

ANGEWANDTE CHEMIE

102. Jahrgang 1990

Heft 9

Seite 969–1108

Gaschromatographische Enantiomerentrennung an Cyclodextrinderivaten**

Von Volker Schurig* und Hans-Peter Nowotny

Neue analytische
Methoden (42)

In einer Forschung, die sich mit dem Phänomen der molekularen Chiralität auseinandersetzt, ist die gaschromatographische Enantiomeranalytik unzersetzt verdampfbarer, flüchtiger Verbindungen ein wertvolles Instrumentarium mit stetig wachsender Bedeutung. Ein wesentlicher Durchbruch auf dem Gebiet der analytischen gaschromatographischen Enantiomerentrennung wurde in den letzten drei Jahren durch den Einsatz alkylierter α -, β - und γ -Cyclodextrine als chirale Stationärphasen für Hochauflösungskapillarsäulen erzielt. Zwei komplementäre Methoden werden bisher in der Forschung sowie kommerziell genutzt: Einerseits werden alkylierte Cyclodextrine mit Polysiloxanen verdünnt und auf Glas- und Fused-Silica-Kapillaren aufgebracht, andererseits werden lipophile Per-*n*-pentylcyclodextrine und hydrophile Di-*n*-pentyl- und Hydroxyalkyldimethylcyclodextrine als fluide Phasen direkt auf geeignet vorbehandelte Glas- oder Fused-Silica-Oberflächen aufgebracht. Neben polaren Diolen und Alkoholen, derivatisierten Hydroxycarbonsäuren, Aminosäuren, Zuckern und Alkylhalogeniden werden auch unpolare Alkene, gesättigte cyclische Kohlenwasserstoffe und Metall- π -Komplexe in die Enantiomere getrennt. Für praktische Anwendungen ist bedeutsam, daß zahlreiche Enantiomerentrennungen ohne vorherige Derivatisierung gelingen. Während die Racemattrennung unfunktionalisierter Kohlenwasserstoffe auf eine enantioselektive Wirt-Gast-Inclusion zurückgeführt wird, deuten mehrere Befunde auf die Rolle zusätzlicher enantioselektiver Wechselwirkungen für polare Gastmoleküle hin. Die neuen chiralen Stationärphasen können in einem weiten Temperaturbereich (25–250 °C) eingesetzt werden. Es wird mit einer schnellen Verbreitung dieser Methode zur einfachen, genauen und hochempfindlichen Enantiomeranalyse unzersetzt verdampfbarer chiraler Verbindungen gerechnet, die in Zukunft auch die Suche nach universellen Cyclodextrinphasen sowie die Aufklärung der Mechanismen der Enantiomerendiskriminierung befürchten wird.

1. Einleitung

Die korrekte Bestimmung von Enantiomerenüberschüssen (enantiomeric excess, ee) ist eine zentrale Aufgabe der modernen Forschung, die sich mit der Synthese, Charakteri-

sierung und Verwendung chiraler Verbindungen beschäftigt^[1]. Unzersetzt flüchtige Enantiomere können durch Gaschromatographie getrennt werden – eine präzise und zuverlässige Methode der Enantiomeranalytik in bezug auf Einfachheit, Schnelligkeit, Reproduzierbarkeit, Empfindlichkeit und Hochauflösung^[2–5].

Die Verfügbarkeit von Hochauflösungskapillarsäulen (WCOT, wall coated open-tubular columns) und die Verwendung hochempfindlicher Detektoren in der Gaschromatographie ermöglichen oft ohne aufwendige Probenvorbereitung Analysen im Nanogrammbereich. Enantiomerengemische mehrerer Verbindungen können simultan getrennt

[*] Prof. Dr. V. Schurig, Dr. H.-P. Nowotny
Institut für Organische Chemie der Universität
Auf der Morgenstelle 18, D-7400 Tübingen

[†] Neue Anschrift: F. Hoffmann-La Roche AG
CH-4002 Basel (Schweiz)

[**] Gaschromatographische Enantiomerentrennung an metallkomplexfreien
Stationärphasen, Teil 2. – Teil 1: [7].

(z. B. alle proteinogenen Aminosäuren) und durch zusätzliche Techniken wie multidimensionale Chromatographie und/oder Kopplungen mit spektrometrischen Verfahren auch in komplexer biologischer Matrix sicher nachgewiesen werden. Die Verwendung inerter Gase als Mobilphase schließt Komplikationen durch Lösungsmitteleinfluß und andere Parameter wie Gradientenelution, Einsatz von Puffern, Modifikatoren und Additiven, die bei der Enantiomerentrennung durch Flüssigkeitschromatographie eine Rolle spielen, aus.

Drei Klassen chiraler Stationärphasen haben in der gaschromatographischen Enantiomerentrennung herausragende Bedeutung erlangt: 1) Aminosäurederivate, die Wasserstoffbrückenbindungen bilden^[3], z. B. kommerziell verfügbares Chirasil-Val^[4] und XE-60-L-Val(R)- α -pea^[5], 2) Kohlenhydratderivate, insbesondere Cyclodextrine mit der Neigung zur Inclusion, und 3) Metallkomplexe („Komplexierungsgaschromatographie“)^[6].

Stationärphasen, die von Aminosäuren abgeleitet sind, wurden schon früher zusammenfassend beschrieben^[7]; wir berichten hier über die Verwendung von Cyclodextrinderivaten zur gaschromatographischen Enantiomerentrennung. Im Gegensatz zu den anderen chiralen Stationärphasen sind Cyclodextrine zur Enantiomerentrennung durch Hochauflösungskapillargaschromatographie erst in den letzten drei Jahren in die Praxis eingeführt worden.

2. Cyclodextrine

Cyclodextrine Cycloamylosen, Cycloglucane oder Cyclo-maltooligososen – wurden bereits 1891 von Villiers als Abbauprodukte der Stärke isoliert^[8], aber erst 1904 von Schardinger als cyclische Oligosaccharide charakterisiert (Schardinger-Dextreine)^[9]. Fast zwei Jahrzehnte vor der Synthese der Kronenether durch Pedersen^[10] erkannten 1948 Freudenberg und Cramer die Fähigkeit der Cyclodextrine, molekulare Einschlußkomplexe zu bilden^[11]. Cyclodextrine sind eine homologe Reihe nichtreduzierender, cyclischer Oligosaccharide aus mindestens sechs α -D-Glucopyranoseeinheiten in α -1,4-glycosidischer Verknüpfung^[12, 13] (Abb. 1^[14]).

Cyclodextrine werden biotechnisch durch enzymatischen Abbau der α -1,4-verknüpften Glucoseeinheiten des Poly-

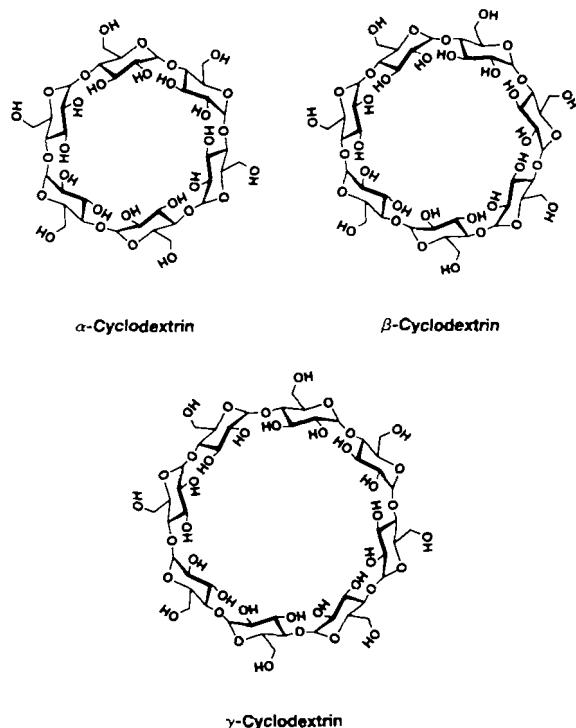


Abb. 1. α -Cyclodextrin (Cyclohexaamyllose), β -Cyclodextrin (Cycloheptaamyllose) und γ -Cyclodextrin (Cyclooctaamyllose) [14].

saccharids Stärke unter Einwirkung der Cyclodextrin-Glycosyltransferasen von *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus mace-*rans und anderen *Bacillus*-arten hergestellt. Hierbei wird eine Windung aus der helical vorliegenden Stärke unter Cyclisierung herausgeschnitten. Die Ausbeuten und Anteile der einzelnen Cyclodextrine sind enzymespezifisch und können durch Zugabe organischer Verbindungen beeinflußt werden^[15].

Isoliert und charakterisiert wurden bisher α -, β -, γ - und δ -Cyclodextrin mit sechs bis neun Glucopyranoseeinheiten. Cyclodextrine mit bis zu zwölf Glucopyranoseeinheiten sind nachgewiesen worden^[15, 16], doch nur α -, β - und γ -Cyclodextrin sind zur Zeit kommerziell erhältlich. Gespannte Cyclodextrine mit weniger als sechs Glucopyranosebausteinen sind derzeit unbekannt.



Volker Schurig, 1940 in Dresden geboren, studierte ab 1959 an der Universität Tübingen Chemie und promovierte dort 1968 bei Ernst Bayer. Anschließend verbrachte er zwei Jahre in Israel als Postdoc am Weizmann Institute of Science, wo er bei Gil-Av seine Arbeiten über gaschromatographische Enantiomerentrennungen begann, die er an der University of Houston in Texas fortsetzte. 1975 habilitierte er sich in Tübingen mit einer Abhandlung über die Komplexierungschromatographie. Später war er Gastprofessor an der Université Paris-Sud und am Weizmann Institute. Seine Arbeitsgebiete umfassen die homogene Katalyse mit löslichen polymeren Metallverbindungen, den Aufbau hochgeordneter Festkörperstrukturen durch chirale Steuerung, enzymatische Epoxidationen, chirale NMR-Verschiebungsreagentien, chromatographische Enantiomerentrennungen sowie stereochemische Analysen und Synthesen von Riechstoffen und Pheromonen.

Hans-Peter Nowotny, 1959 in Herrenberg geboren, studierte ab 1979 an der Universität Tübingen Chemie und promovierte 1989 bei Volker Schurig über die Enantiomerentrennung durch Inclusionsgaschromatographie an peralkylierten Cyclodextrinen. Er ist jetzt bei der Firma Hoffmann-La Roche in Basel tätig.

Jede chirale Glucoseeinheit der Cyclodextrine liegt in einer starren 4C_1 -Sesselkonformation vor. Die makrocyclische Konformation der Cyclodextrine entspricht im festen und gelösten Zustand einem hohlen Kegelstumpf (Torus), dessen weitere Öffnung ausschließlich mit sekundären Hydroxygruppen (C2-OH und C3-OH) und dessen konisch verengte entgegengesetzte Öffnung ausschließlich mit primären Hydroxygruppen (C6-OH) besetzt ist. Die molekularen Dimensionen und physikalischen Eigenschaften der Cyclodextrine gibt Tabelle 1 wieder. Danach ist die Höhe des Hohlraums

Tabelle 1. Molekulare Dimensionen und physikalische Daten von α -, β - und γ -Cyclodextrin.

	Cyclodextrin		
	α	β	γ
Zahl der Glucoseeinheiten	6	7	8
Zahl der Chiralitätszentren	30	35	40
Molmasse	972.86	1135.01	1297.15
Außendurchmesser [pm]	1370–1460	1530–1540	1690–1750
Innendurchmesser [pm]	470–520	600–650	750–850
Hohlraumvolumen [nm^3]	0.176	0.346	0.510
pK _a der Hydroxygruppen	12.1–12.6 (alle)		
Wasserlöslichkeit [g pro 100 mL, 25 °C]	14.50	1.85	23.20
Molarität der gesättigten Lösung [M]	0.114	0.016	0.179
Schmelz- und Zersetzungspunkt [K]	551	572	540

konstant, während der Durchmesser variiert. Das Innere des Torus wird durch zwei Reihen von C-H-Gruppen (C3 und C5) und die dazwischenliegende Reihe der glycosidischen Etherbindungen (C1 und C4) begrenzt. Die freien Elektronenpaare der Sauerstoffatome verleihen dem Hohlraum eine hohe Elektronendichte. Da keine Hydroxygruppen nach innen gerichtet sind, ist der Hohlraum zugleich hydrophob und unpolar^[17]. Die äußeren Hydroxygruppen an den Öffnungen des Hohlraums machen die underivatisierten Cyclodextrine hydrophil. Durch stabile intramolekulare Wasserstoffbrücken O3-H···O'2 bzw. O3···H-O'2 zwischen sekundären Hydroxygruppen benachbarter Glucoseeinheiten wird der Makrocyclus zusätzlich verstellt.

Das Komplexierungsvermögen der Cyclodextrine, die als leere molekulare Kapseln unterschiedlicher Größe betrachtet werden können, wurde systematisch untersucht^[12–20]. Die Inclusion wird durch hydrophobe Wechselwirkungen begünstigt. Die Neigung der Cyclodextrine, Gastmoleküle zu komplexieren, wird vielfältig technisch genutzt^[15, 21]. Von besonderem Interesse für die pharmazeutische und die Lebensmittelindustrie ist, daß die Bildung von Einschlußkomplexen mit Cyclodextrinen die Stabilität, Löslichkeit, Bioverfügbarkeit, Verweilzeit, Toxizität und die Olfaktion der Gastverbindung vorteilhaft beeinflussen kann^[14–16, 22].

Es liegen zahlreiche Röntgenstrukturuntersuchungen von Einschlußkomplexen mit β -Cyclodextrin vor^[23, 24]. Neben 1:1-Einschlußkomplexen können auch 2:1-Wirt-Gast-Assoziate gebildet werden, in denen zwei Moleküle Cyclodextrin über Wasserstoffbrückenbindungen der sekundären Hydroxygruppen verknüpft sind. Untersuchungen an Heptakis-(2,6-di-O-methyl)- β -Cyclodextrin ergaben, daß der Schutz der freien Hydroxygruppen die Bildung von Cyclodextrindimeren verhindert und daß die Gegenwart der Methoxygrup-

pen den für ein hydrophobes Gastmolekül zur Verfügung stehenden Raum über den eigentlichen Cyclodextrinhohlraum hinaus etwas vergrößern kann^[24]. An diesem Beispiel wird deutlich, daß die Konformation und Komplexierungsbereitschaft der Cyclodextrine durch chemische Modifizierung variiert werden kann.

Zusätzlich zur Wirt-Gast-Selektivität zeigen Cyclodextrine enzymverwandte katalytische Eigenschaften (kompetitive Inhibition und Michaelis-Menten-Kinetik)^[15, 16]. So wurden Cyclodextrine als Enzymmodelle für α -Chymotrypsin, Carboanhydrase und Ribonuclease untersucht^[25].

Für α -Cyclodextrin ist eine Totalsynthese bekannt^[26]. Derivatisierungen (Alkylierung, Acylierung) von Cyclodextrinen gelingen regioselektiv an den Hydroxygruppen^[27]. Monofunktionalisierungen^[28], eine spezifische Bisfunktionalisierung^[29] und die Überbrückung des Hohlraums (capped cyclodextrins)^[30] sind ebenfalls beschrieben worden.

Die inhärente molekulare Asymmetrie der Cyclodextrine, die auf dem Vorliegen von D-Glucoseeinheiten in den Cyclooligomeren beruht, erweitert das Spektrum ihrer Verwendung beträchtlich. Aufgrund der biotechnischen Herstellung aus natürlicher Stärke sind bisher nur die dextrorotatorischen Cyclodextrinenantiomere, nicht dagegen die Racemform und die laevorotatorischen Antipoden bekannt. Die molekulare Einlagerung chiraler Gäste in Cyclodextrine verläuft in vielen Fällen enantioselektiv. So wurden durch ESR-Untersuchungen unterschiedliche Komplexbildungskonstanten für die Einschlußkomplexe von β -Cyclodextrin mit (+)- und mit (-)-Fenchon anhand der kompetitiven Verdrängung einer paramagnetischen Verbindung aus dem Cyclodextrinhohlraum nachgewiesen^[31]. Cyclodextrine werden auch als chirale Hilfsreagentien in der NMR-Spektroskopie eingesetzt. So erscheint im Cyclodextrinkomplex von 2,2,2-Trifluor-1-phenylethanol das CF₃-Signal des (S)-(+) Enantiomers bei höherem Feld als das des (R)(-)Enantiomers^[32]. Ein direkter Beweis der enantioselektiven Komplexierung von (R)- und (S)-2-(3-Phenoxyphenyl)propiionsäure (Fenoprofen) mit β -Cyclodextrin konnte kürzlich durch Kristallstrukturanalyse erbracht werden^[33]. Die Inclusion optisch inaktiver Verbindungen in Cyclodextrine kann durch die Induktion chiraler Konformationen zu einem meßbaren Circulardichroismus führen^[18, 34, 35]. Ferner konnten durch Inclusion einer prochiralen Verbindung in β -Cyclodextrin gebildete Diastereomere mit ENDOR-Messungen unterschieden werden^[36]. Es sind auch zahlreiche katalytische asymmetrische Reaktionen mit Cyclodextrinen beschrieben worden^[16, 37]. Kinetische Untersuchungen der cyclodextrinkatalysierten Hydrolyse racemischer Oxazolone lieferten den Nachweis entgegengesetzter Enantioselektivitäten zwischen α - und β -Cyclodextrin^[38].

Eine naheliegende Methode der Racemattrennung nach enantioselektiver Komplexierung mit Cyclodextrinen ist die fraktionierende Kristallisation der diastereomeren Einschlußkomplexe. Es wurden auf diese Weise racemische Carbonsäureester, Menthol und einige Carbonsäuren^[39, 40], O-Alkylalkylphosphinate^[41], Sulfoxide^[42], O-Alkylalkylsulfinate^[43] und 2-Brom-2-chlor-1,1,1-trifluorethan (Halothan)^[44] in die Enantiomere getrennt. In den meisten Fällen war die Enantiomereneinheit (ee) der Produkte jedoch gering. Der höchste beschriebene Wert von ee = 84% für O-Isopropylmethylphosphinat^[44] konnte erst nach dreimaliger

ger Wiederholung von Komplexierung, fraktionierender Kristallisation und Freisetzung des angereicherten Produkts erzielt werden. Diese aufwendige Prozedur ist vermeidbar, wenn die reversible enantioselektive Inclusion an einen chromatographischen, also vielstufigen Prozeß gekoppelt wird^[45–47].

3. Chromatographische Enantiomerentrennungen mit Cyclodextrinen

Cyclodextrine sind in zahlreichen chromatographischen Verfahren für selektive Trennungen und Enantiomerentrennungen eingesetzt worden^[47, 48]. Einen Überblick gibt Tabelle 2.

Tabelle 2. Verwendung von Cyclodextrinen in der Chromatographie [47, 48]. S = in stationärer Phase; M = in mobiler Phase; elektrokinetische Verfahren: Elektroosmose, Elektrophorese, Isotachophorese.

	Dünn-schicht (DC, TLC)	Gas-Fest-stoff und Gas-Flüs-sigkeit (GSC, GLC)	Chromatographie Gelin-clusion (GIC)	Hoch-druck-flüssig-keit (HPLC)	Affini-tät (AFC)	Elek-tro-ki-netisch (EKC)
Cyclodextrine	M	S		M	M	M
modifizierte Cyclodextrine	M	S		M/S		M
lösliche Cyclo-dextrinpolymere	M					
unlösliche Cyclo-dextrinpolymere		S	S			
immobilisierte Cyclodextrine	S			S	S	

In der Dünnschichtchromatographie (TLC) sind Cyclodextrine als stationäre und als mobile Phase einsetzbar^[49]. So wurden wäßrige Lösungen von α -Cyclodextrin, Dimethyl- β -Cyclodextrin, γ -Cyclodextrin und von löslichen β -Cyclodextrinpolymeren als chirale mobile Phasen verwendet^[47]. β -Cyclodextrin eignet sich nicht, da seine Wasserlöslichkeit zu gering ist. Eine Verbesserung der Hydrophilie ist jedoch durch Zugabe von Harnstoff^[50] oder durch partielle Derivatisierung zu Hydroxyethyl- oder Hydroxypropyl- β -cyclodextrin^[51] möglich. Auch an Kieselgel chemisch gebundene β -Cyclodextrine wurden für die Enantiomerentrennung eingesetzt^[52, 53]. Ferner wurden Cyclodextrine in elektrokinetischen chromatographischen Verfahren wie Kapillarisotachophorese (CITP)^[54] und Kapillarelektrophorese (HPCZE)^[55] zur Enantiomerentrennung herangezogen^[56]. Hervorzuheben ist die Verwendung von Cyclodextrinen mit einfach geladenen Substituenten in der inversen micellaren elektrokinetischen Chromatographie nach Terabe^[57]. In der Gelinclusionsschomatographie (GIC)^[58] gelangen an unlöslichen β -Cyclodextrinpolymeren analytische und präparative Enantiomerentrennungen von Mandelsäurederivaten und Indolalkaloiden^[46, 47, 59].

Als besonders erfolgreich hat sich die Anwendung von Cyclodextrinen zur Enantiomerentrennung in der Hoch-

druckflüssigkeitschromatographie (HPLC) erwiesen^[60–62]. Im Gegensatz zu vielen anderen chiralen stationären Phasen tolerieren die beschriebenen Cyclodextrinstationärphasen wäßrige und stark polare mobile Phasen im Umkehrphasen-(reversed-phase)-Betrieb. Die Cyclodextrinstationärphasen können ferner mit subkritischem Kohlendioxid als mobiler Phase (SubFC)^[63] eingesetzt werden. Kürzlich wurde auch über flüssigkeitschromatographische Enantiomerentrennungen an Acetyl- und Carbamoylderivaten von β -Cyclodextrin berichtet^[64, 65].

Wie in der Dünnenschichtchromatographie wurden in der Hochdruckflüssigkeitschromatographie die Cyclodextrine zunächst nicht als immobilisierte Stationärphasen, sondern als Additive in der mobilen Phase unter Verwendung konventioneller Umkehrphasen (RP-18) eingesetzt^[45, 66]. Ein wesentlicher Vorteil dieser Strategie liegt in der Fluoreszenzverstärkung durch Einschlußkomplexierung^[67], die bei Verwendung eines Fluoreszenzdetektors die Nachweisgrenze erheblich senkt. Dieses Prinzip wurde auch in einer Kombination von immobilisiertem β -Cyclodextrin als chiraler stationärer Phase und β -Cyclodextrin als Additiv in der mobilen Phase genutzt^[68]. Auch partiell und vollständig methylierte α - und β -Cyclodextrine wurden als Additive der mobilen Phase zugesetzt^[69]. Die Verwendung von Cyclodextrinen zur gaschromatographischen Enantiomerentrennung wird in Abschnitt 4.2 behandelt.

4. Cyclodextrine in der Gaschromatographie

4.1. Gaschromatographische Trennung achiraler Verbindungen

Bereits in den frühen sechziger Jahren wurden peracylierte α - und β -Cyclodextrine oberhalb ihres Schmelzpunkts (über 220 °C) als stationäre Phasen in Gepacktsäulen zur selektiven Trennung von Fettsäureestern verwendet^[70]. Eine Bildung von Einschlußkomplexen konnte aus der Analyse der Retentionsdaten nicht zwingend abgeleitet werden. Dagegen bewirkten permethylierte α - und β -Cyclodextrine oberhalb ihres Schmelzpunkts oder in Polysiloxan-Lösung (DC-710) in gepackten Säulen eine Retentionszunahme von Isoalkanen gegenüber *n*-Alkanen, die auf Inclusion zurückgeführt wurde^[71]. In der Gas-Feststoff-Chromatographie (GSC) wurden α - und β -Cyclodextrinpolyurethanharze^[72], α -, β - und γ -Cyclodextrin^[73, 74], Hexakis(2,6-di-*O*-methyl)- α -cyclodextrin und Heptakis(2,6-di-*O*-methyl)- β -cyclodextrin^[75] für die selektive Trennung stellungsisomerer Arene, z. B. der Xylol- und Lutidinismere, eingesetzt, wobei sich β -Cyclodextrinpolymere als ungeeignet erwiesen^[76]. Die Effizienz der verwendeten Gepacktsäulen ist gering, so daß keine Enantiomere getrennt werden konnten^[77]. Als Hindernis für die Anwendung in der Gas-Flüssigkeits-Chromatographie (GLC) erwies sich die Hydrophilie der underivatisierten Cyclodextrine, die sehr polare Lösungsmittel als achirale Grundphasen erfordern. Einen Ausweg bietet die Peralkylierung der Cyclodextrine, die lipophile, niedrigschmelzende Derivate liefert. Erste Erfolge wurden mit Permethyl- β -cyclodextrin und kovalent an ein Polysiloxan gebundenem Perpropanoyl- β -cyclodextrin erzielt^[78]. Mit underivatisierten α - und β -Cyclodextrinen in Formamid- oder Ethylenglycol-

lösung konnten Xylo-, Diethylbenzol^[79] und Dimethylcyclohexanstellungsisomere sowie *cis/trans*-Decalin getrennt werden^[80]. Noch bemerkenswerter ist, daß mit diesen gepackten Säulen auch die ersten gaschromatographischen Enantiomerentrennungen von Pinenen und Pinanen an Cyclodextrinphasen gelangen^[81, 82].

4.2. Gaschromatographische Enantiomerentrennung

Trotz der zahlreichen gaschromatographischen Untersuchungen an Cyclodextrinstationärphasen, insbesondere durch die bahnbrechenden Arbeiten von Smolková-Keulemansová et al.^[73, 79, 83], wurde für die Enantiomerentrennung erst in jüngster Zeit durch die Verwendung von Hochauflösungskapillarsäulen ein Durchbruch erzielt. So wird in einer Monographie über die kapillargaschromatographische Enantiomerentrennung aus dem Jahre 1987 nur im Vorwort von Gil-Av auf das hohe Potential der Cyclodextine zur Enantiomerentrennung unpolarer Moleküle hingewiesen^[84]. 1981 versuchte Kim ohne Erfolg, Enantiomere gesättigter aliphatischer Kohlenwasserstoffe der Struktur CR¹R²R³R⁴ (R = Alkyl) wie 2,2,3-Trimethylheptan an Edelstahlkapillaren, die mit Permethyl-β-cyclodextrin in Polysiloxanlösung (20% in OV-101) belegt waren, zu trennen, obwohl die Retentionsdaten auf die Bildung von Einschlußkomplexen schließen ließen^[85a]. Schließlich gelang Kościelski et al. 1983 die Enantiomerentrennung einiger chiraler Alkene (α - und β -Pinen, Caren) und Alkane (*cis*- und *trans*-Pinan) an gepackten Säulen, in denen das Trägermaterial mit α -Cyclodextrin in Formamidlösung belegt war^[81, 82] (Abb. 2).

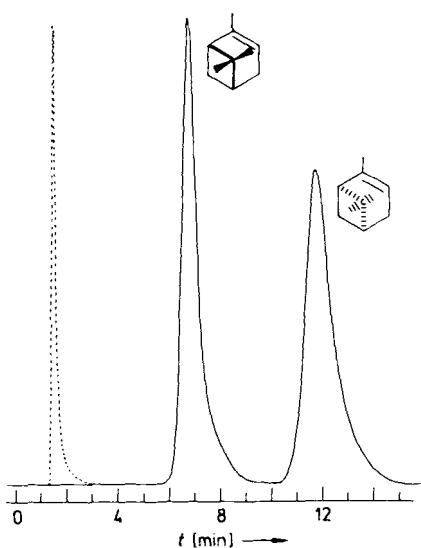


Abb. 2. Enantiomerentrennung von α -Pinen an α -Cyclodextrin in Formamidlösung auf Celit bei 44 °C. 2 m × 4 mm-Gepacktsäule. Das gestrichelte Chromatogramm wurde an reinem Formamid auf Celit erhalten (ohne Cyclodextrinzusatz). Trägersgas: 2.75 bar He [82].

Wie bereits erwähnt, zeigen diese Säulen zwar große Trennfaktoren α für die Enantiomere, sind jedoch wenig effizient. So sind die Peakformen selbst für Gepacktsäulen ungewöhnlich verbreitert, wie aus den geringen theoretischen Bodenzahlen von etwa 950–1250 für zwei Meter lange Säulen hervorgeht^[79]. Damit sind diese Säulen den Cyclodex-

trinsäulen in der HPLC unterlegen, die bei 25 cm Länge etwa 8000 theoretische Böden haben^[61]. Als weitere Nachteile der Methode erweisen sich der eingeschränkte Temperaturbereich (max. 70 °C), die geringe Lebensdauer der Säulen durch kontinuierliches Abdampfen („Ausbluten“) von Lösungsmittel und von Wasser, das für die Trennung notwendig ist^[85b], sowie die Nichtübertragbarkeit der Methode auf Kapillarsäulen. Es bestand daher ein erhebliches Interesse an der Entwicklung von thermisch stabilen Cyclodextrinphasen zum Einsatz in Hochauflösungskapillarsäulen.

4.3. Konzeption chiraler stationärer Cyclodextrinphasen zur hochauflösenden gaschromatographischen Enantiomerentrennung

Die physikalischen Eigenschaften *underivatisierter* Cyclodextine, vor allem ihre Zersetzung beim Schmelzen und ihre Unlöslichkeit in Polysiloxanen, lassen diese für die Belegung von Kapillarsäulen als ungeeignet erscheinen. Dagegen ist eine Vielzahl von Cyclodextrinderivaten mit günstigeren Schmelzpunkten und/oder Löslichkeitseigenschaften bekannt^[27]. Aufgrund der Säurelabilität der cyclischen Oligosaccharide kommen nur Derivatisierungen in alkalischem Medium in Betracht. Peracylierte und partiell oder vollständig methylierte Cyclodextine wurden bereits in der Gaschromatographie an gepackten Säulen als stationäre Phasen verwendet^[70, 71]. Vorteilhaft ist, daß bei der Acylierung oder Alkylierung der Hydroxygruppen die C-O-Bindungen an den Chiralitätszentren C2 und C3 nicht gespalten werden, so daß Epimerisierungen auszuschließen sind. Bei der Derivatisierung ist zu beachten, daß die neu eingeführten Gruppen am weiter geöffneten Ende des Cyclodextrinkegelstumpfs an der chiralen Erkennung beteiligt sein können^[62, 86].

Gegenüber der Acylierung bietet die Alkylierung folgende Vorteile: 1. Aufgrund der größeren Stabilität der Ether- im Vergleich zur Estergruppe sind alkylierte Derivate chemisch und thermisch stabiler und hydrolyseunempfindlich. Es ist anzunehmen, daß die Alkoxygruppen an der Peripherie des Cyclodextrins thermisch ähnlich stabil sind wie die glykosidischen Etherbindungen des Cyclodextringrundgerüsts, so daß die maximale Temperatur für den Einsatz als stationäre Phase lediglich durch die Stabilität des Grundgerüsts limitiert wird. 2. Per-O-alkylderivate sind weniger polar als Per-O-acylderivate. Dadurch schmelzen erstere niedriger und lösen sich besser in unpolaren Polysiloxanen.

Die C2-Hydroxygruppe ist acider und die C6-Hydroxygruppe sterisch weniger abgeschirmt als die C3-Hydroxygruppe. Deshalb können Alkylierungen unvollständig verlaufen. Dieser Befund kann aber auch vorteilhaft zur regioselektiven Derivatisierung genutzt werden^[87].

Bei den ersten Enantiomerentrennungen durch Hochauflösungskapillargaschromatographie wurde von Juvancz, Alexander und Szejtli^[88, 89] und später von Venema und Tolksma^[90] geschmolzenes permethyliertes β -Cyclodextrin verwendet, während von Schurig und Nowotny^[91, 92] eine Lösung von permethyliertem β -Cyclodextrin in einem mäßig polaren Polysiloxan (z. B. OV 1701) als enantioselektive Stationärphase eingesetzt wurde. Die folgenden Cyclodextrinderivate wurden als verdünnte Stationärphasen zur gaschromatographischen Enantiomerentrennung verwendet^[91–98] (siehe Abschnitt 5):

Heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- β -cyclodextrin	1,
Hexakis(2,3,6-tri-O-methyl)- α -cyclodextrin	2,
Octakis(2,3,6-tri-O-methyl)- γ -cyclodextrin	3,
Heptakis(2,6-di-O-methyl-3-O-trifluoracetyl)- β -cyclodextrin	4,
Octakis(2,6-di-O-methyl-3-O-trifluoracetyl)- γ -cyclodextrin	5,
Heptakis(3-O-heptafluorbutanoyl-2,6-di-O-methyl)- β -cyclodextrin	6.

Die außerdem untersuchten Derivate^[92]:

Heptakis(2,6-di-O-methyl)- β -cyclodextrin	7,
Heptakis(2,3,6-tri-O-ethyl)- β -cyclodextrin	8,
Heptakis(2,3,6-tri-O-n-propyl)- β -cyclodextrin	9,
Heptakis(2,3,6-tri-O-n-butyl)- β -cyclodextrin	10,
Heptakis(2,3,6-tris-O-(S)-2'-methylbutyl)- β -cyclodextrin	11,
Heptakis(2,3,6-tris-O-trimethylsilyl)- β -cyclodextrin	12

können ebenfalls verwendet werden, zeigen jedoch geringere Trennfaktoren α ^[92].

Bei der Anwendung in *unverdünnter* Form erweist sich der hohe Schmelzpunkt von permethylierten Cyclodextrinen als nachteilig. Lediglich 1 liegt in einem relativ weiten Temperaturbereich flüssig vor und eignet sich in geschmolzener Form als stationäre Phase. Der Schmelzpunkt wird in der Literatur mit 83 °C bis 175 °C angegeben^[71, 78, 88, 89]. Diese Diskrepanz könnte durch das Vorliegen uneinheitlicher, nicht vollständig methylierter Produkte erklärt werden. Venema und Tolksma^[90] schlossen aus kalorimetrischen Messungen auf einen Schmelzpunkt von 150 °C, beobachteten beim Abkühlen aber keine Kristallisation, sondern eine unterkühlte Schmelze, die oberhalb von 76 °C sehr gute gaschromatographische Ergebnisse lieferte. Kommerziell angebotenes 1 kann 2,6-Di-O-methyl- β -cyclodextrin enthalten^[99].

Nach König und Wenz liegen per-*n*-pentylierte Cyclodextrine selbst unterhalb Raumtemperatur (zäh)flüssig vor^[100]. Sie verwendeten die Cyclodextrinderivate

Hexakis(2,3,6-tri-O- <i>n</i> -pentyl)- α -cyclodextrin	13,
Hexakis(3-O-acetyl-2,6-di-O- <i>n</i> -pentyl)- α -cyclodextrin	14,
Heptakis(2,3,6-tri-O- <i>n</i> -pentyl)- β -cyclodextrin	15,
Heptakis(3-O-acetyl-2,6-di-O- <i>n</i> -pentyl)- β -cyclodextrin	16,
Octakis(2,3,6-tri-O- <i>n</i> -pentyl)- γ -cyclodextrin	17,
Octakis(3-O-butanoyl-2,6-di-O- <i>n</i> -pentyl)- γ -cyclodextrin	18

mit großem Erfolg für die Enantiomerentrennung zahlreicher Racemate auf desaktivierten Glaskapillarsäulen^[100–117] (siehe Abschnitt 6).

Armstrong et al.^[118–123] verwenden die folgenden partiell alkylierten, flüssigen Cyclodextrinderivate als stationäre Phasen zur gaschromatographischen Enantiomerentrennung auf unbehandelten Fused-Silica-Kapillarsäulen:

Hexakis(O-(S)-2'-hydroxypropylper-O-methyl)- α -cyclodextrin (PMHP- α -CD)	19,
Heptakis(O-(S)-2'-hydroxypropylper-O-methyl)- β -cyclodextrin (PMHP- β -CD)	20,
Hexakis(2,6-di-O- <i>n</i> -pentyl)- α -cyclodextrin (Dipentyl- α -CD)	21,
Heptakis(2,6-di-O- <i>n</i> -pentyl)- β -cyclodextrin (Dipentyl- β -CD)	22,
Heptakis(2,6-di-O- <i>n</i> -pentyl-3-O-trifluoracetyl)- β -cyclodextrin (DPTFA- β -CD)	23.

Die freien Hydroxygruppen in 19–22 verleihen den mäßig polaren Derivaten hydrophile Eigenschaften. Wie durch ^{252}Cf -Massenspektrometrie gezeigt wurde, liegen die Derivate als partiell alkylierte Gemische vor, wodurch die erwünschte flüssige Konsistenz zustandekommt. Für zahlreiche racemische Mischungen ergab sich eine Umkehr der Elutionsreihenfolge der Enantiomere zwischen den Stationärphasen 19/20 und 21/22^[118].

5. Gaschromatographische Enantiomerentrennung an verdünnten Cyclodextrinderivaten

Die Verwendung von Lösungen peralkylierter Cyclodextrine in mäßig polaren Polysiloxanen nach Casu et al.^[71] (Gepacktsäulen) und Schurig und Nowotny^[91, 92] (Kapillarsäulen) erweist sich für die gaschromatographische Enantiomerentrennung aus folgenden Gründen als nützlich:

1. Die verdünnte Phase kann in einem weiten Temperaturbereich eingesetzt werden. Entscheidend ist die Löslichkeit der Cyclodextrinderivate in Polysiloxanen, während Schmelzpunkte und Phasenübergänge keine Rolle spielen. Grundsätzlich können auch Mischungen verschiedener Cyclodextrine (α , β , γ) simultan eingesetzt und gezielt Additive zur kompetitiven Inclusion zugesetzt werden.
2. Mit verdünnten Phasen belegte Glas- und Fused-Silica-Kapillarsäulen, deren Oberfläche durch Hochtemperatursilylierung^[124] desaktiviert werden kann, trennen mit hoher Effizienz auch stark polare Substrate.
3. Die Polarität der stationären Phase kann durch die gezielte Wahl des Lösungsmittels in weiten Grenzen, unabhängig von der Art der Derivatisierung der Cyclodextrine, variiert werden.
4. Der geringere Substanzbedarf in Lösung ermöglicht den ökonomischen Einsatz schwer zugänglicher Cyclodextrine (γ , δ).

5. Die geringe Konzentration der Cyclodextrine führt zu kurzen Analysenzeiten und nach bisherigen Erkenntnissen nicht zur Abnahme der Trennfaktoren.

6. Thermodynamische Parameter der Enantiomerendifferenzierung ($\Delta_{R,S}(\Delta G^\circ)$, $\Delta_{R,S}(\Delta H^\circ)$ und $\Delta_{R,S}(\Delta S^\circ)$) lassen sich aus dem in der Komplexierungsgaschromatographie^[6, 125] abgeleiteten Konzept des Retentionszuwachses R' aus relativen Retentionsdaten bestimmen.

Bevorzugt werden permethylierte Cyclodextrine verwendet, da beispielsweise bei *n*-pentylierten Cyclodextrinen die konformativ flexiblen *n*-Pentylgruppen wahrscheinlich nicht zur chiralen Erkennung beitragen und den Hohlraum teilweise abschirmen. Das Polydimethylsiloxan OV-101 (100% Methylreste) hat sich in der Komplexierungsgaschromatographie als Lösungsmittel für optisch aktive Metallchelate bewährt^[6]. Es bildet auf entsprechend vorbehandelten Glas- und Fused-Silica-Kapillarsäulen stabile Filme. Glaskapillarsäulen, die mit der Lösung von 1 in OV-101 belegt wurden, eignen sich zur Enantiomerentrennung zahlreicher chiraler Verbindungen oberhalb von 80 °C^[92]. Unterhalb dieser Temperatur tritt Peakverbreiterung auf. Offensichtlich ist bei tiefen Temperaturen die Grenze der Löslichkeit der Cyclodextrine im extrem unpolaren Polysiloxan erreicht. In den Polymethylphenylsiloxanen DC-550 (75% Methyl-, 25% Phenylreste) und OV-17 (50% Methyl-, 50% Phenylreste) ist 1 auch bei Raumtemperatur löslich, so daß Enantiomeren-

trennungen auch bei niedrigen Temperaturen möglich sind; allerdings bilden auch diese Phasen keine stabilen Filme auf Glasoberflächen.

5.1. Heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- β -cyclodextrin in OV-1701

OV-1701 ist ein höherviskoses Polysiloxan („gum“-Phase, 5% Cyanopropyl-, 7% Phenyl-, 88% Methylreste) mit vergleichbarer Polarität wie OV-17, das auf geeignet vorbehandelten Glas- und Fused-Silica-Kapillarsäulen sehr stabile Filme bildet. Lösungen von **1** in dieser Grundphase eignen sich ganz hervorragend zur gaschromatographischen Enantiomerentrennung zwischen 25 und 200 °C^[91–93]. Enantiomere aus den folgenden Stoffklassen werden getrennt: cyclische Ether wie 2,5-Dimethyltetrahydrofuran und 2,5-Dioxytetrahydrofuran, underivatisierte cyclische und acyclische Ketone, γ -Lactone, Terpenketone (z. B. Pulegon), underivatisierte sekundäre aliphatische und aromatische Alkohole, Terpenalkohole (z. B. 3-Menthanol), underivatierte aliphatische Diole, 2-Brompropansäureester, 1,3-Dioxolane, aliphatische und aromatische Oxirane wie Phenyoxyran, bicyclische Alkene (α - und β -Pinen) und bicyclische Alkane (*cis*- und *trans*-Pinan). Ausgewählte Beispiele der ersten Enantiomerentrennungen sind in Abbildung 3 gezeigt.

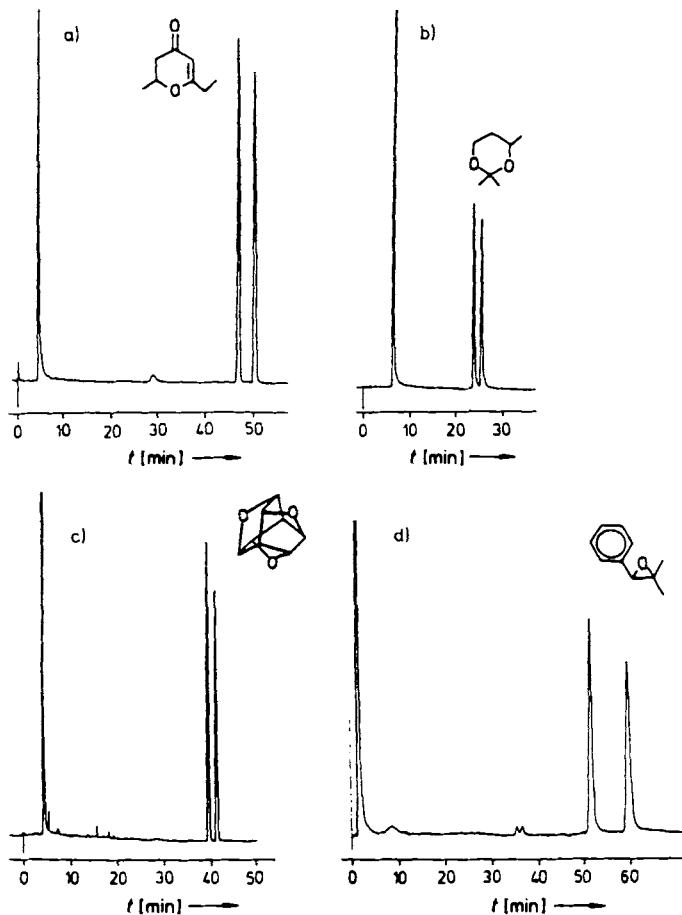


Abb. 3. Enantiomerentrennung von a) 2-Ethyl-6-methyl-5,6-dihydro- γ -pyron, b) 2,2,4-Trimethyl-1,3-dioxan, c) 4,7,11-Trioxapentacyclo[6.3.0.0^{2,6}.0^{3,10}.0^{5,9}]undecan [126] und d) 2,2-Dimethyl-3-phenyloxiran an **1** in OV-1701 (0.07 M) bei 100 °C (a), 60 °C (b), 125 °C (c), 50 °C (d). 40 m \times 0.25 mm (Innendurchmesser, I.D.) Glaskapillarsäule. Trägergas: 1 bar N₂ (a), 0.7 bar He (b), 1 bar He (c und d) [93].

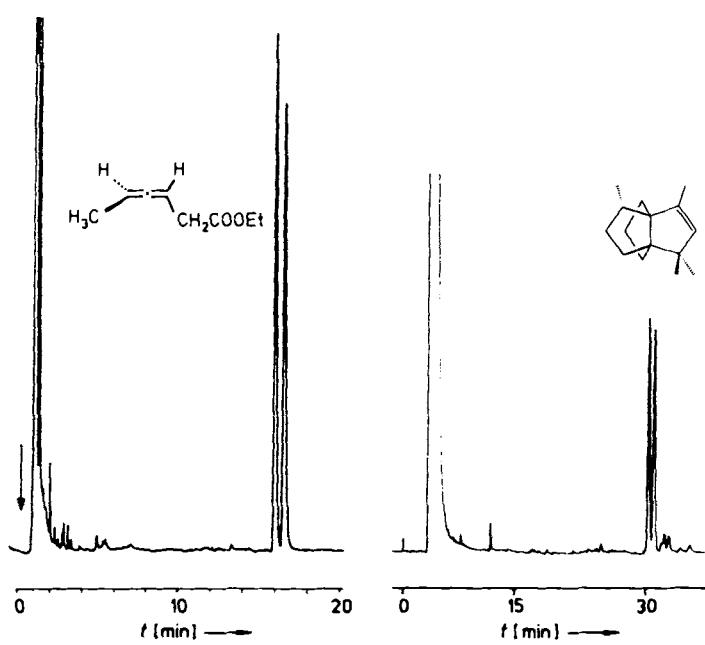


Abb. 4. Enantiomerentrennung des Allens Ethylhexa-3,4-dienoat (links) und des Propellans Modhephen (rechts) an **1** in OV-1701 (0.07 M) bei 105 °C (links) bzw. 65 °C (rechts). 40 m (links) bzw. 25 m (rechts) \times 0.25 mm (I.D.) desaktivierte Fused-Silica-Kapillarsäule. Trägergas: 0.7 bar (links) bzw. 1 bar (rechts) H₂.

Hervorzuheben sind die Enantiomerentrennung eines Allens und eines ungesättigten Propellans (Abb. 4) sowie die erste Enantiomerentrennung unfunktionalisierter gesättigter monocyclischer Kohlenwasserstoffe (Abb. 5)^[94].

Anhand der Enantiomerentrennung underivatisierter polärer Diole^[98] lässt sich der hohe Grad der Desaktivierung der Fused-Silica-Kapillarsäulen erkennen, da keine Adsorptionserscheinungen auftreten, wie aus der symmetrischen Peakform und der hohen Effizienz der Trennung hervorgeht (Abb. 6).

Neben der Enantioselektivität zeigt **1** in OV-1701 eine ausgeprägte Diastereoselektivität, die analytisch genutzt werden kann, wie die Trennung der diastereomeren 3-Menthane (Abb. 7) zeigt^[97].

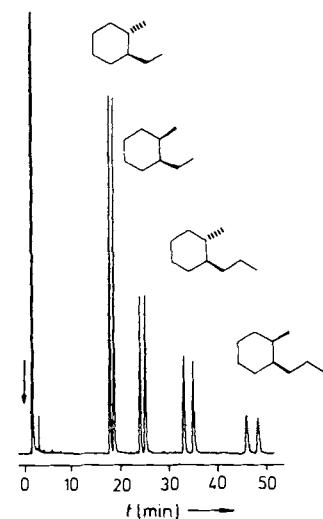


Abb. 5. Enantiomerentrennung von *cis/trans*-1-Ethyl-2-methylcyclohexan und *cis/trans*-1-Methyl-2-n-propylcyclohexan an **1** in OV-1701 (0.07 M) bei 50 °C. 30 m \times 0.25 mm (I.D.) desaktivierte Fused-Silica-Kapillarsäule. Trägergas: 1.5 bar H₂ [94].

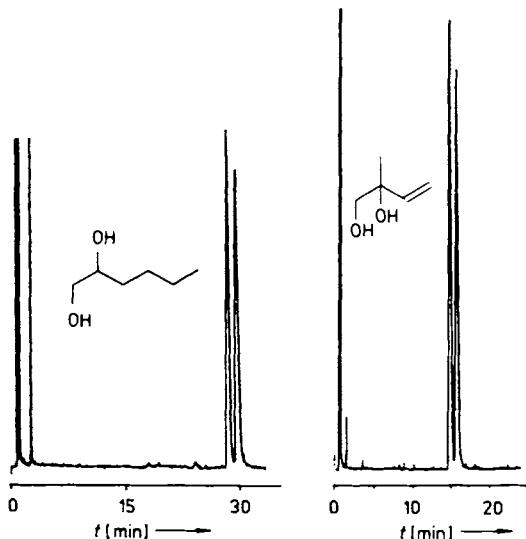


Abb. 6. Enantiomerentrennung von *n*-Hexan-1,2-diol und 2-Methyl-3-butene-1,2-diol an **1** in OV-1701 (0.07 M) bei 75 °C. 25 m × 0.25 mm (I.D.) desaktivierte Fused-Silica-Kapillarsäule. Trägergas: 1 bar H₂ [97].

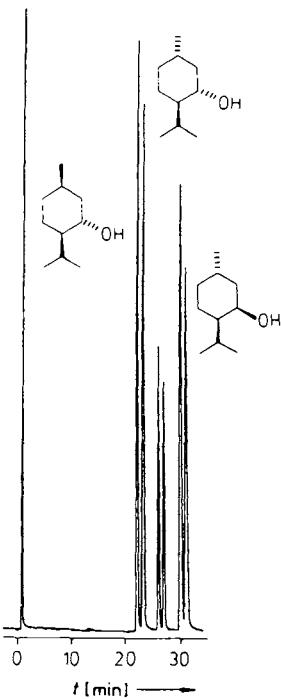


Abb. 7. Enantiomerentrennung von Neomenthol, Menthol und Isomenthol an **1** in OV-1701 (0.07 M) bei 85 °C. 25 m × 0.25 mm (I.D.) desaktivierte Fused-Silica-Kapillarsäule. Trägergas: 1 bar H₂ [97].

5.2. Hexakis(2,3,6-tri-*O*-methyl)- α -cyclodextrin und Octakis(2,3,6-tri-*O*-methyl)- γ -cyclodextrin in OV-1701

Die Änderung der Dimension des Cyclodextrinhohlraumes sollte sich gezielt auf die beobachtete Enantioselektivität auswirken. Diese Annahme ließ sich nur zum Teil verifizieren^[92]. Danach überlappen die Enantioselektivitäten von **1** und **2**. Eine hohe Enantioselektivität weist **2** jedoch gegenüber Phenoxiranen^[92] auf.

Der Hohlraum von **3** ist groß genug, um Spiroketalen wie *trans*-2,3-Dimethyl-1,4-dioxaspiro[4.4]nonan (Abb. 8) und 2-Ethyl-1,6-dioxaspiro[4.4]nonan aufzunehmen und in die

Enantiomere zu trennen^[92]. Bei vielen an **3** trennbaren Enantiomeren wurde ebenfalls eine Überschneidung mit **1** und **2** beobachtet^[92]. Dagegen zeigt **3** überraschenderweise gegenüber chiralen gesättigten cyclischen Kohlenwasserstoffen keine Enantioselektivität.

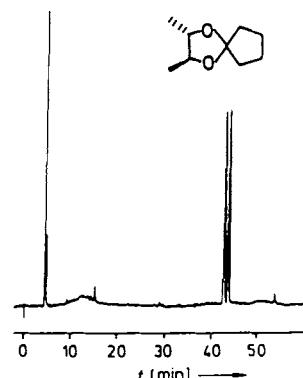


Abb. 8. Enantiomerentrennung von *trans*-2,3-Dimethyl-1,4-dioxaspiro[4.4]nonan an **3** in OV-1701 (0.07 M) bei 60 °C. 40 m × 0.25 mm (I.D.) Glaskapillarsäule. Trägergas: 1 bar H₂ [92].

5.3. Cyclodextrinderivate mit längeren Alkylresten in OV-1701

Peralkylierte Cyclodextrine mit längeren *n*-Alkylresten sind ebenfalls in OV-1701 löslich und eignen sich zur gaschromatographischen Enantiomerentrennung mit zum Teil unterschiedlichen Selektivitäten^[92]. Die höheren Molmassen dieser Cyclodextrinderivate (21 Alkylreste pro β -Cyclodextrin) bewirken, daß bei gleicher molarer Konzentration ein höherer Gewichtsanteil des Cyclodextrins gelöst werden muß. So enthalten 0.07 M Lösungen 10 Gewichts-% Permethoxy- β -cyclodextrin **1**, 12 Gewichts-% Perethyl- β -cyclodextrin **8**, 14 Gewichts-% Per-*n*-propyl- β -cyclodextrin **9**, 16 Gewichts-% Per-*n*-butyl- β -cyclodextrin **10**. Kürzlich wurden auch Enantiomerentrennungen an mit Polysiloxan verdünntem Per-*n*-pentyl- β -cyclodextrin **15** beschrieben^[127]. Die Flankierung der weiten Öffnung des Cyclodextrintorus durch (*S*)-konfigurierte *sec*-Pentylreste in **11** bewirkte überraschenderweise keine Erhöhung der Enantioselektivität^[92].

5.4. Heptakis(2,6-di-*O*-methyl-3-*O*-trifluoracetyl)- β -cyclodextrin, Octakis(2,6-di-*O*-methyl-3-*O*-trifluoracetyl)- γ -cyclodextrin und Heptakis(3-*O*-heptafluorbutanoyl-2,6-di-*O*-methyl)- β -cyclodextrin in OV-1701

Die ausgehend von den 2,6-di-*O*-methyl- β - und - γ -Cyclodextrinen in 3-Position selektiv perfluoracylierten Cyclodextrine **4**–**6**^[93, 95] zeigen zum Teil andersartige Enantioselektivitäten, die darauf zurückgeführt werden, daß die Perfluoracylgruppen zusätzliche Wasserstoffbrückenbindungen und Dipol-Dipol-Wechselwirkungen eingehen können. γ -Lactone werden wesentlich besser an **4** als an **1** (Abb. 9) getrennt, während der vergrößerte Cyclodextrinhohlraum in **5** zu einer bevorzugten Enantioselektivität für δ -Lactone führt. Dagegen eignen sich die perfluoracylierten Cyclodextrinderivate nicht zur Enantiomerentrennung chiraler monocyclischer Alkene und Alkane. **6** ist insbesonders zur Enantiomerentrennung

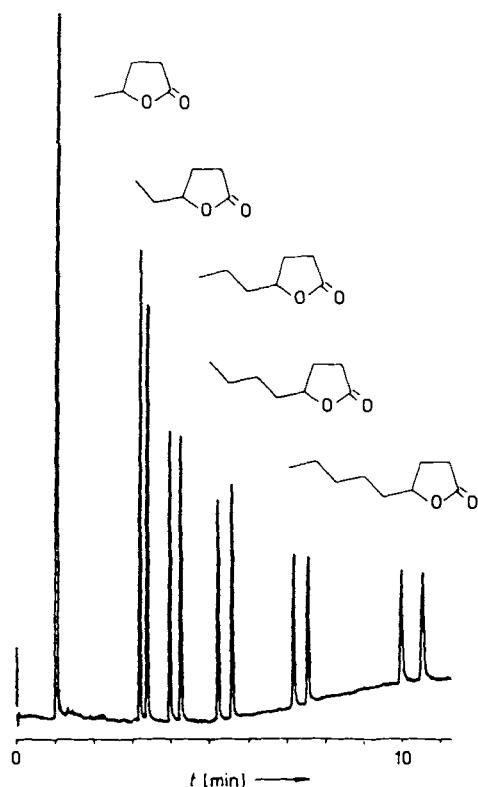


Abb. 9. Enantiomerentrennung von γ -Lactonen an 4 in OV-1701 (0.07 M) bei 160 °C ($4^{\circ}\text{C min}^{-1}$). 25 m \times 0.25 mm (I.D.) desaktivierte Fused-Silica-Kapillarsäule. Trägergas: 1.3 bar H_2 [97].

trennung von cyclischen und acyclischen Ketonen geeignet [95, 96].

Ein dimeres Cyclodextrinderivat, Bis(permethyl- β -cyclodextrin)glutarat, bewirkte keine Enantiomerentrennung [96], obwohl diese Verbindung zu einer *kooperativen* Inclusion befähigt sein sollte [128, 129].

6. Gaschromatographische Enantiomerentrennung an unverdünnten, flüssigen Cyclodextrinderivaten

Durch die Einführung längerketiger *n*-Alkylreste (Pentyl-, Hexyl-, Laurylreste) erhielten König et al. (zäh)flüssige Cyclodextrinderivate, die sich hervorragend zur gaschromatographischen Enantiomerentrennung vieler Substanzklassen an Glaskapillarsäulen eignen [100–117]. Hierbei werden α -, β - oder γ -Cyclodextrin z. B. mit *n*-Pentylbromid mit einem dreifachen Überschuß an NaOH in Dimethylsulfoxid regioselektiv in 2,6-di-*n*-pentylierte Derivate überführt [130]. Die 3-Hydroxygruppen werden anschließend mit NaH/*n*-Pentylbromid weiter alkyliert oder mit Acylhalogenid acyliert. Per-*n*-pentylcyclodextine sind bei Raumtemperatur farblose, thermisch stabile viskose Flüssigkeiten, mit denen sich geeignet desaktivierte Glasoberflächen belegen lassen.

Mit den von König et al. vorgelegten Versuchsergebnissen wurden Erwartungen übertroffen [105], die 1987 von Szejtli, einem der Pioniere der Cyclodextrinforschung, geäußert wurden [48]: „It is expected that good complex forming low-melting derivatives of cyclodextrins in capillary columns will result in excellent chiral recognition and resolution of many racemates“. Die regioselektive Alkylierung/Acylierung eröffnet den Zugang zu einer Vielfalt potentieller Cyclodex-

trinstationärphasen zur gaschromatographischen Enantiomerentrennung. Die Skala der Anwendung reicht von Enantiomerentrennungen trifluoracetylierter Amino- und Hydroxyverbindungen einschließlich Kohlenhydraten, derivatisierten Aminosäuren, Olefinen, Alkylhalogeniden, Spiro- und bicyclischen Acetalen bis zu Diolefinketallcarbonyl- π -komplexen.

6.1. Hexakis(2,3,6-tri-*O*-*n*-pentyl)- α -cyclodextrin

An dieser in Dichlormethan löslichen lipophilen Cyclodextrinstationärphase (Lipodex A) werden an Glaskapillarsäulen folgende Racemate getrennt: trifluoracetylierte Alkohole [102], Epoxyalkohole [112], Diole, Triole, Kohlenhydrate [108] (Abb. 10), underivatisiertes 4-Methyl-3-heptanon [106], Alkylhalogenide [110], Spiroacetale [110] und Glycinderivate. Darüber hinaus gelingt an dieser Phase und am per-*n*-hexylierten Analogon die Enantiomerentrennung *N*-alkylierter Barbiturate [116].

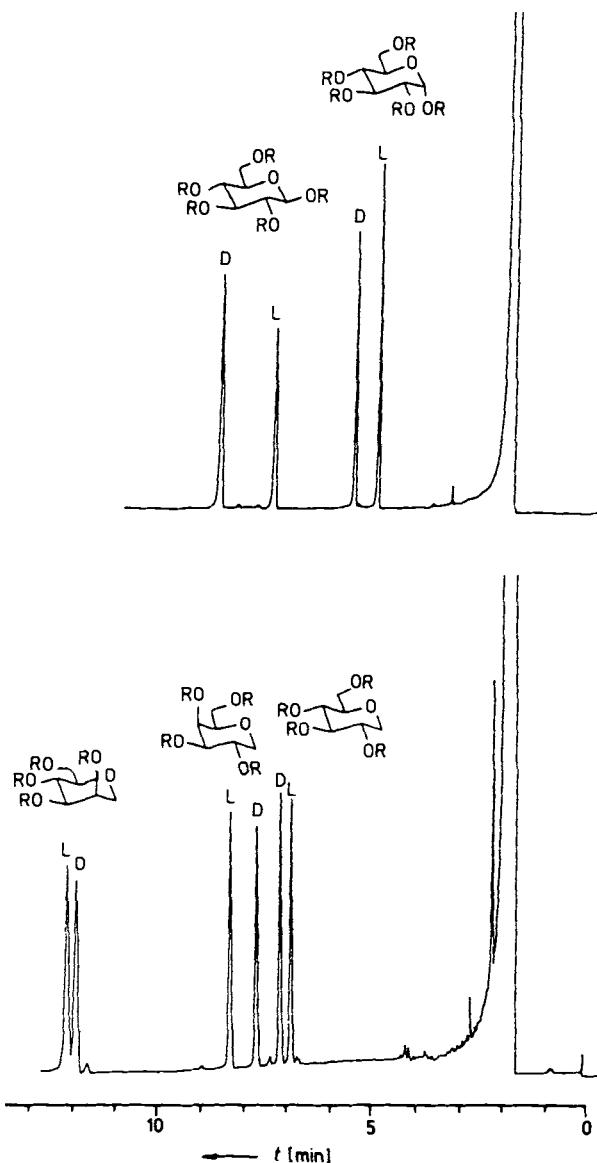


Abb. 10. Enantiomerentrennung von pertrifluoracetylierten Kohlenhydraten und Anhydroalditolen an 13 bei 115 °C/120 °C. 40 m Glaskapillarsäule. Trägergas: 1 bar H_2 . Oben: α - und β -Glucopyranose; unten: 1,5-Anhydroglucitol, -galactitol (R = CF₃CO) [108].

6.2. Hexakis(3-O-acetyl-2,6-di-O-n-pentyl)- α -cyclodextrin

An dieser lipophilen Cyclodextrinstationärphase (Lipodex B) werden bevorzugt racemische fünfgliedrige Heterocyclen wie γ -Lactone, cyclische Carbonate von 1,2-Diolen und Succinimide getrennt^[107]. Hohe Trennfaktoren erreicht man an dieser Phase auch für racemische trifluoracetylierte Kohlenhydrate und Hydroxyverbindungen wie Aldole, Cyanhydrine und Aminoalkohole^[106].

6.3. Heptakis(2,3,6-tri-O-n-pentyl)- β -cyclodextrin

An dieser lipophilen Cyclodextrinstationärphase (Lipodex C) werden trifluoracetylierte Alkohole, trifluoracetylierte Kohlenhydrate, niedere Homologe von Hydroxycarbonäureestern und Cyanhydrine getrennt^[113]. Bemerkenswert ist, daß die Enantiomere des Pheromons Grandisol getrennt werden, obwohl die trifluoracetylierte Hydroxygruppe zwei Kohlenstoffatome vom chiralen Zentrum entfernt ist (Abb. 11).

An dieser Phase werden auch Racemate von acyclischen, monocyclischen und bicyclischen Olefinen und Dienen in die Enantiomere getrennt^[109, 113]. Die enantioselektive Inclusion erwies sich als empfindlich gegen geringe strukturelle

Änderungen des Substrates. 4-Methyl-1-hexen und 4-Methylcyclohexen konnten im Gegensatz zu den 3-Stellungsisomeren nicht getrennt werden. Enantioselektivität wurde an dieser Phase erstmals auch für cyclische und acyclische Alkylhalogenide mit bis zu acht Kohlenstoffatomen beobachtet^[113]. So werden die racemischen Mischungen von 2-Chlorbutan bis 2-Chloroctan getrennt (Abb. 11). Im Gegensatz zu den höheren Homologen 1,2-Dibromheptan und -octan konnte auch 1,2-Dibromhexan in die Enantiomere getrennt werden.

6.4. Heptakis(3-O-acetyl-2,6-di-O-n-pentyl)- β -cyclodextrin

An dieser lipophilen Cyclodextrinstationärphase (Lipodex D), deren Acetylgruppen Wasserstoffbrückenbindungen eingehen können^[106], gelingt die Enantiomerentrennung polarer Verbindungen wie trifluoracetylierter α - und β -chiraler Amine, Aminoalkohole, β -Aminosäureester und cyclischer *trans*-Diole^[103] (Abb. 12 und 13).

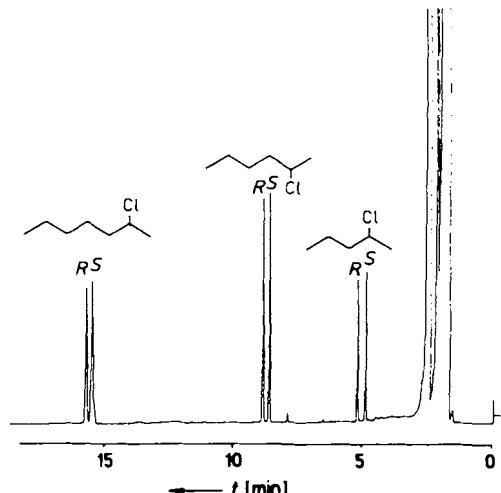
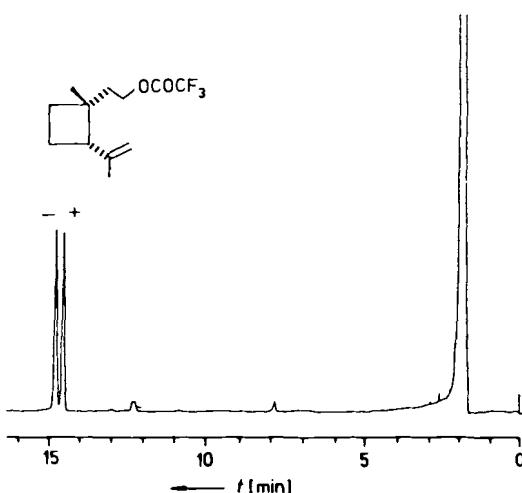


Abb. 11. Enantiomerentrennung von Grandisol (oben) und Alkylhalogeniden (unten) an 15 bei 90 bzw. 50 °C. 42 m Glaskapillarsäule. Trägergas: 1 bar H₂ [113].

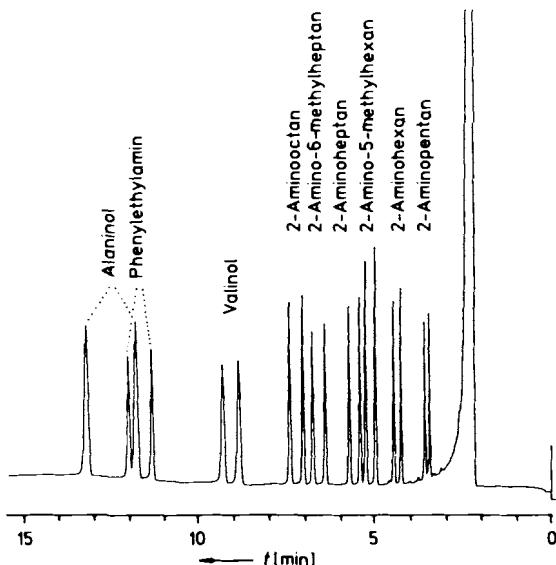


Abb. 12. Enantiomerentrennung von trifluoracetylierten Aminen und Aminoalkoholen an 16 bei 140 °C (2 °C pro min). 45 m Glaskapillarsäule. Trägergas: 1 bar H₂ [103].

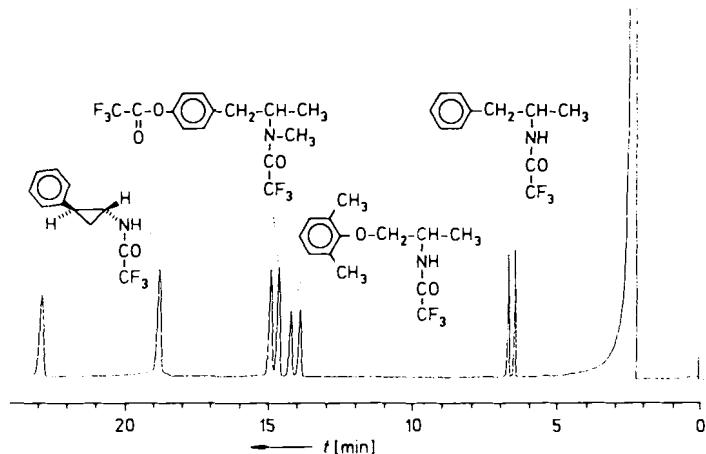


Abb. 13. Enantiomerentrennung von trifluoracetyliertem Amphetamine, Mexiletin, Pholedrin und Tranylcypromin (von rechts nach links) an 16 bei 175 °C. 45 m Glaskapillarsäule. Trägergas: 1 bar H₂ [103].

Die anwesenden Acetylgruppen führen zu besonders hohen Trennfaktoren für trifluoracetylierte Amine und Amine mit zusätzlichen funktionellen Gruppen. Viele dieser derivatisierten Amine können nicht an Aminosäurederivaten in die Enantiomere getrennt werden. An **16** gelingt auch die Enantiomerentrennung des Methylesters von α -Liponsäure^[115].

6.5. Octakis(2,3,6-tri-O-n-pentyl)- γ -cyclodextrin und Octakis(3-O-butanoyl-2,6-di-O-n-pentyl)- γ -cyclodextrin

Der größere Durchmesser des Hohlraums der γ -Cyclodextrine, die erhöhte konformative Flexibilität des Makrocyclus und die Bildung instabiler Inclusionskomplexe^[49] ließen eine Abnahme der Enantioselektivitäten erwarten. Statt dessen beobachteten König et al.^[114, 115], daß sich **17** und **18** zur Enantiomerentrennung mehrerer Stoffklassen mit zum Teil hohen Trennfaktoren eignen. Hervorzuheben ist die Enantiomerentrennung von unpolaren Substraten wie β -chiralen Alkenen, z. B. 2,4-Dimethyl-1-hepten, dem planar-chiralen Alken *trans*-3,3,8,8-Tetramethylcycloocten sowie den planar-chiralen Carbonylmetall- π -komplexen Tricarbonyl(η^4 -2-methylen-1,3-butadien)eisen(0) und Tricarbonyl(η^4 -2-methyl-1,3-butadien)eisen(0) an der hydrophoben Flüssigkeit **17**^[115] (Abb. 14).

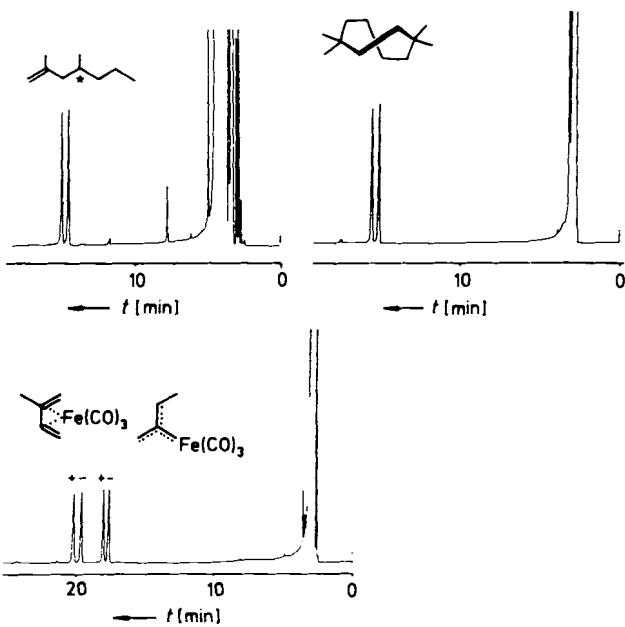


Abb. 14. Enantiomerentrennung von 2,4-Dimethyl-1-hepten (oben links), *trans*-3,3,8,8-Tetramethylcycloocten (oben rechts) sowie Tricarbonyl(η^4 -2-methylen-1,3-butadien)eisen(0) und Tricarbonyl(η^4 -2-methyl-1,3-butadien)eisen(0) [117] (unten) an 17 bei 60, 95 bzw. 80 °C. 50 m desaktivierte Glaskapillarsäule. Trägergas: 1 bar H₂ [115].

Es wurden auch α -Alkyl- sowie *N*-Methyl- α - und β -Aminosäuren als *N*-Trifluoracetyl-*O*-methylderivate an **18** in die Enantiomere getrennt^[114]. Mit Ausnahme von D-Prolin werden die D-Enantiomere von α -Aminosäuren vor den L-Antipoden eluiert, was die Enantiomereneinheitsbestimmung der natürlichen L-Aminosäuren erleichtert. Allerdings eignen sich bisher Histidin, Tyrosin und Arginin nicht zur Analyse. *O*-Trifluoracetylierte α - und β -Hydroxycarbon-

säureester werden ebenfalls getrennt, einschließlich der Ester von Weinsäure, Äpfelsäure und Mandelsäure.

Racemische Alkohole und Diole wurden in derivatisierter Form als Trifluoracetylester und einige Terpenketone wie Fenchon, Menthon, Isomenthon und Campher underivatiiert getrennt (Abb. 15). Sowohl bicyclische und tricyclische

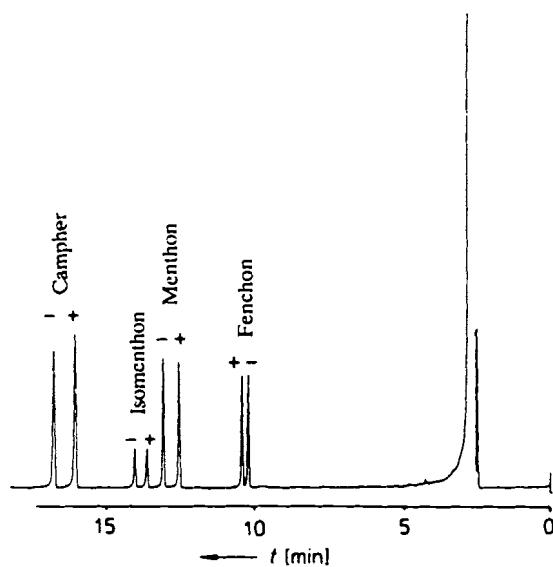


Abb. 15. Enantiomerentrennung von underivatisiertem Fenchon, Menthon, Isomenthon und Campher an **18** bei 100 °C (2 °C pro min). 50 m x 0.25 mm (I.D.) desaktivierte Glaskapillarsäule. Trägergas: 1 bar H₂ [114].

Acetale (Borkenkäferpheromone wie Frontalin, *exo*- und *endo*-Brevicomin, Lineatin), die bisher ausschließlich durch Komplexierungsgaschromatographie getrennt wurden^[2], als auch γ -, δ - und ϵ -Lactone zeigen hohe Trennfaktoren. Besonderswert ist die Enantiomerentrennung von α -Hexachlorcyclohexan bei 190 °C^[114] (Abb. 16).

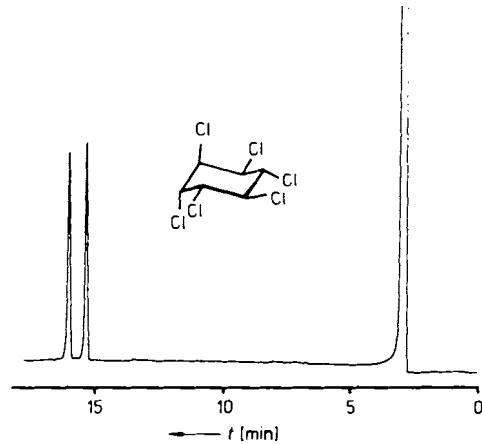


Abb. 16. Enantiomerentrennung von α -Hexachlorcyclohexan an **17** bei 190 °C. 50 m x 0.25 mm (I.D.) desaktivierte Glaskapillarsäule. Trägergas: 1 bar H₂ [114].

6.6. Heptakis(*O*-(*S*)-2'-hydroxypropylper-*O*-methyl)- β -cyclodextrin (PMHP- β -CD)

Die hydrophile, relativ polare, wasserlösliche, viskose Flüssigkeit eignet sich als enantioselektive Stationärphase

zur Belegung von Fused-Silica-Kapillarsäulen^[120]. Die massenspektrometrische Analyse zeigt, daß ein Produktgemisch partiell alkylierter Derivate vorliegt. Verbindungen wie trifluoracetylierte sekundäre Amine, trifluoracetylierte Aminoalkohole, Epoxide, die einfachsten β - und γ -Lactone, Norbornen- und Norbornanderivate sowie monocyclische fünf- und sechsgliedrige Acetale wurden an dieser Phase in die Enantiomere getrennt. Die Einführung eines zusätzlichen chiralen Zentrums im 2-Hydroxypropylsubstituenten übt überraschenderweise keinen Einfluß auf die Enantioselektivität gegenüber zahlreichen Gastmolekülen aus, wie durch vergleichende Untersuchungen an Derivaten mit (*S*)- und (*R*)-konfigurierten Substituenten gezeigt wurde^[120]. Von Ausnahmen abgesehen, bot die Verwendung der entsprechenden α - (19) und γ -Cyclodextrinderivate keine Vorteile^[120].

6.7. Hexakis(2,6-di-*O*-*n*-pentyl)- α -cyclodextrin (Dipentyl- α -CD) und Heptakis(2,6-di-*O*-*n*-pentyl)- β -cyclodextrin (Dipentyl- β -CD)

Mit diesen gegenüber den per-*n*-pentylierten Cyclodextrinderivaten polarer Stationärphasen lassen sich leicht Fused-Silica-Kapillarsäulen belegen^[122]. Auch hier wird die flüssige Konsistenz auf das Vorliegen einer Mischung partiell alkylierter Derivate zurückgeführt. Für 65 racemische Verbindungen wurden beachtliche Unterschiede der Enantioselektivität zwischen den α -, β - und γ -Cyclodextrinderivaten festgestellt^[122]. An 21 und 22 lassen sich ähnliche Substanzen in die Enantiomere trennen wie an per-*n*-pentylierten Cyclodextrinen.

6.8. Heptakis(2,6-di-*O*-*n*-pentyl-3-*O*-trifluoracetyl)- β -cyclodextrin (DPTFA- β -CD)

An dieser Phase werden bevorzugt racemische trifluoracetylierte Kohlenhydrate in die Enantiomere getrennt^[123]. Für α -DL-Galactopyranose ergab sich bei 120 °C ein Trennfaktor α von 2.14.

7. Anwendungen

Die Hauptanwendung chiraler Cyclodextrinphasen besteht zur Zeit in der gaschromatographischen Enantiomeranalytik unzersetzbarer chiraler Verbindungen. Sie umfaßt die Enantiomerenreinheitskontrolle enantioselektiv synthetisierter Produkte wie auch die Bestimmung der Enantiomerenzusammensetzung von Naturstoffen (z. B. Pheromonen, Riechstoffen) und Pharmaka^[131]. Vorteilhaft ist, daß viele Verbindungen underivatisiert und ohne Probenvorreinigung direkt analysiert werden können. Beispielsweise wurden die enantioselektive Telomerisierung von Butadien und Formaldehyd zu *cis*- und *trans*-2,5-Divinyltetrahydropyran und deren Enantiomeranalyse beschrieben^[127, 132]. Die Stereochemie der Rhodium(I)-katalysierten Hydrierung von 1-Ethyl-2-methylcyclohexen zu 1-Ethyl-2-methylcyclohexan wurde untersucht^[96], ohne daß Enantioselektivität festgestellt werden konnte. Die Analyse des natürlichen Aromastoffes der Haselnuss (*E*)-5-Methyl-

hept-2-en-4-on („Filberton“) ergab ein mit (*S*)-Antipoden angereichertes Gemisch^[133].

Enantiomerenüberschüsse deutlich unter $ee = 100\%$ wurden für optisch aktives α -Pinen und Limonen in kommerziellen Proben und in einer pharmazeutischen Zubereitung nachgewiesen^[134] (Abb. 17). Die Enantiomerenzusammen-

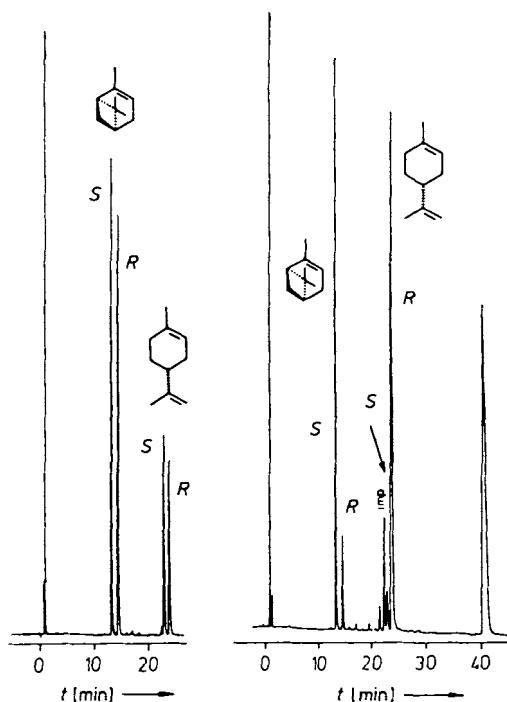


Abb. 17. Enantiomerentrennung von α -Pinen und Dipenten (Limonen) an I in OV-1701 bei 50 °C. 25 m \times 0.25 mm (I.D.) Fused-Silica-Kapillarsäule. Trägergas: 0.9 bar H_2 . Links: racemische Mischungen; rechts: Bestimmung der Enantiomerenreinheit der Alkene in einer pharmazeutischen Formulierung durch Dampfraumanalyse [134].

setzung von γ -Lactonen in Lebensmitteln wurde durch multidimensionale Gaschromatographie bestimmt^[135].

Die Absolutkonfiguration von α -Damascen und α -Ionon in Schwarztee wurde aufgeklärt^[136] (Abb. 18). Eine Reihe von olefinischen Algenpheromonen (Multifiden, Aucanten)

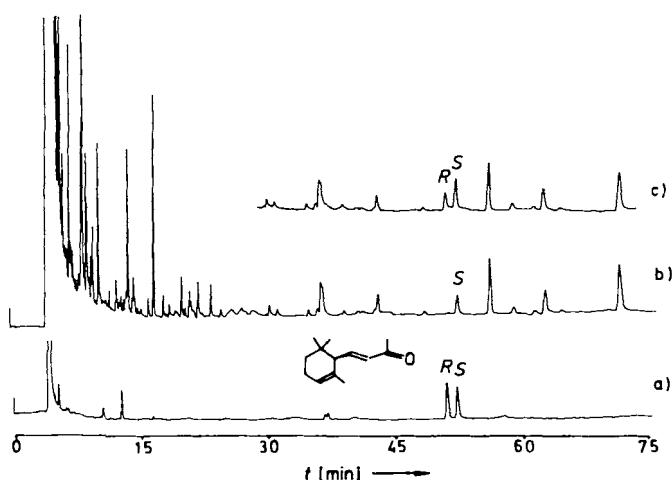


Abb. 18. a) Enantiomerentrennung von α -Ionon an Octakis(3-*O*-methyl-2,6-di-*O*-*n*-pentyl)- γ -cyclodextrin. b) Gaschromatogramm einer Fraktion eines Schwarztee-Extraktes. c) Koinjektion von a) und b). 60 m desaktivierte Glaskapillarsäule, 115 °C. Trägergas: 1 bar H_2 [136].

wurde an Cyclodextrinderivaten in die Enantiomere getrennt; damit erhielt man die Grundlage zur Aufklärung stereochemischer Zusammenhänge^[137]. Die Bestimmung der Enantiomerenzusammensetzung von chiralen *cis*- und *trans*-2,3-Epoxyalkoholen, die durch asymmetrische Epoxidation zugänglich sind und vielseitig eingesetzt werden, gelingt an per-*n*-pentyliertem α -Cyclodextrin^[112]. Bemerkenswert ist die gaschromatographische Bestimmung der Enantiomerenreinheit von Tricarbonyl(η^4 -2-methylen-1,3-butandiyl)eisen(0) und Tricarbonyl(η^4 -2-methyl-1,3-butadien)eisen(0)^[115].

8. Bemerkungen zum Trennmechanismus

Bereits 1952 schrieb Cramer in einer Pionierarbeit über die Racematspaltung mit Cyclodextrinen^[39]: „Damit ist ein Zusammenhang zwischen Molekelform und biochemischer Wirkung gefunden. Das Cyclodextrin wirkt ja hier nur durch seine räumliche Gestalt, nicht durch funktionelle Gruppen. Es können aber nur solche Reaktionspartner abgedeckt werden, die in den Hohlraum hineinpassen. So zeigen sich hier auffallende Parallelen zu den Schlüssel-Schloß-Beziehungen biochemischer Vorgänge“. Anhand thermodynamischer Parameter folgert Saenger für Cyclodextrineinschlußverbindungen, daß „der Einschluß nicht primär vom Charakter des Gasts abhängt“^[115].

Bei der gaschromatographischen Enantiomerentrennung mit Cyclodextrinderivaten hat sich gezeigt, daß eine auffallende Vielfalt an Stoffklassen einer Enantiomerentrennung zugänglich ist. Das Spektrum umfaßt stark polare chirale Diole und freie Carbonsäuren, derivatisierte Aminosäuren und Kohlenhydrate, Metallkoordinationsverbindungen, Allene, Propellane, planar-chirale cyclische Alkene und unfunktionalisierte monocyclische Kohlenwasserstoffe. Die chromatographische Enantiomerentrennung ist stets das Ergebnis der Diskriminierung konstitutiv identischer, aber konfigurativer unterschiedlicher (inkongruenter spiegelbildlicher) Moleküle durch eine *racemische* Stationärphase. Die dafür erforderliche Wechselwirkung kann stark oder schwach sein^[61], und es kann sich um Inclusion und/oder andere chemische Interaktionen handeln.

Für die intermolekulare Wirt-Gast-Wechselwirkung sind für Cyclodextreine verschiedene Beiträge diskutiert worden^[12, 13, 15, 16, 20]: 1. sterische Anpassung (fit) durch Konformationsänderung des Gastmoleküls und/oder des Cyclodextrins beim molekularen Einschluß (induced fit)^[138–140], 2. Wasserstoffbrückenbindungen^[24, 141], 3. van-der-Waals-Wechselwirkungen (London-Dispersionskräfte und dipol-induzierte Dipolwechselwirkungen), 4. hydrophobe Wechselwirkungen, 5. Dipol-Dipol-Wechselwirkungen, 6. Charge-Transfer-Wechselwirkungen, 7. elektrostatische Wechselwirkungen, 8. Freisetzung von „enthalpiereichem“ Wasser aus dem Cyclodextrinhohlraum, 9. Freisetzung von Lösungsmittel aus dem Cyclodextrinhohlraum unter Entropiegewinn, 10. Abbau der Ringspannung des Makrocyclus.

Für eine Enantiomerentrennung durch Inclusion sollte die Molekülgestalt eine wichtige Rolle spielen (shape selectivity und size selectivity). Für polare Gastmoleküle können daneben auch chemische Wechselwirkungen maßgebend sein (chemical functionality selectivity). Die bisherigen Ergebnisse zeigen aber, daß die Molekülgestalt offensichtlich in wei-

ten Grenzen variiert werden kann. So werden neben cyclischen Verbindungen auch verzweigte lineare Moleküle wie underivatisierte Ketone, Halogenalkane, Olefine und Allene in die Enantiomere getrennt. Auch die Molekülgröße scheint keine entscheidende Rolle zu spielen. Armstrong et al. stellen die Rolle der Inclusion sogar in Frage, da bestimmte Gäste keine Selektivität gegenüber dem Durchmesser des Cyclodextrinhohlraums (α , β , γ) aufweisen^[120]. Eine bei Inclusionsmechanismen häufig beobachtete Peakverbreiterung durch verlangsamten Massentransfer fehlt ebenfalls.

Während die Enantiomerentrennung gesättigter cyclischer Kohlenwasserstoffe wie *trans*-1,2-Dimethylcyclohexan eindeutig auf molekulare Inclusion zurückzuführen ist^[94], kommen für polare Substrate zusätzlich enantioselektive Wechselwirkungen, z. B. durch Wasserstoffbrückenbindungen mit in 3-Stellung acylierten Cyclodextrinen, in Betracht. In diesem Zusammenhang ist die Beobachtung von Schurig et al. von Bedeutung, daß Enantiomere (z. B. racemische cyclische Ether und aromatische Oxirane) auch an offenketiger, per-*n*-pentylierter Amylose getrennt werden können^[142]. Möglicherweise kann eine Enantiomerendifferenzierung auch an der äußeren Oberfläche der Cyclodextrinmoleküle stattfinden. Überraschenderweise hat die Modifizierung der Cyclodextrinöffnungen mit chiralen Ankergruppen keinen Einfluß auf die Enantioselektivität des Wirtmoleküls. So eignet sich Heptakis(2,3,6-tris-*O*-(*S*)-2'-methylbutyl)- β -cyclodextrin 11 nicht zur Enantiomerentrennung^[92], und die Konfiguration der 2-Hydroxypropylgruppe in 19 und 20^[118] ist für die Enantioselektivität ohne Bedeutung^[120].

Die Enantiomerentrennung acylierter Alkohole und Amine an polaren Cyclodextrinderivaten ist von der Natur der Acylgruppe abhängig^[119] (Abb. 19). Da die Acetyl- und die Trifluoracetylgruppe eine ähnliche Größe und Geometrie aufweisen, wird der Unterschied der Enantioselektivität auf die unterschiedlichen elektronischen Eigenschaften der Acylgruppen (Polarität, Neigung zur Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen) zurückgeführt^[119].

In vielen Fällen führen geringe strukturelle Unterschiede an den Gastmolekülen zu drastischen Auswirkungen auf die chirale Erkennung^[92]. So zeigte der Vergleich alkylsubstituierter γ -Butyrolactone, daß die Länge von Alkylysubstituenten in γ -Position (vgl. Abb. 9) und zusätzliche Substituenten in β -Position nur einen geringen Einfluß auf den Trennfaktor ausüben, während eine Methylgruppe in α -Position zur Carbonylgruppe die Trennung verschlechtert^[92]. 3,3,5-Tri-methylcyclohexanon konnte an 1 quantitativ in die Enantiomere getrennt werden, während die 2,2,6-Isomere unge trennt blieben^[92].

Durch die Methylierung wird der Hohlraum der Cyclodextreine tiefer (ca. 1000–1100 pm) und noch ausgeprägter konisch; die größere Öffnung am Ende der sekundären Methoxygruppen wird erweitert und die kleinere Öffnung am anderen Ende der primären Methoxygruppen verengt^[138]. Harata et al. sagen deshalb für die permethylierten Cyclodextreine eine größere Neigung zur Enantiomerendifferenzierung als für die underivatisierten Analoga voraus^[138–140]. Entgegen dieser Voraussage sind die Trennfaktoren an un-derivatisierten Cyclodextrinen in Formamidlösung^[81, 82] (vgl. Abb. 2), z. B. für Pinene und Pinane, sehr viel höher als die an bisher untersuchten alkylierten/acylierten Cyclodextrinen in unverdünnter oder verdünnter Form (vgl. Abb. 17).

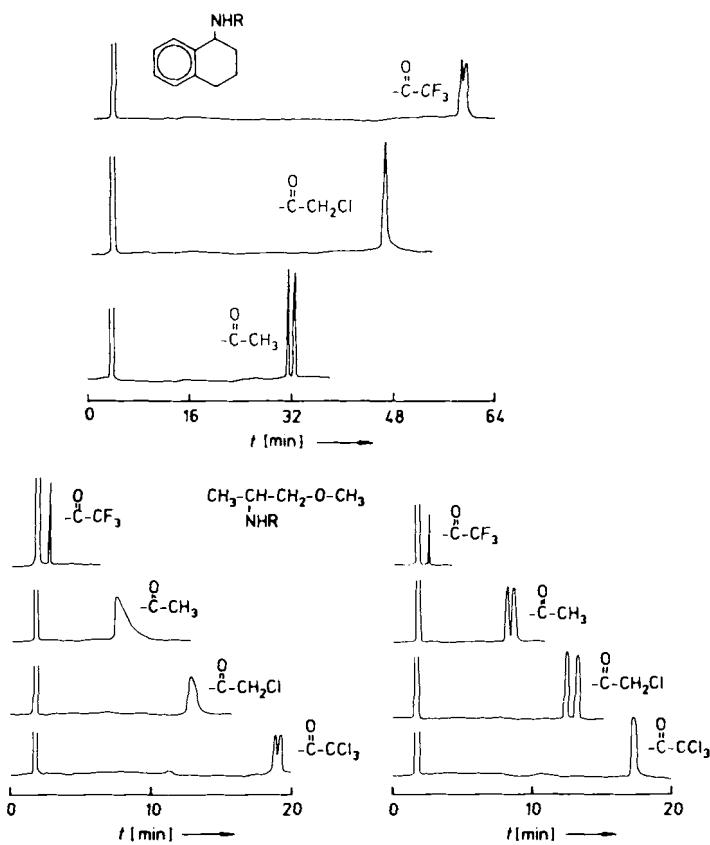


Abb. 19. Einfluß der Derivatisierung auf die Enantiomerentrennung acylierter Amine. Oben: 1,2,3,4-Tetrahydro-1-naphthylamin an 22; unten links: 2-Amino-1-methoxypropan an 22; rechts: 2-Amino-1-methoxypropan an 20 bei 130 bzw. 180 °C. 30 m Fused-Silica-Kapillarsäulen. Trägergas: N₂ [119].

Lediglich die extreme Effizienz der verwendeten Hochauflösungskapillarsäulen ermöglicht deren quantitative Enantiomerentrennung bereits ab $\alpha > 1.02$. Dies entspricht einem Unterschied der freien Enthalpie der Enantiomerendifferenzierung $\Delta_{R,S}(\Delta G^\circ)$ von lediglich $\sim 20 \text{ cal mol}^{-1}$ ^[17]. Enantiomerentrennungen aufgrund derart geringer freier Enthalpieunterschiede wurde deshalb der Charakter eines kaum vorhersagbaren „random-effects“ zugesprochen^[93], der mechanistische Schlüssefolgerungen als wenig aussichtsreich erscheinen läßt. Die Umkehrung der Elutionsreihenfolge von Enantiomeren als Folge geringfügiger Änderungen der Wirtsstruktur^[118] (Abb. 20) überraschen deshalb nicht.

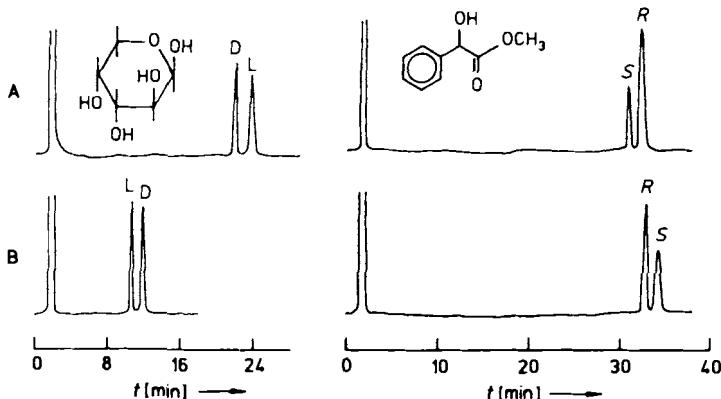


Abb. 20. Umkehr der Elutionsreihenfolge von Enantiomeren an polaren Cyclodextrin-Derivaten. Enantiomerentrennung von Perfluoracetyl-β-D-L-arabinose (links) und Mandelsäuremethylester (rechts) an A) 20 und B) 22 bei 80 bzw. 120 °C. 10 m Fused-Silica-Kapillarsäulen. Trägergas: N₂ [118].

Aus Röntgenstrukturuntersuchungen ist bekannt, daß bei geeigneten Gastmolekülen Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Wirt und Gast vorliegen können^[24, 86, 141]. Daß diese Wasserstoffbrücken auch bei permethylierten Cyclodextrinen entscheidend zur Enantiomerendifferenzierung beitragen können, kann aus Kristallstrukturen von Einschlußkomplexen der Mandelsäureantipoden geschlossen werden: Im Komplex von Permethyl- α -cyclodextrin mit D-Mandelsäure wird eine Wasserstoffbrücke zwischen Wirt und Gast gefunden, die im Komplex mit L-Mandelsäure nicht vorliegt^[140]. Ungeklärt ist, inwieweit die Struktur im Festzustand auf die Lösung übertragen werden kann (Pakkungseffekte). Daß einige freie Alkohole Enantiomerentrennungen zeigen, während die entsprechenden Acetate nicht getrennt werden^[91–93], könnte auf den Beitrag von Wasserstoffbrückenbindungen zur chiralen Erkennung zurückzuführen sein. Permethylierte Cyclodextrine können im Gegensatz zu den Stammverbindungen lediglich als Akzeptoren für Wasserstoffbrücken gegenüber Verbindungen mit protischen Gruppen wirken.

Die „klassischen“ hydrophoben Wechselwirkungen sind vor allem auf Entropieeffekte zurückzuführen. Zwar geht die Bildung des Wirt-Gast-Komplexes mit einer Entropieabnahme einher, doch kann das Abstreifen der Hydrathülle des Gasts und die Freisetzung von Lösungsmittelmolekülen aus dem Cyclodextrinhohlraum insgesamt zu einer Entropiezunahme führen. Es wird später ausgeführt, daß diese Art der hydrophoben Wechselwirkung möglicherweise auch für in Polysiloxan verdünnte Cyclodextrinderivate eine Rolle spielt, während der Einfluß einer Dehydratation vernachlässigt werden kann, da sowohl bei der Konditionierung der Säulen bei hohen Temperaturen als auch bei der Injektion der Substrate Wassermoleküle quantitativ abgetrennt werden sollten.

Da der Einschluß überwiegend unabhängig von den chemischen Eigenschaften des Gastmoleküls ist, wurde diskutiert, daß eine treibende Kraft hierfür die Entfernung von enthalpiereichem Wasser aus dem Hohlraum, in dem es sich in ungünstiger, hydrophober Umgebung befindet, ist^[151]. Nach oben Gesagtem sollte unter den Bedingungen des gaschromatographischen Experiments dieser Beitrag keine Rolle spielen.

Enantioselektive Wechselwirkungen zwischen chiralen und prochiralen Gästen und Cyclodextrinen sind mit mehreren Methoden nachgewiesen worden^[18, 31, 32, 34]. Da Cyclodextrinphasen in der Gaschromatographie erst in jüngster Zeit zur Enantiomerentrennung verwendet werden, sind hier bisher keine Modellvorstellungen zum Mechanismus der chiralen Erkennung entwickelt worden. Dagegen wurde bei der Racematspaltung durch fraktionierende Kristallisation mit Cyclodextrinen^[43], bei Cyclodextrin-katalysierten Reaktionen^[143] und in der Flüssigkeitschromatographie (HPLC) an Cyclodextrinphasen ein Drei-Punkt-Wechselwirkungsmodell in Analogie zu den Modellen von Easson und Stedman^[144] und von Dalglish^[145] vorgeschlagen^[61, 62]. Danach wird ein lipphiler, vorzugsweise aromatischer Molekülteil im Cyclodextrinhohlraum eingeschlossen, und zwei polare Substituenten wechselwirken, z. B. über Wasserstoffbrücken, mit den sekundären Hydroxygruppen an der weiten Öffnung des Cyclodextrinhohlraums. Dieses Modell ist gut geeignet, die Enantiomerendifferenzierung von Arenen mit einem Chiralitätszentrum in der Seitenkette und mehre-

ren polaren funktionellen Gruppen am Chiralitätszentrum zu erklären (z. B. Mandelsäurederivate, Propranolol). Für alicyclische Verbindungen mit Chiralitätszentren im Ring oder für Verbindungen, deren funktionelle Gruppen keine Wasserstoffbrücken bilden können, ist dieses Modell nicht geeignet. Eine bei flüssigkeitschromatographischen Enantiomerentrennungen an Kohlenhydratphasen erforderliche „Arenpräsenz“ spielt bei der Gaschromatographie keine Rolle.

Obwohl van-der-Waals-Kräfte nicht sehr weitreichend sind ($\sim r^{-6}$), können sie bei engem Kontakt zwischen Wirt und Gast einen erheblichen Beitrag zur selektiven Inclusion leisten. Die quantitative Enantiomerentrennung von chiralen Cycloalkanen an **1** (vgl. Abb. 5)^[82, 94], bei denen andere Wechselwirkungen ausscheiden, zeigt, daß an Cyclodextrinphasen bereits van-der-Waals-Wechselwirkungen zur Enantiomerendifferenzierung ausreichen. In einer Molecular-Modelling-Studie^[146] wurden Einschlußkomplexe der *cis/trans*-Enantiomere von 1-Ethyl-2-methylcyclohexan mit **1** durch Kraftfeldrechnungen und Moleküldynamiksimulation berechnet. Aus Abbildung 21 (links) geht qualitativ ein enger

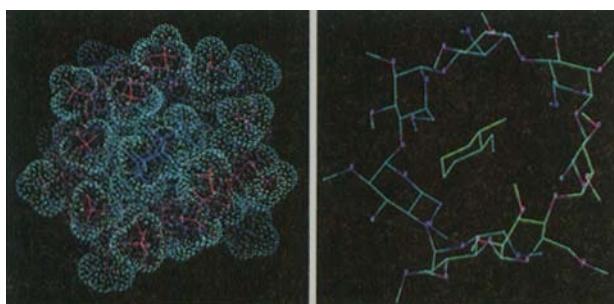


Abb. 21. Molecular-Modelling-Studie des Einschlußassoziaten zwischen *trans*-1-Ethyl-2-methylcyclohexan (ein Enantiomer) und **1** [146]. Links: mit, rechts: ohne van-der-Waals-Radien.

Kontakt der van-der-Waals-Oberflächen im Komplex von *trans*-1-Ethyl-2-methylcyclohexan (blau) mit **1** (rot) hervor. Das Assoziat ist hier von der Seite der sekundären Methoxygruppen, also von der weiteren Öffnung des Hohlraums her, dargestellt. Obwohl der Wirt den Gast vollständig umschließt, ließen sich aufgrund der geringen Unterschiede der freien Enthalpie keine Voraussagen zur Diastereo- und Enantioselektivität treffen; die erhaltenen Komplexstabilitäten standen nicht in Einklang mit dem gaschromatographischen experimentellen Befund der *cis/trans*-Elutionsreihenfolge^[92] (vgl. Abb. 5). Wie schon erwähnt, ist die Verifizierung von Kristallstrukturdaten und gaschromatographisch bestimmten thermodynamischen Parametern ($\Delta_{R,S}(\Delta G^\circ)$, $\Delta_{R,S}(\Delta H^\circ)$, $\Delta_{R,S}(\Delta S^\circ)$) hohenantioselektiver Wirt-Gast-Assoziate durch Molekülberechnungen eine lohnenswerte Aufgabe für die Zukunft.

Die gaschromatographische Enantiomerentrennung ist ein thermodynamisch kontrollierter Prozeß. Die Enantiomerkriminierung zwischen racemischem Gast und nichtracemischem Wirt wird durch die Gibbs-Helmholtz-Beziehung (a) beschrieben, und sie entspricht der Summe der Enthal-

$$-\Delta_{R,S}(\Delta G^\circ) = -\Delta_{R,S}(\Delta H^\circ) + T\Delta_{R,S}(\Delta S^\circ) \quad (a)$$

pie- und Entropieunterschiede bei der Assoziation der Enantiomere mit der chiralen Phase. Der Prozeß ist temperaturabhängig, und es wurden kürzlich Umkehrungen der Elutionsreihenfolge der Enantiomere an derselben chiralen Phase (Aminosäurederivate, Metallkomplexe) oberhalb einer isoenantioselektiven Temperatur T_{iso} festgestellt^[147].

Zur thermodynamischen Charakterisierung der Enantiomerkriminierung ist es sinnvoll, zwischen der Gesamtwechselwirkung $-\Delta G^\circ$ und dem Unterschied der Assoziation für beide Enantiomere $-\Delta_{R,S}(\Delta G^\circ)$ zu unterscheiden^[16]. So ist anzunehmen, daß bei gegebener Wechselwirkung zwischen Wirt und Gast, die gering oder stark sein kann, oft geringfügige zusätzliche Wechselwirkungen zu einer Enantiomerkriminierung führen können. Für den Cyclodextrineinschluß ist demnach das kompetitive Verhalten der Enantiomere unter Berücksichtigung des Enthalpie- und Entropiebeitrages für die chirale Erkennung bei einer gegebenen Temperatur entscheidend. Thermodynamische Daten der Enantiomerkriminierung wurden für *cis*-1-Ethyl-2-methylcyclohexan und *cis*-Pinan an **1** in OV-1701 (0.07 M) bestimmt^[95, 96] (Tabelle 3). Die thermodynami-

Tabelle 3. Thermodynamische Parameter der Enantiomerentrennung von *cis*-1-Ethyl-2-methylcyclohexan und *cis*-Pinan an **1** in OV-1701 (0.07 M) aus temperaturabhängigen Messungen ($T = 30$ – 70°C) mit *n*-Octan und *n*-Decan als Standard [95, 96].

Substrat	Standard	$\Delta\Delta H$ [kJ mol ⁻¹]	$\Delta\Delta S$ [J K ⁻¹ mol ⁻¹]
	C ₈ H ₁₈	-0.2	0.3
	C ₁₀ H ₂₂	-0.2	0.3
	C ₈ H ₁₈	-0.2	0.7
	C ₁₀ H ₂₂	-0.2	0.8

schen Parameter wurden aus relativen Retentionsdaten erhalten, wobei das Konzept des in der Komplexierungs-gaschromatographie entwickelten Retentionszuwachses R' ^[6, 125] zugrunde gelegt wurde.

$\Delta_{R,S}(\Delta H^\circ)$ und $\Delta_{R,S}(\Delta S^\circ)$ haben für die untersuchten Cycloalkane entgegengesetztes Vorzeichen. Daraus folgt, daß keine (positive) isoenantioselektive Temperatur auftritt und deshalb keine Peakinversionen im betrachteten System zu erwarten sind (vgl. auch^[118]). Die Entropiezunahme, die für einen Assoziationsprozeß ungewöhnlich ist, kann möglicherweise dadurch erklärt werden, daß durch Inclusion des Kohlenwasserstoffes Lösungsmittel (Polysiloxan) aus **1** freigesetzt wird, welches dadurch individuelle Freiheitsgrade gewinnt. Sowohl $-\Delta_{R,S}(\Delta H^\circ)$ als auch $\Delta_{R,S}(\Delta S^\circ)$ tragen demnach zur Enantiomerkriminierung $-\Delta_{R,S}(\Delta G^\circ)$ bei, und die Enantiomere können bereits bei kleinen Enthalpie- und Entropieunterschieden quantitativ getrennt werden. Ein niedriger Wert für $-\Delta_{R,S}(\Delta H^\circ)$ führt zu einer geringen Temperaturabhängigkeit der Enantiomerentrennung, und quantitative Trennungen gelingen so, wie mit Cyclodextrinstationärphasen allgemein beobachtet wird, auch bei hohen Temperaturen (z. B. bei 250°C).

Die gezielte Suche nach enantioselektiven Wirt-Gast-Systen mit hohen Trennfaktoren ($\alpha > 2$) ist nicht nur für die präparative Variante der Racemattrennung wichtig, sondern

auch für die Optimierung von Modellsystemen für mechanistische Untersuchungen, thermodynamische Messungen der Enantioselektivität, Kristallstrukturuntersuchungen und computergestützte Berechnungen der diastereomeren Assoziate.

9. Praktische Anmerkungen und Ausblick

Hochauflösende, gaschromatographische Enantiomerentrennungen an Cyclodextrinderivaten gelingen zur Zeit nur auf analytischen Kapillarsäulen. Semipräparative Trennungen sind bei den derzeitig erreichbaren Trennfaktoren α nur in Ausnahmefällen zu erwarten. Enantiomerentrennungen können im üblichen Temperaturbereich von 25 bis 250 °C durchgeführt werden, für spezielle Anwendungen sind aber auch tiefere Temperaturen möglich (bis – 25 °C). Die Lebensdauer der enantioselektiven Phasen ist hoch, wenn sauerstofffreie Trägergase (Stickstoff, Helium, Wasserstoff) eingesetzt werden. Der Eintrag von Lösungsmitteln verdünnter Proben kann durch Splitinjektion (1:100) minimiert werden. Die Belegung der Glas- oder Fused-Silica-Kapillarsäulen mit unverdünnten oder verdünnten Cyclodextrinderivaten erfordert Erfahrung und gelingt befriedigend nur auf vorbehandelten, desaktivierten Oberflächen, die typischerweise durch Anätzung (leaching), Persilylierung oder Carbowax-desaktivierung erhalten werden^[124]. Bekannte Chromatographiefirmen bieten mit Cyclodextrinen belegte Kapillarsäulen an, z. B. Chrompack, Middelburg, NL (verdünnte Cyclodextrinphasen 1 auf Fused-Silica-Kapillarsäulen, siehe Abschnitt 5)^[98], Macherey-Nagel, Düren, (unverdünnte *n*-pentylierte/-acylierte Cyclodextrinphasen 13–16 (Lipodex) auf Glaskapillarsäulensäulen, Abschnitt 6.1–6.5)^[105] (vgl. auch Fused-Silica-Kapillarsäulen^[127]) und Advanced Separation Technologies (Astec), Whippany, M.J., USA, sowie ICT, Frankfurt/Main (unverdünnte polare Cyclodextrinphasen 19–23 auf Fused-Silica-Kapillarsäulen, Abschnitt 6.6–6.8)^[120].

Bei den bisher beschriebenen enantioselektiven Cyclodextrinphasen muß der Anwender Faktoren wie Verfügbarkeit, Leistung, Reproduzierbarkeit und Langzeitstabilität gegeneinander abwägen. Die Inspektion der Chromatogramme, soweit zugänglich, liefert dem Experten oft entscheidende Informationen. Die Verwendung verdünnter Cyclodextrine in Polysiloxanlösung hat Säulen hoher Effizienz auch für sehr polare Substrate wie Diole^[97, 98] (vgl. Abb. 6) und Alkohole^[127] geliefert. Für den in Abbildung 8 zuerst eluierten Peak von *trans*-2,3-Dimethyl-1,4-dioxaspiro[4.4]nonan wurde eine effektive Bodenzahl von $N = 79\,400$ bestimmt. Bei einer Säulenlänge von 40 m entspricht dies einer Trennstufenhöhe von 0.50 mm. Damit ist trotz des geringen Trennfaktors ($\alpha = 1.02$) eine nahezu vollständige Auflösung der Peaks möglich ($R = 1.33$). Für Kapillarsäulen mit geschmolzenem 1 wurden bei 140–150 °C lediglich Trennstufenhöhen von 1.6 bzw. 1.4 mm gefunden; erst bei 200 °C waren sie vergleichbar effizient (0.3 mm)^[89]. Auch an unverdünnten, polaren Cyclodextrinderivaten erscheint die Peakauflösung als nicht immer optimal (vgl. Abb. 19)^[119]. Noch ungünstigere Trennstufenhöhen haben Gepacktsäulen mit β -Cyclodextrin in Formamidlösung (1.8 mm)^[79] (vgl. auch Abb. 2) und Gas-Feststoff-Gepacktsäulen mit β -Cyclodextrin auf Chromosorb W (10.8 mm)^[74].

Die chemische Anbindung der Cyclodextrinderivate an Polysiloxane in Analogie zu Chirasil-Val^[51] oder Chirasil-Metal^[1125] sollte die Effizienz und die Lebensdauer der Säulen noch weiter steigern. (Anmerkung bei der Korrektur: Über erfolgreiche Versuche wurde kürzlich berichtet^[148]; z. B. Chirasil-Dex^[149].) Die Immobilisierung derartiger Chirasil-Dex-Stationärphasen an der Kapillaroberfläche ist die Voraussetzung zur Verwendung von überkritischen Gasen für die Enantiomerentrennung bei der SFC-Methode (Supercritical Fluid Chromatography) und bei elektrokinetischen Verfahren. Wie erwähnt, machen die eher geringen Trennfaktoren α eine generelle Nutzbarkeit der derzeitigen Cyclodextrinphasen zur präparativen gaschromatographischen Enantiomerentrennung unwahrscheinlich. Bis-her steht auch keine universelle enantioselektive Cyclodextrinstationärphase zur Verfügung, und es gibt leider kaum Berichte über erfolglose Trennversuche. Nach eigenen Erfahrungen liegt die „Trefferquote“ für quantitative Enantiomerentrennungen für eine gegebene Cyclodextrinphase, z. B. für 1, deutlich unter 50 %. Kleine strukturelle Änderungen an den Gastmolekülen haben oft einen weitreichenden Einfluß auf die Enantioselektivität. Selbst bei strukturell ähnlichen Verbindungen eignen sich oft nur einzelne Isomere oder Glieder einer homologen Reihe für die Enantiomerentrennung an Cyclodextrinphasen. Vorhersagen sind daher schwierig.

Ziel für die Zukunft ist es, enantioselektive Stationärphasen auf Cyclodextrinbasis mit optimaler Anwendungsbreite zu finden. Die Bereitstellung der Phasen mit inverser Konfiguration durch Totalsynthese^[26], die für die Enantiomeranalyse hochangereicherter Substrate dann notwendig ist, wenn die Spurenkomponente nach der Hauptkomponente eluiert wird und so die Integration erschwert, steht noch aus. Infolgedessen konnte bisher auch der formale (puristische) Beweis für die gelungene Enantiomerentrennung an Cyclodextrinen durch Verwendung der zur Peakkoaleszenz führenden Racemform oder der zur Peakinversion führenden spiegelbildlichen Stationärphase anders als bei Aminosäure^[31] und Metallkomplexphasen^[150] noch in keinem Fall geführt werden!

Chirale stationäre Cyclodextrinphasen werden in der Kapillargaschromatographie in den nächsten Jahren eine immer größere Beachtung finden, wobei auch selektive achirale Trennungen (geometrische Isomere, Diastereomere, Positions isomere etc.) sowie gezielte Änderungen komplexer Elutionsprofile eine wichtige Rolle spielen werden. Es ist aber nicht zu erwarten, daß Cyclodextrinstationärphasen die eingangs erwähnten Aminosäure- oder Metallkomplexphasen vollständig ersetzen oder verdrängen werden. Dagegen erweitern sie das Instrumentarium des Enantiomeranalytikers ganz beträchtlich. Dies bestätigt die Aussage von Gil-Av, dem Pionier der gaschromatographischen Enantiomerentrennung, „daß jede Phase, ob nieder- oder hochmolekular, für eine bestimmte Nische von Anwendungen besonders geeignet ist“^[84].

Die Autoren danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der chemischen Industrie für ihre Unterstützung. Wir danken Professor Berson, New Haven, für Überlassung von Ethylhexa-3,4-dienoat und Professor Fitjer, Göttingen, für die Überlassung von Modhephen. Dipl.-Chem. Dieter Schmalzing, Michael Schleimer und Martin Jung danken wir

für ihre wertvollen Beiträge zur gaschromatographischen Enantiomerentrennung an Cyclodextrinstationärphasen. V.S. dankt Professor König, Hamburg, Professor Armstrong, Missouri-Rolla, und Professor Smolková-Keulemansová, Prag, für (Vor)-Abdrucke wegweisender Arbeiten sowie insbesondere Professor Gil-Av, Rehovoth, und Professor Bayer, Tübingen, für den jahrelangen fruchtbaren wissenschaftlichen Gedankenaustausch.

Eingegangen am 1. März 1990 [A 780]

- [1] a) J. D. Morrison (Hrsg.): *Asymmetric Synthesis*, Vol. 1, Academic, Orlando 1985; b) J. D. Morrison in [1a], S. 1.
- [2] V. Schurig in [1a], S. 87; *Kontakte (Darmstadt)* 1986 Nr. 1, S. 3.
- [3] E. Gil-Av, B. Feibusch, R. Charles-Sigler, *Tetrahedron Lett.* 1966, 1009; *J. Mol. Evol.* 6 (1975) 131; R. H. Liu, W. W. Ku, *J. Chromatogr.* 271 (1983) 309.
- [4] H. Frank, G. J. Nicholson, E. Bayer, *J. Chromatogr. Sci.* 15 (1977) 174; *Angew. Chem.* 90 (1978) 396; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 17 (1978) 363; B. Koppenhöfer, E. Bayer, *J. Chromatogr. Libr.* 32 (1985) 1.
- [5] W. A. König: *The Practice of Enantiomer Separation by Capillary Gas Chromatography*, Hüthig, Heidelberg 1987.
- [6] V. Schurig, W. Bürkle, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 7573; V. Schurig, *J. Chromatogr.* 441 (1988) 135.
- [7] V. Schurig, *Angew. Chem.* 96 (1984) 733; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 23 (1984) 747.
- [8] A. Villiers, *C.R. Acad. Sci.* 112 (1891) 536.
- [9] F. Schardinger, *Wien. Klin. Wochenschr.* 17 (1904) 207; *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskrankh. Hyg. Abt. 2* 29 (1911) 188.
- [10] C. J. Pedersen, *J. Am. Chem. Soc.* 89 (1967) 2495, 7017.
- [11] K. Freudenberg, F. Cramer, *Z. Naturforsch.* B3 (1948) 464.
- [12] F. Cramer: *Einschlüsseverbindungen*, Springer, Berlin 1954.
- [13] R. J. Clarke, J. H. Coates, S. F. Lincoln, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 46 (1988) 205.
- [14] J. Szejtli, *Kontakte (Darmstadt)* 1988 Nr. 1, S. 31.
- [15] W. Saenger, *Angew. Chem.* 92 (1980) 343; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 19 (1980) 344, zit. Lit.
- [16] M. L. Bender, M. Komiyama: *Cyclodextrin Chemistry*, Springer, Berlin 1978, zit. Lit.
- [17] S. P. Jones, J. W. Grant, J. Hadgraft, G. D. Parr, *Acta Pharm. Technol.* 30 (1984) 213, 263.
- [18] F. Cramer, H. Hettler, *Naturwissenschaften* 54 (1967) 625.
- [19] W. Saenger in J. L. Atwood, J. E. D. Davies, D. D. MacNicol (Hrsg.): *Inclusion Compounds*, Vol. 2, Academic, London 1984.
- [20] J. F. Wojcik, *Bioorg. Chem.* 12 (1984) 130.
- [21] J. Szejtli: *Cyclodextrins and their Inclusion Complexes*, Akad. Kiadó, Budapest 1982; *Cyclodextrin Technology*, Reidel, Dordrecht 1988; D. Duchêne (Hrsg.): *Cyclodextrins and their Uses in Various Industries*, Les Editions de Santé, Paris 1987; J. S. Pagington, *Chem. Br.* 23 (1987) 455.
- [22] J. Szejtli, *Stärke* 29 (1977) 26.
- [23] K. Harata, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 49 (1976) 1493; K. Harata, H. Uedaira, J. Tanaka, *ibid.* 51 (1978) 1627; J. J. Stezowski, K. H. Jogun, E. Eckle, K. Bartles, *Nature (London)* 274 (1978) 617; K. H. Jogun, J. J. Stezowski, *ibid.* 278 (1979) 667; M. M. Harding, J. M. MacLennan, R. M. Paton, *ibid.* 274 (1978) 612; J. A. Hamilton, M. N. Sebesan, L. K. Steinrauf, A. Geddes, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 73 (1976) 659.
- [24] J. J. Stezowski, M. Czugler, E. Eckle, *Proc. Int. Symp. Cyclodextrins 1st 1981*, 151; R. Tokuoka, T. Fujiwara, K. Tomita, *Acta Crystallogr. Sect. B37* (1981) 1158.
- [25] R. Breslow, *Science (Washington D.C.)* 218 (1982) 532; D. Hilvert, R. Breslow, *Bioorg. Chem.* 12 (1984) 206; I. Tabushi, Y. Kuroda, *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984) 4580; D. W. Griffiths, M. L. Bender, *Adv. Catal.* 23 (1973) 209; M. L. Bender in M. I. Page, A. Williams (Hrsg.): *Enzyme Mechanisms*, Royal Soc. Chem., London 1987, S. 56.
- [26] Y. Takahashi, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* 164 (1987) 277.
- [27] A. P. Croft, R. A. Bartsch, *Tetrahedron* 39 (1983) 1417.
- [28] L. D. Melton, K. N. Slessor, *Carbohydr. Res.* 18 (1971) 29.
- [29] I. Tabushi, K. Shimokawa, K. Fujita, *Tetrahedron Lett.* 1977, 1527.
- [30] I. Tabushi, K. Shimokawa, N. Shimizu, H. Shirakata, K. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.* 98 (1976) 7855.
- [31] J. Michon, A. Rassat, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 995.
- [32] D. D. MacNicol, D. S. Rycroft, *Tetrahedron Lett.* 1977, 2173.
- [33] J. A. Hamilton, L. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* 110 (1988) 5833.
- [34] K. Harata, H. Uedaira, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 48 (1975) 375.
- [35] H. Yamaguchi, M. Ata, J. F. W. McOmie, J. W. Barton, H. Baumann, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2* 1983, 599.
- [36] E. G. Janzen, Y. Kotake, *J. Am. Chem. Soc.* 110 (1988) 7912.
- [37] A. Ohno, S. Ushida: *Mechanistic Models of Asymmetric Reductions*, Springer, Berlin 1986, S. 53.
- [38] V. Daffe, J. Fastrez, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 3601.
- [39] F. Cramer, *Angew. Chem.* 64 (1952) 136.
- [40] F. Cramer, W. Dietsche, *Chem. Ber.* 92 (1959) 378.
- [41] H. P. Benschop, G. R. Van den Berg, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1970 1431.
- [42] M. Mikolajczyk, J. Drabowicz, F. Cramer, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1971, 317.
- [43] M. Mikolajczyk, J. Drabowicz, *Tetrahedron Lett.* 23 (1972) 2379; *J. Am. Chem. Soc.* 100 (1978) 2510.
- [44] J. Knabe, N. S. Agarwal, *Dtsch. Apoth. Ztg.* 113 (1973) 1449.
- [45] J. Dębowksi, D. Sybilska, J. Jurczak, *Chromatographia* 16 (1982) 198; *J. Chromatogr.* 237 (1982) 303; *ibid.* 282 (1983) 83; D. Sybilska, J. Zukowski, J. Bojarski, *J. Liq. Chromatogr.* 9 (1986) 591.
- [46] B. Zsadon, L. Décsai, M. Szilasi, F. Tüdös, J. Szejtli, *J. Chromatogr.* 270 (1983) 127.
- [47] J. Szejtli, B. Zsadon, T. Cserháti, *ACS Symp. Ser.* 342 (1987) 200, zit. Lit.; W. L. Hinze, D. W. Armstrong, *Anal. Lett.* 13 (1980) 1093; D. W. Armstrong, F.-Y. He, S. M. Han, *J. Chromatogr.* 448 (1988) 345.
- [48] J. Szejtli, *Stärke/Stärke* 39 (1987) 357.
- [49] J. Szejtli, T. Cserháti, B. Bordás, J. Bojarski, *Kontakte (Darmstadt)* 1988 Nr. 2, S. 30.
- [50] W. L. Hinze, D. Y. Pharr, Z. S. Fu, W. G. Burkert, *Anal. Chem.* 61 (1989) 422.
- [51] D. W. Armstrong, J. R. Faulkner, Jr., S. M. Han, *J. Chromatogr.* 452 (1988) 323.
- [52] A. Alak, D. W. Armstrong, *Anal. Chem.* 58 (1986) 582.
- [53] T. J. Ward, D. W. Armstrong, *J. Liq. Chromatogr.* 9 (1986) 407.
- [54] M. Tazaki, M. Takagi, K. Ueno, *Chem. Lett.* 1982, 639.
- [55] S. Terabe, H. Ozaki, K. Otsuka, T. Ando, *J. Chromatogr.* 332 (1985) 211.
- [56] J. Snopek, I. Jelinek, E. Smolková-Keulemansová, *J. Chromatogr.* 452 (1988) 571; *ibid.* 472 (1989) 308; S. Fanali, *ibid.* 474 (1989) 441; A. Guttman, A. Paulus, A. S. Cohen, N. Grindberg, B. L. Karger, *ibid.* 448 (1988) 41.
- [57] S. Terabe, *TrAC Trends Anal. Chem. (Pers. Ed.)* 8 (1989) 129; vgl. auch [55].
- [58] N. Wiedenhof, *Stärke* 21 (1969) 163.
- [59] A. Harada, M. Furue, S. Nozakura, *J. Polym. Sci.* 16 (1978) 189.
- [60] K. Fujimura, T. Ueda, T. Ando, *Anal. Chem.* 55 (1983) 446; Y. Kawaguchi, M. Tanaka, M. Nakae, K. Funazo, T. Shono, *ibid.* 55 (1983) 152; D. W. Armstrong, J. Lig. Chromatogr. 7 (1984) 353; D. W. Armstrong, W. J. DeMond, *J. Chromatogr. Sci.* 22 (1984) 411; D. W. Armstrong, T. J. Ward, R. D. Armstrong, T. E. Beesley, *Science (Washington D.C.)* 232 (1986) 1132.
- [61] W. L. Hinze, T. E. Riehl, D. W. Armstrong, W. DeMond, A. Alak, T. Ward, *Anal. Chem.* 57 (1985) 237.
- [62] K. Fujimura, M. Kitagawa, H. Takayanagi, T. Ando, *J. Liq. Chromatogr.* 9 (1986) 607.
- [63] P. Macaudiere, M. Caude, R. Rosset, A. Tambute, *J. Chromatogr.* 405 (1987) 135; *ibid.* 450 (1988) 255.
- [64] T. J. Ward, D. W. Armstrong, *J. Liq. Chromatogr.* 9 (1986) 407.
- [65] M. Tanaka, T. Shono, D.-Q. Zhu, Y. Kawaguchi, *J. Chromatogr.* 469 (1989) 429.
- [66] D. Sybilska, *ACS Symp. Ser.* 342 (1987) 218; Y. Nobuhara, S. Hirano, Y. Nakanishi, *J. Chromatogr.* 258 (1983) 276; M. Gazdag, G. Szepesi, L. Huszar, *ibid.* 351 (1986) 128; *ibid.* 371 (1986) 227; K. Cabrera, G. Schwinn, *Kontakte (Darmstadt)* 1989 Nr. 3, S. 3.
- [67] S. Scypinski, L. J. Cline Love, *Anal. Chem.* 56 (1984) 322; G. Patonay, M. E. Rollie, J. M. Warner, *ibid.* 57 (1985) 569.
- [68] A. Cepeda-Saez, P. Prognon, G. Mahuzier, J. Blais, *Anal. Chim. Acta* 211 (1988) 333.
- [69] M. Tanaka, T. Miki, T. Shono, *J. Chromatogr.* 330 (1985) 253; J. Zukowski, D. Sybilska, J. Bojarski, *ibid.* 364 (1986) 225.
- [70] D. M. Sand, H. Schlenk, *Anal. Chem.* 33 (1961) 1624; H. Schlenk, J. L. Gellerman, D. M. Sand, *ibid.* 34 (1962) 1529.
- [71] B. Casu, M. Reggiani, G. R. Sanderson, *Carbohydr. Res.* 76 (1979) 59.
- [72] Y. Mizobuchi, M. Tanaka, T. Shono, *J. Chromatogr.* 194 (1980) 153.
- [73] E. Smolková, H. Kralová, S. Krýsl, L. Feltl, *J. Chromatogr.* 241 (1982) 3; E. Smolková-Keulemansová, *ibid.* 251 (1982) 17; T. Kościelski, D. Sybilska, L. Feltl, E. Smolková-Keulemansová, *ibid.* 286 (1984) 23; S. Krýsl, E. Smolková-Keulemansová, *ibid.* 349 (1985) 167.
- [74] E. Smolková-Keulemansová, E. Neumannová, L. Feltl, *J. Chromatogr.* 365 (1986) 279, 289.
- [75] J. Mraz, L. Feltl, E. Smolková-Keulemansová, *J. Chromatogr.* 286 (1984) 17.
- [76] T. Cserháti, A. Dobrovolszky, E. Fenyesi, J. Szejtli, *HRC & CC, J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* 6 (1983) 442.
- [77] E. Smolková-Keulemansová, L. Sojak, *ACS Symp. Ser.* 342 (1987) 247.
- [78] M. Tanaka, S. Kawano, T. Shono, *Fresenius' Z. Anal. Chem.* 316 (1983) 54.
- [79] D. Sybilska, T. Kościelski, *J. Chromatogr.* 261 (1983) 357; T. Kościelski, D. Sybilska, L. Feltl, E. Smolková-Keulemansová, *ibid.* 286 (1984) 23; E. Smolková-Keulemansová, S. Pokorna, L. Feltl, K. Tešárik, *HRC & CC, J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* 11 (1988) 670.
- [80] T. Kościelski, D. Sybilska, *J. Chromatogr.* 349 (1985) 3; T. Kościelski, D. Sybilska, J. Lipkowski, A. Miedio-Ritskaja, *ibid.* 351 (1986) 512.
- [81] T. Kościelski, D. Sybilska, J. Jurczak, *J. Chromatogr.* 280 (1983) 131; *ibid.* 364 (1986) 299.

- [82] T. Kościelski, D. Sybilska, S. Belniak, J. Jurczak, *Chromatographia* 19 (1984) 292; *ibid.* 21 (1986) 413.
- [83] L. Anděra, E. Smolková-Keulemansová, *J. Inclusion Phenom.* 5 (1987) 397; L. Feltl, P. Tajovská, E. Smolková-Keulemansová, *J. Chromatogr.*, im Druck.
- [84] E. Gil-Av, Vorwort zu [5].
- [85] a) Y. H. Kim, Universität Tübingen 1981, unveröffentlichte Ergebnisse; b) J. Roeraade, persönliche Mitteilung.
- [86] R. D. Armstrong, *ACS Symp. Ser.* 342 (1987) 272.
- [87] J. Boger, R. Corcoran, J.-M. Lehn, *Helv. Chim. Acta* 61 (1978) 2190.
- [88] Z. Juvancz, G. Alexander, J. Szetjli, *HRC & CC, J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* 10 (1987) 105; G. Alexander, Z. Juvancz, J. Szetjli, *ibid.* 11 (1988) 110.
- [89] Z. Juvancz, Z. Racz, G. Alexander, J. Szetjli, *Proc. Int. Symp. Cyclodextrins*, 4th 1988, 479.
- [90] A. Venema, P. J. A. Tolmsa, *J. High Resolut. Chromatogr.* 12 (1989) 32.
- [91] V. Schurig, H.-P. Nowotny in A. Zlatkis (Hrsg.): *Proceedings of Advances in Chromatography 1987*, Berlin, 8.-10. September 1987; *J. Chromatogr.* 441 (1988) 155.
- [92] H.-P. Nowotny, *Dissertation*, Universität Tübingen 1989.
- [93] H.-P. Nowotny, D. Schmalzing, D. Wistuba, V. Schurig, *J. High Resolut. Chromatogr.* 12 (1989) 383.
- [94] V. Schurig, H.-P. Nowotny, D. Schmalzing, *Angew. Chem.* 101 (1989) 785; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 28 (1989) 736.
- [95] V. Schurig, M. Jung in D. Stevenson, I. D. Wilson (Hrsg.): *Chiral Separations 1989, Proceedings of the International Meeting on Chromatography*, University of Surrey, Guildford, 12.-15. September 1989, Plenum, im Druck.
- [96] M. Jung, *Diplomarbeit*, Tübingen 1989.
- [97] V. Schurig, M. Jung, D. Schmalzing, M. Schleimer, J. Duvekot, J. C. Buyten, J. A. Peene, J. Lips, *Proc. Int. Symp. Capillary Chromatogr. 11th 1990*, S. 14; *HRC & CC, J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* 13 (1990) 470.
- [98] J. Duvekot, J. C. Buyten, J. A. Peene, J. Lips, V. Schurig, H.-P. Nowotny, *Proc. Int. Symp. Capillary Chromatogr. 11th 1990*, S. 147.
- [99] Sigma Chemical Compounds, Catalogue 1989, S. 693.
- [100] W. A. König, G. Wenz, S. Lutz, E. von der Bey, *Offenlegungsschrift*, DE-A 3810737, (1989).
- [101] W. A. König, S. Lutz, P. Mischnick-Lübbecke, B. Brassat, G. Wenz, *J. Chromatogr.* 447 (1988) 193.
- [102] W. A. König, S. Lutz, G. Wenz, *Angew. Chem.* 100 (1988) 989; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27 (1988) 979.
- [103] W. A. König, S. Lutz, G. Wenz, E. von der Bey, *HRC & CC, J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* 11 (1988) 506.
- [104] W. A. König, R. Krebber, G. Wenz, *J. High Resolut. Chromatogr.* 12 (1989) 641.
- [105] A. Nehrings, *GIT Supplement - Chromatogr.* 1989 Nr. 3, S. 14; W. A. König, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* 37 (1989) 471.
- [106] W. A. König, *Carbohydr. Res.* 192 (1989) 51.
- [107] W. A. König, S. Lutz, C. Colberg, N. Schmidt, G. Wenz, E. von der Bey, A. Mosandl, C. Günther, A. Kustermann, *HRC & CC, J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* 11 (1988) 621.
- [108] W. A. König, P. Mischnick-Lübbecke, B. Brassat, S. Lutz, G. Wenz, *Carbohydr. Res.* 183 (1988) 11.
- [109] J. Ehlers, W. A. König, S. Lutz, G. Wenz, H. tom Dieck, *Angew. Chem.* 100 (1988) 1614; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27 (1988) 1556.
- [110] W. A. König, S. Lutz, G. Wenz, *Proc. Int. Symp. Cyclodextrins* 4th 1988, 465 (vgl. dort auch S. 145).
- [111] W. A. König, S. Lutz, P. Mischnick-Lübbecke, B. Brassat, E. von der Bey, G. Wenz, *Starch/Stärke* 40 (1988) 472.
- [112] W. A. König, S. Lutz, G. Wenz, G. Görgen, C. Neumann, A. Gäbler, W. Boland, *Angew. Chem.* 101 (1989) 180; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 28 (1989) 179.
- [113] W. A. König, S. Lutz, M. Hagen, R. Krebber, G. Wenz, K. Baldenius, J. Ehlers, H. tom Dieck, *J. High Resolut. Chromatogr.* 12 (1989) 35.
- [114] W. A. König, R. Krebber, P. Mischnick, *J. High Resolut. Chromatogr.* 12 (1989) 732.
- [115] W. A. König, R. Krebber, G. Wenz, *J. High Resolut. Chromatogr.* 12 (1989) 790.
- [116] W. A. König, S. Lutz, P. Evers, J. Knabe, *J. Chromatogr.* 503 (1990) 256.
- [117] D. Kappes, H. Gerlach, P. Zbinden, M. Dobler, W. A. König, R. Krebber, G. Wenz, *Angew. Chem.* 101 (1989) 1744; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 28 (1989) 1657.
- [118] D. W. Armstrong, W. Y. Li, J. Pitha, *Anal. Chem.* 62 (1990) 217.
- [119] D. W. Armstrong, H. L. Jin, *J. Chromatogr.* 502 (1990) 154.
- [120] D. W. Armstrong, W. Y. Li, C. D. Chang, J. Pitha, *Anal. Chem.* 62 (1990) 914.
- [121] D. W. Armstrong, W. Y. Li, A. M. Stalcup, J. I. Seeman, H. V. Secor, *Anal. Chim. Acta*, im Druck.
- [122] D. W. Armstrong, W. Y. Li, A. M. Stalcup, H. V. Secor, R. R. Izak, J. I. Seeman, unveröffentlicht.
- [123] W. Y. Li, H. L. Jin, D. W. Armstrong, *J. Chromatogr.* 509 (1990) 303.
- [124] E. Schulz: *Praxis der Kapillar-Gaschromatographie*, Springer, Berlin 1983; K. Grob: *Making and Manipulating Capillary Columns for Gas Chromatography*, Hüthig, Heidelberg 1986.
- [125] V. Schurig, R. Link in D. Stevenson, I. D. Wilson (Hrsg.): *Chiral Separations, Proc. Int. Meet. Chromatogr.*, University of Surrey, Guildford, 3.-4. September 1987; Plenum, London 1988, S. 91.
- [126] C. Weitemeyer, A. de Meijere, *Angew. Chem.* 88 (1976) 721; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 15 (1976) 686.
- [127] A. Köhnes, H. Römer, *Chemie in Labor und Biotechnik* 41 (1990) 70.
- [128] R. L. Van Etten, G. A. Clowes, J. F. Sebastian, M. L. Bender, *J. Am. Chem. Soc.* 89 (1967) 3253.
- [129] A. Harada, M. Furue, S. Nozakura, *Polymer J. (Tokyo)* 12 (1980) 29.
- [130] I. Ciucanu, F. Kerek, *Carbohydr. Res.* 131 (1984) 209.
- [131] W. Kitching, J. A. Lewis, M. V. Perkins, R. Drew, C. J. Moore, V. Schurig, W. A. König, W. Francke, *J. Org. Chem.* 54 (1989) 3893; C. Everaerts, O. Bonnard, J. M. Pasteels, Y. Roisin, W. A. König, *Experientia* 46 (1990) 227; W. Francke, S. Schulz, V. Sinnwell, W. A. König, Y. Roisin, *Liebigs Ann. Chem.* 1989, 1195; G. Takeoka, R. A. Flath, T. R. Mon, R. G. Buttery, R. Teranishi, M. Güntert, R. Lautamo, J. Szetjli, *J. High Resolut. Chromatogr.* 13 (1990) 202.
- [132] W. Keim, W. Meltzow, A. Köhnes, T. Röthel, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1989, 1151.
- [133] J. Jauch, D. Schmalzing, V. Schurig, R. Emberger, R. Hopp, M. Köpsel, W. Silberzahn, P. Werkhoff, *Angew. Chem.* 101 (1989) 1039; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 28 (1989) 1022; V. Schurig, J. Jauch, D. Schmalzing, M. Jung, W. Bretschneider, R. Hopp, P. Werkhoff, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, im Druck.
- [134] V. Schurig, M. Schleimer, H.-P. Nowotny, *Naturwissenschaften* 77 (1990) 133.
- [135] A. Mosandl, A. Kustermann, U. Palm, H. Dorau, W. A. König, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 188 (1989) 517; A. Mosandl, A. Kustermann, *ibid.* 189 (1989) 212; A. Bernreuther, N. Christoph, P. Schreier, *J. Chromatogr.* 481 (1989) 363; E. Guichard, A. Kustermann, A. Mosandl, *ibid.* 498 (1990) 396.
- [136] W. A. König, P. Evers, R. Krebber, S. Schulz, C. Fehr, G. Ohloff, *Tetrahedron* 45 (1989) 7003.
- [137] W. Boland, W. A. König, R. Krebber, D. G. Müller, *Helv. Chim. Acta* 72 (1989) 1288.
- [138] K. Harata, K. Uekama, M. Otagiri, F. Hirayama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 55 (1982) 3904; *ibid.* 56 (1983) 1732.
- [139] K. Harata, K. Uekama, M. Otagiri, F. Hirayama, *J. Inclusion Phenom.* 1 (1984) 279; *ibid.* 2 (1985) 583; K. Harata, F. Hirayama, T. Imai, K. Uekama, M. Otagiri, *Chem. Lett.* 1984, 1549; K. Harata, K. Uekama, M. Otagiri, F. Hirayama, Y. Sugiyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 55 (1982) 3386.
- [140] K. Harata, K. Uekama, M. Otagiri, F. Hirayama, *Chem. Lett.* 1983, 1807.
- [141] M. Czugler, E. Eckle, J. J. Stezowski, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1981, 1291.
- [142] V. Schurig, H.-P. Nowotny, M. Schleimer, D. Schmalzing, *J. High Resolut. Chromatogr.* 12 (1989) 549.
- [143] V. Dafse, J. Fastrez, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 1983, 789.
- [144] L. Easson, E. Stedman, *Biochem. J.* 27 (1933) 1257.
- [145] C. E. Dalglish, *J. Chem. Soc.* 3 1952, 3940.
- [146] H. Karfunkel, Firma Ciba-Geigy AG, Basel, Schweiz, unveröffentlicht.
- [147] K. Watabe, R. Charles, E. Gil-Av, *Angew. Chem.* 101 (1989) 194; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 28 (1989) 192; V. Schurig, J. Ossig, R. Link, *ibid.* 101 (1989) 197 bzw. 28 (1989) 194.
- [148] P. Fischer, R. Aichholz, U. Böll, M. Juza, S. Krimmer, *Angew. Chem.* 102 (1990) 439; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 29 (1990) 427.
- [149] V. Schurig, D. Schmalzing, U. Mühlbeck, M. Jung, M. Schleimer, P. Mussche, J. Duvekot, J. C. Buyten, *J. High Resolut. Chromatogr.*, im Druck.
- [150] V. Schurig, *Angew. Chem.* 89 (1977) 113; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 16 (1977) 110.