

- [62] C. Leforestier, *J. Chem. Phys.* 68, 4406 (1978).
 [63] K. Müller, *F. Previdoli*, noch unveröffentlicht.
 [64] K. Müller, *L. D. Brown*, noch unveröffentlicht.
 [65] R. B. Woodward, R. Hoffmann: Die Erhaltung der Orbitalsymmetrie. Verlag Chemie, Weinheim 1970; *Angew. Chem.* 81, 797 (1969); *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 8, 781 (1969).
 [66] Ian Fleming: Grenzorbitale und Reaktionen organischer Verbindungen. Verlag Chemie, Weinheim 1979.
 [67] N. D. Epitiotis: Theory of Organic Reactions. Reactivity and Structure – Concepts in Organic Chemistry. Vol. 5. Springer, Berlin 1978.
 [68] R. D. Bowen, D. H. Williams, G. Hvilstedahl, *J. Am. Chem. Soc.* 99, 7509 (1977).

Chromatographische Racemattrennung

Von Gottfried Blaschke^[*]

Neue analytische Methoden (17)

Durch Chromatographie an optisch aktiven Adsorbentien werden zahlreiche Racemate in die optisch reinen Enantiomere gespalten. Zur Trennung eignen sich synthetische Polymere mit optisch aktiven Amid-, Aminosäure- und Kronenethergruppen, Naturstoffe wie Stärke und Cellulose sowie mikrokristalline Triacetylcellulose. Racemate sind ferner gaschromatographisch an optisch aktiven stationären Phasen zu trennen.

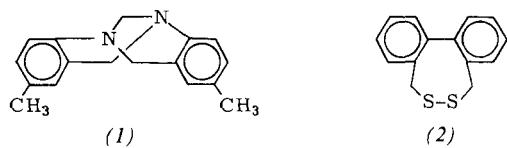
1. Einleitung

Das übliche Verfahren der Racemattrennung ist die fraktionierende Kristallisation diastereomerer Salze. Diese klassische Methode ist jedoch oft verlustreich und langwierig, im wesentlichen auf Carbonsäuren und Amine beschränkt und gibt nicht immer optisch reine Präparate. Dazu bemerkt ein bekanntes Lehrbuch der Stereochemie^[1a]: „Eine Racemattrennung ist nach wie vor eine Kunst. Deshalb kommt es nicht nur vor, daß in der Literatur beschriebene Racematspaltungen schwer reproduzierbar sind, sondern auch, daß ein guter Experimentierkünstler weiter kommt, d. h. höhere optische Reinheit oder bessere Ausbeuten erzielt als ein früherer Autor!“ Man hat daher versucht, andere Methoden zur Trennung racemischer Gemische zu entwickeln^[1b]. So wurden racemische Alkohole mit optisch aktiven Isocyanaten zu diastereomeren Carbamaten^[2] und racemische Amine mit optisch aktiven Lactonen zu diastereomeren Amiden^[3] umgesetzt und dann an Aluminiumoxid oder Silicagel getrennt. Aber auch diese Diastereomerentrennung erfordert geeignete funktionelle Gruppen in den Enantiomeren und ist wegen der Herstellung und Verseifung von Diastereomeren außerdem recht umständlich.

In diesem Aufsatz wird über eine direkte chromatographische Methode berichtet: die Racemattrennung an optisch aktiven Adsorbentien. Durch reversible Adsorption entstehen diastereomere Komplexe, deren unterschiedliche Stabilität verschiedene Fließgeschwindigkeiten beider Enantiomere hervorruft und dadurch die Trennung ermöglicht.

Seit Willstätter^[4] haben viele Arbeitsgruppen nach geeigneten optisch aktiven Adsorbentien für die chromatographische Racemattrennung gesucht. Dennoch waren bis vor kurzem die vielen Trennversuche, in etwa 400 Veröffentlichun-

gen^[5] und mehreren Übersichtsaufsätze^[6-8] beschrieben, nur in Ausnahmefällen erfolgreich. Bekannt ist die Trennung der Trögerschen Base (1), die wegen ihrer Säureempfindlichkeit anders nicht spaltbar ist. Prelog und Wieland^[9] reichertem bei der Chromatographie von (1) an (+)-Lactosehydrat als optisch aktivem Adsorbens die Enantiomere in Anfangs- und Endfraktion an und trennten die überschüssigen Enantiomere durch fraktionierende Kristallisation ab. Aus 6 g Racemat erhielten sie nach Elution mit 18 l Petroläther an 2.7 kg Adsorbens aber nur 150 mg (+)- und (-)-(1).



Ähnlich haben Lüttringhaus et al.^[10] das cyclische Disulfid (2) durch wiederholte Chromatographie an einer 6.5 m langen Säule aus partiell acetylierter Cellulose und anschließende fraktionierende Kristallisation in Enantiomere zerlegt. Auch an Stärke^[7], Cellulose und vielen synthetisch hergestellten Adsorbentien wie polymer gebundenem L-Ephedrin oder polymer gebundenen L-Aminosäuren sind chromatographische Anreicherungen von Enantiomeren gelungen^[11]. 1970 beschrieben Losse et al.^[6] den Stand der chromatographischen Racemattrennung: „Die Übersicht zeigt, daß sich heute mit Sicherheit reproduzierbare Trenneffekte an zahlreichen asymmetrischen Trägern und Phasen nachweisen lassen. ... Dennoch darf erwartet werden, daß sich dieses Trennprinzip durch Weiterentwicklung der Trägersubstanzen und der Arbeitsmethodik in absehbarer Zeit zu einem rationellen präparativen Darstellungsverfahren gestalten läßt.“ Diese Erwartung hat sich inzwischen für viele Racemate erfüllt.

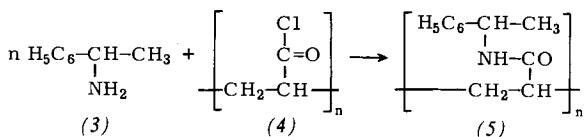
[*] Prof. Dr. G. Blaschke
Pharmazeutisches Institut der Universität
An der Immenburg 4, D-5300 Bonn 1

2. Polymerisate optisch aktiver Acryl- und Methacrylamide

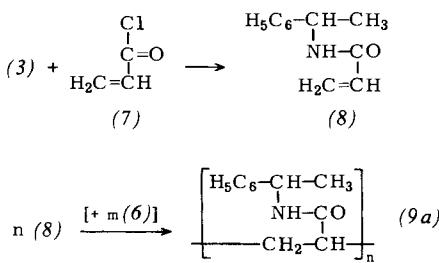
2.1. Suche nach neuen Adsorbentien unter Verwendung doppelmarkierter Racemate

Die systematische Suche nach besseren Adsorbentien ist dadurch erschwert, daß große Mengen der Adsorbentien hergestellt werden müssen und auch die Durchführung und Auswertung der Chromatographieversuche viel Zeit erfordert. Ferner täuschen optisch aktive Verunreinigungen aus dem Säulenmaterial oft eine Trennung vor. Zur Suche nach neuen Adsorbentien haben sich enantiomeren spezifisch doppelmarkierte Racemate^[12] sehr bewährt. Als Test-Racemat für die Säulentrennung diente zunächst wie bei den meisten früheren Versuchen Mandelsäure. Ein Enantiomer wurde ³H-, das andere ¹⁴C-markiert. Die Gewichtsmenge oder Konzentration des einen Enantiomers ist demnach zur ³H-, die des anderen zur ¹⁴C-Aktivität proportional. Der Versuch wird mit etwa 1 mg Racemat durchgeführt; dafür sind nur etwa 5 g Adsorbens erforderlich. Verunreinigungen aus dem Fließmittel oder optisch aktive Verunreinigungen stören die Radioaktivitätsmessungen nicht. Die Doppelmarkierung ermöglicht demnach eine rasche und zuverlässige Bestimmung der Trennwirkung neuer Adsorbentien.

Synthetische Adsorbentien zur Chromatographie waren früher stets durch polymeranaloge Umsetzung eines optisch aktiven Monomers mit reaktionsfähigen Polymeren hergestellt worden. Auch die neuen Adsorbentien synthetisierte man zunächst durch Reaktion optisch aktiver Amine wie 1-Phenylethylamin (3) mit vernetztem Polyacrylsäurechlorid (4) [Vernetzungsmittel: Ethylendiacyrat (6)]^[13].



Adsorbentien wie das Polyamid (5) trennten racemische Mandelsäure auch nicht andeutungsweise^[13,14]. Lediglich an einigen basischen Polyester^[13] waren ähnlich wie an Cellulose und Stärke geringe Anreicherungen in Anfangs- und Endfraktionen meßbar. Selbst diese geringe Trennwirkung war jedoch auf Carbonsäuren beschränkt^[13,14]. Chromatographische Racemattrennungen an polymeranalog hergestellten Adsorbentien sind demnach eine Ausnahme.



Die Trennwirkung polymerer Adsorbentien hängt außerordentlich stark vom Syntheseverfahren ab. So trennt das

Polyamid (9a), durch radikalische Copolymerisation des Acrylamids (8) mit dem Vernetzer Ethylendiacrylat (6) erhalten, im Gegensatz zum polymeranalog hergestellten Adsorbens (5) der gleichen Zusammensetzung sowohl racemische Mandelsäure als auch racemisches Mandelamid^[15]. (8) ist durch Reaktion von (S)-1-Phenylethylamin (3) mit Acrylsäurechlorid (7) in hoher Ausbeute zu erhalten. Die Trennwirkung solcher Polymerisate wird durch Polymerisationsbedingungen und Emulgator sowie Lösungsmittel- und Vernetzerkonzentration stark beeinflußt. Die Optimierung gelang durch systematische Variation der Polymerisationsparameter und chromatographische Prüfung mit doppelmarkierter Mandelsäure^[15].

Die radikalische Suspensionspolymerisation ergibt die Adsorbentien in nahezu quantitativer Ausbeute als schneeweisse Perlpolymerate, die in Benzol, Toluol oder Chloroform zu durchscheinenden Gelen quellen und in der Chromatographiesäule hohe Fließgeschwindigkeiten ermöglichen. Aufgrund der Vernetzung sind die Adsorbentien unlöslich, mechanisch stabil, können getrocknet und wieder gequollen werden und lassen sich ohne Einbuße an Trennwirkung beliebig oft zur Chromatographie verwenden.

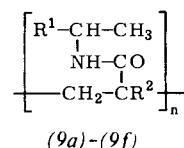
Die Trennung von Mandelsäure und Mandelamid an einigen dieser Polyamide ist in Tabelle 1 (Phenylethyl- und Cyclohexylethylaminderivate^[16, 17]) und Tabelle 2 (Aminosäureester^[18]) zusammengestellt. Als Maß für die Trennung dient die optische Ausbeute^[14]. Diese wurde aus der optischen Reinheit p_i [Gl. (1)] und der Masse m_i jeder Fraktion des Chromatographieversuchs nach Gl. (2) berechnet.

$$p_i = \text{optische Reinheit} = \frac{|\text{spez. Drehung des Enantiomerengemisches}|}{|\text{spez. Drehung des reinen Enantiomers}|} \times 100 [\%] \quad (1)$$

$$\text{optische Ausbeute} = \frac{\sum (p_i \cdot m_i)}{\sum m_i} [\%] \quad (2)$$

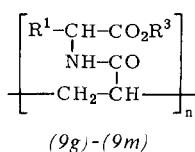
Fängt man das gesamte Eluat eines Chromatographieversuches in Form einer linksdrehenden und einer rechtsdrehenden Fraktion auf, so ist das Mittel aus den Werten der optischen Reinheit dieser beiden Fraktionen die optische Ausbeute. Sie wird deshalb auch als „mittlere Aktivierung \bar{A} “^[19] oder als „prozentuale Aktivierung“ gerechnet über alle Fraktionen einer Chromatographie^[20] bezeichnet.

Tabelle 1. Trennwirkung von Polyacryl- und Polymethacrylamiden optisch aktiver Phenylethyl- und Cyclohexylethylaminderivate vom Typ (9a)–(9f) [16, 17], mit Ethylenidiacyrlyat (6) vernetzt. [Säulenlänge: 11–28 cm; Fließmittel: Benzol/Dioxan-Mischungen]



Poly- mer	R ¹	R ²	opt.	Ausb. [%]
			Mandel- säure	Mandel- amid
(9a)	C ₆ H ₅	H	28	35
(9b)	C ₆ H ₅	CH ₃	8.0	81
(9c)	c-C ₆ H ₁₁	H	12	35
(9d)	c-C ₆ H ₁₁	CH ₃	58	92
(9e)	1-Naphthyl	CH ₃	0.0	97
(9f)	p-I-C ₆ H ₄	H	0.0	0.0

Tabelle 2. Trennwirkung von Polyacrylamiden optisch aktiver Aminosäureester vom Typ (9g)–(9m) [18], mit Ethylenacrylat (6) vernetzt. [Säulenlänge: 17–34 cm; Fließmittel: Benzol/Dioxan-Mischungen.]



Polymer	R ¹	R ³	opt. Ausb. [%]	Mandel-säure	Mandel-amid
(9g)	CH ₃	C ₂ H ₅	14	18	
(9h)	c-C ₆ H ₁₁ CH ₂	C ₂ H ₅	31	59	
(9i)	C ₆ H ₅	C ₂ H ₅	46	34	
(9j)	C ₆ H ₅ CH ₂	C ₂ H ₅	51	96	
(9k)	p-HOC ₆ H ₄ CH ₂	C ₂ H ₅	0	0	
(9l)	p-CH ₃ CO ₂ C ₆ H ₄ CH ₂	C ₂ H ₅	21	42	
(9m)	C ₆ H ₅ CH ₂	t-C ₄ H ₉	89	80	

Bis auf wenige Ausnahmen trennen kurze Säulen der Polymerisate (9) sowohl Mandelsäure als auch Mandelamid weitgehend (Abb. 1). Ersatz der toxischen Fließmittelkomponente Benzol durch Toluol führt in allen überprüften Fällen zu praktisch gleichen Ergebnissen^[22].

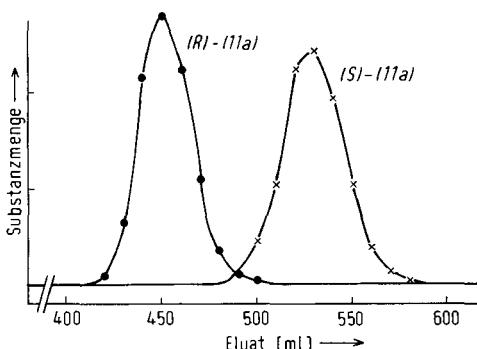


Abb. 1. Chromatographische Racemattrennung von 0.1 mg doppelmarkiertem Mandelamid (11a) an 9.0 g (9j) [Säule: 23 × 1.7 cm; Fließmittel: Toluol/Dioxan (95:5)]. Die aufgetragene Substanzmenge wird vollständig zurückhalten.

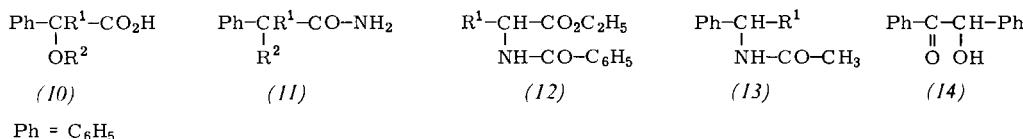
Wie die Tabellen 1 und 2 zeigen, beeinflussen schon kleine Strukturunterschiede der optisch aktiven Gruppe das Trennergebnis. Ferner verändert die Substitution der Polymerkette die Stereoselektivität der Adsorption. Während z. B. das Polyacryramid (9a) (S)-Mandelsäure und (R)-Mandelamid stärker zurückhält, wird vom Polymethacryramid (9b) sonst gleicher Struktur und Konfiguration jeweils das andere Enantiomer bevorzugt adsorbiert^[16]. Dieser Befund sowie das völlige Fehlen einer Trennwirkung polymeranalog hergestellter Polyamide wie (5) schließt die Wechselwirkung einzelner optisch aktiver Reste des Adsorbens mit den Enantiomeren als Ursache der Racemattrennung aus. Vielmehr dürfte die unterschiedliche Einpassung der Enantiomere in asymmetrische Hohlräume der Polymerkette die Trennung bewirken. Bei der radikalischen Polymerisation der Acryl- und Methacrylamide mit voluminösen Substituenten entstehen vermutlich geordnete Bereiche mit Helixstruktur. Im Inneren der Helix befindet sich die Polymerkette mit den adsorptiv wirksamen Amidgruppen; die optisch aktiven Substituenten weisen nach außen. Zwischen diesen bilden sich asymmetrische Hohlräume, in welche Substanzen durch Wasserstoffbrückenbindungen hineingezogen werden. Die unterschiedliche Einpassung bestimmt die durchschnittliche Verweildauer der Enantiomere in den Hohlräumen des Adsorbens.

Erwartungsgemäß ändert sich beim Wechsel der Konfiguration der optisch aktiven Reste am Adsorbens bei sonst gleichem Versuchsergebnis auch die Konfiguration des stärker gebundenen Enantiomers^[15].

2.2. Präparative Trennung racemischer Modellverbindungen

Tabelle 3 zeigt eine kleine Auswahl präparativer Trennversuche an den Polyacrylamiden (9a), (9c) und (9j) sowie den Polymethacrylamiden (9b) und (9d)^[17,21]. (9a, b) sind aus (S)-1-Phenylethylamin (S)-(3), (9c, d) aus (S)-1-Cyclohexylethylamin, (9j) aus (S)-Phenylalanin einfach herzustellen. Standardfließmittel der Chromatographieversuche war Ben-

Tabelle 3. Optische Ausbeuten präparativer Trennversuche mit Verbindungen vom Typ (10)–(14) an den Adsorbentien (9j) und (9a–d). (Erläuterungen siehe Text.)



Race-mat	R ¹	R ²	opt. Ausb. [%] des Versuchs an				
			(9j)	(9a)	(9b)	(9c)	(9d)
(10a)	H	CH ₃	[a]	27	8.5	47	0.9
(10b)	c-C ₆ H ₁₁	H	[a]	25	11	4.0	18
(11a)	H	OH [f]	60	39	29	[a]	[a]
(11b)	CH ₃	OH	32	39	26	43	63
(12a)	p-HOC ₆ H ₄ CH ₂		25	27	33	39	81
(12b)	3-Indolyl-CH ₂		29	8.6	20	54	64
(13a)	CH ₃		35	26	36 [b] 57 [c]	29	33
(13b)	CH(CH ₃) ₂			6.4	24	44 [d] 58 [e]	22
(14)				7.3	0.6	22	10

[a] Nicht bestimmt. Säulenlänge [cm]: [b] 43, [c] 116, [d] 39, [e] 107. [f] Die Diskrepanz zu den Werten in Tabelle 1 und 2 erklärt sich durch unterschiedliche Fließmittel und Säulenlänge.

zol. Wurde die Substanz zu langsam eluiert, so verwendet man stärker polare Benzol/Dioxan-Mischungen, bei zu rascher Elution weniger polare Benzol/Cyclohexan-Gemische. Austausch von Benzol gegen Toluol veränderte auch bei diesen präparativen Trennungen das Ergebnis nicht. Nach Blindversuchen enthielt das Eluat der vernetzten Polyamide keine Rückstände; die Versuche waren daher störungsfrei durch Wägung der Abdampfrückstände und Drehwertmessungen auszuwerten. Da die Trennwirkung der Säulen auch nach wiederholtem Gebrauch unverändert blieb, wurden die präparativen Trennungen jeweils an den gleichen Säulenfüllungen mit 150–300 mg der nicht markierten Racemate bei Schichthöhen von 16–65 cm durchgeführt. Erwartungsgemäß war die Trennung an längeren Säulen [Versuche mit den Racematen (13a, b)] besser.

Alle Verbindungen in Tabelle 3 können Wasserstoffbrückenbindungen mit den Amidgruppen der optisch aktiven Adsorbentien bilden und werden chromatographisch meist weitgehend getrennt. Ein Beispiel ist die Trennung von *N*-Benzoyltyrosin-ethylester (12a) am Polymethacrylamid (9d) (Abb. 2). Austausch von Benzol im Fließmittel gegen Toluol verbessert die Trennwirkung noch geringfügig^[22].

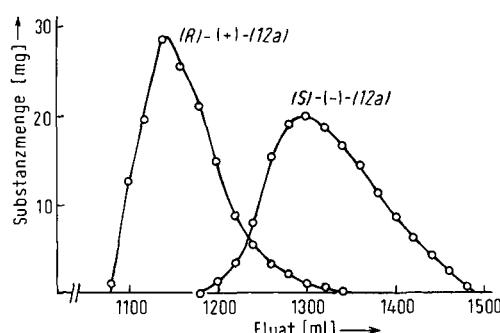


Abb. 2. Chromatographische Racemattrennung von 302 mg *N*-Benzoyltyrosin-ethylester (12a) an 65 g (9d) [Säule: 65 × 2.5 cm; Fließmittel: Benzol/Dioxan (80:20)].

Bei Trennversuchen mit neuen Racematen ist nicht abzuschätzen, an welchem Adsorbens sie am besten getrennt werden. Möglicherweise sind für einige Racemate andere der in den Tabellen 1 und 2 aufgeführten und im präparativen Maßstab bisher nicht untersuchten Adsorbentien besonders geeignet.

Vollständige Trennung erhält man durch mehrmalige Chromatographie am gleichen Adsorbens. Das Eluat wird zur Kontrolle des Trennerfolgs durch die Kuvette eines Polarimeters und Differentialrefraktometers und dann im Kreislauf wieder durch die Säule gepumpt. Mandelamid (11a) z. B. ist nach vier Durchläufen an einer Säule des Polyamids (9j) vollständig und verlustfrei getrennt^[22].

Optisch reines (13b) lässt sich bisher überhaupt nur durch chromatographische Racemattrennung erhalten. Frühere Versuche zur Synthese des optisch aktiven Amids (13b) über eine konventionelle Racemattrennung des Amins (13b), NH₂ statt NHCOCH₃, waren erfolglos geblieben^[23a]. Schließlich gelang die Synthese eines rechtsdrehenden Präparats unbekannter optischer Reinheit aus einer optisch aktiven Carbonsäure^[23]. Chromatographie von (13b) am Adsorbens (9b) ergab in Anfangs- und Endfraktionen Präparate mit sehr viel höherem Drehwert; dieser Wert nahm bei erneuter Chromatographie der Proben nicht zu und sicherte damit die optische Reinheit^[21]. Auch bei hoher Säulenbelastung bleibt die

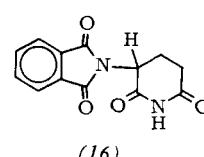
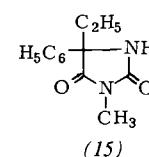
Trennwirkung optisch aktiver Polyamide weitgehend erhalten. Selbst bei einem Gewichtsverhältnis von Adsorbens (9b): Racemat (13b) wie 40:1 wurden noch 12% (+)-Enantiomer in optisch reiner Form abgetrennt^[23b].

2.3. Präparative Trennung racemischer Arzneistoffe

Bei Arzneistoffen unterscheiden sich die Enantiomere meist in ihrer physiologischen Wirkung, aber auch in ihren unerwünschten Nebenwirkungen. Die Polyamide vom Typ (9) sind besonders mit dem Ziel der Trennung racemischer Arzneistoffe entwickelt worden. Die Polyamide zerlegen chirale Arzneistoffe mit Amid- und Imidstrukturen, deren Enantiomere nach konventionellen Methoden nur schwierig oder überhaupt nicht synthetisiert sind.

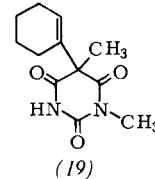
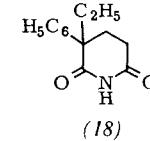
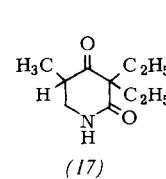
Tabelle 4 macht erneut die extremen Unterschiede der Trennwirkung dieser Adsorbentien am Beispiel von zwei Arzneistoffen deutlich. Während die Polyamide (9j) und (9a-d) racemisches Mandelamid (11a) annähernd gleich gut trennen, wird das racemische Antiepileptikum Mephenytoin (15) (Mesantoin[®]) von (9j) gut, von (9d) schlecht getrennt. Umgekehrt wird Thalidomid (16) (Contergan[®]) an (9j) praktisch nicht, an (9d) jedoch vollständig in die Enantiomere zerlegt.

Tabelle 4. Optische Ausbeuten präparativer Trennversuche mit den Arzneistoffen Mephenytoin (15) und Thalidomid (16) an den Adsorbentien (9j) und (9a-d). (Erläuterungen siehe Text.)



Race-mat	(9j)	opt. Ausb. [%] des Versuchs an	(9a)	(9b)	(9c)	(9d)
(15)	55	9.8	34	21	0.6	
(16)	3.8	7.2	42	1.5	100	

Das Hypnotikum Methyprylon (17) (Noludar[®]) war bisher nur durch 400malige Kristallisation (20 kg Ausgangsmaterial) mit weniger als 0.05% Ausbeute in optisch aktiver Form zu erhalten^[24]. (17) lässt sich chromatographisch an den Cyclohexylpolymeren (9c) und (9d) mit optischen Ausbeuten um 35% teilweise trennen.



Auch die Hypnotika Glutethimid (18) (Doriden[®]) und Hexobarbital (19) (Evipan[®]) werden weitgehend getrennt. Durch wiederholte Chromatographie sind (+)- und (−)-(15) sowie (+)-(19) jeweils in optisch reiner Form isoliert worden^[17]. Von den bisher an Polyamiden chromatographierten Racematen wird Thalidomid (16) am besten getrennt (Abb. 3)^[17,26].

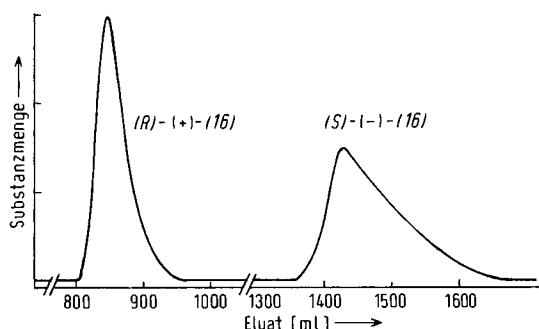
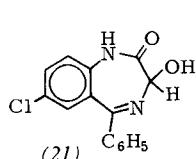
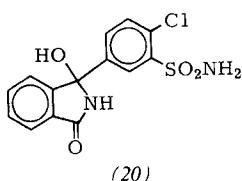


Abb. 3. Chromatographische Racemattrennung von 52 mg Thalidomid (16) an 65 g (9d) [Säule: 80 × 2.3 cm; Fließmittel: Benzol/Dioxan (80:20)].

Bisher waren Enantiomere dieses seinerzeit als Racemat verwendeten Stoffs nur durch aufwendige Synthese aus einer kostspieligen optisch aktiven Vorstufe zugänglich^[25]. Sehr einfacher ist auch im präparativen Maßstab die chromatographische Racemattrennung. Zwar verbreitern sich die Peaks bei steigender Beladung der Säule, doch sind an der gleichen Säule mit 65 g (9d) bis zu 500 mg racemisches (16) zu trennen. Dabei verbleibt zwischen den Eluaten von rechts- und linksdrehender Form eine substanzfreie Zwischenfraktion von mindestens 120 ml. Die Säulenfüllung kann beliebig oft verwendet werden.

Da sich an der gleichen Säule auch kleine Substanzmengen verlustfrei trennen lassen, kann die optische Reinheit analytisch durch Chromatographie bestimmt werden. Synthetisch hergestelltes, optisch aktives Thalidomid wurde an (9d) chromatographiert. Das Mengenverhältnis der Enantiomere und damit der Racemisierungsgrad war durch spektral-photometrische Gehaltsbestimmung der beiden Eluatfraktionen genau zu bestimmen^[17].

Die chromatographisch isolierten Thalidomid-Enantiomere sind auf teratogene Wirkung untersucht worden^[26]. Bei intraperitonealer Applikation an Mäusen und Ratten besitzt nur (S)-(-)-Thalidomid teratogene Eigenschaften. (R)-(+)-Thalidomid dagegen löst selbst bei höchster Dosierung unter den Versuchsbedingungen keine Mißbildungen aus.



Am Polyacrylamid (9j) wird das Diureticum Chlorthalidon (20) (Hygroton®) vollständig getrennt^[22]. Beim in Abbildung 4 wiedergegebenen Versuch wurde die Säulentemperatur nach Elution von (-)-Chlorthalidon auf 40 °C erhöht; dadurch nahm die Elutionsgeschwindigkeit des (+)-Enantiomers zu, d. h. der Zeitbedarf für die Trennung wurde verringert.

Beide Enantiomere wurden damit erstmals optisch rein erhalten. Sie racemisieren jedoch sehr leicht in alkalischer Lösung^[22]. Auch das Psychopharmakon Oxazepam (21) (Adumbran®) ist am Polyamid (9j) chromatographisch vollständig zu trennen^[22], doch racemisieren die Enantiomere bereits unter dem katalytischen Einfluß einer Glasoberfläche. Sie müssen daher in Kunststoffgefäßen aufgefangen

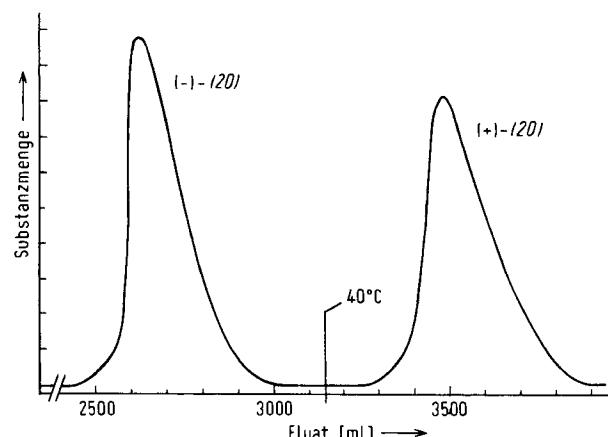
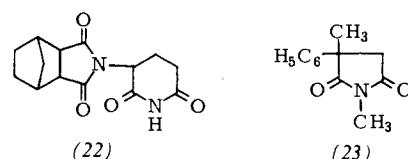
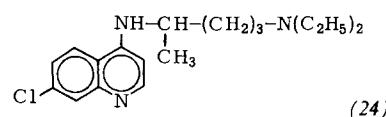


Abb. 4. Chromatographische Racemattrennung von 530 mg Chlorthalidon (20) an 250 g (9j) [Säule: 76 × 3.2 cm; Fließmittel: Toluol/Dioxan (1:1); Druck: 1.2 bar].

und eingedampft werden. Solche extrem leicht racemisierenden Verbindungen lassen sich überhaupt nur chromatographisch in Enantiomere zerlegen.



An Polyamiden sind weitere Arzneistoffe wie das potentielle Hypnoticum Biglumid (22)^[27] teilweise getrennt worden^[17]. Von (22) isolierte man beide Enantiomere^[22]. Verbindungen mit N-alkylierten Imidgruppen wie Mesuximid (23) (Pelinutin®), die keine Wasserstoffbrückenbindungen mit dem Adsorbens bilden, werden mit der Fließmittelfront eluiert und nur wenig getrennt^[17].



Durch chromatographische Racemattrennung ließen sich die Drehwerte für optisch aktives Chloroquin (24) überprüfen^[29]. Als wichtiges Antimalariamittel (Resochin®) ist (24) früher über diastereomere Salze in die für Enantiomere gehaltenen Präparate mit $[\alpha]_D$ -Werten von +12.3 und -13.2° getrennt worden^[28]. Da sich diese Präparate in Antimalariawirkung und Toxizität nicht unterschieden, wurde Chloroquin Lehrbuchbeispiel für einen Arzneistoff, dessen Enantiomere entgegen der Erfahrung gleiche erwünschte und unerwünschte pharmakologische Wirkung aufweisen. Durch Chromatographie am Polyamid (9j) erhielt man jedoch eine Chloroquin-Probe mit viel höherem spezifischem Drehwert^[29]. Die optische Reinheit früherer Präparate hatte demnach nur etwa 10% betragen. Optisch reines (+)-Chloroquin, jetzt auch synthetisch leicht zugänglich^[29], ist gegen Malaria stärker wirksam^[30, 31] und auch weniger toxisch^[31] als das Racemat.

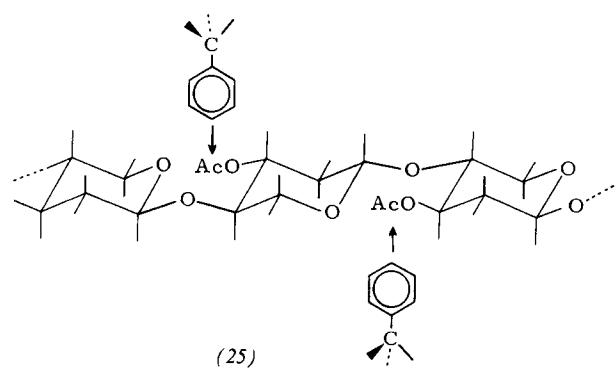
3. Mikrokristallines Cellulosetriacetat

3.1. Trennprinzip

Das von *Hesse* und *Hagel*^[32] eingeführte mikrokristalline Cellulosetriacetat [vgl. (25)] ist ein optisch aktives Adsorbens, welches in vielen Fällen erstaunlich gute Trennungen ermöglicht. *Lüttringhaus*^[10] hatte sich früher eingehend mit Racemattrennungen an einer teilacetylierten Cellulose, dem „Cellulose-2½-acetat“, befaßt, aber meist nur sehr geringe Anreicherungen beobachtet. Diese Celluloseester waren in homogener Lösung hergestellt und dann ausgefällt worden, wobei die ursprüngliche Kristallstruktur der Cellulose verlorengegangen war.

Cellulose lässt sich in Benzolsuspension auch heterogen acetylieren; die Faserstruktur mit kristallinen Bereichen bleibt dabei erhalten. Die lamellare Anordnung nach Art eines Kristallgitters ermöglicht wie ein zweidimensionales Molekularsieb den Einschluß von Gastmolekülen. Diese werden zwischen zwei Ebenen der Schichtstruktur eingeklemmt und befinden sich dann in asymmetrischer Umgebung, da die sterisch festgelegten Estergruppen des Cellulosetriacetats auch in die Zwischenräume hineinreichen. Die chromatographische Racemattrennung beruht auf der unterschiedlichen Einpassung in die Hohlräume; *Hesse* bezeichnet daher dieses Verfahren als Inclusionschromatographie.

Besonders vorteilhaft für die Trennung ist eine möglichst unsubstituierte Phenylgruppe in der Nähe des Chiralitätszentrums; diese Gruppe paßt besonders gut in die Nischen zwischen den Pyranringen der Cellulosefaser und ist damit Ankergruppe. Das zu trennende Racemat braucht also keine funktionelle Gruppe zur Adsorption an die chirale Matrix zu besitzen.

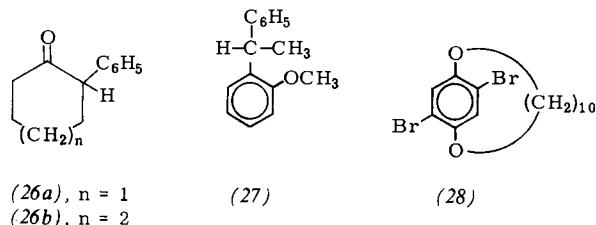


Beim Umfällen des mikrokristallinen Cellulosetriacetats werden die kristallinen Bereiche zerstört, womit auch die Trennwirkung fast völlig verloren geht. Das unterschiedliche Trennvermögen mikrokristallinen und amorphen Cellulosetriacetats erinnert an die Befunde bei synthetischen Polyamiden. Auch hier hatten sich nur bei der Polymerisation der optisch aktiven Monomere regelmäßige Anordnungen der optisch aktiven Reste gebildet, durch welche Trennungen möglich wurden.

3.2. Trennung von Modellverbindungen

Standardfließmittel für die Chromatographie an mikrokristallinem Cellulosetriacetat ist 95proz. Ethanol, in dem das Adsorbens gut quillt, aber nur wenig löslich ist. *Hesse* und

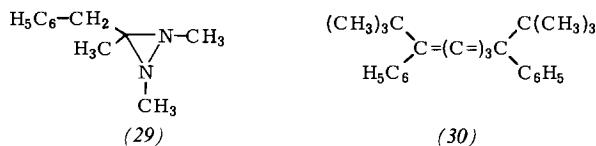
Hagel haben zahlreiche Racemate an einer 40 cm langen Säule chromatographiert. Unter diesen Bedingungen wurden die Trögersche Base (1), 1,2-Dithia-4,5:6,7-dibenzocyclooctadien (2)^[33], 2-Phenylcyclohexanon (26a), 2-Phenylcycloheptanon (26b), 2-(1-Phenylethyl)anisol (27) und 2,5-Dibrom-O,O'-decamethylenhydrochinon (28) vollständig getrennt.



Weitere Racemate wurden jedoch unvollständig oder schlecht getrennt. So beeinträchtigen *m*- und *p*-ständige Substituenten sowie Carboxygruppen die Trennung. *Hesse*^[34] beurteilt die Anwendbarkeit mikrokristallinen Cellulosetriacetats wie folgt: „Die vollständige Racemattrennung bleibt auch bei der Inclusionschromatographie an Celluloseestern immer noch ein Glücksfall. Eine meßbare Aktivierung chiraler Verbindungen dagegen ist fast die Regel.“

In der Arbeitsgruppe des Autors hat *Markgraf*^[22] viele der an Polyamiden teilweise getrennten Racemate zum Vergleich auch an mikrokristallinem Cellulosetriacetat chromatographiert. Ausgewählt wurden Racemate mit unsubstituierter aromatischer Gruppe in unmittelbarer Nähe des Chiralitätszentrums – nach den bisherigen Erfahrungen optimale Voraussetzung für eine Trennung am Triacetat. Die 85 cm lange Cellulosetriacetatsäule zerlegte diese Racemate mit sehr unterschiedlichen optischen Ausbeuten, teils besser, teils schlechter als die Polyamide, in keinem Fall aber vollständig. So wurde das am Polyamid (9d) weitgehend gespaltene Tyrosinderivat (12a) am Triacetat überhaupt nicht, Benzoin (14) und Benzoinacetat [(14), OCOCH₃ statt OH] dagegen besser als an Polyamiden getrennt.

Mikrokristallines Cellulosetriacetat ist ferner zur chromatographischen Racematspaltung leicht racemisierender Verbindungen verwendet worden.

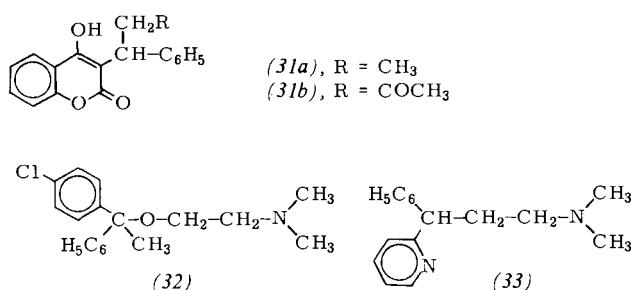


Mannschreck et al.^[35] zerlegten chirale Diaziridine wie (29) durch wiederholte Chromatographie an einer kurzen Säule; *Bertsch* und *Jochims*^[36] trennten das chirale Pentatetraen (30) an einer gekühlten Säule in einem Durchlauf.

3.3. Trennung von Arzneistoffen und ihren Syntheseverstufen

Die Eignung mikrokristallinen Cellulosetriacetats zur chromatographischen Enantiomerentrennung von Arzneistoffen hat ebenfalls *Markgraf*^[22] stichprobenartig untersucht. Das Adsorbens ist für die Enantiomerentrennung von

Thalidomid (16), Chlorthalidon (20), Oxazepam (21) und Chloroquin (24) ungeeignet. Weitere Arzneistoffe wie die Antikoagulantien Phenprocoumon (31a) (Marcumar®) und Warfarin (31b) oder die Antihistaminica Chlorphenoxoamin (32) (Systral®) und Pheniramin (33) (Avil®) werden ebenfalls eluiert, ohne daß die Fraktionen meßbare optische Aktivität zeigen, obwohl mit der unsubstituierten Phenylgruppe am Chiralitätszentrum die Voraussetzung für eine Trennung gegeben ist.



Glutethimid (18), Mephenytoin (15) und Mesuximid (23) werden dagegen weitgehend getrennt. Einen geringen Effekt beobachtet man bei der Chromatographie von Methyprylon (17), das keine Phenylgruppe enthält.

Überraschend gute Ergebnisse erhält man bei der Chromatographie *N*-methylierter Barbiturate an Cellulosetriacetat. Diese Barbiturate sind nach Knabe et al.^[37] aus optisch aktiven Vorstufen zugänglich; die Enantiomere weisen oft sehr unterschiedliche Wirkungen auf.

Am mikrokristallinen Cellulosetriacetat werden Hexobarbital (19) (Abb. 5) sowie die *N*-methylierten Barbiturate (34a, b, d-f) vollständig, (34c, g) teilweise und (34h, i) nicht getrennt (siehe Tabelle 5). Bei (34h) reicht vermutlich der Größenunterschied zwischen Ethyl- und Propylgruppe nicht aus, bei (34i) ist das Chiralitätszentrum in der Seitenkette von der adsorptiv wirksamen Imidgruppe im Heterocyclus zu weit entfernt. Wie die guten Trennungen einiger aliphatisch substituierter Barbiturate zeigen, ist aber eine Phenylgruppe für die Trennung nicht unbedingt erforderlich.

Auch die Cyanessigester (35a-c), Synthesevorstufen chiraler Barbiturate^[37], werden an Cellulosetriacetat getrennt^[22]. Die Trennung verschlechtert sich jedoch mit zunehmender Kettenlänge der Gruppe R^1 . Bei der Methylverbindung

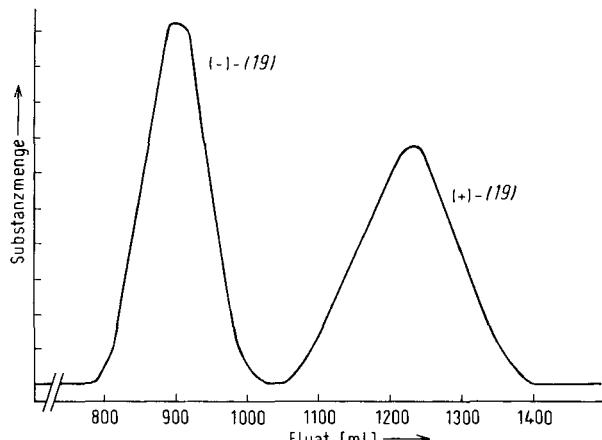


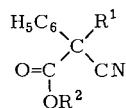
Abb. 5. Chromatographische Racemattrennung von Hexobarbital (19) an Cellulosetriacetat [Säule: 85 × 2.5 cm; Fließmittel: Ethanol/Wasser (95:5); Druck: 1.2 bar].

Tabelle 5. Präparative Trennversuche mit chiralen Barbituraten am Cellulosetriacetat [Säule: 85 × 2.5 cm; Fließmittel: 95proz. Ethanol]. Bei einigen Versuchen sind neben der optischen Ausbeute Trennfaktoren und Auflösungen angegeben.

Racemat	R^1	R^2	opt. Ausb. [%]	Trennfaktor	Auflösung
(34a)	Phenyl	CH ₃	100		
(34b)	Phenyl	C ₂ H ₅	100	2.3	2.3
(34c)	Phenyl	C ₃ H ₇	48		
(19)	1-Cyclohexenyl	CH ₃	100	1.7	1.5
(34d)	1-Cyclohexenyl	C ₂ H ₅	100	2.0	1.7
(34e)	Cyclohexyl	CH ₃	100	1.9	1.5
(34f)	Cyclohexyl	C ₂ H ₅	100	2.4	1.7
(34g)	1-Cyclopentenyl	C ₂ H ₅	68		
(34h)	<i>n</i> -Propyl	C ₂ H ₅	0		
(34i) [a]	Vinyl	CH(CH ₃) ₂	0		

[a] NH statt NCH₃.

(35a) liegen die Elutionskurven beider Enantiomere weit auseinander. Sie berühren sich bei der Ethylverbindung (35b) und überschneiden sich bei der Butylverbindung (35c). Die Carbonsäure (35d) wird dagegen nicht getrennt.



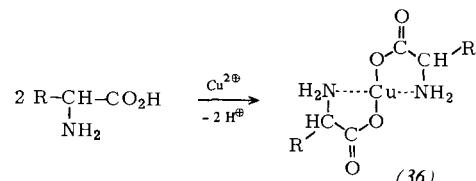
(35a), $R^1 = CH_3$, $R^2 = CH_3$; (35b), $R^1 = C_2H_5$, $R^2 = CH_3$; (35c), $R^1 = C_4H_9$, $R^2 = CH_3$; (35d), $R^1 = CH_3$, $R^2 = H$

Auch bei Cellulosetriacetat ist also wie bei Polyamiden das Ergebnis von Chromatographieversuchen aus der Struktur der zu trennenden Enantiomere nicht sicher abzuleiten.

4. Ligandenchromatographie

4.1. Trennprinzip

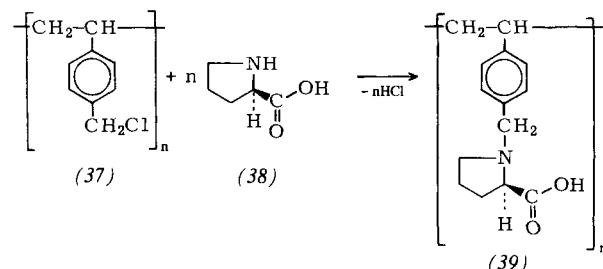
Aminosäuren bilden in wässriger Lösung mit Cu²⁺-Ionen Komplexe der Struktur (36). In diesen Chelaten ist das Zentralatom mit zwei Aminosäuremolekülen verbunden.



Bei der Ligandenchromatographie als Methode zur Racemattrennung wird ein Ligand in optisch aktiver Form kovalent an einen unlöslichen Träger gebunden. Nach Beladung dieses Adsorbens mit Cu²⁺-Ionen chromatographiert man das Racemat. Die Enantiomere bilden mit den Cu²⁺-Ionen und dem Adsorbens diastereomere Chelatkomplexe, deren unterschiedliche Stabilität die chromatographische Racemattrennung ermöglicht.

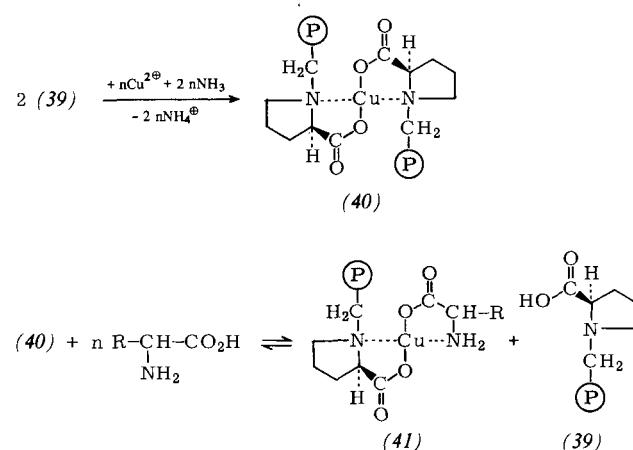
4.2. Durchführung und Anwendung der Ligandenchromatographie

Die Ligandenchromatographie ist besonders im Arbeitskreis von Davankov^[38] zur Trennung racemischer α -Aminosäuren entwickelt worden. Als Adsorbens eignet sich vor allem polymer gebundenes L-Prolin, das zum einen gute Trennungen ermöglicht, zum anderen unter den Bedingungen des Chromatographieversuchs praktisch nicht racemisiert, so daß diese Adsorbentien wiederholt verwendbar sind. Man stellt das polymer gebundene L-Prolin (39) durch Umsetzung von vernetztem chlormethyliertem Polystyrol (37) mit L-Prolin (38)^[39] oder besser mit L-Prolinethylester und anschließende Verseifung der Estergruppe^[40] her.



Das hellbraune Präparat (39) wird mit ammoniakalischer Kupfer(II)-nitratlösung gewaschen, wobei es eine dunkelblaue Farbe annimmt – ein Zeichen, daß sich zwischen zwei benachbarten polymer gebundenen Prolinresten über das Cu^{2+} -Ion jeweils der Chelatkomplex (40) gebildet hat. Das 2:1-Verhältnis von Aminosäureresten zu Cu^{2+} -Ionen wurde durch Titration und Elementaranalyse bewiesen^[40].

Nach Beladung mit Cu^{2+} -Ionen ist das Adsorbens für den Trennversuch gebrauchsfertig. Der damit gefüllten Säule wird eine kurze Säule mit kupferfreiem Adsorbens (39) nachgeschaltet, um ausgewaschene Cu^{2+} -Ionen zu binden. Bei der Chromatographie einer racemischen α -Aminosäure an (40) verdrängt ein Aminosäuremolekül jeweils einen der polymer gebundenen Prolinliganden unter Bildung des gemischten Komplexes (41) aus polymer gebundenem L-Prolin und der Aminosäure.



Die beiden Komplexe (41) mit der D- und der L-Aminosäure unterscheiden sich im Energieinhalt um bis zu 825 cal/mol^[41]. Dieser Unterschied wirkt sich auf die Lage des Gleichgewichts zwischen freier und komplexierter Aminosäure aus. Meist ist der Komplex (41), der die L-Aminosäure

enthält, weniger stabil, wodurch die L-Aminosäure rascher eluiert wird.

Besonders gut läßt sich racemisches Prolin am Prolinpolymer (40) trennen. Die Unterschiede des Energieinhalts der Diastereomere sind hier so hoch, daß L-Prolin bereits mit Wasser, D-Prolin erst mit Ammoniaklösung eluiert wird. Dabei verdrängt Ammoniak D-Prolin aus dem Komplex (41). Beide Enantiomere erhält man vollständig und optisch rein durch Abdampfen der Eluate. Bemerkenswert hoch ist die Trennkapazität. An 12 g (40) lassen sich 0.5 g racemisches Prolin vollständig trennen^[39]. Zur Regenerierung der Säule braucht lediglich der Ammoniaküberschuß mit Wasser ausgespült zu werden.

An (40) sind zahlreiche weitere Aminosäuren teilweise oder vollständig in Enantiomere zerlegt worden^[41]. Tabelle 6 gibt die Ergebnisse einiger Trennversuche an (40) wieder. Als Maß für die Trennung ist der Trennfaktor, definiert als Quotient der Nettoretentionsvolumina beider Enantiomere, angegeben.

Tabelle 6. Trennfaktoren bei der Chromatographie einiger racemischer Aminosäuren an (40) [41] [Fließmittel: 0.3 M NH_4OH].

Racemat	Trennfaktor	Racemat	Trennfaktor
Norvalin	1.40	Phenylalanin	1.63
Norleucin	1.54	Tyrosin	2.46
Prolin	4.00	Methionin	1.04
Hydroxyprolin	3.85		

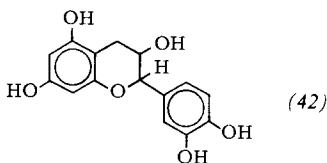
Auch andere Aminosäuren wie L-Hydroxyprolin^[42], L-allo-Hydroxyprolin^[43] und Azetidincarbonsäure^[41] sind kovalent an Polystyrol gebunden worden. Diese Adsorbentien trennen Enantiomere aber wie Ni^{2+} -Komplexe^[44] meist sehr viel schlechter als der Cu^{2+} -Komplex polymer gebundenen L-Prolins. (40) zerlegt ferner Racemate anderer Stoffklassen wie Diamine, Hydroxyamine und Hydroxsäuren zumindest teilweise in Enantiomere^[45].

Durch Ligandenchromatographie lassen sich somit einige Verbindungen hervorragend trennen, wobei die hohe Belastbarkeit des Adsorbens besonders vorteilhaft ist. Die Methode bleibt aber auf Verbindungen mit Amino- und/oder Carboxygruppen beschränkt, die auch konventionell über diastereomere Salze trennbar sind.

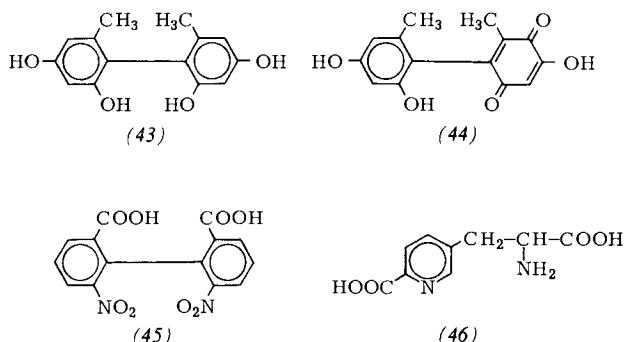
5. Cellulose und Stärke

Bei papierchromatographischen Trennungen hat man gelegentlich die Zerlegung von Racematen an der optisch aktiven Cellulose des Papiers beobachtet. So werden Catechin und Epicatechin (42) in Enantiomere gespalten. Diese Trennung ist auch präparativ nutzbar^[46]. Ferner sind papierchromatographische Trennungen racemischer Aminosäuren^[47] und Alkaloide^[48] beschrieben worden. Die chromatographische Racemattrennung an Cellulose setzt aber Strukturelemente wie mehrere benachbarte Hydroxygruppen voraus („Dreipunktregel“ von Dalgliesh^[47]). Für eine präparative Gewinnung der Enantiomere an Cellulosesäulen reichen die Unterschiede ihrer R_F -Werte meist nicht aus.

Stärke ist zur chromatographischen Racemattrennung besonders von Krebs und Musso verwendet worden. Krebs et al.^[7, 49] haben an Stärkesäulen Anreicherungen der Enantiomere von anorganischen Komplexsalzen, hydrophilen Cam-



phersäuren, Diphenolsäuren sowie Aminosäuren beobachtet. *Musso et al.*^[50] berichteten über die Trennung von Biphenyl-derivaten wie (43) und (44). Kürzlich gelang dieser Arbeitsgruppe durch Optimierung des Fließmittels und der Temperatur die vollständige Trennung von 6,6'-Dinitrodiphenolsäure (45), des Alaninderivats (46) und dessen *N*-Oxids sowie polarer Orcinderivate. Fließmittel waren wäßrige oder wäßrig-methanolische Pufferlösungen^[51].



Nach den bisherigen Ergebnissen scheint Cellulose für einige Aminosäuren, Stärke für polare Biphenyl-derivate besonders geeignet zu sein. Damit ist ihr Anwendungsbereich recht eng. Nachteilig ist ferner die geringe Belastbarkeit dieser Adsorbentien.

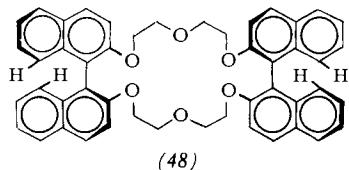
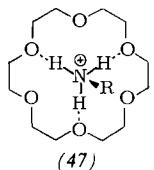
6. Weitere optisch aktive Adsorbentien zur Flüssigkeitschromatographie

Die in diesem Abschnitt besprochenen Adsorbentien sind gezielt zur flüssigkeitschromatographischen Racemattrennung bestimmter Stoffgruppen entwickelt worden. Die meist recht gute Trennung dieser Racemate muß jedoch mit einem eng begrenzten Anwendungsbereich erkauft werden.

6.1. Chirale Kronenether

Kronenether wie (47) bilden nicht nur mit Alkali- und Erdalkalimetall-Ionen, sondern auch mit Salzen primärer Alkylamine Komplexe. In diesen Komplexen sind die Wasserstoffatome der Ammoniumgruppe über Wasserstoffbrückenbindungen an die Sauerstoffatome des Kronenethers gebunden.

Optisch aktive Kronenether wie das chirale Binaphthyl-derivat (48) sind besonders im Arbeitskreis von *Cram*^[52] entwickelt und zur Racemattrennung verwendet worden. Solche Binaphthyl-derivate sind konfigurationsstabil, da die Rotation um die Binaphthylachse sterisch gehindert ist.



Alkylammonium-Ionen der Struktur R—NH₃⁺ mit chiraler Gruppe R werden in den asymmetrischen Hohlraum des Kronenethers (48) hineingezogen und bilden dadurch diastereomere Komplexe unterschiedlicher Stabilität. Solche Ammoniumsalze lassen sich daher bei geeigneter Substitution durch multiplikative Verteilung zwischen einer Wasserphase und der Lösung von (48) in einem mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittel trennen^[53].

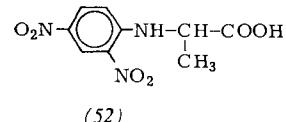
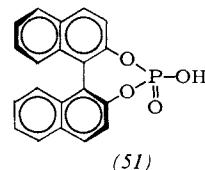
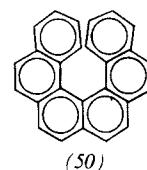
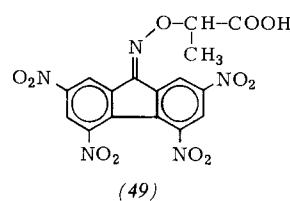
Kovalente Bindung optisch aktiver Kronenether an vernetztes Polystyrol ergibt optisch aktive Adsorbentien, die sich zur chromatographischen Racemattrennung primärer Alkylammonium-Ionen eignen. An einem solchen Adsorbens trennte man durch Hochdruckflüssigkeitschromatographie mehrere α -Aminosäuren und ihre Methylester als Perchlorate in Enantiomere, wobei die Trennfaktoren extrem hohe Werte um 20 erreichten^[54]. Bis auf wenige Ausnahmen war aus Molekülmodellen die Reihenfolge der eluierten optischen Formen vorauszubestimmen.

Auch an Silicagel, welches mit einem Derivat des Kronenethers (48) substituiert worden war, wurden Salze von *p*-Hydroxyphenylglycin-, Phenylalanin-, Tyrosin- und Tryptophanestern mit Trennfaktoren bis zu 6.4 vollständig, Salze von 1-Phenylethylamin und Valinmethylester teilweise getrennt^[55]. Diese „maßgeschneiderten“ Adsorbentien sind für diese Trennungen hervorragend geeignet. Das Chiralitätszentrum muß aber der Ammoniumgruppe direkt benachbart sein, weil nur dann die Größenunterschiede der Gruppen am Chiralitätszentrum optimal zur Geltung kommen. Leider sind die Adsorbentien sehr schwierig herzustellen.

Der Anwendungsbereich optisch aktiver Kronenether ließe sich mit makrotricyclischen Liganden auf chirale Carbonsäuren ausdehnen, deren K⁺-, Cs⁺- und Rb⁺-Salze ebenfalls enantiomerenselektiv komplexiert werden^[56].

6.2. Trennung über chirale Charge-transfer-Komplexe

Optisch aktive Charge-transfer-Reagenzien wie 2-(2,4,5,7-Tetranitro-9-fluorenylidenoaminoxy)propionsäure (49) („TAPA“) bilden mit chiralen Arenen wie Hexahelicen (50) kristalline, durch fraktionierende Kristallisation trennbare diastereomere Charge-transfer-Komplexe. Ihre unterschiedliche Stabilität läßt sich zur chromatographischen Trennung und Racemattrennung solcher Helicene nutzen. *Gil-Av et al.*^[57] haben zunächst optisch aktives (49) und ähnliche Charge-transfer-Acceptoren adsorptiv an Silicagel gebunden und daran mit Fließmitteln, in denen (49) völlig unlöslich ist, Helicene getrennt. Auch mit Silicagel, an welches (49) kova-



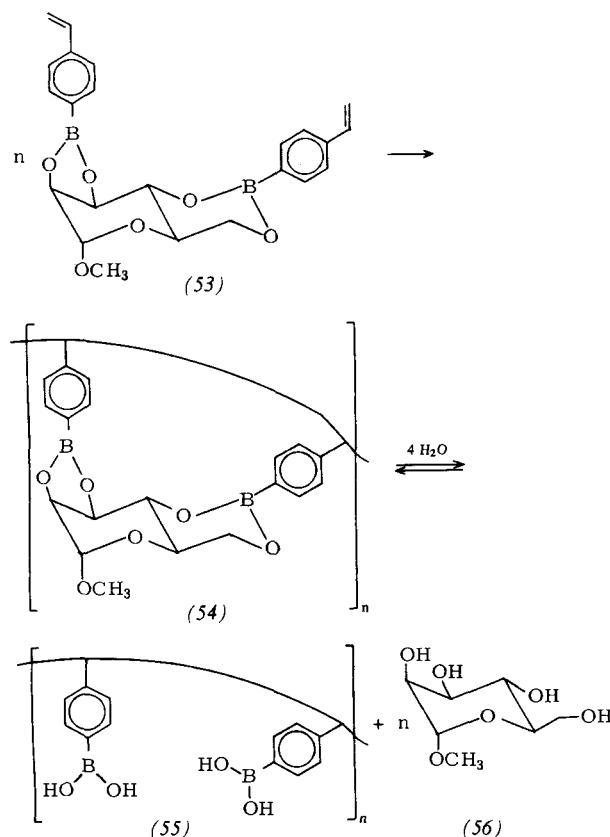
lent über die Carboxygruppe gebunden ist, sind solche Trennungen durchzuführen^[58]. Von diesen Säulen werden nicht nur racemische Helicene in Enantiomere, sondern auch Gemische von Helicenen in die Komponenten zerlegt. Da die Trennung der Helicene leichter als die Trennung der jeweiligen Helicen-Racemate gelingt, beobachtet man im Chromatogramm eines Gemisches Signalgruppen; jede Gruppe ist in die beiden Signale der Enantiomere aufgespalten. An *R*(–)-(49) wird stets das (+)-Helicen stärker gebunden. Auch das optisch aktive Binaphthylderivat (51)^[58] und das Dinitrophenylderivat (52)^[59] sind als Charge-transfer-Acceptoren für Trennungen geeignet. Solche Trennungen scheinen aber auf Helicene beschränkt zu sein.

6.3. Optisch aktiver Ionenaustauscher

Auch an optisch aktiven Ionenaustauschern sind chromatographische Trennungen racemischer Säuren und Basen versucht worden. Basische Ionenaustauscher mit Ephedrin-, Brucin- und 1-Phenylethylamin-Gruppen trennen racemische Mandelsäure nur sehr schlecht^[13, 14, 60]. Pectinsäure aus Sonnenblumen sowie Alginsäure und Polygalacturonsäure sind ebenfalls zur Trennung racemischer Basen vorgeschlagen worden^[61]. Auch Ionenaustauscher auf Sephadex-Basis eignen sich zur Anreicherung der Enantiomere^[6, 8].

6.4. Polymere Boronsäurederivate

Auf eine interessante Möglichkeit zur Racemattrennung haben Wulff et al. hingewiesen^[62]. Schon länger bekannt sind geprägte Silicagel; man erhält sie durch Fällung von Silicagel aus der Lösung einer optisch aktiven Verbindung und deren anschließende Extraktion. Dabei bleiben asymmetrische „Abdrücke“ dieser Verbindung im Gelkorn zu-



rück. Diese asymmetrische Prägung befähigt das Adsorbens, Moleküle ähnlicher Struktur stereoselektiv zu adsorbieren, wobei Moleküle der ursprünglichen Konfiguration stärker gebunden werden. Für die praktische Anwendung waren bisher die Trennleistungen solcher geprägten Gele aber viel zu gering^[63].

Wulff hat solche Hohlräume in der polymeren Boronsäure (55) durch Copolymerisation des optisch aktiven Boronsäureesters (53) mit sehr hohem Vernetzeranteil zu (54) und anschließende hydrolytische Abspaltung der optisch aktiven Matrize (56) erhalten.

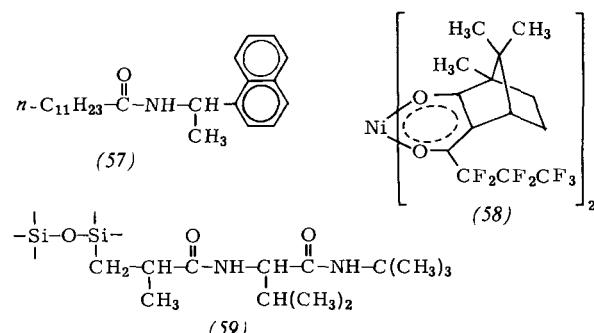
In dieser Boronsäure ist die asymmetrische Struktur durch den hohen Vernetzungsgrad weitgehend stabilisiert. Aus einer Lösung von racemischem Methyl- α -mannopyranosid (56) nimmt (55) bevorzugt das ursprünglich einpolymerisierte Enantiomer auf. Dabei werden die Enantiomere nicht adsorptiv, sondern in Umkehrung der Reaktion (54) \rightarrow (55) + (56) intermediär als Boronsäureester (54) gebunden. In geeigneten Lösungsmitteln bildet sich ein Gleichgewicht zwischen verestertem und freiem (56), und so gelingt an einer Säule bei sehr geringer Fließgeschwindigkeit die weitgehende Trennung des racemischen Methyl- α -mannopyranosids. Diese Versuche sind mit ähnlichem Ergebnis auch mit 4-Nitrophenyl- α -mannopyranosid durchgeführt worden.

Wegen der Ähnlichkeit des Trennvorgangs mit Teilschritten enzymatischer Prozesse werden diese Trennmaterialien auch als enzymanalog gebaute Polymere bezeichnet.

7. Gaschromatographische Racemattrennungen

Auch die Gaschromatographie an optisch aktiven stationären Phasen eignet sich zur chromatographischen Racemattrennung. Sie wird im analytischen Maßstab zur Konfigurationsbestimmung und zur Bestimmung der optischen Reinheit angewendet. Da diese besonders von Gil-Av, Lochmüller und Bayer entwickelten gaschromatographischen Trennungen in einem Übersichtsaufsatz^[64] ausführlich beschrieben worden sind, werden hier nur einige neue Ergebnisse als Beispiele aufgeführt.

Chirale Amide wie *N*-Trifluoracetamide, *N*-Trifluoracetylaminosäureester sowie α -Methyl- und α -Phenylcarbonsäureamide werden an (*S*)-*N*-[1-(1-Naphthyl)ethyl]dodecanamid (57)^[65] und Oxirane an Nickel(II)-bis(3-heptafluorbutyryl-(1*R*)-campherat) (58)^[66] als stationärer Phase getrennt.



Besonders geeignet zur Trennung chiraler Amide sind Polysiloxane mit kovalent gebundenen L-Valinresten wie das als Chirasil-Val bezeichnete Derivat des L-Valin-*tert*-butylamids (59)^[67].

So trennt eine mit (59) als stationärer Phase belegte, 20 m lange Kapillarsäule zahlreiche *N*- (und ggf. *O*- und *S*-)PentafluorpropionylDerivate von Aminosäure-isopropylestern sowie Arzneistoffen und deren Metaboliten vollständig in Enantiomere^[67].

Auch Substanzgemische können analysiert werden, da solche stationären Phasen gleichzeitig Gemische in die Komponenten zerlegen. Gute Trennungen an (59) scheinen weitgehend auf Amide beschränkt zu sein, da die stereoselektive Adsorption Wasserstoffbrücken zwischen Amidgruppen der Enantiomere und Amidgruppen der stationären Phase voraussetzt. Die Trennung verschlechtert sich bei Racematen *N*-alkylierter Amide.

8. Ausblick

Die chromatographische Racemattrennung ist in kurzer Zeit zu einem rationellen Trennverfahren ausgebaut worden. Bei vielen Verbindungen ermöglicht sie als bisher einzige Methode die Gewinnung der Enantiomere. Auch in Zukunft ist mit einer stürmischen Weiterentwicklung^[68] dieses Trennprinzips zu rechnen. Ziel sollte besonders die Entwicklung von Adsorbentien für konventionell nicht trennbare Racemate sowie von Adsorbentien mit breitem Anwendungsbereich sein.

Die zitierten Ergebnisse aus der eigenen Arbeitsgruppe sind den Mitarbeitern Dr. W. Backmann, Dr. F. Donow, Dr. H. P. Kraft, H. Markgraf, Dr. A. Schwanghart und Dr. D. Thieme zu verdanken. Ihnen gilt mein herzlicher Dank. Prof. Dr. J. Knabe, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, danken wir für die Anregung zur Chromatographie chiraler Barbiturate und zahlreiche Substanzproben. Für die Förderung unserer Untersuchungen sind wir der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Ministerium für Jugend, Familie und Gesundheit sowie dem Fonds der Chemischen Industrie sehr zu Dank verpflichtet.

Eingegangen am 6. Juni 1979 [A 299]

- [1] E. L. Eliel: Stereochemie der Kohlenstoffverbindungen. Verlag Chemie, Weinheim 1966; a) S. 63; b) S. 56ff.
- [2] W. H. Pirkle, M. S. Hockstra, J. Org. Chem. 39, 3904 (1974).
- [3] G. Helmchen, G. Nill, Angew. Chem. 91, 66 (1979); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 18, 65 (1979).
- [4] R. Willstätter, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 37, 3758 (1904).
- [5] V. A. Davankov, S. V. Rogozhin, A. V. Semechkin, T. P. Sachkova, J. Chromatogr. 82, 359 (1973).
- [6] G. Losse, K. Kuntze, Z. Chem. 10, 22 (1970).
- [7] H. Krebs: Die Trennung von Racematen auf chromatographischem Wege. Westdeutscher Verlag, Köln und Opladen 1956.
- [8] I. S. Krull, Adv. Chromatogr. 16, 175 (1978).
- [9] V. Prelog, W. Wieland, Helv. Chim. Acta 27, 1127 (1944).
- [10] A. Lüttringhaus, V. Hess, H. J. Rosenbaum, Z. Naturforsch. B 22, 1296 (1967).
- [11] G. Manecke, W. Lamer, Angew. Makromol. Chem. 24, 51 (1972); Naturwissenschaften 54, 647 (1967); 55, 491 (1968).
- [12] G. Blaschke, Chem. Ber. 107, 232 (1974).
- [13] G. Blaschke, Habilitationsschrift, Universität Kiel 1972.
- [14] G. Blaschke, Chem. Ber. 107, 237 (1974).
- [15] G. Blaschke, F. Donow, Chem. Ber. 108, 1188 (1975).
- [16] G. Blaschke, F. Donow, Chem. Ber. 108, 2792 (1975).
- [17] H. P. Kraft, Dissertation, Universität Bonn 1978; G. Blaschke, H. P. Kraft, noch unveröffentlicht.
- [18] G. Blaschke, A.-D. Schwanghart, Chem. Ber. 109, 1967 (1976).
- [19] G. Hesse, R. Hagel, Justus Liebigs Ann. Chem. 1976, 996.
- [20] H. J. Rosenbaum, Dissertation, Universität Freiburg 1967.
- [21] A.-D. Schwanghart, W. Backmann, G. Blaschke, Chem. Ber. 110, 778 (1977).
- [22] H. Markgraf, Dissertation, Universität Bonn, voraussichtlich 1979; G. Blaschke, H. Markgraf, noch unveröffentlicht.
- [23a] O. Cervinka, V. Dudek, L. Hub, Z. Chem. 9, 267 (1969); Collect. Czech. Chem. Commun. 35, 724 (1970).
- [23b] Anmerkung bei der Korrektur: Optisch reines (13b) ist später auch von Helmchen et al. [3] über ein diastereomeres Amid erhalten worden.
- [24] K. Vogler, M. Kofler, Helv. Chim. Acta 39, 1387 (1956).
- [25] F. Shealy, C. Oplinger, J. Montgomery, J. Pharm. Sci. 57, 757 (1968).
- [26] G. Blaschke, H. P. Kraft, K. Fickentscher, F. Köhler, Arzneim. Forsch. 29, 1640 (1979).
- [27] F. Köhler, H. Koch, Arzneim.-Forsch. 24, 1616 (1974).
- [28] B. Riegel, L. T. Sherwood, J. Am. Chem. Soc. 71, 1129 (1949).
- [29] G. Blaschke, H.-P. Kraft, A.-D. Schwanghart, Chem. Ber. 111, 2732 (1978).
- [30] E. Fink, G. Minet, P. Nickel, Arzneim.-Forsch. 29, 163 (1979).
- [31] A. Haberkorn, H. P. Kraft, G. Blaschke, Z. Tropenmed. Parasitol. 30, 308 (1979).
- [32] a) G. Hesse, R. Hagel, Chromatographia 6, 277 (1973); 9, 62 (1976); b) Justus Liebigs Ann. Chem. 1976, 996; c) G. Hagel, Dissertation, Universität Erlangen-Nürnberg 1976.
- [33] G. Hesse, persönliche Mitteilung.
- [34] Siehe [32b], dort S. 1003.
- [35] H. Häkli, A. Mannschreck, Angew. Chem. 89, 419 (1977); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 16, 405 (1977); H. Häkli, M. Mintas, A. Mannschreck, Chem. Ber. 112, 2028 (1979).
- [36] K. Bertsch, J. C. Jochims, Tetrahedron Lett. 1977, 4379; K. Bertsch, M. A. Rahman, J. C. Jochims, Chem. Ber. 112, 567 (1979).
- [37] J. Knabe, W. Rummel, H. P. Büch, N. Franz, Arzneim.-Forsch. 28, 1048 (1978).
- [38] W. Davankov, Ideen des exakten Wissens 1972, 319.
- [39] S. V. Rogozhin, V. A. Davankov, Chem. Commun. 1971, 490.
- [40] D. Thieme, Dissertation, Universität Kiel 1975.
- [41] V. A. Davankov, Yu. A. Zolotarev, J. Chromatogr. 155, 295 (1978).
- [42] V. A. Davankov, Yu. A. Zolotarev, J. Chromatogr. 155, 285 (1978).
- [43] V. A. Davankov, Yu. A. Zolotarev, J. Chromatogr. 155, 303 (1978).
- [44] V. A. Davankov, S. V. Rogozhin, A. V. Semechkin, J. Chromatogr. 91, 493 (1974).
- [45] V. A. Davankov, A. V. Semechkin, J. Chromatogr. 141, 313 (1977).
- [46] W. Mayer, F. Merger, Justus Liebigs Ann. Chem. 644, 65 (1961).
- [47] C. E. Dalglish, J. Chem. Soc. 1952, 3940; R. Weichert, Ark. Kemi 31, 517 (1970); K. Bach, H. J. Haas, J. Chromatogr. 136, 186 (1977).
- [48] B. Franck, G. Schlingloff, Justus Liebigs Ann. Chem. 659, 123 (1962); B. Franck, G. Blaschke, ibid. 695, 144 (1966).
- [49] H. Krebs, J. A. Wagner, J. Diewald, Chem. Ber. 89, 1875 (1956); H. Krebs, W. Schumacher, ibid. 99, 1341 (1966).
- [50] H. Musso, Chem. Ber. 91, 349 (1958); W. Steckelberg, M. Bloch, H. Musso, ibid. 101, 1510, 1519 (1968); R. K. Haynes, H. Hess, H. Musso, ibid. 107, 3733 (1974).
- [51] H. Hess, G. Burger, H. Musso, Angew. Chem. 90, 645 (1978); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 17, 612 (1978).
- [52] D. J. Cram, J. M. Cram, Science 183, 803 (1974); Acc. Chem. Res. 11, 8 (1978).
- [53] L. R. Sousa, D. H. Hoffman, L. Kaplan, D. J. Cram, J. Am. Chem. Soc. 96, 7367 (1974).
- [54] G. D. Y. Sogah, D. J. Cram, J. Am. Chem. Soc. 98, 3038 (1976).
- [55] L. R. Sousa, G. D. Y. Sogah, D. Hoffman, D. J. Cram, J. Am. Chem. Soc. 100, 4569 (1978).
- [56] J.-M. Lehn, J. Simon, A. Moradpour, Helv. Chim. Acta 61, 2407 (1978).
- [57] F. Mikes, G. Boshart, E. Gil-Av, J. Chromatogr. 122, 205 (1976).
- [58] F. Mikes, G. Boshart, J. Chromatogr. 149, 455 (1978).
- [59] C. H. Lochmüller, R. R. Ryall, J. Chromatogr. 150, 511 (1978).
- [60] N. Grubhofer, L. Schleith, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 296, 262 (1954); J. A. Lott, W. Rieman III, J. Org. Chem. 31, 561 (1966).
- [61] C. Kratchanov, M. Popova, J. Chromatogr. 37, 297 (1968); C. Kratchanov, M. Popova, T. Obretenov, N. Ivanov, ibid. 43, 66 (1969); M. Popova, C. Kratchanov, ibid. 72, 192 (1972).
- [62] G. Wulff, W. Vesper, R. Grobe-Einsler, A. Sarhan, Makromol. Chem. 178, 2799 (1977); G. Wulff, R. Grobe-Einsler, W. Vesper, A. Sarhan, ibid. 178, 2817 (1977).
- [63] H. Bartels, H. Erlenmeyer, Helv. Chim. Acta 48, 285 (1965); H. Bartels, B. Prijs, H. Erlenmeyer, ibid. 49, 1621 (1966).
- [64] C. H. Lochmüller, R. W. Souter, J. Chromatogr. 113, 283 (1975).
- [65] S. Weinstein, F. Feibusch, E. Gil-Av, J. Chromatogr. 126, 97 (1976).
- [66] V. Schurig, B. Koppenhöfer, W. Bürkle, Angew. Chem. 90, 993 (1978); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 17, 937 (1978).

- [67] H. Franck, G. J. Nicholson, E. Bayer, J. Chromatogr. Sci. 15, 174 (1977); Angew. Chem. 90, 396 (1978); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 17, 363 (1978); J. Chromatogr. 146, 197 (1978).
- [68] Anmerkung bei der Korrektur: Neueste Veröffentlichungen über chromatographische Racemattrennung z. B. R. Audebert, J. Liquid Chromatogr. 2, 1063 (1979) (Übersichtsaufsatz); V. A. Davankov, Yu. A. Zolatarev, ibid. 2, 1191 (1979) (weitere Beispiele zur Ligandenchromatographie); W. H. Pirkle, D. W. House J. Org. Chem. 44, 1957 (1979) (Trennung von Sulfoxiden und 3,5-Dinitrobenzoylderivaten durch Hochdruckflüssigkeitschromatographie an Silicagel-gebundenem 2,2,2-Trifluor-1-(9-anthryl)ethanol); M. Mintas, A. Mannschreck, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1979, 602 (Trennung von *trans*-1,2-Diphenylcyclopropan an Triacetylcellulose); B. Feringa, W. Wynberg, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas 97, 249 (1978) (Trennung von Arenen an (+)-TAPA-imprägniertem Silicagel).

Bestimmung von morphologischen Eigenschaften quellbarer Festkörper durch Ausschluß-Chromatographie^[**]

Von István Halász und Peter Vogtel^[*]

Viele technisch interessante poröse Festkörper, z. B. Ionenaustauscher oder Adsorbentien für die Katalyse, sind quellbare Polymere, d. h. die Porenstruktur hängt vom Quellmittel ab. Ein Verfahren, das auf der Methode der Ausschluß-Chromatographie beruht, ermöglicht die Bestimmung der Porengröße und Porengrößenverteilung im gequollenen Zustand. – Durch Ausschluß-Chromatographie (AC), auch als Gelpermeation, Gelfiltration oder Molekularsieb-Chromatographie bezeichnet, lassen sich gelöste Stoffe – meist Polymergemische – nach ihrer Molekülgroße trennen. Als stationäre Phase werden poröse Festkörper verwendet. Umgekehrt können durch Ausschluß-Chromatographie die Porengrößen und andere Strukturdaten der stationären Phasen bestimmt werden. Dazu wird eine Reihe von Standards (polymeren Proben) mit bekanntem Molekulargewicht benötigt. Dieses einfache und schnelle Verfahren hat sich schon bei rigiden Festkörpern sehr bewährt; bei quellbaren Festkörpern lässt sich die Porenstruktur überhaupt nur auf diese Weise unter praxisnahen Bedingungen charakterisieren: Klassische Verfahren erfordern trockene Proben.

1. Einleitung

Rigide Festkörper (z. B. Silicagele, Aluminiumoxide) sind dadurch gekennzeichnet, daß ihre Porenstruktur nicht vom umgebenden Medium (Gas, Flüssigkeit) abhängt. Die Porenstruktur nichtrigider Festkörper (z. B. Polystyrol-Divinylbenzol-Copolymere, Polyacrylamide, Dextrane) ist dagegen eine Funktion des verwendeten Quellmittels.

Organische Gele können durch homogene oder heterogene Polymerisation erhalten werden^[1-3]. Im ersten Fall bildet sich eine Porenstruktur erst dann, wenn die dreidimensional vernetzten Ketten im trockenen, nicht porösen Material solvatisiert werden; d. h. es entsteht erst im gequollenen Zustand eine aufgeweitete „Maschenstruktur“. Die mittlere „Maschenweite“ läßt sich durch den Vernetzeranteil steuern. Mit abnehmendem Vernetzeranteil steigt die Porosität der Teilchen, d. h. der Anteil des Porenvolumens am Teilchenvolumen; zugleich nimmt aber die mechanische Stabilität ab. Homogen vernetzte Copolymere werden in aller Regel bei der Quellung mikroporös (Poredurchmesser $\phi < 20 \text{ \AA}$).

Bei der heterogenen Polymerisation wird dem Gemisch aus mono- und difunktioneller Komponente eine Inertsubstanz zugesetzt. Während des Herstellungsprozesses erfolgt eine Phasentrennung, und es entstehen Copolymere, die auch im ungequollenen Zustand Poren enthalten (Permanentporosität). Diese „semi-rigiden“ Gele sind makroporös (Poredurchmesser $\phi > 20 \text{ \AA}$). Zusätzlich kann auch hier eine Quellporosität auftreten.

Die Strukturdaten rigider poröser Festkörper – wie spezifische Oberfläche O_{sp} , Porenvolumen V_p und Porenvolumenverteilung (Poredurchmesserverteilung) – lassen sich mit den klassischen Verfahren der BET-Methode, der Stickstoff-Kapillarkondensation und der Quecksilber-Porosimetrie bestimmen (siehe z. B. ^[4]). Für die Gele, die ausschließlich Quellporosität zeigen, sind die klassischen Methoden selbstverständlich ungeeignet. Bei den semi-rigiden Materialien können sie zwar angewendet werden, doch haben die Ergebnisse nur begrenzte Aussagekraft.

Messungen mit klassischen Methoden erfordern eine Präparation der Polymere; darunter versteht man die Überführung vom gequollenen in den trockenen Zustand. Hierdurch werden die Meßergebnisse beeinflußt^[5]. Außerdem ist die Porenstruktur auch bei ausschließlich makroporösen, semi-rigiden Polymeren eine Funktion der verwendeten Quellmit-

[*] Prof. Dr. I. Halász, Dr. P. Vogtel
Angewandte Physikalische Chemie der Universität
D-6600 Saarbrücken

[**] Teil der Dissertation P. Vogtel, Universität Saarbrücken 1977.