallstrukturdaten in Tabelle 5 belegt (Werte $|\tau_{2\text{Si}}| + |\tau_{2\text{Re}}|$)²⁾. Für die Umrechnung ($\gamma=120^\circ$) gilt: Bereich $\tau_2=300-360^\circ$ und $0-120^\circ$: $\theta=\tau_2+60^\circ$, Bereich $\tau_2=120-300^\circ$: $\theta=\tau_2-300^\circ$.
- 2) Eine direkte Ermittlung von γ ist schwierig, da die Position von H-Atomen durch Röntgenstrukturanalyse im allgemeinen nur unter großem Aufwand hinreichend genau festgelegt werden kann.
- 3) Der Faktor 0.92, eine Korrektur für Elektronegativitätseffekte, wird in der Literatur üblicherweise fortgelassen. Statt dessen werden die Meßwerte korrigiert.
- 4) Sie ist geringfügig größer, 8.0-8.4 Hz, in den Fällen $\text{R}=\text{OCH}_3$ und $\text{R}=\text{N}(\text{CH}_3)_2$. Eine signifikante Abhängigkeit vom Lösungsmittel oder von der Konzentration wurde nicht beobachtet (nur Stichproben).

des Bereichs $\tau_2 \sim 300^\circ$ im thermischen Gleichgewicht nicht populiert werden¹⁾, ergibt sich der Torsionswinkel nach Gl. 4/Abb.14 zu $\theta \sim 150^\circ$ bzw. $\tau_2 \sim 90$ oder $\sim 150^\circ$ (Genauigkeit ca. $\pm 10^\circ$ [193]). Der obige Vorschlag wird also auch hier gestützt.

In der Literatur finden sich zwei Arbeiten, in denen aufgrund qualitativer Argumente (IR [194], LIS [195]) ebenfalls in etwa (38c')/(38c'') entsprechende Konformationen als die stabilsten vorgeschlagen werden.

Fassen wir die obigen Einsichten zusammen. Aus quantenchemischen Berechnungen, Röntgen-Kristallstrukturdaten, Kernresonanz-Kopplungskonstanten und anderen Hinweisen folgt:

- N-Isopropylamide liegen in zwei Konformationen entsprechend (38c') und (38c'') vor ($\tau_2 \approx 90$ bzw. $\approx 150^\circ$),
- Wechselwirkungen zu Substituenten des Acylteils besitzen keinen Einfluß auf die Konformation der N-Isopropylgruppe,
- die Potentialkurve bezüglich τ_2 ist flach im Bereich $70^\circ < \tau_2 < 160^\circ$, steil in den angrenzenden Regionen. Störungen (z. B. Kristallgitter) sollten daher zu Abweichungen in Richtung auf die symmetrische Konformation entsprechend (38c), $\tau_2 = 120^\circ$, führen.

Zur weiteren Vertiefung ist der Vergleich des N-Isopropylamids mit den N-Alkylamiden (36), (37) und (39), vgl. Abb. 11, nützlich. Die PCILO-Potentialkurven bilden einen Ausgangspunkt. Es ist anhand von Abb. 11 leicht zu erkennen, daß in allen Fällen Konformationen mit Bindungen in ekliptischer (syn-planarer) Stellung zur CO-Gruppe Maxima, mit Bindungen in gestaffelter Stellung zur CO-Gruppe Minima der Potentialkurven darstellen. Die Stellung relativ zur N-H-Bindung ist offenbar von sekundärer Bedeutung. Besonders ungünstig ist die syn-planare Stellung einer Methyl- zur Carbonylgruppe, wofür ohne Zweifel sterische Abstoßung die Ursache ist. Im Falle (39) wird die Konformation (39b) dadurch und wegen der hohen Symmetrie der t-Butylgruppe als stabilste festgelegt. Nur diese findet man in Kristallstrukturen von N-t-Butylamiden [196a]²⁾. Die energetisch nächst ungünstige Situation ist

-
- 1) Bei Proteinen bzw. Peptiden spezieller Struktur sind aufgrund räumlich sehr spezifischer starker H-Brückenbindungen Konformere dieser Art ($\theta \approx 0^\circ$) möglich (s. w. u.).
 - 2) N-Acylderivate anderer "tertiärer" Amine H_2N-CR_3 , $R \neq H$, [196b] sowie Amine $(CH_3)_3C-NH-CH_2R$ [196c] liegen, beurteilt anhand von Röntgen-Kristallstrukturen, in der entsprechenden Konformation vor.

eine synclinale Anordnung der Gruppierung $\text{CH}_3\text{-C-N-CO}$. Sie ist für den hohen Energieinhalt der Konformation (38d) der N-Isopropylamide verantwortlich. Wie erwähnt, werden diese Effekte der Methylgruppen von PCILO unterschätzt.

Die nach Berücksichtigung der Effekte der Methylgruppen verbleibenden Bereiche, $\tau_2 \sim 60\text{-}180^\circ$ für (37) und (38), werden von der PCILO-Berechnung offenbar falsch beschrieben¹⁾. Für (38) wurde dieses oben belegt. Anhaltspunkte finden sich auch für die N-Ethylamide. Für N-Ethylacetamid wurde aufgrund von anspruchsvollen IR-Untersuchungen [194b, 195, 197] eine Konformation $\tau_2 \sim 90^\circ$ (sowie Spiegelbild $\tau_2 \sim 270^\circ$) als einzige populierte ermittelt (PCILO: $E(\tau_2=90^\circ)=1.8$ kcal/mol, $E(\tau_2=180^\circ)=0$ kcal/mol). Auch dieses Resultat ist jedoch vermutlich nicht richtig, denn von den (leider) nur zwei Röntgen-Kristallstrukturen, die für N-Ethylamide in der Literatur gefunden werden konnten [198], zeigt die eine $\tau_2=160^\circ$, die andere eine Überlagerung von nicht weniger als fünf Konformeren bezüglich τ_2 ^{2,3)}. Mit allen Vorbehalten deutet dies darauf hin, daß die Potentialkurve, ähnlich wie wir es für N-Isopropylamide vermuten, im Bereich $60 < \tau_2 < 300^\circ$ sehr flach ist. Eine eigene Untersuchung des Problems mit Hilfe von ab-initio-SCF-Methoden ist geplant⁴⁾.

Die Schwierigkeiten in den Fällen (37) und (38) bestehen für Regionen, in denen der Wasserstoff H^{Am} dem Carbonylsauerstoff nahe ist. Dieses weckt den Verdacht, daß hier eine schwache Wasserstoffbrückenbindung, vorsichtiger formuliert: eine anziehende Wechselwirkung $\text{C-H} \cdots \text{O}=\text{C}$, abstoßenden sterischen Kräften entgegenwirken könnte. Tatsächlich ist eine derartige H-Brücke für Ester, die den Amiden sehr ähnliche stabile Konformere besitzen, mehrfach postuliert worden⁵⁾:



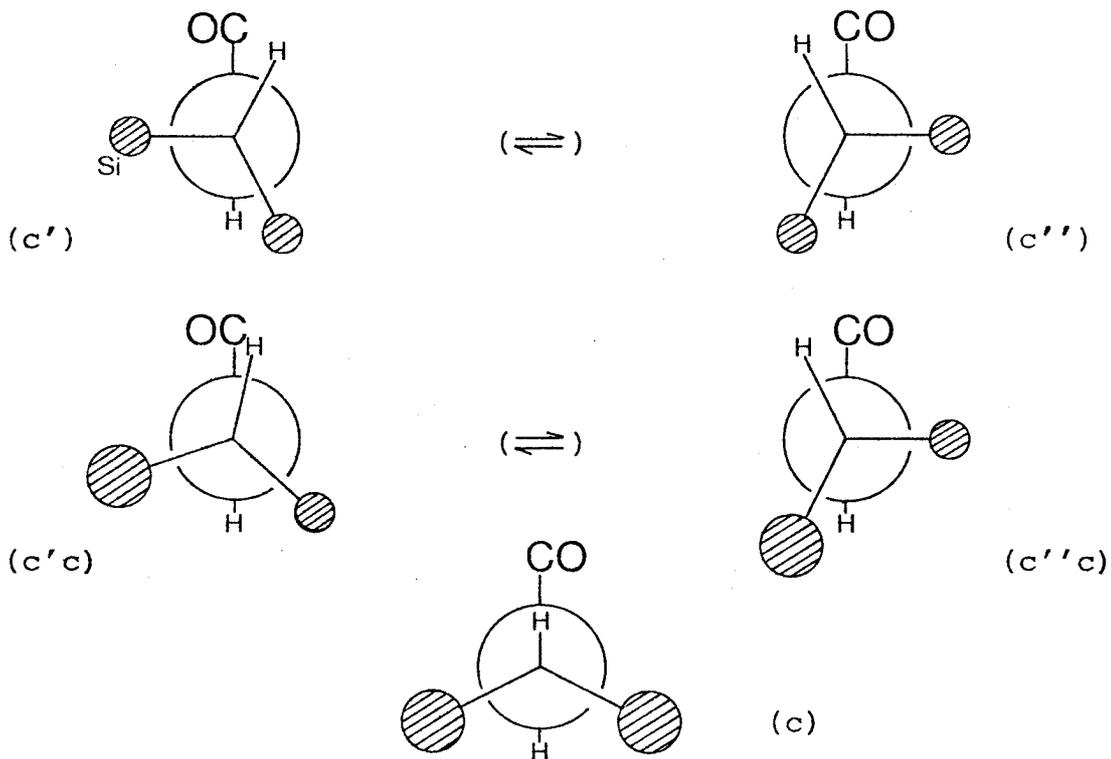
- 1) In grober Näherung lassen sich die PCILO-Potentialkurven auch für diese Bereiche deuten, wenn man annimmt, daß der Wasserstoff, ebenso wie die Methylgruppe, in synperiplaner Lage abstoßend auf die Carbonylgruppe wirkt (mit minderer Stärke).
- 2) Die Struktur ist nur im Bereich der Ethylgruppe gestört.
- 3) Auch Amide $\text{RCONHCH}_2\text{CH}_2\text{R}'$ besitzen, beurteilt nach Röntgen-Kristallstrukturen, keine einheitliche Konformation bezüglich τ_2 .
- 4) Anders als im Falle des N-Isopropylformamids, dürfte der Rechenaufwand hier selbst bei Anwendung des 4-31G-Basissatzes im "vertretbaren" Bereich bleiben, so daß eine beschränkte Geometrieoptimierung als möglich erscheint.
- 5) Eine Übersicht findet man in [199].

Pirkle ist so weit gegangen zu behaupten: Die Konformation von Estern und Amiden $\text{RCOXCHA}^1\text{A}^2$, $\text{X}=\text{O},\text{NH}$, wird durch einen derartigen Effekt, den er als "carbinyl hydrogen bonding (CHB)" bezeichnet, determiniert [199]¹⁾. Wie die obige Diskussion des N-Isopropylformamids zeigte, ist diese Ansicht nicht richtig. Daß der Wasserstoff H^{Am} im Bereich um $\theta=180^\circ$ (Region $\tau_2=60-180^\circ$) liegt, ist eine Folge von sterischen Effekten; die genaue Form der Potentialkurve kennen wir gar nicht für diese Region. Für Ester kann, wie an späterer Stelle gezeigt werden wird, ein Minimum der Potentialkurve für $\theta=180^\circ$ mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden.

Die Vermutung liegt nahe, daß die Frage nach der Relevanz eines bindenden Anteils entsprechend (40) sich am besten durch Untersuchung von N-Methylamiden, speziell N-Methylformamid (36), sollte klären lassen. Nun ist dieser Fall leider wiederum ein Problemfall. Leiserowitz und Mitarbeiter haben sich seiner angenommen [200]. In einer weit ausgreifenden Studie konnte, unter Verwendung von Methoden wie hier für (38), wahrscheinlich gemacht werden, daß von den symmetrischen Konformationen (vgl. Abb. 11) (36b) die stabilere ist und daß die Rotationsbarriere klein ist (<1 kcal/mol)²⁾. Gemäß Kraftfeld-Berechnungen ist Konformation (36a) (\equiv (40)) deshalb weniger stabil als (36b) weil die Interaktion $\text{CO}\cdots\text{H}$ repulsiv ist. Auch diese Resultate sprechen also gegen eine konformationsbestimmende Rolle von "carbinyl hydrogen bonding".

Amide $\text{RCONHCHA}^1\text{A}^2$, $\text{A}^1, \text{A}^2 = \text{Alkyl}$.³⁾ - Die obigen Ausführungen über N-Isopropylamide bilden eine Basis, auf der aufgebaut werden kann. Sofern die Deutung richtig ist, und es gibt keinen Grund daran zu zweifeln, daß (a) im wesentlichen die sterische Wechselwirkung der Methylgruppen mit der Carbonylgruppe für N-Isopropylamide konformationsbestimmend ist und (b) Wechselwirkungen des Aminteils mit den Substituenten in α -Stellung zur Carbonylgruppe vernachlässigt werden können, ergibt sich die im folgenden kleinen Schema illustrierte Vorhersage (Bezeichnungen in Analogie zu Abb. 11):

-
- 1) Der Titel der Arbeit lautet: "Conformational Control by Carbinyl Hydrogens".
 - 2) Die PCILO-Berechnung "trifft" nur zufällig das richtige Resultat. Wir fanden eine sehr starke Abhängigkeit vom Betrag des Valenzwinkels C-N-C. Innerhalb eines Bereiches von nur 5° um den experimentellen Wert (123°) wechselt die Bevorzugung von (36b) zu (36a).
 - 3) Im folgenden wird die konformationelle Situation mit Hilfe des Torsionswinkels $\theta[\text{H-C-N-H}]$ beschrieben (vgl. S.103).

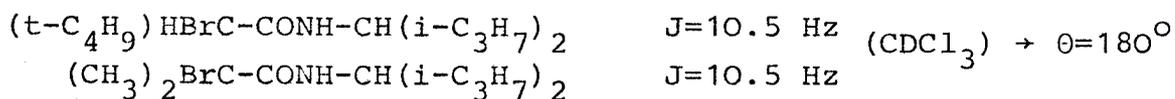


(verdecktes Atom = N)

Die Ersetzung der Si-Methylgruppe¹⁾ (kleiner Kreis) durch eine stärker "raumerfüllende" Gruppe (großer Kreis) sollte zu einer Vergrößerung von θ für die Konformation (c'c) führen, θ für (c''c) unverändert lassen. Auch die Lage des Gleichgewichts zwischen den Konformeren dürfte sich ändern. Allerdings ist es müßig, darüber zu spekulieren, denn es ist bereits fraglich, ob der Begriff "Gleichgewicht" hier angewendet werden kann. In Lösung könnten Schwingungszustände, die energetisch oberhalb der sicher kleinen Energiebarriere um $\theta=180^\circ$ liegen, bereits stark populiert sein. Moleküle, in denen auch die zweite Methylgruppe durch eine größere Gruppe ersetzt ist, dürften bereits eine Konformation besitzen, die der Grenzsituation (c) nahekommt. Diese ist durch ein Minimum der Potentialkurve bei $\theta \sim 180^\circ$ gekennzeichnet.

1) Alle folgenden Argumente gelten in gleicher Weise für die Re-Gruppe, wenn man das gesamte Schema spiegelt.

Daß diese qualitativen Folgerungen in der Tendenz richtig sind, läßt sich durch Kernresonanzdaten belegen. Tabelle 2 (Spalte H^{Am} , eingerahmter Teil) enthält die J_{HNCH} -Werte der Amide 2,3,8,9: $(CH_3)PhHC-CONH-CHA(CH_3)$, $A=CH_3$, C_2H_5 , $i-C_3H_7$, $t-C_4H_9$ ¹⁾. Im Einklang mit obigen Vorstellungen, steigt die Kopplungskonstante in der Reihe stetig, korrespondierend zu: $\theta=150^\circ$ (2) bis 165° (9) (vgl. Abb. 14). Ferner ist es wichtig, festzuhalten, daß Diastereomere (a,b) im Rahmen der Meßgenauigkeit gleiche Kopplungskonstanten besitzen: ein weiterer Beleg dafür, daß Wechselwirkungen zwischen dem Aminteil und den Substituenten des Acylteils klein sind (vgl. S.103). Beispiele für den Fall (c), A^1 und $A^2 > CH_3$ stellen die folgenden Amide²⁾ dar [201]:



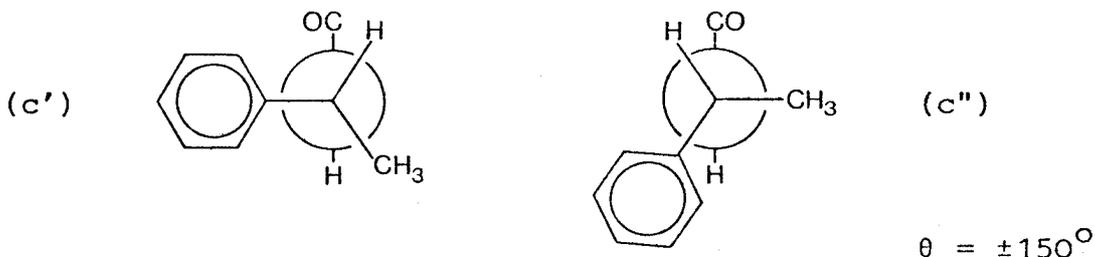
In der Literatur findet sich ein weiterer (qualitativer) Hinweis auf das Vorliegen der obigen Konformationen $\theta \sim 180^\circ$ [202]. Aus dem Vergleich von Kernresonanz-ASIS-Effekten³⁾ entsprechender Acetoxy- und Acetamido-steroiden (Positionen 3α , 3β , 6α , 6β , 11α , 17α des Steroidgerüsts)⁴⁾ wurde auf gleichartige Konformationen für Ester und Amide geschlossen. Für Ester $RCOOCHA^1A^2$ war eine näherungsweise synplanare Gruppierung (CO)-O-C-H bereits 1965 gut belegt.

Leider konnten nur wenige (10) Röntgen-Kristallstrukturen mit der Gruppierung $RCONHCH(Alkyl)_2$ gefunden werden. Da es sich bei sämtlichen Fällen um N-Acyl-cycloalkylamine handelt, zudem von sehr unterschiedlicher Struktur, erscheint der Versuch einer Auswertung nach den obigen Gesichtspunkten sinnlos. Immerhin liegt die Konformation stets im Bereich $\theta=180 \pm 40^\circ$.

-
- 1) Für die Verbindungen 4-7 ($A = n-C_nH_{2n+1}$, $n > 2$) war eine genaue Bestimmung von J_{HNCH} durch Auswertung des Signals des Protons H^{Am} nicht möglich. Beurteilt an der Aufspaltung des Protons NH (breites Signal), liegt J_{HNCH} für alle Fälle im Bereich 8.0 - 8.5 Hz.
 - 2) Für den Hinweis auf diese Verbindungen sei Herrn Prof. Quast, Würzburg, bestens gedankt.
 - 3) ASIS: Aromatic Solvent Induced Shift.
 - 4) Angesichts des sehr schönen Satzes von Verbindungen ist zu bedauern, daß über die J_{HNCH} -Werte keine genauen Angaben in [202] gemacht werden (lediglich: Bereich 8-10 Hz).

Amide $RCONHCHA^1A^2$, $A^1=Aryl$, $A^2=Alkyl$. - Die Ausführungen des vorangehenden Abschnitts betreffen direkt die Amide 1-9 des Schemas 2; sie erlauben die Festlegung der Konformation des Aminteils mit einer Genauigkeit, die allen hier verfolgten Zwecken genügt. Es verbleibt die Aufgabe, die Konformation des Aminteils für die restlichen Verbindungen des Schemas, die N-1-Phenylethylamide 10-15, festzulegen.

Einen ersten Hinweis geben die Kopplungskonstanten J_{HNCH} . Man findet sie in den Tabellen 3 (Spalte H^{Am}) und 4 (Fußn. [b]). Obwohl von geringerer Genauigkeit¹⁾ als die der entsprechenden N-Isopropylamide, läßt sich feststellen: Mit einem Bereich von 7.9 ± 0.2 Hz für 10-14, 8.0 ± 0.3 Hz für 15, stimmen sie mit denen der N-Isopropylamide (7.95 ± 0.1 Hz, vgl. S. 103) im Rahmen der Meßgenauigkeit überein. Hieraus läßt sich zum einen auf näherungsweise Übereinstimmung des Torsionswinkels θ , zum anderen wiederum auf geringe Beeinflussung der Konformation des Aminteils durch Substituenten des Acylteils schließen. Als stabile Konformationen sind die folgenden anzusetzen:

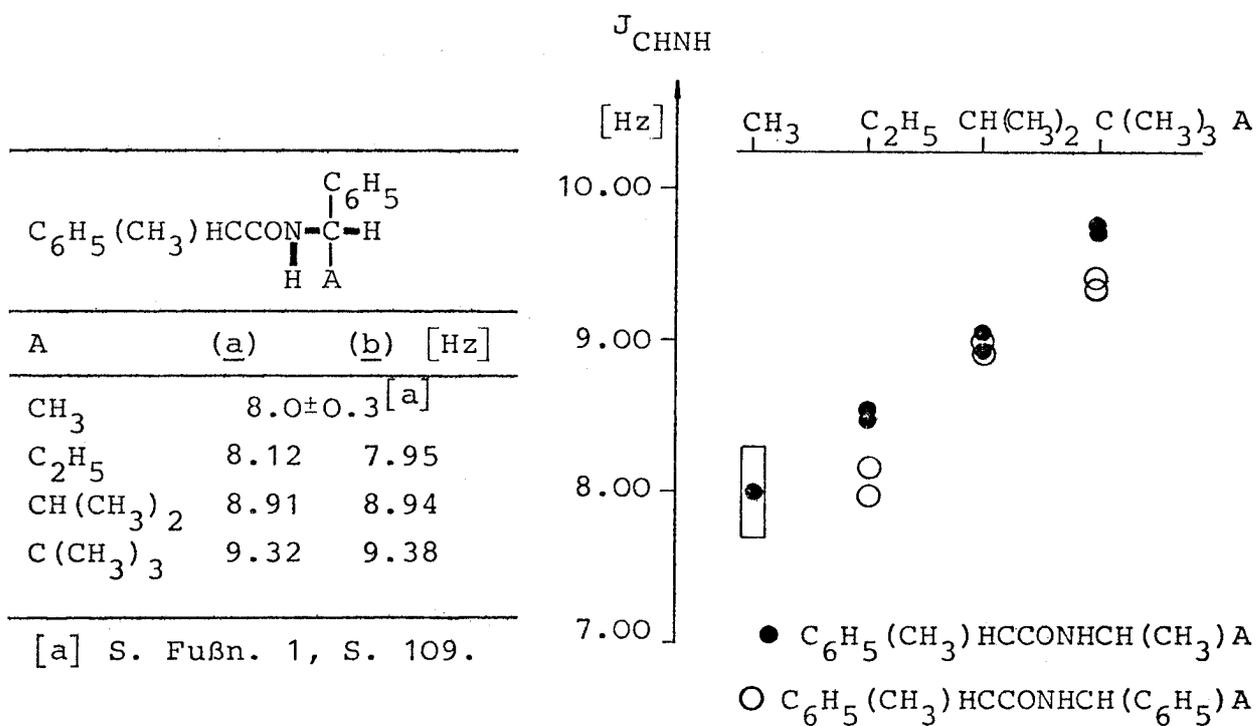


Über die relative Stabilität von (c') und (c'') läßt sich aufgrund der obigen Daten keine Aussage machen. Es gibt aber einen Hinweis darauf, daß die Situation derjenigen der N-Isopropylamide entspricht. In der Ursache-Wirkung-Denkweise ausgedrückt: Die Wechselwirkung der Carbonylgruppe scheint mit der Phenylgruppe gleich

1) Die Signale des Protons H^{Am} besitzen bei 1-Phenylethylamiden eine relativ große Linienbreite, was vermutlich durch Kopplung mit Protonen der Phenylgruppe bedingt ist. Hinzu kommt, daß die Kopplung mit dem NH-Proton sehr stark ist und $J_{H^{Am}CH_3}$ (~ 7 Hz) $\approx J_{HCNH}$. In manchen Fällen, z. B. 15, wird nur ein Quintett beobachtet. Das bei Raumtemp. sehr breite NH-Dublett erlaubt keine Auswertung. Bei Temperaturen unter $-20^\circ C$ werden die Signale schärfer, so daß J_{HNCH} mit einer Genauigkeit von ca. ± 0.3 Hz ermittelt werden kann.

zu sein wie mit der Methylgruppe. Das Argument resultiert aus einem "Substitutionstest" wie dem des vorangehenden Abschnitts: die Methylgruppe wird durch sterisch größere Gruppen ersetzt. Eine Reihe entsprechender Verbindungen¹⁾, jeweils Diastereomerenpaare, sowie ihre Kopplungskonstante J_{HNCH} ist in Tabelle 6 angegeben. Wie die danebenstehende Graphik veranschaulicht, ist die "Reaktion" auf den Substitutionstest für die Reihen $\text{RCONHCH}(\text{CH}_3)\text{A}$ und $\text{R-CONHCH}(\text{C}_6\text{H}_5)\text{A}$ praktisch gleich.

Tabelle 6 Kopplungskonstanten J_{HNCH}



[a] S. Fußn. 1, S. 109.

1) Im Einklang mit der Struktursystematik dieser Arbeit wird eine genauere Besprechung dieser Verbindungen erst an späterer Stelle erfolgen.

Die Beobachtung, daß die Methyl- und die Phenylgruppe in etwa denselben Einfluß auf die Konformation des Aminteils besitzen, läßt sich verstehen, wenn man annimmt, daß die Phenylgruppe der Carbonylgruppe ihre "Breitseite" zuwendet, d. h. eine Konformation einnimmt, wie in den obigen Newman-Projektionen dargestellt. Wie man an anderer Stelle belegen wird, steht diese Vorstellung im Einklang mit den Ergebnissen der Konformationsanalyse von Arenen.

Wiederum fanden sich einige Röntgen-Kristallstrukturen mit dem obigen sowie verwandten Strukturelementen. Von insgesamt drei N-1-Phenylethylamiden liegen zwei in Konformation (c''), eine in Konformation (c') vor [203a,b]¹⁾. Die praktisch gleiche Situation gilt für zwei 1-(1-Naphthyl)-ethylamide [203c,d]²⁾ sowie für strukturell etwas weiter entfernte Verbindungen vom Typ $RCONHCHPh(SO_2C_6H_4CH_3)$ [204a] und für Colchicin und -analoge [204b]³⁾.

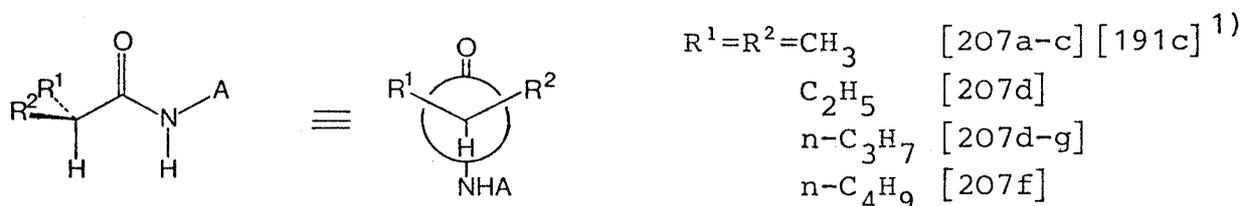
Konformation des Acylteils (τ_3)

Die Festlegung des Torsionswinkels τ_3 (vgl. S. 93) ist schwieriger als die des Torsionswinkels τ_2 , da das einfache Hilfsmittel der Auswertung von vicinalen ¹H-NMR-Kopplungskonstanten nicht einsetzbar ist⁴⁾. Für die hier zunächst interessierenden Verbindungen $R^1R^2HC-CONHA$, $R^1, R^2 = \text{Alkyl, Aryl}$, ist die Röntgen-Kristallstrukturanalyse die bisher einzige zuverlässige Informationsquelle. Hilfreich ist ferner der Vergleich mit anderen Carbonylverbindungen, vor allem Carbonsäuren, Estern und Aldehyden. Sofern Wasserstoffbrückenbindungen eine Rolle spielen, z. B. im Falle R^1 oder $R^2 = \text{Phenyl}$, erweist sich die NH-Valenzschwingungsbande

- 1) Leider sind in keinem Fall die Atomkoordinaten oder Torsionswinkel angegeben.
- 2) Beim Beispiel in [203d] handelt es sich um ein (Z)-N-Methylamid.
- 3) Das Tropolon-System ist hier die Arylgruppe
- 4) Einem Vorschlag von Karplus folgend [205a], ist von mehreren Arbeitsgruppen die Auswertung von $J_{H-^{15}N}$ -Kopplungskonstanten für das Strukturfragment $H-C-CO-^{15}NH$ (Peptide) versucht worden [205b]. Bedingt durch den enormen Aufwand sowie die geringe Größe der Kopplungskonstanten sind diese Untersuchungen nicht erfolgreich gewesen.

Leider konnten aus den PCILO-Berechnungen Anhaltspunkte über die relative energetische Lage der Konformationen minimaler Energie nicht erhalten werden, da eine starke Abhängigkeit von Bindungswinkeln und -längen auftritt.

Amide $R^1R^2HC-CONHA$, $R^1, R^2 = \text{Alkyl oder H}$. - Der Tatsache, daß Anilide von einfachen 2,2-Dialkylelessigsäuren interessante pharmakologische Wirkungen zeigen, ist es zu verdanken, daß Röntgen-Kristallstrukturanalysen für eine geschlossene Reihe von Verbindungen durchgeführt wurden (Cohen-Addad u. Mitarbeiter):

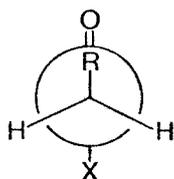


In allen Fällen liegt eine Konformation vom Typ (41ab) vor; Abweichungen von der symmetrischen Struktur fallen stets in den Bereich (41a)/(41b). Derselbe Bereich gilt auch für Cycloalkan-carbonsäureamide [208] [203a]. Die Kristallstrukturuntersuchungen wurden neuerdings durch quantitative ¹HNMR-Studien mittels paramagnetischer Verschiebungsreagentien ergänzt [207a,209]. Es wurden dieselben stabilen Konformeren gefunden²⁾.

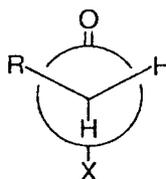
Im wesentlichen aus dem oben angegebenen Grund, mit dem zusätzlichen Impetus, Modelle für Polyamide zu studieren, wurden zahlreiche Röntgen-Kristallstrukturen für Amide $R-CH_2-CONHA$ erstellt³⁾.

- 1) In [191c] sind 2 Verbindungen beschrieben. Die Struktur der einen ist unscharf im Bereich der Isopropylgruppe, was auf das Vorliegen von 2 Konformeren hindeutet.
- 2) Allerdings wird die Zuverlässigkeit dieser Methode, wie üblich, in den zitierten Arbeiten weit überschätzt; vgl. dazu [210].
- 3) Die Literatur ist zu umfangreich, um hier voll zitiert werden zu können⁴⁾. Es sei nur auf Arbeiten von Cohen-Addad und Benedetti verwiesen [211].
- 4) Ein Verzeichnis stellt der Autor interessierten Lesern gerne zur Verfügung.

Die typischen Konformationen fallen in den Bereich der idealisierten Strukturen (42a) und (42ab)¹⁾, die (41a) und (41ab) (Schema 5) entsprechen ($R^1=R$, $R^2=H$).



(42a)



(42ab)

Wie für den Aminteil, stellt der strukturell einfachste Fall, Acetamide CH_3CONHA , das größte Problem dar. In der bereits erwähnten Arbeit [200] konnten Leiserowitz und Mitarbeiter zeigen, daß die stabilste Konformation hier (42ab), $R=H$, ist. Sämtliche erprobten theoretischen Methoden²⁾ ergaben (42a), $R=H$, als die stabilste Konformation.

Zusammenfassend läßt sich aussagen: die stabilsten Konformationen von Amidem $R^1R^2HC-CONHA$, R^1 , $R^2 =$ Alkyl oder H, sind durch eine antiplanare oder anticlinale Einstellung des Wasserstoffs relativ zur Carbonylgruppe gekennzeichnet.

Den Amidem weitgehend ähnlich sind die stabilen Konformationen anderer Carbonylverbindungen. Für Carbonsäuren, denen Kristallographen traditionell besondere Beachtung geschenkt haben, wurde durch statistische Auswertung von Kristallstrukturen nachgewiesen: Im Falle $R-CH_2-COOH$ liegt Konformation (42a), $X=OH$, [212], im Falle $R^1R^2HC-COOH$ (41a) oder (41b) [213] vor (Abweichungen stets in Richtung (41ab)). Die Estergruppe kommt in Kristallstrukturen ebenfalls sehr häufig vor. Die üblichen Konformationen sind auch für diese Gruppe (42a), (42ab) bzw. (41a), (41ab), (41b). Anders als bei Amidem und Carbonsäuren, fanden sich unter über 100 Beispielen drei Ausnahmen, Konformere entsprechend (41c) [214].

1) Hinzu kommt natürlich das Spiegelbild von (42ab).

2) Die qualitativ beste quantenchemische Berechnung s. [185e] (vollständige Geometrieoptimierung, Basissatz 4-21G); Kraftfeld-Berechnungen s. [200].

Konformationsuntersuchungen an Lösungen und für die Gasphase wurden besonders mit Aldehyden durchgeführt (Übersichten: Wilson [215], Karabatsos [216]). Für einfache Verbindungen $R^1, R^2 = CH_3, C_2H_5, X=H$, wurden als stabile Konformere stets (42a) bzw. (41a) / (41b), die durch eine Bevorzugung der anticlinalen Stellung der C-H-Bindungen relativ zur Carbonylgruppe gekennzeichnet sind, gefunden¹⁾. Sofern R^1 oder R^2 eine große Gruppe ist, z. B. t-Butyl, muß jedoch mit einem hohen Anteil an (41c) (vgl. Schema 5) gerechnet werden. Insgesamt sind (¹H-NMR) die Energieunterschiede zwischen den Konformeren (41a)-(41c), $X=H$, des Schemas 2 gering (<2 kcal/mol)²⁾.

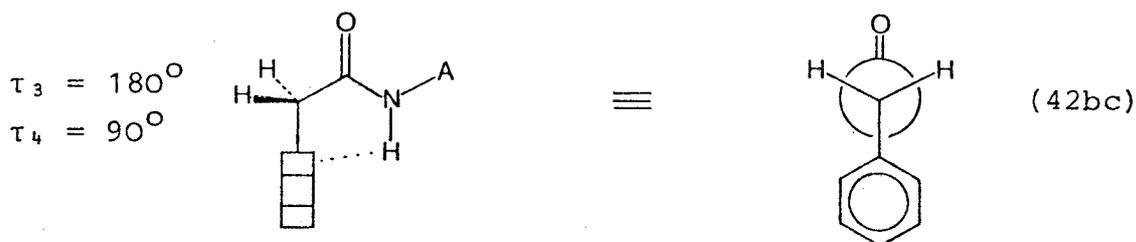
Amide $R^1R^2HC-CONHA$, $R^1=Ar$ yl, $R^2=Alk$ yl oder H. - Arene (und Olefine) wirken als schwache Wasserstoffbrückenakzeptoren. Besonders eingehend wurden intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen studiert (2-Arylethanoole, 2-Hydroxybiphenyle [218]).

Auch in den IR-Spektren von Phenylacetamiden [181b] und -thioamiden [219] findet man neben den Valenzschwingungsbanden "freier" NH-Gruppen solche von intramolekular wasserstoffbrückengebundenen Gruppen. Ein typisches Beispiel ist N-Methylphenylacetamid:

ν_{NH} (frei) = 3472 cm^{-1} , ν_{NH} (geb.) = 3452 cm^{-1} , Extinktionsverhältnis 1:6. Die Stärke der Wasserstoffbrückenbindung wird durch p-Substituenten am Phenylring sowie durch die räumliche Anordnung³⁾

- 1) In Fällen RCH_2CHO ist (42a) selbst dann das bevorzugte Konformere, wenn $R=Cl$, obwohl hier die synplanare Anordnung der C-Cl- und der C=O-Bindung aus elektrostatischen Gründen sehr ungünstig ist. Hehre und Salem haben eine sehr einleuchtende Erklärung in MO-Termen für die Bevorzugung der anticlinalen Stellung der Gruppierung $H_2C-C=O$ vorgeschlagen [217]. Eine andere Deutung, im bent-bond-Modell, wurde bereits auf S. 96 vorgestellt.
- 2) Die in [216] angegebenen Werte sind vermutlich z. T. grob falsch. Es wurde im allgemeinen die Temperaturabhängigkeit der Kopplungskonstante $J[H-C-C(=O)-H]$ ausgewertet, was aus zwei Gründen zu großen Fehlern führen kann: 1. Es wird im allgemeinen ein Gleichgewicht zwischen nur 2 hochsymmetrischen Konformeren angenommen, deren Kopplungskonstanten nicht bekannt sind. 2. Sowohl das Temperaturintervall als auch die Änderung der Kopplungskonstanten sind (vgl. Originalarbeiten) im allgemeinen sehr klein.
- 3) Weder bei Benzamiden noch bei 3-Arylpropionamiden ist eine Wasserstoffbrückenbindung nachzuweisen. Für 2-Aryl-ethanoole hat Iwamura [218b] experimentell zeigen können, daß der Wasserstoff lediglich um ca. 30° von der Linie durch C-1 senkrecht zur Aromatenebene abweichen darf.

des Akzeptors relativ zum Donor beeinflusst. Ein intuitiv einleuchtender Vorschlag für die Struktur der Spezies mit interner Wasserstoffbrückenbindung ist (42bc)¹⁾. Dieses Konformere steht im Gleichgewicht mit den obigen Konformeren (42a)/(42ab), R=Ph, X=NHA.



Der Strukturvorschlag (42bc) wird durch Röntgen-Kristallstrukturen gestützt. Es konnten nicht weniger als 9 Phenylacetamide gefunden werden [220]²⁾, von denen 7 eine Konformation entsprechend (42a)/(42ab)³⁾, 2 eine Konformation entsprechend (42bc) [220a,i] besitzen.

Nach den obigen sowie den über die Konformation des Aminteils angeführten Resultaten sollte das Gleichgewicht (42a)/(42ab) \rightleftharpoons (42bc) wenig durch den Aminteil beeinflusst werden. Um diesen Punkt zu überprüfen, wurden die N-(Phenylacetyl)-derivate des 1-Phenylethylamins und Isopropylamins hergestellt und ihre IR-Spektren gemessen (CCl₄, Konzentrationsbereich 0.01-0.1 M), vgl. Abb. 15a,b. Vor der Besprechung dieser Spektren seien einige Resultate über Referenzverbindungen angeführt.

1) Die Bezeichnung ist, wie leicht einzusehen sein dürfte, in Anlehnung an Schema 5 gewählt (R¹=Ph, R²=H, X=NHA).

2) Zwei Fälle ausgenommen, handelt es sich um Verbindungen aus der Penicillin/Cephalosporin-Reihe.

3) Der Torsionswinkel τ_3 [Ph-C-C=O] beträgt maximal 94°.

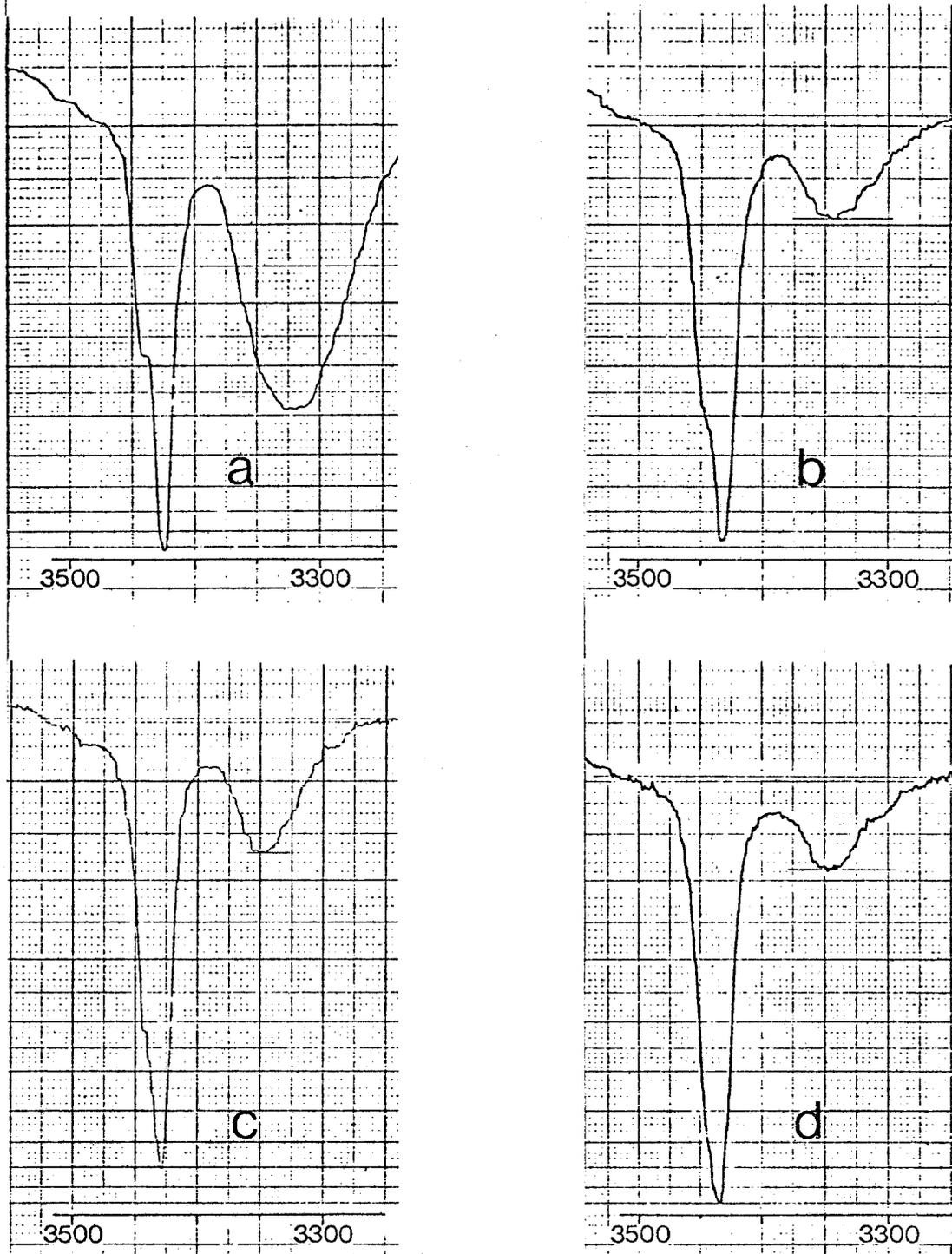
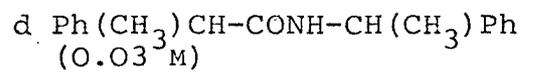
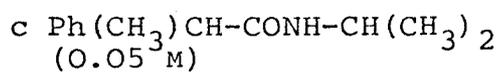
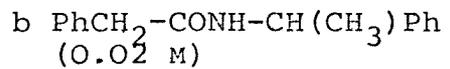
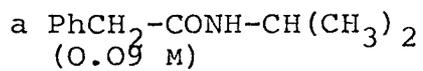


Abb. 15 Infrarotspektren von Phenylacet- und 2-Phenylpropanamiden im Bereich der NH-Valenzschwingungsbanden; Gerät: Perkin-Elmer 221 (NaCl-Küvetten), Lösungsmittel: CCl₄, Frequenzangaben: cm⁻¹;



Filleaux und Lozé [221] haben eine Übersicht über die Frequenzen der NH-Valenzschwingungsbande von einfachen alkylsubstituierten Amiden gegeben (verdünnte CCl_4 -Lösungen). Typisch sind folgende Werte (A=Alkyl, $[\text{cm}^{-1}]$): RCONHCH_3 , 3470-3475, $\text{RCONHCH}_2\text{A}$, 3458-3460, RCONHCHA_2 , 3445-3450, RCONHCA_3 , 3445-3450. R besitzt einen geringen Einfluß, ausgenommen in Fällen mit einer intramolekularen Wasserstoffbrückenbindung und im Falle $\text{R}=\text{t-Bu}$ ¹⁾. Nach eigenen Messungen fallen N-1-Phenylethylamide in den obigen Bereich $3445\text{-}3450\text{ cm}^{-1}$. Als Beispiele seien angeführt (A= $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{Ph}$): $\text{C}_6\text{H}_5\text{CONHA}$ $3448\pm 2\text{ cm}^{-1}$, $\text{c-C}_6\text{H}_{11}\text{CONHA}$ $3448\pm 2\text{ cm}^{-1}$, derselbe Wert wird für die alkylsubstituierte Verbindung $\text{n-Pr}(\text{CH}_3)\text{HC-CONH-CH}(\text{CH}_3)\text{t-Bu}$ gefunden (Messung auf demselben Gerät).

Die Banden der NH-Valenzschwingung der N-(Phenylacetyl)-derivate des Isopropyl- und 1-Phenylethylamins zeigen die erwartete Aufspaltung (vgl. Abb. 15a,b), wobei die Bande der freien NH-Gruppe in beiden Fällen nur als Schulter bei $3440\text{-}3445$ bzw. $3445\text{-}3450\text{ cm}^{-1}$ zu erkennen ist. Wie nach [181b] erwartet, absorbiert die wasserstoffbrückengebende Spezies bei um ca. 20 cm^{-1} tieferer Wellenzahl, 3425 bzw. 3430 cm^{-1} ³⁾. Die aus der Abbildung 15b ersichtliche große Breite der Banden ist für N-1-Phenylethylamide charakteristisch⁴⁾.

1) Für Pivalinsäureamide findet man in der Regel höhere Absorptionsfrequenzen (ca. 20 cm^{-1}) als die angegebenen. Verantwortlich dafür dürfte folgender Effekt sein: In Pivalinsäureamiden ist eine der drei C- CH_3 -Bindungen synplanar zur C-NH-Gruppierung angeordnet²⁾, was zu einer Stauchung der NH-Bindung, entsprechend einer Zunahme der Bindungskraftkonstanten führt [219]. Dieser Effekt sollte auch bei Konformeren (41c) von Amiden $\text{R}^1\text{R}^2\text{HC-CONHA}$ auftreten. Das Fehlen entsprechender Banden ist ein weiterer Beleg für die Richtigkeit der obigen Vorstellungen. Bei Isobuttersäurethioamiden wurden die entsprechenden Banden als Schultern auf der hypsochromen Seite der NH-Valenzschwingungsbanden beobachtet [219].

2) In allen dem Autor zur Kenntnis gelangten Röntgen-Kristallstrukturen (6 Beispiele) von Pivalinsäureamiden liegt diese Konformation vor.

3) Eine Veränderung des Intensitätsverhältnisses der beiden Banden mit der Konzentration war nicht festzustellen, obwohl im gewählten Bereich das Verhältnis der Flächen der obigen Banden zur Bande der intermolekularen Assoziate ($3300\text{-}3350\text{ cm}^{-1}$) von ca. 1:2 bis 5:1 variierte. Derselbe Befund geht aus [181b] hervor.

4) Der Autor hat keine begründete Erklärung für diesen Effekt. Als Möglichkeit sei angeführt, daß die beiden Konformere mit unterschiedlichem τ_2 (vgl. S. 109, (c') und (c'')) bei verschiedener Frequenz absorbieren könnten.

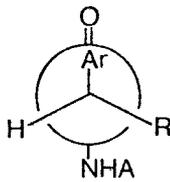
Die Untersuchung der Phenylacetamide, Verbindungen ohne Chiralitätszentrum im Acylteil, war für diese Arbeit äußerst nützlich, da ein Anhaltspunkt zur Klärung der komplizierten konformationellen Situation von 2-Alkyl-2-arylacetamiden gewonnen wurde. Wie in der Einleitung angedeutet, nimmt diese Verbindungsreihe, ebenso die Reihe der entsprechenden Ester, in der stereochemischen Forschung einen wichtigen Platz ein. Hier soll die Betrachtung zunächst weitgehend auf den strukturell einfachsten Fall, 2-Methyl-2-phenylacetamide, zu dem die Verbindungen 2-9 und 15 des Schemas 2 gehören, beschränkt bleiben.

Die NH-Valenzschwingungsbanden der Verbindungen (\pm)-2 und (\pm)-15a¹⁾, vgl. Abb. 15c,d, ähneln denen der entsprechenden Phenylacetamide. Zwischen der langwelligen Bande maximaler Intensität (2: $\sim 3430 \text{ cm}^{-1}$, 15a: $\sim 3435 \text{ cm}^{-1}$) und der kurzwelligen Schulter im Bereich $3440\text{-}3450 \text{ cm}^{-1}$, die sich nur noch aufgrund der unsymmetrischen Bandenform und des Vergleichs mit den Banden der Phenylacetamide erkennen läßt, liegen offenbar weitere Banden²⁾. Wie bei den Phenylacetamiden, ist auch hier mit einem Gleichgewicht zwischen Spezies mit freier und intern wasserstoffbrückengebundener NH-Gruppe zu rechnen. Die entsprechend zu betrachtenden Konformationen sind, bezeichnet in Analogie zum Schema 5 ($R^1=\text{Ar}$, $R^2=\text{R}$), im Schema 6 zusammengestellt; dieses ist in Hinblick auf eine Erweiterung des Stoffumfanges bereits für 2-Alkyl-2-arylacetamide allgemein formuliert.

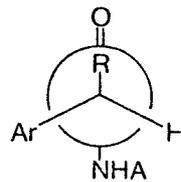
Die, verglichen mit den Phenylacetamiden, um ca. 5 cm^{-1} kürzerwellige Bandenlage sowie das Auftreten zusätzlicher Banden im Bereich zwischen 3430 und 3440 cm^{-1} deutet an, daß bei den 2-Methyl-2-phenylacetamiden die für eine Wasserstoffbrückenbindung optimal erscheinende Konformation (43bc), mit zur C-CO-Bindung um 90° verdrillter Phenylgruppe ($\tau_4=90^\circ$, vgl. (42bc))

1) (\pm)-15b zeigt ein praktisch deckungsgleiches Spektrum.

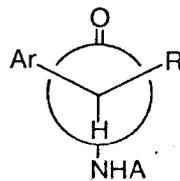
2) Die Amide 9a, 9b [$(\text{CH}_3)\text{PhHC}-\text{CONH}-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{t-Bu}$] (Schema 2) besitzen untereinander und zu 15a, 15b nahezu deckungsgleiche NH-Valenzschwingungsbanden.



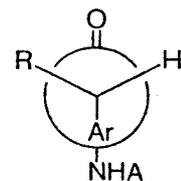
(43a)



(43b)



(43ab)



(43bc)

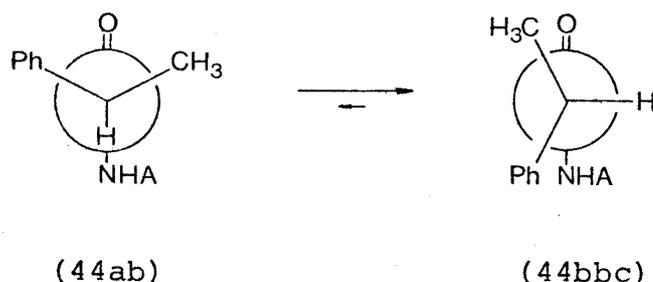
Schema 6 Grundtypen der Konformationen von 2-Alkyl-2-arylacetyl-
amiden, $\text{R}^{\text{Ar}}\text{HC}-\text{CONHA}$.

nicht erreicht ist. Folgende weitere Gründe sprechen für eine Struktur der brückengebundenen Form, die zwischen (43b) und (43bc) liegt: 1. N-Isopropyl-1-indancarbonsäureamid, eine Verbindung, in der die Arylgruppe den Torsionswinkel $\tau_4=90^\circ$ nicht einnehmen kann, zeigt Abb. 15a entsprechende NH-Valenzschwingungsbanden. 2. Das Gleichgewicht $(43ab) \rightleftharpoons (43bc)$ sollte durch die Gruppe R wenig beeinflusst werden, da diese in beiden Konformationen eine spiegelbildlich gleiche Lage relativ zur planaren Amidgruppe einnimmt¹⁾. In der Reihe $\text{RPhHC}-\text{CONH}-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $\text{R} = \text{CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5, \text{CH}(\text{CH}_3)_2, \text{C}(\text{CH}_3)_3$, findet jedoch mit dem Anwachsen von R eine Umkehrung des Extinktionsverhältnisses²⁾ der beiden NH-Banden statt (Frequenzen ~ 3430 und $\sim 3445 \text{ cm}^{-1}$).

1) Dieses Argument setzt natürlich voraus, daß die Beeinflussung der Konformation der Arylgruppe durch R keine wesentliche Rolle spielt.

2) Bei $\text{R} = \text{C}_2\text{H}_5$ ist die Extinktion der beiden Banden gleich.

Nimmt man sämtliche obigen Informationen zusammen, erscheint ein Gleichgewicht $(44ab) \rightleftharpoons (44bbc)$ als bester Vorschlag für die Konformation des Acylteils von 2-Methyl-2-phenylacetamiden, also der Verbindungen 2-9 und 15 des Schemas 2:



Es fand sich lediglich eine Röntgen-Kristallstruktur mit dem Strukturelement $ArRHC-CONH$ [222]. Sie ist in Abb. 16 dargestellt, weil hier eine sehr typische Konformation (43ab) vorliegt¹⁾.

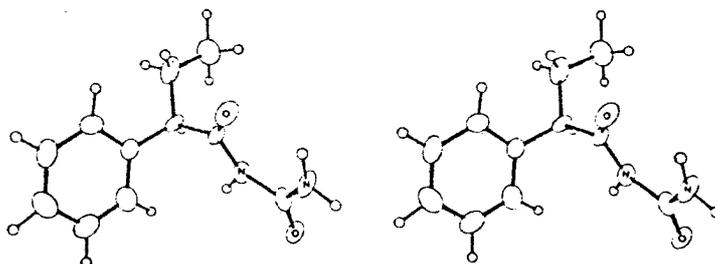


Abb. 16 Stereobild einer Kristallstruktur mit dem Strukturelement $Ph(C_2H_5)HC-CONH$; aus [222] entnommen.

Reichhaltiger ist der "Schatz" an Röntgen-Kristallstrukturen entsprechender Carbonsäuren und Ester. Es fanden sich 3 am Phenylring substituierte (m- oder p-Stellung) 2-Phenylpropionsäuren $Ar(CH_3)HC-COOH$ [223]²⁾ sowie 3 entsprechende Ester [224]³⁾, ferner 2 kernsubstituierte 1-Indancarbonsäuren [225] und zwei

-
- 1) Eine PCILO-Berechnung des N-Isopropyl-2-phenylpropionsäureamids ($\tau_2=120^\circ$) ergab eine bezüglich τ_3 und τ_4 praktisch identische Struktur als Konformation minimaler Energie.
 - 2) Verbindungen dieses Typs sind wichtige Arzneimittel (Anti-phlogistika) [157].
 - 3) Es handelt sich um Ester der Tropasäure $Ph(CH_2OH)HC-COOA$; in keinem Fall bildet die OH-Gruppe eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung.

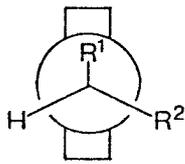
2,2-Diphenyllessigsäuren [226a,b] sowie ein entsprechender Ester [226c]. In allen Fällen liegt eine Konformation vom Typ (43ab) \cong (41ab) vor. Diese ist also auch im Falle der Arylgruppe als Substituent die stabilste Konformation, sofern Wasserstoffbrückenbindungen keine Rolle spielen¹⁾.

Die Konformation der Arylgruppe in Verbindungen Ar-CHR¹R²,
R¹, R² \neq H, (τ_4)

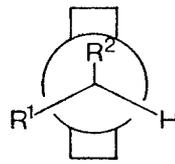
Wegen der gleichartigen Hybridisierung (sp^3-sp^2) ist die konformationelle Situation um die Bindung R₃C-Ar derjenigen um die Bindung R₃C-(C=O) eng verwandt. Für den hier primär interessierenden Fall R¹R²HC-Ar, Ar sei eine symmetrisch substituierte Arylgruppe, sind die im Schema 7 dargestellten Konformationen, die wiederum ausgezeichnete Bereiche der Potentialkurve repräsentieren, zu diskutieren. Der obigen Analogie entsprechend, ist Schema 7 grundsätzlich nach dem Muster von Schema 5 aufgebaut. Wegen der Symmetrie der Arylgruppe ist die (41c) entsprechende Konformation (45c) mit (45ab) identisch.

Die einfachste der obigen Verbindungen, Isopropylbenzol, ist glücklicherweise verhältnismäßig eingehend untersucht worden. Aufgrund der chemischen Verschiebung (¹HNMR) wurde auf (45ab) als stabilste Konformation geschlossen [227]. Genauere Untersuchungen (Gasphase, Elektronenbeugung [228], IR von Lösungen und orientierten Kristallen [229]) zeigten, daß tatsächlich ein Gleichgewicht (45a)/(45b) \rightleftharpoons (45ab) vorliegt, für das ΔH zu -0.8 kcal/mol abgeschätzt wurde. Ebenso wie (41n) bezüglich τ_3 , stellt (45n) bezüglich τ_4 ein Maximum der Potentialkurve dar. Z. B. wurde für Phenylcyclohexan (äquatoriale Konformation) durch Kraftfeldberechnungen (45ab) als Konformation minimaler, (45n) als Konformation maximaler Energie ermittelt ($\Delta E=3.9$ kcal/mol) [230].

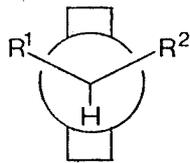
1) Bei den Carbonsäuren ist im Prinzip eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung möglich. Man beobachtet entsprechende Spezies in Lösung bei Verbindungen X-CR₂-COOH, sofern X ein starker Wasserstoffbrückenbindungsakzeptor ist. In Kristallen liegen jedoch in der Regel über die Carboxylgruppen intermolekular verbrückte Dimere vor (vgl. z. B. [212c]). Diese sollten in ihren Konformationen eher Estern als Amiden gleichen.



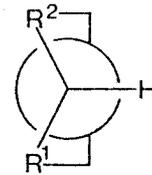
(45a)



(45b)



(45ab)



(45n)

Schema 7 Grundtypen der Konformationen einer symmetrisch substituierten Arylgruppe.

Bei α, α, o, o' -tetrasubstituierten Toluolen liegt die Energiebarriere der Rotation der Arylgruppe im Bereich 7-15 kcal/mol, was eine Konformationsanalyse mittels dynamischer Kernresonanzspektroskopie (DNMR) erlaubt [231]. In einer sehr eingehenden Studie, bei der DNMR-Methoden mit Kraftfeldberechnungen kombiniert wurden, konnten Manschreck und Ernst [231a] zeigen, daß im Falle des o, o', p -Trimethylcumols eine Potentialkurve mit nur (45ab) (Minimum) und (45n) als Extrema vorliegt ($\Delta E(\text{berechnet})=15.9$ kcal/mol, $\Delta \Delta G(\text{gemessen})=12.8$ kcal/mol). Nach der Berechnung liegen die (45a)/(45b) entsprechenden Punkte der Potentialkurve bereits um ca. 10 kcal/mol über dem Minimum. Aus diesem Ergebnis läßt sich die bemerkenswerte Schlußfolgerung ziehen: eine o, o' -disubstituierte Phenylgruppe (z. B. die Mesitylgruppe) ist in Verbindungen $\text{Ar-CHR}^1\text{R}^2$, $\text{R}^1, \text{R}^2 \neq \text{H}$, nahezu starr in einer Konformation mit koplanarer Anordnung von Arylgruppe und benzyli-scher CH-Bindung fixiert.

Der Bereich $\text{Ar-CHR}^1\text{R}^2$ kommt in vielen Kristallen vor, deren Struktur durch Diffraktionsanalyse aufgeklärt wurde. Eine systematische Auswertung des Datenmaterials ist noch nicht erfolgt. Im Zusammenhang mit der Diskussion der Gruppierungen $\text{RCONH-CHA}^1\text{Ar}$ und $\text{R}^1\text{ArCH-CONHA}$ wurde bereits eine recht große Zahl von Beispielen angeführt, vgl. [203,204a,223-226]. Für alle diese Fälle wird die Konformation am besten durch (45ab) repräsentiert, mit Abweichungen in Richtung auf (45a)/(45b). In Abb. 16 ist ein typisches Beispiel wiedergegeben. Als verwandte, dieselben Konformationen aufweisende Beispiele seien Salze des 1-Phenylethylamins mit 2-Alkylphenyllessigsäuren [49,232a,b] sowie einige andere Verbindungen mit der N-1-(Phenylethyl)-Gruppierung angeführt [232c,d].

2.2.4 Analyse der Diastereotopieeffekte; Begründung einer Regel zur Konfigurationsbestimmung

Die für die physikalische Deutung des Richtungssinns der Diastereotopieeffekte prinzipiell wichtigen Gesichtspunkte sind im Abschnitt 2.2.2 behandelt worden. Das dort skizzierte Programm erfordert zunächst eine Festlegung der Gesamtkonformation der Amide, dann eine "Vorhersage" über die relative chemische Verschiebung der diastereotopen Gruppen.

Konformationen der Amide 1-15. - Die Ausführungen im vorangehenden Abschnitt betreffen die Konformation von Teilbereichen der Amide. Es gilt nun, die Informationen "zusammenzufügen", d. h. die Konformationen der Gesamtmolekeln anzugeben. Es ist leicht einzusehen, daß die Betrachtung sämtlicher Möglichkeiten, die sich durch Kombination der Teilkonformationen ergeben, zu einer kaum übersehbaren Fülle von Strukturen führt. Eine Reduktion der Information ist erforderlich. Sie erfolgt mittels eines Satzes von 6 Postulaten (vgl. Schema 8, hervorgehobene Felder auf der rechten Seite)¹⁾:

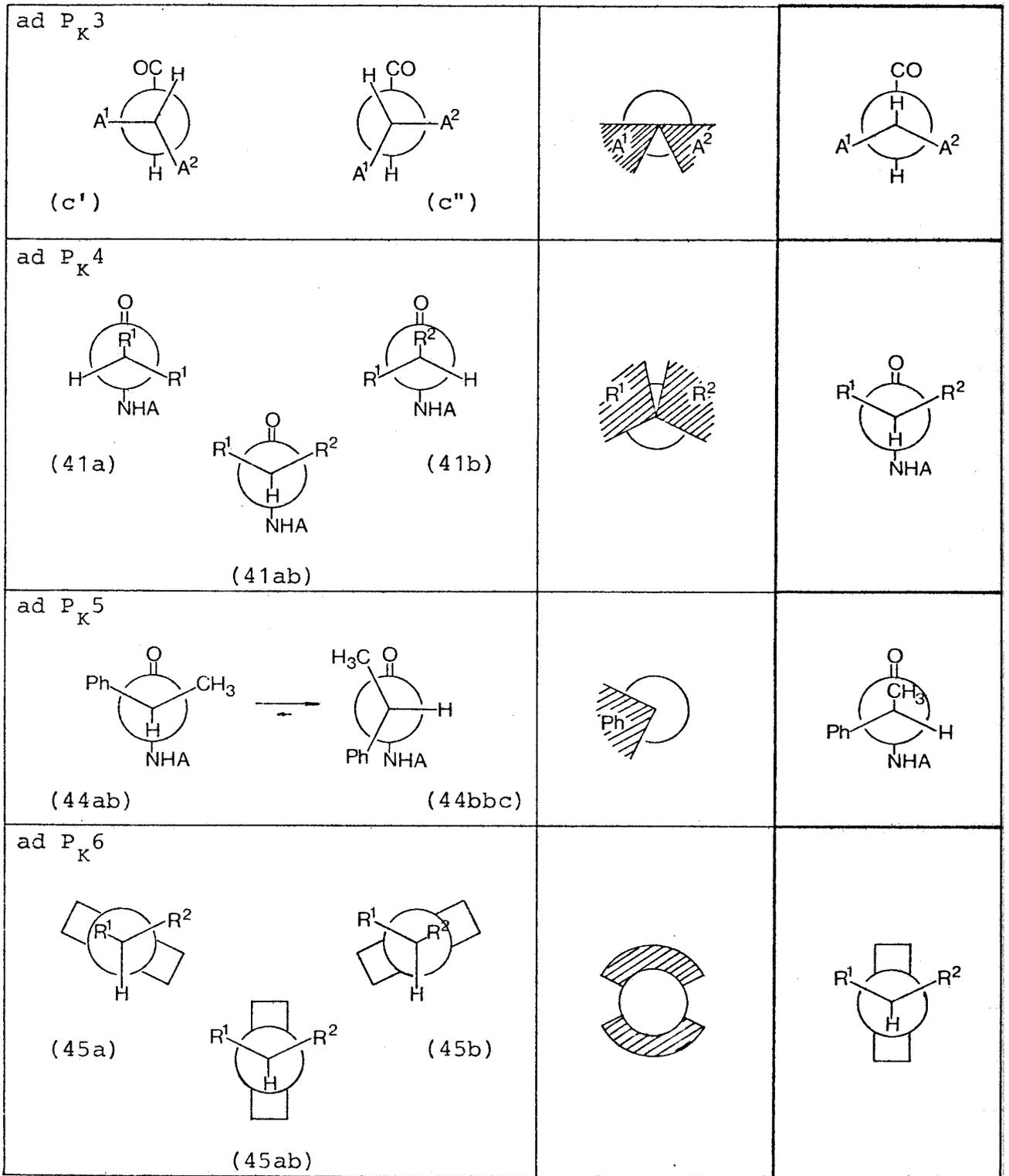
- P_K 1. Die Amidgruppe liegt in der planaren Z-Konformation vor. Es sei für alle folgenden Ausführungen festgelegt, daß bei Formelbildern, die Konformere in der Aufsicht darstellen, die Amidgruppe durch -CONH- symbolisiert ist und der Sauerstoff nach oben weist.

1) Der Index K weist darauf hin, daß die Postulate sich auf Konformationen beziehen (es werden im folgenden noch anders indizierte vorkommen).

- $P_K 2$. Direkte Wechselwirkungen der Substituenten R^1, R^2, H des Acylteils mit den Substituenten A^1, A^2, H des Aminteils werden vernachlässigt (d. h. τ_2 und τ_3 sind voneinander nicht abhängig).
- $P_K 3$. Die Konformation des Aminteils in Amiden $RCONHCHA^1A^2$ ist durch eine synplanare Stellung der C-H-Bindung relativ zur Carbonylgruppe gekennzeichnet.
- $P_K 4$. Die Acylgruppe von Amiden $R^1R^2HC-CONHA$ besitzt eine Konformation mit antiplanarer Stellung der C-H-Bindung relativ zur Carbonylgruppe, sofern die Gruppen R^1, R^2 Wasserstoffbrückenbindungen nicht ausbilden und die Bindung zum zur Carbonylgruppe α -ständigen C-Atom kein hohes Bindungs-Dipolmoment besitzt.
- $P_K 5$. Die Konformation von 2-Phenylpropionamiden $Ph(CH_3)HC-CONHA$ ist durch eine synplanare Stellung von Methyl- und Carbonylgruppe gekennzeichnet.
- $P_K 6$. In Verbindungen $Ph-CHR^1R^2$ ist die Phenylgruppe koplanar zur benzyllischen C-H-Bindung angeordnet.
- $P_K 1$ wurde bereits begründet (S. 93-96) und bedarf keiner weiteren Erläuterung.

$P_K 2$ ist eine Näherung, deren Gültigkeit die Voraussetzung zur Aufstellung allgemeiner Regeln zur Konfigurationsbestimmung ist. Auf die Verbindungen 1-15 ist $P_K 2$ sicher anwendbar; die Gruppen R^1, R^2 und A^1, A^2 sind voneinander weit entfernt und gehen, nach CPK-Modellen beurteilt, keine Wechselwirkungen miteinander ein¹⁾. Als experimenteller Hinweis wurde (vgl. S. 108) die Unabhängigkeit der Kopplungskonstanten J_{HNCH} vom Acylteil angeführt. Es kann aber kein Zweifel daran bestehen, daß $P_K 2$ in speziellen Fällen unrichtig ist. Die Grenzen des Gültigkeitsbereichs von $P_K 2$ markieren gleichzeitig im wesentlichen den Anwendungsbereich der auf Dia-

1) Natürlich lassen sich für langkettige Alkylgruppen, z. B. $A^1 = n-C_{14}H_{29}$, immer Konformationen angeben, bei denen die Alkylkette in den Bereich des anderen Molekülteils, im Beispiel: die Acylgruppe, ragt. Zweifellos ist der Anteil solcher Konformerer sehr gering.



Schema 8 Newman-Projektionen zur Veranschaulichung der Postulate P_K^3-6 .

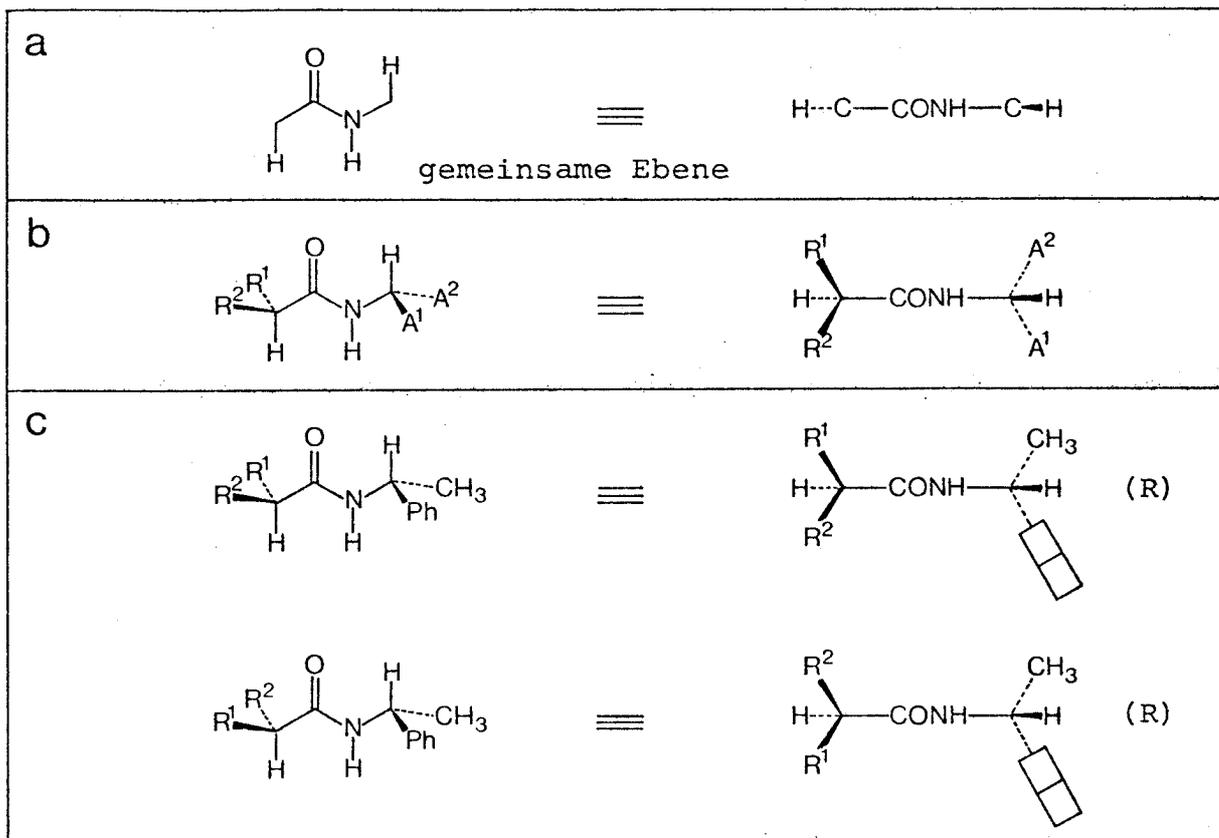
stereotopieeffekten beruhenden Regeln zur Konfigurationsbestimmung. Sie werden im folgenden, nach der Ableitung der Regeln, noch genauer besprochen.

Die Postulate $P_K 3 - P_K 6$ legen die Konformation der im vorausgehenden Abschnitt besprochenen Strukturbereiche jeweils als formales Mittel¹⁾ der wahrscheinlich hochpopulierten Konformationen fest. Zur Unterstützung der verbalen Beschreibung dient Schema 8. In diesem sind in der linken Spalte die Konformationen angegeben, mit deren Population nach Abschnitt 2.2.3 gerechnet werden muß. In der mittleren Spalte sind die korrespondierenden Raumbereiche (schraffiert) des wahrscheinlichsten Aufenthalts der Gruppen A^1 , A^2 und R^1, R^2 dargestellt²⁾. Die rechte Spalte enthält die den Postulaten entsprechenden Konformationen, bei denen A^1, A^2 und R^1, R^2 , ausgenommen im Falle $P_K 5$, in der Mitte der schraffierten Bereiche liegen.

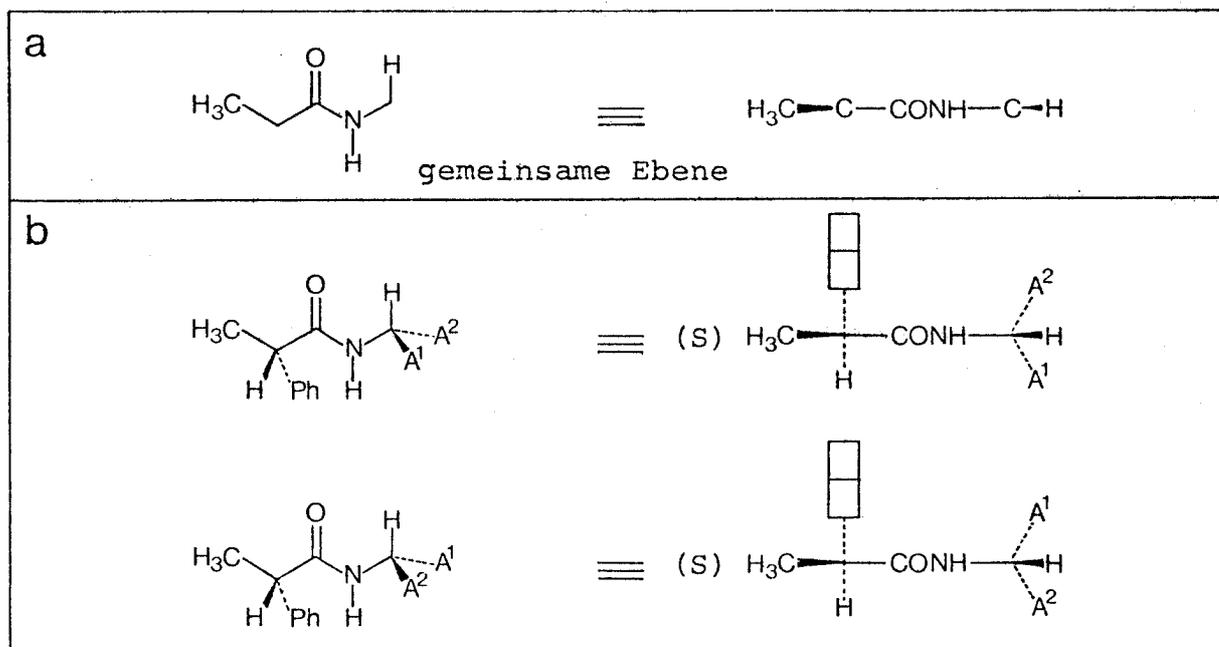
In den Fällen $P_K 4$ und $P_K 6$ entspricht das formale Mittel der energetisch günstigsten Konformation. Bei $P_K 3$ ist dieses nicht der Fall, sofern A^1 und A^2 sterisch kleine Gruppen sind. Die Beschreibung der räumlichen Lage von A^1 und A^2 ist aber wegen der Enge der schraffierten Bereiche für alle hier verfolgten Zwecke bereits als sehr genau zu betrachten. Zweifellos die schlechtere Beschreibung der physikalischen Situation bietet $P_K 5$. Man wird das Postulat als Ausgangspunkt der Untersuchungen herausziehen, jedoch stets sorgfältig prüfen müssen, ob auf dieser Basis stehende Aussagen auch für die Grenzkonformationen (44ab) und (44bbc) zutreffen.

Die aufgrund der Postulate, die offensichtlich als "Konstruktionsvorschriften" aufgefaßt werden können, resultierenden Konformationen der Amide des Schemas 2 sind in den Schemata 9 und 10 dargestellt. Folgende bemerkenswerte Punkte sind hier hervorzuheben:

-
- 1) In der Literatur werden derartige Strukturen häufig als "zeitlich gemittelte" bezeichnet. Tatsächlich steht hinter diesem Begriff kein sinnvoller physikalischer Inhalt, vgl. [233].
 - 2) In der letzten Zeile wurde dagegen, wie leicht ersichtlich sein dürfte, aus zeichnerischen Gründen die Phenylgruppe variiert, R^1, R^2, H festgehalten.

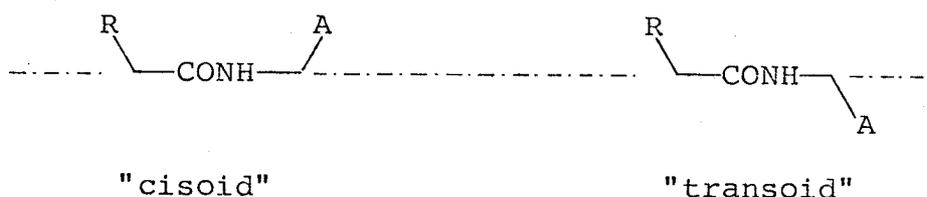


Schema 9 Aufgrund der Postulate P₁-6 abgeleitete Konformationen von Amid^Ken $R^1R^2HC-CONH-CHA^1A^2$, $R^1, R^2 = \text{Alkyl}$.



Schema 10 Aufgrund der Postulate P_K1-6 abgeleitete Konformationen von 2-Phenylpropionsäureamiden.

1. Sämtliche Amide $R^1R^2HC-CONH-CHA^1A^2$, $R^1, R^2 = \text{Alkyl}$, lassen sich aufbauen, indem ein allen gemeinsames planares Gerüst, das als "gemeinsame Ebene" bezeichnet werden soll, mit den Gruppen R^1, R^2, A^1, A^2 besetzt wird (vgl. Schema 9). Auch die Amide der 2-Phenylpropionsäure besitzen eine gemeinsame Ebene, die von der obigen aber verschieden ist (vgl. Schema 10).
2. In den durch die Postulate festgelegten Konformationen lassen sich Stereoisomere, speziell Diastereomere durch Vertauschung von Substituenten am planaren Grundgerüst ineinander umwandeln, sie sind damit Permutationsisomere (vgl. Schema 9c: Vertauschung von R^1 und R^2 , Schema 10b; Vertauschung von A^1 und A^2).
3. Das Vorhandensein der gemeinsamen Ebene in jedem Diastereomerenpaar erlaubt es, die relative Konfiguration der Diastereomeren formal als cis-trans-Isomerie zu behandeln. Entsprechend läßt sich die räumliche Beziehung je zweier nicht in der gemeinsamen Ebene liegender Gruppen aus Acyl- und Aminoanteil als "cisoid" oder "transoid" charakterisieren, je nachdem, ob die Gruppen auf derselben Seitenfläche¹⁾ oder auf Gegenseitenflächen der gemeinsamen Ebene liegen:

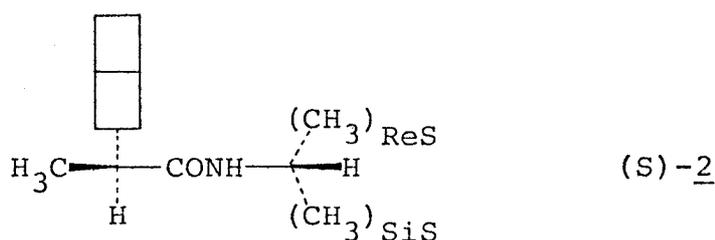


Diastereotopieeffekte. - Nachdem die konformationellen Punkte geklärt sind, kann die Frage nach der chemischen Verschiebung der diastereotopen Gruppen in Angriff genommen werden. Die Grundlage zur Theorie der Kernresonanzspektroskopie bildet die bekannte Monographie von Jackman und Sternhell [234], in der Modellvor-

1) Der Begriff "Seitenfläche" wird hier als dem englischen Ausdruck "face" äquivalent betrachtet. Im Gegensatz zum deutschen besitzt das englische Wort eine eindeutig klare Bedeutung (vgl. Anhang II und [11]).

stellungen über den Zusammenhang zwischen Struktur und chemischer Verschiebung besonders eingehend behandelt sind¹⁾. Alle im folgenden angestellten Betrachtungen beziehen sich auf Protonen.

Zunächst sei am Beispiel der Verbindung 2 der Fall der internen Diastereotopie diskutiert. Für 2 ist nach Schema 10b die folgende Konformation anzusetzen:



Der üblichen Behandlung folgend [234], wird die chemische Verschiebung eines Protons durch Berechnung bzw. Abschätzung additiver Beiträge zur Abschirmungskonstanten σ analysiert²⁾:

$$\sigma = \sigma^L + \sigma^N + \sigma_s \quad \text{Gl. 5}$$

In Gleichung 5 beschreibt σ^L den lokalen (L) diamagnetischen Beitrag der Elektronenhülle des betrachteten Protons, σ^N den magnetischen Einfluß benachbarter (N) chemischer Bindungen bzw. Gruppen desselben Moleküls und σ_s den Beitrag des Lösungsmittels bzw. Mediums zur Abschirmungskonstanten³⁾. Man beachte, daß alle elektrischen Einflüsse, sowohl durch Bindungen vermittelte als auch Feldeffekte, zum Term σ^L zu rechnen sind.

In der obigen Konformation kann eine unterschiedliche chemische Verschiebung der Gruppen $(\text{CH}_3)_{\text{SiS}}$ und $(\text{CH}_3)_{\text{ReS}}$ nicht durch Effekte

1) Vorbild für die Übersetzung der Termini technici ist [235].

2) $\sigma > 0$ bedeutet Resonanz bei höherem, $\sigma < 0$ bei tieferem Feld relativ zu einem Standard.

3) In [234], S. 63, sind die Terme σ^L und σ^N noch weiter aufgeschlüsselt in einen diamagnetischen und paramagnetischen Anteil. Für die Praxis der Protonenresonanz spielt diese Verfeinerung keine Rolle.

von Atomen oder Gruppen der gemeinsamen Ebene bedingt sein, denn die Methylgruppen sind zu dieser spiegelsymmetrisch angeordnet. Die Ursache des Diastereotopieeffekts muß also in den Beziehungen zu den Gruppierungen C-Ph und C-H^{Ac} gesucht werden. Obwohl das obige Bild der Konformation eine Erklärung suggeriert, seien alle grundsätzlich möglichen Effekte, d. h. Beiträge zu σ (Gl. 5) diskutiert¹⁾.

Nach [234] (S.67) tragen 5 Faktoren zu σ^L bei: (a) Direkte elektrostatische Effekte durch Felder von Ladungen und Dipolen (Beschreibung durch die Buckingham-Gleichung), (b) induktive Effekte, (c) Mesomerieeffekte, (d) Hybridisierung des Atoms, an welches das betrachtete Proton gebunden ist, sowie (e) van-der-Waals-Effekte. Keiner dieser Effekte kann im vorliegenden Fall eine Rolle spielen.

Das Medium, Term σ_s von Gl. 5, beeinflusst die chemische Verschiebung von Protonen sehr stark. Für eine Differenzierung der diastereotopen Gruppen bestehen grundsätzlich zwei Möglichkeiten: (a) Unterschiedliche Solvatation bzw. unterschiedliche Neigung zur Ausbildung von Kollisionskomplexen in den durch die gemeinsame Ebene getrennten Halbräumen²⁾, (b) Eigenassoziation des Amids. Die angesichts der sehr unterschiedlichen sterischen Situation auf den beiden Seiten der gemeinsamen Ebene plausible Möglichkeit (a) kann ausgeschlossen werden, denn man müßte gegebenenfalls bei Variation des Lösungsmittels Wechsel des Vorzeichens der Diastereotopieeffekte finden. Das ist nicht der Fall, außer in speziellen Situationen bei sehr kleinen Effekten. Im Rahmen dieser Arbeit wurden beispielsweise sehr häufig Tetrachlorkohlenstoff, Methanol oder Benzol neben Chloroform verwendet. Der Einfluß der ersteren ist gering; Benzol bewirkt starke Verschiebungen (rel. zu Chloroform) (ASIS-Effekt)³⁾, aber keine Vorzeichenänderung. Möglichkeit (b)

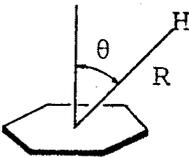
1) Es sei daran erinnert (vgl. Abschnitt 2.2.2), daß alle im folgenden betrachteten Effekte sich auf jeweils eine festgelegte Konformation beziehen, d. h. Einflüsse auf Gleichgewichte zwischen Konformeren (z. B. durch das Lösungsmittel) dürfen hier nicht in die Diskussion eingehen.

2) Zur Bedeutung des Begriffes "Halbraum" s. [100] und Anhang II.

3) s. Fußnote 3 auf S. 108.

kann hier ebenfalls ausgeschlossen werden, da stets bei hoher Verdünnung gearbeitet wurde (vgl. Abschnitt 2.1.3).

Es verbleibt die Analyse des Terms σ^N , der den Einfluß der magnetischen Anisotropie von Bindungen bzw. Gruppen beschreibt, im vorliegenden Fall der Bindung C-H^{Ac} und der Gruppierung C-Ph. Für axialsymmetrische Gruppen läßt sich σ^N in guter Näherung durch die Robertson-McConnell-Gleichung, Gl. 6, darstellen (vgl. [234], S.72 ff.):



$$\begin{aligned} \Delta\sigma^N &= \Delta\chi(1-3\cos^2\theta)/3R^3 && \text{Gl. 6} \\ \Delta\chi^{C-C} &\approx \Delta\chi^{C-H} && \approx 5 \cdot 10^{-30} \text{ cm}^3/\text{Molekül} \\ \Delta\chi^{\text{Benzol}} &&& \approx -50 \cdot 10^{-30} \text{ cm}^3/\text{Molekül} \end{aligned}$$

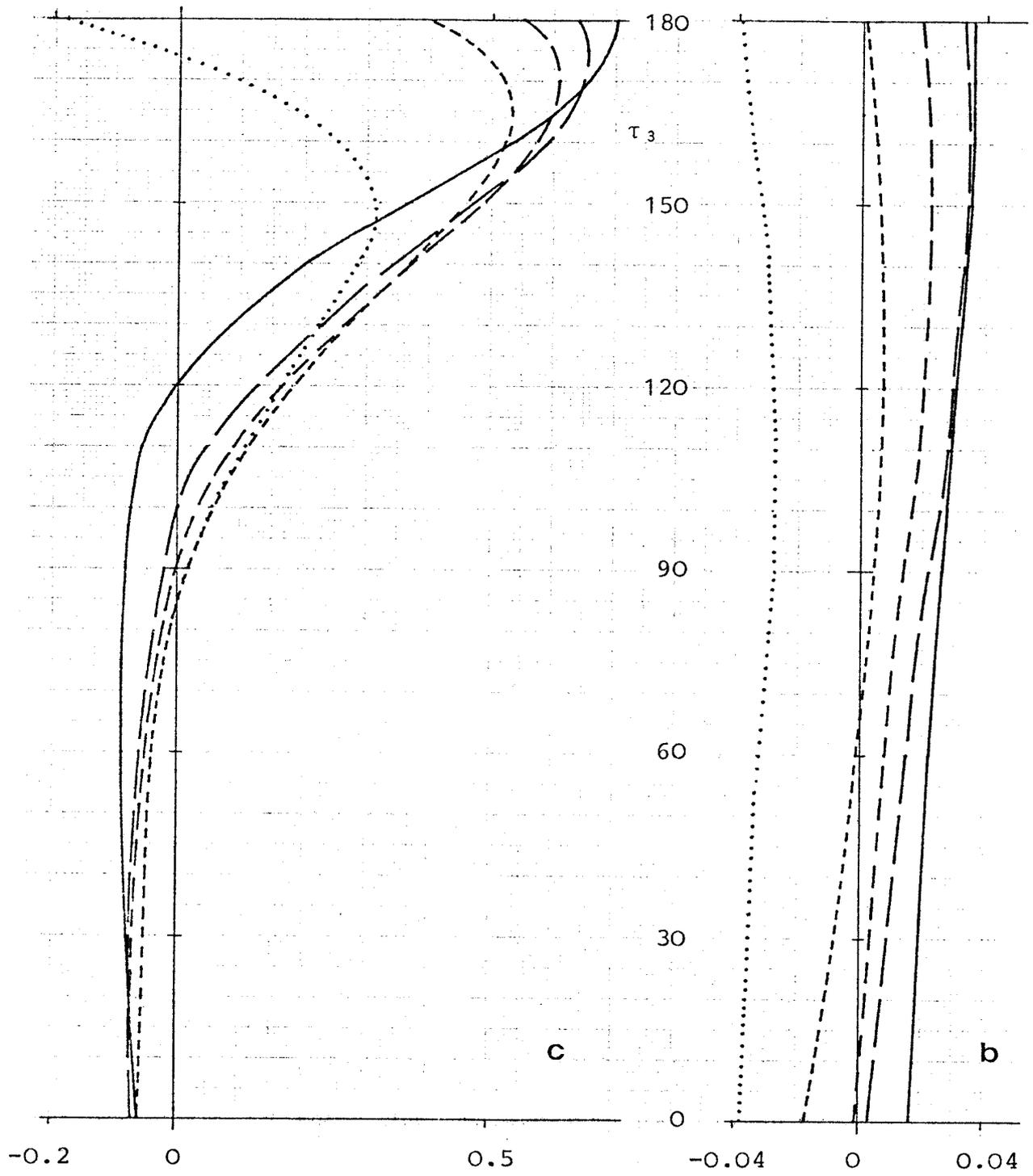
Der magnetische Einfluß der C-H- und der C-C-Bindung ist, verglichen mit dem der Phenylgruppe, sehr gering¹⁾. Da die σ -Bindung zudem symmetrisch zur gemeinsamen Ebene liegen, muß ihr Einfluß auf die diastereotopen Methylgruppen gleich sein.

Nach Ausschließung aller anderen Möglichkeiten, kann der Diastereotopieeffekt nur noch auf die magnetische Anisotropie der Phenylgruppe zurückgeführt werden. Der Einfluß der Phenylgruppe soll als Postulat P_{NMR} formuliert werden:

P_{NMR} . Die Phenylgruppe wirkt auf eine relativ zur gemeinsamen Ebene cisoiden Gruppe stärker abschirmend oder schwächer entschirmend als auf eine transoiden Gruppe.

Dieses Postulat, zusammen mit den Postulaten P_K zur Festlegung der Konformation der Amide, erlaubt die Ableitung des Sinnes der Diastereotopieeffekte für alle Verbindungen des Schemas 2. Für die Verbindung 2, vgl. das Formelbild auf S.130, folgt in Übereinstimmung mit dem empirischen Befund: $\delta(\text{CH}_3)_{\text{ReS}} < \delta(\text{CH}_3)_{\text{SiS}}$ im Falle (S)-2 bzw. $\delta(\text{CH}_3)_{\text{SiR}} < \delta(\text{CH}_3)_{\text{ReR}}$ im Falle (R)-2.

1) Auch der Gesamteffekt größerer aliphatischer Gruppen (eine t-Butylgruppe z. B. enthält 13 Bindungen!) ist in der Regel gering, weil sich die Effekte der Einzelbindungen wegen ihrer unterschiedlichen Winkel θ zum Aufpunkt kompensieren.



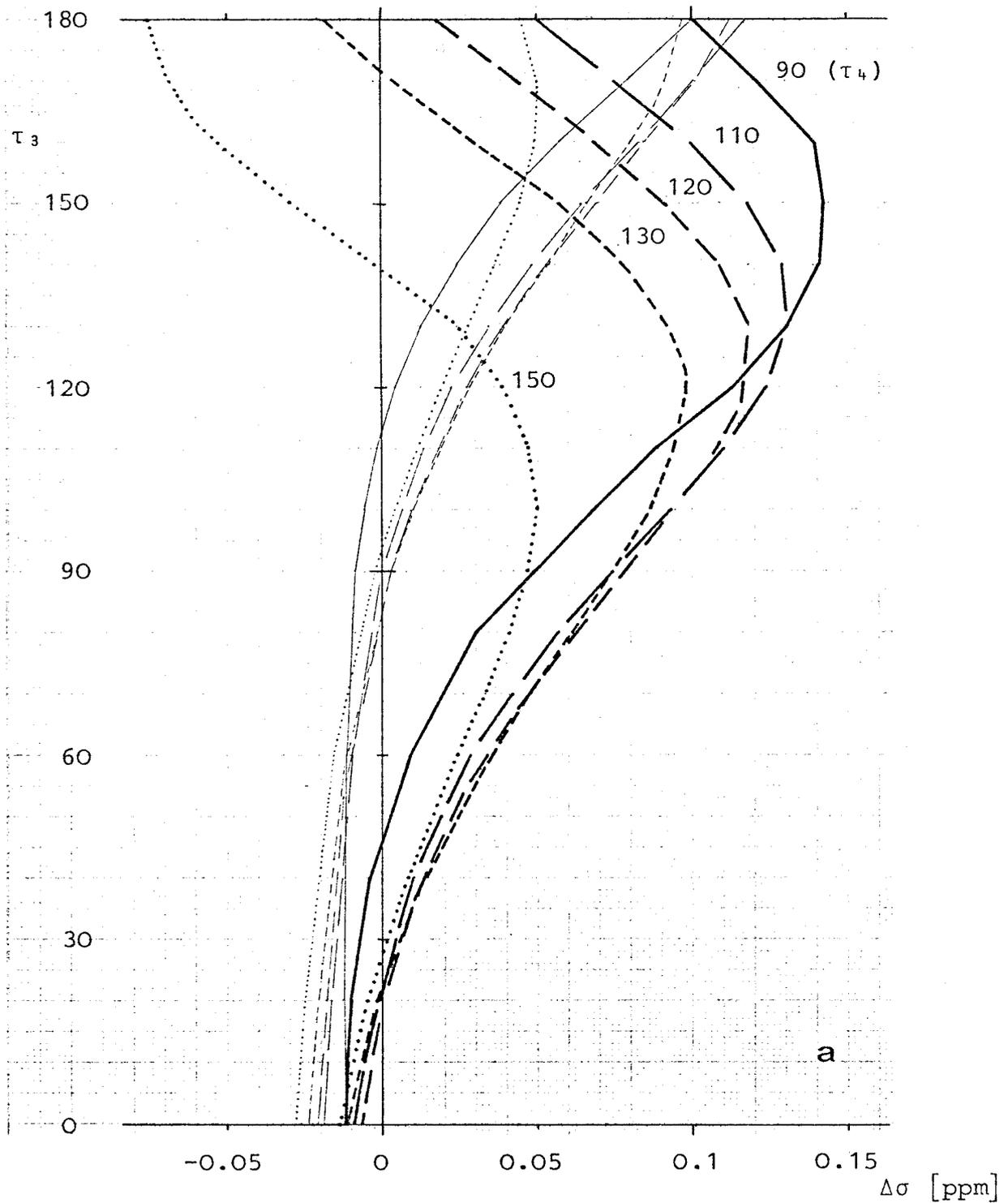


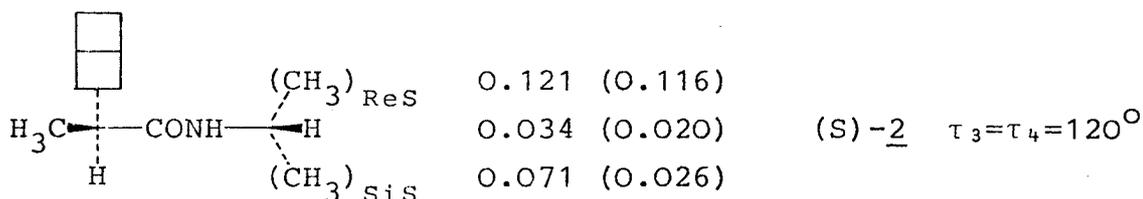
Abb. 17 Für (S)-N-Isopropyl-2-phenylpropionamid berechneter Beitrag (Haigh-Mallion) der Phenylgruppe zur Abschirmungskonstanten $\Delta\sigma$ als Funktion der Torsionswinkel τ_3 und τ_4

a Starke Linien: $(CH_3)_{RES}$, schwache Linien: $(CH_3)_{SIS}$;

b Proton N-C-H; c Proton NH .

betragsmäßig gleiche negative Werte annehmen und auf (R)-2 bezogen werden. Eine geometrisch völlig verschiedene Situation liegt aber vor, wenn das Vorzeichen nur für einen Torsionswinkel umgekehrt wird!

Um einen Fixpunkt zu schaffen, seien zunächst die gemessenen $[\equiv \delta H(\underline{2}) - \delta H(\underline{1})]^1$ und berechneten $\Delta\sigma$ -Werte für (S)-2 in der Standardkonformation nach $P_K 5/P_K 6$ angegeben (die berechneten Werte sind eingeklammert):



Von dem Wert für die Gruppe $(CH_3)_{SiS}$ abgesehen, ist die Übereinstimmung recht gut. Betrachten wir nun, von der obigen Konformation ausgehend, die Situation für alle Konformationen, mit deren Vorkommen bei 2 gerechnet werden muß (vgl. Schema 8, S.126).

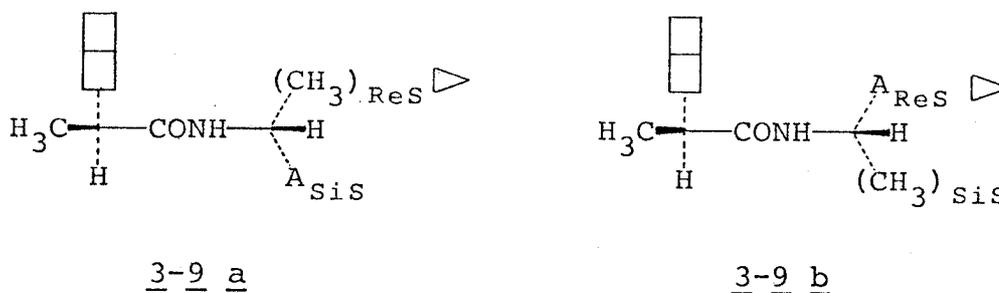
Im Bereich der Strukturen ohne intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung, $\tau_3 = 120 \rightarrow 0^\circ$, repräsentiert durch (44ab), $\tau_3 = 60^\circ$, variiert $\Delta\sigma$ wenig mit τ_4 . Die zur Phenylgruppe cisoide Methylgruppe $(CH_3)_{ReS}$ erfährt im ganzen Bereich eine stärkere Ab- oder schwächere Entschirmung als die transoide. P_{NMR} ist nach der Berechnung sicher erfüllt.

Ein ganz anderes Bild bietet sich für den Torsionswinkelbereich um die wahrscheinlich (vgl. S. 118 ff.) am stärksten vertretene Konformation (44bbc), $\tau_3 \approx 150^\circ$. Hier variiert der $\Delta\sigma$ -Wert für die cisoide Methylgruppe, $(CH_3)_{ReS}$, stark mit τ_4 . Für die transoide Methylgruppe besteht auch in dieser Region nur eine schwache

1) Die δ -Werte für 1 sind in Tabelle 4 (S. 84) angegeben.

Abhängigkeit von τ_4 , die Gruppe erfährt aber eine mit τ_3 zunehmende Abschirmung. Schon beim Wert $\tau_4 = 120^\circ$ würde oberhalb $\tau_3 \approx 160^\circ$ P_{NMR} falsch sein. Nun sieht man bei der Betrachtung eines Molekülmodells sofort, daß mit der Bewegung $\tau_3 = 120^\circ \rightarrow \tau_3 = 180^\circ$ eine Drehung der Phenylgruppe $\tau_4 = 120^\circ \rightarrow \tau_4 = 90^\circ$ einhergehen muß. Andernfalls, d. h. bei Vergrößerung von τ_4 , wäre die Ausbildung der Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem NH-Wasserstoff und dem C-1 der Phenylgruppe nicht möglich¹⁾. Das Postulat P_{NMR} besitzt also, falls nicht eine spezielle konformationelle Restriktion vorliegt, nach der Berechnung für den gesamten Bereich von τ_3 Gültigkeit.

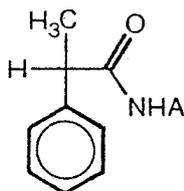
Die Ausdehnung der obigen Analyse für 2 auf diastereomere Amide der 2-Phenylpropionsäure, speziell die Verbindungen 3-9 des Schemas 2, ist nun sehr einfach. Die Konformationen aufgrund der Postulate sind im Schema 10b angegeben (3-9: $A^1=A$, $A^2=\text{CH}_3$). Auf diese wird P_{NMR} angewendet. Alternativ lassen sich die Amide 3-9 aus 2 herleiten, indem $(\text{CH}_3)_{\text{SiS}}$ oder $(\text{CH}_3)_{\text{ReS}}$ durch A ersetzt wird. Als Regel folgt:



Diese Regel ist der im Schema 4 (S. 88), in dem auch das Symbol \triangleright erklärt ist, angegebenen empirischen Regel gleich. Auch lassen sich die auf S. 88 f. hervorgehobenen Punkte (a), (b) und (d), (c) s. u., zwanglos erklären und die numerischen Abstufungen verstehen (vgl. dazu Tab. 2 und Abb. 10).

1) Für ein Analogon von 2, in dem die o,o'-Positionen des Phenyls mit großen Gruppen besetzt und daher τ_4 auf den Wert $\approx 120^\circ$ eingefroren ist (vgl. S.123), müßte für eine intern wasserstoffbrückengebundene Spezies ($\tau_3=150-170^\circ$) der Diastereotopieeffekt der Methylgruppen sehr klein werden. Wie im folgenden gezeigt werden wird, läßt sich dieser interessante Fall tatsächlich realisieren.

Es gibt allerdings auch eine Ausnahme. Nach der obigen Deutung sollten Protonen innerhalb der gemeinsamen Ebene und Protonen der Acylgruppe keine Signaldifferenz besitzen. Wie der Blick in Tabelle 2 zeigt, ist diese Folgerung (nur) im Falle H^{Ac} nicht erfüllt. Nun ist es allerdings auch zu erwarten, daß gerade die-



ses Proton "unregelmäßiges" Verhalten zeigt, denn es ist zwei sehr stark anisotropen Gruppen, der Phenyl- und der Carbonylgruppe direkt benachbart. Ein Unterschied $<3^\circ$ in τ_3 oder τ_4 für die Diastereomeren kann ausreichen, um eine Differenz der chemischen Verschiebung von 0.05 ppm hervorzurufen¹⁾. Der-

artige kleine Abweichungen in den Torsionswinkeln machen Postulat P_K^2 nicht ungültig, denn sie sind bedeutungslos für Bereiche der Funktion $\Delta\sigma(\tau_3, \tau_4)$, wie sie durch das P_{NMR} beschrieben werden.

Wenden wir uns nun den N-(1-Phenylethyl)-amiden zu, den Verbindungen 10-14 des Schemas 2. Eine der obigen gleiche Analyse, d. h. Anwendung des Postulats P_{NMR} auf die im Schema 9c dargestellten "Postulat-Konformationen" ((R)-10: $R^1=R^2=CH_3$; 11-14: $R^1=R$, $R^2=CH_3$) führt zu einem mit der empirischen Regel in Schema 4 übereinstimmenden Resultat:

$$\begin{aligned} \delta(CH_3)_{SiR} < \delta(CH_3)_{ReR} &\equiv \delta(CH_3)_{ReS} < \delta(CH_3)_{SiS} \\ \delta(R)_{SiR} < \delta(R)_{ReR} &\equiv \delta(R)_{ReS} < \delta(R)_{SiS} \end{aligned}$$

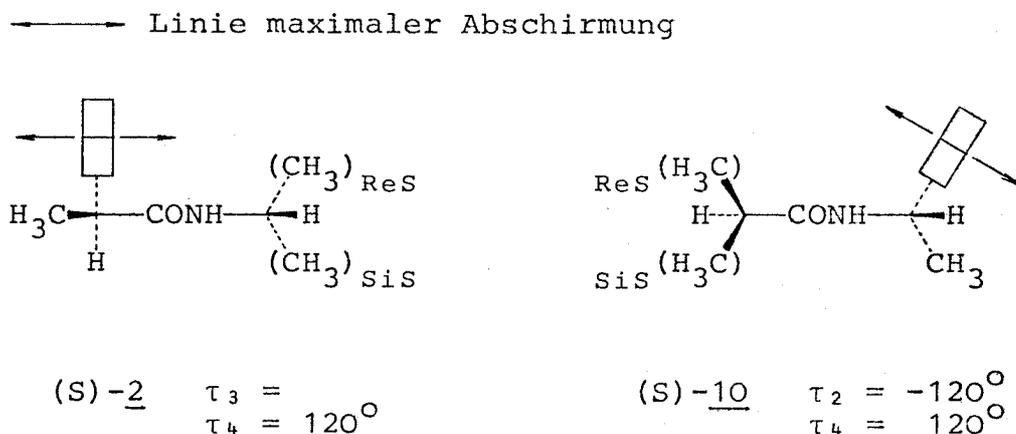
Ein mit den Feinheiten der Stereochemie wenig vertrauter Leser mag sich wundern, warum im Schema 9c die Phenylethyl-Gruppe mit der (R)-Konfiguration, im Schema 4 aber mit der (S)-Konfiguration angegeben ist. Der Grund ist folgender: Für alle im Abschnitt 2.2.3 dargestellten Schemata sind die Konformationen so angeordnet, daß beim "Lesen" von links nach rechts eine positive Drehrichtung für τ_2 , τ_3 und τ_4 resultiert, wenn die Cahn-Ingold-Prelog-Priorität $A^1 > A^2$ und $R^1 > R^2$ gilt. Dieses entspricht im Acylteil der (S)-, im Aminteil aber der (R)-Konfiguration.

1) Ein Beispiel bietet Abb. 17c. Im Bereich $\tau_3 = 170^\circ$, $\tau_4 = 150^\circ$, erfährt das Proton NH bei Veränderung von τ_3 um 5° eine Änderung der chemischen Verschiebung von ca. 0.13 ppm.

Für die empirische Formulierung (Schema 4) der NMR-Resultate wurde die Konfiguration der 1-Phenylethyl-Gruppe gleich gewählt, (S), um die Analogie zwischen den beiden Reihen hervortreten zu lassen. Leider ist der Eklat zwischen den Ordnungsprinzipien "Vorzeichen von Torsionswinkeln" und "absolute Konfiguration" hier unvermeidbar. Im Prinzip sind diese Dinge von sekundärer Bedeutung, da die Konvention nach Klyne-Prelog, das RS- und das ReSi-System "symmetriekonkordant" sind, d. h. jede Aussage bleibt gültig, wenn in ihr sowohl + und - als auch R und S sowie Re und Si ausgetauscht werden.

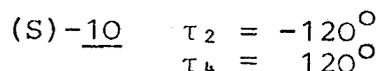
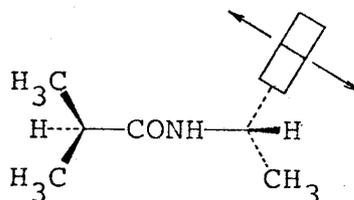
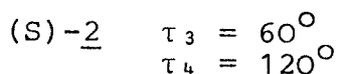
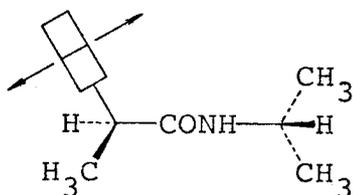
Auf zwei Beobachtungen, die sich aus dem Vergleich der Reihen 2-9 und 10-14 ergeben, sei noch eingegangen.

Ein Blick auf Abb. 10 zeigt, daß die Signaldifferenzen der diastereotopen Methylgruppen des Acylteils wesentlich kleiner sind als die des Aminteils. Für die Gruppen R und A bestehen dagegen weitgehend gleiche Verhältnisse. Dieser Punkt wird bei der Gegenüberstellung von (S)-2 und (S)-10 in ihren Postulat-Konformationen verständlich:



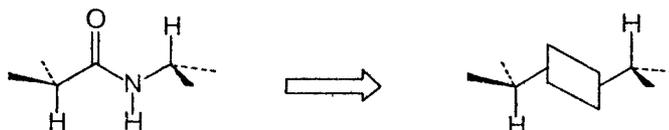
Der Abschirmeffekt der Phenylgruppe wirkt in 10 schwächer auf den Acylteil als in 2 auf den Aminteil, weil sowohl (s. Gl. 6, S. 132) der Abstand R vom Mittelpunkt der Phenylgruppe als auch der Winkel θ gegen die Normale (= Linie maximaler Abschirmung) in 10 größer ist als in 2. Der Unterschied betrifft vor allem die Methylgruppen, da sie sehr nahe am Kegel $\Delta\sigma=0$ ($\cos^2\theta=1/3 \rightarrow \theta=55^\circ$) liegen, weniger die Gruppen R und A, die unter kleinerem Winkel gegen die Linie maximaler Abschirmung stehen. Man über-

zeugt sich leicht an Hand eines Molekülmodells davon, daß die Situation in 10 ziemlich genau derjenigen von 2 mit $\tau_3 = 60^\circ$ ((44ab), Schema 8) entspricht:

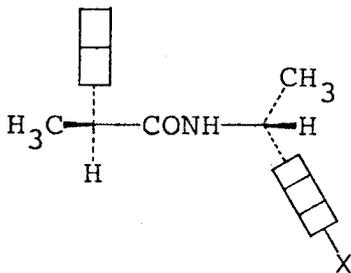


Nach Abb. 17a, S. 135, ist für $\tau_3 = 60^\circ$ eine leichte Entschirmung für $(\text{CH}_3)_{\text{SiS}}$ eine schwache Abschirmung für $(\text{CH}_3)_{\text{ReS}}$, sowie ungefähr die Hälfte des für die Standardsituation ($\tau_1 = \tau_2 = 120^\circ$) berechneten Diastereotopieeffekts zu erwarten, was ausgezeichnet mit den beobachteten Werten übereinstimmt (vgl. Abb. 10, S. 85 und (d), S. 89).

Aus der Gegenüberstellung von (S)-2, $\tau_3 = 60^\circ$, mit (S)-10, Postulat-Konformation, wird auch unmittelbar klar, warum (vgl. (c), S. 89) bezüglich der Vorzeichen der Diastereotopieeffekte für den Acyl- und den Aminteil so weitgehende Analogie besteht. In diesen Konformationen besitzen die Moleküle dieselbe gemeinsame Ebene und diese, wenn man von der nur als "Bindeglied" fungierenden Amidgruppe abstrahiert, eine zweizählige Symmetrieachse:

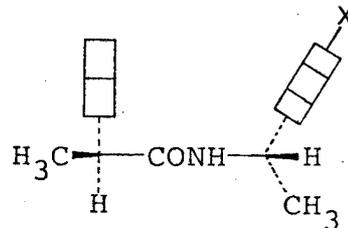


Zur Vollendung der Deutung der Diastereotopieeffekte bleibt noch die Besprechung des Paares 15a,b (Daten s. Tabelle 4, S. 84). Im Sinne der obigen Analyse handelt es sich hier lediglich um einen speziellen Fall der Reihe 2-9:



(S,R)-15a

(S,R)-16a



(S,S)-15b X = H

(S,S)-16b X = NO₂

Die Anwendung des P_{NMR} auf die obigen Postulat-Konformationen ergibt ein Resultat, das für alle Protonen (auch H^{Ac}) mit den Meßwerten sehr befriedigend übereinstimmt. Da dieser Fall die Besonderheit besitzt, daß sowohl die Protonen des Acyl- als auch die Protonen des Aminteils Diastereotopiedifferenzen aufweisen, können die Regeln hier auch für die Phenylgruppen selbst, die ja die doppelte Funktion besitzen, die Effekte "hervorzurufen" und selbst von ihnen "betroffen" zu sein, überprüft werden. An den Amidien 15 können die Signale wegen sehr komplizierter Aufspaltung und Überlagerung nicht gut analysiert werden¹⁾. Um das Bild zu vervollständigen, wurden deshalb die diastereomeren Amide der 2-Phenylpropionsäure mit 1-(4-Nitrophenyl)-ethylamin²⁾, 16a,b, untersucht, für die völlig gleiche konformationelle Verhältnisse wie für 15a,b bestehen. Wie die in Abb. 18 dargestellten Spektren für die Signale der p-Nitrophenylgruppe sehr schön erkennen lassen, sind die Regeln hier erfüllt.

1) Es wäre im Prinzip nicht schwierig und auch finanziell vertretbar, ausgehend von Perdeuterobenzol sowohl die deuterierte 2-Phenylpropionsäure als auch 1-Phenylethylamin herzustellen.

2) Diese Verbindung ist durch Nitrierung von 1-Phenylethylamin leicht in enantiomer reiner Form erhältlich [238].

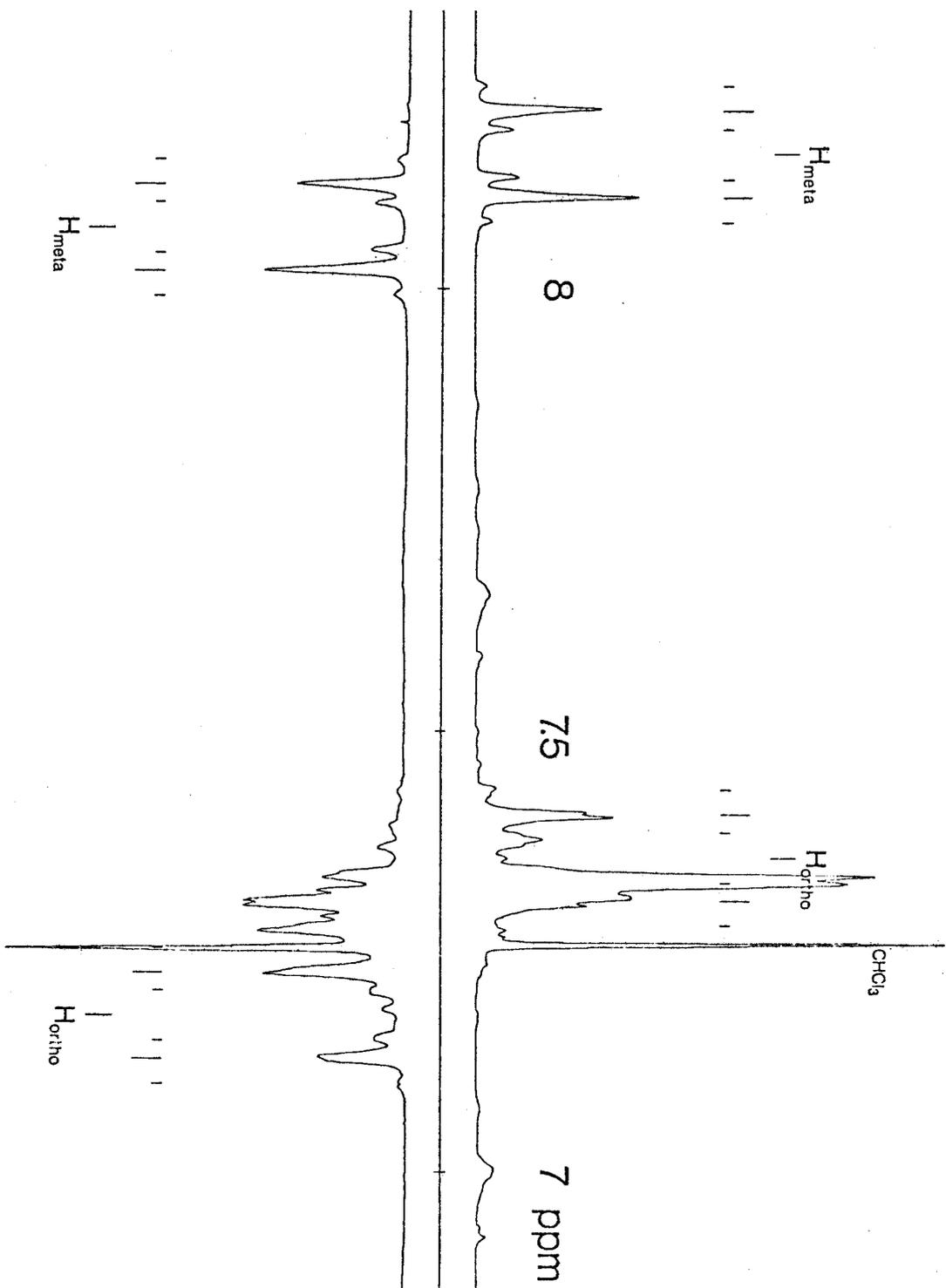


Abb. 18 $^1\text{HNMR}$ -Spektren der diastereomeren Amide 16a (oben) und 16b (unten), vgl. Formeln S. 141, im Bereich der Arylprotonen (die Stellungsbezeichnungen beziehen sich auf die CH-Gruppe des Amid-Rückrats).

Zur Formulierung der Regeln zur Konfigurationsbestimmung; Beispiel einer Anwendung. - Die Bemühungen des Autors, alle empirischen Aussagen abstrakt, ohne konformationelle Bilder, zu formulieren und bei der Deutung der Diastereotopieeffekte alles möglichst genau zu belegen und zu begründen, mag die Methode zur Konfigurationsbestimmung kompliziert erscheinen lassen. Tatsächlich ist sie außerordentlich einfach; die Regeln zur Konfigurationsbestimmung sind identisch mit den Postulaten $P_K 1-P_K 6$ und P_{NMR} . Auch die Durchführung in der Praxis ist sehr einfach.

Zur Konfigurationsbestimmung eines Amins $H_2N-CHA^1A^2$ mit den Reagentien (+)-(S)- und (-)-(R)-2-Phenylpropionsäure¹⁾ wird (via Säurechlorid, vgl. S. 69) das Paar der diastereomeren Amide gebildet, ihre 1H -NMR-Spektren werden gemessen. Zur Auswertung zeichnet man nach Schema 10a die gemeinsame Ebene auf und platziert die Phenylgruppe so, daß einmal die (S)- und einmal die (R)-Konfiguration der Acylgruppe entsteht ($\hat{=}$ Anwendung von $P_K 1-3,5,6$). Den Gruppen A^1, A^2 werden die Plätze entsprechend den Meßwerten und P_{NMR} zugewiesen. In der Praxis seltener ist der Fall, daß beide Enantiomere des Amins vorliegen. Es läßt sich dann Schema 10b oder sein Spiegelbild direkt anwenden.

Die Konfigurationsbestimmung einer Carbonsäure $R^1R^2CH-COOH$ wird mit Hilfe der käuflichen Reagentien (+)(R)- und (-)(S)-1-Phenylethylamin durchgeführt, indem man sinngemäß wie oben verfährt und die gemeinsame Ebene entsprechend Schema 9a ansetzt.

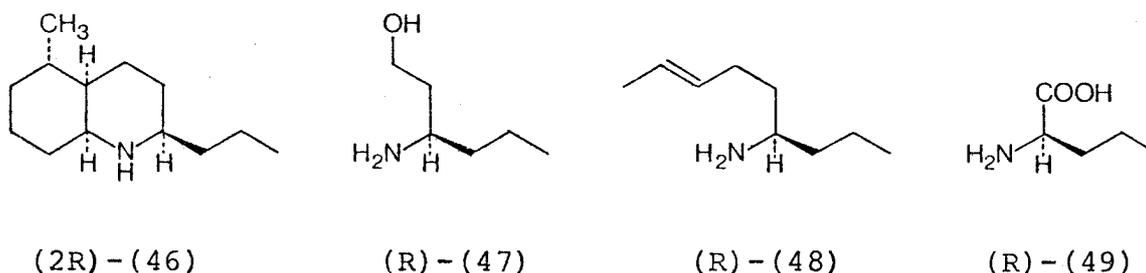
Sofern bei der Herstellung der Amide die in den Abschnitten 1.2.1 und 2.1.1 erläuterten Grundsätze befolgt wurden, ist die Konfigurationsbestimmung mit der Bestimmung der enantiomeren Reinheit durch 1H -NMR-Analyse "automatisch" verbunden. Zusätzlich kann eine Verfeinerung durch HPLC- und/oder GC-Analyse vorgenommen werden.

1) Die racemische Carbonsäure (Hydratropasäure) ist neuerdings käuflich erhältlich; die Trennung in beide hochreine Enantiomere läßt sich sehr einfach nach [164] oder einer hier im folgenden angegebenen Methode durchführen.

Als Beispiel einer Anwendung soll ein Fall vorgestellt werden, der für den Autor insofern sehr befriedigend war, da es darum ging, eine Konfigurationsbestimmung aufgrund einer Röntgen-Kristallstrukturanalyse zu korrigieren.

Pumiliotoxin C (46) ist ein medizinisch interessanter Naturstoff [239a], dem aufgrund einer Röntgen-Kristallstrukturanalyse die Konfiguration (2R)-(46) zugeschrieben worden ist [239b]. Diese Zuordnung wurde durch eine Totalsynthese, die von (R)-(47) mit gesicherter Konfiguration ausging, bestätigt [239c].

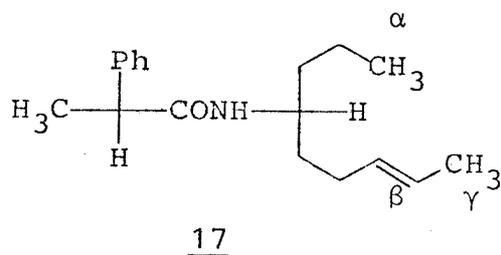
Durch eine spätere Totalsynthese erhielten Oppolzer und Mitarbeiter jedoch aus (R)-(48), das aus (R)-Norvalin, (R)-(49), bereitet worden war, das Enantiomere des natürlichen Pumiliotoxin C. Die Wiederholung mit (S)-(48) ergab Pumiliotoxin C mit der optischen Drehung des Naturproduktes, das also die (2S)-Konfiguration besitzen muß¹⁾. Um sicherzugehen, daß in seinem Laboratorium keine Verwechslung vorgekommen war, sandte Prof. Oppolzer vor seiner Veröffentlichung ([130]) dem Autor je 10 mg der Hydrobromide der Enantiomeren von (48) zur Konfigurationsbestimmung. Um zu einem völlig objektiven Resultat zu gelangen, wurden die Enantiomeren lediglich dadurch bezeichnet, daß sie sich in Fläschchen mit roter und schwarzer Kappe befanden.



Zur Konfigurationsbestimmung über die diastereomeren Amide der 2-Phenylpropionsäure ging man folgendermaßen vor: (rot)-(48) und (schwarz)-(48) wurden mit (S)-2-Phenylpropionylchlorid zu den

1) Die Ursache des Fehlers in [239b] war offenbar eine "Spiegelung" der Formel beim Druck. Die Ursache des Fehlers in [239c] scheint bis heute nicht gefunden zu sein.

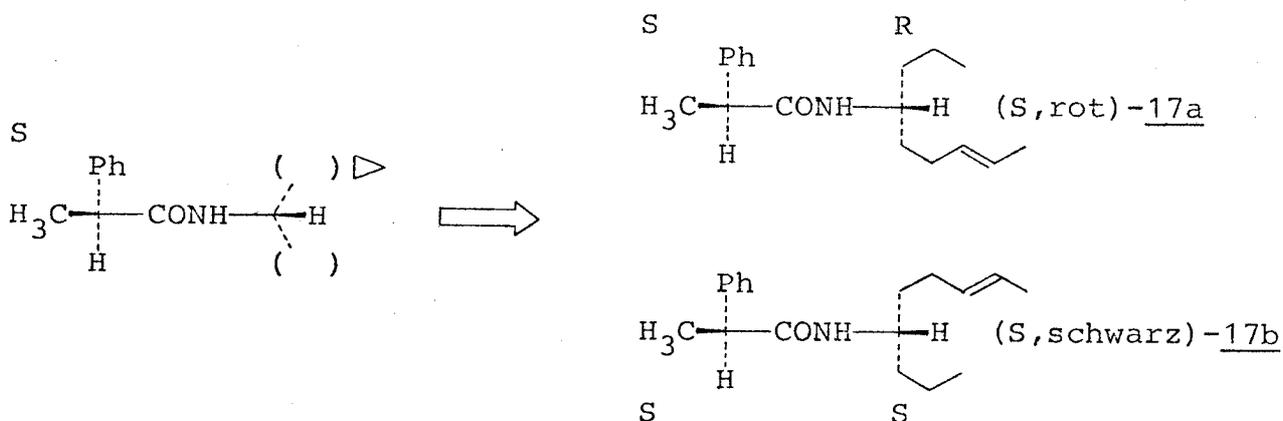
Amiden (S,rot)-17a und (S,schwarz)-17b umgesetzt, ihre Kernresonanzspektren gemessen¹⁾:



	(S,rot)	(S,schwarz)
α	0.799 \triangle	0.863
β	5.377 [a]	5.298 \triangle
γ	1.621	1.598 \triangle

[a] Mittelpunkt eines für beide Diastereomere gleichen Multipletts, 2H.

Zur Anwendung der obigen Regel ist es nun lediglich erforderlich, der n-Propyl- und der 3-Pentenylgruppe aufgrund dieser Daten die Plätze am "Postulat-Grundgerüst" richtig zuzuweisen und die Konfiguration des Aminteils nach Cahn-Ingold-Prelog anzugeben:



Im roten Fläschchen war also (R)-(48)·HBr, im schwarzen (S)-(48)·HBr (vgl. [130]).

1) Durch HPLC-Analyse wurde zusätzlich die enantiomere Reinheit bestimmt (97 % in beiden Fällen) [173], S. 97. Mit Petrol-ether (tiefs.)-Ethylacetat 95:5 als Eluens gilt: t_R (17a) < t_R (17b), $\alpha \approx 1.18$.

Anwendungsbereich/Grenzen. - Blicken wir zunächst zurück und untersuchen, inwieweit die Methode die vier Forderungen des Abschnitts 1.2.2 "Absolute Konfiguration" der Einleitung erfüllt (vgl. S. 42, (a)-(d)):

Ad (a). Es liegt ohne Zweifel ein gut fundiertes physikalisches Modell vor, bei dessen Ableitung von der empirischen Korrelation kein Gebrauch gemacht wurde. Die Effekte sind bei den bisher vorgestellten Verbindungen klein, es werden im folgenden jedoch Reagentien vorgestellt, mit denen sich wesentlich größere Diastereotopieeffekte erreichen lassen.

Ad (b). Der Satz von Beispielen zur empirischen Überprüfung der Regel ist hier klein. Weitere, mit den bisherigen nicht trivial verwandte Beispiele sind aber in recht großer Zahl vorhanden.

Ad (c). Gibt es andere Methoden, die besser begründet oder einfacher sind? Die Frage kann eindeutig verneint werden. Es existieren chiroptische Methoden zur Bestimmung der absoluten Konfiguration von Aminen [240a,b] und von Carbonsäuren [240c,d], die in der Durchführung, sofern ein CD-Gerät zur Verfügung steht, ebenfalls sehr einfach sind. Keine chiroptische Methode ist aber theoretisch so sicher fundierbar wie eine $^1\text{H-NMR}$ -Methode. Ferner wurden vollständig empirische Regeln für kinetische Racematspaltungen aufgestellt. Diese müssen als äußerst unsicher eingestuft werden. Sie werden im Zusammenhang mit der Konfigurationsbestimmung von Alkoholen und Thiolen noch näher besprochen werden (vgl. auch S. 47 (unten)).

Ad (d). Es dürfte nur wenige Fälle geben, bei denen eine chemische Korrelation einfacher oder schneller ist als die $^1\text{H-NMR}$ -Methode. Eine Entscheidung ist natürlich nur ad hoc möglich.

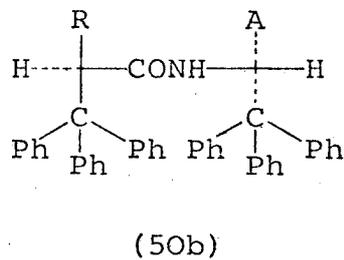
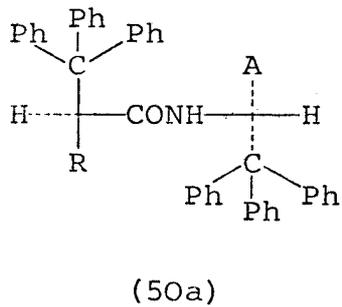
Wo liegen die Grenzen der Methode? Diese Frage bedarf der Präzisierung: man muß unterscheiden zwischen einem Bereich, in dem die Methode aus technischen Gründen nicht anwendbar ist, und einem Bereich, in dem sie möglicherweise falsche Aussagen liefert.

Der erste Bereich ist leicht zu erkennen: 1. Es wird Amine geben, bei denen die Herstellung von Amidien wegen störender funktioneller Gruppen oder ungünstiger physikalischer Eigenschaften Schwierigkeiten bereitet. Glücklicherweise kommen derartige Fälle in der Praxis selten vor. 2. Ferner lassen sich unschwer Fälle konstruieren, bei denen eine Auswertung der Kernresonanzspektren nicht möglich ist. Z. B. dürfte es unmöglich sein, die Konfiguration des 4-Amino-nonans, des Hydrierungsproduktes von (48), zu bestimmen. Allgemein ist die Auswertung für ein Amin $A^1A^2CH-NH_2$, sowie eine entsprechende Carbonsäure, dann nicht möglich, wenn die Gruppen A^1 und A^2 sowohl komplizierte oder unaufgelöste Signale als auch große Ähnlichkeit besitzen¹⁾. Auch diese Fälle sind in der Praxis selten, denn Ähnlichkeit der Gruppen A^1 und A^2 bedeutet auch schwierige Enantiomerentrennung. Meist existiert eine günstige Vorstufe. Die obige Verbindung (48), als Vorstufe des 4-Amino-nonans betrachtet, stellt ein typisches Beispiel dar.

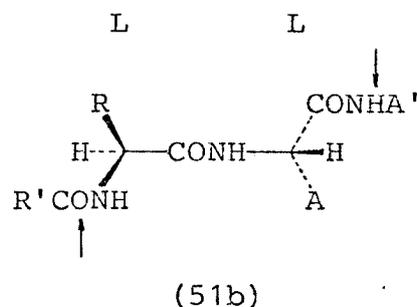
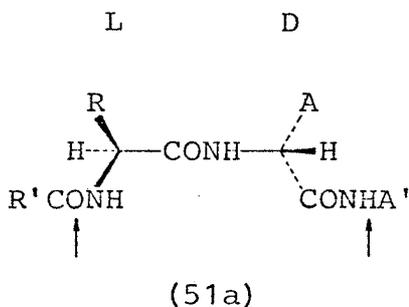
Der zweite Bereich läßt sich ohne breites Erfahrungsmaterial aufgrund des in die Postulate kondensierten theoretischen Modells in etwa abstecken.

P_K^1 und P_K^2 beschreiben die räumliche Beziehung von Amin- und Acylmolekülteil. Es gibt keinen Grund zu der Annahme, daß P_K^1 ungültig werden könnte (Lactame sind ausgeklammert!). Grenzen sind aber für P_K^2 sichtbar. Zum einen lassen sich Verbindungen angeben, bei denen mindestens je eine der Gruppen R^1 , R^2 und A^1 , A^2 so ausgedehnt ist, daß starke sterische Wechselwirkungen auftreten. Ein Beispiel ist das Diastereomerenpaar (50):

1) Komplexität der Signale allein stellt in der Regel kein Problem dar, da die diastereotopen Gruppen en bloc abgeschirmt werden und identische Kopplung zu den Nachbarkernen besitzen. Lokal deckungsgleiche Multipletts brauchen daher nicht exakt analysiert zu werden. In schwierigen Fällen genügt in der Regel ein einfaches Spin-Spin-Entkopplungsexperiment oder der Wechsel des Lösungsmittels vom Standard $CDCl_3$ zu C_6D_6 .



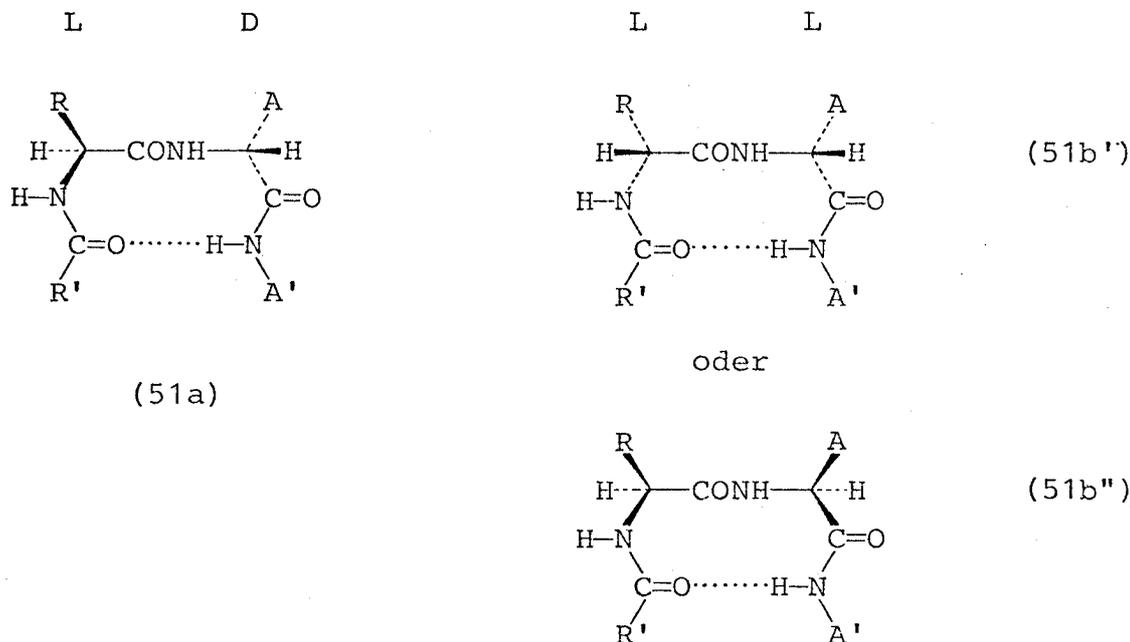
Bei den Amidien von Reagentien wie 2-Phenylpropionsäure und 1-Phenylethylamin sind allerdings selbst bei Substituenten wie Triphenylmethyl keine großen Wechselwirkungen festzustellen. Der gegenteilige Effekt, anziehende Wechselwirkungen, ist ebenso vorstellbar. Tatsächlich gibt es eine sehr spezielle Situation, für die solche Wechselwirkungen nachgewiesen sind, nämlich bei Peptiden bzw. Proteinen. Wenn wir Effekte von Wasserstoffbrückenbindungen vernachlässigen, ergeben sich aufgrund der Postulate P_K 1-6 folgende Strukturen für ein Paar diastereomere Peptide:



Struktur (51b) entspricht *grosso modo* der denaturierten Form bzw. Faltblattstrukturen von Proteinen (s. z. B. [136], S. 462). Von besonderem Interesse ist die Beobachtung, daß für das LD-Peptid relativ zur gemeinsamen Ebene eine *cisoid*e, für das (übliche) LL-Peptid eine *transoid*e Beziehung der Gruppen R'CONH und CONHA' besteht. Man sollte also erwarten, daß an Wendepunkten einer Peptidkette (Reverse turn) die LD- bzw. DL- günstiger ist als die LL-Abfolge. Tatsächlich finden sich in Cyclopeptiden, in denen

solche Wendepunkte notwendigerweise vorkommen, besonders häufig D-Aminosäuren¹⁾.

Wendepunkte der Peptidkette müssen auch in Faltblattbereichen von nur aus L-Aminosäuren aufgebauten Proteinen vorkommen. Sie sind möglich, weil zwischen den durch Pfeile bezeichneten Atomen (Formeln (51)) eine so starke Wasserstoffbrückenbindung (4-6 kcal/mol [241a]) bestehen kann, daß die "natürliche" Vorzugskonformation im Acyl-, vgl. (51b'), oder im Aminteil, vgl. (51b''), überspielt wird^{2,3)}:



Ohne Zweifel stellen die Strukturen (51b')/(51b'') den totalen Zusammenbruch des P_K^2 dar. Man muß aber bedenken, daß es sich hier um eine sehr spezielle Situation handelt. Sie ist wiederum nicht möglich bei Amidien der Reagentien 2-Phenylpropionsäure und 1-Phenylethylamin.

- 1) Diese aufgrund der Postulate abgeleitete Schlußfolgerung wird durch Kraftfeldberechnungen bestätigt. Eine sorgfältige Analyse des Problems s. [241a].
- 2) Es steht mit den auf S. 105 präsentierten Resultaten über N-Ethylamide im Einklang, daß in dieser Situation besonders häufig Glycin, (R oder A = H) vorkommt.
- 3) Röntgen-Kristallstrukturen eines Paares entsprechend (51a)/(51b'') s. [191c].

$P_K 3$, den Aminteil $RCONHCHA^1A^2$ betreffend, ist ein sehr sicheres Postulat. Ausgenommen den obigen speziellen Fall, ist keine Situation bekannt, in dem es ungültig wird, auch wenn polare oder wasserstoffbrückenbildende Substituenten innerhalb A^1, A^2 vorhanden sind. $P_K 4$, den Acylteil $R^1R^2HC-CONHA$ betreffend, ist bereits so formuliert, daß wasserstoffbrückenbildende Substituenten R^1, R^2 ausgeschlossen sind. Für diese müssen spezielle Postulate aufgestellt werden. $P_K 5$ und $P_K 6$ sind Postulate, die sehr speziell den Molekülteil betreffen, der aus dem jeweiligen Reagens stammt. Sie sind soweit gültig wie $P_K 2$.

Der Gültigkeitsbereich des P_{NMR} wurde im wesentlichen schon beleuchtet (vgl. S. 149). Es darf auf Protonen der gemeinsamen Ebene selbst und auf solche, die zwei sehr stark anisotropen Gruppen direkt benachbart sind, nicht angewendet werden. Sonst kann es kaum ungültig werden, denn die bisher hauptsächlich betrachteten Fälle stellen solche mit sehr kleinen Diastereotopieeffekten dar.

2.3 Flüssigkeitschromatographische Trennung

2.3.1 Meßresultate, empirische Auswertung

Alle die Technik der Flüssigkeitschromatographie betreffenden Punkte sind knapp im Abschnitt 2.1.2 (S. 71 ff.), ausführlich im Anhang I dargestellt. Die Größen zur Charakterisierung der Trenneffekte sind α und $\Delta(\Delta G)$ (Definition: S. 74 u. Abb. 6, S. 72).

Konfigurative Zusammenhänge wurden bereits durch den kleinen Trick erfaßt, die Diastereomeren durch die Buchstaben a und b zu unterscheiden: a bezeichnet stets das erst-, b das zweit-eluierte Isomere. Diese Bezeichnung ist eindeutig, da für alle Messungen ein Hexan-Ethylacetatgemisch als Eluens und Kieselgel als Adsorbens verwendet sowie eine Temperatur von $23.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ eingehalten wurde. Aufgrund synthetischer Verknüpfungen (vgl. Schema 2) sowie Kernresonanzspektren gilt für alle in diesem Kapitel vorkommenden Verbindungen:



Die Meßresultate sind in Tabelle 7 numerisch und in Abb. 19 graphisch¹⁾ dargestellt.

Die Daten zeigen eine geradezu erstaunlich regelmäßige Variation mit Strukturparametern. Da die Kurven in Abb. 19a in ihrer Form an Standard-Kurven der analytischen Geometrie erinnerten, wurden Versuche zur Angleichung der Meßpunkte an verschiedene mathematische Beziehungen unternommen. Das Resultat ist in Abb. 20 dargestellt: die Funktion $-\Delta(\Delta G) = f(1/n)$ ist in sehr guter Nähe-

1) Anders als für die Besprechung der Kernresonanzspektren, bezeichnet der Buchstabe n hier die Zahl der Kohlenstoffatome der gesamten Kette. Auf eine Differenzierung in der Bezeichnung wurde verzichtet, da Überschneidungen nicht vorkommen und hier wie früher in Tabellen und Abbildungen eindeutige Angaben zu finden sind.

Tabelle 7 Chromatographische Trennfaktoren [a] diastereomerer Amide
 $\text{Ph}(\text{CH}_3)\text{HC}-\text{CONH}-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{A}$ und $\text{R}(\text{CH}_3)\text{HC}-\text{CONH}-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{Ph}$

A	α	$-\Delta(\Delta G)$ [cal]	R	α	$-\Delta(\Delta G)$ [cal]
C_2H_5	1.27	139	C_2H_5	1.30	153
n- C_3H_7	1.48	230	n- C_3H_7	1.51	241
-			-		
n- C_5H_{11}	1.66	296	-		
n- C_6H_{13}	1.70	313	-		
-			-		
-			-		
-			-		
-			n- C_9H_{19}	1.80	347
-					
n- $\text{C}_{14}\text{H}_{29}$	1.85	361			
C_2H_5	1.27	139	C_2H_5	1.30	153
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	1.47	227	-		
$\text{C}(\text{CH}_3)_3$	1.70	312	$\text{C}(\text{CH}_3)_3$	1.74	326
C_6H_5	1.81	350			

[a] Apparatur: Siemens Flüssigkeitschromatograph S 200; Trennsäule: Edelstahl, 30x0.3 cm; Adsorbens: Merck LiChrosorb SI 60, 5 μm (Kieselgel); Eluens: n-Hexan/Ethylacetat 8:2; Druck: 100 bar; Detektor: Photometer Zeiss PM 4, 254 nm; $t_o = t_R$ (Pentan); Dosierung: 0.1 mg Substanzgemisch.

Bei je 3-5 Messungen wurde als maximale Standardabweichung für α : ± 0.01 , für $\Delta(\Delta G)$: ± 4 cal gefunden.

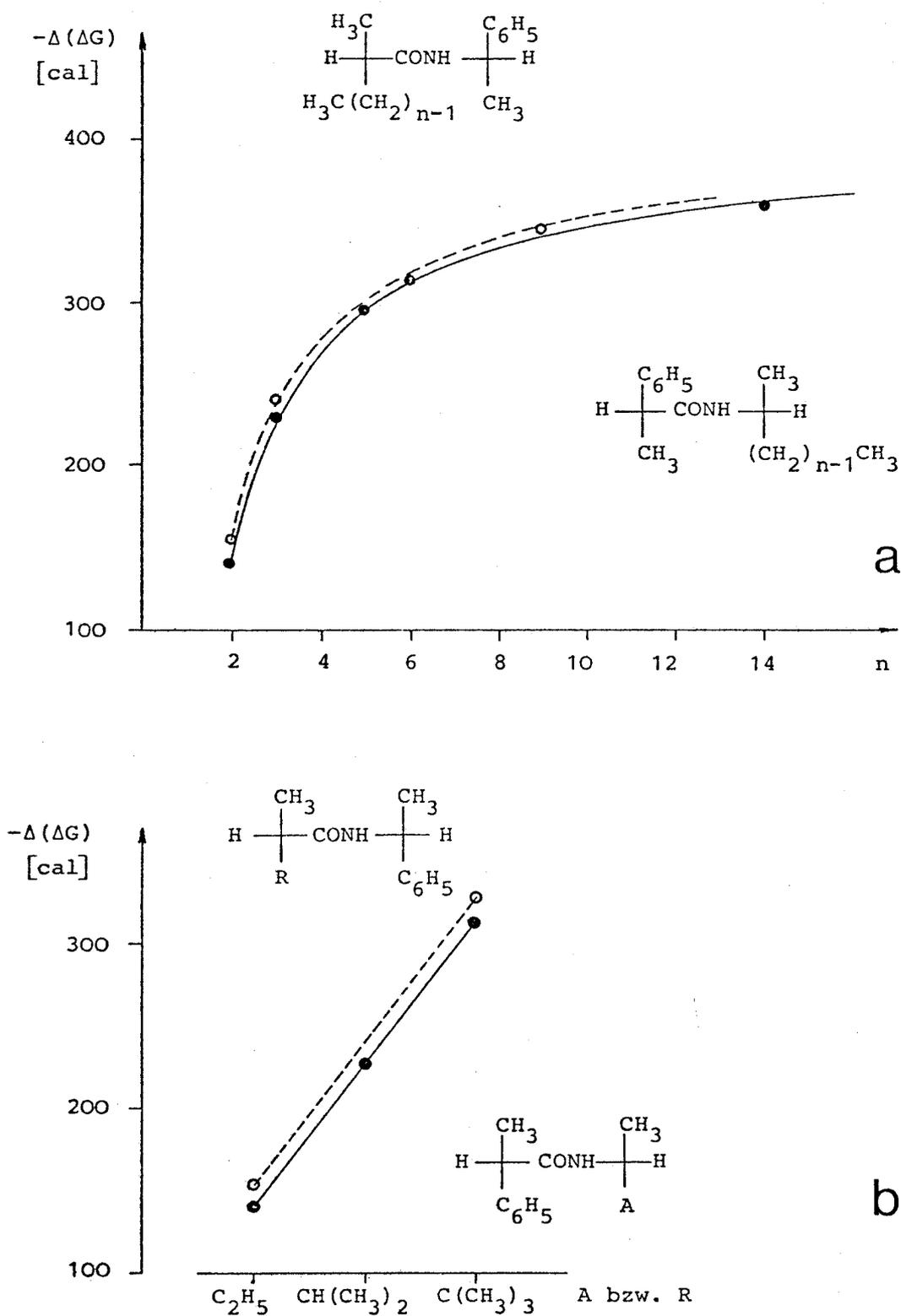


Abb. 19 Zusammenhang zwischen Struktur und chromatographischer Freier-Enthalpiedifferenz $-\Delta(\Delta G)$ bei einfachen diastereomeren Amiden.

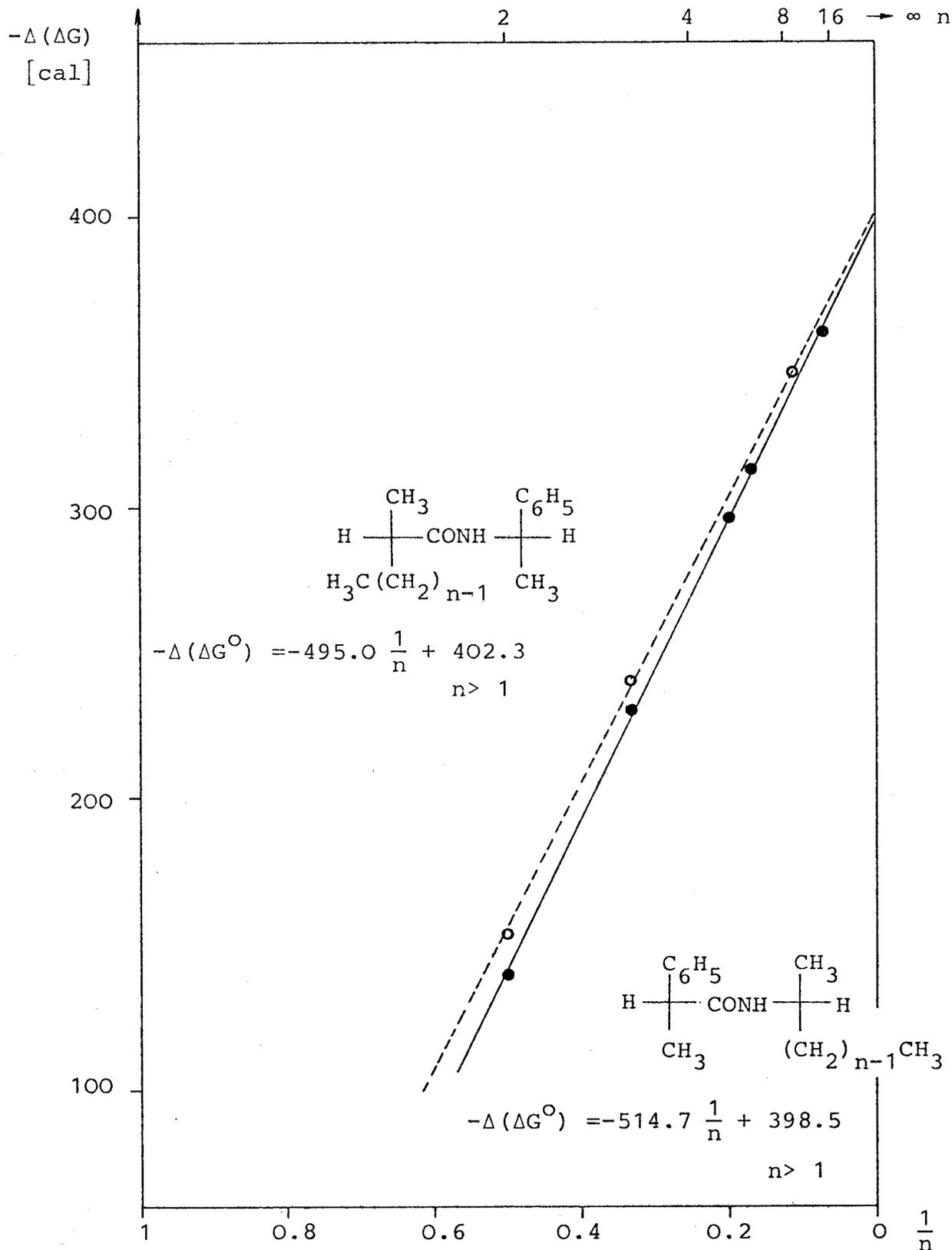


Abb. 20 Linearer Zusammenhang zwischen chromatographischer Freier-Enthalpiedifferenz $-\Delta(\Delta G)$ und Inversem der Kohlenstoffzahl von n -Alkylsubstituenten bei diastereomeren Amiden.

rung¹⁾ linear, d. h. der funktionale Zusammenhang zwischen $-\Delta(\Delta G)$ und n , der Zahl der Kohlenstoffatome der Alkylketten R und A, ist eine Hyperbel²⁾. Als extrapoliertes Grenzwert für den Fall $n \rightarrow \infty$ resultiert für beide Reihen $-\Delta(\Delta G) = 400 \pm 4$ cal, was einem Trennfaktor $\alpha \approx 2.0$ entspricht (bei 23°C).

Schon das empirische Resultat für die Alkylhomologen verdient aus mehreren Gründen Interesse:

- Selbst ohne Optimierung der chromatographischen Bedingungen sind die Trennfaktoren so gut, daß mit dem im Anhang I geschriebenen System die präparative Trennung der Diastereomeren im Maßstab 10-50 g durchgeführt werden kann.
- Im Prinzip bietet sich die Möglichkeit, mittels des wohlfeilen Reagens (-)(S)-1-Phenylethylamin sämtliche 2-Methylalkansäuren gezielt in Enantiomere zu trennen³⁾. Diese Verbindungen spielen in der Naturstoffchemie, speziell als chirale Synthone (vgl. S. 2 f.) eine wichtige Rolle (Pheromone [243a], Bakterienlipide [243b]). Sie lassen sich über diastereomere Salze wegen ungünstigem Kristallisationsverhalten nur sehr schlecht trennen⁴⁾; die direkten chromatographischen Methoden (vgl. S. 14 ff.) sind nicht anwendbar. Voraussetzung einer Ausnutzung zur Enantiomerentrennung ist allerdings die Rückspaltung der Amide. Sie ist möglich. Geeignete Methoden sollen aber erst an späterer Stelle angegeben werden.

-
- 1) Die in Abb. 20 angegebenen Gleichungen wurden durch lineare Regressionsrechnung nach [242] ermittelt; die Standardabweichung der Meßpunkte von der Regressionsgeraden ist kleiner als die Standardabweichung der Messungen selbst (vgl. Tab. 7, Fußn. [a]).
 - 2) Dem Autor wurde bei Diskussionen häufig die Frage gestellt: "Zeigen die Meßwerte die für Alkylhomologe typische Oszillation mit geradem und ungeradem n ?" Es dürfte klar sein, daß die vorhandenen Unterlagen nicht ausreichen, um diese Frage zu beantworten. Immerhin läßt sich erkennen, daß derartige Oszillationen klein sein müssen. Der für die eindeutige Beantwortung der Frage notwendige Aufwand läßt ihre Bearbeitung noch nicht als sinnvoll erscheinen.
 - 3) Zum Begriff "gezielte Trennung von Enantiomeren" s. S. 17.
 - 4) Als Beispiel sei 2-Methylvaleriansäure angeführt, die für die Synthese der enantiomeren 4-Methyl-3-heptanone (Insekten-Pheromon) benötigt wurde [243c].

- Für die Entwicklung von Reagentien zur Enantiomerentrennung, d. h. hier Carbonsäuren oder Amine, deren Amide möglichst hohe Trennfaktoren besitzen, ist die Erkenntnis wichtig, daß sich durch die Verlängerung von Alkylketten wenig erreichen läßt: nur im Bereich A oder R = Ethyl bis etwa Octyl, dem steilen Ast der Hyperbel, sind signifikante Effekte zu verzeichnen.

In der weiteren Behandlung der Resultate sollen alle Aspekte der Enantiomerentrennung zunächst zurückgestellt werden. Im Vordergrund steht die Frage nach dem Mechanismus der chromatographischen Trennungen.

2.3.2 Grundsätzliches zur Theorie der Flüssigadsorptionschromatographie; zum Zusammenhang zwischen Molekülstruktur und Retentionsverhalten

In der Einleitung (S. 51 f.) wurde ausgeführt, daß eines der "Antriebsmomente" zu dieser Arbeit die Beobachtung war, daß für die Trennung der diastereomeren Amide durchgängig ein Zusammenhang zwischen Eluensabfolge und relativer Konfiguration besteht. Ein einfaches Beispiel stellen die obigen Verbindungen dar. Nun ist die Formulierung eines solchen Zusammenhangs nur die einfachste Form einer Aussage über die Beziehung zwischen Molekülstruktur und Adsorptionsverhalten. Sofern eine solche Aussage a priori Bedeutung haben soll, z. B. zum Zwecke der Konfigurationsbestimmung (vgl. S. 42), muß sie die Minimalaussage eines physikochemischen Modells sein, welches Aussagen über die Größe der Trenneffekte gestattet. Ein solches Modell wäre aus zwei Gründen von Interesse. Zum einen steckt das weite Gebiet der Beschreibung der Stereoselektivität von Trennprozessen noch in den Kinderschuhen. Zum anderen besäße es, selbst wenn es grob und unvollkommen wäre, praktische Bedeutung, da es die Basis zur Entwicklung von Reagentien zur Enantiomerentrennung sein könnte. Die flüssigkeitschromatographische Trennung der Amide bietet eine günstige experimentelle Grundlage, da die Trenneffekte ungewöhnlich groß sind. Der Autor hat ein Modell entwickelt. Vor

seiner Vorstellung soll die Frage beleuchtet werden: Was ist über den Zusammenhang zwischen Molekülstruktur und Adsorptionsverhalten grundsätzlich bekannt?

Untersuchungen zur obigen Frage wurden hauptsächlich im Zeitraum -1950-1970 durchgeführt, besonders in der Zeit nach der Ausarbeitung (ab ~1955) der Dünnschichtchromatographie (DC) durch Stahl. Die DC erlaubte es, schnell und sauber eine Vielzahl von quantitativen Daten zu sammeln. In der neueren Literatur (seit -1970) sind Untersuchungen zur obigen Problematik kaum noch zu finden, ausgenommen zum verwandten Problem des Einflusses des Eluens. Der Grund dürfte wohl sein, daß die gesamte Energie der an der LC Interessierten von den aufregenden analytischen und apparativen Aspekten der Hochdruckflüssigkeitschromatographie absorbiert worden ist¹⁾. Angesichts dieser Situation ist es ein großes Glück, daß das Material der älteren Literatur gesammelt und sehr ausführlich und systematisch dargestellt worden ist [172] (1968). Der Autor, L.R.Snyder, ein speziell an der Chromatographie interessierter Physikochemiker, hat ferner, aufbauend auf Ansätzen von Martin [244a]²⁾ (1950) sowie Sporer und Trueblood [244b] (1959), eine umfassende Theorie der Flüssigkeitschromatographie entwickelt³⁾. Sie ist in [172] sehr ausführlich beschrieben. Buch und Theorie von Snyder bilden die Basis der folgenden Betrachtungen⁴⁾.

Nach Snyder ist das Eluens S als monomolekulare Schicht auf dem Adsorbens adsorbiert. Der Adsorptionsprozeß eines Moleküls X der Probe besteht in einem Austausch mit m Molekülen des Solvens aus

-
- 1) Die HPLC, besonders mit neuen, weitgehend automatisch arbeitenden Apparaten bietet auch hervorragende Möglichkeiten zur Durchführung von Messungen aller Art zur obigen Problematik. Eine Nutzung in der hier interessierenden Richtung findet aber (noch) nicht statt.
 - 2) Leider ist die Originalliteratur nicht gut zugänglich. Eine ausführliche Darstellung findet man aber in dem bekannten Buch von Cassidy [245a].
 - 3) Eine von der obigen verschiedene Theorie wurde 1951 von LeRosen vorgestellt [246]. LeRosen starb bereits 1952. Seine Theorie wurde nicht weiterentwickelt.
 - 4) Eine "Kurzfassung" s. [245b].

der adsorbierten Schicht:



X_1 : Molekül der Probe, in der flüssigen Phase (Index 1);
 S_1^a : Molekül des Eluens, adsorbiert (Index a);
 X_a : Molekül der Probe, adsorbiert;
 S_1^a : Molekül des Eluens, in der flüssigen Phase

Die Freie Adsorptionsenthalpie $\Delta E^{1)}$ des Gleichgewichts entsprechend Gl. 7 beträgt:

$$\Delta E = E_{xa} + mE_{s1} - E_{x1} - mE_{sa} \quad \text{Gl. 8}$$

Es wird angenommen, für unpolare oder mäßig polare Eluentien eine gute Näherung, daß die Solvation in der flüssigen Phase vernachlässigt werden kann:

$$\Delta E = E_{xa} - mE_{sa} \quad \text{Gl. 9}$$

Die konsequente physikochemische Ausarbeitung führt zu folgendem Ausdruck für den Kapazitätsfaktor k' , der die Retention einer Probe X beschreibt (vgl. S. 72 f.):

$$\log k' = \log C + \bar{\alpha}(S^{\circ} - A_x \epsilon^{\circ}) \quad \text{Gl. 10}$$

C : dimensionslose Konstante²⁾;
 $\bar{\alpha}$: Adsorbens-Aktivitätsparameter; relative Größe, die auf ein Standard-Adsorbens mit $\bar{\alpha} = 1$ bezogen wird;
 S° : Freie-Adsorptionsenthalpie der Probe X;
 A_x : Fläche, welche ein Molekül der Probe auf dem Adsorbens einnimmt;
 ϵ° : Eluensstärke; theoretisch: $\epsilon^{\circ} = E_{sa}/A_s$, d. h. die Freie-Adsorptionsenthalpie des Eluens, bezogen auf die Fläche, welche es in der monomolekularen adsorbierten Schicht einnimmt (pro Molekül); in der Praxis wird ϵ° empirisch ermittelt und auf Pentan mit per definitionem $\epsilon^{\circ} = 0$ bezogen.

1) Die Freie Enthalpie wird als dimensionlose Größe angegeben: $E = G/RT$ (vgl. [172]).

2) Die Bedeutung dieser Konstanten ist hier unwichtig, da nur Differenzen von $\log k'$ für Trennungen unter gleichen physikalischen Bedingungen betrachtet werden. C kann, [172], aus ersten Prinzipien berechnet werden.

Gl. 10 hat sich für unpolare Eluentien und mäßig aktive Adsorbentien gut bewährt. Sie versagt, wenn spezifische Wechselwirkungen des Eluens, H-Brücken, Komplexbildung, Säure-Base-Gleichgewichte etc. vorkommen. Um die Vernachlässigung von E_{xl} und E_{sl} zu korrigieren, wird ein Term Δ_{eas} hinzugefügt, der die obigen Effekte, die insgesamt als "sekundäre Solvenseffekte" bezeichnet werden, global berücksichtigt:

$$\log k' = \log C + \bar{\alpha}(S^{\circ} - A_x \epsilon^{\circ}) + \Delta_{eas} \quad \text{Gl. 11}$$

Gl. 11, als thermodynamische Beziehung, erlaubt keine a priori-Aussagen für bestimmte Stoffe, Eluentien etc.; sie erlaubt aber die Korrelation von Meßgrößen und die Umrechnung von k' für verschiedene physikalische Bedingungen, die ihrerseits wiederum durch empirische Kenngrößen, ϵ° , $\bar{\alpha}$, charakterisiert sind.

Die Trennung von Diastereomeren wird durch den Trennfaktor $\alpha = k'_2/k'_1$ beschrieben. Aufgrund Gl. 11 ergibt sich:

$$\log \alpha = \log k'_2 - \log k'_1 = \bar{\alpha}(\delta S_o - \delta A_x \epsilon^{\circ}) + \delta \Delta_{eas} \quad \text{Gl. 12}$$

Der Operator δ bezeichnet die Differenz der Werte eines Parameters für Diastereomere. Die Trennung kann also auf drei Effekte zurückgeführt werden:

- Ein Unterschied in der Freien-Adsorptionenthalpie δS_o . Dieses ist unmittelbar einleuchtend.
- Ein Unterschied in der Fläche, die die Diastereomeren auf der Adsorbens-Oberfläche einnehmen. An diese Möglichkeit würde man rein intuitiv kaum denken.
- Ein Unterschied in den sekundären Solvenseffekten. Ein extremes Beispiel für einen derartigen Effekt wäre beispielsweise eine Trennung aufgrund unterschiedlicher Protonierung von basischen Verbindungen in einem sauren Eluens oder auf der Oberfläche eines sauren Adsorbens. Die Theorie kann derartige Effekte nur global erfassen, als Abweichung vom durch Gl. 10 beschriebenen "Idealverhalten".

Eine "Entwirrung" dieser Effekte aufgrund von Gl. 11 bzw. 12 er-

fordert offensichtlich ein systematisches Studium des Elutionsverhaltens in Abhängigkeit von $\bar{\alpha}$ (Adsorbens) und ϵ° (Lösungsmittel). Dieses wurde hier nur sehr beschränkt durchgeführt¹⁾. Das eigene (qualitative) Modell stützt sich auf den Term S° . Für diesen wurde folgender etwas furchterregende Ausdruck abgeleitet:

$$S^{\circ} = \underbrace{\sum_i Q_i^{\circ}}_I + \underbrace{\sum_{i \neq j} q_{ij}^{\circ}}_{II} - f'(Q_k) \underbrace{\sum_{i \neq k} Q_i^{\circ}}_{III} \quad \text{Gl. 13}$$

Die drei Terme dieser Gleichung stellen gleichzeitig drei Entwicklungsstufen der Theorie dar und sollen kurz diskutiert werden:

1. Grundlage zu Term I ist die Vorstellung, daß die Gesamtadsorptionenthalpie durch additive Beiträge Q_i° einzelner Atome bzw. Gruppen X_i beschrieben werden kann. Die Werte Q_i° , als Gruppen-Adsorptionenthalpie bezeichnet²⁾ werden für ein gegebenes Adsorbens³⁾ als Konstante betrachtet. Sie müssen aber je nach der molekularen Umgebung durch Korrekturterme, II und III, modifiziert werden. Eine implizite Berücksichtigung erfolgte, indem für die wichtigeren Gruppen spezielle Werte für aliphatisch und aromatisch gebundenes X_i ermittelt wurden. Ein Satz von Q_i° -Werten ist in Tabelle 8 zusammengestellt.

-
- 1) Der Aufwand an physikochemischen Messungen hierfür wäre enorm. Der Autor, als organischer Chemiker, hielt es für wichtiger, die Abhängigkeit der Trenneffekte von der Struktur der Diastereomeren zu untersuchen. Studien der obigen Art sind für den organischen Chemiker vor allem dann von Interesse, nachdem sich der von ihm untersuchte Effekt als für die organische Chemie, hier: Enantiomerentrennungen, nützlich erwiesen hat.
 - 2) Im Englischen: group adsorption energy.
 - 3) Im Prinzip ist der Einfluß des Adsorbens bereits durch die Größe $\bar{\alpha}$, Gl. 11, erfaßt. $\bar{\alpha}$ gestattet aber die Beschreibung spezieller Effekte nicht; z. B. besitzt die COOH-Gruppe auf Aluminiumoxid, wegen dessen Basizität, den extremen Wert $Q_{\text{COOH}}^{\circ} = 21$, auf Kieselgel, vgl. Tab. 8, gilt $Q_{\text{COOH}}^{\circ} = 7.6$.

Tabelle 8 Gruppen-Adsorptionsenthalpien Q_i° für Gruppen X_i in Verbindungen $R-X_i$; $R, R' = \text{Alkyl}$ (nach Snyder [172], Tab. 10-2).

Adsorbens: Kieselgel; Werte in Klammern: $R = \text{Aryl}$; die Q_i -Werte sind als dimensionslose Größen definiert, vgl. S. 158, Fußn. 1.

X_i	Q_i°	X_i	Q_i°
CH_3	0.07	CHO	4.97 (3.48)
$-\text{CH}_2-$	-0.05	NO_2	5.71 (2.77)
$-\text{C}=[a]$	0.25	CN	5.27 (3.33)
Ph	1.50	OCOR'	5.27 (3.45)
		COR'	5.27
F	1.54 (-0.15)		
Cl	1.74 (-0.20)	OH	5.60
Br	1.94 (-0.17)	NH_2	8.00
I	1.94 (-0.15)	SOR'	7.2
SH	1.70 (0.67)	COOH	7.6
SR'	2.94	CONH ₂	9.6 (6.6)
OR'	3.61 (1.83)		
NR' ₂	5.8 (2.52)		

[a] Olefinisches oder aromatisches C-Atom.

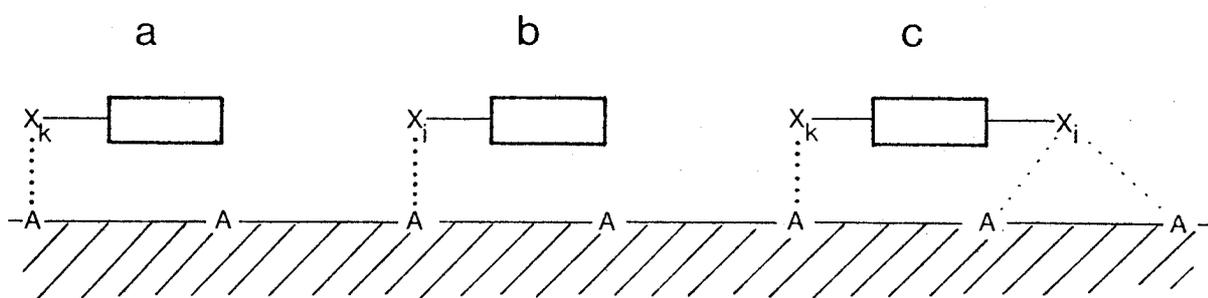
2. Wie oben schon angedeutet, werden die Adsorptionseigenschaften einer Gruppe X_i durch die molekulare Umgebung, also Gruppen X_j , $j \neq i$, beeinflußt. Soweit es sich um elektronische und sterische Effekte handelt - ein weiterer Effekt s. u. - erfolgt die Beschreibung durch die Korrekturgrößen q_{ij}^0 des Terms II. Es ist leicht einzusehen, daß eine solch simple Behandlung nur für spezielle Situationen, z. B. m- oder p-substituierte Arene, brauchbar ist. Für derart einfache Fälle liegen ausgedehnte Untersuchungen (und Tabellen) vor. Sterische Effekte sind außer in sehr einfachen Fällen (z. B. Vergleich von Reihen $\text{CH}_3\text{-X}_i$ und $t\text{-Bu-X}_i$) so nicht zu erfassen. Durch sterische Effekte kann eine Veränderung der elektronischen Eigenschaften und/oder der Orientierung einer Gruppe relativ zum Adsorbens bewirkt werden. Der zweite Effekt muß in starkem Maße mit dem Molekülgerüst, man denke etwa an alicyclische Verbindungen, und mit der Konformation variieren.

3. Die Bedeutung der Terme I und II dürfte leicht zu verstehen sein. Etwas schwieriger ist das Verstehen des Terms III. Adsorbentien wie Kieselgel und Aluminiumoxid besitzen eine ziemlich regelmäßige Oberfläche. Für Kieselgel ist sicher nachgewiesen¹⁾, daß die Adsorption wesentlich durch Silanolgruppen, von denen 4-5 pro 100 \AA^2 Oberfläche vorhanden sind, vermittelt wird²⁾. Die Silanolgruppen, bei anderen Adsorbentien andere Gruppen, bilden ein verhältnismäßig regelmäßiges Gitter von aktiven Stellen auf dem Adsorbens. Eine Gruppe X_k , welche an einer aktiven Stelle, A,

1) Eine spezielle Beschreibung der physikochemischen Eigenschaften s. [172], Kap. 7. Die Wechselwirkung von Kieselgel mit adsorbierten Verbindungen läßt sich recht gut mittels spektroskopischer Methoden [247] untersuchen (IR, UV).

2) Die dominierenden Beiträge zur Adsorptionseenthalpie stammen von Wasserstoffbrückenbindungen und Dispersionswechselwirkungen. Dipol-Dipol-Wechselwirkungen scheinen zumindest für Kieselgel eine untergeordnete Rolle zu spielen (vgl. [172], S. 43 ff.). Hierdurch wird z. B. erklärt, warum die Q_i^0 -Werte der Halogengruppen relativ klein sind; dieser Punkt wird manchem Leser beim Studium der Tabelle 8 schon aufgefallen sein.

gebunden ist, wird als lokalisiert¹⁾ bezeichnet. Ihr Beitrag zur Adsorptionseenthalpie beträgt $Q_k + \sum q_{jk}^0$. Spezielle Fälle ausgenommen, kann nur eine Gruppe pro j Molekül lokalisiert sein; alle anderen Gruppen sind delokalisiert, was einer Verminderung ihres Beitrages zur Adsorptionseenthalpie entspricht. Die folgende Darstellung soll diese Überlegungen veranschaulichen. In a und b sind die Gruppen X_k und X_i lokalisiert, in c ist X_k lokalisiert, X_i delokalisiert:



Lokalisiert ist die Gruppe (X_k) mit dem größten Beitrag der Terme I/II zur Adsorptionsenergie²⁾. Der Beitrag aller anderen Gruppen X_i , $i \neq k$, wird um einen Betrag $f'(Q_k) \cdot Q_i$ vermindert (Term III). Auch diese Korrekturgrößen lassen sich nur für sehr spezielle Verbindungsreihen (empirisch) ermitteln.

Unterschiede in S^0 für Diastereomere müssen durch die Terme II und III beschrieben werden³⁾. Es ist offensichtlich, daß eine

-
- 1) Im folgenden wird auch der Ausdruck delokalisiert vorkommen. Diese Begriffe verursachen dem organischen Chemiker Unbehagen, weil sie mit den Begriffen "Lokalisation bzw. Delokalisation von Elektronen" identifiziert werden können. Sie sind aber im Bereich der Chromatographie so eingebürgert, daß eine neue Wortschöpfung nicht sinnvoll erscheint.
 - 2) Wenn mehrere Gruppen gleiche Beträge besitzen, kann nur jeweils eine Gruppe lokalisiert sein. Dieser komplexe Fall ist theoretisch offenbar noch nicht behandelt worden.
 - 3) Ein Unterschied in Term I kann für Stereoisomere nicht auftreten, da diese aus denselben Gruppen X_i aufgebaut sind.

direkte Anwendung der Snyder-Theorie auf die hier interessierenden Verbindungen nicht möglich ist. Auch der Versuch einer empirischen Bestimmung der Größen q_{ij}^0 und $f'(Q_k) \cdot Q_i^0$ muß als so gut wie aussichtslos eingestuft werden. Trotzdem ist es nützlich, die Theorie zu kennen, denn sie leistet wertvolle Dienste auch für qualitative Überlegungen.

2.3.3 Modell zur Rationalisierung des Zusammenhanges von chromatographischer Elutionsabfolge und relativer Konfiguration bei diastereomeren sekundären Amiden; Anwendung auf die Amide 1-15

In Analogie zur Vorgehensweise bei der Deutung der Kernresonanzresultate wird das chromatographische Modell als Satz von Postulaten ($P_C 1 - P_C 5$) präsentiert. Es folgt ein Kommentar, in dem der Zusammenhang mit den theoretischen Erwägungen des vorangehenden Abschnitts hergestellt wird. Die Postulate beziehen sich ausschließlich auf das Adsorbens Kieselgel.

Grundsätzlich gelten die Postulate auch für Adsorbentien, die dem Kieselgel verwandt sind, z. B. Aluminiumoxid und Florisil. In Details, besonders hinsichtlich $P_C 4$, bestehen aber Unterschiede. Die Postulate gelten nicht für die Chromatographie an Umkehrphasen (Reversed-phase-Adsorbentien, vgl. Anhang I, S. 30), die Papier-, die Verteilungs- und die Gaschromatographie. Diese Formen der Chromatographie besitzen völlig andere Mechanismen als die Fest-Flüssig-Adsorptionschromatographie an Kieselgel und Aluminiumoxid. Im Rahmen dieser Arbeit wurde, unsystematisch, noch die gaschromatographische Trennung der diastereomeren Amide untersucht. Einige Resultate werden im folgenden besprochen.

$P_C 1$. "Sekundäre Solvenseffekte" bestimmen die Elutionsabfolge der diastereomeren Amide nicht.

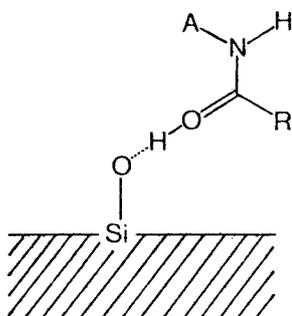
$P_C 2$. Die Konformation der Amide im gelösten und adsorbierten Zustand ist näherungsweise gleich.

$P_C 3$. Die Amidgruppe ist lokalisiert. Die Bindung zum Kieselgel erfolgt vorzugsweise über Wasserstoffbrücken entsprechend (52a)/(52b)/(52c). Signifikante Diastereoselektivität besteht nur für den Zustand (52c) (Zweipunkt-Bindung). Im Zu-

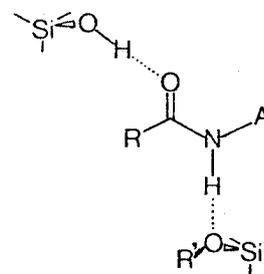
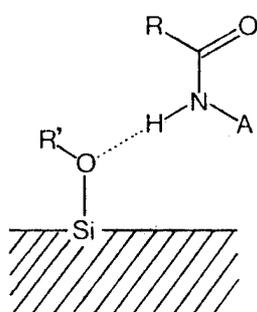
stand (52c) besteht formal eine parallele Anordnung der Amidebene und der Oberfläche des Kieselgels¹⁾:

R' = H oder Si

(52a)

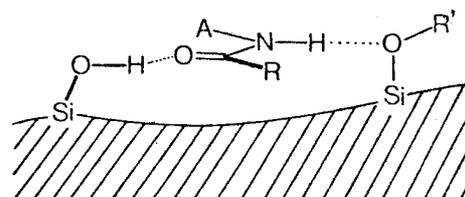


(52b)



Blick auf die Oberfl.
des Kieselgels

(52c)

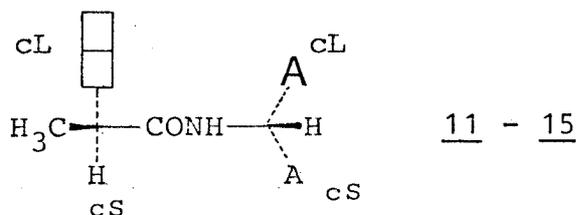
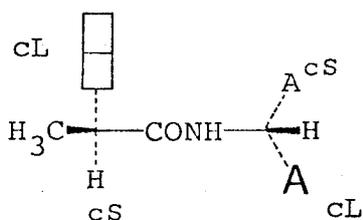
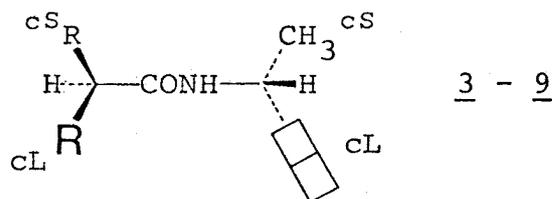
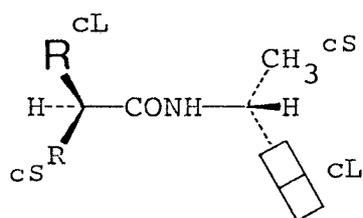


P_C4. Apolare Gruppen (allgemein: Gruppen mit wesentlich kleinerem Q_1^0 -Wert als dem der Amidgruppe, vgl. Tab. 8) stören die Ausbildung des Zustands (52c). Die Störwirkung eines Substituenten muß empirisch ermittelt werden. Formal wird sie durch die Bezeichnungen "chromatographisch groß" (cL) und "chromatographisch klein" (cS) bewertet, da sie bei apolaren Gruppen (Alkyl, Aryl) ungefähr der Raumerfüllung in Richtung der Normalen zur Amidebene parallel geht.

P_C5. Konfigurationsregel. Früher eluiert wird dasjenige Diastereomere eines Paares, in dem beide Seitenflächen (faces) der Amidgruppe besser abgeschirmt sind als die am schwächsten abgeschirmte Seitenfläche des anderen Diastereomeren.

1) In früheren Publikationen des Autors wurde P_C3 folgendermaßen formuliert: "Im adsorbierten Zustand ist eine parallele Anordnung der Amidebene und der Oberfläche des Kieselgels bevorzugt". Diese Formulierung reicht für viele Zwecke aus, sie erlaubt es aber nicht, gewisse Feinheiten, auf die im folgenden noch eingegangen wird, zu erfassen.

Die Anwendung der Postulate auf die Verbindungen 3-9, 11-15 ist sehr einfach, da die Konformationen bereits bekannt sind (P_C2). Man braucht sie hier lediglich aus Schema 9c und 10b zu übernehmen (S. 128). Die Gruppen R^1 , R^2 und A^1 , A^2 werden als A^{cS} , A^{cL} bzw. R^{cS} , R^{cL} klassifiziert (P_C4). Die Anwendung der Konfigurationsregel (P_C5) führt zur folgenden allgemeinen Regel:



R^{cL}/A^{cL} transoid
ersteluiert (a)

R^{cL}/A^{cL} cisoid
zweiteluiert (b)

Die Zuordnungen $R^{cS} = CH_3$, $R^{cL} = \text{Alkyl} \approx CH_3$ und
 $A^{cS} = CH_3$, $A^{cL} = \text{Alkyl} \approx CH_3, Ph$

führen zu dem auf S. 151 angegebenen Zusammenhang zwischen Elu-
tionsabfolge und Konfiguration.

Die Verbindungen 3-9, 11-15 werden für die folgende allgemeine
Kommentierung der Postulate P_C als Anschauungsbeispiele dienen.

P_C1 besagt, daß sekundäre Solvenseffekte, d. h. (vgl. S. 159)
Unterschiede in der Solvatationsenthalpie E_{x1} die Eluensabfolge

der Diastereomeren nicht bestimmen^{1,2)}. Dieses Postulat besitzt ein recht breites empirisches Fundament:

- Bei extensiver Variation (Dünnschichtchromatographie) der Eluentien wurde keine Änderung der Eluensabfolge beobachtet³⁾.
- Im allgemeinen werden in Eluentien ohne spezifische Solvations-eigenschaften (Kohlenwasserstoffe, Methylenchlorid) maximale Trenneffekte erhalten. Polare Anteile, vor allem Wasserstoffbrückendonatoren (Alkohole) vermindern die Trennfaktoren. Als typisches Beispiel ist in Abb. 21a der Einfluß des Ethylacetat- bzw. Ethanolgehalts in den Eluentien n-Hexan-Ethylacetat und n-Hexan-Ethylacetat-Ethanol auf den $\Delta(\Delta G)$ -Wert des Paares 15a,b dargestellt.

P_C1 ist sicherlich nicht uneingeschränkt gültig. So wird man für Diastereomerenpaare mit sehr geringen Trenneffekten ($\alpha < 1.1$, entspr. $|\Delta(\Delta G)| < 56$ cal bei 23°C) möglicherweise Verletzungen des P_C1 finden. Allerdings ist diese Vermutung⁴⁾ nicht beunruhigend, denn Aussagen über so geringe Effekte in einem so komplizierten Bereich wie dem hier vorliegenden müssen als nicht sinnvoll eingestuft werden. Ferner lassen sich Fälle mit speziellen Substituen-

-
- 1) Um Mißverständnissen vorzubeugen: es besagt nicht, daß die Größe der Trenneffekte (α bzw. $\Delta(\Delta G)$) unabhängig vom Eluens ist.
 - 2) Da dieser oder jener Leser auf die Idee kommen könnte, daß die Eigenassoziation der Amide, ein den Solvatationseffekten verwandter Effekt, eine Rolle spielt, sei angemerkt: diese Möglichkeit kann sicher ausgeschlossen werden. Alle Diastereomerenpaare dieser Arbeit wurden sowohl bei sehr niedriger (HPLC) als auch bei hoher Konzentration (präp. Trennungen) chromatographiert. Die Unterschiede in den α -Werten, die sich unter präparativen Bedingungen allerdings nicht genau ermitteln lassen (vgl. Anhang I, S. 18 f.), sind sehr gering.
 - 3) Dieses wurde natürlich nicht für jedes Diastereomerenpaar durchgeführt, wohl aber für mindestens je ein Paar einer Reihe. Als Eluentien wurden die gebräuchlichen Lösungsmittel eingesetzt: Hexan, Cyclohexan, Chloralkane (CH_2Cl_2 , CHCl_3), Benzol, Ethylacetat, Diethylether. Bei stärker eluotropen Eluentien werden Amide in der Regel an der Front eluiert. In solchen Fällen, sowie bei Anwendungen (Analytik, präparative Trennungen) wurden Gemische von n-Hexan oder Benzol, gelegentlich Methylenchlorid, mit den polaren der obigen Eluentien sowie Tetrahydrofuran, Dioxan, Ethanol, Methanol, Wasser und Eisessig verwendet.
 - 4) Eine Untersuchung, die hier natürlich sehr aufwendig ist, wurde noch nicht vorgenommen.

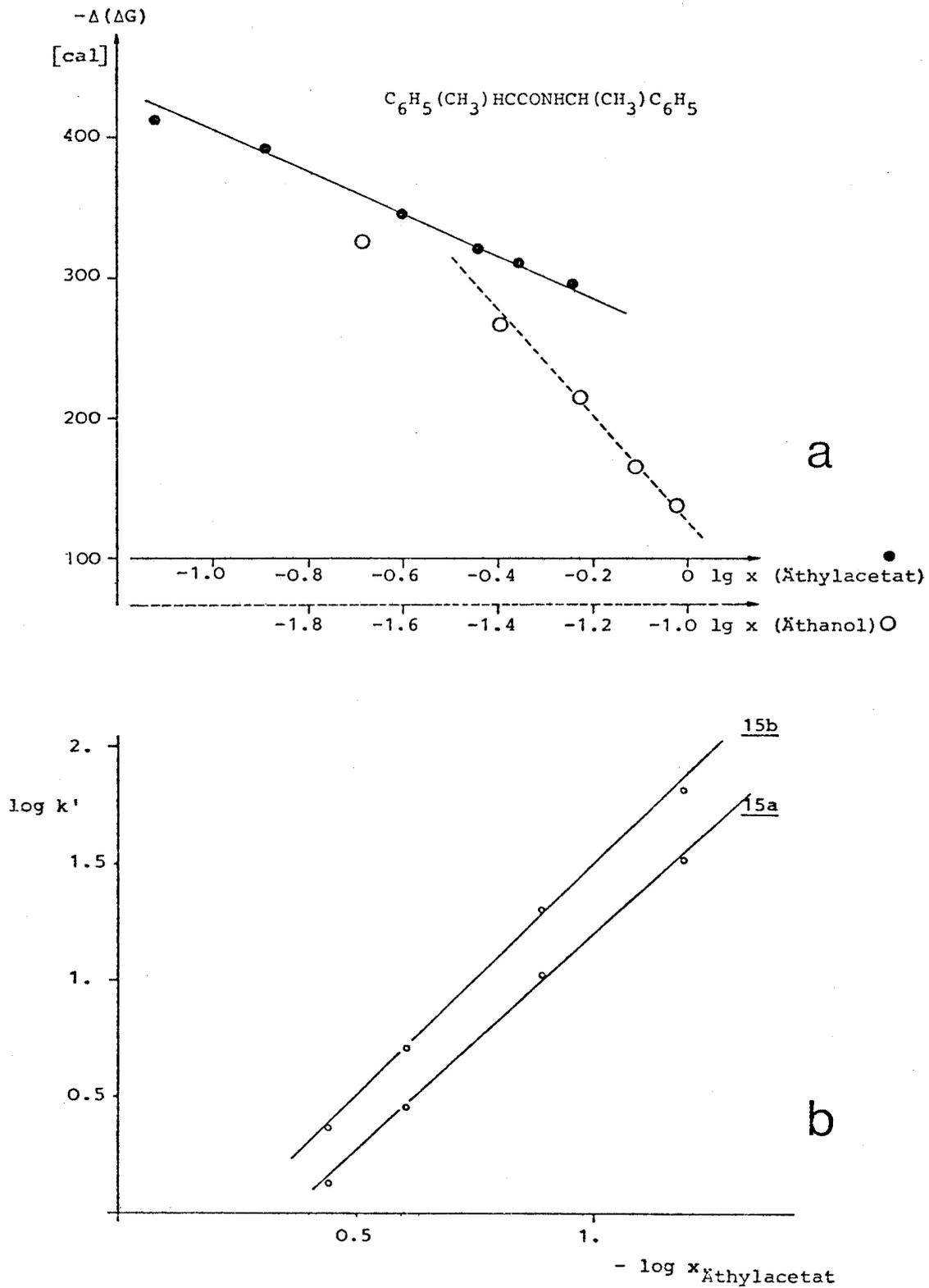


Abb. 21 Einfluß des Eluens auf das chromatographische Verhalten der diastereomeren Amide 15 a,b; x Molenbruch der polarsten Eluenskomponeute, k' Kapazitätsfaktor;
 a ●— n-Hexan-Ethylacetat, ○---- Ethanol in n-Hexan-Ethylacetat 8+2;
 b n-Hexan-Ethylacetat.

ten A^1 , A^2 bzw. R^1 , R^2 konstruieren, bei denen sekundäre Solvens-effekte eine Rolle spielen müssen. Ein Beispiel wäre etwa die Kombination A^1 oder $A^2 = NR_2$ und/oder R^1 oder $R^2 = COOH$. Logischerweise wird bei diesen Substituenten der Protonierungsgrad, damit die Acidität des Eluens, eine wichtige Rolle spielen. Für Fälle vom Typ (51), vgl. S. 148 f., ist mit einiger Sicherheit eine Abhängigkeit von der Wasserstoffbrückenacceptor- oder-donatorstärke des Eluens zu erwarten.

In der Literatur sind viele Arbeiten mit Beispielen der chromatographischen Trennung von diastereomeren Verbindungen, überwiegend cis-trans-Isomere der Cycloalkanreihe (Cyclohexanderivate, speziell Terpene [248] und Steroide [249]) sowie erythro-threo-Isomere von Dihydrostilbenderivaten [250,251], zu finden. In der Regel handelt es sich um recht oberflächliche Untersuchungen, "Nebenprodukte" von organisch-präparativen Arbeiten. Systematische Studien, sowohl über den Zusammenhang Konfiguration-Elutionsabfolge als auch den Einfluß des Eluens auf die Trennfaktoren (DC-Untersuchungen) wurden in einer Reihe schöner Arbeiten von Palamareva, Kurtev und Mitarbeitern [250] publiziert (cis-trans-isomere Tetralinderivate, erythro-threo-isomere Dihydrostilbene). Obwohl es sich bei den von diesen Autoren bearbeiteten um stark polare Verbindungen handelt, überdies der Trenneffekt überwiegend auf unterschiedlicher Ausbildung von intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen beruht, wurden unter mehr als 50 Diastereomerenpaaren nur 2 gefunden [250b], bei denen sich die Elutionsabfolge für apolare und polare (sekundäre Solvenseffekte) Eluentien unterscheidet. Es darf allerdings nicht verschwiegen werden, daß bei 1,2-Diolen und 1,2-Aminoalkoholen derselben Verbindungsreihen sehr drastische sekundäre Solvenseffekte auftreten, wenn dem Eluens (oder Adsorbens) Borsäure zugesetzt wird [251]. Einen solchen Effekt, eine intermediäre chemische Modifizierung, wird man aber wohl nur noch rein formal als sekundären Solvenseffekt bezeichnen können.

Obwohl die hier besprochenen Verbindungen nicht betreffend, sei angemerkt, daß die Trennung von Enantiomeren an einem achiralen Adsorbens mittels eines chiralen Eluens - Beispiele sind bekannt [59] [252] - ausschließlich auf sekundären Solvenseffekten beruht.

Postulat $P_c 2$, die Aussage, daß die Konformation sekundärer Amide im gelösten und im adsorbierten Zustand näherungsweise gleich sei, reizt sicherlich zum Widerspruch¹⁾. Abgesehen von der Tatsache,

1) Im Prinzip ist es möglich, die chromatographische Trennung der diastereomeren Amide mit Hilfe des Ugi-Ruch-Modells, vgl. S. 6, zu beschreiben, das ohne Konformationsbetrachtungen auskommt. Leider erwies sich der übliche "verkürzte Ansatz" als nicht anwendbar [173].

daß man bei weit über 100 Diastereomerenpaaren keinen damit unvereinbaren Befund erhielt - dieses Argument gilt für jedes der Postulate P_C -, sprechen die folgende Beobachtung und eine Überlegung dafür, daß das Postulat eine richtige Beschreibung der Situation erlaubt:

- Dank der Tatsache, daß die chromatographischen Studien nicht isoliert, sondern in Kombination mit spektroskopischen Untersuchungen durchgeführt wurden, ließen sich Abweichungen von den Standardkonformationen, z. B. wegen einer Wasserstoffbrückenbindung, erkennen. Im Frühstadium dieser Arbeit verblüffend, später selbstverständlich war die Erfahrung, daß in solchen Fällen stets auch Abweichungen vom "Standard-Fall" in der Chromatographie auftraten. Um es anders auszudrücken: konformationelle Besonderheiten lassen sich durch chromatographische Besonderheiten diagnostizieren.
- Daß die Bindung zum Adsorbens bei einer Gruppe mit hohem Q_i^O -Wert durch eine Konformationsänderung verstärkt werden kann, ist eine plausible^{el}, wenn auch keineswegs zwingende Vorstellung¹⁾. Man kann aber nicht folgern, daß dieses einer betragsmäßigen Vergrößerung der Adsorptionseenthalpie S^O (Gl. 13, S. 160) entspricht, denn eine derartige Konformationsänderung muß im allgemeinen durch eine Zunahme der potentiellen Energie des Probenmoleküls erkauft werden²⁾. Diese Überlegung führt zu der paradox klingenden Schlußfolgerung: selbst wenn P_C falsch wäre, sollte es richtige Aussagen über die relative Abstufung der Adsorptionseenthalpie von Diastereomeren erlauben.

-
- 1) Wenn die Konformationsänderung von einer starken und sauber interpretierbaren Veränderung des IR- oder UV-Spektrums begleitet wird, kann sie durch direkte Messung nachgewiesen werden (s. S. 162, Fußn. 1). Diesem Autor ist nur ein solcher Fall bekannt (Adsorption von Myrcen an Kieselgel [247c]).
 - 2) Selbst beim Vorliegen eines Gleichgewichts in der Lösung zwischen enthalpiegleichen Konformeren ist die Adsorption nur in einer besonders günstigen Konformation nicht "umsonst", da eine Entropieabnahme eintritt.

Hauptsächlich aus Diskussionsbemerkungen nach Vorträgen über die hier behandelte Problematik ist dem Autor bekannt, daß viele Chemiker aus der "Intuition" heraus der Meinung sind, daß die im Adsorptionsprozeß wirkenden Kräfte sehr groß sind - so groß zumindest, daß alle konformationellen Effekte bei weitem überspielt werden. Diese Ansicht ist kurios, denn (vgl. [172] S. 47) die Adsorptionsenthalpien (Kieselgel-Gasphase) kovalenter organischer Verbindungen sind den Verdampfungsenthalpien fast exakt gleich (Bereich: 5 - ca. 12 kcal/mol). Nun führt die Solvatation in der weit überwiegenden Zahl der untersuchten Fälle nicht zu einer signifikanten Änderung der konformationellen Situation (verglichen mit der in der Gasphase)¹⁾.

Die Ansichten des Autors über die chromatographische Trennung diastereomerer Amide sind - soweit ihm bekannt²⁾ - zweimal in der Literatur kritisiert worden³⁾. In einem Fall ist die Artikulation so typisch für die obige "intuitive" Meinung, daß sie wörtlich wiedergegeben sei [253] (mit ...steric "ease of approach" type model ... ist das Modell des Autors gemeint):

"Despite the success of the steric "ease of approach" type model, it is conceptually bothersome to suppose that the conformational behavior in solution of conformationally mobile molecules will exert control over chromatographic behavior. If two diastereomers are chromatographically separable, it is because their energies of adsorption are nonidentical. Conformation while adsorbed is surely relevant to adsorption energy. However, little is known about conformations of adsorbed molecules and they may be unlike those populated in solution. In general, the energy provided by adsorption of a moderately polar molecule upon silica gel or alumina should be great enough to disrupt most solution conformations should they be unfavorable adsorption conformations. If adsorption does cause conformational change, then the possibility arises that adsorption energies for separable diastereomers may differ, at least in part, because the energies required to disrupt the solution conformations of the diastereomers are different. Thus, diastereomers having stereochemically dependent intramolecular interactions should generally be separable by chromatography".

Es sei hinzugefügt - diese kleine Boshaftigkeit möge man verzeihen - daß diese Ansicht die Autoren in keiner Weise daran hinderte, das Modell vollständig und unverändert (und mit bestem Erfolg) auf diastereomere Urethane zu übertragen.

-
- 1) Andernfalls wären konformationsanalytische Aussagen aufgrund von Berechnungen (Kraftfeldmethode, Quantenchemie) oder Kristallstrukturanalysen generell wertlos oder in der Regel nur wegen der Kompensation gegeneinanderwirkender Effekte zufällig richtig.
 - 2) Es ist versucht worden, u. a. mit Hilfe des Science Citation Index, die Auswirkungen der eigenen Arbeiten möglichst lückenlos zu verfolgen.
 - 3) Zu beiden Arbeiten, mit Kritik in drei Punkten, wird hier Stellung genommen.

Bezüglich der Aussage, daß die Amidgruppe lokalisiert sei, ist P_c eine direkte Anwendung der Snyder-Theorie (s. S. 163). Nicht aus dieser Theorie folgt die Behauptung, daß signifikante Diastereoselektivität nur für den Zustand (52c), nicht für die Zustände (52a) und (52b) zu erwarten ist. Wiederum abgesehen vom Erfolg für die Deutung der Elutionsabfolge, sprechen folgende Gesichtspunkte für diese Annahme:

- Neuere Entwicklungen der Theorie des Eluenseinflusses auf das chromatographische Verhalten¹⁾ erlauben folgende Aussage. Für binäre Eluentien, die aus einer unpolaren (Kohlenwasserstoff) und einer polaren wasserstoffbrückenbildenden Komponente bestehen, gilt folgende Beziehung:

$$\log k' = \text{const.} - \bar{n} \log x \quad \text{Gl. 14}$$

k' : Kapazitätsfaktor;
 x : Molenbruch der polaren Komponente.

Die Linearität der Funktion $\log k'$ ($\log x$) ist empirisch gesichert²⁾. Die Größe \bar{n} entspricht nach einem von Soczewinsky aufgestellten Modell³⁾ [254c], das durch zahlreiche Meßergebnisse recht gut belegt ist, der Zahl der durch ein Probemolekül von der Adsorbensoberfläche verdrängten Moleküle der polaren Eluenskomponeute. Für Arene mit systematisch variierten Substituenten von hohem Q_1^0 -Wert als Testsubstanzen wird \bar{n} tatsächlich in guter Näherung ganzzahlig und der Zahl dieser Substituenten gleich gefunden⁴⁾.

-
- 1) Eine sehr klare Übersicht (Stand 1974) wurde von Snyder gegeben [254a].
 - 2) In der Regel ist die Funktion nicht über den ganzen Bereich von x linear. Eine vollständige Beschreibung ist mit Hilfe einer komplizierteren Funktion möglich [254b].
 - 3) Es handelt sich um eine Variante des Snyder-Modells, bei der angenommen wird, daß die Moleküle der polaren Eluenskomponeute bevorzugt an den aktiven Stellen (Kieselgel:Silanolgruppen) des Adsorbens gebunden sind.
 - 4) Im Snyder-Modell wird \bar{n} als Verhältnis des Flächenbedarfs von Probe- und polarem Eluensmolekül auf dem Adsorbens interpretiert. Es ist, wie leicht einzusehen, bei Verbindungen wie den Amiden 1-15 schwierig, die Fläche auf dem Adsorbens festzulegen.

Eigene Messungen zur Ermittlung von \bar{n} wurden für die Amide 15a, 15b durchgeführt, s. Abb. 21b (S. 168). Für 15b wird $\bar{n} = 2.0$, für 15a $\bar{n} = 1.9$ gefunden. Trotz dieser guten Übereinstimmung mit der Vorstellung einer Zweipunkt-Bindung darf der Befund wegen des approximativen Charakters der theoretischen Grundlagen nicht überbewertet werden. Immerhin ist zu erkennen, daß ein eingehendes Studium der Eluensabhängigkeit der k' -Werte für verschiedene Typen von diastereomeren Amidien und der Vergleich mit Diastereomeren aus anderen Stoffklassen (z. B. Ester) zumindest diagnostisch sehr wertvoll sein könnte¹⁾.

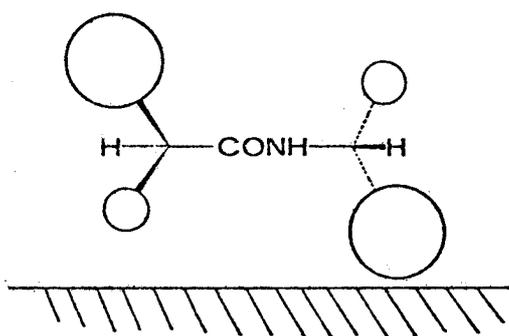
- Nicht aus obigem geht hervor, daß \bar{n} von Gl. 14 für Diastereomere verschieden sein sollte. Als experimentelle Tatsache folgt dieses ohne spezielle Messung schon aus der bereits erwähnten Beobachtung (S. 167), daß polare Zusätze zum Eluens den Trennfaktor in der Regel vermindern. Auch dieser Befund steht im Einklang mit $P_C 3$, denn es ist plausibel, daß die einfach gebundenen Zustände (52a)/(52b) durch Wasserstoffbrückenbindung zu Eluensmolekülen relativ zu (52c) stabilisiert werden²⁾.
- Als weiteres Argument zugunsten von $P_C 3$ sei die Überlegung angeführt, die ursprünglich zu seiner Aufstellung führte. Wenn man sich anhand von Molekülmodellen der diastereomeren Amide (Standardkonformationen, Schema 9, 10) überlegt, welche relativen Lagen die Moleküle zur Oberfläche des Kieselgels einnehmen könnten, sieht man sich sehr bald gezwungen, die Situation auf zwei Grenzfälle zurückzuführen³⁾: Lage der durch die Amidgruppe festgelegten (gemeinsamen) Ebene parallel und senkrecht zur als Ebene gedachten Oberfläche des Adsorbens. Ersteres entspricht (52c), letzteres (52a)/(52b). Für die Zustände mit senkrechter Anordnung der gemeinsamen Ebene ist kein Unterschied in den Wechselwirkungen zum Adsorbens für die Diastereo-

1) Die Gründe, warum dieses nicht durchgeführt wurde, sind auf S. 160, Fußn. 1, erläutert.

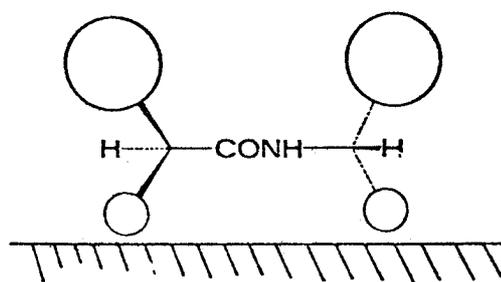
2) Aus dem Einzelbefund $\bar{n}(15a) < \bar{n}(15b)$, s. o., sollte man noch nichts folgern. Grundsätzlich ist dieser Punkt, Unterschiede in \bar{n} für Diastereomere, aber natürlich von großem Interesse.

3) Andernfalls gibt es zu viele Möglichkeiten.

meren festzustellen (man betrachte beispielsweise die Formelbilder auf den Seiten 137-141 und denke sich die Oberfläche des Adsorbens als zur Papierebene parallele Ebene). Die Zustände mit paralleler Anordnung von gemeinsamer Ebene und Adsorbensoberfläche (je 2 Möglichkeiten für jedes Diastereomere) dagegen unterscheiden sich drastisch, was durch die folgenden schematisierten Formelbilder veranschaulicht sei:



(53a)



(53b)

Die P_C4 zugrundeliegende Vorstellung, daß die Adsorption einer Gruppe mit hohem Q_i^O -Wert durch apolare Gruppen sterisch behindert werden kann, ist sehr alt und erscheint wohl jedem Chemiker als plausibel. Im Snyder'schen Buch ([172], S. 307-315) ist der Effekt durch zahlreiche eindeutige Beispiele belegt. Auch zur Deutung der Elutionsabfolge von Diastereomeren ist er herangezogen worden. So wurde damit schon sehr früh [248,249] die Beobachtung erklärt, daß bei alkylsubstituierten Cyclohexanolen und Cyclohexylaminen das Isomere mit axialer in der Regel vor dem mit äquatorialer polarer Gruppe eluiert wird.

So einfach das Grundprinzip ist, so schwierig ist es, allgemeine Aussagen über die Störwirkung von Gruppen zu machen, denn sie ist eine Funktion der Eigenschaften von "störender" und "gestörter" Gruppe sowie ihrer geometrischen Beziehung, die wiederum von der konformationellen Situation abhängt. Eine Erfassung in einfachen additiven Termen oder durch Kennzahlen (wie in Gl.13) kann nur für sehr eng verwandte Verbindungsreihen erfolgen. Die "Forderung" des P_C4 , daß die Störwirkung einer Gruppe empirisch festgelegt werden muß, trägt dieser Überlegung und der Erfahrung Rechnung.

Die Ermittlung der Störwirkung einzelner Gruppen aufgrund von Trennfaktoren bzw. $\Delta(\Delta G)$ -Werten diastereomerer Amide beruht auf einigen Hypothesen, die am Beispiel der Amide 1-15 formuliert werden sollen¹⁾.

(1) In einer Serie von Amidien $R^1R^2CH-CONH-CHA^1A^2$ mit konstantem Acylteil, z. B. im Falle 3-9: (R)- oder (S)- $Ph(CH_3)HC-CO$, sollte der $\Delta(\Delta G)$ -Wert dem Unterschied in der Störwirkung von A^1 und A^2 parallel gehen.

Aus (1) ergeben sich zwei Folgerungen²⁾ für die Bestimmung der relativen Störwirkung:

(1a) Eine der Gruppen A^1 , A^2 wird konstant gehalten, z. B. hier: $A^1=CH_3$, die zweite, $A^2=A$ wird variiert. Die Größe der $\Delta(\Delta G)$ -Werte sollte dann eine Skala zur Festlegung der Störwirkung von A bilden.

(1b) Wenn bei irgendeiner Kombination von Gruppen A^1 , A^2 keine Trennung möglich ist, d. h. $\Delta(\Delta G) = 0$ gilt, folgt hieraus, daß die Störwirkung der Gruppen A^1 und A^2 gleich ist³⁾.

Es ist unmittelbar einleuchtend, daß (1a) die rationellere Vorgehensweise zur Bestimmung der relativen Störwirkung ist. Nach (1b) zu verfahren ist nur sinnvoll, wenn man schon weiß oder vermutet, daß die Störwirkung von A^1 und A^2 gleich ist. In einem solchen Fall, besonders wenn die Gruppen A^1 und A^2 strukturell sehr verschieden sind, ist (1b) ein schöner Test. Den Punkten (1), (1a), (1b) völlig analoge Punkte (2), (2a), (2b) beschreiben den Fall: konstanter Aminmolekülteil, Variation der Gruppen R^1 , R^2 des Acylteils.

-
- 1) Intensive Bemühungen des Autors, diese Hypothesen für diastereomere Amide allgemein zu formulieren, führten zu erschreckend komplizierten und abstrakten Formulierungen und wurden deshalb aufgegeben. Trotzdem ist es glücklicherweise leicht, die Hypothesen von einem Typ zu anderen Typen von Amidien zu übertragen.
 - 2) Eine dritte Schlußfolgerung, die etwas komplizierter ist, soll an späterer Stelle besprochen werden.
 - 3) Ein trivialer, keine Aussage erlaubender Spezialfall ist: $A^1=A^2$ (Verbindung 2). Auch darf die obige Vorgehensweise natürlich nicht in einer Reihe angewendet werden, in der stets sehr kleine Trennfaktoren auftreten.

Die im Abschnitt 2.3.1 (S. 151 ff.) angegebenen Meßreihen gestatten eine Abschätzung der Störwirkung von Alkylgruppen sowie der Phenylgruppe entsprechend (1a) und (2a). Aus diesen sowie in analoger Weise erhaltenen Werten wurden folgende allgemeine Erfahrungen gewonnen:

- Wie in P_c4 ausgesagt, geht die Störwirkung von Gruppen mit sehr kleinen Q_i^O -Werten ihrer Raumerfüllung in Richtung der Normalen zur Amidebene parallel. Die Meßresultate der Tabelle 7 zeigen für beide Verbindungsreihen, 3-9 und 11-14, sowie 15 die Abfolge $CH_3 < Et < i-Pr < t-Bu < Ph$. Die Grenze der Q_i^O -Werte, bis zu der die sterischen Effekte dominieren, scheint im Bereich um $Q_i^O = 2-3$ zu liegen. Die Phenylgruppe ($Q_i^O = 1.5$) fällt noch in diesen Bereich, ebenso die Halogene ($Q_i^O = 1.5-2$)¹⁾.

Die Abstufung in den Werten der n-Alkylgruppen könnte aufgrund der allgemeinen Regel nicht vorhergesagt werden. Sie wird a posteriori durch die Vorstellung erklärt, daß eine Alkylkette im Mittel einen von der Amidgruppe wegweisenden Bogen beschreibt, so daß vor allem die ersten Glieder der Kette wirkungsvoll zur Abschirmung beitragen.

Die Parallelität von sterischer Raumerfüllung und Störwirkung ist nur für das Adsorbens Kieselgel gesichert. Z. B. wurde bei Urethanen an Aluminiumoxid gefunden [253]: $CH_3 < Et \approx Ph < n-Pr < t-Bu$. Aufgrund dieser Tatsache an den (publizierten) Vorstellungen dieses Autors ausgesprochene Kritik (vgl. S. 171, Fußnote 3)²⁾ muß als unzulässig zurückgewiesen werden, denn die Eigenschaften von Aromaten sind bekanntermaßen ([172], S. 324) gegenüber Aluminiumoxid und Kieselgel verschieden.

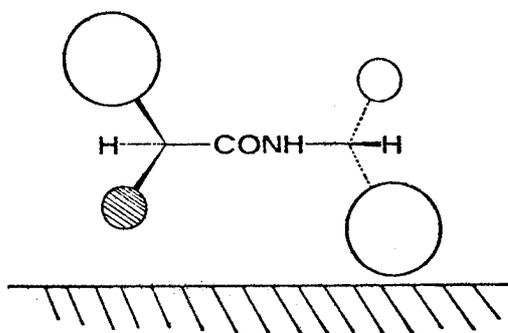
- Gruppen mit Q_i^O -Werten oberhalb ca. 3 besitzen deutlich geringere Störwirkung als sterisch in etwa äquivalente Alkylgruppen. So wurden z. B. die Abstufungen $CH_2-CH_3 > CH_2-COOCH_3 > CH_2-CH_2-OH$ und $CH_3 > COOCH_3 > CH_2OH$ festgestellt. Formal kann dieser Effekt

1) Der Gebrauch des Wortes polar sollte, wie das Beispiel zeigt, in diesem Zusammenhang vermieden werden, da u. U. irreführende Assoziationen hervorgerufen werden.

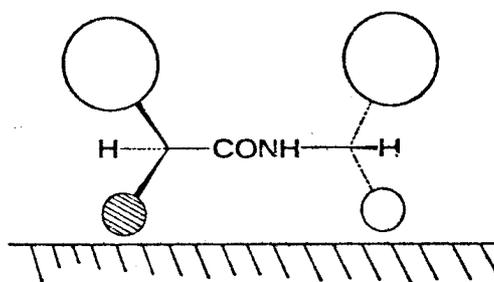
2) Es handelt sich hier um den zweiten Punkt.

beschrieben werden, indem er als effektive Verminderung der sterischen Raumerfüllung betrachtet wird. Aus diesem Grunde wurden die Ausdrücke "chromatographisch groß" (cL) und chromatographisch klein (cS) zur Angabe der relativen Wirkung zweier Gruppen gewählt. Nach den vorliegenden Werten geht die Verringerung der Störwirkung in etwa der Zunahme der Q_1^O -Werte parallel. Bei relativ ähnlichen Gruppen kann die Klassifizierung cL/cS aber nur durch Messung durchgeführt werden.

Der Autor sieht zwei mögliche Erklärungen für den obigen Effekt: a. Die Gruppe mit hohem Q_1^O -Wert trägt zur Stabilisierung des Zustandes (52c) relativ zu (52a)/(52b) bei, was einer Vergrößerung der Trennfaktoren entspricht (Gründe für diese Annahme s. [255]). b. Der Substituent mit $Q_1^O > 3$ unterliegt selbst, wie die Amidgruppe, einer für die Diastereomeren unterschiedlichen Abschirmung. Dieses Argument ist an den schematischen Darstellungen (53a)/(53b), Gruppe $Q_1^O > 3$ schraffiert, leicht zu erkennen. Offensichtlich ist sowohl die Abschirmung der Amidgruppe als auch die der " $Q_1^O > 3$ -Gruppe" in demselben Diastereomeren, (53a), die größere, was wiederum einer Erhöhung des Trennfaktors (relativ zum Fall mit "apolarer schraffierter Gruppe") entspricht¹⁾.



(53a)



(53b)

- Legt man die auf S. 129 erläuterte Einordnung der diastereomeren Amide als Permutationsisomere zugrunde, sollte erwartet werden, daß die Störwirkung eines Substituenten konstant ist. Diese Erwartung wird in guter Näherung erfüllt. Unterschiede von Molekül zu Molekül treten auf, wenn bei Variation anderer

1) Eine Entscheidung, welche Erklärung die richtige ist - vorausgesetzt es gibt nicht noch andere Möglichkeiten - dürfte schwierig sein. Es wurde noch kein Versuch einer Klärung unternommen.

Gruppen die interne Konformation oder die Stellung der betrachteten Gruppe relativ zur Amidebene verändert wird.

Zur Veranschaulichung sei die Stellung der Gruppe Ar von diastereomeren Amiden (Ar)RCH-CONH-CH(CH₃)Ph (mit gleichkonfiguriertem Acylteil) anhand des Schemas 6 auf S. 120 betrachtet¹⁾. Es ist leicht ersichtlich, daß in Abhängigkeit von R sowohl der Torsionswinkel τ_3 ²⁾, der beschreibt, wie weit Ar aus der Amidebene herausragt, als auch τ_4 , der den Rotationszustand relativ zum Asymmetriezentrum angibt, variieren könnte. Unterschiede in τ_3 , τ_4 sollten Unterschiede in der Störwirkung verursachen.

Die Messungen³⁾ für eine entsprechende Reihe, Ar = Ph, ergaben Werte, die mit den nach den Ergebnissen des Abschnitts 2.3.1 und Hypothese (2b) zu erwartenden praktisch exakt übereinstimmen, wenn als Standardkonformation (43ab), Schema 6 (S. 120), angesetzt wird.:

R	CH ₂ OAc	CH ₃	C ₂ H ₅	CH(CH ₃) ₂	C(CH ₃) ₃	Cyclohexyl
$-\Delta(\Delta G)$ [cal]	424	350	242	148	42	0(±10)
						(Ar=Ph) ⁴⁾

In derselben Verbindungsreihe, (Ar)RCH-CONH-CH(CH₃)Ph, wurde jedoch auch die größte Abweichung von der Erwartung gefunden, wenn (43b) als Standardkonformation vorausgesetzt wird⁵⁾:

Ar	Phenyl	Mesityl	R = CH ₃
$-\Delta(\Delta G)$ [cal] ³⁾	350	228	

- 1) Die Amidebene steht hier senkrecht auf der Papierebene. Ihre Projektion ist eine Gerade durch die Atome O und N der Newman-Projektionen.
- 2) Zur Definition von τ_3 und τ_4 s. S. 93.
- 3) Chromatographische Bedingungen: wie in Tab. 7[a] (S. 152) angegeben.
- 4) An dieser Reihe läßt sich auch der Unterschied zwischen LC- und GC-Trennung sehr schön verdeutlichen: Auf einer apolaren Trennphase (OV 101, 250°C) wurde $\alpha=1.1\pm 0.05$ für die gesamte Reihe gefunden, die Elutionsabfolge ist umgekehrt wie in der LC. Der Mechanismus der GC-Trennung muß also vollkommen anderen Prinzipien unterliegen als der der LC-Trennung.
- 5) Die Konfigurationsregel (P_C5) wird nicht verletzt.

Dieser Fall, in der Frühphase der Untersuchungen bearbeitet, war zunächst schockierend, denn die sterische Raumerfüllung der Mesitylgruppe ist eindeutig größer als die der Phenylgruppe. Die spektroskopische Untersuchung ($^1\text{HNMR}$, IR) löste das Rätsel sofort auf: In den 2-Mesitylpropanamiden besteht eine sehr starke Wasserstoffbrückenbindung zwischen der Mesityl- und der N-H-Gruppe¹⁾. Die Konformation muß damit (43bc), Schema 6 auf S. 120, sehr nahe kommen²⁾. In dieser, als Grenzfall $\tau_3 = 180^\circ$, liegt die Arylgruppe so, daß für beide Seitenflächen der Amidebene dieselbe Abschirmung bewirkt wird. Der $\Delta(\Delta G)$ -Wert gibt also eher den Unterschied in der Störwirkung von CH_3 und H wieder.

Man beachte, daß dieser Fall nicht den Postulaten P_C widerspricht. Im Gegenteil - als Beispiel zum ersten der auf S. 170 angeführten Argumente bestärkt er $P_C 2$. Auch zeigt sich hier sehr deutlich, wie wertvoll, ja notwendig es ist, die chromatographischen mit spektroskopischen Untersuchungen zu kombinieren.

Konfigurationsbestimmung aufgrund der Elutionsabfolge diastereomerer Amide. - Der Zusammenhang zwischen der relativen Konfiguration³⁾ und der Elutionsabfolge wird durch das spezielle Postulat $P_C 5$, die Konfigurationsregel, beschrieben. $P_C 5$ darf nur nach Anwendung der anderen Postulate, insbesondere $P_C 2$, herangezogen

- 1) IR-Spektrum (CCl_4): Im Bereich $c = 0.005-0.3 \text{ M}$ eine scharfe NH-Valenzschwingungsbande bei 3426 cm^{-1} (N-[1-Phenylethyl]-amide) bzw. 3423 cm^{-1} (n-Isopropylamid), nur bei hoher Konzentration sehr schwache NH-Bande intermolekularer Assoziate (vgl. dazu S. 118 f.)
- 2) Tatsächlich wird dieser Grenzfall nicht erreicht, denn die Mesitylgruppe ist in einer sehr stabilen Konformation $\tau_4=120^\circ$ fixiert (vgl. S. 137, Fußn. 1). Ferner zeigen die diastereotopen Methylgruppen des Aminteils der N-(1-Phenylethyl)-amide und des N-Isopropylamids keine Signaldifferenzierung. Hieraus kann auf $\tau_3 \approx 160^\circ$ geschlossen werden (Abb. 17a, S.135). Die Zahlenangaben für die Torsionswinkel beziehen sich auf eine (S)-2-Mesitylpropionylgruppe.
- 3) Sofern die absolute Konfiguration eines Chiralitätszentrums bekannt ist, ist natürlich auch die absolute Konfiguration der Diastereomeren gegeben.

werden. Der Sinngehalt und die rein technische Anwendung der Regel dürfte aufgrund der Formelbilder auf S. 166 und 174 unmittelbar klar sein.

Es versteht sich von selbst, daß die Anwendung des P_C5 Sorgfalt erfordert: die konformationellen Verhältnisse müssen hinreichend klar sein, die cS/cL-Klassifizierung muß eindeutig sein. Allenfalls als Glied einer systematischen Reihe sollten Zuordnungen bei kleinen Unterschieden in der Störwirkung der Gruppen vorgenommen werden. Da der Trennfaktor bzw. $\Delta(\Delta G)$ -Wert das Maß hierfür ist, kann als gute Regel gelten: die Diastereomeren sollten dünnenschichtchromatographisch trennbar sein ($\alpha > 1.2$). Als Beispiel für einen Fall, bei dem aufgrund des bisher angegebenen empirischen Materials keine Zuordnung getroffen werden sollte, seien die Amide 17a,b, vgl. S. 145, angeführt ($\alpha \approx 1.18$). Die cS/cL-Klassifizierung wäre problematisch¹⁾. Trotz zu erwartendem kleinem Trennfaktor, bestehen gegen eine Anwendung auf die hydrierte Verbindung keine Bedenken, da die Klassifizierung n-Pentyl > n-Propyl(cS) empirisch gut gesichert ist²⁾.

Die Konfigurationsregel hat sich bei den Arbeiten dieses Autors und im Laboratorium von Pirkle ausgezeichnet an zahllosen Beispielen bewährt. In der Regel kann sie mit der ¹HNMR-Methode kombiniert werden.

Angesichts dieser Erfahrungen war eine zur Zeit der Abfassung dieser Zeilen in einer hochrenommierten Zeitschrift erschienene Warnung zur Vorsicht³⁾ bei der Anwendung solcher Regeln [256a] für diesen Autor sehr schmerzlich, denn:

1. Die in [256a] vorkommenden Verbindungen liegen weit außerhalb des Bereichs, für den empirische Erfahrungen vorliegen oder die Konformationen ohne extensives Studium angegeben werden könnten (Typ: Amide der Mevalonsäure, also mit einem Chiralitätszentrum in β -Stellung zur Carbonylgruppe und einem quartären C als Chiralitätszentrum sowie 2 polaren Gruppen).

1) Wie die Buchstaben a,b sowie die Formelbilder auf S. 145 zeigen, gilt: 3-Pentenyl > n-Propyl (cS).

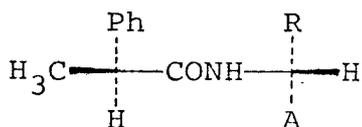
2) Es sei daran erinnert (vgl. S. 147), daß die ¹HNMR-Methode in diesem Fall wegen zu komplizierter Signalverhältnisse vermutlich nicht anwendbar ist.

3) Es handelt sich um den dritten der auf S. 171, Fußn.3, genannten Punkte.

2. Wie nur aus einer vorhergehenden Mitteilung zu entnehmen ist [256b], beträgt der Trennfaktor $\alpha \approx 1.06!$ (Mit HPLC unvollständige Trennung bei hoher Retentionszeit.)
3. Die Beobachtung, welche die Warnung veranlaßt hat, spricht nicht gegen die Regeln, sondern läßt sich gerade durch die Regeln erklären; ohne sie ist sie völlig unverständlich.

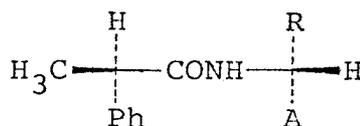
Da der Fall grundsätzlicher Natur ist und logisch entschieden werden kann, überdies nicht nur die LC-Methode, sondern jede Methode zur Konfigurationsbestimmung betrifft, bei der Eigenschaften von Substituenten bewertet werden (z. B. Oktantenregel, Horeau-Methode, Prelogsche Atrolactinsäure-Methode etc.) sei er besprochen¹⁾. Hierzu soll er auf die Verbindungen des Typs 1-15 "transformiert" werden.

Gegeben sei ein Paar von diastereomeren Amiden, deren Konformation aus den bisherigen Ausführungen folgt. Ihre Konfiguration ist durch die folgenden Formeln eindeutig festgelegt²⁾:



(60)

(70)



R = CH₃

R = C₂H₅

(61)

(71)

Wir finden experimentell:

$$t_R (60) < t_R (61)$$

$$t_R (70) > t_R (71)$$

Genau dieser Fall (bei anderen Verbindungen, s. obigen Punkt 1) liegt in [256a] vor. Die Autoren bewerten ihn folgendermaßen:

"These data vividly illustrate the difficulties inherent in assigning absolute configurations of even very closely related structures (substitution of ethyl for methyl) based solely upon chromatographic elution order ..."

- 1) Alle diese Methoden lassen sich im Prinzip durch das stereochemische Strukturmodell von Ugi und Ruch (S. 6) mathematisch behandeln. Deshalb kann das Problem logisch durch eine triviale algebraische Operation geklärt werden. Diese Vorgehensweise ist natürlich nur überzeugend, wenn man die Theorie und ihren Zusammenhang mit den hier behandelten Problemen kennt (s. [173], S.86).
- 2) Die "seltsame" Numerierung wurde gewählt, um - unter Vermeidung der Buchstaben a,b, die hier verwirren würden - leicht zu behaltende Bezeichnungen zu haben.

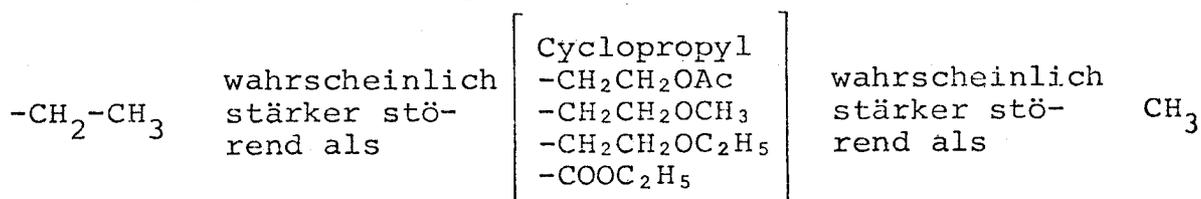
Mit dieser Äußerung implizieren sie, daß, was auch immer A in den obigen Formeln sein mag, die Regeln dieses Autors verlangen, daß die konfigurativ analogen Diastereomeren mit R = Methyl und R = Ethyl dieselbe Elutionsabfolge besitzen müssen¹⁾. Wenn das so wäre, würde tatsächlich ein Fehler in den Regeln vorliegen, und zwar ein grundsätzlicher Fehler, da es den Gegenfall ja experimentell gibt.

Was ist des Rätsels Lösung? Der Leser wird vielleicht schon bemerkt haben, daß der obige Fall den Postulaten P_C tatsächlich in keiner Weise widerspricht; das obige chromatographische Verhalten wird von den Postulaten gefordert, wenn die Störwirkung von A zwischen der von Methyl und Ethyl liegt, also die Abfolge C₂H₅ > A > CH₃ vorliegt.

Es mag auf den ersten Blick schwierig erscheinen, eine der obigen Bedingung genügende Gruppe A anzugeben. Leider ist unter den vorhandenen experimentell bearbeiteten Gruppen dieser Fall nicht vorhanden. Aufgrund der auf S.176 f. angeführten allgemeinen Erfahrungen kann aber leicht ein Vorschlag gemacht werden:

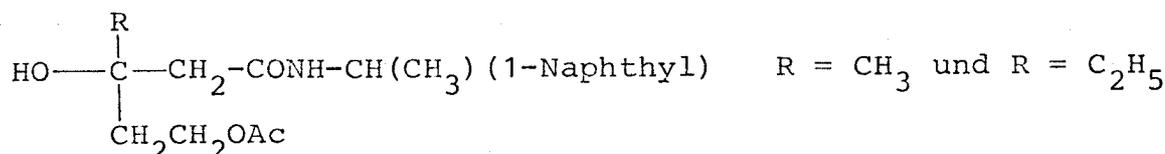
- a. Eine apolare Gruppe ($Q_1^O < 2$) müßte sehr klein sein, um die obige Bedingung zu erfüllen. Als mögliche Gruppe sei Cyclopropyl vorgeschlagen.
- b. Als sicher erscheint es (vgl. S.176), daß unter den Gruppen -CH₂CH₂X mit $Q_1^O(X) \approx 3-4$ ein solcher Fall vorhanden ist. Nach der² auf S.178 angeführten Meßreihe ist X = OCOCH₃ ein guter Vorschlag. Ferner kommen gemäß Tabelle 8 (S. 161) die Gruppen X = OCH₃ oder OC₂H₅ in Betracht.

Als Vorschlag sei zusammengefaßt:



(A)

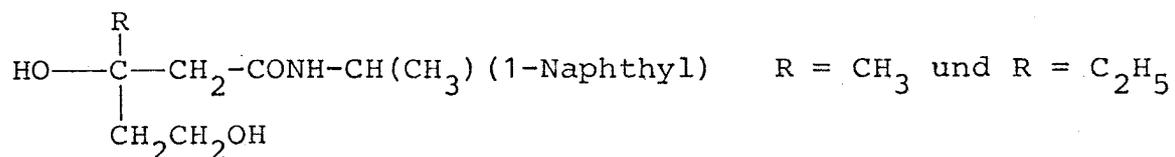
Es wird den Leser nun wohl nicht mehr erstaunen, daß es sich bei dem in [256a] (ein analoges Beispiel s. Publikation [256c], dieselbe Arbeitsgruppe) vorkommenden gerade um einen solchen Fall handelt, nämlich Amide



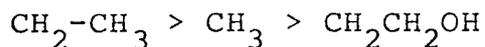
Auch ist aufgrund der Angaben auf S. 176 gut zu verstehen, daß

1) Anders ausgedrückt: es wird impliziert, daß die Regeln den Schluß erlauben, daß konfigurativ analoge, sich nur durch die Substituenten Methyl und Ethyl unterscheidende Diastereomere gleiche Elutionsabfolge besitzen.

bei den verwandten Amiden ([256a])



keine Umkehr der Elutionsabfolge bei der Substitution R = Ethyl gegen R = Methyl eintritt. In diesem Fall wissen wir aus Meßdaten ([257]), daß die Störabfolge gilt ($Q_1^{\circ}(\text{OH}) = 5.6!$):



Abschließend muß also ausgesagt werden: die in [256a] angeführten Beobachtungen mahnen nicht zur Vorsicht vor den Regeln, sondern es ist ein Triumph der Regeln, daß sie in die Lage versetzen, derartige Fälle zu analysieren und vorherzusehen¹⁾.

1) Es sei hinzugefügt, daß sich aus [256a], trotz Zitat, in keiner Weise entnehmen läßt, woher die von den Autoren angewendeten Methoden zur Enantiomerentrennung bzw. Bestimmung der enantiomeren Reinheit stammen.

3. ERWEITERUNGEN UND ANWENDUNGEN

Im vorangehenden Kapitel 2. sind die methodischen und theoretischen Grundlagen, auf denen die vom Autor entwickelten Methoden beruhen, eingehend beschrieben. Obwohl zur Illustration nur sehr einfache und wenige Verbindungen herangezogen wurden, bietet das Kapitel eine Grundlage für das Verständnis und zur Einordnung vielfältiger Erweiterungen und Anwendungen, die vom Autor und seiner Gruppe sowie inzwischen auch von mehreren anderen Arbeitskreisen vorgenommen worden sind. Angesichts der enormen Fülle des angesammelten Materials und der Tatsache, daß vieles bereits publiziert oder in allgemein zugänglichen (Dissertationen) oder leicht übermittelbaren (Diplom- und Zulassungsarbeiten) Berichten niedergelegt ist, sei hier nur eine kurze Übersicht gegeben¹⁾.

Bestimmung der absoluten Konfiguration von Amininen, Alkoholen, Thiolen und Carbonsäuren durch ¹H-NMR-Analyse diastereomerer Carbonsäurederivate. - Als Reagens zur Bestimmung der absoluten Konfiguration von Amininen hat sich Hydratropasäure gut bewährt. Prinzipiell die gleiche Regel gilt auch für andere 2-Alkyl-phenyllessigsäureamide. Ferner ließ sich die in 2. beschriebene Vorgehensweise direkt auf diastereomere Ester [139] und Thiolester [258] erweitern, für die, abgesehen von der schwachen H-Brücke zwischen der Phenyl- und der NH-Gruppe, völlig gleiche konformationelle Verhältnisse bestehen²⁾.

Als Reagens zur Konfigurationsbestimmung von sekundären Alkoholen wurde im allgemeinen statt 2-Methyl- die ebenfalls gut zu-

1) Die Mitarbeiter bei diesen Untersuchungen sind aus den Literaturzitaten ersichtlich.

2) Für Ester und Thiolester wurden ebenfalls Untersuchungen entsprechend S. 96 ff. durchgeführt [188a]. Im Falle der Ester konnten für die Korrelation von quantenchemisch berechneten Potentialkurven und Kristallstrukturdaten aber wesentlich mehr Beispiele gefunden werden, ca. 400 Ester sekundärer Alkohole, ca. 100 Ethylester (vgl. dazu: N-Ethylamide, S.105) sowie ca. 50 Ester tertiärer Alkohole.

gängliche 2-Ethyl-phenylelessigsäure (α -Phenylbuttersäure) eingesetzt. Wie in der Einleitung erwähnt (vgl. S. 47, (16a)/(16b)), entstehen dieselben Ester (sowie andere Derivate) bei der viel verwendeten Methode von Horeau, die auf der kinetischen Racematspaltung bei der Umsetzung chiraler Alkohole mit α -Phenylbuttersäureanhydrid¹⁾ beruht. Die Methoden lassen sich direkt kombinieren [139] [258b]. Die Horeau-Methode erfordert die Festlegung der relativen sterischen Raumerfüllung von R^1R^2 der Alkohole R^1R^2CHOH . Bei cyclischen Verbindungen ist die Zuordnung oft nicht möglich oder nicht eindeutig, was zu Fehlern geführt hat (vgl. Übersicht [259b], ein spezifisches Beispiel s. [259c]). Wie bereits betont wurde, beruht die Zuordnung im Falle der ¹H-NMR-Methode nur auf der Analyse der räumlichen Lage von R^1R^2 , die sterischen Eigenschaften der Gruppen spielen keine Rolle. Sie ist damit erheblich sicherer und breiter anwendbar als die Horeau-Methode²⁾.

Es sind zahlreiche Anwendungen der ¹H-NMR-Methode durchgeführt worden. Als besonders schöne Beispiele seien [260a-d] angeführt³⁾.

Vor der Einführung der 2-Alkyl-phenylelessigsäuren als Reagentien wurde vor allem O-Methylmandelsäure eingesetzt [108a]. Wie in der Einleitung besprochen (s. S. 44), wurde am Beispiel der Amide dieser Carbonsäure die erste Korrelation zwischen relativer Signalverschiebung und Konfiguration durchgeführt (1972). Eine entsprechende Korrelation für Ester dieser Carbonsäure wurde 1973 von Mosher und Mitarbeitern publiziert [140]. Anders als bei

-
- 1) Nach einer neueren Untersuchung [259a] scheint das Imidazolid ein günstigeres Reagens zu sein.
 - 2) In der Anwendung auf Amine ist die Horeau-Methode unzuverlässig, wenn das Anhydrid eingesetzt wird; günstigere Resultate ergeben das Imidazolid [259a] und Mischanhydride [95a]. Nach eigenen Untersuchungen generell nicht anwendbar ist die Methode auf Thiole [258b].
 - 3) In den Arbeiten [260a,b] ist die erstmalige Synthese und Bestimmung der absoluten Konfiguration des enantiomeren reinen D_3 -Trishomocubans beschrieben.

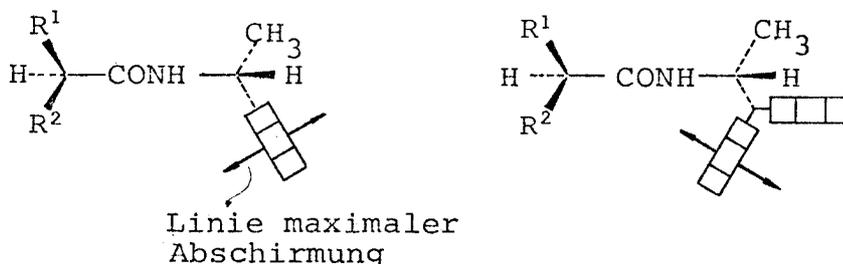
den 2-Alkyl-phenylessigsäurederivaten, ist bei den 2-Methoxyphenylessigsäurederivaten der "Sinn der Nichtäquivalenz" für Amide und Ester invers, weil bei den Amid, anders als den Estern, die Konformation des Acylteils durch eine (eindeutig nachgewiesene [IR, ¹HNMR]) intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung zwischen der NH- und der OCH₃-Gruppe bestimmt ist [108a].

Im Zusammenhang mit der obigen Untersuchung wurde die Korrelation zur Bestimmung der absoluten Konfiguration von α - und β -Alkoxy-carbonsäuren ausgenutzt. Der in diesem Bereich interessanteste Fall war die erstmalige Bestimmung der absoluten Konfiguration (pR) der (+)-1,10-Dioxa-[10]paracyclophan-12-carbonsäure¹⁾ (und anderer Verbindungen derselben Reihe)²⁾. Es traf sich hier glücklich, daß zu derselben Zeit Schlögl und Mitarbeiter [262] eine Konfigurationsbestimmung der entsprechenden carbocyclischen Verbindungen durchführten (chemische Korrelation in Kombination mit einer Horeau-Analyse). Die Ergebnisse aus beiden Untersuchungen konnten über die CD-Spektren der Verbindungen korreliert werden [262b].

Trotz der ausgezeichneten Resultate mit den Verbindungen der Phenylessigsäure-Reihe bzw. den 1-Aryl-ethylaminen³⁾ erschien es wünschenswert, Reagentien bereitzustellen, die größere Diastereotopiedifferenzen hervorrufen. Aufgrund einer Analyse, wie sie auf S. 139 ff. beschrieben ist, wurden derartige Verbindungen bei Ersetzung der Phenylgruppe durch die Benzhydrylgruppe erhalten ([263], [173] S. 112 f.). Die zugrundeliegende Idee dürfte im

-
- 1) Es handelt sich um die häufig in Lehrbüchern angeführte Verbindung, durch deren Enantiomerentrennung Lüttringhaus und Gralheer 1941 [261] erstmals die Chiralität von "Ansa-Verbindungen" nachwiesen.
 - 2) Diese Untersuchung (1971/72) wurde noch nicht publiziert. Das Ergebnis wurde Prof. Schlögl, Wien, mitgeteilt und von ihm 1973 [262b] zitiert.
 - 3) Als generell etwas günstigere Reagentien wurden auch die α - und β -Naphthyl-derivate verwendet (erstmalig für die Konfigurationsbestimmung der 1,10-Dioxa-[10]paracyclophan-12-carbonsäure).

Zusammenhang mit den früheren Ausführungen aus der folgenden Darstellung unmittelbar hervorgehen (vgl. S. 139 f.):



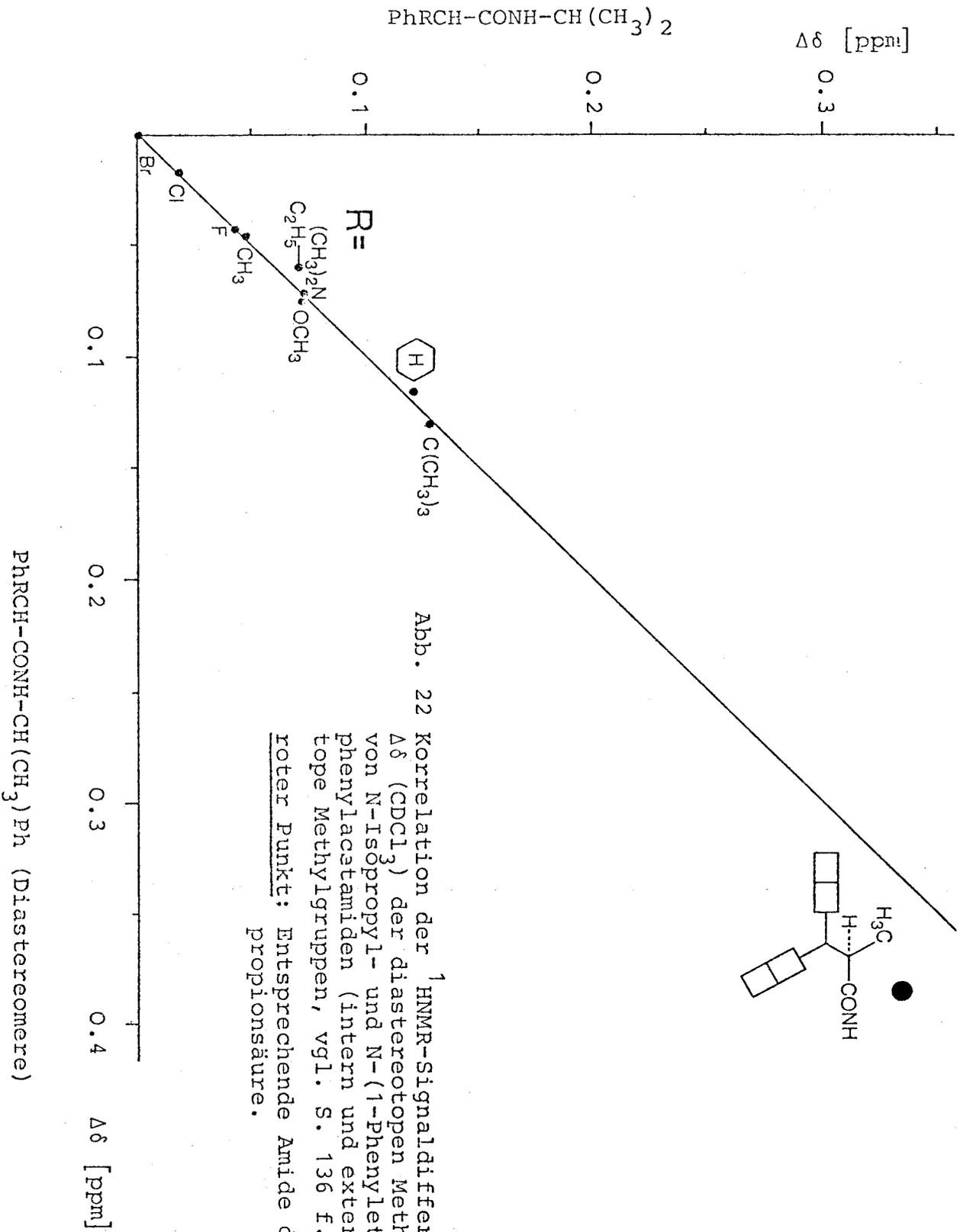
Zur Veranschaulichung der Verbesserung, die mit diesen neuen Reagentien erreicht wird, ist in Abb. 22 eine Korrelation der Signaldifferenzen der diastereotopen Methylgruppen von N-Iso-propyl- und N-(1-Phenylethyl)-amiden der Phenyllessigsäure-Reihe angegeben und in diese der zu den entsprechenden 2-Benzhydrylpropanamiden gehörige Punkt eingetragen. Als Beispiel einer Anwendung ([173b]) sei die Bestimmung der absoluten Konfiguration von partiell enantiomer angereicherter N-Thioformyl-4-piperidin-carbonsäure mit 1-Benzhydrylethylamin als Reagens angeführt. Die Chiralität dieser Carbonsäure beruht auf der behinderten Rotation der Thioamidgruppe¹⁾.

Bestimmung der enantiomeren Reinheit von Carbonsäuren und Aminen.

Auf die Möglichkeit, die enantiomere Reinheit dieser Verbindungen durch HPLC-Analyse diastereomerer Amide zu bestimmen, wurde bereits 1972 [108a] hingewiesen. Eine Publikation mit detaillierten Angaben erfolgte erst 1974 [108b]²⁾. Etwa zur gleichen Zeit wurden Beispiele von Schlögl und Mitarbeitern veröffentlicht [265b]. Die Methode hat zahlreiche Anwendungen gefunden, besonders in der pharmazeutischen Industrie. Es ist bereits ein - lei-

1) Die analoge N-Nitrosoverbindung s. [264] und [173].

2) Die frühen Untersuchungen waren nur dank des Entgegenkommens des Applikationslabors (Leitung: Dr. W. Strubert) der Fa. Siemens, Karlsruhe, möglich. Ein eigenes Gerät war ab 1974/75 verfügbar.



der sehr lückenhafter¹⁾ - Übersichtsartikel erschienen [265b]. Eigene Anwendungen wurden, da es sich inzwischen um eine Routine-methode handelt, nur im Zusammenhang mit anderen Problemen publiziert (s. z. B. [264], [265c], [130]).

Untersuchungen zum chromatographischen Modell. - Um eine möglichst breite Übersicht über die Störwirkung von Substituenten zu erhalten, wichtig für die Planung von Reagentien zur Enantiomerentrennung, wurden vielfältige Untersuchungen der in 2.3.1 beschriebenen Art durchgeführt (s. z. B. [266]). In Zusammenarbeit mit H.Völter [173] wurden vor allem Verbindungen mit apolaren Gruppen sowie quantitative Aspekte (Anwendung des Ugi-Ruch-Modells), zusammen mit G.Nill [267a] und D.Flockerzi [267b] Verbindungen mit Gruppen von hohem Q_i^O -Wert untersucht. Die hieraus erhaltenen grundsätzlichen Einsichten sind im Abschnitt 2.3.3 dieser Arbeit sowie in [255] niedergelegt.

Pirkle und Mitarbeiter [253] haben das chromatographische Modell auf diastereomere Urethane übertragen. In diesem Arbeitskreis wurden vor allem Einsichten über halogenierte Verbindungen beige-steuert. Zu bedauern ist, daß diese Arbeitsgruppe fast ausschließlich Aluminiumoxid verwendet, ein Adsorbens, das nur selten bei HPLC-Untersuchungen zum Einsatz kommt, weil seine Eigenschaften je nach den Herstellungsbedingungen sehr unterschiedlich sind. Dieses erschwert natürlich den Vergleich der Ergebnisse verschiedener Laboratorien sehr (vgl. S. 176).

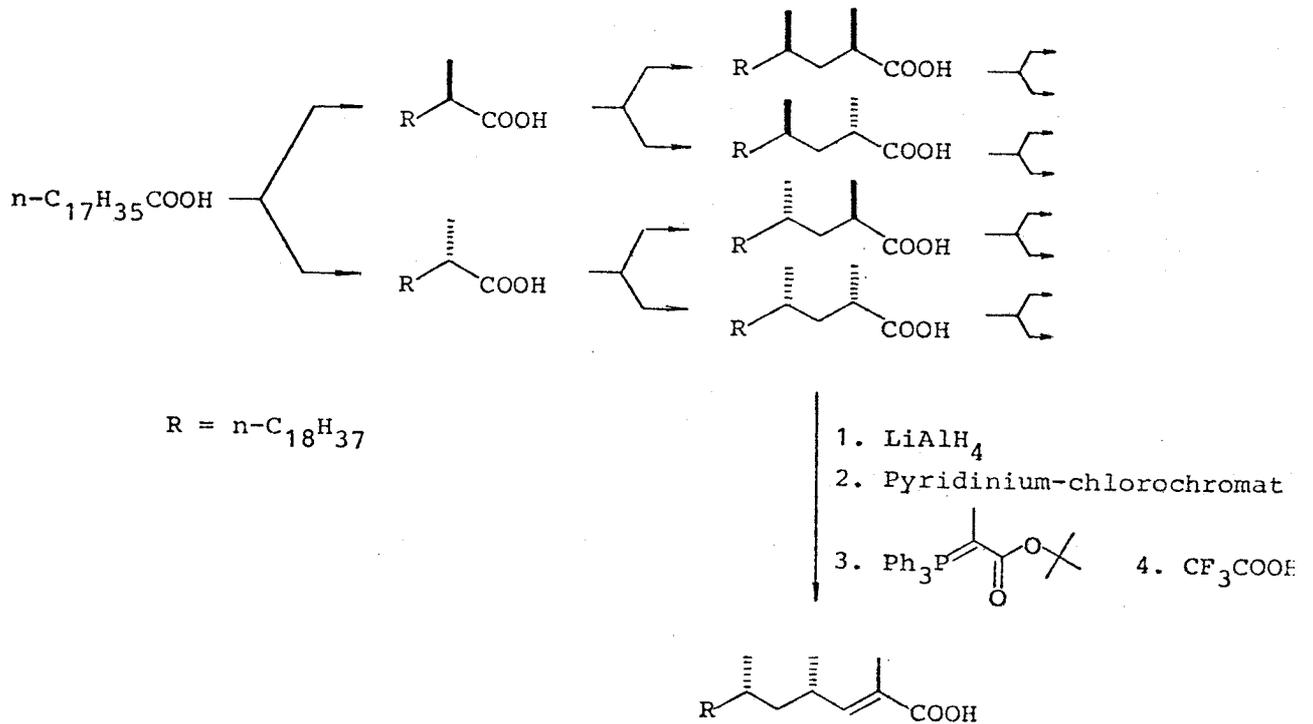
Präparative Enantiomerentrennung von chiralen Carbonsäuren (Lactonen) und Aminen über diastereomere Amide. - Wie in der Einleitung erwähnt (S. 51 ff.), war noch vor wenigen Jahren eine Ausnutzung der grundsätzlichen Erkenntnisse für die präparative Enantiomerentrennung durch die Unvollkommenheit der älteren chromatographischen Methoden und die schwierige Rückzerlegung der Amide nur sehr begrenzt möglich. Die erste Schwierigkeit ist nunmehr behoben.

1) Die Arbeit [265a] ist z. B. nicht angeführt.

Das Problem der Amidspaltung kann noch nicht als vollkommen gelöst betrachtet werden, ein wesentlicher Fortschritt ist jedoch zu verzeichnen. N-Acylderivate von Aminoalkoholen wie (R)-Phenylglycinol - durch Reduktion der wohlfeilen Aminosäure (R)-Phenylglycin leicht zu erhalten - lassen sich nicht nur besonders gut trennen, sondern infolge eines Nachbargruppeneffekts der Hydroxylgruppe auch verhältnismäßig leicht unter sauren Bedingungen hydrolysieren (1-3 N Mineralsäure) [257,267b]. Viele interessante Carbonsäuren sind unter diesen Bedingungen stabil und können in weitgehend rationaler Weise - gezielt - getrennt werden¹⁾. Als Beispiel einer Anwendung auf ein stereochemisch relativ anspruchsvolles Syntheseproblem ist in Schema 11 eine kürzlich vollendete Synthese der C₂₇-Mycolipensäure, (E,S,S)-2,4,6-Trimethyl-2-tetracosensäure, in ihren prinzipiellen Schritten beschrieben [269a]²⁾. Wie aus dem Schema wohl direkt klar wird, erlaubt die Vorgehensweise - sie sei scherzhaft als Divide-et-impera-Strategie bezeichnet - die Synthese beliebig konfigurierter verzweigter Fettsäuren etwa in so rational planbarer Weise wie die eines einfacheren Peptids.

Die der obigen Methode zur Trennung enantiomerer Carbonsäuren zugrundeliegenden Prinzipien konnten auch für die Enantiomerentrennung von Lactonen [257] und Aminen ausgenutzt werden [270].

-
- 1) Als Ergänzung kann die Amidspaltung durch thermische Umlagerung der N-Nitroso-amide [268] dienen. Wegen der potentiellen karzinogenen Wirkung dieser Verbindungen und der Nichtrückgewinnbarkeit des Amins ist diese Methode jedoch keine sehr attraktive Alternative.
 - 2) Diese Verbindung wurde 1951 aus Tuberkelbazillen isoliert [269b]. Eine frühere Synthese der optisch aktiven Carbonsäure s. [269c].



Bedeutung von

1. LiAlH_4
2. HI (aq)
3. $\text{H}-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{COOC}_2\text{H}_5)_2$
4. KOH (aq) / Δ
5. Umsetzung der entstandenen Carbonsäure über das Carbonsäurechlorid mit (R)-Phenylglycinol zu diast. Amiden
6. Flüssigkeitschromatographische Trennung und Hydrolyse

Schema 11 Synthese der C_{27} -Mycolipensäure, (E,S,S)-2,4,6-Trimethyl-2-tetracosensäure, unter Anwendung der gezielten flüssigkeitschromatographischen Trennung diastereomerer Amide des (R)-Phenylglycinols.

4. ZUSAMMENFASSUNG

Arylsubstituierte diastereomere Carbonsäurederivate - Amide, Ester, Thiolester, Carbamate u. a. - zeigen Unterschiede in den Kernresonanzsignallagen konstitutionsäquivalenter (diastereotoper) Kerne. Der "Sinn der Nichtäquivalenz" der Protonenresonanzen läßt sich aufgrund einfacher Regeln mit der Konfiguration dieser Verbindungen korrelieren, was die Bestimmung der absoluten Konfiguration von Carbonsäuren, Aminen, Alkoholen und Thiolen erlaubt. Ferner besitzen diastereomere sekundäre Amide, verglichen mit anderen Carbonsäurederivaten, im allgemeinen sehr hohe flüssigkeitschromatographische Trennfaktoren. Basierend auf diesem Effekt kann einerseits die Enantiomerenreinheit von Carbonsäuren oder Aminen durch Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) bestimmt, andererseits die Trennung enantiomerer Carbonsäuren oder Amine gezielt durchgeführt werden, d. h. unter Vorausabschätzung der Trenngüte und unter simultaner Bestimmung der Enantiomerenreinheit und absoluten Konfiguration. Grundlage der gezielten Enantiomerentrennung ist ein physikochemisches Modell, welches die Diastereoselektivität des adsorptionschromatographischen Trennprozesses (Adsorbens Kieselgel) z. T. semiquantitativ zu beschreiben gestattet.

In der vorliegenden Arbeit werden theoretische und methodische Grundlagen der obigen, vom Autor eingeführten Verfahren am Beispiel eines ausgewählten Satzes einfacher diastereomerer Amide beschrieben.

Einleitend wird eine Übersicht über die Verfahren zur Herstellung enantiomerenreiner chiraler Verbindungen gegeben. Dabei werden Anwendungsbreite, Ausbaufähigkeit und Möglichkeit der physikochemischen Erfassung der Stereoselektivität kritisch beleuchtet. Es wird gezeigt, daß unter den Verfahren zur Enantiomerentrennung besonders flüssigkeitschromatographische günstige Ansatzpunkte zur Weiterentwicklung bieten. Ferner werden neuere Methoden zur Bestimmung der Enantiomerenreinheit unter den Gesichtspunkten Anwendungsbreite, Genauigkeit und Fehlerquellen besprochen sowie an Methoden zur Bestimmung der absoluten Konfiguration zu stellende Anforde-

rungen formuliert. Diese Ausführungen bilden die Grundlage zur Erläuterung der Ausgangspunkte und Ziele der in folgenden Teilen beschriebenen Untersuchungen.

Im zweiten Kapitel werden die oben erwähnten einfachen diastereomeren Amide vorgestellt, Verbindungen vom Typ $\text{Ph}(\text{CH}_3)\text{HC}-\text{CONH}-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{A}$ und $\text{R}(\text{CH}_3)\text{HC}-\text{CONH}-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{Ph}$, $\text{A}, \text{R} = \text{Alkyl}$; der Zusammenhang zwischen internen (bei Fällen $\text{A}, \text{R} = \text{CH}_3$) und externen Diastereotopieeffekten (bei Fällen $\text{A}, \text{R} \neq \text{CH}_3$) wird erläutert. An diesen sowie einigen außerhalb der Systematik stehenden analogen Verbindungen als Beispielen werden zunächst technisch-methodische Gesichtspunkte besprochen: (a) Die racemisierungsfreie Aktivierung chiraler Carbonsäuren. Am Beispiel der besonders empfindlichen α -monosubstituierten Phenyllessigsäuren zeigt sich, daß einige in der Peptidchemie bewährte Methoden versagen, während das alte Verfahren der Umsetzung mit Oxalylchlorid zu Carbonsäurechloriden bei geeigneter Ausführung durchgängig ausgezeichnete Resultate ergibt. (b) Die flüssigkeitschromatographischen Trennverfahren. Es werden die wichtigsten Grundbegriffe der Flüssigkeitschromatographie (LC) kurz definiert und die verschiedenen LC-Verfahren bezüglich ihrer Leistungsfähigkeit allgemein sowie an einem speziellen Beispiel verglichen. (c) Die Aufnahme der $^1\text{HNMR}$ -Spektren diastereomerer Amide. Die Konzentrationsabhängigkeit der Diastereotopieeffekte wird an einem Beispiel aufgezeigt.

Es folgt die Präsentation der $^1\text{HNMR}$ -Meßergebnisse (Präzisionspektren von hochverdünnten Lösungen) sowie eine vollständig empirische (Basis: ReSi-Nomenklatur) Darstellung des Zusammenhanges zwischen dem Richtungssinn der Signaldifferenzen der diastereotopen Gruppen ("Sinn der Nichtäquivalenz") und der relativen Konfiguration der diastereomeren Amide. Um zu einer vom empirischen Ergebnis unabhängigen, unvoreingenommenen physikochemischen Deutung zu gelangen, wird der Versuch unternommen, die empirische Korrelation abzuleiten, ohne von den gemessenen chemischen Verschiebungen der diastereotopen Gruppen Gebrauch zu machen. Die hierzu einzuschlagende grundsätzliche Vorgehensweise wird eingehend diskutiert: sie besteht in einer Konformationsanalyse der Amide sowie, darauf

aufbauend, der a priori-Ableitung der relativen chemischen Verschiebungen aufgrund etablierter Modellvorstellungen der Kernresonanzspektroskopie.

Die Konformationsanalyse der Amide wird auf breiter Grundlage durchgeführt. Es werden einerseits gesicherte Fakten aus der Literatur zitiert, andererseits eigene Untersuchungen angeführt, insbesondere quantenchemische Berechnungen in Kombination mit der Auswertung von Kristallstrukturdaten, IR-Messungen und die Auswertung von Kopplungskonstanten anhand des Bystrov-Graphen. Wiewohl bei Amiden der Phenyllessigsäure-Reihe infolge einer schwachen Brückenbindung zwischen dem NH-Wasserstoff und der Phenylgruppe relativ komplizierte Verhältnisse vorliegen, kann das Resultat der Konformationsanalyse in Form von 6 einfachen Postulaten wiedergegeben werden. Die Postulate, deren Grundlage und Gültigkeitsbereich sehr kritisch untersucht wird, erlauben es, die Amide als konformationell starre Permutationsisomere darzustellen und die räumliche Beziehung von Substituenten bezüglich des Amid-Rückrats als "cisoid" oder "transoid" in einfacher Weise zu charakterisieren.

Die konformationellen Postulate bilden die Grundlage zur Deutung der relativen chemischen Verschiebungen der diastereotopen Gruppen. Als Ursache der Signaldifferenzen wird, nach Ausschließung anderer Möglichkeiten, die unterschiedliche Abschirmung der diastereotopen Kerne infolge der magnetischen Anisotropie der Phenylgruppe ermittelt. Die Auswirkung des Effekts wird als Postulat formuliert, der Geltungsbereich des Postulats durch Berechnung (Haigh-Mallion) des Beitrags der Phenylgruppe zur Abschirmungskonstanten als Funktion konformationeller Parameter an einem Beispiel beleuchtet (intern diastereotope Methylgruppen des N-Isopropyl-2-phenylpropionensäureamids). Die obige empirische Korrelation wird sowohl hinsichtlich der Vorzeichen ("Sinn") als auch der Größe der Signaldifferenzen richtig wiedergegeben. Die Anwendung der mit diesen Resultaten etablierten Methode zur Konfigurationsbestimmung wird an einem einfachen Beispiel demonstriert, der Anwendungsbereich anhand der Postulate kritisch untersucht. Klar zu erkennende Grenzen werden aufgezeigt.

Die Resultate flüssigkeitschromatographischer Untersuchungen an den obigen einfachen sowie verwandten diastereomeren Amiden werden in analoger Weise wie die Kernresonanzuntersuchungen dargestellt. Zunächst werden präzise hochdruckflüssigkeitschromatographische Messungen sowie empirische Korrelationen zwischen der Elutionsabfolge und der Konfiguration der Diastereomeren angeführt. Die physikochemische Deutung erfolgt anhand eines Modells, welches in Form von 5 Postulaten formuliert wird. Hinsichtlich der Terminologie und der physikalischen Grundlagen baut das Modell auf einer von Snyder entwickelten allgemeinen Theorie zur Beschreibung des Zusammenhangs zwischen chromatographischer Retention und Molekülstruktur auf. Die Snydersche Theorie wird in ihren Grundzügen erläutert. Eine wesentliche Voraussetzung zur Anwendung des chromatographischen Modells ist die Kenntnis der Konformationen der diastereomeren Amide. Die im Zusammenhang mit den Kernresonanzuntersuchungen erarbeiteten Postulate können auf den chromatographischen Bereich übertragen werden. Wiederum werden Anwendungsbereich und Grenzen der Modellvorstellungen kritisch untersucht.

Abschließend wird eine kurze Übersicht über die am Anfang dieser Zusammenfassung angeführten neuen Methoden sowie Anwendungen auf aktuelle Probleme der organischen Stereochemie gegeben.

ANHANG I. Als in sich geschlossene Arbeit enthält der Anhang die detaillierte Beschreibung eines apparativ sehr einfachen, trotzdem außerordentlich leistungsfähigen Systems zur präparativen Mitteldruck-Flüssigkeitschromatographie.

Im ersten Teil des Anhangs werden die physikalischen Grundlagen der Flüssigkeitschromatographie beschrieben. Diese Darstellung soll vor allem für die Praxis wichtige Zusammenhänge aufzeigen. So wird hier u. a. eine neue Formel abgeleitet, die in besonders durchsichtiger Weise den Zusammenhang zwischen Dosiervolumen und HETP-Wert wiedergibt.

Im Mittelteil ist die Apparatur, als wichtigen Baustein u. a. ein neues Dosiersystem enthaltend, sowie das Verfahren zur Packung der

Trennsäulen beschrieben. Die Darstellung zielt darauf ab, auch "chromatographischen Laien" ohne spezielle praktische Unterweisung die Herstellung von Trennsäulen maximaler Leistungsfähigkeit zu ermöglichen.

Im dritten Teil des Anhangs werden die nach dem neuen Verfahren hergestellten Trennsäulen anhand chromatographischer Meßdaten (spezifische Permeabilität, Peakform, van Deemter-Kurven u. a.) hinsichtlich Leistungsfähigkeit und Reproduzierbarkeit des Packverfahrens charakterisiert. Die zur Messung der Permeabilität von konisch endenden Trennsäulen nötigen Grundgleichungen sind erstmals im Rahmen dieser Arbeit abgeleitet worden. Die Ergebnisse werden kritisch diskutiert und mit Resultaten anderer Autoren verglichen.

Das Verfahren ist in mehreren Industrie- und Hochschullaboratorien seit 1-2 Jahren in Benutzung (insgesamt ca. 20 Apparaturen). Es hat sich bei Tausenden praktischer präparativer Trennungen bewährt.

5. LITERATURVERZEICHNIS

- [1] W.Bähr, H.Theobald, Organische Stereochemie, Heidelberger Taschenbücher, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg 1973.
- [2] (a) E.S.Gould, Mechanismus und Struktur in der organischen Chemie, Verlag Chemie, Weinheim 1964;
(b) R.B.Woodward, R.Hoffmann, Die Erhaltung der Orbital-symmetrie, Verlag Chemie, Weinheim 1970.
- [3] E.Schröder, C.Rufer, R.Schmiechen, Arzneimittelchemie I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1976, S. 46.
- [4] A.Fischli, Chimia 30, 4 (1976).
- [5] D.Seebach, H.-O.Kalinowski, Nachr.Chem.Techn. 24, 415 (1976).
- [6] E.J.Corey, Pure Appl.Chem. 14, 19 (1967).
- [7] (a) J.Gombos, E.Haslinger, U.Schmidt, Chem.Ber. 109, 2645 (1976);
(b) U.Schmidt, J.Gombos, E.Haslinger, H.Zak, Chem.Ber. 109, 2628 (1976).
- [8] J.D.Morrison, H.S.Mosher, Asymmetric Organic Reactions, Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.J. 1971.
- [9] T.D.Inch, Synthesis 1970, 466.
- [10] (a) J.W.Scott, D.Valentine Jr., Science 184, 943 (1974);
(b) D.Valentine Jr., J.W.Scott, Synthesis 1978, 329.
- [11] Y.Izumi, A.Tai, Stereo-differentiating Reactions: the Nature of Asymmetric Reactions, Kodansha, Tokio - Academic Press, London/New York 1977.
- [12] (a) Z.G.Hajos, D.R.Parrish, J.Org.Chem. 39, 1615 (1974);
(b) U.Eder, G.Sauer, R.Wiechert, Angew.Chem. 83, 492 (1971);
(c) Übersicht: N.Cohen, Acc.Chem.Res. 9, 412 (1976).
- [13] (a) Ref. [10b], S.338;
(b) M.D.Fryzuk, B.Bosnich, J.Am.Chem.Soc. 100, 5491 (1978).
- [14] (a) J.Sauer, J.Kredel, Angew.Chem. 77, 1037 (1965); Tetrahedron Lett. 1966, 6359;
(b) R.F.Farmer, J.Hamer, J.Org.Chem. 31, 2418 (1966);
(c) H.E.Ensley, C.A.Parnell, E.J.Corey, J.Org.Chem. 43, 1610 (1978).
- [15] Ref. [9], S.468.
- [16] A.I.Meyers, G.Knaus, K.Kamata, M.E.Ford, J.Am.Chem.Soc. 98, 567 (1976).
- [17] J.K.Whitesell, S.W.Felman, J.Org.Chem. 42, 1664 (1977).
- [18] (a) D.Méa-Jacheet, A.Horeau, Bull.Soc.Chim.Fr. 1968, 4571.
(b) A.I.Meyers, D.R.Williams, M.Druelinger, J.Am.Chem.Soc. 98, 3032 (1976);
(c) A.I.Meyers, G.S.Poindexter, Z.Brich, J.Org.Chem. 43, 892 (1978).
- [19] D.Enders, H.Eichenauer, Angew.Chem. 88, 579 (1976).

- [20] U.Schöllkopf, H.-H.Hansberg, I.Hoppe, M.Segal, U.Reiter, *Angew.Chem.* 90, 136 (1978).
- [21] W.H.Pirkle, J.R.Hauske, *J.Org.Chem.* 42, 2436 (1977)
- [22] R.S.Brinkmeyer, V.Kapoor, *J.Am.Chem.Soc.* 99, 8339 (1977).
- [23] K.L.Brown, L.Damm, J.D.Dunitz, A.Eschenmoser, R.Hobi, C.Kratky, *Helv.Chim.Acta* 61, 3108 (1978), s.a. R.Hobi, Dissertation Nr. 6030, ETH Zürich 1977.
- [24] B.Bogdanović, *Angew.Chem.* 85, 1013 (1973).
- [25] (a) D.J.Cram, F.A.Abd Elhafez, *J.Am.Chem.Soc.* 74, 5878 (1952);
(b) D.J.Cram, R.K.Kopecky, *ibid.* 81, 2748 (1959).
- [26] (a) V.Prelog, W.G.Dauben, Abstracts, XIIth International Congress of Pure and Applied Chemistry, Sept. 1951, No. 401;
(b) V.Prelog, *Helv.Chim.Acta* 36, 308 (1953);
(c) V.Prelog, *Bull.Soc.Chim.Fr.* 1956, 987.
- [27] (a) L.Salem, *J.Am.Chem.Soc.* 95, 94 (1973);
(b) W.T.Wipke, P.Gund, *J.Am.Chem.Soc.* 96, 299 (1974).
- [28] (a) J.-P.Vigneron, H.Kagan, A.Horeau, *Tetrahedron Lett.* 1968, 5681;
(b) R.Meric, J.-P.Vigneron, *Tetrahedron Lett.* 1974, 2059.
- [29] E.J.Corey, H.S.Sachdev, J.Z.Gougoutas, W.Saenger, *J.Am.Chem.Soc.* 92, 2488 (1970).
- [30] (a) I.Ugi, *Z.Naturforsch.* 20B, 405 (1965); *Jahrb.Akad.Wiss. in Göttingen* 1964, 1965, 21;
(b) E.Ruch, I.Ugi, *Top.Stereochem.* 4, 99 (1969);
(c) E.Anders, E.Ruch, I.Ugi, *Angew.Chem.* 85, 16 (1973).
- [31] (a) J.A.Dale, Stereochemical Control in the Prelog Asymmetric Induction Rule, Dissertation 1970, Stanford University (Referent: H.S.Mosher);
(b) J.P.Vigneron, M.Dhaenens, A.Horeau, *Tetrahedron* 33, 497 (1977).
- [32] J.B.Jones, J.F.Beck Jr., *Techniques of Chemistry* 10, 107 (1976)
- [33] (a) C.Neuberg, *Adv.Carbohydr.Chem.* 4, 75 (1949);
(b) P.A.Levine, A.Walti, *Org.Synth.Col.Vol.* 2, 545;
(c) D.D.Ridley, M.Stralow, *J.Chem.Soc., Chem.Comm.* 1975, 400.
- [34] B.Rambeck, H.Simon, *Angew.Chem.* 86, 675 (1974).
- [35] K.Mosbach, *Techniques of Chemistry* 10, 969 (1976).
- [36] Y.Izumi, I.Chibata, T.Itoh, *Angew.Chem.* 90, 187 (1978).
- [37] S.Sifniades, W.J.Boyle Jr., J.F.Van Peppen, *J.Am.Chem.Soc.* 98, 3738 (1976).
- [38] (a) Merck u. Co., Inc. (Erf. S.A.Harris, K.Folkers), US-Pat. 2319545 (18. Mai 1943) [*Chem.Abstr.* 37, 6280 (1943)];
(b) J.Paust, S.Pfohl, W.Reif, W.Schmidt, *Liebigs Ann.Chem.* 1978, 1024.
- [39] (a) A.Fischli, M.Klaus, H.Mayer, P.Schönholzer, R.Rüegg, *Helv.Chim.Acta* 58, 564 (1975);
(b) S.Terashima, M.Nara, S.Yamada, *Tetrahedron Lett.* 1978, 1487;
(c) R.R.Schmidt, A.Lieberknecht, *Angew.Chem.* 90, 821 (1978).

- [40] N.Cohen, W.F.Eichel, R.J.Lopresti, C.Neukom, G.Saucy, *J.Org.Chem.* 41, 3505 (1976).
- [41] E.Fischer, F.Brauns, *Ber.Dtsch.Chem.Ges.* 47, 3181 (1914).
- [42] S.Terashima, S.Yamada, M.Nara, *Tetrahedron Lett.* 1977, 1001.
- [43] (a) S.H.Wilen, *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions*, Univ. of Notre Dame-Press, Ind. (USA) 1972;
(b) S.H.Wilen, *Topics in Stereochemistry* 6, 107 (1971).
- [44] S.H.Wilen, A.Collet, J.Jacques, *Tetrahedron* 33, 2725 (1977).
- [45] P.Newman, *Optical Resolution Procedures*, Manhattan College, New York 1979.
- [46] (a) W.Schlenk Jr., *Liebigs Ann.Chem.* 1973, 1145, dort zitierte Literatur;
(b) A.Lüttringhaus, D.Berrer, *Tetrahedron Lett.* 1959, 10.
- [47] H.Gerlach, *Helv.Chim.Acta* 51, 1587 (1968).
- [48] R.H.Pickard, J.Kenyon, *J.Chem.Soc.* 101, 635 (1912).
- [49] M.-C.Brioso, *Acta Cryst.* B34, 679 (1978), dort zitierte Literatur.
- [50] J.-P.Guetté, L.Lacombe, A.Horeau, *C.R.Acad.Sci.Paris* 267, 166 (1968).
- [51] D.Rabinovich, G.M.J.Schmidt, *Nature* 211, 1391 (1966).
- [52] C.Winther, *Ber.Dtsch.Chem.Ges.* 28, 3000 (1895).
- [53] (a) E.Ruch, *Angew.Chem.* 89, 67 (1977);
(b) E.Ruch, *Acc.Chem.Res.* 5, 49 (1972).
- [54] A.Collet, J.Jacques, *Bull.Soc.Chim.Fr.* 1973, 3330.
- [55] A.Collet, J.Jacques, *Bull.Soc.Chim.Fr.* 1975, 215.
- [56] (a) J.Fried, C.Lin, M.Mehra, W.Kao, P.Dalven, *Ann. New York Acad.Sci.* 180, 52 (1971);
(b) J.Thix, *Zur "geometrischen" Enantiomerie in der organischen Chemie*, Dissertation No. 5216, ETH Zürich 1973 (Referent: V.Prelog);
(c) M.E.Bailey, H.B.Hass, *J.Am.Chem.Soc.* 63, 1969 (1941);
(d) A.P.Thoma, Z.Cimerman, U.Fiedler, D.Bedeković, M.Güggi, P.Jordan, K.May, E.Pretsch, V.Prelog, W.Simon, *Chimia* 29, 344 (1975),
V.O.G.Klingmüller, G.Gedenk, *Nature* 179, 367 (1957);
(e) J.M.Lehn, A.Moradpour, J.P.Behr, *J.Am.Chem.Soc.* 97, 2532 (1975), dort zitierte Literatur;
(f) C.Corradini, M.Lederer, *J.Chromatogr.* 157, 455 (1978), dort zitierte Literatur;
(g) D.J.Cram, J.M.Cram, *Science* 183, 803 (1974).
- [57] A.Manschreck, *Privatmitteilung*, Mai 1978.
- [58] A.Zlatkis, V.Pretorius, *Preparative Gas Chromatography*, Wiley-Interscience, New York 1971, S. 73 ff.
- [59] W.H.Pirkle, D.L.Sikkilaga, *J.Chromatogr.* 123, 400 (1976).
- [60] W.A.Koenig, K.Stoelting, K.Kruse, *Chromatographia* 10, 444 (1977).

- [61] D.R.Buss, T.Vermeulen, *Ind.Eng.Chem.* 60, 12 (1968).
- [62] I.S.Krull, *Adv.Chromatography* 16, 175 (1978), dort zitierte Literatur.
- [63] H.Hess, G.Burger, H.Musso, *Angew.Chem.* 90, 645 (1978), dort zitierte Literatur.
- [64] A.Lüttringhaus, U.Hess, H.J.Rosenbaum, *Z.Naturforschung* 22b, 1296 (1967), dort zitierte Literatur.
- [65] G.Hesse, R.Hagel, *Liebigs Ann.Chem.* 1976, 996, dort zitierte Literatur.
- [66] K.Bertsch, M.A.Rahman, J.C.Jochims, *Chem.Ber.* 112, 567 (1979).
- [67] A.-D.Schwanghart, W.Backmann, G.Blaschke, *Chem.Ber.* 110, 778 (1977), dort zitierte Literatur.
- [68] (a) L.C.Hansen, R.E.Sievers, *J.Chromatogr.* 99, 123 (1974);
(b) F.D.Hileman, R.E.Sievers, G.G.Hess, W.D.Ross, *Anal. Chem.* 45, 1127 (1973).
- [69] (a) A.V.Semechkin, S.V.Rogozhin, V.A.Davankov, *J.Chromatogr.* 131, 65 (1977), dort zitierte Literatur;
(b) Institut für Element-organische Verbindungen der Akademie der Wissenschaften der UdSSR, Moskau (Erf. S.W.Rogoshin, W.A.Dawankow), *D.O.S.* 1932 190 (25. Juni 1969);
(c) B.Levebre, R.Audebert, C.Quivoron, *Isr.J.Chem.* 15, 69 (1976/77).
- [70] (a) G.D.Y.Sogah, D.J.Cram, *J.Am.Chem.Soc.* 98, 3038 (1976); 97, 1259 (1975);
(b) D.J.Cram, J.M.Cram, *Acc.Chem.Res.* 11, 8 (1978);
(c) D.J.Cram, *Techniques of Chemistry* 10, 815 (1976);
(d) J.M.Girodeau, J.M.Lehn, J.P.Sauvage, *Angew.Chem.* 87, 813 (1975);
(e) W.D.Curtis, D.A.Laider, J.F.Stoddart, G.H.Jones, *J.Chem.Soc., Perkin Trans. 1*, 1977, 1756.
- [71] (a) M.S.Newman, W.B.Lutz, D.Ladnicer, *J.Am.Chem.Soc.* 77, 3420 (1955);
(b) L.H.Klemm, W.Stalick, D.Bradway, *Tetrahedron* 20, 1667 (1964);
(c) L.H.Klemm, K.B.Desai, J.R.Spooner, *J.Chromatogr.* 14, 300 (1964);
(d) F.Mikes, G.Boshart, E.Gil-Av, *J.Chromatogr.* 122, 205 (1976).
- [72] (a) Ref. [21];
(b) W.H.Pirkle, D.W.House, 175th American Chem.Soc.National Meeting, Anaheim, Ca., March 1978, Abstr.No. 151.
- [73] J.P.Vigneron, M.Dhaenens, A.Horeau, *Tetrahedron* 29, 1055 (1973).
- [74] (a) E.L.Eliel, *Stereochemistry of Carbon Compounds*, S. 43 ff., McGraw-Hill, New York 1962;
(b) R.M.Secor, *Chem.Rev.* 63, 297 (1963).
- [75] (a) L.Pasteur, *Ann.Chim.Phys.* [3] 24, 442 (1848); *C.R.Acad. Sci.* 26, 535 (1848);
(b) R.Robinson, *Tetrahedron* 30, 1477 (1974); G.B.Kauffman, R.D.Myers, *J.Chem.Ed.* 52, 777 (1975).

- [76] D.Gernez, C.R.Acad.Sci. 63, 843 (1866), Ann.Chem. 143, 376 (1867).
- [77] L.Velluz, G.Amiard, Bull.Soc.Chim.Fr. 20, 903 (1953).
- [78] A.Collet, M.-J.Brienne, J.Jacques, Bull.Soc.Chim.Fr. 1972, 127.
- [79] H.Wynberg, Acc.Chem.Res. 4, 65 (1971), dort zitierte Literatur.
- [80] M.Nakagawa, K.Shingu, K.Naemura, Tetrahedron Lett. 1961, 802.
- [81] R.E.Pincock, K.R.Wilson, J.Am.Chem.Soc. 93, 1291 (1971).
- [82] C.-H.Wong, K.-T.Wang, Tetrahedron Lett. 1978, 3813.
- [83] T.Williams, R.G.Pitcher, P.Bommer, G.Gutzwiller, M.Uskokovic, J.Am.Chem.Soc. 91, 1871 (1969); weitere Beispiele s. [86a].
- [84] W.Walden, C.Zimmermann, A.Kolbe, H.Pracejus, Tetrahedron 33, 419 (1977).
- [85] A.Horeau, J.P.Guetté, Tetrahedron 30, 1923 (1974).
- [86] (a) H.Wynberg, Chimia 30, 445 (1976);
(b) H.Wynberg, B.Feringa, Tetrahedron 32, 2831 (1976).
- [87] (a) R.Wegler, Liebigs Ann.Chem. 506, 77 (1933), dort zitierte Literatur;
(b) C.W.Bird, Tetrahedron 18, 1 (1962);
(c) S.Mitsui, Y.Kudo, Tetrahedron 23, 4271 (1967).
- [88] M.Asami, H.Ohno, S.Kobayashi, T.Mukaiyama, Bull.Chem.Soc.Jpn. 51, 1869 (1978); s. dazu auch S.Iriuchijima, Synthesis 1978, 684 und U.Schmidt, R.Schölm, Synthesis 1978, 752.
- [89] K.Mislow, Introduction to Stereochemistry, S.134 ff., W.A. Benjamin, New York 1965.
- [90] (a) J.F.King, S.K.Sim, J.Am.Chem.Soc. 95, 4448 (1973);
(b) J.F.King, S.-K.Sim, S.-K.L.Li, Can.J.Chem. 51, 3914 (1973).
- [91] J.Brandt, C.Jochum, I.Ugi, P.Jochum, Tetrahedron 33, 1353 (1977).
- [92] A.Horeau, Tetrahedron 31, 1307 (1975).
- [93] (a) R.Urban, I.Ugi, Angew.Chem. 87, 67 (1975);
(b) R.Urban, G.Eberle, D.Marquarding, D.Rehn, H.Rehn, I.Ugi, Angew.Chem. 88, 644 (1976).
- [94] K.Wiesner, E.W.K.Jai, T.Y.R.Tsai, C.Demerson, L.Jay, T.Kanno, J.Krepinsky, A.Vilim, C.S.Wu, Can.J.Chem. 50, 1925 (1972).
- [95] (a) H.Herlinger, H.Kleimann, I.Ugi, Liebigs Ann.Chem. 706, 37 (1967), 709, 1 (1967);
(b) A.Horeau in Handbuch der Stereochemie (H.B.Kagan), Bd.3, Georg Thieme, Stuttgart 1976.
- [96] P.Decker, Nachr.Chem.Techn. 23, 167 (1975); s. a. Ref. 13 von [91].
- [97] K.Morihara, T.Oka, FEBS Letters 33, 54 (1973); s. a. [32], S. 192.
- [98] D.M.Blow, Acc.Chem.Res. 9, 145 (1976).

- [99] M.Raban, K.Mislow, *Top.Stereochem.* 2, 199 (1967).
- [100] V.Prelog, G.Helmchen, *Helv.Chim.Acta* 55, 2581 (1972), dort zitierte Literatur.
- [101] (a) E.Gil-Av, B.Feibush, R.Charles-Sigler, *Tetrahedron Lett.* 1966, 1009.
(b) E.Gil-Av, B.Feibush, R.Charles-Sigler, *Gas Chromatography 1966* (A.B.Littlewood), Institute of Petroleum, London 1967, S. 227.
- [102] S.Weinstein, B.Feibush, E.Gil-Av, *J.Chromatogr.* 126, 97 (1976), dort zitierte Literatur.
- [103] H.Frank, G.J.Nicholson, E.Bayer, *Angew.Chem.* 90, 396 (1978), dort zitierte Literatur; s. auch Prospekte (ab Sept. 1978) der Fa. Applied Science Laboratories, Pennsylvania (USA) über Chirasil-Val-GC-Phasen.
- [104] (a) V.Schurig, *Angew.Chem.* 89, 113 (1977);
(b) V.Schurig, W.Bürkle, *Angew.Chem.* 90, 132 (1978);
(c) B.T.Golding, P.J.Sellars, A.K.Wong, *J.Chem.Soc.Chem. Commun.* 1977, 570;
(d) V.Schurig, B.Koppenhöfer, W.Bürkle, *Angew.Chem.* 90, 993 (1978).
- [105] Vgl. Ref. 28-33 in [106].
- [106] E.Gil-Av, D.Nurok, *Adv.Chromatography* 10, 99 (1974).
- [107] G.Saucy, R.Borer, D.P.Trullinger, J.B.Jones, K.P.Lok, *J.Org.Chem.* 42, 3206 (1977).
- [108] (a) G.Helmchen, R.Ott, K.Sauber, *Tetrahedron Lett.* 1972, 3873, dort zitierte Ref. 13.
(b) G.Helmchen, W.Strubert, *Chromatographia* 7, 713 (1974).
- [109] (a) A.Horeau, *J.Am.Chem.Soc.* 86, 3171 (1964);
(b) A.Horeau, J.-P.Guetté, R.Weidmann, *Bull.Soc.Chim.Fr.*, 1966, 3513;
(c) J.Y.Conan, F.Guinot, G.Lamaty, A.Natat, *Tetrahedron Lett.* 1974, 1667;
(d) Ref. [92];
(e) A.Schoofs, A.Horeau, *Tetrahedron* 33, 245 (1977).
- [110] (a) G.M.Whitesides, D.W.Lewis, *J.Am.Chem.Soc.* 92, 6979 (1970);
(b) H.L.Goering, J.N.Eikenberry, G.S.Koermer, *J.Am.Chem.Soc.* 93, 5913 (1971);
(c) R.R.Fraser, M.A.Petit, J.K.Saunders, *J.Chem.Soc., Chem.Commun.* 1971, 1450.
- [111] (a) M.D.McCreary, D.W.Lewis, D.L.Wernick, G.M.Whitesides, *J.Am.Chem.Soc.* 96, 1038 (1974);
(b) H.L.Goering, J.N.Eikenberry, G.S.Koermer, C.J.Latimer, *J.Am.Chem.Soc.* 96, 1493 (1974).
- [112] K.A.Kime, R.E.Sievers, *Aldrichimica Acta* 10, 54 (1977).
- [113] K.Mislow, M.Raban, *Topics in Stereochemistry* 1, 7 (1967).
- [114] R. von Ammon, R.D.Fischer, B.Kanellakopoulos, *Chem.Ber.* 104, 1072 (1971).
- [115] W.H.Pirkle, *J.Am.Chem.Soc.* 88, 1837 (1966).

- [116] (a) W.H.Pirkle, S.D.Beare, J.Am.Chem.Soc. 89, 5485 (1967);
(b) W.H.Pirkle, S.D.Beare, Tetrahedron Lett. 1968, 2579;
(c) W.H.Pirkle, S.D.Beare, R.L.Muntz, J.Am.Chem.Soc. 91,
4575 (1969);
(d) W.H.Pirkle, M.S.Hoekstra, J.Am.Chem.Soc. 98, 1832 (1976);
(e) W.H.Pirkle, D.L.Sikkenga, M.S.Pavlin, J.Org.Chem. 42,
384, 1370 (1977);
(f) W.H.Pirkle, P.L.Rinaldi, J.Org.Chem. 43, 4475 (1978).
- [117] W.H.Pirkle, J.Chem.Soc., Chem. Commun. 1970, 1525.
- [118] A.Mannschreck, P.Roza, H.Brockmann jr., T.Kemmer, Angew.
Chem. 90, 995 (1978).
- [119] R.A.Lewis, O.Korpiun, K.Mislow, J.Am.Chem.Soc. 90, 4847 (1968).
- [120] (a) J.Jacobus, M.Raban, K.Mislow, J.Org.Chem. 33, 1142 (1968);
(b) J.Jacobus, M.Raban, J.Chem.Educ. 46, 351 (1969).
- [121] J.A.Dale, H.S.Mosher, J.Am.Chem.Soc. 90, 3732 (1968).
- [122] J.A.Dale, D.L.Dull, H.S.Mosher, J.Org.Chem. 34, 2543 (1969).
- [123] (a) M.Raban, K.Mislow, Tetrahedron Lett. 1966, 3961;
(b) M.Raban, K.Mislow, Tetrahedron Lett. 1965, 4249.
- [124] (a) H.S.Mosher, Tetrahedron 30, 1733 (1974), dort zitierte
Literatur;
(b) C.J.Reich, G.R.Sullivan, H.S.Mosher, Tetrahedron Lett.
1973, 1505;
(c) H.Gerlach, Helv.Chim.Acta 49, 2481 (1966).
- [125] A.Horeau, Tetrahedron Lett. 1969, 3121.
- [126] (a) T.Hiyama, T.Mishima, H.Sawada, H.Nozaki, J.Am.Chem.Soc.
97, 1626 (1975);
(b) T.Hiyama, T.Mishima, H.Sawada, H.Nozaki, J.Am.Chem.Soc.
98, 641 (1976).
- [127] J.M.Bijvoet, A.F.Peerdemann, A.J.van Bommel, Nature 168,
271 (1951); vgl. dazu auch [74a], S. 95 f.
- [128] (a) R.G.Woolley, J.Am.Chem.Soc. 100, 1073 (1978), vgl. dazu
auch R.Grinter, Nachr.Chemie Techn. 26, 419 (1978);
(b) L.D.Barron, J.Am.Chem.Soc. 101, 269 (1979).
- [129] (a) Stereochemistry, Fundamentals and Methods (Herausgeber:
H.B.Kagan), Thieme Verlag, Stuttgart, 9 Bände (davon
Bd. 1-4 bisher erschienen);
(b) Techniques of Chemistry (Herausgeber: K.W.Bentley, G.W.
Kirbly), 2.Aufl., Wiley-Interscience, New York, Bd. 4,
Teile 1-3.
- [130] W.Oppolzer, E.Flaskamp, Helv.Chim.Acta 60, 204 (1977).
- [131] S. [129b], Part III, S. 1.
- [132] (a) W.Klyne, J.Buckingham, Atlas of Stereochemistry, 2.Aufl.,
Bd. 1 u. 2, Chapman and Hall, London 1978;
(b) s. [129a], Bd. 4
- [133] G.Wittig, Acc.Chem.Res. 7, 6 (1974).
- [134] D.J.Sandmann, K.Mislow, W.P.Giddings, J.Dirlam, G.C.Hanson,
J.Am.Chem.Soc. 90, 4877 (1968).
- [135] (a) E.B.Fleischer, M.Axelrod, M.Green, K.Mislow, J.Am.Chem.
Soc. 86, 3395 (1964);
(b) W.B.Farnham, K.Mislow, N.Mandel, J.Donohue, J.Chem.Soc.,
Chem. Commun. 1972, 120.

- [136] L. Pauling, Die Natur der chemischen Bindung, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr., 1968.
- [137] S. Mizushima, Structure of Molecules and Internal Rotation, Academic Press, New York 1954.
- [138] (a) [129a], Bd. 3, S. 51;
(b) [129b], S. 183-193.
- [139] G. Helmchen, Tetrahedron Lett. 1974, 1527.
- [140] (a) J. A. Dale, H. S. Mosher, J. Am. Chem. Soc. 95, 512 (1973);
(b) G. R. Sullivan, J. A. Dale, H. S. Mosher, J. Org. Chem. 38, 2143 (1973).
- [141] J. J. Drysdale, W. D. Phillips, J. Am. Chem. Soc. 79, 319 (1957).
- [142] (a) P. M. Nair, J. D. Roberts, J. Am. Chem. Soc. 79, 4565 (1957);
(b) H. Finegold, J. Am. Chem. Soc. 82, 2641 (1960);
(c) G. M. Whitesides, F. Kaplan, K. Nagarajan, J. D. Roberts, Proc. Nat. Acad. Sc. 48, 1112 (1962).
- [143] (a) J. A. Pople, Mol. Phys. 1, 1 (1958);
(b) J. S. Waugh, F. A. Cotton, J. Phys. Chem. 65, 562 (1961);
(c) H. S. Gutowsky, J. Chem. Phys. 37, 2196 (1962);
(d) G. R. Franzen, G. Binsch, J. Am. Chem. Soc. 95, 175 (1972).
- [144] (a) M. L. Martin, G. J. Martin, Bull. Soc. Chim. Fr. 1966, 2117;
(b) M. van Gorkum, G. E. Hall, Q. Rev., Chem. Soc. 22, 14 (1968);
(c) W. B. Jennings, Chem. Rev. 75, 307 (1975).
- [145] (a) G. Binsch, Topics in Stereochemistry 3, 97 (1968);
(b) H. Kessler, Angew. Chem. 82, 237 (1970);
(c) L. M. Jackman, F. A. Cotton, Dynamic Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, Academic Press, New York 1975.
- [146] (a) M. Mandel, J. Biol. Chem. 240, 1586 (1965);
(b) M. van Gorkom, Tetrahedron Lett. 1966, 5433;
(c) V. Morlino, R. B. Martin, J. Am. Chem. Soc. 89, 3107 (1966);
(d) M. J. Antounis, C. Becu, A. K. Lala, G. Verhegge, K. Narayanan-Lala, Bull. Soc. Chim. Belg. 86, 161 (1977).
- [147] (a) F. A. Bovey, G. V. D. Tiers, J. Am. Chem. Soc. 81, 2870 (1959), s. speziell S. 2875;
(b) T. Wieland, H. Bende, Chem. Ber. 98, 504 (1965), dort zitierte Literatur.
- [148] (a) V. F. Bystrov, S. L. Portnova, V. I. Tsetlin, V. T. Ivanov, Yu. A. Ovchinnikov, Tetrahedron 25, 493 (1969);
(b) R. U. Lemieux, M. A. Barton, Can. J. Chem. 49, 767 (1971);
(c) C. M. Deber, H. Joshua, Biopolymers 11, 2493 (1972).
- [149] (a) B. Halpern, D. E. Nitecki, B. Weinstein, Tetrahedron Lett. 1967, 3075;
(b) B. Weinstein, A. E. Pritchard, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 1972, 1015;
(c) J. S. Davies, R. J. Thomas, M. K. Williams, J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1975, 76.
- [150] (a) W. Marckwald, R. Meth, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 38, 801 (1905);
(b) A. Stoll, A. Hofmann, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 250, 7 (1937);
(c) U. Scheidegger, J. E. Baldwin, J. D. Roberts, J. Am. Chem. Soc. 89, 894 (1967).

- [151] (a) A.Stoll, A.Hofmann, Hoppe-Seyler's Z.Physiol.Chem. 251, 155 (1938);
(b) M.M.Jamison, E.E.Turner, J.Chem.Soc. 1942, 611;
(c) W.Freytag, K.H.Ney, J.Chromatogr. 41, 473 (1969).
- [152] E.Wünsch, Methoden der organischen Chemie (Houben-Weyl-Müller), 4.Aufl., Bd.15, Thieme Verlag, Stuttgart 1974; s. speziell Bd.15/1, S.34-42.
- [153] (a) Ausführliche Übersicht s. [147b].
(b) J.M.Manning, S.Moore, J.Biol.Chem. 243, 5591 (1968), dort zitierte Literatur;
(c) H.Joshua, C.M.Deber in Chemistry and Biology of Peptides (J.Meienhofer), S.67, Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor 1972.
- [154] (a) Z.Pravda, K.Poduska, K.Blaha, Collect.Czech.Chem.Comm. 29, 2626 (1964);
(b) [147b];
(c) E.Taschner, B.Rzeszotarska, L.Lubiewska, Liebigs Ann. Chem. 690, 177 (1965);
(d) H.Feltkamp, H.Pfrommer, J.Chromatogr. 18, 403 (1965);
(e) P.Hubert, E.Dellacherie, J.Chromatogr. 80, 144 (1973);
(f) A.Arendt, A.Kolodziejczyk, T.Sokolowska, Tetrahedron Lett. 1976, 447; Chromatographia 9, 123 (1976).
- [155] M.Goodman, P.Keogh, H.Anderson, Bioorganic Chem. 6, 239 (1977).
- [156] (a) B.Liberek, Tetrahedron Lett. 1963, 1103;
(b) D.S.Kemp, J.Rebek, J.Am.Chem.Soc. 92, 5792 (1970).
- [157] T.Y.Shen, Angew.Chem. 84, 512 (1972).
- [158] (a) W.Theilacker, H.G.Winkler, Chem.Ber. 87, 690 (1954);
(b) A.Ault, Org.Synth. 49, 93 (Coll.Vol.V, S. 932).
- [159] H.Kleimann, Dissertation, Techn.Hochschule Stuttgart 1966.
- [160] A.Stoll, A.Hofmann, Helv.Chim.Acta 26, 944 (1943).
- [161] (a) H.A.Staab, M.Lüking, F.H.Dürr, Chem.Ber. 95, 1275 (1962);
(b) [152], Bd. 15/2, S. 326 (Übersicht).
- [162] J.Smejkal, J.Farkas, Collect.Czech.Chem.Comm. 28, 481 (1963).
- [163] C.Aaron, D.Dull, J.L.Schmiegel, D.Jaeger, Y.Ohashi, H.S.Mosher, J.Org.Chem. 32, 2797 (1967).
- [164] K.Pettersson, Ark.Kemi 10, 283 (1956).
- [165] C.Djerassi, P.A.Hart, E.J.Warawa, J.Am.Chem.Soc. 86, 78 (1964).
- [166] J.G.Dinwiddie Jr., H.M.White, J.Org.Chem. 33, 4309 (1968).
- [167] R.Weidmann, A.Horeau, Bull.Soc.Chim.Fr. 1967, 117.
- [168] F.S.Kipping, A.E.Hunter, J.Chem.Soc. 83, 1005 (1903).
- [169] A.Horeau, Tetrahedron Lett. 1962, 965; s. speziell S. 967 unten.
- [170] D.Bethell, K.McDonald, J.Chem.Soc., Perkin Trans.2 1977, 671.

- [171] (a) S.W.McKay, D.N.B.Mallen, P.R.Shrebsall, B.P.Swann, W.R.N.Williamson, *J.Chromatogr.* 170, 482 (1979);
(b) R.Eberhardt, C.Glotzmann, H.Lehner, K.Schlögl, *Tetrahedron Lett.* 1974, 4365;
(c) H.-J.Gais, *Angew.Chem.* 89, 251 (1977).
- [172] L.R.Snyder, *Principles of Adsorption Chromatography*, Marcel Dekker, New York 1968.
- [173] H.Völter, *Dissertation*, Universität Stuttgart 1978.
- [174] B.Glatz, *Dissertation*, Universität Stuttgart 1976.
- [175] (a) W.Klemperer, M.W.Cronyn, A.H.Maki, G.C.Pimentel, *J.Am.Chem.Soc.* 76, 5846 (1954);
(b) L.A.LaPlanche, H.B.Thompson, M.T.Rogers, *J.Phys.Chem.* 69, 1482 (1965);
(c) G.Fischer, A.Schellenberger, *Tetrahedron Lett.* 1974, 3307.
- [176] D.F.Detar, *Computer Programs for Chemistry*, Bd.1, W.A. Benjamin, New York 1968.
- [177] J.B.Jones, *Techniques of Chemistry* 10, 485 (1976).
- [178] J.Retey, *Chemie in unserer Zeit* 13, 65 (1979).
- [179] K.R.Hanson, *J.Am.Chem.Soc.* 88, 2731 (1966).
- [180] (a) R.D.Norris, G.Binsch, *J.Am.Chem.Soc.* 95, 182 (1973);
(b) G.Binsch, *J.Am.Chem.Soc.* 95, 190 (1973).
- [181] (a) I.Suzuki, M.Tsuboi, T.Shimanouchi, *Spectrochim.Acta* 16, 471 (1960);
(b) I.Suzuki, M.Tsuboi, T.Shimanouchi, *Spectrochim.Acta* 16, 467 (1960).
- [182] (a) R.A.Russell, H.W.Thompson, *Spectrochim.Acta* 8, 138 (1956);
(b) R.L.Jones, R.E.Smith, *J.Mol.Structure* 2, 475 (1968).
- [183] (a) L.A.LaPlanche, M.T.Rogers, *J.Am.Chem.Soc.* 86, 337 (1964);
(b) R.H.Barker, G.J.Boudreaux, *Spectrochim.Acta* 23A, 727 (1967);
(c) T.Drakenberg, S.Forsén, *J.Chem.Soc.D (Chem.Commun.)* 1971, 1404;
(d) R.C.Neumann Jr., V.Jonas, K.Andersonn, R.Barry, *Biochem.Biophys.Res.Comm.* 44, 1156 (1971).
- [184] (a) G.Helmchen, L.Golka, *unveröffentlichte Resultate (PCILO-Methode)*;
(b) B.Pullman, A.Pullman, *Adv.Protein Chem.* 28, 347 (1974);
(c) L.L.Shipman, R.E.Christoffersen, *J.Am.Chem.Soc.* 95, 1408 (1973).
- [185] (a) F.K.Winkler, J.D.Dunitz, *J.Mol.Biol.* 59, 169 (1971);
(b) C.Ramakrishnan, R.Balasubramanian, *Int.J.Peptide Protein Res.* 4, 79 (1972);
(c) G.N.Ramachandran, A.V.Lakshminarayanan, A.S.Kolaskar, *Biochim.Biophys.Acta* 303, 8 (1973);
(d) A.S.Kolaskar, A.V.Lakshminarayanan, K.P.Sarathy, V.Sarisekharan, *Biopolymers* 14, 1081 (1975);
(e) V.J.Klimkowski, H.L.Sellers, L.Schäfer, *J.Mol.Structure* 54, 299 (1979).

- [186] L.Pauling, Kekulé Symposium, Butterworth, London 1959, S. 1.
- [187] R.E.Dickerson, I.Geis, Struktur und Funktion der Proteine, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1971.
- [188] (a) L.Pavlidou, Dissertation, Universität Stuttgart, in Vorbereitung;
(b) J.-P.Malrieu, Modern Theoretical Chemistry 7, 69 (1977).
- [189] W.Klyne, V.Prelog, Experientia 16, 521 (1960).
- [190] (a) W.J.Hehre, R.F.Stewart, J.A.Pople, J.Chem.Phys. 51, 2657 (1969);
(b) J.A.Pople, Modern Theoretical Chemistry 4, 1 (1977).
- [191] (a) A.Aubri, M.Marraud, J.Protas, J.Néel, C.R.Acad.Sci, Ser.C 276, 1089 (1973), 278, 163 (1974);
(b) A.Aubri, M.Marraud, M.-T.Cung, J.Protas, C.R.Acad.Sci., Ser.C 281, 861 (1975);
(c) A.Aubri, J.Protas, G.Boussard, M.Marraud, Acta Cryst. B 33, 2399 (1977);
(d) P.L.Dupont, H.Campsteyn, J.Lamotte, M.Vermeire, Acta Cryst. B 34, 1304, 2659 (1978);
(e) A.Aubri, J.Protas, G.Boussard, M.Marraud, Acta Cryst. B 35, 694 (1979);
(f) P.L.Dupont, O.Dideberg, M.Vermeire, Acta Cryst. B 35, 1501 (1979).
- [192] (a) O.Kennard, F.H.Allen, M.D.Brice, T.W.A.Hummelink, W.D.S.Motherwell, J.R.Rodgers, D.G.Watson, Pure Appl.Chem. 49, 1807 (1977);
(b) P.Murray-Rust, S.Motherwell, Acta Cryst. B 34, 2518, 2527, 2534 (1978).
- [193] V.F.Bystrov, V.T.Ivanov, S.L.Portnova, T.A.Balashowa, Yu.A.Ovchinnikov, Tetrahedron 29, 873 (1973).
- [194] (a) M.Marraud, J.Néel, M.Avignon, P.V.Huong, J.Chim.Phys. 67, 959 (1970);
(b) P.Schmidt, D.Doskocilová, B.Schneider, J.Mol.Struct. 15, 383 (1973).
- [195] D.Doskocilová, B.Schneider, J.Mol.Struct. 31, 337 (1976).
- [196] (a) B.Glatz, G.Helmchen, H.Muxfeldt, H.Porcher, R.Prewo, J.Senn, J.J.Stezowski, R.J.Stojda, D.R.White, J.Am.Chem.Soc. 101, 2171 (1979); A.Gieren, B.Dederer, Acta Cryst. B 34, 533 (1978); M.L.Smart, D.Rogers, J.Chem.Soc., Chem.Comm. 1970, 1060;
(b) H.Schenk, W.M.B.Konst, W.M.Speckamp, H.O.Huisman, Tetrahedron Lett. 1970, 4937;
(c) H.P.Weber, T.J.Petcher, Helv.Chim.Acta 60, 1398 (1977).
- [197] M.Avignon, C.Garrigou-Lagrange, P.Bothorel, J.Chim.Phys. 69, 64 (1972).
- [198] (a) E.Benedetti, M.R.Ciagolo, P.Corradini, Europ.Polymer J. 9, 101 (1973);
(b) A.Aubry, M.Marraud, J.Protas, J.Néel, C.R.Acad.Sci. Ser.C 278, 697 (1974).
- [199] W.H.Pirkle, J.R.Hauske, J.Org.Chem. 41, 801 (1976).

- [200] A.T.Hagler, L.Leiserowitz, M.Tuval, J.Am.Chem.Soc. 98, 4600 (1976).
- [201] R.Frank, Dissertation, Universität Würzburg 1974, S. 13.
- [202] C.G.Narayanan, B.M.Sawant, Tetrahedron Lett. 1971, 1321.
- [203] (a) J.M.Gardlik, L.K.Johnson, L.A.Paquette, B.A.Solheim, J.P.Springer, J.Clardy, J.Am.Chem.Soc. 101, 1617 (1979);
(b) O.A.Dyachenko, L.D.Atovmyan, S.M.Aldoshin, A.E.Polyakov, R.G.Kostyakovskii, J.Chem.Soc., Chem.Comm. 1976, 50;
(c) S.Weinstein, L.Leiserowitz, unveröffentlichte Resultate, zitiert in S.Weinstein, B.Feibush, A.Gil-Av, J.Chromatogr. 126, 97 (1976), s. speziell Fig.4;
(d) M.G.B.Drew, Acta Cryst. B 25, 1320 (1969).
- [204] (a) R.M.Tel, J.B.F.N.Engberts, J.Chem.Soc., Perkin Trans. 2 1976, 483;
(b) L.Lessinger, T.N.Margulis, Acta Cryst. B 34, 1556 (1978); dort zitierte Literatur (s. speziell Tab.4, S.1560).
- [205] (a) S.Karplus, M.Karplus, Proc.Nat.Acad.Sci.USA 69, 3204 (1972)
(b) M.Barfield, H.Gearhart, Mol.Phys. 27, 899 (1974).
- [206] Nguyen Trongh Anh, O.Eisenstein, Nouveau J.Chim. 1, 61 (1976).
- [207] (a) C.Cohen-Addad, J.-P.Cohen-Addad, J.Chem.Soc., Perkin Trans. 2, 1978, 483;
(b) G.Precigoux, B.Busetta, M.Hospital, Acta Cryst. B 32, 943 (1976);
(c) J.Guilhem, Tetrahedron Lett. 1975, 2937;
(d) C.Cohen-Addad, Acta Cryst. B 29, 157 (1973);
(e) A.Grand, C.Cohen-Addad, Acta Cryst. B 29, 1149 (1973);
(f) C.Cohen-Addad, A.Grand, Acta Cryst. B 30, 1342 (1974);
(g) C.Cohen-Addad, J.Lajzerowicz, J.-L.-Benoit-Guyod, A.Boucherle, Chim.Ther. 7, 384 (1972).
- [208] (a) D.B.Chesnut, R.E.Marsh, Acta Cryst. 11, 413 (1958);
(b) A.F.Cameron, G.Ferguson, C.Hannaway, J.Chem.Soc., Perkin Trans 2, 1975, 1567;
(c) J.-P.Mornon, Acta Cryst. 23, 367 (1967).
- [209] J.Lövi, D.Doskocilová, P.Schmidt, B.Schneider, J.Mol.Struct. 50, 81 (1978).
- [210] O.Hofer, Topics in Stereochemistry 9, 111 (1976).
- [211] (a) C.Cohen-Addad, G.D'Assenza, Acta Cryst. B 31, 835 (1975);
(b) M.R.Ciajolo, V.Pavone, E.Benedetti, Acta Cryst. B 33, 1295 (1977).
- [212] (a) L.Leiserowitz, G.M.J.Schmidt, Acta Cryst. 18, 1058 (1965);
(b) J.A.Kanters, J.Kroon, A.F.Peerdeeman, J.C.Schoone, Tetrahedron 23, 4027 (1967);
(c) L.Leiserowitz, Acta Cryst. B 32, 775 (1976).
- [213] (a) J.D.Dunitz, P.Strickler in Structural Chemistry and Molecular Biology (Herausgeber: A.Rich, N.Davidson), S.443, Freeman, San Francisco 1968;
(b) J.D.Dunitz, H.Eser, Helv.Chim.Acta 50, 1565 (1967).

- [214] (a) H.Kinashi, N.Ōtake, H.Yonehara, S.Sato, Y.Saito, *Acta Cryst. B* 31, 2411 (1975);
(b) J.M.Midgley, W.B.Whalley, G.Buchbauer, G.W.Hana, H.Koch, P.J.Roberts, G.Ferguson, *J.Chem.Soc., Perkin Trans 1*, 1978, 1312;
(c) G.Ellames, J.R.Hanson, P.B.Hitchcock, S.A.Thomas, *J.Chem.Soc., Perkin Trans 1*, 1979, 1922.
- [215] E.B.Wilson, *Chem.Soc.Reviews* 1, 293 (1972) (Übersicht).
- [216] G.J.Karabatsos, D.J.Fenoglio, *Topics in Stereochemistry* 5, 167 (1970) (Übersicht).
- [217] (a) W.J.Hehre, L.Salem, *J.Chem.Soc., Chem.Commun.* 1973, 754;
(b) W.J.Hehre, J.A.Pople, A.J.P.Devaquet, *J.Am.Chem.Soc.* 98, 664 (1976).
- [218] (a) M.Tichý, *Advances in Organic Chemistry* 5, 115 (1965);
(b) H.Iwamura, *Tetrahedron Lett.* 1970, 2227.
- [219] W.Walter, H.P.Kubersky, *J.Mol.Structure* 11, 207 (1972).
- [220] (a) I.Csöreg, T.-B.Palm, *Acta Cryst. B* 33, 2169 (1977);
(b) E.F.Paulus, *Acta Cryst. B* 33, 108 (1977);
(c) A.Cameran, N.Cameran, *Proc.Natl.Acad.Sci.* 74, 1264 (1977);
(d) A.F.Cameron, I.R.Cameron, M.M.Campbell, G.Johnson, *Acta Cryst. B* 32, 1377 (1976);
(e) P.Blanpain, F.Durant, G.Evrard, *Acta Cryst. B* 32, 629 (1976);
(f) D.Kobelt, E.F.Paulus, *Acta Cryst. B* 30, 1605 (1974);
(g) H.E.Applegate, J.E.Dolfini, M.S.Puar, W.A.Slusarchyk, B.Toeplitz, J.Z.Gougoutas, *J.Org.Chem.* 39, 2794 (1974);
(h) M.L.Smart, D.Rogers, *J.Chem.Soc., Chem.Commun.* 1970, 1060;
(i) S.Abrahamsson, D.Crowfoot Hodgkin, E.N.Maslen, *Biochem. J.* 86, 514 (1963), s. speziell S. 534.
- [221] F.Filleaux, C.de Lozé, *Biopolymers* 11, 2063 (1972).
- [222] A.Cameran, N.Cameran, *Molecular and Quantum Pharmacology* (Herausgeber: E.D.Bergmann, B.Pullman) S. 221, D.Reidel Publ. Co., Dordrecht/Boston 1974.
- [223] (a) M.Foulon, F.Baert, R.Fouret, M.J.Brienne, J.Jacques, *Acta Cryst. B* 35, 2058 (1979);
(b) J.L.Flippen, R.D.Gilardi, *Acta Cryst. B* 31, 926 (1975);
(c) J.F.McConnell, *Cryst.Struct.Commun.* 3, 73 (1975);
- [224] (a) J.M.Leger, M.Gadret, *Acta Cryst. B* 34, 3705 (1978);
(b) E.Kussäther, J.Haase, *Acta Cryst. B* 28, 2896 (1972);
(c) P.Pauling, T.I.Petcher, *J.Chem.Soc., Chem.Commun.* 1969, 1001.
- [225] (a) R.B.Bates, R.S.Cutler, *Acta Cryst. B* 33, 893 (1977);
(b) H.J.Lindner, P.Eilbracht, *Chem.Ber.* 106, 2268 (1973).

- [226] (a) A.Gieren, C.Hahn, *Acta Cryst. B* 35, 1008 (1979);
(b) S.Hovmöller, R.Norrestam, T.-B.Palm, *Acta Cryst. B* 33, 377 (1977); K.G.Shields, C.H.L.Kennard, *J.Chem.Soc., Perkin Trans 2*, 1977, 463;
(c) J.J.Guy, T.A.Hamor, *J.Chem.Soc., Perkin Trans 2* 1973, 942.
- [227] (a) C.E.Johnson Jr., F.A.Bovey, *J.Chem.Phys.* 29, 1012 (1958);
(b) R.J.Quellette, B.K.Sinha, J.Stolfo, C.Levin, S.Williams, *J.Am.Chem.Soc.* 92, 7145 (1970).
- [228] L.V.Vilkov, N.I.Sadova, S.S.Mocalov, *Dokl.Akad.Nauk SSSR*, 179, 896 (1968).
- [229] J.Stokr, H.Pivková, B.Schneider, S.Dirlikov, *J.Mol.Structure* 12, 45 (1972).
- [230] N.L.Allinger, M.T.Tribble, *Tetrahedron Lett.* 1971, 3259.
- [231] (a) A.Mannschreck, L.Ernst, *Chem.Ber.* 104, 228 (1971);
(b) R.Price, G.Schilling, L.Ernst, A.Mannschreck, *Tetrahedron Lett.* 1972, 1689;
(c) J.E.Anderson, H.Pearson, *J.Chem.Soc., Perkin Trans 2* 1974, 1779; 1977, 699.
- [232] (a) M.-C.Brianso, *Acta Cryst. B* 32, 3040 (1976);
(b) M.-C.Brianso, E.Surcouf, *Acta Cryst. B* 34, 681 (1978);
(c) A.Gieren, B.Dederer, *Acta Cryst. B* 34, 533 (1978);
(d) M.Bogucka-Ledochowska, A.Konitz, A.Hempel, Z.Dauter, E.Borowski, *Z.Kristallogr.* 149, 49 (1979).
- [233] H.Frei, Hs.H.Günthard, *Chem.Phys.* 15, 155 (1976).
- [234] L.M.Jackman, S.Sternhell, *Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry*, 2.Aufl., Pergamon Press, Oxford 1969.
- [235] H.Günther, *NMR-Spektroskopie*, Thieme, Stuttgart 1973.
- [236] C.W.Haigh, R.B.Mallion, *Org.Magnetic Resonance* 4, 203 (1972).
- [237] G.Ceccarelli, B.Macchia, F.Macchia, L.Monti, *Org.Magnetic Resonance* 7, 548 (1975).
- [238] C.W.Perry, A.Brossi, K.H.Deitcher, W.Tautz, S.Teitel, *Synthesis* 1977, 492; dort zitierte Literatur.
- [239] (a) B.Witkop, *Angew.Chem.* 89, 575 (1977);
(b) J.W.Daly, T.Tokuyama, G.Habermehl, I.L.Karle, B.Witkop, *Liebigs Ann.Chem.* 729, 198 (1969);
(c) G.Habermehl, H.Andres, *Liebigs Ann.Chem.* 1977, 800;
(d) G.Habermehl, H.Andres, K.Miyahara, B.Witkop, J.W.Daly, *Liebigs Ann.Chem.* 1976, 1577.
- [240] (a) H.E.Smith, T.C.Willis, *Tetrahedron* 26, 107 (1970);
(b) L.Bartlett, D.N.Kirk, P.M.Scopes, *J.Chem.Soc.Perkin 1* 1974, 2219;
(c) G.Gottarelli, W.Klyne, P.M.Scopes, *J.Chem.Soc.C* 1967, 1366;
(d) T.Polonski, *Tetrahedron* 31, 347 (1975), dort zit. Literatur.
- [241] (a) R.Chandrasekaran, A.V.Lakshminarayanan, U.V.Pandya, G.N.Ramachandran, *Biochim.Biophys.Acta* 303, 14 (1973);
(b) J.C.Crawford, W.N.Lipscomb, C.G.Schellman, *Proc.Acad. Sci.USA* 70, 538 (1973).

- [242] E.Heilbronner, H.Bock, Das HMO-Modell und seine Anwendung, Bd.1, S.235 ff., Verlag Chemie, Weinheim 1968.
- [243] (a) R.Rossi, *Synthesis* 1978, 413;
(b) J.Asselineau, *Les lipides bactériens*, Hermann, Paris 1962;
(c) R.G.Riley, R.M.Silverstein, *Tetrahedron* 33, 1171 (1974); R.G.Riley, R.M.Silverstein, J.C.Moser, *Science* 183, 760 (1974); vgl. dazu auch K.Mori, *Tetrahedron* 33, 289 (1977).
- [244] (a) A.J.P.Martin, *Biochem.Soc.Symposia* 3, 4 (1950);
(b) A.H.Sporer, K.N.Trueblood, *J.Chromatogr.* 2 499 (1959).
- [245] (a) H.G.Cassidy, *Fundamentals of Chromatography, Techniques of Organic Chemistry (Weissberger) Bd.10*, S.362, Interscience, New York 1957;
(b) L.R.Snyder in E.Heftmann, *Chromatography*, 3.Aufl., S.46-75, Van Norstrand Reinhold, New York 1975.
- [246] (a) A.L.LeRosen, P.H.Monaghan, C.A.Rivet, E.D.Smith, *Anal. Chem.* 23, 730 (1951);
(b) E.D.Smith, A.L.LeRosen, *Anal.Chem.* 23, 732 (1951).
- [247] (a) H.Rupprecht, G.Fuchs, *Pharm.Ind.* 40, 1174 (1978), dort zitierte Lit.
(b) C.H.Rochester, D.-A.Trebilco, *Chem.Ind. (London)* 1978, 127;
(c) P.A.Leermakers, H.T.Thomas, L.D.Weis, F.C.James, *J.Am. Chem.Soc.* 88, 5075 (1966).
- [248] (a) D.V.Banthorpe, K.W.Turnbull, *J.Chromatogr.* 37, 366 (1968);
(b) H.Feltkamp, F.Koch, *J.Chromatogr.* 15, 314 (1964);
(c) H.-J.Petrowitz, *J.Chromatogr.* 63, 9 (1971), dort zit.Lit.
- [249] (a) J.Jacques, H.B.Kagan, *Chromatographie en Chimie Organique et Biologique (Herausgeber: E.Lederer) Bd.1*, S.559-634, Masson, Paris 1959;
(b) V.Cerny, J.Joska, L.Labler, *Collect.Czech.Chem.Commun.* 26, 1658 (1961).
- [250] (a) M.Palamareva, M.Haimova, J.Stevanowsky, L.Viteva, B.Kurtev, *J.Chromatogr.* 54, 383 (1971);
(b) M.D.Palamareva, B.J.Kurtev, *J.Chromatogr.* 132, 61 (1977);
(c) M.D.Palamareva, B.J.Kurtev, M.A.Haimova, *J.Chromatogr.* 132, 73 (1977);
(d) M.D.Palamareva, B.J.Kurtev, *J.Chromatogr.* 178, 139 (1979);
(e) M.D.Palamareva, B.J.Kurtev, K.B.Faitondzieva, L.D.Zheljazkov, *J.Chromatogr.* 178, 155 (1979).
- [251] G.Drefahl, G.Heublein, K.Silbermann, *J.Chromatogr.* 22, 460 (1966).
- [252] P.E.Hare, E.Gil-Av, *Science* 204, 1226 (1979).
- [253] W.H.Pirkle, J.R.Hauske, *J.Org.Chem.* 42, 1839 (1977).
- [254] (a) L.R.Snyder, *Anal.Chem.* 46, 1384 (1974);
(b) M.Jaroniec, J.K.Rozyo, B.Oscik-Mendyk, *J.Chromatogr.* 179, 237 (1979);
(c) E.Soczewinsky, W.Golkiewicz, W.Markowski, *Chromatographia* 8, 13 (1975).

- [255] G.Helmchen, G.Nill, D.Flockerzi, W.Schühle, M.S.K.Youssef, *Angew.Chem.* 91, 64 (1979).
- [256] (a) B.J.Bergot, F.C.Baker, E.Lee, D.A.Schooley, *J.Am.Chem.Soc.* 101 (24), 7433 (1979);
(b) E.Lee, D.A.Schooley, M.S.Hall, K.J.Judy, *J.Chem.Soc., Chem.Comm.* 1978, 290;
(c) B.J.Bergot, R.J.Anderson, D.A.Schooley, C.A.Henrick, *J.Chromatogr.* 155, 97 (1978).
- [257] G.Helmchen, G.Nill, D.Flockerzi, M.S.K.Youssef, *Angew.Chem.* 91, 65 (1979).
- [258] (a) G.Helmchen, R.Schmierer, *Angew.Chem.* 88, 770 (1976);
(b) R.Schmierer, Diplomarbeit, Universität Stuttgart 1976.
- [259] (a) H.Brockmann jr., N.Risch, *Angew.Chem.* 86, 707 (1974);
(b) J.H.Brewster in [129b], Teil III von Bd.4, S. 183 ff.;
(c) K.Kabuto, M.Imuta, E.S.Kempner, H.Ziffer, *J.Org.Chem.* 43, 2357 (1978).
- [260] (a) G.Staiger, Diplomarbeit, Universität Stuttgart 1976;
(b) G.Helmchen, G.Staiger, *Angew.Chem.* 89, 119 (1977);
(c) R.W.Gray, A.Guggisberg, K.P.Segebarth, M.Hesse, H.Schmid, *Helv.Chim.Acta* 59, 645 (1976);
(d) N.Risch, H.Brockmann jr., *Liebigs Ann.Chem.* 1976, 578.
- [261] A.Lüttringhaus, H.Gralheer, *Liebigs Ann.Chem.* 550, 67 (1941).
- [262] (a) H.Eberhardt, K.Schlögl, *Liebigs Ann.Chem.* 760, 157 (1972);
(b) E.Langer, H.Lehner, K.Schlögl, *Tetrahedron* 29, 2473 (1973).
- [263] (a) G.Silber, Diplomarbeit, Universität Stuttgart 1978;
(b) G.Helmchen, W.Schühle, unveröffentlichte Arbeiten.
- [264] G.Helmchen, H.Völter, *Tetrahedron Lett.* 1978, 1251.
- [265] (a) R.Eberhardt, C.Glotzmann, H.Lehner, K.Schlögl, *Tetrahedron Lett.* 1974, 4365;
(b) T.Tamegai, M.Ohmae, K.Kawabe, M.Tomoeda, *J.Liquid Chromatogr.* 2, 1229 (1979);
(c) R.R.Schmidt, A.Lieberknecht, *Angew.Chem.* 90, 821 (1978).
- [266] G.Helmchen, H.Völter, W.Schühle, *Tetrahedron Lett.* 1977, 1417.
- [267] (a) G.Nill, Dissertation, Universität Stuttgart 1979;
(b) D.Flockerzi, Diplomarbeit, Universität Stuttgart 1978.
- [268] (a) E.H.White, *J.Am.Chem.Soc.* 77, 6008 (1955).
(b) R.Huisgen, C.Rüchardt, *Liebigs Ann.Chem.* 601, 21 (1956), dort zit. frühere Arbeiten.
- [269] (a) G.Helmchen, A.Selim, unveröffentlicht;
(b) N.Polgar, R.Robinson, *Chem.Ind.* 1951, 685;
(c) D.J.Millin, N.Polgar, *J.Chem.Soc.* 1958, 1902.
- [270] G.Helmchen, G.Nill, *Angew.Chem.* 91, 66 (1979).

ANHANG I

EIN APPARATIV EINFACHES SYSTEM UND SÄULEN HÖCHSTER TRENNLEISTUNG
ZUR PRÄPARATIVEN MITTELDRUCK-FLÜSSIGKEITSCHROMATOGRAPHIE^[+]

[+] In Zusammenarbeit mit B.Glatz [1]. Apparative Entwicklungen wurden aufgrund relativ grober "chemischer" Vorstellungen von K.Haug und G.Zebrak (Werkstatt dieses Instituts), chromatographische Messungen von W.Schühle durchgeführt. An der Standardisierung des Säulenpackverfahrens waren D.Flockerzi, W.Schühle und G.Silber beteiligt.

EIN APPARATIV EINFACHES SYSTEM UND SÄULEN HÖCHSTER TRENNLEISTUNG
ZUR PRÄPARATIVEN MITTELDRUCK-FLÜSSIGKEITSCHROMATOGRAPHIE

G. Helmchen und B. Glatz

1978

Institut für Organische Chemie, Biochemie
und Isotopenforschung der Universität Stuttgart

Das in dieser Arbeit vorgestellte Verfahren wurde wesentlich durch Zusammenarbeit mit K. Haug und G. Zembrak (Werkstatt dieses Instituts) gefördert.

Chromatographische Messungen sind P. Schott-Kollat und vor allem W. Schühle, Untersuchungen zur Packtechnik ebenfalls diesem sowie D. Flockerzi und G. Silber zu verdanken.

	Seite
EINLEITUNG	1
1. GRUNDBEGRIFFE DER FLÜSSIGKEITSCHROMATOGRAPHIE	3
1.1 Charakteristische Daten einer Trennsäule	4
Retentionszeit, Varianz, Symmetrieindex (S.4); Bodenzahl, Bodenhöhe (S.5); Van Deemter-Gleichung: Einfluß der Korngröße und der Elutionsgeschwindigkeit auf die Bodenhöhe (S.6); Kapazitätsfaktor (R_F -Wert), Totzeit, Totvolumen (S.9); Zeitbedarf eines chromatographischen Laufs, Druckab- fall, Permeabilität (S.11)	
1.2 Beschreibung der Trennung eines Substanzgemisches	14
Trennfaktor (S.14); Auflösung (S.15)	
1.3 Substanzbeladung	18
1.4 Dosiervolumen	19
2. KONZEPTION EINER CHROMATOGRAPHIESÄULE	23
2.1 Säulenform und -dimension	23
Säulenform, Substanzaufgabe (S.23); Säulendurch- messer (S.24); Länge (S.25); Gesamtgröße (S.26); Werkstoff (S.26)	
2.2 Adsorbentien, Korndurchmesser, Druckbereich	27
Kieselgel, Druckabfall, Zeitbedarf (S.27); Reversed- -phase Adsorbens (S.30)	
2.3 Packungsmethoden, Lebensdauer	33
3. DAS VERFAHREN	35
3.1 Beschreibung der Apparatur	35
Eluensvorratsbehälter (S.35); Pumpe (S.35); Leitun- gen (S.35); Pulsationsdämpfer (S.36); Manometer (S.37); Filter (S.37); Aufgabesystem (S.37); Trennsäulen (S.41) Detektoren (S.41); Schreiber (S.43); Sammeln der Fraktionen (S.43)	
3.2 Packen der Säulen	43
3.2.1 Trockenpackung von Kieselgel mit Korndurchmesser $>50\mu$	43
3.2.2 Naßpackung von Kieselgel mit Korndurchmesser 15-25 μ	43

	Seite
A1. Allgemeine Hinweise, Sicherheitsvorkehrungen (S.44)	
A2. Entgasung von Wasser und Adsorbenssuspensionen (S.45)	
A3. Vorbehandlung und Silanisierung der Säulen (S.45)	
B. Packen einer Säule Typ B (S.45)	
C. Packen einer Säule Typ C (S.49)	
D. Test auf Bodenzahl und Symmetrieindex (S.50)	
E. Wiederaufbereitung von Kieselgel (S.51)	
3.3 Rückgewinnung von Lösungsmitteln	52
4. MESSERGEBNISSE, DISKUSSION	54
4.1 Permeabilität	54
<p>Theorie: Permeabilität und Lineargeschwindigkeit in axialsymmetrischen, speziell kegelstumpfförmigen Säulen (S.54); Dynamische Korngröße von Merck LiChroprep 15-25μ (S.58); Permeabilität von präparativen Säulen mit Durchmesser 2.4 (Typ B) und 4 cm (Typ C), Meßergebnisse (S.60); Druckwiderstand von präparativen Säulen, Diskussion (S.64)</p>	
4.2 Effizienz: Peakform, van Deemter-Kurven	71
<p>Peakform (S.75); Bodenzahl, Symmetrieindex, Reproduzierbarkeit (S.76); Lebensdauer (S.76); Beweis des Nicht-Vorliegens eines Infinite-diameter-Effekts, Beladbarkeit (S.79); Effizienz, van Deemter-Kurven (S.83)</p>	
LITERATURVERZEICHNIS	93

EINLEITUNG

In der organischen Chemie bedient man sich seit 1931 [2a] der präparativen Adsorptionsflüssigkeitschromatographie (LC); 1938 wurde die Durchlaufelutionstechnik eingeführt [2b]. Diese Arbeitsweise, im folgenden als "konventionelle Säulenchromatographie" bezeichnet, hat sich für präparative Zwecke bis heute im wesentlichen unverändert erhalten.

Als analytische Methoden sind ab etwa 1960 die Dünnschichtchromatographie (DC) und ab ca. 1970 die Hochdruck- oder Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) hinzugekommen. Die außerordentlich leistungsstarke HPLC wurde geboren, als die in der viel früher entwickelten Gaschromatographie erarbeiteten allgemeinen theoretischen Grundlagen der Chromatographie auf die Flüssigkeitschromatographie angewendet wurden. Die analytische HPLC hat infolge starker Nachfrage durch industrielle Produktkontrolle, klinische Chemie, Pharmazie und Umweltschutz einen enormen Aufschwung genommen und darf wohl als nahezu ausgereifte Methode angesehen werden [3,4].

Infolge von Unkenntnis oder Nichtbeachtung der Bedürfnisse des organischen Chemikers wurde die Entwicklung der präparativen LC fast völlig vernachlässigt, obwohl die konventionelle Säulenchromatographie eine sehr ineffektive Methode ist. Als ihre Hauptnachteile erscheinen

- niedrige Trennleistung
- geringe Reproduzierbarkeit und deshalb starke Abhängigkeit von der Geschicklichkeit der Ausführenden
- mühsame und ungenaue Auswertung der Resultate (üblicherweise durch DC)
- hoher Zeitaufwand
- in der Regel nur einmalige Verwendung und daher Verschwendung des Adsorbens.

Einen ersten bedeutenden Fortschritt bei der Überwindung dieser Nachteile stellen die 1973 auf dem Markt erschienenen Lobar-Fertigsäulen der Fa. Merck dar (Erfinder: F.Eisenbeiß und S.Ehlerding [5]). Sie zeichnen sich gegenüber den konventionel-

len Säulen durch höhere Trennleistung bei kürzerer Chromatographiedauer aus. Den Erfindern kommt das Verdienst zu, das schwierige Problem der Substanzauftragung für beliebige Säulendurchmesser optimal gelöst zu haben.

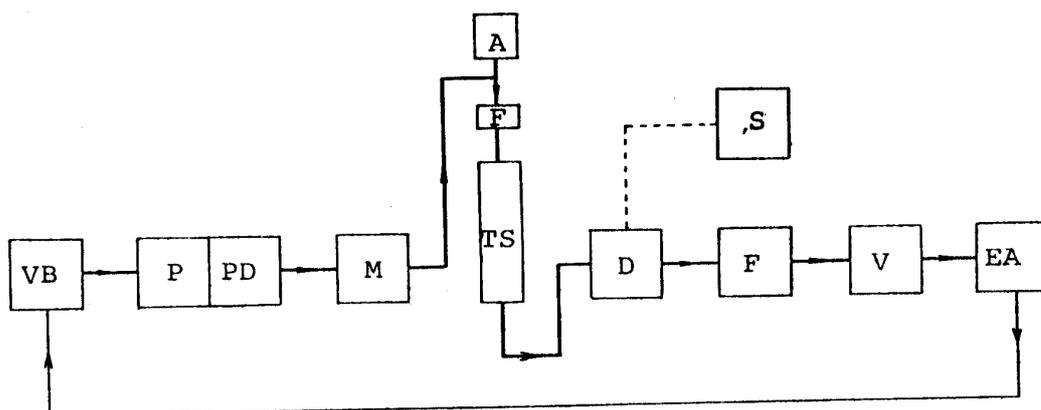
Die im folgenden beschriebenen eigenen Arbeiten wurden 1974 mit dem Ziel begonnen, die relativ teuren Fertigsäulen - die Füllmethode wird geheimgehalten - zu reproduzieren. Dieses war nicht schwierig [6].

Im Laufe der Zeit mußten Säulen und chromatographisches System in vielfältiger Weise modifiziert und verbessert werden, um den Bedürfnissen des präparativen organischen Chemikers optimal zu dienen. Insbesondere mußte es narrensicher gemacht werden, denn der durchschnittliche Benutzer zeigte wenig Neigung zur Vertiefung in die Feinheiten der Apparatur. Es wurde schließlich ein einfaches, völlig reproduzierbares Verfahren zur Packung präparativer Säulen mit bisher nur in der analytischen HPLC erreichter Trenngüte gefunden.

Während unserer Bemühungen wurden von Chromatographiespezialisten vereinzelt Untersuchungen über Trennsäulen "präparativen Formats" publiziert. Diese Arbeiten werden bei der Diskussion unserer Resultate zitiert, da sie in der Regel mit relativ speziellen Punkten befaßt sind. Daneben wurden und werden zahlreiche einfache "neue" Methoden angepriesen. Die entsprechenden Arbeiten gehören meist in den Bereich der "wissenschaftlichen Trivialliteratur", erkenntlich an der Vernachlässigung jeglicher Theorie und fehlender Charakterisierung der Trennleistung anhand inzwischen allgemein akzeptierter Meßgrößen. Derartige Arbeiten werden hier nicht berücksichtigt.

1. GRUNDBEGRIFFE DER FLÜSSIGKEITSCHROMATOGRAPHIE

Der apparative Aufbau eines modernen Chromatographiesystems ist in Abb. 1 schematisch dargestellt.



VB	Eluens-Vorratsbehälter	A	Substanzaufgabe	S	Schreiber
P	Pumpe	F	Filter	F	Fraktionensammlung
PD	Pulsationsdämpfer	TS	Trennsäule	V	Eindampfen der Fraktionen
M	Manometer	D	Detektor	EA	Eluenaufbereitung

Abb. 1 Schema eines Flüssigkeitschromatographen

Eine möglichst konstant fördernde Dosierpumpe (P) transportiert das Eluens aus dem Vorratsbehälter (VB) über das Substanzaufgabesystem (A) nach Passieren eines Filters (F) durch die Trennsäule (TS). Konventionelle Pumpen benötigen einen Pulsationsdämpfer (PD) zur Glättung des Eluensstromes. Ein Manometer (M) dient zur Überwachung des Drucks und indirekt zur Messung der Strömungsgeschwindigkeit. Die in A aufgegebenen Substanzen erzeugen nach ihrer Elution im Detektor (D, UV-Spektrometer oder Differentialrefraktometer) Signale, die verstärkt und mittels eines Schreibers (S) registriert werden. Nach Maßgabe des auf dem Schreiber gezeichneten Chromatogramms werden Fraktionen (F) aufgefangen und schließlich eingedampft (V). Die hierbei anfallenden Lösungsmittel müssen vor ihrer Wiederverwendung als

Eluens im allgemeinen speziell aufbereitet werden (EA). Bei analytischer Arbeitsweise fallen die Teile F, V und EA im allgemeinen fort.

1.1 Charakteristische Daten einer Trennsäule

Retentionszeit, Varianz, Symmetrieindex. - Die Beurteilung der Leistungsfähigkeit einer Trennsäule erfolgt durch Größen, die aus dem chromatographischen Verhalten einer reinen Substanz abgeleitet sind. Das vom Detektor erzeugte Signal, der Peak, entspricht im Idealfall einer Gaußfunktion, sofern der Schreiber-ausschlag der Konzentration proportional ist (Abb. 2).

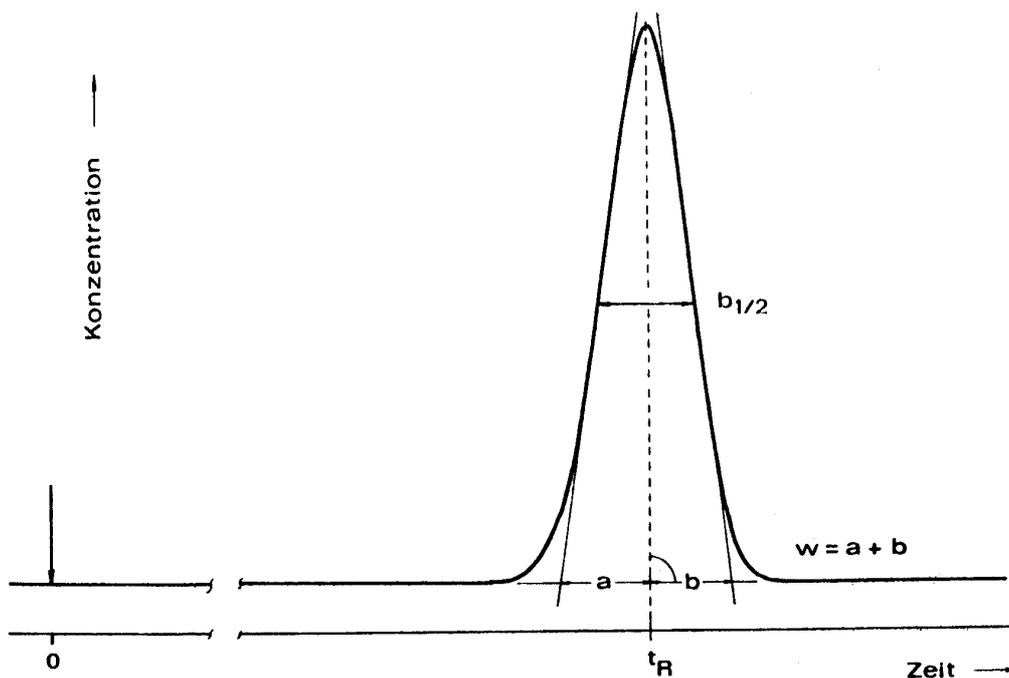


Abb. 2 Chromatographische Charakterisierung eines Peaks

Lage und Form des Peaks werden durch die Retentionszeit t_R ¹⁾, die Zeitspanne zwischen Aufgabe der Substanz und Auftreten des Peakmaximums im Detektor, und die Varianz σ_t , den halben Abstand zwischen den Wendepunkten der Peakflanken, beschrieben. In der Praxis findet man oft von der Gaußform abweichende Peakformen; Ursache dafür kann eine mangelhafte Säulenpackung oder Nichtlinearität der Adsorptionsisotherme sein. Derartige Abweichungen werden durch den sog. Symmetrieindex SI grob²⁾ charakterisiert (vgl. Abb. 2).

$$SI = b/a, \text{ wobei } a + b = w \quad \text{Gl. 1}$$

Bodenzahl, Bodenhöhe. - Je schmaler ein Peak bei gegebener Retentionszeit ist, desto größer ist die Trennleistung der Säule. Zur zahlenmäßigen Erfassung dient die "Zahl der theoretischen Böden" N, kurz Bodenzahl N:

$$N = (t_R/\sigma_t)^2 \quad \text{Gl. 2}$$

Statt der Varianz σ_t benutzt man im allgemeinen die dem Chromatogramm leichter zu entnehmenden Größen "Peakbreite auf halben Höhe" $b_{1/2}$ oder die Basisbreite w (vgl. Abb. 2); w ist die Strecke zwischen den Schnittpunkten der Wendetangenten mit der Basislinie:

$$N = 8 \ln 2 (t_R/b_{1/2})^2 = 5.54 (t_R/b_{1/2})^2 \quad \text{Gl. 3}$$

bzw.

$$N = 16 (t_R/w)^2$$

N ist näherungsweise, aber nicht vollständig substanzunabhängig; es müssen Testsubstanz und Eluens daher stets angegeben werden.

-
- 1) Eine fundamentalere Größe ist das Retentionsvolumen V_R ; im Gegensatz zu t_R ist V_R von der Geschwindigkeit des Eluens unabhängig. V_R wird selten direkt gemessen, vielmehr nach $V_R = t_R \cdot F$ berechnet (F = Durchflußgeschwindigkeit [Volumen/Zeit]).
 - 2) Ähnlich einfach ist der "Peakasymmetriefaktor" [7] definiert. Eine exakte Erfassung erfordert aufwendige Computerberechnungen. Das Problem ist ausführlich in [7] diskutiert.

Für eine homogen gepackte Säule ist die Bodenzahl N der Säulenlänge L proportional, $N \sim L$, weshalb zur Charakterisierung der Packungsqualität das "Höhenäquivalent eines theoretischen Bodens" H , kurz die Bodenhöhe H , dient:

$$H = L/N \quad \text{Gl. 5}$$

Oft werden mehrere (n) Säulen hintereinandergeschaltet. Die Gesamtbodenzahl N_G ist dann nicht gleich der Summe der Bodenzahlen N_i der einzelnen Säulen; vielmehr ist die Gesamtbodenhöhe H_G das nach der Länge L_i der Einzelsäulen gewichtete arithmetische Mittel (bei gleichem Durchmesser der Einzelsäulen) [8]:

$$H_G = 1/L \sum_{i=1}^n L_i H_i \quad \text{Gl. 6}$$

$$N_G = L/H_G \quad \text{Gl. 7}$$

Hieraus ist als wichtige Lehre zu ziehen: die schlechteste Säule bestimmt die Gesamtbodenzahl entscheidend, d. h. eine schlechte Säule kann ein Ensemble guter Säulen verderben. Man sollte also nur Säulen gleicher Bodenhöhe koppeln. Genaue Angaben für beliebige Kombinationen findet man in [8].

van Deemter-Gleichung: Einfluß der Korngröße und der Eluengeschwindigkeit auf die Bodenhöhe. - Bodenzahl und damit Bodenhöhe ändern sich mit der Geschwindigkeit des Eluens. Der Zusammenhang wird durch die van Deemter-Gleichung, eine der Grundgleichungen der Chromatographie, beschrieben (vgl. Abb. 3):

$$H = A + B/u + C \cdot u \quad \text{Gl. 8}$$

u ist die Lineargeschwindigkeit des Eluens, d. h. die Geschwindigkeit mit der ein "Eluens-Flüssigkeitspaket" durch die Säule transportiert wird. Die Konstanten A , B , C besitzen folgende Bedeutung:

$$A = 2 \lambda d_p ; \quad B = 2 \gamma D_m ; \quad C = \omega d_p^2 / D_m + C_s \quad \text{Gl. 8a,b,c}$$

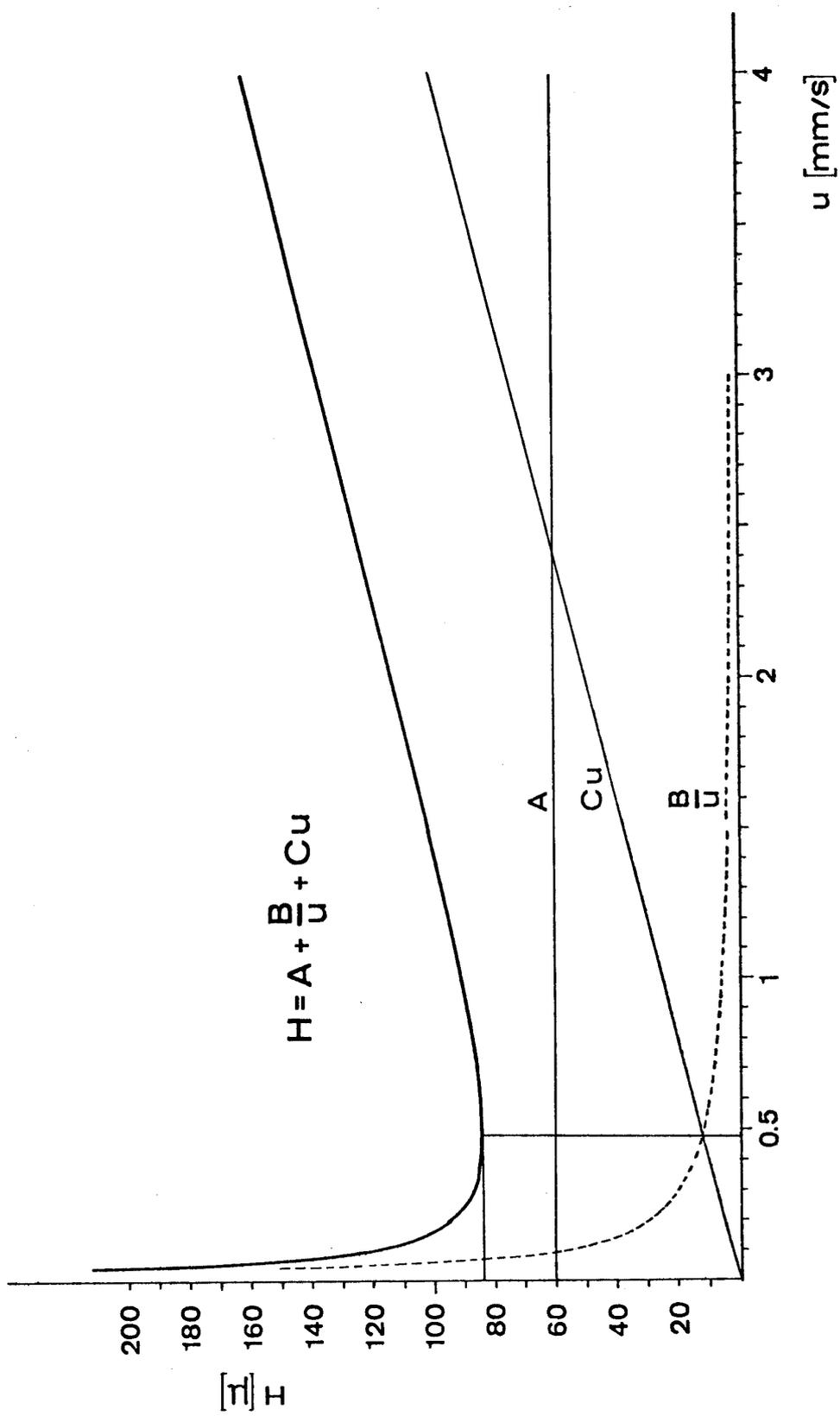


Abb. 3 Van Deemter-Kurve; die Werte entsprechen einer nach Halász typischen guten LC-Säule [$H=3dp + (6/u) + (dp/16)u$], gefüllt mit Adsorbens der Korngröße $dp=20\mu$

- d_p : Durchmesser des Adsorbens-Korns.
- λ : "Packungsfaktor" genannte empirische Konstante, welche die Qualität der Packung charakterisiert ($\lambda \approx 1$)
- D_m : Diffusionskoeffizient der Testsubstanz im Eluens. D_m kann näherungsweise aus der sog. Wilke-Chang-Gleichung ^m[9] berechnet werden.
- γ : Als "Labyrinthfaktor" bezeichnete empirische Konstante (< 1), welche die Behinderung der freien Diffusion durch die Adsorbenskörner berücksichtigt.
- ω : Empirische Konstante, abhängig von Packung, Säulendurchmesser und -form.
- C_s : Dieser Term beschreibt Diffusionsvorgänge auf den Adsorbenskörnern; er kann in der IC vernachlässigt werden ($C_s = 0$).

Die Diskussion von Gl. 8 sei auf einige für die Praxis grundlegende Punkte beschränkt:

- Die Funktion $H(u)$ besitzt ein Minimum $H_0(u_0)$. Es muß bei Eluengeschwindigkeiten $u > u_0$ gearbeitet werden. Nach Halasz [11] kann bei $u > 1\text{mm/s}$ und $d_p > 10\mu$ der B-Term vernachlässigt werden.
- Eine Chromatographiesäule ist um so besser, je kleiner A und C sind. Der wichtigste Parameter ist eindeutig d_p , der Teilchendurchmesser. Da λ bestenfalls gleich 1 sein dürfte, beträgt die Bodenhöhe H_0 einer bestmöglich gepackten Säule 2 Teilchendurchmesser.
- Es ist demnach "unfair", die H-Werte von Säulen aus Teilchen von verschiedenem Durchmesser zu vergleichen. Ein faires Maß ist die sog. reduzierte Bodenhöhe h :

$$h = H/d_p \quad \text{Gl. 9}$$

Halasz und Mitarbeiter [11] haben sich bemüht, "praxisnahe" Richtwerte für die Konstanten A, B, C von Gl. 8 anzugeben. Sie setzen $\lambda=1.5, \gamma=1, D_m=3 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ (apolare Elution, z. B. KW und Methylenchlorid; Molmasse der Testsubstanz 100-250). Setzt man diese Werte in Gl. 8 ein und verwendet die Dimensionen $H[\mu]$, $d_p[\mu]$, $u[\text{mm/s}]$, so folgt als Näherung

$$H = 3d_p + \frac{6}{u} + \frac{d_p^2}{16} u \quad \text{Gl. 8d}$$

Die Teilchengröße d_p , die in der Praxis natürlich nie eine Konstante darstellt, wird "dynamisch" nach Gl. 23 (s. u.) bestimmt. Die Kurven in Abb. 3 sind für den Fall $d_p = 20\mu$ berechnet worden.

Kapazitätsfaktor (R_F -Wert), Totzeit, Totvolumen. - Das chromatographische Elutionsverhalten einer Substanz kann durch die Retentionszeit t_R nicht eindeutig charakterisiert werden, da diese von der Geschwindigkeit des Eluens sowie den Säulendimensionen und anderen apparativen Gegebenheiten abhängt. Eine physikalisch signifikante Größe ist der Kapazitätsfaktor k' , der bei gegebenen physikalischen Bedingungen (Eluens, Adsorbens, Temperatur) eine Stoffkonstante analog zum R_F -Wert der Dünnschichtchromatographie darstellt:

$$k' = (t_R - t_0)/t_0 = (V_R - V_0)/V_0 \quad \text{Gl. 10}$$

Zwischen dem k' - und dem R_F -Wert besteht der einfache Zusammenhang¹⁾:

$$k' = (1/R_F) - 1 \quad \text{Gl. 11}$$

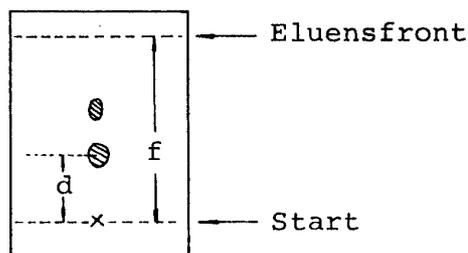
Die physikalische Bedeutung von k' resultiert aus der Tatsache, daß k' der Gleichgewichtskonstanten K für die Verteilung eines Stoffes zwischen Eluens und Adsorbens proportional ist.

$$k' \sim K \quad \text{Gl. 12}$$

1) Diese Beziehung besitzt für die DC²⁾ nur näherungsweise Gültigkeit, da im allgemeinen die Säulen- und die Dünnschichtchromatographiebedingungen einander nicht vollständig äquivalent sind.

2) Zur Erinnerung:

$$R_F = d/f$$



t_0 , die sog. Totzeit, entspricht der Zeit, welche jede Substanz in Toträumen verbringt, d. h. Räumen ohne Wechselwirkung mit dem Adsorbens; Toträume sind etwa Leitungen, der Detektor und die Hohlräume zwischen den Körnern des Adsorbens. t_0 entspricht gleichzeitig der Retentionszeit einer nicht adsorbierten Substanz. Diese bewegt sich mit der Lineargeschwindigkeit u durch die Säule, weshalb gilt:

$$t_0 = L/u \quad \text{Gl. 13}$$

Den entsprechenden Peak bezeichnet man als Inertpeak.

Die Bestimmung von t_0 bzw. u bereitet Schwierigkeiten [10]. Als exaktes Verfahren ist vorgeschlagen worden, das isopenmarkierte Eluens als Inertsubstanz zu verwenden, was natürlich Detektionsschwierigkeiten aufwirft. Als annähernd inert gilt bei Eluentien, die Kohlenwasserstoffe enthalten, das niedrigere Homologe des Kohlenwasserstoffs; im allgemeinen wird Pentan als Inertsubstanz verwendet.

Vielfach wird die folgende Methode benutzt. Für ein gerades Rohr mit dem Innenradius R besteht zwischen der sehr leicht zu messenden Durchflußgeschwindigkeit F (Volumen/Zeit) und der Lineargeschwindigkeit u der triviale Zusammenhang

$$F = \pi R^2 u \quad \text{Gl. 14}$$

Der Tatsache, daß die Chromatographiesäule mit Adsorbens gefüllt ist, wird durch einen "Porosität" genannten Korrekturfaktor Rechnung getragen:

$$F = \epsilon_T \pi R^2 u \quad \text{Gl. 15}$$

ϵ_T muß empirisch bestimmt werden. Für übliches Kieselgel der Porenweite 60 Å wurde $\epsilon_T = 0.84 \pm 0.05$ gefunden¹⁾ [11]. Aus den Gl. 13 und 15 folgt:

$$t_0 = L \pi R^2 \epsilon_T / F \quad \text{Gl. 16}$$

Eine sehr viel bessere, vor allem für präparative Säulen geeignete Methode wurde von uns gefunden; sie scheint in der chromatographischen Literatur noch nicht erwähnt zu sein. Man füllt die Chromatographiesäule samt Zu- und Ableitungen nacheinander mit zwei Flüssigkeiten unterschiedlicher Dichte, d_1 und d_2 , und wägt sie, was die Massen M_1 und M_2 ergibt. Das Flüssigkeitsvolumen der Säule, das dem Totvolumen V_0 gleich ist, berechnet sich

1) Nach eigenen Messungen und Literaturangaben erscheint dieser Wert etwas hoch; realistischer dürfte sein: $\epsilon_T = 0.75 \pm 0.1$.

aus diesen Werten zu

$$V_0 = (M_1 - M_2) / (d_1 - d_2) \quad \text{Gl. 17}$$

Aus der trivialen Beziehung $F = V_0 / t_0$ folgt

$$t_0 = V_0 / F \quad \text{Gl. 18}$$

bzw. (Gl. 18 kombiniert mit Gl. 13):

$$u = L \cdot F / V_0 \quad \text{Gl. 19}$$

Zeitbedarf eines chromatographischen Laufs, Druckabfall, Permeabilität. - Die Zeitdauer eines chromatographischen Laufs wird durch die Retentionszeit des letzten interessierenden Peaks, mit dem Kapazitätsfaktor k' , bestimmt. Wie man aus Gl. 10 und 13 leicht herleitet, gilt:

$$t_R = \frac{L}{u} (1 + k') \quad \text{Gl. 20}$$

Die Säulenlänge L und der Kapazitätsfaktor k' sind durch die zur Trennung erforderlichen chromatographischen Bedingungen im allgemeinen vorgegeben. In weiten Grenzen variiert werden kann die Geschwindigkeit u des Eluens. Daher ist Schnelligkeit der Chromatographie weitgehend mit hoher Eluengeschwindigkeit synonym. Die Einstellung einer gewünschten Lincargeschwindigkeit u muß aber durch Überwinden eines Druckes Δp erzwungen werden. Es gilt die wichtige Beziehung¹⁾:

$$\Delta p = \frac{1}{K} \cdot \eta L u \quad \text{Gl. 21}$$

Δp : Druckabfall der Trennsäule [dyn/cm^2] ($1 \text{ dyn}/\text{cm}^2 = 1.000 \cdot 10^{-6} \text{ bar} = 1.0197 \cdot 10^{-6} \text{ kp}/\text{cm}^2$).

η : Viskosität des Eluens [Poise] ($1 \text{ cP} = 10^{-2} \text{ Poise}$)

K : "Spezifische Permeabilität" [cm^2] genannte Konstante, die den

1) Bei Berechnungen von K bereitet die Wahl der Dimensionen gelegentlich Schwierigkeiten. Die "zusammenpassenden" CGS-Einheiten sind deshalb explizit angegeben.

Druckabfall der Säulenpackung charakterisiert. Je größer K , desto weniger Druckabfall wird durch die Säulenpackung verursacht;

L [cm], u [cm/s].

Neben der "spezifischen Permeabilität" K , die die relativ problematische Messung der Lineargeschwindigkeit u erfordert, wird häufig eine auf die Volumengeschwindigkeit F bezogene "Permeabilität" K_F angegeben:

$$K_F = \epsilon_T \cdot K \quad \text{Gl. 21a}$$

Der Zusammenhang zwischen K_F und F kann leicht durch Kombination von Gl. 21 mit Gl. 15 hergestellt werden:

$$\Delta p = \frac{1}{K} \frac{\eta \cdot L \cdot F}{\epsilon_T \pi R^2} = \frac{1}{K_F} \cdot \frac{\eta L}{\pi R^2} F \quad \text{Gl. 22}$$

(Dimensionen im CGS-System: Wie unter Gl. 21, zusätzlich F [cm³/s], R [cm], K_F [cm²]).

K_F ist für zylindrische Säulen leichter zu messen als K ; deshalb wird überwiegend K_F angegeben.

K_F ist eine wichtige Größe noch aus einem anderen Grund. Empirisch wurde ein Zusammenhang zwischen K_F und der Teilchengröße d_p gefunden [12]. Unter den Voraussetzungen

- (a) irreguläre (nicht-sphärische) poröse Teilchen¹⁾,
- (b) Säulen vom Durchmesser 3-6 mm²⁾

gilt in guter Näherung

- 1) Adsorbentien mit kugelförmigen porösen Teilchen besitzen einen erheblich höheren K_F -Wert. Derartiges Material ist neuerdings auf den Markt gekommen.
- 2) Säulen größeren Durchmessers ($R > 10$ mm) besitzen offenbar eine geringere Permeabilität als typische analytische Säulen, die in den oben angegebenen Bereich fallen.

$$K_F = 10^{-3} d_p^2 \quad (\text{naß gepackte Säule}) \quad \text{Gl. 23a}$$

$$K_F = 5 \cdot 10^{-4} d_p^2 \quad (\text{trocken gepackte Säule}) \quad \text{Gl. 23b}$$

Gl. 23a und b sind außerordentlich nützlich und werden viel verwendet. Sie ermöglichen eine experimentell sehr einfache Korngrößenbestimmung. Insbesondere helfen sie aus der Verlegenheit, auf welche Korngröße die van-Deemter-Kenngrößen zu beziehen sind, falls ein Adsorbens mit einem breiten Korngrößenspektrum vorliegt. Man bezeichnet die nach Gl. 23a,b bestimmte Korngröße aus naheliegenden Gründen als "dynamische Korngröße". In dieser Arbeit wird hierfür das Symbol d_{pd} benutzt.

Gl. 21 zeigt, warum man die moderne Flüssigkeitschromatographie als "Hochdruckflüssigkeitschromatographie" bezeichnet: Kurze Chromatographiedauer (Gl. 20) bedingt hohe Eluengeschwindigkeit und diese hohen Druckabfall.

Der Druckabfall einer Chromatographiesäule wird oft durch eine Gleichung beschrieben, die man durch Kombination von Gl. 22 und 23a erhält:

$$\Delta p = \frac{10^3 \eta L}{\pi} \frac{1}{d_p^2 \cdot R^2} \cdot F \quad \text{Gl. 24}$$

Gleichung 24 suggeriert, daß ein durch Teilchenverkleinerung bedingter Anstieg des Druckabfalls durch Vergrößerung des Säulenradius unter Erhaltung der chromatographischen Eigenschaften einer Säule kompensiert werden könne. Diese Ansicht ist falsch. Durch die Vergrößerung des Säulenradius kann nur der Durchfluß F bei gleichem Druck erhalten bleiben. Die Lineargeschwindigkeit dagegen sinkt! Die Lineargeschwindigkeit aber bestimmt die Zeitdauer des chromatographischen Laufs!

Es folgt hieraus: schnelle Hochleistungschromatographie kann nur durch hohen Druck erreicht werden. Eine Mittel- oder Niederdruckchromatographie steht der Hochdruckchromatographie entweder in der Zeitdauer oder in der Trenngüte nach.

1.2 Beschreibung der Trennung eines Substanzgemisches

Mit Hilfe der oben definierten Größen kann das chromatographische Verhalten, insbesondere die Leistungsfähigkeit einer Trennsäule gekennzeichnet werden. Zur Beschreibung der Trennung eines Substanzgemisches benötigt man weitere Ausdrücke. Die Theorie beschränkt sich im allgemeinen auf die Behandlung von Substanz- bzw. Peakpaaren. In Abb. 4 ist der Standardfall dargestellt.

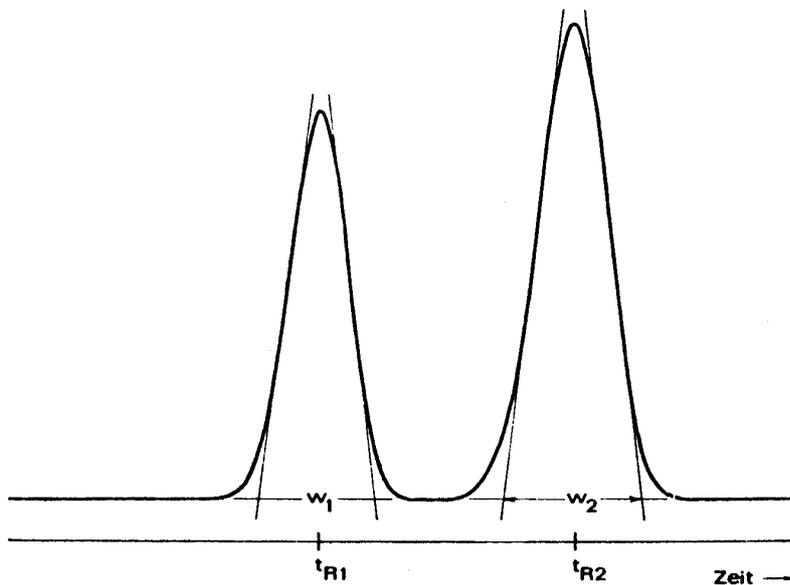


Abb. 4 Zur Charakterisierung eines Peakpaares benötigte Größen

Trennfaktor. - Physikalische Grundgröße zur Charakterisierung des relativen Adsorptionsverhaltens ist der Trennfaktor α ($t_{R2} > t_{R1}$):

$$\alpha = k'_2 / k'_1 = \frac{t_{R2} - t_0}{t_{R1} - t_0} \quad \text{Gl. 25}$$

Da, vgl. S. 9, k' der Gleichgewichtskonstanten für die Verteilung eines Stoffes zwischen Eluens und Adsorbens proportional ist, folgt aus Gl. 25 nach dem üblichen thermodynamischen Formalismus

$$\Delta(\Delta G) = -RT \ln \alpha \quad \text{Gl. 26}$$

α bzw. $\Delta(\Delta G)$ sind von apparativen Gegebenheiten unabhängige Stoffkonstanten für Substanzpaare.

α kann näherungsweise aufgrund Gl. 11 aus dem Dünnschichtchromatogramm bestimmt werden:

$$\alpha = k'_2 / k'_1 = \frac{(1/R_{F2}) - 1}{(1/R_{F1}) - 1} \approx R_{F1} / R_{F2} \quad \text{Gl. 27}$$

Auflösung. - Zur Charakterisierung der Trennung zweier Substanzen in einem spezifischen Chromatogramm dient die Auflösung R_s :

$$R_s = \frac{2 (t_{R2} - t_{R1})}{w_1 + w_2} \quad (t_{R2} > t_{R1}) \quad \text{Gl. 28}$$

Es ist anhand Abb. 4 leicht ersichtlich, daß für die vollständige Trennung $R_s \geq 1$ erforderlich ist.

Die Auflösung ist eine Funktion des Trennfaktors α , der relativen Peakverbreiterung während der Chromatographie (ausgedrückt durch die Bodenzahl N der Trennsäule) und der Verweilzeit des Stoffpaares auf dem Adsorbens (ausgedrückt durch den Kapazitätsfaktor des später eluierten Peaks):

$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{N} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k'_2}{k'_2 + 1} \right) \quad \text{Gl. 29}$$

Diese Gleichung ist eines der Fundamente der Chromatographie. Sie ermöglicht es, drei für die Praxis wichtige Gesichtspunkte quantitativ zu erfassen:

1. Die Auflösung R_s ist der Wurzel aus der Bodenzahl proportional. Da $N \sim L$, bedeutet dies: zur Verdopplung der Auflösung eines Stoffpaares ist eine Vervierfachung der Säulenlänge nötig, bzw. die Verdopplung der Säulenlänge verbessert die Auflösung nur um das 1.4-fache.
2. Der Zusammenhang von Auflösung und Kapazitätsfaktor wird aus Abb. 5, in welcher der in Gl. 29 enthaltene Quotient $k'_2 / (k'_2 + 1)$

als Funktion von k_2' graphisch dargestellt ist, eindrücklich sichtbar.

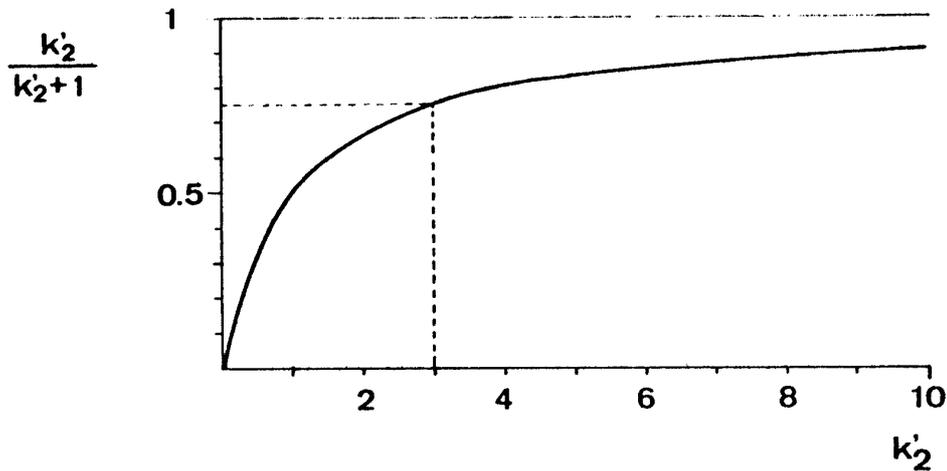


Abb. 5 Zur Abhängigkeit der Auflösung R_s vom Kapazitätsfaktor k_2' [$R_s \sim k_2' / (k_2' + 1)$]

Der Quotient $k_2' / (k_2' + 1)$ und damit die Auflösung vergrößert sich mit steigendem Kapazitätsfaktor bis zum Grenzwert 1 für $k_2' \rightarrow \infty$. Da der Kapazitätsfaktor die Zeitdauer der Chromatographie bestimmt (vgl. S. 11), muß ein Kompromiß geschlossen werden. Als optimaler Wert erscheint $k_2' = 3$, da im Bereich darunter eine sehr starke, darüber nur noch eine schwache Abhängigkeit der Auflösung von k_2' vorliegt.

Dem Wert $k' = 3$ entspricht im DC nach Gl. 27 ein R_F -Wert von nur 0.25! Zu frühe Elution der zu trennenden Substanzen ist wohl die häufigste Sünde, die beim Chromatographieren begangen wird.

3. Gleichung 29 ermöglicht eine Vorausberechnung der Trennstufenzahl, die für eine präparativ vollständige Trennung ($R_s > 1$) gegebener Schwierigkeit - ausgedrückt durch den Trennfaktor α erforderlich ist. α kann unter analytischen Bedingungen (HPLC oder DC, vgl. Gl. 27) leicht bestimmt werden. Der Zusammenhang ist in Abb. 6 graphisch dargestellt ($k_2' = 5$).

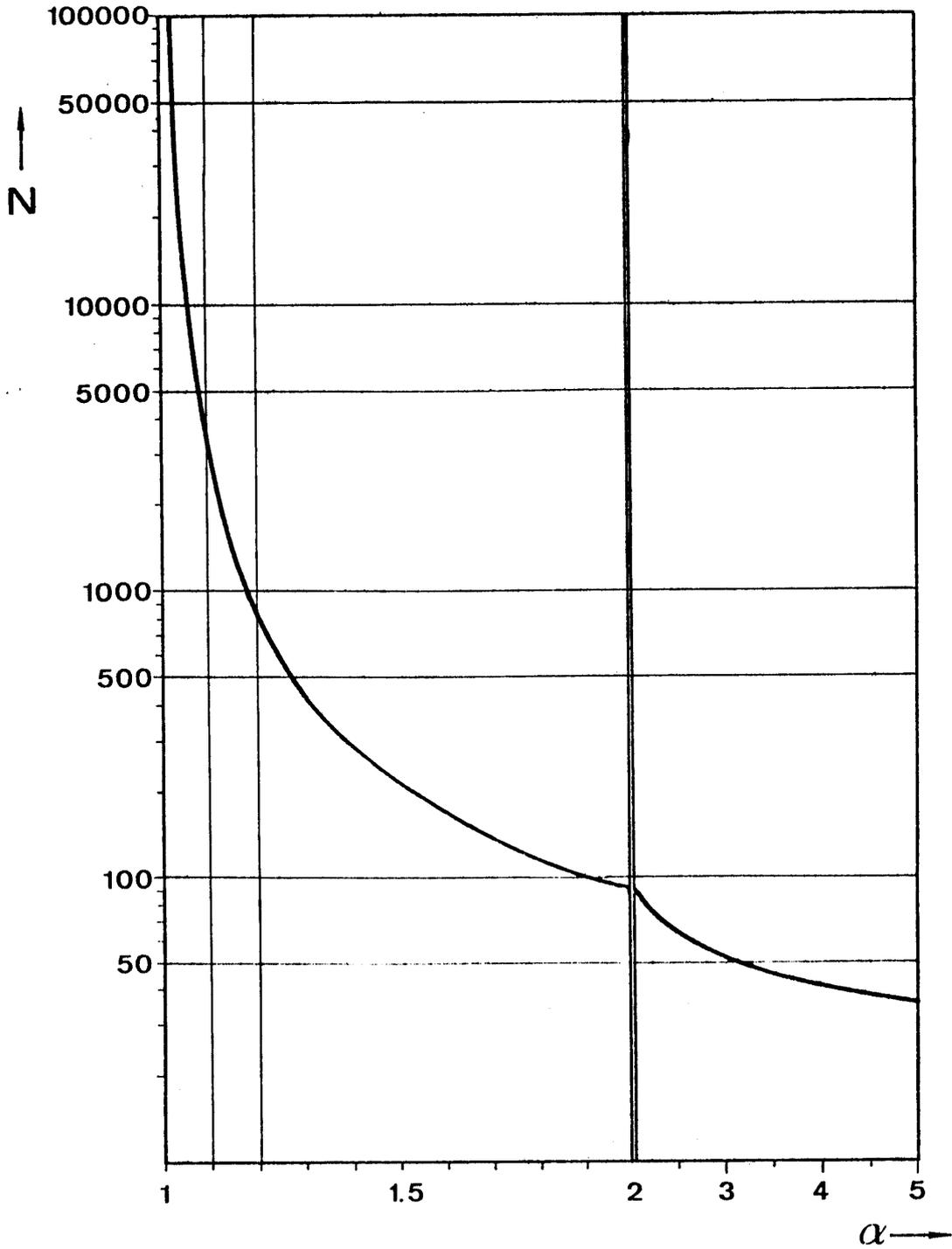


Abb. 6 Zur vollständigen Trennung ($R_S=1$) nötige Bodenzahl N in Abhängigkeit vom Trennfaktor α ($k'=5$) (halblogarithmische Auftragung).

Man erkennt, daß die für eine vollständige Trennung nötige Bodenzahl im Bereich bis $\alpha \sim 1.2$ nur wenig variiert, für $\alpha < 1.1$ aber extrem ansteigt. Für die Praxis ist hieraus eine wichtige Schlußfolgerung zu ziehen: Eine Trennung mit $\alpha < 1.03$ ist mit den heute verfügbaren Säulen (maximale Bodenzahl ca. 30'000) kaum durchführbar. Wie man Abb. 6 entnimmt, ist es praktisch wenig sinnvoll, durch Kopplung von Säulen größere Bodenzahl N bereitzustellen. Man suche vielmehr geduldig nach einem Eluens, für das größere α -Werte gelten. Falls dies nicht gefunden wird, sollte ein anderes Adsorbens gewählt werden.

1.3 Substanzbeladung

Alle bisher angeführten Kennzahlen und Gleichungen setzen ideale Verhältnisse, d. h. eine unendlich geringe Menge an zu trennender Substanz voraus. Abweichungen vom idealen Verhalten treten bei handelsüblichem Kieselgel (spez. Oberfläche $\sim 400 \text{ m}^2/\text{g}$, Porenweite 60 \AA) bereits ab ca. $2 \cdot 10^{-4} \text{ g}$ Substanz pro g Adsorbens auf.

Es sind verschiedene Methoden benutzt worden, um die Belastbarkeit zu charakterisieren. Als Beladung B sei definiert: g Substanz pro g Adsorbens. Man mißt entweder die Bodenhöhe H oder die Retentionszeit t_R , bzw. den Kapazitätsfaktor k' , in Abhängigkeit von B . Die Funktionen $H(\log B)$ und $t_R(\log B)$ zeigen einen Verlauf wie er in Abb. 7 dargestellt ist. Als "lineare Kapazität" B_0 wird definiert: (a) Der B -Wert bei dem eine 10-prozentige Verringerung von t_R bzw. k' eintritt [13]; (b) Der B -Wert des Knickpunktes der Funktion $H(\log B)$. Die beiden Definitionen führen in etwa zum gleichen B_0 -Wert¹⁾.

Für analytische Messungen und Testuntersuchungen arbeitet man im Bereich $B < B_0$. Das präparative Arbeiten findet fast ausschließlich im Überladungsbereich $B > B_0$ statt.

1) Als weitere Definition ist in der Literatur [14] zu finden:
(c) Der B -Wert, bei dem eine Erhöhung von H um 100 % eintritt. Diese Definition ist unbrauchbar, da der B_0 -Wert in starkem Maße vom Minimalwert für H abhängt. Man wird auf diesen Punkt im Zusammenhang mit eigenen Ergebnissen zurückkommen.

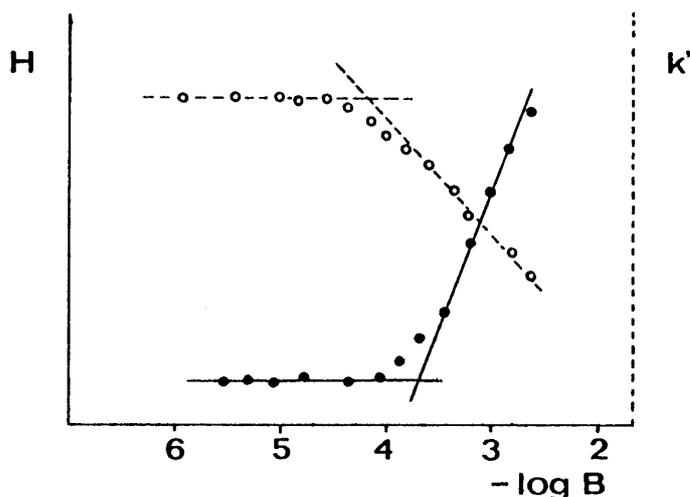


Abb. 7 Abhängigkeit der Bodenhöhe H (—) bzw. des Kapazitätsfaktors k' (-----) von der Beladung B (g Substanz pro g Adsorbens)

Leider liegen über das Verhalten von Trennsäulen im Bereich $B > B_0$ keine systematischen Untersuchungen vor. Von erheblicher Bedeutung könnte die Beobachtung sein [14], daß offenbar der B_0 -Wert für Substanzen mit sehr kleinem k' -Wert ($k' < 0.3$) ca. 10-fach höher ist, als für solche mit üblichen k' -Werten ($k' > 1$). Eine sorgfältige Untersuchung dieses Phänomens könnte interessante Aufschlüsse ergeben. Vorausgehen müßte allerdings Grundlagenarbeit über die Charakterisierung von "überladenen Peaks". Diese besitzen keine Gauß-Form. Daher sind die oben angeführten Definitionen der chromatographischen Kennzahlen nur bedingt sinnvoll.

1.4 Dosiervolumen

Außer einer infinitesimalen Substanzbeladung wird in der "Standard-Theorie" ein vernachlässigbar kleines Dosiervolumen (V_D) angenommen. Diese Annahme ist natürlich in der Praxis nur bedingt gültig, denn im allgemeinen wird die Substanz in gelöster Form dosiert. Speziell das präparative Arbeiten erfordert oft hohe Probenverdünnung, z. B. wegen schlechter Löslichkeit. Es ist deshalb von einigem Nutzen, die Auswirkung des Dosiervolumens V_D auf die Trennleistung - ausgedrückt durch die

Varianz σ bzw. Bodenhöhe H - zu kennen. Der Effekt kann mittels der folgenden Gleichung (Ableitung s. u.) leicht berechnet werden.

$$\frac{H}{H_0} - 1 = \frac{1}{D^2} N_0 \frac{1}{(1 + k')^2} \frac{V_D^2}{V_0^2} \quad \text{Gl. 30}$$

- H : Bodenhöhe der Testsubstanz bei Applikation im Dosier-
volumen V_D ;
- H_0 : Bodenhöhe für den Idealfall $V_D \rightarrow 0$;
- $\frac{H}{H_0} - 1$: ist demnach die relative Zunahme der Bodenhöhe gegenüber dem Fall $V_D \rightarrow 0$; z. B. bedeutet eine 100%ige Zunahme: $H=2 H_0$, d. h. $(H/H_0) - 1 = 1$;
- D : ist eine Konstante, die bei Dosierung der Substanzlösung als "sauberer" Propfen 3.5 beträgt. In der Praxis ist D wegen Unvollkommenheit des Dosiersystems in der Regel kleiner, $D \sim 2-3$ (vgl. [15]);
- N_0 : Bodenzahl für den Idealfall $V_D \rightarrow 0$;
- k' : Kapazitätsfaktor der Testsubstanz (vgl. S. 9)
- V_D : Dosiervolumen, d. h. Volumen, in dem die Testsubstanz in die Trennsäule eingeführt wird;
- V_0 : Totvolumen der Trennsäule (vgl. S. 11)

Als vielleicht wichtigste Lehre für die Praxis kann aus Gl. 30 gefolgert werden: ist es infolge schlechter Löslichkeit notwendig, die zu trennende Substanz stark zu verdünnen, d. h. V_D groß zu machen, so kann die dadurch drohende Verschlechterung der Trennleistung durch Vergrößerung von k' aufgefangen werden. Allerdings muß ein Nachteil in Kauf genommen werden: hohes k' bedeutet späte Elution, dieses lange Zeitdauer des Chromatogramms.

Gl. 30 ermöglicht nach Umformung in einfacher Weise die Berechnung des maximalen Volumens, das bei noch tolerierbarem Verlust an Trenngüte (H) aufgegeben werden kann (Auflösen nach V_D und Ziehen der Wurzel):

$$V_D = \sqrt{\frac{H}{H_0} - 1} \frac{D(1 + k')}{\sqrt{N_0}} V_0 \quad \text{Gl. 30a}$$

V_0 läßt sich aus dem Leervolumen V_{leer} der Säule nach $V_0 = \epsilon_T V_{\text{leer}}$ berechnen¹⁾.

1) Gl. 16 wird beidseitig mit F multipliziert und $F \cdot t_0 = V_0$ (Gl.18) eingesetzt. Für Kieselgel gilt: $\epsilon_T = 0.75 \pm 0.1$.

Ein praktisches Beispiel möge den Wert der obigen Gleichungen demonstrieren: Welches Volumen darf maximal in eine gute präparative Kieselgel-Säule ($L = 40$ cm, $R = 2$ cm, $N_0 = 8000$) injiziert werden, wenn eine Verschlechterung von H_0 (Fall $V_D \rightarrow 0$) um nur 20 % toleriert werden soll (k' sei 3)?

$$V_0 = \epsilon_T L \pi R^2 = 0.75 \cdot 40 \cdot \pi \cdot 2^2 \text{ cm}^3 = 377 \text{ cm}^3$$

$$V_D = \sqrt{0.2} \cdot \frac{2.5(1+3)}{\sqrt{8000}} \cdot 377 \text{ cm}^3 = \underline{\underline{19 \text{ cm}^3}}$$

Die Ableitung von Gl. 30 wurde aufbauend auf Angaben von Karger und Mitarbeitern [15] durchgeführt. Im Gegensatz zur bisherigen Gepflogenheit, wird das Volumen, nicht die Zeit, als chromatographische Variable gewählt (vgl. Fußn. 1, S. 5). Die entsprechenden Gleichungen erhält man aus den angegebenen sehr einfach, indem man alle Zeiten mit F (Durchfluß) multipliziert. Die so erhaltenen Gleichungen werden im folgenden mit der früheren, aber mit einem Strich modifizierten Nummer bezeichnet.

Theoretische Größe zur Charakterisierung der Peakbreite ist die Varianz σ_v ($\sigma_v = \sigma_t \cdot F$). Es kann gezeigt werden (Literaturangaben s. [15]), daß sich die Varianz σ_v eines Peaks aus der Summe der Quadrate der Varianzen aller zur Peakverbreiterung beitragenden Effekte ergibt, hier die Dosierung σ_{vD} und die durch die Säule verursachte "natürliche" Peakverbreiterung σ_{v0} im Falle $V_D \rightarrow 0$:

$$\sigma_v^2 = \sigma_{vD}^2 + \sigma_{v0}^2 \quad (\text{Gl. A})$$

In [15] wird nun angesetzt:

$$\sigma_D = \frac{1}{D} V_D \quad (\text{Gl. B})$$

Einsetzen ergibt:

$$\sigma_v^2 = \frac{V_D^2}{D^2} \sigma_{v0}^2 \quad (\text{Gl. C})$$

Gl. C enthält die gesamte relevante Information. Die Konstante D kann experimentell leicht bestimmt werden¹⁾: σ_v^2 wird über die Bodenzahl N (Gl. 2') bei Applikation von V_D , σ_v aus der auf den Fall $V_D \rightarrow 0$ extrapolierten Bodenzahl N_0 berechnet²⁾.

$$N = \frac{t_R^2}{\sigma_t^2} = \frac{V_R^2}{\sigma_v^2} \quad (\text{Gl. 2'})$$

$$N_0 = \frac{t_R^2}{\sigma_{v0}^2} \quad (\text{Gl. 2''})$$

1) D ist von Interesse zur Charakterisierung des Aufgabesystems; dieses ist um so besser, je größer D .

2) Die Messung erfolgt auf die übliche Weise nach Gl. 3 oder 4.

Es schien uns sinnvoll, die Bedeutung der Gl. C dadurch zu erhellen, daß die üblichen charakteristischen Daten, Bodenhöhe H und Bodenzahl N, explizit vorkommen. Man geht folgendermaßen vor:

Einsetzen von Gl. 2' bzw. Gl. 2'' in Gl. 5 ergibt:

$$H = 1, \frac{\sigma_V^2}{V_R^2} \quad (\text{Gl. D}) \quad \text{und} \quad \sigma_{V_0}^2 = \frac{H_0}{L} V_R^2 \quad (\text{Gl. E})$$

Gl. A und E werden in Gl. D eingesetzt:

$$H = \frac{(\sigma_{VD}^2 + \sigma_{V_0}^2) H_0}{\sigma_{V_0}^2} = \frac{H_0 \sigma_{VD}^2}{\sigma_{V_0}^2} + H_0 \quad (\text{Gl. F})$$

Gl. F wird umgeordnet zu

$$\frac{H}{H_0} - 1 = \frac{\sigma_{VD}^2}{\sigma_{V_0}^2} \quad (\text{Gl. G})$$

Mit Gl. G ist ein günstiges praktisches Maß für die Verschlechterung der Trennqualität infolge von V_D gewonnen. V_D erscheint explizit bei Einsetzen von Gl. B in Gl. G:

$$\frac{H}{H_0} - 1 = \frac{V_D^2}{D^2 \sigma_{V_0}^2} \quad (\text{Gl. H})$$

σ_{V_0} kann via Gl. 2'' ersetzt werden durch

$$\sigma_{V_0}^2 = V_R^2 / N_0 \quad (\text{Gl. I})$$

V_R ist keine fundamentale Größe; es wird nach Gl. 19 und 20 (mit $t_{RF} = V_R$) eliminiert:

$$V_R = (1 + k') V_0 \quad (\text{Gl. J})$$

Einsetzen von Gl. J in I führt zu

$$\sigma_{V_0}^2 = (1 + k')^2 V_0^2 \cdot \frac{1}{N_0} \quad (\text{Gl. K})$$

Einsetzen von Gl. K in H ergibt schließlich Gl. 30.

2. KONZEPTION EINER CHROMATOGRAPHIESÄULE

Bei der Entwicklung eines neuen Typs chromatographischer Trennsäulen müssen primär folgende Faktoren beachtet werden:

- Säulenform, Substanzaufgabe
- Säulendurchmesser
- Säulenlänge
- Werkstoff
- Art des Adsorbens
- Teilchendurchmesser und Kornverteilung
- Packungsmethode.

2.1 Säulenform und -dimension

Säulenform, Substanzaufgabe. - Als Standardform der Flüssigkeitschromatographiesäule hat sich der Zylinder bewährt. Bei Säulen größeren Durchmessers bereitet es allerdings erhebliche Schwierigkeiten, das Eluens am Säulenanfang so einzuleiten, daß - entgegen der durch Abb. 8a veranschaulichten "natürlichen" Strömung - eine über den gesamten Querschnitt gleichmäßige Eluengeschwindigkeit, entsprechend Abb. 8b resultiert. Falls dieses nicht gelingt, treten erhebliche Verluste an Trennleistung und

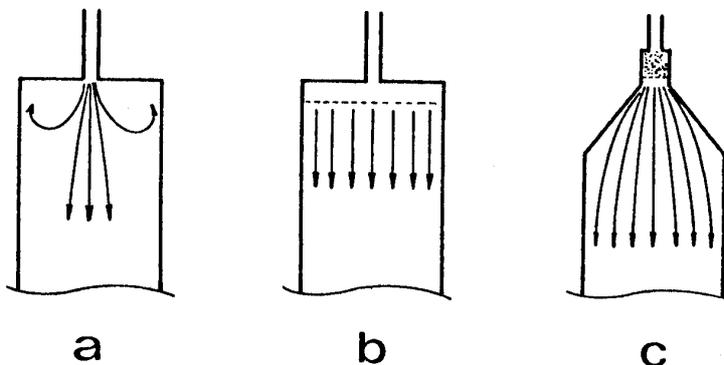


Abb. 8 Strömungsprofile am Säuleneingang

"seltsame" Peakformen auf, z. B. Doppelpeaks oder Schwanzbildung. Im allgemeinen werden komplizierte Zusammenstellungen von Siebplatten, Fritten, Glaskugeln und dergleichen auf die Adsorbenspackung gelegt; dennoch gelingt die Lösung des Problems in der Regel nur unvollkommen.

Wie in der Einleitung erwähnt, wurde eine optimale Lösung durch Eisenbeiß und Öhlerding aufgezeigt [5]: konische Form von Säulenanfang und -ende entsprechend Abb. 8c. Die Wirksamkeit dieses Prinzips scheint darauf zu beruhen, daß die "toten Ecken" des Zylinders (Abb. 8a) einfach abgeschnitten sind. Nach eigenen Untersuchungen ist die spezielle Geometrie, d. h. der Neigungswinkel u. dergl., des Konus unwichtig. Bei Versuchen mit Farbstoffen wurden stets vollkommen scharfe, gerade Zonen unabhängig von Eluengeschwindigkeit, Säulendurchmesser, Substanzbeladung und -konzentration gefunden.

Die konische Form besitzt einen Nachteil: die Säulenlänge ist praktisch festgelegt. In einem speziellen Fall wäre variable Säulenlänge erwünscht, für sog. Reversed-phase-Adsorbentien, d. h. Kieselgel, dessen freie OH-Gruppen durch langkettige Alkylgruppen modifiziert sind. Das gepackte Bett derartiger Adsorbentien ist elastisch und seine Länge variiert mit der Strömungsgeschwindigkeit. Es sollte daher bei hoher Strömungsgeschwindigkeit irreversibel durch Verschieben der Säulenverschlüsse zusammengepreßt werden.

Säulendurchmesser. - Neuere Untersuchungen [16] über die Abhängigkeit der Trennleistung vom Durchmesser ergaben, daß - entgegen früherer Vorstellungen - die Bodenhöhe mit steigendem Durchmesser abnimmt. Als Grund dafür werden im allgemeinen die Einflüsse der Säulenwandung angesehen. So konnten Knox und Mitarbeiter [17] zeigen, daß die Packungsstruktur noch in einer Entfernung von ca. 30 Teilchendurchmessern von der Wand deutlich von derjenigen weiter im Innern der Säule verschieden ist. In dieser Randzone liegt eine inhomogene Packung mit schlechten chromatographischen Eigenschaften vor. Man sollte daher den

Durchmesser der Säule so groß wählen, daß die Menge des Adsorbens in der Wandregion weniger als 5 % der Gesamtmenge beträgt.

Ein origineller Vorschlag zur Vermeidung von Wandeffekten stammt von Knox und Parcher [16]: Man könnte Substanzen in der Mitte der Säule derart auftragen, daß sie auf ihrem Weg durch die Säule lediglich in der Mittelregion verbleiben, die Wandregion aber nicht erreichen. Man errechnete, daß dies bei punktförmiger Substanzaufgabe möglich ist, wenn die Säulendimensionen folgende Bedingung erfüllen:

$$A \geq \frac{4R^2}{d_p L} \quad \text{Gl. 31}$$

Die experimentelle Überprüfung dieses sogenannten "Infinite-diameter-Effekts" ergab [18], daß mit A-Werten bis zu 45 eine Verringerung der Bodenhöhe H zu erreichen ist. Obwohl der Beitrag des Infinite-diameter-Effekts bei, wie in der Praxis üblich, nicht punktförmiger Substanzauftragung undefiniert ist¹⁾, erweist sich der A-Wert als brauchbare empirische Kennzahl einer Trennsäule.

Es sei nochmals (vgl. S. 13) darauf hingewiesen, daß der Durchmesser der Trennsäule theoretisch keinen chromatographisch signifikanten Einfluß auf den Durchfall besitzt (s. Gl. 21). In der Praxis findet man allerdings eine Verminderung der Permeabilität mit zunehmendem Durchmesser²⁾.

Länge. - Im Gegensatz zu konventionellen Chromatographiesäulen, die nur auf einer Seite fest verschlossen sind und somit nicht hintereinandergeschaltet werden können, muß man bei modernen beidseitig verschlossenen Säulen wenig Überlegungen bezüglich der Säulenlänge anstellen, da sie je nach Schwierigkeit des Trenn-

1) Erstaunlicherweise bestimmen viele der wenigen mit präparativen Säulen befaßten Autoren die Bodenzahlen, bzw. -höhen mit "Infinite-diameter"-Aufgabe. So gewonnene Kennzahlen müssen als unzulässig bezeichnet werden, denn beim präparativen Arbeiten ist die nur mit "analytischen Mengen" mögliche "Infinite-diameter"-Substanzaufgabe völlig sinnlos.

2) Das Problem wird bei der Präsentation der Resultate diskutiert.

problems durch Hintereinanderschaltung mehrerer Säulen variiert werden kann. Die Gesamtsäulenlänge wird lediglich durch den Druckabfall (s. Gl. 21) begrenzt.

Gesamtgröße. - Die Gesamtgröße der Säulen, ausgedrückt durch die Adsorbensmenge pro Säule, muß sich den Erfordernissen der Praxis anpassen. Wir haben mit Säulen des Inhalts 60 g, 300 g und 1000 g Kieselgel Erfahrungen gesammelt. Die bei einmaliger Dosierung auftrennbare Substanzmenge hängt natürlich von der Schwierigkeit des Trennproblems, d. h. dem Trennfaktor α ab. Als über viele typisch organisch-chemische Gemische gemittelte Erfahrungswerte können etwa gelten (Korngröße 20 μ , $N \sim 10000$)

60 g Kieselgel:	bis 1 g Substanz
300 g Kieselgel:	bis 5 g Substanz
1 kg Kieselgel:	bis 20 g Substanz

Die 1 kg-Säule hat sich aus mehreren Gründen als nicht günstig erwiesen. 1. Beim Lösungsmittelwechsel - moderne Chromatographie-säulen werden wiederverwendet - sind zur Umkonditionierung große Mengen an Lösungsmitteln erforderlich. Je nach dem Unterschied in der Polarität von neuem und altem Eluens ca. 3-10 l pro 1 kg Kieselgel. 2. Für unerfahrene Benutzer, im Hochschullaboratorium fast die Regel, ist die Vorausabschätzung der richtigen Detektoreinstellung und die Beurteilung des Chromatogramms im Entstehen, d. h. der Fraktionenwechsel, sehr problematisch. 3. Es fallen relativ große Volumina pro Fraktion an, u. U. mehrere Liter, deren Eindampfung mit den üblichen Rotationsverdampfern unpraktisch ist.

Als bester Kompromiß zwischen Ökonomie und Mengendurchsatz erscheint die 300 g-Säule und mehrfache Dosierung. Bei einem leichten Trennproblem, $\alpha > 2$, können pro Tag ca. 30 - 50 g, bei einem mittleren, $\alpha = 1.5-2$, ca. 10 g, bei einem schwierigen Trennproblem, $\alpha < 1.3$, ca. 2 g Substanz durchgesetzt werden.

Werkstoff. - Üblicherweise verwendet man Trennsäulen aus Edelstahl in der Flüssigkeitschromatographie. Da die Herstellung von

Säulen aus diesem Material, insbesondere von solchen mit konischen Enden, sehr aufwendig ist, entschieden wir uns für Glas als Werkstoff. Die Herstellung beliebig geformter Glasröhrchen ist trivial. Allerdings ist der Druckbereich der Säulen beschränkt.

2.2 Adsorbentien, Korndurchmesser, Druckbereich

Kieselgel, Druckabfall, Zeitbedarf. - Unter den vielen heute im Handel angebotenen Adsorbentien nimmt Kieselgel aus folgenden Gründen eine überragende Stellung ein:

- relativ günstiger Preis
- für viele Substanzklassen verwendbar
- in den meisten Lösungsmitteln unlöslich
- ausgezeichnete chromatographische Eigenschaften (hohe Porosität, große spezifische Oberfläche, gute mechanische Stabilität)
- in vielen engklassierten Korngrößen erhältlich
- günstige Packungseigenschaften
- hohe Lebensdauer, regenerierbar
- relativ leicht chemisch modifizierbar (z. B. Reversed-phase-Adsorbentien, s. u.)
- gute Qualität von Kieselgel-DC-Platten und daher einfache und schnelle Vorproben möglich (Ermittlung des Eluens).

Alle diese Punkte spielen für die präparative LC eine wichtige Rolle.

Entscheidender Parameter für die Konzeption der Chromatographiesäulen ist die Korngröße d_p . Hierdurch wird einerseits die Bodenhöhe H (s. Gl. 8-8d) und damit die Qualität, andererseits der Druckabfall (s. Gl. 21-23) festgelegt. Der Druckabfall, genauer gesagt die Permeabilität, determiniert wesentlich den apparativen Aufwand, die maximale Säulenlänge (d. h. auch maximale Bodenzahl)

und den Zeitbedarf des chromatographischen Laufs¹⁾.

Wir setzen voraus¹⁾, daß die Korngröße so klein wie möglich sein sollte. Die Wahl wurde durch zwei Punkte diktiert, 1. den Preis und 2. den Entschluß, Glas als Werkstoff zu verwenden, was den Druckbereich auf ca. maximal 20 bar begrenzt.

Um die Preissituation zu beleuchten, sind in Abb. 9 die Preise eines bekannten Herstellers in Relation zur Korngröße und zur Kornverteilung gesetzt. Als guter Kompromiß erscheint das Material mit der nominellen Korngröße 15-25 μ . Bei guter Packung, $H \sim 3 d_p$ im Minimum der van Deemter-Kurve, sollten bei einer Säulenhöhe von 30-50 cm ca. 5000-10000 theoretische Böden pro Säule erreicht werden können. Das entspricht in etwa der Trennleistung von Standard-HPLC-Säulen (analytisch).

Die Situation des Druckabfalls bzw. Werkstoffs Glas, sei indirekt diskutiert. Wichtigste Konsequenz aus dem Druckabfall ist der Zeitbedarf eines chromatographischen Laufs. Die zur Berechnung nötige Formel ist Gl. 20; durch Kombination mit Gl. 21, 21a, 22 und 23a bzw. b erhält man:

$$t_R = \eta(1 + k') \varepsilon_T \frac{1}{\Delta p} \frac{L^2}{n d_p^2} \quad \text{Gl. 32}$$

($n = 1$ naß oder $n = 0.5$ trocken gepackte Säule)

Wie früher ausgeführt (vgl. S. 11), entspricht der Zeitbedarf des chromatographischen Laufs der Retentionszeit des letzten Peaks. Wenn man dessen k' -Wert großzügig mit 10 ansetzt, erhält man die in Abbildung 10 dargestellten t_R (Δp)-Kurven für eine typische präparative Säule²⁾. Da 20 bar für Glassäulen den maxi-

1) Weitere Punkte sind: "Substanzdurchsatz" (Menge an getrennter Substanz/Zeit) und Lösungsmittelbedarf. Die Frage nach der optimalen Korngröße bezüglich des Substanzdurchsatzes wird in der chromatographischen Literatur viel diskutiert, sie ist aber noch nicht in durchsichtiger Weise geklärt. Der Lösungsmittelbedarf ist natürlich um so geringer, je kleiner die Bodenhöhe ist, da die Konzentration der Substanz der Bandenbreite umgekehrt proportional ist.

2) Es wurde $n = 1$ gesetzt, es muß allerdings hinzugefügt werden, daß Gl. 23a nur für analytische Säulen gilt.

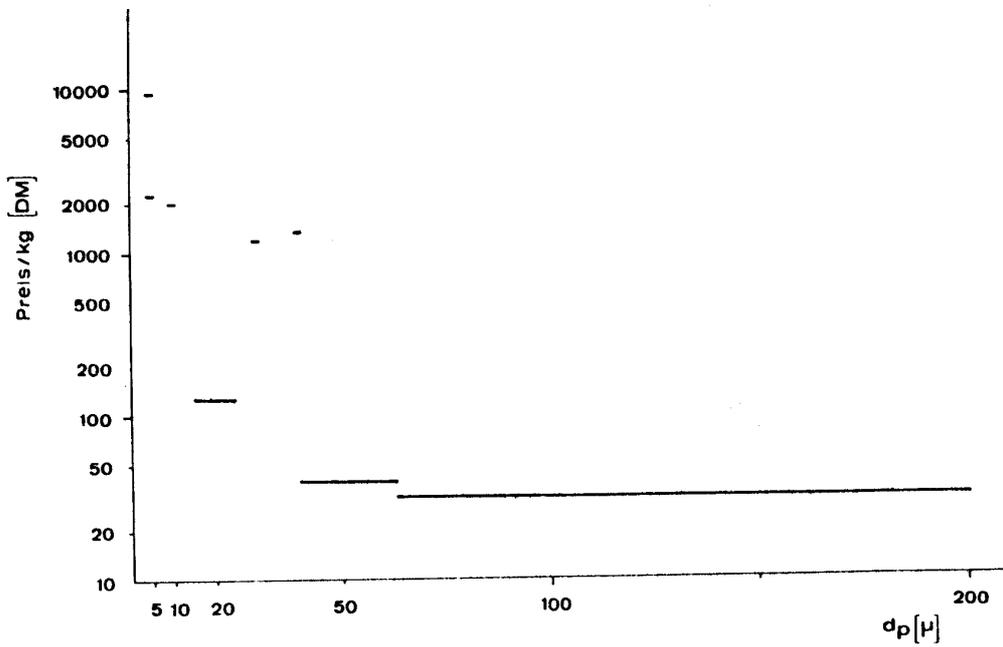


Abb. 9 Preise für Kieselgel zur Chromatographie (nach Katalog 1976 der Fa. Merck, Darmstadt); halblogarithmische Darstellung

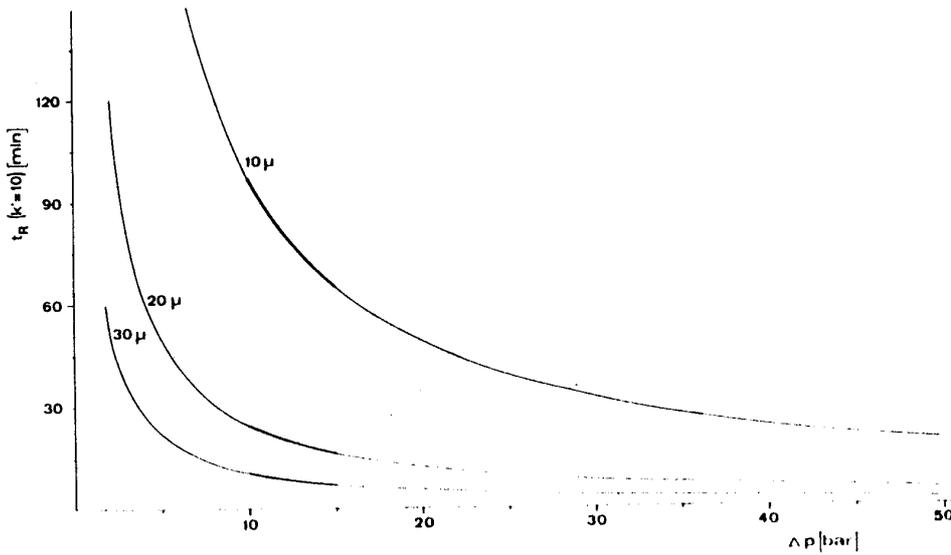


Abb. 10 Zeitbedarf eines chromatographischen Laufs als Funktion der Korngröße des Adsorbens und des Druckabfalls (nach Gl. 32; $L=40$ cm; Eluens: Ethylacetat, $\eta=0.441$ cP; $n=1$)

malen Druck darstellt, muß mit einem Arbeitsbereich von 10-15 bar gerechnet werden. Mit einer typischen Chromatographiedauer von ca. 15 - 30 min bietet die Korngröße $\sim 20 \mu$ auch hier einen guten Kompromiß.

Es sei auf die interessante Struktur der Gl. 32 bzw. der in Abb. 10 dargestellten Kurven hingewiesen. Offensichtlich gibt es einen steilen, ungünstigen und einen sehr flachen Ast; Korngröße bzw. Druckbereich sollten so gewählt werden, daß der typische Arbeitsbereich gerade hinter dem Knickpunkt, also am Anfang des flachen Astes liegt. Man kann die Kurven aber bei jeder Korngröße durch Veränderung von L nach Wunsch adjustieren, denn $t_R \sim (L/d)^2$. Es erhebt sich die Frage: Welche d-L-Kombination^R ist die^P günstigste? Die Antwort können wir z. P zt. noch nicht geben¹⁾.

Reversed-phase-Adsorbens. - Die Trennwirkung des Kieselgels beruht im wesentlichen auf der unterschiedlichen Wechselwirkung der an der Oberfläche angeordneten Silanolgruppen mit den zu trennenden Substanzen. Je nach ihrer Entfernung voneinander (4-5 Hydroxylgruppen/100 Å²) liegen die Silanolgruppen frei vor oder bilden Wasserstoffbrücken untereinander (Abb. 11). Da sie verhältnismäßig sowohl reaktiv als auch sauer sind (pH [SiOH] $\sim 3-5$), eignet sich Kieselgel schlecht zur Trennung sehr polarer oder säureempfindlicher Substanzen, da solche teilweise irreversibel adsorbiert oder zersetzt werden. Ebenfalls schlecht werden Substanzen ohne Wasserstoffbrückenakzeptoren oder -donatoren, z. B. Kohlenwasserstoffe, getrennt.

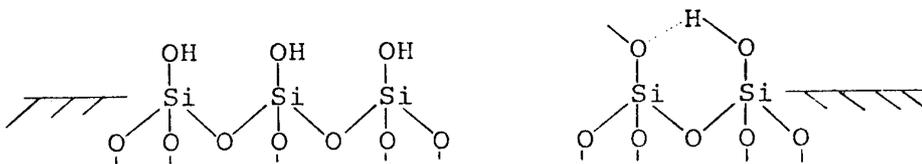


Abb. 11 Schematische Darstellung der Oberfläche des Kieselgels

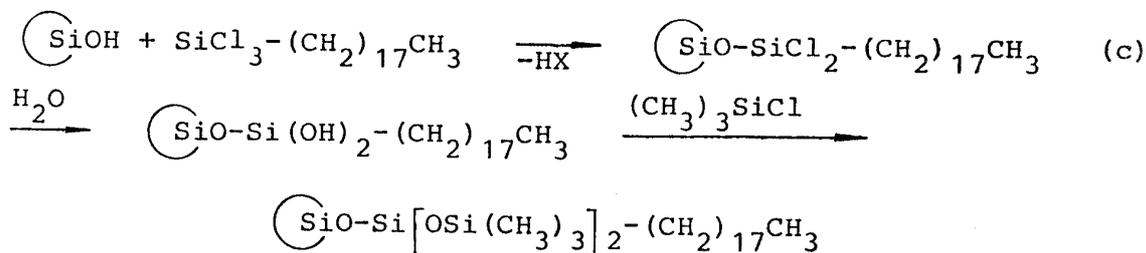
1) An dem Problem wird gearbeitet.

Infolge seiner hervorragenden chromatographischen Eigenschaften bemüht man sich seit ca. zehn Jahren, die Oberfläche des Kieselgels durch Belegung mit Substanzen anderer Funktionalität zu modifizieren, um seine hohe Adsorptionsenergie bzw. Reaktivität herabzusetzen und/oder andere Selektivität zu erzielen. Während dies in der Gaschromatographie durch physikalische Belegung des Trägers mit verschiedenen Flüssigkeiten seit Jahren praktiziert wird, treten in der Flüssigkeitschromatographie - insbesondere bei präparativer Arbeitsweise - infolge der Löslichkeit der Phasen im Eluens Probleme auf. Man versucht daher, die Phasen über die in der Abb. 11 dargestellten Silanolgruppen chemisch zu binden.



Es zeigte sich, daß nach (a) modifizierte Kieselgele infolge ihrer Hydrolyseempfindlichkeit nur unter Feuchtigkeitsausschluß gehandhabt werden können, nach (b) modifizierte jedoch über einen größeren pH-Bereich (~2-8) hydrolysebeständig sind (Übersicht: [19]).

Von den derzeit auf dem Markt angebotenen nach (b) modifizierten Kieselgelen hat sich das sogenannte C₁₈-Reversed-phase-Adsorbens (ODS-Phase) in der Analytik als wertvolle Ergänzung zum Kieselgel besonders durchgesetzt. Es wird folgendermaßen hergestellt:



Infolge seines Kohlenwasserstoffcharakters zeigt es lipophile, nicht wie Kieselgel hydrophile Eigenschaften. So werden unpolare Substanzen, die mit Kieselgel nur wenig wechselwirken, stark adsorbiert, während polare Verbindungen, die auf Kieselgel nur

schlecht oder überhaupt nicht eluiert werden, wenig zurückgehalten werden. Analog dazu kehrt sich die eluotrope Reihe des Eluens um. So wirken beispielsweise Hexan oder Benzol stärker eluotrop als Methanol oder Wasser. Als Eluentien werden in der Regel Gemische von Wasser (oder Pufferlösungen) mit Methanol, Acetonitril oder Essigsäure verwendet.

Die Herstellung von Reversed-phase-Adsorbentien ist nicht ganz unproblematisch. Zum einen tritt neben den obigen Reaktionen leicht Polymerisation auf, wenn Wasser nicht rigoros ausgeschlossen ist. Zum anderen ist es schwierig, alle OH-Gruppen des Kieselgels zur Reaktion zu bringen. Bis heute gibt es offenbar kein voll befriedigendes, reproduzierbar belegtes Handelsprodukt.

Üblicherweise werden die Belegungsreaktionen im Batch-Verfahren durchgeführt und das modifizierte Adsorbens wird dann gepackt. Kriterien zur Beurteilung derartiger Säulen sind die chromatographischen Kennzahlen, der Kohlenstoffgehalt (ca. 18 % für die ODS-Phase) und Tests zur Erkennung freier OH-Gruppen (Methylrot-Test, chromatographischer Test [20]).

Eine interessante Alternative wurde neuerdings von Gilpin und Mitarbeitern erprobt: chemische Modifizierung auf fertig gepackten Kieselgelsäulen [21]. Die Resultate sind allerdings bis jetzt wohl nicht brauchbar. So wurden nur die ersten beiden Reaktionen der obigen Sequenz c durchgeführt, dabei lediglich eine Belegung von ~1 % Kohlenstoff [22] erreicht. Beim Studium der Gilpinschen Arbeiten erkennt man leicht, daß hier versucht wurde, eine gute Idee mit schlechter organischer Chemie zu realisieren. Wir haben uns des Problems angenommen und auf einfache Weise 18-20 % Kohlenstoff-Gehalt erzielt bei weitgehender Erhaltung der chromatographischen Eigenschaften der ursprünglichen Säulen [1].

2.3 Packungsmethoden, Lebensdauer

Im Lauf der Zeit sind zahllose Packungsmethoden erprobt worden. Nur wenige haben sich bewährt. Leider haben sich mehrere Dogmen gebildet, die falsch und der Entwicklung hinderlich waren. Um einige Beispiele zu nennen: Während langer Zeit glaubte man, daß Säulen mit Durchmesser >10 oder <3 mm schlechte Packungen ergeben. Ersteres ist sicher, letzteres nach neueren Untersuchungen wahrscheinlich falsch. Ein anderes allgemein akzeptiertes Dogma besagt, daß Sedimentation strikt vermieden werden muß. Wie unsere im folgenden dargelegten Resultate belegen, stimmt auch das nicht. Ferner wird immer wieder behauptet, Trockenpacken sei einfacher als Naßpacken. Dieses mag für die maschinelle Ausführung stimmen. Bei manueller Arbeitsweise besteht nach unserer Erfahrung kein signifikanter Unterschied. Einige Regeln scheinen indessen richtig zu sein, zumindest haben wir sie bestätigt gefunden:

- Entscheidend für eine gute Packung ist die Vermeidung von Teilchenagglomeration. Offenbar deswegen sollten Partikel mit $d_p < 20-30 \mu$ naß gepackt werden!
- Die Permeabilität trocken gepackter Säulen ist geringer als die naß gepackter (s. Gl. 23a,b). Schon aus diesem Grund ist die Naßpackung vorzuziehen.
- Wichtig scheint bei Naßpackung der Einfluß der Flüssigkeit zu sein, in der suspendiert wird. Kieselgel wird offenbar in Wasser oder wasserhaltigen Flüssigkeiten quasi "solvatisiert", was der Agglomeration entgegenwirkt.
- Jedes käufliche Adsorbens, so gut es auch klassiert sein mag, enthält infolge von Abrieb sehr feine Teilchen. Diese müssen durch Sedimentieren oder Windsichten entfernt werden; andernfalls ist die Permeabilität der Säulen schlecht.

Unsere Erfahrung ist: Es gibt keine universell anwendbare Packungsmethode. Für jeden Säulentyp und jedes Adsorbens muß ein Optimum durch Experimentieren gefunden werden.

Neben den chromatographischen Kennzahlen ist die "Lebensdauer" der Säulen ein wichtiges Kriterium zur Beurteilung der Packung.

So erhält man bei manchen Methoden Säulen, die während kurzer Zeit nach der Herstellung exzeptionell gute Eigenschaften aufweisen, dann aber schlagartig und irreversibel nachlassen. Der Grund dafür ist offenbar, daß zunächst ein lockeres Korngitter mit besonders guten chromatographischen Eigenschaften vorliegt, das unter Kanalbildung und dergleichen kollabiert. Packungsmethoden, bei denen solche Säulen häufig anfallen, sind unbrauchbar. Naturgemäß neigen ihre Erfinder dazu, nur die besonders guten Eigenschaften hervorzuheben. Aus diesem Grunde sind Chromatographiespezialisten meistens sehr skeptisch gegenüber ungewöhnlich guten Ergebnissen.

3. DAS VERFAHREN

3.1 Beschreibung der Apparatur

Das Grundschemata der Apparatur ist in Abb. 1 (S. 3) dargestellt. Für alle in unserer Werkstatt hergestellten Teile liegen technische Zeichnungen vor, die auf Wunsch zur Verfügung gestellt werden (Kennzeichnung im Text durch Δ).

Eluensvorratsbehälter. - Die Ansaugleitung der Pumpe ist ein Teflonschlauch (Länge 1.20 m) vom Innendurchmesser 2 mm, dessen Ende mit einem darübergezogenen dicken Glasrohr (Länge 30 cm) beschwert ist. Jedes beliebige transportable Gefäß kann als Eluensvorratsbehälter dienen. Nach unseren Erfahrungen (Siemens Flüssigkeitschromatograph S 100) sind irgendwie fest eingebaute Vorratsbehälter von konstantem Volumen außerordentlich unpraktisch.

Pumpe. - Gut bewährt hat sich eine Dosierpumpe Typ FL 1 der Firma Lewa, Leonberg (Kolbendurchmesser 12 mm, Keramik-Kolben, PTFE-Dichtungen). Die Pumpe ist stufenlos regulierbar und fördert bei einem Maximaldruck von 45 bar maximal 150 ml/min¹⁾.

Störungen: Gelegentlich werden die Ventile durch Fusseln oder Plastikstückchen verschmutzt; die Pumpe fördert dann trotz der Kolbenbewegung nicht. Zur Beseitigung schraubt man die Ventile auf (zuerst das (untere) Ansaugventil) und spült die Kugeln.

Es empfiehlt sich nicht, die Ansaugleitung der Pumpe mit einem Filter zu versehen; wenn doch, dann allenfalls mit einem Sieb oder einer dünnen groben Pritte. Druckabfall auf der Saugleitung ist zu vermeiden.

Leitungen. - Ausgenommen die Ansaugleitung der Pumpe, bestehen alle Leitungen aus Teflonschlauch 1x1.5 mm. Der Schlauch wird

1) Für aggressive Medien dürfte eine Membranpumpe mit PTFE-Auskleidung besser sein.

Frühe Versuche, das Eluens durch Inertgasdruck aus einem geschlossenen Behälter zu fördern, waren sehr unbefriedigend. So ist der Eluenswechsel sehr umständlich, das Eluensvolumen ist begrenzt und u. U. treten Gasblasen im Detektor auf. Vor allem stellt jedes komprimierte Gas eine enorme Gefahrenquelle dar, falls nicht wohldurchdachte und geprüfte Sicherheitsvorkehrungen getroffen werden.

entweder über Metallröhrchen geschoben oder nach der in Abb. 12 schematisch dargestellten Methode fixiert (Δ). Die Fixierung ist für alle Verbindungen vor dem Ausgang des Manometers notwendig. Die Handhabung des glatten Teflonschlauchs erfolgt mittels eines Dorns (zur Aufweitung) und eines Sandpapierstreifens (zum Festhalten).

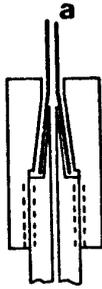


Abb. 12 Fixierung von Schläuchen

- a Teflonschlauch
- Gewinde

Pulsationsdämpfer (Δ). - Wir verwenden einen Pulsationsdämpfer Typ MPD 3 der Firma Lewa, Leonberg. Er ist in Abb. 13 schematisch dargestellt. Das Totvolumen beträgt nur 2 ml. Der Dämpfer arbeitet einwandfrei im Bereich "Gasdruck:Eluendruck" 1:1 bis 1:3. Die Einstellung des Gasdrucks muß ohne Flüssigkeitsgegen-
druck erfolgen (d. h. bei abgestellter Pumpe)¹⁾.

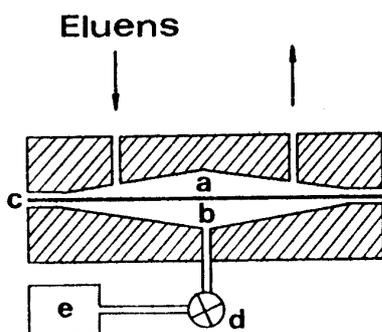


Abb. 13 Pulsationsdämpfer

- a vom Eluens durchströmter Raum
- b Stickstoff
- c Stahlmembran (Fa. Lewa)
- d Ventil (Fa. Lewa)
- e Stickstoffbombe mit Reduzierventil und Manometer

1) Die mechanische Dämpfung arbeitet nach demselben Prinzip wie die elektrische, d. h. es ist ein Kondensator (= Dämpfer) und ein Widerstand notwendig. Den Widerstand stellt die Trennsäule dar. Die Dämpfung ist allerdings deutlich besser, wenn zwischen Dämpfer und Manometer eine Stahlkapillare als Widerstand geschaltet wird.

Manometer. - Es wird verwendet: ein Rohrfeder-Druckmeßgerät mit Drosselorgan zwischen Druckfilter und Meßgerät, Gehäuse Glycerin-gefüllt, der Fa. Haenni, Stuttgart, Typ DRO 63/411.111, 0-25 bar, FÜD 06/1/33. Der Einbau in die Apparatur wird von unserer Werkstatt vorgenommen (Δ). Das Gerät arbeitet aus dem unten angegebenen zweiten Grund nicht einwandfrei. Die Ausrüstung mit einer Überdrucksicherung ist geplant (von derselben Firma erhältlich; ebenso auch Manometer mit eingebautem Schutz).

Auf zwei generell wichtige Punkte, betreffend Manometer in der LC, sei hingewiesen: 1. Das Manometer muß gegenüber dem Eluens vollständig abgeschlossen sein. Übliche Rohrfeder-Manometer sind offen, was zu manchmal sehr ärgerlicher "Verschleppung" des Eluens führt. 2. Der Maximaldruck muß mindestens 30 % über dem höchsten Arbeitsdruck liegen, andernfalls tritt bei Unachtsamkeit sehr leicht "Überdrehung" und irreversible Verbiegung der Rohrfeder auf; dieses ist daran zu erkennen, daß der Zeiger nicht in die Nullage zurückgeht. Ein solches Manometer zeigt im allgemeinen zu niedrige Werte an und ist deshalb eine Gefahrenquelle!

Filter. - Es ist unbedingt notwendig, daß zwischen Injektions-system und Trennsäule sowie vor Ventilen Filter eingeschaltet sind. Dünne G3-Glasfritten, mit Teflon gegen Stahl abgedichtet, haben sich ausgezeichnet bewährt. Das essentielle Filter ist im Aufgabesystem eingebaut.

Aufgabesystem. - Ein gut funktionierendes Aufgabesystem ist außerordentlich wichtig. Jede Unvollkommenheit an diesem Teil der Apparatur ist eine Quelle ständigen Ärgers. Die praktischen Erfahrungen über mehrere Jahre zeigten, daß drei sich wenig überschneidende Aufgabestellungen vorkommen: 1. Für die im folgenden beschriebenen Säulen beträgt das übliche Aufgabevolumen ca. 1-10 ml; die Pumpe wird während der Dosierung abgestellt (stopped-flow-Technik). 2. Bei sehr schlecht löslichen Substanzen ist gelegentlich ein Aufgabevolumen von 20-80 ml erforderlich. 3. Für Testmessungen, z. B. die Bestimmung der Bodenzahl, müssen kleine Volumina (μ l-Bereich) in das strömende Eluens dosiert werden. Wir be-

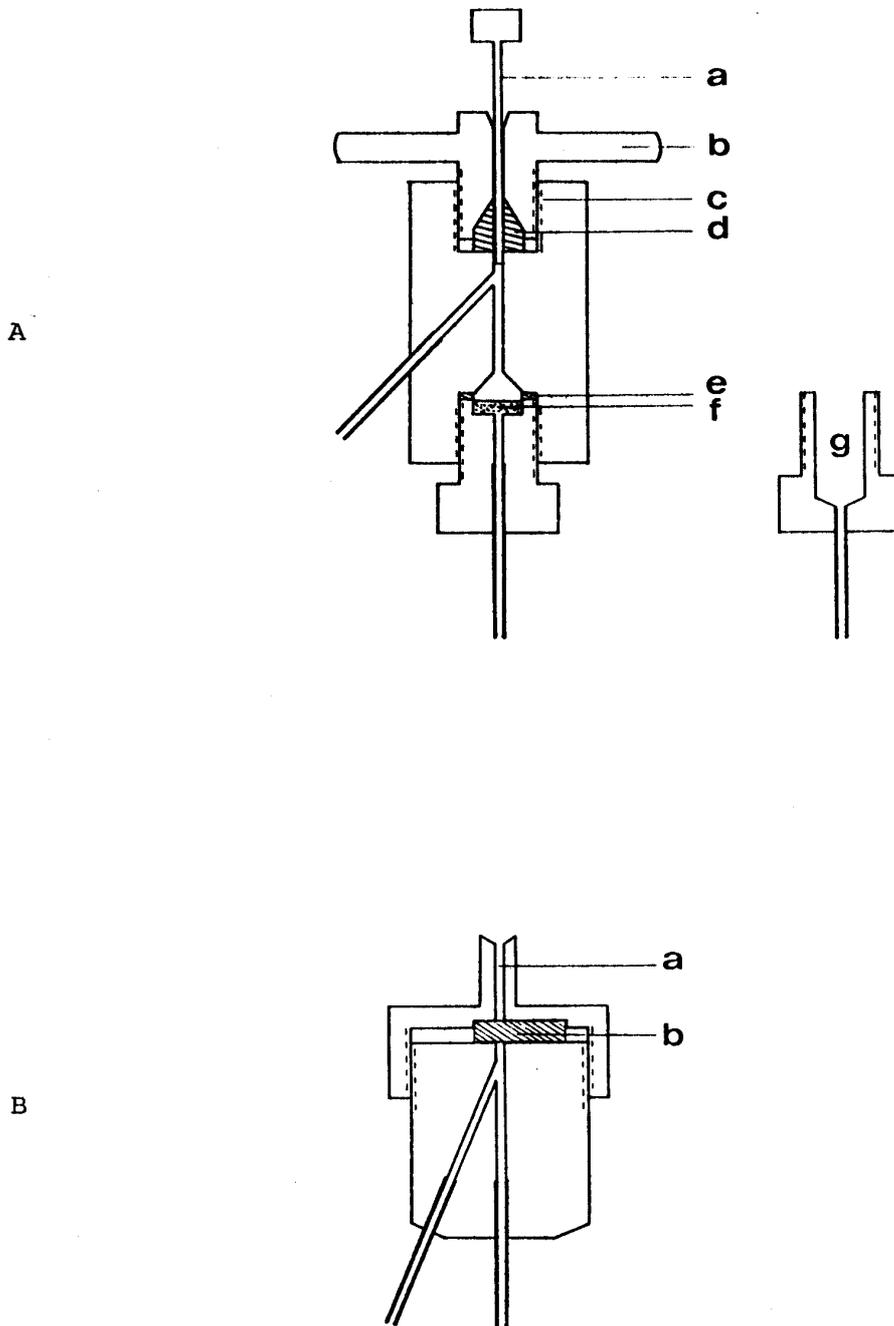


Abb. 14 Aufgabesysteme

- a-d, f s. Text S. 39
- e Dichtring, Teflon
- g mit Watte oder Glaswolle zu füllender Topf als Alternative zum Filter f

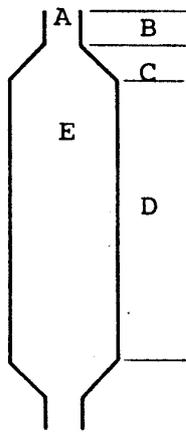
nötigen drei Geräte zur Erfüllung dieser Aufgaben. Das zuerst beschriebene wird am häufigsten verwendet. Es besteht aus zwei Teilen:

- Eine Hamilton-Spritze, Typ Serie 1000 N, mit Teflon-Kolben. Der Inhalt der Spritze kann 1, 2.5 oder 5 ml betragen. Der Außendurchmesser der Kanüle ist, was für die Funktion des Injektors essentiell ist, konstant (0.71 mm). Größere Spritzen sind nicht zu empfehlen, da die auszuübende Kraft (Überwindung des Säulendruckabfalls) unpraktisch hoch ist.
- Der eigentliche Injektor, Abb. 14 A (Δ), wird bei fließendem Eluens durch den Teflon-Konus d und den Edelstahlstift a gedichtet, dessen Durchmesser dem der Spritzenkanüle gleich ist. Zur Injektion wird die Pumpe abgestellt, der Stift a herausgezogen und die Spritze eingeführt, eventuell durch leichtes Andrehen der Schraube c, mit Stiften d zur Erhöhung der Hebelwirkung, gedichtet. Die Substanzlösung passiert eine Fritte (G2) f, bevor sie in die Säule eintritt.

Die Dosierung großer Volumina (20-80 ml) war bisher selten notwendig. Großvolumige Spritzen sind unpraktisch (s.o.), Vielfachinjektion mit einer kleinen Spritze zeitraubend und unbequem. Nicht vollkommen, aber brauchbar ist die folgende Methode: Die Substanzlösung von definiertem Volumen wird in ein Stahlrohr (Länge: 12 cm, Innend.: 3 cm) eingefüllt, von dessen konisch verjüngtem unteren Ende eine Leitung (eingelötetes Metallröhrchen, Teflonschlauch) zur Trennsäule führt. Das Rohr wird mit einem Deckel verschlossen (Gewinde, Teflonring als Dichtung), der an eine Stickstoffbombe über ein Reduzierventil mit Manometer angeschlossen ist (s. Pulsationsdämpfer). Die Lösung wird mittels 3-5 bar Stickstoffdruck in die Trennsäule dosiert, der Vorgang dabei durch Messung des verdrängten Eluensvolumens (Meßzylinder am Säulenausgang) verfolgt.

Für die Bestimmung der Bodenzahl und andere Messungen, bei denen die Dosierung im allgemeinen in das strömende Eluens erfolgen muß, verwenden wir den Septum-Injektor nach Abb. 14 B (Δ). Injiziert wird mittels einer 10 μ l-GC-Spritze. Die Konstruktion dürfte aus der Abbildung klar ersichtlich sein: a ist ein Führungsrohr, b das Septum (versetzbar, Typ Hamilton 100513, 12 mm Durchmesser). Eine analoge Ausführung (Δ) enthält zusätzlich ein Filter (f oder g von Abb. 14 A).

Ein Septum-Injektor ist für präparative Zwecke nicht allzu gut geeignet. Er arbeitet zwar bis ca. 10 bar befriedigend, bei höherem Druck, insbesondere mit wässrigen Lösungen (Reversed-phase)



	Typ		
	B	C	D
A (KPG)	10.00	10.00	10.00
B	25	25	25
C	20	25	35
D	250	400	650
E (Innendurchm.)	24	39.5	60
Wandstärke	1.75 ±0.25	2.5 ±0.25	3.5 ±0.5 [a]

[a] Es empfiehlt sich, statt dessen die Wandstärke 5 ± 0.5 mm zu nehmen.

Abb. 15 Glassäulen (Maße in mm; Glassorte: Duran 50)

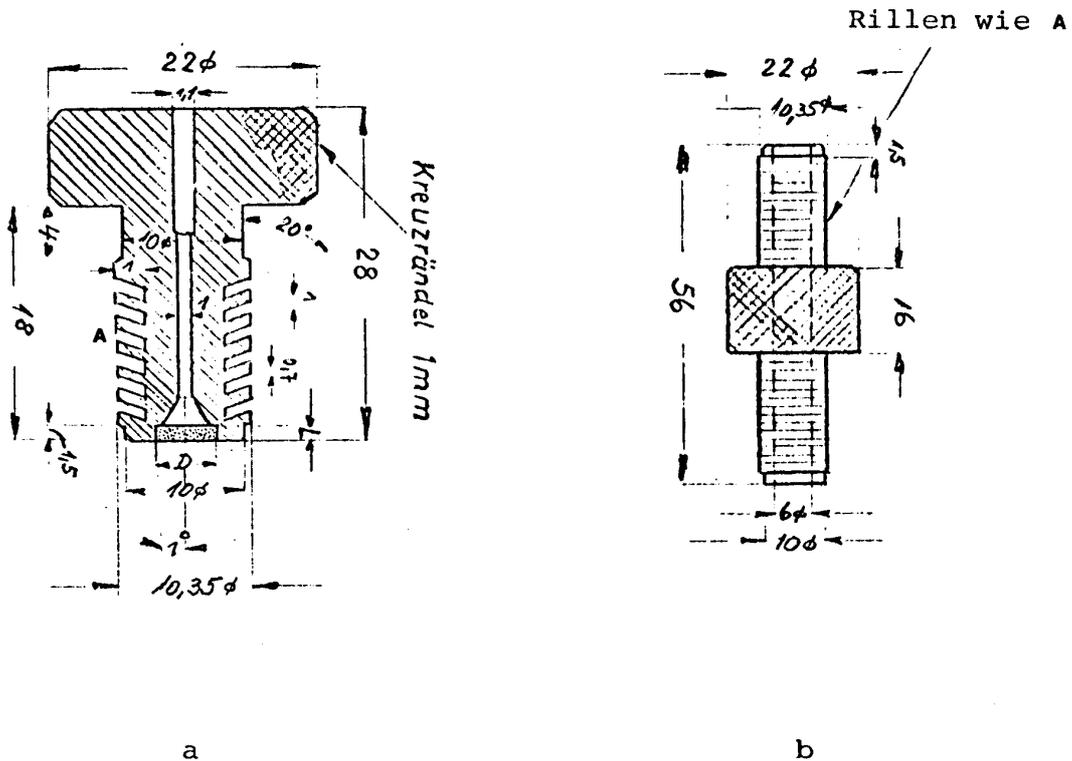


Abb. 16 Verschlussstopfen und Zwischenstück (Maße in mm). D und L nach Frittengröße (siehe); Material: PTFE (Teflon)

treten aber Schwierigkeiten auf¹⁾. Das zu den Lobar-Säulen (Merck) angebotene Aufgabesystem fanden wir unbrauchbar.

Trennsäulen. - Die symmetrischen Trennsäulen bestehen aus Glasrohren mit konisch verjüngten Enden, vgl. Abb. 15. Es werden drei Größen, Typ B, C, D verwendet; die Maße sind in Abb. 15 angegeben. Die dichtenden Enden bestehen aus KPG-Rohr (wichtig!).

Verschlossen werden die Säulen mit gerippten Teflonstopfen entsprechend Abb. 16a, einer technischen Zeichnung mit den genauen Angaben. Die Stopfen enthalten Edelstahlrohre, die aus zersägten Spritzenkanülen hergestellt sind. Sie sollten 1.5 cm aus den Stopfen herausragen. Über die Stahlröhrchen werden Teflonschläuche gezogen. Nach unseren Erfahrungen ist das System bis ca. 20 bar stabil. Bei höherem Druck springt entweder der Schlauch ab, oder der obere Teflonstopfen wird herausgedrückt. Dem kann entweder durch Umwickeln des Stopfens mit Teflonband (in jeder Werkstatt vorhanden) oder durch Einspannen beider Stopfen mit Stativklammern entgegengewirkt werden. Die Stopfen werden unter drehender Bewegung vorsichtig in die Säulen eingedrückt. Sicherheitshalber umwickelt man die Hände mit einem Handtuch. Nie Gewalt anwenden!

Zur Packung der Säulen werden jeweils zwei Säulen verschiedenen Typs mittels des "Zwischenstücks", Abb. 16b, verbunden und senkrecht aufgestellt. Die größere obere Säule wird im folgenden als "Vorsäule" bezeichnet.

Detektoren. - Nach unseren Erfahrungen ist der UV-Detektor allen anderen Detektoren vorzuziehen, vorausgesetzt natürlich, die zu trennenden Substanzen absorbieren im UV²⁾. Sehr gut bewährt hat

1) Weitere Hinweise s. [6]

2) Natürlich muß das Eluens im Gebiet der Substanzabsorption transparent sein. Ausgenommen Aromaten, erfüllen die üblichen Eluenten diese Bedingung ab $\lambda > 250-260$ nm. Viele Substanzen absorbieren in diesem Gebiet bereits nicht mehr. Mit den recht unversetzten Eluengemischen Petrolether (bzw. reine Alkane)/Tetrahydrofuran oder besser Dimethoxyethan (Kieselgel) oder Wasser/Methanol bzw. Acetonitril (Reversed-phase) kann man bis herab zu $\lambda \sim 200$ nm arbeiten.

sich ein Gerät "Spectrochrom M" der Fa. Gilson (Verkauf durch Fa. Abimed, Düsseldorf) mit variabler Wellenlänge (200-650 nm). Billige Geräte arbeiten im allgemeinen bei der festen Wellenlänge $\lambda \sim 255$ nm. Für viele Zwecke reicht das aus, nicht aber für sehr stark oder sehr schwach absorbierende Substanzen. Hier ist meist das Gebiet $\lambda > 280$ oder $\lambda \sim 220-230$ nm erforderlich. Anders als in der analytischen HPLC, ist das Volumen der Meßzelle für das präparative Arbeiten nicht sonderlich wichtig, d. h. es kann relativ groß sein (beim obigen Gerät: 150 μ l)¹⁾.

Weniger empfindlich, aber nahezu universell ist das Differential-Refraktometer. Wir verwenden ein Gerät (Typ 5100) der Fa. Knauer, Berlin. Ein Refraktometer muß gut thermostatisiert werden. Dieses wird in der Regel dadurch bewirkt, daß vor die Meßzelle eine längere, in einen Wärmeaustauscher (Metallblock) eingebettete Kapillare geschaltet ist. Diese bewirkt, wenn sie eng ist, einen hohen Druckabfall; ist sie weit, so ist die Thermostatisierung schlecht (hohes Rauschen). Deshalb schließt man das Differentialrefraktometer auf die in Abb. 17 dargestellte Weise in einen Nebenzweig des Eluentsstromes²⁾.

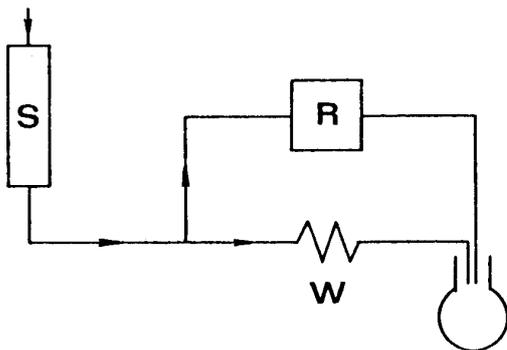


Abb. 17 Anschluß eines Differential-Refraktometers

- S Trennsäule
- R Differential-Ref.
- W Strömungswiderstand (kurze Stahlkapillare)

1) Falls man sich für ein anderes Gerät entscheidet, sollte man darauf achten, daß Zu- und Abflußkapillare so weit sind, daß auch bei hohem Durchfluß (150 ml/min) kein signifikanter Druckabfall auftritt.

2) Die Strömungsgeschwindigkeit auf den Wegen über R und W, Abb.17, ist nicht gleich. Man bestimmt den Unterschied mit Hilfe einer farbigen Probesubstanz.

Schreiber. - Der Schreiber sollte neben der richtigen Eingangsspannung und einem praktikablen Schreibgerät (sehr brauchbar sind Filzschreiber) unbedingt die folgenden Vorschubgeschwindigkeiten besitzen: 12, 3, 1, 0.2 cm/min. Sehr zu empfehlen ist ein Zweikanal-Schreiber, womit beide Detektoren gleichzeitig betrieben werden können.

Sammeln der Fraktionen. - Ein Fraktionensammler ist überflüssig. Die Fraktionen werden in 0.5-1 l-Schliffkolben aufgefangen derart, daß sie ohne lästiges Umfüllen am Rotationsverdampfer eingeeengt werden können.

Ein kleines Ärgernis ist oft, daß der vom Detektor kommende Teflonschlauch nicht fixiert ist. Hierfür empfiehlt sich das in Abb. 18 dargestellte "Gerätchen", welches man auf den Schliff des Auffangkolbens setzt.

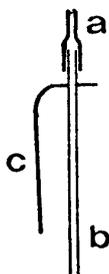


Abb. 18 Ausflußvorrichtung

- a Schlauch vom Detektor
- b Edelstahlröhrchen
- c Blechstreifen (Breite 8 mm, Länge 55 mm)

3.2 Packen der Säulen

3.2.1 Trockenpackung von Kieselgel mit Korndurchmesser >50 μ

Es wurden zwei Verfahren entwickelt, die ausführlich in [6] beschrieben sind.

3.2.2 Naßpackung von Kieselgel mit Korndurchmesser 15-25 μ

Das im folgenden beschriebene Verfahren ergibt reproduzierbar Säulen höchster Trenngüte, auch in der Ausführung durch Anfänger. Voraussetzung für das Gelingen ist relativ peinliche Einhaltung der Vorschriften. Die als besonders wichtig erkannten Punkte sind durch Unterstreichen hervorgehoben.

Das Verfahren besteht in einer Sedimentation gefolgt von einem "Festpumpen" des Adsorbens. Auf die zu füllende Säule ("Packsäule") wird mittels des "Zwischenstücks" (S. 40, Abb. 16b) die nächstgrößere Säule ("Vorsäule") aufgesetzt. In diesem Arrangement wird zunächst sedimentiert und dann wird unter Druck bis maximal 16 bar Flüssigkeit hindurchgepumpt.

A1. Allgemeine Hinweise, Sicherheitsvorkehrungen. - Vollständig, d. h. gasblasenfrei mit einer Flüssigkeit gefüllte Glasgeräte unter Druck stellen keine Gefahrenquelle dar. Beim Zerplatzen fällt das Gerät ohne Treibeffect auseinander¹⁾. Verletzungen sind allenfalls durch (praktisch senkrecht) herabfallende Glassplitter möglich. Es empfiehlt sich trotzdem, während des Packungsvorganges (Typ C mit Vorsäule D)²⁾ einen Schutzschirm aus gelochtem Blech aufzustellen und eine Schutzbrille aufzusetzen. Solange die Vorsäule angeschlossen ist, arbeitet man am besten auf dem Fußboden, nicht auf dem Labortisch.

Im Gegensatz zu Flüssigkeiten stellen komprimierte Gase immer eine Gefahrenquelle dar. Während des Packvorganges ist deshalb streng darauf zu achten, daß sich keine Gasblasen im System, insbesondere nicht in der Vorsäule, befinden! Die Entgasung von Wasser und Adsorbenssuspensionen muß sorgfältig durchgeführt werden.

Eine weitere potentielle Gefahrenquelle ist Glasbruch beim Einsetzen oder Herausnehmen von Teflonstopfen und Zwischenstück! Stets eine drehende Bewegung durchführen, keine Gewalt anwenden, die Hände mit einem Handtuch umwickeln!

Die Druckbelastung der Vorsäule ist wesentlich größer als die der Packsäule, denn in ihr besteht praktisch kein Druckabfall. Eine Säule mit größerem Durchmesser als dem von Typ D sollte in Glasausführung nicht als Vorsäule verwendet werden¹⁾.

1) Die Vorsäule Typ D ist bei uns einmal, bei Kollegen zweimal gerissen. In allen drei Fällen war der Druck von 16 bar (s.u.) beträchtlich überschritten worden. Für die Packung von Säulen größer als Typ C dürfte eine Vorsäule aus Stahl erforderlich sein.

2) Das Auseinanderfallen kann durch Umwickeln der Säule D mit Tesafilm oder ähnlichem Material verhindert werden.

A2. Entgasung von Wasser und Adsorbenssuspensionen. - Die zu entgasende Flüssigkeit oder Suspension wird in einem Schliff-Rundkolben über einen Schliffkern mit Hahn und Olive an der Wasserstrahlpumpe evakuiert. Luft entweicht nach kurzer Zeit unter mäßigem Aufschäumen. Man hält danach noch ca. 5 min unter vollem Vakuum, schließt den Hahn und läßt auf Raumtemperatur erwärmen (kein Schliffett!).

A3. Vorbehandlung und Silanisierung der Säulen. - Vor- und Hauptsäule werden mit dest. Wasser und Aceton gespült, getrocknet und über das Zwischenstück gekoppelt. Es wird einseitig verschlossen (Teflon-Stopfen mit kurzem Teflonschlauch in den ein Stahlstift gesteckt ist) und eine Lösung von 2 ml Trimethylchlorsilan in 18 ml absol. Benzol oder Toluol eingefüllt. Nach Verschließen wird ca. 2 min kräftig geschüttelt, so daß die gesamte Glasoberfläche gut benetzt wird. Danach wird sorgfältig mit Aceton, dann Wasser und wieder Aceton gespült und an der Luft oder im Stickstoffstrom getrocknet.

B. Packen einer Säule Typ B

B1. Die unten mit einem Teflon-Stopfen (Fritte G2) verschlossene Säule B wird an einem stabilen Stativ befestigt. Der Stopfen wurde folgendermaßen vorpräpariert: man zieht über das Metallröhrchen einen ca. 5 cm langen Teflonschlauch (1x1.5 mm) und verdrängt die Luft aus Stopfen und Schlauch, indem man dest. Wasser hindurchdrückt (z. B. mit Hilfe einer Plastik-Spritzflasche) oder -pumpt. Der Teflonschlauch wird dann durch Einstecken eines Metallstiftes fest verschlossen. Während der Sedimentation darf kein Wasser unten abfließen.

Man füllt mit entg. dest. Wasser bis zur oberen Verengung auf, entfernt Luftblasen sorgfältig (Klopfen mit Korkring oder "Herausziehen" mit einem Teflonschlauch, an dem sie relativ fest haften), füllt dann weiter randvoll auf, dreht das Zwischenstück vorsichtig hinein und füllt es aus einer Pipette vollends auf. Dann setzt man die Vorsäule (Typ C)

oben auf, richtet das fest gekoppelte Säulenpaar lotrecht aus und füllt mit entg. dest. Wasser bis gerade über den (unteren) Konus der Vorsäule auf. Wiederum achte man auf Luftblasen! Sie halten sich besonders im Zwischenstück oft hartnäckig.

- B2. 80-85 g Kieselgel MERCK LiChroprep Si 60, 15-25 μ , (Bestell-Nr. 9336) werden in einem 1 l-Schliff-Rundkolben mit 800 ml dest. Wasser homogen aufgeschlämmt, die Suspension läßt man während 30-40 min ungestört sedimentieren. Dann wird die überstehende Trübe vorsichtig - aber vollständig - abdekantiert, der Rückstand in 250 ml entgastem dest. Wasser aufgeschlämmt und die Suspension nach A2 entgast.

Die frisch entgaste und homogen aufgewirbelte Suspension wird zügig - aber unter möglichst geringer Erzeugung von Luftblasen - in die nach B1 vorbereiteten Säulen gefüllt. Man füllt mit entg. dest. Wasser randvoll auf und verschließt mit einem Teflon-Stopfen. Zur Sedimentation bleiben die Säulen während 10-12 Std. (über Nacht) ungestört stehen.

- B3. Nach vollendeter Sedimentation saugt man die überstehende, in der Regel leicht trübe Flüssigkeit mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe (Teflon-Schlauch 2-3 mm Innendurchm.) ab und füllt mit entg. dest. Wasser randvoll wieder auf, wobei die Oberfläche des abgesetzten Kieselgels möglichst wenig gestört werden sollte.

In die randvolle Vorsäule wird (oben) ein Teflonstopfen ohne Fritte (drehend) eingesetzt. Dabei läßt man das Wasser aus dem Röhrchen quellen, so daß die Luft aus dem Stopfen verdrängt wird. Die Säulen werden (oben) an die luftblasenfrei mit entgastem dest. Wasser gefüllte Pumpe-Dämpfer-Manometer-Kombination angeschlossen (genügend vorpumpen!). Im ganzen System, speziell in der Vorsäule, dürfen keine größeren Luftblasen vorhanden sein.

- B4. Man entfernt den am unteren Ende der Säulen befindlichen Verschluß-Teflonschlauch und pumpt entg. dest. Wasser von

oben nach unten durch die Säulenkombination. Dabei beginnt man mit kleinstem Pumpenhub und steigert den Druck jeweils um 1 bar derart, daß sich für jeweils ca. 1 min Druckkonstanz einstellt. Hierbei ist zügig aber kontinuierlich, nicht ruckhaft, zu arbeiten. Wichtig ist insbesondere gute Dämpfung des Eluens (Einstellung des Dämpfers s. S. 36). Nach Erreichen eines Enddruckes von 13-15 bar pumpt man bei konstantem Druck noch ca. 5 min und schaltet die Pumpe ohne Veränderung des Hubs ab. Beispiel:

Druck [bar]	6	7	8	9	10	11	12	13
Durchfl. [ml/min]	1.8	2.1	2.4	2.7	2.9	3.2	3.6	4.0

(Dieses sind nur Anhaltswerte, die nicht genau reproduziert werden müssen).

Das Wasser wird nun aus der Vorsäule abgesaugt, die Wandung mit 2mal je 50-100 ml Aceton (Entgasung unnötig) gespült und das wässrige Aceton abgesaugt oder abgehebert. Die Vorsäule wird randvoll mit Aceton (nicht entg.) gefüllt, die Pumpe-Dämpfer-Manometer-Kombination mit Aceton konditioniert und an die Säulen luftblasenfrei angeschlossen.

Beginnend mit demselben Hub wie bei Beendigung des Wasserpumpens wird nun Aceton hindurchgepumpt. Nachdem die relativ gut zu erkennende Acetonfront das Zwischenstück passiert hat, erhöht man den Pumpenhub kontinuierlich bis ein Druck von 13 bar¹⁾ erreicht ist und reguliert auf diesen Druck fortlaufend nach, denn der Druckabfall des Kieselgels nimmt mit zunehmendem Acetongehalt stetig ab (die Viskosität des Acetons ist kleiner als die des Wassers). Insgesamt werden 500-700 ml Aceton hindurchgepumpt und die Pumpe dann wieder ohne Veränderung des Hubs abgestellt. Beispiel (wiederum nur Anhaltswerte):

Acetonvolumen [ml]	100	200	300	400	500	600	750
Durchfluß [ml/min]	10	11.5	12	12.5	13	13	13

1) Man kann auch auf ein höheres Druckniveau gehen, max. ca. 16 bar.

Das Aceton wird aus der Vorsäule abgehebert und diese unter Drehen vorsichtig vom Zwischenstück abgezogen. Dann zieht man, ebenfalls unter Drehen, das Zwischenstück aus der Packsäule, ohne die Kieselgeloberfläche zu beschädigen. In beiden Fällen muß langsam gearbeitet werden, andernfalls kann das Adsorbensbett infolge von Unterdruck reißen. Die Säule wird mit einem Teflon-Schlauch (Fritte G2), der fest auf dem Kieselgel aufsitzen soll, verschlossen.

Mit derselben Einstellung des Pumpenhubs wie vor Beendigung des Acetonpumpens wird nun Petrolether (tief)/Ethylacetat (95/5) gepumpt. Da die Viskosität dieses Gemisches kleiner ist als die des Acetons, tritt zunächst nur ein Druck von 3-4 bar auf. Auf etwa diesen Wert muß der Dämpfer eingestellt werden. Starke Pulsation in dieser Phase ruiniert die Säule. Der Druck wird durch Erhöhung des Kolbenhubs wiederum stetig gesteigert, derart, daß sich für jeweils ca. 1 min ein konstanter Wert einstellt. Nach Erreichen von 13 bar¹⁾ wird bei diesem Druck ca. 1 l hindurchgepumpt. Beispiel:

Druck [bar]	3.5	5	7	8	9	10	11	12	13
Durchfl. [ml/min]	12.5	20.5	30.0	40.5	44.5	50	55	60	66

Während der Druck- bzw. Durchflußerhöhung senkt sich die Packung ab. Der Stopfen wird nach dem Abschalten der Pumpe herausgenommen und trockenes Kieselgel nachgefüllt, derart, daß der Stopfen danach nahezu voll hereingedrückt werden kann und fest auf der Packung aufsitzt.

- B5. Die Säule ist nun betriebsbereit. Sie sollte wie unten beschrieben auf Bodenzahl und Symmetrieindex getestet werden. Wir vermerken die Testwerte und das Herstellungsdatum wischfest auf einem Etikett, zusätzlich einen Pfeil der die Richtung des Flußes bei der Packung angibt. In dieser Richtung wird die Säule auch später ausschließlich betrieben.

Die Säulen werden verschlossen aufbewahrt (Verschluß ist ein

1) Man kann auch auf ein höheres Druckniveau gehen, max. ca. 16 bar.

Teflonschlauch, der an beiden Enden über die Metallröhrchen der Stopfen geschoben ist). Es spielt aber offenbar keine Rolle, wenn die Säulen partiell austrocknen. Die enthaltene Luft löst sich beim Durchpumpen von Lösungsmitteln auf.

C. Packen einer Säule Typ C

Ausgenommen Unterschiede im Druck, Durchfluß etc. entspricht das Verfahren dem oben beschriebenen.

Die Punkte A1-A3 gelten in gleicher Weise.

C1. Vorsäule ist die Säule Typ D, sonst ist nach B1 zu verfahren.

C2. 330 g des unter B2 angegebenen Kieselgels werden in 1.5 l dest. Wasser "homogen" aufgeschlämmt. Die Suspension läßt man 75 min sedimentieren. Dann wird die überstehende Trübe vorsichtig - aber vollständig - abdekantiert, der Bodensatz in 1 l entg. dest. Wasser aufgeschlämmt, die Suspension entgast und luftblasenfrei in die Vorsäule eingefüllt. Man läßt 20-25 Std. ungestört sedimentieren.

C3. Man verfährt wie bei B3. angegeben.

C4. Man geht prinzipiell gleich vor wie unter B4 angegeben; der Enddruck sollte aber bei jeder der drei Flüssigkeiten mindestens 16 bar betragen, zur Orientierung mögen wieder die Druck-Durchfluß-Werte eines typischen Falles dienen:

Wasser

Druck [bar]	6	8	10	12	14	16
Durchfl. [ml/min]	4.0	6.5	8.3	9.5	10.5	11.5

Nach Erreichen des Enddrucks von 16 bar wird noch 5 min bei konstantem Hub weitergepumpt.

Aceton

Insgesamt werden ca. 2 l Aceton hindurchgepumpt. Der Druck wird kontinuierlich auf 16 bar nachgeregelt.

Volumen [l]	0.5	1.0	1.5	2.0
Durchfl. [ml/min]	14.0	18.5	20.0	22.0

Vorsäule und Zwischenstück werden abgenommen und Petrolether (tief)/Ethylacetat (95/5) bis zum konstanten Enddruck von 16 bar gepumpt.

Petrolether (tief)/Ethylacetat (95/5)

Druck [bar]	6	8	10	12	14	16
Durchfl. [ml/min]	22	30	55	78	90	105

C5. Die Säule wird getestet und etikettiert (vgl. B5).

D. Test auf Bodenzahl und Symmetrieindex

Die Säule wird an einen Septum-Injektor ohne Filter (Abb.14B) angeschlossen und der UV-Detektor benutzt. Es werden folgende Bedingungen gewählt:

Eluens:	Petrolether (tief)/Ethylacetat (95/5)
Durchfluß:	Säule Typ B, 20 ml/min, Säule Typ C, 50 ml/min (Messung mit Meßzylinder und Armbanduhr (Sekundenzeiger) oder Stoppuhr).
Detektor:	Wellenlänge 265 nm, 0.5 Extinktionseinheiten
Schreiber-Vorschub:	12 cm/min
Testlösung:	40 mg Naphthalin in 2 ml Eluens

2 µl (Typ B) bzw. 5 µl (Typ C) der Testlösung werden mittels einer 10 µl-Spritze in das laufende System injiziert, dabei jeweils der Zeitpunkt auf dem Schreiber markiert (Detektor, Knopf "Marker"). Es werden mindestens 2 Injektionen im Abstand von ca. 1.5 min vorgenommen. Die Peakhöhe sollte ca. 80 % des Vollausschlags betragen.

Auswertung¹⁾: $N = 5.54 (t_R/b_{1/2})^2$ S.I. = a/b, vgl. Abb. 2.

1) Bei besonders guten Säulen tritt kurz hinter dem Naphthalin ein flacher Peak auf (scheinbares Tailing). Es handelt sich um eine Verunreinigung im Naphthalin.

Die Säulen, deren Druck-Durchflußwerte oben angegeben sind, besaßen $N = 6900$, $SI = 1.01$ (B); $N = 8300$, $SI = 1.06$ (C).

Säulen mit $N < 5000$ (B) bzw. $N < 7500$ (C) und $SI > 1.1$ sind nicht akzeptabel. Sie sollten geleert und neu gepackt werden. Mißlingen der Säulenpackung (ca. eine von 20 Säulen) kann nach unserer Erfahrung nur bei Nichtbeachtung eines der oben als wesentlich markierten Punkte geschehen.

E. Wiederaufbereitung von Kieselgel

Beim Packen fällt aus Vorsäule und Zwischenstück "überschüssiges" Kieselgel an. Es wird mittels Aceton in ein Gefäß gespült und gesammelt. Ca. eine von 20 Säulen mißlingt. Man entleert die Säule, indem man einen Stopfen entfernt und von oben nach unten Aceton hindurchpumpt (eventuell ist zusätzliches "Stochern" mit einem Draht erforderlich).

Zur Wiederaufbereitung derartigen Kieselgels, was nur nach Ansammeln von ca. >300 g lohnt, dekantiert man Aceton mehrmals ab, schlämmt in dest. Wasser auf und entfernt feine Anteile nach B2 (1. Absatz). Man schlämmt dann wieder in dest. Wasser auf und saugt auf einer Nutsche mit Filterpapier ab. Man beläßt einige Stunden an der Wasserstrahlpumpe, füllt dann in eine Schale um und trocknet 2-3 Tage bei 130°C im Trockenschrank. Klumpen werden durch vorsichtiges Schütteln oder Drücken beseitigt. Man verfähre vorsichtig, damit keine feinen Anteile entstehen.

Auch stark verschmutztes Kieselgel aus lange benutzten Säulen kann aufbereitet werden. Man entleert, wäscht mit Aceton und Wasser und erwärmt mit konz. Salpetersäure (ca. 1 l/300 g Kieselgel) während 2-3 Std. auf dem Wasserbad. Dann wird dekantiert, mehrmals mit dest. Wasser aufgeschlämmt und dekantiert, schließlich wie oben beschrieben abgesaugt, gut ausgewaschen (pH-Test) und getrocknet.

Das wiederaufbereitete Kieselgel sollte nicht ohne spezielle Maßnahmen zur Säulenpackung verwendet werden: Oft liegt Teilchenaggregation vor, die mit bloßem Auge kaum zu erkennen ist. Es empfiehlt sich, die wässrigen Suspensionen vor dem Einschlämmen in die Säulen während ca. 20 min einer Ultraschallbehandlung zu unterziehen.

3.3 Rückgewinnung von Lösungsmitteln

Die Chromatographie auf Säulen hoher Bodenzahl erfordert pro Einheit zu trennender Substanz prinzipiell weniger Lösungsmittel als die konventionelle Säulenchromatographie. Da aber wesentlich schneller gearbeitet wird, ist der Lösungsmittelverbrauch relativ hoch. Wir entwickelten folgendes einfache Verfahren zur Rückgewinnung. Alle Fraktionen werden an einem mit einem Manostat¹⁾ versehenen Rotationsverdampfer eingedampft. Das Destillat wird²⁾ bezüglich seiner Zusammensetzung, die sich bei Gemischen stets etwas ändert, durch Dünnschichtchromatographie analysiert. Das Verfahren ist in Abb. 19³⁾, einer typischen Laborvorschrift, erläutert. Es hat gegenüber anderen (z. B. Dichtebestimmung) zwei wesentliche Vorteile: (a) Es läßt sich auf Gemische anwenden, die Petrolether, d. h. ein Multikomponentengemisch, enthalten; (b) es berücksichtigt implizit geringe Veränderungen im Wassergehalt der Lösungsmittel. Mit anderen Worten, das Lösungsmittel wird nicht bezüglich seiner genauen Zusammensetzung, sondern bezüglich seiner chromatographischen Eigenschaften analysiert. Die Dichtebestimmung erweist sich bei Gemischen mit chlorierten Verbindungen als vorteilhaft (Aräome-

1) Der Manostat besteht lediglich aus geeichten Siedekapillaren, die in einem Gefäß zwischen Rotationsverdampfer und Wasserstrahlpumpe geschaltet sind. Je nach Siedepunkt des einzudampfenden Lösungsmittels stehen solche mit 100, 200, 300 und 400 Torr zur Verfügung. Sehr gut bewährt hat sich auch ein "Vakuum-Regler" der Fa. Glas-Keller, Basel.

2) In manchen Fällen empfiehlt es sich, kurz über Calciumchlorid zu trocknen und nochmal bei Normaldruck zu destillieren.

3) Die Ausarbeitung der Methode ist Herrn G. Nill zu verdanken.

ter sind ungeeignet; einfacher und genauer ist die Verwendung von 25- oder 50-ml-Meßkolben und Waage).

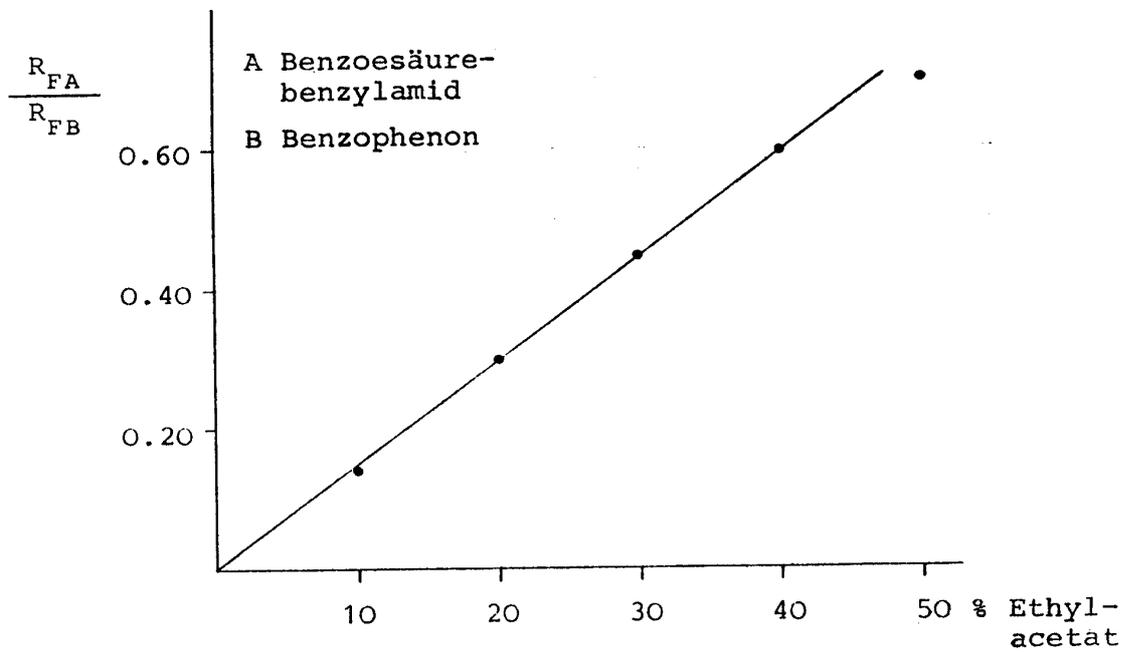


Abb. 19 Zur dünn-schichtchromatographischen Bestimmung der Zusammensetzung von Petrolether (tief)/Ethylacetat-Gemischen (falls der Gehalt an Ethylacetat >50 %, muß mit Petrolether verdünnt und dann die DC durchgeführt werden).

4. MESSERGERBNISSSE, DISKUSSION

4.1 Permeabilität

Die Messung der Permeabilität, K bzw. K_F (s. Gl. 21 bzw. 22) ist aus zwei Gründen wichtig. Zum einen charakterisiert sie den Druckabfall einer Säule, zum anderen erlaubt sie die Bestimmung der dynamischen Korngröße d_{pd} (s. Gl. 23). Für Adsorbentien mit relativ breiter Kornverteilung, wie das hier verwendete, stellt d_{pd} die Referenzgröße zur Beurteilung der Säulenqualität anhand der van Deemter-Gleichung dar.

Die früher angegebenen Gl. 21 und 22 gelten nur für zylindrische Säulen. Unsere präparativen Säulen besitzen konische Teilstücke. Um diese korrekt zu erfassen, müssen entsprechende Formeln benutzt werden. In der Literatur fanden wir sie nicht. Wir haben deshalb Gl. 21 und 22 verallgemeinert und allgemeine Ausdrücke zur Berechnung der Permeabilität beliebig geformter, aber axialsymmetrischer Säulen selbst hergeleitet.

Theorie: Permeabilität (K, K_F) und Lineargeschwindigkeit (u) in axialsymmetrischen, speziell kegelstumpfförmigen Säulen. - Der Druckabfall einer zylindrischen Säule beträgt (vgl. S. 12):

$$\Delta p = \frac{1}{K_F} \frac{\eta}{\pi} \frac{L}{R^2} \cdot F \quad \text{Gl. 22}$$

Wir denken uns eine beliebig geformte, aber rotationssymmetrische Säule als aus Zylindern infinitesimaler Länge dL zusammengesetzt; deren Druckabfall $d\Delta p$ beträgt

$$d\Delta p = \frac{1}{K_F} \frac{\eta}{\pi} \cdot F \cdot \frac{dL}{R^2}$$

Der Gesamtdruckabfall ergibt sich durch Summation, im Grenzfall $dL \rightarrow 0$ durch Integration:

$$\Delta p = \frac{1}{K_F} \frac{\eta}{\pi} F \int_0^{L_S} \frac{dL}{R^2} = \frac{1}{K_F} \frac{\eta}{\pi} F G \quad \text{Gl. 33}$$

L_S bezeichnet die Gesamtlänge der Säule.

Das Integral G enthält die gesamte Information über die Geometrie der Säule; wir bezeichnen es deshalb als "Geometriefaktor" G .

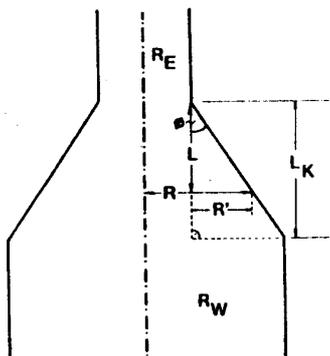


Abb. 20 Definitionen zur Geometrie eines Kegelstumpfs

$$R' = L \operatorname{tg} \phi$$

$$R = R_E + R' = R_E + L \operatorname{tg} \phi$$

$$\operatorname{tg} \phi = (R_W - R_E) / L_K$$

Für einen Zylinder ist R konstant, deshalb ergibt die Integration G in trivialer Weise: $G = L/R^2$. Für einen Kegelstumpf (bisher lax als "Konus" bezeichnet) muß die Funktion $R(L)$ angegeben werden. Die nötigen Angaben sind in Abb. 20 zusammengestellt. Für einen Kegelstumpf der Länge L_K folgt:

$$G_K = \int_0^{L_K} \frac{dL}{R^2} = \int_0^{L_K} \frac{dL}{(L \operatorname{tg} \phi + R_E)^2} = - \left[\frac{1}{\operatorname{tg} \phi (L \operatorname{tg} \phi + R_E)} \right]_0^{L_K} =$$

$$= \frac{1}{R_E \operatorname{tg} \phi} - \frac{1}{\operatorname{tg} \phi (L_K \operatorname{tg} \phi + R_E)} ;$$

mit $L_K \operatorname{tg} \phi + R_E = R_W$ bzw. $\operatorname{tg} \phi = (R_W - R_E) / L_K$ (vgl. Abb. 20) ergibt sich:

$$G_K = \frac{1}{R_E \operatorname{tg} \phi} - \frac{1}{R_W \operatorname{tg} \phi} = \frac{1}{\operatorname{tg} \phi} \left(\frac{1}{R_E} - \frac{1}{R_W} \right) = \frac{L}{R_W - R_E} \left(\frac{1}{R_E} - \frac{1}{R_W} \right) =$$

$$G_K = \frac{L_K}{R_W R_E} \tag{Gl. 34}$$

Der Beitrag des konischen Teils der Säulen entspricht also dem eines Zylinders gleicher Länge und einem Radius, der dem geometrischen Mittel der beiden Kegelstumpfradien entspricht.

Für den Gesamtgeometriefaktor unserer, aus technischen Gründen natürlich nicht ganz symmetrischen Säulen folgt aus Gl. 33 und 34 sowie den in Abb. 21 festgelegten Bezeichnungen:

$$G = \frac{L_{E1} + L_{E2}}{R_E^2} + \frac{L_W}{R_W^2} + \frac{L_{K1} + L_{K2}}{R_E R_W}, \tag{Gl. 35a}$$

$$\Delta p = \frac{1}{K_F} \frac{\eta}{\pi} \cdot F \cdot G \quad \text{bzw.} \tag{Gl. 35b}$$

(=Gl. 33)

$$K_F = \frac{F}{\Delta p} \cdot \frac{\eta}{\pi} G \tag{Gl. 35c}$$

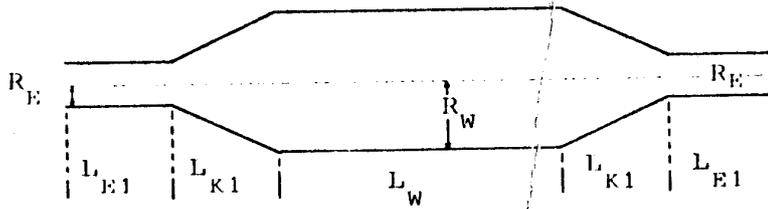


Abb. 21 Zur Berechnung des Geometriefaktors benötigte Größen

In analoger Weise muß Gl. 21, die den Druckabfall in Relation zur Lineargeschwindigkeit setzt, modifiziert werden.

$$\Delta p = \frac{1}{K} \eta L u \quad \text{Gl. 21}$$

In nicht-zylindrischen Röhren ist u nicht konstant, sondern bei konstantem Durchfluß F eine Funktion des Säulenradius bzw. -querschnitts. Es besteht also die Aufgabe u in Abhängigkeit von der Säulenlänge, wobei am Säuleneingang $L = 0$ gelte, anzugeben. Als Bezugs-Meßgröße wird die Totzeit t_0 gewählt. Die Länge der Säule sei wieder als L_S bezeichnet.

t_0 ist Zeit, nach der ein bei $L = 0$ (Säulenanfang) gestartetes Flüssigkeitspaket bei L_S (Säulenende) austritt. Nach Standard-schulphysik ist

$$u(L) = \frac{dL}{dt} \quad \text{bzw.} \quad dt = \frac{dL}{u(L)}$$

Durch Integration erhält man

$$\int_0^{t_0} dt = \int_0^{L_S} \frac{dL}{u} \quad \text{bzw.} \quad t_0 = \int_0^{L_S} \frac{dL}{u(L)}$$

Zur Lösung des Integrals muß u als Funktion von L angegeben werden. Da F konstant sein soll, gilt der Massenerhaltungssatz:

$$\frac{u(L)}{u(L_j)} = \frac{A(L_j)}{A(L)}, \quad \text{wobei } A(L) \text{ bzw. } A(L_j) \text{ die Querschnittsfläche an der Stelle } L \text{ bzw. } L_j \text{ angibt.}$$

$$u(L) = \frac{A(L_j)}{A(L)} u(L_j)$$

Einsetzen in das Integral ergibt

$$t_0 = \int_0^{L_S} \frac{A(L) dL}{A(L_j) \cdot u(L_j)}, \quad \text{worin } A(L_j) \text{ und } u(L_j) \text{ Konstanten sind, daher folgt}$$

$$t_0 = \frac{1}{A(L_j) \cdot u(L_j)} \int_0^{L_S} A(L) dL = \frac{V_S}{A(L_j) \cdot u(L_j)} \quad \text{bzw.}$$

$$u(L_j) = \frac{V_S}{t_0 \cdot A(L_j)}$$

Da die Stelle L_j beliebig war, gilt allgemein:

$$u(L) = \frac{V_S}{t_o} \frac{1}{A(L)} \quad \text{Gl. 36}$$

Gl. 36 erlaubt die Berechnung der Lineargeschwindigkeit u an jeder Stelle der Säule aus den integralen Meßgrößen: Volumen der leeren Säule V_S , Totzeit t_o und Querschnittsfläche A .

Die Modifizierung von Gl. 21 ist nun leicht durchzuführen. Wir nehmen wieder infinitesimale Bereiche mit konstantem $u(L)$ an und integrieren:

$$\begin{aligned} d\Delta p &= \frac{1}{K} \eta u(L) dL \\ \Delta p &= \frac{1}{K\eta} \int_0^{L_S} u(L) dL \end{aligned} \quad \text{Gl. 37}$$

Einsetzen von Gl. 36 ergibt

$$\Delta p = \frac{1}{K\eta} \int_0^{L_S} \frac{V_S}{t_o} \frac{dL}{A(L)} = \frac{1}{K\eta} \frac{V_S}{t_o} \int_0^{L_S} \frac{dL}{A(L)}$$

Das hier auftretende Integral ist ein alter Bekannter, denn $A_L = \pi R^2(L)$:

$$\Delta p = \frac{1}{K\eta} \frac{V_S}{t_o} \frac{1}{\pi} \int_0^{L_S} \frac{dL}{R(L)}, \text{ d. h.}$$

$$\Delta p = \frac{1}{K} \frac{\eta}{\pi} \frac{V_S}{t_o} G \quad \text{bzw.} \quad \text{Gl. 38a}$$

$$K = \frac{1}{\Delta p t_o} \frac{\eta}{\pi} \cdot V_S \cdot G \quad \text{Gl. 38b}$$

Zur Berechnung von K ist also die Messung von Δp , t_o und der geometrischen Größen V_S und G nötig. Wie man jedem Handbuch entnimmt beträgt das Volumen V_K eines Kegelstumpfs (Def. s. Abb. 20):

$$V = \frac{\pi \cdot L}{3} (R_E^2 + R_W^2 + R_E \cdot R_W)$$

Mit den Definitionen aus Abb. 21 ergibt sich

$$V_S = (L_{E1} + L_{E2}) \pi R_E^2 + L_W \pi R_W^2 + \frac{(L_{K1} + L_{K2}) \pi}{3} (R_E^2 + R_W^2 + R_E R_W) \quad \text{Gl. 38c}$$

In weniger grundsätzlicher, aber einfacherer Weise hätte Gl. 38b aus Gl. 38c mit Hilfe der Porosität ϵ_{π} (vgl. S. 10) hergeleitet werden können. Diese Größe sei nunmehr eingeführt, einerseits

als Kontrolle, andererseits weil sich weitere nützliche Beziehungen ergeben:

ϵ_T ist nach Gl. 21a definiert zu

$$\epsilon_T = K_F/K \quad \text{Gl. 21a}$$

Einsetzen von Gl. 35c und 38b ergibt:

$$\epsilon_T = \frac{F \cdot t_o}{V_S} \quad \text{Gl. 39}$$

Gl. 39 enthält nur Meßgrößen und erlaubt die direkte Bestimmung von ϵ_T ohne den Druckabfall messen zu müssen. Mit $F \cdot t_o = V_o$ (vgl. S. 11) ergibt sich weiter:

$$\epsilon_T = V_o/V_S \quad \text{Gl. 40}$$

Unter Anwendung unserer auf S. 11 angegebenen Methode (s. Gl. 17) kann ϵ_T über Gl. 40 ohne jede chromatographische Messung bestimmt werden.

Dynamische Korngröße d_{pd} von Merck LiChroprep 15-25 μ . - Grundlage zur Bestimmung von d_{pd} ist die empirische Gl. 23. Sie gilt nur für analytische Säulen (3-6 mm Durchmesser).

Eine Säule vom Durchmesser 3 mm wurde mittels einer Balanced-density-Technik [23] gepackt. Das Adsorbens entstammte derselben Charge wie die präparativen Testsäulen (1 kg-Flasche). Die Meßwerte $\Delta p(F)$ sowie alle weiteren relevanten Angaben sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Die dynamische Korngröße beträgt $d_{pd} = 20.4 \mu$.

Der Wert von $\epsilon_T = 0.76$ für die Porosität ist ein für analytische Säulen typischer Wert. So fanden wir für Säulen 30x0.3 cm und 20x0.3 cm, die mit Merckosorb SI 60, 5 μ (Kieselgel, $d_p=5\mu$) gepackt waren, $\epsilon_T = 0.75 \pm 0.02$ als Mittelwert über ca. 100 Messungen (Druckbereich: 30-200 bar, Eluens: Hexan/Ethylacetat 8:2 und 1:1).

Tabelle 1 Permeabilität K , K_F und dynamische Korngröße d_{pd} von "Kieselgel Merck Si 60, 15-25 μ " [a]

Δp [a] [bar]	F[b] [ml/min]	t_o [c] [min]	u[c] [mm/s]	$K_F \cdot 10^9$ [d] [cm ²]	$K_F \cdot 10^9$ [e] [cm ²]	ϵ_T [f]	d_{pd} [g] [μ]
20	1.67	1.55	5.24	4.23	5.62	0.75	20.6
30	2.50			4.22			20.5
40	3.33	0.788	10.3	4.22	5.53	0.76	20.5
50	4.17			4.22			20.6
60	4.90	0.537	15.1	4.14	5.41	0.77	20.3
70	5.63			4.10			20.3
80	6.38	0.406	20.0	4.04	5.37	0.75	20.1
90	7.20			4.05			20.4

Mittel:				4.15	5.48	0.76	20.4

- [a] Meßapparatur: Siemens Flüssigkeitschromatograph S 200, Säulenlänge: $L = 48.7$ cm, -radius 0.15 cm; Eluens: Ethylacetat, Temp. 25°C. Säulenpackung: Balanced-density-Technik nach W.Strubert [23];
- [b] Messung mit Meßzylinder und Stoppuhr;
- [c] Tetrachlorethylen als Inertsubstanz, UV-Detektor 254 nm;
- [d] $K_F = (F/\Delta p) \cdot \eta \cdot L / (\pi R^2)$ (Gl. 22), η (Ethylacetat, 25°C) = 0.441 cP [24];
- [e] $K = \eta L^2 / (\Delta p \cdot t_o)$ (Gl. 21);
- [f] $\epsilon_T = K_p / K$ (Gl. 21a);
- [g] $d_{pd} = \sqrt{1000 K_F}$ (Gl. 23a).

Permeabilität von präparativen Säulen mit Durchmesser 2.4 (Typ B) und 4 cm (Typ C); Meßergebnisse. - Die Messungen erfolgten mit Adsorbens, das derselben Charge entstammte, die für die oben beschriebene analytische Säule verwendet wurde. Die Druck-Durchfluß- bzw. t_0 -Kurven waren im Meßbereich (bis 10 bar) streng linear, sowohl für die B- als auch für die C-Säule¹⁾.

Als Meßapparatur wurde unsere in Abschnitt 3.1 vorgestellte Apparatur verwendet. Um den Einfluß des Dämpfers so gering wie möglich zu halten, wurde zwischen Dämpfer und Manometer als Widerstand eine Stahlkapillare geschaltet, so daß der Eluensstrom bereits ohne Säule praktisch pulsationsfrei war; d. h. Trennsäule und Eluenserzeugung waren dynamisch entkoppelt. Das Manometer war ein offenes Rohrfedergerät der Fa. Haenni, Typ DRF 160/111.111, 0-25 bar, Güteklasse 0.6²⁾.

Leitungen, Stopfen und Detektor besitzen im Bereich $F \sim 40$ ml/min erhebliche Druckwiderstände, für die unbedingt korrigiert werden muß. Es wurden daher vor und nach jeder Messung die Stopfen aus der Säule herausgenommen, in ein leeres kurzes KPG gesteckt, und der Druckabfall gemessen.

Typische Druck-Durchfluß-Kurven sind in Abb. 22, die Meßergebnisse in den Tabellen 2 und 3 dargestellt.

Die Auswertung erfolgte nach Gl. 35a-c und Gl. 38a,b. Wie an diesen Gleichungen leicht abzulesen, ist von großem Einfluß der Geometriefaktor G. Zu diesem tragen die engen Endrohre sowie die konischen Teile der Säulen erheblich bei. Um den Beitrag klar hervortreten zu lassen, sei als Beispiel die explizite Berechnung des K_F -Wertes der C-Säule angegeben, deren Meßwerte in Abb. 22 dargestellt sind:

$$K_F = \frac{F'}{\Delta P} \cdot \frac{\eta}{\pi} \left(\frac{L_{E1} + L_{E2}}{R_E^2} + \frac{L_{K1} + L_{K2}}{R_E R_W} + \frac{L_W}{R_W^2} \right) \quad \text{Gl. 35}$$

$$K_F = \frac{37.4}{60 \cdot 8.975 \cdot 10^6} \cdot \frac{0.444 \cdot 10^{-2}}{\pi} \left(\frac{0.7+0.8}{0.5^2} + \frac{2.8+2.4}{0.5 \cdot 1.97} + \frac{39.2}{1.97^2} \right) \text{ cm}^2$$

$$K_F = 9.816 \cdot 10^{-11} \cdot (6.00 + 5.28 + 10.10) \text{ cm}^2$$

$$K_F = 2.10 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^2$$

1) Genaue Maße dieser Säulen sind in Abb. 15 angegeben.

2) Die Güteklasse entspricht dem maximalen prozentualen Meßfehler, hier 0.6 % bzw. 0.15 bar.

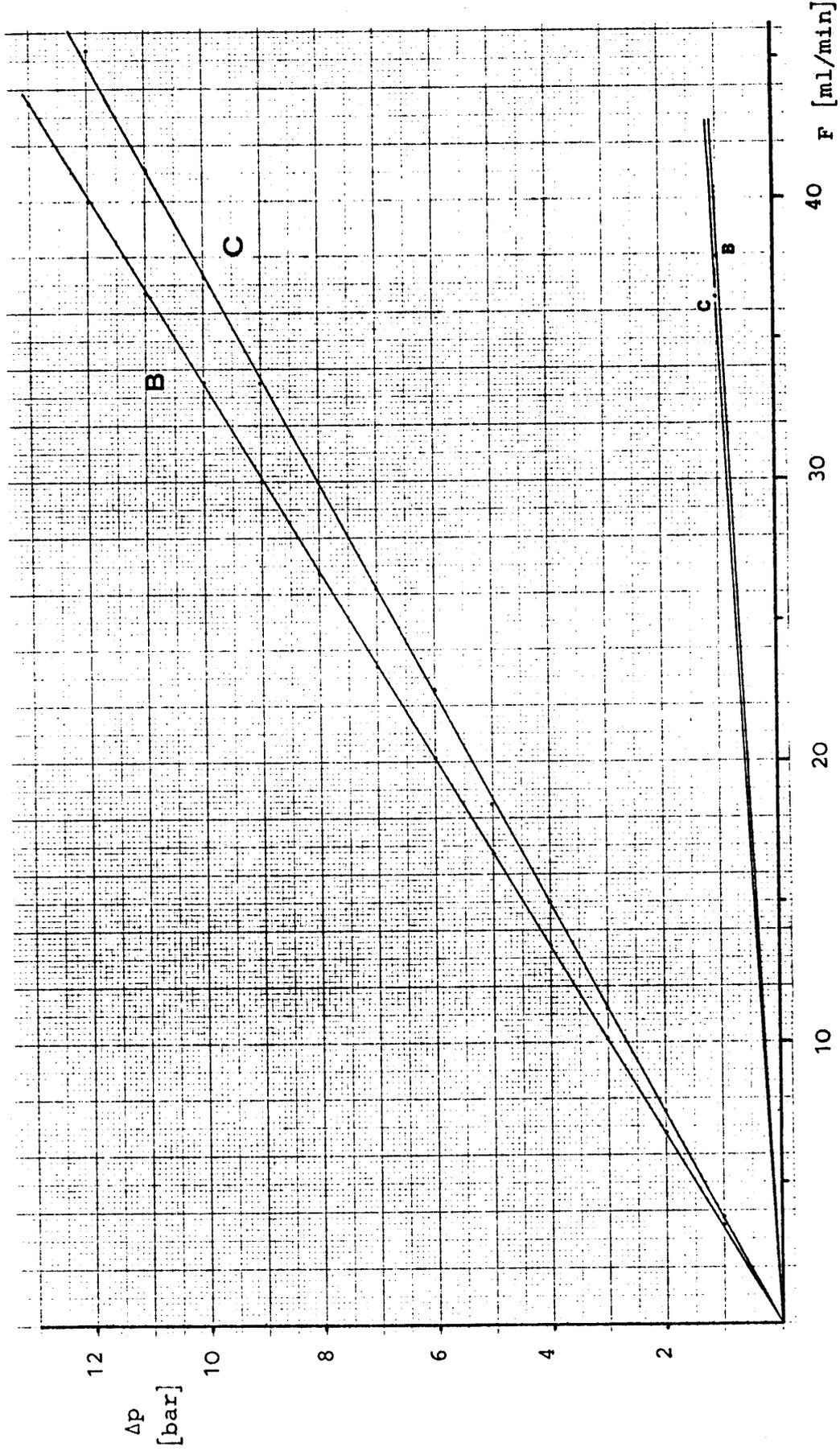


Abb. 22 Druck-Durchfluß-Messungen für präparative Säulen Typ B und C, gefüllt mit Kieselgel Merck LiChroprep 15-25 μ ; untere Kurven: Druckabfall von Leitungen und Stopfen.

Tabelle 2 Permeabilität K , K_F von präparativen Säulen vom Durchmesser 2.4 (Typ B) und 4 cm (Typ C); Meßmethode und Auswertung s. Text; Eluens: Ethylacetat.

Typ	Nr.	F [cm ³ /min]	t _O [min]	Δp [bar]	Δp _{kor} [bar]	G [cm ¹]	V _S [cm ³]	V _O [cm ³]	K _F ·10 ⁹ [cm ²]	K·10 ⁹ [cm ²]	ε _T (V _O /V _S)
B	1	8.87 12.75 26.05	9.64 4.82 3.25	3.0 6.0 9.0	2.70 5.41 8.13	28.31	120.3	85.5 85.6 84.7	2.18 2.18 2.13	3.07 3.06 3.02	0.71 0.71 0.70
B	2	9.35 18.50 27.55	9.01 4.53 3.03	3.0 6.0 9.0	2.70 5.41 8.13	27.89	118.0	84.2 83.8 83.5	2.27 2.25 2.23	3.18 3.16 3.15	0.71 0.71 0.71
B	3	8.30 16.45 24.55	10.37 5.20 3.48	3.0 6.0 9.0	2.74 5.49 8.23	29.48	121.0	86.1 85.6 85.4	2.13 2.11 2.09	2.99 2.98 2.97	0.71 0.71 0.71
B	4	8.08 16.25 24.15	10.42 5.17 3.49	3.0 6.0 9.0	2.75 5.50 8.26	29.82	120.5	84.2 84.0 84.3	2.06 2.08 2.06	2.95 2.98 2.94	0.70 0.70 0.70
B	5	8.55 17.00 25.90	9.80 4.84 3.23	3.0 6.0 9.0	2.83 5.66 8.48	29.58	121.0	83.8 82.3 83.7	2.11 2.10 2.13	3.05 3.08 3.08	0.69 0.68 0.69
B	6	7.95 15.78 23.60	10.52 5.34 3.57	3.0 6.0 9.0	2.75 5.50 8.25	31.28	120.6	83.6 84.3 84.3	2.13 2.12 2.11	3.08 3.03 3.02	0.69 0.70 0.70
B	7	8.25 16.50 24.40	10.22 5.12 3.45	3.0 6.0 9.0	2.73 5.45 8.19	29.59	118.5	84.3 84.5 84.2	2.12 2.12 2.08	2.97 2.97 2.93	0.71 0.71 0.71

Mittel:											
2.13 3.03 0.70											
±0.06 ±0.07 ±0.01											

C	1	10.58	33.39	3.0	2.74	22.87	513.9	353.3	2.10	3.06	0.69	
		21.15	16.95	6.0	5.47			358.5	2.10	3.01	0.70	
		31.83	11.04	9.0	8.21			351.4	2.11	3.08	0.68	
C	2	11.50	30.08	3.0	2.69	21.38	507.0	345.9	2.16	3.16	0.68	
		22.50	15.36	6.0	5.38			345.6	2.10	3.09	0.68	
		33.50	10.31	9.0	8.26			345.4	2.04	3.00	0.68	
Mittel:												
										2.10	3.07	0.69

Wie man sieht, stammt ca. die Hälfte des Gesamtdruckabfalls von den - verhältnismäßig kurzen - engen und konischen Teilen der Säule. Hierdurch kommt über G eine gewisse Ungenauigkeit in die Meßwerte hinein: die exakte Festlegung der Maße dieser Teile ist wegen unvermeidbarer Unvollkommenheit der Glasbearbeitung nicht möglich. Der Fehler dürfte bei ca. 5 % liegen. Die obige Rechnung zeigt auch, daß eine Nichtberücksichtigung dieser Säulenanteile, d. h. die Approximation eines Zylinders, zu groben Fehlern führen muß.

Druckwiderstand von präparativen Säulen, Diskussion. - K und K_F charakterisieren die Permeabilität (Durchlässigkeit) von Trennsäulen unter Abstraktion bzw. Normierung der Säulengeometrie, nicht aber der Teilchengröße. Da nun in der Regel verschiedene Autoren verschiedene Teilchengrößen verwenden, können die Resultate nicht verglichen werden. Auch wären anstelle von K , K_F Maße erwünscht, die mit dem Druckwiderstand zunehmen, nicht wie K , K_F abnehmen. Die schottische Schule um Knox, Edinburgh, hat aufgrund folgender Überlegungen die günstigen Größen "Resistenz" ϕ und ϕ_F vorgeschlagen [3c].

Es wurde bereits erwähnt, vgl. Gl. 23a,b, daß die Permeabilität nach empirischen Daten dem Quadrat des Teilchendurchmessers d_p proportional ist. Das Inverse des Proportionalitätsfaktors stellt bereits die gesuchte Größe dar:

$$K = \frac{1}{\phi} d_p^2 \quad \text{bzw.} \quad K_F = \frac{1}{\phi_F} d_p^2 \quad \text{Gl. 41a,b}$$

ϕ und ϕ_F werden als "Resistenz" bezeichnet und werden explizit berechnet zu:

$$\phi = d_p^2/K \quad \text{bzw.} \quad \phi_F = d_p^2/K_F \quad \text{Gl. 42a,b}$$

Wegen $K_F = \epsilon_T K$ folgt

$$\phi = \epsilon_T \phi_F \quad \text{Gl. 43}$$

ϕ und ϕ_F stellen also bezüglich Säulengeometrie und Teilchendurchmesser normierte sowie mit dem Druckwiderstand zunehmende Maße dar.

Die früher angegebenen Gl. 23a,b sind somit Spezialfälle von Gl. 41b:

$$K_F = \frac{1}{1000} d_P^2 \quad (\text{Naßpackung}) \quad \text{Gl. 23a}$$

$$K_F = \frac{1}{2000} d_P^2 \quad (\text{Trockenpackung}) \quad \text{Gl. 23b}$$

Der Sachverhalt läßt sich damit reformulieren: Die Resistenz ϕ_F von analytischen Säulen (3-6 mm Innendurchmesser) beträgt $\phi_F=1000$ bei Naßpackung, $\phi_F=2000$ bei Trockenpackung.

Unsere Resultate lassen sich nunmehr bequem diskutieren und mit denen anderer Autoren vergleichen. Leider liegen die Dinge hier etwas im argen: In den ohnehin nur wenigen Arbeiten sind die benötigten Kennzahlen oft nicht einmal angegeben. Die verwertbaren Literaturdaten sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Nach Tabelle 3 besitzen die präparativen Säulen einen erheblich größeren Druckwiderstand als die analytische Säule, d. h. der Druckwiderstand nimmt mit dem Durchmesser zu¹⁾. Wenn man von dem sehr speziellen Fall der Godbille-Devaux-Säule absieht, stimmt dieses Resultat mit den Ergebnissen anderer Autoren (vgl. Tabelle 4) überein. Dieses, sowie die ausgezeichnete Reproduzierbarkeit unserer Ergebnisse dürfte triviale Ursachen, wie Verstopfung der Säulen durch feine Anteile²⁾, ausschließen.

Als naheliegende Erklärung bieten sich Wandeffekte an. Es wurde bereits erwähnt, daß nach Arbeiten von Knox und Mitarbeitern [17] die Wandregion eine ca. 30 Teilchendurchmesser starke Schicht mit

1) Für unsere Säulen muß diese Aussage noch überprüft werden, denn es wurde mit verschiedenen Packverfahren gearbeitet. Wir sind dabei, eine Serie von Säulen mit Durchmessern 3, 10 und 16 mm mittels unseres Sedimentationsverfahrens zu packen und zu testen.

2) Eine kompetente Untersuchung dieses Punktes wurde kürzlich publiziert [28].

lockerer Packung und daher schlechten chromatographischen Eigenschaften darstellt. Um diesen Punkt zu beleuchten, haben wir den prozentualen Anteil der Wandregion bezüglich der Säulenquerschnittsfläche ($\%A_w$) berechnet und in die Tabellen 3 und 4 eingetragen:

$$\%A_w = 6000 \frac{d_p}{R} \quad \text{Gl. 44}$$

Diese Beziehung wurde folgendermaßen abgeleitet: Die Querschnittsfläche der Säule beträgt πR^2 , die Dicke der Wandregion $30 d_p$, was einer Querschnittsfläche $\pi R^2 - \pi (R - 30 d_p)^2$ entspricht. Der prozentuale Anteil zur Gesamtquerschnittsfläche ist damit

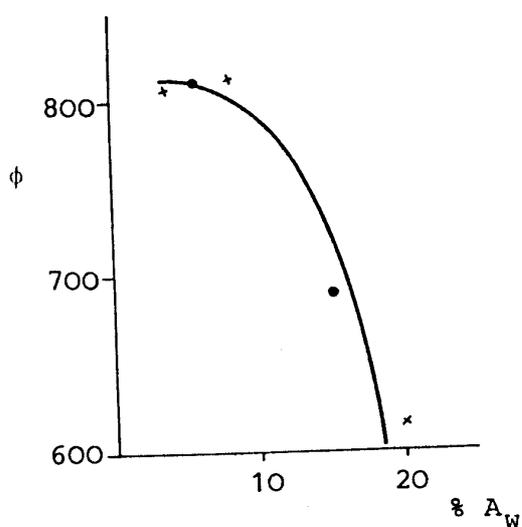
$$\%A_w = \frac{\pi R^2 - \pi (R - 30 d_p)^2}{\pi R^2} 100.$$

Triviale algebraische Manipulationen ergeben

$$\%A_w = 6000 \frac{d_p}{R} - 90000 \left(\frac{d_p}{R}\right)^2 \quad \text{Gl. 45}$$

Da die Berechnung nur für den Bereich $d_p \ll R$ sinnvoll ist, wird der quadratische Term vernachlässigt.

Der Vergleich von $\%A_w$ - und ϕ -Werten läßt eine gewisse Korrelation erkennen. So scheinen unsere und Wehrli's Daten zu belegen, daß die Resistenz ϕ unterhalb ca. $10 \% A_w$ vom Durchmesser unabhängig ist, was mit der Wandeffekt-Hypothese im Einklang stehen würde. Hiermit nicht vereinbar sind die Werte von Beck und Halasz,



obwohl das Packverfahren dieser Autoren dem von Wehrli sehr ähnlich ist. Das Rätsel löst sich bei Inspektion der Beck-Halasz-Arbeit schnell: Die Säule vom Durchmesser 21.6 mm besitzt konische Enden, der K-Wert wurde jedoch unter Annahme eines Zylinders berechnet. Dieses führt über den G-Faktor (vgl. S. 60) zu einem um 50 % zu hohen K-Wert! Die von uns nach Gl. 38b berechneten Werte sind in Tabelle 4 (in Klammern) ebenfalls eingetragen. Die korri-

gierten Werte stimmen ausgezeichnet mit denen von Wehrli überein.

Tabelle 3 Mittelwerte aus Tabelle 2 für K , K_F und andere den Druckwiderstand charakterisierende Größen (ϕ , ϕ_F , $\%A_W$ s. Text)

Durchmesser [mm]	$\%A_W$	$K_F \cdot 10^9$ [cm ²]	$K \cdot 10^9$ [cm ²]	ϵ_T	ϕ_F	ϕ
3	82	4.15	5.48	0.76	1000[a]	760[a]
24	10	2.10	3.03	0.70	1980	1370
39.5	6	2.13	3.07	0.69	1950	1355

[a] Per definitionem festgelegte Werte

Tabelle 4 Literaturübersicht: Resistenz ϕ von Trennsäulen in Abhängigkeit von Säulendurchmesser 2R und Packmethoden

d_p [μ]	2R [mm]	$\%A_W$	$K \cdot 10^9$ [cm ²]	ϕ	Adsorbens	Pack- methode	Lit.
35-75	2.1	"310"	17.9	1690[a]	sphärisches poröses Kieselgel	trocken ^[b] (Standard)	De Stefano Beachell 1972 [25]
35-75	10.9	60	13.8	2192[a]	Kieselgel	naß (Standard)	Wehrli 1975 [26]
5	3.0	20	0.405	617	Kieselgel	naß	Wehrli 1975 [26]
5	7.4	8	0.308	812	Merckosorb	(Standard)	Wehrli 1975 [26]
5	17.3	3.5	0.310	806	Si 100		
10	18.0	6.5	1.3	769	Kieselgel LiChrosorb Si 60	naß (speziell)	Godbille, Devaux 1976 [14b]
10	4.0	15	1.45	690	Kieselgel	naß	Beck, Halasz 1978 [27]
10	21.6	5.5	0.851 (1.23)[c]	1157 (813)[c]	LiChrosorb Si 100	(Standard)	Beck, Halasz 1978 [27]

[a] Hier unter der Annahme $d_p=55\mu$ berechnet.

[b] Die Standard-Trockenpacktechnik: Einfüllen von kleinen Portionen gefolgt von leichtem Aufstampfen, s. [3] oder [6].

[c] Korrigierte Werte für die darüberstehende Eintragung.

Zur Verdeutlichung sind die korrigierten Halasz-Beck-(\cdot) sowie Wehrli-Daten(x) für ϕ gegen die $\%A_w$ -Werte vorstehend graphisch dargestellt. Alle anderen Daten, unsere eingeschlossen, können für die graphische Darstellung nicht verwertet werden, da vollkommen andere Packverfahren angewendet wurden.

Natürlich sind mit diesem Resultat die Wandeffekte nicht bewiesen. Die Hypothese gewinnt aber an Überzeugungskraft, wenn man bedenkt, daß die oben der $\%A_w$ -Berechnung zugrunde gelegten Annahmen von Knox und Mitarbeitern aus Messungen von Bodenzahlen - eine Größe die mit dem Druckwiderstand primär nicht verwandt ist - gewonnen wurden. Möglicherweise gibt es eine bessere Hypothese. Eine eingehende Diskussion ist jedoch aufgrund der sehr mageren und "inhomogenen" experimentellen Unterlagen nicht möglich. Der gesamte Fragenkomplex "Resistenz-Durchmesser" bedarf dringend einer gründlichen und kompetenten Untersuchung (vgl. Fußnote 1 auf S. 65).

Einige in der Literatur verzeichnete Beobachtungen sowie weitere Besonderheiten der in den Tabellen 3 und 4 enthaltenen Daten verdienen einen Kommentar:

- Nach unseren sowie den Ergebnissen in [25], [26] und [14b] sind die ϕ - bzw. K-Werte vom Druck bzw. von der Durchflußgeschwindigkeit unabhängige Größen. Im Gegensatz hierzu und offenbar der gesamten Literatur über analytische Säulen (3-6 mm Durchmesser) stehen Ergebnisse von Beck und Halasz [27]. Es wurden Säulen mit 4, 21.6 und 44 mm Durchmesser untersucht. Die beiden größeren Säulen besaßen konische Enden. Mit Adsorbentien vom Korndurchmesser 10-15 oder 35-50 μ zeigten beide stark durchfluß- bzw. druckabhängige K-Werte¹⁾. Ein solcher Effekt ist natürlich unerwünscht. Unserer Meinung nach handelt es sich um einen auf fehlerhafter Säulenkonstruktion beruhenden Artefakt: Die konischen Teile wurden bis zu einem Radius $R_E=0.5$ mm (vgl. Abb. 21)

1) Es wurde bereits erwähnt, daß die K-Werte an dieser Arbeit falsch berechnet wurden; bei der 21.6 mm-Säule sind sie um 50 %, bei der 44 mm-Säule um 100 % zu hoch.

verjüngt. Deshalb treten an Säulenein- und -ausgang extreme Lineargeschwindigkeiten, eventuell Turbulenzen auf. Eine triviale Erklärung wäre Verstopfung des Säulenausgangs durch Absinken des Säulenbetts, denn es wurde stets eine Zunahme des Druckwiderstandes mit steigendem Durchfluß gefunden. Diese Erklärung kann aber wohl ausgeschlossen werden, da etwas so Triviales bei Spezialisten nicht vorkommen dürfte.

- Einen ungewöhnlich niedrigen Druckwiderstand besitzt die Säule von Godbille und Devaux. Es wurde ein originelles neues Verfahren angewendet, bei dem eine sehr rasche Packung des Bettes resultiert. Offenbar ist es deshalb sehr locker und möglicherweise (vgl. S. 34) nicht stabil.
- Unsere präparativen Säulen besitzen einen hohen Druckwiderstand. Interessanterweise stimmt der K - bzw. ϕ -Wert ziemlich genau mit dem für Trockenpackung typischen überein. Dieses deutet auf ein sehr dicht gepacktes Bett ohne Teilchenagglomeration hin [29]. Mit dieser Vermutung stimmen weitere Daten überein: die verhältnismäßig niedrige Porosität ϵ_T , extreme Trenngüte und sehr hohe Lebensdauer der Säulen (s. u.).

Leider erweisen sich wegen des hohen K -wertes unsere Säulendimensionen als nicht optimal (vgl. Abschnitt 2.2). Sie wurden zwar für die jetzt verwendete Kieselgel-Sorte konzipiert, unsere Messungen der Permeabilität und der Bodenzahl zeigen aber eindeutig, daß die Kornverteilung im Verlaufe von ca. 1.5 Jahren vom Hersteller zugunsten feinerer Anteile verändert wurde. Aus diesem Grunde sollten die C-Säulen um ca. 25 % verkürzt werden. Man kann das leicht aufgrund folgender Überlegungen einsehen.

Gl. 32 gibt den Zeitbedarf t_R ($k'=10$) eines chromatographischen Laufs als Funktion der Säulenlänge L , des Teilchendurchmessers d_p und des Druckabfalls Δp an. t_R (Δp)-Kurven wurden unter der Annahme $L = 40$ cm ($\sim C$ -Säule) und eines Standard- K_F -wertes für analytische Säulen ($\phi=1000$), Gl. 32a, berechnet und sind in Abb. 10 dargestellt. Wir können diese Werte für die präparati-

ven Säulen beibehalten, müssen aber eine "effektive" Teilchengröße aufgrund des tatsächlichen K_F -wertes (Tabelle 3) nach Gl. 23a bzw. 41b ($\phi_F=1000$) berechnen:

$$K_F = \frac{1}{\phi} \cdot d_p^2; \quad \text{Gl. 41b}$$

mit $K_F=2.115 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^2$ (Tabelle 3, Mittelwert der B- und C-Säule) sowie $\phi_F=1000$ folgt

$$d_p = \sqrt{1000 \cdot 2.115 \cdot 10^{-9}} \text{ cm} = 14.5 \mu.$$

Um es nochmals mit anderen Worten zu sagen: unsere präparativen Säulen verhalten sich bezüglich des Druckwiderstands wie naß gepackte analytische Säulen aus Teilchen der Korngröße $d_p=14.5\mu$. Wie man Abb. 10 mit etwas Imagination entnimmt, liegt der Arbeitsbereich ($\Delta p=10-15$ bar) für diese Korngröße bereits etwas weit im ansteigenden, ungünstigen Ast der $t_R(\Delta p)$ -Kurve. Wie auf S. 30 ausgeführt wurde, läßt sich eine Adjustierung über die Säulenlänge leicht durchführen, da nach Gl. 32

$$t_R \sim \left(\frac{L}{d_p}\right)^2 \quad \text{gilt und deshalb im Falle} \quad \frac{L_1}{d_{p1}} = \frac{L_2}{d_{p2}}$$

für zwei Säulen (No.1 und 2), diese dieselbe $t_R(\Delta p)$ -Kurve besitzen - Gleichheit anderer Parameter ist natürlich vorausgesetzt.

Als Lehre muß gezogen werden: Man kann sich nicht über einen längeren Zeitraum auf Konstanz der Eigenschaften von Handelsprodukten verlassen. Die Permeabilität sollte deshalb gelegentlich gemessen werden¹⁾. Derartige Messungen sind also durchaus keine Spielerei, wie es manchem Organiker-Kollegen vielleicht vorkommen mag.

1) Etwa "gleichaltrige" 1 kg-Chargen zeigten keinen Unterschied. Das nötige Know-how vorausgesetzt, benötigt man für eine saubere Messung samt Auswertung ca. einen halben Tag.

4.2 Effizienz: Peakform, van Deemter-Kurven

Wie in Abschnitt 1.1 ausführlich dargelegt wurde, beurteilt man die Leistungsfähigkeit einer Trennsäule durch die van Deemter-Kurve, d. h. die Funktion $H(u)$:

$$H = A + B/u + Cu \quad \text{Gl. 8}$$

Die Aufnahme der Kurve erfordert die Messung der Lineargeschwindigkeit u , was im allgemeinen über die Retentionszeit des Inertpeaks nach Gl. 13 (vgl. S. 10 f) erfolgt, sowie der zugehörigen Bodenhöhen H nach

$$H = L/N \quad \text{Gl. 5 (S. 6) und} \quad N = 5.54 (t_R/b_{1/2})^2 \quad \text{Gl. 3}$$

Zur Messung von N vgl. S. 5 sowie speziell Abb. 2 auf S. 4.

Die durch solche Messungen zu erhaltenen Zahlen sind nur bedingt objektiv. Man sollte folgende Punkte beachten:

- a. Die chromatographischen Kennzahlen bilden nur dann eine signifikante Bewertungsgrundlage, wenn symmetrische Peaks mit annähernd Gauß-Kurvenform vorliegen. Eine grobe Charakterisierung gibt der Symmetrieindex SI (vgl. Gl. 1, S. 5). Besser ist die Abbildung eines stark vergrößerten Peaks.
- b. Es besteht eine gewisse Neigung, zur Charakterisierung eine besonders gute Säule heranzuziehen, vgl. S. 34. Um diese Verfälschung auszuschließen, sollte eine Statistik über die Testergebnisse angefertigt werden (Bodenzahl unter Standard-Testbedingungen, vgl. S. 50, Symmetrieindex).
- c. Die Charakterisierung der Säulen muß unter den für das präparative Arbeiten typischen Bedingungen vorgenommen werden. Diese sind in vielen Punkten denen beim analytischen Arbeiten gleich. Es gibt aber einen sehr wichtigen Unterschied: die Substanzaufgabe. In der Analytik ist neben hoher Bodenzahl vor allem

Empfindlichkeit wichtig. Beides kann durch Ausnutzung des sog. Infinite-diameter-Effekts gesteigert werden (vgl. S. 25). Man erzeugt diesen Effekt, indem man die Substanz mittels eines speziellen Aufgabesystems punktförmig in die Säulenachse appliziert. Gewisse geometrische Bedingungen vorausgesetzt (vgl. S. 25), wandert sie dann in einer schmalen Zone, ohne die Säulenwand zu erreichen. Hierdurch wird einerseits eine hohe Konzentration im Eluat erreicht (Nachweisempfindlichkeit), andererseits die Effizienz maximiert, da radiale Inhomogenität der Säulenpackung, die in der Nähe der Wand besonders groß ist, sich minimal auswirkt.

Für das präparative Arbeiten ist eine hohe Bodenzahl ebenfalls sehr erwünscht, hohe Nachweisempfindlichkeit aber unwichtig. Wichtig dagegen ist hoher Durchsatz, was sich nur bei Ausnutzung des gesamten Säulenquerschnitts erreichen läßt. Das Aufgabesystem muß dieses gewährleisten. Unter Infinite-diameter-Bedingungen gewonnene Kenngrößen sind unsignifikant, schlimmer, sie sind irreführend.

Der Nachweis des Nichtvorliegens eines Infinite-diameter-Effekts ist bei Glassäulen sehr einfach: man konditioniert die Säule mit Chloroform, wodurch die Kieselgelpackung durchsichtig wird und appliziert einen Farbstoff. Bei Stahlsäulen verrät sich der Infinite-diameter-Effekt durch einen besonders kleinen B_0 -Wert der Beladungskurve (vgl. S. 18).

d. Es wurde schon erwähnt, daß die Bodenzahl bzw. -höhe nur näherungsweise substanzunabhängig ist. Sieht man von speziellen Effekten ab, z. B. Salzbildung bei Aminen, gilt die Regel: sehr früh eluierte Substanzen $k' < 0.5$ spiegeln die Eigenschaften der Apparatur und der Säulenpackung, spät eluierte die Eigenschaften des Adsorbens wieder¹⁾. Für Testzwecke wird daher

1) Offenbar hat sich bisher keiner der Chromatographiespezialisten die Mühe gemacht, Erfahrungen über die Abhängigkeit der Bodenhöhe H vom Kapazitätsfaktor k' der Testsubstanz in ausführlicher Form zu publizieren. Man findet nur hier und dort kurze Bemerkungen, z. B. in [3c], S.172, [11] S.265, [9] S.286.

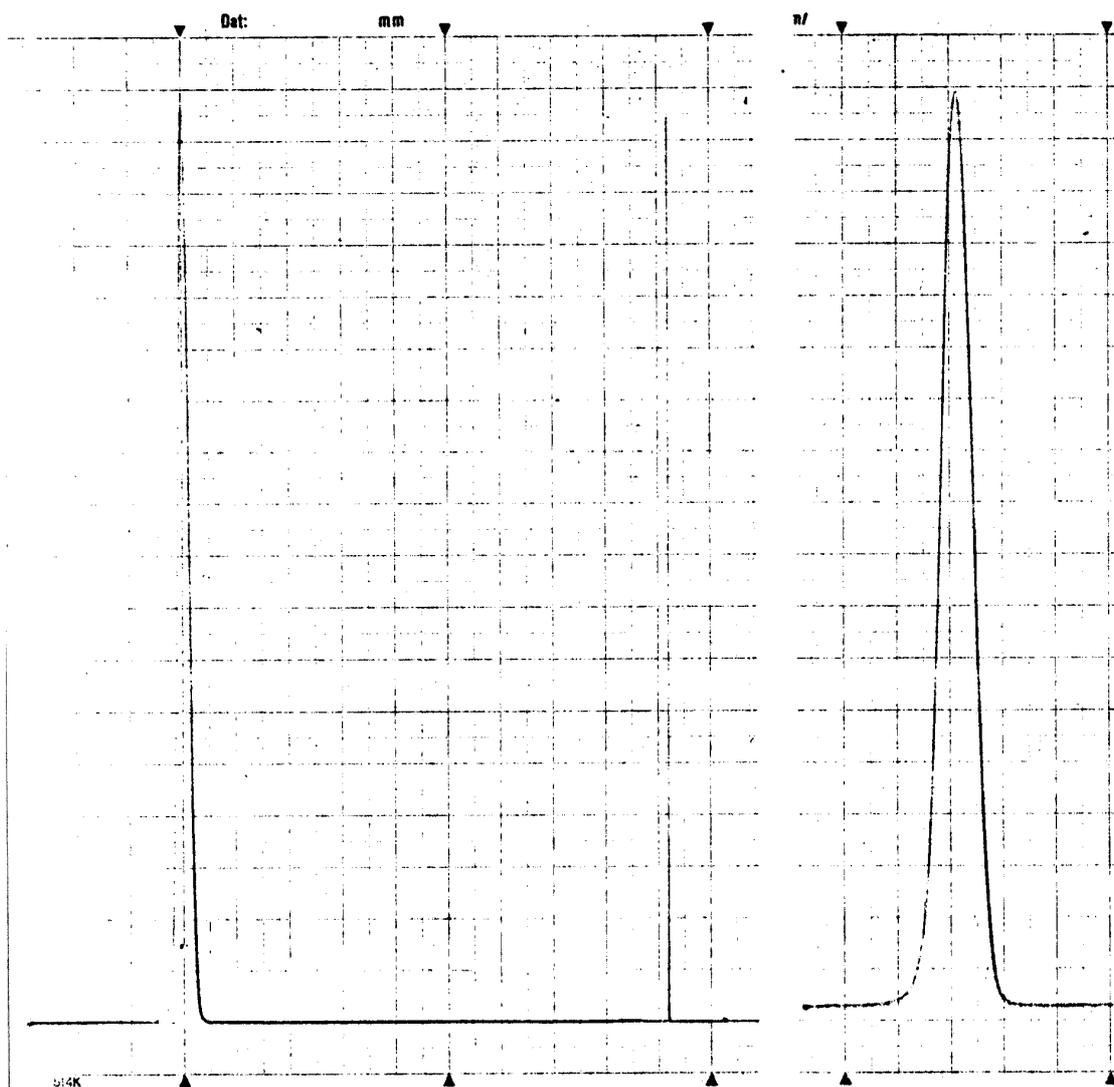


Abb. 23 Zur Charakterisierung der Peakform
(Säule Typ C; Standard-Testbedingungen (s. S. 50); Nullpunkt der Zeitachse in
allen Fällen auf der rechten Seite des Peaks) Schreiber-Vorschubgeschwindig-
keiten:
a 1 cm/min, b 3 cm/min, c 12 cm/min

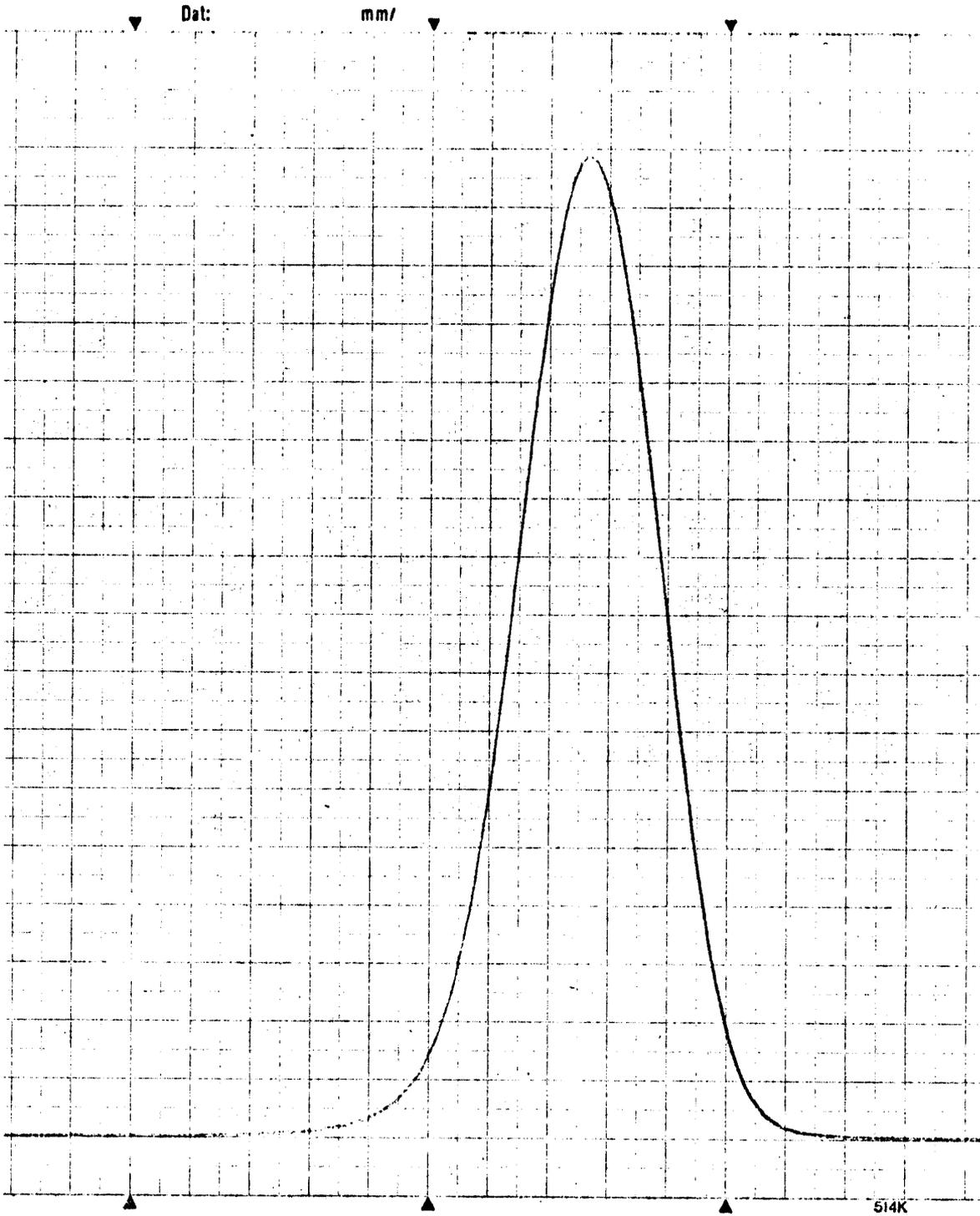


Abb. 23c

frühe Elution gewählt. Typische Systeme sind etwa: Hexan/Acetonitril 99/1, Phenanthren ($k'=0.2$) [29], und n-Heptan, Benzol ($k' = 0.3$) [27]. Unser Testsystem ist Petrolether(tiefs.)/Ethylacetat 95/5, Naphthalin ($k' = 0.25$). Das Multikomponentensystem Petrolether wurde aus Kostengründen gewählt. Der Ethylacetatzusatz dient zur Ausnivellierung des Einflusses von Wasser.

Peakform. - Die Beurteilung der Peakform ist nur möglich, wenn ein Chromatogramm unter starker Dehnung der Zeitachse aufgenommen wird. Zur Demonstration sind in Abb. 23 drei bei verschiedenen Schreiber-Vorschubgeschwindigkeiten registrierte Peaks des Naphthalins (Säule Typ C, Standard-Testbedingungen s. S. 50) abgebildet. Üblich ist die erste Darstellung (Vorschubgeschwindigkeit 1 cm/min). Hieraus kann weder die Bodenzahl hinreichend genau ermittelt, noch die Peakform, speziell die Peaksymmetrie beurteilt werden.

Wie gut die Peakform einer Gauß-Funktion entspricht, läßt sich durch Ausmessen der Peakbreite auf verschiedenen Bruchteilen der maximalen Peakhöhe in sehr einfacher Weise abschätzen. Für eine Gaußkurve gilt¹⁾:

$$\frac{b_{0.100}}{b_{0.500}} = 1.83 \qquad \frac{b_{0.135}}{b_{0.607}} = \frac{4\sigma}{2\sigma} = 2 \qquad \text{Gl. 46}$$

b_n : Peakbreite bei der Peakhöhe nH_{\max} (z. B. ist $b_{0.5}$ die Peakbreite auf halber Höhe, $b_{1/2}$ von Abb. 2).

σ : Standardabweichung (=Varianz) der Gauß-Funktion; Messung durch $\sigma = 0.5 b_{0.6066}$ oder $\sigma = b_{0.5}/\sqrt{5.54}$

Für den in Abb. 23c dargestellten Peak gilt: $b_{0.100}/b_{0.500} = 1.80$ und $b_{0.135}/b_{0.607} = 1.96$. Es werden also in sehr guter Näherung Gauß-Peaks erzeugt²⁾.

1) Eine ausführliche Beschreibung der für die Chromatographie wichtigen Eigenschaften der Gauß-Funktion s. [3c], S.17.

2) Diese Art der Peak-Charakterisierung ist allgemein nicht üblich. Wir haben sie deshalb nur gelegentlich durchgeführt.

Bodenzahl, Symmetrieindex, Reproduzierbarkeit. - Als Standard-Test auf Effizienz wurde für jede Säule die Bodenzahl und der Symmetrieindex (vgl. 3.2.2 D (S.50)) bestimmt. Die Kennzahlen von allen während eines definierten Zeitraumes von uns selbst und einigen Kollegen nach dem in Abschnitt 3.2.2 beschriebenen Verfahren hergestellten Säulen sind in Tabelle 5 aufgelistet. Man achte auf die Wortwahl des vorstehenden Satzes: nicht in die Liste aufgenommen wurden Säulen, bei deren Herstellung wichtige Punkte der Vorschrift unbeachtet geblieben, d. h. grobe Fehler vorgekommen waren. Z. B. verwendete Ausführer V bei den ersten fünf Säulen nicht entgastes Wasser; W vergaß bei seiner ersten Säule das Einschalten des Dämpfers. Die Reproduzierbarkeit des Verfahrens muß als außergewöhnlich gut bezeichnet werden. Hinzu kommt, daß Ausführende V-X keine Erfahrung mit moderner Flüssigkeitschromatographie besaßen.

Die Bodenzahl N ist nur eine brauchbare Kennzahl, wenn neben der Konstanz der Testbedingungen auch die Konstanz der Säulenlänge L gewährleistet ist. Im vorliegenden Fall stammten alle Säulen aus einer Glasbläserei, in der strikt nach der Norm von Abb. 15 gearbeitet wird. Trotzdem beträgt die Schwankung in L ca. ± 1 cm, was durch mehr oder weniger tiefes Eindrücken der Stopfen bedingt ist. Wir empfehlen, zukünftig statt der Bodenzahl N die Bodenhöhe H ($= L/N$) als Kenngröße zu verwenden. Dabei muß L die gesamte Länge der Kieselgelschicht, also von Fritte zu Fritte, darstellen.

Lebensdauer. - Es existiert keine allgemein akzeptierte Definition des Begriffes Lebensdauer. Wir wollen darunter den Zeitraum verstehen, in dem die Bodenzahl zu ca. 80 % erhalten bleibt und der Symmetrieindex nicht schlechter als 1.2 ist; es wird dabei vorausgesetzt, daß die Säule unter üblichen Laborbedingungen rege, d. h. mehrmals pro Woche benutzt wird. Wir haben nur einige Stichproben vorgenommen (s. n. S.). Diese Zahlen sowie die allgemeine Erfahrung beim präparativen Arbeiten deuten auf eine Lebensdauer von ca. 1 Jahr. Eine so hohe Lebensdauer ist aber nur zu erreichen, wenn der Säule ein gewisses Minimum an Pflege zuteil wird. Auf folgende Punkte sollte man speziell achten:

Tabelle 5 Statistik über die von verschiedenen Personen nach dem in Abschnitt 3.2.2 beschriebenen Verfahren hergestellten und getesteten Trennsäulen

Säulen- tpy	Ausführender	Nr.	Bodenzahl	Symmetrieindex
			N	SI
B	U	1	6610	1.19
		2	6750	1.02
		3	7300	1.01
		4	5320	1.04
		5	6650	1.01
		6	6630	1.06
		7	6340	1.01
		8	6230	1.03
		9	7360	1.03
		10	6080	1.02
		11	7350	1.07
		12	6650	1.05
		13	7730	1.02
		14	7100	1.04
		B	V	15
1	7500			1.07
2	6850			1.07
3	6300			1.04
4	5000			1.05
5	6600			1.02
B	W	6	5900	1.02
		1	6600	1.05
		2	6900	1.02
Anzahl:		23	Mittel: 6620±650	1.04±0.04
C	U	1	8070	1.08
		2	11590	1.03
C	V	1	12000	1.03
C	W	1	9500	1.01
C	X	1	8500	1.04
		2	10400	1.01
		3	11000	1.02
Anzahl:		7	Mittel: 10150±1510	1.03±0.03

Säule Typ	Datum	N	SI
B	12.2.77	5500	
	4.4.78	5000	1.11
B	25.8.77	6800	
	6.7.78	5940	1.14
B	30.8.77	7200	
	4.4.78	6650	1.05
	6.7.78	3480	1.18

a. Fast jedes Rohprodukt einer chemischen Reaktion enthält hochpolare Verunreinigungen, die mit dem für die durchzuführende Trennung optimalen Lösungsmittel nicht eluiert werden. Der Anteil läßt sich durch ein DC, das einer präparativen Trennung ohnehin immer vorausgehen muß, im allgemeinen leicht abschätzen. Wenn der Anteil hoch ist, sollte die Lösung der Substanz im Eluens durch eine kurze Säule aus grobem Kieselgel filtriert werden. Trotzdem sammeln sich polare Verunreinigungen allmählich an. Man entfernt sie von Zeit zu Zeit, indem man die Säule mit einem relativ polaren Eluens (z. B. Aceton-Methanol 9:1) konditioniert. Eine zur Hälfte schwarzbraun gefärbte Säule, deren Adsorbenskörner eventuell von einer dicken Schicht Fremdschicht umhüllt oder gar zusammengeklebt sind, wird wohl keine sehr hohe Effizienz aufweisen.

b. Während der ersten Wochen nach der Herstellung senkt sich das Kieselgelbett im allgemeinen noch leicht ab, besonders rasch, wenn nicht für gute Dämpfung gesorgt wird. In dem von Kieselgel freien Raum bilden sich offenbar Wirbel, die - vor allem, wenn der freie Raum bereits in den konischen Teil ragt - zu Spaltenbildung im Adsorbensbett und dann irreversiblen Ruin der Säule führen. Um diesen Fall zu vermeiden, ist dafür Sorge zu tragen, daß der obere Stopfen stets fest und lückenlos auf dem Adsorbens sitzt. Man muß ihn, sofern ein Absetzen auftritt, sofort weiter hineindrücken. Ist Anschlag des Stopfenrandes am Glas erreicht, wird etwas Kieselgel nachgefüllt. Vorher sollte allerdings die oberste Schicht (2-4 mm Tiefe) mit einem Spatel sauber herausgekratzt werden (glatte Oberfläche), da sie praktisch immer irreversibel verschmutzt ist.

Beweis des Nicht-Vorliegens eines Infinite-diameter-Effekts; Beladbarkeit. - Wie einleitend ausgeführt wurde, läßt sich das Vorliegen eines Infinite-diameter-Effekts an der zu niedrigen Substanzbeladbarkeit, ausgedrückt durch die lineare Kapazität B_0 (vgl. S. 18), erkennen. Abb. 24 zeigt die Beladungskurve $H(\log B)$ einer mit Kieselgel $d_p = 15-25 \mu$ naß gepackten (a) sowie zum Vergleich einer mit Kieselgel $d_p \sim 70 \mu$ trocken gepackten (b) Säule Typ B [6]. B_0 (g Nitrobenzol/g Adsorbens) entspricht dem B-Wert des Knickpunktes der Kurven (vgl. Def. (b), S. 18):

$$B_0 (d_p = 15-25 \mu, \text{ naß gepackt}) = 3.7 \cdot 10^{-4} \text{ g/g}$$
$$B_0 (d_p \sim 70 \mu, \text{ trocken gepackt}) = 2.8 \cdot 10^{-4} \text{ g/g.}$$

Die Werte liegen in dem für Kieselgel der Porenweite 60 \AA typischen Bereich $B_0 = 2-5 \cdot 10^{-4} \text{ g/g}$ [14,20,27]. Sie beweisen, daß ein Infinite-diameter-Effekt nicht vorliegt. Dem geringen Unterschied in den B_0 -Werten der beiden Säulen kommt keine Bedeutung zu, da die Messung von H im Gebiet $B > B_0$ nicht sehr genau ist (Peak-Deformation). Der Vergleich der beiden Kurven ist aber in anderer Hinsicht aufschlußreich. Nach der Definition (c) für die lineare Kapazität (vgl. S. 18, Fußnote 1) würde gelten $B_0 = 6.6 \cdot 10^{-4} \text{ g/g}$ (a) und $2.5 \cdot 10^{-3} \text{ g/g}$ (b). Wie man anhand der Abbildung leicht einsieht, wird der große Unterschied der Werte durch den Unterschied in der Lage des minimalen H -wertes der Kurven verursacht. Der B_0 -Wert nach Definition (c) ist daher eine Funktion der Korngröße und somit unbrauchbar.

Die Kurve b aus Abb. 24 ist [6] entnommen, Kurve a wurde unter gleichen Bedingungen wie b folgendermaßen gemessen. Säule: Typ B, Bodenzahl (Naphthalin, Standard-Test) $N = 5500$, Länge der Kieselgel-Schicht $L = 290 \text{ mm}$; für die Beladungskurven: Testsubstanz Nitrobenzol, $k' = 1.7$, im Eluens Petrolether(tiefs.)-Ethylacetat 95:5, Durchfluß 20 ml/min ; Injektor entsprechend Abb. 14 A. Injiziert wurden Lösungen steigender Konzentration von Nitrobenzol im Eluens, Dosiervolumen 0.5 ml . Die Wellenlänge des Detektors wurde so adjustiert, daß die Peakhöhe konstant blieb ($352-413 \text{ nm}$ bei $3.125-600 \text{ mg Nitrobenzol}/0.5 \text{ ml Lösung}$). Die relativ gute Peakform über den gesamten B -Bereich erlaubte die Bestimmung von H nach Gl. 2 und Gl. 5.

Der obige Test ist auf Säulen beliebiger Art anwendbar. Für Säulen mit Glasmantel ist er eigentlich unnötig, da hier die

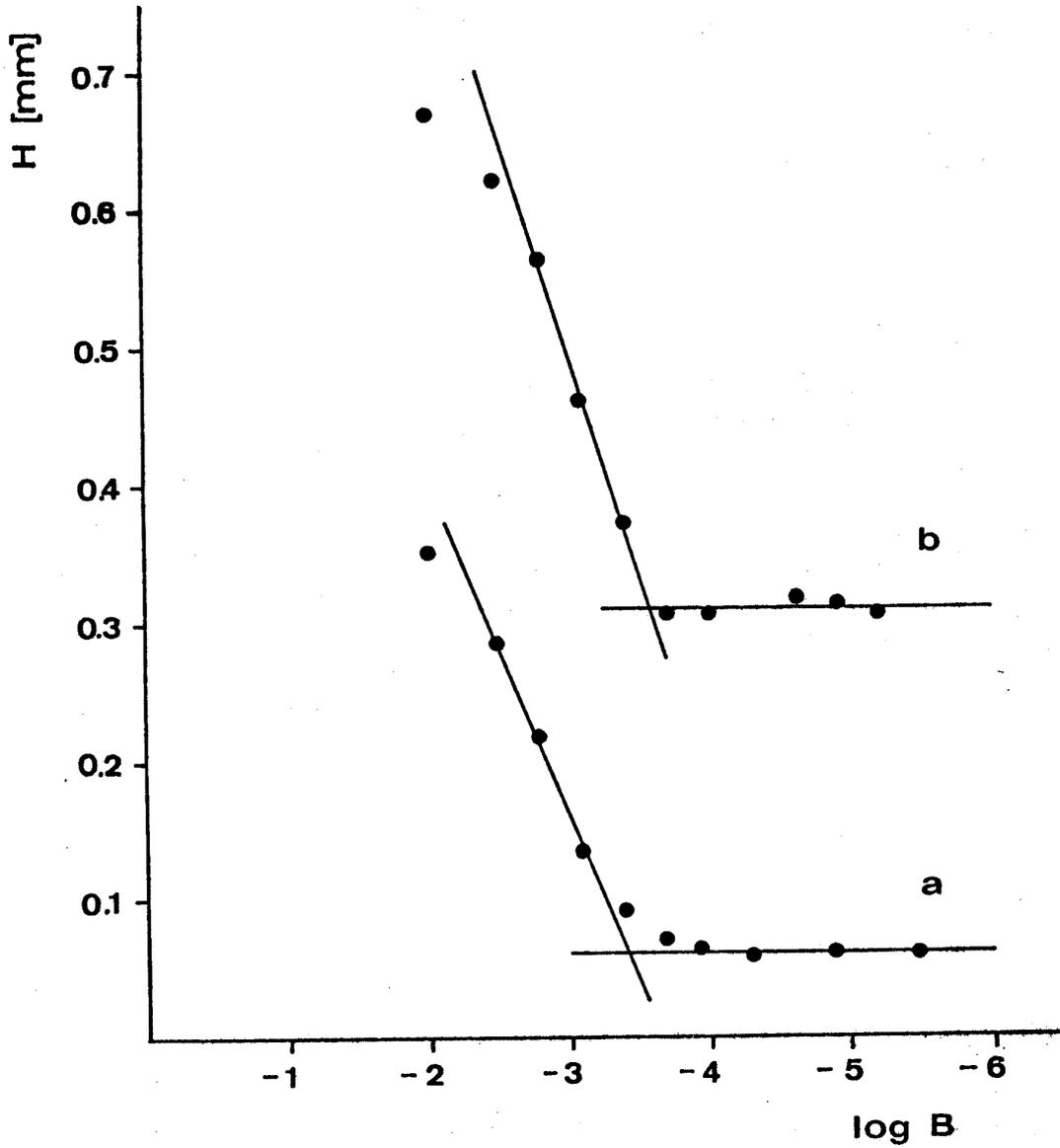


Abb. 24 Beladbarkeit von Säulen Typ B
B [g Nitrobenzol/g Kieselgel]; Bedingungen s. S. 79
a naß gepackte Säule, $d_p = 15-25 \mu$
b nach [6] trocken gepackte Säule, $d_p \sim 70 \mu$

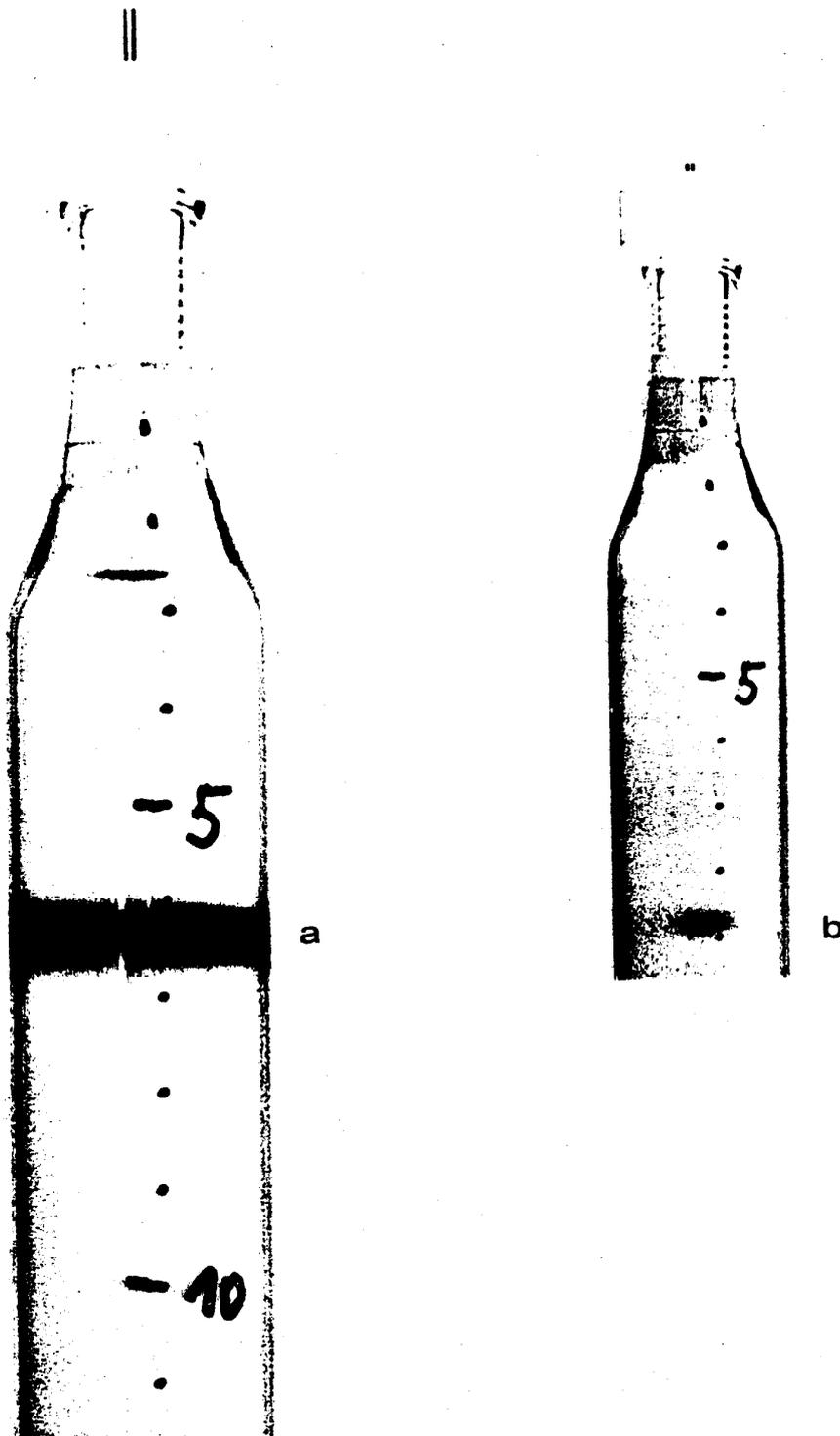


Abb. 25 Substanzzonen
(Eluens: Chloroform, Testfarbstoff: 4,6,8-Trimethylazulen)
a übliche Auftragung mit Injektor entsprechend Abb. 14 A
b speziell erzeugter Infinite-diameter-Effekt (s. Text
S. 82)

Substanzzonen direkt sichtbar gemacht werden können. Man konditioniert die Säule mit Chloroform, wodurch sie praktisch durchsichtig wird und appliziert die Chloroform-Lösung eines Farbstoffs (4,6,8-Trimethylazulen)¹⁾. Als Beispiel ist in Abb.24a der Test für eine Säule Typ B dargestellt. Man beachte die außerordentliche Schärfe der Zone.

Der mit den Feinheiten der modernen Chromatographie weniger vertraute Leser mag sich fragen, wie eine Infinite-diameter-Zone aussieht. Der Effekt kann sehr einfach "erzeugt" werden: Die Säule wird oben mit einem Teflon-Stopfen ohne Fritte (vgl. Abb. 16) ausgerüstet und mit Chloroform konditioniert. Dann entfernt man den Eluens-Zuführungsschlauch, sticht die Kanüle einer mit konzentrierter Farbstoff-Lösung (s. o.) gefüllten 10 µl-GC-Spritze in das Kieselgelbett ein (Spitze ca. 0.5 cm unterhalb des Stopfens) und injiziert ca. 1 µl. Man erhält ein Farbstoff-Kügelchen direkt in der Achse des Adsorbensbettes. Pumpt man nach Anschließen des Teflon-Schlauches Chloroform, so wandert das Farbstoff-Kügelchen ohne signifikante Formänderung entlang der Säulenachse. Abb. 24b zeigt ein Beispiel. Das Experiment ist so verblüffend, daß man es unbedingt durchführen sollte, wenn sich die Gelegenheit ergibt. Am besten gelingt es bei den ersten Versuchen, denn nach mehrfacher Wiederholung ist im allgemeinen das Kieselgel so "zerstoßen", daß man eine schöne Kugel nicht mehr erhält.

1) Diese Verbindung ist als Testfarbstoff ungewöhnlich gut geeignet, da sie gleichzeitig einen hohen Extinktionskoeffizienten sowie sehr gute chemische Stabilität besitzt und apolar ist. Wir konnten keine andere farbige Verbindung finden, die diese drei Eigenschaften vereinigt. Nachteilig ist, daß sie nicht im Handel angeboten wird. Die Herstellung nach Organic Syntheses [30] ist aber einfach und sehr gut für das organisch-chemische Praktikum geeignet. Azulen selbst sowie das käufliche Guajazulen fanden wir wenig befriedigend.

Effizienz, van Deemter-Kurven. - Die van Deemter-Kurve¹⁾ bildet die Grundlage zur Beurteilung der Effizienz einer Trennsäule (vgl. Abschnitt 1.1):

$$H = A + B/u + C \cdot u \quad \text{Gl. 8}$$

Meßmethode. Es wurde mit Naphthalin im Eluens Petrolether (tief)-Ethylacetat 95:5 gearbeitet, wie es für den Standard-Test beschrieben ist (S. 50). Die Lineargeschwindigkeit u wurde über die Totzeit t_0 (Inertsubstanz: Tetrachlorethylen [3a], S.51; [27]) nach $u \stackrel{\circ}{=} L/t_0$ (vgl. S. 9 f) bzw. über das Totvolumen V_0 nach Gl. 17-19 bestimmt. Die Messung der Bodenhöhe H erfolgte über die Bodenzahl N nach Gl. 2 und 5. Als Säulenlänge L wurde die gesamte Länge des Bettes, von Stopfen zu Stopfen, angesetzt. Das Eluat wurde ohne Stromteilung (splitting), d. h. total durch die Detektorküvette geleitet (UV, 265 nm). Die Meßresultate sind in Tabelle 6a-c, die zu den Abb. 26a-c korrespondieren, wiedergegeben. Bei der Säule Tab. 6b handelt es sich um eine der ersten von uns hergestellten. Die beiden anderen besaßen ein Alter von ca. 3 Monaten und waren bereits mehrfach für präparative Trennungen eingesetzt worden.

Zur Bestimmung der Konstanten A, B und C wurde die jeweils beste Approximation der Meßpunkte an Gl. 8 durch Probieren ermittelt. Außer A, B und C interessiert die Lage des Minimums H_0/u_0 der van Deemter-Kurve. Man erhält diese Werte in trivialer Weise aus der ersten Ableitung:

$$\frac{dH}{du} = 0 \quad u_0 = \sqrt{B/C} \quad H_0 = A + 2\sqrt{BC} \quad \text{Gl. 48}$$

Alle für die Beurteilung der Effizienz wichtigen Größen sind in Tabelle 7 zusammengefaßt.

1) Neuerdings setzt sich als Alternative die sog. Knox-Gleichung (Gl. 47) mehr und mehr durch [9]. Der Vorteil dieser Gleichung beruht auf der Verwendung der reduzierten Bodenhöhe h und der reduzierten Geschwindigkeit v als Variablen. Diese Größen sind bezüglich der Korngröße und des Diffusionskoeffizienten normiert, wodurch eine bessere Vergleichbarkeit verschiedener Säulen-Typen bzw. Testbedingungen erreicht wird. Nachteilig für die Auswertung ist, daß ein großer Bereich der Geschwindigkeit u erforderlich ist. Aus diesem Grund kam Gl. 47 in dieser Arbeit nicht zur Anwendung.

$$h = A v^{0.33} + B/v + Cv; \quad h = H/d_p; \quad v = ud_p/D_m \quad \text{Gl. 47}$$

(Zur Bedeutung der Symbole s. S. 8).

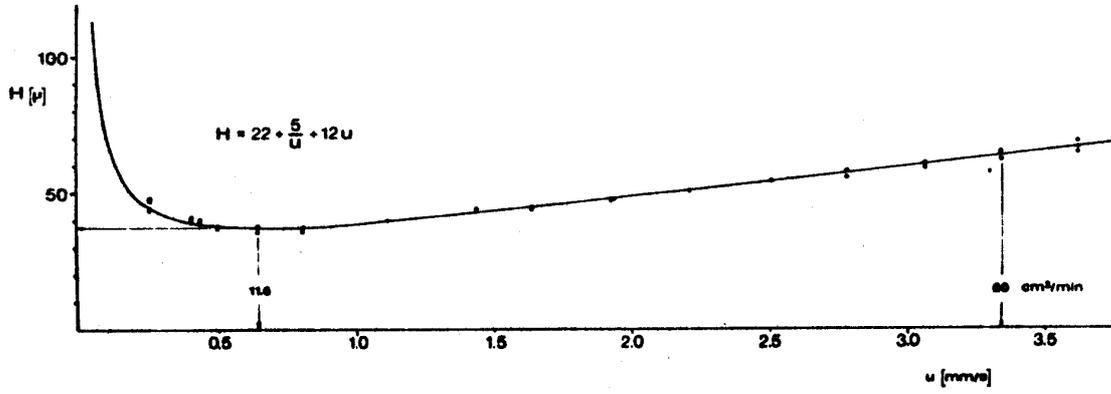


Abb. 26a

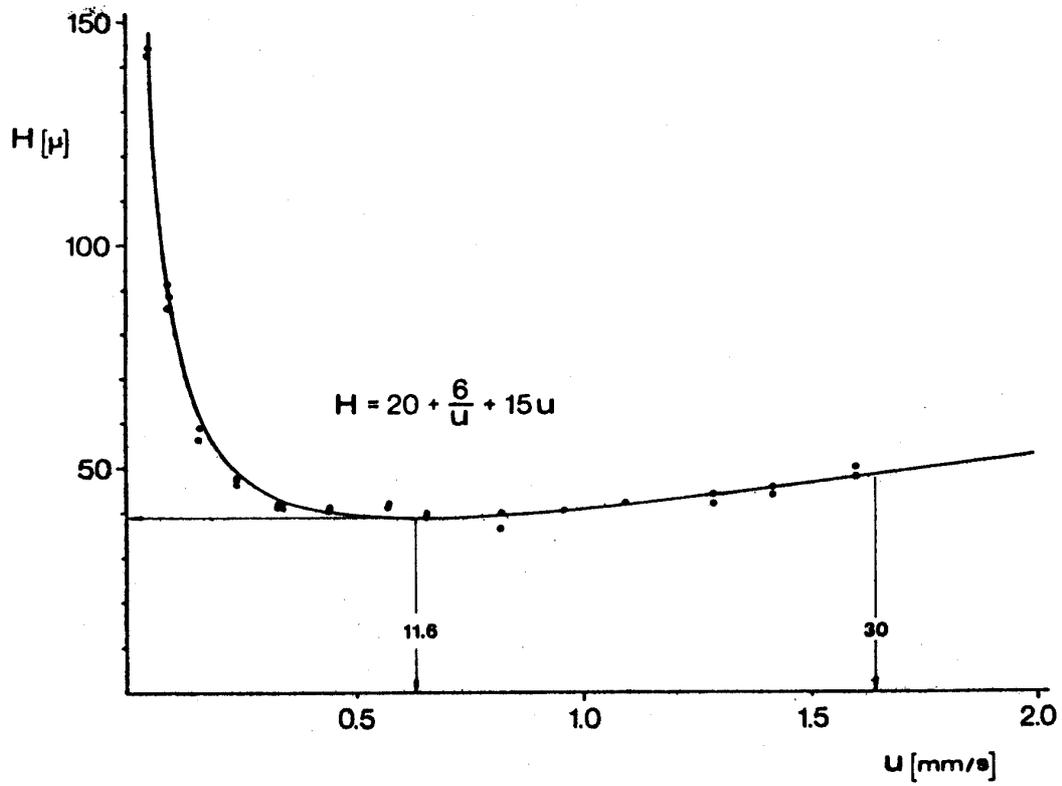


Abb. 26b

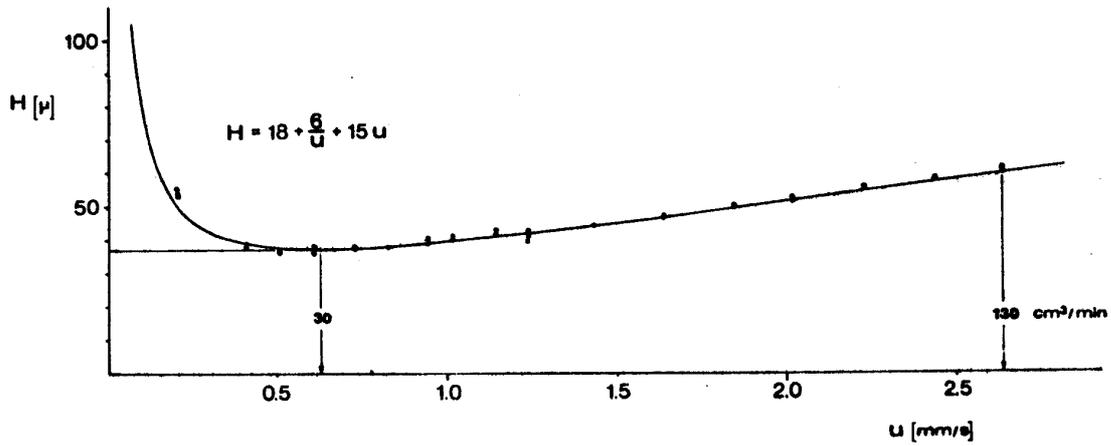


Abb. 26c

Abb. 26 van Deemter-Kurven, Naphthalin/Petrolether(tiefs.)-
Ethylacetat 95:5
a, b Säule Typ B; c Säule Typ C;
Meßmethode s. Tabelle 6a-c sowie Text S. 83

Tabelle 6a Daten zur van Deemter-Kurve (Abb.26a) einer Säule B^[a];
 Eluens: Petrolether(tief)-Ethylacetat (95:5);
 Naphthalin ($k'=0.255$); $t_0=t_R$ (Tetrachlorethylen);
 L=29.7 cm.

F [ml/min]	t_0 [min]	u [mm/s]	N	H [μ]
4.8	19.07	0.260	6777	43.8
	19.13	0.259	6703	44.3
	19.18	0.258	6144	48.3
	19.35	0.256	6229	47.7
7.25	12.24	0.404	7174	41.4
	12.20	0.406	7394	40.2
	12.20	0.406	7641	38.9
7.95	11.24	0.440	7370	40.3
	11.24	0.440	7522	39.5
	11.23	0.441	7708	38.5
8.95	9.93	0.498	7970	37.3
	9.95	0.497	7974	37.2
	9.93	0.498	7803	38.1
11.55	7.68	0.645	7910	37.5
	7.68	0.645	7807	38.0
	7.69	0.644	8290	35.8
14.65	6.09	0.813	7855	37.8
	6.09	0.813	8123	36.6
	6.09	0.813	8002	37.1
20.25	4.41	1.122	7480	39.7
	4.41	1.122	7489	39.7
	4.42	1.121	7501	39.6
25.95	3.45	1.44	6739	44.1
	3.44	1.44	6722	44.2
	3.45	1.44	6742	44.1
29.5	4.014	1.642	6654	44.6
	3.015	1.642	6729	44.1
	3.015	1.642	6660	44.6
34.6	2.563	1.930	6230	47.7
	2.546	1.944	6264	47.4
	2.563	1.932	6310	47.1
39.5	2.240	2.210	5874	50.6
	2.245	2.205	5836	50.9
	2.245	2.205	5859	50.7
45.0	1.975	2.506	5470	54.3
	1.973	2.508	5438	54.3
	1.976	2.505	5529	53.7
49.95	1.778	2.784	5335	55.7
	1.777	2.786	5162	57.5
	1.776	2.787	5131	57.9
54.9	1.613	3.068	5052	58.8
	1.615	3.064	4909	60.5
	1.616	3.063	4869	61.0
60.0	1.483	3.338	4627	64.2
	1.483	3.338	4560	65.1
	1.483	3.338	4778	62.2
64.5	1.370	3.163	4312	68.9
	1.369	3.615	4586	64.8
	1.368	3.618	4460	66.6

[a] Nr 4 von Tabelle 2

Tabelle 6b Daten zur van Deemter-Kurve (Abb.26b) einer Säule B; Testbedingungen s. Tabelle 6a; t_0 wurde nach der auf S.10 angegebenen Methode bestimmt: $V_0=85.42 \text{ cm}^3$, $t_0=LF/V_0$, $L=28.0 \text{ cm}$.

F [ml/min]	u [mm/s]	N	H [μ]
0.9	0.049	1955	143.2
		1957	143.3
		1927	145.3
1.7	0.093	3568	78.5
		3435	81.5
		3675	76.2
2.9	0.158	4808	58.2
		4760	58.8
		4930	56.8
4.3	0.235	5985	46.8
		6083	46.0
		5868	47.7
6.0	0.328	6760	41.4
		6670	42.0
6.2	0.339	6737	41.4
		6645	42.1
8.0	0.437	6863	40.8
		6992	40.0
		6919	40.5
10.4	0.568	6830	41.0
		6734	41.6
		6678	41.9
12.0	0.656	6924	40.4
		6905	40.6
		7135	39.2
15.0	0.819	6942	40.3
17.6	0.961	7694	36.4
		6942	40.3
20.0	1.093	6962	40.2
		6616	42.3
23.6	1.289	6604	42.4
		6719	41.7
26.0	1.420	6378	43.9
		6385	43.9
29.2	1.595	6183	45.3
		5830	48.0
		5594	50.1

Tabelle 6c Daten zur van Deemter-Kurve (Abb. 26c) einer Säule C, Testbedingungen wie in Tabelle 6a; L=45.3 cm.

F [ml/min]	t ₀ [min]	u [mm/s]	N	H [μ]
10.15	36.98	0.204	8410	53.9
	36.85	0.205	8560	52.9
	36.73	0.206	8190	55.3
20.15	18.32	0.412	11860	38.2
	18.35	0.411	11750	38.6
	18.35	0.411	11740	38.6
25.02	14.72	0.513	12260	36.95
	14.79	0.511	12550	36.10
30.00	12.37	0.610	12480	36.3
	12.36	0.611	11910	38.0
	12.36	0.611	12470	36.3
35.90	10.36	0.729	12220	37.1
	10.36	0.729	12290	36.9
	10.37	0.728	11870	38.2
40.75	9.11	0.829	11960	37.9
	9.11	0.829	11970	37.8
	9.11	0.829	11960	37.9
46.20	7.98	0.946	11250	40.3
	7.98	0.946	11600	39.0
	8.00	0.944	11670	38.8
50.00	7.40	1.020	11070	40.9
	7.41	1.019	11000	41.2
	7.40	1.020	11530	39.3
56.00	6.58	1.147	10620	42.7
	6.60	1.144	10960	41.3
	6.60	1.144	10580	42.8
60.30	6.11	1.236	11460	39.5
	6.11	1.236	10610	42.7
	6.11	1.236	11020	41.1
71.00	5.25	1.438	10330	43.9
	5.26	1.435	10310	43.9
	5.26	1.435	10270	44.1
80.90	4.61	1.638	9700	46.7
	4.61	1.638	9650	46.9
	4.61	1.638	9650	46.9
91.90	4.08	1.851	9240	49.0
	4.09	1.846	9080	49.9
	4.09	1.846	9250	49.0
99.80	3.74	2.019	8880	51.0
	3.74	2.019	8670	52.2
	3.74	2.019	8660	52.3
110.0	3.38	2.234	8180	55.4
	3.38	2.234	8230	55.0
	3.38	2.234	8180	55.4
121.5	3.09	2.443	7780	58.2
	3.09	2.443	7760	58.4
	3.09	2.443	7810	58.0
130.0	2.86	2.640	7550	60.0
	2.87	2.631	7460	60.7
	2.86	2.640	7380	61.4

Tabelle 7 Aus den Daten der Tabellen 6a-c ermittelte van Deemter-Kenngrößen

Säule Typ	A [μ]	B [$10^3 \mu^2/s$]	C [$10^{-3} s$]	Meßbereich u [mm/s]	u_0 [mm/s]	H [μ]	H (u=5mm/s) [μ]
B	22	5	12	0.26-3.62	0.645	37.5	83
B	20	6	15	0.05-1.60	0.632	38.8	96.2
C	18	6	15	0.20-2.64	0.632	37.0	94.2
[a]	61	6	26		0.48	86.2	192.4

[a] Richtwerte nach Halász, Gl. 8d (S. 8) mit $d_p = 20.4 \mu$.

Für die Diskussion der Daten muß auf die am Anfang gegebenen Erläuterungen zur van Deemter-Gleichung (S.6-8) zurückgegriffen werden. Als Bewertungsgrundlage ist insbesondere Gl. 8d, deren Erfüllung nach Halász eine optimal gepackte Säule anzeigt, gut geeignet.

$$H = 3 d_p + \frac{6}{u} + \frac{d_p^2}{16} u \quad \text{Gl. 8d}$$

Die aus dieser Gleichung für $d_p = 20.4 \mu$ (dynamische Korngröße des hier verwendeten Kieselgels, vgl. S.58) folgenden Werte für A, B und C sind in Tab. 7 eingetragen. Das graphische Komplement bildet Abb. 3 (Kurve nach Gl. 8d, $d_p = 20 \mu$).

Wie die vorher angeführten Meßresultate, belegen die Daten der Tabelle 7, daß das Packverfahren ausgezeichnet reproduzierbar ist. Für die verschiedenen dimensionierten Säulen Typ B und C besteht kein Unterschied in der Qualität des Adsorbensbettes. Es ist deutlich besser als nach Gl. 8d zu erwarten gewesen wäre. Der Vergleich der Kennzahlen, speziell des A-Terms, von Tab. 7 zeigt das eindeutig:

- Verhältnismäßig wenig signifikant ist Term B. Er beschreibt die longitudinale Diffusion in der mobilen Phase und ist daher primär eine Funktion des Diffusionskoeffizienten D_m : $B = 2 \gamma D_m$. Die gute Übereinstimmung von Meß- und Richtwert belegt, daß D_m (Naphthalin) in Petroether-Ethylacetat 95:5 dem angenommenen Wert von $3 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2/s$ nahe kommt.

- Term A charakterisiert die Güte der Packung. Der Wert von $A \approx 1d_p$ ist um den Faktor drei "besser" als der Richtwert. Dieses außergewöhnlich gute Ergebnis bestätigt die Folgerung aus den Permeabilitätsmessungen: das neue Packverfahren liefert ein äußerst homogen und dicht gepacktes Adsorbensbett, Wandeffekte sind nicht vorhanden.
- Term C beschreibt den Stoffaustausch zwischen Eluens und Adsorbens. Er spiegelt hauptsächlich die Testbedingungen (D_m) und die Qualität des Adsorbens (Porenstruktur etc.) wieder. Auch hier finden wir ein wesentlich besseres Ergebnis als nach Gl. 8 zu erwarten war. Das verwendete relativ breit klassierte und daher billige Kieselgel besitzt demnach ausgezeichnete chromatographische Eigenschaften: ein Kompliment an den Hersteller (Merck).

Das Zusammenwirken der durch die Terme A, B, C beschriebenen Effekte bestimmt die Effizienz der Trennsäule. Die maximale Trennleistung wird durch Arbeiten im Minimum der van Deemter-Kurve (H_0/u_0) erreicht. Wir finden $H_0 = 1.8-1.9 d_p$, der Richtwert beträgt $4.2 d_p$. Auch u_0 ist deutlich günstiger als der Richtwert (je höher u_0 , desto schneller kann unter Optimalbedingungen gearbeitet werden). Schließlich ist in Tabelle 7 noch die Bodenhöhe H für die sehr hohe Eluengeschwindigkeit $u = 5 \text{ mm/s}$ (250 ml/min für die Säule C!) angegeben. Selbst bei dieser extremen Geschwindigkeit sollten die Trennsäulen mehr als die doppelte Trennleistung besitzen, als es die Richtwerte vorhersehen lassen.

Das Wertepaar H_0/u_0 sowie die im vorhergehenden Abschnitt bestimmte Permeabilität K_F erlauben die Abschätzung der maximalen Zahl an theoretischen Böden, die bis 20 bar mit unseren Säulen erreicht werden kann. Es lassen sich z. B. mit 3 hintereinandergeschalteten Säulen C bei 20 bar noch ca. 25 ml/min Durchfluß, $u=0.51 \text{ mm/s}$ (vgl. Tab.6c) erzeugen. Die Gesamtsäulenlänge beträgt dann 135 cm und die Gesamtbodenzahl ca. 35000. Experimente mit gekoppelten Säulen haben diese Abschätzung bestätigt. Da die Chromatographiedauer unter den extremen Bedingungen relativ hoch ist (mehrere Stunden), wird man sie nur in

Sonderfällen anwenden.

Gl. 8d ist aus den Erfahrungen mit analytischen HPLC-Säulen (3-6 mm Durchmesser) abgeleitet worden. Daß Säulen mit wesentlich größerem Durchmesser bessere Effizienz besitzen, ist einerseits verständlich, da Wandeffekte wegfallen, andererseits nicht selbstverständlich, denn es wird als zweiter nachteiliger Effekt ein Wärmestau bedingt durch Reibungseffekte beobachtet [11]. Aus diesem Grunde lassen sich mit den üblichen analytischen Säulen durch Hintereinanderschaltung keine sehr hohen Bodenzahlen erzielen. Auch die fast ideale Peaksymmetrie, $SI=1.06 \pm 0.04$ (s. o.), wird mit analytischen Säulen nicht erreicht. Man betrachtet Werte $SI < 1.5-2$ schon als gut. Es konnte kürzlich gezeigt werden [31], daß der Wärmestau bei 1 mm-Säulen nicht auftritt, weshalb Bodenzahlen von ca. 1 000 000 tatsächlich realisierbar geworden sind (geschätzte Obergrenze 10 000 000). Eine Untersuchung der Wärmeaustauschvorgänge in chromatographischen Säulen von präparativem Format wäre von großem Interesse.

Wie schon in der Einleitung dieser Arbeit gesagt wurde, gibt es leider nur wenige ernstzunehmende Arbeiten über präparative Flüssigkeitschromatographie, d. h. über Säulen vom Durchmesser $> ca. 10$ mm. Unter diesen wiederum gibt es nur zwei, in denen Säulen mit einer Effizienz beschrieben werden, die der obigen nahekommt.

Von Godbille und Deveaux [14b] stammt ein sehr originelles Packverfahren, dessen Güte an Säulen vom Innendurchmesser 18 mm¹⁾ überprüft wurde. Mit engstklassiertem Kieselgel $d_p=10 \mu$ wurde $H_o=3.2 d_p$ bei $u_o=0.36$ mm/s und $SI=1.35$ erreicht. Der D_m -Wert des Testsystems war allerdings mit $1.45 \cdot 10^{-5}$ cm²/s ungewöhnlich niedrig, so daß die Richtwerte entsprechend Gl. 8d nicht gelten. Gl. 8d stellt nur den Spezialfall einer allgemeinen Gleichung dar²⁾. Aus dieser folgt: $H_o=4.2 d_p$, $u_o=0.47$ mm/s. Auch das Godbille-Deveaux-Verfahren liefert also Säulen, die als sehr gut einzustufen sind.

1) Mit demselben Verfahren, das inzwischen kommerziell ausgewertet wird, lassen sich Säulen mit bis zu 8 cm Innendurchmesser packen. Leider ist über die Effizienz noch nichts publiziert worden.

2) Vgl. [32]: $H=3 d_p + \frac{2 D_m}{u} + \frac{d_p^2}{5.3 D_m} u$; Einheiten wie auf S. 8 für Gl. 8d angegeben, D_m [10^{-5} cm²/s].

In der zweiten Arbeit, von Beck und Halász [27], wird die Anwendung von Standard-Packtechniken für analytische Säulen auf Säulen größeren Durchmessers beschrieben. Zum einen wurden mit der üblichen Trockentechnik Teilchen $d_p = 36-50 \mu$ in Säulen vom Durchmesser 4, 20 und 50 mm gepackt. Die Säulen mit dem größeren Durchmesser zeigten wesentlich bessere Effizienz als die analytische (4 mm). Die Richtwerte nach Gl. 8d wurden jedoch nicht erreicht. Unsere ebenfalls trocken gepackten älteren [6] sowie die käuflich erhältlichen Merck-Lobar-Säulen [5] besitzen eine bessere Effizienz ($A \sim 2 d_p$). Das Standard-Naßpackverfahren wurde mit Teilchen $d_p = 10 \mu$ und 10-15 μ auf Säulen mit 20 mm Innendurchmesser ausgedehnt. Hier entsprach der A-Term dem Richtwert, der C-Term war um den Faktor 1.5 besser. Über die Peakform wird leider nichts ausgesagt.

Der Vergleich sowohl mit den Richtwerten nach Halász als auch mit den besten in der Literatur verzeichneten Ergebnissen anderer Autoren belegt, daß das einfache und billige Verfahren dieser Arbeit präparative Trennsäulen liefert, die in ihrer Effizienz dem erreichbaren Optimum sehr nahe kommen.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] B.Glatz, G.Helmchen, unveröffentlichte Arbeiten 1976/77.
- [2] (a) R.Kuhn, E.Lederer, *Naturwissenschaften* 19, 306 (1931),
Ber.Dtsch.Chem.Ges. 64, 1349 (1931);
(b) M.Steiger, T.Reichstein, *Helv.Chim.Acta* 21, 546 (1938).
- [3] (a) H.Engelhardt, *Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie*,
2.Aufl., Springer-Verlag, Berlin 1977.
(b) P.A.Bristow, *Liquid Chromatography in Practice*, hept,
Macclesfield 1977.
(c) P.A.Bristow, *Liquid Chromatography in Practice*, Hand-
forth, Cheshire 1976.
(d) R.P.W.Scott, *Contemporary Liquid Chromatography*,
Techniques of Chemistry, Bd.11, John Wiley, New York
1976.
(e) *Basic Liquid Chromatography*, Spectra-Physics Technical
Marketing Dptmt., Darmstadt und Santa Clara.
(f) L.R.Snyder, J.J.Kirkland, *Introduction to Modern Liquid
Chromatography*, Wiley-Interscience, New York 1974.
(g) N.Hadden, *Basic Liquid Chromatography*, Varian Aerograph,
U.S.A. 1971.
(h) J.J.Kirkland (Ed.), *Modern Practice of Liquid Chromato-
graphy*, Wiley-Interscience, New York 1971.
- [4] L.R.Snyder, *Principles of Adsorption Chromatography*, Marcel
Dekker, New York 1968.
- [5] Merck Patent GmbH (Erf. F.Eisenbeiß, S.Ehlerding), D.O.S.,
2132686 (18.Jan.1973) [*Chem.Abstr.* 78, 99584p (1973)].
- [6] B.Glatz, Dissertation, Universität Stuttgart 1976.
- [7] J.J.Kirkland, W.W.Yan, H.J.Stoklosa, C.H.Dilks Jr.,
J.Chromatog.Sci. 15, 303 (1977).
- [8] J.Kwok, L.R.Snyder, J.C.Sternberg, *Anal.Chem.* 40, 118 (1968).
- [9] P.A.Bristow, J.H.Knox, *Chromatographia* 10, 279 (1977).
- [10] I.Halász in [3 h], S. 328.
- [11] I.Halász, *Z.Anal.Chem.* 277, 257 (1975).
- [12] I.Halász, M.Näfe, *Anal.Chem.* 44, 74 (1972).
- [13] L.R.Snyder, *Anal.Chem.* 39, 698 (1967).
- [14] (a) R.Endele, I.Halász, K.Unger, *J.Chromatogr.* 99, 377 (1974);
(b) E.Godbille, P.Devaux, *J.Chromatogr.* 122, 317 (1976).
- [15] B.L.Karger, M.Martin, G.Guichon, *Anal.Chem.* 46, 1640 (1974).
- [16] J.H.Knox, J.F.Parcher, *Anal.Chem.* 44, 74 (1972).
- [17] J.H.Knox, G.L.Laird, P.A.Rasen, *J.Chromatogr.* 122, 129 (1976).
-

- [18] J.Vermont, M.Delenil, A.J.de Vries, L.L.Guillemain, Anal. Chem. 48, 1329 (1975).
- [19] V.Řehák, E.Smolková, Chromatographia 9, 219 (1976).
- [20] K.Karch, I.Sebastian, I.Halász, J.Chromatogr. 122, 3 (1976).
- [21] R.K.Gilpin, D.J.Camillo, C.H.Janicki, J.Chromatogr. 121, 13 (1976).
- [22] R.K.Gilpin, J.A.Korpi, C.A.Janicki, Anal.Chem. 47, 1498 (1975).
- [23] W.Strubert, Chromatographia 6, 50 (1973).
- [24] Handbook of Chemistry and Physics, 53.Aufl., The Chemical Rubber Co., Cleveland 1972/73.
- [25] J.J.DeStefano, H.C.Beachell, J.Chromatog.Sci. 10, 654 (1972).
- [26] A.Wehrli, Z.Anal.Chem. 277, 289 (1975).
- [27] W.Beck, I.Halász, Fresenius Z.Anal.Chem. 291, 340 (1978).
- [28] P.A.Bristow, J.Chromatogr. 149, 13 (1978).
- [29] P.A.Bristow, P.N.Brittain, C.M.Riley, B.F.Williamson, J.Chromatogr. 131, 57 (1977).
- [30] K.Hafner, H.Kaiser, Org.Synth.Coll.Vol.V, 1088.
- [31] R.P.W.Scott, P.Kucera, J.Chromatogr. 169, 51 (1979).
- [32] I.Halász, J.Aßhauer, R.Endele, J.Chromatogr. 112, 37 (1975).