

Tabelle 1. Ergebnisse chiraler CE-Trennungen der Aminderivate **6** unter Variation der Elektrolytzusammensetzung.<sup>[a]</sup>

Puffer, verwendetes CD <sup>[b]</sup>	<b>6a</b>	<b>6b</b>	<b>6c</b>	<b>6d</b>	<b>6e</b>	<b>6f</b>
40 mmol CHES, 40 mmol $\gamma$ -CD+15 % CH <sub>3</sub> CN	B	B	–	n.g.	–	–
20 mmol Borat, 20 mmol DM- $\beta$ -CD	–	–	–	–	–	–
40 mmol CHES, 20 mmol DM- $\beta$ -CD	–	–	–	–	–	–
40 mmol CHES, 5 mmol DM- $\beta$ -CD	–	–	–	A	–	–
40 mmol CHES, 40 mmol HE- $\beta$ -CD	–	–	–	–	–	–
40 mmol CHES, 20 mmol HE- $\beta$ -CD	A	–	–	A	–	–
40 mmol CHES, 10 mmol HE- $\beta$ -CD	A	–	–	A	A	–
40 mmol CHES, 5 mmol HE- $\beta$ -CD	FB	A	A	FB	FB	–
40 mmol CHES, 2.5 mmol HE- $\beta$ -CD	FB	A	A	A	FB	–
40 mmol CHES, 5 mmol HP- $\alpha$ -CD	–	–	–	–	–	–
40 mmol CHES, 20 mmol HP- $\beta$ -CD	–	–	–	A	–	–
40 mmol CHES, 5 mmol HP- $\beta$ -CD	A	–	A	FB	A	–
40 mmol CHES, 20 mmol HP- $\beta$ -CD+15 % CH <sub>3</sub> CN	A	–	–	A	–	A
40 mmol CHES, 25 mmol HP- $\gamma$ -CD	–	–	A	–	–	–
40 mmol CHES, 6.25 mmol HP- $\gamma$ -CD	–	–	B	–	A	FB
40 mmol CHES, 25 mmol HP- $\gamma$ -CD+15 % CH <sub>3</sub> CN	–	–	B	–	–	–
40 mmol CHES, 10 mmol NH <sub>2</sub> - $\beta$ -CD	–	–	–	–	–	–
40 mmol CHES, 10 mmol $\beta$ -CD	–	–	–	–	–	–

[a] A: Antrennung; B: Basislinientrennung; FB: Fastbasislinientrennung; –: keine Trennung; n.g.: nicht gemessen. [b] DM: Heptakis(2,6-di-*O*-methyl); HE: Hydroxyethyl; HP: Hydroxypropyl; NH<sub>2</sub>: 6<sup>A</sup>-Amino-6<sup>A</sup>-desoxy; CHES: 2-(*N*-Cyclohexylamino)ethansulfonsäure.

In einer Modellstudie wurde nun versucht, das Aminderivat **6c** mit Hilfe der CAE in die Enantiomere zu trennen. Dazu mussten die in den Vorversuchen für ein klassisches Einkapillarsystem entwickelten Parameter auf das Multikapillarsystem MegaBACE übertragen werden. Wegen der speziellen, auf die DNA-Analytik zugeschnittenen Konfiguration des Instruments (nur elektrokinetische Injektion und Detektion nur an der Anode möglich), musste das Elektrolytsystem angepasst werden. Elektrolyte, mit denen in Einkapillar-CE-Systemen sehr gute Ergebnisse erhalten wurden, lieferten nur sehr instabile Elektrophoreseläufe mit für einzelne Kapillaren stark schwankendem elektrischem Strom. Die erhaltenen, wenig reproduzierbaren Resultate können zum Teil damit erklärt werden, dass eine elektrokinetische Injektion der anionischen Analyte auch bei nur schwachem kathodischem elektroosmotischem Fluss (EOF), wie in den verwendeten, mit Polyacrylamid beschichteten Kapillaren, problematisch ist. Dagegen waren die Ergebnisse mit einem viskosen Elektrolyten, der durch Zusatz von linearem Polyacrylamid (LPA) zum Elektrolyten hergestellt wurde und in dem der EOF unterdrückt ist, reproduzierbar und von hoher Qualität. Als Elektrolyt diente 6.25 mM  $\gamma$ -CD, gelöst in einem 40 mM CHES-Puffer von pH 9.1, der im Verhältnis 5:1 mit dem hoch viskosen LPA-Puffer von Amersham Pharmacia verdünnt

war; pro Kapillare wurde eine Spannung von –10 kV bei 8  $\mu$ A Strom angelegt; und die Probenaufgabespannung betrug für 9 s –2 kV.

Mit dem adaptierten MegaBACE-Gerät<sup>[9]</sup> wurden zunächst zwölf Lösungen von Gemischen aus (+)/(–)-**6c** analysiert. Abbildung 1 zeigt die parallel erhaltenen Elektropherogramme und Tabelle 2 die mit CAE bestimmten *ee*-Werte. Zur

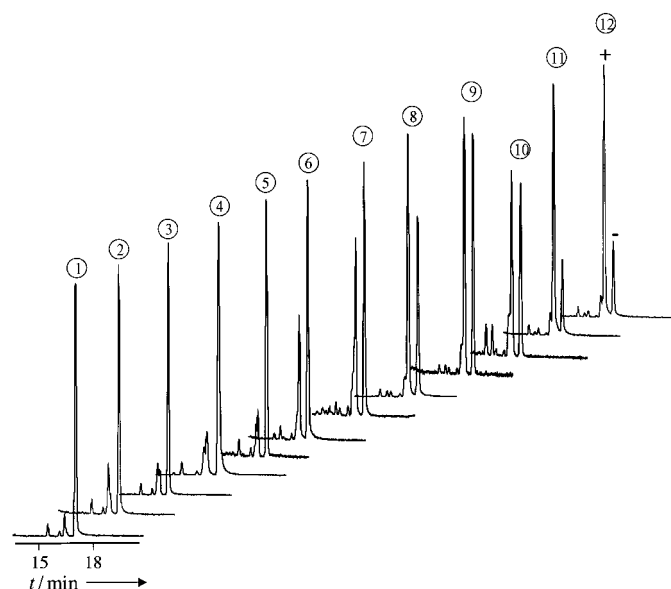


Abbildung 1. CAE-Trennung repräsentativer Proben des Amin-Derivats **6c**.

Tabelle 2. Vergleich der experimentellen Ergebnisse zur Bestimmung der Enantiomerenüberschüsse von Proben aus (+)/(–)-**3c** mittels GC und von den entsprechenden Proben aus (+)/(–)-**6c** mittels CAE.

Probe	<i>ee</i> -Wert <b>3c</b> (GC) [%]	<i>ee</i> -Wert <b>6c</b> (CAE) [%]
1	98	> 95
2	88	90
3	84	82
4	74	70
5	74	70
6	38	38
7	18	16
8	18	16
9	0	0
10	0	2
11	54	52
12	54	52

Kontrolle wurde die Enantiomerenreinheit der nichtderivatisierten Amine (+)/(–)-**3c** gaschromatographisch unter Verwendung einer chiralen stationären Phase (Ivadex-1/PS086 *d*<sub>i</sub>: 0.15  $\mu$ m, i.D.: 0.25, *l*: 25 m) bestimmt. Die Übereinstimmung ist sehr gut, obwohl die Integration des CAE-Signals für das (+)-Isomer, insbesondere bei geringen (+)/(–)-Verhältnissen (Probe 1), durch eine Verunreinigung erschwert war (Tabelle 2).

Die so durchgeführte, noch nicht bezüglich der Analysenzeit optimierte Enantiomertrennung benötigt etwa 19 Minuten. Bei Verwendung des automatisierten 96er-Arraysys-

tems sind mindestens 7000 *ee*-Wert-Bestimmungen pro Tag möglich. Durch Optimierung der experimentellen Parameter, z.B. durch Erhöhung der elektrischen Feldstärke und/oder Steuerung des elektroosmotischen Flusses mit Hilfe spezieller Kapillaren,<sup>[3g]</sup> können deutlich kürzere Analysenzeiten erreicht werden, so dass 15 000–30 000 *ee*-Wert-Bestimmungen pro Tag realistisch sind. Ein solches Super-Hochdurchsatz-Screening der Enantioselektivität ist mit keinem anderen zurzeit verfügbaren System möglich. Angesichts der Tatsache, dass mit der CAE viele Vorteile verbunden sind, z.B. kleinste Probenmengen, nahezu kein Solvensverbrauch, Abwesenheit von Hochdruckpumpen und -ventilen, sehr variabler Einsatz unterschiedlicher, relativ kostengünstiger chiraler Phasen, erscheint der hier beschriebene Assay besonders attraktiv.

Eine zweite Möglichkeit zur Erhöhung des Analysendurchsatzes in der CE macht von der Chip-Technik Gebrauch.<sup>[8]</sup> Hierbei werden bevorzugt auf photolithographischem Weg eine oder mehrere Kapillaren auf Mikrochips hergestellt. Solche Kunststoff- oder Glas-CE-Mikrochips sind bisher zur Analyse von Oligonucleotiden, DNA-Sequenzfragmenten, Aminosäuren, DNA-Restriktionsfragmenten und PCR-Produkten eingesetzt worden. In diesen hoch miniaturisierten Systemen gelingen Trennungen extrem schnell innerhalb von Sekunden bis Minuten. Deshalb haben wir begonnen, auch die Trennung von organischen Verbindungen in ihre Enantiomere auf CE-Mikrochips zu erproben.<sup>[13]</sup> Während bei der Trennung von Biomolekülen, z.B. von Aminosäuren, in wässrigen Elektrolyten sowohl Plastik- als auch Glas-Chips genutzt werden können,<sup>[14]</sup> stellten wir fest, dass bei der Trennung von herkömmlichen organischen Verbindungen in Elektrolyten, die organische Solventien enthalten, auf Polymethylmethacrylat (PMMA) basierende Mikrochips nicht beständig genug sind.

Da Geräte zum Betrieb von CE-Chips noch nicht kommerziell erhältlich sind, wurde zunächst im Eigenbau ein Instrument angefertigt, das aus zwei Hochspannungsgeräten, Hochspannungsumschaltern und einem LIF-Detektor (Argon-Ionenlaser) bestand. Damit konnten unter Verwendung von Glas-CE-Chips der Firma Micralyne (Edmonton, Kanada) erste vielversprechende Trennungen der FITC-derivatisierten Amine in die Enantiomere durchgeführt werden. Im Falle von **6c** wurde eine Fast-basislinientrennung in weniger als zwei Minuten erreicht (Abbildung 2). Dazu wurde der gleiche Elektrolyt wie bei der in Abbildung 1 beschriebenen Trennung verwendet, jedoch ohne Zusatz von LPA; zur Probenaufgabe wurde an den Elektroden an Puffereinlass, Pufferauslass sowie Probeneinlass jeweils eine Spannung von 1 kV angelegt, während der Probenauslass auf Erdpotential war;

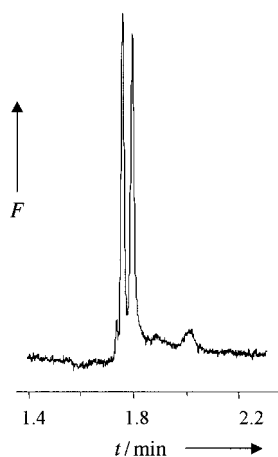


Abbildung 2. Chirale elektro-phoretische Trennung des racemischen Amin-Derivats **6c** auf einem CE-Mikrochip. *F* = Fluoreszenzintensität.

für die Trennung wurde die Spannung dann so umgeschaltet, dass folgende Potentiale an den vier Elektroden anlagen: Puffereinlass 1 kV, Probeneinlass 0.6 kV, Probenauslass 0.6 kV, Pufferauslass 0 V.

Derzeit wird an der Weiterentwicklung des Analysengeräts gearbeitet, damit noch größere elektrische Feldstärken genutzt werden können, die chirale CE-Trennungen in Sekunden ermöglichen würden. Wir hoffen, dass damit eine zweite auf der CE basierende Methode zum Super-Hochdurchsatz-Screening von enantioselektiven Katalysatoren verfügbar werden wird. Die Durchführung der katalytischen Reaktionen auf Mikrochips und ihre Kopplung mit diesem CE-Screeningsystem ist ein weiteres Ziel.

Unsere Arbeit zeigt, dass die zur CAE weiterentwickelte CE zur Bestimmung der Enantiomerenreinheit genutzt werden kann. Somit ist ein wahrlich hoher Probendurchsatz (> 7000 *ee*-Wert-Bestimmungen pro Tag) erstmals möglich. Dieses Ergebnis sowie die Optimierung der beschriebenen Methoden dürften für die Weiterentwicklung der kombinatorischen asymmetrischen Übergangsmetallkatalyse<sup>[5]</sup> und der gerichteten Evolution enantioselektiver Enzyme<sup>[4, 15]</sup> von großer Bedeutung sein.

Eingegangen am 28. Juni 2000 [Z15352]

- [1] W. A. König, *Gas Chromatographic Enantiomer Separation with Modified Cyclodextrins*, Hüthig, Heidelberg, **1992**.
- [2] *Chiral Separation by HPLC* (Hrsg.: A. M. Krstulovic), Ellis Horwood, Chichester, **1989**.
- [3] a) B. Chankvetadze, *Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis*, Wiley, Chichester, **1997**; b) E. Gassmann, J. E. Kuo, R. N. Zare, *Science* **1985**, *230*, 813–814; c) L. G. Blomberg, H. Wan, *Electrophoresis* **2000**, *21*, 1940–1952; d) H. Nishi, T. Fukuyama, S. Terabe, *J. Chromatogr.* **1991**, *553*, 503–516; e) S. Fanali, *J. Chromatogr.* **1989**, *474*, 441–446; f) A. Guttman, A. Paulus, A. S. Cohen, N. Grinberg, B. L. Karger, *J. Chromatogr.* **1988**, *448*, 51–53; g) D. Belder, G. Schomburg, *J. Chromatogr. A* **1994**, *666*, 351–365; h) D. Wistuba, V. Schurig, *J. Chromatogr. A* **2000**, *875*, 255–276; i) G. Blaschke, B. Chankvetadze, *J. Chromatogr. A* **2000**, *875*, 3–25.
- [4] a) M. T. Reetz, A. Zonta, K. Schimossek, K. Liebeton, K.-E. Jaeger, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2961–2963; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2830–2832; b) M. T. Reetz, K.-E. Jaeger, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 407–412.
- [5] a) B. Jandeleit, D. J. Schaefer, T. S. Powers, H. W. Turner, W. H. Weinberg, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2648–2689; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2494–2532; b) G. Liu, J. A. Ellman, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7712–7713; c) S. R. Gilbertson, X. Wang, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 11609–11618; d) K. D. Shimizu, B. M. Cole, C. A. Krueger, K. W. Kuntz, M. L. Snapper, A. H. Hoveyda, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1782–1785; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1704–1707; e) M. B. Francis, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 987–991; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 937–941; f) A. M. Porte, J. Reibenspies, K. Burgess, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9180–9187; g) C. Gennari, S. Ceccarelli, U. Piarulli, C. A. G. N. Montalbetti, R. F. W. Jackson, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 5312–5313; h) P. P. Pescarmona, J. C. van der Waal, I. E. Maxwell, T. Maschmeyer, *Catal. Lett.* **1999**, *63*, 1–11.
- [6] a) L. E. Janes, A. C. Löwendahl, R. J. Kazlauskas, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 2324–2331; b) U. T. Bornscheuer, J. Altenbuchner, H. H. Meyer, *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 2169–2173; c) G. Klein, J.-L. Reymond, *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 400–406; d) siehe auch: G. T. Copeland, S. J. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4306–4397; e) K. Ding, A. Ishii, K. Mikami, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 519–523; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 497–501; f) M. T. Reetz, M. H. Becker, H.-W. Klein,

- D. Stöckigt, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1872–1875; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1758–1761; g) siehe auch: J. Guo, J. Wu, G. Siuzdak, M. G. Finn, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1868–1871; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1755–1758.
- [7] a) X. C. Huang, M. A. Quesada, R. A. Mathies, *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 2149–2154; b) H. Kambahara, S. Takahashi, *Nature* **1993**, *361*, 565–566; c) N. J. Dovichi, *Electrophoresis* **1997**, *18*, 2393–2399; d) G. Xue, H. Pang, E. S. Yeung, *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 2642–2649; e) S. Behr, M. Mätzig, A. Levin, H. Eickhoff, C. Heller, *Electrophoresis* **1999**, *20*, 1492–1507.
- [8] a) D. J. Harrison, K. Fluri, K. Seiler, Z. Fan, C. S. Effenhauser, A. Manz, *Science* **1993**, *261*, 895–897; b) S. C. Jacobson, R. Hergenroder, L. B. Koutny, R. J. Warmack, J. M. Ramsey, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 1107–1113; c) L. D. Hutt, D. P. Glavin, J. L. Bada, R. A. Mathies, *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 4000–4006; d) D. Schmalzing, L. Koutny, A. Adourian, P. Belgrader, P. Matsudaira, D. Ehrlich, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 10273–10278; e) S. C. Jacobson, C. T. Culbertson, J. E. Daler, J. M. Ramsey, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 3476–3480; f) S. Liu, H. Ren, Q. Gao, D. J. Roach, R. T. Loder, Jr., T. M. Armstrong, Q. Mao, I. Blaga, D. L. Barker, S. B. Jovanovich, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 5369–5374; g) S. R. Wallenborg, C. G. Bailey, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 1872–1878; h) I. Rodriguez, L. J. Jin, S. F. Y. Li, *Electrophoresis* **2000**, *21*, 211–219.
- [9] Das Gerät MegaBACE ist bei der Firma Amersham Pharmacia Biotech Europe GmbH (Freiburg) erhältlich.
- [10] M. T. Reetz, K. M. Kühling, A. Dege, H. Hinrichs, D. Belder (Studiengesellschaft Kohle mbH), Patentanmeldung **2000**.
- [11] a) *Chirality in Industry: The Commercial Manufacture and Applications of Optically Active Compounds* (Hrsg.: A. N. Collins, G. N. Sheldrake, J. Crosby), Wiley, Chichester, **1992**; b) *Chirality in Industry II: Developments in the Commercial Manufacture and Applications of Optically Active Compounds* (Hrsg.: A. N. Collins, G. N. Sheldrake, J. Crosby), Wiley, Chichester, **1997**; c) R. A. Sheldon, *Chirotechnology: Industrial Synthesis of Optically Active Compounds*, Marcel Dekker, New York, **1993**; d) F. Balkenhohl, K. Ditrach, B. Hauer, W. Ladner, *J. Prakt. Chem./Chem.-Ztg.* **1997**, *339*, 381–384.
- [12] a) L. Hernandez, R. Marquina, J. Escalona, N. A. Guzman, *J. Chromatogr.* **1990**, *502*, 247–255; b) S. P. D. Lalljie, P. Sandra, *Chromatographia* **1995**, *40*, 519–526; c) A. Ramseier, F. von Heeren, W. Thormann, *Electrophoresis* **1998**, *19*, 2967–2975.
- [13] M. T. Reetz, K.-E. Jaeger, A. Zonta, K. Schimossek, K. Liebeton (Studiengesellschaft Kohle mbH), DE-A 19731990.4, **1997**.
- [14] Hutt et al.<sup>[8c]</sup> und Li et al.<sup>[8h]</sup> haben kürzlich CE-Trennungen von Aminosäuren in die Enantiomere auf einem Glas-Chip beschrieben. Mit einem geeigneten Robotersystem dürfte es möglich sein, ein Hochdurchsatz-Screeningsystem für diese Substanzklasse zu entwickeln.
- [15] a) K. Liebeton, A. Zonta, K. Schimossek, M. Nardini, D. Lang, B. W. Dijkstra, M. T. Reetz, K.-E. Jaeger, *Chem. Biol.*, im Druck; b) O. May, P. T. Nguyen, F. H. Arnold, *Nat. Biotechnol.* **2000**, *18*, 317–320; c) E. Henke, U. T. Bornscheuer, *Biol. Chem.* **1999**, *380*, 1029–1033.

## Schichtweise Organisation photoaktiver Filme auf der Basis von Donor-verknüpften Fullerenen\*\*

Chuping Luo, Dirk M. Guldi,\* Michele Maggini, Enzo Menna, Simonetta Mondini, Nicholas A. Kotov und Maurizio Prato

Der Aufbau molekularer Funktionseinheiten, wie photoelektrochemische Zellen, die sich für die Umwandlung von Sonnenenergie einsetzen lassen, ist nicht nur von großem Nutzen, sondern auch eine große Herausforderung.<sup>[1]</sup> Häufig treten Probleme infolge von Grenzflächendiffusionen der Donor- und Acceptor-Moleküle oder von unzureichender Anregung durch sichtbares Licht bei Halbleitermaterialien mit großer Energielücke auf.<sup>[2, 3]</sup>

Im Folgenden möchten wir die supramolekulare Organisation von Donor-verknüpften Fullerenen vorstellen, durch die sich eine attraktive Möglichkeit zur Herstellung photoaktiver Indiumzinnoxid(ITO)-Elektroden ergibt, die sich durch effiziente Erzeugung von Photoströmen auszeichnen.<sup>[4]</sup> Ein grundlegender Vorteil derartiger maßgeschneiderter Architekturen besteht darin, die Schichtdicke und die Zusammensetzung der organisierten Filme auf molekularem Niveau kontrollieren zu können.<sup>[5]</sup> Ebenso wichtig sind die spezifische Ausrichtung und Orientierung der eingebauten Donor-Acceptor-Systeme zur Erleichterung des Elektronentransfers zwischen benachbarten Schichten.<sup>[6]</sup> Es ist davon auszugehen, dass die Effizienz, mit der die Photoströme hervorgerufen werden, vom Zusammenspiel dieser einzelnen Parameter (Filmdicke, Anordnung und Orientierung) abhängt.

Im Folgenden beschreiben wir die schichtweise Auftragung des Fulleropyrrolidinium-Ions **1** und der Ruthenium(II)-polypyridyl-Fulleren-Donor-Acceptor-Dyaden **2** und **3** (Gegenion jeweils PF<sub>6</sub><sup>-</sup>; Schema 1) auf Festkörpersubstraten (Quarz und halbleitende ITO-Elektroden). Die verwendeten Ruthenium(II)-polypyridyl-Komplexe zeigen eine ausgeprägte Rotverschiebung des Absorptionsmaximums bei gleichzeitiger Beibehaltung eines hohen Potentials zur Erzeugung

[\*] Dr. habil. D. M. Guldi, Dr. C. Luo  
Radiation Laboratory, University of Notre Dame  
Notre Dame, IN 46556 (USA)  
Fax: (+1) 219-631-8068  
E-mail: guldi.1@nd.edu

Prof. M. Maggini, Dr. E. Menna, Dr. S. Mondini  
Dipartimento di Chimica Organica, Università di Padova  
Via Marzolo 1, 35131 Padova (Italien)

Prof. N. A. Kotov  
Chemistry Department, Oklahoma State University  
Stillwater, OK, 74078 (USA)

Prof. M. Prato  
Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Trieste  
Piazzale Europa, 1, 34127 Trieste (Italien)

[\*\*] Diese Arbeit wurde vom Office of Basic Energy Sciences des Department of Energy und vom MURST (Nr. 9803194198) unterstützt. Diese Veröffentlichung ist Dokument NDRL-4166 des Notre Dame Radiation Laboratory. Wir danken Prof. Janos H. Fendler und Dr. T. Cassagneau (Clarkson University) für hilfreiche Diskussionen zu Beginn der Untersuchungen, und N.A.K. dankt der National Science Foundation für ein CAREER-Stipendium (CHE-9876265).