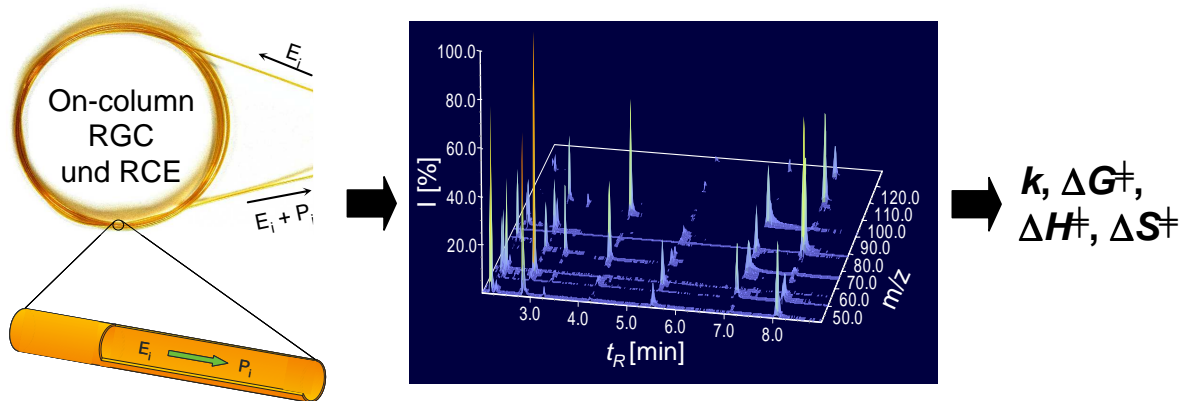


On-column Reaktionskapillarelektrophorese und Reaktionsgaschromatographie

Universell einsetzbare Verfahren für die Untersuchung
von Kinetiken und Reaktionsmechanismen



INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der
Naturwissenschaftlich-Mathematischen
Gesamtfakultät
der
Ruprecht-Karls-Universität
Heidelberg

Vorgelegt von
Diplom-Chemikerin Sabrina Bremer
aus Halberstadt

Tag der mündlichen Prüfung:
30. Oktober 2009

On-column Reaktionskapillarelektrophorese und Reaktionsgaschromatographie

Universell einsetzbare Verfahren für die Untersuchung
von Kinetiken und Reaktionsmechanismen

Dekan: Prof. Dr. Heinz Friedrich Schöler
Gutachter: Prof. Dr. Oliver Trapp
Prof. Dr. Dirk Menche

Die vorliegende Arbeit wurde unter der wissenschaftlichen Anleitung von Prof. Dr. Oliver Trapp in der Abteilung für Heterogene Katalyse des Max-Planck-Instituts für Kohlenforschung in Mülheim an der Ruhr und am Organisch-Chemischen Institut der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg angefertigt.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Mentor Herrn Prof. Dr. Oliver Trapp für die aktuelle und interessante Aufgabenstellung, die engagierte und motivierende Betreuung sowie die ständige Diskussionsbereitschaft.

Bei Herrn Prof. Dr. Dirk Menche möchte ich mich für die Übernahme des Korreferats bedanken.

Diese Arbeit wurde durch die vielen Vorschläge und Diskussionen mit Freunden und Arbeitskollegen erst möglich. Besonders bei Dr. Sven K. Weber und Markus J. Spallek möchte ich mich für die zahlreichen Ideen, das Korrekturlesen dieser Arbeit, die großartige Arbeitsatmosphäre und vor allem für ihre Freundschaft bedanken.

Tobias Bäcker sei für die Ergebnisse seiner Bachelorarbeit gedankt, die einen Beitrag zu dieser Arbeit leisteten.

Bei meinen jetzigen und früheren Mitarbeitern an der Universität Heidelberg und am MPI in Mülheim, besonders Basti, Caro, Claudia, Guido, Harun, Helga, Javier, Jens, Joachim, Liu, Massi, Mathias, Matthias, Micha, Roberto, Shanshan, Simone und Wolfgang bedanke ich mich für die gute Zusammenarbeit und die angenehme Arbeitsatmosphäre.

Auch den Mitarbeitern der analytischen Serviceabteilung am Max-Planck-Institut für Kohlenforschung in Mülheim Heinz-Werner Klein (MS), Alfred Deege (LC), Dr. Richard Goddard (RSA), Hans-Josef Bongard (REM, EDX) sowie Bernd Spliethoff und Axel Dreier (TEM) möchte ich danken.

Der Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh) sei für Reisestipendien und weiterer Unterstützung während meiner Arbeit für das Jungchemikerforum Mülheim gedankt.

Ein großes Dankeschön gilt meiner Familie, besonders meinen Eltern Sylvia und Michael und meiner Schwester Franziska, die mich bisher immer unterstützt und an mich geglaubt haben. Almut danke ich für die ausführliche Korrektur der Arbeit. Zuletzt danke ich Martin, dass er schon so lange an meiner Seite ist und dessen ständige Unterstützung, Motivation und Liebe vieles erleichtert hat.

Publikationen und Tagungsbeträge

Publikationen

S. Bremer, O. Trapp, **2009**, *Manuskript in Vorbereitung*. Untersuchung und Bestimmung der Kinetik für die Derivatisierungsreaktion von Aminosäuren mit *o*-Phthaldialdehyd mit der on-column Reaktionskapillarelektrophorese.

O. Trapp, S. Bremer, S.K. Weber, **2009**, *Manuskript zur Veröffentlichung angenommen*. Accessing Reaction Rate Constants in On-column Reaction Chromatography: An Extended Unified Equation for Reaction Educts and Products with Different Response Factors.

S.K. Weber, S. Bremer, O. Trapp, *Chem. Eng. Sci.* **2009**, *Manuskript zur Veröffentlichung angenommen*. Integration of reaction and separation in a microcapillary column reactor – Palladium nanoparticle catalyzed C-C bond forming reactions.

S.K. Weber, S. Bremer, M.J. Spallek, O. Trapp, **2009**, *Manuskript zur Veröffentlichung eingereicht*. Ring Closure Metathesis – A Kinetic Study by On-Column Reaction Chromatography.

S. Bremer, O. Trapp, *Electrophoresis* **2009**, *30*, 329-336. Investigation of the stereodynamics of tris-(α -diimine)-transition metal complexes by enantioselective dynamic MEKC.

O. Trapp, S.K. Weber, S. Bauch, T. Bäcker, W. Hofstadt, B. Spliethoff, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 4657-4666. High-throughput kinetic study of hydrogenations over palladium nanoparticles – Combination of reaction and analysis.

O. Trapp, S.K. Weber, S. Bauch, W. Hofstadt, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 7447-7451. Hochdurchsatz-Screening von Katalysatoren durch Integration von Reaktion und Analyse. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7307-7310. High-throughput screening of catalysts by combining reaction and analysis.

Posterpräsentationen

S.K. Weber, S. Bremer, O. Trapp, Ruperto-Carola-Symposium **2008**: Small Molecule Activation and Bioenergy Conversion, Heidelberg, Deutschland. High-throughput reaction monitoring of enantioselective hydrogenations with on-column chromatography.

S. Bauch, S.K. Weber, O. Trapp, 10. Frühjahrssymposium des JCF **2008**, Rostock, Deutschland. Kinetics of the Interconversion of Tris(1,10-diimine)-transition-metal-complexes by Dynamic Micellar Electrokinetic Chromatography.

S.K. Weber, S. Bauch, O. Trapp, 41. Jahrestreffen Deutscher Katalytiker **2008**, Weimar, Deutschland. Hochdurchsatz-Screening von Grubbs-Katalysatoren durch Integration von Reaktion und Analyse.

S. Bauch, S.K. Weber, O. Trapp, 19th International Symposium on Chirality **2007**, San Diego, USA. Investigation of the Interconversion of Tris(1,10-phenanthroline)-transition metal-complexes by Dynamic Micellar Electrokinetic Chromatography.

S. Bauch, O. Trapp, ANAKON **2007**, Jena, Deutschland. Screening von Katalysatoren mittels on-column Reaktionschromatographie.

O. Trapp, S. Bauch, S.K. Weber, 40. Jahrestreffen Deutscher Katalytiker **2007**, Weimar, Deutschland. Lab-in-a-Capillary – Integrierter Reaktor zum Hochdurchsatzscreening von Katalysatoren und zur Synthese.

Vorträge auf Konferenzen

S. Bauch, 18. Doktorandenseminar des AK Separation Science **2008**, Hohenroda, Deutschland. Untersuchung der Interkonversion von Tris(α -Diimin)-Übergangsmetallkomplexen mit der Dynamischen Mizellaren Elektrokinetischen Chromatographie.

Kurzfassung

Um chemische Prozesse besser zu verstehen und zu optimieren sind systematische Studien des Reaktionsmechanismus von fundamentaler Bedeutung. Die Kenntnis der Kinetik spielt hierbei eine zentrale Rolle. Durch die Kombination von Reaktion und Analyse in einem chromatographischen Reaktor (on-column Reaktionskapillarelektrophorese ocRCE bzw. on-column Reaktionsgaschromatographie ocRGC) können Geschwindigkeitskonstanten k und Aktivierungsparameter ΔG^\ddagger , ΔH^\ddagger und ΔS^\ddagger präzise und umfassend bestimmt werden. In der vorliegenden Arbeit wird diese Strategie angewendet, um kinetische und mechanistische Details verschiedener (katalytischer) Prozesse zu untersuchen, wobei unterschiedliche chromatographische Methoden zum Einsatz kommen.

Nach einer Einleitung in Kapitel 1, die sich zunächst mit allgemeinen Aspekten der Reaktionskinetik und der on-column Reaktionschromatographie beschäftigt, wird in Kapitel 3 detaillierter auf die Berechnung kinetischer Daten aus experimentellen Chromatogrammen bzw. Elektropherogrammen für verschiedene Reaktionstypen eingegangen.

In Kapitel 4 wird die Interkonversion chiraler Tris(1,10-Phenanthrolin)- und Tris(2,2'-Bipyridyl)-Übergangsmetallkomplexe mithilfe der dynamischen mizellaren elektrokinetischen Chromatographie (DMEKC) untersucht, die eine Trennung der Komplexe ermöglicht. Durch Anwendung der Unified Equation können aus den gemessenen dynamischen Elutionsprofilen, die sich typischerweise durch die Ausbildung eines Plateaus zwischen den Peaks auszeichnen, Geschwindigkeitskonstanten und aus temperaturabhängigen Messungen Aktivierungsparameter berechnet werden (Abbildung 1).

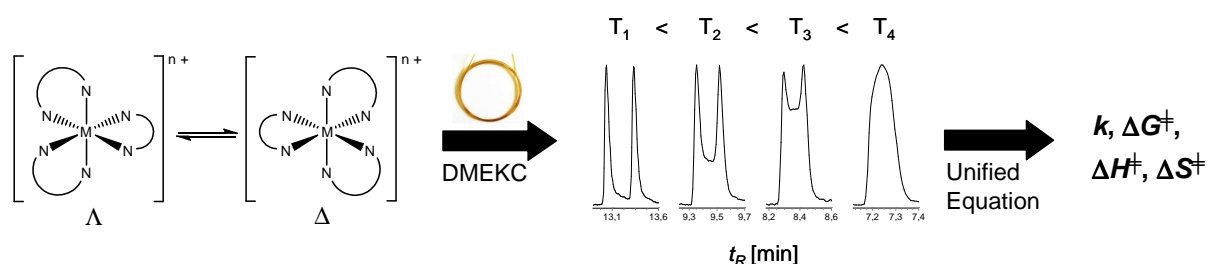


Abbildung 1: DMEKC von Tris(α -Diimin)-Übergangsmetallkomplexen.

Durch die systematische Variation der Reaktionsbedingungen (Laufpuffer, Temperatur) sowie des Übergangsmetalls (ÜM) und des Liganden werden umfassende Datensätze generiert, die zu einem besseren Verständnis des zugrunde liegenden Interkonversionsmechanismus beitragen. Des Weiteren wird die Synthese des Tris(1,10-Phenanthrolin)-Nickel(II)-Komplexes

aus Ni(II)-Salzen und dem Liganden mit der ocRCE untersucht und aus den Elektropherogrammen wird der Enantiomerenüberschuss (ee) bestimmt.

Die Untersuchung der katalytischen Hydrierungen ungesättigter Verbindungen über hoch aktiven Palladiumnanopartikeln (Pd-NP) mithilfe der ocRGC wird in Kapitel 5 beschrieben, wobei die Nanopartikeln in einer Polysiloxanmatrix stabilisiert und auf einer fused-silica Kapillare immobilisiert sind (Abbildung 2). Durch die systematische Variation der stabilisierenden Polysiloxanmatrix, des Beladungsgrads des Palladiumprecursors sowie der Katalysatorvorbehandlung wird anhand umfangreicher TEM-Messungen die Abhängigkeit der Größe und Morphologie der Nanopartikel von diesen Faktoren untersucht. Mit diesen katalytisch aktiven stationären Phasen werden Hydrierungen einer Substratbibliothek in ocRGC-Experimenten durchgeführt, um temperaturabhängige Geschwindigkeitskonstanten, Aktivierungsparameter sowie Diffusionskoeffizienten der Substrate in der Polysiloxanmatrix zu bestimmen.

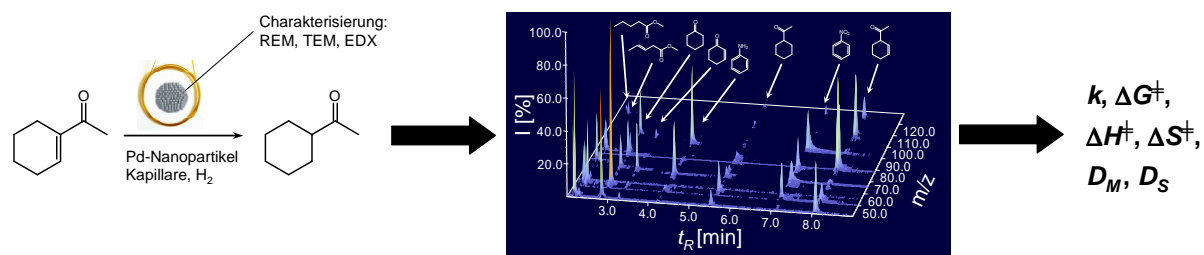


Abbildung 2: OcRGC-Hydrierung ungesättigter Verbindungen über hoch aktiven Pd-NP.

Kapitel 6 beschreibt die Derivatisierung von Aminosäuren (AS) mit *o*-Phthaldialdehyd (OPA) mithilfe der ocRCE. Bei diesem Konzept werden die Reaktanden sukzessive auf fused-silica Kapillaren injiziert, so dass aufgrund der unterschiedlichen Migrationszeiten im elektrischen Feld eine Überlappung der Substratvolumina und somit die Reaktion in der Kapillare stattfindet (Abbildung 3). Durch gezielte Variation der Eduktkonzentrationen können mechanistische Details anhand der Umsätze studiert werden. Darüber hinaus wird das neue Computerprogramm ocRCXplorer vorgestellt, mit dem Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten für Reaktionen zweiter Ordnung aus ocRCE-Experimente auf der Basis des theoretischen Bodenmodells der Chromatographie bestimmt werden können.

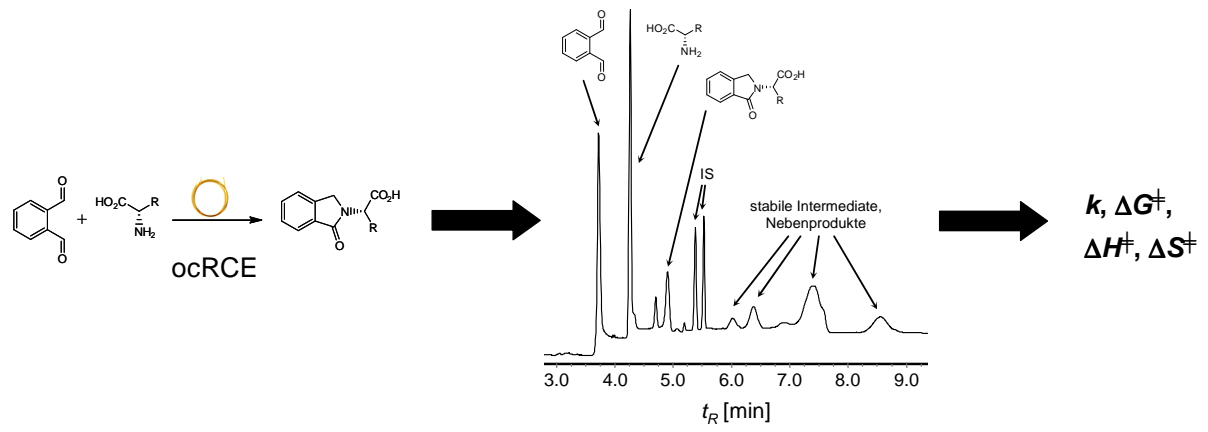


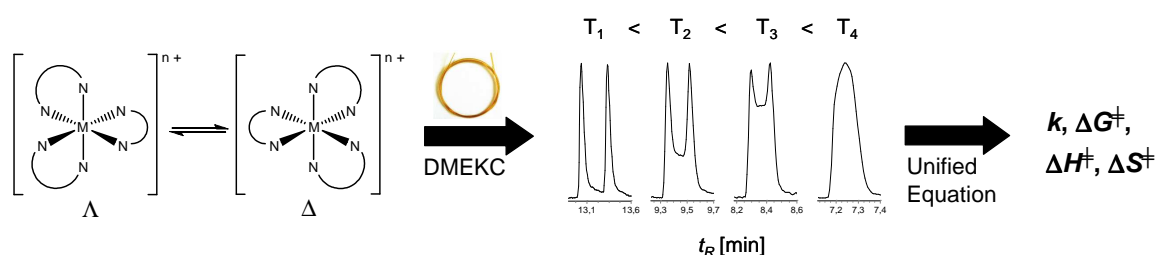
Abbildung 3: OcRCE von *o*-Phthaldialdehyd mit Aminosäuren.

Abstract

Systematic investigations of the reaction mechanism are of fundamental importance for a better understanding and optimization of chemical processes. In this context, the knowledge of kinetic data plays a major role. The combination of reaction and analysis in a single chromatographic reactor (on-column reaction capillary electrophoresis ocRCE and on-column reaction gaschromatography ocRGC) allows the precise and comprehensive determination of reaction rate constants k as well as activation parameters ΔG^\ddagger , ΔH^\ddagger and ΔS^\ddagger . In the present thesis, this strategy is applied to examine kinetic and mechanistic details of a broad variety of (catalytic) processes using different chromatographic methods.

After an introduction about general aspects of reaction kinetics and on-column reaction chromatography in chapter 1, a more detailed reflection on the determination of kinetic data from experimental chromatograms and electropherograms for several reaction types is presented in chapter 3.

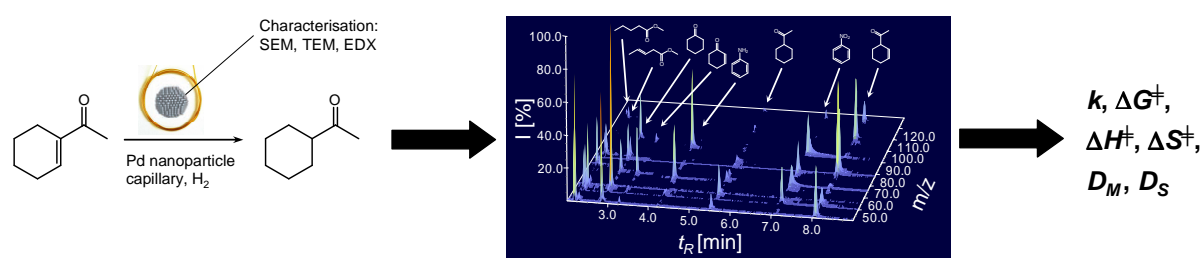
In chapter 4 the interconversion of chiral tris(1,10-phenanthroline)- and tris(2,2'-bipyridyl)-transition metal complexes utilizing dynamic micellar electrokinetic chromatography (DMEKC), which enables the separation of the complexes, is discussed. From the obtained dynamic elution profiles which are typically characterized by a distinct plateau formation between the separated peaks, reaction rate constants k can be obtained with the Unified Equation of chromatography and from temperature-dependent measurements activation parameters can be calculated (Scheme 1).



Scheme 1: DMEKC of tris(α -diimine)-transition metal complexes.

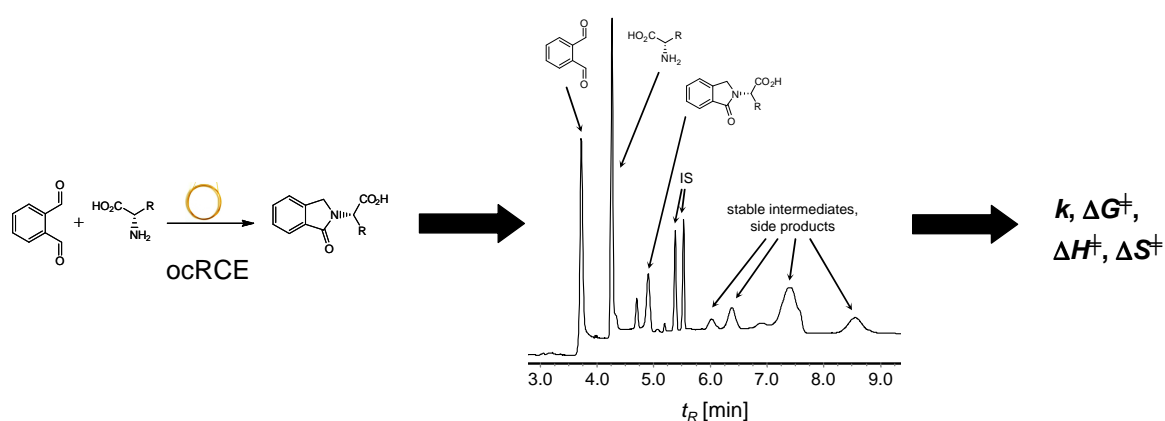
By systematic variation of the reaction conditions (buffer, temperature) and the transition metal as well as the ligand of the complex, comprehensive data sets are generated, that contribute to a deeper understanding of the interconversion mechanism. Furthermore, the synthesis of the tris(1,10-phenanthroline)-nickel(II) complex from Ni(II)-salts and the ligand is investigated by means of ocRCE and the enantiomeric excess (ee) is determined from the electropherograms.

The investigation of the catalytic hydrogenation of unsaturated compounds over highly active palladium nanoparticles, which are stabilized in a polysiloxane matrix and immobilized on a fused-silica capillary, by ocRGC is discussed in chapter 5 (Scheme 2). By systematic variation of the stabilizing polysiloxane matrix, the loading of the palladium precursor and the catalyst pre-treatment the dependency of the nanoparticles size and morphology on these factors is investigated by comprehensive TEM measurements. Hydrogenation reactions of a substrate library are performed in ocRGC experiments with these catalytically active stationary phases to determine reaction rate constants, activation parameters and diffusion coefficients for the substrates in the polysiloxane matrix.



Scheme 2: OcRGC hydrogenation of unsaturated compounds over highly active palladium nanoparticles.

Chapter 6 describes the derivatisation reaction of amino acids with *o*-phthaldialdehyde by means of ocRCE. Here, the reactants are successively injected onto fused-silica capillaries. Due to their different migration velocities in the electric field an overlap of the educt plugs, and thus the reaction takes place inside the capillary (Scheme 3). The systematic variation of the educt concentrations allows to study mechanistic details from the conversion data. Furthermore the new computer program ocRCXplorer for the determination of rate constants of 2nd order reactions from ocRCE experiments, based on the theoretical plate model of chromatography, is introduced.



Scheme 3: OcRCE of *o*-phthaldialdehyde with amino acids.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	2
1.1. Kinetik	2
1.2. Chromatographische Methoden zur Bestimmung der Kinetik	4
1.2.1. Offline-Analytik	5
1.2.2. Online-Analytik	5
1.2.3. On-column Reaktionschromatographie	7
2. Zielsetzung	10
3. Bestimmung von Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten, Umsätzen und Aktivierungsparametern mittels chromatographischer Methoden	14
3.1. Das theoretische Bodenmodell	14
3.2. Bestimmung von Geschwindigkeitskonstanten dynamischer Prozesse	16
3.3. Bestimmung von Geschwindigkeitskonstanten nicht-dynamischer Prozesse mit einer Kinetik (pseudo-)erster Ordnung	21
3.4. Bestimmung von Geschwindigkeitskonstanten für Reaktionen mit einer Kinetik zweiter Ordnung	23
3.4.1. Prinzip der on-column Reaktionskapillarelektrophorese für Reaktionen zweiter Ordnung	23
3.4.2. Allgemeine Vorbemerkungen zur Kinetik von Reaktionen zweiter Ordnung	25
3.4.3. Das Computerprogramm ocRCXplorer	26
3.4.4. Berechnung von Umsätze und Ausbeuten	33
3.5. Berechnung von Aktivierungsparametern	34
4. Interkonversion von Tris(α-Diimin)-Übergangsmetallkomplexen	38
4.1. Einleitung	38
4.1.1. Klassische Methoden zur Enantiomerenanalytik	38
4.1.2. Chromatographische Methoden zur Enantiomerenanalytik	39
4.1.3. Zielsetzung	44
4.2. Ergebnisse und Diskussion	45
4.2.1. Bestimmung der optimalen Messbedingungen für die enantioselektive dynamische mizellare elektrokinetische Chromatographie zur Trennung von Tris(α -Diimin)-Übergangsmetallkomplexen	45

4.2.2.	Interkonversion der Tris(α -Diimin)-Komplexe bei Erhöhung der Temperatur bis zum Koaleszenzpunkt	49
4.2.3.	Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten für die interkonvertierenden Komplexe	53
4.2.4.	Bestimmung der Aktivierungsparameter für die interkonvertierenden Komplexe	56
4.2.5.	On-column Reaktionskapillarelektrophorese eines Ni(II)-Salzes mit Phenanthrolin	60
4.3.	Zusammenfassung	62
5.	On-column Hydrierung ungesättigter Verbindungen über hoch aktiven Palladiumnanopartikeln	64
5.1.	Einleitung	64
5.1.1.	Katalyse	64
5.1.2.	On-column Reaktionsgaschromatographie	66
5.1.3.	Hydrierung über aktiven Metallnanopartikeln	68
5.1.4.	Palladiumnanopartikel	69
5.1.5.	Zielsetzung	72
5.2.	Ergebnisse und Diskussion	74
5.2.1.	Herstellung von Palladiumnanopartikeln in einer stabilen Polysiloxanmatrix	74
5.2.2.	Katalytische Hydrierung mit der on-column Reaktionsgaschromatographie	79
5.2.3.	Einfluss der Säuleneigenschaften und der Messparameter auf den Umsatz	81
5.2.4.	Berechnung von Geschwindigkeitskonstanten und Aktivierungsparametern	86
5.2.5.	Präparative on-column Hydrierung	91
5.2.6.	Bestimmung von Diffusionskoeffizienten	93
5.3.	Zusammenfassung	95
6.	Derivatisierung von Aminosäuren mit <i>o</i>-Phthaldialdehyd mit der on-column Reaktionskapillarelektrophorese	98
6.1.	Einleitung	98
6.1.1.	Derivatisierung von Aminosäuren	98
6.1.2.	Kapillarelektrophoretische Methoden zur Derivatisierung von Aminosäuren mit <i>o</i> -Phthaldialdehyd	100
6.1.3.	Zielsetzung	104
6.2.	Ergebnisse und Diskussion	105
6.2.1.	Reaktion von <i>o</i> -Phthaldialdehyd und <i>L</i> -Aminosäuren in Offline-Experimenten	106
6.2.2.	Reaktion von <i>o</i> -Phthaldialdehyd und <i>L</i> -Phenylalanin in on-column reaktionskapillarelektrophoretischen Experimenten	111

6.2.3.	Bestimmung von Geschwindigkeitskonstanten und Aktivierungsparametern aus den on-column reaktionskapillarelektrophoretischen Experimenten	116
6.3.	Zusammenfassung	121
7.	Experimenteller Teil	124
7.1.	Allgemeine Vorbemerkungen	124
7.2.	Analytische Methoden	124
7.3.	Software	126
7.4.	Experimenteller Teil – Kapitel 4	127
7.4.1.	Synthese von Tris(α -Diimin)-Übergangsmetallkomplexen	127
7.4.2.	Dynamische mizellare elektrokinetische Chromatographie zur Trennung von Tris(α -Diimin)-Übergangsmetallkomplexen	127
7.4.3.	Enantioselektive on-column Reaktionskapillarelektrophorese eines Nickel(II)-Salzes mit Phenanthrolin	128
7.5.	Experimenteller Teil – Kapitel 5	129
7.5.1.	Herstellung der Polysiloxane für die Belegung der fused-silica Kapillaren	129
7.5.2.	Herstellung von Palladiumnanopartikeln in einer Polysiloxanmatrix	130
7.5.3.	Belegung der Kapillaren mit Palladiumnanopartikeln	130
7.5.4.	Katalytische Hydrierung mit der on-column Reaktionsgaschromatographie	131
7.5.5.	Präparative on-column Hydrierung	131
7.6.	Experimenteller Teil – Kapitel 6	132
7.6.1.	Synthese von <i>L</i> -Phenylalanin-Phthalimidon	132
7.6.2.	Herstellung der Kalibrierlösungen	132
7.6.3.	Externe Kalibrierung	133
7.6.4.	Offline-Derivatisierungsreaktion	133
7.6.5.	Derivatisierung von <i>L</i> -Phenylalanin mit <i>o</i> -Phthaldialdehyd mit der on-column Reaktionskapillarelektrophorese	134
8.	Anhang	136
9.	Zusammenfassung	140
10.	Literaturverzeichnis	144

Verzeichnis der Abkürzungen und Akronyme

2ME	2-Mercaptoethanol
3D	dreidimensional
α	Trennfaktor
A	Term für die Eddy-Diffusion
A_i	Peakfläche von i
A_0	Konzentration des Enantiomers A zum Zeitpunkt $t = 0$
AS	Aminosäure
β	Phasenverhältnis
B	Term für die Longitudinaldiffusion
B_0	Konzentration des Enantiomers B zum Zeitpunkt $t = 0$
bipy	2,2'-Bipyridyl
C	Massentransferterm
c_i	Konzentration von i
CD	Cyclodextrin
CE	Kapillarelektrophorese
ΔG^\ddagger	freie Aktivierungsenthalpie
ΔH^\ddagger	Aktivierungsenthalpie
ΔS^\ddagger	Aktivierungsentropie
D	Diffusionskoeffizient
d_f	Filmdicke der stationären Phase
DAD	Diodenarraydetektor
DMEKC	Dynamische mizellare elektrokinetische Chromatographie
EDX	Energiedispersive Röntgenspektroskopie
ee	Enantiomerenüberschuss
EKC	Elektrokinetische Chromatographie
Φ	Gauß'sche Verteilungsfunktion
FID	Flammenionisationsdetektor
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
GC	Gaschromatographie
h	Plancksches Wirkungsquantum ($h = 6.626 \cdot 10^{-34}$ J s)
H	Bodenhöhe
h_p	Höhe des Plateaus
HMPS	Hydridomethylsiloxan-Dimethylsiloxan Copolymer
I	Intensität
I.D.	Innendurchmesser
IS	Interner Standard
κ	Transmissionskoeffizient

k	Reaktionsgeschwindigkeitskonstante
k'	Retentionsfaktor
K'	Verteilungskoeffizient
k_B	Boltzmannsche Konstante ($k_B = 1.381 \cdot 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$)
l	Länge der Kapillare oder eines Kapillarabschnitts
MEKC	Mizellare elektrokinetische Chromatographie
MS	Massenspektrometrie
MVPS	Methylvinylsiloxan-Dimethylsiloxan Copolymer
m/z	Masse-zu-Ladungs-Verhältnis
N	Anzahl der theoretischen Trennböden
NMR	Kernspinresonanz
NP	Nanopartikel
O.D.	Außendurchmesser
ocRCE	On-column Reaktionskapillarelektrophorese
ocRGC	On-column Reaktionsgaschromatographie
OPA	<i>o</i> -Phthaldialdehyd
Ψ	Stochastische Funktion
p	Einlassdruck am GC
Phe	<i>L</i> -Phenylalanin
phen	1,10-Phenanthrolin
R	Gaskonstante ($R = 8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$)
RCM	Ringschlussmetathese
REM	Rasterelektronenmikroskopie
RSA	Röntgenstrukturanalyse
σ	Standardabweichung
σ^2	Varianz
SDS	Natriumdodecylsulfat
t	Zeit
t_M	Durchflusszeit
t_R	Retentions- bzw. Migrationszeit
T	Temperatur
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
u	Geschwindigkeit der mobilen Phase
ÜM	Übergangsmetall
V_i	Volumen von i
w_h	Peakbreite auf halber Höhe
X_i	Umsatz von i
Y_i	Ausbeute von i

Kapitel 1

Einleitung

1. Einleitung

1.1. Kinetik

Um neuartige Verbindungen zu synthetisieren oder bekannte chemische Prozesse zu optimieren, ist das Verständnis des zugrunde liegenden Reaktionsmechanismus von fundamentaler Bedeutung. Die Untersuchung der Kinetik chemischer Reaktionen ermöglicht unter anderem die Bestimmung von Reaktionsordnungen und Elementarreaktionen, vor allem aber von Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten und Aktivierungsparametern. Kinetische Studien tragen daher auch dazu bei, Reaktionsmechanismen besser zu verstehen, so dass deren Durchführung unerlässlich für die Weiterentwicklung sowie Verbesserung chemischer Prozesse ist.

Zur Bestimmung der Geschwindigkeiten chemischer Prozesse wird die zeitliche Änderung der Konzentration von Edukten und Produkten untersucht. Bei Kenntnis der Reaktionsgleichung ist es ausreichend, die Änderung des Umsatzes einer Komponente zu verfolgen, da die Konzentrationänderung aller Komponenten über die stöchiometrischen Faktoren der Reaktion miteinander verknüpft ist. Die Wahl eines geeigneten Bestimmungsverfahrens hängt von den physikalischen Eigenschaften der Reaktionspartner, den Reaktionsbedingungen und vor allem von der Geschwindigkeit der zu untersuchenden Reaktion ab (Tabelle 1). Generell sollte die für die Analyse benötigte Zeit wesentlich kürzer sein als die Reaktionszeit. Darüber hinaus darf das Messverfahren den Reaktionsablauf nicht beeinflussen.

Tabelle 1: Experimentelle Methoden zur Untersuchung der Reaktionskinetik.^[1]

Methode	Zeitbereich [s]
Femtosekundenchemie	$> 10^{-15}$
Blitzlichtphotolyse	$> 10^{-12}$
Elektronenspinresonanz	$10^{-9} - 10^{-4}$
Temperatursprungmethode	$10^{-6} - 1$
Phosphoreszenz	$10^{-6} - 10$
Kernspinresonanz	$10^{-5} - 1$
Stopped-flow-Methode	$> 10^{-3}$

Die Konzentration der Reaktionspartner kann über verschiedene Messgrößen bestimmt werden, die quantitativ proportional zur Konzentration der beobachteten Komponente(n) sein müssen. Häufig eingesetzte Analysenverfahren beruhen – in Abhängigkeit von den chemischen und physikalischen Eigenschaften der Substrate – auf der Messung der Leitfähigkeit, der Dielektrizitätskonstanten, des Brechungsindex, der Lichtabsorption, der optischen Aktivität, oder der Fluoreszenz.

Generell wird zwischen diskontinuierlichen und kontinuierlichen Verfahren unterschieden. Bei diskontinuierlichen Verfahren („Abbruchmethoden“) werden dem Reaktionsgemisch zu definierten Zeitpunkten Proben entnommen und analysiert oder die Messung wird in Intervallen direkt an der Reaktionsmischung durchgeführt. Diese Vorgehensweise ist nur bei langsamen Reaktionen (min – h) zu empfehlen, damit die Konzentration der nach der Entnahme weiterreagierenden Substanzen nicht verfälscht wird. Um die Reaktion zu stoppen, werden die entnommenen Proben häufig gequenchet: Kühlung, Zugabe von Wasser, Entfernung eines Reaktionspartners z.B. durch Fällung, Neutralisation. Eine Verzögerung der Konzentrationsbestimmung durch die Probennahme sollte vermieden werden und die Analytik möglichst unmittelbar nach der Entnahme erfolgen.

Mit kontinuierlichen Messverfahren („Echtzeitanalyse“) können dagegen auch schnellere Reaktionen (ms – min) untersucht werden. Hierbei wird die Zusammensetzung der Reaktionsmischung durchgehend am Reaktionsgemisch meist spektroskopisch beobachtet. Bei der Blitzlichtphotolyse^[2-4] wird die gasförmige oder flüssige Reaktionsmischung einem kurzen, intensiven Photolyse- oder Aktivierungsblitz (fs – ns) im sichtbaren oder ultravioletten Spektralbereich ausgesetzt und der Inhalt der Reaktionskammer danach spektralphotometrisch zu verschiedenen Zeitpunkten untersucht. Bei Relaxationsmethoden^[5-7] wird eine ursprünglich im Gleichgewicht befindliche Reaktionsmischung durch eine schnelle Änderung eines Parameters aus demselben gebracht und die Rückkehr in den neuen Gleichgewichtszustand (Relaxation) wird spektroskopisch beobachtet. So beruhen die Temperatursprung- und die Drucksprungmethode auf einer plötzlichen Änderung der Temperatur bzw. des Druckes. Bei Strömungsmethoden^[8] kommen häufig spezielle Strömungsapparate zum Einsatz (Abbildung 4a). Die Edukte werden beim Eintritt in die Reaktionskammer gemischt und die Reaktion schreitet fort, während die gemischten Komponenten mit einer definierten Geschwindigkeit durch das Auslassrohr strömen. Der von der Reaktionsmischung zurückgelegte Weg ist dann ein Maß für die seit Reaktionsbeginn vergangene Zeit. Die Messung der Konzentration an verschiedenen Stellen des Auslassrohres

erlaubt die Bestimmung der Zusammensetzung des Reaktionsgemisches zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Vermischung der Edukte.

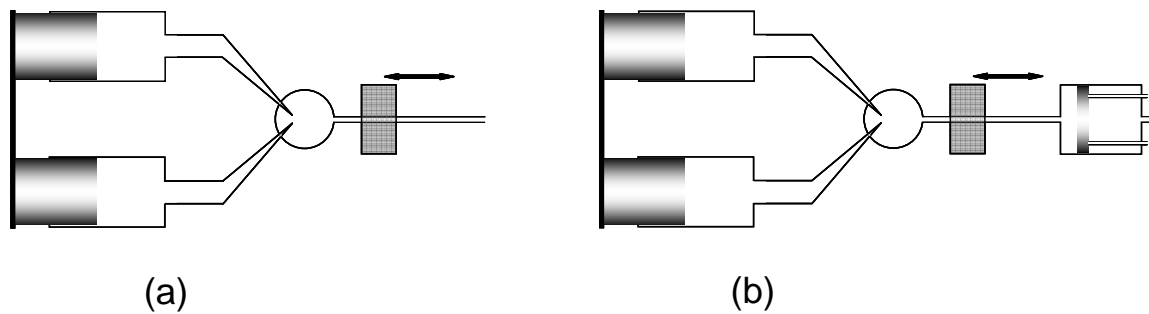


Abbildung 4: Experimentelle Anordnung zur Bestimmung von Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten mit (a) Strömungsmethoden und (b) stopped-flow-Methoden.

Ein Nachteil der Strömungsmethode liegt im großen Lösungsmittelverbrauch – besonders bei sehr schnellen Reaktionen muss eine hohe Strömungsgeschwindigkeit herrschen, damit der Reaktionsverlauf auf eine ausreichende Länge des Auslassrohrs verteilt wird. *Stopped-flow*-Methoden umgehen diesen Nachteil, da die Mischung der Komponenten extrem schnell erfolgt und sich am Ende des Auslassrohrs eine Beobachtungskammer befindet, die mit einem Kolben verschlossen ist (Abbildung 4b). Dieser Kolben wird beim Einströmen der Reaktionsmischung so weit nach hinten gedrückt, bis ein definiertes Volumen erreicht ist und der Fluss blockiert wird. Die Reaktion setzt sich in der gut gemischten Lösung fort und die Konzentrationsänderung in der Kammer wird kontinuierlich verfolgt. Da auf diese Weise nur eine kleine, einzelne Probe in der Mischkammer erzeugt wird, sind diese Verfahren viel ökonomischer als Strömungsmethoden.

1.2. Chromatographische Methoden zur Bestimmung der Kinetik

Mithilfe chromatographischer oder elektrophoretischer Methoden ist es möglich, komplexe Produktgemische, die während einer Reaktion entstehen, sowohl zu trennen als auch zu charakterisieren. Die qualitative Analyse dient der Identifikation einzelner Komponenten in der Reaktionsmischung, die quantitative Analyse erlaubt die Bestimmung von Substratkonzentrationen, so dass Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten berechnet werden können. Prinzipiell können drei Vorgehensweisen für die Bestimmung der Kinetik mit chromatographischen Methoden unterschieden werden (Abbildung 5): (a) Diskontinuierliche Analytik nach Abbruch der Reaktion (Offline-Analytik), (b) direkte Kopplung des Reaktors an einen Chromatographen und kontinuierliche Verfolgung der Reaktion (Online-Analytik)

sowie (c) die simultane Durchführung von chemischer Reaktion und Analyse der Reaktionsmischung (Trennung, Identifikation, Quantifizierung) in einer chromatographischen Säule (on-column Reaktionschromatographie).

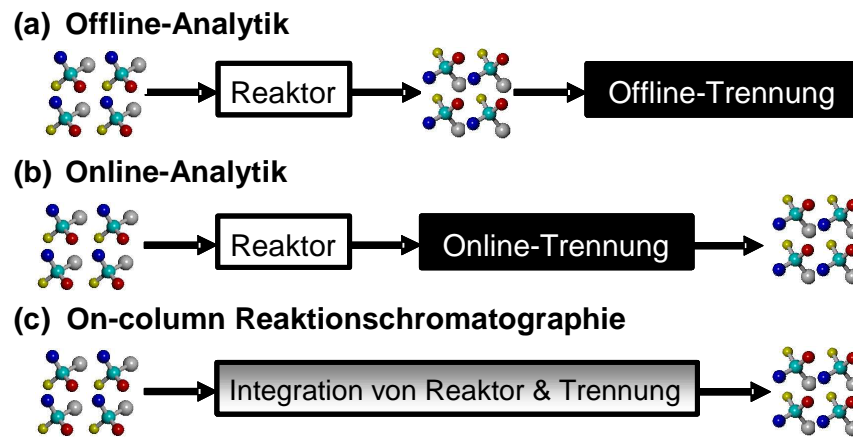


Abbildung 5: Schematische Darstellung chromatographischer Analytik-Strategien: (a) Analytik nach Reaktionsabbruch, (b) direkte Kopplung der Analytik mit dem Reaktor und (c) Integration von Reaktion und Analytik in einem chromatographischen Reaktor (on-column Reaktionschromatographie).

1.2.1. Offline-Analytik

Mit den häufig verwendeten, diskontinuierlich betriebenen Batch-Reaktoren kann üblicherweise nur eine Reaktion pro Lauf untersucht werden. Reaktion, Trennung und die Quantifizierung der Edukte und Produkte für die Berechnung der Umsätze, müssen nacheinander ausgeführt werden, da nebeneinander ablaufende, konkurrierende Reaktionen zu undefinierbaren Reaktionskinetiken führen. Beim Offline-Ansatz erfolgt die Analyse der Reaktionsmischung nach der eigentlichen Reaktion – entweder sequentiell oder parallelisiert (Abbildung 5a). Dazu werden dem Reaktionsgemisch diskontinuierlich Proben entnommen und z.B. durch die Berechnung des Umsatzes analysiert. Dieses Vorgehen ist weit verbreitet, kann jedoch für die Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit vor allem schnellerer Reaktionen nicht angewendet werden, da die Proben in genau definierten, zuvor festgelegten Zeitintervallen dem Reaktor entnommen werden und zusätzlich gequenchet werden müssen, damit weiterer Umsatz während der Analyse vermieden wird.^[9, 10]

1.2.2. Online-Analytik

Dagegen erlaubt die direkte Kopplung des Reaktors mit einem Chromatographen die Charakterisierung der Reaktionsmischung in Echtzeit (Abbildung 5b).^[11-13] Die Proben

werden hierbei stets unter denselben Bedingungen gemessen und die Reaktionszeiten können präzise kontrolliert werden. Online-Methoden bieten darüber hinaus den Vorteil, dass die Reaktionen von Eduktbibliotheken in einem Hochdurchsatz-Modus untersucht werden können. Obwohl beispielsweise die Gaschromatographie (GC) eine im Vergleich zu anderen Methoden eher langsame analytische Methode ist, können mit optimierten Temperaturprogrammen und unter Verwendung von Multikapillarsäulen Messzeiten im Bereich von Minuten erreicht werden.^[14] Mithilfe von Multiplexing-Techniken können die Analysenzeiten darüber hinaus deutlich verkürzt werden. Trapp führte einen Ansatz für die Multiplexing-Gaschromatographie ein.^[15-17] Hierbei werden die Proben sehr schnell durch einen Multiplexing-Injektor nacheinander, entsprechend einer Pseudozufallssequenz, auf die Trennsäule injiziert und die Analyten jeder einzelnen Injektion auf der Säule getrennt. Das erhaltene Chromatogramm stellt eine Überlagerung der zeitlich versetzten Chromatogramme für die einzelnen Injektionen dar und kann mit der Hadamard-Transformation und anschließender Matrix-Manipulation in die einzelnen konventionellen Chromatogramme aufgeschlüsselt werden. Für Proben (bestehend aus fünf Analyten) mit einer konventionellen Trenndauer von etwa fünf Minuten, konnte auf diese Weise ein Durchsatz von bis zu 299 Proben pro Stunde erreicht werden.

Seit einiger Zeit schreitet die Entwicklung mikrofluidischer Systeme für den Laborgebrauch und die industrielle Anwendungen rasant voran.^[18-29] Solche Systeme stellen einen vielversprechenden Ansatz für parallelisierte Hochdurchsatzmessungen, z.B. das Screening von Katalysatoren, mit einem geringen Materialverbrauch und geringen Abfallmengen dar.^[21, 24] Die Entwicklung miniaturisierter Systeme begann mit mikroanalytischen Methoden, z.B. in der Gaschromatographie mit dem Übergang von gepackten Säulen hin zu Trennkapillaren.^[30, 31] Die ersten theoretischen Arbeiten zur Miniaturisierung chromatographischer Systeme wurden bereits in der 1950er Jahren veröffentlicht.^[32] Trotz z.T. extrem geringer Probenmengen und zeitlich aufwändiger Probenvorbereitung werden heute mit diesen Techniken hohe Sensitivitäten und Auflösungen erreicht. Erst kürzlich wurden Systeme mit kleinen Reaktionskanälen für die organische Synthese und das Hochdurchsatz-Screening entwickelt.^[33] Neben unkatalysierten Reaktionen in der flüssigen Phase eignen sich diese mikrofluidischen Reaktoren aufgrund des großen Verhältnisses von Oberfläche zum Volumen hervorragend für heterogen katalysierte Prozesse.^[34] Eine Weiterentwicklung stellen Systeme dar, die Synthese und Analyse auf einem Mikrochip vereinigen ("lab-on-a-chip").^[19-21, 28, 35] Die Identifizierung und die Quantifizierung des Reaktionsgemisches erfolgen hier in Echtzeit, da die Mikroreaktoren direkt mit analytischen

Messapparaten gekoppelt werden können. Darüber hinaus erlaubt diese Kombination auch die stetige Kontrolle von Reaktionsparametern wie Temperatur T , Konzentration c oder pH-Wert.

Trotz der rasanten Entwicklung auf diesem Gebiet bestehen noch einige Herausforderungen,^[36] die einer Lösung bedürfen. Zum einen müssen Mischungsvorgänge in den Reaktionskanälen besser charakterisiert und kontrolliert werden, da Diffusionsprozesse in den Mikrokanälen zu den berechneten, scheinbaren Geschwindigkeitskonstanten beitragen. Zum anderen bestehen häufig Schwierigkeiten, mikrofluidische Systeme mit Standard-Analysenmethoden (z.B. GC, HPLC, CE, MS) zu koppeln.

1.2.3. On-column Reaktionschromatographie

Die Begriffe Reaktionschromatographie bzw. Reaktionskapillarelektrophorese werden im Rahmen dieser Arbeit für chemische Prozesse verwendet, die zwischen Injektor und Detektor chromatographischer bzw. elektrophoretischer Messsysteme stattfinden (Abbildung 5c). Der Ort der Reaktion wird durch Zusätze wie in-inlet, on-column, usw. genauer spezifiziert. Nach dieser Definition beschreibt der Begriff on-column Reaktionschromatographie alle Prozesse, die innerhalb einer chromatographischen Trennsäule stattfinden. Hiermit sind eine Vielzahl verschiedener Reaktionstypen umfasst, wie beispielsweise die Interkonversion von Stereoisomeren, die Reaktionen von Substraten mit dem Trägergas (GC), dem Eluenten (LC, CE) oder mit den in der Säule immobilisierten Katalysatoren oder die Reaktion von zwei oder mehr Substraten untereinander.

Diese Prozesse erfolgen in einer Trennkapillare, die es ermöglicht, entsprechend der Selektivität der stationären Phase, Edukte und Produkte voneinander zu trennen und mit einem geeigneten Detektor sowohl zu identifizieren als auch zu quantifizieren. Mit dieser Methode ist es möglich, den Mechanismus schneller Reaktionen ($k > 10^{-2} \text{ s}^{-1}$) genau zu studieren, da aus den gemessenen Chromatogrammen Daten zur Reaktionskinetik, Adsorption und Diffusion direkt zugänglich sind. Die Verwendung katalytisch aktiver Kapillaren bietet darüber hinaus die Möglichkeit katalysierte Reaktion zu untersuchen. Durch ein systematisches Screening von Katalysatoren und Substratbibliotheken wird ein tieferes Verständnis des zugrunde liegenden Reaktionsmechanismus erhalten, so dass die ablaufenden Prozesse optimiert werden können.

Kapitel 2

Zielsetzung

2. Zielsetzung

Präzise kinetische Studien erfordern eine genaue Temperaturkontrolle, kurze Messzeiten und ein hohes Maß an Reproduzierbarkeit. Um detaillierte Datensätze für eine Reaktion zu erhalten, müssen umfangreiche Substrat- oder Katalysatorbibliotheken einer möglichst großen Vielfalt untersucht werden. Da die ocRGC und die ocRCE diese Kriterien erfüllen, ist es Ziel der vorliegenden Arbeit, systematische kinetische Untersuchungen mit diesen Techniken durchzuführen und aus den ermittelten Chromatogrammen Geschwindigkeitskonstanten und Aktivierungsparameter zu bestimmen. Aus diesen Daten können dann Rückschlüsse auf den jeweiligen Reaktionsmechanismus gezogen werden. Um die Anwendungsbreite zu demonstrieren, werden exemplarisch verschiedene Reaktionstypen wie stereodynamische Interkonversionsprozesse, heterogen katalysierte Umsetzungen und Reaktionen mit einer Kinetik zweiter Ordnung untersucht.

Die Trennung chiraler Tris(α -Diimin)-Übergangsmetallkomplexe soll mit der enantioselektiven DMEKC bei verschiedenen Temperaturen durchgeführt und aus den gemessenen dynamischen Elektropherogrammen mit der Unified Equation Geschwindigkeitskonstanten und Aktivierungsparameter berechnet werden. Durch die systematische Variation der Messbedingungen (Puffer, Selektor) und der Komplexe (Übergangsmetall, Ligand) können anhand der gewonnenen Daten, Rückschlüsse auf den Reaktionsmechanismus der Interkonversion gezogen werden.

Die Immobilisierung von stabilisierten Palladiumnanopartikeln in fused-silica Kapillaren ergibt Systeme, die einerseits katalytisch aktiv sind und andererseits als selektive, chromatographische stationäre Phasen dienen. Dies ermöglicht die simultane Kombination von katalytischer Hydrierung ungesättigter Verbindungen und gleichzeitiger Trennung der Edukte und Produkte (ocRGC). Da gleichzeitig große Eduktbibliotheken injiziert werden können, ist ein Hochdurchsatz-Modus möglich. Aus den Chromatogrammen sollen Umsätze, kinetischen Daten, Aktivierungsparameter und Diffusionskoeffizienten bestimmt werden um mechanistische Informationen zu erlangen. Die Charakterisierung der Nanopartikel (NP) unter verschiedenen, systematisch variierten Bedingungen (stabilisierende Polysiloxanmatrix, Katalysatoraktivierung, Konzentration des Pd-Prekursors) erfolgt anhand umfangreicher transmissionselektronenmikroskopischer (TEM) Messungen, so dass die Eigenschaften der NP (Größe, Morphologie) mit ihrer katalytischen Aktivität korreliert werden können.

Die Derivatisierung primärer Aminosäuren mit *o*-Phthaldialdehyd mit chromatographischen Methoden ist ein häufig angewendetes Verfahren um deren Detektion zu erleichtern und insbesondere das Detektionslimit zu verbessern. In der vorliegenden Arbeit soll diese Reaktion mit der ocRCE untersucht werden, indem die Substrate sukzessive injiziert werden, wobei ihre Plugs in der Trennkapillare aufgrund der unterschiedlichen Mobilität im elektrischen Feld überlappen und miteinander reagieren. Da die Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten k_2 für diese Reaktion mit einer Kinetik zweiter Ordnung aus den experimentellen Elektropherogrammen nicht direkt möglich ist, wird das Computerprogramm ocRCXplorer vorgestellt, mit dem ocRCE-Elektropherogramme durch Vorgabe von k_2 auf Grundlage des theoretischen Bodenmodells simuliert werden können.

Kapitel 3

Bestimmung von Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten, Umsätzen und Aktivierungsparametern mittels chromatographischer Methoden

3. Bestimmung von Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten, Umsätzen und Aktivierungsparametern mittels chromatographischer Methoden

Kinetische Experimente können mithilfe chromatographischer bzw. elektrophoretischer Untersuchungsmethoden schnell und präzise durchgeführt werden und die jeweiligen Umsätze X , Geschwindigkeitskonstanten k sowie Aktivierungsparameter ΔG^\ddagger , ΔH^\ddagger und ΔS^\ddagger lassen sich aus den gemessenen Chromatogrammen berechnen. Da mit diesen Methoden der gesamte Prozess sowohl des chromatographischen Trennvorgangs als auch der jeweiligen Reaktion erfasst wird, handelt es sich bei allen Geschwindigkeitskonstanten um scheinbare Werte für k .

3.1. Das theoretische Bodenmodell

Anfang der 40er Jahre des letzten Jahrhunderts wurden von Martin und Synge^[37, 38] die ersten theoretischen Arbeiten zur Chromatographie verfasst. Von ihnen stammt das Konzept der theoretischen Böden,^[39-41] bei dem die stationäre Phase einer chromatographischen Trennstrecke in N einzelne, getrennte und gleichartige Abschnitte („theoretische Böden“) zerlegt wird. Die chromatographische Trennung wird als diskontinuierlicher Prozess beschrieben, bei dem alle Vorgänge wiederholt in den einzelnen Böden ablaufen, vergleichbar etwa mit einer fraktionierten Destillation. Zwei Schritte werden in jedem der N theoretischen Böden ausgeführt: (i) Verteilung eines Analyten A zwischen mobiler und stationärer Phase (charakterisiert durch den Verteilungskoeffizienten $K' = c_M / c_S$) und (ii) Weitertransport der mobilen Phase in den nächsten Boden. Dieser Stoffaustausch und Stofftransport in einer chromatographischen Trennsäule ist in Abbildung 6 schematisch dargestellt.

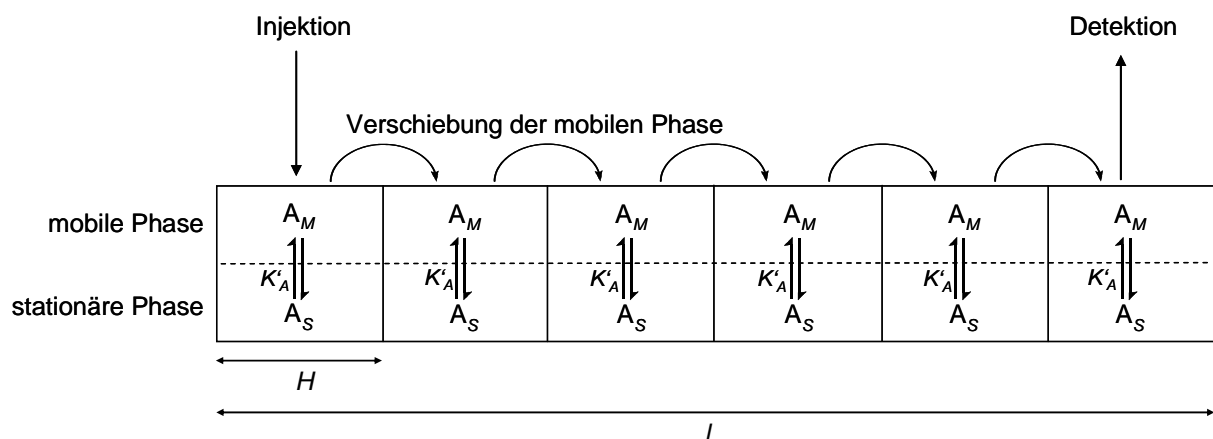


Abbildung 6: Schematische Darstellung der Verteilung eines Analyten A zwischen mobiler (M) und stationärer (S) Phase in jeder der N theoretischen Trennstufen ($N = 6$) einer chromatographischen Trennsäule nach dem theoretischen Bodenmodell.

Findet während dieser beiden Prozesse zusätzlich eine Reaktion im jeweiligen Boden statt, man denke beispielsweise an Interkonversionsprozesse, die Reaktion eines Substrats mit einem reaktiven Trägergas, oder die Reaktion zweier Edukte miteinander, so wird von der dynamischen Chromatographie bzw. on-column Reaktionschromatographie gesprochen.

Die Effizienz einer chromatographischen Säule wird durch die Anzahl der theoretischen Böden N und die damit einhergehende Bodenhöhe H beschrieben. Beide Größen sind über Länge der Trennsäule l durch die Beziehung $H = l/N$ miteinander verknüpft. Die Bodenzahl N kann aus der Retentionszeit t_R des Analyten und dessen Peakbreite auf halber Höhe w_h nach $N = 8 \cdot \ln 2 \cdot (t_R/w_h)^2$ ermittelt werden. Durch Variation der Geschwindigkeit der mobilen Phase u lässt sich die Effizienz eines chromatographischen Trennsystems wesentlich beeinflussen. In den 50er Jahren wurde von van Deemter, Zuiderweg und Klinkenberg eine Gleichung formuliert, die einen quantitativen Zusammenhang zwischen H und u liefert und heute als van Deemter-Gleichung bekannt ist (Gleichung 1).^[42-46] Erwähnenswert ist, dass van Deemter ursprünglich den Wärme- und Massentransport in festen Katalysatorbetten untersuchte und seine Erkenntnisse erst im Nachhinein auf die Chromatographie übertrug. Golay wendete diese Gesetzmäßigkeit später auch auf offene Kapillarsäulen an.^[47]

$$H = A + \frac{B}{u} + Cu \quad (1)$$

In Gleichung 1 steht der Term A für den Beitrag der Eddy-Diffusion – einer Streudiffusion, die nur in gepackten Säulen auftritt und die darauf zurückzuführen ist, dass Teilchen auf dem Weg durch eine Trennstrecke diesen Weg mit unterschiedlicher Fließgeschwindigkeit zurücklegen. Für Kapillarsäulen kann die Eddy-Diffusion vernachlässigt werden, da im Gegensatz zu gepackten Säulen keine zusätzlichen Migrationspfade betrachtet werden müssen, wie sie sonst durch verschiedene Partikelgrößen und -formen sowie Porositäten zustande kommen. Der Anteil der Longitudinaldiffusion wird durch B beschrieben, während der C -Term den Massentransfer berücksichtigt und sich aus den Massentransferkoeffizienten in der mobilen (C_M) und in der stationären (C_S) Phase zusammensetzt ($C = C_M + C_S$; Gleichung 2 und 3).

$$B = 2D_M \quad (2)$$

$$C_M = \frac{1 + 6k' + 11k'^2}{96(1 + k')^2} \cdot \frac{d_c^2}{D_M}, \quad C_S = \frac{2k'}{3(1 + k')^2} \cdot \frac{d_f^2}{D_S} \quad (3)$$

Aus den Termen B und C lassen sich für den Analyten gemäß Golay^[48] die Diffusionskoeffizienten für die mobile Phase D_M und die stationäre Phase D_S berechnen. Darin ist d_c der Innendurchmesser der Kapillare, d_f die Filmdicke der Stationärphase und k' der Retentionsfaktor. Retentionsfaktoren geben an, um wie viel länger sich der Analyt an oder in der stationären als in der mobilen Phase befindet und ergeben sich nach $k' = (t_R - t_M)/t_M$ mit t_M als Durchflusszeit.

3.2. Bestimmung von Geschwindigkeitskonstanten dynamischer Prozesse

Bei dynamischen Interkonversionsprozessen wie Enantiomerisierungen, Epimerisierungen oder Diastereomerisierungen erfolgt die Umwandlung eines Stereoisomers in das andere. Es handelt sich um reversible Reaktionen von Typ $A \rightleftharpoons B$, welche eine Kinetik erster Ordnung aufweisen. Die Geschwindigkeit solcher Prozesse wird maßgeblich durch die Höhe der Interkonversionsbarrieren bestimmt. Dynamische chromatographische und elektropheretische Methoden^[49-52] können zur Trennung von Stereoisomeren herangezogen werden, wobei die Isomere mit der mobilen oder stationären Phase in für A und B unterschiedlich starke Wechselwirkung treten (Kapitel 3.1), so dass sich die Verteilungskoeffizienten K'_A und K'_B voneinander unterscheiden (Abbildung 7). In jedem theoretischen Trennboden finden drei Schritte statt: (i) die Verteilung der Stereoisomere A und B zwischen mobiler und stationärer Phase, (ii) der Interkonversionsprozess unter Berücksichtigung des Prinzips der Mikroreversibilität und (iii) die Verschiebung der mobilen Phase in den nächsten Boden. Außer der Trennung können diese Methoden auch zur Quantifizierung der Interkonversionsbarrieren von Stereoisomeren und somit auch zur Berechnung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten k_1 herangezogen werden. In Kapitel 4 wird beispielhaft die Interkonversion von Tris(α -Diimin)-Übergangsmetallkomplexen mit der dynamischen mizellaren kinetischen Chromatographie aufgeführt werden.

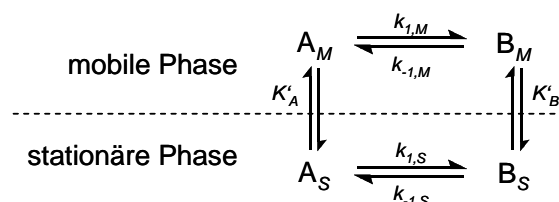


Abbildung 7: Gleichgewichte in einem theoretischen Boden für die Interkonversion von Enantiomeren (A ist das zuerst eluierte Enantiomer, B das später eluierte).

Elutionsprofile, die aus der Trennung stereolabiler Verbindungen resultieren, sind typischerweise durch eine Verbreiterung der Peaks und die Ausbildung eines Plateaus

zwischen den getrennten Peaks gekennzeichnet,^[39, 53-60] was durch die gegenseitige Umwandlung der getrennten Spezies A und B zustande kommt (Abbildung 8). Die Plateauhöhe steigt mit zunehmender Messtemperatur T an, bis schließlich Peakkoaleszenz^[61] beobachtet wird. Bei der Koaleszenztemperatur finden die Interkonversion der Stereoisomere sowie deren Separation gleich schnell statt, so dass keine Trennung mehr erzielt werden kann. Die Profile werden durch folgende Parameter charakterisiert: Durchflusszeit t_M , Retentionszeiten der Stereoisomere t_R^A und t_R^B , Peakbreiten auf halber Höhe w_h^A und w_h^B , relative Peakhöhen h_A und h_B zu den Zeiten t_R^A und t_R^B sowie relative Plateauhöhe h_P im Zeitmittel $\bar{t} = (t_R^A + t_R^B)/2$ (Abbildung 8).

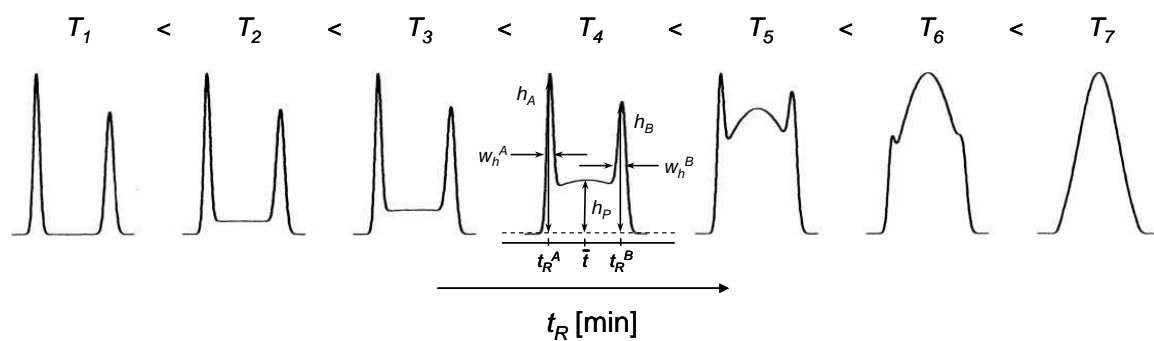


Abbildung 8: Elutionsprofile in der dynamischen Chromatographie bzw. Kapillarelektrophorese. Bei höheren Temperaturen wird typischerweise die Ausbildung eines Plateaus zwischen den getrennten Peaks bis hin zur Koaleszenz (T_7) beobachtet.

Bereits 1960 erkannten Giddings et al.,^[62] Heilbronner et al.^[63] und Basset et al.,^[64] dass die Analyse der Peakformen den Zugang zu den Geschwindigkeitskonstanten der zugrunde liegenden Reaktion ermöglicht. Die ersten Simulationsprogramme basierten auf dem theoretischen Bodenmodell der Chromatographie^[41, 63-65] und waren auf Simulationen von bis zu 120000 effektiven theoretischen Böden beschränkt.^[54] Die statistische Beschreibung des theoretischen Bodenmodells führte zur Entwicklung des stochastischen Modells,^[62, 66-68] welches auf Gauß'schen Verteilungsfunktionen nicht-interkonvertierter Stereoisomere $\Phi(t)$ beruht und die zeitabhängige Wahrscheinlichkeitsdichtefunktion $\Psi(t)$ nutzt, um die interkonvertierenden Stereoisomere zu beschreiben. Der Vorteil dieses Modells ist die deutlich schnellere iterative Computersimulation.^[69, 70] Ein weiterer Ansatz zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten von Interkonversionsprozessen ist das Durchflussmodell, bei dem Gleichungen aus dem Chemieingenieurwesen auf das chromatographische System übertragen wurden.^[71-77] Neben diesen *ab initio* Simulationen wurden auch semi-empirische Peakdekonvolutionsmethoden entwickelt, so dass Geschwindigkeitskonstanten für Enantiomerisierungen und Isomerisierungen berechenbar wurden.^[50, 78-82]

Direkte Berechnungsmethoden zur Auswertung der Elutionsprofile in der dynamischen Chromatographie sind von großem Interesse, da iterative Computersimulationen sowohl zeit- als auch rechenintensiv, und damit teuer, sind. Daher wurden verschiedene Ansätze entwickelt, um Gleichungen herzuleiten, mit denen unmittelbar aus den chromatographischen Parametern Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten bestimmt werden können. Bis zum Jahr 2006 war die direkte Berechnung von Enantiomerisierungsbarrieren auf Basis einer Approximationsfunktion^[83] nur für racemische Mischungen möglich, in denen das Verhältnis der beiden Stereoisomere zu Beginn der Reaktion gleich eins ist. Für Diastereomere und für alle Reaktionen mit einer Kinetik erster Ordnung, deren Verhältnis der Isomere ungleich eins ist, konnte die Approximationsfunktion^[59, 83, 84] nicht angewendet werden, da das Elutionsprofil eine komplexere Faltung der Hin- und Rückreaktion ist, was die Herleitung direkter Berechnungsmethoden verkompliziert.

Seit der Herleitung der Unified Equation der dynamischen Chromatographie durch Trapp^[85-89] ist der Zugang zu Geschwindigkeitskonstanten aus Elutionsprofilen chromatographischer oder elektrophoretischer Experimente für alle Reaktionen mit einer Kinetik erster Ordnung direkt möglich (Gleichung 4a und b). Hierbei werden die Elutionsprofile mathematisch in Gauß'sche Verteilungsfunktionen Φ_A und Φ_B sowie stochastische Funktionen Ψ für das Interkonversionsprofil zerlegt (Abbildung 9).

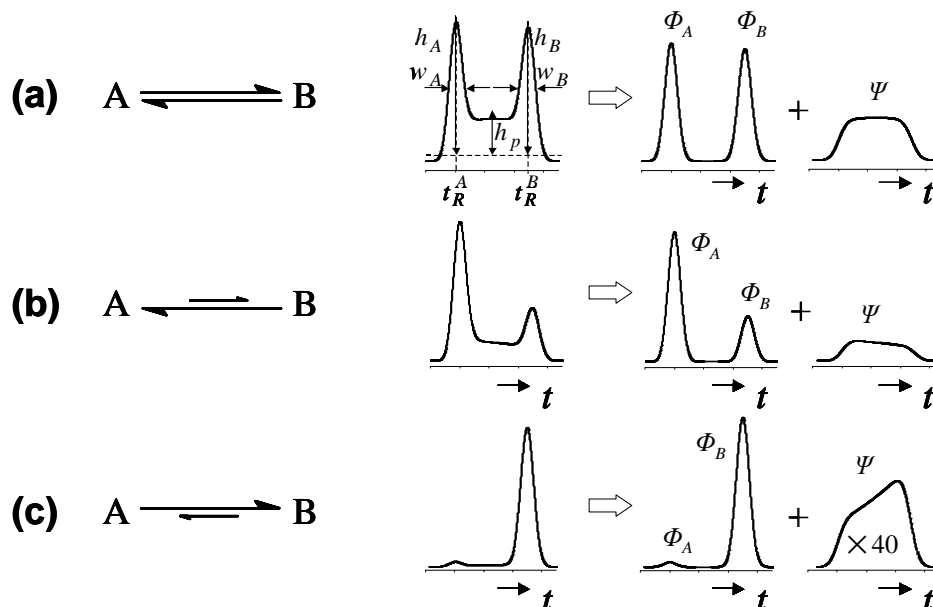


Abbildung 9: Mathematische Zerlegung dynamischer und on-column reaktionschromatographischer Elutionsprofile in nicht-interkonvertierte Peaks (Φ_A , Φ_B) und in den interkonvertierenden Teil (Ψ).

(a) Degenerierte reversible Reaktion (pseudo-)erster Ordnung mit $K_{A/B} = 1$.

(b bzw. c) Reversible Reaktion (pseudo-)erster Ordnung mit $K_{A/B} > 1$ bzw. $K_{A/B} < 1$.

Dieses Vorgehen kann sowohl für degenerierte reversible Reaktionen (pseudo-)erster Ordnung mit einer Gleichgewichtskonstante von $K_{A/B} = 1$ (Abbildung 9a) als auch für reversible Reaktionen (pseudo-)erster Ordnung mit $K_{A/B} > 1$ bzw. $K_{A/B} < 1$ (Abbildung 9b und Abbildung 9c) zur Anwendung kommen. Eine detaillierte Herleitung der Unified Equation findet sich in der Literatur.^[85]

Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante k_I^{ue} ist definiert als die Geschwindigkeitskonstante der Interkonversion des zuerst eluierten Enantiomers in das danach eluierte Enantiomer. Die Indices weisen darauf hin, dass es sich um Geschwindigkeitskonstanten für Reaktionen erster Ordnung (k_I) handelt, die mit der Unified Equation (k^{ue}) berechnet wurden. Zur Ermittlung von k_I^{ue} werden die experimentell erhaltenen dynamischen Interkonversionsprofile mit der Unified Equation ausgewertet. Gleichung 4a wird für die Auswertung von solchen Interkonversionsprofilen verwendet, bei denen der zuerst eluierte Peak eine größere Intensität als der danach eluierte Peak aufweist. Ist der zuerst eluierte Peak dagegen kleiner als der danach eluierte wird Gleichung 4b für die Berechnung von k_I^{ue} herangezogen. Die Unified Equation beachtet das Prinzip der mikroskopischen Reversibilität, welches besagt, dass in einem System im Gleichgewichtszustand jeder molekulare Prozess sowie die Umkehrung dieses Prozesses im Durchschnitt mit der gleichen Geschwindigkeit ablaufen. Demzufolge muss der Reaktionspfad der Rückreaktion in jedem Schritt spiegelbildlich zum Mechanismus der Hinreaktion verlaufen.^[39, 90, 91]

$$k_1^{ue} = -\frac{1}{t_R^A} \left(\ln \left[\frac{100B_0 + A_0 \left(100 - h_p \left(1 + \sqrt{\frac{2}{\pi N}} \right) \right)}{t_R^B - t_R^A} \right] - \ln \left[\frac{B_0 \left(\frac{h_p e^{-\frac{(t_R^A - t_R^B)^2}{2\sigma_B^2}} - 100e^{-\frac{(t_R^A - t_R^B)^2}{8\sigma_B^2}}}{\sigma_B \sqrt{2\pi}} + \frac{100}{t_R^B - t_R^A} \right)}{-A_0 \left(\frac{100e^{-\frac{(t_R^B - t_R^A)^2}{8\sigma_A^2}} - h_p \left(1 + \sqrt{\frac{2}{\pi N}} \right) - 100}{\sigma_A \sqrt{2\pi}} + \frac{h_p \left(1 + \sqrt{\frac{2}{\pi N}} \right) - 100}{t_R^B - t_R^A} \right)} \right] \right) \quad (4a)$$

$$k_1^{ue} = -\frac{1}{t_R^A} \left(\ln \left(\frac{100A_0 + B_0 \left(100 - h_p \left(1 - \sqrt{\frac{2}{\pi N}} \right) \right)}{t_R^B - t_R^A} \right) - \ln \left(\frac{A_0 \left(\frac{h_p e^{-\frac{(t_R^B - t_R^A)^2}{2\sigma_A^2}} - 100e^{-\frac{(t_R^B - t_R^A)^2}{8\sigma_A^2}}}{\sigma_A \sqrt{2\pi}} + \frac{100}{t_R^B - t_R^A} \right)}{-B_0 \left(\frac{100e^{-\frac{(t_R^A - t_R^B)^2}{8\sigma_B^2}} - h_p}{\sigma_B \sqrt{2\pi}} + \frac{h_p \left(1 - \sqrt{\frac{2}{\pi N}} \right) - 100}{t_R^B - t_R^A} \right)} \right) \right) \quad (4b)$$

$$\text{mit } \sigma_i = \frac{w_h^i}{\sqrt{8 \ln 2}} \quad \text{und} \quad N = 8 \ln 2 \left(\frac{t_R^i}{w_h^i} \right)^2 \quad i = \{A, B\}$$

Hierin sind t_R^i die Retentionszeiten der Stereoisomere, w_h^i die Peakbreite auf halber Peakhöhe, h_p die Höhe des Plateaus, A_0 und B_0 die Anfangskonzentrationen von A und B sowie σ_i die Standardabweichung bzw. σ^2 die Varianz einer Messung. Für Interkonversionsprofile, in denen das Plateau zwischen den Peaks eine Höhe von mehr als 50 % der Peakhöhe aufweist, ist die Bestimmung von w_h^i sehr komplex. In diesen Fällen wird w_h^i aus den Peakbreiten des äußeren Teils der einzelnen Signale berechnet.

Für die Berechnung der Geschwindigkeitskonstante k_1^{ue} werden obige (Mess-)Parameter in die Gleichung 4a oder 4b eingesetzt. Mit dem Computerprogramm DCXplorer,^[92, 93] welches die Unified Equation und die analytische Lösung der Unified Equation nutzt, um Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten für Reaktionen mit einer Kinetik erster Ordnung aus dynamischen sowie on-column reaktionschromatographischen Experimenten zu berechnen, ist dies möglich, da die jeweiligen Elutionsprofile ohne iterative Zwischenschritte in einer graphischen Benutzeroberfläche direkt integriert und ausgewertet werden.

3.3. Bestimmung von Geschwindigkeitskonstanten nicht-dynamischer Prozesse mit einer Kinetik (pseudo-)erster Ordnung

Neben dynamischen Interkonversionsvorgängen gibt es eine Vielzahl von Reaktionen erster Ordnung, die durch die Gleichung $A \rightarrow B$ beschrieben werden und irreversibel ablaufen. Auch Reaktionen, in denen mehr als ein Substrat umgesetzt wird oder die katalysiert ablaufen, können mit einer Kinetik (pseudo-)erster Ordnung beschrieben werden, sofern ein Reaktionspartner im Überschuss vorliegt, so dass dessen Konzentrationsänderung über den gesamte Zeitraum der Reaktion verschwindend gering ist. In der Abbildung 10 ist die on-column reaktionschromatographische Umsetzung von A zu B in einer katalytisch aktiven stationären Phase innerhalb eines theoretischen Trennbodens dargestellt. In Kapitel 5 wird die katalytische Hydrierung ungesättigter Verbindungen über hoch aktiven Pd-NP, die in einer Polysiloxanmatrix eingebettet und auf den Innenwänden einer gaschromatographischen Kapillare immobilisiert sind, diskutiert werden.

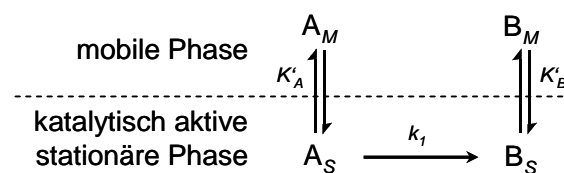


Abbildung 10: Gleichgewichte in einem theoretischen Boden für eine irreversible, katalysierte Reaktion erster Ordnung ($A \rightarrow B$). Der Katalysator ist in der stationären Phase immobilisiert.

Für irreversible Reaktionen erster Ordnung ist die zeitliche Änderung der Konzentration dc_A/dt direkt proportional zur Konzentration des Edukts c_A zu jedem beliebigen Zeitpunkt t (Gleichung 5). Darin sind k_I die Geschwindigkeitskonstante und c_A^0 die Konzentration von A zu Beginn der Reaktion.

$$-\frac{dc_A}{dt} = k_I \cdot c_A \quad (5)$$

Nach Integration ergibt sich folgender Zusammenhang: $c_A = c_A^0 \cdot e^{-k_I t}$ bzw. $k_I = -t \cdot \ln \frac{c_A}{c_A^0}$.

Mit dem theoretischen Bodenmodell lassen sich die Retentionsparameter für ein on-column reaktionschromatographisches Experiment berechnen. Die Reaktionszeit t ergibt sich aus der Retentionszeit des Edukts t_R^A und der Durchflusszeit t_M (Gleichung 6). Durchflusszeiten entsprechen den Retentionszeiten von Substraten (z.B. Methan), die unter den exakt gleichen Messbedingungen mit der stationären Phase keine Wechselwirkungen eingehen. Für die Berechnung von t werden die Länge der katalytisch aktiven Reaktorsäule l_{reakt} sowie die Länge der Referenzsäule l_{ref} für die Bestimmung der Durchflusszeit berücksichtigt und die Reaktionszeit t auf eine beliebige Kapillarlänge l bezogen.

$$t = \left(\frac{t_R^A}{l_{\text{reakt}}} - \frac{t_M}{l_{\text{ref}}} \right) \cdot l \quad (6)$$

Aus den Peakflächen des Edukts A_A und des Produkts A_B kann der Umsatz X_A der Reaktion direkt berechnet werden (Gleichung 7). Dabei ist zu berücksichtigen, dass bei der Quantifizierung – abhängig von verwendetem Detektor und Substrat – Korrekturfaktoren für die Edukte und Produkte berechnet werden müssen. Die Signalintensitäten korrelieren so beispielsweise beim Flammenionisationsdetektor (GC) mit der Anzahl der Kohlenstoffatome im Molekül; beim UV-Detektor (CE) hängt die Intensität nicht nur von der Stoffmenge sondern auch vom Extinktionskoeffizienten des Substrats ab.

$$X_A = \frac{n_A^0 - n_A}{n_A^0} = \frac{A_A^0 - A_A}{A_A^0} = \frac{A_A^0 - A_A}{A_A + A_B} = \frac{A_B}{A_A + A_B} \quad (7)$$

Da dieser Zusammenhang nicht von der absoluten Konzentration der Substrate abhängig ist, kann in Gleichung 5 anstelle der Konzentrationen c_i auch mit den Peakflächen A_i gerechnet werden ($c_A/c_A^0 = A_A/A_A^0 = 1 - X_A$). Auf diese Weise lassen sich die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten k_I für die Reaktion $A \rightarrow B$ bei Durchführung chromatographischer oder elektrophoretischer Experimente direkt aus den Umsätzen der Edukte entsprechend einer Reaktion erster Ordnung berechnen.

3.4. Bestimmung von Geschwindigkeitskonstanten für Reaktionen mit einer Kinetik zweiter Ordnung

Neben Reaktionen (pseudo-)erster Ordnung treten häufig Prozesse mit einer Kinetik höherer Ordnung auf. In diesem Kapitel wird die Bestimmung der Geschwindigkeit von Reaktionen des Typs $A + B \rightarrow C$ ausführlicher betrachtet, wobei diese unkatalysiert abläuft, sich keine stabilen Intermediate bilden, keine weiteren Nebenprodukte entstehen und C keine Folgereaktionen eingeht. In Kapitel 6 wird als Beispiel für einen solchen Prozess die on-column reaktionskapillarelektrophoretische Umsetzung von *L*-Aminosäuren mit *o*-Phthaldialdehyd zu Phthalimidonderivaten beschrieben werden.

3.4.1. Prinzip der on-column Reaktionskapillarelektrophorese für Reaktionen zweiter Ordnung

Bei der ocRCE für Reaktionen vom Typ $A + B \rightarrow C$ werden die Edukte nacheinander auf die Trennsäule injiziert. Die Reihenfolge der Injektionen ist durch die Geschwindigkeiten der Wanderung der Edukte v_i , also durch die Retentionszeiten t_R^i , festgelegt. Letztere können durch externe Kalibriermessungen unter den exakt gleichen chromatographischen Messbedingungen wie in den on-column Experimenten bestimmt werden. Das langsamer migrierende Edukt A wird zuerst auf die Säule gegeben, und nach einer genau festgelegten Spülzeit mit dem Laufpuffer wird Edukt B injiziert (Abbildung 11a-c und 12a). Aufgrund der schnelleren Migration von B kommt es auf der Kapillare zur Überlappung der beiden Eduktplugs, so dass die Reaktion zum Produkt C stattfindet; dieser Zeitraum wird im Folgenden als Reaktionszeit bezeichnet (Abbildung 11f-g und 12b). Nach der vollständigen Durchwanderung der beiden Eduktplugs werden die Substrate auf der restlichen Trennstrecke voneinander separiert (Abbildung 11h und 12c).

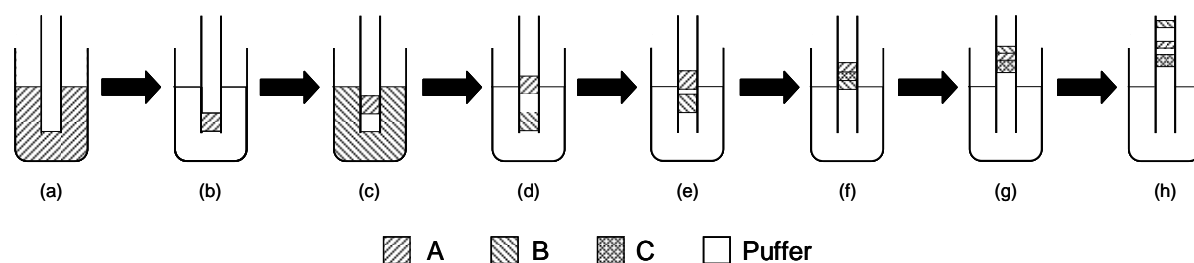


Abbildung 11: Schematische Darstellung der ocRCE für die Reaktion $A + B \rightarrow C$: (a) Injektion des langsamer migrierenden Edukts A, (b) Spülen mit Puffer, (c) Injektion des schneller migrierenden Edukts B, (d-h) Anlegen einer Spannung und elektrokinetische Migration der Edukte, (f-g) Überlappung der Eduktplugs und Reaktion zu C und (h) Trennung von Edukten und Produkt.

Das Produkt weist aufgrund seiner größeren molaren Masse eine deutlich geringere Migrationsgeschwindigkeit als A und B auf und wird daher zum Schluss eluiert. Da B die größte Wanderungsgeschwindigkeit besitzt, wird es in den ocRCE-Experimenten als erstes Substrat eluiert und weist im Chromatogramm die kleinste Retentionszeit auf. Es ist zu beachten, dass sich die experimentell beobachteten Chromatogramme spiegelbildlich zu der schematischen Darstellung in Abbildung 12c verhalten.

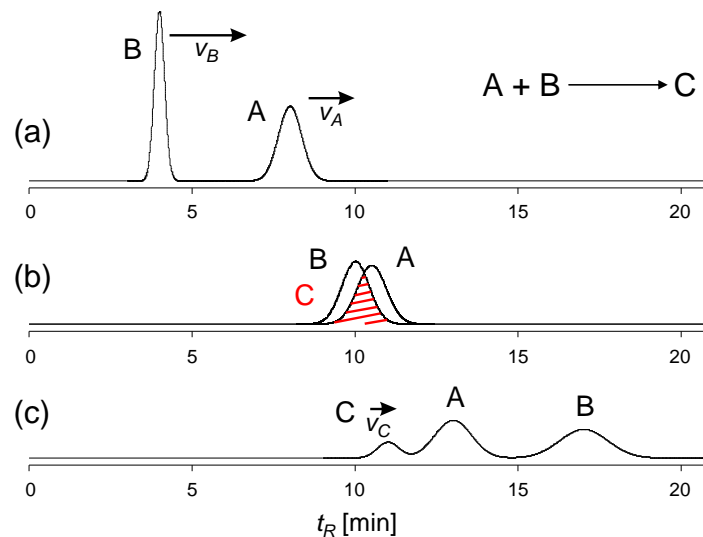


Abbildung 12: Darstellung der Elektropherogramme eines ocRCE-Experiments: (a) Migration von A und B, (b) Überlappung der Eduktpeaks und gleichzeitige Reaktion und (c) Trennung von A, B und C.

Für die Bestimmung der Umsätze, Ausbeuten und Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten ist es wichtig zu verstehen, dass die Reaktion zum Produkt aufgrund der Verteilung der Edukte in der Kapillare nicht gleichmäßig erfolgt. Idealerweise weisen die Peaks die Form einer Gauß'schen Glockenkurve auf. Zunächst überlappt nur ein kleiner Anteil der Plugs, wodurch der Umsatz pro Zeiteinheit bzw. Trennboden anscheinend gering ist (Abbildung 13).

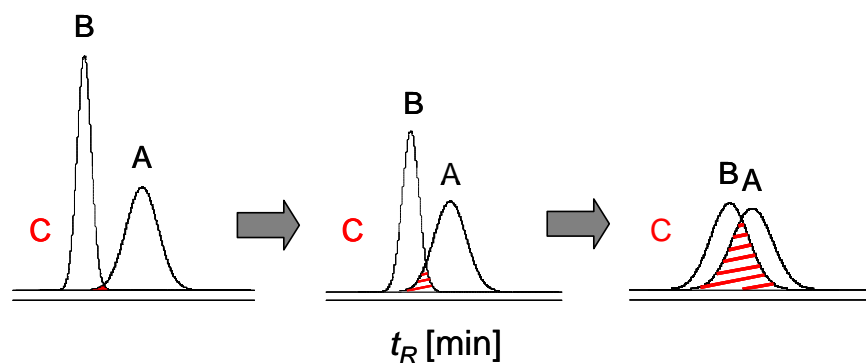


Abbildung 13: Durchwanderung zweier gaußförmiger Peaks der Edukte (A, B) und simultane Reaktion zu C in Abhängigkeit von der Zeit.

Bei fortschreitender Durchwanderung nehmen die Umsätze pro Zeiteinheit entsprechend der größeren Überlappung zu – die Geschwindigkeitskonstante der Reaktion muss jedoch zu jedem Zeitpunkt gleich groß bleiben. Nach der maximalen Peaküberlappung verringern sich die Umsätze pro Zeiteinheit entsprechend wieder. Die Geschwindigkeitskonstanten k_2 können daher aus den beobachteten Umsätzen nicht direkt berechnet werden.

3.4.2. Allgemeine Vorbemerkungen zur Kinetik von Reaktionen zweiter Ordnung

Für eine Reaktionen zweiter Ordnung nach der Gleichung $A + B \rightarrow C$ ist die zeitliche Änderung der Eduktkonzentrationen dc_A/dt bzw. dc_B/dt direkt proportional zur Konzentration der Edukte c_A und c_B zu jedem beliebigen Zeitpunkt t (Gleichung 8). Hierbei ist k_2 die Geschwindigkeitskonstante der Reaktion.

$$\frac{-dc_A}{dt} = \frac{-dc_B}{dt} = k_2 \cdot c_A \cdot c_B \quad (8)$$

Nach Integration des Geschwindigkeitsgesetzes kann aus den Eduktkonzentrationen zu Beginn und zum Ende der Reaktion (c_i^0 und c_i) sowie aus der Reaktionszeit t die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante für diese Reaktion berechnet werden. Prinzipiell können zwei Grenzfälle unterschieden werden: Falls A und B die gleiche Ausgangskonzentration ($c_A^0 = c_B^0$) aufweisen, kann k_2 nach der Integration mit der Gleichung 9 berechnet werden. Sind c_A^0 und c_B^0 dagegen unterschiedlich groß, wird die Umsatzvariable x eingeführt, die angibt, wie weit die Reaktion fortgeschritten ist ($c_i^0 - x = c_i$). Unter der Voraussetzung, dass x zu Beginn der Reaktion gleich null ist, kann nach Partialbruchzerlegung und Integration der Zusammenhang in Gleichung 10 hergeleitet werden.

$$\frac{1}{c_A} - \frac{1}{c_A^0} = k_2 t \quad (9)$$

$$\ln \frac{c_A^0 - x}{c_B^0 - x} = k_2 t \cdot (c_B^0 - c_A^0) + \ln \frac{c_A^0}{c_B^0} \quad \text{bzw.} \quad \ln \frac{c_B^0 \cdot c_A}{c_A^0 \cdot c_B} = k_2 t \cdot (c_B^0 - c_A^0) \quad (10)$$

Bei der Ermittlung der Geschwindigkeitskonstante k_2 für Reaktionen zweiter Ordnung mit ocRCE-Methoden, ergeben sich einige Herausforderungen. Wie in Abschnitt 3.4.1 diskutiert, erfolgt die Umsetzung zum Produkt bei der Durchwanderung der Eduktplugs aufgrund ihrer Gaußverteilung nicht gleichmäßig (Abbildung 13). Die aus den Elektropherogrammen berechneten Gesamtumsätze X_i (Kapitel 3.4.4, Seite 33) stellen die Summe der jeweiligen

Umsätze zum einem bestimmten Zeitpunkt dar. Da sich diese je nach Durchwanderungsgrad der Plugs deutlich voneinander unterscheiden können, k_2 jedoch zu jedem Zeitpunkt gleich groß sein muss, kann X_i für die Berechnung der Geschwindigkeitskonstante nicht herangezogen werden. Aufgrund der Peakverbreiterung in der Kapillare während der Reaktion und der Trennung, sind die Volumina der Substratplugs zu einem bestimmten Zeitpunkt nicht bekannt und müssen simuliert werden. Gleiches gilt für die Konzentrationen der Edukte und Produkte c_i .

Im Gegensatz zur direkten Bestimmung von Geschwindigkeitskonstanten für Reaktionen erster Ordnung aus den Peakflächen des Edukts und des Produkts (Kapitel 3.3), ist für die Bestimmung von k_2 daher eine Computersimulation notwendig. Dazu wurde von Trapp das Computerprogramm ocRCXplorer erstellt, mit dem Elektropherogramme auf Basis des theoretischen Bodenmodells simuliert werden können.

3.4.3. Das Computerprogramm ocRCXplorer

Mit dem Programm ocRCXplorer können Elektropherogramme simuliert werden, indem die Messbedingungen sowie die gemessenen Daten aus den ocRCE-Experimenten in eine graphische Benutzeroberfläche eingegeben werden (Abbildung 14). Als Dateninput dienen die Kapillareigenschaften (effektive Kapillarlänge „eff. Length“, Innendurchmesser „I.D.“ und Filmdicke „Film“), die Injektionsparameter (Injektionsdauer für A und B „A dt“ bzw. „B dt“, Wartezeit zwischen den Injektionen „Buffer dt“), die Elutionszeit des EOF „ t_{EOF} “, ein Grenzwert „Threshold“, das Phasenverhältnis „ V_{mob}/V_{stat} “ sowie die injizierten Eduktkonzentrationen „ c_i “. Von den im ocRCE-Experiment generierten Daten werden die beobachteten Retentionszeiten „ t_R “, Halbwertsbreiten „wh“, Peakflächen „Area“ sowie Korrekturfaktoren „cf“, welche sich entsprechend des Zusammenhangs A_i/A_{IS} ergeben und die unterschiedlichen Extinktionskoeffizienten der Substrate berücksichtigen, in die Benutzeroberfläche eingetragen.

Das Phasenverhältnis β in der MEKC ist definiert als das Volumen der mizellaren Phase V_{miz} geteilt durch das Volumen der wässrigen Phase V_{aq} und kann berechnet werden, indem die Werte für das partielle Molvolumens des Mizellbildners V_p , für die Selektorkonzentration c_{surf} sowie für die kritische Mizellbildungskonzentration cmc in die Gleichung 11 eingesetzt werden.^[94] Da die mizellare Phase in den ocRCE-Experimenten die pseudostationäre Phase darstellt, werden in die Benutzeroberfläche der ocRCXplorer („ V_{mob}/V_{stat} “) die reziproken Werte von β eingegeben.

$$\beta = \frac{V_{miz}}{V_{aq}} = \frac{V_p (c_{surf} - cmc)}{1 - V_p (c_{surf} - cmc)} \quad (11)$$

Durch die Vorgabe verschiedener Werte für die Geschwindigkeitskonstante werden Elektropherogramme simuliert, die sich in den Peakintensitäten der Edukte und des Produkts unterscheiden. Ursache hierfür sind unterschiedliche Umsätzen und Ausbeuten aufgrund der Variation von k_2 . Über den optischen Vergleich der simulierten Elektropherogramme mit dem experimentell beobachteten, kann die tatsächliche Reaktionsgeschwindigkeitskonstante k_2 anhand der besten Übereinstimmung ermittelt werden. Das Programm bietet darüber hinaus die Möglichkeit, Reaktionsgeschwindigkeiten iterativ zu berechnen. Dies kann durch Anklicken des Feldes „Optimize“ erreicht werden.

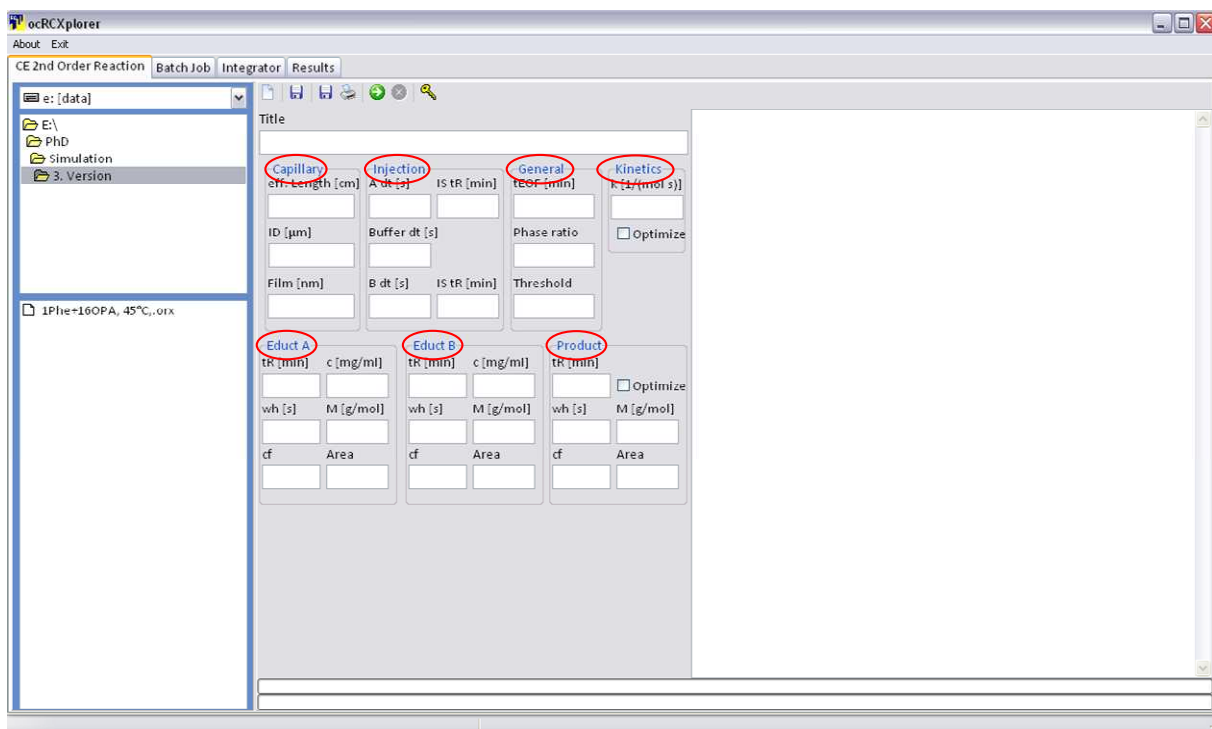


Abbildung 14: Graphische Benutzeroberfläche des Computerprogramms ocRCXplorer.

Die Simulation erfolgt auf der Basis des theoretischen Bodenmodells, wobei während des Experiments die drei oben genannten Phasen Migration, Reaktion und Trennung unterschieden werden müssen (Abbildung 12a-c, Seite 24). In jedem theoretischen Boden treten bis zu drei Prozesse auf: Als erstes findet die Verteilung der Substrate zwischen mobiler und stationärer Phase statt. Sie wird durch die Verteilungskoeffizienten K' charakterisiert und ist um ein Vielfaches schneller als die eigentliche Reaktion. Aus diesem Grund kann sie bei der Simulation vernachlässigt werden. Falls eine Überlappung der

Eduktplugs stattfindet, erfolgt die Reaktion zu C. Dieser Prozess findet ausschließlich in der (pseudo-)stationären Phase statt und zwar in Zeitintervallen, die der Verweilzeit der Substrate in dieser Phase entsprechen. Der Reaktion schließt sich die Verschiebung der mobilen Phase mit A, B und C in den nächsten theoretischen Boden an.

Zu Beginn der Simulation werden sowohl Simulationsparameter als auch Stoffmengen bzw. Volumina der injizierten Substrate berechnet. Diese werden in der Benutzeroberfläche rechts neben den zuvor eingegebenen Daten dargestellt (Abbildung 15).

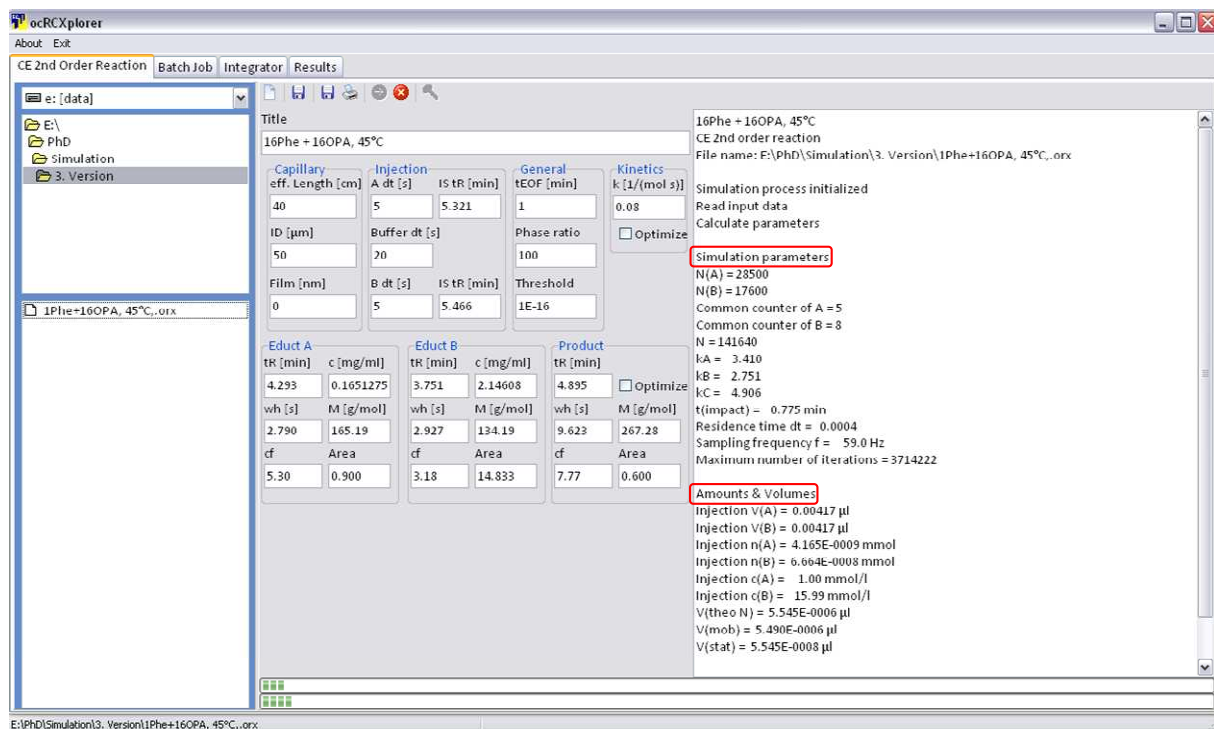


Abbildung 15: Berechnung von Simulationsparametern sowie von injizierten Substratstoffmengen und Substratvolumina mit dem Programm ocRCXplorer.

Berechnung von Simulationparametern mit dem Programm ocRCXplorer

Die Retentionszeiten der Edukte t_R^i sollten sich in on-column reaktionskapillarelektrophoretischen Experimenten im Vergleich zu den Kalibriermessungen nicht ändern, da die Verteilung zwischen mobiler und stationärer Phase viel schneller als die eigentliche Reaktion abläuft. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass das zuerst injizierte Edukt A mit zwei verschiedenen Geschwindigkeiten durch die Kapillare wandert. Während der Wartezeit und der Injektion von B erfolgt eine hydrodynamische Migration. Erst nach dem Anlegen der Spannung findet die elektrokinetische Migration statt. Für die Berechnung der Retentionszeit von A muss daher der Faktor p_A berücksichtigt werden, der sich entsprechend Gleichung 12 berechnet.

$$p_A = \frac{t_R^{IS(A)}}{t_R^{IS(B)}} = \frac{l_{spül} + l_{warte}}{l_{eff}} \quad (12)$$

Da das als zweites injizierte Substrat B rein elektrophoretisch wandert, kann dessen Retentionszeit t_R^B direkt aus dem ocRCE-Experiment bestimmt werden.

Die Trenneffizienzen für A und B, d.h. die Anzahl theoretischer Trennböden N_i sowie die Trennstufenhöhe H_i , können wie in Kapitel 3.1 (Seite 14) beschrieben berechnet werden. Für die Berechnung der realen Bodenzahlen muss bei der Bestimmung von N_A der Korrekturfaktor p_A berücksichtigt werden. In der Regel weisen A und B unterschiedliche Effizienzen auf ($N_A \neq N_B$). Sollte dies der Fall sein, kann es zur Ausbildung von Inhomogenitäten im theoretischen Boden kommen, da die Reaktion nicht vollständig abläuft. Ist beispielsweise die Bodenhöhe von A viel größer als die von B, reagiert A nur unvollständig mit B ab. Es muss daher die kleinste gemeinsame Bodenzahl N gefunden werden. Die Verschiebung der mobilen Phase nach der Reaktion in den nächsten Boden wird dann in Intervallen von N vorgenommen. Durch Division der Bodenzahlen der Edukte (N_A/N_B bei $N_A > N_B$) wird zunächst der Faktor f bestimmt. Danach wird dieser solange mit natürlichen Zahlen multipliziert bis sich ein ganzzahliger Wert bzw. ein Wert mit einer Abweichung von weniger als 0.1 % Nachkommastelle von einer ganzen Zahl ergibt („Common counter“). Anschließend kann daraus durch Multiplikation mit N_B die kleinste gemeinsame Bodenanzahl N berechnet werden. Die Bodenzahl für das Produkt wird zunächst nicht berücksichtigt, da sich der Produktpeak aufgrund der Reaktion stärker verbreitert, als es in einer Messung der Fall wäre, in der nur Produkt aufgegeben würde.

Die Retentionsfaktoren „ k_A , k_B und k_C “ sind ein Maß dafür, um wie viel länger sich Moleküle in der stationären Phase statt in der mobilen Phase aufhalten, die also Auskunft über die Phasenverteilung von A, B und C geben. Sie berechnen sich gemäß Gleichung 13.

$$k_i = \frac{t_R^i - t_M}{t_M} \quad (13)$$

Für die Einteilung der Simulation in die drei genannten Phasen ist die Kenntnis der Reaktionszeit von essentieller Bedeutung. Sie ist neben den apparativen Messbedingungen vor allem von der Wartezeit t_{warte} zwischen den Injektionen von A und B abhängig. Je größer dieser Zeitraum ist, desto später findet die Reaktion in der Kapillare statt, so dass Edukte und das Produkt unter Umständen nicht mehr vollständig voneinander getrennt werden können.

Um dem vorzubeugen, sollte die Überlappung der Eduktplugs daher möglichst früh erfolgen. Der Zeitpunkt, an dem sich die Peakmaxima von A und B in der Kapillare treffen, wird im Folgenden als *impact time* bezeichnet. Bei Kenntnis der Migrationsgeschwindigkeit von A und B, kann der Aufenthaltsort des Maximums der beiden Eduktplugs in der Kapillare zu jedem beliebigen Zeitpunkt t berechnet werden. Aus der Auftragung des Ortes gegen t können sowohl die *impact time* als auch der Ort der Überlappung aus dem Schnittpunkt der beiden Geraden berechnet werden. Dieses Vorgehen ermöglicht auch die Bestimmung der Reaktionszeit, wenn anstelle der Retentionszeiten der Peakmaxima, die Zeiten für den Anfang bzw. das Ende eines Plugs in der Auftragung herangezogen werden. Für die Bestimmung der Plugbreiten können theoretisch zwei Grenzfälle unterschieden werden. Zum einen kann die Länge des Substratplugs zu Beginn der Messung aus den jeweiligen Injektionsbedingungen berechnet werden (Abbildung 16a). Zum anderen lässt sich die Pluglänge der Edukte nach der Trennung am Ende der Kapillare aus der Breite der detektierten Peaks ermitteln. Aufgrund der Peakverbreiterung während des Trennvorgangs, weisen die detektierten Peaks eine größere Breite als die injizierten Plugs auf; die Überlappung der Eduktplugs findet nach diesem Modell fast auf der gesamten Trennstrecke statt (Abbildung 16b).

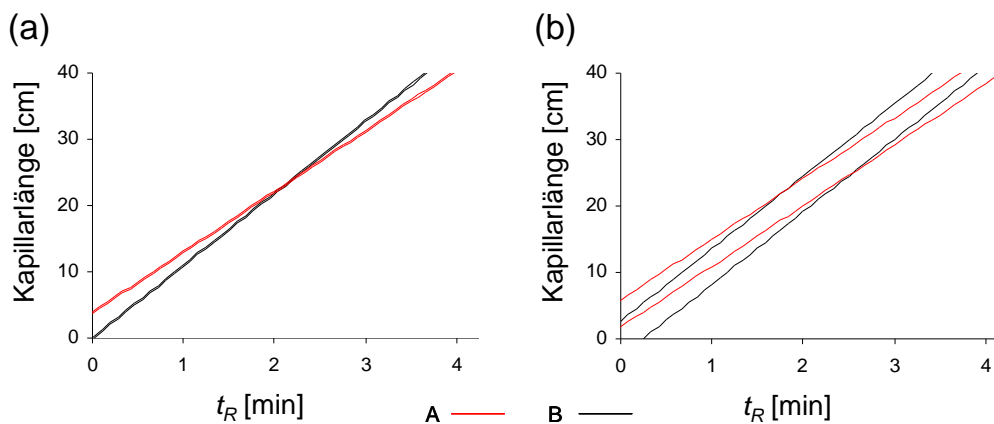


Abbildung 16: Schematische Darstellung der Überlappung der Plugs von A und B (a) direkt nach der Injektion und (b) bei der Detektion auf einer 40 cm langen Kapillare und einer Wartezeit von 20 s.

Tatsächlich kommt es in der Kapillare jedoch, aufgrund des elektrophoretischen Trennprozesses und der stattfindenden Reaktion, zu einer Verbreiterung der Plugs während dieser Prozesse. Die beiden vorgestellten Modelle berücksichtigen diese Peakverbreiterung nicht, so dass die tatsächlichen Werte für die Plugbreiten sowie den Ort des Zusammentreffens in der Kapillare zwischen diesen beiden Extremen liegen. Mit dem theoretischen Bodenmodell kann die Reaktionszeit jedoch präzise simuliert werden, wenn die Migrationszeiten, die Trenneffizienz sowie die Retentionsparameter bekannt sind.

Unter dem Begriff *residence time* wird der Zeitraum verstanden, in dem sich Gleichgewichte (Verteilung, Reaktion) pro Boden eingestellt.

Berechnung injizierter Stoffmengen und Volumina mit dem Programm ocRCXplorer

Das injizierte Volumen V_i^0 kann bei bekannten Injektionsbedingungen rein rechnerisch aus dem Radius der Kapillare r und der Länge der injizierten Substratplugs l_{inj} nach $V = 2\pi \cdot r^2 \cdot l_{inj}$ berechnet werden. In der Praxis wird dies erschwert, da die Viskositäten der Substrat- und Pufferlösungen in der Regel nicht bekannt sind, sie jedoch in die Berechnung von l_{inj} eingehen. Im vorgestellten Experiment kann die Länge der injizierten Plugs von A und B jedoch indirekt mit den Migrationszeiten eines internen Standards IS aus den ocRCE-Experimenten berechnet werden, wenn dieser den Eduktlösungen A und B zugesetzt wird und die beiden Injektionen unter den gleichen Bedingungen erfolgt. Im on-column Elektropherogramm können dann entsprechend zwei Signale für den IS beobachtet werden, wobei der zuerst eluierte interne Standard IS(A) dem des zuerst injizierten Edukts A entspricht ($t_R^{IS(B)} > t_R^{IS(A)}$). Im Gegensatz dazu kehrt sich die Elutionsreihenfolge der Edukte im Vergleich zur Injektionsreihenfolge aufgrund des „Überholvorgangs“ um ($t_R^B < t_R^A$). Generell müssen im ocRCE-Experiment zwei Migrationsgeschwindigkeiten unterschieden werden: Nach der hydrostatischen Injektion von A und IS(A) wird die Kapillare für eine bestimmte Wartezeit mit dem Puffer gespült. Dies erfolgt durch das Anlegen eines Drucks, der genau dem Injektionsdruck entspricht; A und IS(A) wandern mit einer Geschwindigkeit v_p (Abbildung 11a und b). Da die Injektion von B und IS(B) unter denselben Bedingungen wie die erste Injektion erfolgt, migrieren A und IS(A) während dieser Zeit mit v_p weiter durch die Kapillare (Abbildung 11c). Es ist zu beachten, dass sich die Plugs unter diesen (hydrostatischen) Bedingungen nicht weiter verbreitern. In Abbildung 17 ist die Situation in der Kapillare zu diesem Zeitpunkt schematisch dargestellt.

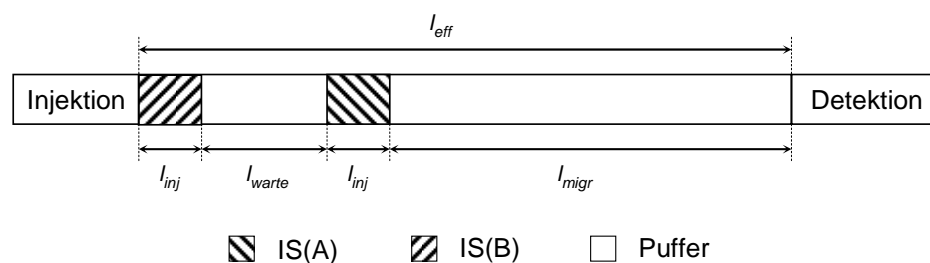


Abbildung 17: Darstellung der Plugs in der Kapillare unmittelbar nach der Injektion von IS(B) und vor dem Anlegen der Spannung.

Unmittelbar nach der zweiten Injektion wird eine Spannung angelegt und die Aufzeichnung der Messung gestartet. Die Plugs von A, IS(A), B und IS(B) wandern nun mit einer rein

elektrophoretischen Geschwindigkeit v_{el} im elektrischen Feld (Abbildung 11d-h, Seite 23). Diese Geschwindigkeit kann aus der Retentionszeit des als zweiten injizierten internen Standards IS(B) unter Berücksichtigung der effektiven Kapillarlänge l_{eff} berechnet werden, da hier eine rein elektrophoretische Migration stattfindet (Gleichung 14).

$$v_{el} = \frac{t_R^{IS(B)}}{l_{eff}} \quad (14)$$

Die Wegstrecke l_{migr} , die der zuerst injizierte interne Standard IS(A) während dieser elektrophoretischen Trennperiode zurückgelegt hat, ergibt sich dann nach Gleichung 15. Aus der Differenz von l_{eff} und l_{migr} kann die Strecke berechnet werden, die IS(A) während der Wartezeit zwischen den Injektionen t_{warte} und der Injektionszeit t_{inj} von B und IS(B) zurückgelegt hat. Diese Strecke setzt sich additiv aus den Wegstrecken l_{warte} und l_{inj} zusammen, die während dieser beiden Prozesse zurückgelegt wurden.

$$l_{migr} = \frac{t_R^{IS(A)}}{v_{el}} \quad (15)$$

$$l_{inj} = t_{inj} \cdot \frac{l_{eff} \cdot l_{migr}}{t_{warte} + t_{inj}} \quad (16)$$

Die Länge des injizierten Plugs l_{inj} von B kann dann nach Gleichung 16 berechnet werden. Auf diese Weise können die injizierten Volumina V_i^0 bestimmt werden.

Mit der Kenntnis der kleinsten gemeinsamen Bodenzahl N kann das Volumen eines solchen Einheitsbodens „V(theo N)“ nach der Gleichung $V(\text{theo } N) = l_{eff}/N$ berechnet werden. Es setzt sich additiv aus den Volumina der mobilen Phase „V(mob)“ und der stationären Phase „V(stat)“ in diesem gemeinsamen Boden zusammen.

Simulation von Elektropherogrammen mit dem Programm ocRCXplorer

Aus den eingegebenen Daten (Abbildung 14, Seite 27) werden die zuvor beschriebenen Parameter im Rahmen der Simulation berechnet. Mit der Vorgabe verschiedener Wertes für k_2 werden die Elektropherogramme entsprechend der drei Phasen Migration, Reaktion sowie Trennung mit einem Runge-Kutta-Algorithmus auf Grundlage des theoretischen Bodenmodells simuliert. In der Abbildung 18 sind exemplarisch simulierte Elektropherogramme in Abhängigkeit von der vorgegebenen Geschwindigkeitskonstante dargestellt. Aufgrund der Vorgabe unterschiedlicher Geschwindigkeitskonstanten ändern sich

die Umsätze der Edukte und die Ausbeute des Produkts. Dies wird in Abbildung 18 aus den unterschiedlichen Peakflächen für A, B und C ersichtlich. Danach steigt die Peakfläche für C bei der Vorgabe größerer Werte für k_2 aufgrund der schnelleren Reaktion an, wogegen A_A und A_B abnehmen. Da die Retentionszeiten zu Beginn der Simulation vorgegeben wurden, ändern sich diese nicht.

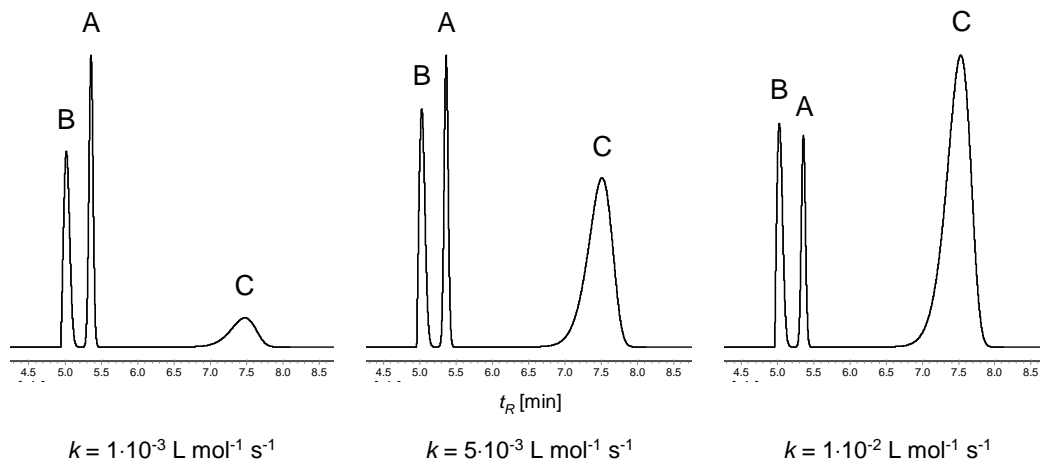


Abbildung 18: Simulierte Elektropherogramme in Abhängigkeit von der vorgegebenen Reaktionsgeschwindigkeitskonstante.

3.4.4. Berechnung von Umsätze und Ausbeuten

Aus den eingesetzten Stoffmengen n^0 und den Stoffmengen nach der Reaktion n lassen sich die Umsätze der Edukte X_i nach Gleichung 17 und die Ausbeute des Produkt Y_C nach Gleichung 18 berechnen. Als Leitkomponente k wird per Konvention das Edukt bezeichnet, welches bei der Reaktion nicht im Überschuss vorliegt.

$$X_i = \frac{n_i^0 - n_i}{n_i^0} \quad (17)$$

$$Y_C = \frac{n_C - n_C^0}{n_k^0} \quad (18)$$

Die Stoffmenge des Produkts n_C^0 zu Beginn der Reaktion wird null gesetzt, da zu diesem Zeitpunkt noch keine Umsetzung stattgefunden hat. Die Stoffmengen der Edukte und des Produkts nach der Reaktion können aus den jeweiligen korrigierten Peakflächen (Quotient aus der Fläche des Substrats und des internen Standards A_i/A_{IS}) sowie den Kalibriergeraden berechnet werden. Die Stoffmengen der Edukte n_i^0 zu Beginn der Reaktion sind bei Kenntnis

der Konzentrationen c_i^0 und der injizierten Substanzvolumens nach der Gleichung $n_i^0 = c_i^0 \cdot V_i^0$ direkt zugänglich.

Aus der Differenz zwischen den Summen injizierter Stoffmengen (n_A^0 , n_B^0) und den Summen detektierter Stoffmengen (n_A , n_B , n_C) können darüber hinaus die Wiederfindungsraten bestimmt und eventuell auftretende Nebenprodukte oder stabile Intermediate in ihrer Summe quantifiziert werden.

3.5. Berechnung von Aktivierungsparametern

Die Aktivierungsparameter ΔG^\ddagger , ΔH^\ddagger und ΔS^\ddagger einer Reaktion gehen aus der Theorie des Übergangszustandes hervor und zeigen im betrachteten Temperaturbereich detaillierte Informationen über den Reaktionsmechanismus auf. Hierin sind Edukte und Produkte durch einen Potentialwall getrennt, der einen Sattelpunkt auf der Potentialhyperfläche darstellt. Die freie Aktivierungsenthalpie ΔG^\ddagger kann als die Triebkraft einer chemischen Reaktion aufgefasst werden und bestimmt das Ausmaß sowie die Spontanität der Reaktion. Bei $\Delta G^\ddagger < 0$ liegt eine spontane Reaktion vor, $\Delta G^\ddagger = 0$ bedeutet Gleichgewicht und $\Delta G^\ddagger > 0$ ergibt keine spontane Reaktion. Die Betrachtung der Temperaturabhängigkeit der freien Aktivierungsenthalpie liefert die Werte für die Aktivierungsenthalpie ΔH^\ddagger sowie die Aktivierungsentropie ΔS^\ddagger . Die Werte für ΔH^\ddagger entsprechen der Energiebarriere, die bei der Reaktion überwunden werden muss und legen die Mindestenergie fest, die für den Ablauf der Reaktion erforderlich ist. Niedrige Aktivierungsenthalpien weisen daher auf eine schnelle Reaktion hin. Im Allgemeinen liegen die Werte für ΔH^\ddagger zwischen 60 und 80 kJ mol⁻¹. Aktivierungsentropien ΔS^\ddagger geben Auskunft über die Struktur des Übergangszustandes, d.h. den Grad der Ordnung, und sind wichtig für das Verständnis des Reaktionsmechanismus. Ist ΔS^\ddagger stark negativ, so ist relativ zum Grundzustand der Übergangszustand stärker geordnet und die Reaktion findet langsam statt. Dies tritt dann auf, wenn auf dem Weg zum Übergangszustand Freiheitsgrade wie Translation, Schwingung oder Rotation eingefroren werden. Weist ΔS^\ddagger dagegen schwach negative bis stark positive Werte auf, so läuft die Reaktion schnell ab, da der Übergangszustand weniger stark geordnet ist: es werden Freiheitsgrade frei.

Nach der Durchführung temperaturabhängiger Messungen lassen sich die Aktivierungsparameter gemäß der Eyring-Gleichung^[95] (Gleichung 19) aus den Geschwindigkeitskonstanten k (Kapitel 3.2 bis 3.4) berechnen. In diese Gleichung sind für R die Gaskonstante ($R = 8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), für k_B die Boltzmann'sche Konstante

($k_B = 1.381 \cdot 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$), für h das Planck'sche Wirkungsquantum ($h = 6.626 \cdot 10^{-34} \text{ J s}$) und für T die Temperatur [K] einzusetzen. Der Transmissionskoeffizient κ berücksichtigt die Wahrscheinlichkeit des Übergangs eines Intermediats entweder in das Edukt oder in das Produkt. Für Enantiomerisierungsprozesse beträgt $\kappa = 0.5$, da das Intermediat im Übergangszustand mit der gleichen Wahrscheinlichkeit zum Enantiomer A oder B abreagiert, wenn es sich um einen reversiblen und degenerierten Interkonversionsprozess handelt (Kapitel 4). Für irreversible Reaktionen vom Typ $A \rightarrow B$ ist κ demnach 1 (Kapitel 5).

$$k = \kappa \frac{k_B T}{h} e^{-\frac{\Delta G^\ddagger}{RT}} = \kappa \frac{k_B T}{h} e^{-\frac{(\Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger)}{RT}} \quad (19)$$

Die Aktivierungsenthalpie ΔH^\ddagger einer Reaktion ergibt sich aus der Steigung und die Aktivierungsentropie ΔS^\ddagger aus dem y-Achsenabschnitt der Eyring-Auftragung, bei der $\ln(k/T)$ als Funktion von T^{-1} aufgetragen wird. Standardabweichungen der Aktivierungsparameter ΔH^\ddagger und ΔS^\ddagger werden mit der Fehlerbandanalyse der linearen Regression mit einem Vertrauensbereich von 95 % berechnet. Voraussetzung für eine zuverlässige statistische Analyse sind viele Messpunkte in einem breiten Temperaturbereich.

Kapitel 4

Interkonversion von Tris(α -Diimin)-Übergangsmetallkomplexen

4. Interkonversion von Tris(α -Diimin)-Übergangsmetallkomplexen

4.1. Einleitung

Stereoisomere, die sich wie Bild und Spiegelbild verhalten, heißen Enantiomere und können nicht zur Deckung gebracht werden. Diese Eigenschaft von Molekülen wird als Chiralität bezeichnet und ist in der Natur von grundlegender Bedeutung für biologische und biochemische Prozesse. So sind viele biologische Systeme, wie z.B. Rezeptoren auf Zelloberflächen, aus enantiomerenreinen Aminosäuren und Kohlenhydraten aufgebaut, und die meisten enzymatisch katalysierten Reaktionen verlaufen mit hoher Enantioselektivität. Auch hinsichtlich ihrer physiologischen und pharmakologischen Wirkungen weisen die Enantiomere einer Verbindung häufig unterschiedliche Eigenschaften auf. In einigen Fällen besitzt nur ein Enantiomer Aktivität, während das andere keine Wirkung oder gar Nebenwirkungen zeigt. Dies wird am Beispiel des Thalidomids deutlich, das als Schlaf- und Beruhigungsmittel unter dem Markennamen Contergan[®] auf den Markt gebracht wurde. Während das (R)-Enantiomer die gewünschte sedative Wirkung hervorruft, wirkt das (S)-Enantiomer teratogen und führt zu schweren Fehlbildungen.

Stereochemisch kontrollierte Synthesemethoden sowie enantioselektive Analysenmethoden sind daher unverzichtbar geworden. Mittels enantioselektiver Analysenmethoden können Enantiomerenüberschüsse bei asymmetrischen Synthesen bestimmt, die stereochemische Reinheit chiraler Bausteine nachgewiesen, physikalische sowie physiologische Eigenschaften untersucht und Enantiomere getrennt werden. Damit der Mechanismus der gegenseitigen Umwandlung von Enantiomere auf molekularer Ebene verstanden werden kann, sind Studien zur Reaktionskinetik von fundamentaler Bedeutung und daher von großem Interesse für synthetische Anwendungen.

4.1.1. Klassische Methoden zur Enantiomerenanalytik

Klassische, experimentelle Untersuchungsmethoden zur Analytik chiraler Verbindungen sind universell einsetzbar, beinhalten jedoch keine Trennung der Enantiomere. Zu nennen sind Techniken wie chiroptische Verfahren,^[96-98] die Isotopenverdünnungsanalyse^[99] oder die dynamische NMR-Spektroskopie (DNMR).^[100, 101] Alle diese Methoden setzen jedoch die Isolierung größerer Mengen (mg) der reinen Stereoisomere voraus,^[100, 102, 103] welche gerade bei Verbindungen mit niedrigen Interkonversionsbarrieren nicht leicht zu gewinnen sind. Bei diesen Verfahren wird die zeitliche Änderung des Enantiomerenüberschusses verfolgt und

nach einer Racemisierungskinetik ausgewertet. Die DNMR-Spektroskopie eignet sich besonders für die Untersuchung von Verbindungen mit niedrigen Interkonversionsbarrieren. Allerdings wird eine hohe Präzision nur bei Messungen im Bereich der Koaleszenztemperatur erreicht.^[100] Auch können solche Experimente größere Fehler (bis zu $\pm 5 \text{ kJ mol}^{-1}$) aufweisen, wenn anstelle der vollständigen Linienformanalyse Näherungslösungen verwendet werden.

4.1.2. Chromatographische Methoden zur Enantiomerenanalytik

Da konformelle oder konstitutionelle Änderungen in Molekülen in derselben zeitlichen Größenordnung wie chromatographische bzw. elektrophoretische Trennprozesse stattfinden, können sie zur Separation stereolabiler Verbindungen herangezogen werden. Ist die Trennung der Stereoisomere analytisch möglich, eignen sich diese Methoden auch zur Quantifizierung von Interkonversionsbarrieren (Kapitel 3.2). Chromatographische und elektrophoretische Trennverfahren zeichnen sich durch einen sehr geringen Substanzbedarf (ng) sowie eine hohe Präzision aus. Darüber hinaus werden für die Messung keine reinen Stereoisomere benötigt; es kann mit (racemischen) Mischungen gearbeitet werden. Die Elutionsprofile, die aus der Trennung stereolabiler Verbindungen resultieren, sind typischerweise durch die Ausbildung eines Plateaus zwischen den beiden getrennten Peaks gekennzeichnet.^[39, 53-60] Mit steigender Messtemperatur nimmt die Plateauhöhe stetig zu, bis schließlich der Koaleszenzpunkt erreicht wird, an dem die Interkonversion und die Separation gleich schnell stattfinden und ab dem keine Trennung mehr erzielt werden kann. Die Auswertung solcher Elutionsprofile mit der Unified Equation^[85-89] ermöglicht den direkten Zugang zu Geschwindigkeitskonstanten k_I^{ue} für alle Reaktionen mit einer Kinetik erster Ordnung (siehe Kapitel 3.2). Für chirale Trennungen haben sich neben dynamischen chromatographischen Trenntechniken – beispielsweise Gaschromatographie,^[54, 68, 104-118] superkritischen Flüssigchromatographie^[119] und Hochleistungsflüssigchromatographie^[52-54, 78, 79, 98, 120-141] – besonders elektrophoretische Verfahren^[142-155] als exzellente Alternativen erwiesen. Die Kapillarelektrophorese (CE) zeichnet sich vor allem durch eine hohe Auflösung, minimalen Substanz- sowie Lösungsmittelverbrauch und kurze Analysenzeiten aus. Die Enantiomerentrennung mit der CE kann mit indirekten oder direkten Methoden durchgeführt werden.

Die indirekte Trennung von Enantiomerenpaaren mit elektrophoretischen Methoden basiert auf einer Reaktion der Analyten mit einem chirale Reagenz unter der Ausbildung von Diastereomeren mit unterschiedlichen physiko-chemischen Eigenschaften, die unter achiralen Bedingungen separiert werden können. Die Reaktion kann entweder offline in Batch-

Versuchen erfolgen oder online durch Vorschaltung einer reaktiven Säule, die das Derivatisierungsreagenz enthält. Diese Verfahren sind jedoch sehr zeitaufwändig und erfordern den Einsatz außerordentlich reiner Derivatisierungsreagenzien. Weiterhin ist zu beachten, dass die Enantiomere reaktive Gruppen (z.B. -OH, -NH₂) enthalten müssen und die Kinetik der Derivatisierungsreaktion zu verschiedenen Peakflächen der Produkte führen kann.

Direkte Verfahren für Enantiomerentrennungen mit der CE umgehen diese Probleme und kommen daher vermehrt zum Einsatz. Bei diesen Methoden wird der chirale Selektor dem Elektrolyten entweder direkt zugesetzt, an der Kapillarwand immobilisiert oder in einer Gelmatrix eingeschlossen. Während des elektrophoretischen Prozesses bilden sich aus Selektor und den Analyten diastereomere, labile Komplexe, die durch van-der-Waals-, π - π - oder hydrophobe Wechselwirkungen oder Wasserstoffbrücken zusammengehalten werden. Jedoch erfolgt die Trennung dieser Komplexe nur, wenn sich deren Stabilitätskonstanten so weit voneinander unterscheiden, dass sie sich im elektrischen Feld mit unterschiedlichen Migrationsgeschwindigkeiten bewegen. Die direkte Trennung von Enantiomeren ist leicht und schnell durchführbar, da Derivatisierung und Aufreinigung nicht nötig sind. Die große Anzahl kommerziell erhältlicher chiraler Selektoren, von denen lediglich geringe Mengen benötigt werden, macht dieses Verfahren zu einer universell einsetzbaren Methode für die Enantiomerentrennung.

In den vergangenen Jahren wurde eine Vielzahl von Selektoren beschrieben, die aufgrund ihrer chemischen und strukturellen Eigenschaften nach verschiedenen Mechanismen mit den Enantiomeren wechselwirken – genannt seien der Ligandenaustausch, die Bildung von Einschluss-Komplexen oder die Bildung chiraler Mizellen. Neben Kronenethern,^[156, 157] Proteinen,^[158] makrocyclischen Antibiotika,^[159, 160] Kohlenstoffnanoröhren,^[161] chiralen Tensiden,^[162-165] und Tartraten^[166, 167] haben sich vor allem Cyclodextrine (CD) und die Salze der Gallensäuren als effektive chirale Selektoren erwiesen. Am häufigsten werden CD für die direkte kapillarelektrophoretische Trennung von Enantiomeren eingesetzt. Diese cyclischen Oligosaccharide bestehen aus α -1,4-glykosidisch verknüpften Glucosemolekülen (α -D-Glucopyranose) und weisen eine toroidale Struktur (innen hydrophob, außen hydrophil) mit einem zentralen Hohlraum auf. Je nach Anzahl der Glucoseeinheiten ($n = 6$ bis 9) werden α -, β -, γ - und δ -Cyclodextrine unterschieden, die sowohl im Hohlraumdurchmesser als auch in der Hohlraumhöhe variable Eigenschaften aufweisen (Abbildung 19). Durch Modifikation der Hydroxylgruppen nativer CD in 2-, 3-, oder 6-Position, z.B. mit Hydroxypropyl-, Acetyl-,

Methyl- oder Sulfato-Gruppen, können Derivate unterschiedlicher Ladung und Löslichkeit – und daraus resultierend mit verschiedenen Trenneigenschaften – hergestellt werden.

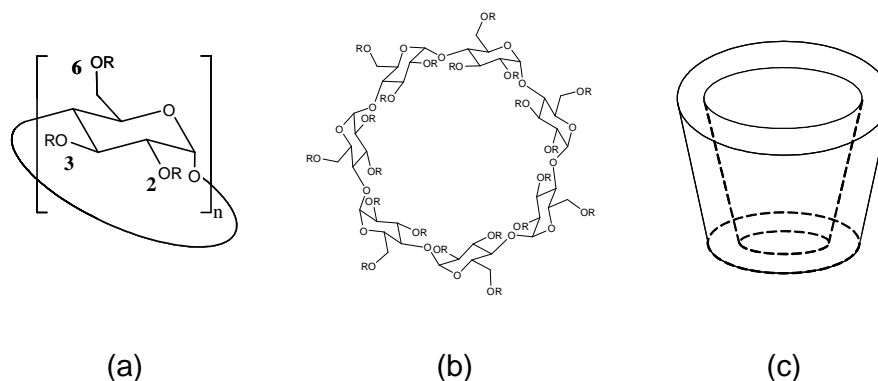


Abbildung 19: (a) Allgemeine Strukturformel von nativen CD (R = H) und CD-Derivaten (R = Substituent) mit n = 6 – 9. (b) Natives β-Cyclodextrin (n = 7). (c) Dreidimensionale Darstellung der torroidalen Struktur eines Cyclodextrins.

Die Analyten bilden wegen der Wechselwirkung mit der Kavität der CD diastereomere Wirt-Gast- bzw. Einschlusskomplexe. Im Allgemeinen verursachen hydrophobe und ionische Wechselwirkungen mit den CD, sterische Effekte innerhalb der Kavität oder die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen die Trennung von Enantiomeren.^[168, 169] In der Literatur sind daher eine Vielzahl von Enantiomerentrennungen mit CD, wie z.B. die Separation der Trögerschen Base,^[170] von *D*- und *L*-Milchsäure,^[171] Pestiziden,^[172] Arzneimitteln,^[173-177] PCBs,^[178] 1,*n*-Diaza[*n*]paracyclophanen^[179] und Binaphtylderivaten^[180] beschrieben.

Neben Cyclodextrinen wurden die Salze der Gallensäuren, besonders das Natriumsalz der 3α,7α,12α-Trihydroxycholansäure (Natriumcholat, Abbildung 20), als effektive chirale Selektoren zur Trennung von Enantiomeren beschrieben.^[181-189] Cholsäure weist ein Steroidgrundgerüst auf und bildet oberhalb der kritischen Mizellbildungskonzentration helikale chirale Mizellen,^[190] in denen die Trennung stattfindet. Dieses Verfahren wird als dynamische mizellare elektrokinetische Chromatographie (DMEKC) bezeichnet.

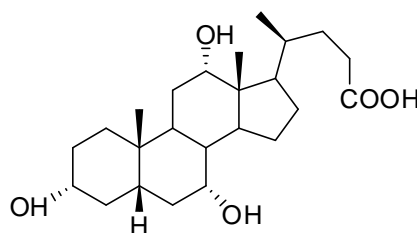


Abbildung 20: Strukturformel von Cholsäure.

Bei Tris(α -Diimin)-Übergangsmetallkomplexen handelt es sich um oktaedrisch angeordnete Komplexe, die je drei an das ÜM koordinierte, zweizählige Diimin-Liganden enthalten. Diese Verbindungen existieren als Λ - oder Δ -Enantiomere, wobei die Liganden jeweils propellerartig nach links oder rechts verdrillt sind (Abbildung 21). Sie können mittels EKC unter Verwendung chiraler Selektoren getrennt werden.^[167, 191-199] Als Selektoren für die Trennung dieser ÜM-Komplexe dienen meistens chirale Anionen, wie das Carboxymethyl- β CD,^[191-196] Tartrate und dessen Derivate,^[191, 193, 194, 196] Isocitrate und Aminosäuren^[195] oder Salze der Gallensäure.^[200]

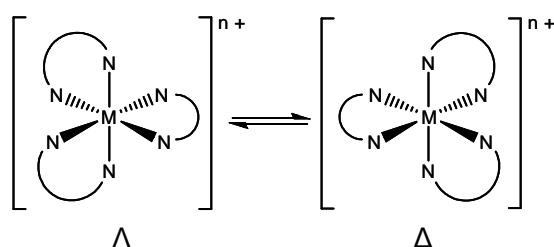


Abbildung 21: Enantiomerisierung von Tris(α -Diimin)-ÜM-Komplexen.

Holder et al. konnten die Enantiomere funktionalisierter Ruthenium(II)-Komplexe mit den α -Diimin-Liganden 2,2'-Bipyridyl (bipy) und 1,10-Phenanthrolin (phen) unter Zusatz eines anionischen Carboxymethyl- β -CDs in einem Borat-Puffer trennen (Abbildung 22).^[193-195] Der unmodifizierte Tris(2,2'-Bipyridyl)ruthenium(II)-Komplex konnte unter diesen Bedingungen nicht getrennt werden.

Jiang et al. untersuchten ebenfalls eine Vielzahl von Ru(II)-(α -Diimin)-Komplexen und verwendeten neun CD-Derivate als Selektoren.^[191] Sie fanden heraus, dass derivatisierte γ -CD eine höhere Effizienz als β -CD aufweisen und sulfatierte CD zu besseren Trennungen als Carboxymethyl-CD führen.

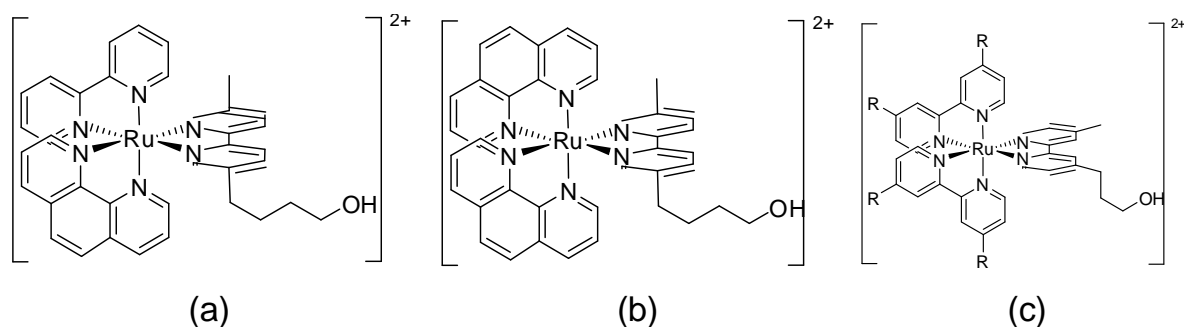


Abbildung 22: Von Holder et al. getrennte Ru(II)-Komplexe mit verschiedenen α -Diimin-Liganden:

(a) [5-(4-Hydroxybutyl)-5'-Methyl-2,2'-bipy]-bis(2,2'-bipy)-Ru(II)-Komplex.^[193]

(b) [5-(4-Hydroxybutyl)-5'-Methyl-2,2'-bipy]-bis(1,10-phen)-Ru(II)-Komplex.^[195]

(c) 4-(3-Hydroxypropyl)-4'-Methyl-2,2'-bipy]-bis(4,4'-R-2,2'-bipy)-Ru(II)-Komplex (R = H, Methyl).^[194]

Martin et al. zeigten, dass die Trennung unmodifizierter racemischer Tris(α -Diimin)-Ru(II)-Enantiomere in einem 25 mM Phosphat-Puffer, der Dibenzoyl-*L*-Weinsäure oder Antimonyl-*D*-Tartrat als chiralen Selektor enthält, simultan möglich ist (Abbildung 23).^[166] Dies gilt sowohl für die Komplexe (rac -[Ru(bipy)₃]²⁺ und rac -[Ru(phen)₃]²⁺) als auch für die gemischten Varianten (rac -[Ru(bipy)₂(phen)]²⁺ und rac -[Ru(bipy)(phen)₂]²⁺).

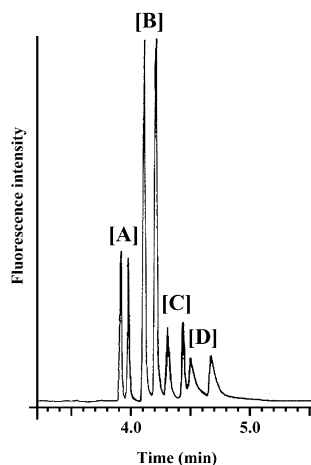


Abbildung 23: Trennung von [A] rac -[Ru(bipy)₃]²⁺, [B] rac -[Ru(bipy)₂(phen)]²⁺, [C] rac -[Ru(bipy)(phen)₂]²⁺ und [D] rac -[Ru(phen)₃]²⁺ in einem Phosphat-Puffer mit Dibenzoyl-*L*-Weinsäure als Selektor.^[166]

Harris et al. führten systematische Untersuchungen zur Interkonversion optisch aktiver Tris(α -Diimin)-Übergangsmetallkomplexe in Phosphat- bzw. Borat-Puffern durch und setzten Antimonyl-*D*-Tartrat, Dibenzoyl-*L*-Tartrat sowie *threo*-D₅(+)-Isocitrat als Selektoren in EKC-Experimenten ein.^[167] Sie variierten sowohl die Ladung der Komplexe (0 bis 4+) als auch den Liganden (bipy, phen, Oxalat) sowie das Metall (Ru(II), Cr(III), Co(III), Fe(II), Ni(II)). Außerdem erforschten sie den Einfluss experimenteller Messparameter wie pH-Wert, Temperatur und Kapillarlänge.

Trapp untersuchte die Interkonversion des Tris(1,10-Phenanthrolin)-Eisen(II)-Komplexes (Ferroin) mittels der enantioselektiven DMEKC und setzte Natriumcholat in einem Natriumborat/Natriumdihydrogenphosphat-Puffer als Selektor ein.^[201] Zusätzlich zur Trennung der Isomere, wurden aus den gemessenen dynamischen Elutionsprofilen mit der Unified Equation die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten sowie die Aktivierungsparameter ΔH^\ddagger ($124 \pm 0.5 \text{ kJ mol}^{-1}$) und ΔS^\ddagger ($121 \pm 1 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) für die Enantiomerisierung des Komplexes berechnet. Darüber hinaus wurde festgestellt, dass sich Ferroin hervorragend als molekulare Sonde eignet, um den Temperaturanstieg in der Kapillare zu quantifizieren, der während der Durchführung der Messung durch Joule'sche Wärme verursacht wird.

4.1.3. Zielsetzung

Das Ziel dieser Untersuchung besteht darin, einen tieferen Einblick in den Mechanismus der Interkonversion chiraler Tris(α -Diimin)-Übergangsmetallkomplexe zu erlangen, indem diese Verbindungen in systematischen kinetischen Studien mithilfe der enantioselektiven DMEKC untersucht werden. Durch Variation sowohl des Übergangsmetallions und dessen Oxidationsstufe (Mn(II), Fe(II), Fe(III), Co(II), Ni(II) und Cu(II)) sowie des zweizähligen Diimin-Liganden (1,10-Phenanthrolin und 2,2'-Bipyridyl) werden eine Vielzahl von Tris(α -Diimin)-ÜM-Komplexen erhalten. Die Verwendung von drei Puffersystemen, die sich in ihren Zusammensetzungen und den pH-Werten unterscheiden, und die Auswahl verschiedener chiraler Selektoren (Cyclodextrine, Natriumcholat) ermöglichen die Untersuchung des Einflusses des Elektrolyten auf die Trennung der Enantiomere.

Aus den dynamischen Interkonversionsprofilen sind die Geschwindigkeitskonstanten k_I^{ue} durch Anwendung der Unified Equation direkt ermittelbar. Werden die Messungen bei Temperaturen zwischen 10 °C und 35 °C durchgeführt, können darüber hinaus die Aktivierungsparameter ΔG^\ddagger , ΔH^\ddagger und ΔS^\ddagger für die Interkonversion dieser stereolabilen Metallkomplexe berechnet werden, so dass Aussagen über den Mechanismus der Enantiomerisierung getroffen werden können.

4.2. Ergebnisse und Diskussion

4.2.1. Bestimmung der optimalen Messbedingungen für die enantioselektive dynamische mizellare elektrokinetische Chromatographie zur Trennung von Tris(α -Diimin)-Übergangsmetallkomplexen

Zur Ermittlung der optimalen Messbedingungen für die Trennung der Tris(α -Diimin)-ÜM-Komplexe wurden zunächst vor allem die Zusammensetzung des Trennpuffers und des chiralen Selektors variiert. Um diese Parameter auf ihre Trennleistung zu überprüfen wurden sämtliche Messungen bei 10 °C durchgeführt.

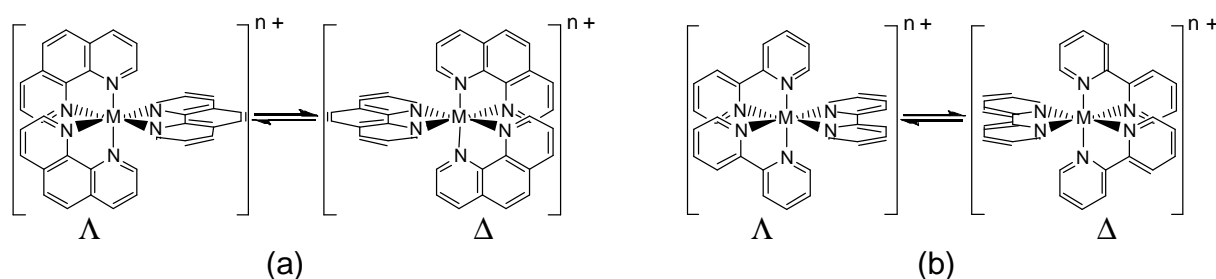


Abbildung 24: Enantiomerisierung eines (a) Tris(1,10-Phenanthrolin)-ÜM-Komplexes und (b) Tris(2,2'-Bipyridyl)-ÜM-Komplexes. M^{n+} entspricht den ÜM Mn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} und Cu^{2+} .

Die in Abbildung 24 aufgeführten Tris(α -Diimin)-ÜM-Komplexe wurden durch Auflösen des jeweiligen Übergangsmetallsalzes und drei Äquivalenten des bidentaten Diimin-Liganden (1,10-Phenanthrolin oder 2,2'-Bipyridyl) in einem Methanol/Wasser-Gemisch dargestellt (Tabelle 2). Dabei konnte ein für die jeweiligen Komplexe typischer Farbumschlag beobachtet werden. Bei allen hergestellten und hier aufgeführten Komplexen handelte es sich um racemische Gemische.

Tabelle 2: Konzentration und Farbumschlag der hergestellten Tris(α -Diimin)-ÜM-Komplexe.

$MX_n \cdot x H_2O$ (Farbe)	$[M(phen)_3]^{n+}$	$[M(bipy)_3]^{n+}$	$c_{Komplex}$ [$mol L^{-1}$]
$MnSO_4 \cdot H_2O$ (hellrosa)	gelb	gelb	0.074
$FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ (mintgrün)	rot	purpurrot	0.045
$FeCl_3 \cdot 6 H_2O$ (gelb)	braun	rostrot	0.046
$CoCl_2$ (violett)	gelborange	gelb	0.096
$NiCl_2 \cdot 6 H_2O$ (grün)	rosa	orange	0.053
$CuSO_4 \cdot 5 H_2O$ (blau)	blau	blau	0.050

Um den Einfluss des Messpuffers auf die Trennung und das dynamische Verhalten der Tris(α -Diimin)-ÜM-Komplexe zu untersuchen, kamen im Rahmen der DMEKC-Experimente drei verschiedene Puffer zum Einsatz, die sich in sowohl in ihrem pH-Wert als auch in ihrer Zusammensetzung unterschieden (Tabelle 3). Eine 100 mM Natriumtetraborat-Lösung mit einem pH von 9.3 ergab Puffer A. Puffer B mit einem pH von 8.0 bestand aus einer Lösung von 100 mM Natriumtetraborat und 100 mM Natriumdihydrogenphosphat. Dagegen befand sich Puffer C, der aus 50 mM Zitronensäure und 50 mM Natriumdihydrogenphosphat bestand, mit einem pH von 4.0 im sauren Bereich.

Tabelle 3: Übersicht über die eingesetzten Puffer.

Bezeichnung	Zusammensetzung	pH
Puffer A	100 mM Natriumtetraborat	9.3
Puffer B	100 mM Natriumtetraborat/100 mM Natriumdihydrogenphosphat	8.0
Puffer C	50 mM Zitronensäure/50 mM Natriumdihydrogenphosphat	4.0

Die enantioselektive Trennung chiraler Verbindungen kann mit der Technik der DMEKC auf achiralen fused-silica Säulen durchgeführt werden, wenn dem Laufpuffer chirale Selektoren als Additive zugesetzt werden. Da sich native Cyclodextrine und Cyclodextrinderivate als effektive chirale Selektoren für die Trennung von Enantiomeren mit der DMEKC erwiesen haben, wurden den drei Messpuffern A, B und C (Tabelle 3) in den Experimenten zur Trennung der Tris(α -Diimin)-ÜM-Komplexe verschiedene CD zugesetzt. Es handelte sich hierbei um das native β -CD, das Heptakis-(2,6-di-*O*-methyl)- β -CD (DM- β -CD), das Heptakis-(2,3,6-tri-*O*-methyl)- β -CD (TM- β -CD), das Heptakis-(6-*O*-hydroxypropyl)- β -CD (HP- β -CD), das Heptakis-(6-*O*-carboxymethyl)- β -CD (CM- β -CD) sowie das Heptakis-(6-*O*-sulfato)- β -CD (HS- β -CD). In Puffer A und Puffer B konnte unter den beschriebenen Messbedingungen, unabhängig vom verwendeten Cyclodextrin, für keinen der Komplexe eine Trennung der Enantiomere erzielt werden. Lediglich das HS- β -CD in Puffer C führte zu einer Trennung der Ferroin- ($[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ -) und $[\text{Ni}(\text{phen})_3]^{2+}$ -Enantiomere (Abbildung 25).

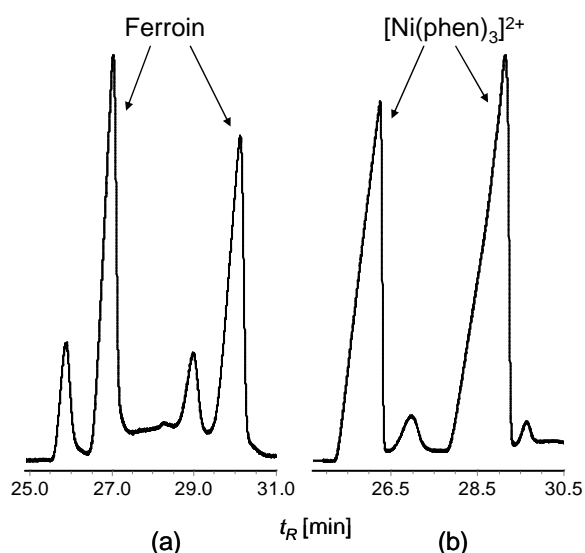


Abbildung 25: Elektropherogramme für die Trennung von (a) Ferroin und (b) des $[\text{Ni}(\text{phen})_3]^{2+}$ -Komplexes mit der DMEKC unter Verwendung von Puffer C und HS-B-CD als chiralen Selektor.

Neben den Peaks für die getrennten $[\text{M}(\text{phen})_3]^{2+}$ -Komplexe konnten zwei kleinere Peaks in den Elektropherogrammen detektiert werden. Eine qualitative Zuordnung der Signale anhand der UV-Spektren war leider nicht möglich. Möglicherweise verdrängt die Zitronensäure im Elektrolyten aufgrund ihrer chelatisierenden Eigenschaften ein oder mehrere Phenanthrolin-Liganden vom Metall, so dass sich *in situ* gemischte Komplexe von Typ $[\text{M}(\text{phen})_2(\text{citrat})]^{2+}$ oder $[\text{M}(\text{phen})(\text{citrat})_2]^{2+}$ bilden. Da diese Komplexe wiederum chiral sind, werden sie unter Umständen bei diesen Bedingungen mit der DMEKC ebenfalls aufgetrennt.

Für die Trennung von Enantiomeren mit der DMEKC wurden den Laufpuffern A, B und C in den vorliegenden Untersuchungen neben CD auch Natriumcholat zur Trennung der Tris(α -Diimin)-ÜM-Enantiomere zugesetzt. In Puffer A und Puffer B mit Natriumcholat als chiralem Selektor konnte bei einer Temperatur von 10 °C eine Vielzahl der Komplexe getrennt werden. Es wurde die vollständige, d.h. Basislinientrennung der Enantiomere des Tris(1,10-Phenanthrolin)-Eisen(II)-Komplexes $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ (Ferroin), des Tris(1,10-Phenanthrolin)-Nickel(II)-Komplexes $[\text{Ni}(\text{phen})_3]^{2+}$, des Tris(2,2'-Bipyridyl)-Eisen(II)-Komplexes $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$, des Tris(2,2'-Bipyridyl)-Eisen(III)-Komplexes $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{3+}$ und des Tris(2,2'-Bipyridyl)-Nickel(II)-Komplexes $[\text{Ni}(\text{bipy})_3]^{2+}$ beobachtet. Dagegen konnten die Enantiomere der Tris(α -Diimin)-Komplexe von Mangan(II), Cobalt(II) und Kupfer(II) sowie des Tris(1,10-Phenanthrolin)-Eisen(III)-Komplexes $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{3+}$ unter diesen Bedingungen nicht getrennt werden. In Puffer C erfolgte mit Natriumcholat für keinen der Komplexe eine Trennung.

Mangan(II)-Komplexe liegen meist als high-spin-Komplexe (d^5) vor und erfahren deswegen keine Ligandenfeldstabilisierungsenergie. Daher haben sie keine bevorzugte Geometrie, weisen aber häufig eine für die Koordination charakteristische Farbe auf – oktaedrisch blassrosa, tetraedrisch gelb bis grün.^[202, 203] Möglicherweise konnten die Diimin-Mn(II)-Komplexe nicht getrennt werden, da nur zwei Diimin-Liganden das Mangan tetraedrisch koordinierten und der Komplex daher keine Chiralität aufwies. Die gelbe Färbung der Lösung spräche dafür. Eisen(III)-Komplexe können in wässrigen Lösungen zu überbrückten Hydroxo-Spezies polymerisieren, da die Koordination von *O*-Donoren gegenüber *N*-Donoren bevorzugt wird.^[202] Besonders der tiefblaue $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{3+}$ -Komplex hydrolysiert in wässriger Lösung langsam zu hydroxohaltigen Eisen(III)-Verbindungen (ockerfarben) und wird darüber hinaus im System $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+} \rightleftharpoons [\text{Fe}(\text{phen})_3]^{3+} + e^-$ als Redoxindikator eingesetzt.^[202] In den Versuchen wurde für $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{3+}$ stets eine rostrote Färbung beobachtet, die auf die Bildung der Hydroxospezies hinweist und die als wahrscheinliche Ursache für eine nicht erfolgte Trennung herangezogen werden kann. Kupfer(II)-Komplexe bilden aufgrund der d^9 -Konfiguration häufig keine regelmäßige Anordnungen aus und sind wegen der ungleichmäßigen Besetzung der e_g -Orbitale Jahn-Teller verzerrt.^[202] Darüber hinaus bildet Cu^{2+} mit chelatisierenden *N*-Donorliganden nur widerstrebend Tris-Komplexe und das auch nur bei hoher Ligandenkonzentration. Tris(α -Diimin)-Cu(II)-Komplexe sind bekannt, konnten jedoch unter den hier beschriebenen Messbedingungen nicht getrennt werden.

Berechnung von Trennfaktoren für die bei 10 °C separierten Enantiomere

Trennfaktoren α geben die relative Retention zweier benachbarter Peaks an, wobei sie immer größer oder gleich eins sind. Bei $\alpha = 1$ koeluiieren die beiden betrachteten Analyten, d.h. es findet keine Trennung statt. Die Trennfaktoren ergeben sich nach Gleichung 20 aus dem Quotienten der reduzierten Retentionszeiten $t'_R{}^A$ und $t'_R{}^B$, d.h. aus den um die Durchflusszeit des EOF t_{EOF} reduzierten Migrationszeiten $t_R{}^A$ und $t_R{}^B$, wobei A das später eluierende Enantiomer ist.

$$\alpha = \frac{t'_R{}^A}{t'_R{}^B} = \frac{t_R{}^A - t_{EOF}}{t_R{}^B - t_{EOF}} \quad (20)$$

Da die Bestimmung von t_{EOF} in der DMEKC ist nicht trivial ist, wurden die Trennfaktoren entsprechend der Formel $\alpha = t_R{}^A/t_R{}^B$ berechnet. In Puffer A und B jeweils mit 20 mg mL⁻¹ Natriumcholat als chiralem Selektor bzw. Puffer C mit 10 mg mL⁻¹ HS- β -CD als chiralem Selektor konnten für die oben beschriebenen separierten Enantiomerenpaare Trennfaktoren zwischen 1.019 und 1.125 berechnet werden (Tabelle 4).

Tabelle 4: Trennfaktoren für die Tris(α -Diimin)-ÜM-Komplexe in den verschiedenen Puffersystemen (72 cm (l_{eff}) fused-silica Kapillare (I.D. 50 μ m); U = +20 kV; T = 10 °C (T = 15 °C für Puffer C)).

	A + Cholat ^[a]	B + Cholat ^[b]	C + HS- β -CD ^[c]
[Fe(phen) ₃] ²⁺	1.125	1.098	1.115
[Ni(phen) ₃] ²⁺	1.115	1.094	1.110
[Fe(bipy) ₃] ²⁺	1.022	1.019	-
[Fe(bipy) ₃] ³⁺	1.023	1.019	-
[Ni(bipy) ₃] ²⁺	1.032	1.024	-

[a] 100 mM Natriumtetraborat (pH 9.3) mit 20 mg mL⁻¹ Natriumcholat.

[b] 100 mM Natriumtetraborat/Natriumdihydrogenphosphat (pH 8.0) mit 20 mg mL⁻¹ Natriumcholat.

[c] 50 mM Zitronensäure/Natriumdihydrogenphosphat (pH 4.0) mit 10 mg mL⁻¹ HS- β -CD.

Da die Zitronensäure in Puffer C einen Einfluss auf die Stabilität der Komplexe hat (vgl. Abbildung 25, Seite 49), wurde dieses System für die kinetischen Experimente nicht weiter verwendet. Folglich wurde im weiteren Verlauf der Untersuchung ausschließlich das dynamische Verhalten von [Fe(phen)₃]²⁺ und [Ni(phen)₃]²⁺ sowie [Fe(bipy)₃]²⁺, [Fe(bipy)₃]³⁺ und [Ni(bipy)₃]²⁺ in Puffer A und B mit Natriumcholat als chiralem Selektor untersucht.

4.2.2. Interkonversion der Tris(α -Diimin)-Komplexe bei Erhöhung der Temperatur bis zum Koaleszenzpunkt

Bei der Erhöhung der Temperatur von 10.0 °C auf 35.0 °C in Schritten von 2.5 K konnte die Ausbildung eines Plateaus zwischen den Peaks der interkonvertierenden Enantiomere beobachtet werden. Die Ausprägung dieses dynamischen Verhaltens war sowohl vom verwendeten Puffer als auch vom Komplex selbst (Metall, Oxidationsstufe, Ligand) abhängig.

Abhängigkeit der Interkonversion von Puffer

Es wurde die Interkonversion von **Ferroin** in Puffer A und Puffer B, die jeweils 20 mg mL⁻¹ Natriumcholat als chiralen Selektor enthielten, untersucht (Abbildung 26). In Puffer A konnte Koaleszenz bei einer Temperatur von 27.5 °C beobachtet werden, in Puffer B hingegen erst oberhalb von 30.0 °C. Ein ähnliches Verhalten ergab sich für die Interkonversion von [Fe(bipy)₃]³⁺ in den beiden Puffersystemen (Abbildung 27). In Puffer A wurde eine Koaleszenztemperatur von 35.0 °C, in Puffer B von 37.5 °C festgestellt.

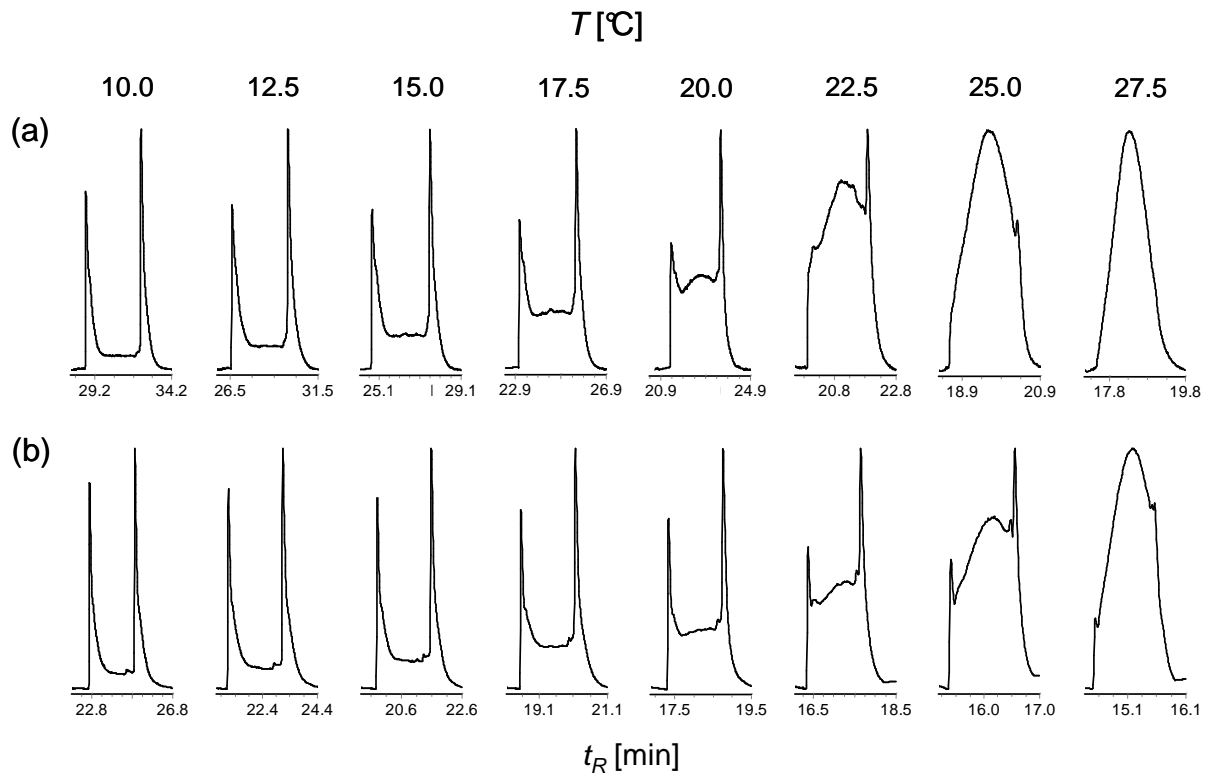


Abbildung 26: Interkonversionsprofile von Ferrioxin in zwei verschiedenen Puffersystemen bei verschiedenen Temperaturen: (a) Puffer A mit 20 mg mL^{-1} Natriumcholat als chiraler Selektor und (b) Puffer B mit 20 mg mL^{-1} Natriumcholat als chiralen Selektor.

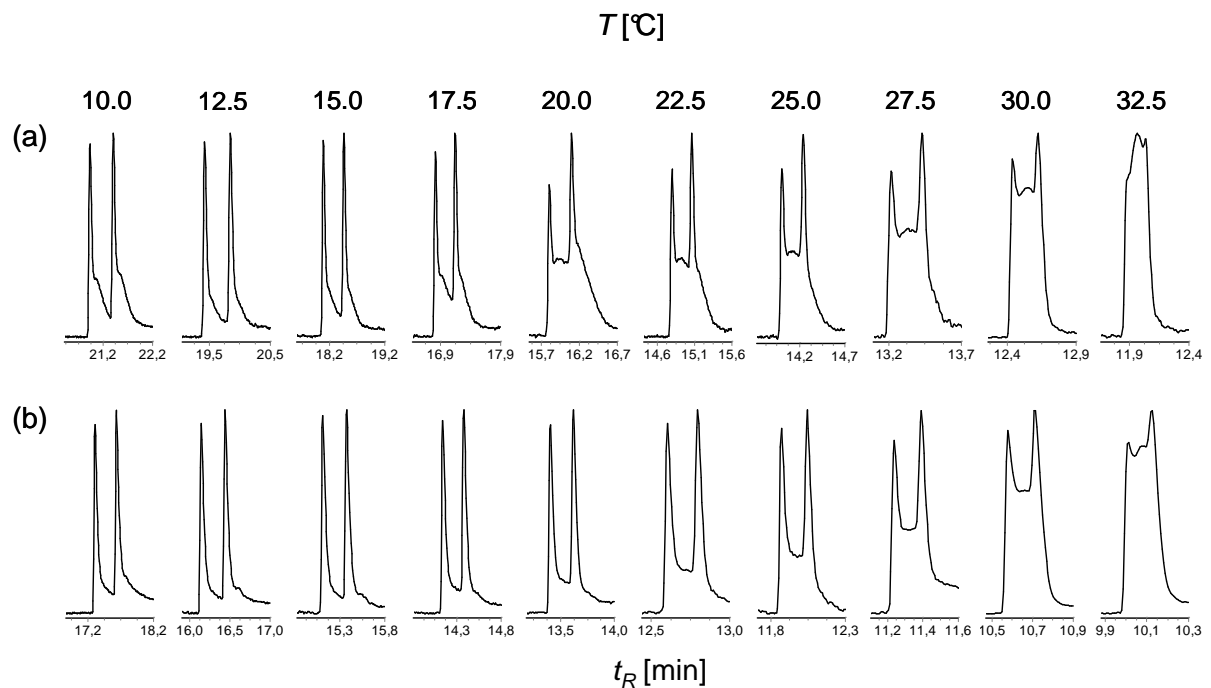


Abbildung 27: Interkonversionsprofile von $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{3+}$ in zwei verschiedenen Puffersystemen bei verschiedenen Temperaturen: (a) Puffer A mit 20 mg mL^{-1} Natriumcholat als chiraler Selektor und (b) Puffer B mit 20 mg mL^{-1} Natriumcholat als chiralen Selektor.

Als Ursache für die unterschiedlichen Koaleszenztemperaturen konnten die Migrationszeiten der Enantiomere in den beiden Puffern herangezogen werden, da sie die Reaktionszeiten direkt widerspiegeln. Die Wechselwirkung der Enantiomere mit dem chiralen Selektor findet ausschließlich während der Verweilzeit in der Trennkapillare statt. Kürzere Migrationszeiten verringern demnach den Zeitraum für die Enantiomerentrennung im Vergleich zu der Zeit für die Interkonversion, so dass Koaleszenz erst bei höheren Temperaturen auftritt. In Puffer A wurde daher entsprechend den längeren Reaktionszeiten Koaleszenz bei niedrigeren Temperaturen als in Puffer B beobachtet.

Abhängigkeit der Interkonversion vom Komplex

In Abbildung 28 sind die Interkonversionsprofile zweier Tris(2,2'-Bipyridyl)-Eisen-Komplexe, $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$ und $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{3+}$, bei Temperaturen von 27.5 °C und 30.0 °C dargestellt. Die Enantiomere beider Komplexe wurden unter identischen experimentellen Bedingungen getrennt und unterscheiden sich lediglich in der Oxidationsstufe des ÜM. Es wurde erwartet, dass der Komplex mit der höheren Oxidationsstufe im elektrischen Feld eine schnellere Migrationsgeschwindigkeit und eine entsprechend höhere Koaleszenztemperatur aufweist. Überraschenderweise konnten für die beiden Komplexe trotz unterschiedlicher Ladung nahezu identische Migrationszeiten festgestellt werden. Möglicherweise kompensierte die mizellare Umgebung des Natriumcholats, in der sich die Substrate während der Trennung befanden, den Ladungsunterschied zwischen beiden Komplexen. Dennoch wurden bei 32.5 °C für $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$ und bei 35.0 °C für $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{3+}$ unterschiedliche Koaleszenztemperaturen festgestellt.

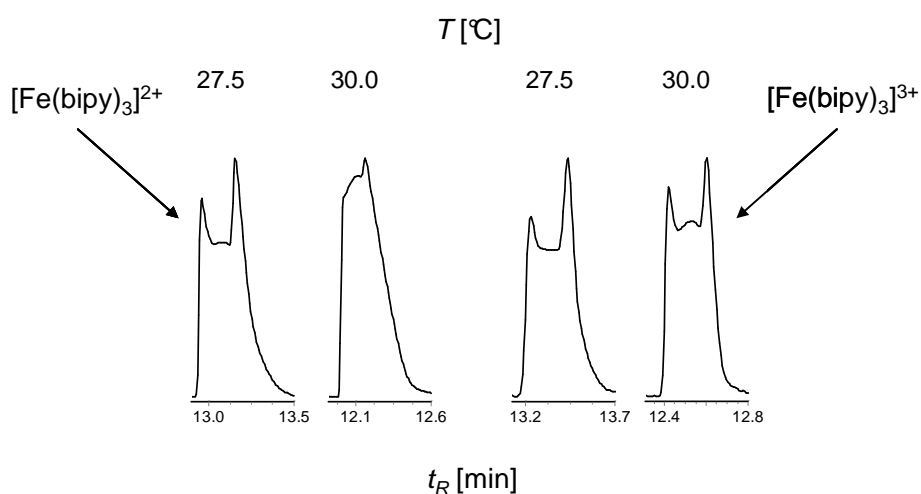


Abbildung 28: Interkonversionsprofile von $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$ und $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{3+}$ bei Temperaturen von 27.5 °C und 30.0 °C in Puffer A mit 20 mg mL⁻¹ Natriumcholats als chiralem Selektor.

Bei Austausch des bidentaten Diimin-Liganden (z.B. von $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ zu $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$) wurde eine Änderung in der Form der Elutionsprofile sowie in der Interkonversion festgestellt (Abbildung 29). Während das Plateau zwischen den getrennten Ferroin-Peaks bereits bei 10 °C deutlich zu erkennen war (Abbildung 29a), wurde es zwischen den getrennten $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$ -Komplexen erst oberhalb von 20 °C sichtbar (Abbildung 29b).

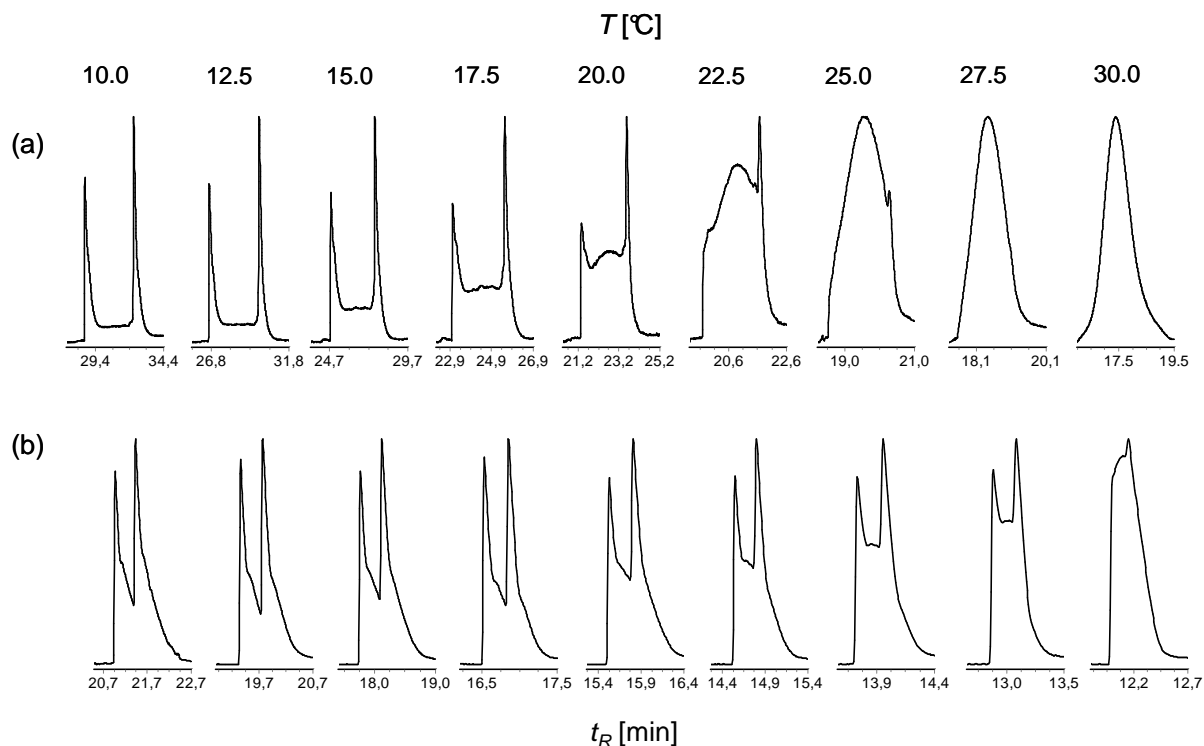


Abbildung 29: Interkonversionsprofile von (a) $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ und (b) $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$ bei verschiedenen Temperaturen in Puffer A mit 20 mg mL^{-1} Natriumcholat als chiralen Selektor.

Beide Komplexe wurden unter identischen Bedingungen gemessen und wiesen dieselbe Ladung auf. Dennoch unterschieden sich ihre Migrationszeiten – und somit auch die Koaleszenztemperatur – deutlich voneinander. Es ist daher anzunehmen, dass sich der Mechanismus der Interkonversion für die Phenanthrolinkomplexe grundlegend von dem für die Bipyridylkomplexe unterscheidet. Die Ermittlung kinetischer Daten sowie der Aktivierungsparameter geben darüber detailliertere Auskünfte und werden in den Kapiteln 4.2.3 und 4.2.4 ausführlich diskutiert WERDEN

Selbst bei Erhöhung der Temperatur wurde für den Tris(1,10-Phenanthrolin)-Nickel(II)-Komplex $[\text{Ni}(\text{phen})_3]^{2+}$ keine Interkonversion festgestellt (Abbildung 30). Bis zur Zersetzung des Komplexes bei 32,5 °C konnte keine Ausbildung eines Plateaus beobachtet werden, was unter diesen Bedingungen auf eine ausgesprochene Stereostabilität der Enantiomere auch bei höheren Temperaturen hinweist. Da Ni(II) aufgrund der d^8 -Konfiguration dazu neigt,

quadratisch-planare Komplexe auszubilden, ist ein solcher Übergangszustand bei Dissoziation eines Phenanthrolinliganden denkbar und möglicherweise die Ursache für eine im Vergleich zu den anderen Diimin-Komplexen höhere Interkonversionsbarriere. Im Gegensatz dazu beobachteten Bosnich und Watts bei höheren Temperaturen Interkonversion mit (-)-2,3-Butandiol als Lösungsmittel.^[204]

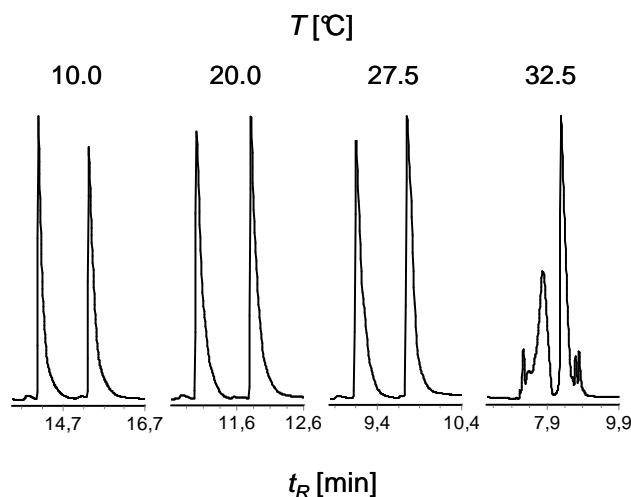


Abbildung 30: Elektropherogramme des Tris(1,10-Phenanthrolin)-Nickel(II)-Komplexes in Puffer B mit 20 mg mL⁻¹ Natriumcholat als chiralen Selektor.

Außerdem ist festzuhalten, dass für $[\text{Ni}(\text{bipy})_3]^{2+}$ bei 25.0 °C eine Überlagerung der Peaks beobachtet wurde, die einer verminderten Auflösung zugeschrieben werden kann. Die Ausbildung eines Plateaus zwischen den getrennten Peaks als Hinweis auf eine Interkonversion konnte dagegen nicht detektiert werden.

4.2.3. Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten für die interkonvertierenden Komplexe

Aus den temperaturabhängigen Messungen der Elutionsprofile von Tris(α -Diimin)-ÜM-Komplexen sind die Geschwindigkeitskonstanten $k_I^{ue}(T)$ für die Enantiomerisierung mit der analytischen Lösung der Unified Equation der dynamischen Chromatographie (Gleichung 4, Seite 19) direkt zugänglich. Während der dynamischen Messungen wurde Koaleszenz bei Temperaturen zwischen 27.5 °C und 37.5 °C beobachtet; diese Elutionsprofile wurden bei der Berechnung von k_I^{ue} nicht berücksichtigt. Das Verhältnis der Enantiomere zu Anfang der Trennung $[A_0/B_0]$ wurde gleich eins gesetzt, da es sich bei allen verwendeten Komplexen um racemische Gemische handelte. Die gemessenen Elektropherogramme wurden mit dem Computerprogramm DCXplorer^[92] ausgewertet, welches die Unified Equation und die

analytische Lösung der Unified Equation nutzt, um Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten für Reaktionen mit einer Kinetik erster Ordnung aus dynamischen chromatographischen bzw. elektrophoretischen Experimenten zu berechnen.

Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der drei getrennten **Eisenkomplexe** $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$, $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$ und $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{3+}$ sind in der Tabelle 5 aufgeführt. Für $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$ in Puffer B konnte k_I^{ue} nicht bestimmt werden, da die Enantiomere zwar getrennt wurden, jedoch keine Plateaubildung, d.h. Interkonversion, beobachtet wurde. Erwartungsgemäß nahmen die Geschwindigkeitskonstanten der Interkonversion für die übrigen Komplexe mit steigender Temperatur zu.

Tabelle 5: Geschwindigkeitskonstanten k_I^{ue} (10^{-4} s^{-1}) der Interkonversion bei verschiedenen Temperaturen für die Tris(α -Diimin)-Eisen-Komplexe (72.0 cm (l_{eff}) fused-silica Kapillare (50 μm I.D.), $U = +20 \text{ kV}$).

T [$^{\circ}\text{C}$]	Puffer A ^[a]			Puffer B ^[b]		
	$[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$	$[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$	$[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{3+}$	$[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$	$[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$	$[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{3+}$
10.0	1.67 ± 0.03	1.14 ± 0.21	-	2.35 ± 0.04	-	1.43 ± 0.24
12.5	2.58 ± 0.00	1.09 ± 0.72	2.94 ± 0.68	3.69 ± 0.25	-	1.96 ± 0.28
15.0	3.91 ± 0.05	1.30 ± 0.12	3.09 ± 0.08	5.16 ± 0.07	-	1.78 ± 0.31
17.5	6.29 ± 0.00	1.61 ± 0.11	4.68 ± 0.55	8.28 ± 0.01	-	2.04 ± 0.40
20.0	10.17 ± 0.13	1.65 ± 0.03	6.18 ± 1.42	12.58 ± 0.03	-	2.86 ± 0.27
22.5	15.24 ± 0.30	2.31 ± 0.48	6.71 ± 0.65	22.29 ± 0.19	-	4.27 ± 0.76
25.0	-	4.13 ± 0.38	8.33 ± 0.69	36.04 ± 0.85	-	5.61 ± 0.09
27.5	-	5.29 ± 0.21	10.49 ± 0.79	-	-	7.73 ± 0.29

[a] 100 mM Natriumtetraborat (pH 9.3) mit 20 mg mL⁻¹ Natriumcholat als chiraler Selektor.

[b] 100 mM Natriumtetraborat/Natriumdihydrogenphosphat (pH 8.0) mit 20 mg mL⁻¹ Natriumcholat.

Aus den kinetischen Daten wird ersichtlich, dass die Enantiomerisierung der Tris(1,10-Phenanthrolin)-Komplexe schneller als die der Tris(2,2'-Bipyridyl)-Komplexe stattfand. Die Erhöhung der Oxidationsstufe ($\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$) beschleunigte die Geschwindigkeit des Interkonversionsprozesses um das Zwei- bis Vierfache. Dagegen beeinflusste der Puffer die Reaktionsgeschwindigkeit kaum.

Bereits in den 1950er Jahren erfolgte die Untersuchung der Racemisierungskinetik von Tris(α -Diimin)-Eisen(II)-Komplexen mittels polarimetrischer Methoden.^[97, 205] Es ist wichtig, die Begriffe Racemisierung und Enantiomerisierung klar gegeneinander abzugrenzen. Racemisierungen sind irreversible makroskopischen Prozesse, bei denen die Racemate aus

einem nicht-racemischen Enantiomer erzeugt werden ($A \rightarrow A, B$ bzw. $B \rightarrow A, B$). Als Enantiomerisierung wird dagegen die mikroskopische Interkonversion der Enantiomere A und B bezeichnet ($A \rightleftharpoons B$). Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten beider Prozesse hängen über die Beziehung $k_{rac} = 2 k_{enant}$ zusammen. Die Geschwindigkeitskonstanten k_{rac} bei $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ für die Racemisierung von Ferroin betragen entsprechend in Wasser $6.5 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ ^[97] bzw. $6.7 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$.^[205] Van Meter und Neumann^[206] untersuchten denselben Prozess bei Temperaturen von $12.0 \text{ }^\circ\text{C}$ bis $24.9 \text{ }^\circ\text{C}$ und fanden Werte für k_{rac} von $0.7 - 6.5 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. Die in der vorliegenden Arbeit berechneten Geschwindigkeitskonstanten k_{enant} für Ferroin weisen, unter Berücksichtigung von $k_{rac} = 2 k_{enant}$, etwa um eine Größenordnung höhere Werte auf (Tabelle 5). Möglicherweise übt die mizellare Umgebung während der DMEKC-Experimente aufgrund der räumlichen Begrenzung in dieser pseudo-stationären Phase einen beschleunigenden Einfluss auf die Interkonversion aus. Tatsächlich wurde in einer mizellaren Phase bei $25 \text{ }^\circ\text{C}$ mit polarimetrischen Methoden eine deutlich schnellere Racemisierung beobachtet ($k_{rac} = 40.0 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$).^[206]

Während eines kapillarelektrophoretischen Trennprozesses wird typischerweise eine Erwärmung des Elektrolyten beobachtet. Diese beruht auf dem Leistungsverlust des Stroms in einem Leiter aufgrund des elektrischen Widerstandes, der durch Kollisionen der Elektronen mit Ionen verursacht wird. Damit einher geht die Übertragung von kinetischer bzw. Schwingungsenergie an die Ionen. Dieser als Joule'sche Wärme bekannte Prozess hat einen Anstieg der Temperatur in der Kapillare während eines elektrophoretischen Trennprozesses zur Folge, der, wie oben beschrieben wurde, unvermeidbar ist. Besonders die Höhe der angelegten Spannung sowie die Konzentration des Puffers beeinflussen das Ausmaß des Temperaturanstiegs, der sich auf verschiedene Art und Weise untersuchen lässt.^[207-212] Eine einfache und direkte Methode der Quantifizierung dieser Temperaturerhöhung findet sich bei Trapp,^[201] der Ferroin in DMEKC-Experimenten als molekulare Sonde einsetzte, da diese Verbindung aufgrund der positiven Aktivierungsentropie eine starke Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten von der Temperatur aufweist. Darüber hinaus beschrieb Trapp für Ferroin Geschwindigkeitskonstanten k_I^{ue} für die Interkonversion von $0.86 - 13.63 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ ($T = 10.0 \text{ }^\circ\text{C}$ bis $25.0 \text{ }^\circ\text{C}$) in einem 50 mM Natriumtetraborat/Natriumdihydrogenphosphat mit 20 mg mL^{-1} Natriumcholat als chiralem Selektor. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Geschwindigkeitskonstanten sind – bei höherer Pufferkonzentration, sonst jedoch identischen Messbedingungen – mit 2.35 bis $36.04 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ ($T = 10.0 \text{ }^\circ\text{C}$ bis $25.0 \text{ }^\circ\text{C}$) etwa dreimal so groß (Tabelle 5). Nach Trapp^[201] kann der Temperaturanstieg in der Kapillare, verursacht

durch Joule'sche Wärme, berechnet werden. Danach betrug die Temperaturdifferenz in den durchgeführten Experimenten 3.8 °C. Dies erklärt die schnellere Interkonversion von Ferroin bei höheren Pufferkonzentrationen. Der Temperaturanstieg in der Kapillare wurde bei der Auswertung der Experimente stets berücksichtigt. Als Ursache für die größeren Geschwindigkeitskonstanten kann auch ein katalytischer Effekt des Puffersystems genannt werden, da Tetraboratanionen komplexierende Eigenschaften aufweisen und Tris-(α -Diimin)-Komplexe destabilisieren können.^[213]

Für die beiden **Nickelkomplexe** konnten keine Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten berechnet werden. Der $[\text{Ni}(\text{phen})_3]^{2+}$ -Komplex wies unter den beschriebenen Bedingungen auch bei höheren Temperaturen eine außerordentliche Stabilität auf, so dass sich keine Plateaubildung zwischen den getrennten Peaks beobachten ließ. Dadurch war es nicht möglich, für diesen Prozess Geschwindigkeitskonstanten aus den Elektropherogrammen zu berechnen. Die enorme Beständigkeit von $[\text{Ni}(\text{phen})_3]^{2+}$ macht diesen Komplex zu einem vielversprechenden Zielmolekül für die enantioselektive Synthese (Kapitel 4.2.5). Der $[\text{Ni}(\text{bipy})_3]^{2+}$ -Komplex zeigte bei höheren Temperaturen eine typische Peakverbreiterung sowie Peaküberlagerung. Die Unified Equation und das Programm DCXplorer^[92] vermögen zwischen geringer Auflösung und einem Interkonversionsprozess zu unterscheiden. Für $[\text{Ni}(\text{bipy})_3]^{2+}$ konnte daher ebenfalls keine Kinetik berechnet werden.

Auch Basolo und Hayes^[97] konnten für $[\text{Ni}(\text{diimin})_3]^{2+}$ keine Racemisierung beobachten; sie stellten jedoch einen Grenzwert für k_{rac} von kleiner als $0.01 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ für $[\text{Ni}(\text{phen})_3]^{2+}$ bzw. kleiner als $2.3 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ für $[\text{Ni}(\text{bipy})_3]^{2+}$ auf. Später fanden Bosnich und Watts für $[\text{Ni}(\text{phen})_3]^{2+}$ bei 28.0 °C ein k_{enant} von $0.04 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ in (-)-2,3-Butandiol.^[204]

4.2.4. Bestimmung der Aktivierungsparameter für die interkonvertierenden Komplexe

Aus den ermittelten Geschwindigkeitskonstanten $k_I^{ue}(T)$ wurde mit der Eyring-Gleichung die freie Aktivierungsenthalpie ΔG^\ddagger berechnet (Gleichung 19, Seite 35). Durch Auftragung von $\ln(k_I^{ue}/T)$ als Funktion von T^{-1} (Abbildung 31) konnten die Aktivierungsenthalpie ΔH^\ddagger aus der Steigung der Geraden bestimmt werden. Die Aktivierungsentropie ΔS^\ddagger ließ sich aus den y-Achsenabschnitt ablesen.

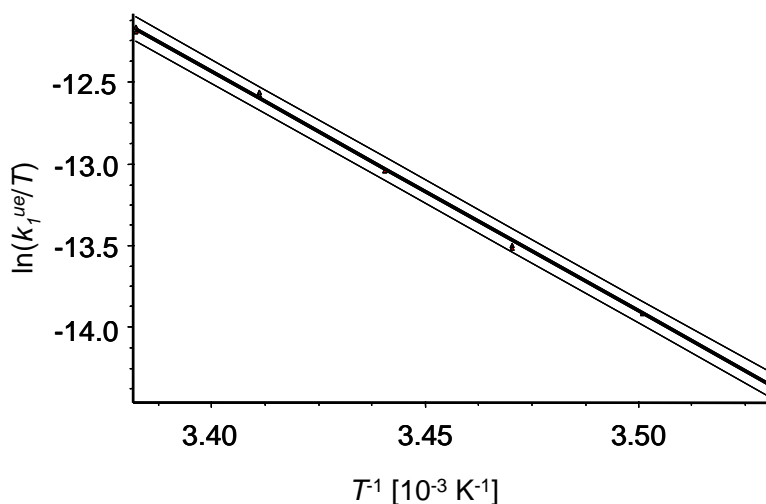


Abbildung 31: Eyring-Auftragung für Ferroin für die Bestimmung der Aktivierungsparameter ΔH^\ddagger und ΔS^\ddagger der Enantiomerisierung für Ferroin aus DMEKC Experimenten in Puffer A. Die oberen und unteren Kurven repräsentieren die Fehlerbanden der linearen Regression mit einem Vertrauensbereich von 95 %. Für die lineare Regression wurden 24 Datenpunkte berücksichtigt.

Die Aktivierungsparameter für die Enantiomerisierung der Komplexe $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$, $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$ und $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{3+}$ sind in Tabelle 6 zusammengefasst und sollten unabhängig von der Messmethode und den experimentellen Bedingungen sein. Tatsächlich haben sowohl die Pufferkonzentration als auch die Pufferzusammensetzung nur einen geringen Einfluss auf die Werte von ΔG^\ddagger , ΔH^\ddagger und ΔS^\ddagger . Auch die Änderung der Oxidationsstufe des Übergangsmetalls der Tris(2,2'-Bipyridyl)-Eisen-Komplexen beeinflusste die Werte der Aktivierungsparameter der Enantiomerisierung kaum.

Tabelle 6: Aktivierungsparameter für die Interkonversion der Tris(α -Diimin)-Eisen-Komplexe in verschiedenen Puffern. Die Joule'sche Wärme in der Kapillare wurde berücksichtigt.

Komplex	Puffer ^[a]	k_I^{ue} ^[b] [10^{-4} s^{-1}]	ΔG^\ddagger ^[c] [kJ mol^{-1}]	ΔH^\ddagger [kJ mol^{-1}]	ΔS^\ddagger [$\text{J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$]
$[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$	A	10.2	88.0	125.5 ± 1.4	126 ± 2
	B	12.6	87.1	128.0 ± 4.5	137 ± 6
$[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$	A	1.7	91.9	58.2 ± 5.6	-113 ± 27
$[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{3+}$	A	6.2	89.7	59.9 ± 1.9	-100 ± 7
	B	2.9	91.1	57.9 ± 3.4	-112 ± 16

[a] Allen Puffern wurde 20 mg mL^{-1} Natriumcholat zugesetzt. [b] k_I^{ue} bei 20°C . [c] ΔG^\ddagger bei 25°C .

So liegen beispielsweise für **Ferroin** in den Puffern A und B die Werte für die Aktivierungsparameter ΔG^\ddagger ($87.1 - 88.0 \text{ kJ mol}^{-1}$), ΔH^\ddagger ($125.5 - 128.0 \text{ kJ mol}^{-1}$) und

ΔS^\ddagger (126 – 137 J mol⁻¹ K⁻¹) sehr eng beieinander. Sie unterscheiden sich kaum von den Daten, die Trapp in einem 50 mM Natriumtetraborat/Natriumdihydrogenphosphat (pH 8.0) Puffer mit 20 mg mL⁻¹ Natriumcholat ermittelt hatte ($\Delta G^\ddagger = 88.0$ kJ mol⁻¹, $\Delta H^\ddagger = 124$ kJ mol⁻¹ und $\Delta S^\ddagger = 121$ J mol⁻¹ K⁻¹).^[201] Ähnliche Werte für die Aktivierungsparameter wurden auch von Van Meter und Neumann berichtet,^[206] die polarimetrische Messungen bei 25 °C in Wasser ($\Delta G^\ddagger = 91.2$ kJ mol⁻¹, $\Delta H^\ddagger = 116.2$ kJ mol⁻¹ und $\Delta S^\ddagger = 84$ J mol⁻¹ K⁻¹) sowie verschiedenen mizellaren Systemen durchführten ($\Delta G^\ddagger = 85.0$ kJ mol⁻¹, $\Delta H^\ddagger = 121.0$ kJ mol⁻¹, $\Delta S^\ddagger = 121$ J mol⁻¹ K⁻¹).

Dagegen änderten sich die Aktivierungsparameter signifikant, wenn die Liganden der Tris(1,10-Phenanthrolin)-Eisen-Komplexe gegen 2,2'-Bipyridyl ausgetauscht werden. In den Phenanthrolinkomplexen waren Geschwindigkeitskonstanten k_I^{ue} und Aktivierungsenthalpien ΔH^\ddagger um einen Faktor 2 bis 3 höher als in den Bipyridylkomplexen. Erstaunlicherweise konnten für letztere Komplexe negative Aktivierungsentropien ΔS^\ddagger beobachtet werden, die auf einen geordneten Übergangszustand hinweisen.

Basolo et al. schlagen für die Interkonversion von Tris(2,2'-Bipyridyl)-ÜM-Komplexen einen Mechanismus vor, bei dem der Ligand partiell vom Zentralion dissoziiert.^[97] Nur eines der chelatisierenden Stickstoffatome des Bipyridylliganden dissoziiert vom Metall während das andere gebunden bleibt. Die Enantiomerisierung erfolgt über Umlagerung sowie Rotation des partiell dissoziierten Liganden und erneute Anlagerung des freien Stickstoffatoms an das Metall (Abbildung 32). Dieser partielle Dissoziations-Mechanismus ist für Phenanthrolin-Komplexe nicht möglich, da Phenanthrolin durch die Starrheit des Ringsystems an einer Rotation gehindert wird. Beide Stickstoffatome des Liganden müssen daher gleichzeitig an das Metall koordinieren. Der Übergangszustand für die Interkonversion der Tris(1,10-Phenanthrolin)-ÜM-Komplexe erfolgt daher vermutlich über einen Dissoziations-Assoziations-Mechanismus, wobei ein Phenanthrolinligand vollständig vom Metallion dissoziiert und die Komplexsphäre verlässt.^[206] Die positiven Aktivierungsentropien weisen auf diesen dissoziativen Prozess hin (Abbildung 33).

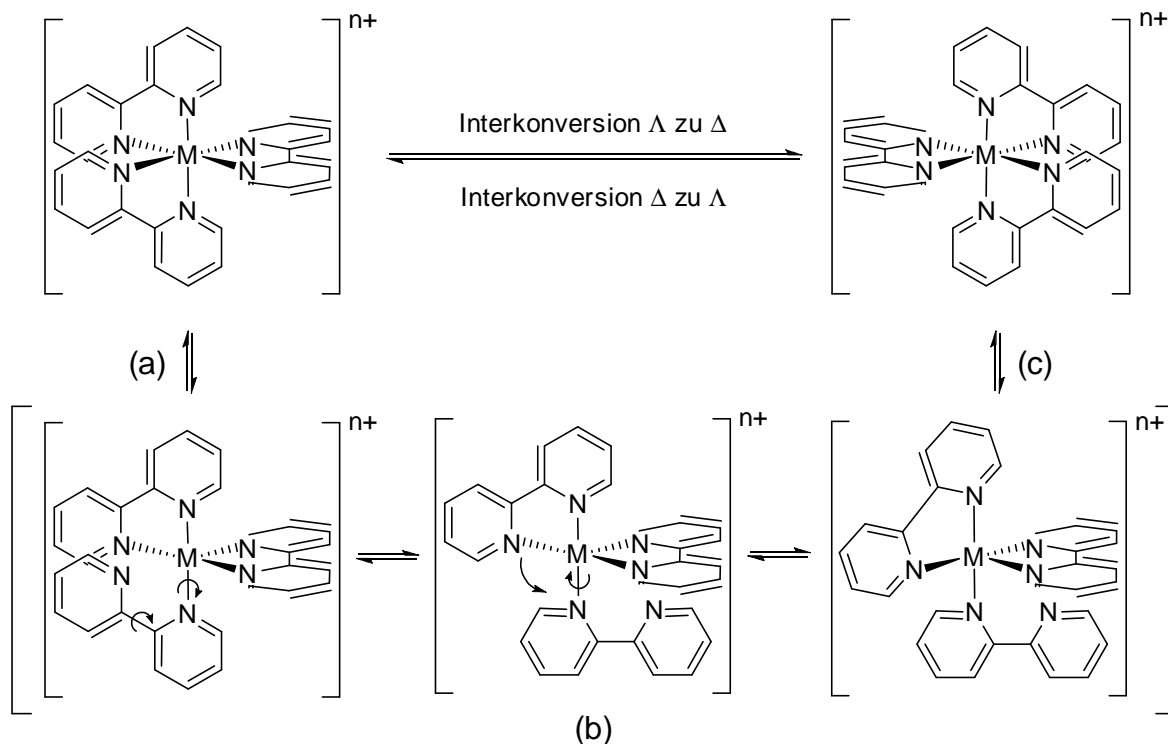


Abbildung 32: Partielle Dissoziationsmechanismus für die Enantiomerisierung von $[M(\text{bipy})_3]^{n+}$ -Komplexen: (a) Partielle Dissoziation eines Bipyridylliganden wobei nur ein Stickstoffatom vom Metallzentrum dissoziiert, (b) Rotation der Liganden und (c) Rekoordination von bipy.

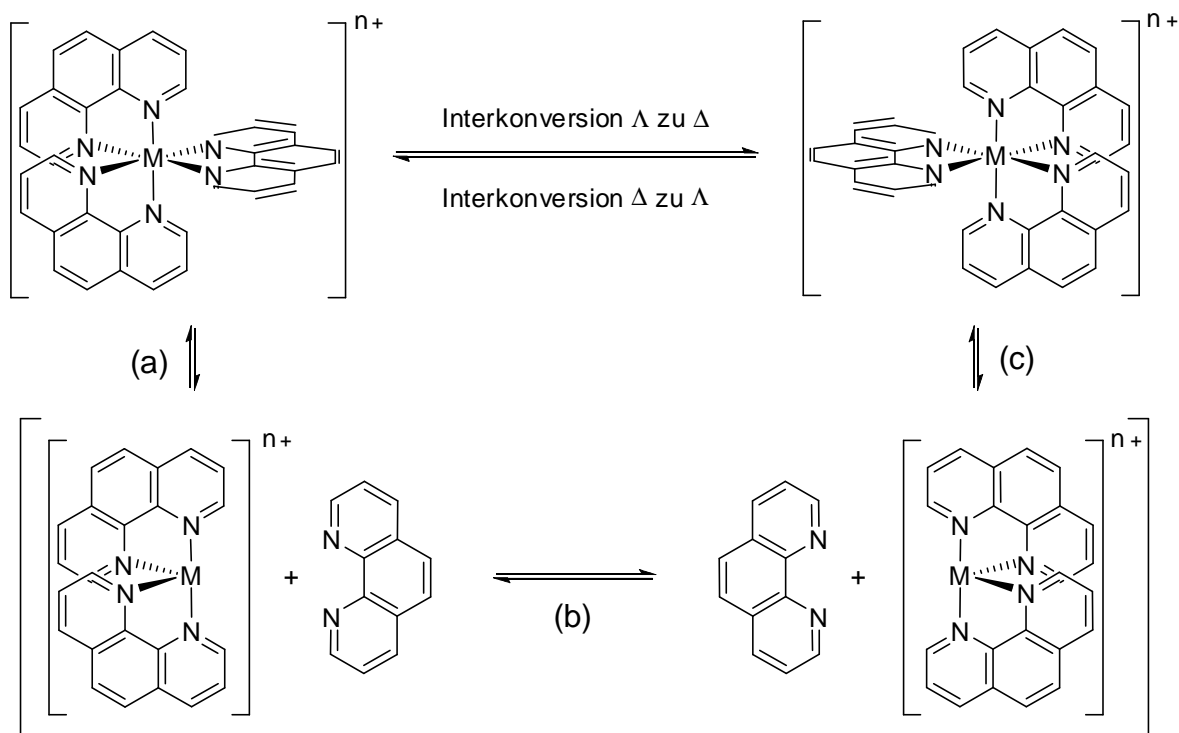


Abbildung 33: Dissoziations-Assoziations-Mechanismus für die Enantiomerisierung von $[M(\text{phen})_3]^{n+}$ -Komplexen: (a) Dissoziation eines Phenanthrolinliganden vom Metallzentrum und Verlassen der Komplexsphäre, (b) Umlagerung der gebundenen Liganden und (c) Rekoordination von phen.

4.2.5. On-column Reaktionskapillarelektrophorese eines Ni(II)-Salzes mit Phenanthrolin

Die Enantiomere des Tris(1,10-Phenanthrolin)-Nickel(II)-Komplexes ließen sich mittels der DMEKC zwar trennen, zeigten jedoch auch bei höherer Temperatur keine Interkonversion (Kapitel 4.2.2). Derart stabile chirale Komplexe stellen hervorragende Zielmoleküle für enantioselektive Synthesen dar und können für die Untersuchung solcher Prozesse herangezogen werden. Bei der Reaktion von Phenanthrolin und Ni(II)-Ionen in chiraler Umgebung kann daher unter Umständen die bevorzugte Bildung eines Stereoisomers beobachtet werden.

Die ocRCE integriert Reaktion und Analyse in einem chromatographischen Mikroreaktor. Mit dieser Methode können enantioselektive Synthesen durchgeführt werden, wenn die Reaktanden während ihrer Verweilzeit in der Kapillare zur Reaktion gebracht und dem Puffer chirale Selektoren zugesetzt werden. Die entstandenen Produkte können direkt detektiert sowie quantifiziert und aus den Peakflächen Enantiomerenüberschüsse (ee) berechnet werden. Es wurde daher exemplarisch untersucht, ob die Reaktion eines Nickel(II)-Salzes mit Phenanthrolin (Abbildung 34) während eines on-column RCE-Experiments unter Zusatz chiraler Selektoren zum Elektrolyten enantioselektiv unter Ausbildung nur eines Tris(1,10-Phenanthrolin)-Ni(II)-Enantiomers möglich ist.

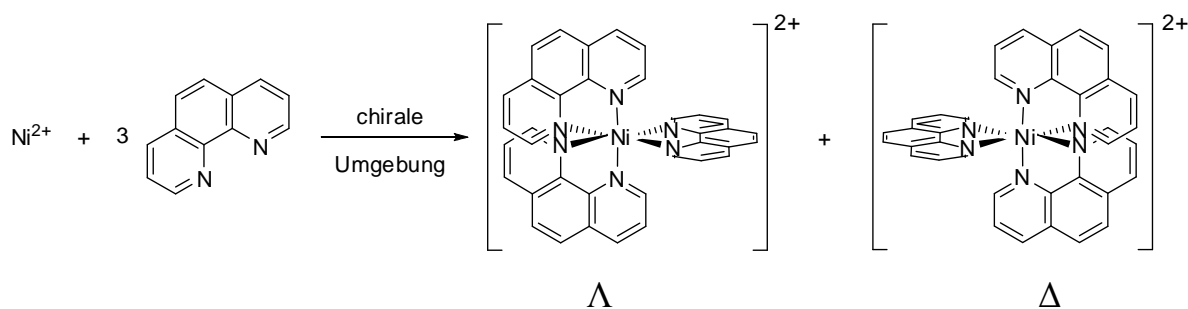


Abbildung 34: Reaktion von Ni²⁺ mit Phenanthrolin zu Tris(1,10-Phenanthrolin)-Nickel(II)-Komplexen.

Nickel(II)-Ionen weisen aufgrund ihrer positiven Ladung und ihrer Größe, im elektrischen Feld eine deutlich größere Mobilität als Phenanthrolin auf. Daher wurde die Ni(II)-Salzlösung in den ocRCE-Messungen erst nach der Injektion von Phenanthrolin und einer einminütigen Wartezeit auf die Kapillare gegeben. Die Reaktion erfolgte in einem 50 mM Natriumdihydrogenphosphat/Zitronensäure Puffer (Puffer C) bei einem pH-Wert von 4.0 unter Zusatz von 10 mg mL⁻¹ HS-β-CD als Selektor.

Im Elektropherogramm konnte die Bildung beider Tris(1,10-Phenanthrolin)-Nickel(II)-Enantiomere beobachtet werden (Abbildung 35). Darüber hinaus wurden nicht umgesetztes Phenanthrolin bei $t_R = 8.15$ min sowie zwei weitere Peaks detektiert, die vermutlich durch die Wechselwirkung der Komplexe mit Zitronensäure zustande kommen (siehe Kapitel 4.2.1). Nicht umgesetztes Ni^{2+} -Salz wurde nicht beobachtet, da es mit dem an das CE-System angeschlossenen Diodenarraydetektor aufgrund seiner UV-Inaktivität nicht detektiert werden konnte.

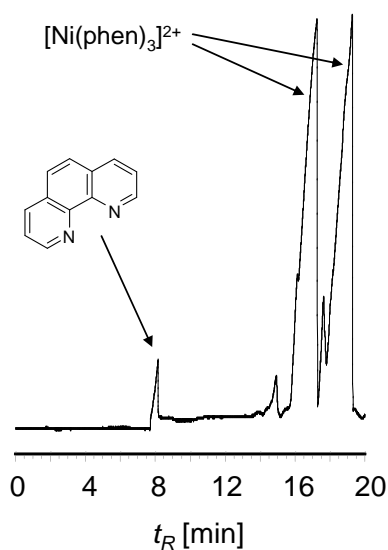


Abbildung 35: Elektropherogramm des ocRCE-Experiments der Reaktion von Ni^{2+} mit Phenanthrolin.

Enantioselektive Synthesen zeichnen sich dadurch aus, dass die Umsetzung bevorzugt oder im Idealfall ausschließlich zu einem der möglichen Enantiomere erfolgt. Es werden daher im Allgemeinen bei diesen Reaktionen große Überschüsse eines Enantiomers beobachtet ($ee > 90\%$). Für die on-column RCE-Reaktion von Ni^{2+} mit Phenanthrolin, kann der Enantiomerenüberschuss direkt aus den Peakflächen der gebildeten Komplexe A_A und A_B gemäß Gleichung 21 berechnet werden.

$$ee(\%) = \left| \frac{A_A - A_B}{A_A + A_B} \right| \cdot 100 \quad (21)$$

Das Verhältnis der Peakflächen der Produktenantiomere von $[\text{Ni}(\text{phen})_3]^{2+}$ in Abbildung 35 betrug 161:170 – dies entspricht einem Enantiomerenüberschuss von 2,7 % ee. Von einer enantioselektiven Synthese kann daher nicht gesprochen werden. Obwohl sich die Nickelkomplexe durch Zusatz des HS- β -Cyclodextrins zum Puffer effektiv trennen lassen, scheint der Zusatz eines chiralen Selektors unter diesen Messbedingungen keinen Einfluss auf die bevorzugte Bildung eines Enantiomers zu haben.

4.3. Zusammenfassung

Wie die vorliegenden Ergebnisse zeigen, hat sich die dynamische mizellare elektrokinetische Chromatographie als außerordentlich effektive Methode für die Untersuchung stereolabiler Verbindungen erwiesen, da kinetische und mechanistische Studien für eine Vielzahl interkonvertierender Tris(α -Diimin)-Übergangsmetallkomplexe durchgeführt werden können. Die Bestimmung von Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten mit der Unified Equation und die Berechnung von Aktivierungsparametern ermöglichen ein besseres Verständnis der zugrunde liegenden Reaktionsmechanismen der Enantiomerisierung von Tris(1,10-Phenanthrolin)- und Tris(2,2'-Bipyridyl)-ÜM-Komplexen. Während die jeweiligen Reaktionsbedingungen, beispielsweise die Verwendung verschiedener Messpuffer, die Interkonversion der Komplexe kaum beeinflussen, ist der Einfluss der Komplexe selbst auf die Interkonversion erheblich. Abhängig vom Liganden konnte aufgrund der Aktivierungsentropien ein vollständig dissoziativer Mechanismus ($\Delta S^\ddagger > 0$) für die Phenanthrolin- bzw. ein partiell dissoziativer Mechanismus ($\Delta S^\ddagger < 0$) für die Bipyridyl-Komplexe vorgeschlagen werden. Bemerkenswert ist die Stereostabilität der Tris(1,10-Phenanthrolin)-Nickel(II)-Komplexe, auch bei höheren Temperaturen, so dass sie ein vielversprechendes Zielmolekül für die stereoselektive Katalyse darstellen. In einem ocRCE-Experiment konnte jedoch gezeigt werden, dass unter diesen Bedingungen keine enantioselektive Komplexbildung stattfand.

Kapitel 5

On-column Hydrierung ungesättigter Verbindungen über hoch aktiven Palladiumnanopartikeln

5. On-column Hydrierung ungesättigter Verbindungen über hoch aktiven Palladiumnanopartikeln

5.1. Einleitung

5.1.1. Katalyse

Katalyse ist eine Schlüsseltechnologie für chemische Umsetzungen und ermöglicht die effiziente, wirtschaftliche und umweltfreundliche Umwandlung von Ausgangsmaterialien in nützlichere und wertvollere Stoffe. Tatsächlich werden etwa 75 % aller industriellen Synthesen und nahezu alle biologischen Reaktionen unter Zuhilfenahme von Katalysatoren durchgeführt.^[214, 215] Für eine wirtschaftliche Verwendung von Ressourcen müssen die Katalysatoren nach der Verwendung zurückgewonnen und wieder verwendet werden. Zudem sollte die Verunreinigung der Produkte mit Metallspuren des Katalysators minimal sein.

Um dies zu erreichen und die Vorteile homogen sowie heterogen katalysierter Prozesse zu vereinigen – hohe Aktivität und Selektivität einerseits, Abtrennung und Weiterverwendung andererseits – werden homogene Katalysatoren auf geeigneten Trägermaterialien immobilisiert.^[216-226] Bei der Immobilisierung können verschiedene Strategien verfolgt werden, wobei jede Methode ihre Vor- und Nachteile mit sich bringt.^[226] Neben der kovalente Anbindung des Katalysators an den Träger oder der direkten Synthese des Liganden auf dem Trägermaterial werden auch nicht-kovalente Interaktionen wie Adsorption, elektrostatische Wechselwirkung sowie Einschlussverfahren beschrieben. Während der Immobilisierung können einige Effekte^[226] auftreten, die die Leistung des Katalysators hemmen können, z.B. unerwünschte Wechselwirkungen zwischen Träger und Katalysator, eingeschränkter Zugang zum katalytisch aktiven Zentrum oder Beeinträchtigung der optimalen Katalysatorgeometrie.

Die Entdeckung neuer aktiver, selektiver und stabiler Katalysatoren sowie die Erweiterung synthetischer Techniken und Methoden in der chemischen Forschung und Industrie sind von erheblicher Bedeutung, um chemische Prozesse nachhaltig durchzuführen und das Spektrum bestehender chemischer Synthesemethoden zu erweitern. Die Voraussetzung für ein zielgerichtetes Design von Katalysatoren ist das Verständnis, wie die Kinetik durch Strukturparameter im Katalysemechanismus bestimmt wird.^[227] Dies erfordert umfangreiche Messungen kinetischer Parameter für eine möglichst breite Vielfalt an Substraten. Anhand der erhaltenen Daten können geschwindigkeitsbestimmende Elementarschritte identifiziert

werden, um auf molekularer Ebene Einblicke in den Reaktionsmechanismus zu gewinnen und Modelle (weiter) zu entwickeln.

Daher ist die Untersuchung umfassender Katalysator- und Substratbibliotheken mit Hochdurchsatz-Screening-Verfahren von großer Bedeutung. Hierfür stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. Zu nennen sind die Infrarotthermographie,^[228-236] die Massenspektrometrie,^[237-241] die UV/Vis-Spektroskopie,^[242-247] die optische Detektion mit reaktiven Farbstoffen,^[248, 249] auf Fluoreszenz basierende Untersuchungsmethoden,^[250-254] die resonanzverstärkte Multiphotonen-Ionisation,^[255, 256] die nicht-dispersive Infrarot-Analyse,^[257] Schallwellensensoren,^[258] der Circular dichroismus für das Screening enantioselektiver Katalysatoren,^[259] mikrofluidische Systeme^[19-21, 23, 33-36, 260-265] sowie chromatographische Techniken.^[266] Letztere haben den Vorteil, dass auch komplexe Reaktionsmischungen getrennt und quantifiziert werden können ohne mit Markermolekülen versehen zu werden, um die Detektierbarkeit der Moleküle mit einem speziellen Detektor zu ermöglichen. Die verschiedenen Ansätze für die chromatographische Analyse von Reaktionsgemischen (offline, online) sowie die Integration von Reaktion und Analytik in einem chromatographischen Reaktor (ocRGC und ocRCE) sind bereits ausführlich diskutiert worden (Kapitel 1.2).

Mehrphasige katalytische Systeme (gasförmig-flüssig-fest), sind typischerweise schwer zu charakterisieren, da die Wechselwirkung der Reaktanden mit dem Katalysator durch den Massentransfer der verschiedenen Phasen kontrolliert wird. Die beobachteten Geschwindigkeitskonstanten setzen sich daher oftmals aus den Geschwindigkeiten der eigentlichen Reaktion und den Geschwindigkeiten der Diffusionsprozesse zusammen. Um die Diffusion zu minimieren muss die Grenzfläche zwischen den Phasen vergrößert werden. Mikrostrukturierte Reaktionssysteme zeichnen sich typischerweise durch eine hohe Phasengrenzfläche pro Volumen aus, die nur vom Radius der röhrenförmigen Reaktionskanäle abhängt ($a_{\text{inter}} = 2/r$). Mikrokapillaren mit Innendurchmessern zwischen 250 und 100 μm weisen Phasengrenzflächen von 16000 bis 40000 m^2/m^3 auf. Daher wurden mikrofluidische Systeme für parallelisierte kinetische Messung von Katalysatoren entwickelt, welche die chemische Synthese und die Analytik auf einem Chip kombinieren und sich durch einen extrem geringen Materialverbrauch^[261] auszeichnen.^[18-24]

5.1.2. On-column Reaktionsgaschromatographie

Wird ein Katalysator in einer chromatographischen Trennsäule immobilisiert, können katalysierte Reaktionen mit der on-column Reaktionschromatographie untersucht werden. Diese Integration von Katalyse und chromatographischer Trennung wurde erstmals von Tamaru^[267] im Jahre 1959 berichtet. Palladium wurde auf Celite 545 aufgebracht und als Packungsmaterial in der Gaschromatographie eingesetzt um die Zersetzung von Ameisensäure bei der Verwendung verschiedener Trägergase zu untersuchen. Basset und Habgood^[64] untersuchten die katalytische Isomerisierung von Cyclopropan über einem Linde Molekularsieb 13X. Gil-Av und Herzberg-Minzly^[268] studierten die Geschwindigkeit von Diels-Alder-Reaktionen, indem sie verschiedene Diene auf eine gaschromatographische Säule injizierten, die chloriertes Maleinsäureanhydrid als Dienophil in der stationären Phase enthielt. Langer et al.^[269-271] und Marriott et al.^[272] führten Untersuchungen zur Kinetik der Dissoziation von Dicyclopentadien in einem gaschromatographischen Reaktor durch. Marriott et al. verglichen darüber hinaus gepackte Säulen mit Kapillarsäulen und fanden, dass Säulen mit einem großen Durchmesser effizienter als belegte Kapillaren sind. Dagegen spricht, dass im Allgemeinen große Oberflächen pro Volumeneinheit für katalysierte Reaktionen nötig sind (s.o.). Da die Reaktionen bei einem kontinuierlichen Durchfluss untersucht wurden, ist die Auswertung kinetischer Daten unter diesen Umständen sehr komplex. Deswegen entwickelten Phillips et al.^[273] *stopped-flow*-Techniken, um Reaktionen mit verschiedenen möglichen Reaktionspfaden zu untersuchen und die Produkte zu identifizieren. Darüber hinaus setzten sie die Verdrängungschromatographie mit einem beweglichen Ofen ein, um die Bildung von Propadien aus dem thermodynamisch stabileren und daher bevorzugt gebildeten Propin jenseits des Gleichgewichts über aktiviertem Aluminiumoxid als Katalysator zu untersuchen.^[274]

Trapp et al.^[275] stellten ein Konzept vor, das Synthese und Analyse durch die Kombination katalytischer Aktivität und Trennselektivität in der polymeren stationären Phase einer gaschromatographischen Trennkapillare vereinigt. Das Polysiloxan der stationären Phase wurde dabei sowohl für die Immobilisierung von Katalysatoren als auch die Trennung der Produkte verwendet. Diese Strategie erlaubt es Selektivitäten und Kontaktzeiten der Analyten mit dem Katalysator vorzugeben und aus den gemessenen Chromatogrammen Reaktionskinetiken für eine Vielzahl von Reaktionen zu ermitteln. Die Methode wurde auf die Hydrierung über aktiven Metallnanopartikeln (Gegenstand der vorliegenden Arbeit) sowie die Ringschlussmetathese (RCM) über verschiedenen Grubbs-Katalysatoren angewendet.

In den Untersuchungen der RCM-Reaktionen wurde eine 10 m lange Kapillare (250 μm I.D.) mit dem Grubbs-Katalysator der zweiten Generation belegt, der in einer Polysiloxanmatrix gelöst war (Abbildung 36).^[275] Eine Substratbibliothek, bestehend aus 12 Substraten, wurde auf die katalytisch aktive Kapillare injiziert und aus den beobachteten Elutionsprofilen, die sich durch die charakteristische Ausbildung eines Plateaus zwischen den Reaktionsprodukten und den jeweiligen Edukten auszeichneten, wurden durch Anwendung der Unified Equation^[85] Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten und Aktivierungsparameter berechnet. Der Katalysator zeichnete sich durch eine außerordentliche Aktivität in einen großen Temperaturbereich aus. Auch bei Temperaturen von 150 $^{\circ}\text{C}$ wurde kein Ausbluten des Katalysators oder etwaiger Zersetzungsprodukte beobachtet.

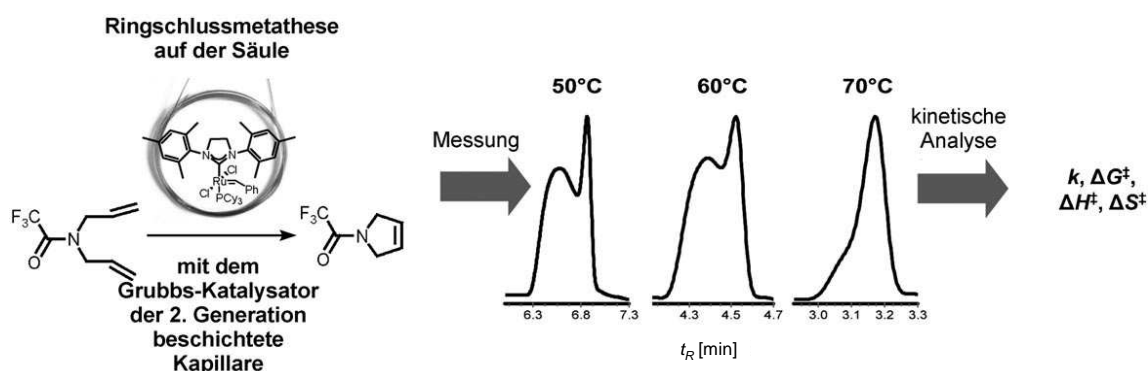


Abbildung 36: On-column RCM über dem Grubbs-Katalysator der zweiten Generation.

In einer weiterführenden Studie^[276, 277] wurde eine aus verschiedenen Grubbs-Katalysatoren bestehende Katalysatorbibliothek immobilisiert, um mechanistische Details der RCM von *N,N*-Diallyltrifluoracetamid wie Aktivierung, Deaktivierung und Zersetzung der Ruthenium-Katalysatoren besser zu verstehen. Niedrige Aktivierungsenthalpien ΔH^{\ddagger} und negative Aktivierungsentropien ΔS^{\ddagger} indizierten einen gespannten Übergangszustand. Nichtlineare Eyring-Plots für den Grubbs-Katalysator der zweiten Generation waren auf die starke Wechselwirkung des Substrats mit dem Präkatalysator bis zur vollständigen Aktivierung bzw. zum Erreichen des Gleichgewichts zurückzuführen. Für Grubbs-Hoveyda-Katalysatoren wurde aufgrund der kinetischen Daten ein *Release-Return*-Mechanismus vorgeschlagen. Mit der Bestimmung der Diffusionskoeffizienten von *N,N*-Diallyltrifluoracetamid in der mobilen und stationären Phase konnte gezeigt werden, dass die Reaktionen nicht durch Diffusionsprozesse gehindert wurden.

5.1.3. Hydrierung über aktiven Metallnanopartikeln

Die Hydrierung ungesättigter Verbindungen gehört zu den bedeutendsten katalysierten Reaktionen in der synthetischen und präparativen Chemie.^[278] Neben homogen katalysierten, vorwiegend enantioselektiven Hydrierungen (z.B. Nobelpreis für Chemie 2001 für Knowles^[279] und Noyori^[280]), werden diese Reaktionen vor allem heterogen katalysiert an der Oberfläche von Edelmetallkatalysatoren (z.B. Palladium, Platin, Raney-Nickel) durchgeführt. Eine einstufige Addition von molekularem Wasserstoff an C=C-Doppelbindungen ist nicht bekannt – vielmehr verlaufen die Hydrierungen über einem mehrstufigen Reaktionsweg nach einem Langmuir-Hinshelwood-Mechanismus.^[281-285] Für über metallischem Pd katalysierte Hydrierungen von Alken **A** zu Alkan **E** ist der Mechanismus in Abbildung 37 schematisch dargestellt.

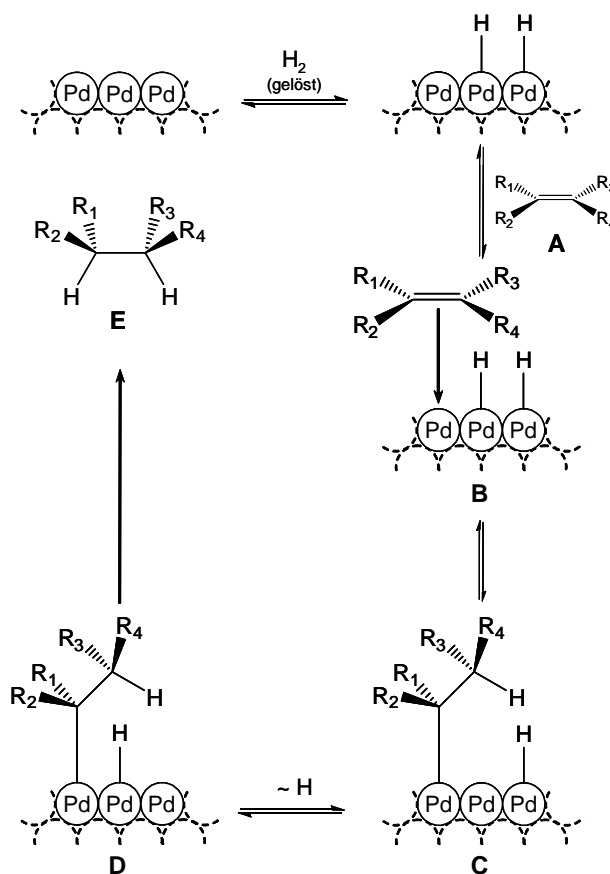


Abbildung 37: Mechanismus der heterogen katalysierten Hydrierung von C=C-Doppelbindungen über elementarem Pd.

Zunächst wird ein Wasserstoffmolekül über eine Pd-H-Bindung kovalent an die Katalysatoroberfläche gebunden. Das Olefin **A** bindet dagegen reversibel als π -Komplex an die Oberfläche. Befindet es sich in Nachbarschaft einer Pd-H-Bindung, erfolgt eine *cis*-selektive Hydropalladierung des Olefinmoleküls. An das eine Ende der Doppelbindung bindet sich dabei das Pd-Atom, an das andere Ende das in der Vorstufe **B** am benachbarten

Pd-Atom gebundene Wasserstoffatom (Stereoformel **C**). Die Übertragung des zweiten Wasserstoffatoms kann erst stattfinden, wenn dieses an ein Oberflächen-Pd-Atom gewandert ist, das der gerade gebildeten Pd-C-Bindung benachbart ist. Dieser Prozess geschieht durch Oberflächendiffusion ($\sim H$) eines schon andernorts an die Metalloberfläche gebundenen Wasserstoffatoms. Aus der dann gebildeten Zwischenstufe **D** wird das Alkan **A** irreversibel als Produkt der Hydrierung abgespalten. Aus diesem Mechanismus wird ersichtlich, dass diese Reaktionen meist mit einer hohen Stereoselektivität zum *cis*-Produkt verlaufen. Aus sterischen Gründen kann eine Abstufung der Reaktionsgeschwindigkeit in der folgenden Reihenfolge beobachtet werden: monosubstituierte Alkene reagieren schneller mit Wasserstoff als 1,1-substituierte, *cis*-disubstituierte, *trans*-disubstituierte, trisubstituierte und schließlich tetrasubstituierte Olefine.

Die Reaktion verläuft umso schneller, je größer die Oberfläche des katalytisch aktiven Metalls ist. Es wird deshalb fein verteilt auf einen geeigneten Träger mit hoher spezifischer Oberfläche wie Aktivkohle oder Aluminiumoxid aufgebracht. Dennoch ist lediglich ein kleiner Teil der gesamten Metalloberfläche katalytisch aktiv, da einzelne Kristallebenen stärker aktiv sind als andere, je nachdem wie die Metallatomabstände den Bindungsabständen der Alken- bzw. Wasserstoffmoleküle entsprechen.^[286]

5.1.4. Palladiumnanopartikel

In den letzten Jahren sind stabilisierte Metallnanopartikel aufgrund ihrer hohen Aktivität unter milden Reaktionsbedingungen vermehrt in den Fokus geraten.^[34, 287] Sie weisen angesichts des großen Verhältnisses ihrer Oberfläche zu ihrem Volumen eine außerordentlich hohe katalytische Aktivität auf und werden in einer Vielzahl von Reaktionen als quasi-homogene Katalysatoren eingesetzt. *In situ* Studien metallischer NP haben gezeigt, dass sich der Zustand des Materials im Verlauf der Reaktion ändern kann und von den Reaktionsbedingungen abhängig ist.^[286, 288-291] Da die Eigenschaften der NP wie die Partikelgröße und ihre Morphologie mit der katalytischen Aktivität korrelieren, müssen dynamische Umwandlungsprozesse in die Beschreibung der katalytischer Eigenschaften mit einfließen.

Eine generelle Herausforderung beim Arbeiten mit Nanopartikeln ist, ihre Größe bei der Herstellung gezielt zu steuern, eine möglichst enge Partikelgrößenverteilung zu erzielen und die Agglomeration zu größeren Partikeln zu verhindern. Um dies zu erreichen, werden häufig oberflächenaktive Stoffe wie quarternäre Tetraalkylammoniumsalze verwendet, die eine monomolekulare Schicht auf der Oberfläche der NP ausbilden und diese sowohl durch

sterische als auch elektrostatische Effekte stabilisieren.^[292-294] Zur Stabilisierung von NP sind darüber hinaus auch Polymere, Tenside, Dendrimere, diverse Liganden, sowie ionische Flüssigkeiten beschrieben worden.^[287] Neben der Stabilisierung der NP, reguliert die Schutzhülle auch die Wechselwirkung des Substrates mit den NP und wirkt sich daher meist störend auf deren katalytische Aktivität aus.

Aufgrund ihrer hoher Aktivität unter milden Reaktionsbedingungen^[287, 295] kommen Pd-NP in katalytischen Prozessen häufig zum Einsatz. Sie sind in der Lage eine Anzahl von Reaktionen wie beispielsweise Aminierungen,^[296] Oxidationen^[297, 298], C-C-Kupplungen^[299-303] und Hydrierungen^[34, 304, 305] zu katalysieren.

Chauhan et al.^[304] stellten Pd-NP aus Pd(OAc)₂ in einem Polymethylhydrosiloxan her, das nicht nur als Reduktionsmittel sondern auch als stabilisierende Schutzhülle für die Nanopartikel diene. Dieses System wurde in chemoselektiven Hydrierungsreaktionen funktionalisierter konjugierter Alkene unter milden Bedingungen (Raumtemperatur) eingesetzt. Die Ausbeuten betragen mehr als 85 % (Abbildung 38). Palladium konnte in diesem System als katalytisch aktive Spezies identifiziert und mehrfach verwendet werden.

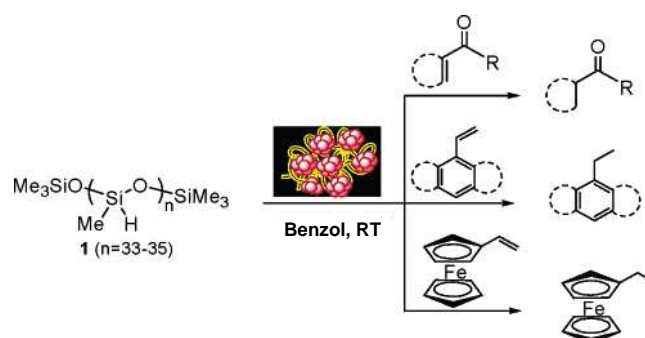


Abbildung 38: Polysiloxan-stabilisierte Pd-NP – katalysierte Reduktion von Alkenen.^[304]

Kobayashi et al.^[34] führten katalytische Hydrierungen über Pd-NP in einem dreiphasigen mikrostrukturiertem Reaktor durch (Abbildung 39). Die NP wurden an den Wänden der Mikrokanäle immobilisiert und wiesen große Phasengrenzflächen auf. Die Reaktionen erfolgten innerhalb von 2 min in quantitativen Ausbeuten für eine Vielzahl von funktionalisierten Alkenen und Alkinen.

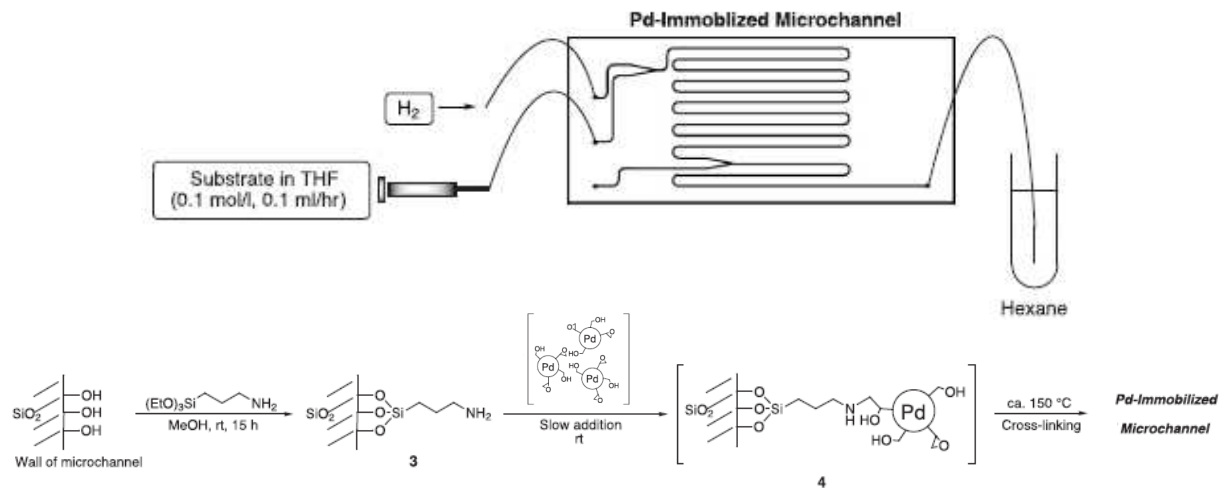


Abbildung 39: Experimenteller Aufbau des Mikroreaktors für die Hydrierung über immobilisierten Pd-NP nach Kobayashi.^[34]

Trotz der großen Anzahl an Publikationen sind weitere Untersuchungen notwendig, um die Abhängigkeit der Umsätze und Reaktionsgeschwindigkeit dieser quasi-homogenen Reaktion von der Struktur der NP, wie Größe und Morphologie, besser zu verstehen.^[305]

5.1.5. Zielsetzung

Die katalytische Hydrierung ungesättigter und funktionalisierter Verbindungen über aktiven Pd-NP soll mit der ocRGC untersucht werden (Abbildung 40). Die NP werden aus Pd(OAc)₂ in einer stabilisierenden Polysiloxanmatrix hergestellt und als ein dünner Film mit einer Filmdicke von nur 250 nm auf fused-silica Kapillaren (250 µm I.D.) aufgebracht. Dadurch wird eine einerseits katalytisch aktive und andererseits zugleich selektive chromatographische stationäre Phase in diesen Mehrphasenreaktionen (gas-flüssig-fest) erhalten. Reaktion und Trennung von Edukten und Produkten werden in diesem chromatographischen Reaktor integriert und simultan durchgeführt. Dadurch können sowohl Geschwindigkeitskonstanten als auch Aktivierungsparameter für die Hydrierung einer Vielzahl von Substraten äußerst effizient bestimmt werden.

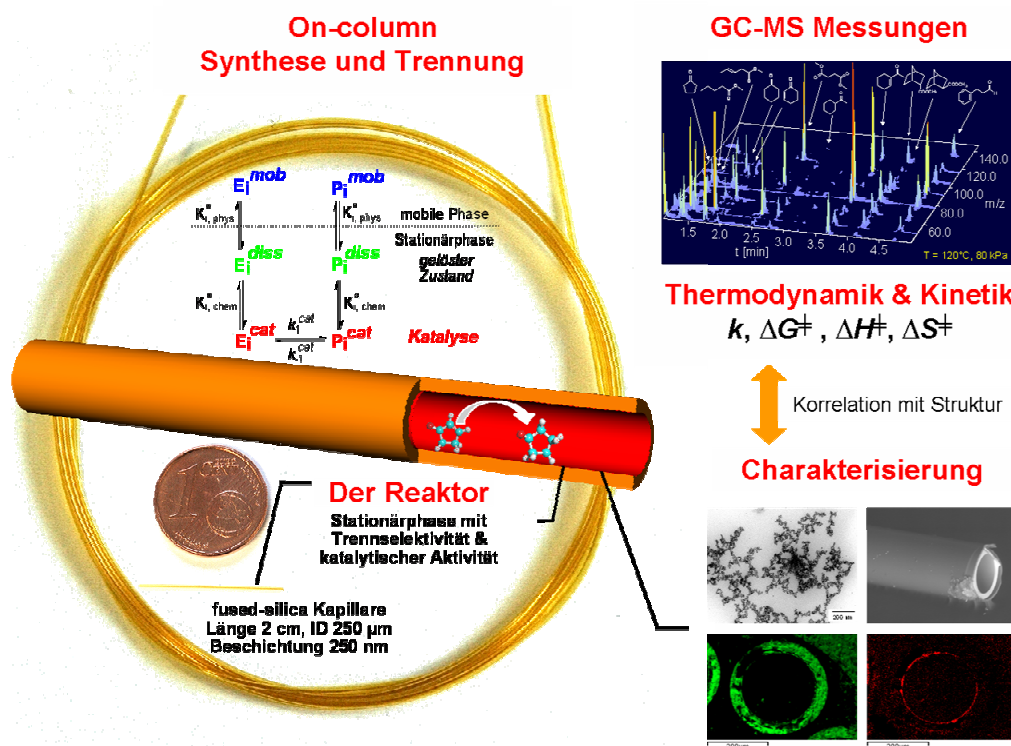


Abbildung 40: Schematische Darstellung der on-column Hydrierung ungesättigter Verbindungen über hoch aktiven Pd-NP, die in einer Polysiloxanmatrix stabilisiert und auf einer fused-silica Kapillare immobilisiert sind, zur Bestimmung thermodynamischer und kinetischer Daten.

In der vorliegenden Untersuchung soll anhand systematischer TEM-Messungen gezeigt werden, dass Größe und Morphologie (kristallin oder amorph) der NP vom Verhältnis der stabilisierenden Polysiloxane, den Immobilisierungsbedingungen der stationären Phase auf der inneren Oberfläche der fused-silica Kapillare und vom Beladungsgrad des

Palladiumprecursors abhängen. Darüber hinaus werden mit dieser katalytisch aktiven Phase Hydrierungen einer Substratbibliothek zwischen 60 °C und 100 °C bei verschiedenen Kontaktzeiten in ocRGC-Experimenten durchgeführt, um Geschwindigkeitskonstanten k_1 zu bestimmen und die Aktivierungsparameter ΔG^\ddagger , ΔH^\ddagger und ΔS^\ddagger zu berechnen. Außerdem können aus diesen Experimenten die Diffusionskoeffizienten der Substrate in der Polysiloxanmatrix bestimmt und Transportlimitierungen aufgrund der Diffusion untersucht werden.

5.2. Ergebnisse und Diskussion

5.2.1. Herstellung von Palladiumnanopartikeln in einer stabilen Polysiloxanmatrix

Um das Wachstum von Nanopartikeln bei der Herstellung gezielt zu steuern und die Agglomeration zu größeren Partikeln zu verhindern, werden die katalytisch aktiven Metallnanopartikel durch eine Schutzhülle stabilisiert. Damit sie mit der ocRGC untersucht werden können, müssen die Eigenschaften der Schutzhülle mit denen einer chromatographischen stationären Phase vereint werden. Lineare Polysiloxane, welche häufig als Lösungsmittel, Tenside oder Schmierstoffe^[306] verwendet werden und eine hervorragenden Stabilität gegenüber thermischer, oxidativer, chemischer und biologischer Beanspruchung aufweisen, finden als Trägermaterialien für NP^[307, 308] sowie als stationäre Phase Verwendung. Sie können durch eine Hydrosilylierungsreaktion einfach und effizient an die innere Kapillarwand angebunden werden. Daher wurden Pd-NP in einer inerten stabilisierenden Polysiloxanmatrix eingebettet, die üblicherweise in gaschromatographischen Kapillaren zum Einsatz kommt. Zunächst wurden ein Methylvinylsiloxan-Dimethylsiloxan Copolymer (MVPS, 4.5 % Si(O)(CH₃)(CH=CH₂)-Gruppen) und ein Hydridomethylsiloxan-Dimethylsiloxan Copolymer^[309] (HMPS, 25.7 % Si(O)(CH₃)H-Gruppen) synthetisiert und für die Herstellung der NP eingesetzt (Abbildung 41).

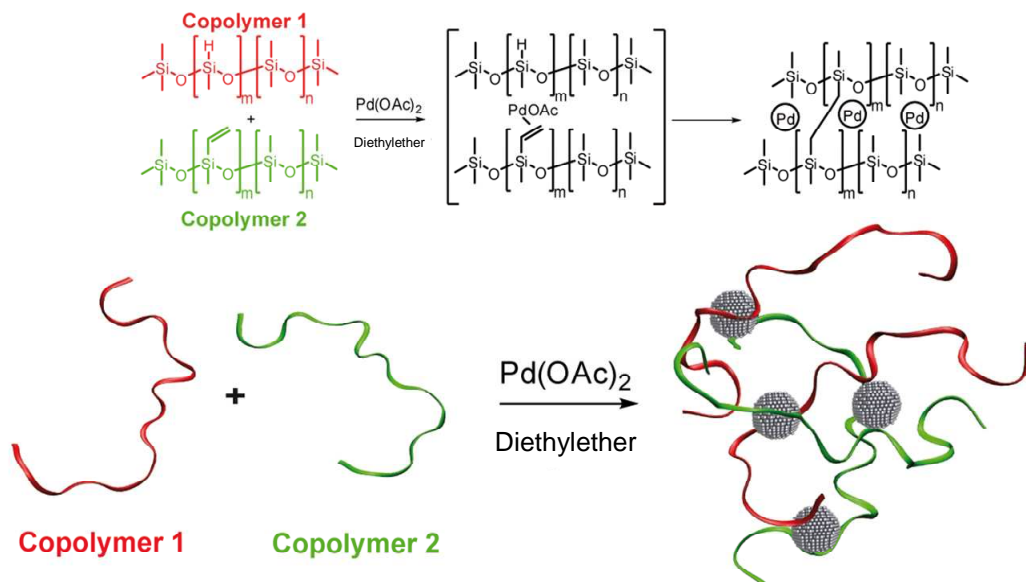


Abbildung 41: Herstellung von Pd-NP, die in einer stabilisierenden Polysiloxan-Matrix eingebettet sind.

Das MVPS wurde zusammen mit $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ in Diethylether gelöst, wobei die Palladiumionen an die Vinylgruppen des Polymers koordinierten. Zu dieser Mischung wurde das HMPS gegeben, welches die Palladium(II)-Ionen zu Pd^0 reduzierte. Im Verlauf dieser Reaktion

bildeten sich die Pd-NP. Neben der Funktion als Reduktionsmittel^[304] diente das HMPS als Reaktant für eine Quervernetzung mit dem MVPS durch eine Pd-katalysierte Hydrosilylierungsreaktion zu einer inerten stabilisierenden Matrix (Abbildung 41). ¹H-NMR Messungen zeigten, dass der Anteil der Si(O)(CH₃)H-Gruppen in dieser reaktiven Mischung von anfänglich 16.1 % auf 2.6 % abnahm. Diese Werte wurden exemplarisch für eine Mischung von 0.1 mg Pd(OAc)₂, 10 mg HMPS und 6 mg MVPS berechnet. Anhand von TEM-Messungen konnte gezeigt werden, dass die Palladiumnanopartikel in dieser Mischung sphärisch sowie kristallin sind und eine homogene Partikelgrößenverteilung von 3.2 ± 0.7 nm aufweisen (Abbildung 42).

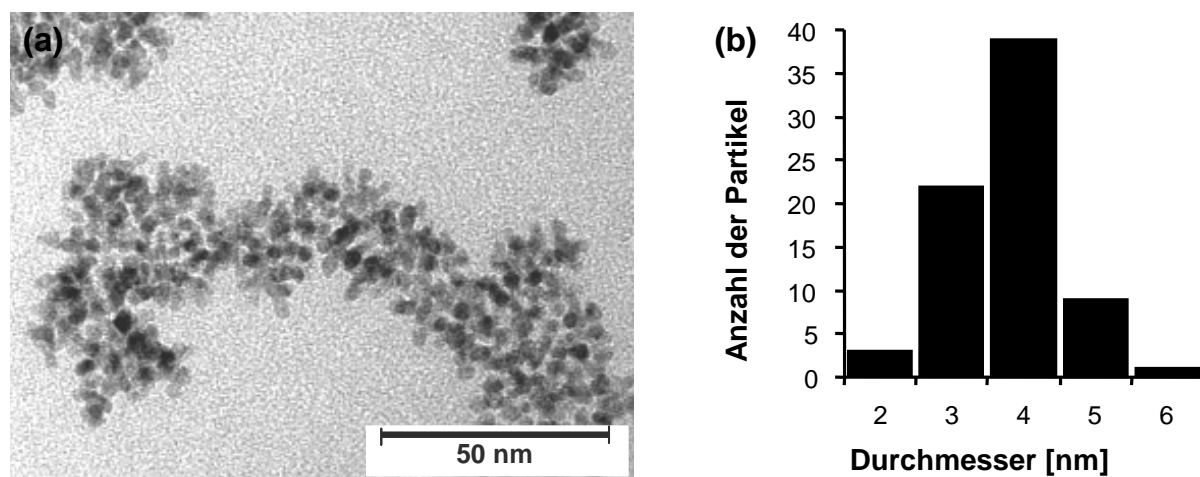


Abbildung 42: (a) TEM-Aufnahme von in einer Polysiloxanmatrix stabilisierten Pd-NP mit einer (b) homogenen Partikelgrößenverteilung von 3.2 ± 0.7 nm.

Sowohl die Partikelgröße als auch die Morphologie der Nanopartikel wurden durch das Verhältnis der stabilisierenden Polysiloxane HMPS: MVPS und die Konzentration des Pd-Prekursors beeinflusst. Darüber hinaus zeigten die TEM-Aufnahmen, dass die Behandlung mit Wasserstoff bei 180 – 200 °C, die der Aktivierung der Partikel diente, zu größeren und amorphen NP führte. Um diese Effekte systematisch zu untersuchen wurden verschiedene Proben der Palladiumnanopartikel-Polysiloxan-Mischung hergestellt, wobei sowohl das Polysiloxanverhältnis als auch die Pd-Konzentration variiert wurden. An diesen Proben wurden vor und nach der Aktivierung in einer Wasserstoffatmosphäre TEM-Messungen vorgenommen.

Einfluss des Polysiloxan-Verhältnisses auf die Partikelgröße und Morphologie

$\text{Pd}(\text{OAc})_2$ koordiniert an die Vinylgruppe des MVPS während das HMPS für die Vernetzung der beiden Copolymere benötigt wird. Durch Kenntnis des Anteils an Vinylgruppen $\text{Si}(\text{O})(\text{CH}_3)(\text{CH}=\text{CH}_2)$ in MVPS (4.5 %) und Hydridogruppen $\text{Si}(\text{O})(\text{CH}_3)\text{H}$ in HMPS (25.7 %) ergibt sich rein rechnerisch eine vollständige Quervernetzung bei einem Verhältnis HMPS:MVPS von etwa 1:6. Da HMPS darüber hinaus auch für die möglichst vollständige Reduktion von Pd^{2+} zu Pd^0 zur Verfügung stehen muss, erhöht sich das Verhältnis – in Abhängigkeit von der jeweiligen Pd-Konzentration – auf mindestens 1:1 bis 1:3. Es wurden Polysiloxanmischungen mit Verhältnissen von HMPS:VMPS = 1:11 bis 11:1 hergestellt, wobei die Konzentration des Pd-Prekursors konstant gehalten wurde (Tabelle 7). In diesen Experimenten wurde der HMPS:MVPS Mischung ein leicht polares Polysiloxan (GE SE 52, Phenylmethylsiloxan-Dimethylsiloxan Copolymer mit 5 % Phenylgruppen) zugesetzt, um die Stabilität der Beschichtung bei der Belegung von fused-silica Kapillaren zu verbessern (Kapitel 5.2.2, Seite 79).

Tabelle 7: Partikelgrößen und Partikelgrößenverteilung in Abhängigkeit vom Polysiloxanverhältnis vor und nach dem Erhitzen in der Wasserstoffatmosphäre. Den Polysiloxanmischungen wurde jeweils 0.3 mg $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ zugesetzt ($1.1 \cdot 10^{-10}$ mol Pd cm^{-1} fused-silica Kapillare).

m_{HMPS} [mg]	m_{MVPS} [mg]	$m_{\text{GE SE 52}}$ [mg]	Verhältnis HMPS : MVPS	Partikelgröße [nm]	
				nach Herstellung	200 °C H_2
18	6	-	3 : 1	3.2 ± 0.7	3.6 ± 1.6
2	22	24	1 : 11	5.5 ± 2.8	11.0 ± 6.2
8	16	24	1 : 2	3.0 ± 1.0	3.6 ± 1.6
12	12	24	1 : 1	3.4 ± 1.1	3.4 ± 1.5
16	8	24	2 : 1	5.4 ± 2.0	5.5 ± 1.8
22	2	24	11 : 1	5.4 ± 2.0	5.9 ± 2.5

TEM-Messungen der hergestellten Mischungen ergaben bei konstanter Pd-Konzentration für fünf ausgewählte Polysiloxanverhältnisse (HMPS:MVPS = 1:11, 1:2, 1:1, 2:1, 11:1) Partikelgrößen von 3.0 ± 1.0 nm bis 5.5 ± 2.8 nm. Die kleinsten Partikel mit einer engen Größenverteilung konnten bei einer Polysiloxanmischung von 1:2 beobachtet werden (Abbildung 43a). Dagegen stiegen die Partikelgrößen und -verteilungen für niedrige und hohe HMPS:MVPS Verhältnisse (1:11 und 11:1) auf mehr als 5 nm an (Tabelle 7).

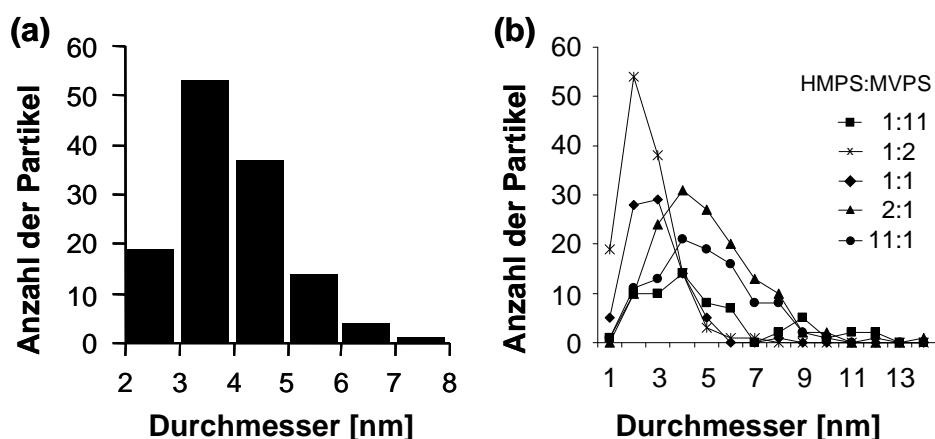


Abbildung 43: Partikelgrößenverteilung von Pd-NP (a) in einem Polysiloxan (HMPS/MVPS 1:2) mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 3.0 ± 1.0 nm und (b) abhängig vom Verhältnis der stabilisierenden Polysiloxane vor dem Erhitzen in einer Wasserstoffatmosphäre.

Die Abhängigkeit der Partikelgröße und Partikelgrößenverteilung vom Verhältnis der beiden Polysiloxane auf den Prozess der Partikelbildung kann mit kinetischen Effekten erklärt werden. Die Reduktion von Pd^{2+} zu Pd^0 ist ein relativ schneller Prozess im Vergleich zur Hydrosilylierung, die zur Quervernetzung und Stabilisierung der Nanopartikel führt. In einem ersten Schritt kann daher die Bildung kleiner Metallcluster angenommen werden, die sich zu NP zusammenlagern. Dieser Prozess läuft diffusionskontrolliert ab. Da das verwendete MVPS weniger viskos ist als das HMPS, sollte die Diffusion der Metallcluster und die damit verbundene Agglomeration in Mischungen mit hohem HMPS-Anteil leichter stattfinden. Tatsächlich wurde in diesen Mischungen eine rasche Verfärbung von farblos zu braunschwarz beobachtet, was einer schnellen Bildung der Pd-NP entspricht. Neben Diffusionsprozessen sind auch die Geschwindigkeit sowie der Grad der Quervernetzung der beiden Polysiloxane entscheidend für die Agglomeration und damit die Größe der NP. Bei sehr hohen bzw. niedrigen HMPS: MVPS-Verhältnissen (unvollständige Quervernetzung, siehe Rechnung oben) werden daher größere Partikel (5.5 ± 2.8 nm für 1:11 und 5.4 ± 2.0 nm für 11:1) beobachtet (Tabelle 7). Andererseits nimmt mit steigender Quervernetzung die Viskosität im System zu, wodurch die Diffusion der Partikel abnimmt.

Durch die Zugabe von GE SE 52 zu der Polysiloxanmischung wird der Polymerfilm in der Kapillare zusätzlich stabilisiert. Dies führte jedoch bei vergleichbaren HMPS: MVPS-Verhältnissen (ohne GE SE 52) zu deutlich größeren NP, da das dreidimensional verbundene Netzwerk aus HMPS und MVPS durch den Zusatz von GE SE 52 verdünnt wurde und die Agglomeration der NP leichter stattfand.

Aktivierung

Vor dem Einsatz in on-column Experimenten wurden die belegten Kapillaren in einem leichten Wasserstoffstrom mit einer Heizrate von 0.5 K min^{-1} auf 200 °C erhitzt. Während dieses Prozesses erfolgte einerseits die Aktivierung der NP sowie andererseits die dauerhafte Fixierung der aufgetragenen Polysiloxane in der fused-silica Kapillare durch die Reaktion noch vorhandener Hydridosiloxangruppen mit den Silanolgruppen an der inneren Kapillaroberfläche. Um den Effekt dieser Bedingungen auf die Größe und Morphologie der Nanopartikel zu untersuchen, wurden die viskosen braun-grauen Polysiloxanmischungen auf Kupfernetze für TEM-Analysen aufgebracht und mit Wasserstoff bei 200 °C behandelt. Es wurden amorphe Nanopartikel^[310] gefunden, deren Durchmesser sich etwas vergrößert hatte (Abbildung 44, Tabelle 7 (Seite 76)). Sehr hohe und sehr niedrige HMPS:MVPS-Verhältnisse sowie hohe $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ -Konzentrationen führten zu einer deutlichen Agglomeration der Partikel mit einer breiten Größenverteilung von bis zu $11.0 \pm 6.2 \text{ nm}$ (Tabelle 7). Der Anstieg der Partikeldurchmesser kann der Bildung von Palladiumhydrid während der Behandlung mit Wasserstoff sowie Agglomerationsprozessen bei dieser Temperatur zugeschrieben werden.

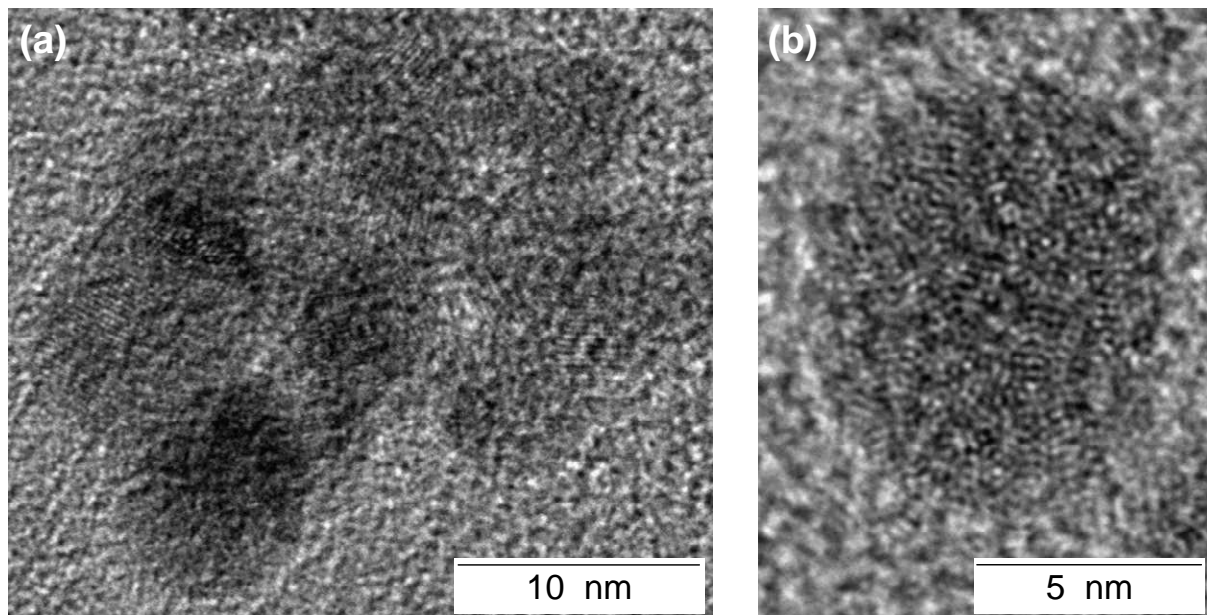


Abbildung 44: TEM-Aufnahmen von (a) kristallinen Pd-NP direkt nach der Herstellung und (b) amorphen Pd-NP nach Erhitzen bei 200 °C im Wasserstoffstrom.

5.2.2. Katalytische Hydrierung mit der on-column Reaktionsgaschromatographie

Belegung von fused-silica Kapillaren mit Palladiumnanopartikeln

Um kinetische Untersuchungen zur katalytischen Hydrierung über hoch aktiven Pd-NP durchzuführen, wurden die hergestellten Polysiloxanlösungen mit den eingebetteten und stabilisierten NP auf die Innenwände von fused-silica Kapillaren (250 μm I.D., 250 nm Filmdicke) aufgetragen. Hierbei kam die statische Methode nach Grob zum Einsatz.^[311] Anhand von rasterelektronenmikroskopischen (REM) Aufnahmen und Pd- sowie Si-Mustern im EDX konnte gezeigt werden, dass die Pd-Polysiloxan-Mischung dauerhaft in den Kapillaren fixiert worden war (Abbildung 45). Die Pd-Beladung war mit $0.73 \cdot 10^{-12} \text{ mol cm}^{-1}$ Kapillare extrem gering; dieser Wert entspricht etwa 27 Milliarden NP bestehend aus 1600 bis 1700 Pd-Atomen pro cm Kapillare.

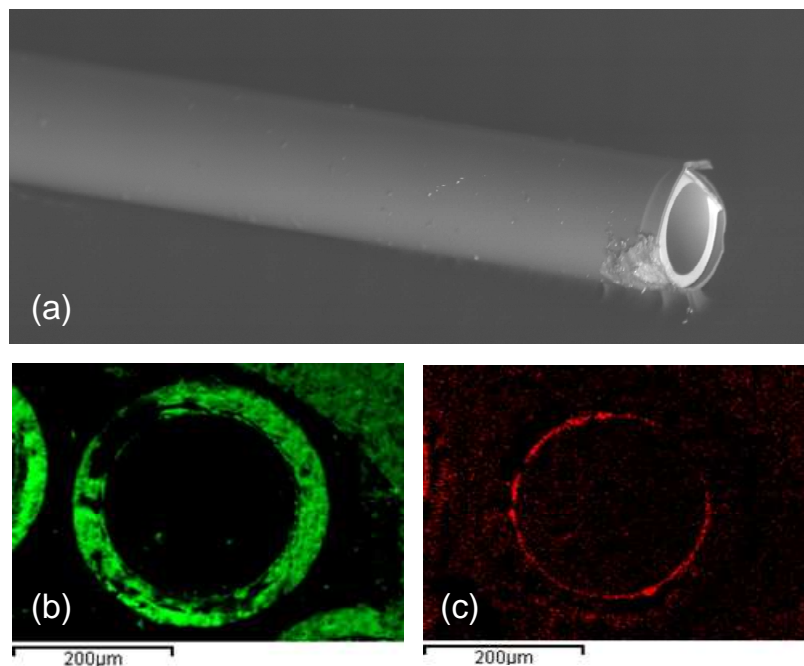


Abbildung 45: (a) REM-Aufnahme der fused-silica Kapillare. (b) Si- und (c) Pd-Muster im EDX zeigen die Kapillare mit der Palladium-Polysiloxan-Beschichtung (250 μm I.D., 0.25 μm Filmdicke).

Darüber hinaus wurde erkannt, dass Polymere mit einem Überschuss an MVPS weniger stabile Filme ergaben. Dies konnte anhand der Ausbildung kleiner Tröpfchen in der Kapillare während des Belegungsprozesses festgestellt werden und wurde als ein Hinweis auf die Zerstörung des Polymerfilms gedeutet. Um die katalytischen Eigenschaften der Pd-NP bei den verschiedenen Polysiloxanverhältnissen (HMPS: MVPS) dennoch vergleichen zu können wurde der Mischung ein leicht polares Polysiloxan GE SE 52 zur Stabilisierung der Beschichtung zugesetzt.

On-column Reaktionschromatographie

Die katalytisch aktive Kapillare wurde für die Katalyseexperimente zwischen eine Vortrennsäule (1 m, HP-5) und eine Trennsäule (25 m, HP-5) gekoppelt. Während die Vortrennsäule zum einen zur thermischen Äquilibrierung der Reaktanden vor dem Eintritt in die Reaktorkapillare und zum anderen zur Auftrennung der Reaktanden der injizierten Substratbibliothek diente, separierte die Trennsäule die entstandenen Edukte und Produkte. Auf diese Weise konnten konkurrierende Reaktionen vermieden und kinetische Messungen mit einem außerordentlichen Hochdurchsatz durchgeführt werden. Die beschriebene Säulenkonfiguration wurde in einen Gaschromatographen installiert und Wasserstoff als reaktives Trägergas benutzt. Edukte und Reaktionsprodukte wurden mit einem Flammenionisationsdetektor (FID) quantifiziert und mit einem Massenspektrometer (Quadrupol Ionenfallen MS) identifiziert. Eine Substanzbibliothek bestehend aus 22 ungesättigten und funktionalisierten Verbindungen, darunter Alkene, Alkine, aromatische Kohlenwasserstoffe, Nitroverbindungen, Aldehyde und Ketone, wurde simultan auf diese Säulenordnung injiziert. Dabei wurden die Temperatur und der Trägergasfluss variiert, um verschiedene Reaktionszeiten einzustellen und temperaturabhängige kinetische Daten zu ermitteln. Auf diese Weise konnte für die beschriebene Bibliothek ein Durchsatz von 5880 Reaktionen in 40 Stunden realisiert werden.^[275]

Bei niedrigen Temperaturen ($T = 60\text{ °C}$) konnten auf den katalytisch aktiven Kapillaren (HMPS:MVPS = 3:1, 0.3 mg Pd(OAc)₂) mit einer Länge von nur 5 cm außerordentlich schnelle Hydrierungen mit zumeist kompletten Umsätzen beobachtet werden. Da bei vollständigem Umsatz keine Geschwindigkeitskonstanten berechnet werden können (Kapitel 3.3), wurden die Kapillaren auf 2 cm gekürzt und die Experimente bei Reaktionszeiten zwischen 20 ms und 1 s ausgeführt, um unvollständige Umsätze für die kinetischen Messungen zu erzielen. Dennoch wurden für einige Substanzen, u.a. Styrol, *trans*-Zimtsäurealdehyd, Dimethylacetylendicarboxylat und Methylbicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-carboxylat immer noch Umsätze von 100 % berechnet.

Um den Einfluss des Polysiloxanverhältnisses (HMPS:MVPS), der Kapillarlänge und des Pd-Belegungsgrades auf den Umsatz systematisch zu untersuchen, wurde die Eduktbibliothek auf vier ungesättigte, funktionalisierte Verbindungen verkleinert (Cyclohex-2-enon, *trans*-Methylpent-3-enoat, Nitrobenzol und 1-Acetylcyclohexen). In Abbildung 46 ist exemplarisch ein Gaschromatogramm dargestellt, in dem die vier Edukte und die Hydrierungsprodukte anhand der jeweiligen Massenspuren identifiziert werden konnten.

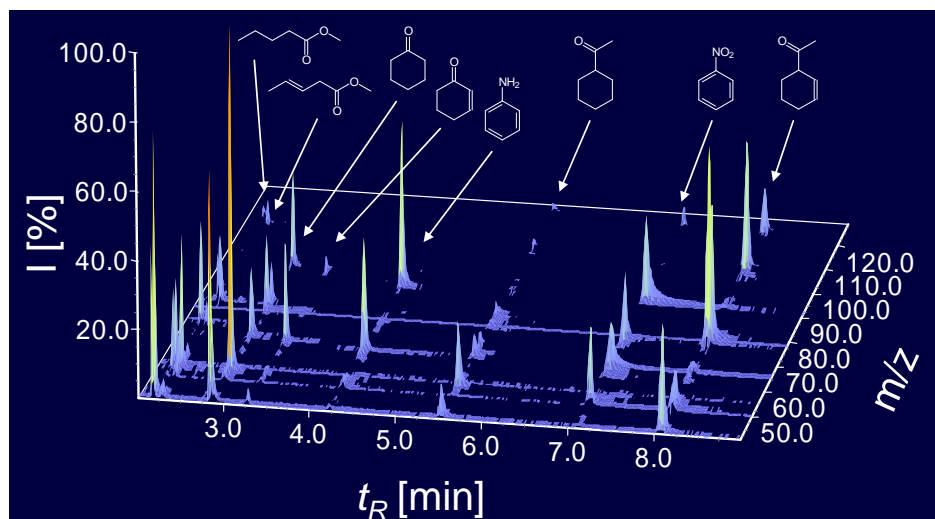


Abbildung 46: Gaschromatogramm (2 – 9 min, 70 °C, 100 kPa) der on-column Hydrierung von Cyclohex-2-enon, *trans*-Methylpent-3-enoat, Nitrobenzol und 1-Acetylcyclohexen sowie der gebildeten Produkte mit den zugehörigen Massenspuren.

In diesen Experimenten kamen verschiedene mit Pd-Nanopartikeln belegte fused-silica Kapillaren zum Einsatz, die sich in der Zusammensetzung der stabilisierenden Polysiloxanmatrix (HMPS:MVPS 1:11, 1:2, 1:1, 2:1 und 11:1), der Länge der reaktiven Mikrokapillare (2.02, 2.90, 3.84, 5.10 und 6.15 cm) sowie dem Palladiumbelegungsgrad ($3.64 \cdot 10^{-11}$, $7.28 \cdot 10^{-11}$ und $14.56 \cdot 10^{-11}$ mol cm⁻¹) unterschieden. Diese Kapillaren wurden mit der ocRGC systematisch bezüglich ihrer Umsätze untersucht. Durch die Variation des Einlassdrucks von 60 kPa bis 100 kPa Wasserstoff und der Temperatur von 60 °C bis 100 °C wurden die jeweiligen Reaktionszeiten variiert.

5.2.3. Einfluss der Säuleneigenschaften und der Messparameter auf den Umsatz

Verhältnis der Polysiloxane

Bei der Verwendung von Kapillaren mit verschiedenen Polysiloxanverhältnissen in ocRGC-Experimenten konnten deutliche Unterschiede in den jeweiligen Umsätzen X festgestellt werden. Hierzu wurden insgesamt 370 Experimente durchgeführt. In der Tabelle 8 sind die Umsätze exemplarisch für die Hydrierung von Cyclohex-2-enon dargestellt (3 cm Kapillarlänge, Pd-Konzentration $1.1 \cdot 10^{-10}$ mol cm⁻¹ Kapillare, $T = 60$ °C, $p = 100$ kPa). Sie lagen unter diesen Messbedingungen bei den jeweiligen Polysiloxanverhältnissen zwischen 37.1 und 66.4 %.

Tabelle 8: Umsätze X für die Hydrierung von Cyclohex-2-enon in Abhängigkeit vom Verhältnis der Polysiloxane und dem Partikeldurchmesser vor und nach Erhitzen in Wasserstoffatmosphäre.

(3 cm Kapillare, Pd-Konzentration $1.1 \cdot 10^{-10}$ mol cm⁻¹ Kapillare, $T = 60$ °C, $p = 100$ kPa).

Verhältnis HMPS : MVPS	Partikelgröße [nm]		X [%]
	nach Herstellung	200 °C H ₂	
1 : 11	5.5 ± 2.8	11.0 ± 6.2	66.4
1 : 2	3.0 ± 1.0	3.6 ± 1.6	88.2
1 : 1	3.4 ± 1.1	3.4 ± 1.5	49.4
2 : 1	5.4 ± 2.0	5.5 ± 1.8	37.1
11 : 1	5.4 ± 2.0	5.9 ± 2.5	82.5

Für die Interpretation der Daten müssen zwei Faktoren in Betracht gezogen werden: Sowohl der Durchmesser der Pd-NP als auch Grad der Quervernetzung der Polysiloxane beeinflussen den Umsatz. Für kleinere Partikel wurden höhere Umsätze von bis zu 88.2 % beobachtet als für NP mit einem größeren Durchmesser (37.1 %). Dies liegt daran, dass kleinere Partikel bei konstanten Pd-Beladungsgrad eine größere Pd-Oberfläche aufweisen, an der die katalytische Reaktion stattfinden kann. Daneben ist der Umsatz vom Grad der Quervernetzung abhängig, weil dieser Parameter den Zugang der Substrate zu den katalytisch aktiven Pd-NP beeinflusst. Mischungen mit geringer Quervernetzung weisen aufgrund des höheren Anteils linearer Polysiloxanketten eine geringere Viskosität auf. Daher wurden für die Mischungen mit Verhältnissen von 1:11 und 11:1 (HMPS:MVPS) auch für größere Nanopartikel vergleichsweise hohe Umsätze von 66.4 bzw. 82.5 % beobachtet.

Um einen Kompromiss zwischen Partikelgröße, Stabilisierung und Aktivität zu finden, wurde ein Polysiloxanverhältnis von 3:1 (HMPS:MVPS) für alle weitere Experimente ausgewählt. Bei diesen Bedingungen agglomerierten die Pd-NP auch bei der Aktivierung im Wasserstoffstrom kaum (Tabelle 7, Seite 76). Weiterhin konnten die Kapillaren mit diesen Mischungen gut belegt werden.

Säulenlänge

Der Umsatz eines ocRGC-Experiment wird unter definierten Reaktionsbedingungen (T , p) und bei genau festgelegten Polysiloxanverhältnissen bzw. Pd-Belegungsgraden vor allem durch die Länge der reaktiven Katalysatorsäule beeinflusst. Diese Abhängigkeit ist eine Voraussetzung für die Bestimmung kinetischer Daten.^[312, 313] Die Kontaktzeit der Substrate mit den aktiven Zentren korreliert mit der Länge der Kapillare, wobei sich die katalytische

Aktivität hierbei nicht ändern darf. Diese Korrelation ist jedoch nur für verdünnte Lösungen gültig, da eine Überladung der stationären Phase üblicherweise zu nicht-linearen Effekten führt.^[314] Um die Abhängigkeit der Kontaktzeit von der Kapillarlänge zu überprüfen wurden die Hydrierungen der vier Substrate unter Verwendung identischer, jedoch verschieden langer Kapillaren durchgeführt (2.02 – 6.15 cm, Pd-Belegungsgrad $7.28 \cdot 10^{-11} \text{ mol cm}^{-1}$ Kapillare, HMPS:MVPS = 3:1, $T = 80 \text{ °C}$, $p = 80 \text{ kPa}$). Unter diesen Bedingungen lagen die Reaktionszeiten zwischen 76 und 1690 ms.

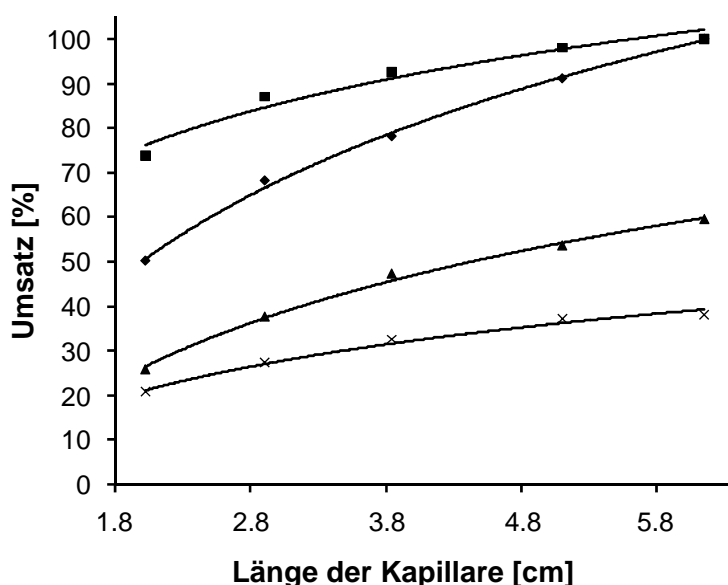


Abbildung 47: Umsatz der Edukte (80 °C, 80 kPa) bei Verwendung verschieden langer Kapillaren (Cyclohex-2-enon (■), *trans*-Methylpent-3-enoat (◆), Nitrobenzol (▲) und 1-Acetylcyclohexen (×)).

Entsprechend der größeren Reaktionszeiten auf längeren Kapillaren stiegen die Umsätze an, z.B. für Nitrobenzol von 25.7 % auf 59.4 % bei einer Kapillarlänge von 2.02 bzw. 6.15 cm (Abbildung 47). Bei der Verwendung noch längere Kapillaren, wurden vollständige Umsätze beobachtet. So lag der Umsatz für *trans*-Methylpent-3-enoat beispielsweise auf einer 6.15 cm langen Kapillare bei 99.9 %.

Palladiumbelegungsgrad

Die Pd-Konzentration in der fused-silica Kapillare wurde bei einem konstanten Polysiloxanverhältnis (HMPS:MVPS = 3:1) systematisch variiert, um den Einfluss des Belegungsgrades auf die Umsätze zu studieren. Die katalytischen Tests für die Hydrierung der Substrate wurden mit Pd-Beladungsgraden von $3.64 \cdot 10^{-11}$ bis $14.56 \cdot 10^{-11} \text{ mol cm}^{-1}$ Kapillare durchgeführt (Tabelle 9).

Tabelle 9: Variation der Pd-Konzentration (50 % GE SE 52, HMPS:MVPS = 3:1).

Kapillarlänge [cm]	Pd(OAc) ₂ [mg]	Pd-Beladungsgrad [10 ⁻¹¹ mol cm ⁻¹]
5.00	0.05	3.64
2.90	0.10	7.28
2.00	0.20	14.56

Zwischen dem Umsatz, d.h. der katalytischen Aktivität der NP, und der Konzentration des Pd-Prekursors konnte ein linearer Zusammenhang gefunden werden. In der Abbildung 48 ist der Umsatz der vier Substrate als Funktion des Pd-Beladungsgrades dargestellt. Es muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass die Gültigkeit des linearen Zusammenhangs nur im vorgestellten Konzentrationsbereich (Tabelle 9) gewährleistet ist. Bei noch höheren Pd(OAc)₂-Konzentrationen entstehen aufgrund von Agglomerationsprozessen größere Nanopartikel. Dadurch verringert sich die relative Oberfläche im Vergleich zu kleinen NP, wodurch ein nicht-linearer Abfall der katalytischen Aktivität zu erwarten ist.

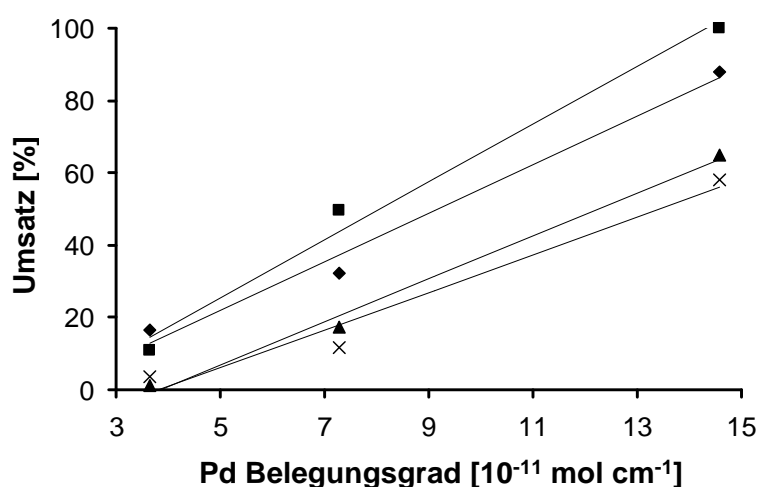


Abbildung 48: Umsatz der Edukte (60 °C, 80 kPa) aufgetragen gegen den Pd-Beladungsgrad (Cyclohex-2-enon (■), *trans*-Methylpent-3-enoat (◆), Nitrobenzol (▲) und 1-Acetylcyclohexen (×)).

Messparameter

Änderungen der Temperatur des Säulenofens sowie des Einlassdruckes des reaktiven Trägergases beeinflussen die Verweilzeit der Substrate in der katalytisch aktiven Kapillare und somit auch die Umsätze. Um diese Abhängigkeit detailliert zu untersuchen wurden sowohl die Temperatur (60 – 100 °C) als auch der Einlassdruck (60 – 100 kPa) systematisch variiert und die jeweiligen Umsätze X berechnet.

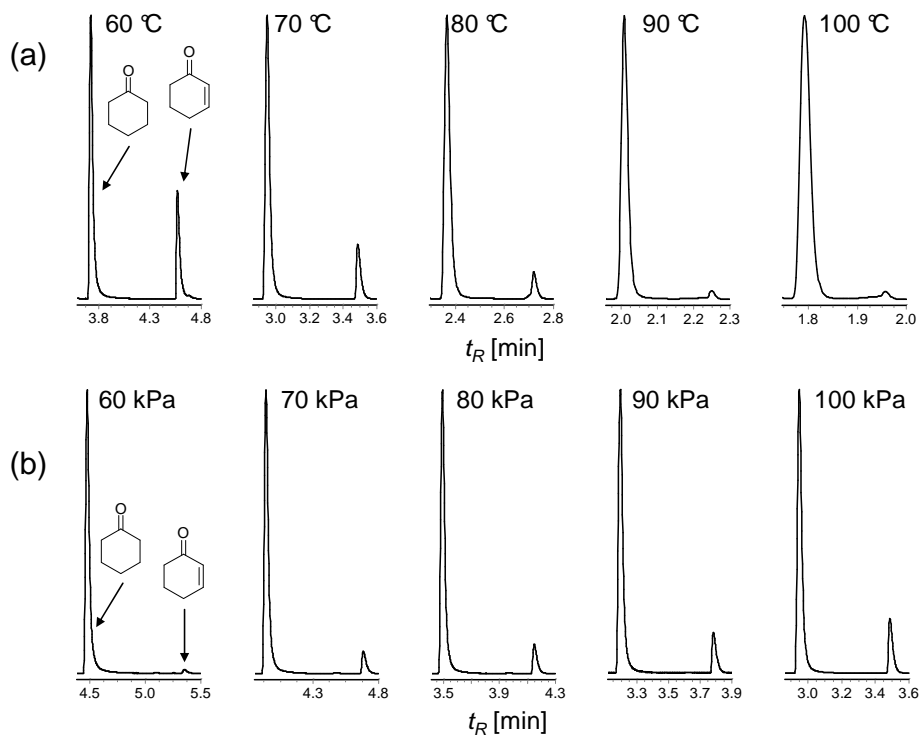


Abbildung 49: (a) Temperaturabhängige (bei 100 kPa) und (b) druckabhängige (bei 70 °C) on-column Hydrierung von Cyclohex-2-enon über hoch aktiven Pd-NP. Der zuerst eluierte Peak entspricht dem Hydrierprodukt Cyclohexanon, der zweite Peak dem Edukt Cyclohex-2-enon.

Mit steigender Temperatur konnte eine Zunahme der Peakflächen des Produkts beobachtet werden (Abbildung 49a). Trotz kürzerer Reaktionszeiten bei höheren Temperaturen aufgrund kürzerer Retentionszeiten in der Kapillare nahmen die Umsätze zu. Dies kann mit der Reaktionsgeschwindigkeits-Temperatur-Regel^[1] erklärt werden. Danach bewirkt eine Steigerung der Temperatur um 10 K für Reaktionen mit einer Aktivierungsenergie von etwa 50 kJ mol^{-1} eine Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit um das zwei- bis vierfache, was zu höheren Umsätzen führt. Bei höheren Trägergasflüssen, die mit den jeweiligen Einlassdrücken korrelieren, nahm die Verweilzeit in der Kapillare ebenfalls ab, wodurch die kleinere Peakflächen für das Produkt beobachtet wurden (Abbildung 49b).

Die berechneten Umsätze wurden gegen die Temperatur und den Einlassdruck aufgetragen, so dass dreidimensionale Datensätze (X, T, p) für jedes der vier Substrate erhalten wurden (Abbildung 50). Es wurde festgestellt, dass es sich bei den Oberflächen der Umsatzprofile nicht um planare Ebenen, sondern – abhängig vom Substrat – um verzerrte Flächen handelt. Dieser Umstand kann der starken Abhängigkeit der Verweilzeit von der Trenneffizienz der Reaktorkapillare zugeschrieben werden. Die Trenneffizienz ist eine Funktion von T und p und wird durch die van Deemter-Gleichung beschrieben (Diskussion in Kapitel 5.2.6).

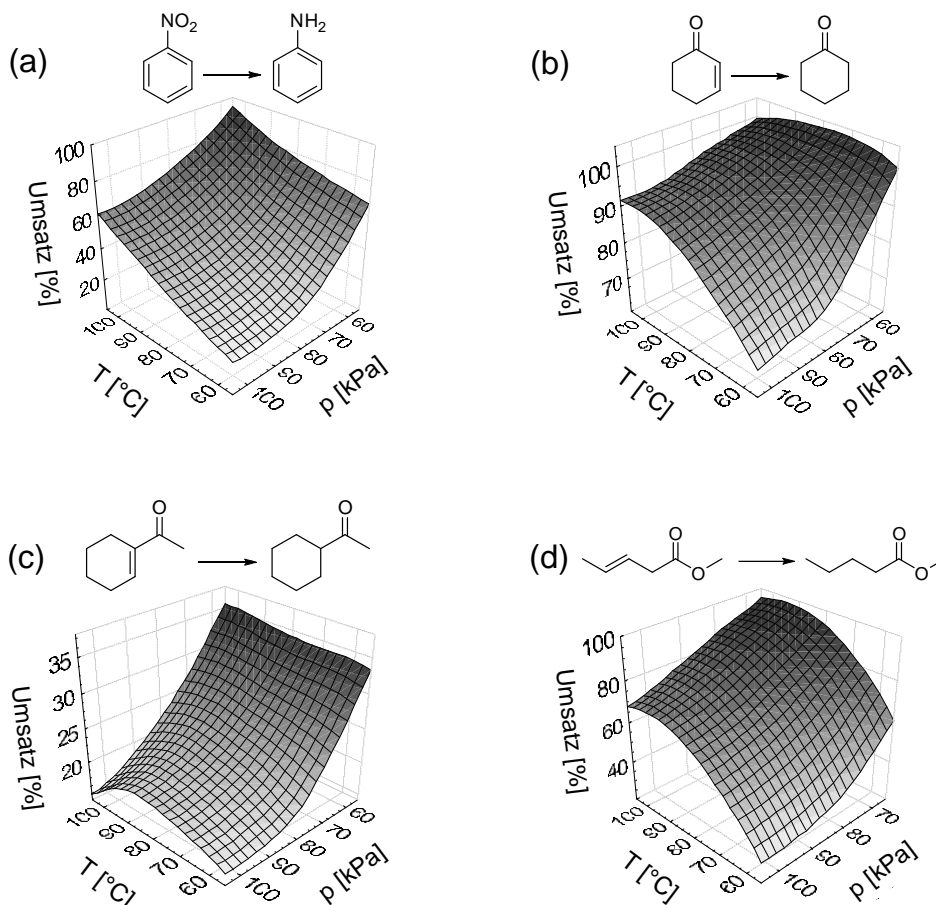


Abbildung 50: Dreidimensionale Darstellung des Umsatzes von (a) Nitrobenzol, (b) Cyclohex-2-enon, (c) 1-Acetylcyclohexen und (d) *trans*-Methylpent-3-enoat bei der on-column Hydrierung in Abhängigkeit von der Temperatur (60 – 100 °C) und dem Einlassdruck (60 – 100 kPa).

Die Auswertung der Umsatz-Temperatur-Druck-Profile ermöglicht die Berechnung der Aktivierungsparameter für die Hydrierung der Substrate (ΔG^\ddagger , ΔH^\ddagger , ΔS^\ddagger), die mit dem Pd-Belegungsgrad der Kapillaren sowie der Zusammensetzung der Polysiloxanmatrix korreliert werden können.

5.2.4. Berechnung von Geschwindigkeitskonstanten und Aktivierungsparametern

Die Hydrierung ungesättigter Verbindungen über Pd-Oberflächen verläuft im Bezug auf Pd nach einer Reaktion erster Ordnung und wird typischerweise durch einen Langmuir-Hinshelwood-Mechanismus beschrieben.^[281-283] Demnach werden zunächst die Edukte aus der Gasphase auf der Katalysatoroberfläche adsorbiert, um anschließend zum Produkt abzureagieren. Im letzten Schritt desorbiert das Produkt von der Oberfläche des Katalysators in die Gasphase. Abbildung 51a zeigt schematisch den Langmuir-Hinshelwood-Mechanismus für die Hydrierung ungesättigter Verbindungen, wobei vor allem die Schritte dargestellt sind,

welche durch Diffusionsprozesse bestimmt werden: die Adsorption der Edukte sowie die Desorption der Produkte. Die Edukte werden durch eine Doppelbindung und die katalytisch aktiven Zentren durch ein Sternchen repräsentiert.

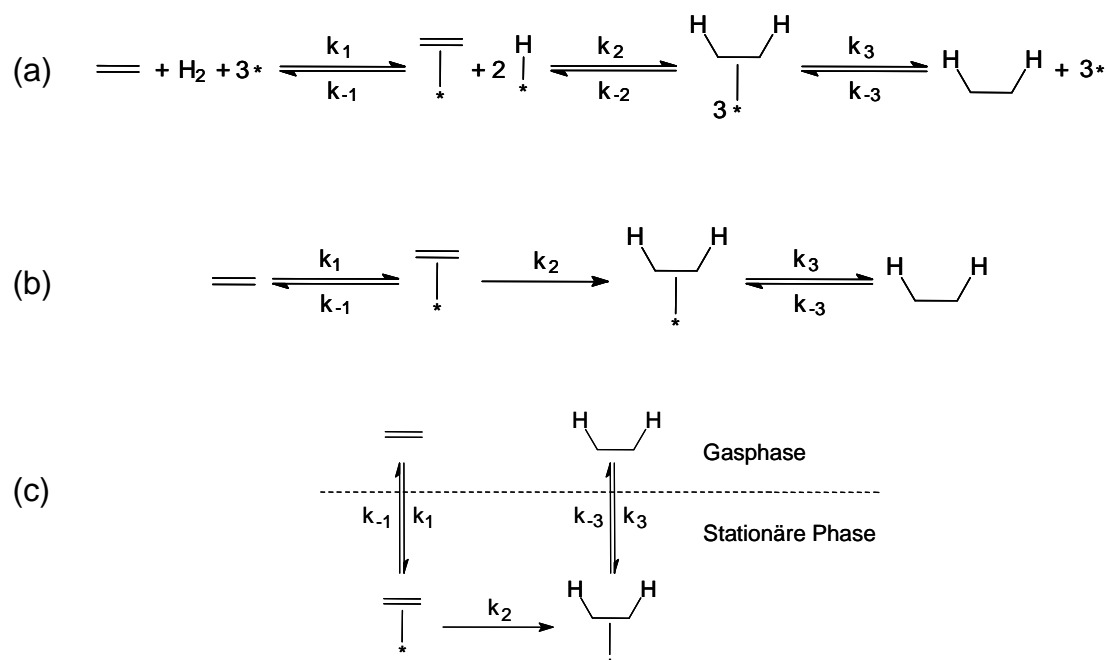


Abbildung 51: Langmuir-Hinshelwood Mechanismus für die Hydrierung ungesättigter Verbindungen. Die Reaktanden werden als Doppelbindung (=) und die katalytisch aktive Spezies als Stern (*) dargestellt.

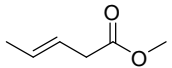
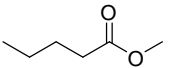




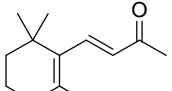
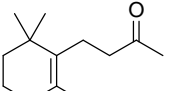
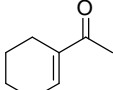
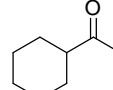


Um das Modell des Langmuir-Hinshelwood-Mechanismus für die Auswertung der experimentellen Daten anzuwenden, wurde das folgende Konzept erarbeitet und auf die Versuche mit der ocRGC übertragen. Zieht man die experimentellen Bedingungen der on-column Reaktionsgaschromatographie in Betracht, können einige Annahmen gemacht werden, die das Reaktionsmodell der Hydrierung auf die in Abbildung 51b dargestellten Elementarschritte vereinfachen: (i) Wasserstoff wird als reaktives Trägergas mit einer hohen Flussrate (mL min^{-1}) genutzt und ist daher – im Vergleich zu den Substraten – stets im Überschuss vorhanden. Das Verhältnis der Reaktionspartner (H_2 : Substrat) beträgt üblicherweise 99.99999 : 0.00001. Es kann daher eine Reaktionskinetik pseudo-erster Ordnung angenommen werden. (ii) Die Adsorption von Wasserstoff an die Pd-Oberfläche verläuft schnell, da die Aktivierungsenergie für diesen Prozess sehr gering ist und Wasserstoff leicht durch die Polysiloxanmatrix zu den NP diffundieren kann. Dadurch entsteht ein stationärer Zustand von an Pd-NP adsorbiertem Wasserstoff, der die eigentliche Hydrierungsgeschwindigkeit des Substrates nicht beeinflusst. (iii) Im Vergleich zum Substrat ist ein Überschuss an Pd-NP vorhanden, so dass ausreichend aktive Zentren für die Adsorption der Edukte zur Verfügung stehen. (iv) Die Hydrierung der ungesättigten

Verbindung ist ein irreversibler Prozess. Die Dehydrierung der Produkte in Gegenwart von Pd wird erst bei höheren Temperaturen von mindestens 150 °C erwartet, da die Desorption des Wasserstoffs vom Metall in diesem Prozess der limitierende Schritt ist.^[315-317]

In ocRGC-Experimenten können der diffusionsbedingte Transport der Substrate an die katalytisch aktiven Zentren sowie die Hydrierungsreaktion als orthogonale, d.h. voneinander unabhängig ablaufende Prozesse betrachtet werden. Im theoretischen Bodenmodell sind die Verteilungsgleichgewichte von Edukten und Produkten zwischen mobiler und reaktiver stationärer Phase über die Retentionsparameter zugänglich. Diffusionskoeffizienten können bei Durchführung temperatur- und flussabhängiger Messungen der Trenneffizienzen aus den Peakbreiten und Retentionszeiten der einzelnen Substrate berechnet werden. Jede einzelne theoretische Trennstufe der Kapillare wird daher als katalytisch aktiver chromatographischer Reaktor betrachtet. Das in Abbildung 51b dargestellte Modell kann deswegen auf jede Trennstufe separat angewendet werden (Abbildung 51c). Die bekannten Retentionsparameter definieren die Reaktionszeit, so dass die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten aus den Umsätzen entsprechend einer Reaktion erster Ordnung berechnet werden können (Gleichung 5, Seite 21). Die Umsätze wurden aus den ocRGC-Messungen berechnet, indem das Signal des FID zur Auswertung herangezogen wurde. Im Gegensatz zum MSD, bei dem die Signalintensitäten von der Ionisierbarkeit des spezifischen Moleküls abhängen, können Signale des Flammenionisationsdetektors direkt mit der Anzahl der Kohlenstoffatome eines Substrats korreliert werden. Da sich die C-Zahl während der Hydrierungsreaktion nicht veränderte, sollten die Signalintensitäten für Edukt und Produkt bei derselben Konzentration gleich groß sein, so dass keine Korrekturfaktoren berücksichtigt werden mussten.

Die freien Aktivierungsenergien ΔG^\ddagger ergaben sich durch Anwendung der Eyring-Gleichung (Gleichung 19). Aktivierungsenthalpien ΔH^\ddagger und Aktivierungsentropien ΔS^\ddagger der Reaktion wurden aus der Steigung bzw. y-Achsenabschnitt der Eyring-Auftragung ($\ln(k_1/T)$ über T^{-1}) berechnet. In Tabelle 10 sind exemplarisch die Geschwindigkeitskonstanten k_1 sowie die Aktivierungsparameter für die Hydrierung von sechs Substraten der Reaktionsbibliothek dargestellt. Durch Anwendung einer Kinetik erster Ordnung bezüglich der Substrate, konnte eine sehr gute Übereinstimmung mit dem Langmuir-Hinshelwood-Mechanismus festgestellt werden.

Tabelle 10: Ergebnisse der on-column Hydrierung über hoch aktiven Pd-NP (HMPS:VMPS = 3:1, Pd-Beladung $7.28 \cdot 10^{-11}$ mol cm⁻¹ Kapillare, Kapillarlänge 2 cm).

Edukt	Produkt	k_I ^[a] [s ⁻¹]	ΔG^\ddagger ^[b] [kJ mol ⁻¹]	ΔH^\ddagger [kJ mol ⁻¹]	ΔS^\ddagger [J mol ⁻¹ K ⁻¹]	r ^[c] (s)
		194	67.8	30.1 ± 0.5	-126 ± 3	0.997 (0.057)
		42	70.4	25.2 ± 0.5	-152 ± 4	0.996 (0.052)
		36	71.4	27.2 ± 0.7	-148 ± 6	0.996 (0.046)
		4	82.3	56.0 ± 1.0	-94 ± 2	0.998 (0.020)
		44	73.4	37.5 ± 0.6	-121 ± 3	0.999 (0.025)
		23	75.3	38.3 ± 1.5	-124 ± 7	0.985 (0.116)

[a] Geschwindigkeitskonstante k_I bei 120 °C. [b] Gibbsche freie Aktivierungsenergie ΔG^\ddagger bei 25 °C.

[c] Korrelationsfaktor r und Standardabweichung s der linearen Regression der Eyring-Auftragung.







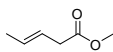
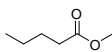
Die Geschwindigkeitskonstanten erstreckten sich – abhängig vom jeweiligen Substrat – bei einer Temperatur von 120 °C über einen Bereich von 3 Größenordnungen (4 – 194 s⁻¹). Die hohe Aktivität der Pd-NP wird durch die großen Geschwindigkeitskonstanten sowie die niedrige Aktivierungsenthalpien ΔH^\ddagger (25.2 – 56.0 kJ mol⁻¹) bestätigt. Die stark negativen Aktivierungsentropien ΔS^\ddagger (-94 – -148 J mol⁻¹ K⁻¹) weisen auf einen geordneten Übergangszustand aufgrund der Adsorption der Substrate und von Wasserstoff an Pd-NP hin.

Da eine große Substanzbibliothek, bestehend aus 22 verschiedene Reaktanten, auf die oben beschriebene Säulenordnung injiziert wurde, konnten 5880 Reaktionen innerhalb von 40 Stunden experimentell untersucht werden. Die Ermittlung eines kompletten Satzes von Aktivierungsparametern dauert somit im Durchschnitt weniger als zwei Stunden.

Der Einfluss des Pd-Belegungsgrades auf die Geschwindigkeitskonstanten und Aktivierungsparameter wurde untersucht, indem die katalytische Hydrierung von Cyclohex-2-enon, *trans*-Methylpent-3-enoat, Nitrobenzol und 1-Acetylcyclohexen in ocRGC-Experimenten auf verschiedenen Kapillaren bestimmt wurde (Tabelle 11). Höhere Umsätze führen gemäß Gleichung 5 und 7 (Seite 21 und 22) zu größeren Geschwindigkeitskonstanten.

Wie bereits in Abschnitt 5.2.3 diskutiert worden ist, stiegen die Umsätze bei höheren Pd-Belegungsgraden an, was mit den hier beschriebenen verdünnten Lösungen einer linearen Abhängigkeit des Geschwindigkeitsgesetzes von den aktiven Zentren des Katalysators zugeschrieben werden konnte (Abbildung 48).

Tabelle 11: Ausgewählte Ergebnisse der on-column Hydrierung über hoch aktiven Pd-Nanopartikeln für drei verschiedene Palladiumbelegungsgrade (HMPS:VMPS = 3:1, 50 % GE SE 52).

Edukt	Produkt	Pd [10 ⁻¹¹ mol cm ⁻¹]	$X^{[a]}$	$k_I^{[b]}$	$\Delta G^{\ddagger [c]}$	ΔH^{\ddagger}	ΔS^{\ddagger}	$r^{[d]}$
			[%]	[s ⁻¹]	[kJ mol ⁻¹]	[kJ mol ⁻¹]	[J mol ⁻¹ K ⁻¹]	(s)
		3.64	1.2	0.03	91.3	68.3 ± 0.6	-77 ± 1	0.999 (0.028)
		7.29	17.2	0.29	84.1	69.4 ± 0.3	-49 ± 1	0.999 (0.034)
		14.60	65.0	1.05	82.1	76.5 ± 2.8	-19 ± 1	0.993 (0.102)
		3.64	10.8	0.94	79.9	39.3 ± 0.9	-136 ± 5	0.997 (0.045)
		7.29	49.7	3.83	75.8	53.5 ± 0.7	-75 ± 1	0.995 (0.073)
		14.60	100.0	_[e]	_[e]	_[e]	_[e]	_[e]
		3.64	3.6	0.07	86.1	37.4 ± 0.5	-163 ± 6	0.999 (0.023)
		7.29	11.7	0.14	83.6	47.4 ± 0.2	-121 ± 1	0.991 (0.098)
		14.60	58.0	0.65	80.4	57.2 ± 1.7	-78 ± 3	0.996 (0.065)
		3.64	16.4	3.35	76.7	28.5 ± 0.4	-162 ± 6	0.999 (0.010)
		7.29	32.4	4.00	77.3	64.5 ± 0.8	-43 ± 1	0.996 (0.077)
		14.60	88.0	13.9	75.2	39.8 ± 2.5	-44 ± 1	0.999 (0.015)

[a] Umsatz X bei 60 °C auf einer 2 cm fused-silica Kapillare. [b] Geschwindigkeitskonstante k_I bei 60 °C. [c] Gibbsche freie Aktivierungsenergie ΔG^{\ddagger} bei 25 °C. [d] Korrelationsfaktor r und Standardabweichung s der linearen Regression der Eyring-Auftragung. [e] Unter diesen Messbedingungen betrug $X = 100$ %.

Darüber hinaus wurde festgestellt, dass die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante k_I in diesen Experimenten unter Zusatz von 50 % GE SE 52 zur stabilisierenden Polysiloxanmatrix niedriger waren als in den Experimenten, in der die Pd-NP ausschließlich von HMPS und MVPS stabilisiert worden war (Tabelle 10, Seite 89). Diese Beobachtung legt nahe, dass die Phenylgruppen der stationären Phase GE SE 52 einen hemmenden Effekt auf die Hydrierung ausüben, der vermutlich durch die Stabilisierung der NP verursacht wird. Solche Stabilisationseffekte für Pd-NP sind auch von Kobayashi et al. beobachtet worden.^[34]

Es wurden wiederum niedrige Aktivierungsenthalpien ΔH^\ddagger und negative Werte für die Aktivierungsentropien ΔS^\ddagger beobachtet, was die hohe Aktivität der Pd-NP sowie einen gespannten Übergangszustand widerspiegelt. Der Vergleich der Aktivierungsparameter von Cyclohex-2-enon, 1-Acetylcyclohexen und *trans*-Methylpent-3-enoat zeigte, dass weniger stark gehinderte Alkene (*trans*-Methylpent-3-enoat) niedrigere Aktivierungsenthalpien und -entropien aufwiesen als stärker gehinderte Alkene (z.B. 1-Acetylcyclohexen). Kleinere Werte für ΔG^\ddagger indizieren eine spontanere Reaktion und entsprechen höheren Produktivitäten. Für Cyclohex-2-enon und *trans*-Methylpent-3-enoat wurden daher die größten Umsätze berechnet.

5.2.5. Präparative on-column Hydrierung

Eine katalytische Hydrierung im präparativen Maßstab wurde mit Cyclohex-2-enon durchgeführt. Dazu wurde eine mit Pd-NP belegte Kapillare (250 μm I.D., 250 nm Filmdicke) in einem Gaschromatographen installiert. Auf der Detektorseite erfolgte die Kopplung des Kapillarendes mit einem Mikrovial, in dem das Reaktionsprodukt gesammelt wurde. Um einen vollständigen Umsatz zu erzielen, kam eine 20 cm lange Reaktionskapillare zum Einsatz. Durch die kontinuierliche Injektion des Edukts Cyclohex-2-enon auf die katalytisch aktive Säule konnten bei $T = 80\text{ }^\circ\text{C}$ und $p = 50\text{ kPa}$ Durchsätze von 20 mg h^{-1} erzielt werden. Die Reinheit des Produkts Cyclohexanon wurde mit der $^1\text{H-NMR}$ - und der $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektroskopie bestätigt (Abbildung 52 und Abbildung 53). Die Verunreinigung mit Diethylether im Produktspektrum ist auf das Spülen der Spritze mit Diethylether zwischen den Injektionen zurückzuführen.

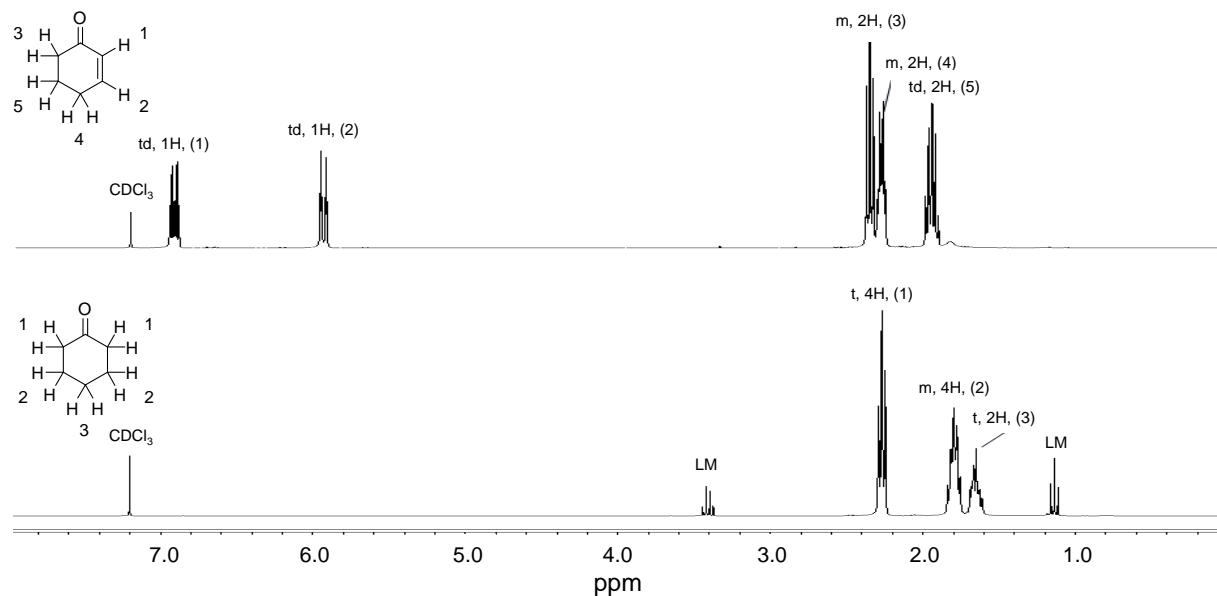


Abbildung 52: $^1\text{H-NMR}$ -Spektren (CDCl_3 , 300MHz, 25 °C) von Cyclohex-2-enon (oben) und dem on-column hydrierten Cyclohexanon (unten).

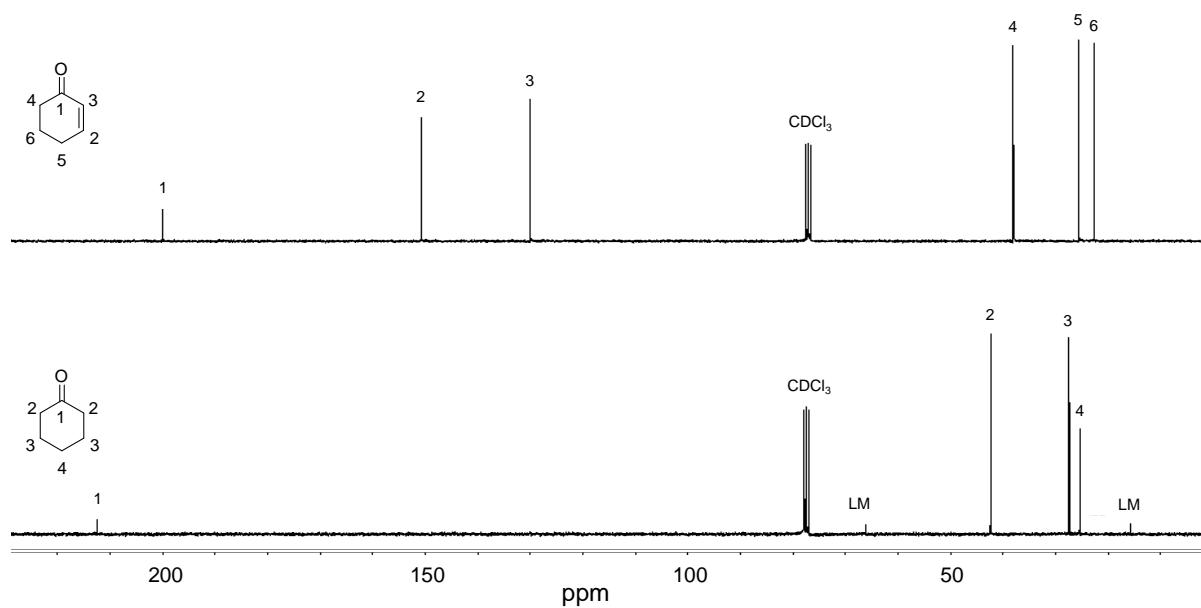


Abbildung 53: $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren (CDCl_3 , 75MHz, 25 °C) von Cyclohex-2-enon (oben) und dem on-column hydrierten Cyclohexanon (unten).

5.2.6. Bestimmung von Diffusionskoeffizienten

Die Kontrolle von Mischungsvorgängen in mikrofluidischen Systemen stellt eine Herausforderung dar, da die Geschwindigkeiten von Diffusionsprozessen einen Beitrag zu den scheinbaren Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten leisten. Durch Wahl des Polysiloxans können Diffusionsvorgänge im vorgestellten Versuchsaufbau experimentell kontrolliert und die Effizienz des chromatographischen Systems sowohl charakterisiert als auch optimiert werden. Die Auftragung der effektiven Trennstufenhöhe H gegen die Geschwindigkeit des Trägergases u ergibt van Deemter-Kurven (Abbildung 54) und die Anwendung einer quadratischen Spline-Funktion entsprechend der van Deemter-Gleichung^[42-46] ermöglicht den Zugang zu den Koeffizienten B und C . Daraus lassen sich die Diffusionskoeffizienten in der mobilen Gasphase D_M und in der Stationärphase D_S für Nitrobenzol, Cyclohex-2-enon, 1-Acetylcyclohexen sowie *trans*-Methylpent-3-enoat direkt berechnen (Kapitel 3.1).

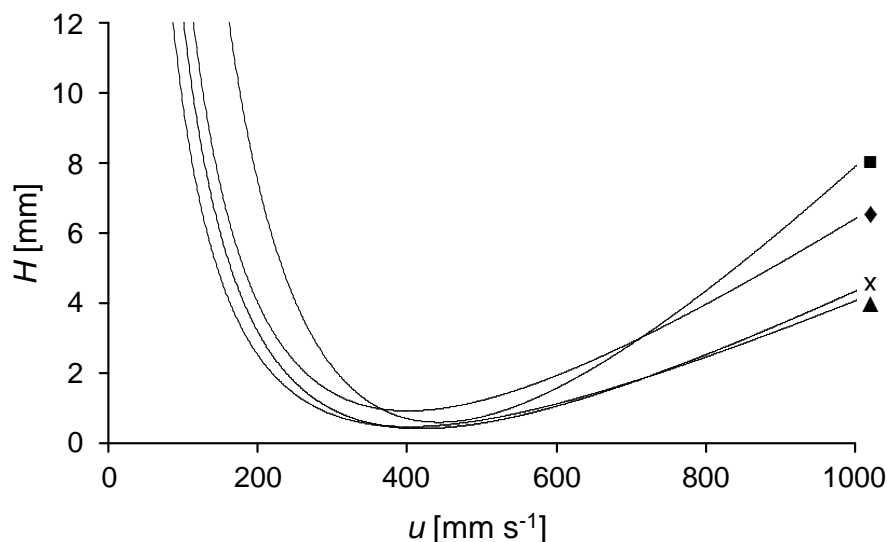




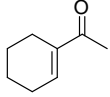
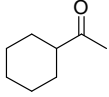
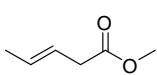
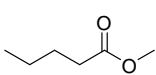


Abbildung 54: Bestimmung der Diffusionskoeffizienten aus der van Deemter-Auftragung von Cyclohex-2-enon (■), *trans*-Methylpent-3-enoat (♦), Nitrobenzol (▲) und 1-Acetylcyclohexen (×) bei 60 °C (2400 cm fused-silica Kapillare, 250 µm I.D.).

In der Tabelle 12 sind die Diffusionskoeffizienten bei $T = 60$ °C für die Hydrierung der vier Substrate dargestellt. Es ergaben sich Werte von $D_M = 8.1 - 22.9 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ und $D_S = 1.89 - 4.98 \cdot 10^{-13} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$. Diese Werte liegen in derselben Größenordnung wie in der Literatur beschriebene Diffusionskoeffizienten^[1, 318] von $D_{gas} = 0.7 - 16.5 \cdot 10^{-5} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ (0 bis 44 °C) in der Gasphase, $D_{fl} = 1.1 - 3.8 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ (25 °C) in der flüssigen Phase und $D_{fest} = 1.7 - 11.4 \cdot 10^{-13} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ (10 bis 50 °C) in Feststoffen.

Tabelle 12: Diffusionskoeffizienten in der mobilen (D_M) und stationären Phase (D_S) bei 60 °C.

Substrat	Produkt	D_M [$10^{-4} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$]	D_S [$10^{-13} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$]
		8.1	1.85
		22.9	1.97
		10.2	1.22
		12.3	4.98

Anhand der erhaltenen Diffusionskoeffizienten sowie der kurzen Distanz, die die Substrate zurücklegen müssen um in die katalytisch aktive stationäre Phase (Filmdicke 250 nm) zu wandern, kann eine diffusionsbedingte Limitierung der Hydrierung in diesem System ausgeschlossen werden. Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten, die mit der ocRGC bestimmt werden, sind daher direkt zugänglich und hängen ausschließlich von der Wahrscheinlichkeit der Substrate ab, an die Pd-NP zu adsorbieren. Diese Wahrscheinlichkeit steht in direktem Zusammenhang mit der Konzentration aktiver Zentren im Reaktorvolumen.

5.3. Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurden Hydrierungen über Pd-NP untersucht, indem Katalyse und Trennung in Mikrokapillaren simultan durchgeführt wurden. Aus den ocRGC-Messungen von Substratbibliotheken konnten umfangreiche kinetische Daten gewonnen werden. Die hohen Geschwindigkeitskonstanten und niedrigen Aktivierungsenthalpien spiegelten die außerordentlich hohe Aktivität der NP wider. Die Vorteile des vorgestellten Versuchsaufbaus lagen in der präzisen Temperaturkontrolle und in der Möglichkeit, Diffusionsprozesse zu quantifizieren und diese durch die Auswahl des Polysiloxans im Experiment zu kontrollieren. Da Substanzbibliotheken mit bis zu 22 verschiedenen Reaktanden auf die Säulenordnung injiziert wurde, konnten 5880 Reaktionen innerhalb von 40 Stunden experimentell untersucht werden. Dieser Durchsatz ermöglichte ein Screening von systematisch variierten Pd-NP-Proben und die Untersuchung des Einflusses der stabilisierenden Polysiloxanmatrix, der Aktivierungsbedingungen und des Pd-Beladungsgrads auf den Umsatz, die Kinetik und den Reaktionsmechanismus. Zum Beispiel führte die stärkere sterische Hinderung von 1-Acetylcyclohexen im Vergleich zu Cyclohex-2-enon und *trans*-Methylpent-3-enoat zu negativeren Aktivierungsentropien ΔS^\ddagger , was auf einem geordneteren Übergangszustand hinwies.

Das vorgestellte Konzept der ocRGC vereinigt katalysierte Reaktionen mit der Trenneffizienz eines chromatographischen Systems und kann allgemein auch auf andere katalytische Prozesse angewendet werden, um Katalysatoren und Materialien umfassend in kinetischen Studien zu charakterisieren. Die Abtrennung des Katalysators vom Produkt, die normalerweise ein Problem für die homogene Katalyse oder Katalyse mit NP darstellt, ist in diesem Ansatz ähnlich einfach wie in der heterogenen Katalyse. Da die katalytisch aktiven Trennkapillaren einfach herzustellen und zu handhaben sind, können sie durch Kupplung in mehrstufigen Reaktionssequenzen eingesetzt werden. Für eine präparative Maßstabsvergrößerung ist nur ein Block von Reaktorkapillaren nötig, um die Produktivität zu erhöhen.

Kapitel 6

Derivatisierung von Aminosäuren mit *o*-Phthaldialdehyd mit der on-column Reaktionskapillarelektrophorese

6. Derivatisierung von Aminosäuren mit *o*-Phthaldialdehyd mit der on-column Reaktionskapillarelektrophorese

6.1. Einleitung

Von den über 250 bekannten Aminosäuren (AS) sind etwa 20, vor allem proteinogene α -Aminosäuren von größerem Interesse. Ihre Hauptanwendungsgebiete liegen in der Strukturaufklärung von Proteinen und Peptiden in Biochemie, Qualitätskontrolle, Lebensmittel- und Getränkeindustrie sowie in der Klinischen Chemie für Diagnosezwecke. Die Detektion von AS in Umweltproben oder biologischen Materialien kann problematisch sein, da chromophore oder fluorophore Gruppen meist nicht vorhanden sind und die zu messenden Konzentrationen sehr gering sein können. Die Empfindlichkeit kann jedoch durch die Derivatisierung mit einem geeigneten Reagenz immens gesteigert werden.

6.1.1. Derivatisierung von Aminosäuren

In den letzten 50 Jahren ist eine große Anzahl chromatographischer Methoden publiziert worden, die zum Ziel hatten, die Trennung oder Detektierbarkeit von Aminosäuren zu verbessern. Die Derivatisierung wurde üblicherweise entweder vor oder nach dem chromatographischen Trennprozess vorgenommen.^[319, 320] Unter den in der Literatur beschriebenen Derivatisierungsreagenzien findet sich das klassische Derivatisierungsreagenz Ninhydrin,^[321-326] welches mit AS zu einer intensiv blau-violett gefärbten indigoiden Verbindung abreagiert (Ruhemanns Violett). Die Ninhydrin-Reaktion gelingt selbst mit Spuren von AS, allerdings auch mit primären und sekundären Aminen und Ammoniak. Daneben gibt es eine Vielzahl neuerer Farb- oder Fluoreszenzreagenzien für die Derivatisierung von AS, die aufgrund einer ausgeprägten UV-Absorption oder Fluoreszenz der Produkte zu höherer Nachweisempfindlichkeit führen.^[327]

Im Jahr 1971 beschrieb Roth^[328] erstmals *o*-Phthaldialdehyd (OPA) als Fluoreszenzmarker für primäre Aminogruppen. In der Folgezeit hat sich OPA in Kombination mit 2-Mercaptoethanol (2ME) als außerordentlich effektives Derivatisierungsreagenz für die Analytik von AS und biogenen Aminen erwiesen. Die Reaktion findet bei Raumtemperatur innerhalb weniger Minuten statt, so dass die gebildeten 1-Alkylthio-2-alkyl-substituierten Isoindolderivate (Abbildung 55) bei $\lambda = 445$ nm (Fluoreszenz) und $\lambda = 340$ nm (UV) detektiert werden können.

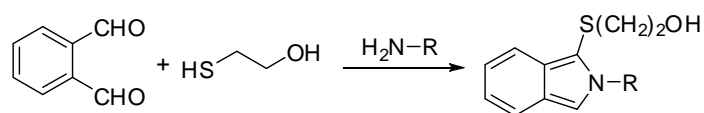


Abbildung 55: Derivatisierung von primären Aminen mit OPA und 2ME zu Isoindolderivaten.

Im Gegensatz zu anderen Markermolekülen muss überschüssiges OPA vor der Fluoreszenz-Analyse nicht entfernt werden, da es selbst nicht fluoresziert und daher die Detektion der OPA-Derivate nicht beeinflusst. Aufgrund seiner Vielseitigkeit und einfachen Handhabung wird das OPA/Thiol-Reagenz häufig für die Aminosäurenanalytik mit HPLC- oder CE-Methoden eingesetzt. Die Derivatisierungsreaktion mit OPA kann auch ohne den Zusatz von 2ME durchgeführt werden, wobei Isoindolinonderivate gebildet werden (Abbildung 56).

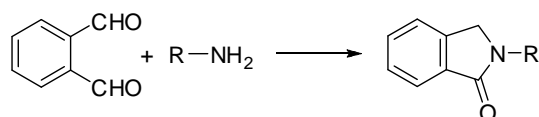


Abbildung 56: Derivatisierung von primären Aminen mit OPA zu Isoindolinonderivaten.

Allin et al.^[329] beobachteten deutlich höhere Ausbeuten für die Reaktion von OPA mit Aminoalkoholen und α -Aminosäuren als für die Umsetzung mit aliphatischen Aminen. Sie postulierten aufgrund ihrer Beobachtungen einen Mechanismus, in dem die Carboxygruppe einen intramolekularen Nachbargruppeneffekt ausübt (Abbildung 57).

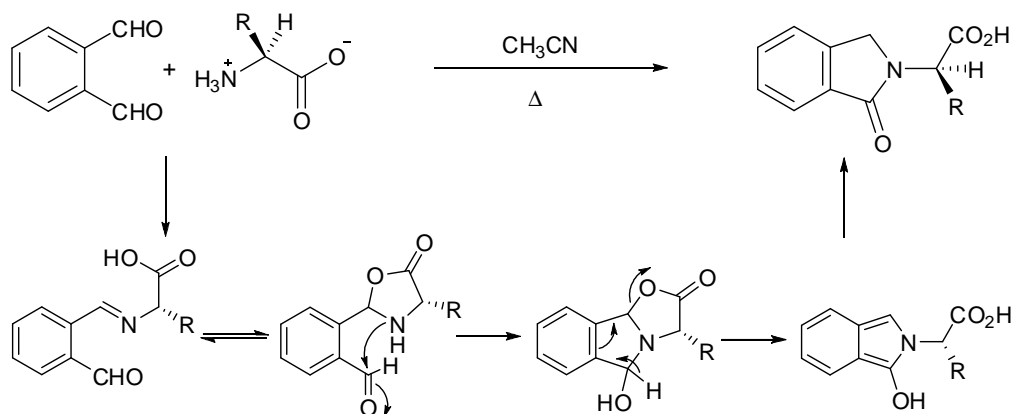


Abbildung 57: Mechanismus der Reaktion primärer AS mit OPA nach Allin et al.^[329]

Danach bildet sich zunächst ein Monoimin, welches unter Beteiligung der Carboxygruppe zu einem Oxazolidinon-Intermediat cyclisiert. Diese Zwischenstufe konnte bei der Reaktion von Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) geschützten AS in exzellenten Ausbeuten isoliert werden.^[330] Das sekundäre Amin kann nun durch einen nukleophilen Angriff am Carbonylkohlenstoff zu einer tricyclischen Spezies reagieren. Aufgrund der Ringspannung

und der Präsenz einer guten Abgangsgruppe findet die Ringöffnung unter Regeneration der Carboxygruppe der AS statt. Das intermediär gebildete Isoindolin-1-ol lagert sich dann zum stabileren Isoindolin-1-on (Phthalimidon) um. Die Bildung des Isoindolinol-Intermediats wird von Grigg et al.^[331] unterstützt, die während der Umlagerung eine diastereoselektive Protonierung beobachteten.

6.1.2. Kapillarelektrophoretische Methoden zur Derivatisierung von Aminosäuren mit *o*-Phthaldialdehyd

Für die Durchführung von Derivatisierungsreaktionen mit der CE werden in der Literatur verschiedene Strategien beschrieben.^[332] Nachfolgend wird auf diese Strategien genauer eingegangen, wobei der Fokus auf die Reaktion primärer Amine oder Aminosäuren mit *o*-Phthaldialdehyd gelegt wird.

Vorsäulen- und Nachsäulenderivatisierung

Die Derivatisierung von AS mit OPA erfolgt im Allgemeinen entweder vor oder nach der elektrophoretischen Trennung. Die Vorsäulenderivatisierung in der CE bietet den Vorteil, dass keinen zusätzlichen Umbauten an den Geräten ausgeführt werden müssen. Allerdings kann nur chargenweise in einem Offline-Modus gearbeitet werden, was für die Bestimmung reproduzierbarer Daten von Nachteil ist. Die Gruppe um Nowotny^[333] unternahm die ersten Versuche, OPA-derivatisierte Aminosäuren kapillarelektrophoretisch unter Verwendung normaler und mizellare Puffer in Anwesenheit organischer Modifier zu trennen. Die Derivatisierung erfolgte innerhalb von 1 – 2 min bei Raumtemperatur durch das Vermengen der Aminosäure mit OPA/2ME. Anschließend konnten die Mischungen der gebildeten Isoindolderivate in einem 50 mM Natriumacetatpuffer (pH = 9.15) getrennt werden, der 50 mM Natriumdodecylsulfat (SDS), 15 % Methanol und 1 % Tetrahydrofuran enthielt. Weitere Beispiele für die Vorsäulenderivatisierung finden sich in der Literatur.^[334-337]

Da die Isoindolderivate der AS eine geringere Stabilität als beispielsweise die Derivate von Dansylchlorid oder Fmoc aufweisen, kann es während der Derivatisierung oder der kapillarelektrophoretischen Trennung zu Zersetzungsprozessen kommen, so dass es unter Umständen schwierig ist, Resultate mit einem hohen Maß an Reproduzierbarkeit zu erzielen. Daher ist die Nachsäulenderivatisierung vorzuziehen. Hierbei wird der Trennsäule ein Reaktor nachgeschaltet, in dem die getrennten Analyten auf das Derivatisierungsreagenz treffen und zu detektierbaren Derivaten abreagieren. Schnelle Reaktionskinetiken, eine effiziente Vermischung von AS und OPA sowie eine möglichst geringe Peakverbreiterung

sind von essentieller Wichtigkeit für eine erfolgreiche Nachsäulenderivatisierung. Zumeist kommen spezielle Reaktoren zum Einsatz, in denen die AS nach ihrer Trennung mit dem Derivatisierungsreagenz vermischt werden. Als generelle Herausforderungen sind die Kontrolle der Flüsse und des Mischungsvorgangs sowie die Kompatibilität mit dem CE-System zu nennen. Jorgensen et al.^[338] entwarfen einen coaxialen Kapillarreaktor um das OPA/2ME-Reagenz und die getrennten, migrierenden AS ohne übermäßige Plugverbreiterung zu mischen und erreichten mit diesem System Detektionslimits im attomolaren Bereich. Die Gruppe von Zare^[339] konstruierte ein kreuzförmiges Verbindungsstück, mit dem mehrere Kapillaren verbunden werden können. Dieses zeichnet sich durch ein geringes Totvolumen aus, so dass es mit den in der CE verwendeten fused-silica Kapillaren kompatibel ist. Albin et al.^[340] beschrieben einen *gap-junction*-Reaktor, in dem die Kapillare durch eine Lücke mit einem Abstand $< 50 \mu\text{m}$ unterbrochen ist. Die Analyt-Plugs migrieren durch die Lücke und werden durch die elektrischen Feldlinien abgegrenzt, die sich über diese erstrecken. Orthogonal zur Lücke befindet sich ein Kanal, durch den das Derivatisierungsreagenz appliziert werden kann. Rose^[341] entwickelte einen *free-solution*-Reaktor, der aus einem Reservoir besteht, welches das OPA enthält und zugleich als kathodisches Reservoir während der kapillarelektrophoretischen Trennung dient. Nach der Reaktion können die fluorophoren OPA-Derivate kurz hinter der Kapillarspitze detektiert werden. Coble et al.^[342] berichten von einem *sheath-flow*-Nachsäulenreaktor, bei dem die *sheath*-Flüssigkeit das OPA/2ME-Reagenz enthält und den Eluenten beim Verlassen der Trennkapillare umhüllt. Schließlich wurden Verfahren beschrieben, bei denen der Zusatz des Derivatisierungsreagenz durch ein poröses Röhrchen erfolgt, welches die Trennkapillare mit der Reaktorkapillare verbindet.^[343]

Mikrochip-Kapillarelektrophorese für die OPA-Derivatisierung

Ramsey et al. verwendeten für die Derivatisierung von AS mit OPA einen CE-Mikrochip, auf dem die Derivatisierung sequentiell entweder vor^[344] oder nach^[345] der Trennung in einem kontinuierlichen Messmodus erfolgt (Abbildung 58). Mit photolithographischen Methoden und Ätzverfahren wurden Reservoirs für den Puffer, OPA sowie die AS auf die Glasträger aufgebracht, die durch kleine Kanäle miteinander verbunden sind ($5.2 \mu\text{m}$ tief, $57 - 45 \mu\text{m}$ breit). Der Fluss der Lösungen wird durch den elektroosmotischen Fluss (EOF) erzeugt und elektrisch kontrolliert, indem eine Spannung an den jeweiligen Kanal angelegt wird. Die Derivatisierung erfolgt an der Kreuzung der Kanäle, die sich entweder vor oder nach dem Trennkanal befindet.

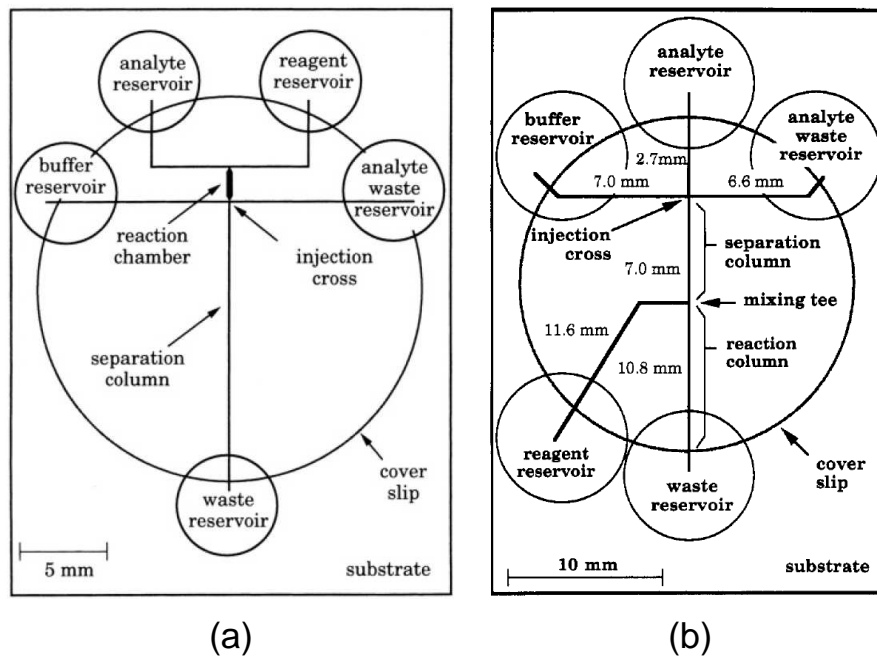


Abbildung 58: Schematische Darstellung von Mikrochips mit integrierten (a) Vorsäulenreaktor^[344] und (b) Nachsäulenreaktor^[345] für die kapillarelektrophoretische Derivatisierung von AS mit OPA.

On-column Derivatisierung

Obwohl OPA als Derivatisierungsreagenz in Vor- und Nachsäulenexperimenten in der CE eingesetzt wurde, konnte sich dieses Vorgehen nicht als Standardmethode durchsetzen. Auf der einen Seite setzt die empfindliche Vorsäulenderivatisierung eine präzise Arbeitsweise voraus und andererseits wird für die Nachsäulenderivatisierung ein spezieller Reaktor benötigt, der meist mechanisch anspruchsvoll ist und sich unter Umständen nur schwer installieren lässt. Darüber hinaus ist die Herstellung von CE-Mikrochips relativ aufwendig und kostenintensiv. Diese Probleme können umgangen werden, wenn die Derivatisierung und die Trennung der Reaktanden simultan in CE-Kapillaren durchgeführt werden. In der Literatur finden sich verschiedene Strategien, wie chemische Reaktionen und Trennungen in einem elektrophoretischen Reaktor kombiniert werden können.^[332]

In den 1990er Jahren beschrieben Zare und Mitarbeiter^[346] eine Methode, bei der das vordere Ende der Trennkapillare als Reaktionskammer fungiert. Hierbei wurden die Probe und das Derivatisierungsreagenz zunächst getrennt auf den Einlass der Kapillare gegeben. Die Vermischung der Substrate erfolgte durch das Stehenlassen über einen Zeitraum von mehreren Minuten. Nach der Beendigung der Reaktion wurde eine Spannung an die Kapillare angelegt, um Edukte und Produkte kapillarelektrophoretisch voneinander zu trennen. Die Gruppe von Honda^[347] verbesserte dieses Verfahren, indem die Proben und das

Derivatisierungsreagenz in einem Tandem- oder Sandwich-Modus nacheinander auf die Kapillare aufgebracht wurden (Abbildung 59). In den folgenden Jahren wurde diese Methode in zahlreichen Publikationen für die Analytik von AS, Peptiden, Arzneimitteln, Pflanzenschutzmitteln und Alkylaminen beschrieben.^[348-352]

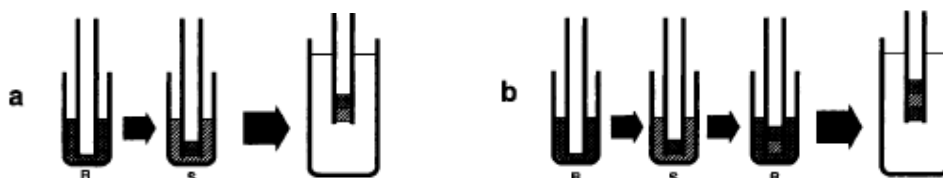


Abbildung 59: Schematische Darstellung der Injektion von Probe (S) und Derivatisierungsreagenz (R) auf die Kapillare in einem (a) Tandem-Modus und (b) einem Sandwich-Modus.^[347]

Oguri et al.^[353-356] entwickelten 1996 einen einfachen, selektiven und reproduzierbaren Ansatz für die Hochleistungskapillarelektrophorese, in welchem das Derivatisierungsreagenz dem Laufpuffer zugesetzt wurde. Die AS migrieren nach ihrer Injektion durch die Kapillare und werden durch die gleichzeitige Reaktion mit OPA im Puffer zu ihren Derivaten umgesetzt. Freie AS werden in diesem Ansatz während ihrer Migration durch die Kapillare automatisch derivatisiert, getrennt und detektiert (Abbildung 60).

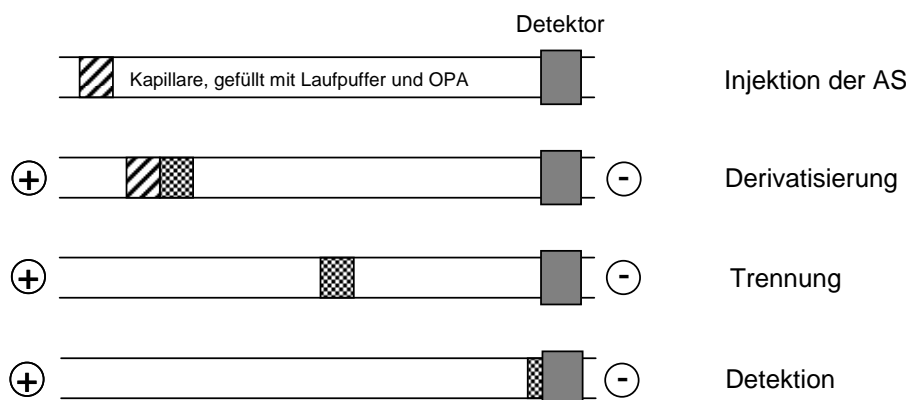


Abbildung 60: Derivatisierung von AS mit OPA nach Oguri.^[353-356]

Taga et al.^[357] kombinierten die Verfahren von Zare und Oguri. Die AS, der Laufpuffer und OPA wurden zunächst sukzessive auf das anodische Ende einer fused-silica Kapillare injiziert. Unmittelbar danach wurde eine Spannung an die beiden Enden der Kapillare angelegt, wodurch die Bildung der OPA-Derivate während der elektrokinetischen Migration erfolgte. Schließlich erfolgte die elektrophoretische Trennung von Edukten und dem Produkt während ihrer Migration durch die restliche Kapillare. Für die Reaktion von Phenylalanin mit OPA wurde die Geschwindigkeitskonstante gemäß einer Kinetik pseudo-erster Ordnung aus der zeitlichen Änderung der AS-Konzentration berechnet. Sie betrug $k = 8.83 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. Da die

Verbreiterung der Plugs während der Migration sowie die Überlappung der Peaks bei der Reaktion in dieser Kalkulation nicht berücksichtigt wurde, kann k allenfalls als Richtwert angesehen werden. Detaillierte Studien zur Bestimmung der Kinetik mit der ocRCE sind daher nötig.

6.1.3. Zielsetzung

In diesem Kapitel wird die Derivatisierung von Aminosäuren mit *o*-Phthaldialdehyd zu Phthalimidonen mit der on-column Reaktionskapillarelektrophorese untersucht, um kinetische Daten für diese Reaktion zu berechnen (Abbildung 61).

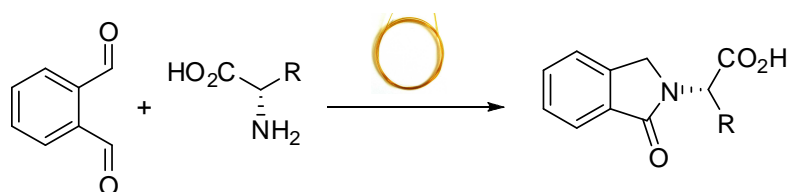


Abbildung 61: Reaktion von OPA und *L*-Aminosäuren zu Phthalimidonen.

Zunächst wird die Reaktion in Offline-Experimenten verfolgt und die jeweiligen Signale aus den gemessenen Elektropherogrammen zugeordnet. Werden die beiden Substrate, die im elektrischen Feld verschiedene Migrationsgeschwindigkeiten aufweisen, sukzessive auf die fused-silica Kapillare injiziert, findet die Reaktion aufgrund der Überlappung der Eduktplugs in der Kapillare statt. Dieses Vorgehen integriert die Derivatisierungsreaktion sowie die Trennung von OPA, AS und Produkten in einem elektrophoretischen Reaktor. Durch systematische Variation beider Eduktkonzentrationen (1, 2, 4, 8, 16 mM) ergibt sich eine 5×5 Messmatrix. Aus den gemessenen Elektropherogrammen können Umsätze sowie Ausbeuten berechnet und anhand dieser Daten Rückschlüsse auf den Reaktionsmechanismus gezogen werden. Die Erstellung von Massenbilanzen ermöglicht darüber hinaus die Quantifizierung von Nebenprodukten.

Die Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten k_2 mit einer Kinetik zweiter Ordnung ist aus den experimentellen Daten nicht direkt möglich. Es wird daher das Computerprogramm ocRCXplorer vorgestellt, mit dem Elektropherogramme auf Grundlage des theoretischen Bodenmodells durch Vorgabe verschiedener Werte für k_2 simuliert werden können. Als Dateninput dienen, neben den Geschwindigkeitskonstanten, die Messbedingungen sowie die experimentellen Daten aus den ocRCE-Elektropherogrammen. Daneben kann k_2 auch iterativ aus den eingegebenen Daten bestimmt werden.

6.2. Ergebnisse und Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Derivatisierung von verschiedenen *L*-Aminosäuren mit OPA mittels kapillarelektrophoretischer Methoden untersucht. Zunächst erfolgte die Quantifizierung unbekannter Edukt- und Produktkonzentrationen (c_i) anhand externer Kalibriermessungen. Dazu wurden Lösungen definierter Konzentration (0.5 – 16.0 mM) der jeweiligen AS, von OPA sowie des Produkts unter Zusatz von 4-Hydroxyacetophenon als internen Standard (IS) bei Temperaturen von 15 °C bis 55 °C in Schritten von 10 K mit der MEKC gemessen. Als Elektrolyt kam ein 20 mM Natriumtetraborat Puffer mit einem pH-Wert von 9.15 zum Einsatz, welcher 50 mM Natriumdodecylsulfat als Selektor enthielt.

Durch Auftragung der korrigierten Peakflächen (A_{IS}/A_i) gegen die injizierten Stoffmengen n_i und anschließender linearer Regression konnten Kalibriergeraden mit Korrelationsfaktoren von 0.977 bis 0.995 erhalten werden, mit deren Hilfe unbekannte Konzentrationen ermittelt werden können. In Abbildung 62 sind exemplarisch die Elektropherogramme sowie Kalibriergeraden für *o*-Phthaldialdehyd (3.67 min), *L*-Phenylalanin (4.37 min) und *L*-Phenylalanin-Phthalimidon (5.17 min) bei 45 °C dargestellt.

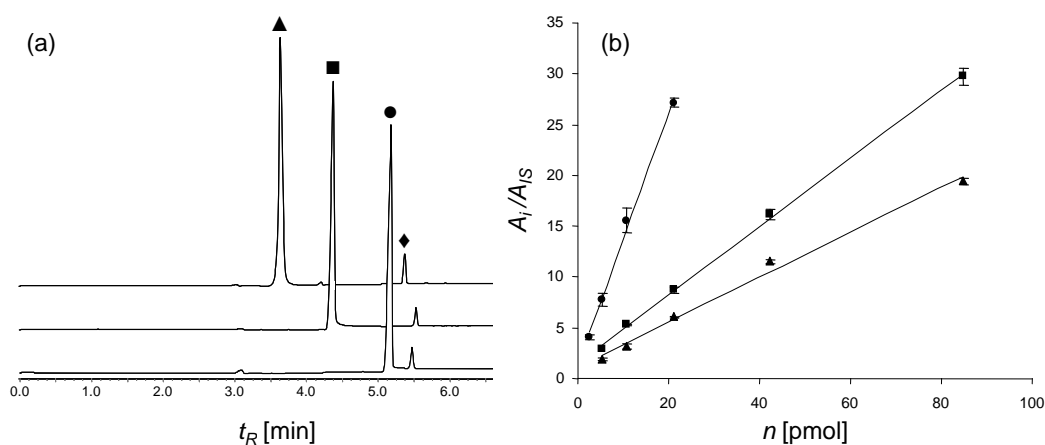


Abbildung 62: (a) Elektropherogramme und (b) Kalibriergeraden für die Kalibriermessungen von OPA (▲), *L*-Phenylalanin (■) und *L*-Phenylalanin-Phthalimidon (●) bei 45 °C. 4-Hydroxyacetophenon (◆) wurde als IS zugesetzt.^[3]

Aus den Kalibriergeraden wird ersichtlich, dass sich die Peakflächen der Substrate bei gleicher Konzentration deutlich voneinander unterscheiden. Da ein Diodenarraydetektor (DAD) verwendet wurde, ist dies mit den unterschiedlichen Extinktionskoeffizienten der Substrate zu begründen. Besonders das Produkt *L*-Phenylalanin-Phthalimidon zeichnete sich in den Elektropherogrammen durch hohe Peakintensitäten aus.

^[i] Es ist zu beachten, dass die Substratpeaks in Abbildung 62a auf eine einheitliche Höhe normiert sind.

6.2.1. Reaktion von *o*-Phthaldialdehyd und *L*-Aminosäuren in Offline-Experimenten

Die Reaktion von OPA mit den drei AS *L*-Phenylalanin (Phe), *L*-Tyrosin und *L*-Histidin wurde zunächst in Offline-Experimenten durchgeführt. Hierzu wurden Lösungen der jeweiligen AS und OPA in äquimolaren Mengen (20 mM) unter Zusatz von Essigsäure in ein Probenvial pipettiert und die Reaktion bei Raumtemperatur durch wiederholte Injektion der Reaktionsmischung über einen Zeitraum von 12 h mit der MEKC als analytische Messmethode verfolgt ($T = 25\text{ °C}$). In Abbildung 63 sind die Elektropherogramme unmittelbar nach Beginn der Reaktion sowie nach 12 h Reaktionszeit dargestellt. Die Reaktion läuft bei Raumtemperatur so schnell ab, dass bereits bei der ersten Messung unmittelbar nach der Vermischung der Substrate neben den Eduktpeaks weitere Signale detektiert wurden. Die Edukte sowie das synthetisierte *L*-Phenylalanin-Phthalimidon konnten anhand ihrer UV-Spektren identifiziert werden. Da jedoch in den Elektropherogrammen für alle drei AS mehr als drei Peaks (2 x Edukt, 1 x Produkt) detektiert wurden, müssen neben den erwarteten Produkten auch stabile Intermediate und/oder weitere Nebenprodukte entstanden sein.

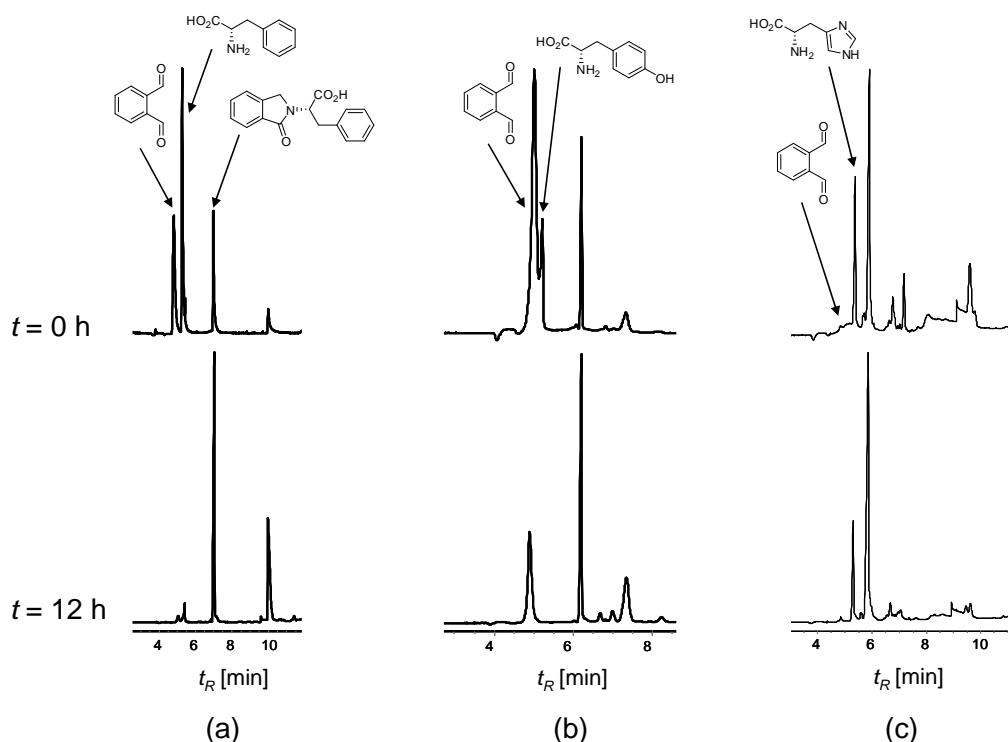


Abbildung 63: Elektropherogramme für die Offline-Reaktion von OPA mit (a) *L*-Phenylalanin, (b) *L*-Tyrosin und (c) *L*-Histidin unter Zusatz von Essigsäure.

Die Identifikation der unbekanntenen Signale gestaltete sich jedoch schwierig, da anhand der aufgenommenen UV-Spektren des DAD keine eindeutige Zuordnung möglich war. Daher

wurden andere Identifikationsverfahren hinzu gezogen. Das Agilent ^{3D}CE System bietet die Option, Fraktionen des Eluenten in genau definierten Zeitfenstern zu sammeln. Im Anschluss daran können diese Proben mit externen Analysemethoden identifiziert werden. Das unbekannte Nebenprodukt der Umsetzung von *L*-Phenylalanin mit OPA (Abbildung 63a) wurde daher hydrodynamisch vom Eluenten getrennt, in einem separaten Vial gesammelt und mit der Massenspektrometrie untersucht. Leider konnte in den ESI-Massenspektren ausschließlich der dem Laufpuffer zugesetzte Mizellbildner SDS detektiert werden, der alle anderen Signale überlagerte. Exemplarisch wurden methanolische Lösungen von OPA, *L*-Phenylalanin und des Gemisches beider Substrate mit einem Flüssigchromatographen analysiert. Da dieses Gerät zusätzlich zum DAD auch an ein Massenspektrometer gekoppelt war, sollten die unbekanntes Verbindungen über den Vergleich mit den aus den CE-Messungen bekannten UV-Spektren einer Masse zugeordnet werden. Wider Erwarten unterschieden sich jedoch die mit der HPLC gemessenen UV-Spektren der beiden Edukte deutlich von denen mit der CE aufgenommenen. Die Ursache hierfür ist in den unterschiedlichen Messbedingungen bei beiden Methoden zu suchen: Während bei den HPLC-Messungen methanolische Substratlösungen verwendet wurden, kam in dem MEKC-Experimenten ein Natriumtetraborat-Puffer zum Einsatz, der SDS als Selektor enthielt. Möglicherweise beeinflusst diese mizellare Umgebung die Extinktion der Substrate im UV.

Nach einer Reaktionszeit von 12 h hatte die Intensität aller Eduktsignale deutlich abgenommen, was auf ein Fortschreiten der Reaktion hindeutete. Auch die Zunahme der Peakhöhen des *L*-Phenylalanin-Phthalimidons (Abbildung 63a, ca. 7 min) bestätigen dies. Da die Intensität der Signale bei 6.2 min (Abbildung 63b) und 5.8 min (Abbildung 63c) ebenfalls zunahm, handelt es sich vermutlich um das *L*-Tyrosin-Phthalimidon und das *L*-Histidin-Phthalimidon. Da die Reaktion von *L*-Phenylalanin und OPA nach 12 h am weitesten fortgeschritten war – abzulesen am fast vollständigen Umsatz der Edukte – und bei dieser Reaktion die wenigsten Nebenprodukte detektiert worden waren, beschränkten sich die nachfolgenden Experimente ausschließlich auf diese Reaktion.

Exemplarisch wurden die beobachteten Peakflächen der Edukte, Produkte und des unbekanntes Nebenprodukts gegen die Reaktionszeit aufgetragen (Abbildung 64). Demnach nahmen die Peakflächen der Edukte ab und die der Produkte entsprechend zu. Nach 43 h wurden die Messungen abgebrochen, da keine signifikanten Änderungen der Peakflächen mehr festzustellen waren. Bereits nach der ersten Messung konnten die Produkte detektiert werden, was auf eine schnelle Reaktion hindeutet.

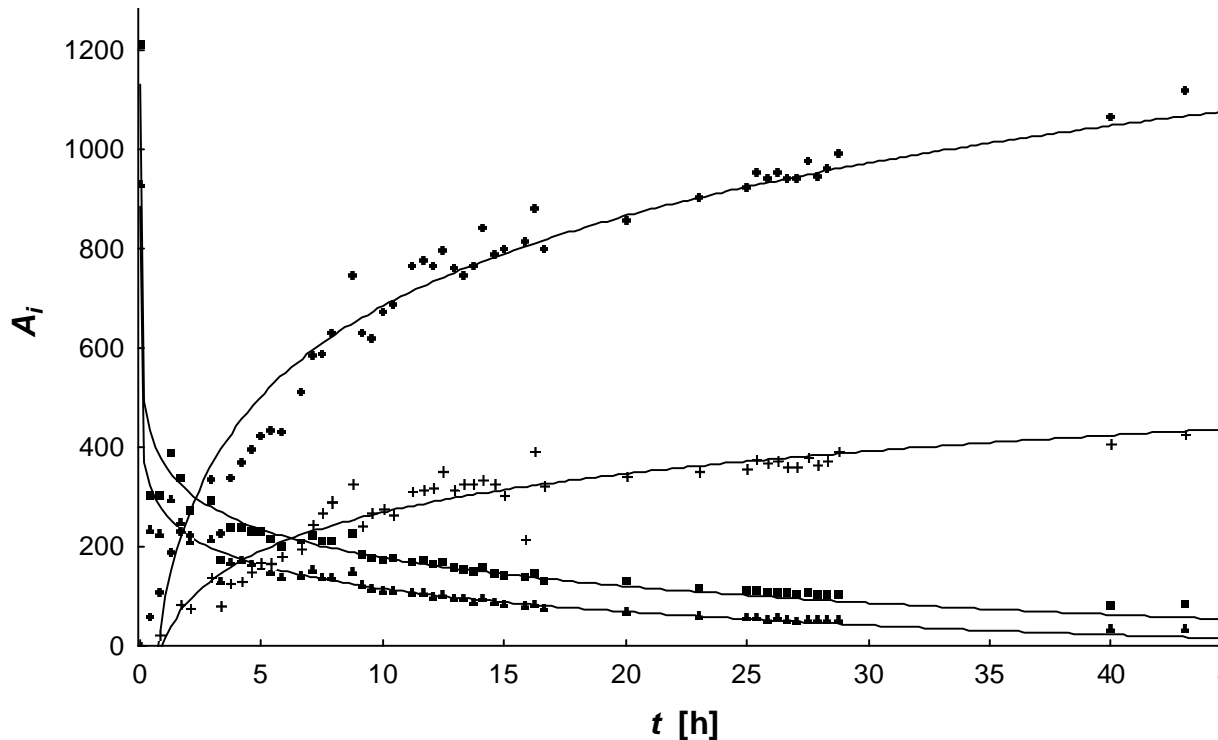


Abbildung 64: Zeitlicher Verlauf der Reaktion von OPA (▲) und Phe (■) zu L -Phenylalanin-Phthalimidon (●) und einem unbekanntem Nebenprodukt (+) unter HOAc-Zusatz ($T = 25\text{ °C}$).

OPA und L -Phenylalanin wurden in den Offline-Experimenten in äquimolaren Mengen eingesetzt, so dass die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante k_2 entsprechend der Gleichung 9 (Seite 25) berechnet werden konnte. Da die Konzentrationen direkt proportional zu den Peakflächen sind, wurde $1/A_{\text{Edukt}}$ gegen t unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Extinktion der Edukte aufgetragen. Aufgrund der raschen Reaktion wurden für die Berechnung von k_2 die ersten 10 Messpunkte berücksichtigt. Nach linearer Regression ergab sich k_2 aus der Steigung mit einem Vertrauensbereich von 95 % für L -Phenylalanin zu $k_{\text{phe}} = 3 \cdot 10^{-3} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ und für o -Phthaldialdehyd zu $k_{\text{OPA}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

Die Menge des unbekanntem Nebenprodukts (Abbildung 63a) kann aus der Differenz der Summe injizierter Eduktstoffmengen n_{inj} minus der Summe detektierter Edukt- bzw. Produktstoffmengen n_{det} im ocRCE-Elektropherogramm berechnet werden. Sollten mehrere Nebenprodukte detektiert werden, ist mit diesem Verfahren die Summe ihrer Stoffmengen berechenbar. Es ist zu beachten, dass bei der Berechnung der Stoffmengen die des Produkts doppelt gewichtet wurde, da je zwei Eduktmoleküle zu einem Produktmolekül abreagieren. Zu den jeweiligen Reaktionszeiten ergaben sich die in Tabelle 13 dargestellten Massenbilanzen.

Tabelle 13: Massenbilanzen zur Berechnung der Stoffmengen des Nebenprodukts.

<i>t</i> [h]	<i>n_{inj}</i> [pmol]		<i>n_{det}</i> [pmol]			<i>n</i> [pmol]
	OPA	Phe	OPA	Phe	Prod	
0.4	31.38	31.38	7.68	8.97	0.78	45.33
4.2	31.38	31.38	5.45	6.86	5.21	45.24
8.8	31.38	31.38	4.65	6.51	10.41	41.19
12.9	31.38	31.38	3.23	4.57	11.02	43.39
16.7	31.38	31.38	2.42	3.87	11.28	45.18
20.0	31.38	31.38	2.22	3.69	12.15	44.69

Entsprechend Abbildung 64 nahmen die Stoffmengen der Edukte im Reaktionsverlauf ab und die des gewünschten Produkts zu, wobei sich die Peakfläche des Nebenprodukts (+) nach etwa 8 h nicht mehr veränderte. Aus der Massenbilanz wurde jedoch ersichtlich, dass die Menge der Nebenprodukte in ihrer Summe über den gesamten Zeitraum etwa gleich groß ist. Zu Beginn der Reaktion gehen in diese Bilanz daher vermehrt Intermediate ein, die im weiteren Reaktionsverlauf entweder zu den Edukten zurück reagieren oder weiter zu den Produkten umgesetzt werden. Weiterhin zeigte Tabelle 13, dass nach 8 h etwa zwei Drittel der Moleküle (41 – 45 pmol) zum unbekanntem Nebenprodukt umgesetzt worden sind. Dieses muss bei der gemessenen Wellenlänge ($\lambda = 210$ nm) einen größeren Extinktionskoeffizienten als das *L*-Phenylalanin-Phthalimidon aufweisen, da die Peakfläche des Nebenprodukts in den beobachteten Chromatogrammen deutlich kleiner war. Da für die unbekannte Substanz eine deutlich längere Migationszeit als für das Phthalimidon beobachtet wurde (Abbildung 63a), weist diese vermutlich eine größeren molaren Masse auf. Möglicherweise handelt es sich um das Diimin oder eines der Folgeprodukte (Abbildung 65). Diese können bei der Reaktion von OPA mit zwei Äquivalenten AS entstehen.

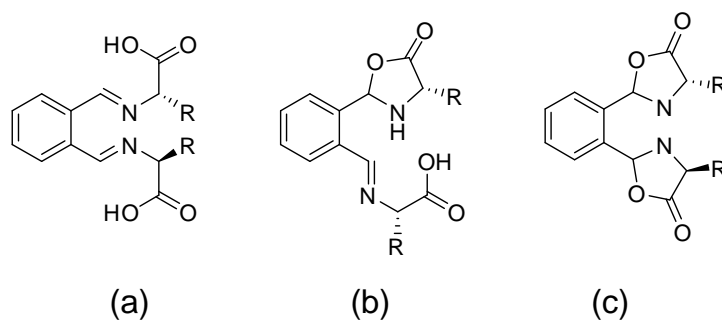


Abbildung 65: Mögliche Nebenprodukte: (a) Diimin, (b) Imin-Oxazolidinon und (c) Bis-Oxazolidinon.

Um den Einfluss des Essigsäurezusatzes auf die Reaktion zu untersuchen, wurde in einem weiteren Experiment die Umsetzung von OPA und Phe ohne den Zusatz von Essigsäure offline mit der MEKC verfolgt. In den Elektropherogrammen wurde – neben den bekannten Signalen für die Edukte sowie das Produkt – eine Vielzahl von Peaks detektiert, bei denen es sich wahrscheinlich um Nebenprodukte oder stabile Intermediate handelt, die jedoch aus oben genannten Gründen nicht identifiziert werden konnten (Abbildung 66).

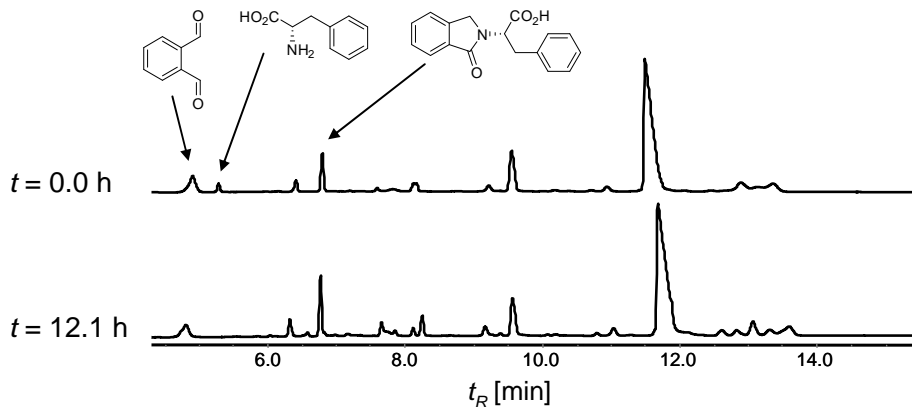


Abbildung 66: Elektropherogramme für die Offline-Reaktion von OPA mit *L*-Phenylalanin ohne den Zusatz von Essigsäure.

Die Ursache für das vermehrte Auftreten von stabilen Intermediaten und Nebenprodukten ist im Reaktionsmechanismus (Abbildung 57, Seite 99) zu suchen. Die Bildung des Monoimins erfolgt durch den nucleophilen Angriff des Stickstoffs der AS an einem Carbonylkohlenstoff des OPA und die anschließende Abspaltung von Wasser. Dieser Prozess wird durch den Zusatz von Essigsäure beschleunigt, wobei die katalysierende Wirkung der Säure umso stärker ist, je schwächer nucleophil die Aminogruppe ist. Ähnliches gilt für den zweiten und dritten Schritt in Abbildung 57, die aufgrund der Protonierung am Stickstoff ebenfalls schneller ablaufen. Wird auf den Zusatz von Essigsäure verzichtet, verläuft Reaktion entsprechend langsamer, so dass möglicherweise stabile Intermediate entstehen oder alternative Reaktionspfade favorisiert werden, wie z.B. die Bildung eines Diimins, Imin-Oxazolidinons oder Bis-Oxazolidinon (Abbildung 65).

Da auf den Zusatz von Essigsäure zur Reaktionslösung verzichtet wurde, fand die Reaktion von OPA und *L*-Phenylalanin im basischen Borat-Puffer bei einem pH-Wert von 9.15 statt. Die pK-Werte^[358] für *L*-Phenylalanin betragen 1.83 für die Säuregruppe bzw. 9.13 für die Aminofunktionalität, so dass Phe unter Umständen in der deprotonierten, basischen Form vorlag. Eine Vielzahl von Nebenreaktionen ist daher vorstellbar, wie z.B. eine Disproportionierung des *o*-Phthaldialdehyds (Cannizzaro-Reaktion).

6.2.2. Reaktion von *o*-Phthaldialdehyd und *L*-Phenylalanin in on-column reaktionskapillarelektrophoretischen Experimenten

Da die Migrationszeiten die Reihenfolge der Injektionen festlegen, wurden diese aus den Kalibriermessungen ermittelt. Für *L*-Phenylalanin wurde bei $T = 45\text{ °C}$ eine Migrationszeit von $t_R = 4.37\text{ min}$, für *o*-Phthaldialdehyd von $t_R = 3.67\text{ min}$ festgestellt. Entsprechend Gleichung 14 (Seite 32) weist Phe eine geringere Migrationsgeschwindigkeit auf und wurde deswegen in den ocRCE-Experimenten zuerst injiziert (Abbildung 67).

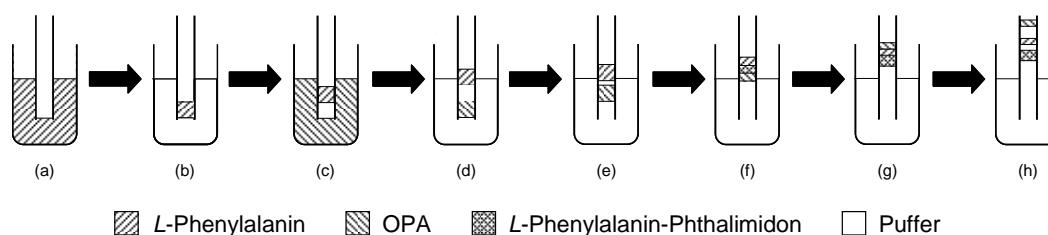


Abbildung 67: Schematisches Vorgehen der ocRCE: (a) Injektion von Phe. (b) Spülen mit Puffer. (c) Injektion von OPA. (d-h) Anlegen einer Spannung und elektrokinetische Migration der Edukte. (f-g) Überlappung der Eduktplugs und Reaktion zu *L*-Phenylalanin-Phthalimidon. (h) Trennung.

In einem ersten Versuch konnte das in Abbildung 68 gezeigte Elektropherogramm aufgezeichnet werden. Da OPA trotz der späteren Injektion vor Phe eluiert wurde, muss der OPA-Plug während der Messung in der Kapillare durch den des *L*-Phenylalanins gewandert sein. Die Reaktion beider Edukte sollte daher während der Messung stattgefunden haben. Tatsächlich konnte das Produkt bei $t_R = 4.91\text{ min}$ identifiziert werden. Da beiden Eduktlösungen 4-Hydroxyacetophenon als interner Standard zugesetzt worden war, wurden zwei Peaks für den IS detektiert. Schließlich wurden weitere Peaks detektiert, die mit dem an das Agilent ^{3D}CE System angeschlossenen DAD nicht identifiziert werden konnten.

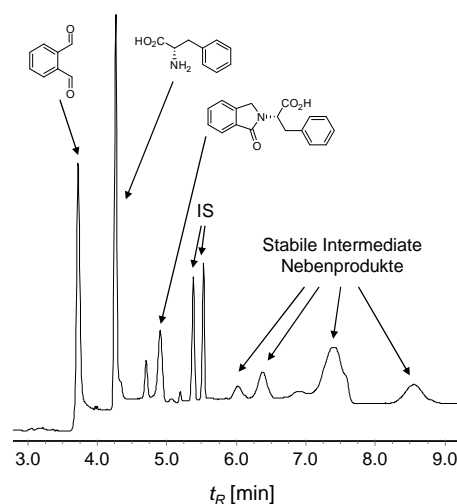


Abbildung 68: OcrCE-Elektropherogramm von *L*-Phenylalanin und OPA.

Wartezeiten, so dass die beobachtete Migrationszeiten von Phe und dem jeweiligen internen Standard kürzer war.

Der Unterschied der Migrationszeit für den IS Δt_R^{IS} korreliert mit der entsprechenden Wartezeit. So betragen die Migrationszeiten des IS bei einer Wartezeit von 15 Sekunden 5.43 bzw. 5.54 min ($\Delta t_R^{IS} = 6.5$ s) und bei einer 90sekündigen Wartezeit 4.93 bzw. 5.55 min ($\Delta t_R^{IS} = 37.6$ s). Die beobachteten Unterschiede in den Retentionszeiten sind kleiner als die tatsächliche Wartezeiten, da in dieser Zeitspanne keine elektrokinetische Migration stattfand, sondern *L*-Phenylalanin und der IS hydrodynamisch mit einer geringeren Geschwindigkeit durch die Kapillare gespült wurden (nähere Beschreibung in Kapitel 3.4.3).

Bei kurzen Wartezeiten konnten das Produkt und die Edukte voneinander getrennt werden, weil die Reaktion zu einem frühen Zeitpunkt in der Kapillare stattfand und die Trennung der Reaktanden im restlichen Kapillarabschnitt erfolgte. Dagegen konnten OPA, *L*-Phenylalanin und *L*-Phenylalanin-Phthalimidon bei längeren Wartezeiten nicht mehr getrennt werden. Daneben kam es zu einer deutlichen Peakverbreiterung sowie bei Wartezeiten von über 90 s zu einer unvollständigen Durchwanderung der Eduktplugs. Aus diesen Gründen wurde eine Wartezeit von 20 s zwischen beiden Injektionen als optimal erachtet.

Konzentrationsabhängige Messungen – 5 × 5 Matrix

Für die ocRCE-Experimente wurden konzentrationsabhängige Messungen vorgenommen: Die Eduktlösungen wiesen fünf verschiedene Konzentrationen von jeweils 1 bis 16 mM auf und waren jeweils mit 0.5 mM 4-Hydroxyacetophenon als IS versetzt. Jede der OPA-Lösungen wurde mit den Phe-Lösungen zur Reaktion gebracht, so dass eine 5 × 5 Messmatrix resultierte. Da alle Messungen jeweils in dreifacher Wiederholung durchgeführt wurden, ergab sich eine Anzahl von 75 Experimenten. Abhängig von den injizierten Konzentrationen wurden deutlich unterschiedliche Elektropherogramme aufgezeichnet (Abbildung 70). Bei der Injektion äquimolarer Eduktkonzentrationen wurden mehrere Nebenprodukte detektiert. Erfolgte dagegen die Injektion von OPA im Überschuss (16 mM OPA und 1 mM Phe) wurden ausschließlich die Edukte, das Phthalimidon sowie der IS detektiert (Abbildung 70a, unten). Die ocRCE-Derivatisierung von Phe mit OPA im Unterschuss (1 mM OPA und 16 mM Phe) führte zur Bildung von Nebenprodukten, die im Elektropherogramm bei Retentionszeiten größer als 6.0 min beobachtet wurden (Abbildung 70b, ganz unten). Vermutlich handelt es sich um das Diimin oder eines seiner Folgeprodukte.

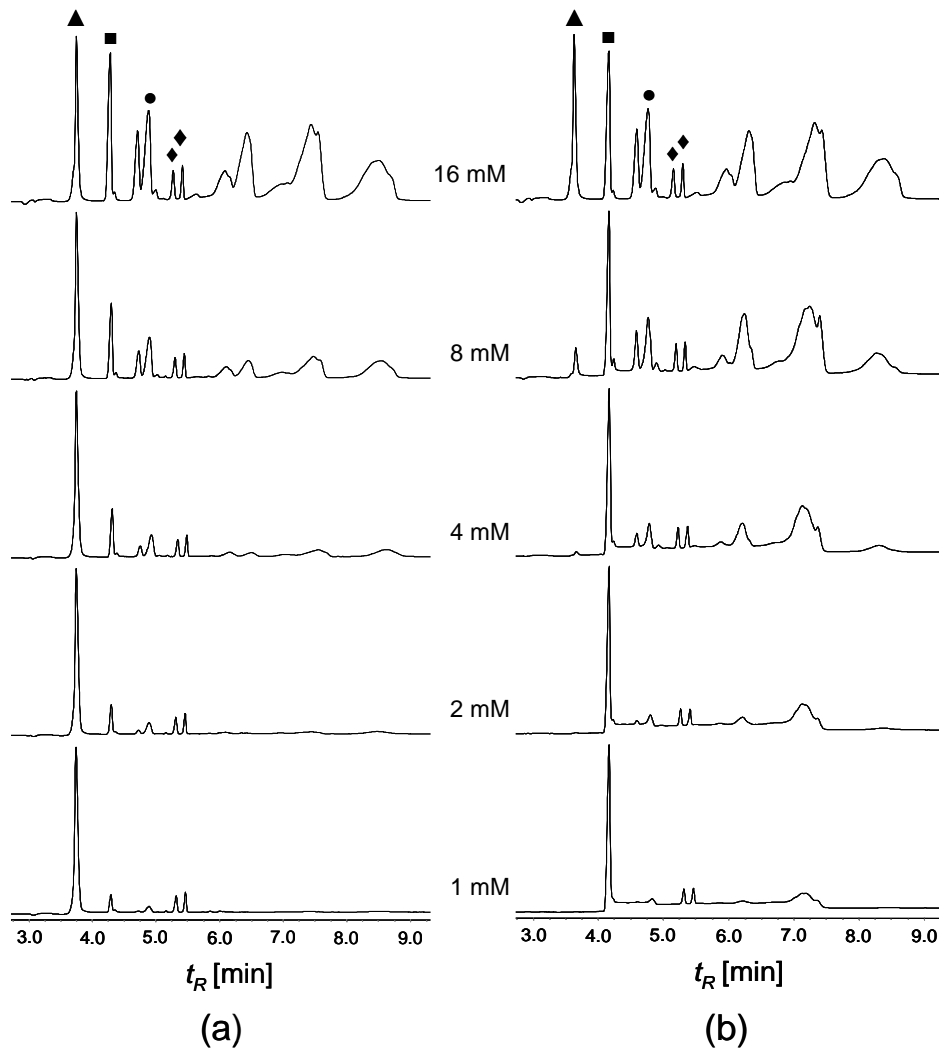


Abbildung 70: Elektropherogramme der ocRCE-Reaktion von OPA (▲) mit Phe (■) zu *L*-Phenylalanin-Phthalimidon (●) bei verschiedenen Substratkonzentrationen: (a) 16 mM OPA reagiert mit 16 – 1 mM Phe. (b) 16 mM Phe reagiert mit 16 – 1 mM OPA ($T = 45\text{ }^{\circ}\text{C}$, Wartezeit 20 s, 4-Hydroxyacetophenon als IS (◆)).

Aus den Elektropherogrammen konnten die Umsätze von OPA und *L*-Phenylalanin X_i sowie die Ausbeute an *L*-Phenylalanin-Phthalimidon Y_i berechnet werden. Es ergaben sich dreidimensionale Datensets (Abbildung 71). Je nach Ausgangskonzentration der Edukte wurden zwischen 19 und 78 % *L*-Phenylalanin bzw. zwischen 4 und 100 % OPA umgesetzt. Die höchsten Umsätze für *L*-Phenylalanin und OPA konnten in den Messungen festgestellt werden, in denen *L*-Phenylalanin in hohen Ausgangskonzentrationen und im Überschuss auf die Kapillare injiziert worden war. Möglicherweise indiziert dies wiederum die Umsetzung von einem Molekül OPA und zwei Molekülen Phe zum Diimin bzw. dessen Folgeprodukten. Dafür spricht auch, dass die Phthalimidon-Ausbeuten bei hohen OPA-Konzentrationen am größten waren und mit abnehmender *L*-Phenylalaninkonzentration anstiegen. Die Ausbeuten betragen maximal 18 %.

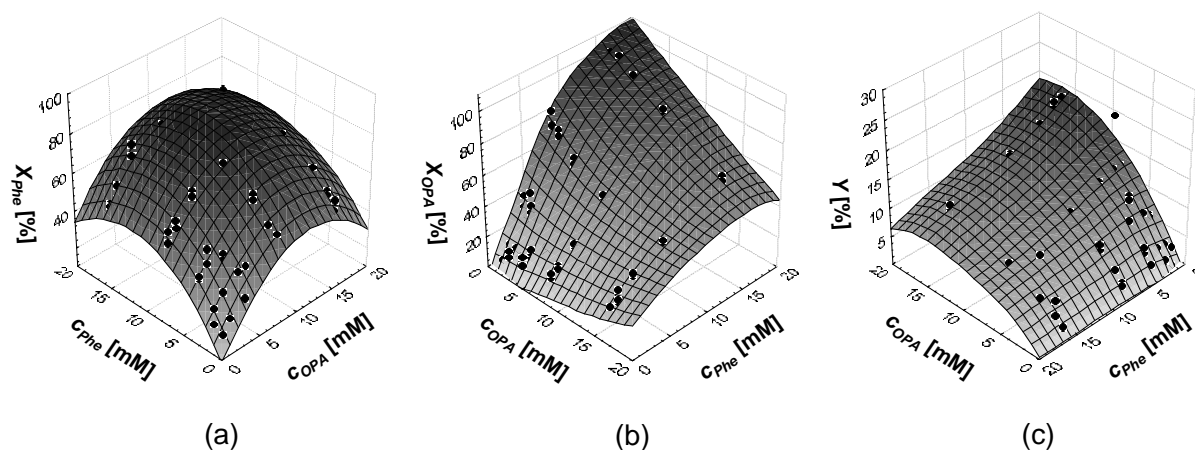


Abbildung 71: 3D-Auftragung der Umsätze von (a) Phe und (b) OPA sowie (c) der Ausbeute an *L*-Phenylalanin-Phthalimidon gegen die jeweilig injizierten Eduktkonzentrationen bei 45 °C.

Temperaturabhängige Messungen der 5×5 Matrix

Um den Einfluss der Temperatur auf die Umsätze und Ausbeuten zu untersuchen, wurden die ocRCE-Experimente mit der beschriebenen Messmatrix bei Temperaturen von 15 – 55 °C in Schritten von 10 K durchgeführt. Bei höheren Temperaturen wurden kürzere Migrationszeiten und schmale, scharfe, basisliniengetrennte Peaks beobachtet (Abbildung 73, Seite 116). Trotz der geringeren Migrationszeit und der entsprechend kürzeren Überlappung der Eduktplugs in der Kapillare nahm die Intensität des Produktpeaks bei höheren Temperaturen zu. Dies spiegelt sich auch in den Umsätzen und Ausbeuten wider, die mit steigender Temperatur ebenfalls zunahmten. Beispielsweise stieg die Ausbeute an *L*-Phenylalanin-Phthalimidon von maximal 3 % bei 15 °C auf bis zu 25 % bei 55 °C an (Abbildung 72). Die Peakflächen des IS blieben bei allen Temperaturen gleich groß und zeigen, dass deren Intensität unabhängig von der Messtemperatur ist.

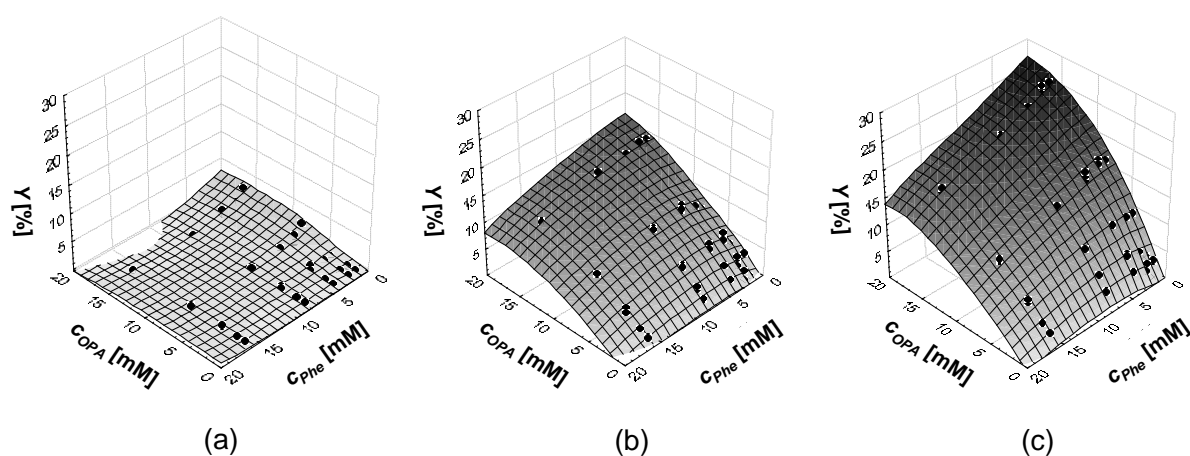


Abbildung 72: Ausbeuten an *L*-Phenylalanin-Phthalimidon bei (a) 15 °C, (b) 35 °C und (c) 55 °C.

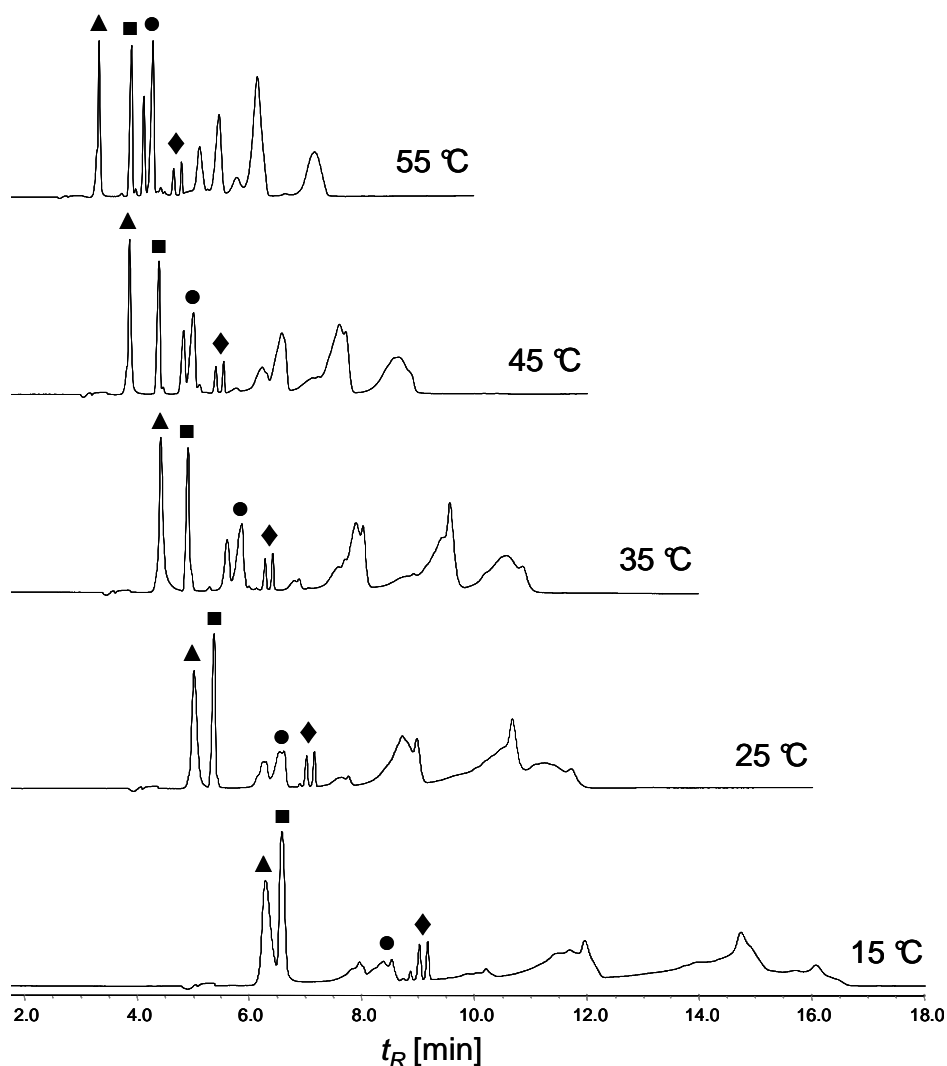


Abbildung 73: Elektropherogramme der ocRCE von 16 mM OPA (▲) und 16 mM Phe (■) zu *L*-Phenylalanin-Phthalimidon (●) bei verschiedenen Temperaturen (20 s Wartezeit, 4-Hydroxyacetophenon als IS (◆)).

6.2.3. Bestimmung von Geschwindigkeitskonstanten und Aktivierungsparametern aus den on-column reaktionskapillarelektrophoretischen Experimenten

Mit dem Computerprogramm ocRCXplorer wurden Elektropherogramme durch die Vorgabe verschiedener Geschwindigkeitskonstanten simuliert oder iterativ berechnet (Kapitel 3.4.3). Als Rechengrundlage für die Simulation dienten die jeweiligen Messbedingungen sowie die tatsächlich gemessenen Daten aus den ocRCE-Experimenten. Der direkte Vergleich der simulierten Elektropherogramme mit dem experimentellen Elektropherogramm lieferte bei einer Übereinstimmung die tatsächliche Reaktionsgeschwindigkeitskonstante.

Es ist wichtig zu verstehen, dass Nebenreaktionen ($A + B \rightarrow D$) oder die Ausbildung stabiler Intermediate die Kinetik beeinflussen, da diese Prozesse zu einem zusätzlichen Verbrauch von A oder B führen können. Die Konzentrationen c_A und c_B zu einem beliebigen Zeitpunkt sind dann nicht nur von der zu untersuchenden Reaktion $A + B \rightarrow C$ abhängig.

Das Programm ocRCXplorer berücksichtigt die Abreaktion von A und B aufgrund von Nebenreaktionen nicht, so dass die Simulation auf Grundlage der Reaktionsgleichung $A + B \rightarrow C$ erfolgt. Es wurden daher die Reaktionen simuliert, in deren experimentellen ocRCE-Elektropherogrammen neben den Signalen für die nicht umgesetzten Edukte, für das Produkt *L*-Phenylalanin-Phthalimidon sowie für den IS keine weiteren Peaks beobachtet worden waren. Dies trifft auf die Umsetzung von 16 mM OPA mit 1 mM *L*-Phenylalanin bei den verschiedenen Messtemperaturen zu (Abbildung 74).

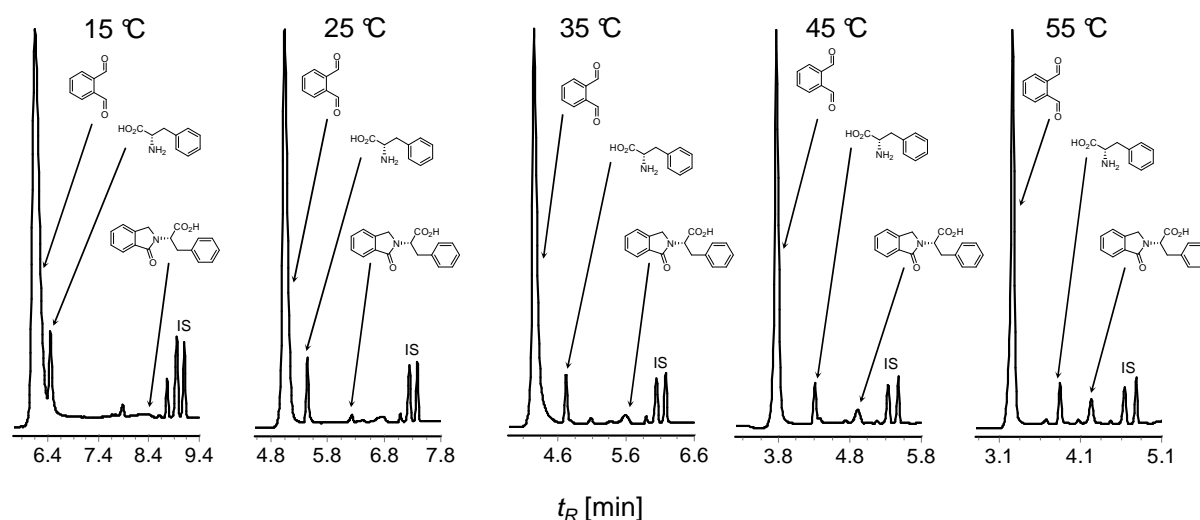


Abbildung 74: Experimentelle ocRCE-Elektropherogramme der Reaktion von 16 mM OPA mit 1 mM Phe.

Für das Phasenverhältnis β im benutzten Messpuffer, der 50 mM SDS als Selektor enthält, wurde ein Wert von 0.01 berechnet. Terabe et al.^[359] berichten, dass sowohl die Temperatur als auch der Puffer die Werte für die kritische Mizellbildungskonzentration und das partielle Molvolumen des Selektors SDS kaum beeinflussen. In die Benutzeroberfläche des Programms ocRCXplorer wurde daher bei allen Temperaturen ein Wert von 100 für „ V_{mob}/V_{stat} “ eingesetzt.

Exemplarisch erfolgte die Simulation der Elektropherogramme zunächst bei einer Temperatur von 45 °C. Die Überlagerung der Peaks von *o*-Phthaldialdehyd und *L*-Phenylalanin während der Wanderung durch die Kapillare sowie die damit verbundene Bildung des Produkts konnten mit dem Programm ocRCXplorer graphisch dargestellt werden. Abbildung 75 zeigt

den Fortschritt der Simulation zu unterschiedlichen Zeitpunkten t in den jeweiligen theoretischen Trennböden N , in der auch die Verbreiterung der Eduktplugs während der Migration berücksichtigt ist. So erstreckte sich beispielsweise der OPA-Plug zum Zeitpunkt t_1 über etwa 900 theoretische Böden und verbreiterte sich während der Verweilzeit in der Kapillare auf über 4000.

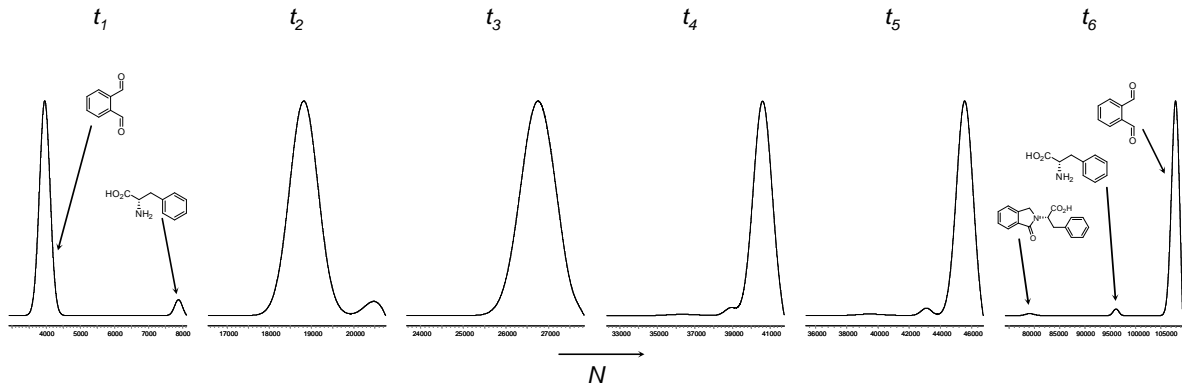


Abbildung 75: Zeitlicher Verlauf der simulierten Peakwanderung von 16 mM OPA und 1 mM Phe.

Durch Vorgabe von Geschwindigkeitskonstanten mit Werten von $k_2 = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ bis $k_2 = 8 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ wurden Elektropherogramme simuliert, die sich in der Intensität der Eduktpeaks und des Produktpeaks unterschieden (Abbildung 76). Wurden größere Werte für k_2 eingesetzt, konnte unter identischen Messbedingungen aufgrund der schnelleren Reaktion mehr Produkt in den simulierten Elektropherogrammen beobachtet werden. Dies äußerte sich in höheren Peakflächen für das *L*-Phenylalanin-Phthalimidon im Vergleich zu den Edukten.

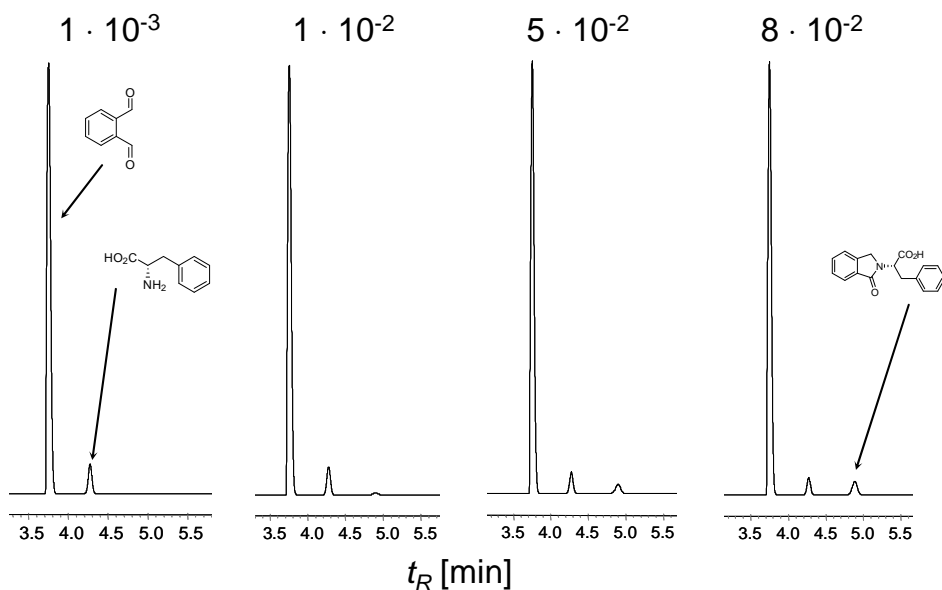


Abbildung 76: Mit dem Programm ocRCXplorer simulierte Elektropherogramme durch Vorgabe unterschiedlicher Werte für die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante ($k_2 = 1 \cdot 10^{-3} - 8 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$).

Durch den Vergleich der Peakflächen in den gemessenen ocRCE-Elektropherogrammen mit denen der simulierten Elektropherogramme, konnte die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante bestimmt werden. Die beste Übereinstimmung ergab sich bei der Vorgabe von $k_2 = 5 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

Beim Anklicken des Feldes „Optimize“ in Programm ocRCXplorer und ohne Vorgabe eines Wertes für die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante, wird diese iterativ berechnet. Für die Umsetzung von 1 mM L-Phenylalanin mit 16 mM OPA ergab sich bei einer Temperatur von 45 °C eine Geschwindigkeitskonstante von $k_2 = 6.475 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Darüber hinaus wurde ein hohes Maß an Übereinstimmung zwischen experimentellen und simulierten Elektropherogrammen festgestellt (Abbildung 77).

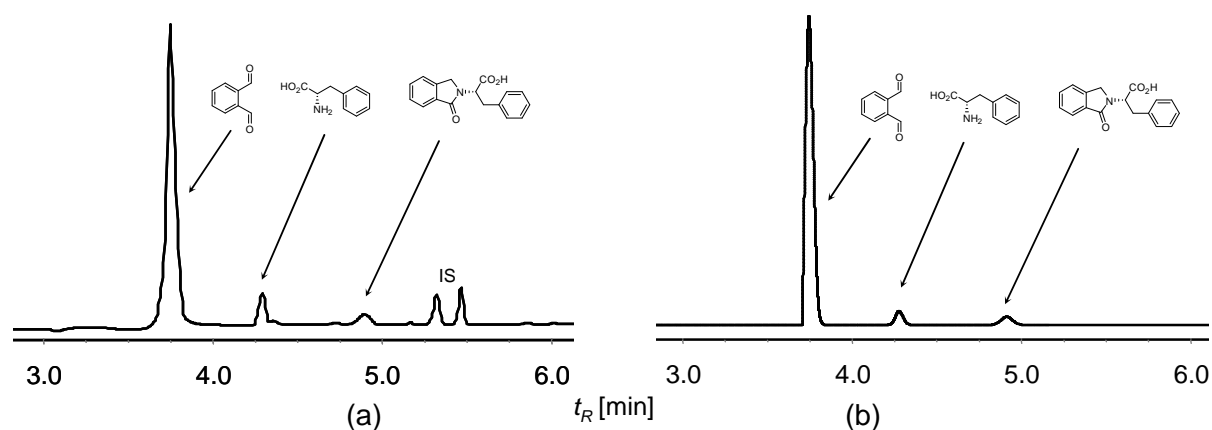


Abbildung 77: Vergleich (a) experimenteller ocRCE-Elektropherogramme mit (b) den simulierten bei $T = 45 \text{ °C}$ und $k_2 = 6.475 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Die Signale für den internen Standard werden nicht simuliert.

Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten für die ocRCE-Reaktion von 1 mM L-Phenylalanin mit 16 mM OPA wurden daher auch bei den anderen Messtemperaturen iterativ bestimmt. Erwartungsgemäß nahm die Geschwindigkeit der Reaktion bei höheren Temperaturen zu. So stiegen die Werte für k_2 von $1.7 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ bei einer Temperatur von 25 °C auf Werte von $k_2 = 7.5 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ bei einer Temperatur von 55 °C an (Tabelle 14). Diese Daten indizieren eine um eine Zehnerpotenz schnellere Reaktion in den ocRCE-Experimenten als in der Offline-Umsetzung, bei der die Reaktion äquimolare Mengen OPA und L-Phenylalanin unter Zusatz von Essigsäure bei einer Temperatur von 25 °C untersucht wurde ($k_{OPA} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ bzw. $k_{Phe} = 3 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$, Kapitel 6.2.1). Vermutlich verlief die Offline-Reaktion langsamer, weil die Reaktionsmischung während der Reaktionszeit im Vial nicht gerührt und die Reaktion deswegen durch Diffusionsprozesse behindert worden war. Bei einer

Temperatur von 15 °C konnte aufgrund der geringen Ausbeute von *L*-Phenylalanin-Phthalimidon keine Geschwindigkeitskonstante simuliert werden.

Tabelle 14: Simulierte Geschwindigkeitskonstanten.

T [°C]	k_2 [10^{-2} mol L $^{-1}$ s $^{-1}$]
15	-
25	1.656
35	2.546
45	6.475
55	7.492

Die Aktivierungsparameter wurden mittels der Eyring-Auftragung zu $\Delta G^\ddagger = 83.22$ kJ mol $^{-1}$, $\Delta H^\ddagger = 41.94 \pm 7.95$ kJ mol $^{-1}$ und $\Delta S^\ddagger = -138.4 \pm 59.5$ J mol $^{-1}$ K $^{-1}$ berechnet. Die niedrigen Werte für die Aktivierungsenthalpie bestätigten die rasche Reaktion. Negative Werte für die Aktivierungsentropien indizierten einen geordneteren Übergangszustand im Vergleich zu den Grundzuständen der Edukte. Dies trifft auf Reaktionen zweiter Ordnung erwartungsgemäß zu, da sich die Entropie der beiden freien Eduktmoleküle bei der Reaktion im aktivierten Komplex verringert.

6.3. Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde über die Reaktion von *o*-Phthaldialdehyd mit Aminosäuren in einem kapillarelektrophoretischen Reaktor berichtet. Es konnte gezeigt werden, dass auch Reaktionen mit einer Kinetik zweiter Ordnung mittels der on-column Reaktionskapillarelektrophorese schnell und effizient untersucht werden können.

Bei der Verfolgung der Reaktion im Offline-Modus mit der MEKC wurde festgestellt, dass der Zusatz von Essigsäure die Reaktion zu Phthalimidonen katalysiert und die Bildung von Intermediaten und Nebenprodukten hemmt. Durch sukzessive Injektion der Edukte auf eine fused-silica Kapillare und die systematische Variation sowohl der Eduktkonzentration als auch der Temperatur konnte die Reaktion mit der ocRCE erfolgreich durchgeführt und der Mechanismus untersucht werden. Durch den Einsatz von OPA im Überschuss konnte die Bildung von Nebenprodukten verhindert und die Ausbeuten an *L*-Phenylalanin-Phthalimidon erhöht werden. Bei der Erhöhung der Messtemperatur von 15 auf 55 °C stiegen die Umsätze bezüglich OPA auf bis zu 100 % und bezüglich *L*-Phenylalanin auf bis zu 78 % an. Maximale Ausbeuten von 25 % wurden berechnet. Zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstante wurden die Elektropherogramme der Umsetzung von 16 mM OPA mit 1 mM Phe unter Vorgabe verschiedener Werte für k_2 simuliert und mit den experimentellen ocRCE-Elektropherogrammen verglichen. Dazu kam das neu entwickelte Softwareprogramm ocRCXplorer zum Einsatz, das die Simulation von Geschwindigkeitskonstanten für Reaktionen zweiter Ordnung auch iterativ ermöglicht. Damit ist der Zugang zu Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten und Aktivierungsparametern aus den experimentellen Elektropherogrammen der on-column Reaktionskapillarelektrophorese direkt möglich.

Kapitel 7

Experimenteller Teil

7. Experimenteller Teil

7.1. Allgemeine Vorbemerkungen

Chemikalien wurden von kommerziellen Quellen bezogen und ohne weitere Aufreinigung eingesetzt (Fluka (Deisenhofen, Deutschland), Sigma-Aldrich (Taufkirchen, Deutschland), Acros (Geel, Belgien), Riedel-de Haën (Seelze, Deutschland), KMF (Lohmar, Deutschland)). GE SE 52 wurde bei Macherey-Nagel (Düren, Deutschland), Cyclodextrine wurden bei der Wacker AG (München, Deutschland) erworben. Fused-silica Kapillaren mit einem inneren Durchmesser von 50 μm für kapillarelektrophoretische Messungen bzw. 250 μm für gaschromatographische Messungen und einem äußeren Durchmesser von 365 μm wurden von Microquartz (München, Deutschland) bezogen. Alle wässrigen Lösungen für die kapillarelektrophoretischen Untersuchungen wurden mit 18.2 M Ω cm Reinstwasser aus einem Millipore-Q System angesetzt (Millipore, Marlborough, Massachusetts, USA). Organische Lösungsmittel für die gaschromatographischen Untersuchungen wurden mit dem Reinheitsgrad p.a. verwendet und mit Standardtechniken getrocknet (Diethylether (Mg-Anthracen), *n*-Pentan (Na/K)).

Folgende Substanzen wurden hergestellt. Die Synthese erfolgte wie in der Literatur beschrieben oder in Anlehnung daran: Hydridomethylsiloxan-Dimethylsiloxan Copolymer HMPS,^[309] Methylvinylsiloxan-Dimethylsiloxan Copolymer MVPS und *L*-Phenylalanin-Phthalimidon.^[329]

7.2. Analytische Methoden

Kapillarelektrophorese: Die kapillarelektrophoretischen Untersuchungen wurden auf einem Agilent ^{3D}CE System (Agilent, Waldbronn, Deutschland), welches mit einem Diodenarraydetektor (DAD) ausgestattet war, durchgeführt. **Gaschromatographie:** Die Experimente der ocRGC erfolgten auf einem Thermo Trace PolarisQ Gaschromatographen (San Jose, Kalifornien, USA), welcher mit einem Split-Injektor (250 °C) und einem Flammenionisationsdetektor (FID, 250 °C) ausgestattet war. Präparative on-column Hydrierungen erfolgten auf einem Dani 3800 Gaschromatographen mit einem Split-Injektor. **Hochleistungsflüssigchromatographie:** Die HPLC-Messungen wurden auf einem Gerät der Serie 1200 der Firma Agilent (Agilent, Waldbronn, Deutschland), welches mit einem DAD und einer ZORBAX Eclipse XDB-C18 Trennsäule (4.6 x 150 mm) ausgestattet war,

durchgeführt. Als Eluent wurde ein 25 mM wässriger Ammoniumacetatpuffer sowie Methanol verwendet. **Massenspektrometrie:** Elektronenstoß-Massenspektren wurden auf einem Quadrupol Ionenfallen MS Trace GC PolarisQ (EI MS, 70 eV, Temperatur der Ionenquelle 200 °C, San Jose, Kalifornien, USA), welches an den Thermo Trace PolarisQ Gaschromatographen gekoppelt war, oder auf einem Quadrupol Massenspektrometer (Agilent 6100 Series, Single Quad LC/MS System) aufgenommen, welches an einen Flüssigchromatographen der Serie 1200 der Firma Agilent gekoppelt war. Elektrospray-Ionisations-Massenspektren wurden mit einem Gerät der Firma Bruker Daltonics Typ ESQUIRE3000, welches mit einer ESI-Quelle von Agilent Technologies ausgerüstet war, aufgenommen. **Kernresonanzspektroskopie:** Kernresonanzspektren ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$) wurden in CDCl_3 entweder auf einem Bruker DPX 300 Spektrometer (Rheinstetten, Deutschland) bei 300 und 75 MHz oder auf einem Bruker AV 400 Spektrometer (Rheinstetten, Deutschland) bei 400 und 100 MHz aufgenommen. Als interner Standard dienten sowohl bei den $^1\text{H-NMR}$ - als auch bei den $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren die jeweiligen Lösungsmittelsignale. Die chemischen Verschiebungen δ wurden in parts per million (ppm) und die Kopplungskonstanten J in Hz angegeben. Die Multiplizitäten in $^1\text{H-NMR}$ -Spektren beziehen sich auf das Erscheinungsbild im Spektrum und wurden wie folgt abgekürzt: s (Singulett), bs (breites Singulett), d (Dublett), dd (Dublett vom Dublett), t (Triplet), td (Triplet vom Dublett), m (Multiplet). **Röntgenstrukturanalyse:** Kristallstrukturen wurden auf einem KappaCCD-Diffraktometer der Firma Bruker AXs mit einem APEX II-CCD-Detektor aufgenommen. **Transmissionselektronenmikroskopie:** TEM-Aufnahmen wurden mit einem Hitachi 7500 Mikroskop aufgenommen, welches mit einer Beschleunigungsspannung von 100 kV operierte. Hochauflösende TEM-Aufnahmen wurden auf einem Hitachi HF 2000 Mikroskop mit einer bei 200 keV betriebenen Kaltfeld-Emmissionsquelle gemessen. Die Proben wurden zur Messung auf ein Kupfergitter aufgebracht, auf dem ein dünner Kohlenstofffilm fixiert war. **Rasterelektronenmikroskopie und Energiedispersive Röntgenspektroskopie:** REM- und EDX-Messungen wurden an einem Hitachi 3500N durchgeführt. Für die EDX-Messungen wurden die mit Katalysator belegten fused-silica Kapillaren in ein Epoxidharz (Spurr's, Plano, Marburg, Deutschland) entsprechend der Beschreibung des Herstellers eingebettet. Die präparierten Kapillaren wurden mit einer Diamantsäge (Well, Mannheim, Deutschland) geschnitten und ohne weitere Aufpolierung direkt gemessen.

7.3. Software

Die folgenden Softwareprogramme wurden benutzt: Agilent ^{3D}CE ChemStation Rev.B.01.03, ChemBioDraw® Ultra 11.0, ChemOrganizer Version 1.0.0.4,^[360] DCXplorer MMVI Version 1.0.0.8,^[92, 93] Microsoft® Office 2003, ocRCXplorer, RCXplorer MMVIII,^[361] Statistica 6.1, Xcalibur™ Home Page version 1.4SR1.

7.4. Experimenteller Teil – Kapitel 4

7.4.1. Synthese von Tris(α -Diimin)-Übergangsmetallkomplexen

Die Tris(α -Diimin)-ÜM-Komplexe wurden in 5 mL Rollrandgläsern durch Auflösen des Übergangsmetallsalzes ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, CoCl_2 , $\text{NiCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) und des Liganden in wässriger Lösung hergestellt. Dazu wurde das entsprechende Salz (50 mg, 0.18 – 0.38 mmol) sowie drei Äquivalente 1,10-Phenanthrolin bzw. 2,2'-Bipyridyl (0.54 – 1.14 mmol) zu einer Mischung aus 3 mL Wasser und 1 mL Methanol gegeben. Es wurden charakteristisch gefärbte Lösungen der jeweiligen Komplexe mit Konzentrationen von 0.045 bis 0.096 mol L⁻¹ erhalten (Tabelle 2, Seite 45).

7.4.2. Dynamische mizellare elektrokinetische Chromatographie zur Trennung von Tris(α -Diimin)-Übergangsmetallkomplexen

Für die kapillarelektrophoretischen Trennungen wurden fused-silica Kapillaren mit einer Gesamtlänge von 80.5 cm (72.0 cm effektive Länge) und einem inneren Durchmesser von 50 μm (365 μm O.D.) benutzt. Neue fused-silica Kapillaren wurden 5 min mit 1 M NaOH und jeweils 3 min mit Wasser und Puffer gespült wurden. Vor jedem Lauf wurden die Kapillaren zusätzlich konditioniert, indem sie 1 min mit 1 M NaOH, 2 min mit Wasser und 3 min mit Puffer gespült wurden. Nach einer kurzen Wartezeit von 0.5 min wurden die Substrate hydrodynamisch am anodischen Ende der Kapillare für 1 s mit einem Druck von 50 mbar injiziert. Die Trennung erfolgte bei Temperaturen 10 °C bis 35 °C in Schritten von 5 K mit einer konstanten Spannung von +20 kV. Die Detektionswellenlängen betragen 210, 214, 230, 254 und 280 \pm 5 nm. Die Messungen wurden entweder in Puffer A (100 mM Natriumtetraborat, pH = 9.3), Puffer B (100 mM Natriumtetraborat/100 mM Natriumdihydrogenphosphat, pH = 8.0) oder in Puffer C (50 mM Zitronensäure/50 mM Natriumdihydrogenphosphat, pH = 4.0) durchgeführt. Dem Puffer wurde jeweils einer der folgenden chiralen Selektoren zugesetzt: 20 mg mL⁻¹ Natriumcholat oder 10 mg mL⁻¹ natives β -CD, Heptakis-(2,6-di-*O*-methyl)- β -CD, Heptakis-(6-*O*-hydroxypropyl)- β -CD, Heptakis-(2,3,6-tri-*O*-methyl)- β -CD, Heptakis-(6-*O*-carboxymethyl)- β -CD oder Heptakis-(6-*O*-sulfato)- β -CD. Alle enantioselektiven DMEKC-Experimente wurden unter den jeweiligen Messbedingungen dreimal wiederholt.

7.4.3. Enantioselektive on-column Reaktionskapillarelektrophorese eines Nickel(II)-Salzes mit Phenanthrolin

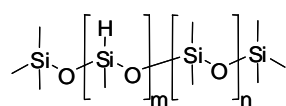
Zu einer wässrigen Lösung von Nickel(II)chlorid Hexahydrat $\text{NiCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (12.5 mg mL^{-1}) wurde solange Ammoniak zugetropft, bis ein Farbumschlag von hellgrün nach tiefblau erfolgte. Der gebildete Tetraamino-Nickel(II)-Komplex wurde zusammen mit Phenanthrolin in einem on-column reaktionskapillarelektrophoretischen Experiment eingesetzt.

Für die kapillarelektrophoretischen Experimente wurden fused-silica Kapillaren mit einer Gesamtlänge von 48.5 cm (40.0 cm effektive Länge) und einem inneren Durchmesser von $50 \mu\text{m}$ ($365 \mu\text{m}$ O.D.) benutzt. Neue fused-silica Kapillaren wurden 5 min mit 1 M NaOH und nach einer 20minütigen Wartezeit für 5 min mit Wasser gespült. Vor jedem Lauf wurden die Kapillaren zusätzlich konditioniert indem sie 1 min mit 1 M NaOH, 2 min mit Wasser und 3 min mit Puffer gespült wurden. Nach einer Wartezeit von 0.5 min wurde 1,10-Phenanthrolin hydrodynamisch am anodischen Ende der Kapillare für 3 s mit einem Druck von 50 mbar injiziert und bei +20 kV für 1 min mit Puffer gespült. Im Anschluss erfolgte die hydrodynamische Injektion des Tetraamino-Nickel(II)-Komplexes (10 s, 50 mbar) am anodischen Ende der Kapillare. Die Reaktion erfolgte bei einer Temperatur von $20 \text{ }^\circ\text{C}$ mit einer konstanten Spannung von +20 kV. Die Detektionswellenlängen betragen 210, 214, 230, 254 und $280 \pm 5 \text{ nm}$. Die Messungen wurden in einem Puffer bestehend aus 50 mM Zitronensäure und 50 mM Natriumdihydrogenphosphat bei einem pH von 4.0 durchgeführt. Dem Puffer wurde 10 mg mL^{-1} HS- β -CD als chiraler Selektor zugesetzt.

7.5. Experimenteller Teil – Kapitel 5

7.5.1. Herstellung der Polysiloxane für die Belegung der fused-silica Kapillaren

Hydridomethylsiloxan-Dimethylsiloxan Copolymer

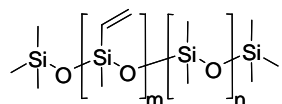


Hexamethyldisiloxan (8.1 g, 50.0 mmol), Polyhydridomethylsiloxan (6.0 g, 100.0 mmol), Octamethylcyclotetrasiloxan (66.7 g, 225.0 mmol), Kaolin (2 g) und Schwefelsäure (1 mL) wurden bei

100 °C unter leichtem Rückfluss 5 Tage gekocht, wobei die Viskosität der Reaktionsmischung mit der Zeit zunahm. Nach Abkühlen der Mischung auf Raumtemperatur wurde der Katalysator (Kaolin und Schwefelsäure) durch eine Extraktion mit Wasser und anschließender Filtration entfernt. Wasser und weitere flüchtige Verbindungen im Filtrat wurden durch Verdampfung bei 120 °C im Hochvakuum entfernt. Das Produkt (62.6 g, 78.3 %) wurde als Öl erhalten. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 4.61 (s, Si-H), 0.25 – -0.02 (m, Si(CH₃)_n (n = 1 – 3)) ppm. ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 1.6, 1.3, -2.3 ppm.

Durch Integration der Signale des ¹H-NMR Spektrums konnte der Stoffmengenanteil der Si(O)(CH₃)H Gruppen berechnet werden. Er betrug 25.7 %.

Methylvinylsiloxan Dimethylsiloxan Copolymer



Nach der Vermischung von Diethoxymethylvinylsilan (4.3 g, 26.9 mmol) und Diethoxydimethylsilan (35.9 g, 242.0 mmol) wurde Natriumhydroxid (0.5 g), gelöst in einer Mischung aus Wasser

(50 mL) und Ethanol (50 mL), bei 0 °C hinzugegropft. Nachdem die Reaktionsmischung 1 h gerührt worden war, wurde sie für 5 h auf 60 °C erhitzt. Nach der langsamen Zugabe von Chlortrimethylsilan (0.9 g, 8.1 mmol) wurde die Mischung wurde nochmals für 24 h gerührt. Das Produkt wurde mit *n*-Pentan extrahiert und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde getrocknet und am Rotationsverdampfer abgetrennt. Das Produkt wurde anschließend im Hochvakuum bei 60 °C getrocknet und wurde als Öl erhalten. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 5.99 – 5.69 (m, Si-CH=CH₂), 0.09 – -0.03 (m, Si(CH₃)_n (n = 1 – 3)) ppm. ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 136.1, 132.0, 131.7, 56.7, 17.3, 0.0 ppm.

Durch Integration der Signale des ¹H-NMR Spektrums konnte der Stoffmengenanteil der Si(O)(CH₃)(CH=CH₂) Gruppen berechnet werden. Er betrug 4.5 %.

7.5.2. Herstellung von Palladiumnanopartikeln in einer Polysiloxanmatrix

Zunächst wurden GE SE 52 (6 mg mL^{-1}) und $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.1 mg mL^{-1}) jeweils in Diethylether gelöst. Hydridomethylsiloxan-Dimethylsiloxan Copolymer (HMPS) und Methylvinylsiloxan-Dimethylsiloxan Copolymer (MVPS) wurden in den in Tabelle 15 angegebenen Mengen in 5 mL Rollrandgläsern eingewogen. Zu den Mischungen wurden je 4 mL der GE SE 52 Lösung und je 0.1, 0.5, 1.0 oder 2.0 mL der etherischen $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ -Lösung gegeben, so dass die Pd-Konzentration zwischen $7.5 \cdot 10^{-6} \text{ mM}$ und $1.5 \cdot 10^{-4} \text{ mM}$ variierte.

Tabelle 15: Herstellung der Beleglösungen bei verschiedenen HMPS:MVPS-Verhältnissen und Pd-Konzentrationen.

m(HMPS) [mg]	m(MVPS) [mg]	m(GE SE 52) [mg]	V($\text{Pd}(\text{OAc})_2$) [mL]
2	22	24	0.01 – 0.2
6	18	24	0.01 – 0.2
12	12	24	0.01 – 0.2
18	6	24	0.01 – 0.2
22	2	24	0.01 – 0.2

Der Reaktionsverlauf wurde mit der ^1H -NMR Spektroskopie (300 MHz, CDCl_3 , 25°C) für die SiH Gruppe verfolgt: $\delta = -0.20 - 0.19$ (m, $\text{Si}(\text{CH}_3)_n$ ($n = 1 - 3$)), 4.61 (s, SiH) ppm. Durch die Integration der ^1H -NMR Signale konnte der Gehalt an $\text{Si}(\text{O})(\text{CH}_3)\text{H}$ Gruppen ermittelt werden.

7.5.3. Belegung der Kapillaren mit Palladiumnanopartikeln

Nach der thermischen Deaktivierung der fused-silica Kapillaren (5 m Länge, $250 \mu\text{m}$ I.D.) bei 220°C für 24 h, erfolgte deren Belegung nach der statischen Methode von Grob.^[311] Dazu wurden die Kapillaren zunächst mit den in Kapitel 7.5.2 beschriebenen, Pd-NP enthaltenen Polysiloxanmischungen gefüllt. Nach dem Verschließen von einem Ende der Kapillare wurde das Lösungsmittel im Hochvakuum entfernt. Anschließend wurde die Kapillare mit Argon gespült und der Polymerfilm (250 nm Filmdicke) in der Kapillare immobilisiert. Dazu wurde die Kapillare in einem leichten Wasserstoffstrom erhitzt und mit einer Heizrate von 0.5 K min^{-1} von 25 auf 200°C erhitzt, wobei die Endtemperatur für weitere 8 Stunden konstant gehalten wurde.

7.5.4. Katalytische Hydrierung mit der on-column Reaktionsgaschromatographie

OcRGC-Messungen wurden auf einem Thermo Trace PolarisQ Gaschromatographen durchgeführt, der mit einem Split-Injektor (250 °C), einem FID (250 °C) und einem Quadrupol Ionenfallen Massenspektrometer ausgestattet war. Für die Hydrierung der verschiedenen Substrate wurden fused-silica Kapillaren verwendet, welche mit in einer stabilisierenden Polysiloxanmatrix eingebetteten Pd-NP belegt waren (2.02 – 6.15 cm Länge, 250 µm I.D., 250 nm Filmdicke). Die Reaktionskapillare befand sich zwischen einer Vortrennsäule (HP-5, 1 m Länge, 250 µm I.D.) und einer fused-silica Trennsäule (HP-5, 25 m Länge, 250 µm I.D.), welche die Reaktionsmischung nach der Reaktion separierte. Wasserstoff der Reinheit 5.0 diente als reaktives Trägergas. Alle Messungen wurden unter den jeweiligen Messbedingungen dreifach ausgeführt, wobei die Temperatur in Schritten von 10 K (60 – 100 °C) und der Einlassdruck in Schritten von 10 kPa (60 – 100 kPa) variiert wurden.

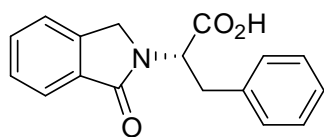
7.5.5. Präparative on-column Hydrierung

Für die präparative Hydrierung von Cyclohex-2-enon wurde eine fused-silica Kapillare verwendet, die mit Pd-NP in einer Polysiloxanmatrix belegt war (20 cm Länge, 250 µm I.D., 250 nm Filmdicke). Wasserstoff wurde als reaktives Trägergas verwendet. Die Messungen wurden bei einer Temperatur von 80 °C und einem Einlassdruck von 50 kPa durchgeführt. Das Produkt Cyclohexanon wurde gesammelt, indem das Ende der Kapillare mit einem 0.2 mL Mikroviaal verbunden wurde. Die Identifikation des Produkts erfolgte mittels ¹H-NMR- und ¹³C-NMR-Spektroskopie.

Cyclohex-2-enon: ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 6.96 – 6.90 (td, 1H, *J* = 4.1 Hz, *J* = 10.1 Hz, CO-CH=CH), 5.98 – 5.93 (td, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 10.1 Hz, CO-CH=CH), 2.39 – 2.34 (m, 2H, CO-CH₂-CH₂), 2.32 – 2.26 (m, 2H, CH=CH-CH₂), 2.00 – 1.91 (td, 2H, *J* = 6.1 Hz, *J* = 12.3 Hz, CO-CH₂-CH₂) ppm. ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 200.1, 151.0, 130.3, 38.4, 26.0, 23.1 ppm. **Cyclohexanon:** ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 2.29 – 2.25 (t, 4H, *J* = 6.7 Hz, CO-CH₂-CH₂), 1.84 – 1.76 (m, 4H, CO-CH₂-CH₂), 1.74 – 1.62 (m, 2H, CO-(CH₂)₂-CH₂) ppm. ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 212.5, 42.4, 27.4, 25.4 ppm.

7.6. Experimenteller Teil – Kapitel 6

7.6.1. Synthese von *L*-Phenylalanin-Phthalimidon



L-Phenylalanin (297 mg, 1.8 mmol) und *o*-Phthaldialdehyd (362 mg, 2.7 mmol) wurden in Acetonitril (30 mL) gelöst und 4 h lang refluxiert. Die Reaktionsmischung wurde dann bei 4 °C

in den Kühlschrank gestellt, wo das Produkt innerhalb von 12 h auskristallisierte. Der Überstand wurde abdekantiert und die Kristalle mit wenig Acetonitril gewaschen. Nach dem Trocknen an der Luft wurde das Produkt als weiße Nadeln erhalten. ¹H-NMR (300 MHz, DMSO, 303 K): δ = 13.15 (bs, 1H, COOH), 7.64 – 7.12 (m, 9H, H_{Ar}), 5.18 – 5.14 (dd, 1H, *J* = 3.6 Hz, *J* = 11.0 Hz, N-(CH)-(CH₂), 4.45 (s, 2H, N-CH₂-C), 3.43 – 3.38 (dd, 1H, *J* = 8.6 Hz, *J* = 11.0 Hz, C_{Ar}-CH_AH_B-CH), 3.25 – 3.19 (dd, 1H, *J* = 3.6 Hz, *J* = 8.5 Hz, C_{Ar}-CH_AH_B-CH) ppm. ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO, 303 K): δ = 132.0, 128.9, 128.7, 128.2, 126.8, 123.8, 123.2, 55.1, 47.7, 35.0 ppm. Röntgenstrukturanalyse: siehe Anhang.

7.6.2. Herstellung der Kalibrierlösungen

Zunächst wurden Urstandards von *L*-Phenylalanin (15.9 mg in 3 mL H₂O, 32 mM), *o*-Phthaldialdehyd (12.9 mg in 3 mL H₂O, 32 mM), *L*-Phenylalanin-Phthalimidon (13.5 mg in 3 mL MeOH, 16 mM) und 4-Hydroxyacetophenon (IS, 1.36 mg in 10 mL H₂O, 1 mM) hergestellt. Die Kalibrierlösungen der Edukte und des Produkts wurden durch Verdünnung der Urstandards mit H₂O und 1 mL des IS-Urstandards erhalten (Tabelle 16). Es resultierten Kalibrierlösungen mit Konzentrationen von 0.5 mM bis 16 mM, die jeweils 0.5 mM IS enthielten.

Tabelle 16: Herstellung der Kalibrierlösungen.

<i>L</i> -Phenylalanin und <i>o</i> -Phthaldialdehyd						
c [mM]	16.0	8.0	4.0	2.0	1.0	0.5
V [μL] Urstandard Substrat	1000.0	500.0	250.0	125.0	62.5	-
V [μL] Wasser	0.0	500.0	750.0	875.0	937.5	-
V [μL] Urstandard IS	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0	-
<i>L</i> -Phenylalanin-Phthalimidon						
c [mM]	16.0	8.0	4.0	2.0	1.0	0.5
V [μL] Urstandard Substrat	-	1000.0	500.0	250.0	125.0	62.5
V [μL] Methanol	-	0.0	500.0	750.0	875.0	937.5
V [μL] Urstandard IS	-	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0

7.6.3. Externe Kalibrierung

MEKC

Für die kapillarelektrophoretischen Experimente kamen fused-silica Kapillaren mit einer Gesamtlänge von 48.5 cm (40.0 cm effektive Länge) und einem inneren Durchmesser von 50 μm (365 μm O.D.) zum Einsatz. Neue fused-silica Kapillaren wurden 5 min mit 1 M NaOH und nach einer fünfminütigen Wartezeit 2 min mit Wasser gespült. Vor jedem Lauf wurden die Kapillaren zusätzlich konditioniert indem sie 1 min mit 1 M NaOH, 1 min mit Wasser und 2 min mit Puffer gespült wurden. Nach einer kurzen Wartezeit von 0.5 min wurden die Substrate hydrodynamisch am anodischen Ende der Kapillare für 5 s mit einem Druck von 20 mbar injiziert. Die Messungen erfolgten bei Temperaturen von 15 °C bis 55 °C in Schritten von 10 K mit einer konstanten Spannung von +15 kV. Die Detektionswellenlängen betragen $\lambda = 210, 214, 230, 254$ und 280 ± 5 nm. Die Messungen wurden in einem 20 mM Natriumtetraborat Puffer (pH 9.15), der 50 mM Natriumdodecylsulfat als Selektor enthielt, durchgeführt. Sämtliche MEKC Messungen zur Erstellung der Kalibriergeraden wurden unter den jeweiligen experimentellen Bedingungen dreifach ausgeführt.

Quantifizierung

Aus den Ergebnissen der Kalibriermessungen konnten durch Auftragung der korrigierten Peakflächen (A_i/A_{IS}) gegen die Konzentration bzw. injizierte Stoffmenge Kalibriergeraden erstellt werden. Mittels linearer Regression wurden die Steigung und der Achsenabschnitt der Geraden berechnet, so dass unbekannte Probenmengen quantifiziert werden konnten.

7.6.4. Offline-Derivatisierungsreaktion

Die Derivatisierung von drei AS (*L*-Phenylalanin, *L*-Histidin oder *L*-Tyrosin) mit OPA wurde zunächst offline verfolgt. Hierzu wurden 300 μL der jeweiligen Aminosäure (20 mM in H_2O) zusammen mit *o*-Phthaldialdehyd (20 mM in H_2O) und 5 μL Essigsäure in ein Probenvial pipettiert und die Reaktionsmischung sofort unter denselben Bedingungen wie die Kalibriermessungen mit der MEKC gemessen (Kapitel 7.6.3). Diese Experimente wurden für *L*-Phenylalanin auch ohne den Zusatz von Essigsäure durchgeführt. Die Messungen erfolgten bei einer Temperatur von 25 °C mit einer konstanten Spannung von +15 kV. Die Messung der jeweiligen Reaktionsmischung wurde über einen Zeitraum von bis zu 43 h wiederholt, wobei der Fortschritt der Reaktion beobachtet wurde.

Um unbekannte Produktpeaks näher zu untersuchen, wurde die eluierte Lösung nach der Trennung in einem separaten Vial aufgefangen. Im Modus *fraction collection* wurde der zu untersuchende Peak zu einer genau definierten Migrationszeit in einem Zeitfenster von $\pm 5\%$ hydrodynamisch vom restlichen Eluenten getrennt.

7.6.5. Derivatisierung von *L*-Phenylalanin mit *o*-Phthaldialdehyd mit der on-column Reaktionskapillarelektrophorese

Soweit nicht anders erwähnt blieben der experimentelle Aufbau, die Konditionierung der Kapillaren sowie der Laufpuffer in den ocRCE-Experimenten wie bei den Kalibriermessungen unverändert bestehen (Kapitel 7.6.3). Die Messungen erfolgten bei Temperaturen von 15 °C bis 55 °C in Schritten von 10 K mit einer konstanten Spannung von +15 kV. Nach dem Konditionieren wurde *L*-Phenylalanin hydrodynamisch am anodischen Ende der Kapillare für 5 s mit einem Druck von 20 mbar injiziert. Im Anschluss wurde die Kapillare mit Puffer bei einem Druck von 20 mbar gespült. Dieser Spülprozess erstreckte sich über einen Zeitraum von 2 – 120 s. Danach wurde OPA hydrodynamisch am anodischen Ende der Kapillare für 5 s bei 20 mbar injiziert und die Spannung angelegt. Nicht umgesetzte Edukte, Produkte und Nebenprodukte wurden mit einem DAD bei Wellenlängen von 210, 214, 230, 254 und 280 ± 5 nm detektiert. Da alle in Kapitel 7.6.2 beschriebenen Kalibrierlösungen von *L*-Phenylalanin und *o*-Phthaldialdehyd (1 bis 16 mM, jeweils mit 0.5 mM IS) in den ocRCE-Experimenten eingesetzt wurden, ergab sich für jede Temperatur eine 5×5 Messmatrix. Alle Messungen wurden dreifach ausgeführt.

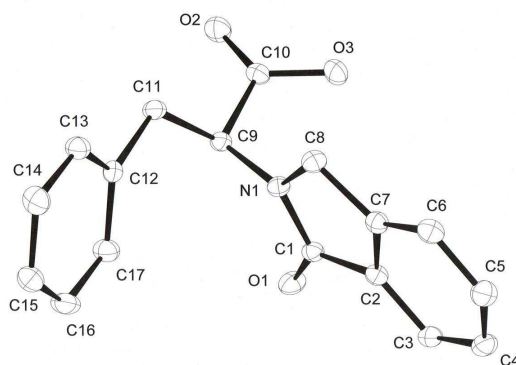
Kapitel 8

Anhang

8. Anhang

Röntgenstrukturanalyse von *L*-Phenylalanin-Phthalimidon

Die Messung zur Bestimmung der Struktur von *L*-Phenylalanin-Phthalimidon wurde bei 100 K durchgeführt. Für die Strukturlösung wurde das Softwareprogramm SHELXS-97 (Sheldrick, 1990), für die Strukturverfeinerung das Programm SHELXL-97 (Sheldrick, 1997) und für die grafische Darstellung das Programm DIAMOND (Crystal Impact GbR, 2006) verwendet.



Kristallographische Daten und Parameter der Strukturverfeinerung:

Summenformel	$C_{17}H_{15}NO_3$	
Farbe	farblos	
Molmasse	$281.30 \text{ g mol}^{-1}$	
Temperatur	100 K	
Wellenlänge	0.71073 \AA	
Kristallsystem	orthorhombisch	
Raumgruppe	$P2_12_12_1$ (Nr. 18)	
Gitterkonstanten	$a = 11.290(2) \text{ \AA}$	$\alpha = 90^\circ$
	$b = 20.905(4) \text{ \AA}$	$\beta = 90^\circ$
	$c = 5.8736(12) \text{ \AA}$	$\gamma = 90^\circ$
Zellvolumen	$1386.3(5) \text{ \AA}^3$	
Z	4	
Dichte (berechnet)	1.348 g cm^{-3}	
Absorptionskoeffizient	0.093 mm^{-1}	
F(000)	592 e	
Kristallgröße	$0.08 \times 0.05 \times 0.03 \text{ mm}^3$	
Gemessener Theta-Bereich	1.95 bis 31.07°	
Indexgrenzen	$-16 \leq h \leq 16, -30 \leq k \leq 30, -8 \leq l \leq 8$	
Gemessene Reflexe	40842	
Unabhängige Reflexe	4453 [$R_{\text{int}} = 0.0657$]	

Reflexe mit $I > 2\sigma(I)$	3878	
Vollständigkeit zu $\theta = 31.7^\circ$	99.7 %	
Absorptionskorrektur	empirisch	
Max./min. Transmission	1.00 und 0.88	
Strukturverfeinerung	Full-matrix least-squares an F^2	
Daten/Restraints/Parameter	4453 / 0 / 190	
Goodness-of-fit an F^2	1.016	
R-Werte am Ende [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0420$	$wR^2 = 0.1018$
R-Werte (alle Daten)	$R_1 = 0.0530$	$wR^2 = 0.1078$
Absolute Strukturparameter	-1.1(10)	
Max./min. Restriktionsdichte	0.363 und -0.307 e \AA^{-3}	

Atomkoordinaten und äquivalente isotrope Auslenkungsparameter (\AA^2)

U_{eq} wird berechnet als ein Drittel der Spur des orthogonalen U_{ij} Tensors.

	x	y	z	U_{eq}
C1	0.1614(1)	0.2549(1)	0.2877(2)	0.014(1)
C2	0.1577(1)	0.3112(1)	0.4395(2)	0.014(1)
C3	0.2140(1)	0.3700(1)	0.4169(3)	0.017(1)
C4	0.1946(1)	0.4150(1)	0.5874(3)	0.020(1)
C5	0.1221(1)	0.4006(1)	0.7740(3)	0.021(1)
C6	0.0648(1)	0.3419(1)	0.7930(3)	0.019(1)
C7	0.0832(1)	0.2972(1)	0.6214(2)	0.015(1)
C8	0.0333(1)	0.2312(1)	0.5930(2)	0.016(1)
C9	0.0589(1)	0.1519(1)	0.2607(2)	0.014(1)
C10	-0.0558(1)	0.1582(1)	0.1215(2)	0.015(1)
C11	0.0509(1)	0.0938(1)	0.4190(3)	0.017(1)
C12	0.1595(1)	0.0823(1)	0.5645(2)	0.015(1)
C13	0.1449(1)	0.0507(1)	0.7722(3)	0.019(1)
C14	0.2408(1)	0.0366(1)	0.9099(3)	0.023(1)
C15	0.3541(1)	0.0553(1)	0.8447(3)	0.023(1)
C16	0.3699(1)	0.0872(1)	0.6404(3)	0.024(1)
C17	0.2737(1)	0.1006(1)	0.5005(3)	0.019(1)
N1	0.0890(1)	0.2101(1)	0.3805(2)	0.014(1)
O1	0.2174(1)	0.2469(1)	0.1086(2)	0.019(1)
O2	-0.0948(1)	0.1135(1)	0.0139(2)	0.022(1)
O3	-0.1014(1)	0.2162(1)	0.1281(2)	0.021(1)

Bindungslängen (Å) und Bindungswinkel (°)

C1-O1	1.2386(17)	C1-N1	1.3569(17)
C1-C2	1.477(2)	C2-C7	1.3906(19)
C2-C3	1.391(2)	C3-C4	1.391(2)
C4-C5	1.400(2)	C5-C6	1.393(2)
C6-C7	1.389(2)	C7-C8	1.501(2)
C8-N1	1.4654(18)	C9-N1	1.4468(18)
C9-C11	1.5328(19)	C9-C10	1.5371(19)
C10-O2	1.2105(18)	C10-O3	1.3208(18)
C11-C12	1.5143(19)	C12-C17	1.3965(19)
C12-C13	1.397(2)	C13-C14	1.383(2)
C14-C15	1.391(2)	C15-C16	1.384(2)
C16-C17	1.391(2)		
O1-C1-N1	123.82(13)	O1-C1-C2	129.35(13)
N1-C1-C2	106.84(12)	C7-C2-C3	122.31(13)
C7-C2-C1	108.32(12)	C3-C2-C1	129.36(13)
C4-C3-C2	117.22(13)	C3-C4-C5	120.71(14)
C6-C5-C4	121.55(14)	C7-C6-C5	117.69(13)
C2-C7-C6	120.49(13)	C2-C7-C8	109.53(12)
C6-C7-C8	129.98(13)	N1-C8-C7	102.12(11)
N1-C9-C11	112.69(12)	N1-C9-C10	112.63(11)
C11-C9-C10	109.95(11)	O2-C10-O3	125.75(13)
O2-C10-C9	121.16(13)	O3-C10-C9	113.05(12)
C12-C11-C9	114.86(11)	C17-C12-C13	118.30(13)
C17-C12-C11	123.52(13)	C13-C12-C11	118.17(12)
C14-C13-C12	121.27(14)	C13-C14-C15	119.89(15)
C16-C15-C14	119.52(14)	C15-C16-C17	120.59(14)
C16-C17-C12	120.41(14)	C1-N1-C9	121.76(12)
C1-N1-C8	113.18(11)	C9-N1-C8	124.50(11)

Kapitel 9

Zusammenfassung

9. Zusammenfassung

In der vorliegenden Dissertation wurde die systematische Entwicklung der on-column Reaktionschromatographie und der on-column Reaktionskapillarelektrophorese beschrieben – einer Technik mit der chemische Umsetzungen in einem chromatographischen Reaktor unter präzise kontrollierten Reaktionsbedingungen durchgeführt und beobachtet werden können. Es wurden detaillierte kinetische Studien für verschiedene Reaktionstypen vorgenommen. Aus den ermittelten Daten, wurden die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten und die Aktivierungsparameter berechnet, um den jeweils zugrunde liegenden Reaktionsmechanismus besser zu verstehen.

Zunächst wurde die Interkonversion von Tris(α -Diimin)-Übergangsmetallkomplexen mittels der dynamischen mizellaren elektrokinetischen Chromatographie untersucht. Eine Trennung der Komplexe wurde für Fe und Ni beobachtet, wobei sich die Tris(1,10-Phenanthrolin)-Nickel(II)-Komplexe durch eine außerordentliche Stereostabilität auch bei höheren Temperaturen auszeichneten. Aus den gemessenen dynamischen Elutionsprofilen konnten die Geschwindigkeitskonstanten mit der Unified Equation für direkt berechnet werden. Es zeigte sich, dass sich der Mechanismus der Enantiomerisierung in Abhängigkeit vom Liganden ändert. Während Tris(1,10-Phenanthrolin)-Eisenkomplexe nach einem vollständig dissoziativem Mechanismus ($\Delta S^\ddagger > 0$) interkonvertierten, erfolgte dieser Prozess für Tris(2,2'-Bipyridyl)-Eisenkomplexe nach einem partiell dissoziativem Mechanismus ($\Delta S^\ddagger < 0$), bei dem sich nur ein Atom des bidentaten Liganden vom Metall löste. In einem ocRCE-Experiment wurde darüber hinaus festgestellt, dass die Synthese des stabilen $\text{Ni}(\text{phen})_3^{2+}$ -Komplexes mit der ocRCE möglich ist, diese jedoch unter den angewendeten Messbedingungen nicht enantioselektiv erfolgte. Generell können kinetische und mechanistische Untersuchungen mit dem vorgestellten Konzept für eine Vielzahl stereolabiler Substanzklassen präzise und schnell durchgeführt werden.

In Kapitel 5 wurde die Hydrierung ungesättigter Verbindungen über hoch aktiven Pd-NP mittels der on-column Reaktionsgaschromatographie untersucht. Die NP waren in einer Polysiloxanmatrix stabilisiert und in gaschromatographischen Mikrokapillaren immobilisiert, so dass die Katalyse und die Trennung simultan stattfanden. Die Vorteile dieses Versuchsaufbaus lagen in der präzisen Temperaturkontrolle und in der Möglichkeit, Diffusionsprozesse zu quantifizieren und diese durch die Auswahl des Polysiloxans im Experiment zu kontrollieren. Anhand umfassender TEM-Messungen wurde festgestellt, dass

das Verhältnis der stabilisierenden Polysiloxane, die Aktivierung der NP im Wasserstoffstrom sowie der Palladiumbeladungsgrad, die Größe und die Morphologie der NP – und somit deren katalytische Aktivität – entscheidend beeinflussten. Die hohen Geschwindigkeitskonstanten und niedrigen Aktivierungsenthalpien spiegelten die außerordentliche Aktivität der NP wider. Da Substanzbibliotheken mit bis zu 22 verschiedenen Reaktanden auf die Säulenordnung injiziert wurde, konnten 5880 Reaktionen innerhalb von 40 Stunden experimentell untersucht werden. Dieser hohe Durchsatz ermöglicht ein umfassendes Screening und die Bestimmung kinetischer Daten, nicht nur für systematisch variierte Pd-NP-Proben, sondern auch für eine Vielzahl weiterer immobilisierter Katalysatoren und Substrate.

Schließlich wurde eine Reaktion zweiter Ordnung in Offline-Experimenten und mittels der on-column Reaktionskapillarelektrophorese untersucht. In den Offline-Messungen wurde die rasche Umsetzung von OPA mit AS festgestellt. Darüber hinaus wurde gefunden, dass der Zusatz von Essigsäure die Reaktion katalysiert und die Reaktion zu Nebenprodukten verringert. Durch die sukzessive Injektion von *L*-Phenylalanin und OPA auf fused-silica Kapillaren und aufgrund der unterschiedlichen Migrationszeiten der Edukte fand eine Überlappung der Plugs in der Kapillare statt, so dass die Reaktion und die Trennung von Edukten und Produkten synchron verliefen. Mit dem neu entwickelten Programm ocRCXplorer konnten durch Vorgabe der experimentellen Messbedingungen, der gemessenen Daten sowie Werten für k_2 Elektropherogramme simuliert werden. Durch den Vergleich simulierter und experimenteller Elektropherogramme konnte k_2 bestimmt werden.

Zusammenfassend wird festgestellt, dass sich die on-column Reaktionschromatographie und on-colum Reaktionskapillarelektrophorese als außerordentlich effiziente Techniken für kinetische und mechanistische Untersuchungen chemischer Prozesse erwiesen haben. Darüber stellen sie eine (R)Evolution des chemischen Handwerkzeugs dar – hin zu miniaturisierten, außerordentlich effizienten und selektiven Reaktoren, die direkt mit Trenntechniken kombinierbar sind und sich durch minimalen Substanzverbrauch, hohe Durchsätze, eine sehr gute Reproduzierbarkeit und schnelle Reaktionszeiten auszeichnen.

Kapitel 10

Literaturverzeichnis

10. Literaturverzeichnis

- [1] P.W. Atkins, *Kurzlehrbuch Physikalische Chemie*, 3. Aufl., WILEY-VCH, Weinheim, **2007**.
- [2] M. Eigen, *Nobel Lecture* **1967**.
- [3] R.G.W. Norrish, *Nobel Lecture* **1967**.
- [4] G. Porter, *Nobel Lecture* **1967**.
- [5] M. Eigen, G. Czerlinski, H. Diebler, *Z. phys. Chem. N.F.* **1959**, *19*, 250.
- [6] M. Eigen, H. Diebler, *Z. phys. Chem. N.F.* **1959**, *20*, 299.
- [7] M. Eigen, G. Czerlinski, *Z. Elektrochem.* **1959**, *63*, 652-661.
- [8] H. Hartridge, F.J.W. Roughton, *R. Soc. Lond. A* **1923**, *104*, 395-430.
- [9] J.M. Blacquiere, T. Jurca, J. Weiss, D.E. Fogg, *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 2849-2855.
- [10] C. Cai, J.Y.L. Chung, J.C. McWilliams, Y. Sun, C.S. Shultz, M. Palucki, *Org. Process Res. Dev.* **2007**, *11*, 328-335.
- [11] C. Hoffmann, H.-W. Schmidt, F. Schüth, *J. Catal.* **2001**, *198*, 348-354.
- [12] S. Vukojevic, O. Trapp, J.-D. Grunwaldt, C. Kiener, F. Schüth, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 8192-8195; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7978-7981.
- [13] H.F.M. Boelens, D. Iron, J.A. Westerhuis, G. Rothenberg, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 3876-3881.
- [14] B. Rosenkranz, J. Bettmer, *Anal. Bioanal. Chem.* **2002**, *373*, 461-465.
- [15] O. Trapp, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, *46*, 5609-5613; O. Trapp, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 5706-5710.
- [16] O. Trapp, **2007**, *PCT Patent Application WO2007045224A2*.
- [17] O. Trapp, *Nachr. Chem.* **2006**, *54*, 1111-1114.
- [18] C. de Bellefon, N. Tanchoux, S. Caravieilhès, P. Grenouillet, V. Hessel, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 3584-3587; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3442-3445.
- [19] J. Knight, *Nature* **2002**, *418*, 474-475.
- [20] D. Belder, M. Ludwig, L.-W. Wang, M.T. Reetz, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 2523-2526; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2463-2466.
- [21] S.J. Haswell, *Nature* **2006**, *441*, 705.
- [22] A. Müller, K. Drese, H. Gnaser, M. Hampe, V. Hessel, H. Löwe, S. Schmitt, R. Zapf, *Catal. Today* **2003**, *81*, 377-391.
- [23] D. Janasek, J. Franzke, A. Manz, *Nature* **2006**, *442*, 374-380.
- [24] K. Jähnisch, V. Hessel, H. Löwe, M. Baerns, *Angew. Chem.* **2004**, *43*, 410-451; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 406-446.
- [25] O. Flögel, J.D.C. Codee, D. Seebach, P.H. Seeberger, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 7157-7160.
- [26] Y. Uozumi, Y.M.A. Yamada, T. Beppu, N. Fukuyama, M. Ueno, T. Kitamori, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15994-15995.
- [27] R.F. Ismagilov, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4130-4132.

- [28] P. Hoffmann, U. Huesig, P. Schulze, D. Belder, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 5000-5003.
- [29] S.M. Matthews, A.D. Elder, K. Yunus, C.F. Kaminski, C.M. Brennan, A.C. Fisher, *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 4101-4109.
- [30] M.J.E. Golay, *Gas Chromatography* (Lansing Symposium, **1957**); V.J. Coates, H.J. Noebels, I.S. Fagerson, Editoren, Academic Press, New York, 1-13, **1958**.
- [31] M.J.E. Golay, *Gas Chromatography* (Amsterdam Symposium **1958**), D.H. Desty, Editor, Butterworths, London, 139-143, **1960**.
- [32] A.T. James, A.J.P. Martin, **1952**, *50*, 679-690.
- [33] A.J. deMello, *Nature* **2006**, *442*, 394-402.
- [34] J. Kobayashi, Y. Mori, K. Okamoto, R. Akiyama, M. Ueno, T. Kitamori, S. Kobayashi, *Science* **2004**, *304*, 1305-1308.
- [35] J. Kobayashi, Y. Mori, S. Kobayashi, *Chem. Asian J.* **2006**, *1*, 22-35.
- [36] G.M. Whitesides, *Nature* **2006**, *442*, 368-373.
- [37] A.H. Gordon, A.J.P. Martin, R.L.M. Synge, *Biochem. J.* **1941**, *35*, 1369-1387.
- [38] A.J.P. Martin, R.L.M. Synge, *Biochem. J.* **1941**, *35*, 1369-1387.
- [39] W. Bürkle, H. Karfunkel, V. Schurig, *J. Chromatogr.* **1984**, *288*, 1-14.
- [40] M. Jung, Quantum Chemistry Program Exchange. QPCE Bull. **1992**, *3*, 12.
- [41] L.C. Craig, *J. Biol. Chem.* **1944**, *155*, 519-534.
- [42] J.J. van Deemter, *J. Ind. Eng. Chem.* **1953**, *45*, 1227-1233.
- [43] J.J. van Deemter, *J. Ind. Eng. Chem.* **1954**, *46*, 2300-2302.
- [44] J.J. van Deemter, F.J. Zuiderweg, A. Klinkenberg, *J. Chem. Eng. Sci.* **1956**, *5*, 271-289.
- [45] J.J. van Deemter, *J. Chem. Eng. Sci.* **1961**, *13*, 143-154.
- [46] S.J. Hawkes, *J. Chem. Education* **1983**, *60*, 393-398.
- [47] M.J.E. Golay, in *Gas Chromatography* (Amsterdam Symposium 1958, D.H. Desty, Hrsg.), Butterworths, London, **1958**, 1-16.
- [48] M.J.E. Golay, *Anal. Chem.* **1968**, *40*, 382-384.
- [49] O. Trapp, G. Schoetz, V. Schurig, *Chirality* **2001**, *13*, 403-414.
- [50] J. Krupcik, P. Oswald, P. Majek, P. Sandra, D.W. Armstrong, *J. Chromatogr. A* **2003**, *1000*, 779-800.
- [51] C. Wolf, *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 595-608.
- [52] I. D'Acquarica, F. Gasparini, M. Pierini, C. Villani, G. Zappia, *J. Sep. Sci.* **2006**, *29*, 1508-1516.
- [53] J. Veciana, M.I. Crespo, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 85-87; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1991**, *30*, 74-76.
- [54] J. Oxelbark, S. Allenmark, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 1483-1486.
- [55] M. Jung, V. Schurig, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 529-534.
- [56] D.H. Hochmuth, W.A. König, *Liebigs Ann.* **1996**, 947-951.

- [57] D. Wistuba, O. Trapp, N. Gel-Moreto, R. Galensa, V. Schurig, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 3424-3433.
- [58] N.H.H. Heegaard, T.J.D. Jørgensen, L. Cheng, C. Schou, M.H. Nissen, O. Trapp, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 3667-3673.
- [59] A.M. Skelley, R.A. Mathies, *J. Chromatogr. A* **2003**, *1021*, 191-199.
- [60] A.M. Skelley, R.A. Mathies, *J. Chromatogr. A* **2006**, *1132*, 304-309.
- [61] V. Schurig, *Chirality* **1998**, *10*, 140-146.
- [62] R.A. Keller, J.C. Giddings, *J. Chromatogr.* **1960**, *3*, 205-220.
- [63] J. Kallen, E. Heilbronner, *Helv. Chim. Acta* **1960**, *43*, 489-500.
- [64] D.W. Bassett, H.W. Habgood, *J. Phys. Chem.* **1960**, *64*, 769-773.
- [65] A.J.P. Martin, R.L.M. Synge, *Biochem. J.* **1941**, *35*, 1358-1368.
- [66] F. Dondi, A. Cavazzini, M. Remelli, *Adv. Chromatogr.* **1998**, *38*, 51-70.
- [67] C.I.D. Newman, V.L. McGuffin, *Electrophoresis* **2005**, *26*, 537-547.
- [68] O. Trapp, V. Schurig, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 1424-1430.
- [69] O. Trapp, V. Schurig, *Comput. Chem.* **2001**, *25*, 187-195.
- [70] O. Trapp, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2004**, *44*, 1671-1679.
- [71] W.R. Melander, J. Jacobson, C. Horváth, *J. Chromatogr.* **1982**, *234*, 269-276.
- [72] J. Jacobson, W. Melander, G. Vaisnys, C. Horváth, *J. Phys. Chem.* **1984**, *88*, 4536-4542.
- [73] W.R. Melander, H.-J. Lin, J. Jacobson, C. Horváth, *J. Phys. Chem.* **1984**, *88*, 4527-4536.
- [74] A.S. Rathore, C. Horváth, *Electrophoresis* **1997**, *18*, 2935-2943.
- [75] A.S. Rathore, C. Horváth, *J. Chromatogr., A* **1997**, *787*, 1-12.
- [76] B. Lin, F. Song, G. Guiochon, *J. Chromatogr., A* **2003**, *1003*, 91-100.
- [77] P. Dubsky, E. Tesarová, B. Gas, *Electrophoresis* **2004**, *25*, 733-743.
- [78] M. Lebl, V. Gut, *J. Chromatogr.* **1983**, *260*, 478-482.
- [79] M. Moriyasu, K. Kawanishi, A. Kato, Y. Hashimoto, M. Sugiura, T. Sai, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1985**, *58*, 3351-3355.
- [80] R. Thede, D. Haberland, E. Below, *J. Chromatogr., A* **1996**, *728*, 401-406.
- [81] R. Thede, E. Below, D. Haberland, S.H. Langer, *Chromatographia* **1997**, *45*, 149-154.
- [82] P. Oswald, K. Desmet, P. Sandra, J. Krupcik, D.W. Armstrong, *Chirality* **2002**, *14*, 334-339.
- [83] O. Trapp, V. Schurig, *J. Chromatogr., A* **2001**, *911*, 167-175.
- [84] L. Li, R. Thompson, J.R. Sowa, Jr., A. Clausen, T. Dowling, *J. Chromatogr., A* **2004**, *1043*, 171-175.
- [85] O. Trapp, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 189-198.
- [86] O. Trapp, *Electrophoresis* **2006**, *27*, 534-541.
- [87] O. Trapp, *Electrophoresis* **2006**, *27*, 2999-3006.
- [88] O. Trapp, *Chirality* **2006**, *18*, 489-497.

- [89] O. Trapp, S. Bremer, S.K. Weber, *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, zur Veröffentlichung akzeptiert.
- [90] V. Gold, K.L. Loening, A.D. McNaught, P. Shemi, *IUPAC Compendium of Chemical Terminology*, 2. Aufl., Blackwell Science, Oxford, **1997** (1996, 68, 173).
- [91] V. Gold, K.L. Loening, A.D. McNaught, P. Shemi, *IUPAC Compendium of Chemical Terminology*, 2. Aufl., Blackwell Science, Oxford, **1997** (1994, 66, 1105).
- [92] DCXplorer wurde für die Auswertung von Elutionsprofilen der dynamischen Chromatographie (DGC, DHPLC, DSFC, DOTLC) und Kapillarelektrophorese (DCE, DCEC, DMEKC, DOTCE) entwickelt und läuft unter Windows (2000, XP und Vista). Das Programm basiert auf der Unified Equation, mit der Geschwindigkeitskonstanten von Reaktionen erster Ordnung aus den Interkonversionsprofilen präzise und schnell berechnet werden können. Alle Chromatogramme im ASCII-Format sind zugänglich. DCXplorer ist bei O. Trapp als direkt ausführbares Programm erhältlich.
- Kontakt: <http://www.trapp.uni-hd.de/download/DCXplorer.exe>, **2009**.
- [93] O. Trapp, *J. Chromatogr. B* **2008**, 875, 42-47.
- [94] S. Terabe, K. Otsuka, T. Ando, *Anal. Chem.* **1985**, 57, 834-841.
- [95] H. Eyring, *Chem. Rev.* **1935**, 17, 65-77.
- [96] R. Kießwetter, N. Pustet, F. Brandl, A. Mannschreck, *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, 10, 4677-4687.
- [97] F. Basolo, J.C. Hayes, H.M. Neumann, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76, 3807-3809.
- [98] J. Oxelbark, S. Claeson, S. Allenmark, *Enantiomer* **2000**, 5, 413-419.
- [99] J. Tölgyessy, T. Braun, M. Kyrš, *Isotope Dilution Analysis*, Pergamon Press, Oxford, **1972**.
- [100] J. Sandström, *Dynamic NMR Spectroscopy*, 1. Aufl., Academic Press, London, **1982**.
- [101] F. Gasparri, L. Lunazzi, D. Misiti, C. Villani, *Acc. Chem. Res.* **1995**, 28, 163-170.
- [102] V. Schurig, W. Bürkle, *J. Am. Chem. Soc.* 1982, 104, 7573-7580.
- [103] H. Häkli, M. Mintas, A. Mannschreck, *Chem. Ber.* 1979, 112, 2028-2038.
- [104] J. Krupcik, J. Mydlova, P. Majek, P. Simon, D.W. Armstrong, *J. Chromatogr. A* **2008**, 1186, 144-160.
- [105] R.G. Kostyanovsky, G.K. Kadorkina, V.R. Kostyanovsky, V. Schurig, O. Trapp, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 3066-3069.
- [106] M. Jung, M. Fluck, V. Schurig, *Chirality* **1994**, 6, 510-512.
- [107] J. Mydlova, J. Krupcik, P. Majek, I. Skacani, T. Jakubik, D.W. Armstrong, *J. Sep. Sci.* **2006**, 29, 1497-1507.
- [108] F. Gasparri, M. Pierini, C. Villani, P. De Maria, A. Fontana, R. Ballini, *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 3173-3177.
- [109] O. Trapp, G. Schoetz, V. Schurig, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2002**, 27, 497-505.
- [110] O. Trapp, V. Schurig, *Chem. Eur. J.* **2001**, 7, 1495-1502.

- [111] S. Reich, O. Trapp, V. Schurig, *J. Chromatogr. A* **2000**, 892, 487-498.
- [112] M.T. Harju, P. Haglund, *Fresenius J. Anal. Chem.* **1999**, 364, 219-223.
- [113] D.H. Hochmuth, W.A. König, *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, 10, 1089-1097.
- [114] V. Schurig, S. Reich, *Chirality* **1998**, 10, 316-320.
- [115] V. Schurig, F. Keller, S. Reich, M. Fluck, *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, 8, 3475-3480.
- [116] V. Schurig, A. Glausch, M. Fluck, *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, 6, 2161-2164.
- [117] C. Wolf, W.A. König, C. Roussel, *Liebigs Ann.* **1995**, 781-786.
- [118] P.J. Marriott, Y.-H. Lai, *Inorg. Chem.* **1986**, 25, 3680-3683.
- [119] K.W. Phinney, *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, 382, 639-645.
- [120] A.M. Krustulovic, *Chiral Separations by HPLC*, John Wiley and Sons, **1989**.
- [121] J. Oxelbark, S. Allenmark, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 1483-1486.
- [122] G. Cannazza, D. Braghiroli, P. Iuliani, C. Parenti, *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, 17, 3158-3162.
- [123] C.J. Welch, M.H. Kress, M. Beconi, D.J. Mathre, *Chirality* **2003**, 15, 143-147.
- [124] S.F. Oguz, L. Dogan, *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, 14, 1857-1864.
- [125] U. Berger, W. Vetter, A. Gotsch, R. Kallenborn, *J. Chromatogr. A* **2002**, 973, 123-133.
- [126] O. Trapp, G. Trapp, V. Schurig, *J. Biochem. Biophys. Methods* **2002**, 54, 301-313.
- [127] A. Abatangelo, F. Zanetti, L. Navarini, D. Kontrec, V. Vinkovic, V. Sunjic, *Chirality* **2002**, 13, 12-17.
- [128] A.C. Spivey, P. Charbonneau, T. Fekner, D.H. Hochmuth, A. Maddaford, C. Malardier-Jugroot, A.J. Redgrave, M.A. Whitehead, *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 7394-7401.
- [129] F. Gasparri, I. D'Acquarica, M. Pierini, C. Villani, *J. Sep. Sci.* **2001**, 24, 941-946.
- [130] E. Tobler, M. Lämmerhofer, G. Mancini, W. Lindner, *Chirality* **2001**, 13, 641-647.
- [131] G. Cannazza, D. Braghiroli, A. Tait, M. Baraldi, C. Parenti, W. Lindner, *Chirality* **2001**, 13, 94-101.
- [132] O. Trapp, S. Caccamese, C. Schmidt, V. Böhmer, V. Schurig, *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, 12, 1395-1398.
- [133] F. Gasparri, L. Lunazzi, A. Mazzanti, M. Pierini, K.M. Pietrusiowicz, C. Villani, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 4776-4780.
- [134] J. Oxelbark, S. Allenmark, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1999**, 1587-1589.
- [135] F. Gasparri, D. Misiti, M. Pierini, C. Villani, *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, 8, 2069-2073.
- [136] K. Cabrera, M. Jung, M. Fluck, V. Schurig, *J. Chromatogr. A* **1996**, 731, 315-321.
- [137] C. Villani, W.H. Pirkle, *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, 6, 27-30.
- [138] K. Cabrera, D. Lubda, *J. Chromatogr. A* **1994**, 666, 433-438.
- [139] T.V. Alfredson, P.W. Bruins, A.H. Maki, J.-L. Excoffier, *J. Chromatogr. Sci.* **1994**, 32, 132-138.
- [140] B. Stephan, H. Zinner, F. Kastner, A. Mannschreck, *Chimia* **1990**, 10, 336-338.

- [141] G. Körtvelyessy, J. Körtvelyessy, T. Mester, G. Meszlenyi, G. Janzso, *J. Chromatogr. A* **1990**, 507, 409-415.
- [142] G. Gübitz, M.G. Schmid, *Electrophoresis* **2004**, 25, 3981-3996.
- [143] G. Gübitz, M.G. Schmid, *Electrophoresis* **2007**, 28, 114-126.
- [144] B. Preinerstorfer, M. Lämmerhofer, *Electrophoresis* **2007**, 28, 2527-2565.
- [145] M. Lämmerhofer, F. Svec, J.M.J. Fréchet, W. Lindner, *Trends Anal. Chem.* **2000**, 19, 676-698.
- [146] G. Gübitz, M.G. Schmid, *Electrophoresis* **2000**, 21, 4112-4135.
- [147] B. Chankvetadze, G. Blaschke, *J. Chromatogr. A* **2001**, 906, 309-363.
- [148] S. Fanali, P. Catarcini, G. Blaschke, B. Chankvetadze, *Electrophoresis* **2001**, 22, 3131-3151.
- [149] G. Gübitz, M.G. Schmid, *Biopharm. Drug Dispos.* **2001**, 22, 291-336.
- [150] J.W. Kang, D. Wistuba, V. Schurig, *Electrophoresis* **2002**, 23, 4005-4021.
- [151] B. Chankvetadze, *J. Sep. Sci.* **2001**, 24, 691-705.
- [152] G. Gübitz, M.G. Schmid, *J. Chromatogr. A* **2008**, 1204, 140-156.
- [153] S. Terabe, K. Otsuka, H. Nishi, *J. Chromatogr. A* **1994**, 666, 295-319.
- [154] S.A. Shamsi, I.M. Warner, *Electrophoresis* **1997**, 18, 853-872.
- [155] K. Verleysen, P. Sandra, *Electrophoresis* **1998**, 19, 2798-2833.
- [156] R. Kuhn, *Electrophoresis* **1999**, 20, 2605-2613.
- [157] H.-J. Park, Y. Choi, W. Lee, K.-R. Kim, *Electrophoresis* **2004**, 25, 2755-2760.
- [158] J. Haginaka, *J. Chromatogr. A* **2000**, 875, 235-254.
- [159] J. Kang, D. Wistuba, V. Schurig, *Electrophoresis* **2003**, 24, 2674-2679.
- [160] Z. Jiang, J. Kang, D. Bischoff, B. Bister, R.D. Süssmuth, V. Schurig, *Electrophoresis* **2004**, 25, 2687-2692.
- [161] Y. Moliner-Martínez, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *Electrophoresis* **2007**, 28, 2573-2579.
- [162] A.G. Peterson, E.S. Ahuja, J.E. Foley, *J. Chromatogr. B* **1996**, 683, 15-28.
- [163] M.E. Swartz, J.R. Mazzeo, E.R. Grover, P.R. Brown, H.Y. Abdoul-Enein, *J. Chromatogr. A* **1996**, 724, 307-316.
- [164] R. Iqbal, S.A.A. Rizvi, C. Akbay, S.A. Shamsi, *J. Chromatogr. A* **2004**, 1043, 291-302.
- [165] A. Mohanty, J. Dey, *J. Chromatogr. A* **2005**, 1070, 185-192.
- [166] S.E. Martin, R.M. Connatser, N.A.P. Kane-Maguire, J.F. Wheeler., *Anal. Chim. Acta* **2001**, 445, 21-27.
- [167] J.E. Harris, N. Desai, K.E. Seaver, R.T. Watson, N.A.P. Kane-Maguire, J.F. Wheeler, *J. Chromatogr. A* **2001**, 919, 427-436.
- [168] B. Chankvetadze, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, 33, 337-347.
- [169] H. Dodziuk, W. Kozminski, A. Ejchart, *Chirality* **2004**, 16, 90-105.
- [170] O. Trapp, G. Trapp, J. Kong, U. Hahn, F. Vögtle, V. Schurig, *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, 3629-3634.

- [171] S. Kodama, A. Yamamoto, A. Matsunaga, T. Soga, K. Minoura, *J. Chromatogr. A* **2000**, 875, 371-377.
- [172] L. Huang, J. Lin, L. Xu, G. Chen, *Electrophoresis* **2007**, 28, 2758-2764.
- [173] G. Schoetz, O. Trapp, V. Schurig, *Electrophoresis* **2001**, 22, 3185-3190.
- [174] G. Schoetz, O. Trapp, V. Schurig, *J. Cap. Elec.* **1999**, 6, 169-175.
- [175] V.A.P. Jabor, V.L. Lanchote, P.S. Bonato, *Electrophoresis* **2002**, 23, 3041-3047.
- [176] C.-E. Lin, K.-H. Chen, Y.-Y. Hsiao, W.-S. Liao, C.-C. Chen, *J. Chromatogr. A* **2002**, 971, 271-266.
- [177] Q. Liu, T. Inoue, J.R. Kirchoff, C. Huang, L.M.V. Tillekeratne, K. Olmstead, R.A. Hudson, *J. Chromatogr. A* **2004**, 1033, 349-356.
- [178] M. Castro-Puyana, A.L. Crego, M.L. Marina, C. García-Ruiz, *Electrophoresis* **2007**, 28, 2667-2674.
- [179] K.P. Scharwächter, D.H. Hochmuth, H. Dittmann, W.A. König, *Chirality* **2001**, 13, 679-690.
- [180] B.C. Valle, F.H. Billiot, S.A. Shamsi, X. Zhu, A.M. Powe, I.M. Warner, *Electrophoresis* **2004**, 25, 743-752.
- [181] R.O. Cole, M.J. Sepaniak, W.L. Hinze, *J. High Res. Chromatogr.* **1990**, 13, 579-582.
- [182] H. Nishi, T. Fukuyama, M. Matsuo, S. Terabe, *J. Microcol. Sep.* **1989**, 1, 234-241.
- [183] S. Terabe, M. Shibata, Y. Miyashita, *J. Chromatogr.* **1989**, 480, 403-411.
- [184] G. Schoetz, O. Trapp, V. Schurig, *Anal. Chem.* **2000**, 72, 2758-2764.
- [185] H. Nishi, T. Fukuyama, M. Matsuo, *J. Chromatogr. A* **1990**, 515, 233-243.
- [186] E.S. Okerberg, S. Elshihabi, P.T. Carmichael, K.A. Woody, T.A. Barckholtz, J.A. Burke, Jr., M.M. Bushey, *J. Microcol. Sep* **2000**, 12, 391-397.
- [187] H. Nishi, T. Fukuyama, M. Matsuo, *J. Chromatogr. A* **1990**, 498, 313-323.
- [188] G. Schoetz, O. Trapp, V. Schurig, *Enantiomer* **2000**, 5, 391-396.
- [189] M.R. Hadley, M.W. Harrison, A.J. Hutt, *Electrophoresis* **2003**, 24, 2508-2513.
- [190] A.R. Campanelli, S. Candeloro De Sanctis, E. Chiessi, M. D'Alagni, E. Giglio, L. Scaramuzza, *J. Phys. Chem.* **1989**, 93, 1536-1542.
- [191] C. Jiang, M.-Y. Tong, D.W. Armstrong, S. Perera, Y. Bao, F.M. MacDonnell, *Chirality* **2009**, 21, 208-217.
- [192] B.J. Herbert, H.E. Carpenter, N.A.P. Kane-Maguire, J.F. Wheeler, *Anal. Chim. Acta.* **2004**, 514, 27-35.
- [193] E. Holder, G. Schoetz, V. Schurig, E. Lindner, *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, 12, 2289-2293.
- [194] E. Holder, O. Trapp, G. Trapp, V. Marin, R. Hoogenboom, U.S. Schubert, *Chirality* **2004**, 16, 363-368.
- [195] E. Holder, G. Trapp, J.C. Grimm, V. Schurig, E. Lindner, *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, 13, 2673-2678.

- [196] C.M. Shelton, K.E. Seaver, J.F. Wheeler, N.A.P. Kane-Maguire, *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 1532-1533.
- [197] S. Elshihabi, K.D. Black, J.K. Sutton, K.A. Woody, J.A. Burke Jr., M.M. Bushey, *Electrophoresis* **2001**, *22*, 3771-3777.
- [198] M.M. See, S. Elshihabi, J.A. Burke Jr., M.M. Bushey, *J. Microcol. Sep.* **1995**, *7*, 199-206.
- [199] S. Fanali, L. Ossicini, F. Foret, P. Bocek, *J. Microcol. Sep.* **1989**, *1*, 190-194.
- [200] O. Trapp, *Electrophoresis* **2007**, *28*, 691-696.
- [201] O. Trapp, *Electrophoresis* **2007**, *28*, 691-696.
- [202] N.N. Greenwood, A. Earnshaw, *Chemie der Elemente*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **1990**.
- [203] A.F. Hollemann, E. Wiberg, N. Wiberg, *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, 102. Aufl., deGruyter, Berlin, **2007**.
- [204] B. Bosnich, D.W. Watts, *Inorg. Chem.* **1975**, *14*, 47-50.
- [205] N.R. Davies, F.P. Dwyer, *Trans. Faraday Soc.* **1953**, *49*, 180-184.
- [206] F.M. Van Meter, H.M. Neumann, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 1388-1394.
- [207] M.E. Lacey, A.G. Webb, J.V. Sweedler, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 4583-4587.
- [208] C.J. Evenhuis, R.M. Guijt, M. Macka, P.J. Marriott, P.R. Haddad, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 2684-2693.
- [209] A.S. Rathore, *J. Chromatogr. A* **2004**, *1037*, 431-443.
- [210] H. Zhang, Q. Li, Z. Hu, R. Wang, X. Chen, *J. Chromatogr. A* **2001**, *907*, 353-356.
- [211] R.F. Cross, *J. Chromatogr. A* **2001**, *907*, 357-360.
- [212] X. Xuan, *Electrophoresis* **2008**, *29*, 33-43.
- [213] M.R. D'Acunto, C. Gelfi, A. Stoyanov, V. Andreev, P.G. Righetti, *J. Chromatogr. A* **2002**, *979*, 285-297.
- [214] R.J. Farrauto, C.H. Bartholomew, *Fundamentals of Industrial Catalytic Processes*, 2. Aufl., Chapman & Hall, London, **1997**.
- [215] J. Hagen, *Industrial Catalysis - A Practical Approach*, 2. Aufl., WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2006**.
- [216] C.C. Leznoff, *Chem. Soc. Rev.* **1974**, *3*, 65-85.
- [217] R.H. Grubbs, *Chem. Tech.* **1977**, *7*, 512-518.
- [218] F.R. Hartley, P.N. Vezey, *Adv. Organomet. Chem.* **1977**, *15*, 189-234.
- [219] F.R. Hartley, *Supported Metal Complexes. A New Generation of Catalysts*, 1. Aufl., Reidel, Dordrecht, **1985**.
- [220] Y. Iwasawa, *Tailored Metal Catalysts*, 1. Aufl., Reidel, Dordrecht, **1986**.
- [221] W. Keim, B. Driessen-Hölscher, in *Handbook of Heterogeneous Catalysis*, 2. Aufl., Band 1 (Editoren: G. Ertl, H. Knözinger, J. Weitkamp), WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **1997**, 231.

- [222] P. McMorn, G.J. Hutchings, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, 33, 108-122.
- [223] F. Cozzi, *Adv. Synth. Catal.* **2006**, 348, 1367-1390.
- [224] J.N.H. Reek, P.W.N.M. van Leeuwen, A.G.J. van der Ham, A.B. de Haan, in *Catalyst Separation, Recovery and Recycling*, Band 30, Springer Amsterdam, **2006**, 39.
- [225] D.E. De Vos, I.F.J. Vankelecom, P.A. Jacobs, *Chiral Catalyst Immobilization and Recycling*, 1. Aufl., WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2000**.
- [226] M. Heitbaum, F. Glorius, I. Escher, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 4850-4881; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 4732-4762.
- [227] C.T. Campbell, *Nature* **2004**, 432, 282-283.
- [228] L.F. Razón, S.-M. Chang, R.A. Schmitz, *Chem. Eng. Sci.* **1986**, 41, 1561-1576.
- [229] F.C. Moates, M. Somani, J. Annamalai, J.T. Richardson, D. Luss, R.C. Willson, *Ind. Eng. Chem. Res.* **1996**, 35, 4801-4803.
- [230] A. Holzwarth, H.-W. Schmidt, W.F. Maier, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 2788-2792; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2644-2647.
- [231] M.T. Reetz, M.H. Becker, K.M. Kühling, A. Holzwarth, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 2792-2795; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2647-2650.
- [232] S.J. Taylor, P.J. Morken, *Science* **1998**, 280, 267-270.
- [233] S.S. Lasko, R.J. Hendershot, J. Reed, Y. Fu, M.-F. Fellmann, G. Oskarsdottir, C.M. Snively, J. Lauterbach, in *High-Throughput Analysis: Spectroscopic imaging in the mid-infrared applied to high-throughput studies of supported catalyst libraries* (Editoren: R.A. Potyrailo, E. Amis), Kluwer Academic, New York, **2003**, 77-91.
- [234] J. Klein, W. Stichert, W. Strehlau, A. Brenner, D. Demuth, S.A. Schunk, H. Hibst, S. Storck, *Catal. Today* **2003**, 81, 329-335.
- [235] S. Cypes, A. Hagemeyer, Z. Hogan, A. Lesik, *Comb. Chem. & High Throughput Screening* **2007**, 10, 25-35.
- [236] C. Brooks, S. Cypes, R.K. Grassellic, A. Hagemeyer, Z. Hogan, A. Lesik, G. Streukens, A.F. Volpe, H.W. Turner, W.H. Weinberg, K. Yaccato, *Top. Catal.* **2006**, 38, 195-209.
- [237] P. Cong, R.D. Doolen, Q. Fan, D.M. Giaquinta, S. Guan, E.W. Mcfarland, D.M. Poojary, K. Self, H.W. Turner, W.H. Weinberg, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 507-512; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 483-488.
- [238] M. Orschel, J. Klein, H.-W. Schmidt, W.F. Maier, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 2791-2794; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 2791-2794.
- [239] S. Senkan, K. Krantz, S. Ozturk, V. Zengin, I. Onal, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 2965-2971; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 2794-2799.
- [240] M.-J. Kang, A. Tholey, E. Heinzle, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2001**, 15, 1327-1333.
- [241] H. Wang, Z. Liu, J. Shen, *J. Comb. Chem.* **2003**, 5, 802-808.

- [242] M.T. Reetz, A. Zonta, K. Schimossek, K. Liebeton, K.-E. Jaeger, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2961-2963; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 2830-2832.
- [243] M.T. Reetz, K.-E. Jaeger, *Top. Curr. Chem.* **1999**, *200*, 31-57.
- [244] M.T. Reetz, K.-E. Jaeger, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 407-412.
- [245] P.G. Schultz, R.A. Lerner, *Science* **1995**, *269*, 1835-1842.
- [246] F. Zocher, M.M. Enzelberger, U.T. Bornscheuer, B. Hauer, R.D. Schmid, *Anal. Chim. Acta* **1999**, *391*, 345-351.
- [247] E. Henke, U.T. Bornscheuer, *Biol. Chem.* **1999**, *380*, 1029-1033.
- [248] A.C. Cooper, L.H. McAlexander, D.-H. Lee, M.T. Torres, R.H. Crabtree, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9971-9972.
- [249] E. Reddington, A. Sapienza, B. Gurau, R. Viswanathan, S. Sarangapani, E.S. Smotkin, T.E. Mallouk, *Science* **1998**, *280*, 1735-1737.
- [250] A.P. de Silva, H.Q.N. Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A.J.M. Huxley, C.P. McCoy, J.T. Rademacher, T.E. Rice, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1515-1566.
- [251] G. Zandonella, L. Haalck, F. Spener, K. Faber, F. Paltauf, A. Hermetter, *Chirality* **1996**, *8*, 481-489.
- [252] G. Gauglitz, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 351-355.
- [253] M. Olsen, B. Iverson, G. Georgiou, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2000**, *11*, 331-337.
- [254] R.P. Hertzberg, A.J. Pope, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 445-451.
- [255] S.M. Senkan, *Nature* **1998**, *394*, 350-353.
- [256] S.M. Senkan, S. Ozturk, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 867-871; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 791-795.
- [257] C. Hoffmann, A. Wolf, F. Schüth, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2971-2975; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2800-2803.
- [258] R.A. Potyrailo, R.J. May, *Rev. Sci. Instrum.* **2002**, *73*, 1277-1283.
- [259] K. Ding, A. Ishii, K. Mikami, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 519-523; *Angew. Chem., Int. Ed.*, **1999**, *38*, 497-501.
- [260] D. Belder, *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, *385*, 416-418.
- [261] S.J. Haswell, P. Watts, *Green Chem.* **2003**, *5*, 240-249.
- [262] P. Watts, S.J. Haswell, *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 235-246.
- [263] Y. Uozumi, Y.M.A. Yamada, T. Beppu, N. Fukuyama, M. Ueno, T. Kitamori, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15994-15995.
- [264] M.V. Koch, K.M. VandenBussche, R.W. Chrisman, *Micro Instrumentation*, Wiley-VCH, Weinheim, **2007**.
- [265] H.R. Sahoo, J.G. Kralj, K.F. Jensen, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 5806-5810; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5704-5708.
- [266] O. Trapp, *J. Chromatogr. A* **2008**, *1184*, 160-190.

- [267] K. Tamaru, *Nature* **1959**, *183*, 319-320.
- [268] E. Gil-Av, Y. Herzberg-Minzly, *Proc. Chem. Soc.* **1961**, 316.
- [269] G.L. Pratt, S.H. Langer, *J. Phys. Chem.* **1969**, *73*, 2095-2097.
- [270] S.H. Langer, J.E. Patton, *J. Phys. Chem.* **1972**, *76*, 2159-2170.
- [271] S.H. Langer, T.D. Griffith, *J. Phys. Chem.* **1978**, *82*, 1327-1328.
- [272] H.K. Lee, S.F.Y. Li, P.J. Marriott, *Bull. Sing. N. I. Chem.* **1990**, *18*, 109-114.
- [273] K.F. Scott, C.S.G. Phillips, *J. Chromatogr.* **1975**, *112*, 61-70.
- [274] P.M. Lyne, C.S.G. Phillips, *J. Chromatogr.* **1989**, *471*, 145-150.
- [275] O. Trapp, S.K. Weber, S. Bauch, W. Hofstadt, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 7447-7451; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7307-7310.
- [276] S.K. Weber, Dissertation, **2009**, <http://www.ub.uni-heidelberg.de/archiv/9576>.
- [277] S.K. Weber, S. Bremer, M.J. Spallek, O. Trapp, **2009**, zur Publikation eingereicht.
- [278] M.R. Arnold, *Chem. Eng. Rev.* **1956**, *48*, 1629-1642.
- [279] W.S. Knowles, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 2096-2107.
- [280] R. Noyori, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 2108-2123; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2008-2022.
- [281] T. Haas, J. Gaube, *Chem. Eng. Technol.* **1989**, *12*, 45.53.
- [282] M. Di Serio, V. Balato, A. Dimiccoli, L. Maffucci, P. Iengo, E. Santacesaria, *Catal. Today* **2001**, *66*, 403-410.
- [283] A. Schmidt, R. Schomäcker, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2007**, *46*, 1677-1681.
- [284] R. Brückner, *Reaktionsmechanismen*, 3. Aufl., Elsevier GmbH, Spektrum akademischer Verlag, München, **2004**.
- [285] P. Sykes, *Reaktionsmechanismen in der Organischen Chemie*, 9. Aufl., VCH, Weinheim **1988**.
- [286] P.L. Hansen, J.B. Wagner, S. Helveg, J.R. Rostrup-Nielsen, B.S. Clausen, H. Topsøe, *Science* **2002**, *295*, 2053-2055.
- [287] D. Astruc, F. Lu, J.R. Aranzaes, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 8062-8083; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7852-7872.
- [288] S.J.A. Dumesic, H. Topsøe, M. Boudart, *J. Catal.* **1975**, *37*, 513-522.
- [289] M.M. Günter, T. Ressler, B. Bems, C. Buscher, T. Genger O. Hinrichsen, M. Muhler, R. Schlögl, *Catal. Lett.* **2001**, *71*, 37-44.
- [290] J.-D. Grunwaldt, A.M. Molenbroek, N.-Y. Topsøe, H. Topsøe, B.S. Clausen, *J. Catal.* **2000**, *194*, 452-460.
- [291] T.W. Hansen, J.B. Wagner, P.L. Hansen, S. Dahl, H. Topsøe, C.J.H. Jacobsen, *Science* **2001**, *294*, 1508-1510.
- [292] H. Bönemann, W. Brijoux, R. Brinkmann, E. Dinjus, T. Joujen, B. Korall, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1344-1346; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1991**, *30*, 1312-1314.

- [293] M.T. Reetz, W. Helbig, S.A. Quaiser, U. Stimming, N. Breuer, R. Vogel, *Science* **1995**, 267, 367-369.
- [294] H. Bönemann, R.M. Richards, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2001**, 2455-2480.
- [295] V. Farina, *Adv. Synth. Catal.* **2004**, 346, 1553-1582.
- [296] V. Kogan, Z. Aizenshtat, R. Popovitz-Biro, R. Neumann, *Organic Letters* **2002**, 4, 3529-3532.
- [297] Y. Uozumi, R. Nakao, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 194-197.
- [298] B. Karimi, S. Abedi, J.H. Clark, V. Budarin, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 4894-4897; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 4776-4779.
- [299] M.T. Reetz, E. Westermann, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 170-173; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 165-168.
- [300] M.T. Reetz, J.G.D. Vries, *Chem. Commun.* **2004**, 1559-1563.
- [301] D. Astruc, *Inorg. Chem.* **2007**, 46, 1884-1894.
- [302] K. Köhler, W. Kleist, S.S. Pröckl, *Inorg. Chem.* **2007**, 46, 1876-1883.
- [303] J.G. de Vries, *Dalton Trans.* **2006**, 421-429.
- [304] B.P.S. Chauhan, J.S. Rathore, T. Bando, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 8493-8500.
- [305] D. Teschner, E. Vass, M. Hävecker, S. Zafeiratos, P. Schnörch, H. Sauer, A. Knop-Gericke, R. Schlögl, M. Chamam, A. Wootsch, A.S. Canning, J.J. Gamman, S.D. Jackson, J. McGregor, L.F. Gladden, *J. Catal.* **2006**, 242, 26-37.
- [306] M.J. Owen, in *Silicon-Containing Polymers* (Editoren: R.G. Jones, W. Ando, J. Chojnowski), 1. Aufl., Kluwer Publishers, Dordrecht, The Netherlands, **2000**, S. 213-231.
- [307] F. Keller, H. Weinmann, V. Schurig, *Chem. Ber./Recueil* **1997**, 130, 879-885.
- [308] M.A. Grunlan, K.R. Regan, D.E. Bergbreiter, *Chem. Commun.* **2006**, 1715-1717.
- [309] H. Figge, A. Deege, J. Köhler, G. Schomburg, *J. Chromatogr.* **1986**, 351, 393-408.
- [310] W. Lu, B. Wang, K. Wang, X. Wang, J.G. Hou, *Langmuir* **2003**, 19, 5887-5891.
- [311] K. Grob, *Making and Manipulating Capillary Columns for Gas Chromatography*, Huethig, Heidelberg, **1986**.
- [312] T. Falk, A. Seidel-Morgenstern, *Chem. Eng. Sci.* **1999**, 54, 1479-1485.
- [313] T.D. Vu, A. Seidel-Morgenstern, S. Grüner, A. Kienle, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2005**, 44, 9565-9574.
- [314] A. Seidel-Morgenstern, *J. Chromatogr. A* **2004**, 1037, 255-272.
- [315] H. Wieland, *Chem. Ber.* **1912**, 45, 484-493.
- [316] N. Zelinsky, N. Pavlov, *Chem. Ber.* **1923**, 56B, 1249-1255.
- [317] R.P. Linstead, S.L.S. Thomas, *J. Chem. Soc.* **1940**, 1127-1134.
- [318] G. Wedler, *Lehrbuch der Physikalischen Chemie*, 4. Aufl., WILEY-VCH, Weinheim, **1997**.
- [319] T. Toko'oka, *Modern Derivatization Methods for Separation Sciences*, Wiley Sons Ltd., England, **1999**.

- [320] G. Lunn, L.C. Hellwig, *Handbook of Derivatization Reaction for HPLC*, John Wiley & Sons Ltd., England, **1999**.
- [321] S. Ruhemann, *Trans. Chem. Soc.* **1910**, 97, 1448.
- [322] S. Ruhemann, *Trans. Chem. Soc.* **1910**, 98, 2025.
- [323] E. Abderhalden, H. Schmidt, *Z. physiol. Chem.* **1911**, 72, 37-43.
- [324] E. Abderhalden, H. Schmidt, *Z. physiol. Chem.* **1913**, 85, 143-147.
- [325] E. Kaiser, R. L. Colescott, C. D. Bossinger, P. I. Cook, *Anal. Biochem.* **1970**, 34, 595-598.
- [326] W. Troll, R.K. Cannan, *J. Biol. Chem.* **1953**, 200, 803-811.
- [327] I. Molnár-Perl, *Quantitation of Amino Acids and Amines by Chromatography: Methods and Protocols (Journal of Chromatography Library, Volume 70)*, Elsevier, **2005**.
- [328] M. Roth, *Anal. Chem.* **1971**, 43, 880-882.
- [329] S.M. Allin, C.C. Hodgkinson, N. Taj, *Synlett* **1996**, 781-782.
- [330] R.M. Freidinger, J.S. Hinkle, D.S. Perlow, B.H. Arison, *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 77-81.
- [331] R. Grigg, H.Q.N. Gunaratne, V. Sridharan, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1985**, 1183-1184.
- [332] W.J.M. Underberg, J.C.M. Waterval, *Electrophoresis* **2002**, 23, 3922-3933.
- [333] J. Lui, K.A. Cobb, M. Novotny, *J. Chromatogr.* **1998**, 468, 55-65.
- [334] A.J.G. Mank, E.S. Yeung, *J. Chromatogr. A* **1995**, 708, 309-321.
- [335] E. Kaale, S. Leonard, A. Van Schepdael, E. Roets, J. Hoogmartens, *J. Chromatogr. A* **2000**, 895, 67-79.
- [336] E. Kaale, A. Van Schepdael, E. Roets, J. Hoogmartens, *J. Chromatogr. A* **2001**, 924, 451-458.
- [337] K.B. Male, J.H.T. Luong, *J. Chromatogr. A* **2001**, 926, 309-317.
- [338] D.J. Rose, Jr., J.W. Jorgenson, *J. Chromatogr.* **1988**, 447, 117-131.
- [339] S.L. Pentoney, Jr., X. Huang, D.S. Burgi, R.N. Zare, *Anal. Chem.* **1988**, 60, 2625-2629.
- [340] M. Albin, R. Weinberger, E. Sapp, S. Moring, *Anal. Chem.* **1991**, 63, 417-422.
- [341] D.J. Rose, Jr., *J. Chromatogr.* **1991**, 540, 343-353.
- [342] P.G. Coble, A.T. Timperman, *J. Chromatogr. A* **1998**, 829, 309-315.
- [343] R. Zhu, W.T. Kok, *J. Chromatogr. A* **1995**, 716, 123-133.
- [344] S.C. Jacobson, R. Hergenröder, A.W. Moore, Jr., J.M. Ramsey, *Anal. Chem.* **1994**, 66, 4127-4132.
- [345] S.C. Jacobson, L.B. Koutny, R. Hergenröder, A.W. Moore, Jr., J.M. Ramsey, *Anal. Chem.* **1994**, 66, 3472-3476.
- [346] H.A. Fishman, J.B. Shear, L.A. Colon, R.N. Zare, J.V. Sweedler, United States Patent 5318680, **1994**.
- [347] A. Taga, S. Honda, *J. Chromatogr. A* **1996**, 742, 243-250.
- [348] Y. Zhang, F.A. Gomez, *Electrophoresis* **2000**, 21, 3305-3310.
- [349] E. Kaale, E. van Goidsenhoven, A. van Schepdael, E. Roets, J. Hoogmartens, *Electrophoresis* **2001**, 22, 2746-2754.

- [350] M. Molina, M. Silva, *Electrophoresis* **2002**, 23, 2333-2340.
- [351] E. Kaale, A. van Schepdael, E. Roets, J. Hoogmartens, *Electrophoresis* **2003**, 24, 1119-1125.
- [352] J. Cheng, J. Kang, *Electrophoresis* **2006**, 27, 865-871.
- [353] S. Oguri, T. Fujiyoshi, Y. Miki, *Analyst* **1996**, 121, 1683-1688.
- [354] S. Oguri, K. Yokoi, Y. Motohase, *J. Chromatogr. A* **1997**, 787, 253-260.
- [355] S. Oguri, Y. Yoneya, M. Mizunuma, Y. Fujiki, K. Otsuka, S. Terabe, *Anal. Chem.* **2002**, 74, 3463-3469.
- [356] S. Oguri, Y. Maeda, A. Mizusawa, *J. Chromatogr. A* **2004**, 1044, 271-276.
- [357] A. Taga, M. Sugimura, S. Honda, *J. Chromatogr. A* **1998**, 802, 243-248.
- [358] D. Nelson, M. Cox, *Lehninger Biochemie*, 3. Aufl., Springer Verlag, Berlin, **2001**.
- [359] S. Terabe, T. Katsura, Y. Okada, Y. Ishihama, K. Otsuka, *J. Microcolumn Sep.* **1993**, 5, 23-33.
- [360] ChemOrganizer ist ein hausinternes Softwareprogramm, welches ein elektronisches Laborbuch, eine Chemikaliendatenbank und verschiedene Instrumente zur Auswertung und graphischen Darstellung enthält. Es läuft unter Windows (2000, XP und Vista).
Kontakt: Prof. Dr. O. Trapp, <http://www.trapp.uni-hd.de>, **2009**.
- [361] RCXplorer ist ein hausinternes Softwareprogramm mit dem experimentelle Chromatogramme ausgewertet werden können. Es läuft unter Windows (2000, XP und Vista). Alle Chromatogramme im ASCII-Format sind zugänglich.
Kontakt: Prof. Dr. O. Trapp, <http://www.trapp.uni-hd.de>, **2009**.

Erklärung

Die vorliegende Arbeit entstand unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Oliver Trapp am Organisch-Chemischen Institut der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg in der Zeit von Oktober 2008 bis Oktober 2009 sowie in der Abteilung für Heterogene Katalyse des Max-Planck-Institutes für Kohlenforschung in Mülheim an der Ruhr in der Zeit von September 2006 bis September 2008.

Gemäß § 8 (3) b) und c) der Promotionsordnung der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg für die Naturwissenschaftlich-Mathematische Gesamtfakultät erkläre ich hiermit, dass ich die vorgelegte Dissertation selbst verfasst und mich keiner anderen als der von mir ausdrücklich bezeichneten Quellen bedient habe und dass ich an keiner anderen Stelle ein Prüfungsverfahren beantragt bzw. die Dissertation in dieser oder anderer Form bereits anderweitig als Prüfungsarbeit verwendet oder an einer anderen Fakultät als Dissertation vorgelegt habe.

Heidelberg, den 30.10.2009

.....

Sabrina Bremer

Meine akademischen Lehrer waren:

Prof. Dr. D. Agar, Prof. Dr. mult. Dr. h.c. M. Bahadir, Prof. Dr. K.D. Becker, Prof. Dr. A. Behr, Prof. Dr. W.-W. du Mont, Prof. Dr. M. Fild, Prof. Dr. K.-H. Gericke, Prof. Dr. W. Grünert, Prof. Dr. H. Hopf, Dr. U. Jahn, Prof. Dr. Ing. J. Jörissen, Prof. Dr. P.G. Jones, apl. Prof. Dr. agr. R. Kreuzig, Prof. Dr. S. Laschat, Prof. Dr. W. Leitner, Dr. rer. nat. E. Löffler, apl. Prof. Dr. habil. R. Marutzky, Prof. Dr. M. Mazik, Prof. Dr. H. Menzel, Prof. Dr. M. Muhler, Prof. Dr. H. Neuhäuser, Prof. Dr. W. von Niessen, Prof. Dr. M.T. Reetz, Prof. Dr. A. Schmid, Prof. Dr. F. Schüth, Prof. Dr. S. Schulz, Prof. Dr. A. Schumpe, Prof. Dr. R. Streubel, Prof. Dr. W. Thiel, Priv.-Doz. Dr. C. Thöne, Prof. Dr. O. Trapp, Prof. Dr. P.J. Walla, Dr. rer. nat. H. Wichmann und Prof. Dr. R. Wichmann.