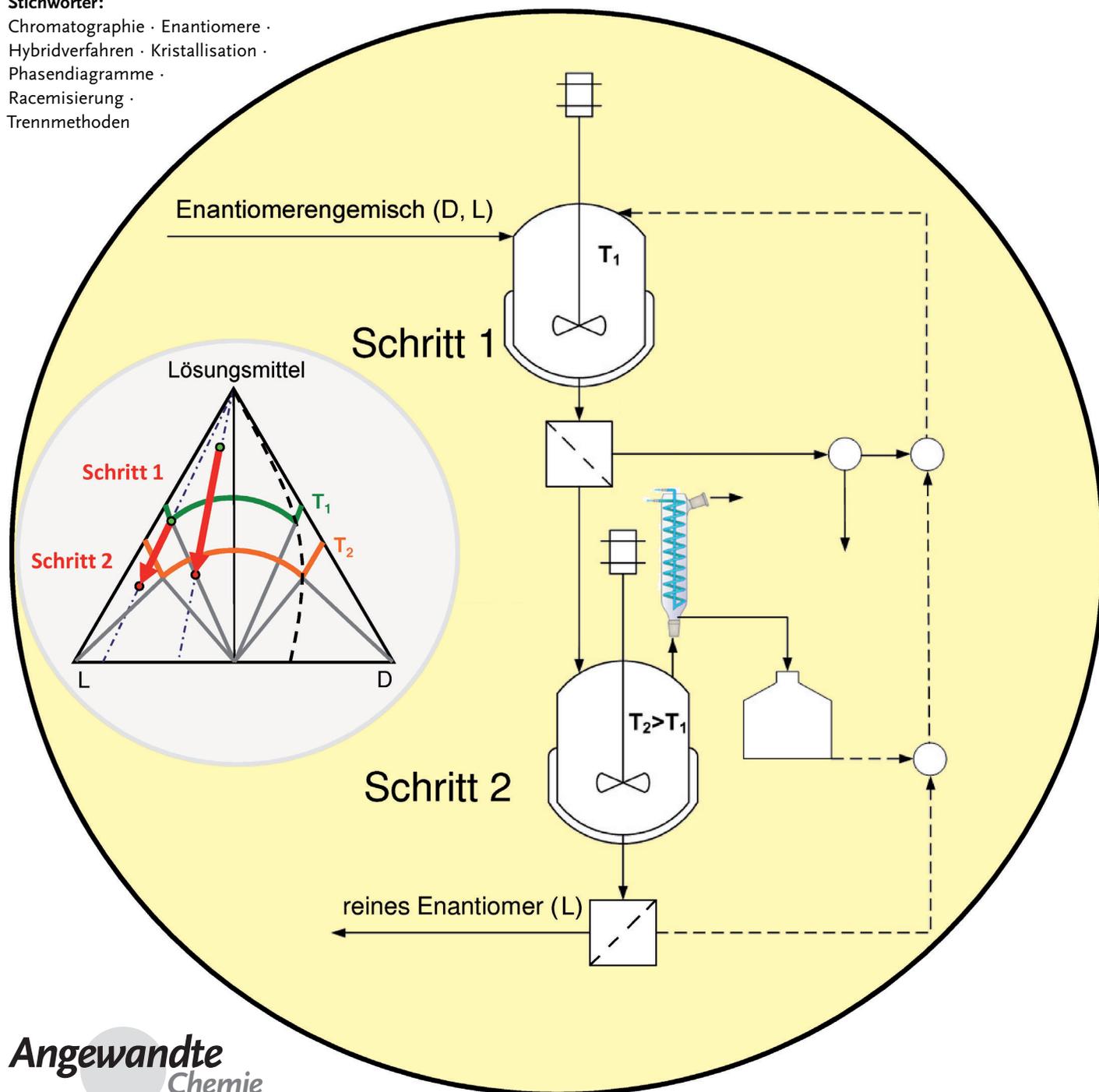


# Verfahren zur Enantiomertrennung

Heike Lorenz und Andreas Seidel-Morgenstern\*

**Stichwörter:**

Chromatographie · Enantiomere ·  
Hybridverfahren · Kristallisation ·  
Phasendiagramme ·  
Racemisierung ·  
Trennmethode



Die Verfügbarkeit reiner Enantiomere ist von steigender Bedeutung für die pharmazeutische Industrie sowie auch für die Agrochemie und Biotechnologie. Generell gibt es zwei konkurrierende Ansätze zur Gewinnung von reinen Enantiomeren. Der „chirale“ Ansatz basiert auf der Entwicklung einer asymmetrischen Synthese, die selektiv eines der Enantiomere liefert. Der „racemische“ Ansatz basiert auf der Trennung eines Gemischs der beiden Enantiomere, wobei hier in den letzten Jahren bemerkenswerte Fortschritte erzielt werden konnten. Dieser Aufsatz fokussiert insbesondere auf enantioselektive Kristallisationsprozesse und präparative Chromatographie, einschließlich hybrider Trennprozesse und der zusätzlichen Integration von Racemisierungsschritten. Zur Illustration dienen mehrere in unserem Arbeitskreis untersuchte Trennungen.

## 1. Einleitung

Enantiomere sind Stereoisomere, die sich zueinander wie Bild und Spiegelbild verhalten. Sie werden gemäß klassischer Notationen mit (D) oder (L), (R) oder (S) bzw. über ihre optische Drehrichtung mit (+) oder (–) gekennzeichnet.<sup>[1]</sup> Noch immer gibt es keine abschließende Antwort darauf, warum das Leben im Wesentlichen aus L-Aminosäure-Bausteinen aufgebaut ist. Diese faszinierende und ungelöste Frage stimuliert nach wie vor ein breites Spektrum an Forschungsaktivitäten (z. B. Lit. [2–5]). Unabhängig davon besteht wachsendes Interesse an der Erzeugung reiner Enantiomere in den Bereichen der Life Sciences, wie der Lebensmittel- und der agrochemischen Industrie sowie insbesondere in der pharmazeutischen Industrie.<sup>[6–8]</sup> Es gibt heute eindeutige Belege dafür, dass bei chiralen Wirkstoffen oftmals nur eines der Enantiomere die gewünschte physiologische Wirkung hervorruft. In vielen Fällen hat das andere Enantiomer keine Wirkung oder ist sogar gesundheitsschädlich. Aufsichtsbehörden fordern zunehmend, dass chirale Wirkstoffe nur in optisch reiner Form verabreicht werden.<sup>[9–11]</sup> Dies hat die Bemühungen der industriellen und akademischen Forschung intensiviert, Techniken für die Gewinnung reiner Enantiomere zu entwickeln. Die verwendeten Ansätze können eingeteilt werden in a) den „chiralen“ Ansatz, der auf der Entwicklung einer asymmetrischen Synthese von nur einem der Enantiomere beruht, und b) den „racemischen“ Ansatz, der auf die Trennung von Gemischen der beiden Enantiomere gerichtet ist.<sup>[12–14]</sup>

In den letzten Jahren wurden bemerkenswerte Fortschritte auf dem Gebiet der asymmetrischen Synthese erzielt (oftmals auch enantioselektive oder stereoselektive Synthese genannt), bei der, wie in Abbildung 1 dargestellt, im Wesentlichen vier Hauptkonzepte Anwendung finden.

### Fermentationsmethoden

Methoden, die sich den selektiven natürlichen Stoffwechsel von Mikroorganismen zu Nutze machen, werden sehr erfolgreich in großem Maßstab zur Produktion optisch reiner Aminosäuren (insbesondere als Lebensmittelzusatzstoffe)

## Aus dem Inhalt

1. Einleitung	1241
2. Verfahren zur Enantiomerentrennung	1243
3. Kristallisationsbasierte Methoden zur Enantiomerentrennung	1245
4. Chromatographische Enantiomerentrennung	1256
5. Kopplung von Chromatographie und Kristallisation	1265
6. Verfahrenskonzepte unter Berücksichtigung der Racemisierung	1267
7. Zusammenfassung	1268

eingesetzt. Beispielsweise erfolgt die Gewinnung von L-Lysin, indem genetisch adaptierte Zelllinien von *Corynebacterium glutamicum* verwendet werden. Viele hervorragende Über-

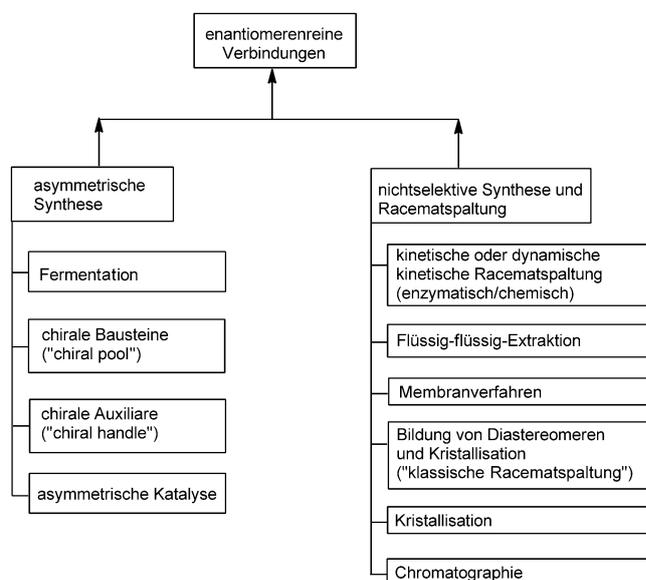


Abbildung 1. Mögliche Wege zu reinen Enantiomeren.

[\*] Prof. H. Lorenz, Prof. A. Seidel-Morgenstern  
Max-Planck-Institut für Dynamik komplexer technischer Systeme  
Sandtorstraße 1, 39106 Magdeburg (Deutschland)  
Prof. A. Seidel-Morgenstern  
Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg  
Institut für Verfahrenstechnik  
Universitätsplatz 2, 39106 Magdeburg (Deutschland)  
E-Mail: seidel-morgenstern@mpi-magdeburg.mpg.de

sichtsartikel beschreiben sowohl die Mechanismen verschiedener erfolgreicher Biotransformationen als auch industrielle Anwendungen.<sup>[15]</sup>

#### Chiraler Pool

Bei diesem einfachsten zur Verfügung stehenden Ansatz werden chirale Ausgangsmaterialien mit achiralen Reagentien zu den gewünschten chiralen Zielmolekülen umgesetzt. Dieses Konzept ist besonders attraktiv für Zielmoleküle, die eine Chiralität ähnlich der eines relativ preiswerten, natürlich vorkommenden Bausteins, z.B. einem Zucker oder einer Aminosäure, aufweisen. Allerdings ist die Anzahl der möglichen Reaktionen begrenzt, was langwierige Synthesewege erforderlich machen kann. Der Ansatz erfordert stöchiometrische Mengen eines geeigneten Ausgangsmaterials, das eine ausreichende Enantiomerenreinheit aufweisen muss, und kann somit sehr preisintensiv sein (siehe z. B. Lit. [16]).

#### Verwendung chiraler Auxiliare

Eine Gemeinsamkeit vieler Strategien in der asymmetrischen Synthese ist eine asymmetrische Induktion zur Umwandlung von Enantiomeren in Diastereomere, die eine unterschiedliche Reaktivität aufweisen. Eine Möglichkeit zur asymmetrischen Induktion ist beispielsweise die Verwendung eines chiralen Auxiliars zur Bildung eines Addukts mit dem Ausgangsmaterial, das nur die gewünschte Trajektorie für den Angriff des Reaktionspartners offen lässt und die andere physikalisch blockiert. Unter der Annahme, dass das chirale Auxiliar enantiomerenrein ist, sind die verschiedenen Reaktionswege nicht äquivalent und führen zu verschiedenen Produkten. Die Anwendung dieses Konzepts erfordert einen Reaktionsschritt zur Einführung und einen weiteren zur Abspaltung des Auxiliars, was typischerweise die Kosten erhöht und die Ausbeuten senkt.<sup>[17]</sup>

#### Asymmetrische Katalyse

Kleine Mengen an chiralen enantiomerenreinen (oder lediglich optisch aktiven) Katalysatoren können eine gewünschte Reaktion begünstigen und zur Bildung größerer Mengen an enantiomerenreinen oder enantiomerenangereicherten Produkten führen.<sup>[18–20]</sup> Derzeit werden vor allem drei Arten chiraler Katalysatoren verwendet:

- Metall-Ligand-Komplexe mit chiralen Liganden,
- chirale Organokatalysatoren und
- Biokatalysatoren.

Für das erste Verfahren leisteten William S. Knowles und Ryoji Noyori (Chemie-Nobelpreis 2001) sowie Henri Kagan bahnbrechende Arbeiten. Knowles ersetzte 1968 die achiralen Triphenylphosphan-Liganden des Wilkinson-Katalysators durch die chiralen Phosphanliganden P(Ph)(Me)(Propyl) und erzeugte einen ersten asymmetrischen Katalysator,<sup>[21,22]</sup> der in der asymmetrischen Hydrierung eingesetzt wurde und einen Enantiomerenüberschuss von 15% lieferte. Die Methode kam in einem asymmetrischen Hydrierungsschritt in der industriellen Produktion von L-DOPA zum Einsatz. Im gleichen Jahr berichtete Noyori<sup>[23]</sup> über seinen chiralen Liganden für die Cyclopropanierung von Styrol. Ähnlich wie bei Knowles war der Enantiomerenüberschuss dieser ersten Ligandengeneration mit 6% enttäuschend niedrig. Einen wesentlichen Durchbruch erzielte 1971/1972 Kagan durch die Entwicklung eines sehr effektiven chiralen zweizähligen Diphosphanliganden.<sup>[24]</sup>

Beispiele für den erfolgreichen Einsatz der asymmetrischen Katalyse sind:

- Anwendungen des chiralen Phosphans BINAP in Kombination mit Ruthenium- oder Rhodiumverbindungen (Diese Komplexe katalysieren sehr gut die Hydrierung funktionalisierter Alkene an nur einer Seite des Moleküls; ein entsprechendes von Noyori entwickeltes Verfahren zur Synthese von Menthol unter Verwendung eines chiralen BINAP-Rhodiumkomplexes wurde kommerzialisiert.<sup>[25]</sup>);
- die Synthese von Naproxen mit einem chiralen Phosphanliganden in einer Hydrocyanierung;<sup>[26]</sup>
- Reaktionen eines Alkens mit Osmiumtetroxid in Gegenwart eines chiralen Chininliganden zur Bildung eines vicinalen Diols (Sharpless-Dihydroxylierung und Sharpless-Aminohydroxylierung).<sup>[27]</sup>

Es stehen hervorragende Übersichten zur Verfügung, die die auf dem Gebiet der enantioselektiven Organokatalyse erreichten Fortschritte zusammenfassen.<sup>[28]</sup> Umfassende Übersichten zum aktuellen Stand der asymmetrischen Katalyse, einschließlich Fermentation- und Biokatalyseverfahren, sind in Lit. [29,30] zu finden. Zahlreiche Beispiele erfolgreicher industrieller Anwendungen sind beschrieben. In einigen Fällen kommen zur Optimierung der Produktivität Kombi-



Heike Lorenz ist Leiterin der Forschungsgruppe Kristallisation am MPI für Dynamik komplexer technischer Systeme und Außerplanmäßige Professorin an der Otto-von-Guericke-Universität in Magdeburg (Deutschland). Sie erhielt ihr Diplom in Chemie an der TU Bergakademie Freiberg und promovierte und habilitierte an der Universität Magdeburg. Sie wurde mit dem „Forschungspreis für Angewandte Forschung“ des Landes Sachsen-Anhalt ausgezeichnet (2008) und ist Vorsitzende der Fachgruppe „Kristallisation“ im ProcessNet der Dechema/VDI-GVC (seit 2009).



Andreas Seidel-Morgenstern ist Professor für Chemische Verfahrenstechnik an der Otto-von-Guericke-Universität und Direktor am MPI für Dynamik komplexer technischer Systeme in Magdeburg (Deutschland). Er promovierte 1987 am Institut für Physikalische Chemie der Akademie der Wissenschaften in Berlin und beendete 1994 seine Habilitation an der Technischen Universität Berlin. Er wurde mit dem Max-Buchner-Preis der Dechema ausgezeichnet (2000) und ist Ehrendoktor der TU Lappeenranta, Finnland (2008), sowie der University of Southern Denmark (2012).

nationen aus allen drei erwähnten katalytischen Ansätzen zum Einsatz.

### *Nichtselektive Synthese und Racematspaltung*

Trotz des enormen Fortschritts, der in den letzten Jahren erreicht wurde, ist die Anzahl hochselektiver Reaktionen, die für die Erzeugung reiner Enantiomere in industriell relevanten Maßstäben eingesetzt werden können, noch immer begrenzt – vor allem auch im Hinblick auf das riesige Spektrum an Zielmolekülen. Infolgedessen resultiert großes Interesse an der Entwicklung und Verwendung kostengünstiger, zuverlässiger und breit anwendbarer Verfahren zur Enantiomerentrennung.

In diesem Aufsatz diskutieren wir den aktuellen Stand der erfolgreichsten Verfahren zur Enantiomerentrennung. Wir beschränken uns dabei auf Verfahren, die in präparativem und industriellem Maßstab angewendet werden können, und lassen die Vielzahl an Verfahren, die für analytische Zwecke entwickelt wurden, unberücksichtigt. Letztere, insbesondere analytische Chromatographie und Elektrophorese, werden in diversen Übersichten und Lehrbüchern ausführlich diskutiert.<sup>[31–33]</sup>

Nach einer kurzen Einführung wichtiger Verfahrenskonzepte zur Enantiomerentrennung wird der besondere Schwerpunkt auf selektiven Kristallisationsprozessen und chromatographischen Methoden liegen. Bei beiden Verfahren, die momentan als die flexibelsten und produktivsten Techniken für Enantiomerentrennungen angesehen werden, sind bedeutende Fortschritte erzielt worden. Wir illustrieren die verschiedenen Einsatzmöglichkeiten dabei anhand von Beispielen aus unseren Laboratorien. Schließlich werden vielversprechende neue Verfahrensvarianten diskutiert, die auf kombinierten Trennverfahren und der Einbeziehung von Racemisierungsschritten basieren. Letztere Ergebnisse resultieren u. a. aus Studien, die wir im Rahmen des europäischen Forschungsprojekts „INTENANT“ (INtegrated synthesis & purification of single ENANTIomers) durchgeführt haben.<sup>[34]</sup>

## **2. Verfahren zur Enantiomerentrennung**

Aufgrund ihrer Bedeutung und besonderen Schwierigkeit ist die Trennung von Enantiomeren in den letzten Jahrzehnten ausführlich untersucht worden. Vor kurzem erschienen umfassende Übersichten,<sup>[35–39]</sup> und es stehen hervorragende Beschreibungen ausgewählter Verfahrenskonzepte zur Verfügung (z. B. Lit. [31,40]).

Im Allgemeinen muss zur Ermöglichung einer Enantiomerentrennung zunächst eine Asymmetrie erzeugt werden. Bei den verschiedenen Trennmethoden wird dies durch den Einsatz spezifischer chiraler Partner erreicht, bei denen es sich z. B. um Reaktanten, Lösungsmittel, „Carrier“ oder feste Oberflächen handeln kann. Auch kann ein Teil des Ziel-enantiomers investiert und später in größeren Mengen zurückgewonnen werden. Die entwickelten Methoden unterscheiden sich im Wesentlichen in der Art des chiralen Part-

ners und den dem Trennverfahren zugrundeliegenden Phasenverhältnissen.

Bevor wir uns detaillierter auf Kristallisation und Chromatographie als die zurzeit vielversprechendsten Verfahren zur Enantiomerentrennung konzentrieren, sollen im Folgenden kurz Prinzipien und derzeitiger Stand anderer wichtiger Trennverfahren vorgestellt werden.

### *Kinetische und dynamische kinetische Racematspaltung*

Die Methode der kinetischen Racematspaltung nutzt die unterschiedliche Reaktionsgeschwindigkeit zweier Enantiomere in einer chemischen Reaktion aus. Dieser Unterschied führt dazu, dass ein Überschuss des weniger reaktiven Enantiomers erzeugt wird, dessen Konzentration ein Maximum durchläuft, bevor es dann mit vollständigem Ablauf der Reaktion ebenfalls verschwindet. Bei der kinetischen Racematspaltung handelt es sich um ein sehr altes Konzept der organischen Chemie, das erfolgreich in der Synthese zahlreicher chiraler Moleküle angewendet wurde. Erstmals wurde es 1899 von Marckwald und McKenzie bei der Veresterung von racemischer Mandelsäure mit optisch aktivem (–)-Menthol zu einem Paar diastereomerer Ester beobachtet.<sup>[41]</sup> In dieser Reaktion weist das (*R*)-Enantiomer der Mandelsäure die höhere Reaktionsgeschwindigkeit auf, und das Reaktionsgemisch wird mit (*S*)-Mandelsäure angereichert. Die vollständige Hydrolyse des unvollständigen Veresterungsgemischs ergibt einen Überschuss an (*R*)-Mandelsäure. Lässt man die Reaktion bis zu 100 % Umsatz ablaufen, werden wieder äquivalente Mengen beider Ester erzeugt.

Eine wichtige Erweiterung der kinetischen Racematspaltung wird als dynamische kinetische Racematspaltung (DKR) bezeichnet. Die DKR beseitigt die offensichtlichen Nachteile des zuvor beschriebenen Systems, nämlich dass der maximale Umsatz nur 50 % beträgt und das Produkt von den Reaktanten getrennt werden muss. Bei einer DKR ist es möglich, achirale Reaktanten mit 100 % Umsatz zu überführen, da beide Enantiomere über ein chemisches Gleichgewicht miteinander verknüpft sind. Das schneller reagierende Enantiomer wird im Verlauf der Reaktion auf Kosten des langsamer reagierenden Enantiomers nachgeliefert. Eine der frühesten Demonstrationen dieser Methode war eine Variante der asymmetrischen Hydrierung nach Noyori.<sup>[42,43]</sup>

Das Prinzip der DKR wurde erfolgreich in enzymatischen und chemischen Reaktionen genutzt. Mehrere Beispiele an enzymatischen DKR-Verfahren sind in Lit. [44] aufgeführt. Ein Überblick über nichtenzymatische kinetische Racematspaltungen bietet Lit. [45].

Die Kombination aus kinetischer Racematspaltung in einer ionischen Flüssigkeit (IL) mit der selektiven Extraktion durch überkritisches Kohlendioxid (scCO<sub>2</sub>) bildet ein neues Verfahren zur Enantiomerentrennung, das beispielsweise in der lipasekatalysierten Veresterung von chiralen sekundären Alkoholen demonstriert wurde.<sup>[46]</sup>

Eine breitere Verwendung der ansonsten attraktiven kinetischen Racematspaltung wird nach wie vor durch die notwendige Identifizierung geeigneter Reaktionspartner und die im Allgemeinen hohen Anforderungen an die Produktreinheit eingeschränkt.

### Enantioselektive Flüssig-flüssig-Extraktion

Die Flüssig-flüssig-Extraktion ist ein ausgereiftes Trennverfahren, das im Gegenstrommodus zur kontinuierlichen Fraktionierung von Racematen in die Enantiomere betrieben werden kann.<sup>[47]</sup> Die enantioselektive Flüssig-flüssig-Extraktion (ELLE) ist eng mit dem weiten Feld des „Wirt-Gast“-Konzeptes in der Chemie verbunden.<sup>[48]</sup> Sie vereint die Aufgaben der chiralen Erkennung und der Lösungsmittel-extraktion in einem einzigem Verfahren. Die Möglichkeit, in verschiedenen Maßstäben zu arbeiten, macht den Einsatz der Flüssig-flüssig-Extraktion zur Enantiomerentrennung interessant.

Es sind viele Veröffentlichungen zu enantioselektiven Flüssig-flüssig-Extraktionen im Labormaßstab erschienen. Die meisten Untersuchungen behandeln die Identifizierung und die Charakterisierung von Extraktionssystemen. Die am häufigsten verwendeten Carrier sind Cyclodextrinderivate (z. B. Lit. [49]), Weinsäurederivate (z. B. Lit. [50,51]) und Kronenether (z. B. Lit. [52]). Metallkomplexe und Metalloide wurden ebenfalls als reaktive Extraktionsmittel eingesetzt.<sup>[53,54]</sup> Die Racematspaltung von *N*-Benzyl- $\alpha$ -aminosäuren mithilfe eines chiralen Cobalt(III)-Salenkomplexes wurde in Lit. [55] untersucht. Vor kurzem wurden erfolgreiche Versuche beschrieben, die die Effekte zweier Carrier kombinieren.<sup>[56]</sup> Eine Übersicht zu technologischen Aspekten findet sich in Lit. [57].

Die Entwicklung effizienter Verfahren erfordert mehrstufige Systeme, die Stufen zur Rückgewinnung des Wirts enthalten. Es stehen viele Arten von Extraktionssäulen mit verschiedensten Füllungen zur Verfügung, um den Stofftransport zu erhöhen und die Trennung zu vereinfachen. Zahlreiche Typen von Zentrifugalextraktoren wurden entwickelt. Das erste Instrument, das speziell für die ELLE entworfen wurde, war die von Cram und Mitarbeitern entwickelte „chirale Trennmaschine“.<sup>[58]</sup> Ein neuartiger Zentrifugalkontaktseparator wurde erst kürzlich eingeführt.<sup>[59]</sup> Die Verwendung eines ähnlichen Konzepts, das als kontinuierliche Gegenstromchromatographie bezeichnet wird, ist in Lit. [60] beschrieben. Übersichten zu enantioselektiven Flüssig-flüssig-Extraktionen erschienen kürzlich in Lit. [61,62]. Eine breitere Kommerzialisierung der ELLE wurde bis dato nicht erreicht. Zurzeit liegen die erzielten Selektivitäten im Allgemeinen noch unter 1.2, während für erfolgreiche Anwendungen zur Begrenzung der benötigten Extraktionsschritte eine Mindestselektivität von 1.5 erwünscht ist. Zur schnelleren Prozessentwicklung für industrielle Anwendungen wären einfach zugängliche Wirte mit einer hohen Selektivität für ein breiteres Substratspektrum erforderlich.

### Membranverfahren

Eine weitere Strategie zur Trennung von Enantiomeren ist die Verwendung von Membranen. Beispiele sowie Übersichten, die die verschiedenen Möglichkeiten vorstellen, sind in Lit. [63–65] gegeben. Membranverfahren bieten generell attraktive Optionen für einen einfachen, sauberen, energieeffizienten und kontinuierlichen Betrieb.

Für die Trennung racemischer Gemische können prinzipiell zwei Typen von Membranprozessen unterschieden werden: 1) der Einsatz enantioselektiver chiraler Membranen oder 2) Trennungen, bei denen eine nicht-enantioselektive Membran ein enantioselektives Verfahren unterstützt.

Chirale Membranen können Flüssigkeiten oder dichte Polymere sein. Im zuerst genannten Fall kann die Membranflüssigkeit chiral sein oder ein chirales Additiv als „Carrier“ enthalten. Oft wird die Membranflüssigkeit nicht als Bulkphase verwendet, sondern vielmehr durch kapillare und Oberflächenkräfte in einer porösen Matrix immobilisiert (trägergestützte Flüssigmembran).<sup>[66,67]</sup> Ein neues interessantes Konzept verwendet eine Kombination aus Gegenstromfraktionierung und Flüssigmembrantechnologie; hierbei werden zwei Flüssigkeiten eingesetzt, die durch die Zugabe des (*R*)- oder des (*S*)-Enantiomers eines chiralen Selektors unterschiedliche Chiralität aufweisen und durch eine weitere, nicht-mischbare und in einer porösen Membran immobilisierte Flüssigkeit getrennt werden.<sup>[68]</sup> Ein wesentlicher Nachteil von Flüssigmembransystemen ist ihre zeitlich begrenzte Stabilität.<sup>[69]</sup>

Enantioselektive feste Polymermembranen bestehen im Allgemeinen aus einem unselektiven porösen Trägermaterial, das mit einer dünnen Schicht eines enantioselektiven Selektors überzogen ist. Es wurden zahlreiche Beispiele mit unterschiedlichen Selektoren und Trägermaterialien vorgeschlagen (z. B. Lit. [70–73]). Alternativ wurden als Basis für chirale Membranen molekular geprägte Polymere vorgeschlagen, d. h. Polymere mit enantiospezifischen Kavitäten (Hohlräumen) in ihrer Bulkphase. Während der Polymerisation dient eines der Enantiomere als Templat.<sup>[74]</sup> Eine detaillierte Charakterisierung von enantioselektiven Membranen unter Verwendung verschiedener *L*-Prolin-Derivate als chirale Carrier ist in Lit. [75] gegeben.

Mit Blick auf die Verwendung nichtselektiver achiraler Membranen gibt es signifikante Fortschritte beim Einsatz kostengünstiger und weithin zugänglicher Ultrafiltrationsmembranen. Die Selektivität wird erreicht, indem in der Feedphase Micellen oder Enzymkomplexe vorzugsweise mit nur einem der Enantiomere gebildet werden. Die Trennung basiert dann darauf, dass die größeren Komplexe von der Membran zurückgehalten werden, während die ungebundenen Enantiomere permeieren.<sup>[76–78]</sup>

Um hohe Reinheiten zu erreichen, müssen Membranverfahren in Anbetracht begrenzter Trennfaktoren zumeist in mehreren Schritten durchgeführt werden.<sup>[79]</sup> Generelle Nachteile der Membrantechnologie, die derzeit das Anwendungspotential einschränken, sind relativ niedrige Transportgeschwindigkeiten durch die Membranen und das Risiko der Membranverschmutzung („Fouling“).

### Andere Trenntechniken

Ein Überblick über andere, weniger häufig untersuchte und nicht so weit entwickelte enantioselektive Trennkonzepete findet sich in Lit. [35,36]. Vorgestellt werden beispielsweise die enantioselektive Schaumflotation, präparative Gelelektrophorese und Destillation. Die enantioselektive Destillation wird z. B. in Lit. [80] diskutiert. Alle hier erwähnten Ver-

fahren sowie weitere Alternativen haben allerdings noch keine größere industrielle Bedeutung erlangt.

In den folgenden zwei Abschnitten werden die Verfahren der enantioselektiven Kristallisation und der Chromatographie detailliert betrachtet. Zur Veranschaulichung der Trennprozesse dienen dabei überwiegend Beispiele aus unseren Labors.

### 3. Kristallisationsbasierte Methoden zur Enantiomerentrennung

Seit Pasteurs berühmten Experimenten zur Trennung der Enantiomere von Natriumammoniumtartrat durch direkte Kristallisation<sup>[81]</sup> wurde die Anwendung von Kristallisationsprozessen zur Enantiomerentrennung intensiv untersucht. Dabei wurden bedeutende Fortschritte sowohl beim Verständnis der thermodynamischen und kinetischen Grundlagen der enantioselektiven Kristallisation als auch bei der Nutzung dieser Kenntnisse zur Entwicklung geeigneter Kristallisationsmethoden erzielt. Im Allgemeinen haben Kristallisationsverfahren den Vorteil, breit einsetzbar, einfach und kosteneffizient zu sein. Zur Durchführung einer Kristallisation genügen Standardausrüstungen, wie sie in der pharmazeutischen und Feinchemikalienindustrie gewöhnlich vorhanden sind. Kristallisationsverfahren sind nicht auf Racematspaltungen beschränkt, sondern können auch für die weitere Aufreinigung nicht-racemischer Enantiomergemische eingesetzt werden, die z. B. aus anderen Verfahren, wie teilelektiven Synthesen, chromatographischen oder Membrantrennungen, erhalten wurden. Im Vergleich zur asymmetrischen Synthese und zur Chromatographie haben Kristallisationsverfahren oftmals ein „Low-Tech“-Image, oder sie werden als veraltete („out-of-date“) Technologie angesehen. Ein Überblick über die industriellen Herstellungsverfahren für enantiomerenreine Wirkstoffe zeigt jedoch, dass die Mehrheit der Wirkstoffe über klassische Racematspaltung, d. h. durch Kristallisation gewonnen wird.<sup>[39]</sup> Eine Übersicht über Kristallisationsmethoden zur Racematspaltung bietet das Lehrbuch von Jacques und Mitarbeitern.<sup>[82]</sup> Eine Recherche zu aktuellen Patenten zur Racemattrennung von Aminosäuren mittels Kristallisationsverfahren wurde kürzlich veröffentlicht.<sup>[83]</sup>

Prinzipiell ist Pasteurs Technik des selektiven „Sortierens“ von Kristallen der einzelnen Enantiomere noch immer eine praktikable Methode zur Trennung von racemischen Gemischen bei Vorliegen eines Konglomerats sowie Enantiomorphie der Kristalle.<sup>[82]</sup> Unter der Voraussetzung, dass Kristalle mit wohldefinierten morphologischen Eigenschaften gewonnen werden können, würde eine breitere, insbesondere industrielle, Anwendung allerdings zuverlässige Methoden zur automatischen Formerkennung und Sortierung erfordern. Die mögliche Entwicklung solcher Methoden könnte die Aufgabe zukünftiger Aktivitäten sein.

#### Klassische Racematspaltung

Bei der klassischen Racematspaltung wird das zu trennende Racemat mit einem geeigneten enantiomerenreinen

Trennreagens zu zwei diastereomeren Salzen umgesetzt, die unterschiedliche Löslichkeiten aufweisen und somit durch Kristallisation trennbar sind. Dieses Verfahren hat den Vorteil, robust und einfach handhabbar zu sein. Allerdings sind die erreichbaren Ausbeuten ohne Implementierung einer zusätzlichen Racemisierung auf 50 % begrenzt. Die klassische Racematspaltung ist noch immer die am häufigsten eingesetzte Technologie zur Enantiomerentrennung im industriellen Maßstab, und sie ist in zunehmendem Maße auch die Methode der Wahl im Bereich der pharmazeutischen Wirkstoffe (APIs).<sup>[39]</sup> Beispielsweise werden pro Jahr mehrere tausend Tonnen (*S*)-Naproxen, *D*-Phenylglycin und *D*-4-Hydroxyphenylglycin durch Trennung diastereomerer Salze hergestellt (siehe z. B. den Highlight-Artikel in der *Angewandten Chemie* von 1998).<sup>[84]</sup> Neuere Wirkstoffe, die durch klassische Racematspaltung gewonnen werden, sind Frovatriptan (2002), Duloxetine und Eszopiclon (beide 2004).<sup>[39]</sup>

Wenn das ungewünschte Enantiomer racemisiert werden kann, lassen sich die inhärent niedrige Ausbeute einer Diastereomerentrennung umgehen und deutlich größere Produktmengen und damit eine verbesserte Performance erzielen. So wurde z. B. beschrieben, dass durch die Einführung einer chemischen Racemisierung im Verlauf der (*S*)-Naproxen-Produktion die Gesamtausbeute auf  $\geq 95\%$  angehoben werden kann.<sup>[85]</sup> Ein jüngeres Beispiel einer sogenannten kristallisationsinduzierten Diastereomerenumwandlung bezieht sich auf den Wirkstoff Sertralin, für dessen Synthese ein halbkontinuierlicher Prozess aus Racematspaltung und Racemisierung eingesetzt wird.<sup>[86]</sup> Die häufigsten sauren und basischen Trennreagentien sind die natürliche *L*-Weinsäure, deren Derivate, wie *L*-*D*-Dibenzoyl- und *L*-*D*-Ditoloylweinsäure, (*R*)-/(*S*)-Mandelsäure und (+)-/(-)- $\alpha$ -Methylbenzylamin.<sup>[39]</sup> Die manchmal aufwändige Suche nach einem optimalen Trennreagens, das einfach trennbare diastereomere Salze mit der aufzutrennenden Verbindung bildet, konnte durch die Einführung einer kombinatorischen Herangehensweise deutlich vereinfacht werden.<sup>[87]</sup> Dabei wird eine „Familie“ von Trennreagentien zu einer Lösung des Racemats gegeben, was die rasche Ausfällung eines kristallinen diastereomeren Salzes mit hoher Reinheit und Ausbeute bewirkt. Da der Mechanismus dieser „Dutch-Resolution“ noch nicht vollständig verstanden ist, sind derzeitige Arbeiten auf die Untersuchung des thermodynamischen und kinetischen Ursprungs dieses Effekts gerichtet.<sup>[88]</sup> Neue Entwicklungen auf dem Gebiet der kristallisationsinduzierten Racematspaltung mit Schwerpunkt auf der „Dutch-Resolution“ sowie Beispiele von kristallisationsinduzierten asymmetrischen Umwandlungen (d. h. Kombination aus klassischer Racematspaltung und In-situ-Racemisierung) wurden kürzlich in einem Buchbeitrag zusammengefasst.<sup>[89]</sup> Ein neuartiger zu erwähnender Aspekt bezieht sich auf die Zugabe achiraler Verbindungen mit ähnlichen chemischen Strukturen zum Trennreagens (achirale Additive), die als „Katalysatoren“ wirken und somit die Reaktionsgeschwindigkeit ebenso wie die Effizienz des Trennverfahrens beeinflussen.<sup>[90]</sup>

Breitere Übersichten zur klassischen Racematspaltung sind in Lit. [82, 91, 92] gegeben. Vorschläge für die konzeptionelle Gestaltung von enantioselektiven Kristallisations-

verfahren unter Einbeziehung der klassischen Racematspaltung finden sich in Lit. [93].

#### *Bevorzugte Kristallisation von Konglomeraten*

Die direkte Kristallisation eines Enantiomers aus einer racemischen Lösung ist nur dann realisierbar, wenn die Enantiomere in ihren Gemischen separate, aber reine Kristalle bilden, d. h. die Racemate Konglomerate sind, also Mischungen von Kristallen beider Enantiomere. Allerdings zählen nur 5 bis 10 % der chiralen Substanzen zur Gruppe der Konglomerate.<sup>[94]</sup> Für Racemate solcher Substanzen ist die „Bevorzugte Kristallisation“ ein attraktives Trennverfahren – es ermöglicht die direkte Kristallisation des gewünschten Enantiomers ohne dass ein zusätzlicher chiraler Hilfsstoff benötigt wird. Im Allgemeinen kann zwischen zwei Techniken der direkten Kristallisation unterschieden werden, a) dem Entrainment („Mitreiß“-) Verfahren und b) der simultanen Kristallisation; beide sind in der Lösung und in der Schmelze anwendbar. Beim Entrainment-Prozess kristallisieren die Enantiomere nacheinander aus einer übersättigten racemischen Lösung, ohne dass der Gleichgewichtszustand erreicht wird. Es handelt sich um eine kinetisch getriebene Trennung, die auf unterschiedlichen Kristallisationsgeschwindigkeiten der Enantiomere in Gegenwart homochiraler Impfkristalle basiert. Sie wird gewöhnlich in kleineren Maßstäben im Batchbetrieb eingesetzt. Beispiele für die industrielle Anwendung sind die Produktion von Breitbandantibiotika wie Chloramphenicol, Thiamphenicol und  $\beta$ -Lactame.<sup>[94]</sup> Für größere Produktionsmengen bietet die simultane Kristallisation eine Alternative. Dabei kristallisieren die Enantiomere simultan, aber lokal getrennt aus einer Lösung, deren Zusammensetzung immer nahe an der racemischen Zusammensetzung bleibt. Dieses Verfahren kann sowohl im Batch als auch kontinuierlich betrieben werden und wurde industriell z. B. in der Produktion von (–)-Menthol (über den Benzylester, Haarmann & Reimer, 1400 t a<sup>-1</sup>) und eines L- $\alpha$ -Methyldopa-Intermediats (Merck, > 100 t a<sup>-1</sup>) umgesetzt. Ajinomoto produzierte über einen Zeitraum von zehn Jahren L-Glutaminsäure mit etwa 13000 t a<sup>-1</sup> durch simultane Kristallisation.<sup>[82]</sup> Die Gestaltung und Charakteristika kontinuierlicher simultaner Trennprozesse aus industrieller Perspektive wurden 2009 in einer Monographie beschrieben.<sup>[95]</sup> Darin werden insbesondere die Anwendung von Fließbettkristallisatoren und die kontinuierliche In-situ-Generierung von Impfkristallen zur Aufrechterhaltung des Prozessregimes hervorgehoben. Ebenfalls erst kürzlich konnte der erfolgreiche Einsatz der Bevorzugten Kristallisation für die Spaltung von racemischem Calciumpantothenat (dessen (R)-Enantiomer eine bedeutende kommerzielle Vorstufe von Vitamin B<sub>5</sub> ist) und eines industriell wichtigen Trennreagens gezeigt werden, wobei für beide sowohl im Labor- als auch im technischen (3000 L und 35 L) Maßstab hohe Ausbeuten erreicht wurden.<sup>[96,97]</sup>

Detaillierte Informationen zur Methode der Bevorzugten Kristallisation sind in mehreren Übersichtsartikeln (z. B. Lit. [94,98]) und Buchbeiträgen<sup>[82,99]</sup> zu finden. Leistungsfähigkeit und Grenzen der Methode sind außerdem in einem Beitrag von Levilain und Coquerel erläutert.<sup>[100]</sup>

Das Verständnis des Phänomens der Konglomeratbildung, auch als spontane Racematspaltung bei Kristallisation bezeichnet, ist als „eine der größten Herausforderungen in der Stereochemie“<sup>[101]</sup> beschrieben, und mehrere Übersichtsartikel widmen sich diesem Thema (z. B. Lit. [101,102]). Untersuchungen zur systematischen Ableitung möglicher Konglomerate innerhalb einer Gruppe von Derivaten einer chiralen Substanz von Interesse wurden von Bredikhin und Mitarbeitern vorgestellt (z. B. Lit. [103,104]). Kürzlich erwies sich die Anwendung des Frequenzverdopplungeffekts als alternatives und effizientes Testverfahren zur Detektion von Konglomeraten.<sup>[105]</sup> Studien zum Einsatz „maßgeschneiderter“ Additive zur selektiven Hemmung der Kristallisation des ungewünschten Enantiomers und damit einer robusteren Trennung wurden insbesondere von der Arbeitsgruppe um Lahav und Leiserowitz durchgeführt (z. B. Lit. [106–108]). In einer aktuellen Arbeit<sup>[109]</sup> beschreiben die Autoren ein zyklisches Trennverfahren in Gegenwart eines maßgeschneiderten enantiomerenreinen Polymers, das zu Unterschieden im Wachstums- und Auflösungsverhalten der beiden Enantiomere führt und so die Racematspaltung unterstützt.

In den letzten Jahren wurden verschiedene innovative Prozessmodifikationen vorgeschlagen, mit dem Ziel, die Performance der klassischen isothermen Bevorzugten Kristallisation zu verbessern. Dazu zählen unter anderem polytherme Kristallisationstechniken, Auto-Seeding-Strategien und innovative Reaktorkonzepte.<sup>[99,110–117]</sup> Ausgewählte Anwendungen der Bevorzugten Kristallisation werden in Abschnitt 3.3 vorgestellt und diskutiert. Insbesondere werden fortgeschrittene Verfahrenskonzepte, wie die von Coquerel und Mitarbeitern eingeführte polytherme Auto-Seeding-Variante,<sup>[118]</sup> innovative Kristallisator Konfigurationen und die erweiterte Anwendung der Bevorzugten Kristallisation auf Systeme mit racemischen Verbindungen in integrierten Verfahren betrachtet. Im Hinblick auf Letzteres wurde der Einsatz maßgeschneiderter Additive zur selektiven Hemmung der Kristallisation der racemischen Verbindung und damit der Unterstützung der enantioselektiven Kristallisation untersucht und beschrieben.<sup>[119,120]</sup> Weitere erwähnenswerte Arbeiten betreffen die Ausbeutesteigerung der Bevorzugten Kristallisation durch Erhöhung der Löslichkeit des Racemats nach Zugabe geeigneter Additive.<sup>[121]</sup>

Eine Kombination der Bevorzugten Kristallisation mit einer Racemisierung ermöglicht die Umwandlung des ungewünschten in das gewünschte Enantiomer und somit eine deutliche Steigerung der Gesamtausbeute, die für die Bevorzugte Kristallisation allein (wie für die klassische Racematspaltung) inhärent auf 50 % begrenzt ist. Beispiele unter Einbeziehung von Racemisierungsverfahren sind u. a. in Lit. [96,122] aufgeführt.

#### *Zermahlungsinduzierte Deracemisierung (Viedma-Reifung)*

Die zermahlungsinduzierte Deracemisierung ist ein neues Verfahren, das auf einer bahnbrechenden Arbeit von Viedma basiert.<sup>[123]</sup> Der Autor entdeckte, dass ein 1:1-Gemisch aus enantiomorphen NaClO<sub>3</sub>-Kristallen im Kontakt mit der gesättigten Lösung „deracemisiert“, wenn die Kristalle in der Suspension zermahlen werden. Später wurde gezeigt, dass

dieses Verfahren in Fällen angewendet werden kann, in denen die racemische, zu trennende Substanz 1) ein Konglomerat ist und 2) rasch in der flüssigen Phase racemisiert.<sup>[124]</sup> Erst vor kurzem wurden der Mechanismus der zermahlungsinduzierten Deracemisierung,<sup>[125,126]</sup> neuartige anwendungsbezogene Aspekte<sup>[127,128]</sup> und ein erster Nachweis für die praktische Realisierbarkeit des Verfahrens für ein Wirkstoffzwischenprodukt (Clopidogrel) beschrieben.<sup>[129]</sup> Ferner konnte gezeigt werden, dass das Implementieren von Zermahlen und In-situ-Racemisierung in die Bevorzugte Kristallisation die Prozessperformance im Hinblick auf Ausbeute und Produktivität verbessert.<sup>[130]</sup>

Es ist zu erwarten, dass eine allgemeinere Einsetzbarkeit der Viedma-Reifung sowie auch die erweiterte Anwendung der Bevorzugten Kristallisation auf racemische Verbindungen die Attraktivität beider Verfahren für die Enantiomerentrennung im technischen Maßstab erhöhen wird.

#### Optisch aktive Lösungsmittel

Eine weitere Methode zur Racematspaltung ist die Verwendung optisch aktiver Lösungsmittel, bei denen es sich auch um achirale Lösungsmittel mit einer definierten Menge darin gelösten, reinen Enantiomers handeln kann. Prinzipiell können diastereomere Wechselwirkungen zwischen den Enantiomeren und den (optisch aktiven) Lösungsmittelmolekülen auftreten. Die so gebildeten diastereomeren Komplexe sollten unterschiedliche physikalisch-chemische Eigenschaften haben, die zu verschiedenen Löslichkeiten der beiden Enantiomere der zu trennenden Substanz und damit zu einer Asymmetrie im zugehörigen Löslichkeitsphasendiagramm führen. Allerdings sind trotz der Tatsache, dass dieses Konzept seit Beginn des 20. Jahrhunderts als relevante Möglichkeit zur Enantiomerentrennung angesehen wird, nur wenige Studien beschrieben,<sup>[82]</sup> und es fehlen systematische Untersuchungen, die verallgemeinerbare Aussagen erlauben.

Andererseits wurden einige erfolgreiche Racematspaltungen unter Ausnutzung kinetischer Effekte bei der enantioselektiven Kristallisation mithilfe optisch aktiver Lösungsmittel beschrieben. Beispielsweise wurde die Trennung racemischer Glutaminsäure unter Verwendung eines chiralen Lösungsmittels aus Lysin in Wasser demonstriert.<sup>[131]</sup> Kleine Mengen an L- oder D-Lysin führten zur Verzögerung der Kristallisationsgeschwindigkeit des zugehörigen Glutaminsäure-Enantiomers, wodurch es im Verlauf der Kristallisation zu einer transienten Racematspaltung kam. Auch wurden erfolgreiche Enantiomerentrennungen einiger racemischer Konglomerate bei Einsatz der chiralen Lösungsmittel D-Isopropyltartrat und (–)- $\alpha$ -Pinen beschrieben.<sup>[132,133]</sup> Die direkte Kristallisation gelang aufgrund der unterschiedlichen Keimbildungs- und/oder Kristallwachstumsgeschwindigkeit der beiden Enantiomere. Die Enantiomerentrennung einer racemischen Verbindung in (–)- $\alpha$ -Pinen war dagegen nicht erfolgreich.<sup>[133]</sup> Wie bereits erwähnt galten weitere Studien der Verwendung von maßgeschneiderten Additiven in kinetischen Racematspaltungen (z.B. Lit. [106] oder kürzlich Lit. [134]). Alle aufgeführten Beispiele von Trennungen beziehen sich auf Konglomeratsysteme. Umfassende Studien unserer Arbeitsgruppe beinhalteten die Bewertung der ther-

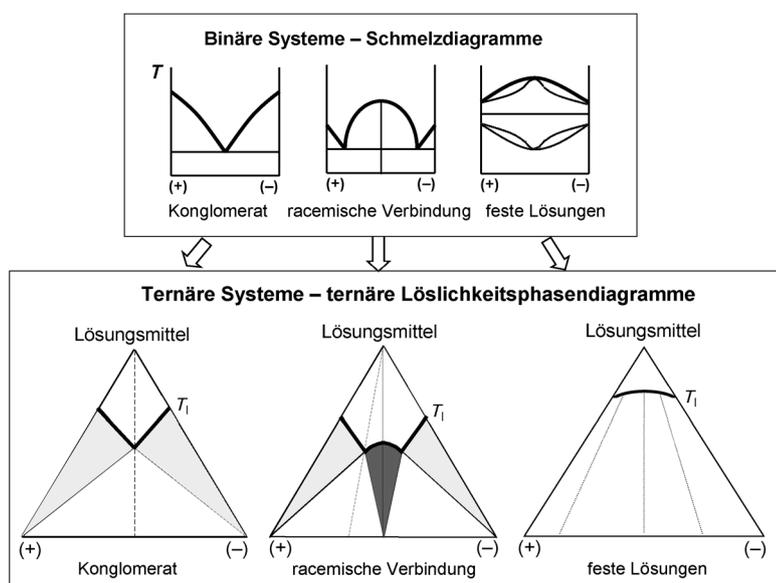
modynamischen und kinetischen Einflüsse chiraler Lösungsmittel auf die enantioselektive Kristallisation. Spezifisch ausgewählte Lösungsmittel wurden auf ihre Fähigkeit untersucht, auch die Enantiomerentrennung racemischer Verbindungen zu ermöglichen.<sup>[135–138]</sup> Ausgewählte Ergebnisse werden in Abschnitt 3.3.2 näher vorgestellt.

#### 3.1. Fest-flüssig-Gleichgewichte und abgeleitete Möglichkeiten zur Enantiomerentrennung

Der Einsatz von Kristallisation zur Trennung oder Reinigung von Enantiomeren erfordert umfassende Kenntnisse der Fest-flüssig-Gleichgewichte (SLE; solid-liquid equilibria), die die thermodynamische Grundlage aller Kristallisationsprozesse bilden. SLE-Daten werden graphisch in Phasendiagrammen dargestellt, die die Gleichgewichte zwischen festen und flüssigen Phasen für ein spezifisches System über einen breiten Temperatur- und Zusammensetzungsbereich abbilden. Sie spezifizieren die im Gleichgewicht im System jeweils vorliegenden Phasen und geben damit Informationen über die Identität der beteiligten festen Phasen, wie etwa Polymorphe, Solvate oder Mischkristalle. Die hinsichtlich einer kristallisationsbasierten Enantiomerentrennung relevanten Phasendiagramme sind 1) das binäre Schmelzphasendiagramm der beiden Enantiomere, welches das Schmelzverhalten im binären System beschreibt, und 2) das ternäre Löslichkeitsphasendiagramm der beiden Enantiomere in einem spezifischen Lösungsmittel, welches das Löslichkeitsverhalten der Enantiomere und ihrer Gemische in Gegenwart dieses Lösungsmittels abbildet. Übersichten bezüglich der verschiedenen Typen von Phasendiagrammen und ihrer Beschreibung wurden anderweitig veröffentlicht.<sup>[82,94,139,140]</sup> Beispiele für systematische Untersuchungen binärer und ternärer Phasendiagramme finden sich in Publikationen der Arbeitskreise von Grant (z.B. Lit. [141]) und Klusmann.<sup>[142,143]</sup> Unseres Wissens gibt es bislang keine Monographie, die im Schwerpunkt Phasengleichgewichte organischer Verbindungen behandelt. Ein umfassender Überblick zur Struktur und Charakterisierung von Molekülkristallen sowie zu Mischkristallen im Allgemeinen ist in den exzellenten Büchern von Kitaigorodski zu finden.<sup>[144,145]</sup>

Die grundsätzlichen Typen von Phasendiagrammen chiraler Systeme sind in Abbildung 2 dargestellt.<sup>[146]</sup> Da Enantiomere identische physikalische Eigenschaften, wie Schmelzpunkte, Schmelzenthalpien und Löslichkeiten, aufweisen, sind sowohl die binären Schmelzphasendiagramme als auch die ternären Löslichkeitsphasendiagramme (oberer bzw. unterer Teil von Abbildung 2) symmetrisch bezüglich der racemischen Zusammensetzung. Dies vereinfacht die Bestimmung der SLE für solche Systeme, da nur eine Hälfte des Phasendiagramms gemessen werden muss.

Grundsätzlich unterscheidet man drei Hauptvarianten von Phasendiagrammen (erstmal beschrieben von Roozeboom),<sup>[140]</sup> die sich aus den speziellen Charakteristika des kristallinen Racemats ergeben. Im ersten Fall bilden die Enantiomere ein einfaches Eutektikum bei der racemischen Zusammensetzung. Das heißt, Mischungen der beiden Enantiomere sind lediglich mechanische Gemische von



**Abbildung 2.** Grundsätzliche Typen von binären Schmelzphasendiagrammen und ternären Löslichkeitsphasendiagrammen für chirale Systeme. Letztere sind als isotherme Schnitte dargestellt, die die Fest-flüssig-Gleichgewichte bei einer bestimmten Temperatur  $T_i$  beschreiben. Breite schwarze Linien kennzeichnen jeweils Liquiduskurven (Sättigungskurven). Im ternären Phasendiagramm ist die eutektische Zusammensetzung im chiralen System durch eine gestrichelte Linie markiert, die die Lösungsmittel-ecke mit dem binären chiralen System verbindet („eutektische Linie“). Für den Fall von Mischbarkeit in der festen Phase (rechtes ternäres Phasendiagramm) charakterisieren die gepunkteten Konoden die Zusammensetzung der im Gleichgewicht koexistierenden flüssigen und festen Phasen. (Aus Lit. [146].)

Kristallen, die nur aus homochiralen Molekülen bestehen (Konglomerate). In der racemischen Mischung bilden die Enantiomere somit separate feste Phasen, die getrennt kristallisieren können, was die Grundvoraussetzung für die Anwendung der Bevorzugten Kristallisation ist. Wie bereits erwähnt, zählen allerdings nur 5 bis 10% der chiralen Substanzen zu dieser Gruppe.<sup>[94]</sup>

Im zweiten Fall, d. h. wenn die Enantiomere eine intermediäre stöchiometrische 1:1-Verbindung bilden, liegt bei der racemischen Zusammensetzung nur eine feste Phase vor, die racemische Verbindung. Die große Mehrheit der chiralen Systeme (90–95%) bildet racemische Verbindungen. Aus rein thermodynamischen Überlegungen ist eine direkte Kristallisation zur Gewinnung reiner Enantiomere aus den Racematen damit hier nicht möglich. Eine wichtige Eigenschaft solcher Systeme ist die Zusammensetzung der beiden Eutektika, die zwischen den Enantiomeren und der racemischen Verbindung (spiegelbildlich links und rechts von der racemischen Zusammensetzung) auftreten. Wir werden später zeigen, dass diese Zusammensetzung wesentlich bestimmt, wie aus angereicherten Gemischen das gewünschte reine Enantiomer durch Kristallisation gewonnen werden kann.

Im dritten Fall liegt vollständige Mischbarkeit im festen Zustand vor, d. h., die Enantiomere bilden bei allen Zusammensetzungen Mischkristalle (feste Lösungen). Die Liquiduskurve im Phasendiagramm kann dabei ein Schmelzpunktmaximum, ein Schmelzpunktminimum oder eine konstante Schmelztemperatur aufweisen. Gleiches gilt für die Löslichkeiten im ternären Phasendiagramm. Der Verlauf der

Konoden zeigt hier, dass aus einer angereicherten Lösung in einem Schritt kein reines Enantiomer kristallisiert werden kann. Daher sind diese Art von Systemen die ungünstigsten für Trenn- oder Reinigungszwecke. Zur weiteren Aufreinigung eines bereits angereicherten Gemischs könnte fraktionierte Kristallisation verwendet werden. Erfreulicherweise ist dieser Typ des Phasendiagramms bei Molekülkristallen im Allgemeinen und Enantiomeren im Besonderen sehr selten (< 1%). Nicht berücksichtigt wurde in Abbildung 2 die Tatsache, dass sowohl bei Konglomeraten als auch bei racemischen Verbindungen partielle Mischbarkeit im festen Zustand auftreten kann. Entsprechende Phasendiagramme sind wenig in der Literatur beschrieben. Beispiele von partiellen festen Lösungen auf der Seite der Enantiomere bzw. der racemischen Verbindung finden sich in Lit. [147,148] bzw. [149] und für begrenzte Mischbarkeit in beiden Fällen in Lit. [150].

Die in Abbildung 2 gezeigten ternären Löslichkeitsphasendiagramme sind isotherme Schnitte der dreidimensionalen Darstellung des ternären Systems der beiden Enantiomere und eines Lösungsmittels in einem gleichseitigen Prisma mit der Temperatur als vertikale Achse senkrecht zur Prismabasis. Hellgraue Flächen repräsentieren die Existenzbereiche der Enantiomere, in denen das jeweils zugehörige Enantiomer unter Gleichgewichtsbedingungen kristallisiert werden kann. Die dunkelgraue Fläche ist der Existenzbereich der racemischen Verbindung, also der festen Phase, die in diesem Zusammensetzungsbereich aus der Lösung kristallisiert. In dem zwischen diesen Zweiphasenbereichen befindlichen Dreiphasengebiet kann ein reines Enantiomer nur unter kinetisch kontrollierten Bedingungen kristallisiert werden. Die angedeutete „eutektische Linie“ ist nicht notwendigerweise linear, sondern kann auch konvex oder konkav gebogen sein. Beispiele werden in Abschnitt 3.3.2 gezeigt. Abweichend von den binären chiralen Systemen können in den Löslichkeitsphasendiagrammen Solvate als zusätzliche feste Phasen auftreten. Aus diesem Grund sollten Löslichkeitsmessungen möglichst mit der Analyse der zugehörigen festen Phase verbunden sein, um fehlerhafte Zuordnungen von Löslichkeitswerten zu vermeiden.

Oftmals sind die erforderlichen Phasendiagramme nicht bekannt, insbesondere für neu synthetisierte Substanzen. Gelegentlich sind auch keine konsistenten Löslichkeitsdaten der interessierenden Substanz verfügbar. Die experimentelle Bestimmung ist eine mühsame und zeitaufwendige Arbeit und erfordert eine ausreichende Substanzmenge, die in einer frühen Phase der Entwicklung, z. B. eines Pharmawirkstoffs, oftmals nicht zur Verfügung steht. Darüber hinaus ist zumeist eine Kombination aus verschiedenen Analyseverfahren notwendig, um einerseits die Löslichkeitswerte zu bestimmen und andererseits die im Gleichgewicht mit der gesättigten Lösung stehenden festen Phasen zu identifizieren. Da ternäre Löslichkeitsdiagramme auf den dazugehörigen Schmelzpha-

sendiagrammen basieren, bieten sich vor der Bestimmung der Löslichkeitsgleichgewichte Studien der Schmelzgleichgewichte des chiralen Systems an, um bereits Aussagen über die Art des kristallinen Racemats und die Zusammensetzung des Eutektikums im chiralen System zu erhalten. Darüber hinaus können basierend auf den Schmelzdaten mithilfe klassischer thermodynamischer Gleichungen (z.B. Schröder-van Laar-Gleichung)<sup>[82,146]</sup> erste grobe Abschätzungen der Löslichkeitskurve vorgenommen werden.

Möglichkeiten zur kristallisationsbasierten Enantiomertrennung, die sich aus den ternären Löslichkeitsphasendiagrammen ableiten lassen, sind in Abbildung 3 für ein konglomeratbildendes und ein System mit racemischer Verbindung (im Folgenden auch verbindungsbildendes System genannt) gezeigt.

Falls bereits enantiomerenangereicherte Mischungen der Enantiomere zur Verfügung stehen, die durch eine Zusammensetzung im Existenzbereich des jeweiligen Enantiomers charakterisiert sind (z.B. dunkelgraue Punkte in Abbildung 3), kann das Zielenantiomer direkt kristallisiert werden. Diese „klassische enantioselektive Kristallisation“ ist sowohl für konglomerat- als auch für verbindungsbildende Systeme durchführbar.

Alternativ kann man im Dreiphasenbereich des Phasendiagramms arbeiten, in dem im Fall von Konglomeraten beide Enantiomere und im Fall von verbindungsbildenden Systemen ein Enantiomer und die racemische Verbindung als feste Phasen im Gleichgewicht vorliegen. Hieraus ergeben sich zwei Optionen: 1) Wenn die anfängliche Lösung die Enantiomere in einer Zusammensetzung nahe der des Eutektikums enthält (z.B. hellgrauer Punkt in Abbildung 3a), kann die Methode der Bevorzugten Kristallisation angewendet werden. Durch Zugabe von Impfkristallen nur eines Enantiomers zur übersättigten Lösung wird die selektive Kristallisation dieses Enantiomers induziert. Da im Gleichgewicht allerdings beide Enantiomere als stabile feste Phasen vorliegen, handelt es sich hierbei um einen kinetisch gesteuerten Nichtgleichgewichtsprozess, bei dem die Keimbildung des Gegenenantiomers vermieden werden muss. Wie zuvor erwähnt, ist die Bevorzugte Kristallisation zur Racematspaltung grundsätzlich nur für Konglomerate anwendbar. Im

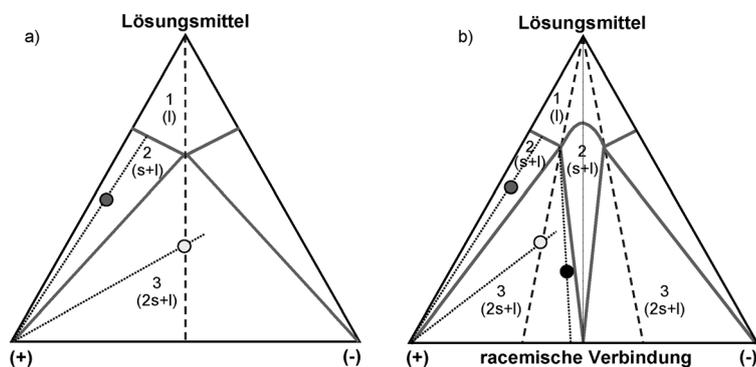
Folgenden wird allerdings gezeigt, dass diese Methode auch für racemische Verbindungen verwendet werden kann, wenn man von Lösungen ausgeht, die eine Zusammensetzung nahe der des Eutektikums aufweisen (z.B. hellgrauer Punkt in Abbildung 3b).<sup>[111,113]</sup> 2) Wie in Abbildung 3b durch den schwarzen Punkt angedeutet, kann in einem ersten Schritt auch eine Enantiomerenanreicherung über die flüssige Phase erzielt werden. Hierbei genügt bereits eine geringe Asymmetrie in der enantiomeren Zusammensetzung, um eine flüssige Phase zu erhalten, aus der unter bestimmten Bedingungen die selektive Kristallisation eines reinen Enantiomers möglich ist. Attraktive Prozessvarianten resultieren z.B., wenn sich die eutektische Zusammensetzung im chiralen System mit der Temperatur und/oder der Lösungsmittelzusammensetzung ändert.<sup>[151,152]</sup>

Zusammenfassend ist abzuleiten, dass (mit Ausnahme der Bevorzugten Kristallisation von Konglomeraten) kristallisationsbasierte Racematspaltungen für gewöhnlich eine gewisse Enantiomerenanreicherung erfordern, die z.B. in einem integrierten Verfahren über eine partiell selektive Synthese oder einen anderen alternativen Trennschritt bereitgestellt werden kann.

### 3.2. Diskussion ausgewählter Schmelz- und Löslichkeitsgleichgewichte

In den letzten Jahren wurden in unserem Arbeitskreis mehr als 30 chirale Substanzen aus den Bereichen der Feinchemikalien (chemische Zwischenprodukte, Aminosäuren) und Pharmazeutika anhand ihrer binären und/oder ternären Phasendiagramme charakterisiert, wobei auch diastereomere Salze berücksichtigt wurden. In Tabelle 1 sind Resultate für eine Auswahl von 14 chiralen Substanzen zusammengestellt. Angegeben sind die Art des kristallinen Racemats sowie die eutektische Zusammensetzung im chiralen System, bestimmt aus den Schmelz- und ternären Löslichkeitsphasendiagrammen. In einigen Fällen wurden verschiedene Lösungsmittel untersucht; beispielsweise wurden für *N*-Methylephedrin als konglomeratbildendes und Mandelsäure als verbindungsbildendes System Löslichkeiten in acht bzw. elf achiralen und chiralen Lösungsmitteln gemessen. Tabelle 1 enthält außerdem thermodynamische Informationen zur Trögerschen Base (nicht in unserem Labor ermittelt), die im Folgenden als Modellsubstanz mit diskutiert werden soll.<sup>[153–169]</sup>

Die untersuchten Systeme zeigen verschiedenste Charakteristika, z.B. Polymorphie der Enantiomere und/oder des Racemats, Solvatbildung, Mischkristalle und eine Änderung der eutektischen Zusammensetzung in Abhängigkeit von Temperatur oder verwendetem Lösungsmittel. Fünf chirale Systeme bildeten Konglomerate, neun racemische Verbindungen. Lediglich für Threonin und das pharmazeutische Zwischenprodukt „A“ ergab sich der „einfachste“ Typ von Phasendiagramm; d.h. es sind Konglomerate, die unter den untersuchten Bedingungen weder Polymorphie, Solvate noch Mischkristalle aufweisen. Als schwer



**Abbildung 3.** Prinzipielle Möglichkeiten der kristallisationsbasierten Enantiomertrennung ohne ein chirales Auxiliär, veranschaulicht für a) Konglomerate und b) Systeme mit racemischer Verbindung. Die Anzahl und die Aggregatzustände der im Gleichgewicht vorliegenden Phasen sind in den einzelnen Phasenbereichen angegeben (s: fest; l: flüssig).

**Tabelle 1:** Schmelz- und Lösungsphasengleichgewichte untersuchter chiraler Systeme.

Chirale Substanz	Typ des Phasendiagramms/ Racemats	$x_{eu}$ im binären Schmelzsystem	$x_{eu}$ im ternären Lösungssystem	Weitere Charakteristika	Literatur
<b>Aminosäuren<sup>[a]</sup></b>					
Threonin	K	–	0.5 (w, w/EtOH)	–	[153, 154]
Asparagin	K	–	0.5 (w)	Hydrat	[155]
Methionin	RV	–	0.94–0.85 (1–60 °C) (w)	$x_{eu}$ variabel	[156]
Serin	RV	–	0.988–0.998 (MeOH/w) 0.987–0.995 (EtOH/w) (20–80 °C)	Hydratbildung unter bestimmten Bedingungen, $x_{eu}$ variabel	[157]
<b>Chemische Zwischenprodukte</b>					
N-Methylephedrin	K	0.5	0.5 (8 Lösungsmittel)	Polymorphie	z. B. [137, 158, 159]
Mandelsäure	RV	0.69	0.69 (11 Lösungsmittel)	Polymorphie der RV	[137, 138, 153, 160–162]
3-Chlormandelsäure	RV	0.89 (0.85 metastabil)	0.9–0.84 (5–50 °C) (w) 0.9 (Toluol)	Polymorphie der Enantiomere und der RV, $x_{eu}$ variabel	[163]
Ethanolaminsalz der 3-Chlormandelsäure	K	0.5	0.5	ss (< 0.25, > 0.75)	[164]
Äpfelsäure	RV	0.967	0.985 (w)	Polymorphie der RV, ss der RV ( $\approx 0.7$ )	[149]
Trögersche Base	RV	0.85	0.92–0.885 (25–50 °C) (EtOH)	$x_{eu}$ variabel	[165]
<b>Pharmazeutische Zwischenprodukte und APIs</b>					
Substanz A	K	0.5	0.5 (Acetonitril)	–	[153]
Propranololhydrochlorid	RV	0.55	0.55 (w, MeOH)	Polymorphie der RV, ss des Enantiomers (0.982)	[147, 166]
Bicalutamid	RV	0.9	0.977–0.95 (0–60 °C) (MeOH/w)	$x_{eu}$ variabel	[167, 168]
2,6-Pipecoloxylidid	RV	0.67	0.7 (Dibutylether)	Solvate, Polymorphie der RV	[169]

[a] Aminosäuren zersetzen sich vor oder während des Schmelzens; daher kann kein Schmelzdiagramm bestimmt werden. K: Konglomerat; RV: racemische Verbindung;  $x_{eu}$ : eutektische Zusammensetzung im chiralen System (nur angegeben für  $x \geq 0.5$ ); EtOH: Ethanol; MeOH: Methanol; w: Wasser; ss: feste Lösungen (Mischkristalle).

zugängliche Fälle erwiesen sich 3- und 2-Chlormandelsäure (Tabellen 1 und 2), beides verbindungs bildende Systeme. Im Fall von 3-Chlormandelsäure existieren sowohl für die Enantiomere und die racemische Verbindung monotrope Modifikationen.<sup>[163]</sup> Im Fall von 2-Chlormandelsäure (Tabelle 2) wurde ein metastabiles Konglomerat gefunden.<sup>[170]</sup> Für die relativ „einfache“ Verbindung Äpfelsäure wurde eine zusätzliche monotrope Modifikation der racemischen Verbindung sowie partielle Mischbarkeit des Enantiomers und der racemischen Verbindung beobachtet. Das eher seltene Vorkommen von Systemen, die keine zusätzlichen festen Phasen oder Mischkristalle aufweisen, bekräftigt die Bedeutung der Festphasenanalyse beim Ermitteln von SLE-Daten, ein Aspekt, der häufig nicht berücksichtigt wird.

In Tabelle 2 sind die eutektischen Zusammensetzungen im Schmelzphasendiagramm für eine Auswahl von Mandelsäurederivaten zusammengestellt. Alle zählen zum verbindungs bildenden Typ von Substanzen. Die 2-substituierten Mandelsäurederivate haben eutektische Zusammensetzungen nahe der racemischen. Höhere  $x_{eu}$ -Werte werden für 3- und 4-substituierte Derivate mit mittleren Werten für die 4-substituierten Verbindungen erhalten. Gleiches gilt für die disubstituierte 2-Chlor-4-fluor- und die 4-Chlor-2-fluormandelsäure.<sup>[171]</sup>

**Tabelle 2:** Eutektische Zusammensetzungen,  $x_{eu}$ , in den Schmelzphasendiagrammen verschiedener Mandelsäurederivate.<sup>[171]</sup>

Substanz	$x_{eu}$
2-Chlormandelsäure	0.57
3-Chlormandelsäure	0.89
4-Chlormandelsäure	0.83
2-Brommandelsäure	0.54
3-Brommandelsäure	0.87
4-Brommandelsäure	0.76
2-Chlor-4-fluormandelsäure	0.56
4-Chlor-2-fluormandelsäure	0.73
3-Methylmandelsäure	0.63

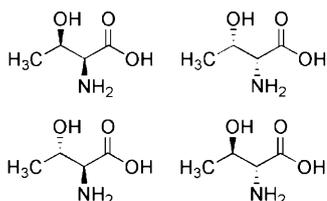
### 3.3. Konzepte der kristallisationsbasierten Enantiomerentrennung

Im Folgenden werden klassische und innovative Kristallisationsverfahren zur Enantiomerentrennung am Beispiel von vier in Tabelle 1 aufgeführten Verbindungen erläutert, die durch unterschiedliche, aber typische thermodynamische Eigenschaften und diverses kinetisches Kristallisationsverhalten charakterisiert sind. Wir betrachten Threonin, Mandelsäure, Methionin und die Trögersche Base. Die aufge-

fürten Ergebnisse wurden in den letzten zehn Jahren in unserem Labor gesammelt.

### 3.3.1. Konglomerate

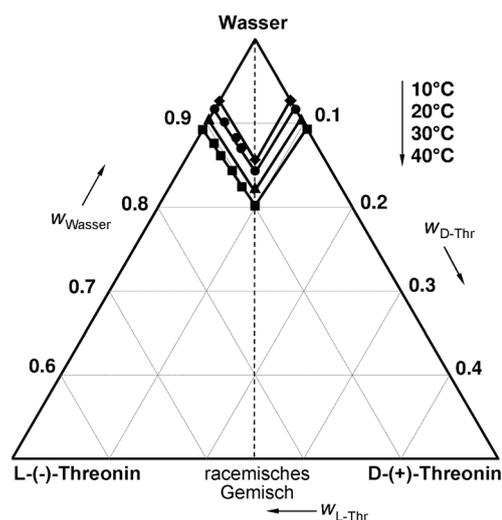
Unter den vier genannten Verbindungen ist Threonin die einzige, die zur Gruppe der Konglomerate gehört. Threonin, eine essentielle Aminosäure, kommt in der Natur als (2*S*,3*R*)-Form vor, bezeichnet als L-Threonin. Da das Molekül zwei Chiralitätszentren besitzt, sind vier Stereoisomere möglich, die zwei Enantiomerenpaare ergeben, L- und D-Threonin (L-Thr, D-Thr) sowie L-*allo*-Threonin und D-*allo*-Threonin (Abbildung 4).



**Abbildung 4.** L-(2*S*,3*R*)-(-)-Threonin, D-(2*R*,3*S*)-(+)-Threonin, L-(2*S*,3*S*)-(+)-*allo*-Threonin, D-(2*R*,3*R*)-(-)-*allo*-Threonin.

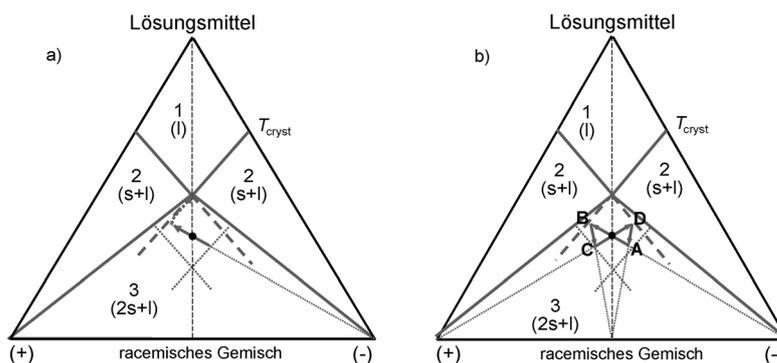
Trennungen sollen für das Beispiel des L- und D-Threoninpaars demonstriert werden. Das ternäre Löslichkeitsphasendiagramm mit Wasser als Lösungsmittel (Abbildung 5) zeigt vier Löslichkeitsisothermen zwischen 10 und 40 °C. Wie erwartet, ist das Diagramm symmetrisch zur racemischen Zusammensetzung, und die Löslichkeitsisothermen weisen die typische Form eines einfachen eutektischen Systems (Konglomerat) auf. Die Löslichkeiten steigen, wie häufig beobachtet, mit der Temperatur. Des Weiteren verlaufen die Löslichkeitsisothermen nahezu parallel zu den gegenüberliegenden Dreieckseiten; d. h. die Löslichkeit eines Enantiomers wird durch die Gegenwart des anderen Enantiomers nicht beeinflusst (nahezu ideales Lösungsverhalten).

Abbildung 6 veranschaulicht das Prinzip der Bevorzugten Kristallisation für Konglomerate. Ausgehend von einer racemischen Zusammensetzung im Dreiphasenbereich des Phasendiagramms (schwarzer Punkt in Abbildung 6 a) ist es in Gegenwart von homochiralen Impfkristallen (hier des (-)-Enantiomers) möglich, für eine bestimmte Zeitspanne nur das geimpfte Enantiomer zu kristallisieren. Die Kristallisationstrajektorie ist durch einen Pfeil gekennzeichnet. Wird die metastabile Löslichkeitslinie des kristallisierenden Enantiomers erreicht, muss der Trennprozess unterbrochen werden, um die Keimbildung des Gegenenantioners und damit die Kontamination des Zielprodukts zu vermeiden. Was das Verfahren für industrielle Anwendungen attraktiv macht, ist die Tatsache, dass es in einem zyklischen Prozess durchgeführt werden kann, in dem beide



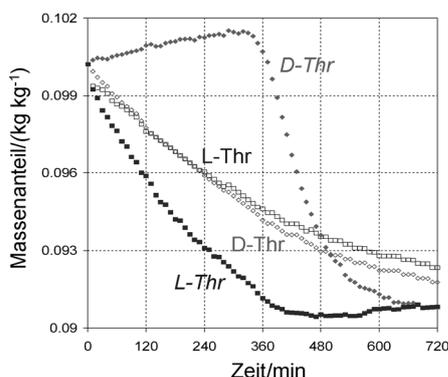
**Abbildung 5.** Ternäres Löslichkeitsphasendiagramm von L- und D-Thr in Wasser. Da die Löslichkeiten der Threoninspezies in wässriger Lösung vergleichsweise gering sind, ist nur die obere Hälfte des Löslichkeitsphasendiagramms abgebildet (Achsen in Massenanteilen,  $w$ ; die Isothermenlinien dienen zur Orientierung).

Enantiomere periodisch gewonnen werden (Abbildung 6 b). Die Trajektorien A  $\rightarrow$  B und C  $\rightarrow$  D repräsentieren die selektiven Kristallisationspfade des (-)- bzw. (+)-Enantiomers, initiiert durch Zugabe der jeweiligen Impfkristalle. Dazwischen (B  $\rightarrow$  C, D  $\rightarrow$  A) werden die kristallisierten Produkte abfiltriert und neuer racemischer Feed hinzugefügt. Eine kontinuierliche Online-Überwachung des Trennfortschritts (Bestimmung der Lösungszusammensetzung durch eine Kombination aus Polarimetrie und Dichtemessung) erlaubt dabei die Gewährleistung eines verlässlichen Trennprozesses.<sup>[172,173]</sup> Durch simultanen Einsatz von Partikelmesstechniken (z. B. Inline-Videomikroskopie) kann zusätzlich die Entwicklung der festen partikulären Phase bezüglich Partikelgröße, Partikelgrößenverteilung, Partikelform usw. verfolgt werden.<sup>[174–176]</sup>



**Abbildung 6.** Veranschaulichung des Prinzips der Bevorzugten Kristallisation im ternären Löslichkeitsphasendiagramm. Abgebildet ist a) eine Trajektorie der Bevorzugten Kristallisation eines Enantiomers und b) ein zyklisches Verfahren, das in einem isothermen Prozess bei einer Kristallisationstemperatur  $T_{\text{cryst}}$  periodisch beide Enantiomere liefert. Schwarze Punkte kennzeichnen die Ausgangspunkte und (dicke) graue gestrichelte Linien die metastabilen Löslichkeitslinien der Enantiomere, als Kristallisationsbegrenzen für eine erfolgreiche Bevorzugte Kristallisation.





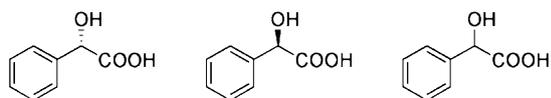
**Abbildung 9.** Konzentrationsprofile der Enantiomere in der flüssigen Phase für einfachen Batchbetrieb (gefüllte Symbole und kursive Schrift) sowie über die flüssige Phase gekoppelte Kristallisatoren (offene Symbole und normale Schrift).<sup>[116]</sup>

D-Thr vor, Abbildung 9), was die Keimbildung des entsprechenden Gegenenantomers unterdrückt. Infolgedessen konnten eine höhere Robustheit des Prozesses und eine verbesserte Produktivität erzielt werden. Weitere Einzelheiten und eine Prozessvariante, die auch selektive Auflösung berücksichtigt, finden sich in Lit. [178].

### 3.3.2. Systeme mit racemischen Verbindungen

#### 3.3.2.1. Mandelsäure

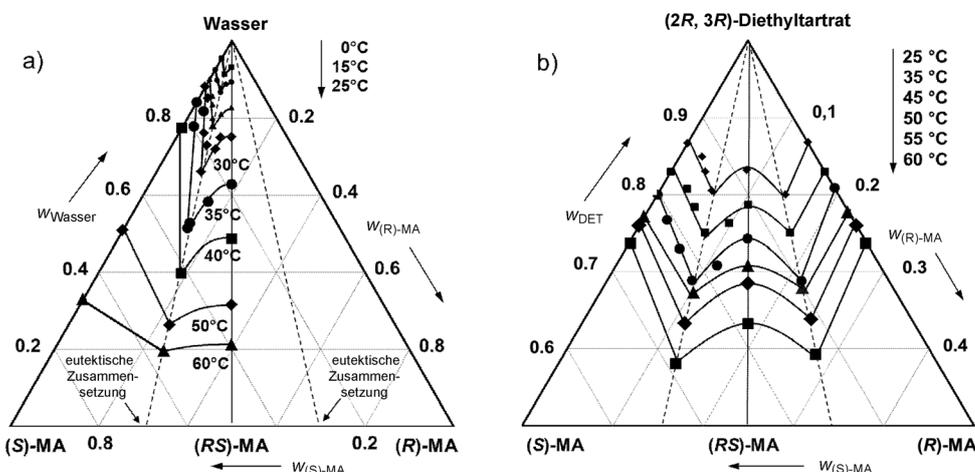
Mandelsäure (MA) und ihre Derivate haben verschiedene pharmazeutische Anwendungen, etwa zur Behandlung von Harnwegsinfektionen aufgrund ihrer bakteriostatischen Eigenschaften<sup>[179]</sup> oder, basierend auf ihren analgetischen, antirheumatischen und spasmolytischen Wirkungen, als pharmazeutische Beimengungen.<sup>[180]</sup> Reine (R)-Mandelsäure dient außerdem als Vorstufe für die Synthese von Cephalosporin und Penicillin.<sup>[181]</sup> Beide Enantiomere, (S)- und (R)-Mandelsäure (Abbildung 10), gehören zu den am häufigsten in der klassischen Racematspaltung eingesetzten Trennreagentien.<sup>[39]</sup> Beispielsweise kommt Mandelsäure in einer Zwischenstufe der Duloxetin-Synthese ((S)-MA, 2004) sowie bei der Herstellung von Sertralin ((R)-MA, 1990) zum Einsatz.<sup>[39]</sup> Sertralin gehört zu den Top 10 der meistvertriebenen Wirkstoffe und ist einer der neun „chiralen



**Abbildung 10.** (S)-(+)-Mandelsäure, (R)-(-)-Mandelsäure, (RS)-(±)-Mandelsäure.

Blockbuster“.<sup>[182]</sup> Das kommerzielle Verfahren zur Herstellung von Sertralin wurde kürzlich modifiziert, wonach die Synthese nun mit einer kontinuierlichen chromatographischen Trennung des racemischen Ausgangsmaterials beginnt.<sup>[39,183]</sup> Dennoch sind verbesserte Varianten der Diastereomerentrennung mit (R)-MA in Kombination mit der Racemisierung des unerwünschten Enantiomers in der Entwicklung.<sup>[86]</sup>

Wir betrachten hier Mandelsäure als ein Beispiel für ein verbindungsbildendes chirales System, das es selbst zu trennen gilt, anstatt als Trennreagens für die klassische Racematspaltung eingesetzt zu werden. In Abbildung 11 sind die ternären Löslichkeitsphasendiagramme von Mandelsäure in a) Wasser und b) (2R,3R)-Diethyltartrat (DET) (beispielhaft für ein chirales Lösungsmittel) dargestellt. Die Ergebnisse bestätigen die bereits bekannten Eigenschaften racemischer Mandelsäure als racemische Verbindung.<sup>[82]</sup> Die für das

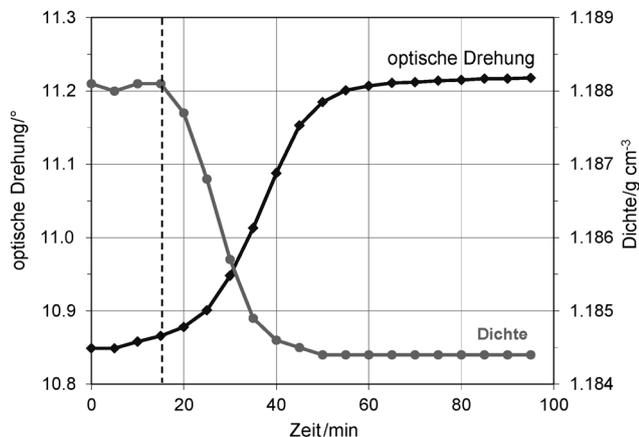


**Abbildung 11.** Ternäre Löslichkeitsphasendiagramme der Mandelsäure-Enantiomere in a) Wasser<sup>[153]</sup> und b) (2R,3R)-Diethyltartrat.<sup>[162]</sup> Die Isothermenlinien dienen zur Orientierung.

binäre Schmelzsystem bei einem Massenanteil ( $w$ ) von 0.7 (bzw. 0.3) gemessene eutektische Zusammensetzung<sup>[160]</sup> bleibt in Gegenwart beider beteiligten Lösungsmittel unverändert. Selbst bei Verwendung des chiralen Lösungsmittels DET (sowie weiteren optisch aktiven Lösungsmitteln, wie Lactaten)<sup>[137]</sup> wird keine nennenswerte Asymmetrie im MA-Phasendiagramm induziert, die für Trennzwecke genutzt werden könnte. In beiden gezeigten Lösungsmitteln steigt die Löslichkeit der Mandelsäurespezies mit der Temperatur und ist für die racemische Verbindung höher als für die Enantiomere.

Ogleich in den chiralen Lösungsmitteln kein quantifizierbarer Einfluss auf die Thermodynamik hinsichtlich unterschiedlicher Löslichkeiten der Mandelsäure-Enantiomere beobachtet wurde,<sup>[135]</sup> zeigten sich in Untersuchungen zur Breite des metastabilen Bereichs (MZW = metastable zone width) in DET und (S)-Ethyllactat ausgeprägte kinetische selektive Inhibitionseffekte.<sup>[136]</sup> Beispielsweise ist in DET der metastabile Bereich bezüglich der primären Keimbildung für (R)-Mandelsäure schmäler als für (S)- und racemische Man-

delsäure, was die Bevorzugte Keimbildung des (*R*)-Enantiomers und somit dessen selektive Kristallisation ermöglicht. In Abbildung 12 sind typische Ergebnisse eines Experiments zur Bevorzugten Keimbildung für racemische Mandelsäure in



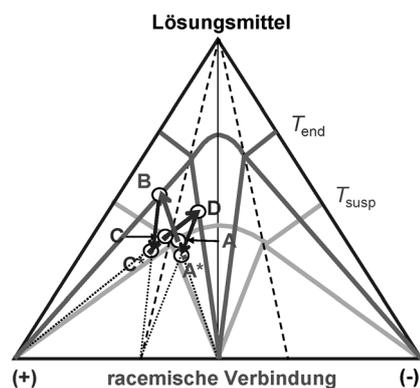
**Abbildung 12.** Profile des optischen Drehwinkels der Mutterlauge und der Lösungsdichte während eines Experiments zur Bevorzugten Keimbildung, ausgehend von racemischer Mandelsäure in (2*R*,3*R*)-Diethyltartrat bei  $T_{\text{sat}} = 55^\circ\text{C}$ . Die anfängliche optische Aktivität von  $10,85^\circ$  beschreibt die optische Aktivität der Ausgangslösung unter dem Einfluss des chiralen Lösungsmittels.<sup>[136]</sup>

DET dargestellt. Wie aus den MZW-Daten zu erwarten, sinkt mit dem Eintritt der Keimbildung die Lösungsdichte verbunden mit dem Anstieg des optischen Drehwinkels, was die Kristallisation der (*R*)-(-)-Mandelsäure anzeigt. Damit war eine enantioselektive Kristallisation direkt aus der racemischen Lösung realisierbar, ohne in einen vorgeschalteten Schritt zur Enantiomerenanreicherung investieren zu müssen.

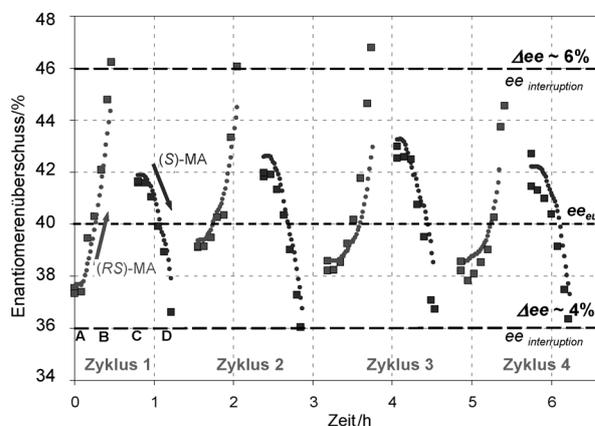
In einer neueren Studie, in der ausgewählte Mandelsäureester als chirale „anwendungsspezifische“ Lösungsmittel eingesetzt wurden, konnte anhand von signifikanten Löslichkeitsunterschieden der Mandelsäure-Enantiomere chirale Erkennung in der Lösungsphase nachgewiesen werden.<sup>[138]</sup>

Wie am Beispiel von Threonin gezeigt, ist die Bevorzugte Kristallisation zur Trennung racemischer Gemische von Konglomeraten einsetzbar. Hier soll demonstriert werden, dass diese Methode auch auf verbindungs bildende Systeme anwendbar ist, sofern von Lösungen ausgegangen wird, die mit dem Zielantimier angereichert sind.<sup>[110,111,113,114,117,166,184]</sup> Da sowohl Enantiomer und racemische Verbindung separat kristallisiert werden können, sollte es prinzipiell machbar sein, beide im Dreiphasenbereich des ternären Löslichkeitsphasendiagramms in periodischer Weise bevorzugt zu kristallisieren, ähnlich den beiden Enantiomeren für Konglomerate.

Charakteristische Trajektorien eines solchen zyklischen polythermen Kristallisationsprozesses mit Auto-Seeding für ein verbindungs bildendes System sind in Abbildung 13 gezeigt. In Abbildung 14 ist die Anwendung dieses Prozesses zur Enantiomerentrennung im Mandelsäuresystem veranschaulicht. Die gemessenen Trajektorien ähneln prinzipiell dem Threonin-Beispiel (Abbildung 8), unterscheiden sich



**Abbildung 13.** Veranschaulichung einer zyklischen polythermen Bevorzugten Kristallisation mit Auto-Seeding, die periodisch die racemische Verbindung und das (+)-Enantiomer in einem System mit racemischer Verbindung liefert.<sup>[113]</sup> Die Bezeichnungen beziehen sich auf das in Abbildung 7 gezeigte Temperaturprofil.



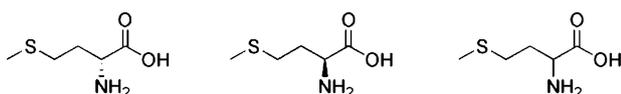
**Abbildung 14.** Profile des Enantiomerenüberschusses für vier aufeinanderfolgende Trennzyklen der polythermen Bevorzugten Kristallisation von Mandelsäure.<sup>[113]</sup> Nur die Kristallisationsperioden A→B und C→D sind abgebildet. Ausgewählte Kristallisationsbedingungen: 300 g Lösung; 15  $\text{K h}^{-1}$  Abkühlrate.

aber in der Tatsache, dass der Prozess nicht mehr symmetrisch um die eutektische Linie abläuft. Die maximale Differenz im Enantiomerenüberschuss ( $\Delta ee$ ), die durch Bevorzugte Kristallisation erreichbar ist, kann sich für die racemische Verbindung und das Enantiomer unterscheiden (z. B. hier  $\Delta ee = 6\%$  vs.  $4\%$ , Abbildung 14), da sie von der jeweiligen eutektischen Zusammensetzung im chiralen System abhängt. Für Mandelsäure können Racemat und Enantiomer entsprechend der eutektischen Zusammensetzung bei  $40\% ee$  ( $ee_{\text{eut}}$ , Abbildung 14) im Verhältnis 3:2 gewonnen werden. In einem integrierten Verfahren, in dem zunächst eine bestimmte Enantiomerenanreicherung erzielt wird, die nachfolgend für eine Bevorzugte Kristallisation genutzt wird, kann die racemische Verbindung als Nebenprodukt des zyklischen Kristallisationsprozesses über den Enantiomerenanreicherungsschritt zurückgewonnen werden. Wie am Beispiel von Threonin gezeigt, bietet die simultane Bevorzugte Kristallisation in gekoppelten Kristallisatoren auch für Mandelsäure eine Möglichkeit zur Verbesserung der Verfahrenscharakte-

ristika im Hinblick auf Ausbeute und Robustheit.<sup>[115,117]</sup> Erst vor kurzem wurde die Verwendung von Hydrochinon-4-methyl-2-chinolyether als chirales Additiv in der Bevorzugten Kristallisation von Mandelsäure beschrieben.<sup>[185]</sup> Dieses Additiv ermöglicht durch Beeinflussung der Keimbildungskinetik eine signifikante Ausbeutesteigerung.

### 3.3.2.2. Methionin und Trögersche Base

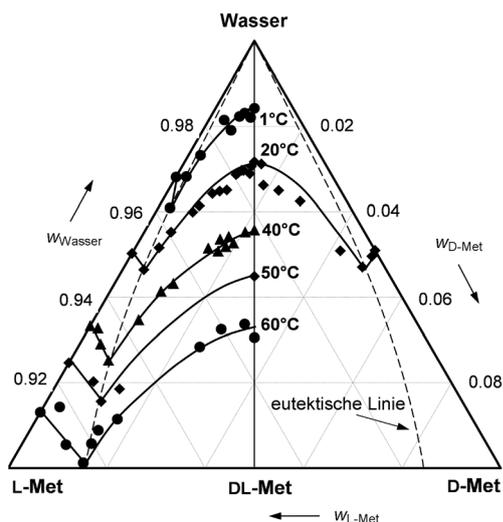
Die Aminosäure Methionin (Abbildung 15) ist eine essentielle, schwefelhaltige Aminosäure, die (wie alle proteino-genen Aminosäuren) in der Natur als L-Enantiomer vorkommt. Von besonderer Relevanz ist Methionin als Zusatzstoff in Tierfutter. Zu diesem Zweck ist es prinzipiell nicht



**Abbildung 15.** D-(R)-(+)-Methionin, L-(S)-(-)-Methionin, DL-(RS)-(+/-)-Methionin.

nötig, racemisches Methionin zu spalten, da es vom tierischen Organismus in das gewünschte L-Enantiomer umgewandelt werden kann. Pharmazeutische Anwendungen findet Methionin zum Schutz gegen Leberschäden und in Infusionslösungen.<sup>[186]</sup> Wir haben in unseren Studien Methionin als Modellsystem gewählt, um Trennstrategien für Substanzen mit ähnlichen Phasendiagrammcharakteristika zu diskutieren.

Abbildung 16 zeigt das ternäre Löslichkeitsphasendiagramm der Methionin-Enantiomere in Wasser, das eindeutig dem verbindungsbildenden Typ entspricht. Die Löslichkeiten im System sind vergleichsweise niedrig, insbesondere für die racemische Verbindung. Die eutektische Zusammensetzung im chiralen System befindet sich nahe der Seite des reinen Enantiomers und ändert sich mit der Temperatur;  $x_{eu}$  sinkt

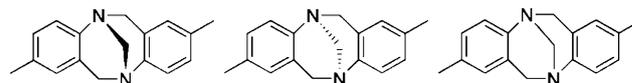


**Abbildung 16.** Ternäres Löslichkeitsphasendiagramm der Methionin-Enantiomere (Met) in Wasser. Aufgrund der geringen Löslichkeiten im System sind nur die oberen 10% des Phasendiagramms abgebildet. Die Isothermenlinien dienen zur Orientierung.<sup>[1156]</sup>

von 0.94 bei 1 °C auf 0.85 bei 60 °C. Eine solche Variation der eutektischen Zusammensetzung wurde für mehrere Verbindungen gefunden, z. B. Serin,<sup>[157]</sup> 3-Chlormandelsäure,<sup>[163]</sup> Bicalutamid,<sup>[167]</sup> eine von Wang und Mitarbeitern untersuchte pharmazeutisch relevante Substanz<sup>[187]</sup> und die Trögersche Base.<sup>[165]</sup>

Die Phasendiagramme von Methionin und der Trögerschen Base<sup>[165]</sup> zeigen sehr ähnliche Charakteristika. Die Löslichkeiten in beiden Systemen (Methionin/Wasser, Trögersche Base/Ethanol) sind vergleichsweise niedrig, und beide bilden bei der racemischen Zusammensetzung eine intermediäre Verbindung, die bei gleicher Temperatur eine deutlich geringere Löslichkeit aufweist als die Enantiomere. Als Folge davon liegt die eutektische Zusammensetzung im Phasendiagramm links und rechts der racemischen Verbindung nahe den Seiten der reinen Enantiomere. Darüber hinaus weisen die eutektischen Linien in Abhängigkeit von der Temperatur konvexe Profile auf, d. h., eine hohe eutektische Zusammensetzung bei niedriger Temperatur verschiebt sich mit Temperaturanstieg zu geringeren Werten. Bei der Trögerschen Base ändert sich die eutektische Zusammensetzung von  $w = 0.92$  bei 25 °C zu 0.885 bei 50 °C,<sup>[165]</sup> ähnlich den Methionin-Daten.

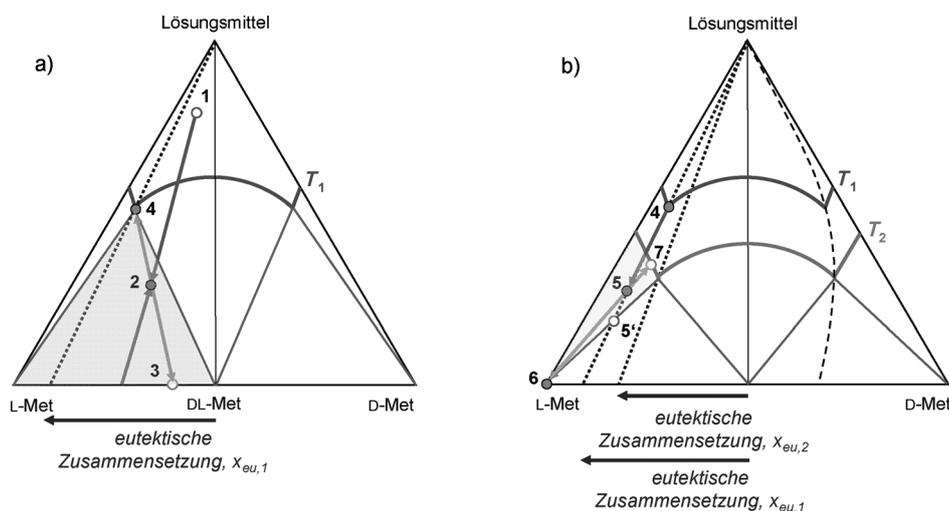
Die Trögersche Base, (±)-2,8-Dimethyl-6*H*,12*H*-5,11-methanodibenzo[*b,f*][1,5]diazocin, ist ein chirales heterocyclisches Amin, dessen Chiralität von den zwei stereogenen Stickstoffatomen verursacht wird (Abbildung 17). Sie wird



**Abbildung 17.** Strukturen der (-)-Trögerschen Base, der (+)-Trögerschen Base und der (±)-Trögerschen Base.

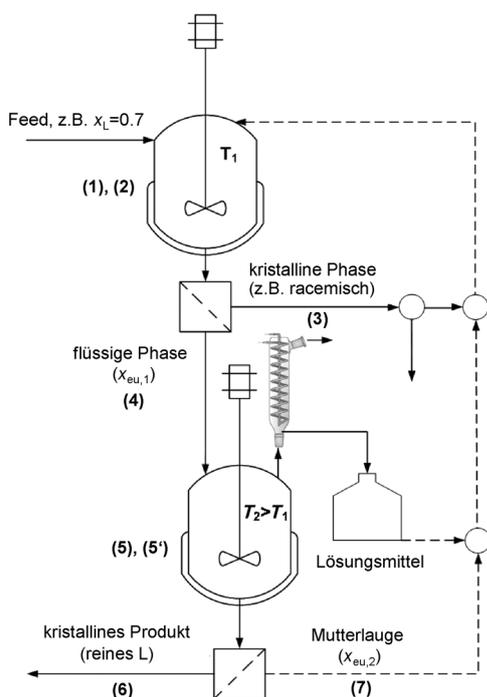
häufig als Modellsystem in Untersuchungen zur Enantiomerentrennung eingesetzt, wie beispielsweise in der Chromatographie (siehe Abschnitt 4.4). Darüber hinaus dienen Derivate der Trögerschen Base als Substrate in der organischen und der Biochemie.<sup>[188,189]</sup> Worlitschek et al.<sup>[165]</sup> ermittelten die binären Schmelz- und ternären Löslichkeitsphasendiagramme in Ethanol und beschrieben die Fest-flüssig-Gleichgewichte mithilfe der klassischen Schröder van-Laar- und Prigogine-Defay-Gleichungen<sup>[82]</sup> sowie dem NRTL-Modell zur Berücksichtigung der Nichtidealität in der Lösung. Eine kristallisationsbasierte Trennung der Trögerschen Base konnte über eine klassische Racematspaltung mit einem stark sauren Trennreagens erreicht werden. Die Racematspaltung wurde von einer kristallisationsinduzierten asymmetrischen Umwandlung des Salzes begleitet, das aus dem (+)-Enantiomer der Trögerschen Base bestand und eine hohe Ausbeute lieferte.<sup>[190]</sup> Ein Hybridprozess aus Chromatographie und Kristallisation zur Trennung der Trögerschen Base wurde von Amanullah und Mazzotti untersucht.<sup>[191]</sup>

Die temperaturabhängige Verschiebung der eutektischen Zusammensetzung in chiralen Systemen wurde genutzt, um ein alternatives zweistufiges (Zwei-Schritt-)Verfahren zur Enantiomerentrennung vorzuschlagen. Das Prinzip ist in



**Abbildung 18.** Zwei-Schritt-Verfahren zur Enantiomerentrennung im Methioninsystem, das die Verschiebung der eutektischen Zusammensetzung mit der Temperatur ausnutzt. a) Schritt 1: Anreicherung in der flüssigen Phase bei einer niedrigen Temperatur,  $T_1$ . b) Schritt 2: Abdampfen von Lösungsmittel und selektive Kristallisation von L-Met bei einer höheren Temperatur,  $T_2$ .<sup>[151]</sup>

Abbildung 18 am Beispiel von Methionin illustriert.<sup>[151,152]</sup> Startet man bei einer niedrigen Temperatur,  $T_1$ , mit einer (nur geringfügig) enantiomerenangereicherten Lösung (Punkt 1), so gelangt man durch Lösungsmittelverdampfung zu einer Lösung mit einer Zusammensetzung innerhalb des Dreiphasenbereichs des Phasendiagramms (z. B. Punkt 2). Nach



**Abbildung 19.** Fließschema des Zwei-Schritt-Trennverfahrens für Methionin unter Berücksichtigung von partieller oder vollständiger Rezyklierung der im ersten Schritt anfallenden festen Phase sowie des Lösungsmittels und der Mutterlauge des zweiten Schritts (Zielenantiomer: L-Met).<sup>[151]</sup> Die Bezeichnungen entsprechen den Punkten in Abbildung 18.

Gleichgewichtseinstellung resultieren eine feste Phase der Zusammensetzung (3), d. h. abgereichert an Zielenantiomer, und eine gesättigte Lösung eutektischer Zusammensetzung  $x_{eu,1}$  (Punkt 4), angereichert an Zielenantiomer. Nach Abfiltrieren der kristallinen Phase und weiterer Lösungsmittelverdampfung bei einer höheren Temperatur,  $T_2$ , erzielt man eine Lösungszusammensetzung, die innerhalb des (Zweiphasen-)Existenzbereichs des Zielenantiomers (Punkt 5) liegt und dieses in enantiomerenreiner Form liefert (Punkt 6). Maximale Ausbeute wird erhalten, wenn die Endzusammensetzung der Lösung die Phasengrenze zwischen Zweiphasen- und benachbartem Dreiphasengebiet trifft (Punkt 5').

Das vorgeschlagene Verfahren kann in zyklischer Fahrweise realisiert werden (Abbildung 19). Die kristalline Phase des ersten Schritts sowie Lösungsmittel und Mutterlauge des zweiten Schritts lassen sich teilweise oder vollständig rezyklieren, wodurch eine effiziente Ausnutzung der Prozessprodukte erreicht wird. Das Potenzial dieses Verfahrens wurde erfolgreich demonstriert.<sup>[151]</sup>

Im nächsten Abschnitt werden Prinzip und Verfahrenskonzepte der präparativen Chromatographie als vielseitige und häufig eingesetzte Methode zur Enantiomerentrennung vorgestellt.

#### 4. Chromatographische Enantiomerentrennung

Die Entwicklung enantioselektiver chromatographischer Methoden für die Racematspaltung ist in einer Reihe von hervorragenden Büchern und Übersichtsartikeln beschrieben.<sup>[31,36,38,192–202]</sup>

Analog zum Gebiet der Kristallisation hat man auch in der Chromatographie große Anstrengungen unternommen, um derivatisierende Reagentien zur Erzeugung von Diastereomeren einzusetzen, die dann durch klassische chromatographische Verfahren getrennt werden können. Da diese „indirekte“ Methode einige Nachteile aufweist, wie beispielsweise unterschiedliche Umwandlungsgeschwindigkeiten der beiden Enantiomere oder das Risiko einer Racemisierung,<sup>[200]</sup> gilt für präparative Zwecke die direkte Methode, die aufwendige Derivatisierungen vermeidet, als erfolgversprechender.

Die Säulenchromatographie mit festen stationären Phasen ist eines der leistungsstärksten enantioselektiven Trennverfahren. Der große Vorteil des Verfahrens ist die hohe Flexibilität. Sowohl die flüssige mobile Phase als auch

die stationäre Phase können gezielt an die Erfordernisse des Trennproblems angepasst werden.

Je nach Eigenschaften des zu trennenden Gemischs werden Gase, Flüssigkeiten oder überkritische Flüssigkeiten als mobile Phase eingesetzt. Vorreiter auf dem Gebiet der chiralen Gaschromatographie (GC) sind Gil-Av,<sup>[203]</sup> Schurig,<sup>[204]</sup> König<sup>[205]</sup> und Frank und Bayer.<sup>[206]</sup> Für präparative Anwendungen hat die GC allerdings kaum eine Bedeutung. Für nichtflüchtige und/oder thermisch labile Verbindungen bietet das breite Spektrum an Flüssigchromatographieverfahren die Plattform für zahlreiche chirale HPLC-Methoden. Der aktuelle Stand der Technik wird in Lit. [207] präsentiert. Ein neuerliches Interesse an der überkritischen Flüssigchromatographie (SFC) führte in den letzten Jahren zur Entwicklung erfolgreicher enantioselektiver Methoden mit überkritischem CO<sub>2</sub> als Hauptbestandteil der mobilen Phase.<sup>[208,209]</sup>

In der konventionellen Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) kann oftmals zwischen mehreren Trennverfahren, d.h. Kombinationen aus mobilen und stationären Phasen ausgewählt werden.<sup>[207,210]</sup> Für das Gebiet der Enantiomerentrennung ist dieser hochentwickelte Stand noch nicht erreicht. Geeignete chromatographische Methoden für komplizierte Trennprobleme dieser Art werden oft noch empirisch entwickelt. Dennoch wurden in den letzten Jahren Fortschritte beim Verständnis wichtiger Prinzipien der chiralen Erkennung erzielt.<sup>[211]</sup> Basierend auf der Entwicklung spezifischer und hochproduktiver Verfahrenskonzepte sowie der Verfügbarkeit der entsprechenden Designwerkzeuge, ermöglichen chromatographische Verfahren heutzutage die Trennung nahezu jedes beliebigen Enantiomerengemischs.

Eine grundsätzliche Frage ist, welche der beiden Phasen für die Durchführung der chromatographischen Trennung chiral sein sollte. Bezüglich der mobilen Phase wurden Methoden mit chiraler mobiler Phase sowie Methoden mit achiraler mobiler Phase mit Zusatz spezifischer chiraler Additive entwickelt. Ein Beispiel ist die Trennung von Säure-Enantiomeren durch Bildung von Ionenpaaren mit chiralen Basen wie Chininen.<sup>[212]</sup> Ligandenaustauschmethoden werden in Lit. [213] diskutiert. Die Verwendung von chiralen mobilen Phasen scheint für die präparative LC allerdings nicht sehr geeignet. Oft ist die Wiedergewinnung und Rezyklierung des chiralen Reagens schwierig. Darüber hinaus sind die Kapazitäten üblicherweise deutlich niedriger als bei Systemen mit chiraler stationärer Phase (CSP).

Die Anwendung von CSPs ist im Allgemeinen die direkteste und zweckmäßigste Methode für die chromatographische Enantiomerentrennung, insbesondere für präparative Anwendungen.<sup>[200]</sup> Die selektiven Wechselwirkungen werden an einer Fest-flüssig-Grenzfläche erzeugt und für die Trennung genutzt. Die feste Phase hat hierbei einen großen Einfluss auf den Mechanismus der Komplexbildung. Die Selektivitäten unterscheiden sich von den Selektivitäten in einer Flüssig-flüssig-Umgebung. Ein breites Spektrum selektiver CSPs ist kommerziell erhältlich, was die Trennung einer Vielzahl von Racematen ermöglicht. Wichtige CSPs werden in Abschnitt 4.1 vorgestellt.

In der Industrie sind chromatographische Verfahren in frühen Entwicklungsphasen weit verbreitet zur Reinigung

kleiner Mengen an Zielenantiomeren. Allerdings gewinnen diese Verfahren immer mehr an Bedeutung für die Erzeugung größerer Mengen.<sup>[38,199]</sup> Da chromatographische Verfahren im industriellen Maßstab kostspielig sind, erfordern sie eine sorgfältige Ausarbeitung und Optimierung. Das theoretische Verständnis der präparativen „überladenen“ Chromatographie konnte in den letzten Jahren erheblich verbessert werden.<sup>[214–216]</sup> Theoretische Analysen der Wanderungsprozesse in gefüllten Säulen ergaben, dass bei der Entwicklung präparativer chromatographischer Verfahren die Nichtlinearitäten in den zugrundeliegenden Gleichgewichtsfunktionen berücksichtigt werden müssen.<sup>[216]</sup> Im Vergleich zur konventionellen analytischen Chromatographie sind isokratische Elutionen im Batch-Betrieb häufig ungeeignet. Daher wurden verschiedene alternative Konzepte entwickelt, um Produktivitäten und Ausbeuten zu steigern und den Lösungsmittelverbrauch zu senken, z.B. verschiedene Rezyklertechniken.<sup>[215,216]</sup> Ein Durchbruch im Bereich der chromatographischen Enantiomerentrennung gelang mit der Mehrsäulen-SMB-Technik (SMB = simulated moving bed),<sup>[217]</sup> die in der Petrochemie entwickelt wurde und auf kontinuierlichen Gegenstromprinzipien basiert.<sup>[218]</sup> Das hohe Produktivitäten ermöglichende Verfahrenskonzept wird in Abschnitt 4.2 erklärt.

#### 4.1. Chirale stationäre Phasen

Die Erzeugung, Charakterisierung und Anwendung von CSPs und entsprechender enantioselektiver Säulen wurde in exzellenten Buchkapiteln und Übersichtsartikeln beschrieben.<sup>[37,200,219,220]</sup>

Die Fixierung einer chiralen Selektorspezies am chromatographischen Träger (meist poröse Kieselgelpartikel) erfolgt entweder durch kovalente Bindung oder durch starke physikalische Adsorption (z.B. durch Beschichtung mit einem polymeren Selektor). Eine CSP wird zusammen mit einer achiralen mobilen Phase verwendet. Beim Durchgang der Probe durch die Säule werden an der stationären Phase diastereomere Komplexe gebildet, durch die die individuellen Enantiomere auf spezifische Weise in der Säule festgehalten werden.

Das Prinzip der chiralen Erkennung wurde früher häufig unter Verwendung des von Dalglisch entwickelten einfachen Dreipunkt-Wechselwirkungsmodells erklärt.<sup>[221]</sup> Die zahlreich vorgeschlagenen detaillierteren Mechanismen wurden regelmäßig bewertet.<sup>[211,222]</sup> Derzeit gibt es intensive Bemühungen, die Dichtefunktionaltheorie und molekulare dynamische Simulationen zum Verständnis und für die Vorhersage der Enantiomerenverteilung an der Grenzfläche zwischen mobiler Phase und CSP zu nutzen (siehe z.B. Lit. [8,223,224]).

Ein wesentlicher Aspekt für eine erfolgreiche präparative Trennung ist das Auffinden einer geeigneten Kombination von CSP und mobiler Phase, die eine hohe Löslichkeit der Enantiomere und „angemessene“ Retentionszeiten in der Säule gewährt. Sowohl zu lange als auch zu kurze Retentionszeiten sind unerwünscht. Trotz der beträchtlichen Fortschritte beim Verständnis der Trennmechanismen ist das Standardverfahren für die Ermittlung einer geeigneten CSP

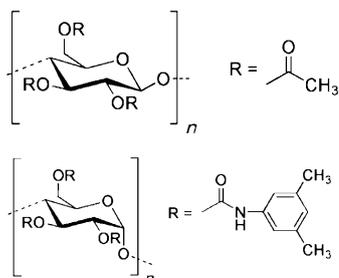
für ein spezifisches Problem der Enantiomerentrennung noch immer das Screening einer kleineren oder größeren Auswahl an verfügbaren stationären Phasen und zahlreicher mobiler Phasen. Als mobile Phase werden zumeist Lösungsmittelgemische eingesetzt, um die Retentionszeiten anzupassen. Die Screeningsprozedur wird oftmals durch die CSP-Hersteller unterstützt.

Eine große Auswahl an chiralen Selektoren sowohl natürlichen als auch synthetischen Ursprungs wird in CSPs eingesetzt. Mehr als einhundert CSPs werden heute kommerziell angeboten, von denen schätzungsweise 20 am häufigsten verwendet werden.

Es gibt verschiedene Klassifizierungen für CSPs.<sup>[200,220,225]</sup> Die nachfolgende Übersicht orientiert sich an der Gliederung der wichtigsten Selektoren für die CSP an Lit. [200].

#### Makromolekulare Selektoren semisynthetischen Ursprungs (Polysaccharid-basierte CSPs)

Polysaccharid-Selektoren haben eine lange Tradition. Hesse und Hagel führten 1973 mikrokristallines Cellulose-triacetat (Abbildung 20) als polymeres Selektormaterial (ohne



**Abbildung 20.** Polymerrückgrat von Polysaccharid-basierten CSPs; oben: Cellulose-triacetat (CTA), unten: Chiralpak AD.

Trägermaterial) ein.<sup>[226]</sup> Durch Aufbringen verschiedener Cellulose-derivate (z. B. Amylose-tris(3,5-dimethylphenyl-carbamate), Abbildung 20) auf makroporöse Kieselgelperlen erhielten Okamoto und Mitarbeiter hochenantioselektive Materialien mit höherer Druckstabilität und chromatographischer Effizienz, die erfolgreich von Daicel Chemical Industries kommerzialisiert wurden.<sup>[227]</sup>

Heute stehen zahlreiche Phasen mit verbesserter Selektormobilisierung für ein breites Spektrum an Lösungsmitteln zur Verfügung. Dies erleichtert die gezielte Auswahl der mobilen Phase, sodass sich hohe Löslichkeiten zusammen mit hohen Enantioselektivitäten kombinieren lassen, was diese Klasse von CSPs für präparative Anwendungen sehr attraktiv macht.<sup>[228,229]</sup>

#### Makromolekulare Selektoren synthetischen Ursprungs (synthetische Polymer-CSPs)

Mehrere chirale synthetische Polymere wurden entwickelt und als chirale Selektoren eingesetzt, um die Enantioselektivität der semisynthetischen Polysaccharide nachzuahmen. Eine Übersicht über Polyacrylamid/Kieselgel-Kompo-

site findet sich bei Kinkel.<sup>[230]</sup> Oftmals erreichen diese Materialien nicht dieselbe Enantiomerenerkennung wie die Polysaccharidträger, wahrscheinlich als Folge der deutlich weniger geordneten Strukturen der Polymerketten.

#### Makromolekulare Selektoren natürlichen Ursprungs (Proteinphasen)

Nach den bahnbrechenden Arbeiten von Allenmark und Mitarbeitern<sup>[231]</sup> sowie anderen, die die stereoselektive Bindung chiraler Bausteine an Proteine erforschten, sind heutzutage verschiedenste auf Proteinen basierende CSPs gut dokumentiert<sup>[232]</sup> und kommerziell erhältlich.<sup>[200]</sup> Ein Nachteil der Proteinträger ist ihre begrenzte Beladbarkeit, was sie für die präparative Chromatographie weniger attraktiv macht.

#### Makrocyclische oligomere oder mittelgroße Selektoren (Cyclodextrine, makrocyclische Antibiotika, chirale Kronenether)

Diese Art von Selektoren liefert die Grundlage für eine große und wichtige Gruppe von CSPs.

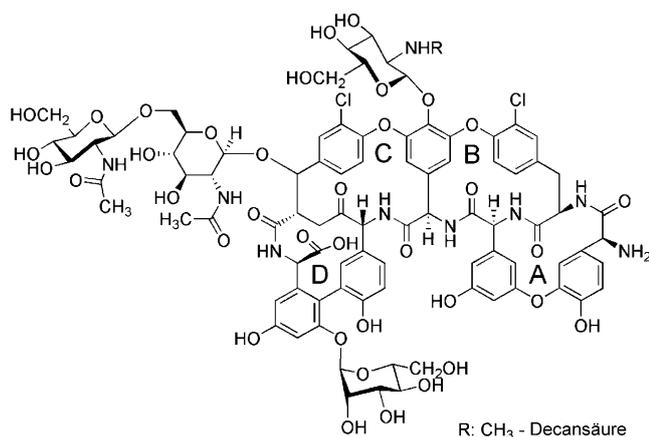
An Cyclodextrin gebundene CSPs basieren auf  $\alpha$ -,  $\beta$  oder  $\gamma$ -Cyclodextrinen, d. h. auf makrocyclischen Strukturen, die aus 6, 7 bzw. 8 Glucoseeinheiten aufgebaut sind.<sup>[233,234]</sup> Die Cyclodextrine sind für gewöhnlich an Kieselgel gebunden, entweder über Ether- oder über eine Carbamatverknüpfung.

Basierend auf der Fähigkeit der makrocyclischen Cyclodextrine zur stereoselektiven Aufnahme von Gastmolekülen entwickelten Armstrong und Mitarbeiter eine neue, sehr erfolgreiche Klasse an CSPs, nämlich die makrocyclischen antibiotischen CSPs. Die erste stationäre Phase dieser Klasse war Vancomycin-modifiziertes Kieselgel.<sup>[235]</sup> Währenddessen kommerzialisierte das Unternehmen ASTEC (heute Sigma Aldrich, USA) mehrere andere CSPs, die auf glykopeptidischen Antibiotika basieren.<sup>[235]</sup> Als Beispiel ist in Abbildung 21 die Struktur von Teicoplanin wiedergegeben, bei dem es sich um den Selektor der kommerziell erhältlichen CSP Chirobiotic T handelt. Hohe Beladbarkeiten wurden für das Teicoplanin-Aglycon (Chirobiotic Tag) erreicht.<sup>[235d]</sup>

Weitere interessante Vertreter dieser Gruppe von CSPs sind chirale Kronenetherphasen, die ursprünglich von Cram und Mitarbeitern entwickelt wurden.<sup>[236]</sup>

#### Synthetische neutrale Moleküle mit geringem Molekulargewicht (Donor-Akzeptor-Phasen/Pirkle-Phasen)

Die erste kommerzialisierte CSP mit vollständig synthetischen Selektoren wurde von Pirkle und Mitarbeitern entwickelt.<sup>[200]</sup> Als Selektor wurde ein DNB-Phenylglycinderivat verwendet, das ionisch auf Kieselgel immobilisiert wurde. Später wurde eine größere Sammlung an CSPs vom Donor-Akzeptor-Typ entwickelt,<sup>[237]</sup> die häufig  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen zwischen elektronenreichen und elektronenarmen aromatischen Systemen als primäre Wechselwirkung ausnutzen. Besonders erfolgreich ist zurzeit die Whelk-O1-Phase, die präorganisierte Spalten zur Insertion der gelösten Substanzen aufweist und gleichzeitig Stapel- sowie T-artige  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen ermöglicht. Ein interessanter Vorteil dieser CSP ist die Tatsache, dass aufgrund der Verfügbarkeit der



**Abbildung 21.** Struktur des glycopeptidischen Antibiotikums Teicoplanin, des Selektors im CSP Chirobiotic T (mit vier Kavitäten A, B, C und D).

Selektoren in beiden enantiomeren Formen die Elutionsreihenfolge wählbar ist.<sup>[238]</sup>

*Synthetische ionische Moleküle mit geringem Molekulargewicht mit Ionenaustauschigenschaften*

Für die Trennung ionisierbarer chiraler Verbindungen wurden mehrere Ionentauscher entwickelt, wie beispielsweise chirale, auf Chinchona-Alkaloidderivaten basierende Anionentauscher zur Trennung chiraler Säuren<sup>[211,239]</sup> oder chirale, auf chiralen Aminosulfonsäuren basierende Kationentauscher zur Trennung chiraler Basen.<sup>[240]</sup> Am besten beschrieben sind Anionentauscher, die die Chinchona-Alkaloide Chinin und Chinidin als Rückgrat der Selektoren verwenden. Die entsprechenden Säulen sind insbesondere aufgrund ihrer bemerkenswerten Beladbarkeit sehr vielversprechend.<sup>[200]</sup>

*Chelatisierende Selektoren für die chirale Ligandenaustauschromatographie*

Die ersten CSPs für chiralen Ligandenaustausch wurden in den späten 60er Jahren entwickelt. Die Methode basiert auf der reversiblen Koordination immobilisierter Selektoren und Analyten innerhalb der Koordinationssphäre des Metallions, das einen gemischten ternären Metallion-Selektor-Analyt-Komplex bildet.<sup>[200]</sup> Davankov immobilisierte beispielsweise Prolin auf Polystyrol und verwendete diese enantioselektive Matrix in Kombination mit Cu<sup>II</sup>-haltigen mobilen Phasen zur Enantiomerentrennung von Aminosäuren.<sup>[241]</sup> Einen Überblick über die Methode gibt Lit. [242].

In der zuvor erwähnten Literatur wird ein breites Spektrum an Trennproblemen und Beispielen beschrieben. Die wichtige Problematik der Beladbarkeiten und Sättigungskapazitäten der CSPs wird in Lit. [219,220] angesprochen. Die Identifizierung des am besten geeigneten chromatographischen Systems zur Lösung eines spezifischen Trennproblems mithilfe systematischen Säulenscreenings wurde vor kurzem erläutert,<sup>[243]</sup> ebenso wie Versuche zur Miniaturisierung zur Ermöglichung von Hochdurchsatzmethoden.<sup>[244]</sup>

Die intensiven Forschungsaktivitäten in der Entwicklung verbesserter CSPs werden sicher auch in Zukunft verbesserte chirale stationäre Festphasen hervorbringen. Allerdings ist es neben der Ermittlung der geeigneten CSP zur Bewältigung einer Problemstellung bei der Enantiomerentrennung auch immer noch eine wichtige Aufgabe, ein Trennverfahren für präparative Zwecke sorgfältig zu entwerfen und den am besten geeigneten Betriebsmodus auszuwählen.

#### 4.2. Präparative Chromatographie

In analytischen Anwendungen der chromatographischen Trennung werden relativ geringe Probenmengen auf eine einzelne Säule aufgetragen. Dies erzeugt ein mehr oder weniger Gauß-förmiges Profil der eluierenden Peaks. Neben der Säuleneffizienz (d.h. der Anzahl der Böden), sind die Retentionszeiten und die Selektivitäten zwischen den zu trennenden Komponenten die Hauptparameter, die angepasst und optimiert werden müssen.

In der präparativen Chromatographie herrschen andere Zielvorstellungen. Hier müssen die Säulen für eine hohe Produktivität stark überladen werden. Dies wird durch die Injektion höherer Konzentrationen erreicht, die oft an der Grenze der Löslichkeit liegen, und/oder durch größere Probenolumina. Als Folge davon kontrollieren nichtlineare Regionen des Verteilungsgleichgewichts die Trennung und führen üblicherweise zu in hohem Maße asymmetrischen und verzerrten Peakformen. Neben den Selektivitäten werden nun die Beladbarkeiten der stationären Phase sehr wichtig. Um die Produktivität und die Wiedergewinnung zu steigern sowie den Lösungsmittelverbrauch zu senken, wurden mehrere Alternativen zur Batch-Chromatographie entwickelt und in der Industrie verwendet. Beispiele hierfür sind in Lit. [245,246] aufgeführt. Eine Verfahrensart, die die konventionelle Batch-Chromatographie verbessert, nutzt das Prinzip der Rezyklisierung nicht ausreichend getrennter Fraktionen, wie beispielsweise das sogenannte Steady-State-Recycling.<sup>[247]</sup> Die wichtigsten zur Enantiomerentrennung eingesetzten Verfahren werden in Lit. [38,199,248] erläutert. Nützliche Hinweise und Faustregeln zur Ausarbeitung einer präparativen chromatographischen Enantiomerentrennung sind in Lit. [249] gegeben.

Aufgrund der Tatsache, dass ein quantitatives Verständnis und die gezielte Entwicklung einer präparativen Chromatographie die Berücksichtigung der nichtlinearen Adsorptionsisothermen erfordert, ist die mathematische Beschreibung des Verlaufs der Konzentrationsprofile in den Säulen anspruchsvoller als in der analytischen Chromatographie. Heutzutage stehen jedoch ausreichend genaue Modellgleichungen und die zur Lösung erforderlichen Instrumente zur Verfügung.<sup>[214,215]</sup> Wichtige Merkmale der nichtlinearen „überladenen“ Chromatographie, wie Verdrängungs- und Mitreißeffekte sowie die erwähnten Peakverbreiterungen, sind daher gut verstanden. Da ausreichend genaue Methoden zur Vorhersage fehlen, ist die Tatsache, dass die erforderlichen Adsorptionsisothermen experimentell bestimmt werden müssen, noch immer ein bedeutendes Problem. Zur Erfüllung dieser Aufgabe wurde ein breites Spektrum an Methoden

entwickelt.<sup>[250]</sup> Vorausgesetzt, dass die thermodynamischen Funktionen und die Effizienz der Säulen bekannt sind, können verschiedene Betriebsarten gut vorausgesagt und optimiert werden. Das vorhandene theoretische Instrumentarium kann genutzt werden, um Laborergebnisse auf industrielle Säulen zu übertragen.<sup>[251]</sup> Ein leistungsstarker Modellierungsansatz zur Simulation und gezielten Entwicklung der Steady-State-Recyclingchromatographie wurde vor kurzem entworfen.<sup>[252]</sup>

Aufgrund der Verfügbarkeit von sowohl CSPs hoher Kapazität und Selektivität als auch von mathematischen Werkzeugen, die das Design verschiedener Betriebsarten ermöglichen, ist die Trennung racemischer Gemische mithilfe der präparativen Flüssigchromatographie derzeit in vielen Fällen der schnellste Weg zur Erzeugung kleiner Mengen reiner Enantiomere. In den letzten Jahren verbesserte ein besonderes Verfahren mit mehreren miteinander verbundenen Säulen das Potential der chromatographischen Enantiomertrennung und führte zu verschiedenen Anwendungen im größeren Maßstab. Dieses Verfahren wird im nächsten Abschnitt eingeführt.

#### 4.3. Simulated-Moving-Bed-Chromatographie

Das Grundkonzept der Simulated-Moving-Bed(SMB)-Chromatographie wurde bereits 1961 patentiert.<sup>[218]</sup> Ursprünglich wurde es in der petrochemischen und in der Zuckerindustrie eingesetzt, beispielsweise zur Trennung der Xyloisomere sowie von Fructose von Glucose.<sup>[253,254]</sup>

Zur Erklärung des SMB-Verfahrens ist es sinnvoll, zunächst ein hypothetisches True-Moving-Bed(TMB)-Verfahren zu erläutern. Wie schematisch in Abbildung 22 gezeigt, basiert das Verfahren auf einem Gegenstrom der beiden beteiligten Phasen, nämlich der flüssigen mobilen Phase und der festen Phase (in diesem Fall nicht stationär). Das TMB-Verfahren ist durch zwei eintretende Ströme charakterisiert – den Zulaufstrom, der das zu trennende Gemisch enthält, und den desorbierenden oder Eluentenstrom – sowie durch zwei Produktauslaufströme. Die Ein- und Auslässe teilen die Anlage in vier Zonen I, II, III und IV. Das Verfahren wirkt als

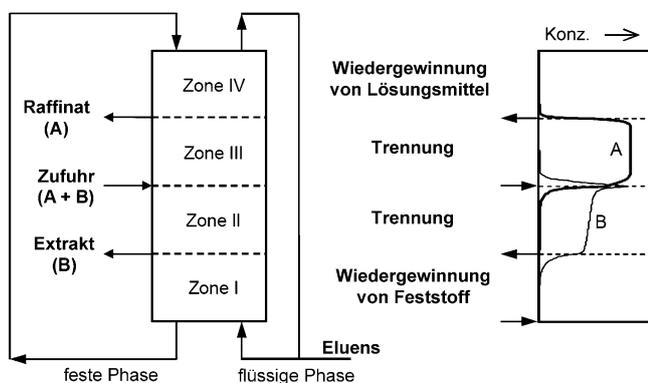


Abbildung 22. Prinzip der True-Moving-Bed(TMB)-Chromatographie und typische interne Konzentrationsprofile für die Trennung eines binären Gemischs bestehend aus den Komponenten A und B.

binärer Fraktionator und kann Gemische trennen, die aus zwei Komponenten A und B bestehen, beispielsweise zwei Enantiomeren. Unter erfolgreichen Bedingungen ist einer der austretenden Ströme mit der weniger adsorbierbaren Verbindung A angereichert (der Raffinatstrom), und der andere ist mit der stärker adsorbierbaren Verbindung B angereichert (der Extraktstrom). Jede der vier Zonen muss bestimmte Aufgaben erfüllen. Die Trennung der zwei Komponenten des zugeführten Gemischs muss in den beiden mittleren Zonen II und III ablaufen. Hier müssen die Flussraten so festgesetzt sein, dass Komponente A in die Richtung des Raffinatauslasses transportiert wird und Komponente B in die Richtung des Extraktauslasses. Das Desorbieren wird Zone I zugeführt, um Komponente B aufzunehmen und somit die feste Phase zu regenerieren. Komponente A wird auf der festen Phase in Zone IV adsorbiert, um den Eluenten zu regenerieren. Das Verfahren erreicht einen Gleichgewichtszustand, in dem die Positionen der internen Konzentrationsprofile unverändert bleiben. Vorausgesetzt, dass die Flussraten korrekt angepasst wurden, kann, wie in Abbildung 22 veranschaulicht, eine vollständige Trennung des Zulaufgemischs erreicht werden.

Der Nachteil des beschriebenen TMB-Verfahrens ist die Tatsache, dass ein kontinuierlicher Transport fragiler fester Partikel ohne eine unerwünschte Rückvermischung kaum möglich ist. Dies führte zu der Idee des Simulated-Moving-Bed-Verfahrens (Abbildung 23). Hierbei wird der Gegen-

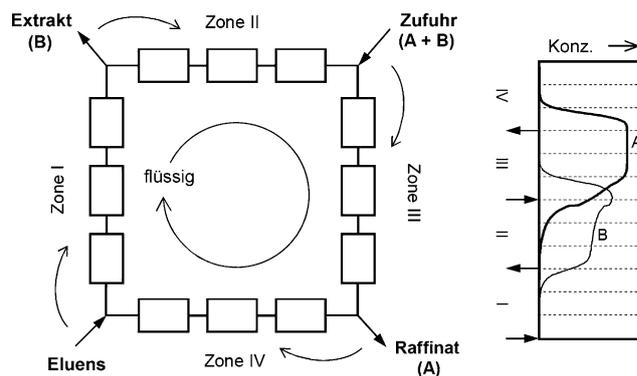


Abbildung 23. Prinzip der Simulated-Moving-Bed(SMB)-Chromatographie und typische interne Konzentrationsprofile am Ende einer Schaltperiode für eine binäre Trennung.

strom zwischen flüssiger und stationärer Phase entweder durch periodisches synchrones Weiterschalten der Zu- und Ablaufpositionen oder Bewegungen der Trennsäulen simuliert. Die Verweildauer einer Säule in einer Zone wird als Zyklus- oder Schaltzeit bezeichnet. Sie ist ein Äquivalent zum Volumenstrom der festen Phase des entsprechenden TMB-Prozesses. Somit imitiert das SMB-Verfahren den TMB-Prozess unter Beibehaltung von dessen attraktiven Eigenschaften. Aufgrund der getrennten Schaltabläufe erreicht das SMB-Verfahren keinen stationären Zustand, der sich u.a. durch eine konstante Zusammensetzung der Auslassströme auszeichnen würde. Stattdessen erreicht es einen „zyklisch stationären Zustand“, der durch eine periodische Wiederholung

an Konzentrationsmustern in den Zonen und an den Auslasspositionen charakterisiert ist.

Die Akzeptanz des SMB-Verfahrens durch die pharmazeutische Industrie erfolgte mit einiger Verzögerung. Gründe waren die Schwierigkeit der Trennprobleme, höhere Anforderungen an die Produktreinheit und das Fehlen zuverlässiger Designkonzepte. Nach der ersten erfolgreichen Enantiomerentrennung 1992 mittels SMB-Verfahren<sup>[217]</sup> wurden viele weitere Anwendungen dieser hochproduktiven Methode berichtet (siehe z.B. Lit. [255–257]). Mehrere umfassende Übersichtsartikel beschreiben die Erfolgsgeschichte.<sup>[258–263]</sup> Typische Produktivitäten, die mit der SMB-Technik erreichbar sind, liegen im Bereich von  $1\text{--}10 \text{ kg}_{\text{Enantiomer}} \text{ kg}_{\text{CSP}}^{-1} \text{ Tag}^{-1}$ . Der Durchbruch der SMB-Chromatographie als leistungsstarkes Instrument zur Enantiomerentrennung steht in engem Zusammenhang mit der Entwicklung einfach anwendbarer Auslegungsregeln<sup>[264–266]</sup> zusammen mit einer verbesserten Verfügbarkeit der erforderlichen Geräteausstattung.

Neben dem konventionellen 4-Zonen-SMB-Verfahren mit geschlossenem Kreislauf wurden in den letzten Jahren mehrere verbesserte Modifikationen entwickelt (siehe z.B. Lit. [267–270]), die auch die Anwendung überkritischer Flüssigkeiten als mobile Phase beinhalten.<sup>[271,272]</sup> Die Verfügbarkeit dieser Varianten erweiterte das Anwendungsspektrum<sup>[273]</sup> und führte bereits zu den ersten erfolgreichen Reinigungen von Biomolekülen mittels kontinuierlicher Chromatographie.<sup>[274]</sup>

#### 4.4. Beispiele präparativer chromatographischer Enantiomerentrennungen

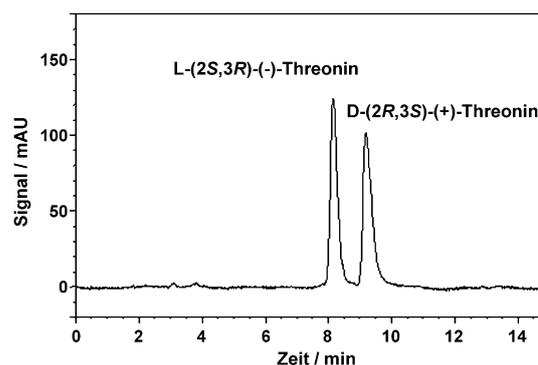
In diesem Abschnitt werden anhand der chiralen Moleküle, für die im vorigen Abschnitt Möglichkeiten der enantioselektiven Kristallisation diskutiert wurden, verschiedene Aspekte enantioselektiver präparativer chromatographischer Trennungen illustriert.

Aufgrund der großen Auswahl an verfügbaren chiralen stationären Phasen (Abschnitt 4.1) bieten sich in den meisten Fällen mehrere Möglichkeiten, um eine chromatographische Enantiomerentrennung durchzuführen. Leider steht noch kein zuverlässiges theoretisches Instrumentarium zur Verfügung, um schnell die beste Kombination aus chiralen stationären und mobilen Phasen für ein gegebenes Trennproblem zu ermitteln. Infolgedessen basiert diese Auswahl üblicherweise auf Screeningstudien, bei denen analytische (kleine) Probenmengen in mit potentiellen CSP-Kandidaten gefüllte kleine Laborsäulen dosiert werden. Es sollte eine ausreichende Löslichkeit in den überprüften Lösungsmitteln oder Lösungsmittelgemischen gegeben sein. Als Ergebnis dieser empirischen Suche können aus den Verhältnissen der Retentionszeiten Selektivitäten zwischen den beiden Enantiomeren berechnet werden, die für verdünnte Bedingungen gelten. Üblicherweise wird in einer zweiten empirischen Etappe für die vielversprechendsten chromatographischen Systeme eine systematischere Studie durchgeführt. Hierbei müssen als wichtigste zur Vorhersage von Chromatogrammen erforderliche Information die Adsorptionsisothermen in einem breiteren Konzentrationsbereich bestimmt werden.

Diese thermodynamischen Funktionen quantifizieren die Säulenkapazitäten, erlauben die Optimierung der Betriebsbedingungen sowie die Diskriminierung zwischen rivalisierenden Arbeitsbereichen und bilden somit schließlich die wesentliche Basis für die quantitative Auslegung des gewählten chromatographischen Trennverfahrens.

##### a) Threonin

Ein Beispiel für eine erfolgreiche chromatographische Trennung eines racemischen Gemischs unter analytischen Bedingungen ist in Abbildung 24 für die Aminosäure DL-Threonin abgebildet. Hierbei wurde eine stationäre Phase aus Chirobiotic T (siehe Abbildung 24) mit einem Ethanol-

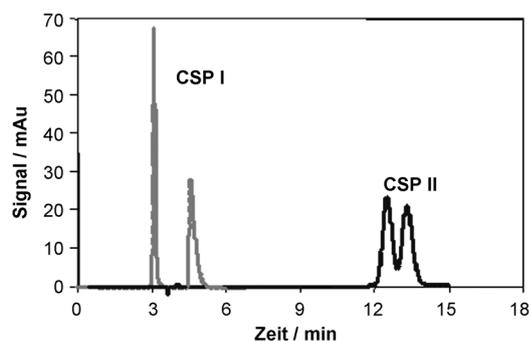


**Abbildung 24.** Chromatographische Trennung von DL-Threonin. Chirale stationäre Phase: Chirobiotic T ( $5 \mu\text{m}$ ,  $L=250$ ,  $d=4.6 \text{ mm}$ , ASTEC/Sigma Aldrich, USA), mobile Phase: Ethanol/Wasser (60:40,  $v/v$ ). Injektionsvolumen:  $5 \mu\text{L}$ , Injektionskonzentration: 1% DL-Threonin in Wasser, Flussrate:  $0.5 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $T=24^\circ\text{C}$ , Detektion: UV bei  $200 \text{ nm}$ .<sup>[173]</sup>

Wasser-Gemisch (60:40) als mobile Phase verwendet. Offensichtlich liegt eine erhebliche Selektivität vor, die für präparative Zwecke ausgenutzt werden kann, indem periodisch größere Mengen an DL-Threonin dosiert werden. Die Entwicklung und Anwendung einer chromatographischen Methode für die Trennung größerer Mengen dieser Threonin-Enantiomere ist allerdings nicht sinnvoll, da diese Aminosäure zu der relativ kleinen Gruppe der Konglomerate gehört, für die das Verfahren der Bevorzugten Kristallisation (Abschnitt 3) deutlich attraktiver ist als die anspruchsvollere chromatographische Trennung. Daher wurden keine weiteren Anstrengungen unternommen, die chromatographische Trennung von DL-Threonin in einem größeren Maßstab durchzuführen.

##### b) Mandelsäure

Abbildung 25 zeigt zwei chromatographische Trennungen eines in Wasser gelösten racemischen Gemischs der Mandelsäure-Enantiomere. Es wurden zwei Arten an chiralen stationären Phasen in konventionellen HPLC-Säulen verwendet (CSP I: das makrocyclische Glycopeptid Chirobiotic T mit Triethylammoniumacetat/Methanol als mobile Phase; CSP II: eine auf Cyclodextrin basierende CSP mit



**Abbildung 25.** Chromatographische Trennungen von racemischer Mandelsäure mithilfe zweier verschiedener chiraler stationärer Phasen. Erste Peaks: (S)-(+)-Mandelsäure, zweite Peaks: (R)-(-)-Mandelsäure. Injektionsvolumen: 1  $\mu\text{L}$ , Injektionskonzentration: 1% (RS)-( $\pm$ )-Mandelsäure in Wasser, Flussrate: 0.5  $\text{mL min}^{-1}$ , Temperatur: 20 °C, Detektion: UV bei 254 nm. CSP I: Chirobiotic T (ASTEC/Sigma Aldrich, USA, 5  $\mu\text{m}$ , 150  $\times$  4.6 mm), mobile Phase A: 0.3 M Methanol/TEAA (20:80,  $\nu/\nu$ ), pH 4,  $T = 40^\circ\text{C}$ . CSP II: Nucleodex  $\beta$ -OH (Macherey-Nagel, Deutschland, 5  $\mu\text{m}$ , 200  $\times$  4 mm), mobile Phase: 0.05 M  $\text{NH}_4\text{Ac}$ /Acetonitril (95:5,  $\nu/\nu$ ), pH 3,  $T = 20^\circ\text{C}$ .<sup>[173]</sup>

einer wässrigen Pufferlösung und Acetonitril als mobile Phase) (Tabelle 3). Details der Bedingungen für die Trennung sind in der Abbildungslegende aufgeführt. Offensichtlich bietet CSP I die höhere Selektivität für diese Trennung.

**Tabelle 3:** Für die Trennung der Mandelsäure-Enantiomere verwendete Zusammensetzungen der CSPs und der mobilen Phasen ( $\nu/\nu$ ).<sup>[275, 276]</sup>

CSP	Mobile Phase <sup>[a]</sup>
I	A: MeOH:0.3 M TEAAc (20:80), pH 4.02
I	B: EtOH:0.36 M TEAAc (1:1), pH 6.56
I	C: MeOH:MeCN:TEAAc:HOAc (54.5:45:0.25:0.25)
II	MeCN:HOAc:0.05 M AAc (4.5:9.1:86.4), pH 3.0

[a] MeOH: Methanol, TEAAc: Triethylammoniumacetat, EtOH: Ethanol, MeCN: Acetonitril, HOAc: Essigsäure, AAc: Ammoniumacetat.

Neben der Selektivität ist auch die Beladbarkeit der stationären Phase von großer Bedeutung. Häufig kann das Modell der Langmuir-Adsorptionsisothermen zur Beschreibung der üblicherweise nichtlinearen Verteilungsgleichgewichte angewendet werden.<sup>[216]</sup>

$$q = q_{\text{sat}} \frac{bc}{1 + bc} \quad (1)$$

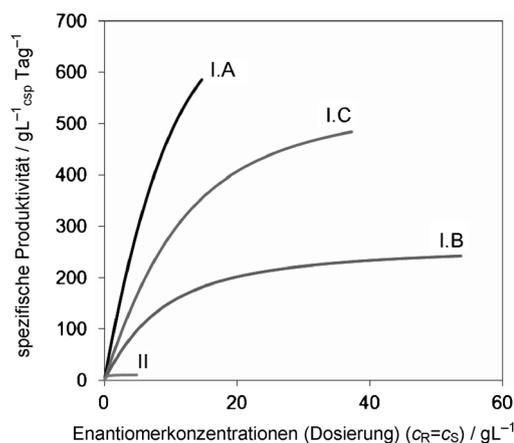
In dieser Gleichung stehen  $c$  und  $q$  für die Konzentrationen in der Flüssigkeit bzw. der adsorbierten Phase,  $q_{\text{sat}}$  ist die Sättigungskapazität, und  $b$  ist ein Parameter, der die Nichtlinearität der Isothermen beschreibt. Die durch Vermessung von Durchbruchkurven („frontal analysis“) ermittelten Parameter aus Gleichung (1) sind in Tabelle 4 für die beiden zur Trennung der Mandelsäure-Enantiomere anwendbaren CSPs aufgeführt.<sup>[250, 275–277]</sup> Zusätzlich wurden zwei weitere mobile Phasen berücksichtigt (Tabelle 3), die höhere Löslichkeiten ermöglichen. Die Isothermenparameter offenbaren, dass die verschiedenen chromatographischen Systeme sehr unter-

**Tabelle 4:** Parameter der Adsorptionsisothermen und Löslichkeitsabschätzung der Mandelsäure-Enantiomere für verschiedene chromatographische Systeme.<sup>[275–277]</sup>

System	Enantiomer	$T$ [°C]	$q_{\text{sat}}$ [ $\text{g L}^{-1}$ ]	$b$ [ $\text{L g}^{-1}$ ]	$\alpha = (q_{\text{sat}} b)_R / (q_{\text{sat}} b)_S$	$c_{\text{max}}$ [ $\text{g L}^{-1}$ ]
I.A	R-(-)	40	77.8	0.0207	1.40	15
	S-(+)	40	261.2	0.0044		15
I.B	R-(-)	40	181.8	0.0064	1.14	55
	S-(+)	40	178.3	0.0057		55
I.C	R-(-)	40	155.1	0.0086	1.24	38
	S-(+)	40	276.4	0.0039		38
II	R-(-)	20	70.6	0.1222	1.07	5
	S-(+)	20	72.5	0.1111		5

schiedliche initiale Isothermenanstiege, Sättigungskapazitäten und Trennfaktoren aufweisen. In Tabelle 4 sind außerdem Maximalkonzentrationen  $c_{\text{max}}$  aufgeführt, die den Anwendungsbereich des Adsorptionsisothermenmodells sowie ungefähre Löslichkeitsobergrenzen als eine wichtige Randbedingung in der präparativen Chromatographie kennzeichnen.

Unter Verwendung der ermittelten thermodynamischen Informationen sowie der spezifischen theoretischen Trennstufenzahlen der chromatographischen Säulen wurde eine Optimierungsstudie durchgeführt. Dabei wurden Leistungsparameter mit einem konventionellen dynamischen Prozessmodell vorhergesagt.<sup>[216, 275, 276]</sup> In Abbildung 26 sind die Er-



**Abbildung 26.** Produktivitäten der chromatographischen Trennung von racemischer Mandelsäure als Funktion der Injektionskonzentration für die vier in den Tabellen 3 und 4 zusammengefassten Systeme.<sup>[276]</sup>

gebnisse in Bezug auf die erreichbaren Produktivitäten dargestellt. Für alle Systeme ist es vorteilhaft, die Säulen in der Nähe der Löslichkeitsgrenze zu betreiben. Die höchste Leistung erbringt CSP I zusammen mit der mobilen Phase A. Dies ist im Wesentlichen auf den von diesem System gebotenen höchsten Trennfaktor zurückzuführen ( $\alpha = 1.40$ ). Obwohl die mobile Phase B eine deutlich höhere Löslichkeit und mit CSP I ähnliche Sättigungskapazitäten wie mit System I.A bietet, kann der geringere Trennfaktor nicht kompensiert werden. Offensichtlich kann CSP II nicht als Alternative zur Lösung dieses Trennproblems in Betracht gezogen werden.

c) **Trägersche Base**

Die Trennung der racemischen Trägerschen Base ist ein klassischer Testproblem in der chromatographischen Enantiomerentrennung. Die erste erfolgreiche Trennung unter Verwendung von mikrokristallinem Cellulosetriacetat als CSP wurde 1973 von Hesse und Hagel beschrieben.<sup>[278]</sup> Die Ergebnisse weiterer systematischer Untersuchungen sind in Lit. [279] gegeben. Die erfolgreiche Anwendung von Cellulosetriacetat in einem kontinuierlichen SMB-Verfahren mit 8 Säulen wurde in Lit. [280] beschrieben. Später erwiesen sich viele weitere CSPs als für die Trennung geeignet. Die Ergebnisse des Screenings von Polysacchariden und Lösungsmitteln ebenso wie eine Optimierung der Beladbarkeit und der Produktivität sind beschrieben.<sup>[281]</sup> Erfolgreiche Enantiomerentrennungen funktionalisierter Derivate der Trägerschen Base unter Verwendung verschiedener CSPs wurden in Lit. [282–284] erörtert.

Erste Berichte über ungewöhnliche Formen der chromatographischen Peaks der Enantiomere der Trägerschen Base sind in Lit. [285,286] publiziert. In Arbeiten unserer Gruppe wurden diese merkwürdigen Peakformen bestätigt.<sup>[287]</sup> Abbildung 27 zeigt einzelne Elutionsprofile der beiden reinen Enantiomere der Trägerschen Base mit mikrokristallinem Cellulosetriacetat (CTA) als stationäre Phase und reinem Ethanol als mobile Phase. In einer Serie aus Überladungen der Säule kann für das (–)-Enantiomer die Entwicklung asymmetrischer Peaks mit einem zunehmenden „Tailing“ beobachtet werden, wohingegen die Peakformen des (+)-Enantiomers einem anderen Verlauf folgen. Im Verlauf sukzessiver Säulenüberladungen sind die Elutionsprofile der (+)-Trägerschen Base durch eine initiale Orientierung des Peakmaximums hin zu längeren Retentionszeiten charakterisiert. Durch weiteres Beladen ändert sich dieser Verlauf, und die Orientierung des Maximums verschiebt sich zu kür-

zeren Retentionszeiten, was typisch ist für die Langmuirschen Systeme, die Gleichung (1) folgen.<sup>[216]</sup>

Systematische Studien zur Messung der Adsorptionsisothermen der beiden Enantiomere mittels Frontalanalyse<sup>[250]</sup> belegten die komplexe Form der Isotherme für das (+)-Enantiomer (Abbildung 28). Die Isotherme ist durch einen Wendepunkt bei einer Konzentration der flüssigen Phase von etwa  $0.5 \text{ g L}^{-1}$  charakterisiert.

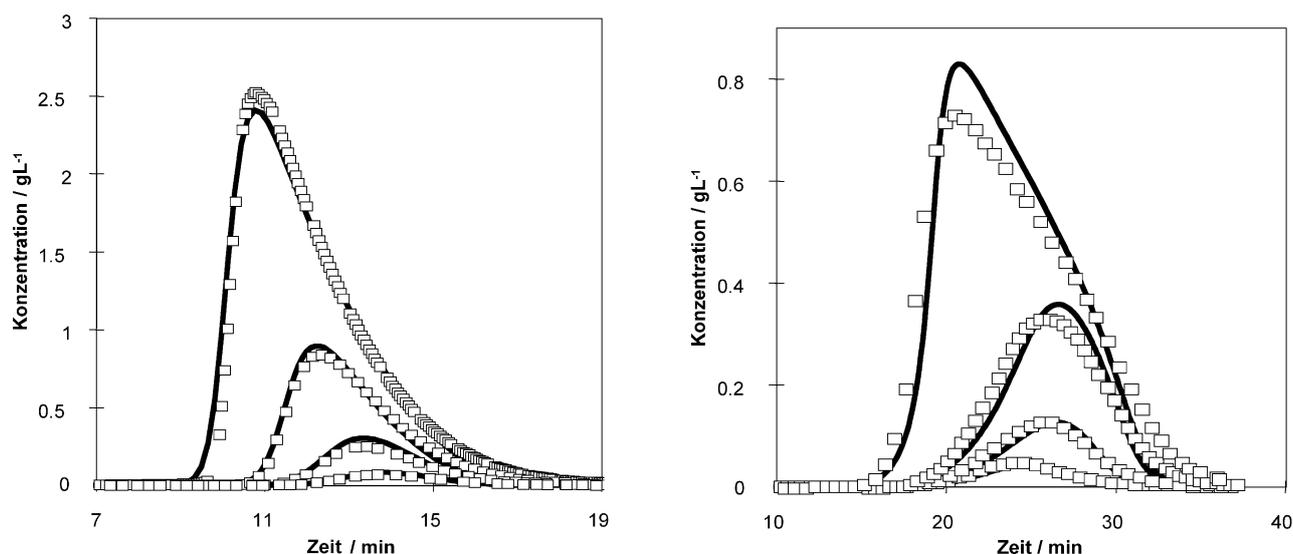
Die für das (+)-Enantiomer gemessene Isotherme kann nur mittels komplexerer Isothermengleichungen beschrieben werden. Die folgende quadratische Gleichung, die aus der statistischen Thermodynamik hervorgeht, kann das beobachtete Verhalten wiedergeben.<sup>[288]</sup>

$$q = q_{\text{sat}} \frac{c(b_1 + 2b_2c)}{1 + b_1c + b_2c^2} \quad (2)$$

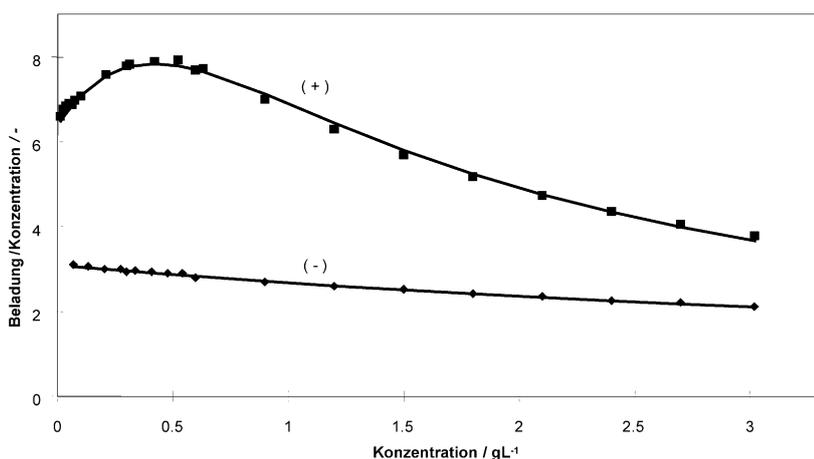
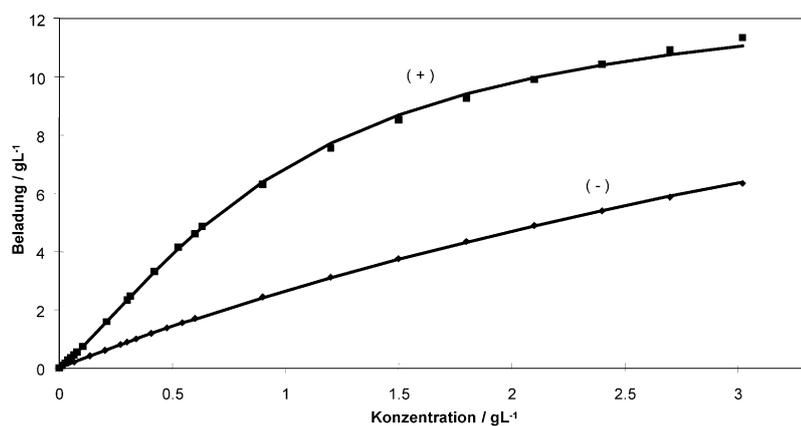
Unter Verwendung a) der in Lit. [289,291] abgeleiteten Parameter, b) der Theorie der ideal adsorbierten Lösung,<sup>[292]</sup> die Mehrkomponenten-Adsorptionsgleichgewichte für beliebige Formen der Einzelkomponenten-Isothermen beschreiben kann, und c) des Gleichgewichtsdispersionsmodells einer Chromatographiesäule<sup>[216]</sup> konnten gemessene Elutionsprofile der Trägerschen Base für die einzelnen Enantiomere (Abbildung 27) und racemische Gemische (Abbildung 29) recht gut abgebildet werden.<sup>[293]</sup>

Weitere Arbeiten hinsichtlich der thermodynamischen Charakterisierung dieses anspruchsvollen Chromatographiesystems und erste Versuche, das Verhalten basierend auf molekularen Simulationen zu erklären, sind in Lit. [294,295] zu finden.

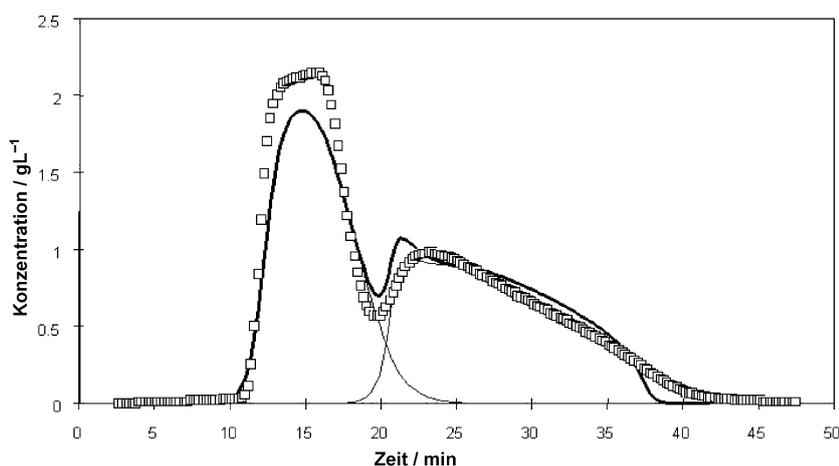
Berichte über erfolgreiche kontinuierliche chromatographische Trennungen der Enantiomere der Trägerschen Base mittels SMB-Verfahren und ChiralPak AD als CSP wurden vor kurzem publiziert.<sup>[296,297]</sup>



**Abbildung 27.** Serie an Überladungen einer mikrokristallinen Cellulosetriacetatsäule mit Injektionen der reinen Enantiomere der Trägerschen Base. Mobile Phase: Ethanol, Flussrate:  $0.5 \text{ mL min}^{-1}$ , Temperatur:  $20^\circ\text{C}$ , Injektionskonzentration:  $15 \text{ g L}^{-1}$ , Injektionsvolumina: 10, 30, 90, 250  $\mu\text{L}$ . Links: (–)-Trägersche Base. Rechts: (+)-Trägersche Base. Symbole: Experiment, Linien: Theorie.<sup>[293]</sup>



**Abbildung 28.** Adsorptionsisothermen (oben) bei 20°C und die zugehörigen Profile  $q/c$  vs.  $c$  (unten) für die Adsorption der Enantiomere der Trögerschen Base in Ethanol auf mikrokristallinem Cellulosetriacetat.<sup>[293]</sup>



**Abbildung 29.** Gemessenes und simuliertes Chromatogramm für die Trennung der Enantiomere der Trögerschen Base bei starker Überladung der Säule. Symbole: Experiment, Linien: Gleichgewichtsdispersionsmodell unter Verwendung der Theorie der ideal adsorbierten Lösung [Gl. (2)]. Flussrate: 0.5 mL min<sup>-1</sup>, Temperatur: 20°C, Injektionsvolumina: 1 µL, Injektionskonzentrationen: 1.5 g L<sup>-1</sup>.<sup>[293]</sup>

#### d) Methionin

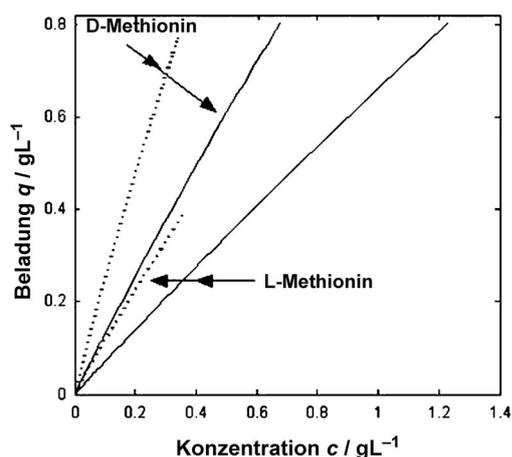
Zur Durchführung einer Vergleichsstudie wurden in Lit. [298] zwei auf makrocyclischen Glycopeptiden basierende CSPs zur Trennung der Methionin-Enantiomere eingesetzt, nämlich Teicoplanin (Chirobiotic T, ASTEC/Sigma Aldrich, USA) und Eremomycin (Chirasel E, BioChemMack, Russland). Eremomycin ( $M = 1540 \text{ g mol}^{-1}$ )<sup>[299]</sup> enthält 22 Chiralitätszentren, drei Hohlräume, drei Zuckereinheiten, fünf aromatische Ringe, eine Carboxylgruppe, neun Hydroxygruppen, sieben Amidfunktionen und drei Amino-

gruppen. In Abbildung 30 sind die Adsorptionsisothermen der beiden Methionin-Enantiomere bei 25°C für diese CSP dargestellt. Die entsprechenden Zusammensetzungen der mobilen Phasen sind in der Abbildungslegende angegeben. Die Selektivitäten sind signifikant und unterscheiden sich für die beiden CSPs kaum.

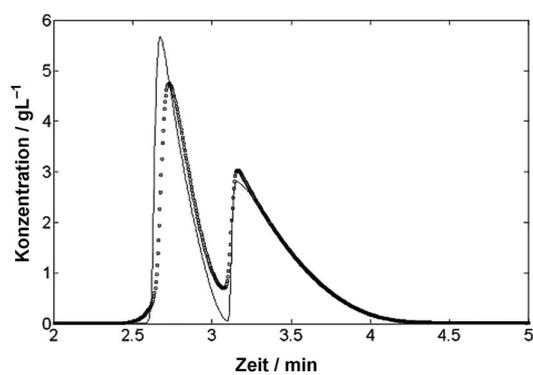
Elutionsprofile wurden anhand der in Abbildung 30 gezeigten Isothermen und des bereits erwähnten Gleichgewichtsdispersionsmodells vorhergesagt. Ein typisches Ergebnis ist in Abbildung 31 zu sehen. Es demonstriert die Eignung der Adsorptionsisothermen- und Säulenmodelle zur Beschreibung der Form der Elutionsprofile und zur Evaluation von Leistungsparametern.

Abbildung 32 fasst die Ergebnisse intensiver numerischer Simulationen zusammen, die mit dem validierten Modell durchgeführt wurden. Für die verwendete Batchsäule (Labormaßstab) wurde der Einfluss der injizierten Menge auf das mathematische Produkt aus Produktivität ( $PR$ ) und Ausbeute (recovered yield,  $RY$ , bezogen auf die Menge im Ausgangsmaterial) untersucht. Die Abbildung belegt eindeutig die bessere Leistung von Chirasel E und liefert Informationen über die geeignetsten Injektionsmengen. Außerdem ist zu erkennen, dass die Leistung des chromatographischen Verfahrens höher ist, wenn das zuerst eluierende L-Methionin das Zielmolekül ist. Basierend auf dieser Information können klassische Scale-up-Regeln zur Vorhersage optimaler Betriebsparameter für größere Säulen angewendet werden.<sup>[216]</sup>

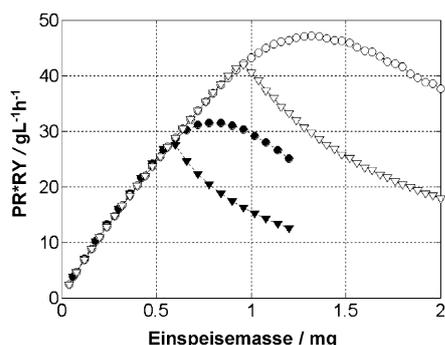
Aufgrund der Tatsache, dass Chirasel E produktiver war und auch stabiler zu sein schien als Chirobiotic T, wurde es in einer experimentellen SMB-Untersuchung ver-



**Abbildung 30.** Adsorptionsisothermen von L- und D-Methionin bei 25 °C für Chirobiotic T (Punkte) mit EtOH/H<sub>2</sub>O 40:60 (ν/ν) und Chirasel E (Linie) mit MeOH/H<sub>2</sub>O (0,1 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 20:80 (ν/ν).<sup>[298]</sup>



**Abbildung 31.** Experimentelle (Symbole) und berechnete Elutionsprofile (Punkte) von DL-Methionin für die Chirasel E-Säule. Injektionskonzentrationen für beide Enantiomere: 6,1 g L<sup>-1</sup>; der erste Peak entspricht L-Methionin.<sup>[298]</sup>



**Abbildung 32.** Produktivität (PR) multipliziert mit der Ausbeute (RY) von L- (Kreise) und D-Methionin (Dreiecke) als Funktion der injizierten Menge für zwei CSPs (Chirobiotic T, EtOH/H<sub>2</sub>O 40:60 (ν/ν), geschlossene Symbole, und Chirasel E, MeOH/H<sub>2</sub>O (0,1 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 20:80 (ν/ν), offene Symbole). Vorgegebene Reinheitsanforderung: 99%.<sup>[300]</sup>

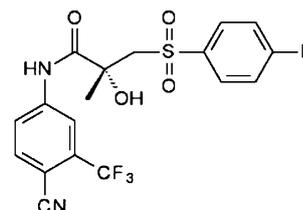
wendet. Es wurden 8 miteinander verbundene konventionelle HPLC-Säulen eingesetzt (jeweils  $L = 10$  cm,  $d = 0,46$  cm). Dabei wurden Zulaufkonzentrationen von bis zu 10 g L<sup>-1</sup> verwendet, die im nichtlinearen Bereich der Adsorptions-

isothermen liegen. Eine erfolgreiche kontinuierliche Trennung der beiden Methionin-Enantiomere gelang nach einer sorgfältigen Auslegung des SMB-Prozesses. Die Gesamtproduktivität des Trennverfahrens wurde zu etwa 0,75 kg kg<sup>-1</sup> CSP Tag<sup>-1</sup> ermittelt.<sup>[300]</sup>

## 5. Kopplung von Chromatographie und Kristallisation

Nachdem wir enantioselektive Kristallisation und Chromatographie separat diskutiert haben, wird in diesem Abschnitt ein sehr vielversprechendes Konzept beschrieben, das auf einer Kopplung der beiden Techniken basiert. Die Grundidee dahinter ist die bekannte Tatsache, dass jedes Trennverfahren an Leistung einbüßt, wenn die Anforderungen bezüglich der Produktreinheit angehoben werden. Betrachtet man beispielsweise die SMB-Chromatographie, ist offensichtlich, dass das Verfahren deutlich sorgfältiger und konservativer ausgelegt und betrieben werden muss, wenn die Reinheit der die entsprechenden Einheiten verlassenden Ströme sehr hoch sein muss im Vergleich zu einer Konstellation, in der niedrigere Reinheiten akzeptabel sind. Darüber hinaus handelt es sich bei der Kristallisation verglichen mit der präparativen Chromatographie um ein kostengünstigeres und im Allgemeinen einfacheres Verfahren. Wie zuvor diskutiert, ist im Fall von Systemen mit racemischen Verbindungen für die erfolgreiche Anwendung enantioselektiver Kristallisationstechniken allerdings die Bereitstellung einer gewissen enantiomeren Anfangsanreicherung erforderlich. Demzufolge bietet es sich an, der Kristallisation einen chromatographischen Schritt vorzuschalten, der gerade die erforderliche Ausgangszusammensetzung liefert.<sup>[301–303]</sup> Beispiele für solche Hybridverfahren wurden vor kurzem systematisch im Rahmen des europäischen FP7-Projekts INTENANT (INTEgrierte Synthese und Trennung von ENANTIomeren) untersucht. Dieses Projekt war erfolgreich in der Erforschung von Möglichkeiten zur Kombination von chemischen und physikalischen Verfahren zur Gewinnung reiner Enantiomere.<sup>[34]</sup>

Im Rahmen des INTENANT-Projekts wurde u. a. eine umfassende Fallstudie zur Racemattrennung von Bicalutamid, einem zur Behandlung von Prostatakrebs verwendeten Wirkstoff, mittels SMB-Chromatographie, mit dem Ziel der Durchsatzmaximierung bei reduzierter Produktreinheit durchgeführt.<sup>[168]</sup> Abbildung 33 zeigt die Struktur des gewünschten (R)-Enantiomers. Derzeit wird Bicalutamid als Racemat verkauft. Die Isolierung des reinen (R)-Enantiomers aus einem zuvor angereicherten Gemisch beider



**Abbildung 33.** Struktur von (R)-Bicalutamid.<sup>[168]</sup>

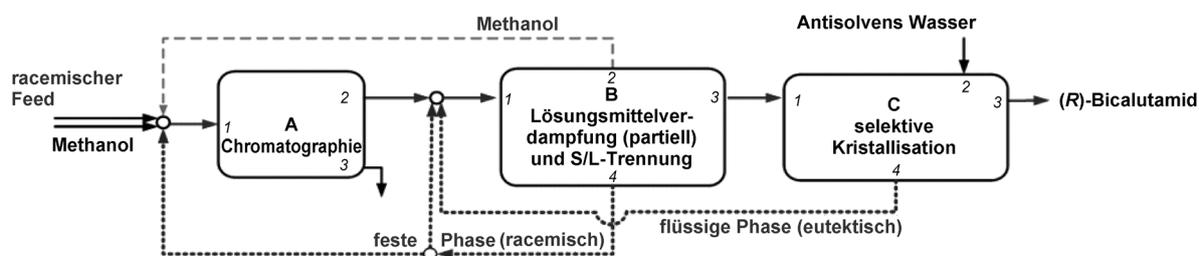


Abbildung 34. Fließschema des gekoppelten Verfahrens zur Isolierung von (R)-Bicalutamid (Zielenantiomer). Das racemische Feed-Gemisch wird zunächst mittels SMB-Chromatographie (A) angereichert und in zwei nachfolgenden Kristallisationsschritten (B und C) weiter aufgereinigt. Rezyklierung von Teilen der festen Phase aus (B) und der gesamten Mutterlauge aus (C) erhöhen die Ausbeute. (Aus Lit. [168].)

Enantiomere konnte erfolgreich vom Labormaßstab mit nur wenigen Gramm an Material auf einen Maßstab von 600 g des Racemats übertragen werden. Der Durchsatz des anfänglichen SMB-Chromatographieschrittes mit Chiralpak AD als stationärer Phase konnte durch die Absenkung der Reinheitsvorgaben deutlich angehoben werden. Die den SMB-Auslass verlassende Fraktion besaß eine Zielerreichung von 92:8 und wurde, wie in Abbildung 34 dargestellt, zwei weiteren Kristallisationsschritten unterworfen. Weitere Details, wie sich die Verschiebung der eutektischen Zusammensetzung im Bicalutamid-Phasendiagramm mit der Temperatur sowie die Zugabe von Wasser als Antisolvens für ein optimales Trennergebnis nutzen lässt, sind an anderer Stelle beschrieben.<sup>[168]</sup> Die zwei Kristallisationsschritte erhöht stufenweise die Enantiomerenreinheit auf 99.99% für das Endprodukt. Die experimentell erzielte Ausbeute betrug 45%.

Mit dem Ziel, das Potenzial solcher Hybridverfahren aus Chromatographie und Kristallisation systematischer und effizienter zu analysieren und zu bewerten, wurden „Short-Cut-Methoden“ entwickelt.<sup>[275,304,305]</sup> Ein Vergleich konkurrierender Konzepte ist für das Beispiel Bicalutamid in Abbildung 35 gegeben. Die Ergebnisse zeigen, dass im Vergleich zum allein betriebenen SMB-Prozess mit dem gekoppelten Prozess bei einer „SMB-Übergabereinheit“ von 92% eine mehr als

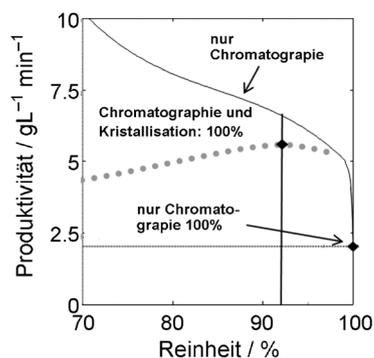


Abbildung 35. Optimierte Produktivitäten für (R)-Bicalutamid bei alleiniger Anwendung des SMB-Verfahrens (die rechte Raute markiert die Produktivität für 100% Reinheit, die obere durchgezogene Linie kennzeichnet die Produktivitätssteigerung für abgesenkte Reinheiten). Die gepunktete Kurve verdeutlicht die Produktivitätssteigerung des gekoppelten Verfahrens. (Basierend auf Lit. [168].)

doppelt so hohe Produktivität der Gewinnung von R-Bicalutamid möglich ist.<sup>[168]</sup>

Eine allgemeinere Analyse ergab, dass der beschriebene Hybridprozess mit großer Wahrscheinlichkeit insbesondere für Systeme mit einer eutektischen Zusammensetzung nahe am Reinenantiomer vorteilhaft ist.

Ähnliche Ergebnisse wie für Bicalutamid wurden bereits zuvor bei der Enantiomerentrennung von Mandelsäure mit einer Chirobiotic T-Chromatographiesäule in Kombination mit einem Kristallisationsverfahren erhalten. Dabei wurde hinsichtlich des Kristallisationsschrittes von der Annahme eingestellter Gleichgewichte ausgegangen.<sup>[304]</sup> Der Referenzfall war auch hier eine ausschließliche Anwendung des SMB-Verfahrens (100% Reinheit). Für dieses spezielle Beispiel wurde eine optimale Übergabereinheit zwischen Chromatographie und Kristallisation von 93% ermittelt, was zu einer Leistungssteigerung von etwa 45% im Vergleich zur SMB-Chromatographie allein führte.

Bezüglich der Enantiomerentrennung der Trägerschen Base wurde in Lit. [191] ein genetischer Algorithmus zur Optimierung der gekoppelten Verfahren verwendet. Eine Mehrgrößentheorie der Produktivität und Verdampfungskosten bezogen auf essenzielle Betriebsparameter (Säulenlänge und SMB-Feed-Konzentration) ergab für dieses gekoppelte Verfahren eine optimale SMB-Übergabereinheit, die einen Kompromiss zwischen SMB-Leistung und Rückgewinnung der Mutterlauge darstellt. Weitere Beispiele zur Quantifizierung von Kombinationen aus Chromatographie und Kristallisation sind in Lit. [306–308] beschrieben. Alle hier zusammengefassten Ergebnisse zeigen eindeutig, dass der gekoppelte Prozess eine bessere Performance erzielen kann als ein SMB-Verfahren allein.

Ein alternatives Anreicherungsverfahren wurde vor kurzem in Lit. [309] vorgeschlagen. Dieses basiert auf der Verwendung einer enantioselektiven Membran im Rahmen eines Pertraktionsprozesses. Es sind andere Kombinationen aus verschiedenen Trennverfahren mit nachfolgender Kristallisation denkbar.

Eine offensichtliche und attraktive Alternative, um eine anfängliche Anreicherung für die Kristallisation zur Verfügung zu stellen, ist natürlich eine partiell selektive Synthese. Dieser Ansatz wurde beispielsweise in Lit. [171,310] beschrieben.

## 6. Verfahrenskonzepte unter Berücksichtigung der Racemisierung

In lebendem Gewebe besitzen alle Aminosäuren die L-Konfiguration, aber nach dem Tod eines Organismus erfolgt eine sehr langsame Racemisierung, was für Altersbestimmungen verwendet werden kann.<sup>[311]</sup>

In Trennverfahren zur Erzeugung reiner Enantiomere wird zusätzlich zum gewünschten Produkt üblicherweise eine zweite Fraktion erhalten, die mit dem Gegenenantiomer angereichert ist. Aus ökonomischen Gründen ist es in hohem Maße wünschenswert, auch diese Nebenfraktion zu verwerten. Dies gelingt durch Implementieren ausreichend schneller Racemisierungsreaktionen. Falls diese Reaktionen erfolgreich verlaufen, können die gebildeten Racemate wieder dem Feed-Strom oder an einer anderen geeigneten Stelle des Trennprozesses zugeführt werden, wodurch eine Erhöhung der Ausbeute des Zielenantiomers möglich wird. Im Idealfall, in dem kein Gegenenantiomer während des Prozesses verlorengeht, ist theoretisch eine Ausbeute von 100% möglich.

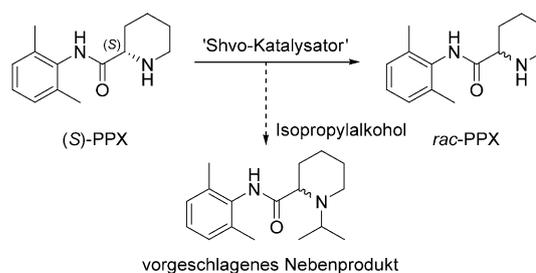
Mit dem Ziel einer Wiederverwendung des Gegenenantiomers gibt es zahlreiche Anstrengungen zur Entwicklung selektiver und ausreichend aktiver Racemisierungskatalysatoren. Sowohl chemische als auch enzymatische Verfahren werden angewendet. Konzepte und aktuelle Beispiele von Racemisierungen mithilfe von Metallkatalysatoren sind in Lit. [312] beschrieben.

Der allgemeine Ansatz für die Kombination von chromatographischen Trennungen und Biotransformationen wird z. B. in Lit. [313] vorgestellt und diskutiert. Eine Übersicht neuer Beispiele von Kombinationen aus enantioselektiver HPLC, einschließlich der SMB-Chromatographie, mit Racemisierungen wird in Lit. [273] gegeben.

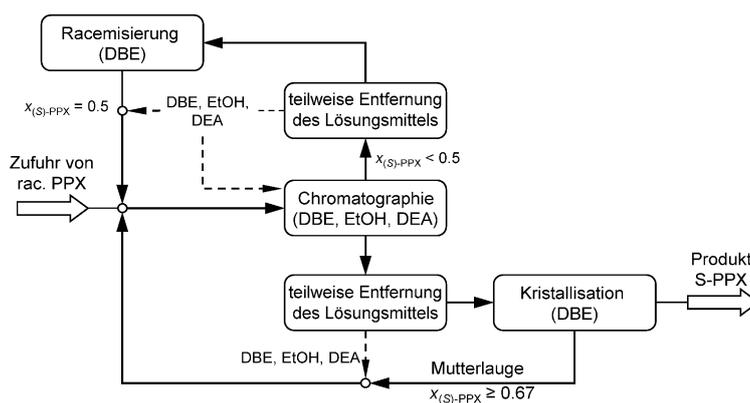
Bezugnehmend auf ein oben bereits ausführlich diskutiertes Beispiel werden in Lit. [314] interessante Fortschritte bei der Entwicklung einer effizienten Mandelatracemase vorgestellt. In Lit. [315] wird die Herstellung einer rekombinanten Aminosäureracemase mit breiter Substratspezifität aus in *Escherichia coli* einklonierter *Pseudomonas putida* beschrieben. Enzymlyophilisate unterschiedlicher Reinheit wurden in Lit. [155] in der Racemisierung von Methionin und Asparagin eingesetzt. Die entsprechende Racemase wurde außerdem erfolgreich für die In-situ-Racemisierung während einer Bevorzugten Kristallisation der Asparagin-Enantiomere verwendet. Kristallisationsexperimente, begleitet von enzymatischer Racemisierung, führten zu einem signifikanten Anstieg an kristallisiertem L-Asparagin.<sup>[122,155]</sup>

Im Rahmen des erwähnten INTENANT-Projekts wurde ein integriertes Verfahren zur Enantiomerentrennung der industriell relevanten Substanz 2',6'-Pipecoloxylidid (PPX, Abbildung 36) untersucht.<sup>[169]</sup> (S)-PPX ist ein Intermediat bei der Herstellung verschiedener Lokalanästhetika. Das entwickelte integrierte chirale Trennverfahren besteht aus einer Kombination von Chromatographie, Kristallisation und Racemisierung. Das Fließschema des Gesamtverfahrens ist in Abbildung 37 gezeigt. Zur Erzeu-

gung einer enantiomerenangereicherten Lösung aus dem PPX-Racemat wurde präparative Chromatographie eingesetzt. Trotz der Tatsache, dass die verwendete chromatographische Trennung für sich allein betrachtet eine unbefriedigende Auftrennung bot, resultierten abgesenkte Reinheitsvorgaben in einer verbesserten Produktivität, einem reduzierten Eluentvolumen und einem Produktstrom, der für eine enantioselektive Kristallisation ausreichend angereichert war. Eine Kristallisation im 2-Phasen-Gebiet des Phasendiagramms lieferte (S)-PPX mit einer Reinheit von  $\geq 99.5\%$ . Der (R)-PPX-reiche Chromatographiestrom wurde mithilfe eines homogenen Rutheniumkatalysators (Shvo-Katalysator) racemisiert,<sup>[169,312e]</sup> was auf effiziente Weise ein racemisches PPX lieferte (Abbildung 36), das zusammen mit neuem Feed-Gemisch dem Chromatographieschritt zugeführt wurde. Die Gegenwart von Alkoholen führte zu einer unerwünschten Nebenreaktion, die es erforderlich machte, das Ethanol vor der Racemisierung durch Destillation aus dem Chromatographieablauf zu entfernen (Abbildung 37). Das rational entworfene und erfolgreich eingesetzte integrierte Verfahren verwendet als gemeinsames Lösungsmittel Dibutylether (DBE) und erlaubt eine vollständige Rückgewinnung aller Lösungsmittel und des unerwünschten (R)-PPX. Es konnte



**Abbildung 36.** Struktur von (S)-Pipecoloxylidid ((S)-PPX) und Reaktionsschema für die Racemisierung.<sup>[169]</sup>



**Abbildung 37.** Schema des integrierten Verfahrens zur Trennung von racemischem PPX. Zu Beginn wird das racemische Gemisch chromatographisch angereichert. Der resultierende, mit (S)-PPX angereicherte Strom wird nach Erzeugung von Übersättigung einer Kristallisation unterworfen. Die Mutterlauge wird wieder der chromatographischen Anreicherung zugeführt. Der (R)-PPX-reiche Strom wird racemisiert und dann ebenfalls wieder dem chromatographischen Schritt zugeführt. Intermediäre Destillationen dienen der Anpassung der Lösungsmittelzusammensetzungen.<sup>[169]</sup>

experimentell im Labor- und Pilotmaßstab (Grammbereich bzw. mehrere 100 g) validiert werden und erzielte sowohl eine hohe Produktivität als auch Ausbeute.<sup>[169]</sup>

Bedenkt man das enorme Potential des allgemeinen Ansatzes, sind Berichte über industrielle Verfahren, die konsequent Racemisierungen ausnutzen, immer noch selten. Dies ist unter anderem wohl auch darauf zurückzuführen, dass Probleme durch die Bildung unerwünschter Zersetzungsprodukte auftreten können. Die oben beschriebenen und andere vielversprechende Ergebnisse lösen derzeit intensive Bemühungen um eine systematischere Integration von Racemisierungsschritten in Prozessketten zur Erzeugung reiner Enantiomere aus.

## 7. Zusammenfassung

In diesem Aufsatz wurden verfahrensorientierte Konzepte für die präparative Enantiomerentrennung beschrieben. Insbesondere wurde gezeigt, dass der „racemische“ Ansatz eine leistungsstarke Alternative zur enantioselektiven Synthese bietet.

Kristallisationsbasierte Methoden und die präparative Chromatographie wurden basierend auf zahlreichen Fallstudien erörtert. Derzeit scheinen dies die am weitesten entwickelten Trennmethode zu sein.

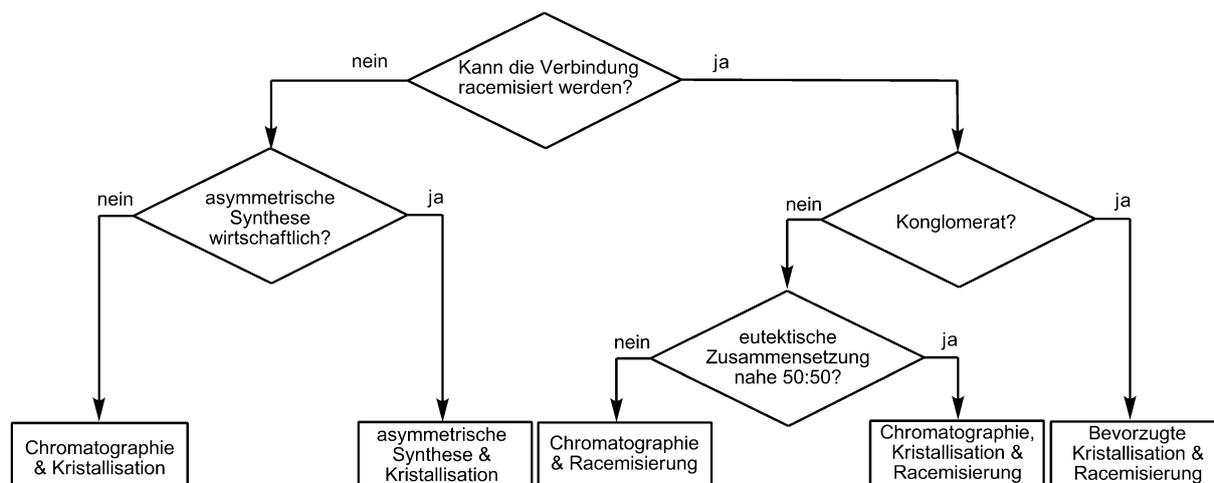
Auswahl, Design und Optimierung von Kristallisationsverfahren erfordern Kenntnisse der zugrundeliegenden Festflüssig-Gleichgewichte, die experimentell gewonnen werden müssen. Basierend auf den spezifischen Phasendiagrammen können produktive Prozessmodi identifiziert werden.

Aufgrund der Verfügbarkeit hochselektiver chiraler stationärer Phasen kann die präparative („überladene“) Hochleistungsflüssigkeitschromatographie derzeit als vielseitigste Verfahren angesehen werden. Die erforderliche Hochdruckausrüstung und die Komplexität des Verfahrens schränken die Anwendung im größeren Maßstab ein. Der Durchbruch der Simulated-Moving-Bed-Technik trägt zur

weiteren Verbreitung der chromatographischen Enantiomerentrennung bei.

Als ein sehr vielversprechender Ansatz wird die Anwendung von Hybridverfahren angesehen, die die positiven Merkmale verschiedener Trennverfahren kombinieren. Obwohl die Auslegung dieser Verfahren eine größere Herausforderung darstellt, stehen jetzt Leitlinien für ein rationales Design zur Verfügung. Im Rahmen des INTENANT-Projekts wurde gezeigt, dass die erreichbaren Gesamtproduktivitäten signifikant gesteigert werden können, beispielsweise durch eine initiale Anreicherung mittels Chromatographie gefolgt von einem hochselektiven Kristallisationsverfahren. Basierend auf den in den beiden beschriebenen Fallbeispielen erhaltenen Ergebnissen (Bicalutamid und PPX) und weiteren Beispielen wurde ein Entscheidungsbaum vorgeschlagen, der die wirtschaftlich relevante Frage berücksichtigt, ob eine Verbindung effizient racemisiert werden kann oder nicht (Abbildung 38).

Falls eine Racemisierung möglich ist, ist die Kenntnis des Phasendiagramms des spezifischen chiralen Systems erforderlich, um a) zu entscheiden, ob ein Konglomerat vorliegt, und anschließend b) die eutektische Zusammensetzung des chiralen Systems zu bewerten. Als Folge dieser Informationen eröffnen sich unterschiedliche Strategien für die Racematspaltung. Dies können z.B. eine mögliche Kombination aus Racemisierung mit nur der Kristallisation (rechter Zweig in Abbildung 38) oder, wie für PPX vorgeschlagen, eine chromatographische Anreicherung und nachfolgende Kristallisation sein (zweiter Zweig von rechts). In Fällen, in denen eine Racemisierung nicht gelingt, könnte die asymmetrische Synthese wirtschaftlich am attraktivsten sein, gegebenenfalls in Kombination mit einer nachfolgenden abschließenden Reinigung durch Kristallisation (zweiter Zweig von links). Falls sowohl Racemisierung als auch asymmetrische Synthese nicht realisierbar sind, ermöglichen z.B. Chromatographie und Kristallisation die Trennung eines solchen Racemats (linker Zweig).



**Abbildung 38.** Entscheidungsbaum basierend auf einfachen qualitativen Kriterien für die rationale Auswahl eines geeigneten Verfahrenskonzepts zur Gewinnung reiner Enantiomere (basierend auf Lit. [305]).

Für die Zukunft ist zu erwarten, dass enantioselektive Trennverfahren in zunehmendem Maße in fortschrittliche integrierte Prozesse eingebunden werden, um den Zugang zu reinen Enantiomeren zu verbessern.

## Danksagung

Wir danken allen derzeitigen und ehemaligen Mitarbeitern für ihre Beiträge zu dieser Arbeit, insbesondere den am INTE-NANT-Projekt beteiligten Kollegen, speziell Dr. Martin Hedberg (AstraZeneca), Dr. Henning Kämmerer (Evonik), Prof. Malte Kaspereit (Nürnberg-Erlangen), Prof. Achim Kienle (Magdeburg) und Dr. Jan von Langermann (Rostock), sowie außerdem unseren Laborassistenten Jacqueline Kaufmann und Luise Borchert für die Unterstützung bei den experimentellen Arbeiten. Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SE 586/15, SE 586/16, PAK 281), dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF, NMT/CT/03C0319) und der Europäischen Union (FP7-NMP2-SL2008-214129) für die finanzielle Unterstützung.

Eingegangen am 5. April 2013

Übersetzt von Dr. Farina Schill, Göttingen

- [1] E. L. Eliel, S. Wilen, M. Doyle, *Basic Organic Stereochemistry*, Wiley-Interscience, New York, **2001**.
- [2] U. Meierhenrich, *Amino Acids and the Asymmetry of Life*, Springer, Berlin, **2008**.
- [3] *Origin of Life. Chemical Approach* (Hrsg.: P. Herdewijn, M. V. Kisakürek), Helvetica Chimica Acta, Zürich, **2008**.
- [4] P. Cintas, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1187–1193; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1139–1145.
- [5] D. P. Glavin, J. E. Elisa, A. S. Burton, M. P. Callahan, J. P. Dworkin, R. W. Hilts, C. D. K. Herd, *Meteorit. Planet. Sci.* **2012**, *47*, 1347–1364.
- [6] A. M. Rouhi, *Chem. Eng. News* **2003**, *81*, 56–61.
- [7] R. A. Sheldon, *Chirotechnology*, Marcel Dekker, New York, **1993**.
- [8] *Chiral Drugs: Chemistry and Biological Action*, (Hrsg.: G.-Q. Lin, Q.-D. You, J.-F. Cheng), Wiley, Hoboken, **2011**.
- [9] S. C. Stinson, *Chem. Eng. News* **2001**, *79*, 45–57.
- [10] A. M. Rouhi, *Chem. Eng. News* **2003**, *81*, 45–55.
- [11] J. Blumenstein in *Chirality in Industry II, Developments in the Manufacture and Applications of Optically Active Compounds* (Hrsg.: A. N. Collins, G. N. Sheldrake, J. Crosby), Wiley, Chichester, **1997**, S. 11–18.
- [12] J. Crosby in *Chirality in Industry, The Commercial Manufacture and Applications of Optically Active Compounds* (Hrsg.: A. Collins, G. Sheldrake, J. Crosby), Wiley, Chichester, **1992**, S. 1–66.
- [13] J. Crosby in *Chirality in Industry II, Developments in the Manufacture and Applications of Optically Active Compounds* (Hrsg.: A. Collins, G. Sheldrake, J. Crosby), Wiley, Chichester, **1997**, S. 1–10.
- [14] B. A. Asteleford, L. O. Weigel, *Chirality in Industry II, Developments in the Manufacture and Applications of Optically Active Compounds* (Hrsg.: A. Collins, G. Sheldrake, J. Crosby), Wiley, Chichester, **1997**, S. 119–156.
- [15] a) M. Breuer, K. Ditrach, T. Habicher, B. Hauer, M. Keßeler, R. Stürmer, T. Zelinski, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 806–843; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 788–824; b) W. Leuchtenberger, K. Huthmacher, K. Drauz, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2005**, *69*, 1–8; c) K. Mikami, M. Lautens, *New Frontiers in Asymmetric Catalysis*, Wiley, Hoboken, **2007**; d) „Enzyme-Catalyzed Asymmetric Synthesis“: H. Gröger in *Catalytic Asymmetric Synthesis* (Hrsg.: I. Ojima), Wiley, Hoboken, **2010**, S. 269–341; e) J. van Ooyen, S. Noack, M. Bott, A. Reth, L. Eggeling, *Biotechnol. Bioeng.* **2012**, *109*, 2070–2081.
- [16] U. Klar, B. Röhr, F. Kuczynski, W. Schwede, M. Berger, W. Skuballa, B. Buchmann, *Synthesis* **2005**, 301–305.
- [17] *Compendium of Chiral Auxiliary Applications* (Hrsg.: G. Roos), Academic Press, New York, **2002**.
- [18] R. Noyori, *Asymmetric Catalysis in Organic Synthesis*, Wiley, New York, **1994**.
- [19] E. N. Jacobsen, A. Pfaltz, H. Yamamoto, *Comprehensive Asymmetric Catalysis*, Springer, Berlin, **1999**.
- [20] K. Mikami, M. Lautens, *New Frontiers in Asymmetric Catalysis*, Wiley, New York, **2007**.
- [21] W. S. Knowles, M. J. Sabacky, *Chem. Commun.* **1968**, 1445–1446.
- [22] W. S. Knowles, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 2096–2107; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1998–2007.
- [23] a) H. Nozaki, H. Takaya, S. Moriuti, R. Noyori, *Tetrahedron* **1968**, *24*, 3655–3669; b) R. Noyori, *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 83–98; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 79–92.
- [24] a) T.-P. Dang, H. B. Kagan, *J. Chem. Soc. D* **1971**, 481–481; b) H. B. Kagan, T.-P. Dang, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6429–6433.
- [25] S. Akutagawa in *Chirality in Industry: The Commercial Manufacture and Applications of Optically Active Compounds* (Hrsg.: A. N. Collins, G. N. Sheldrake, J. Crosby), Wiley, Chichester, **1992**, S. 313–324.
- [26] C. Giordano, M. Villa, S. Panossian, *Chirality in Industry: The Commercial Manufacture and Applications of Optically Active Compounds* (Hrsg.: A. N. Collins, G. N. Sheldrake, J. Crosby), Wiley, Chichester, **1992**, S. 303–312.
- [27] H. C. Kolb, M. S. van Nieuwenhze, K. B. Sharpless, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2483–2547.
- [28] a) A. Berkessel, H. Gröger, *Asymmetric Organocatalysis: From Biomimetic Concepts to Applications in Asymmetric Synthesis*, Wiley, New York, **2005**; b) K. Maruoka, T. Ooi, T. Kano, *Chem. Commun.* **2007**, 1487–1495; c) H. U. Blaser, H.-J. Federsel, *Asymmetric Synthesis on Industrial Scale*, 2. Ausg., Wiley-VCH, Weinheim, **2010**.
- [29] R. N. Patel, *Coord. Chem. Rev.* **2008**, *252*, 659–701.
- [30] *Chirality in Industry II, Developments in the Manufacture and Applications of Optically Active Compounds* (Hrsg.: A. Collins, G. Sheldrake, J. Crosby), Wiley, Chichester, **1997**, S. 309–400.
- [31] a) *Chiral Separations. Applications and Technology* (Hrsg.: S. Ahuja), American Chemical Society Washington, **1997**; b) *Chiral Recognition in Separation Methods: Mechanisms and Applications* (Hrsg.: A. Berthod), Springer, Berlin, **2010**; c) R. Bhushan, J. Martens, *Amino Acids. Chromatographic Separation and Enantioresolution*, HNB, New York, **2010**.
- [32] G. Gübitz, M. G. Schmid, *Chiral Separations, Methods in Molecular Biology*, Vol. 243, Humana, Totowa, **2004**.
- [33] B. Chankvetadze, *J. Chromatogr. A* **2007**, *1168*, 45–70.
- [34] H. J. Federsel, *Org. Process Res. Dev.* **2012**, *16*, 260–261.
- [35] *Chiral Separation Methods for Pharmaceutical and Biotechnological Products* (Hrsg.: S. Ahuja), Wiley, Hoboken, **2011**.
- [36] P. Franco, C. Minguillón, *Chiral Separation Techniques* (Hrsg.: G. Subramanian), 2. Ausg., Wiley-VCH, Weinheim, **2001**, S. 1–23.
- [37] N. M. Maier, P. Franco, W. Lindner, *J. Chromatogr. A* **2001**, *906*, 3–33.
- [38] *Chiral Separation Techniques. A Practical Approach* (Hrsg.: G. Subramanian), 3. Ausg., Wiley-VCH, Weinheim, **2007**.
- [39] „From racemates to single enantiomers—Chiral synthetic drugs over the last 20 years“: H. Murakami in *Novel Optical Reso-*

- lution Technologies, *Top. Curr. Chem.*, Vol. 269 (Hrsg.: K. Sakai, N. Hirayama, R. Tamura), Springer, Berlin, **2007**, S. 273–299.
- [40] J. E. Rekoske, *AIChE J.* **2001**, *47*, 2–5.
- [41] W. Marckwald, A. McKenzie, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1899**, *32B*, 2130–2136.
- [42] R. Noyori, T. Ikeda, T. Ohkuma, M. Widhalm, M. Kitamura, H. Takaya, S. Akutagawa, N. Sayo, T. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 9134–9135.
- [43] M. Kitamura, T. Ohkuma, M. Tokunaga, R. Noyori, *Tetrahedron: Asymmetry* **1990**, *1*, 1–4.
- [44] a) O. Pàmies, J.-E. Bäckvall, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3247–3262; b) O. May, S. Verseck, A. S. Bommarius, K. Drauz, *Org. Process Res. Dev.* **2002**, *6*, 452–457.
- [45] E. Vedejs, M. Jure, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 4040–4069; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3974–4001.
- [46] M. T. Reetz, W. Wiesenhöfer, G. Franciò, W. Leitner, *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345*, 1221–1228.
- [47] J. D. Thornton, *Science and Practice of Liquid–Liquid Extraction*, Vol. 1–2, Clarendon, Oxford, **1992**.
- [48] D. J. Cram, J. M. Cram, *Container Molecules and Their Guests*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, **1994**.
- [49] S. Zhao, Y.-M. Liu, *Electrophoresis* **2001**, *22*, 2769–2774.
- [50] D. Kmezc, M. Simandi, E. Szekeley, E. Fogassy, *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 1841–1845.
- [51] R. M. C. Viegas, C. A. M. Afonso, J. G. Crespo, I. M. Coelho, *Sep. Purif. Technol.* **2007**, *53*, 224–234.
- [52] M. Togrul, Y. Turgut, H. Høsgoren, *Chirality* **2004**, *16*, 351–355.
- [53] P. E. Hare, E. Gil-Av, *Science* **1979**, *204*, 1226–1228.
- [54] H. Nishizawa, K. Tahara, A. Hayashida, Y. Abe, *Anal. Sci.* **1993**, *9*, 611–615.
- [55] P. Dzygiel, T. B. Reeve, U. Piarulli, M. Krupicka, I. Tvaroska, C. Gennari, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 1253–1264.
- [56] K. Tang, J. Yi, K. Huang, G. Zhang, *Chirality* **2009**, *21*, 390–395.
- [57] A. B. De Haan, B. Simandi *Ion Exchange and Solvent Extraction* (Hrsg.: Y. Marcus, M. M. Sharma, J. A. Marinsky), Marcel Dekker, New York, **2001**, S. 255–294.
- [58] M. Newcomb, J. L. Toner, R. C. Helgeson, D. J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 4941–4947.
- [59] a) A. J. Hallett, G. J. Kwant, J. G. de Vries, *Chem. Eur. J.* **2008**, 2111–2120; b) B. Schuur, A. J. Hallett, J. G. M. Winkelman, J. G. de Vries, H. J. Heeres, *Org. Process Res. Dev.* **2009**, *13*, 911–914.
- [60] a) N. Rubio, S. Ignatova, C. Minguillón, I. A. Sutherland, *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 8505–8511; b) C. Minguillón, *Chem. Eng. Technol.* **2012**, *35*, 35–45.
- [61] E. Pérez, C. Minguillón, *Chiral Separation Techniques. A Practical Approach* (Hrsg.: G. Subramanian), 3. Ausg., Wiley-VCH, Weinheim, **2007**, S. 369–398.
- [62] B. J. V. Verkuijl, Dissertation, Universität Groningen (Niederlande), **2009**.
- [63] D. W. Armstrong, H. L. Jin, *Anal. Chem.* **1987**, *59*, 2237–2241.
- [64] a) J. T. F. Keurentjes, F. J. M. Voermans, *Chirality in Industry II, Developments in the Manufacture and Applications of Optically Active Compounds* (Hrsg.: A. Collins, G. Sheldrake, J. Crosby), Wiley, Chichester, **1997**, S. 157–180; b) M. F. Kemmere, J. T. F. Keurentjes, *Chiral Separation Techniques* (Hrsg.: G. Subramanian), 2. Ausg., Wiley-VCH, Weinheim, **2001**, S. 1271–1250.
- [65] C. A. M. Afonso, J. G. Crespo, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 5405–5407; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5293–5295.
- [66] J. D. Clark, B. Han, A. S. Bhowan, S. R. Wickramasinghe, *Sep. Purif. Technol.* **2005**, *42*, 201–211.
- [67] H. Maximini, H. Chmiel, N. W. Holdik, N. Maier, *J. Membr. Sci.* **2006**, *276*, 221–231.
- [68] J. T. F. Keurentjes, L. J. W. M. Nabuurs, E. A. Vegter, *J. Membr. Sci.* **1996**, *113*, 351–360.
- [69] A. J. B. Kemperman, D. Bargeman, T. Van Den Boomgaard, H. Strathmann, *Sep. Sci. Technol.* **1996**, *31*, 2733–2762.
- [70] E. Yashima, J. Noguchi, Y. Okamoto, *Chem. Lett.* **1992**, 1959–1962.
- [71] E. Yashima, J. Noguchi, Y. Okamoto, *Macromolecules* **1995**, *28*, 8368–8374.
- [72] W. H. Pirkle, W. E. Bowen, *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, *5*, 773–776.
- [73] T. Gumí, C. Minguillón, C. Palet, *Polymer* **2005**, *46*, 12306–12312.
- [74] B. Sellergren in *Chiral Separation Techniques. A Practical Approach* (Hrsg.: G. Subramanian), 3. Ausg., Wiley-VCH, Weinheim, **2007**, S. 399–432.
- [75] a) B. Gutiérrez, N. Rubio, C. Minguillón, *Desalination* **2006**, *200*, 117–119; b) B. Gutiérrez, Dissertation, Universität Barcelona (Spanien), **2009**.
- [76] J. M. D. Theodorus, T. M. M. Antonius, Z. Han, M. R. Lisette, A. G. N. Harm, K. Arue, E. M. O. Pieter, V. D. V. Albert, J. R. S. Ernst, *Chirality* **2002**, *12*, 627–636.
- [77] F. Garnier, J. Randon, J. L. Rocca, *Sep. Purif. Technol.* **1999**, *16*, 243–250.
- [78] A. H. Ölçeroğlu, P. Çalık, L. Yılmaz, *J. Membr. Sci.* **2008**, *322*, 446–452.
- [79] P. E. M. Overvest, M. H. J. Hoenders, K. van't Rief, A. van der Padt, J. T. F. Keurentjes, *AIChE J.* **2002**, *48*, 1917–1926.
- [80] a) G. Kaupp, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1519–1522; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1452–1455; G. Kaupp, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 768–770; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 728–729b) P. H. Au-Yeung, S. M. Resnick, P. M. Witt, T. C. Frank, F. A. Donate, L. A. Robbins, *AIChE J.* **2013**, *59*, 2603–2620.
- [81] L. Pasteur, *Ann. Chim. Phys.* **1848**, *3*, 442–459.
- [82] J. Jacques, A. Collet, S. H. Wilen, *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, Krieger, Malabar, **1994**.
- [83] A. E. Flood, *Recent Pat. Mater. Sci.* **2008**, *1*, 98–115.
- [84] A. Collet, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 3429–3431; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 3239–3241.
- [85] P. J. Harrington, E. Lodewijk, *Org. Process Res. Dev.* **1997**, *1*, 72–76.
- [86] A. J. Blacker, S. Brown, B. Clique, B. Gourlay, C. E. Headley, S. Ingham, D. Ritson, T. Screen, M. J. Stirling, D. Taylor, G. Thompson, *Org. Process Res. Dev.* **2009**, *13*, 1370–1378.
- [87] T. Vries, H. Wynberg, E. van Echten, J. Koek, W. ten Hoeve, R. M. Kellogg, Q. B. Broxterman, A. Minnaard, B. Kaptein, S. van der Sluis, L. Hulshof, J. Kooistra, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2491–2496; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2349–2354.
- [88] J. S. C. Loh, W. J. P. van Enckevort, E. Vlieg, C. Gervais, R. F. P. Grimbergen, B. Kaptein, *Cryst. Growth Des.* **2006**, *6*, 861–865.
- [89] B. Kaptein, T. R. Vries, J. W. Nieuwenhuijzen, R. M. Kellogg, R. F. P. Grimbergen, Q. B. Broxterman, *Handbook of Chiral Chemicals* (Hrsg.: D. Ager), 2. Aufl., Taylor&Francis, CRC, Boca Raton, **2006**, S. 97–116.
- [90] E. Pálóvics, J. Schindler, F. Faigl, E. Fogassy, *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 2429–2434.
- [91] *CRC Handbook of Optical Resolutions via Diastereomeric Salt Formation* (Hrsg.: D. Kozma), CRC, Boca Raton, **2002**.
- [92] H. Nohira, K. Sakaiin, *Enantiomer Separation. Fundamentals and Practical Methods* (Hrsg.: F. Toda), Kluwer, Dordrecht, **2004**.
- [93] J. W. Schroer, C. Wibowo, K. M. Ng, *AIChE J.* **2001**, *47*, 369–387.
- [94] A. Collet, *Enantiomer* **1999**, *4*, 157–172.
- [95] H.-H. Tung, E. L. Paul, M. Midler, J. A. McCauley, *Crystallization of Organic Compounds: An Industrial Perspective*, Wiley, Hoboken, **2009**.
- [96] L. Synoradzki, H. Hajmowicz, J. Wisialski, A. Mizerski, T. Rowicki, *Org. Process Res. Dev.* **2008**, *12*, 1238–1244.

- [97] M. Leeman, F. Querniard, T. R. Vries, B. Kaptein, R. M. Kellogg, *Org. Process Res. Dev.* **2009**, *13*, 1379–1381.
- [98] A. Collet, M.-J. Brienne, J. Jacques, *Chem. Rev.* **1980**, *80*, 215–230.
- [99] „Preferential crystallization“: G. Coquerel in *Novel Optical Resolution Technologies, Top. Curr. Chem., Vol. 269* (Hrsg.: K. Sakai, N. Hirayama, R. Tamura), **2007**, S. 1–51.
- [100] G. Levilain, G. Coquerel, *CrystEngComm* **2010**, *12*, 1983–1992.
- [101] P. A. Levkin, V. Y. Torbeev, D. A. Lenev, R. G. Kostyanovski, *Top. Stereochem.* **2006**, *25*, 81–134.
- [102] L. Pérez-García, D. B. Amabilino, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 941–967.
- [103] A. A. Bredikhin, Z. A. Bredikhina, D. V. Zakharychev, L. V. Konoshenko, *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 1964–1970.
- [104] a) Z. A. Bredikhina, F. S. Akhatova, D. V. Zakharychev, A. A. Bredikhin, *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 1430–1435; b) A. A. Bredikhin, Z. A. Bredikhina, D. V. Zakharychev, *Mendeleev Commun.* **2012**, *22*, 171–180.
- [105] A. Galland, V. Dupray, B. Berton, S. Morin-Grognet, M. Sanselme, H. Atmani, G. Coquerel, *Cryst. Growth Des.* **2009**, *9*, 2713–2718.
- [106] L. Addadi, S. Weinstein, E. Gati, I. Weissbuch, M. Lahav, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 4610–4617.
- [107] M. Lahav, L. Leiserowitz, *J. Phys. D* **1993**, *26*, B22–B31.
- [108] L. Addadi, Z. Berkovitch-Yellin, I. Weissbuch, J. van Mil, L. J. W. Shimon, M. Lahav, L. Leiserowitz, *Angew. Chem.* **1985**, *97*, 476–496.
- [109] D. Zbaida, M. Lahav, K. Drauz, G. Knaup, M. Kottenhahn, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 6645–6649.
- [110] D. Polenske, M. P. Elsner, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Chem. Ing. Tech.* **2006**, *78*, 1101–1110.
- [111] H. Lorenz, D. Polenske, A. Seidel-Morgenstern, *Chirality* **2006**, *18*, 828–840.
- [112] F. Czaplá, H. Lorenz, M. P. Elsner, A. Seidel-Morgenstern, *Chem. Ing. Tech.* **2007**, *79*, 281–286.
- [113] D. Polenske, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Chirality* **2009**, *21*, 728–737.
- [114] A. Seidel-Morgenstern, H. Lorenz, D. Polenske (Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V.), WO 2007/023129 A2, 01.03., **2007**; US 7,820,860 B2, 26. 10. **2010**.
- [115] H. Lorenz, D. Polenske, L. Klukas, A. Seidel-Morgenstern (Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V.), EP 2292306 A1 (9.3., **2011**); US 2012/0197040 A1, filed: 08.02.2012.
- [116] M. P. Elsner, G. Ziomek, A. Seidel-Morgenstern, *AICHE J.* **2009**, *55*, 640–649.
- [117] L. Klukas, D. Polenske, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Proceedings 16th Int. Workshop on Industrial Crystallization (BIWIC 2009)* (Hrsg.: M. Louhi-Kultanen, H. Hatakka), Technische Universität Lappeenranta, Lappeenranta, **2009**, S. 218–224 ISBN 978-952-214-806-3.
- [118] G. Coquerel, M.-N. Petit, R. Bouaziz (Universität Rouen), U.S. Patent US006.022.409-A, **2000**.
- [119] R. K. Mughal, R. J. Davey, N. Blagden, *Cryst. Growth Des.* **2007**, *7*, 218–224.
- [120] R. K. Mughal, R. J. Davey, S. N. Black, *Cryst. Growth Des.* **2007**, *7*, 225–228.
- [121] N. Wermester, O. Lambert, G. Coquerel, *CrystEngComm* **2008**, *10*, 724–733.
- [122] K. Würges, K. Petrusevska-Seebach, M. P. Elsner, S. Lütz, *Biotechnol. Bioeng.* **2009**, *104*, 1235–1239.
- [123] C. Viedma, *Phys. Rev. Lett.* **2005**, *94*, 065504.
- [124] W. L. Noorduin, E. Vlieg, R. M. Kellogg, B. Kaptein, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 9778–9784; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9600–9606.
- [125] W. L. Noorduin, W. J. P. van Enkevort, H. Meekes, B. Kaptein, R. M. Kellogg, J. C. Tully, J. M. McBride, E. Vlieg, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 8613–8616; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 8435–8438.
- [126] J. E. Hein, B. H. Cao, C. Viedma, R. M. Kellogg, D. G. Blackmond, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 12629–12636.
- [127] W. L. Noorduin, H. Meekes, W. J. P. van Enkevort, B. Kaptein, R. M. Kellogg, E. Vlieg, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 2593–2595; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 2539–2541.
- [128] M. W. van der Meijden, M. Leeman, E. Gelens, W. L. Noorduin, H. Meekes, W. J. P. van Enkevort, B. Kaptein, E. Vlieg, R. M. Kellogg, *Org. Process Res. Dev.* **2009**, *13*, 1195–1198.
- [129] W. L. Noorduin, P. van der Asdonk, A. A. C. Bode, H. Meekes, W. J. P. van Enkevort, E. Vlieg, B. Kaptein, M. W. van der Meijden, R. M. Kellogg, G. Deroover, *Org. Process Res. Dev.* **2010**, *14*, 908–911.
- [130] G. Levilain, C. Rougeot, F. Guillen, J.-C. Plaquevent, G. Coquerel, *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 2769–2771.
- [131] T. Buhse, D. K. Kondepudi, B. Hoskins, *Chirality* **1999**, *11*, 343–348.
- [132] A. Lüttringhaus, D. Berrer, *Tetrahedron Lett.* **1959**, *1*, 10–12.
- [133] M. B. Groen, H. Schadenberg, H. Wynberg, *J. Org. Chem.* **1971**, *36*, 2797–2809.
- [134] N. Doki, M. Yokota, S. Sasaki, N. Kubota, *Cryst. Growth Des.* **2004**, *4*, 1359–1363.
- [135] S. K. Tulashie, H. Lorenz, L. Hilfert, F. T. Edelmann, A. Seidel-Morgenstern, *Cryst. Growth Des.* **2008**, *8*, 3408–3414.
- [136] S. K. Tulashie, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Cryst. Growth Des.* **2009**, *9*, 2387–2392.
- [137] S. K. Tulashie, H. Lorenz, C. Malwade, A. Seidel-Morgenstern, *Cryst. Growth Des.* **2010**, *10*, 4023–4029.
- [138] S. K. Tulashie, J. von Langermann, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Cryst. Growth Des.* **2011**, *11*, 240–246.
- [139] G. Coquerel, *Enantiomer* **2000**, *5*, 481–498.
- [140] H. W. B. Roozeboom, *Z. Phys. Chem.* **1899**, *28*, 494.
- [141] Z. J. Li, M. T. Zell, E. J. Munson, D. J. W. Grant, *J. Pharm. Sci.* **1999**, *88*, 337–346.
- [142] M. Klussmann, H. Iwamura, S. P. Mathew, Jr., D. H. Wells, U. Pandya, A. Armstrong, D. G. Blackmond, *Nature* **2006**, *441*, 621–623.
- [143] M. Klussmann, A. J. P. White, A. Armstrong, D. G. Blackmond, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 8153–8157; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7985–7989.
- [144] A. I. Kitaigorodski, *Molekülkristalle*, Akademie-Verlag, Berlin, **1979**.
- [145] A. I. Kitaigorodsky, *Mixed Crystals*, Springer, Berlin, **1984** (Springer Series in Solid-State Sciences 33).
- [146] H. Lorenz in *Crystallization: Basic Concepts and Industrial Applications* (Hrsg.: W. Beckmann), Wiley-VCH, Weinheim, **2013**, S. 35–74.
- [147] D. Polenske, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *J. Pharm. Sci.* **2010**, *99*, 1762–1773.
- [148] N. Wermester, E. Aubin, M. Pauchet, S. Coste, G. Coquerel, *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 821–831.
- [149] H. Kaemmerer, H. Lorenz, S. Black, A. Seidel-Morgenstern, *Cryst. Growth Des.* **2009**, *9*, 1851–1862.
- [150] Z. J. Li, D. J. W. Grant, *Int. J. Pharm.* **1996**, *137*, 21–31.
- [151] a) H. Kaemmerer, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Chem. Ing. Tech.* **2009**, *81*, 1955–1965; b) H. Kaemmerer, *New Concepts for Enantioselective Crystallization*, Shaker, Aachen, **2012**; c) H. Lorenz, T. Le Minh, H. Kaemmerer, H. Buchholz, A. Seidel-Morgenstern, *Chem. Eng. Res. Design* **2013**, *91*, 1890–1902.
- [152] H. Lorenz, H. Kaemmerer, D. Polenske, A. Seidel-Morgenstern (Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V.), US 2011/0263896 A1, 27.10., **2011**.
- [153] H. Lorenz, D. Sapundjiev, A. Seidel-Morgenstern, *Eng. Life Sci.* **2003**, *3*, 132–136.

- [154] D. Sapoundjiev, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *J. Chem. Eng. Data* **2006**, *51*, 1562–1566.
- [155] K. Petruševska-Seebach, K. Würges, A. Seidel-Morgenstern, S. Lütz, M. P. Elsner, *Chem. Eng. Sci.* **2009**, *64*, 2473–2482.
- [156] D. Polenske, H. Lorenz, *J. Chem. Eng. Data* **2009**, *54*, 2277–2280.
- [157] H. Kaemmerer, A. Seidel-Morgenstern, H. Lorenz, *Chem. Eng. Process.* **2013**, *67*, 80–88.
- [158] H. Kaemmerer, S. K. Tulashie, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *J. Chem. Eng. Data* **2010**, *55*, 1131–1136.
- [159] S. K. Tulashie, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Proceedings 15th Int. Workshop on Industrial Crystallization (BIWIC 2008)* (Hrsg.: H. Lorenz, H. Kaemmerer), Shaker, Aachen, **2008**, S. 192–196 ISBN 978-3-8322-7505-1.
- [160] H. Lorenz, D. Sapoundjiev, A. Seidel-Morgenstern, *J. Chem. Eng. Data* **2002**, *47*, 1280–1284.
- [161] H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Thermochim. Acta* **2004**, *415*, 55–61.
- [162] S. K. Tulashie, H. Kaemmerer, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *J. Chem. Eng. Data* **2010**, *55*, 333–340.
- [163] T. Le Minh, J. von Langermann, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *J. Pharm. Sci.* **2010**, *99*, 4084–4095.
- [164] N. Taratin, H. Lorenz, E. N. Kotelnikova, A. E. Glikin, A. Galland, V. Dupray, G. Coquerel, A. Seidel-Morgenstern, *Cryst. Growth Des.* **2012**, *12*, 5882–5888.
- [165] J. Worlitschek, M. Bosco, M. Huber, V. Gramlich, M. Mazzotti, *Helv. Chim. Acta* **2004**, *87*, 279–291.
- [166] D. Polenske, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Cryst. Growth Des.* **2007**, *7*, 1628–1634.
- [167] H. Kaemmerer, M. J. Jones, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Fluid Phase Equilib.* **2010**, *296*, 192–205.
- [168] H. Kaemmerer, Z. Horvath, J. W. Lee, M. Kaspereit, R. Arnell, M. Hedberg, B. Herrschend, M. J. Jones, K. Larson, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Org. Process Res. Dev.* **2012**, *16*, 331–342.
- [169] J. von Langermann, M. Kaspereit, M. Shakeri, H. Lorenz, M. Hedberg, M. J. Jones, K. Larson, B. Herrschend, R. Arnell, E. Temmel, J.-E. Bäckvall, A. Kienle, A. Seidel-Morgenstern, *Org. Process Res. Dev.* **2012**, *16*, 343–352.
- [170] H. Lorenz, J. von Langermann, G. Sadiq, C. S. Seaton, R. J. Davey, A. Seidel-Morgenstern, *Cryst. Growth Des.* **2011**, *11*, 1549–1556.
- [171] J. von Langermann, T. Le Minh, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Chem. Ing. Tech.* **2010**, *82*, 93–99.
- [172] A. A. Rodrigo, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Chirality* **2004**, *16*, 499–508.
- [173] H. Lorenz, A. Perlberg, D. Sapoundjiev, M. P. Elsner, A. Seidel-Morgenstern, *Chem. Eng. Process.* **2006**, *45*, 863–873.
- [174] F. Czapla, D. Polenske, L. Klukas, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Chem. Eng. Process.* **2010**, *49*, 22–28.
- [175] D. Polenske, Dissertation, Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg, **2010**.
- [176] a) F. Czapla, H. Haida, M. P. Elsner, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Chem. Eng. Sci.* **2009**, *64*, 753–763; b) F. Czapla, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Chem. Ing. Tech.* **2009**, *81*, 839–848.
- [177] T. Menahem, Y. Mastai, *J. Polym. Sci. Part A* **2006**, *44*, 3009–3017.
- [178] a) M. P. Elsner, G. Ziomek, A. Seidel-Morgenstern, *Chem. Eng. Sci.* **2007**, *62*, 4760–4769; b) M. P. Elsner, G. Ziomek, A. Seidel-Morgenstern, *Chem. Eng. Sci.* **2011**, *66*, 1269–1284; c) G. Levilain, M. Eicke, A. Seidel-Morgenstern, *Cryst. Growth Des.* **2012**, *12*, 5396–5401; d) M. J. Eicke, G. Levilain, A. Seidel-Morgenstern, *Cryst. Growth Des.* **2013**, *13*, 1638–1648.
- [179] J. E. F. Reynolds, *Martindale: The Extra Pharmacopoeia*, 30. Aufl., The Pharmaceutical Press, London, **1993**.
- [180] *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* (Hrsg.: B. Elvers), VCH, Weinheim, **1989**.
- [181] Y. Yamazaki, S. Kajiwara, *Bioindustry* **1988**, *5*, 261–268.
- [182] A. M. Rouhi, *Chem. Eng. News* **2004**, *82*, 47–62.
- [183] G. J. Quallich, *Chirality* **2005**, *17*, S120–S126.
- [184] Y. Lu, X. Wang, C. B. Ching, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2009**, *48*, 7266–7275.
- [185] L. Gou, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Cryst. Growth Des.* **2012**, *12*, 5197–5202.
- [186] J. Falbe, M. Regitz, *Römpp Lexikon Chemie, Bd. 4, 10. Aufl.*, Georg Thieme, Stuttgart, **1998**.
- [187] Y. Wang, R. LoBrutto, R. W. Wenslow, I. Santos, *Org. Process Res. Dev.* **2005**, *9*, 670–676.
- [188] B. G. Bag, *Curr. Sci.* **1995**, *68*, 279–288.
- [189] B. Baldeyrou, C. Tardy, C. Bailly, P. Colson, C. Houssier, F. Charmantray, M. Demeunynck, *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, *37*, 315–322.
- [190] S. H. Wilen, J. Z. Qi, P. G. Williard, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 485–487.
- [191] M. Amanullah, M. Mazzotti, *J. Chromatogr. A* **2006**, *1107*, 36–45.
- [192] R. W. Souther, *Chromatographic Separation of Stereoisomers*, CRC, Boca Raton, **1985**.
- [193] M. Zief, L. J. Crane, *Chromatographic Chiral Separations*, Marcel Dekker, New York, **1988**.
- [194] *Chiral Separations by HPLC* (Hrsg.: A. M. Krstulovic), Ellis Horwood, New York, **1989**.
- [195] S. G. Allenmark, *Chromatographic Enantioseparation: Methods and Applications*, Ellis Horwood, Chichester, **1991**.
- [196] *A Practical Approach to Chiral Separations by Liquid Chromatography* (Hrsg.: G. Subramanian), VCH, Weinheim, **1994**.
- [197] T. E. Beesley, R. P. W. Scott, *Chiral Chromatography*, Wiley, Chichester, **1998**.
- [198] H. Y. Aboul-Enein, A. Imran, *Chiral Separations by Liquid Chromatography and Related Technologies*, Marcel Dekker, New York, **2003**.
- [199] *Preparative Enantioselective Chromatography* (Hrsg.: G. B. Cox), Blackwell, Oxford, **2005**.
- [200] M. Lämmerhofer, N. M. Maier, W. Lindner, *Introduction to Modern Liquid Chromatography* (Hrsg.: L. R. Snyder, J. J. Kirkland, J. W. Dolan), 3. Ausg., Wiley, Hoboken, **2010**, S. 665–724.
- [201] Special Issues on „Chiral Separations“, B. Chankvetadze, *J. Chromatogr. A* **2001**, *906*, 1–481; **2010**, *1217*, 925–1182; **2012**, *1269*, 1–387.
- [202] T. E. Beesley, *Review of Chiral Stationary Phase Development and Chiral Applications, Vol. 24*, LC-GC Europe, **2011**, S. 270–276.
- [203] E. Gil-Av, B. Feibush, R. Charles-Sigler, *Tetrahedron Lett.* **1966**, 1009–1015.
- [204] V. Schurig, *Inorg. Chem.* **1972**, *11*, 736–738.
- [205] W. A. König, *Chromatographia* **1976**, *9*, 72–73.
- [206] H. Frank, G. J. Nicholson, E. Bayer, *J. Chromatogr. Sci.* **1977**, *15*, 174.
- [207] *Introduction to Modern Liquid Chromatography* (Hrsg.: L. R. Snyder, J. J. Kirkland, J. W. Dolan), 3. Aufl., Wiley, Hoboken, **2010**.
- [208] M. S. Villeneuve, L. A. Miller, *Preparative Enantioselective Chromatography* (Hrsg.: G. B. Cox), Blackwell, Oxford, **2005**, S. 205–223.
- [209] K. De Klerck, G. Parewyck, D. Mangelings, Y. Vander Heyden, *J. Chromatogr. A* **2012**, *1269*, 336–345.
- [210] K. Unger, R. Ditz, E. Machtejevas, R. Skudas, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 2350–2363; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 2300–2312.
- [211] M. Lämmerhofer, *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 814–856.
- [212] C. Pettersson, *J. Chromatogr. A* **1984**, *316*, 553–567.

- [213] V. A. Davankov, A. A. Kurganov, A. S. Bochkov, *Adv. Chromatogr.* **1983**, 22, 71.
- [214] G. Guiochon, B. Lin, *Modeling for Preparative Chromatography*, Elsevier, Amsterdam, **2003**.
- [215] *Preparative Chromatography* (Hrsg.: H. Schmidt-Traub, M. Schulte, A. Seidel-Morgenstern), 2. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2012**.
- [216] G. Guiochon, A. Felinger, D. G. Shirazi, A. M. Katti, *Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography*, Elsevier, Amsterdam, **2006**.
- [217] M. Negawa, F. Shoji, *J. Chromatogr.* **1992**, 590, 113–117.
- [218] D. B. Broughton, C. G. Gerhold, US Patent 2 985 589, **1961**.
- [219] E. R. Francotte, *J. Chromatogr. A* **2001**, 906, 379–397.
- [220] E. Francotte in *Preparative Enantioselective Chromatography* (Hrsg.: G. B. Cox), Blackwell, Oxford, **2005**, S. 48–77.
- [221] C. E. Dalglish, *J. Chem. Soc.* **1950**, 132, 3940.
- [222] K. B. Lipkowitz in *A Practical Approach to Chiral Separations by Liquid Chromatography* (Hrsg.: G. Subramanian), VCH, Weinheim, **1994**, S. 19–56.
- [223] C. Zhao, N. M. Cann, *J. Chromatogr. A* **2007**, 1149, 197–218.
- [224] a) H.-W. Tsui, J. N. Willin, R. B. Kasat, N.-H. L. Wang, E. I. Franses, *J. Phys. Chem. B* **2011**, 115, 12785–12800; b) S. Ravichandran, J. R. Collins, N. Singh, I. W. Wainer, *J. Chromatogr. A* **2012**, 1269, 218–225.
- [225] I. W. Wainer, *TrAC Trends Anal. Chem.* **1987**, 6, 125–134.
- [226] G. Hesse, R. Hagel, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1976**, 996–1008.
- [227] Y. Okamoto, M. Kawashima, K. Hatada, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 5357–5359.
- [228] T. Zhang, P. Franco, in: *Chiral Separation Techniques. A Practical Approach* (Hrsg.: G. Subramanian), 3. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2007**, S. 99–134.
- [229] B. Chankvetadze, *J. Chromatogr. A* **2012**, 1269, 26–51.
- [230] J. N. Kinkel in *A Practical Approach to Chiral Separations by Liquid Chromatography* (Hrsg.: G. Subramanian), VCH, Weinheim, **1994**, S. 217–278.
- [231] S. Anderson, S. Allenmark, *J. Chromatogr. A* **1994**, 666, 167–179.
- [232] J. Haginaka, *J. Chromatogr. B* **2008**, 875, 12–19.
- [233] a) D. Armstrong, W. DeMond, *J. Chromatogr. Sci.* **1984**, 22, 411; b) D. W. Armstrong, T. J. Ward, R. D. Armstrong, T. E. Beesley, *Science* **1986**, 232, 1132–1135.
- [234] Y. Xiao, S.-C. Ng, T. T. Tan, Y. Wang, *J. Chromatogr. A* **2012**, 1269, 52–68.
- [235] a) D. W. Armstrong, Y. Tang, S. Chen, Y. Zhou, C. Bagwill, J.-R. Chen, *Anal. Chem.* **1994**, 66, 1473–1484; b) D. W. Armstrong, Y. Liu, K. H. Ekborgott, *Chirality* **1995**, 7, 474–497; c) Z. Pataj, I. Ilisz, R. Berkecz, A. Misicka, D. Tymecka, F. Fülöp, D. W. Armstrong, A. Péter, *J. Sep. Sci.* **2008**, 31, 3688–3697.
- [236] L. R. Sousa, G. G. Y. Sogah, D. H. Hoffmann, D. J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 4569–4576.
- [237] W. H. Pirkle, M. H. Hyun, A. Tsiporous, B. C. Hampe, B. Banks, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1984**, 2, 173–181.
- [238] W. H. Pirkle, C. J. Welch, *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, 5, 777–780.
- [239] M. Lämmerhofer, W. Lindner, *J. Chromatogr. A* **1996**, 741, 33–48.
- [240] C. V. Hoffmann, M. Lämmerhofer, W. Lindner, *J. Chromatogr. A* **2007**, 1161, 242–251.
- [241] V. A. Davankov, *Enantiomer* **2000**, 5, 209–223.
- [242] G. Gübitz, M. G. Schmidt in *Chiral Separation Techniques. A Practical Approach* (Hrsg.: G. Subramanian), 3. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2007**, S. 155–180.
- [243] P. Franco, T. Zhang, *LC-GC Europe* **2010**, 23, 302–309.
- [244] R. Sancho, C. Minguillon, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 797–805.
- [245] *Preparative and Production Scale Chromatography* (Hrsg.: G. Ganetsos, P. E. Barker), Marcel Dekker, New York, **1993**.
- [246] *Process Scale Liquid Chromatography* (Hrsg.: G. Subramanian), VCH, Weinheim, **1995**.
- [247] C. M. Grill, L. M. Miller in *Preparative Enantioselective Chromatography* (Hrsg.: G. B. Cox), Blackwell, Oxford, **2005**, S. 149–175.
- [248] G. Cox in *Introduction to Modern Liquid Chromatography* (Hrsg.: L. R. Snyder, J. J. Kirkland, J. W. Dolan), 3. Aufl., Wiley, Hoboken, **2010**, S. 725–755.
- [249] C. J. Welch in *Preparative Enantioselective Chromatography* (Hrsg.: G. B. Cox), Blackwell, Oxford, **2005**, S. 1–18.
- [250] A. Seidel-Morgenstern, *J. Chromatogr. A* **2004**, 1037, 255–272.
- [251] C. Heuer, P. Hugo, G. Mann, A. Seidel-Morgenstern, *J. Chromatogr. A* **1996**, 752, 19–29.
- [252] T. Sainio, M. Kaspereit, *Sep. Purif. Technol.* **2009**, 66, 9–18.
- [253] D. B. Broughton, *Sep. Sci. Technol.* **1984**, 19, 723–736.
- [254] J. A. Johnson, R. G. Kabza in *Preparative and Production-scale Chromatography* (Hrsg.: G. Ganetsos, P. E. Barker), Marcel Dekker, New York, **1993**, S. 257–271.
- [255] E. R. Francotte, P. Richert, *J. of Chromatogr. A* **1997**, 769, 101–107.
- [256] M. Hamende in *Preparative Enantioselective Chromatography* (Hrsg.: G. Cox), Blackwell, Oxford, **2005**, S. 253–276.
- [257] O. Dapremont in *Preparative Enantioselective Chromatography* (Hrsg.: G. Cox), Blackwell, Oxford, **2005**, S. 277–302.
- [258] M. Juza, M. Mazzotti, M. Morbidelli, *Trends Biotechnol.* **2000**, 18, 108–118.
- [259] M. Schulte, J. Strube, *J. Chromatogr. A* **2001**, 906, 399–416.
- [260] P. Sá Gomes, M. Minceva, A. E. Rodrigues, *Adsorption* **2006**, 12, 375–392.
- [261] P. S. Gomes, M. Minceva, L. S. Pais, A. E. Rodrigues, *Chiral Separation Techniques. A Practical Approach* (Hrsg.: G. Subramanian), 3. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2007**, S. 181–202.
- [262] A. Rajendran, G. Paredes, M. Mazzotti, *J. Chromatogr. A* **2009**, 1216, 709–738.
- [263] M. Kaspereit in *Advances in Chromatography* (Hrsg.: E. Grushka, N. Grinberg), Taylor & Francis, CRC, Boca Raton, **2009**, S. 165–192.
- [264] H. K. Rhee, R. Aris, N. R. Amundson, *First-order Partial-differential Equations, Vol. 1,2*, Prentice Hall, Englewood Cliffs, **1986** und **1989**.
- [265] M. Mazzotti, G. Storti, M. Morbidelli, *J. Chromatogr. A* **1997**, 769, 3–24.
- [266] C. Migliorini, M. Mazzotti, M. Morbidelli, *AIChE J.* **2000**, 46, 1384–1399.
- [267] A. Seidel-Morgenstern, L. C. Kessler, M. Kaspereit, *Chem. Eng. Technol.* **2008**, 31, 826–837.
- [268] L. C. Kessler, A. Seidel-Morgenstern, *J. Chromatogr. A* **2008**, 1207, 55–71.
- [269] R. C. R. Rodrigues, R. J. S. Silva, J. P. B. Mota, *J. Chromatogr. A* **2010**, 1217, 3382–3391.
- [270] S. Katsuo, M. Mazzotti, *J. Chromatogr. A* **2010**, 1217, 1354–1361.
- [271] G. Terfloth, *J. Chromatogr. A* **2001**, 906, 301–307.
- [272] A. Rajendran, S. Peper, M. Johannsen, M. Mazzotti, M. Morbidelli, G. Brunner, *J. Chromatogr. A* **2005**, 1092, 55–64.
- [273] S. Abel, M. Juza in *Chiral Separation Techniques. A Practical Approach* (Hrsg.: G. Subramanian), 3. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2007**, S. 203–273.
- [274] *Advances in Large-scale Biopharmaceutical Manufacturing and Scale-up Production* (Hrsg.: E. S. Langer), 2. Aufl., ASM, Herndon, **2007**.
- [275] M. Kaspereit, P. Jandera, M. Skavrada, A. Seidel-Morgenstern, *J. Chromatogr. A* **2002**, 944, 249–262.
- [276] M. Kaspereit, *Separation of Enantiomers by a Process Combination of Chromatography and Crystallization*, Shaker, Aachen, **2006**.

- [277] Die Rechenergebnisse wurden in Erweiterung zu Lit. [276] von Prof. Malte Kaspereit zur Verfügung gestellt.
- [278] G. Hesse, R. Hagel, *Chromatographia* **1973**, *6*, 277–280.
- [279] G. Blaschke, *J. Liq. Chromatogr.* **1986**, *9*, 341–368.
- [280] M. Pedferri, G. Zenoni, M. Mazzotti, M. Morbidelli, *Chem. Eng. Sci.* **1999**, *54*, 3735–3748.
- [281] C. Suteuphy in *Preparative Enantioselective Chromatography* (Hrsg.: G. B. Cox), Blackwell, Oxford, **2005**, S. 78–109.
- [282] S. Sergeev, F. Diederich, *Chirality* **2006**, *18*, 707–712.
- [283] D. Didier, S. Sergeev, *Targets Heterocycl. Syst.* **2007**, *11*, 258–283.
- [284] S. Sergeev, *Helv. Chim. Acta* **2009**, *92*, 415–444.
- [285] J. N. Kinkel, K. Reichert, P. Knöll, *GIT* **1998**, Supplement 3/89-Chromatographie, 104.
- [286] R. Isaakson, P. Erlandsson, L. Hansson, A. Holmber, S. Berner, *J. Chromatogr. A* **1990**, *498*, 257–280.
- [287] A. Seidel-Morgenstern, G. Guiochon, *Chem. Eng. Sci.* **1993**, *48*, 2787–2797.
- [288] T. L. Hill, *An Introduction to Statistical Thermodynamics*, Addison-Wesley, Reading, **1960**.
- [289] A. Seidel-Morgenstern, G. Guiochon, *J. Chromatogr. A* **1993**, *631*, 37–47.
- [290] S. Jacobson, A. Seidel-Morgenstern, G. Guiochon, *J. Chromatogr. A* **1993**, *637*, 13–18.
- [291] A. Seidel-Morgenstern, S. Jacobson, G. Guiochon, *J. Chromatogr. A* **1993**, *637*, 19–28.
- [292] C. J. Radke, J. M. Prausnitz, *AIChE J.* **1972**, *18*, 761–768.
- [293] A. Seidel-Morgenstern, *Mathematische Modellierung der präparativen Flüssigchromatographie*, Deutscher Universitätsverlag, Wiesbaden, **1995**.
- [294] K. Mühlbachler, A. Seidel-Morgenstern, G. Guiochon, *J. Chromatogr. A* **2002**, *955*, 35–52.
- [295] K. Mühlbachler, M. A. De Jesús, K. Kaczmarski, M. J. Sepaniak, A. Seidel-Morgenstern, G. Guiochon, *J. Chromatogr. A* **2006**, *1113*, 148–161.
- [296] K. Mühlbachler, A. Seidel-Morgenstern, G. Guiochon, *AIChE J.* **2004**, *50*, 611–624.
- [297] S. Katsuo, M. Mazzotti, *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 3067–3075.
- [298] K. Petrusevska, M. A. Kuznetsov, K. Gedicke, V. Meshko, S. M. Staroverov, A. Seidel-Morgenstern, *J. Sep. Sci.* **2006**, *29*, 1447–1457.
- [299] G. F. Gauze, M. G. Brazhnikova, A. V. Laiko, M. A. Sveshnikova, T. P. Preobrazhenskaia, *Antibiot. Med. Biotechnol.* **1987**, *32*, 571–576.
- [300] L. Zhang, K. Gedicke, M. A. Kuznetsov, S. M. Staroverov, A. Seidel-Morgenstern, *J. Chromatogr. A* **2007**, *1162*, 90–96.
- [301] B.-G. Lim, C.-B. Ching, R. B. H. Tan, S.-C. Ng, *Chem. Eng. Sci.* **1995**, *50*, 2289–2298.
- [302] J. Blehaut, R.-M. Nicoud, *Anal. Magazine* **1998**, *26*, M60–M70.
- [303] H. Lorenz, P. Sheehan, A. Seidel-Morgenstern, *J. Chromatogr. A* **2001**, *908*, 201–214.
- [304] M. Kaspereit, K. Gedicke, V. Zahn, A. W. Mahoney, A. Seidel-Morgenstern, *J. Chromatogr. A* **2005**, *1092*, 43–54.
- [305] M. Kaspereit, S. Swernath, A. Kienle, *Org. Process Res. Dev.* **2012**, *16*, 353–363.
- [306] K. Y. Fung, K. M. Ng, C. Wibowo, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2005**, *44*, 910–921.
- [307] K. Gedicke, W. Beckmann, A. Brandt, D. Sapoundjiev, H. Lorenz, U. Budde, A. Seidel-Morgenstern, *Adsorption* **2005**, *11*, 591–596.
- [308] K. Gedicke, M. Kaspereit, W. Beckmann, U. Budde, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, *Chem. Eng. Res. Des.* **2007**, *85*, 928–936.
- [309] a) L. Gou, S. Robl, K. Leonhard, H. Lorenz, M. Sordo, A. Butka, S. Kesselheim, M. Wolff, A. Seidel-Morgenstern, K. Schaber, *Chirality* **2011**, *23*, 118–127; b) S. Robl, L. Gou, A. Gere, M. Sordo, H. Lorenz, A. Mayer, C. Pauls, K. Leonhard, A. Bardow, A. Seidel-Morgenstern, K. Schaber, *Chem. Eng. Process.* **2013**, *67*, 80–88.
- [310] S. R. Perrin, W. Hauck, E. Ndzie, J. Blehaut, O. Ludemann-Hombourger, R.-M. Nicoud, W. H. Pirkle, *Org. Process Res. Dev.* **2007**, *11*, 817–824.
- [311] V. Meyer in *Chiral Separations by Liquid Chromatography* (Hrsg.: S. Ahuja), ACS Symposium Series, Washington, **1991**, S. 217–227.
- [312] a) I. Ali, V. K. Gupta, H. Y. Aboul-Enein, P. Singh, B. Sharma, *Chirality* **2007**, *19*, 453–463; b) E. J. Ebberts, G. J. A. Ariaans, J. P. M. Houbiers, A. Bruggink, B. Zwanenburg, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 9417–9476; c) L. K. Thalén, D. Zhao, J.-B. Sortais, J. Paetzold, C. Hoben, J.-E. Bäckvall, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 3403–3410; d) T. Jerphagnon, A. J. A. Gayet, F. Berthiol, V. Ritleng, N. Mršić, A. Meetsma, M. Pfeffer, A. J. Minnaard, B. L. Feringa, J. de Vries, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 12780–12790; e) L. K. Thalén, N. Hermanns, J.-E. Bäckvall, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 6802–6802.
- [313] a) M. Bechtold, S. Makart, M. Heinemann, S. Panke, *J. Biotechnol.* **2006**, *124*, 146–162; b) S. Makart, M. Bechtold, S. Panke, *Chem. Eng. Sci.* **2008**, *63*, 5347–5355.
- [314] U. Felfer, M. Goriup, M. F. Koegl, U. Wagner, B. Larissegger-Schnell, K. Faber, W. Kroutil, *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 951–961.
- [315] K. Würges, K. Petrusevska, S. Serci, S. Wilhelm, C. Wandrey, A. Seidel-Morgenstern, M. P. Elsner, S. Lütz, *J. Mol. Catal. B* **2009**, *58*, 10–16.