

# Asymmetrische Organokatalyse und Analyse in einem mikrofluidischen Nanospray-Chip\*\*

Stefanie Fritzsche, Stefan Ohla, Petra Glaser, David S. Giera, Marcel Sickert, Christoph Schneider und Detlev Belder\*

Die Miniaturisierung chemischer Prozesse in so genannten Chip-Laboreien gewinnt in ganz unterschiedlichen Disziplinen der Chemie immer mehr an Bedeutung. Neben den Vorteilen der potenziellen Portabilität, des geringeren Resourcenverbrauchs und erhöhter Sicherheit können in mikrofluidischen Systemen vor allem deutlich höhere Prozessgeschwindigkeiten erzielt werden.<sup>[1]</sup> Mikrofluidische Systeme werden nicht nur in der analytischen Chemie, sondern zunehmend auch in der anorganischen und organischen Synthesechemie untersucht, wobei neben Chip-Systemen<sup>[2]</sup> auch kapillarbasierte Durchflusreaktoren<sup>[3]</sup> erfolgreich eingesetzt wurden. Während in vielen Arbeiten eindrucksvoll gezeigt werden konnte, dass mannigfaltige Reaktionen in mikrofluidischen Chipsystemen möglich sind,<sup>[4]</sup> wird die notwendige chemische Analytik in der Regel extern mit klassischen makroskopischen Analysegeräten durchgeführt. Das große Potenzial von Chip-Laboreien besteht jedoch gerade in der Möglichkeit, unterschiedliche Funktionalitäten eines Chemielabors – von der Synthese bis zur Analytik – in einem einzigen funktionellen Substrat zu vereinen. In Analogie zum Erfolg der Mikroelektronik sollte es damit gelingen, integrierte chemische Schaltkreise<sup>[5]</sup> als neue Hilfsmittel z. B. zum Katalysator-Screening<sup>[6]</sup> oder zur Online-Überwachung von Bioprozessen zu entwickeln.<sup>[7]</sup>

Ein solcher integrierter Synthese- und Analyse-Chip wurde von uns zur Untersuchung der enantioselektiven enzymatischen Epoxidspaltung entwickelt.<sup>[8]</sup> Mit diesem Ansatz konnten wir erfolgreich die Kombination von Biokatalyse und Analyse auf einem Chip präsentieren, jedoch war er auf wässrige Lösungsmittel und nativ fluoreszierende Moleküle begrenzt.<sup>[9]</sup>

Das Ziel der Weiterentwicklung des Chip-Systems war daher die Eröffnung breiterer Anwendungsmöglichkeiten in der Synthesechemie, insbesondere der Einsatz nichtwässriger Reaktionsmedien. Zudem erschien die Realisierung eines leistungsfähigeren Detektionsverfahrens durch die Kopplung zur Massenspektrometrie als besonders attraktiv,<sup>[10]</sup> da hier

zusätzlich Strukturinformationen zur Identifizierung der Substanzen erhalten werden können.

Als spannendes Anwendungsfeld haben wir uns für die Organokatalyse entschieden, welche sich in den letzten Jahren zu einem der innovativsten Forschungsgebiete in der organischen Synthesechemie entwickelt hat.<sup>[11]</sup> Kürzlich wurde ein erster miniaturisierter Ansatz zur Organokatalyse in einem Chip mit Durchflusreaktor von Odedra und Seeger beschrieben,<sup>[12]</sup> wobei die Reaktionsprodukte aufgefangen und extern mithilfe von klassischer HPLC vermessen wurden.

Hier stellen wir nun die unseres Wissens erste asymmetrische organokatalytische Reaktion auf einem funktionalen Chip mit integrierter Analytik vor. Als Modellreaktion haben wir die von uns 2008 entwickelte enantioselektive vinylogische Mannich-Reaktion in Gegenwart von chiralen Phosphorsäuren gewählt.<sup>[13]</sup> Die Verwendung des alkoholischen Lösungsmittelgemisches sowie die nichtfluoreszierenden Produkte stellten uns hierbei vor besondere Herausforderungen bei der Chip-Integration. So war es für eine störungsfreie elektrophoretische Auftrennung der Produkte im wässrigen Elektrolyten notwendig, das alkoholische Reaktionsmedium auf dem Chip anzupassen.

Hierzu haben wir einen neuen mikrofluidischen Chip entwickelt, der folgende Funktionen enthält: eine Reaktionsstruktur für die organische Synthese, eine Struktur zur wässrigen Verdünnung der Reaktionsmischung, eine Kreuzstruktur zur Injektion und einen Kanal für die elektrophoretische Trennung. Am Ende des Trennkanals beinhaltet das Chip-Layout zudem einen integrierten Nanoelektrospray-Emitter mit „Makeup-flow“-Kanälen für die totvolumenfreie Kopplung zur Massenspektrometrie.<sup>[14]</sup> Eine schematische Darstellung des verwendeten Mikrochips mit 50 µm breiten Kanälen ist zusammen mit dem Photo eines entsprechenden Glaschips in Abbildung 1 dargestellt.

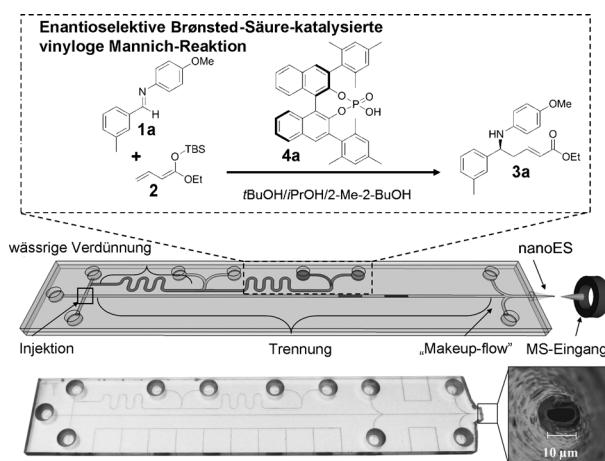
Eine Reaktion mit anschließender Analytik auf dem Chip wurde wie folgt durchgeführt: Zunächst wurde die Reaktionsstruktur mit dem alkoholischen Lösungsmittelgemisch für die Synthese und nachfolgend die restliche Struktur mit einem wässrigen Elektrolyten für die Elektrophorese gefüllt. Danach wurden jeweils 8 µL der Reaktanten in den entsprechenden Mikrovertiefungen vorgelegt, und durch Anlegen von Druck und Spannung erfolgte die Reaktion in der Mischstruktur. Die organische Reaktionsphase wurde danach in einem weiteren Serpentinemischer mit dem Trennelektrolyten bestehend aus 0.1 Vol.-% Essigsäure und 25 % Methanol (v/v) verdünnt. Anschließend wurde ein Teil der nun wässrig-alkoholischen Reaktionsmischung durch elektrokinetische Pinzetteneinjektion<sup>[15]</sup> in den Trennkanal überführt.

[\*] S. Fritzsche, S. Ohla, P. Glaser, Prof. Dr. D. Belder  
Institut für Analytische Chemie, Universität Leipzig  
Linnéstraße 3, 04103 Leipzig (Deutschland)  
E-Mail: belder@uni-leipzig.de

D. S. Giera, Dr. M. Sickert, Prof. Dr. C. Schneider  
Institut für Organische Chemie, Universität Leipzig  
Johannisallee 29, 04103 Leipzig (Deutschland)

[\*\*] Diese Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt (SPP 1179 „Organokatalyse“, Schn 441/7-1).

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201102331> zu finden.

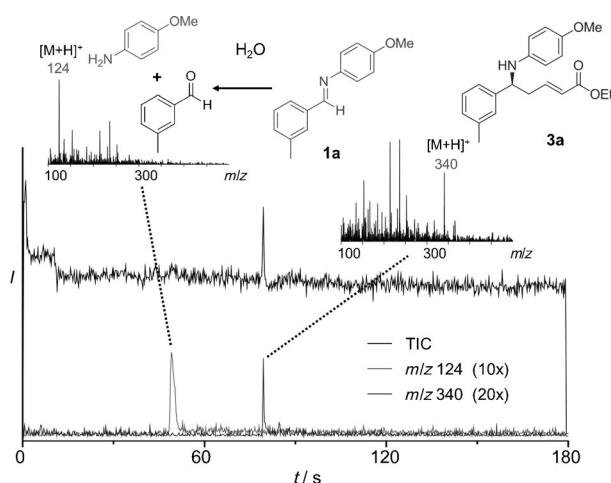


**Abbildung 1.** Schematische Darstellung des Chip-Layouts mit Reaktion, Trennung und massenspektrometrischer Detektion nach Nanoelektrospray(nanoES)-Ionisation.

Hier erfolgte dann die elektrophoretische Auf trennung, bevor die Substanzen über die monolithisch integrierte Nanosprynadel in ein Massenspektrometer überführt wurden. Eine detailliertere Darstellung der Funktionsweise und der Parameter ist in den Hintergrundinformationen zu finden.

Mit diesem integrierten Prozess gelang die On-chip-Katalyse und -Analyse wie beispielhaft in Abbildung 2 anhand eines MS-Elektropherogrammes gezeigt ist. Die Gesamt dauer von Synthese und Analyse betrug bei einer Reaktionszeit von 3 min sowie 1.5 min für Trennung und MS-Detektion weniger als 5 min. Sowohl das Produkt **3a** als auch der Reaktant **1a** konnten anhand der Massenspektren eindeutig identifiziert werden, wobei das Imin im wässrigen Medium sofort hydrolysiert und über das entsprechende primäre Amin nachgewiesen wurde.

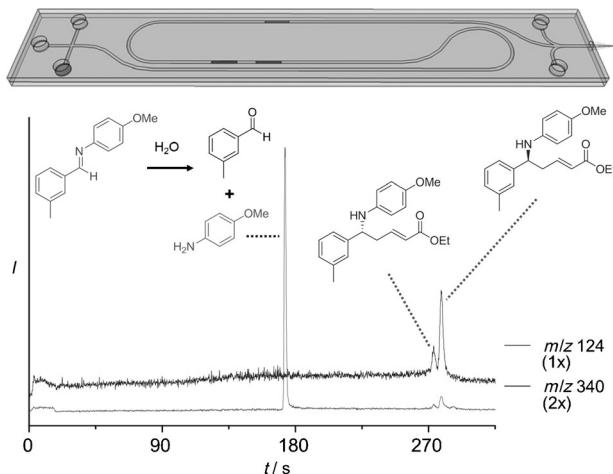
Nachdem die Integration von On-chip-Katalyse und -Analyse gelungen war, stellte sich uns als nächste Herausforderung die Trennung der Enantiomere des Produktes, um so den *ee*-Wert der Reaktion bestimmen zu können. Dies wird



**Abbildung 2.** Gesamtonenelektropherogramm und extrahierte Massenspuren der organokatalytischen On-chip-Reaktion.

durch eine chiral modifizierte Chip-Elektrophorese möglich.<sup>[16]</sup> In automatisierten Kapillarelektrophorese-Experimenten wurde hierfür als geeigneter Selektor Hydroxypropyl- $\gamma$ -cyclodextrin als Elektrolytzusatz gefunden. Allerdings gestaltete sich die Übertragung auf den Chip-Maßstab aufgrund der kurzen Trennstrecke von 7.5 cm schwierig. Deshalb haben wir einen zweiten Mikrochip mit einem deutlich verlängerten Trennkanal von 23 cm entwickelt, der eine Trennung der Enantiomere ermöglichte. Auf diese Weise ist die unseres Wissens erste Enantiomerentrennung auf einem Mikrochip mit massenspektrometrischer Detektion gelungen.

Die organokatalytische Synthese erfolgte durch Mischung der Reaktionslösungen direkt in einem Zugangsloch des Chips. Das aus den extrahierten Massenspuren erhaltene Elektropherogramm einer asymmetrischen On-chip-Katalyse mit Enantiomerentrennung ist zusammen mit einer schematischen Darstellung des verwendeten Mikrochips in Abbildung 3 abgebildet.



**Abbildung 3.** Elektropherogramm aus den extrahierten Massenspuren zur Trennung der Produktenantiomere nach der On-chip-Reaktion.

Mit diesem Aufbau war es uns nun möglich, innerhalb kurzer Zeit den Enantiomerenüberschuss der asymmetrischen Reaktion zu bestimmen, der für das gezeigte Beispiel bei 55 % *ee* liegt. Durch Einsatz eines geeigneten internen Standards zur exakteren Quantifizierung ist auch die Bestimmung des Umsatzes möglich. Um das Potenzial unseres Systems als Screening-Plattform zu testen, haben wir diese Reaktion mit verschiedenen Binol-basierten Phosphorsäuren durchgeführt und mit den Ergebnissen aus parallel durchgeführten klassischen Batch-Versuchen verglichen (Tabelle 1).

Die Abweichungen der ermittelten *ee*-Werte bei Dreifachbestimmungen lagen dabei unter 5 %, womit sich ein signifikanter Trend für die Enantioselektivität der Katalysatoren ergibt. Durch Senken der Temperatur auf  $-30^{\circ}\text{C}$  können im Batch-Versuch die Selektivitäten noch deutlich gesteigert werden (Tabelle 1). Zudem können mit optimierten Lösungsmitteln auch *ee*-Werte über 90 % erzielt werden.<sup>[13e]</sup>

Um eine hohe Robustheit in den mikrofluidischen Experimenten zu erzielen, wurde im Vergleich zur makroskopischen Synthese mit angepassten Bedingungen gearbeitet.

**Tabelle 1:** Screening von Katalysatoren auf dem Mikrochip und im Labor mit externer Analytik.<sup>[a]</sup>

Nr.	R	4	Methode	ee [%] <sup>[b]</sup>
				ee [%] <sup>[b]</sup>
1	2,4,6-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>2</sub>	4a	Chip/RT	55 ± 3
			Batch/RT	62
			Batch/-30 °C	73
2	2,4,6-(iPr) <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>2</sub>	4b	Chip/RT	40 ± 4
			Batch/RT	26
			Batch/-30 °C	48
3	4-tBu-2,6-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>2</sub>	4c	Chip/RT	66 ± 4
			Batch/RT	76
			Batch/-30 °C	85

[a] Reaktionsbedingungen: **1a** (1 Äquiv.), **2** (3 Äquiv.), **4** (5 Mol-%), Raumtemperatur, H<sub>2</sub>O (1 Äquiv.), Chip: 22 mm in iPrOH/tBuOH/2-Me-2-BuOH (1:1:1), Batch: 0.1 m in iPrOH/tBuOH/2-Me-2-BuOH (1:1:1).

[b] On-chip mit chiralem Selektor, Batch-Ergebnisse bestimmt durch HPLC an chiraler Phase.

Trotzdem gelang es uns doch eindeutig und in sehr kurzer Zeit, die „Hits“ im Katalysator-Screening zu identifizieren. Neben der Variation des Katalysators haben wir ebenfalls verschiedene Imine eingesetzt. Auch hier wurden wieder gute Übereinstimmungen von klassischer Makro- und der Chip-Synthese gefunden. Dies ist am Beispiel der Umsetzung von (*E*)-*N*-(4-Ethylbenzyliden)-4-methoxyanilin mit dem 3,3'-Dimesityl-substituierten Binol-Phosphorsäure-Katalysator in Schema 1 gezeigt.

Durch die hohe Prozessgeschwindigkeit eignen sich mikrofluidische Nanospray-Chips auch, um Reaktionen unmittelbar nach der Durchmischung massenspektrometrisch zu verfolgen. Als Modellsystem haben wir die organokatalytische Umsetzung von **1a** aus Abbildung 1 ausgewählt. Hierzu

wurde ein Mikrochip mit mehreren integrierten „Makeup-flow“-Kanälen verwendet, der einen Zufluss an zwei Positionen vor der Nanospray-Spitze (2.1 cm und 0.5 cm) ermöglichte. Am ersten Punkt erfolgte der Reaktionsstart, indem die Reaktanten elektrokinetisch in Richtung Nanosprayemitter transportiert wurden. Zur besseren Ionisierung wurde durch die vorderen Zuflüsse wässrig verdünnt und nach einer Minute im Massenspektrometer detektiert (Abbildung 4). Wir konnten die jeweiligen Kontaktionspaare

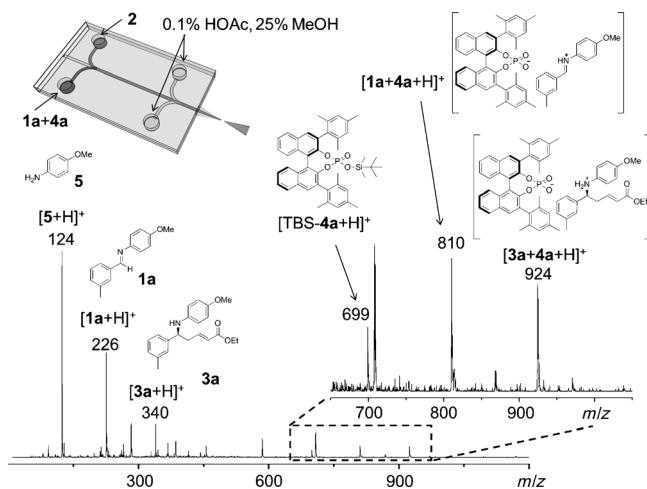
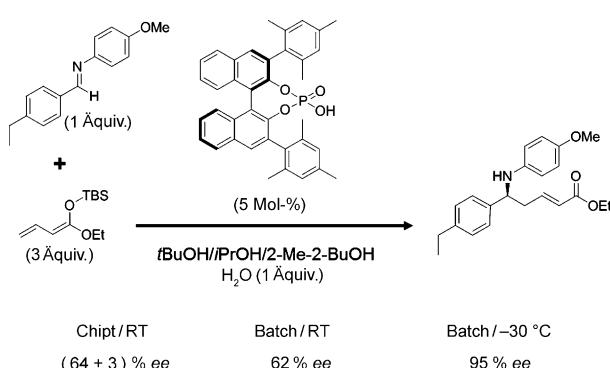


Abbildung 4. Untersuchungen zum Reaktionsmechanismus mit Mikrosynthese-Nanoelektrospray-Massenspektrometrie.

von **4a** mit **1a** und **3a** sowie den silylierten Katalysator TBS-**4a** (TBS = *tert*-Butyldimethylsilyl) eindeutig nachweisen. Trotz der geringeren Ionensuppression im Vergleich zum konventionellen Elektrospray<sup>[14b]</sup> ist eine exakte Quantifizierung natürlich schwierig. Die qualitative Auswertung zeigt jedoch, dass die gefundenen Spezies mit dem von uns postulierten Reaktionsmechanismus gut übereinstimmen.<sup>[13g]</sup> Neben **3a** und **1a** wurde auch die Hydrolyse von **1a** zu **5** beobachtet. Mit einem weiter optimierten Chip-Layout mit sehr kurzen Kanälen, Druckunterstützung und der Verwendung sehr schneller Massenspektrometer<sup>[17]</sup> sollten auch deutlich kürzere Verweilzeiten im Subsekundenbereich möglich sein, die eine Identifizierung kurzlebiger Spezies ermöglichen.

Wir haben die erste Kombination von enantioselektiver Organokatalyse, Enantiomerentrennung und MS-Detektion auf einem integrierten Mikrochip beschrieben. Das Chipsystem wurde erfolgreich zum Katalysator-Screening in der asymmetrischen Synthese eingesetzt, die dabei erhaltenen Ergebnisse korrelieren sehr gut mit den Vergleichsexperimenten im Labormaßstab. Im Rahmen dieses Projektes wurde zudem die erste Enantiomerentrennung auf einem Chip mit MS-Detektion realisiert. Das verwendete Mikrochip-Design bietet darüber hinaus die Möglichkeit, Reaktionen unmittelbar nach deren Start massenspektrometrisch zu verfolgen und hat somit großes Potenzial zur Identifizierung reaktiver Zwischenstufen und zur Aufklärung von Reaktionsmechanismen.



Schema 1. Asymmetrische Organokatalyse von (*E*)-*N*-(4-Ethylbenzyliden)-4-methoxyanilin mit Vergleich der erhaltenen ee-Werte aus Chip- und Batch-Versuchen.

Eingegangen am 4. April 2011,  
veränderte Fassung am 13. Mai 2011  
Online veröffentlicht am 30. August 2011

**Stichwörter:** Elektrophorese · Hochdurchsatz-Screening ·  
Lab-on-a-chip · Massenspektrometrie · Organokatalyse

- [1] a) G. M. Whitesides, *Nature* **2006**, *442*, 368–373; b) D. Janasek, J. Franzke, A. Manz, *Nature* **2006**, *442*, 374–380; c) A. J. de-Mello, *Nature* **2006**, *442*, 394–402; d) M. Grumann, A. Geipel, L. Rieger, R. Zengerle, J. Dürre, *Lab Chip* **2005**, *5*, 560–565; e) F. Schönfeld, V. Hessel, C. Hofmann, *Lab Chip* **2004**, *4*, 65–69; f) K. Jähnisch, V. Hessel, H. Löwe, M. Baerns, *Angew. Chem. 2004*, *116*, 410–451; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 406–446; g) M. Brivio, W. Verboom, D. N. Reinhoudt, *Lab Chip* **2006**, *6*, 329–344; h) M. Kakuta, F. G. Bessoth, A. Manz, *Chem. Rec.* **2001**, *1*, 395–405.
- [2] a) A. Arora, G. Simone, G. B. Salieb-Beugelaar, J. T. Kim, A. Manz, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 4830–4847; b) A. Abou-Hassan, O. Sandre, V. Cabuil, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 6408–6428; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 6268–6286; c) P. Watts, S. J. Haswell, *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 235–246; d) A. Popp, J. J. Schneider, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 9092–9095; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8958–8960; e) H.-I. Ryoo, J. S. Lee, C. B. Park, D.-P. Kim, *Lab Chip* **2011**, *11*, 378–380; f) J. E. Kreutz, A. Shukhaev, W. Du, S. Druskin, O. Daugulis, R. F. Ismagilov, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3128–3132; g) F. E. Valera, M. Quaranta, A. Moran, J. Blacker, A. Armstrong, J. T. Cabral, D. G. Blackmond, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 2530–2537; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 2478–2485; h) H. R. Sahoo, J. G. Kralj, K. F. Jensen, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 5806–5810; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5704–5708.
- [3] a) O. Trapp, S. K. Weber, S. Bauch, W. Hofstadt, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 7447–7451; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7307–7310; b) N. Wang, T. Matsumoto, M. Ueno, H. Miyamura, S. Kobayashi, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 4838–4840; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4744–4746; c) O. Trapp, *Electrophoresis* **2010**, *31*, 786–813.
- [4] a) J. P. McMullen, K. F. Jensen, *Annu. Rev. Anal. Chem.* **2010**, *3*, 19–42; b) B. P. Mason, K. E. Price, J. L. Steinbacher, A. R. Bogdan, D. T. McQuade, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 2300–2318; c) K. Geyer, J. D. C. Codée, P. H. Seeberger, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 8434–8442; d) P. Kuhn, J. Puigmarti-Luis, I. Imaz, D. Maspoch, P. S. Dittrich, *Lab Chip* **2011**, *11*, 753–757; e) K.-I. Min, T. H. Lee, C. P. Park, Z.-Y. Wu, H. G. Girault, I. Ryu, T. Fukuyama, Y. Mukai, D.-P. Kim, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 7217–7221; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 7063–7067; f) M. A. M. Gijs, F. Lacharme, U. Lehmann, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1518–1563; g) M. Brivio, R. H. Fokkens, W. Verboom, D. N. Reinhoudt, N. R. Tas, M. Goedbloed, A. van den Berg, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 3972–3976.
- [5] D. Belder, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 3790–3791; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3736–3737.
- [6] a) M. Rasheed, T. Wirth, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 374–376; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 357–358; b) J. P. McMullen, M. T. Stone, S. L. Buchwald, K. F. Jensen, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 7230–7234; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 7076–7080; c) E. R. Murphy, J. R. Martinelli, N. Zabarenko, S. L. Buchwald, K. F. Jensen, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 1764–1767; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1734–1737; d) B. Gutmann, J.-P. Roduit, D. Roberge, C. O. Kappe, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 7255–7259; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 7101–7105; e) Y. Wang, W.-Y. Lin, K. Liu, R. J. Lin, M. Selke, H. C. Kolb, N. Zhang, X.-Z. Zhao, M. E. Phelps, C. K. F. Shen, K. F. Faull, H.-R. Tseng, *Lab Chip* **2009**, *9*, 2281–2285; f) C. de Bellefon, N. Pestre, T. Lamouille, P. Grenouillet, V. Hessel, *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345*, 190–193.
- [7] a) P. Sichler, S. Büttgenbach, L. Baars-Hibbe, C. Schrader, K.-H. Gericke, *Chem. Eng. J.* **2004**, *101*, 465–468; b) S. Büttgenbach, R. Wilke, *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *383*, 733–737.
- [8] D. Belder, M. Ludwig, L.-W. Wang, M. T. Reetz, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 2523–2526; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2463–2466.
- [9] a) P. Schulze, M. Ludwig, F. Kohler, D. Belder, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 1325–1329; b) W. Hellmich, C. Pelargus, K. Leffhalm, A. Ros, D. Anselmetti, *Electrophoresis* **2005**, *26*, 3689–3696; c) M. Schüttelz, C. Müller, H. Neuweiler, M. Sauer, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 663–669; d) W. Hellmich, D. Greif, C. Pelargus, D. Anselmetti, A. Ros, *J. Chromatogr. A* **2006**, *1130*, 195–200.
- [10] a) S. L. S. Freire, A. R. Wheeler, *Lab Chip* **2006**, *6*, 1415–1423; b) L. M. Fidalgo, G. Whyte, B. T. Ruotolo, J. L. P. Benesch, F. Stengel, C. Abell, C. V. Robinson, W. T. S. Huck, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 3719–3722; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3665–3668; c) T. Sikanen, S. Franssila, T. J. Kauppinen, R. Kostiainen, T. Kotiaho, R. A. Ketola, *Mass Spectrom. Rev.* **2010**, *29*, 351–391; d) J. S. Rossier, N. Youhovnovski, N. Lion, E. Damoc, S. Becker, F. Reymond, H. H. Girault, M. Przybylski, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 55–60; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 53–58.
- [11] Repräsentative jüngste Übersichten: a) D. W. C. MacMillan, *Nature* **2008**, *455*, 304–308; b) *Topics in Current Chemistry*, Vol. 291 (Hrsg.: B. List), Springer, Berlin, **2010**; c) M. Terada, *Synthesis* **2010**, 1929–1982; d) (Gasthrsg.: B. List), *Chem. Rev.* **2007**, *107*, Nr. 12 „special issue on organocatalysis“; e) P. Melchiorre, M. Marigo, A. Carbone, G. Bartoli, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 6232–6265; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 6138–6171; f) C. Grondal, M. Jeanty, D. Enders, *Nat. Chem.* **2010**, *2*, 167–178; g) A. Zamfir, S. Schenker, M. Freund, S. B. Tsogoeva, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 5262–5276; h) S. Bertelsen, K. A. Jorgensen, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 2178–2189; i) Z. Zhang, P. R. Schreiner, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 1187–1198; j) S. J. Connolly, *Synlett* **2009**, 354–376; k) D. Enders, A. A. Narine, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7857–7870.
- [12] A. Odedra, P. H. Seeberger, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 2737–2740; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2699–2702.
- [13] a) T. Akiyama, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5744; b) M. Terada, *Chem. Commun.* **2008**, 4097; c) T. Akiyama, J. Itoh, K. Yokota, K. Fuchibe, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 1592–1594; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1566–1568; d) D. Uraguchi, M. Terada, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5356–5357; e) M. Sickert, C. Schneider, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 3687–3690; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3631–3634; f) D. S. Giera, M. Sickert, C. Schneider, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4259–4262; g) M. Sickert, F. Abels, M. Lang, J. Sieler, C. Birkemeyer, C. Schneider, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 2806–2818.
- [14] a) P. Hoffmann, U. Häusig, P. Schulze, D. Belder, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 5000–5003; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4913–4916; b) P. Hoffmann, M. Eschner, S. Fritzsche, D. Belder, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 7256–7261.
- [15] S. C. Jacobsen, R. Hergenröder, L. B. Koutny, R. J. Warmack, J. M. Ramsey, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 1107–1113.
- [16] a) S. Nagl, P. Schulze, S. Ohla, R. Beyreiss, L. Gitlin, D. Belder, *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 3232–3238; b) S. Nagl, P. Schulze, M. Ludwig, D. Belder, *Electrophoresis* **2009**, *30*, 2765–2772.
- [17] S. Fritzsche, P. Hoffmann, D. Belder, *Lab Chip* **2010**, *10*, 1227–1230.