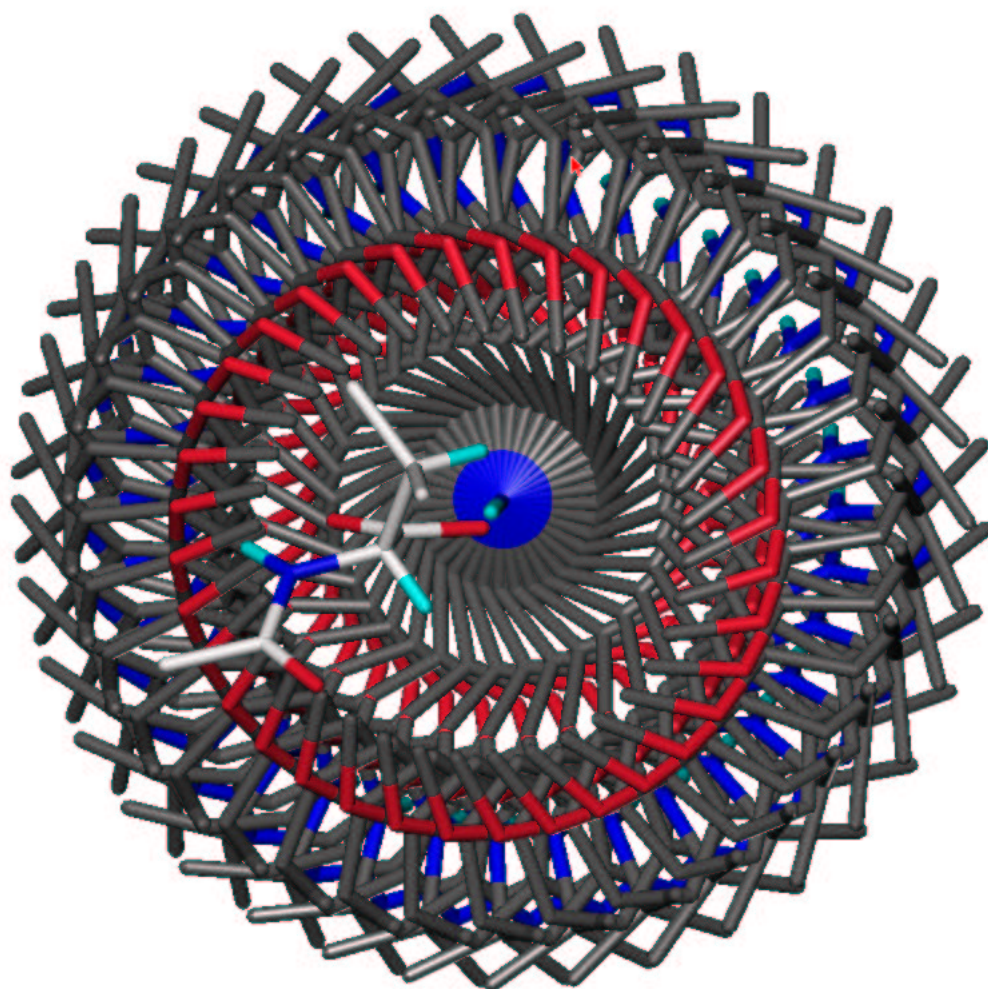


Gerd Menche

---

Molecular Modelling Untersuchungen zur  
Enantiomerentrennung in der HPLC

---



# Molecular Modelling Untersuchungen zur Enantiomerentrennung in der HPLC

## **Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von  
**Gerd Menche**  
aus Bad Hersfeld

Düsseldorf 2004

Gedruckt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Prof. Dr. H.-D. Höltje

Korreferent: Prof. Dr. J. Jose

Tag der mündlichen Prüfung: 9.12.2004

Die vorliegende Arbeit wurde von Juni 2001 bis Dezember 2004 am Institut für Pharmazeutische Chemie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. H.-D. Höltje angefertigt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H.-D. Höltje für die Aufnahme in den Arbeitskreis, seine unterstützenden Worte und die hervorragenden Rahmenbedingungen am Institut.

Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. Joachim Jose für die Anfertigung des Zweitgutachtens.

Für Birte und Marieke

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Strukturisomere . . . . .	1
1.2	Bedeutung der Chiralität in der Pharmazie . . . . .	6
1.3	Analytik . . . . .	9
<b>2</b>	<b>Enantiomerentrennung mit der HPLC</b>	<b>11</b>
2.1	Chromatographie [19, 20] . . . . .	11
2.1.1	Aufbau einer HPLC Anlage . . . . .	11
2.1.2	Kenngößen . . . . .	12
2.2	Thermodynamik . . . . .	15
2.2.1	Klassische Thermodynamik . . . . .	16
2.2.2	Statistische Thermodynamik . . . . .	19
2.2.3	Anwendung auf die Enantiomerentrennung . . . . .	21
2.3	Das untersuchte System . . . . .	23
2.3.1	Die stationäre Phase . . . . .	23
2.3.2	Auswahl der Selektanden . . . . .	25
2.3.3	Einordnung der Methode . . . . .	27
2.3.4	Einfluss äußerer Bedingungen . . . . .	28
2.3.5	Experimentelle Daten . . . . .	30
2.4	Theoretische Modelle . . . . .	34

2.4.1	Klassische Modelle . . . . .	34
2.4.2	Molecular Modelling . . . . .	36
<b>3</b>	<b>Problemstellung und Zielsetzung</b>	<b>37</b>
<b>4</b>	<b>Methoden</b>	<b>39</b>
4.1	Quantenmechanik . . . . .	39
4.2	Dichtefunktionaltheorie [87] . . . . .	45
4.3	Kraftfelder . . . . .	47
4.3.1	Kräfte zwischen gebundenen Atomen . . . . .	47
4.3.2	Kräfte zwischen nicht-gebundenen Atomen . . . . .	50
4.4	Beschreibung von Lösungsmitteln . . . . .	51
4.4.1	Die freie Lösungsenergie . . . . .	51
4.4.2	Solvent accessible surface area (SASA) . . . . .	52
4.4.3	Generalized Born / surface area . . . . .	52
4.4.4	Self consistent reaction field Rechnungen [91, 94] . . . . .	53
4.4.5	Bekannte Fehler . . . . .	54
4.5	Konformationsanalyse . . . . .	55
4.5.1	Systematische Analyse . . . . .	55
4.5.2	Grid search . . . . .	57
4.5.3	Random search . . . . .	58
4.5.4	Simulated annealing . . . . .	60
4.5.5	Fragment basierter grid search . . . . .	60
4.6	Verwendete Software und Parameter . . . . .	61
4.6.1	Entwickelte Programme . . . . .	61
4.6.2	Tripos Sybyl . . . . .	65
4.6.3	Amsol . . . . .	65
4.6.4	Jaguar . . . . .	66
4.7	Cambridge Structural Database . . . . .	68

<b>5</b>	<b>Durchführung und Ergebnisse</b>	<b>69</b>
5.1	Konformationsanalyse des Selektors . . . . .	69
5.1.1	6-Methoxychinolin . . . . .	70
5.1.2	Methylcarbaminsäuremethylester . . . . .	74
5.1.3	Stellung des Chinuclidinrings . . . . .	76
5.1.4	Tert.-butyl-Carbamoylchinin . . . . .	84
5.2	Konformationsanalyse der Selektanden . . . . .	88
5.2.1	<i>S</i> -N-Acetylalanin . . . . .	88
5.2.2	<i>S</i> -N-Acetylvalin . . . . .	92
5.2.3	<i>S</i> -N-Benzoylalanin . . . . .	95
5.2.4	<i>S</i> -N-3,5-Dinitrobenzoylalanin . . . . .	97
5.3	Interaktionsanalyse . . . . .	99
5.3.1	Salzbrücke . . . . .	99
5.3.1.1	Vorgehen bei der Untersuchung der Salzbrücke . . . . .	99
5.3.1.2	Ergebnisse . . . . .	101
5.3.2	Systematische Generierung der Komplexe . . . . .	107
5.3.2.1	Auswahl der Konformere . . . . .	107
5.3.2.2	Vorgehensweise beim Aufbau . . . . .	108
5.3.2.3	Minimierung . . . . .	109
5.4	Komplexe . . . . .	111
5.4.1	N-Benzoylalanin . . . . .	111
5.4.1.1	Komplexe des <i>R</i> -N-Benzoylalanins . . . . .	111
5.4.1.2	Komplexe des <i>S</i> -N-Benzoylalanins . . . . .	113
5.4.1.3	Zusammenhang zwischen Selektivität und Energiedifferenz . . . . .	115
5.4.2	N-3,5-Dinitrobenzoylalanin . . . . .	115
5.4.2.1	Komplexe des <i>R</i> -N-3,5-Dinitrobenzoylalanins . . . . .	115



5.4.2.2	Komplexe des <i>S</i> -N-3,5-Dinitrobenzoylalanins . . .	117
5.4.2.3	Zusammenhang zwischen Selektivität und Energiedifferenz . . . . .	118
5.4.3	N-Acetylvalin . . . . .	119
5.4.3.1	Komplexe des <i>R</i> -N-Acetylvalins . . . . .	119
5.4.3.2	Komplexe des <i>S</i> -N-Acetylvalins . . . . .	121
5.4.3.3	Zusammenhang zwischen Selektivität und Energiedifferenz . . . . .	124
<b>6</b>	<b>Diskussion</b>	<b>127</b>
6.1	Vorgehensweise . . . . .	127
6.1.1	Reduktion der Freiheitsgrade . . . . .	127
6.1.2	Evaluierung mithilfe von Kristallstrukturen . . . . .	128
6.2	Konformationsanalyse . . . . .	129
6.2.1	Das Triplos Kraftfeld . . . . .	129
6.2.2	Die semiempirischen Methoden . . . . .	130
6.2.3	DFT-B3LYP und GGA . . . . .	130
6.3	Intermolekulare Wechselwirkungen . . . . .	131
6.3.1	Kraftfeld . . . . .	131
6.3.2	Semiempirische Methoden . . . . .	132
6.3.3	DFT-B3LYP und GGA . . . . .	133
6.4	Die verwendeten Näherungen . . . . .	134
6.4.1	Zustandssumme . . . . .	134
6.4.2	Beschränkung der Untersuchung auf die Beschreibung eines einzigen Komplexes . . . . .	134
6.4.3	Vernachlässigung der Matrix der stationären Phase . . . . .	135
6.5	Gemeinsamer Bindungsmodus . . . . .	135
6.6	Ableitung eines Modells für die chirale Erkennung . . . . .	137

<i>INHALTSVERZEICHNIS</i>	v
<b>7 Zusammenfassung</b>	<b>140</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>143</b>
<b>A Entwickelte Programme</b>	<b>156</b>
A.1 Header Dateien . . . . .	156
A.2 C++ Programme . . . . .	163
A.3 SPL Skripte . . . . .	171
<b>B OpenDx Programme</b>	<b>178</b>
<b>C Minimierungsparameter und Keywords</b>	<b>180</b>

# Kapitel 1

## Einleitung

### 1.1 Strukturisomere

**Isomere** Als Isomere werden in der Chemie allgemein Stoffe bezeichnet, welche die gleiche Summenformel haben, aber unterschiedliche chemische und / oder physikalische Eigenschaften. Man kann verschiedene Formen der Isomerie voneinander unterscheiden.

**Konstitutionsisomere** Zunächst muss man zwischen Isomeren unterscheiden, bei denen die gleichen Atome miteinander verknüpft sind und denen, die ein anderes Bindungsmuster haben. Bei letzteren spricht man von Konstitutions- oder Stellungsisomerie. Beispiele sind Ethanol und Dimethylether oder ortho- und para-Xylol. Bei diesen Stoffen gehen die Atome unterschiedliche Bindungen ein. Eine Untergruppe der Konstitutionsisomere stellen die Valenzisomere und Tautomere dar. Sie zeichnen sich dadurch aus, dass die sich spontan ineinander umwandeln können. Es stellt sich ein festes Gleichgewicht ein.

Zur Gruppe der Valenzisomere gehört das Cyclooctatetraen und sein Isomer, das Bicyclo[4.2.0]octa-2,4,7-trien [1] (Abb.1.1). Diese Strukturen können sich unter Wanderung von Bindungselektronen ineinander umwandeln.

Tautomere lassen sich unter Verschiebung eines Protons ineinander überführen. Ein wichtiges Beispiel ist die Keto-Enol Tautomerie. Sie wird bei Verbindungen beobachtet, die eine Carbonylgruppe mit  $\alpha$ -ständiger Methylengruppe enthal-

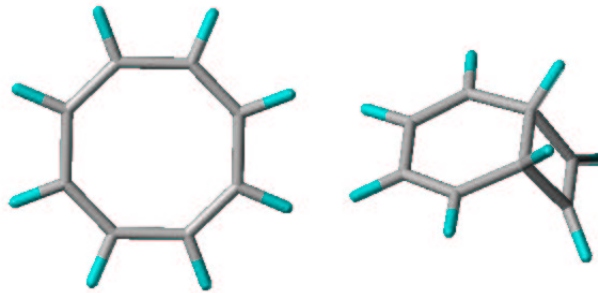


Abbildung 1.1: Valenzisomere: Cyclooctatetraen und Bicyclo[4.2.0]octa-2,4,7-trien

ten. Beim Übergang zur Enol Form wird ein Wasserstoffatom auf den Sauerstoff übertragen, der dadurch zum Alkohol (ol) wird. Gleichzeitig entsteht eine Doppelbindung zwischen den beiden Kohlenstoffen (en). Das Gleichgewicht liegt meist stark auf der Seite des Ketons. Wenn mesomere Effekte das Enol, wie beim Acetessigsäureethylester (Abb.1.2), stabilisieren, können aber auch nennenswerte Konzentration des Alkohols erhalten und die Tautomere isoliert werden.

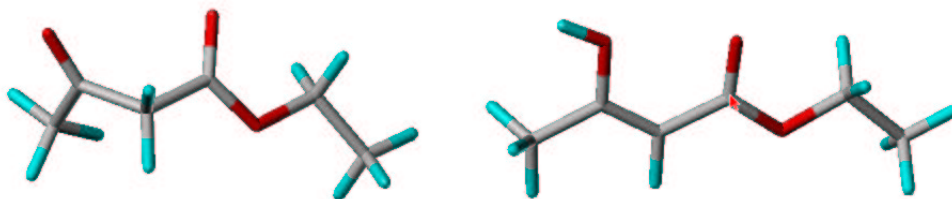


Abbildung 1.2: Tautomerie des Acetessigsäureethylesters, links: Keto-, rechts: Enolform

**Stereoisomere** Besitzen zwei isomere Stoffe die gleiche elementare Zusammensetzung und sind gleichzeitig die Bindungen zwischen denselben Atomen vorhanden, so können sie sich noch in der räumlichen Anordnung unterscheiden. Isomere Moleküle, die diese Eigenschaft haben bezeichnet man allgemein als Stereoisomere.

**Konformationsisomere** Eine Gruppe innerhalb der Stereoisomere bilden die Konformationsisomere. Diese Moleküle zeichnen sich dadurch aus, dass sie sich durch Drehung um eine Bindungsachse ineinander überführen lassen. Bei der

Rotation des Butans um die zentrale Bindungsachse unterscheidet man z.B. *voll ekliptisch* (die Methylgruppen stehen voreinander), *gauche* (die Methylgruppen sind  $60^\circ$  gegeneinander verdreht) und *gestaffelte* Konformationen (die Methylgruppen stehen im maximalen Abstand zueinander).

**Atropisomere** Es gibt Strukturen, bei denen ist die Drehung um eine Einfachbindung bedingt durch sterisch aufwendige Gruppen nicht möglich. Solche Moleküle bilden die so genannten Atropisomere, die auch optisch aktiv sein können. Diese Form von Isomerie tritt häufig bei der direkten Verknüpfung von planaren Ringsystemen auf, die an allen ortho-ständigen Positionen substituiert sind (Abb.1.3 [2]). Die Nomenklatur wird dabei nach folgendem Schema festgelegt: Die chirale Achse wird zuerst senkrecht zur Papierebene ausgerichtet. Nun legt man fest, welcher Substituent der vorne- bzw. hinten-liegenden Teilstruktur die höchste Priorität hat. Liegen diese Substituenten im Uhrzeigersinn, so wird die Achse mit P (plus), andernfalls mit M (minus) bezeichnet.

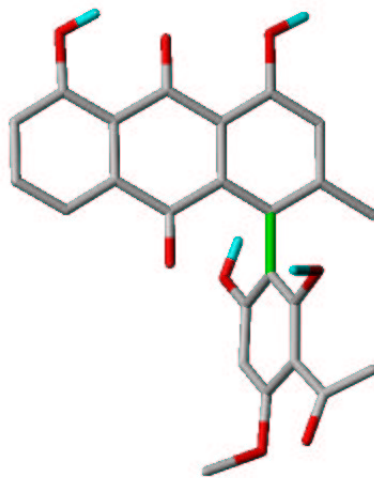


Abbildung 1.3: Atropisomerie am Beispiel des M-konfigurierten Knipholons (Chiralitätsachse in grün)

**E/Z und cis/trans Isomere** Im Falle eines Moleküls, das Doppelbindungen mit unterschiedlichen Substituenten besitzt, muss man zwischen E- und Z-Isomeren unterscheiden. Das Stereoisomer, bei dem die Substituenten mit der

höchsten Priorität auf der gleichen Seite der Doppelbindung liegen, wird Z (für zusammen) genannt. Sind die beiden Substituenten auf gegenüberliegenden Seiten angeordnet, heißt das Isomer E (für entgegen). Die Priorität ist dabei durch Regeln eindeutig festgelegt.

Cis-trans Isomerie tritt bei zyklischen Verbindungen auf. Abbildung 1.4 zeigt das Cyclohexandiol<sup>1</sup>. Links ist die cis-Form zu sehen; hier steht immer einer der Substituenten axial, während der andere äquatorial angeordnet ist. Bei der trans-Form hingegen stehen entweder beide Substituenten äquatorial oder beide axial.

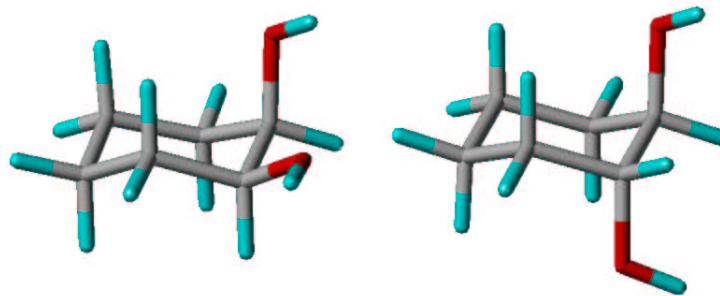


Abbildung 1.4: Cyclohexandiol, links: cis-, rechts: trans-Form

**Enantiomere und Chiralität** Stereoisomere, die sich wie Bild und Spiegelbild verhalten heißen Enantiomere. In der Chemie gibt es verschiedene Möglichkeiten, wie solche - auch chiral genannte - Strukturen zustande kommen. In den meisten Fällen entsteht Chiralität durch vier unterschiedliche Substituenten an einem zentralen Atom. Diese chiralen Zentren werden nach einem Nomenklatorsystem von Cahn, Ingold und Prelog [4] als *R* oder *S* klassifiziert. Bei diesem System werden den Substituenten unterschiedliche Prioritäten zugeordnet. Das Molekül wird so betrachtet, dass der Substituent mit der geringsten Priorität im Raum nach hinten weist. Wenn die anderen Substituenten dann ihrer Priorität nach im Uhrzeigersinn angeordnet sind, so ist das Zentrum *R* konfiguriert. Bei einer Reihenfolge entgegen dem Uhrzeigersinn, wird die Konfiguration mit dem Buchstaben *S* gekennzeichnet. Andere prominente Beispiele für chirale Strukturen sind

---

<sup>1</sup>Beispiel aus [3]

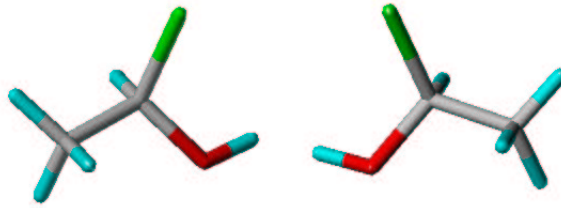


Abbildung 1.5: Chiralität durch ein Asymmetrie Zentrum am Kohlenstoff links: *R*-1-Hydroxyethanol, rechts: *S*-1-Hydroxyethanol

die Helices von DNA- und Proteinsträngen. Diese Superstrukturen können entweder links- oder rechts- gedreht vorliegen. Die häufigsten Formen der DNA, die A- und die B-DNA liegen, rechts-gedreht vor. Es gibt jedoch auch eine links-gedrehte Variante, die Z-DNA [5]. Bei den bereits erwähnten Atropisomeren findet man ebenfalls axiale Chiralität. Sind von einem Stoff die beiden Enantiomere genau im gleichen Verhältnis vorhanden, so heißt diese 1:1 Mischung Racemat.

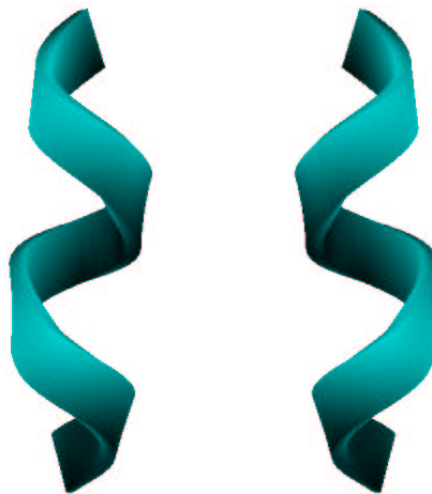


Abbildung 1.6: links: links-gewundene, rechts: rechts-gewundene Helix

**Diastereomere** Stereoisomere, die sich nicht wie Bild und Spiegelbild verhalten, nennt man diastereomer. In den meisten Fällen besitzen Diastereomere mehrere chirale Zentren. Am Beispiel von 2-Brom-3-chlorbutan (Abb.1.7) sollen die unterschiedlichen Möglichkeiten von Stereoisomerie diskutiert werden, die bei Stoffen mit zwei chiralen Zentren auftreten. Es gibt es vier mögliche Konfigura-

tionen:  $S,S - R,R - R,S$  und  $S,R$ . Aus diesen vier Stereoisomeren lassen sich zwei Enantiomerenpaare bilden;  $S,S - R,R$  bzw.  $R,S - S,R$ . Die anderen möglichen Paare sind nicht enantiomer sondern diastereomer zueinander. Diese Form der Stereoisomerie kann zur Analytik von Enantiomeren ausgenutzt werden. Setzt man nämlich ein Racemat mit dem reinen Enantiomer einer weiteren chiralen Verbindung um, so entstehen dabei Diastereomere. Diese haben unterschiedliche physikalische Eigenschaften.

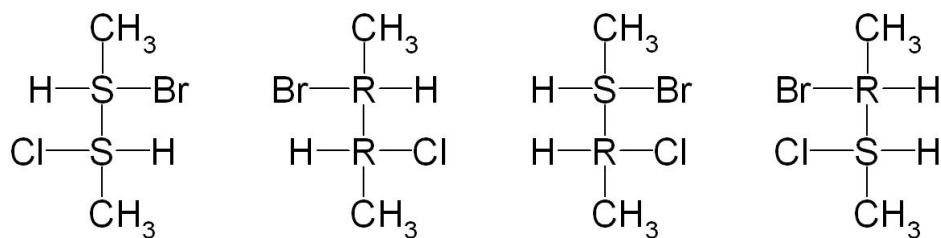


Abbildung 1.7: Möglichen Konfigurationen des 2-Brom-3-chlorbutans [6] in der Fischer Projektion, von links nach rechts:  $S,S - R,R - S,R - R,S$

Ein Sonderfall tritt auf, wenn ein Molekül zwei Chiralitätszentren hat und diese gleich substituiert und konfiguriert sind. Dann lässt sich nämlich zwischen den beiden Zentren eine Symmetrieebene konstruieren, die das eine Zentrum auf das andere abbildet. Diese meso-Verbindungen sind nicht chiral.

## 1.2 Bedeutung der Chiralität in der Pharmazie

Ein Großteil aller biochemisch relevanten Strukturen ist chiral. Die Aminosäuren, Zucker und Nukleinsäuren als Bausteine der wichtigsten Makromoleküle sind bis auf wenige Ausnahmen chiral. Aus diesem hohen Grad an Händigkeit folgt, dass die wichtigsten Angriffspunkte von Arzneistoffen, wie die Enzyme, G-Protein gekoppelten Rezeptoren, Ionenkanäle und Kernrezeptoren chirale Bindungszentren haben. Wenn also ein Arzneistoff chiral ist, werden in den wenigsten Fällen die Enantiomere gleich stark binden können. Ariens [7] prägte den Begriff Eutoomer für das Enantiomer mit der höheren Affinität, und Distomer für das jeweils schlechter bindende. Im Folgenden werden einige Beispiele für das unterschiedliche Verhalten von Enantiomeren im Körper angeführt <sup>2</sup>.

<sup>2</sup>Beispiele entnommen aus [8, 9, 10], Übersichtsartikel zu diesem Thema [11, 12, 13, 14]



**Unterschiede in der Bindungsstärke** Es gibt viele Arzneistoffe, bei denen sich Eu- und Diastomere nur in ihrer Wirkstärke unterscheiden. Beim  $\beta$ -Blocker Propranolol ist das *S*-Enantiomer stärker wirksam als das *R*-Enantiomer. Das (+)-Estron ist ein Estrogen, während das (-)-Estron keine pharmakologische Wirkung hat. Beim Methadon ist auch nur die *R*-Form analgetisch wirksam.

**Entgegengesetzte / unterschiedliche Wirkung** Einen interessanten Fall stellt das Bay K 8644 dar [15]. Bei dieser Substanz zeigen die beiden Enantiomere entgegengesetzte Wirkung. Das *S*-Enantiomer ist ein Calciumkanalöffner, während das *R*-Enantiomer als Blocker desselben Kanals fungiert. Das *S*-Thyroxin ist ein Schilddrüsenhormon, das als Vorstufe des Trijodthyronin verschiedene Funktionen im Körper erfüllt. Das *R*-Enantiomer senkt den Cholesterinspiegel im Blut. Ein weiteres Beispiel, das Aspartam stammt aus der Lebensmittelchemie. Eines der Enantiomere wird als Süßstoff eingesetzt, während das andere bitter schmeckt.

**Nebenwirkungen / Toxizität** Als besonders gravierender Fall von unerwünschten Arzneimittelwirkungen, die von einem Enantiomer ausgehen, ist das *S*-Thalidomid zu nennen. Das zu Beginn der 60er Jahre als Racemat verwendete Contergan<sup>(R)</sup> zeigte teratogene Nebenwirkungen, die dazu führten, dass viele behinderte Kinder geboren wurden. Für die erwünschte hypnotische Wirkung ist nur das andere Isomer, das *R*-Thalidomid verantwortlich.

**Resorption** Neben den pharmakodynamischen können sich bei Enantiomeren aber auch pharmakokinetische Unterschiede ergeben. So ergeben die Enantiomere des Verapamils bei oraler Gabe unterschiedlich hohe Plasmaspiegel. Werden Stoffe durch Carriersysteme aktiv durch die Membran transportiert, so können sich stereospezifische Unterschiede ergeben. Bei den Stoffen, die durch Diffusion Biobarrieren überwinden, treten solche Effekte nicht auf.

**Verteilung / Elimination** Bei den Verteilungsvorgängen ist vor allem die unterschiedliche Plasmaeiweißbindung relevant. So liegt *S*-Oxazepam etwa doppelt so häufig an Serumalbumin gebunden vor wie *R*-Oxazepam. Die totale Clearance von *R*-Propranolol ist um einiges höher als die des *S*-Enantiomers.

**Metabolismus** Da viele Enzyme, die an der Biotransformation beteiligt sind Reaktionen stereospezifisch katalysieren, verwundert es nicht, dass sich bei den Abbauprozessen Unterschiede für die optischen Antipoden ergeben. Beim *R*-Prilocain führt der stereospezifische Metabolismus zur Bildung des giftigen Toluidins, wohingegen das *S*-Prilocain durch Hydrolyse langsam abgebaut wird. *S*- und *R*-Omeprazol werden teilweise von verschiedenen Isoformen der CYP450 Familie umgesetzt, woraus sich unterschiedliche kinetische Profile ergeben. Dies hat dazu geführt, dass nun ein enantiomerenreines Arzneimittel auf dem Markt ist.

Betrachtet man die zum Teil erheblichen Auswirkungen, die der Einsatz von Racematen mit sich bringen kann, überrascht es, dass ein Großteil der vollsynthetisch hergestellten Arzneimittel mit chiralen Inhaltsstoffen nicht enantiomerenrein im Handel ist. Der Grund hierfür liegt darin, dass stereospezifische Synthesestrategien nicht zur Verfügung stehen oder einen größeren Aufwand bedeuten. Die Trennung der Racemate ist mit Kosten und zusätzlichen Arbeitsschritten verbunden. Da die Möglichkeit besteht, durch die Einführung enantiomerenreiner Arzneimittel den Patentschutz zu verlängern, gab es in letzter Zeit einige Versuche, diese Tatsache ökonomisch zu nutzen. Beispiele hierfür sind das schon erwähnte Esomeprazol und das Dexibuprofen. In diesem Zusammenhang ist aber auch bekannt geworden, dass *in vivo* Inversionsreaktionen stattfinden können, die eine Kosten Nutzen Abwägung noch komplizierter machen.

Die Zulassungsbehörden der USA (Food and Drug Administration FDA), Japan und auch der EU-Länder (EMA) haben sich daher entschieden zumindest eine Charakterisierung der Pharmakodynamik und -kinetik der getrennten Enantiomere zu fordern [16, 17], diese Bemühungen wurden international angepasst [18]. Treten unterschiedliche Wirkungen der Enantiomere oder noch schwerwiegendere Probleme auf, so muss der Arzneistoff als enantiomerenreines Arzneimittel in den Handel kommen.

Nicht zuletzt diese regulatorischen Erfordernisse bedingen einen guten analytischen Zugang zu chiralen Arzneistoffen. Es ist erforderlich, über gut etablierte Werkzeuge zu verfügen, die entweder überhaupt eine Trennung ermöglichen, oder die Enantiomerenreinheit als Qualitätskriterium überprüfen können. Die im Arzneibuch verwendete Polarimetrie ist in vielen Fällen dafür nicht ausreichend geeignet, sei es aufgrund der fehlenden Genauigkeit oder der großen Substanz-

mengen, die eine solche Messung erfordert.

### 1.3 Analytik

Chirale Substanzen haben in achiralen Medien die gleichen physikalischen Eigenschaften. Damit ist der Enantiomerenüberschuss oder die Enantiomerenreinheit mit den gängigen analytischen Methoden, wie der UV/VIS-Spektroskopie, Fluorimetrie, den meisten chromatographischen Verfahren oder Titrationsen, nicht analysierbar.

**Polarimetrie** Als spektroskopische Methode ist die Polarimetrie zur Analyse von Enantiomeren geeignet. Hier wird mit linear polarisiertem Licht, d.h. Licht, welches nur in einer Ebene schwingt, gearbeitet. Dieses Licht kann man sich als Kombination aus zwei Lichtstrahlen vorstellen, deren Schwingungsebenen sich gegenläufig drehen. Die beiden Lichtstrahlen sind chiral, da sie sich in ihrer Drehrichtung (ein Strahl im Uhrzeigersinn, ein Strahl gegenläufig) unterscheiden. Der Ausbreitung dieser beiden Strahlen setzen chirale Verbindungen einen unterschiedlich großen Widerstand entgegen. Daraus folgt, dass ein Strahl durch die Wechselwirkung mit dem Analyten stärker verlangsamt wird als der andere und die Ebene des Gesamtstrahls nach Kombination um einen gewissen Betrag gedreht ist. Diese Form der Analytik erfordert aber oft große Substanzmengen, und die Genauigkeit ist nicht sehr hoch.

**Bildung von Diastereomeren** Ein weiteres sehr wichtiges Prinzip ist die Umsetzung der Enantiomere zu Diastereomeren. Die Enantiomere werden zu diesem Zweck mit nur einem Enantiomer einer chiralen Substanz zur Reaktion gebracht. Die daraus resultierenden Verbindungen sind nicht mehr enantiomer zueinander und haben unterschiedliche physikalische Eigenschaften. Sie können mit verschiedenen Verfahren, wie der fraktionierten Destillation, Kristallisation oder durch HPLC oder GC getrennt werden. Problematisch kann es bei diesen Methoden sein sicher zu stellen, dass die Reaktion für beide Enantiomere vollständig abläuft. Dies ist besonders wichtig, wenn man die Anteile der Enantiomere quantitative bestimmen will. Es können aber auch Methoden angewendet werden, bei denen

sich nur vorübergehend diastereomere Komplexe bilden. Diese Verfahren werden besonders häufig in chromatographischen Trennungen realisiert. Dabei gibt es die Möglichkeit, die chiralen Bestandteile - die Selektoren - der mobilen Phase hinzuzufügen oder sie kovalent in der stationären Phase zu verankern. Im ersten Fall müssen dann die Selektanden und Selektoren in einem weiteren Schritt wieder getrennt werden.

**Andere Techniken** Es soll an dieser Stelle erwähnt werden, dass diastereomere Komplexe auch anderen analytischen Techniken zugänglich sind, wie z.B. der UV/VIS, IR und NMR-Spektroskopie. Diese Verfahren sind aber eher zur Beschreibung der Komplexgeometrien anwendbar als zur Reihenanalytik. Weitere Möglichkeiten der Analytik von chiralen Stoffen bieten enzymatische Verfahren.

# Kapitel 2

## Enantiomerentrennung mit der HPLC

### 2.1 Chromatographie [19, 20]

#### 2.1.1 Aufbau einer HPLC Anlage

Die Abbildung 2.1 zeigt den schematischen Aufbau einer HPLC Anlage. Das Vorratsgefäß oder Reservoir dient der Aufbewahrung des Elutionsmittels. Es gibt Fälle, in denen es sinnvoll ist, eine Gradientenelution durchzuführen. Dann müssen zwei Lösemittelbehälter angeschlossen werden. Unter Gradientenelution versteht man ein spezielles Verfahren, bei dem die Zusammensetzung des Lösemittels während der Trennung verändert wird. Durch die Variation kann man die Trennung von Substanzen verbessern, die sehr unterschiedliche Retentionszeiten haben. Die Pumpe hat die Aufgabe, einen hohen Druck zu erzeugen. Die Anwendung von hohem Druck unterscheidet die High Performance Liquid Chromatography HPLC (früher High Pressure Liquid Chromatography) von der Säulenchromatographie. Der Druck ermöglicht es, mit stationären Phasen von kleinerem Partikeldurchmesser zu arbeiten, wodurch eine bessere Trennleistung erreicht wird. Der Injektor dient zum Auftragen der Substanz auf die Säule. Es werden vor allem Probenschleifen von genau definiertem Volumen verwendet. Die Beschaffenheit der Säule bestimmt, um welche Art von Chromatographie es sich handelt, also um Verteilungs-, Ionenaustausch- oder Adsorptionschromatographie. Bei den De-

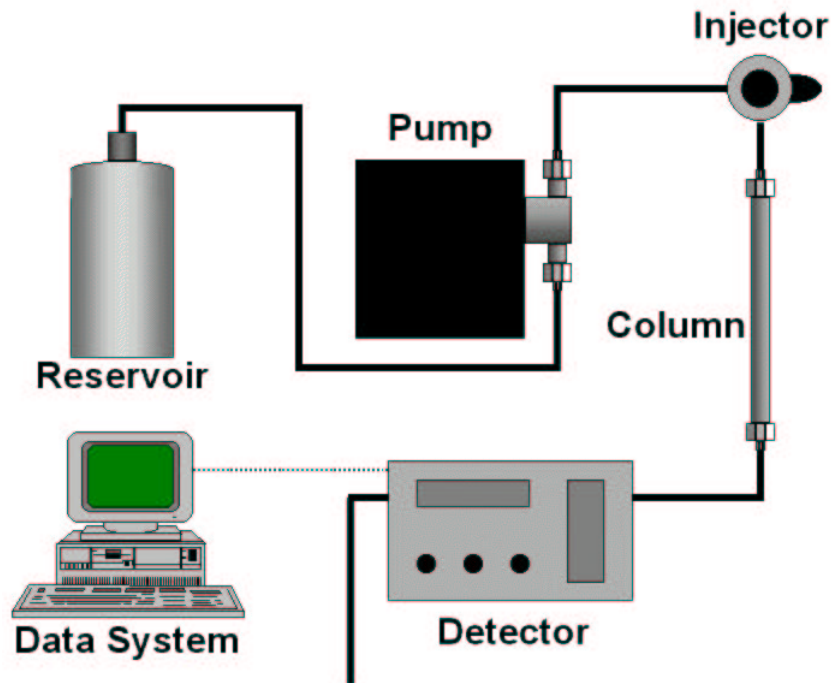


Abbildung 2.1: Schematischer Aufbau einer HPLC Anlage [21]

tektoren unterscheidet man zwei Klassen [22]. Zum einen gibt es Detektoren, die unspezifisch die Eigenschaften des Eluats messen; zu diesen gehören zum Beispiel der Brechzahl-detektor oder der Leitfähigkeitsmesser. Die zweite Gruppe misst spezifische Eigenschaften des Soluten, wie die Absorption von UV-Licht oder die Fluoreszenz. Wie bei über 70% der Messungen wurden die in dieser Arbeit verwendeten Chromatogramme mit dem UV-Spektrometer detektiert.

### 2.1.2 Kenngrößen

Die Abbildung 2.2 zeigt ein Chromatogramm, wie man es typischerweise bei einer chromatographischen Trennung erhält. Dabei ist auf der Ordinate die Signalhöhe des Detektors und auf der Abszisse die Zeit aufgetragen. Die Peaks nehmen im Idealfall die Form einer Gaußschen Glockenkurve an.

**Totzeit** Die mit  $t_M$  bezeichnete Größe ist die Totzeit. Es ist die Zeit, die ein Analyt, der keinerlei Interaktionen mit der stationären Phase eingeht, benötigt, um die Säule zu passieren.

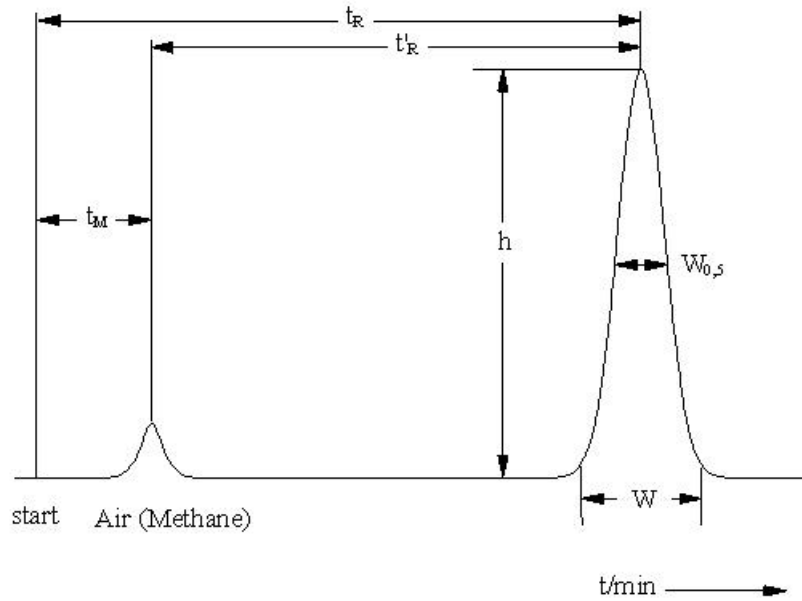


Abbildung 2.2: Schema eines Chromatogramms einer GC oder HPLC [23]

**Netto-Retentionszeit** Die Retentionszeit  $t_R$  ist die Zeit, die eine Substanz vom Auftragen bis zum Eintreffen am Detektor benötigt. Die Retentionszeit hängt von der Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase und der Länge der Säule ab. Aus diesem Grund kann sie nicht von einem System auf ein zweites übertragen werden. Aus der Retentionszeit einer Substanz und der Totzeit kann man durch Subtraktion die Nettoretentionszeit  $t_{R'}$  errechnen.

$$t_{R'} = t_R - t_M \quad (2.1)$$

**Kapazitätsfaktor** Teilt man weiterhin die Nettoretentionszeit durch die Totzeit, so erhält man den Kapazitätsfaktor  $k'$ :

$$k' = \frac{t_{R'}}{t_M} \quad (2.2)$$

Diese Kenngröße ist unabhängig von der Länge der Säule und der Strömungsgeschwindigkeit. Die Kapazität entspricht dem Molverhältnis einer Substanz in der stationären und mobilen Phase. Ist der Verteilungskoeffizient  $K$  und das Volumen der stationären ( $V_s$ ) und mobilen Phase ( $V_m$ ) bekannt, so kann man daraus den

Kapazitätsfaktor wie folgt berechnen:

$$k' = K \cdot \frac{V_s}{V_m} \quad (2.3)$$

**Selektivität** Die Selektivität ist eine Kenngröße, die beschreibt, inwieweit sich zwei Substanzen in einem chromatographischen Prozess auftrennen lassen. Sie wird als Verhältnis der Kapazitätsfaktoren der länger ( $k'_1$ ) und kürzer ( $k'_2$ ) zurückgehaltenen Substanz bestimmt.

$$\alpha = \frac{k'_1}{k'_2} \quad [k'_1 > k'_2] \quad (2.4)$$

Verlassen zwei Substanzen zum gleichen Zeitpunkt die Säule, sind die beiden Kapazitätsfaktoren gleich groß und es ergibt sich eine Selektivität von 1. Erst wenn die Selektivität größer als 1 ist, findet eine Trennung statt. Somit ist die Selektivität ein Maß für die Güte der Trennung. Sie steht im direkten Zusammenhang mit der Differenz der Gibbsschen freien Energie.

$$\Delta(\Delta G) = -RT \ln \alpha \quad (2.5)$$

$\Delta(\Delta G)$	Differenz der freien Gibbsschen Energie
$R$	allgemeine Gaskonstante
$T$	absolute Temperatur in Kelvin

**Scheinbare und intrinsische Selektivität** Bei der Enantiomerentrennung müssen zwei Mechanismen unterschieden werden, die potenziell zur Retention beitragen können. Es gibt stereoselektive und nicht-stereoselektive Beiträge zur Bindung der Analyten an die stationäre Phase. Die stereoselektiven Wechselwirkungen kommen durch die Komplexbildung zwischen Ligand und Selektor zustande. Die nicht-stereospezifischen Interaktionen können durch Adsorptions- und Verteilungsvorgänge an der stationären Phase hervorgerufen werden. Basierend auf diesen Überlegungen kann man eine scheinbare und eine intrinsische Selektivität definieren [24, 25].

$$\alpha_{scheinbar} = \frac{k'_{ns} + k'_{se,S}}{k'_{ns} + k'_{se,R}} \quad (2.6)$$



$$\alpha_{intrinsic} = \frac{k'_{se,S}}{k'_{se,R}} \quad (2.7)$$

$k_{ns}$  nicht-selektive Retention  
 $k_{se,R/S}$  selektiver Beitrag zur Retention

Die unter chromatographischen Bedingungen gemessene Selektivität entspricht immer der scheinbaren, während sich die intrinsische daraus nicht ableiten lässt. Will man die freie Energie der Komplexbildung aus der Selektivität errechnen, so muss sichergestellt sein, dass der nicht-selektive Beitrag vernachlässigbar klein ist. Der nicht-selektive Beitrag kann abgeschätzt werden, wenn man eine Säule präpariert die keine Selektoren enthält, aber sonst analog zur selektiven Säule aufgebaut ist. In einer Reihe von Experimenten am hier untersuchten System [26] konnte so bewiesen werden, dass in der Tat die Bindung an die Matrix der stationären Phase sehr schwach ist und deshalb vernachlässigt werden kann. Die reine stationäre Phase ohne die Selektoren hat sehr lipophile Eigenschaften, muss also zu den Umkehrphasen gezählt werden. Bei den geladenen anionischen Analyten ist demnach keine Lösung in diesem hydrophoben Bereich zu erwarten. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass der Komplex durch lipophile Wechselwirkungen mit den Alkylketten der Matrix stabilisiert wird. Die Anwendung von Chinaalkaloiden als Phasentransferhelfer (Kap. 2.3.1) bestätigt die Lipophilie von Chinin-Anion Komplexen.

## 2.2 Thermodynamik

In der Thermodynamik tritt der Begriff des Systems häufig auf. Unter einem System versteht man den Teil des Weltalls, der für die aktuelle Untersuchung von Interesse ist. Mögliche Systeme könnten aus einer Wärmekraftmaschine, einem Reaktionsgefäß oder einer elektrochemische Zelle bestehen. Je nachdem, wie dieses System im Kontakt mit seiner Umgebung steht, kann man folgende Kategorien unterscheiden:

Offene Systeme: Sie können Materie und Energie mit ihrer Umwelt austauschen.

Geschlossene Systeme: Ein System, das man als geschlossen bezeichnet, kann keine Materie aber Energie über die Systemgrenzen austauschen.

Isolierte Systeme: Die letzte Kategorie, die isolierten Systeme können weder Energie, noch Materie mit der Umgebung austauschen.

### 2.2.1 Klassische Thermodynamik

Die Thermodynamik ist ein Teilgebiet der klassischen Physik, das sich mit der Energie eines Systems und der Fähigkeit Arbeit zu leisten beschäftigt [27, 28]. Sie beschreibt, ausgehend von den Zustandsgrößen, die physikalischen Eigenschaften eines makroskopischen Systems. Bei den Zustandsgrößen unterscheidet man zwischen den intensiven und den extensiven Größen. Die intensiven, wie die Temperatur, der Druck, oder das chemische Potential sind von der Größe des Systems unabhängig, während die extensiven von der Größe des Systems abhängig sind. Beispiele für extensive Größen umfassen die innere Energie, die Entropie, das Volumen und die Teilchenzahl. Gleichungen, die für spezielle physikalische Systeme den Zusammenhang zwischen diesen Größen beschreiben, heißen Zustandsgleichungen.

**Die Hauptsätze der Thermodynamik** Die Thermodynamik lässt sich aus den vier Hauptsätzen vollständig ableiten:

Nullter Hauptsatz der Thermodynamik: Wenn sich ein System A mit einem System B, sowie B sich mit einem System C im thermischen Gleichgewicht befindet, so befindet sich auch A mit C im thermischen Gleichgewicht.

Dieser Satz legt fest, wie man die Temperatur eines Körpers messen kann. Da die Temperatur eines Körpers in der Thermodynamik eine zentrale Rolle spielt und seine Messbarkeit somit die Grundlage für die anderen Sätze darstellt, wurde der Hauptsatz den anderen vorangestellt. Die Tatsache, dass die Aufzählung der Hauptsätze nicht mit eins beginnt, ist historisch begründet. Der nullte Hauptsatz wurde nämlich als letzter formuliert, hat aber so grundsätzliche Bedeutung, dass er an den Anfang gestellt wurde.

Erster Hauptsatz der Thermodynamik: Jedes System besitzt eine extensive Zustandsgröße, die innere Energie  $U$ . Diese kann sich nur durch den

Transport von Energie in Form von Arbeit und Wärme über die Grenzen des Systems ändern.

Dieser Hauptsatz enthält das Prinzip der Energieerhaltung. Verschiedene Erscheinungsformen der Energie können sich also ineinander umwandeln, Energie an sich kann aber weder erzeugt noch vernichtet werden. Die Energieumwandlung unterliegt einer Einschränkung, die im zweiten Hauptsatz formuliert wird. Im Zusammenhang mit dem ersten Hauptsatz ist auch die Enthalpie  $H$  zu definieren. Sie ist die Summe aus der inneren Energie  $U$  eines Systems und der Volumenarbeit (Druck  $p$  · Volumen  $V$ ).

$$H = U + p \cdot V \quad (2.8)$$

Zweiter Hauptsatz der Thermodynamik: Es gibt eine extensive Zustandsgröße, die Entropie  $S$ , die in einem abgeschlossenen System niemals abnimmt. Die zeitliche Änderung ist also immer größer gleich Null.

Die Entropie ist ein Maß für die Unordnung, oder die „Menge an Zufall“, die in einem System steckt. Dieser zweite Hauptsatz stellt eine Einschränkung des ersten dar. Der erste würde zum Beispiel erlauben, dass ein beliebiger Gegenstand unter Abkühlung in die Luft springt. Eine Beobachtung, die gänzlich jeder Erfahrung widerspricht. Die Teilchenbewegung müsste, um die beschriebene Bewegung hervorzurufen, stark geordnet sein und ist damit sehr unwahrscheinlich. Die zeitliche Änderung der Entropie ist mit der Wärme  $Q$  über folgende Gleichung verknüpft:

$$dS = \frac{dQ}{T} \quad (2.9)$$

Wärme ist eine ungeordnete Energieform, die aus zufälliger Teilchenbewegung besteht. Die Gleichung besagt also, dass die Änderung der Entropie bei Zufuhr von Wärme bei hoher Temperatur  $T$  kleiner ist als bei niedriger Temperatur. Dieser Hauptsatz kann aber auch zur Definition eines abgeschlossenen Systems dienen, das sich im thermodynamischen Gleichgewicht befindet. Ein solches System ist dadurch gekennzeichnet, dass die zeitliche Änderung der Entropie gleich Null ist.

Dritter Hauptsatz der Thermodynamik: Dieser Hauptsatz besagt, dass der absolute Nullpunkt nicht erreichbar ist.

Die Bedeutung dieses von Walter Nernst vorgeschlagenen „Wärmesatzes“ liegt vor allem in der Beschreibung von Prozessen, die bei extrem niedrigen Temperaturen stattfinden und wird daher nicht näher erläutert.

**Die Gibbsche Energie** Die Gibbsche Energie ist definiert durch folgende Gleichung:

$$G = H - TS \quad (2.10)$$

- $H$  Enthalpie siehe Gleichung 2.8
- $T$  absolute Temperatur in Kelvin
- $S$  Entropie

Diese Gleichung hat in der Chemie deshalb große Bedeutung, da bei konstantem Druck und konstanter Temperatur Reaktionen spontan nur in die Richtung der höheren Gibbschen Energie ablaufen. Der Begriff „freie Gibbsche Energie“ rührt daher, dass die Differenz  $\Delta G$  zwischen den Edukten und Produkten einer Reaktion ein Maß für die maximale Arbeit (keine Volumenarbeit) ist, die ein System verrichten kann. Für viele Stoffe gibt es Tabellen, in denen man die Gibbsche Energie unter Standardbedingungen  $G^0$  ablesen kann. Sind für die Reaktionsteilnehmer Werte tabelliert, kann man abschätzen, ob eine geplante Reaktion ablaufen kann oder nicht.

**Die chemische Gleichgewichtskonstante** Das Massenwirkungsgesetz besagt, dass bei einer beliebigen chemischen Reaktion der Quotient aus der Aktivität der Produkte und Edukte im chemischen Gleichgewicht einen konstanten Wert hat. Diese chemische Gleichgewichtskonstante  $K$  ist also wie folgt definiert:

$$K = \frac{[\text{Aktivität der Produkte}]}{[\text{Aktivität der Edukte}]} \quad (2.11)$$

Zwischen der Gibbschen Energie  $G$  und der chemischen Gleichgewichtskonstante  $K$  gibt es eine wichtige fundamentale Beziehung:

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \cdot \ln K \quad (2.12)$$

Mit Hilfe dieser Gleichung kann man also aus der Lage des chemischen Gleichgewichtes die Differenz der freien Gibbsschen Energie zwischen Produkten und Edukten berechnen.

### 2.2.2 Statistische Thermodynamik

Die klassische Thermodynamik ist eine rein empirische Wissenschaft, deren Erkenntnisse sich aus der Beobachtung makroskopischer Systeme ergeben. Die Verbindung dieser allgemein gültigen Beziehungen mit der mikroskopischen, molekularen Ebene wird durch die Statistische Thermodynamik hergestellt.

**Die Boltzmannverteilung** Stellt man sich ein beliebiges System vor, das sich in einer Vielzahl unterschiedlicher Zustände befinden kann<sup>1</sup>, so stellt sich die Frage, welche dieser Zustände besetzt sind. Ein Beispiel für ein solches System ist eine Ansammlung von Molekülen, denen viele verschiedene Schwingungs- und Rotationszustände zugänglich sind. Die Frage, wie diese Moleküle über die Zustände verteilt sind, kann nur statistisch beantwortet werden. Es kann keine Aussage über individuelle Moleküle aus dieser Gesamtheit gemacht werden. Von allen theoretischen Möglichkeiten einer Verteilung, liefert die Boltzmann-Gleichung die wahrscheinlichste:

$$\frac{n_i}{N} = \frac{e^{-\frac{\epsilon_i}{k \cdot T}}}{\sum_i e^{-\frac{\epsilon_i}{k \cdot T}}} \quad (2.13)$$

- $n_i$  Anzahl der Moleküle im Zustand  $i$
- $N$  Anzahl der Gesamtheit der Moleküle
- $\epsilon_i$  Energie des Zustandes  $i$
- $k$  Boltzmannkonstante
- $T$  absolute Temperatur in Kelvin

Die Verteilung ist nur von der Temperatur abhängig. Die Summe im Nenner geht über alle zur Verfügung stehenden Zustände  $i$  mit der Energie  $\epsilon_i$ . Dabei wird

---

<sup>1</sup>Das Auftreten von degenerierten Zuständen, also unterschiedlichen Zuständen, die die gleiche Energie haben, wird im Folgenden außer Acht gelassen.

die Energie des Zustandes  $\epsilon_0$ , also des Zustandes mit der niedrigsten Energie auf den Wert Null gesetzt und alle anderen Werte auf diesen bezogen. Die Energie im Grundzustand muss bei der Betrachtung chemischer Reaktionen beachtet werden.

**Die Zustandssumme** Die Summe im Nenner der Boltzmann-Gleichung wird auch als Zustandssumme  $q$  bezeichnet:

$$q = \sum_i e^{-\frac{\epsilon_i}{k \cdot T}} \quad (2.14)$$

Die oben erwähnte Energie  $\epsilon_i$  setzt sich bei Molekülen aus folgenden Termen zusammen:

$$\epsilon_i = \epsilon_i^T + \epsilon_i^R + \epsilon_i^V + \epsilon_i^E \quad (2.15)$$

Dabei versteht man unter  $\epsilon_i^T$  die Translationsenergie, also die Energie, die ein Teilchen bei geradliniger Bewegung hat. Die absolute Größe dieses Terms hängt vom Volumen ab, das dem Körper frei zugänglich ist, der Masse des Teilchens und der Temperatur. Dieser Term besitzt besonders bei der Betrachtung von Gasen große Bedeutung. Mit  $\epsilon_i^R$  ist die Rotationsenergie gemeint, deren Größe von der Geometrie der rotierenden Objekte und der Temperatur abhängt. Der Term  $\epsilon_i^V$  beschreibt die Vibrationsenergie. Für die Berechnung der freien Energie von schwach gebundenen Komplexen wäre eine korrekte Beschreibung dieses letzten Terms besonders wünschenswert. Hier können die unterschiedlichen Schwingungsmöglichkeiten von flexiblen oder starren Strukturen einen wichtigen Beitrag zur Gesamtenergie liefern. Es gibt quantenchemische Methoden, die diesen Term aus den Normalschwingungen berechnen. Dieser Ansatz ist aber für Komplexe, deren Größe, wie sie in dieser Untersuchung betrachtet werden, nicht zugänglich. Ein interessanter Ansatz wird von Gohlke [29, 30] am Beispiel der Ras-Raf-Bindung diskutiert. Der Betrag der elektronischen Energie  $\epsilon_i^E$  wird meist nur aus einem Summanden bestehen, da elektronisch angeregte Zustände bei Raumtemperatur für die Mehrzahl der molekularen Systeme nicht zugänglich sind.

**Der Zusammenhang zwischen Zustandssumme und freier Energie** In der klassischen Thermodynamik kann die Gleichgewichtskonstante einer chemischen Reaktion aus der Gibbs'schen freien Energie berechnet werden. Diese wich-

tige Größe kann auch aus der Zustandssumme berechnet werden. Der Zusammenhang zwischen den beiden Größen lautet:

$$\Delta G = \Delta E_0 - kT \ln \frac{q_{\text{produkt}}}{q_{\text{edukt}}} \quad (2.16)$$

Dabei bedeutet  $E_0$  die Energie des Grundzustandes oder die Energie bei Null Kelvin.

### 2.2.3 Anwendung auf die Enantiomerentrennung

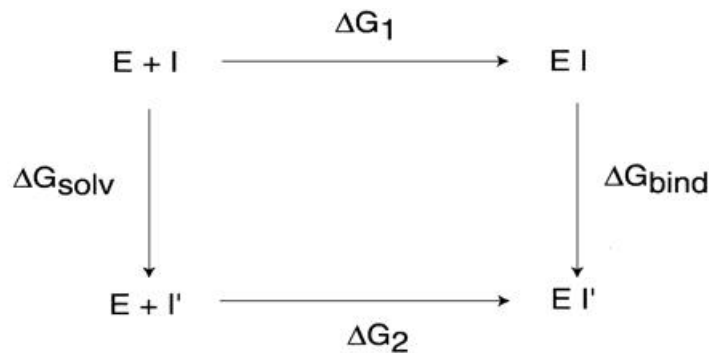


Abbildung 2.3: Thermodynamischer Kreisprozess der Ligand-Rezeptor Bindung

**Der thermodynamische Kreisprozess** In Abbildung 2.3<sup>2</sup> ist ein thermodynamischer Kreisprozess dargestellt, wie er bei der Beschreibung von Ligand (I)-Rezeptor (E) Bindungen verwendet wird. Es gilt, dass bei gleichem Anfangs- und Endzustand eines Systems, auf jeder Wegstrecke zwischen diesen Zuständen der gleiche Betrag an Energie zugeführt werden muss, oder frei wird. Will man die Differenz der freien Bindungsenergie

$$\Delta\Delta G = \Delta G_2 - \Delta G_1 \quad (2.17)$$

zwischen der Bindung von Ligand eins und Ligand zwei berechnen, muss man also nicht unbedingt die Beträge von  $\Delta G_1$  und  $\Delta G_2$  kennen. Eine andere Möglichkeit wäre, die Differenz der Solvatationsenergie der beiden Strukturen im freien Zu-

<sup>2</sup>Abbildung entnommen aus [31]

stand und die Differenz der Energie im gebundenen Zustand zu bilden:

$$\Delta\Delta G = \Delta G_{bind} - \Delta G_{solv} \quad (2.18)$$

Die zweite Gleichung ist besonders für die vorliegende Untersuchung interessant, da Enantiomere im achiralen Lösungsmittel die exakt gleiche Solvatationsenergie haben. Damit vereinfacht sich die Beschreibung der Enantiomerentrennung auf die Energiedifferenz im gebundenen Zustand  $\Delta G_{bind}$ .

**Näherungsweise Beschreibung der Komplexenergie** In der vorliegenden Untersuchung wurde die Zustandssumme nicht explizit berechnet. Als Hauptbestandteil der Differenz der freien Bindungsenthalpie wurde die Grundzustandsenergie  $E_0$  angesehen. Es konnte angenommen werden, dass die Translationsenergie in der kondensierten Phase einen kleinen Wert annimmt. Die gebildeten Komplexe sind außerdem über den Linker des Selektors kovalent an die stationäre Phase gebunden. Bedenkt man weiterhin, dass sich Terme, die die gleiche Größe für den Komplex des *R*- und des *S*-Enantiomers haben, in etwa aus der Gleichung kürzen, so bedeutet diese Näherung sicherlich nur einen kleinen Fehler. Ähnliches kann auch für den Beitrag der Rotationsenergie geltend gemacht werden. Die Schwingungsenergie ist, wie schon erwähnt, gerade bei der Verwendung eines statischen Ansatzes eine problematische Einflussgröße. Der einzige Beitrag, der letztendlich berechnet wurde, ist also die elektronische Grundzustands-Energie. In der Tat beschreibt dieser Term aber die wichtigsten Interaktionen. So beinhaltet er die Beschreibung der Wasserstoffbrücken, die Polarisierung und die Coulomb- Wechselwirkungen. Dies gilt insbesondere für die DFT und Hartree-Fock Rechnungen, wohingegen Kraftfelder lediglich die elektrostatischen Verhältnisse wiedergeben können.

**Die klassische Theorie der Böden** In der gesamten Arbeit wurde stets davon ausgegangen, dass sich aus der Beschreibung der Equilibriums- Komplexe die Enantiomerentrennung ableiten lässt. Dieser Ansatz fußt auf der klassischen Theorie der Böden, die den Trennungsprozess als Abfolge von einzelnen Trennstufen beschreibt. Es wird angenommen, dass sich auf jeder dieser Stufen das Gleichgewicht komplett einstellt. Dies ist aber nicht notwendigerweise richtig,



denn die Gleichgewichtseinstellung erfolgt mit endlicher Geschwindigkeit. Es ist also auch denkbar, dass kinetische Einflüsse die Trennung diktieren. Das würde also bedeuten, nicht nur die Stabilität der Komplexe, sondern auch die Geschwindigkeit, mit der sich ein Komplex ausbilden kann, beeinflusst die Retention. Dieser Denkansatz spiegelt sich in der molekularstatistischen Theorie des „random walk“ wieder.

## 2.3 Das untersuchte System

### 2.3.1 Die stationäre Phase

**Der Selektor** Chinaalkaloide bestehen aus zwei Ringsystemen, einem 8-gliedrigen Bicyclus, dem Chinuclidin, und dem Chinolin. Sie verfügen über fünf Stereozentren, die in Abbildung 2.4 eingezeichnet sind. Auf die Nomenklatur wird im Laufe der Arbeit immer wieder Bezug genommen werden. Die Zählweise beginnt am Stickstoff des Chinuclidins, danach geht es über eine Methylengruppe zum allyl-substituierten C3 und zum ebenfalls chiralen C4. Die Zählung des Ringes endet mit dem Verknüpfungspunkt C8, danach kommt das Verbindungselement zum Chinolinring mit der Nummer 9. Der Chinolinring wird beginnend am Stickstoff mit gestrichenen Ziffern durchgezählt.

Chinalakaloide werden als Werkzeuge in verschiedenen stereospezifischen Prozessen angewendet. Sie wurden mit Erfolg als Katalysatoren in stereospezifischen Synthesen [32, 33] eingesetzt. Eine weitere bekannte Anwendung ist die als Phasentransferhelfer in der enantio-selektiven Synthese [34, 35]. Dabei werden Anionen als Ionenpaar mit dem kationischen Chinin oder Chinidin teilweise in eine organische Phase überführt. Hier kann dann das Anion aufgrund der räumliche Anordnung im Komplex nur von einer Seite angegriffen werden. In der Chromatographie kann Chinin entweder als Reagenz zur Ionenpaarbildung [36, 37] dienen oder als Bestandteil der stationären Phase fungieren [36, 37, 38, 39, 40, 41]. Im ersten Fall würde dann der Komplex aufgrund seiner erhöhten Lipophilie stärker von der apolaren stationären Phase zurückgehalten werden. Weiterhin wurden Anwendungen in der Kapillarelektrophorese [42] und in der Flüssigextraktion [43] beschrieben. Die Daten in der vorliegenden Untersuchung wurden an einem Sys-

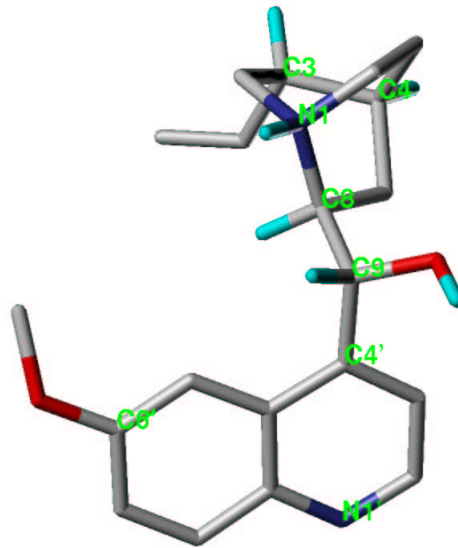


Abbildung 2.4: Chinin: Beschriftet sind die Stereozentren N1(S), C3(R), C4(S), C8(S) und C9(R), weiterhin sind einige Atome des Chinolinrings beziffert, aus denen die Nomenklatur hervorgeht

tem mit einem Chininderivat als kovalentem Bestandteil der stationären Phase gewonnen.

**Aufbau der stationären Phase** Um den Selektor kovalent mit der stationären Phase zu verknüpfen, sind mehrere Arbeitsschritte notwendig, die den letztendlichen Aufbau bestimmen. In einem ersten Schritt werden die freien Silanolgruppen zum 3-Mercaptopropylsilan umgesetzt. Dieser Schritt verläuft aufgrund sterischer Hinderung aber nicht quantitativ. Ein Teil der so entstandenen Ankergruppen wird dann über eine Sulfidbindung mit dem Selektor verknüpft. Das Chininderivat wird durch geeignete chemische Synthesereaktionen getrennt hergestellt. Bei der Verknüpfung mit der Säule über die Allylgruppe reagiert wiederum nur ein Teil der Thiolgruppen wegen der großen räumlichen Ausdehnung der Selektoren. Im nächsten Arbeitsschritt werden aus diesem Grund einige der noch zugänglichen Thiolfunktionen mit einer C<sub>6</sub>-alkylkette hydrophobisiert. Der relative Stoffmengenanteil und die Strukturformeln sind in Tabelle 2.1 und Abbildung 2.5 zusammengefasst. Die Oberfläche der stationären Phase besteht also aus vier unterschiedlichen Gruppen: den freien Silanolgruppen, die keiner chemischen Modifikation unterzogen wurden, den Mercaptopropylsilangruppen, den

hydrophoben C<sub>6</sub> Gruppen und den Selektoren.

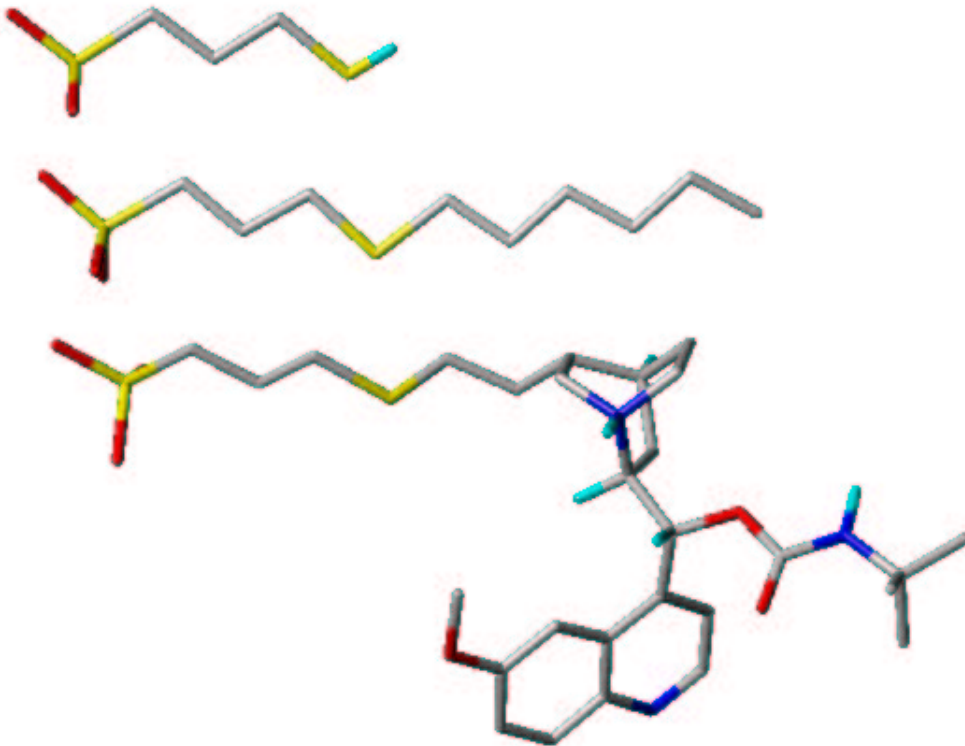


Abbildung 2.5: Zusammensetzung der stationären Phase; von oben nach unten: Thiol-Ankergruppe, Ankergruppe mit Alkylkette hydrophobisiert (end-capping), Ankergruppe mit Selektor [44]

Gruppe	Anteil [ $\mu\text{mol/g}$ ]
freier Anker (Mercaptopropylsilan)	510
Anker mit C <sub>6</sub> -Alkylkette	80
Anker mit Selektor	270

Tabelle 2.1: Mengenmäßige Anteile der verschiedenen Gruppen an der stationären Phase [44]

### 2.3.2 Auswahl der Selektanden

Das System, das Gegenstand der Untersuchung ist, wurde in zahlreichen Veröffentlichungen der Arbeitsgruppe Lindner beschrieben [45, 46, 47, 48, 49, 50].

Aus der Vielzahl der im Laufe der letzten Jahre zusammengetragenen Trennungen, musste zunächst eine Auswahl getroffen werden. Die drei Substanzen N-Benzoylalanin, N-Acetylvalin und N-3,5-Dinitrobenzoylalanin wurden für die Untersuchung herangezogen. Die Strukturen der jeweiligen *S*-Enantiomere sind

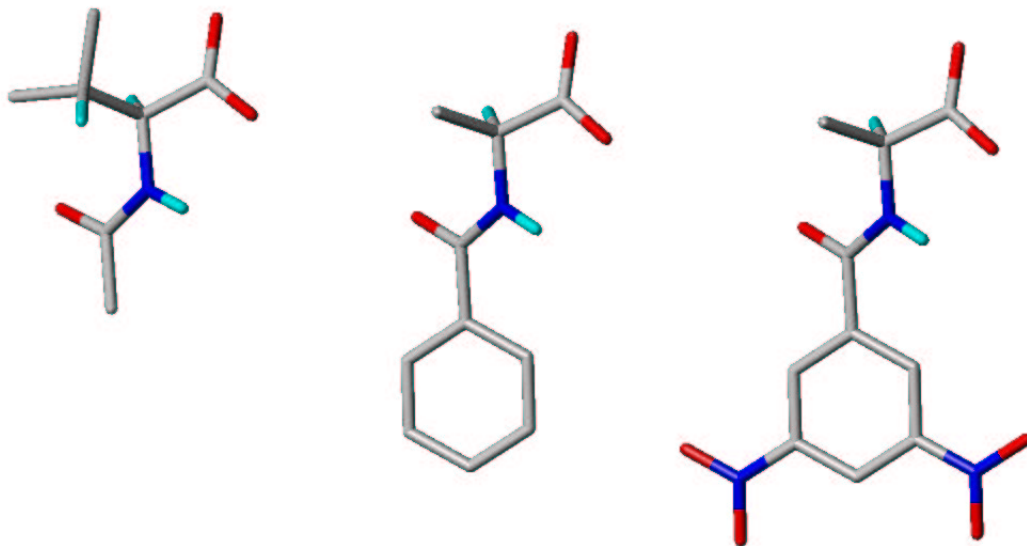


Abbildung 2.6: *S*-N-Acetylvalin, *S*-N-Benzoylalanin, *S*-N-3,5-Dinitrobenzoylalanin

in Abbildung 2.6 zu sehen. Die Substanzen sind aus den  $\alpha$ -Aminosäuren Alanin und Valin aufgebaut, wobei die Aminogruppen mit unterschiedlichen Substituenten eine Amidbindung eingehen. Für die Untersuchung wurden diese Beispiele deshalb ausgewählt, weil die Moleküle eine vergleichsweise geringe konformationale Flexibilität aufweisen. Andererseits liegen die gemessenen Selektivitäten (Tabelle 2.2) der beiden Alaninderivate relativ weit auseinander. Eine Tatsache, die aufgrund der großen Ähnlichkeit zuerst überrascht. Das N-Acetylvalin wurde aufgenommen, da es im Gegensatz zu den meisten anderen Aminosäuren, die untersucht worden sind [24], keinen aromatischen Substituenten aufweist. Es kann also an diesem Beispiel diskutiert werden, welche Bedeutung eine mögliche  $\pi - \pi$  Wechselwirkung für die Trennung hat.

Racemat	Kapazität	Selektivität	stabilerer Komplex
N-Acetylvalin[51]	$k'_S = 2,6$ $k'_R = 1,6$	$\alpha = 1,63$	S
N-Benzoylalanin[24]	$k'_S = 3,8$ $k'_R = 2,2$	$\alpha = 1,77$	S
N-3,5-Dinitrobenzoylalanin[24]	$k'_S = 6,7$ $k'_R = 0,8$	$\alpha = 7,93$	S

Tabelle 2.2: Experimentelle Daten

### 2.3.3 Einordnung der Methode

Die gängigste Einordnung für stationäre Phasen, mit denen chromatographische Enantiomeren-Trennungen durchgeführt werden, geht auf Wainer [52] zurück. Er setzt als Kriterium die Art der Bindung zwischen Analyt und Selektor fest. So werden die gebräuchlichen chiralen stationären Phasen (CSP) in fünf Kategorien eingeteilt. Die Kategorie I umfasst Phasen, bei denen die Komplexbildung von attraktiven Kräften ausgeht, wie etwa Salzbrücken, Wasserstoffbrücken oder  $\pi - \pi$  Interaktionen. Diese Gruppe wird auch als *Pirkle-Typ* bezeichnet. Die Gruppe II wird von Selektoren gebildet, die die Selektanden durch teilweisen Einschluss binden. Als Beispiel wären die auf Cellulose-Basis hergestellten Phasen zu nennen. Zu Gruppe III gehören dann Cyclodextrine, bei denen ein Einschlusskomplex gebildet wird. Klasse IV bildet Komplexe, die über Metallatome vermittelt werden, und letztlich werden die Proteinphasen zur Klasse V gezählt. Bei den Proteinphasen entstehen alle Arten von Wechselwirkungen, von hydrophoben Interaktionen bis zu allen oben genannten intermolekularen Bindungen. Besonders die Gruppen I bis III sind theoretischen Überlegungen gut zugänglich. Bei diesen kann man davon ausgehen, dass sich definierte Komplexe ausbilden. Die Gruppe IV, die ihre Liganden über Metallatome bindet, wäre ein interessantes Thema für eine DFT-Untersuchung. Hier liegt die Schwierigkeit in der richtigen theoretisch chemischen Beschreibung der Metallatome. Proteine können ohne weitere strukturelle Angaben über Bindungsort und -modus kaum vernünftig untersucht werden. Außerdem muss damit gerechnet werden, dass die Trennung auf der Ausbildung von vielerlei verschiedenen Komplexen beruht. Das hier untersuchte System gehört in die Kategorie der Gruppe I.

### 2.3.4 Einfluss äußerer Bedingungen

Für eine sinnvolle theoretische Betrachtung muss zunächst geklärt werden, welche experimentellen Faktoren das Trennergebnis beeinflussen können. Bezieht man entscheidende Größen nicht adäquat in das Modell mit ein, so ist von vorneherein der Wert der Untersuchung gemindert.

**Temperatur** Die Temperatur hat erwartungsgemäß einen großen Einfluss auf die Trennung. Aufgrund von Überlegungen basierend auf der Boltzmannverteilung ist eine Verringerung der Selektivität bei steigender Temperatur zu erwarten. Dieses Verhalten wird auch in den meisten Fällen beobachtet, aber auch das Gegenteil ist schon beschrieben worden. So haben Jönsson [53] und auch Fornstedt [54] eine Erhöhung der Selektivität bei steigender Temperatur gefunden. Karlsson und Aspegren [55] beobachteten sogar eine Änderung der Elutionsreihenfolge abhängig von der Temperatur. Diese Untersuchungen wurden aber an anderen Säulen, als der hier betrachteten durchgeführt. Oberleitner und Maier [24] konnten in einer Untersuchung mit dem tert.-butyl-Carbamoylchinin zeigen, dass mit diesem Selektor ein normaler Temperaturverlauf erhalten wird. Sie untersuchten sowohl das N-Benzoylalanin als auch das N-3,5-Dinitrobenzoylalanin in einem Temperaturbereich von 0° bis 85°C. In Abbildung 2.7 ist auf der linken Seite die Selektivität gegen die Temperatur aufgetragen. Aus der Thermodynamik ist folgender Zusammenhang zwischen der Selektivität  $\alpha$  und der Gibbsschen freien Energie bekannt:

$$\Delta(\Delta G) = -RT \ln \alpha \quad (2.19)$$

Formt man diese Beziehung um, so kann man eine Geradengleichung erhalten, wenn man  $\frac{1}{T}$  gegen  $\ln \alpha$  aufträgt.

$$\ln \alpha = -\frac{\Delta(\Delta H)}{RT} + \frac{\Delta(\Delta S)}{R} \quad (2.20)$$

Die graphische Darstellung dieser Gerade nennt man einen Van't Hoff Plot. Dieser ist für einige Trennungen exemplarisch in Abbildung 2.7 zu sehen. Aus einer solchen Abbildung kann dann die Enthalpie als Steigung der Geraden und die Entropie als Ordinatenschnittpunkt abgelesen werden.

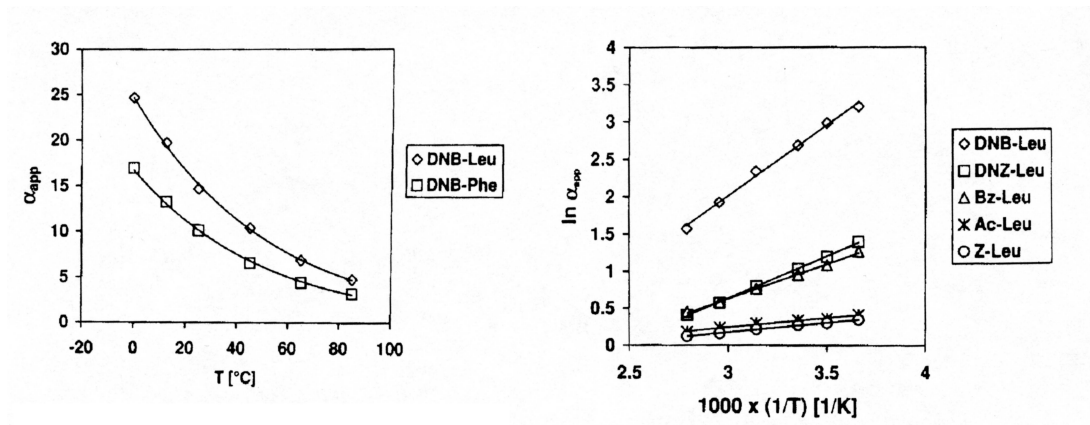


Abbildung 2.7: links: Abhängigkeit der Selektivität von der Temperatur, rechts: Van't Hoff Plot für einige Trennungen

**Zusammensetzung und Art des Lösungsmittels** Lämmerhofer und Lindner [47] untersuchten den Einfluss einiger Lösungsmittelparameter auf die Trennung von N-2,4-dinitrophenyl-Threonin an einer C9 gebundenen Chininsäule. Während bei pH-Werten zwischen 4,5 und 6 die Kapazitäten und Selektivitäten nahezu konstant blieben, wurde ab pH 6 eine Verringerung der Retentionszeiten beobachtet. Selbst bis zu einem pH-Wert von 7,5 änderten sich die beobachteten Selektivitäten kaum (Werte von 1,55 bei pH 4,5 bzw. 1,45 bei pH 7,5). Diese Änderungen sind darauf zurückzuführen, dass bei steigendem pH-Wert ein Teil der Chinuclidin Stickstoffe unprotoniert vorliegt und somit nur geringere Anziehungskräfte auf die Selektanden ausübt. Einen anderen Einfluss üben steigende Konzentrationen an Pufferionen auf die Trennung aus. Hier treten die Anionen in direkte Konkurrenz mit den Analytionen. Das wiederum führt dazu, dass die Retentionszeiten für beide Enantiomere abfallen, während die Selektivität aber erhalten bleibt.

**Linker** Der Linker verbindet den Selektor mit der stationären Phase. Er hat im vorliegenden System zwei Aufgaben: zum einen muss er den Selektor in der stationären Phase verankern; zum anderen schafft er den nötigen Abstand, um den Selektor über die lipophile Matrix der Alkylketten zu legen. Würde man die Säule nicht hydrophobisieren, so würden die Analyten unspezifische Wechselwirkungen eingehen und man könnte nicht mehr direkt von der Selektivität auf die Komplexbildungsenergie schließen. Wie von Krawinkel *et al.* [46] untersucht,

ist die genaue Struktur des Linkers jedoch nicht von großer Wichtigkeit für das Ergebnis der Trennung. Er untersuchte sowohl Selektorvarianten, bei denen die Bindung über den Substituenten an C9 geht, als auch verschiedene Strukturen mit der Bindung über C11 der Doppelbindung am Chinuclidin. Es werden Werte gefunden, die sogar für die unterschiedlichen Bindungsmodi in einem ähnlichen Bereich liegen.

### 2.3.5 Experimentelle Daten

**Stöchiometrie der Komplexe** Eine Untersuchung von Maier *et al.* [50] beschäftigte sich mit der Stöchiometrie der Selektand-Selektor Komplexe. Dabei wurden nach einem Titrations- Protokoll [56] mehrere  $^1\text{H-NMR}$  Messungen vorgenommen. Die Änderung der chemische Verschiebung eines Protons gegen die Konzentration des Selektanden wird dann gegeneinander aufgetragen. Dieses Verfahren kann als Titration mit spektroskopischer ( $^1\text{H-NMR}$ ) Indikation aufgefasst werden. Das Maximum in der anfallenden Kurve zeigt deutlich eine 1:1 Assoziation sowohl für das *R*- als auch für das *S*-N-3,5-Dinitrobenzoylleucin.

**Kristallstruktur** Es existiert die experimentelle Kristallstruktur des Komplexes zwischen dem Chloro-tert.-butyl-Carbamoylchinin und dem *S*-Enantiomer des N-3,5-Dinitrobenzoylleucins [57]. In Abbildung 2.8 ist diese Geometrie dargestellt. Da diese Struktur schon vor dem Anfertigen dieser Arbeit bekannt war, konnte sie für die Evaluation des Verfahrens verwendet werden. Auf der anderen Seite konnte das Wissen um die Geometrie die Untersuchung aber nicht beeinflussen, da ausschließlich mit objektiven Protokollen und Entscheidungskriterien gearbeitet wurde. Es wurde außerdem nicht von vorneherein davon ausgegangen, dass eine analoge Struktur von den anderen *S*-Enantiomeren eingenommen wird.

**Mikrokalorimetrische Titration** Eine weitere interessante Untersuchung zur Enantiomerentrennung mit dem hier betrachteten System führten Lah *et al.* durch [58]. Sie verwendeten eine Mikrokalorimeter Apparatur, um direkt die Bindungsenthalpie als frei werdende Wärme messen zu können. Bei diesem Verfahren geht man so vor, dass zu einer Lösung des Selektors in zeitlichen Abständen jeweils genau bekannte Mengen des Selektanden hinzugefügt werden.



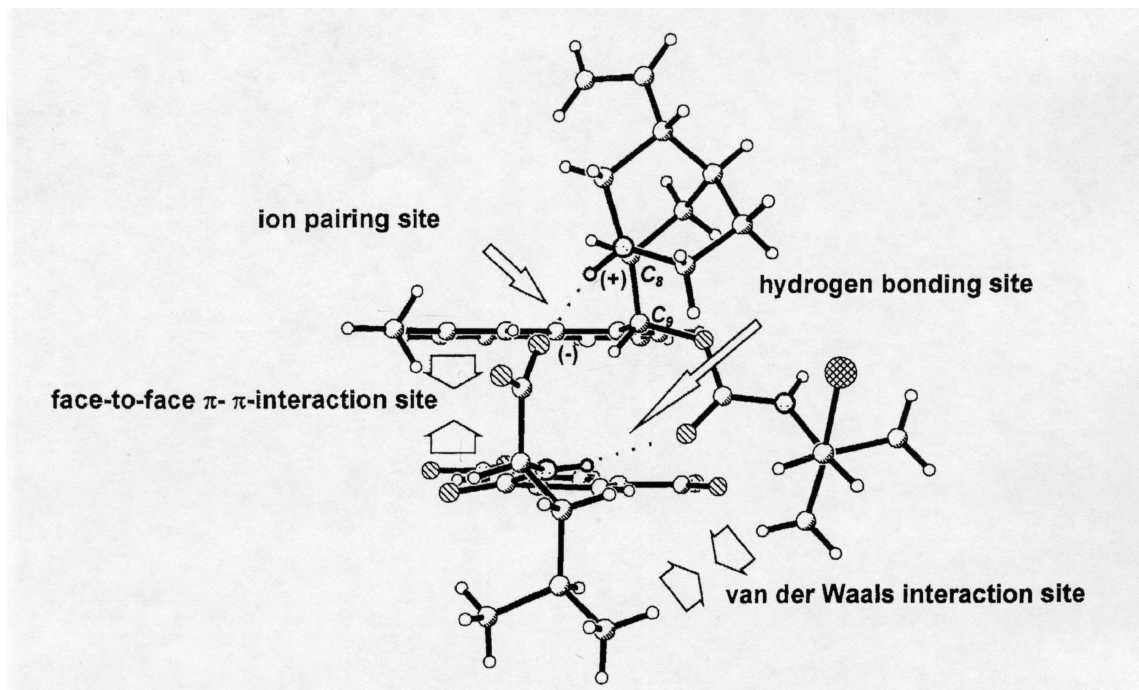


Abbildung 2.8: Kristallstruktur des Komplexes zwischen *S*-N-3,5-Dinitrobenzoylleucin und Chloro-tert.-butyl-Carbamoylchinin

Die Erwärmung des Reaktionsbehälters kann dann gegen ein Referenzsystem gemessen werden. Bei dieser Titration vermaßen die Autoren einen ungebundenen Selektor und verwendeten reines Methanol als Lösungsmittel. Die mit diesem direkten Ansatz gemessenen thermodynamischen Größen stimmen sehr gut mit den chromatographisch ermittelten überein. Dieses Ergebnis ist sehr wichtig, da es die Näherung legitimiert, sowohl den Linker, als auch die stationäre Phase bei der Berechnung nicht zu berücksichtigen. Weiterhin kann man so beweisen, dass der Retentionsmechanismus auf einer spezifischen Interaktion mit dem Selektor und nicht auf lipophilen Kontakten mit der stationären Phase beruht. Die Untersuchungen wurden allerdings nur mit aromatisch- substituierten Selektanden durchgeführt.

**Titration von CD und UV- Spektren** Im selben Artikel [58] wird auch die Aufnahme von Zirkulardichroismus (CD) und UV Spektren beschrieben. Dabei wurde, ähnlich dem zuvor beschriebenen Protokoll, eine Lösung des Selektors sukzessive mit einer Lösung des Liganden titriert. Von den Spektren wurden die der ungebundenen Strukturen abgezogen. So konnte man rechnerisch die Absorption der reinen Komplexe erhalten. Diese Untersuchungen lieferten eine weitere Bestätigung für die 1:1 Stöchiometrie.

**Fourier Transformierte Infrarot Spektroskopie** Durch die Aufnahme von IR Spektren können wertvolle Informationen über Interaktionsmuster in Komplexen erhalten werden. Verschiedene Gruppen, die für die Ausbildung von Wechselwirkungen wichtig sind, führen im Spektrum zu ausgeprägten Signalen. Zu diesen funktionellen Gruppen gehören unter anderem Amine (N-H Schwingung) oder Carbonylgruppen (C=O-Schwingung). Dies ist kein Zufall, denn eine Auswahlregel für IR-Aktivität ist die Änderung des Dipolmoments während der Schwingung. Besonders bei polaren Bindungen ändert sich das Dipolmoment bei der Schwingung stark. Diese Polarität ist gleichzeitig eine Voraussetzung für starke Wechselwirkungskräfte. Nimmt nun zum Beispiel eine Ketongruppe an einer Wasserstoffbrücke teil, wird ihre Kraftkonstante (Hookesches Gesetz) kleiner und damit die Anregungsfrequenz ebenfalls. In der Abbildung 2.9 [59] sind FT/IR Spektren von einigen Selektanden, Selektoren und Komplexstrukturen zu sehen. In dieser Untersuchung wurde nicht der Selektor aus der vorliegenden Arbeit verwendet,

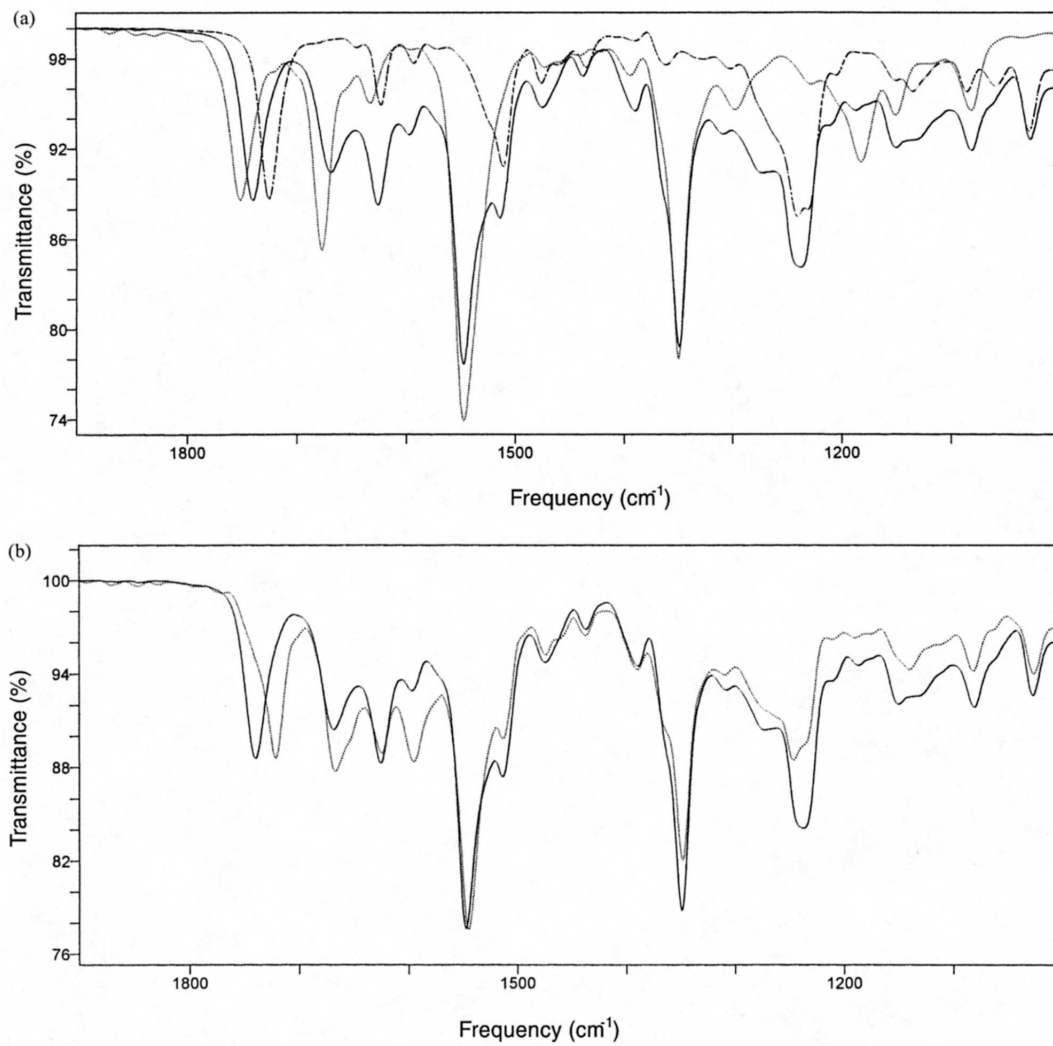


Abbildung 2.9: FT-IR Spektren von R/S N-3,5-Dinitrobenzoylalanin (DNBA) und *tb*-Chinidin (TBCD) oben: *S*-DNBA ..., Komplex \_\_\_\_, TBCD .\_.\_.; unten: *S*-DNBA·TBCD Komplex \_\_\_\_, *R*-DNBA·TBCD Komplex ...

sondern dessen Chinidin-Analogon. Die Ergebnisse sind aber trotzdem auf diesen Fall übertragbar, denn es ist aus anderen Untersuchungen bekannt, dass sich Chinin und Chinidin bei der Enantiomerentrennung wie Pseudo-Enantiomere verhalten [60]. Im oberen Teil der Abbildung ist die Überlagerung von drei Spektren dargestellt. Dabei entspricht die gepunktete Linie dem Spektrum des freien *S*-N-3,5-Dinitrobenzoylleucins, die gestrichelte dem Selektor und die durchgezogene Linie dem Komplex. Die Bande bei  $1750\text{ cm}^{-1}$  wird der freien Säure zugeordnet, die bei der Komplexbildung verschwindet, da die Säurefunktion an einer Salzbrücke beteiligt ist. Die anderen zwei Signale zwischen  $1700\text{ cm}^{-1}$  und  $1800\text{ cm}^{-1}$  entsprechen den Schwingungen der Carbonylgruppe in der Carbamoyl-Seitenkette des Selektors. Die Ausbildung des Komplexes der *S*-Aminosäure führt zu einem Shift in Richtung größerer Wellenzahlen. Das bedeutet, dass eine Wasserstoffbrücke gebrochen bzw. durch eine schwächere ersetzt wird. Die Autoren interpretieren diesen Shift als Wegfall einer Chinidin-Chinidin Wechselwirkung zwischen den Carbamoylgruppen. In dieser Arbeit werden aber Hinweise gefunden, dass es sich auch um eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen dem Ammonium-Wasserstoff und der Carbamoylgruppe handeln könnte. In der unteren Abbildung ist dann der Vergleich der beiden Enantiomeren-Komplexe gezeigt. Man sieht, dass der Shift für den *R*-Komplex größer ist als für den *S*-Komplex. Daraus kann direkt geschlossen werden, dass im *R*-Komplex eine selektive Wasserstoffbrücke gebildet wird, die im *S*-Komplex nicht möglich ist. Will man diese Beobachtung auf die Trennung am Chininderivat übertragen, so muss man gedanklich *R* und *S* austauschen.

## 2.4 Theoretische Modelle

### 2.4.1 Klassische Modelle

Die klassische Vorstellung der chiralen Erkennung [61] wurde schon 1933 entwickelt. Easson und Stedman beschrieben ein Drei-Punkte Modell, dass die unterschiedliche pharmakologische Wirkung von Enantiomeren erklären soll. Die unterschiedliche Affinität zu einem Rezeptor basiert nach diesem Modell darauf, dass drei der vier Substituenten am chiralen Kohlenstoff spezifische Wechselwirkungen eingehen. In Abbildung 2.10 ist schematisch der stabilere Komplex auf

der linken Seite dargestellt. Alle drei Substituenten A, B und C finden einen Wechselwirkungspartner A', B' und C'. Das andere Enantiomer auf der rechten Seite kann nur eine der Wechselwirkungen B-B' realisieren. Die anderen Punkte A und C liegen jetzt über den Bindungsstellen A' bzw. C'. Dieses sehr anschauliche Modell wurde auch zur Erklärung stereoselektiver enzymatischer Reaktionen angewendet [62]. Die erste Anwendung auf chromatographische Verfahren geht auf Dalgliesh [63] zurück.

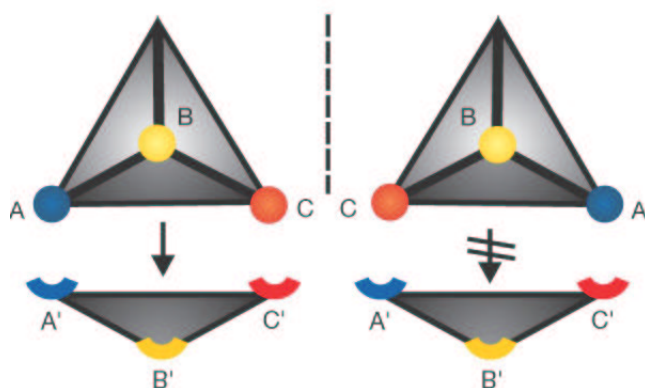


Abbildung 2.10: Chirale Erkennung nach dem Drei-Punkte Modell [Abbildung aus [64]]

Sowohl Topiol und Sabio [65] als auch Pirkle und Pochapsky [66] beschrieben chirale Erkennungsprozesse, bei denen nicht alle drei Interaktionen von Atomen ausgehen, die direkt am chiralen Kohlenstoff gebunden sind. Besonders voluminöse, sterisch aufwendige Substituenten können auch in größerem Abstand zum Stereozentrum zur selektiven Bindung führen. Um diese Abwandlung zu beschreiben, verwenden sie den Begriff Pseudo-Zwei-Punkte Modell.

Dieses Konzept wird noch erweitert von Sokolov und Zefirov [67]. Sie erklären, dass nur zwei klassische Interaktionspunkte für die chirale Erkennung nötig sind, wenn mindestens eine der intermolekularen Bindungen eine räumliche Orientierung erzwingt. So ist zum Beispiel die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke nur in einem gewissen Winkel der beteiligten Atome möglich. Eine solche Wechselwirkung würde also eine Ausrichtung des Selektanden erzwingen. In diesem Fall ist dann nur noch ein weiterer Interaktionspunkt nötig, um einen diastereomeren Komplex zu definieren. Weitere Diskussionen zu diesem Thema sind bei Danakov zu finden [68, 69].

## 2.4.2 Molecular Modelling

Theoretische Modelle zur Beschreibung der Trennungsvorgänge in der Enantiomeren - Chromatographie sind in den vergangenen Jahren immer wieder veröffentlicht worden. Lipkowitz [70] unterscheidet die theoretischen Untersuchungen zu Typ I Komplexen danach, wie die Komplexgeometrien generiert werden. Zum einen gibt es Untersuchungen, bei denen die Komplexe zwischen Selektand und Selektor von Hand generiert wird. Diese Strategie wurde zuerst von Däppen [71] angewendet. Er führte in einem ersten Schritt eine Konformationsanalyse durch. Alle gefundenen Konformere mit niedriger Energie wurden dann im folgenden Schritt systematisch kombiniert. Dabei legte er zunächst fest, welche prinzipiellen Bindungsmöglichkeiten die beteiligten Moleküle aufweisen. Die Moleküle wurden dann so angeordnet, dass sich die komplementären Bindungsstellen der Selektanden und Selektoren in möglichst optimalem Abstand zueinander befinden. Eine andere Möglichkeit, Komplexgeometrien zu erstellen, geht von experimentell gewonnenen NMR-Daten aus. Hierbei wird basierend auf NMR-Messungen festgelegt, welche Atome sich in räumlicher Nähe befinden müssen. Darauf aufbauend können Komplexe generiert und weiter verfeinert werden. Allerdings ist es Still [72] mit diesem Verfahren nicht möglich alle experimentellen Elutionsreihenfolgen nachzuvollziehen. Eine Tatsache, die kaum verwundern kann, wenn man bedenkt, dass mit einem Kraftfeld gearbeitet wurde und in dem falsch vorhergesagten Fall eine Selektivität von nur 1,02 vorlag.

Ein Nachteil der wissensbasierten Ansätze ist sicherlich der subjektive Aufbau der Komplexe. So wurden im Folgenden automatisierte Dockingstrategien entwickelt. Lipkowitz *et al.* [73] beschreiben eine solche Methode. Sie legen den Selektor in den Ursprung eines Koordinatensystems. Die Lage des Analyten wird dann in verschiedenen räumlichen Positionen variiert. Für jedes Selektor-Selektandpaar werden daraufhin eine Anzahl von Rotationen des Liganden um seinen Schwerpunkt durchgeführt. In allen so gefundenen Orientierungen werden die Moleküle so lange angenähert, bis es zu einer Überlappung der Van der Waals Radien kommt. Alle so gebildeten Strukturen werden letztendlich nach der Boltzmannverteilung gewertet und mit der experimentellen Selektivität korreliert. In letzter Zeit wurden nun auch moleküldynamische Verfahren zur Beschreibung von Trennvorgängen herangezogen [48, 49, 50, 74].

# Kapitel 3

## Problemstellung und Zielsetzung

Es besteht nach wie vor großes Interesse daran, Prozesse, die zur chiralen Erkennung und Trennung führen, zu verstehen. Es existieren bereits einige theoretische Modelle zur Beschreibung der Enantiomerentrennung (Kapitel 2.4.2). Insbesondere das vorliegende System ist bereits Gegenstand einiger Untersuchungen gewesen [51, 48, 49, 50]. In diesen Arbeiten sind jedoch ausschließlich Kraftfelder zum Einsatz gekommen. Die fortschreitenden Entwicklungen auf dem Gebiet der Dichtefunktionaltheorie, ermöglichen es seit einiger Zeit Systeme von immer größeren Dimensionen zu berechnen. Die schon länger etablierten quantenmechanischen Methoden wie zum Beispiel die semiempirischen AM1- und PM3-Modelle wurden bisher ebenfalls kaum auf dieses Gebiet angewendet. Die wenigen Untersuchungen beschäftigen sich mit Cyclodextrin-Einschlussverbindungen [75, 76, 77]. Da aber QM- und DFT-Methoden gerade bei der Berechnung von intermolekularen Kräften bessere Ergebnisse liefern, ist es wichtig, ihre Einsatzmöglichkeiten gründlich zu untersuchen.

In dieser Arbeit wurden statistische Ansätze [78, 79] bewusst ausgeklammert. Man erreicht durch ihre Anwendung zwar oft gute Korrelationen, deren physikalische Interpretation aber schwierig ist. Es sollten aber gerade Erkenntnisse erarbeitet werden, die auf einer rein physikalisch chemischen Betrachtung des Systems aufbauen.

Die Forderung nach einem objektiven Vorgehen wurde in den bisher zitierten Arbeiten nicht immer erfüllt. Bei den so genannten „wissensbasierten“ Ansätzen werden Komplexe per Hand zusammengefügt. Die Autoren lassen sich dabei von

ihrem chemischen Verständnis leiten. In der Tat wird man so oft sehr gute und wahrscheinliche Komplexgeometrien erhalten können, diese sind aber stark von subjektiven Vorstellungen geprägt.

In anderen Arbeiten wurden Dynamik-Simulationen angewendet. Der Verlauf der Simulation hängt bei diesen Methoden sehr stark von der Richtung der initialen Beschleunigungsvektoren auf den Atomen ab. Selbst wenn zwei Durchläufe mit denselben Parametern gestartet werden, neigen große Systeme, die eine Vielzahl an Lösungsmittelmolekülen mit einbeziehen, zu chaotischem Verhalten, d.h. kleine Änderungen in der Trajektorie führen zu stark unterschiedlichen Endgeometrien. Daraus ergibt sich, dass Dynamikrechnungen sehr schlecht reproduzierbar sind. Der große Vorteil von Simulationen ist es, dass mühelos äußere Bedingungen, wie die Zusammensetzung des Lösungsmittels und die Temperatur einbezogen werden können. Auch die Reaktionskinetik scheint sich in den Vorgängen der Komplexformation widerzuspiegeln. Im Laufe der Arbeit kann aber gezeigt werden, dass die zum Einsatz kommenden Kraftfelder für Konformationsenergien nicht ausreichend gut parametrisiert sind. Selbst mit exakten Parametern werden die intermolekularen Kräfte noch zu schlecht wiedergegeben. Um hier Fortschritte zu erzielen, müsste es möglich sein, Polarisierungseffekte zu berücksichtigen. Daneben ist es unumgänglich Wasserstoffbrückenbindungen in das Kraftfeld einzufügen. Ein Kraftfeld, das diese beiden Bedingungen erfüllt, würde die komplexen Wechselwirkungsmöglichkeiten z.B. zwischen Aromaten und anderen  $\pi$ -Systemen noch fehlerhaft beschreiben.

Diese Überlegungen haben dazu geführt, auf Dynamikrechnungen zu verzichten. Es sollte vielmehr die Frage geklärt werden, wie genau die günstigsten Komplexgeometrien aussehen, welche relativen Energiewerte sie besetzen und ob sich daraus qualitative oder sogar quantitative Aussagen über die Selektivität ableiten lassen. Das Vorgehen sollte dabei so konstruiert werden, dass möglichst alle Freiheitsgrade isoliert untersucht werden. Des weiteren sollte die Methode durch Skripte gestützt reproduzierbare Ergebnisse liefern.

Es ist sicherlich vorerst nicht möglich, die hier eingesetzten aufwendigen Verfahren zu nutzen, um die chromatographische Standardanalytik zu lenken. Wichtiger war es, ein valides Modell mit einem kleinen, aber aussagekräftigen Satz an Strukturen zu erarbeiten.



# Kapitel 4

## Methoden

In diesem Kapitel werden alle verwendeten Methoden kurz angesprochen. Eine tiefere Diskussion ist an dieser Stelle nicht möglich. Genauere Angaben zu den Verfahren können der angegebenen Literatur entnommen werden. Neben den Grundlagen der Quantenmechanik werden die semiempirischen Ansätze und die Dichtefunktionaltheorie angesprochen. In einem weiteren Abschnitt wird erklärt, wie die empirischen Kraftfelder die molekulare Energie berechnen. Da in allen Rechnungen, außer denen im Kraftfeld ein Lösungsmittelmodell benutzt wurde, werden in den darauf folgenden Abschnitten einige unterschiedliche Näherungen vorgestellt. Der abschließende Teil beschäftigt sich mit verschiedenen Vorgehensweisen zur Konformationsanalyse.

### 4.1 Quantenmechanik

**Operatoren und Eigenwertgleichungen** Zunächst sollen hier einige Grundbegriffe aus der Quantenmechanik kurz erläutert werden, die im Folgenden häufig verwendet werden [80]. Eine Vorschrift, die eine Funktion auf eine andere abbildet, nennt man einen Operator, d. h., wenn man einen Operator auf eine Funktion anwendet, erhält man wiederum eine Funktion als Ergebnis. Beispiele für eine solche Operation sind die Ableitung nach einer Variablen, oder die Multiplikation mit einem konstanten Wert. Ist das Ergebnis dieser Operation dieselbe Funktion, multipliziert mit einer  $-i$ . Allg. komplexen– Konstanten, so heißt die Gleichung

Eigenwertgleichung. Die Funktion wird dann als Eigenfunktion des Operators bezeichnet und die Konstante als Eigenwert.

**Die Schrödingergleichung [81, 82]** Die Schrödingergleichung ist eine Eigenwertgleichung, die sowohl Grundlage der exakten Beschreibung molekularer Systeme, als auch Ausgangspunkt vieler Näherungsverfahren ist. Sie lautet in ihrer allgemeinen zeit-unabhängigen Form:

$$\mathcal{H}\Psi = E\Psi \quad (4.1)$$

$\mathcal{H}$  Hamilton-Operator

$\Psi$  Wellenfunktion

$E$  Eigenwert

Die zentrale Größe ist die Wellen- oder Zustandsfunktion  $\Psi$ . In den hier beschriebenen Betrachtungen wird meist die so genannte Ortsraumdarstellung benutzt, d.h. die Zustandsfunktion ist eine Funktion der Koordinaten der Atomkerne und Elektronen ( $\Psi(r)$ ). Der Zustand eines Systems ist vollständig durch die Wellenfunktion definiert. Der Hamilton-Operator  $\mathcal{H}$  enthält die potentielle und kinetische Energie des Systems. Bei Abwesenheit externer Felder besteht die potentielle Energie aus den Coulomb Wechselwirkungen zwischen den positiv geladenen Atomkernen und den negativ geladenen Elektronen. Der Hamilton-Operator setzt sich aus folgenden Termen zusammen.

$$\mathcal{H} = - E_{kinE} - E_{kinA} - E_{coulEA} + E_{coulEE} + E_{coulAA} \quad (4.2)$$

$E_{kinE}$  kinetische Energie der Elektronen

$E_{kinA}$  kinetische Energie der Atomkerne

$E_{coulEA}$  Coulombanziehung zwischen Elektronen und Kernen

$E_{coulEE}$  Coulombabstoßung zwischen den Elektronen

$E_{coulAA}$  Coulombabstoßung zwischen den Atomkernen

Löst man die Schrödingergleichung (4.1), so erhält man mit  $E$  alle möglichen Energiewerte, die das betrachtete System annehmen kann. Allgemein wird in der

Quantenmechanik jeder physikalisch messbaren Größe (Observablen) ein Operator zugeordnet. Mögliche Resultate einer Messung sind die Eigenwerte dieses Operators. Die Wellenfunktion  $\Psi$  ist nicht direkt experimentell beobachtbar, allerdings stellt ihr Betragsquadrat eine Wahrscheinlichkeitsdichte dar (Born-Interpretation):  $\rho(r) = |\Psi(r)|^2$ . Multipliziert man diese mit einem Volumenelement, so erhält man in unserem Falle die Aufenthaltswahrscheinlichkeit eines Teilchens in diesem Volumenelement  $dP(r) = \rho(r)d^3r$ . Hieraus ergibt sich eine wichtige Folgerung: Entsprechend dieser Wahrscheinlichkeitsverteilung werden sich nun bei verschiedenen Messungen auch bei identisch präparierten Systemen durchaus verschiedene Resultate ergeben. Führt man eine große Anzahl von Messungen durch, so erhält man den Mittelwert:

$$\langle A(r) \rangle = \int d^3r \Psi^*(r) A(r) \Psi(r) \quad (4.3)$$

Neben der Lösung des Eigenwertproblems besteht die eigentliche Aufgabe im Bestimmen der zugehörigen Wellenfunktion. Diese muss eine Eigenfunktion des Hamilton-Operators sein, und einige weitere Kriterien erfüllen: Sie muss kontinuierlich, stetig, eindeutig und endlich sein. Eine exakte Lösung ist nur für sehr einfache Systeme wie das Wasserstoffatom möglich. In der Praxis benötigt man also geeignete Näherungsverfahren.

**Born-Oppenheimer Näherung** Bedenkt man den großen Massenunterschied zwischen den Elektronen und den Atomkernen, so wird klar, dass die viel schwereren Kerne sich langsamer bewegen. Daraus folgt, dass der Term, der die kinetische Energie der Kerne beschreibt, in guter Näherung vernachlässigt werden kann. Vernachlässigt man aber die Bewegung der Kerne, so wird automatisch der fünfte Term konstant. Konstanten wiederum haben keinen Einfluss auf die Eigenfunktion und können dann auch bei der Lösung der Gleichung vernachlässigt werden. Diese als Born-Oppenheimer Näherungen bekannten Vereinfachungen führen letztendlich zum elektronischen Hamilton-Operator. Schreibt man des weiteren alle Terme aus, lautet dieser wie folgt.

$$\mathcal{H}_E = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} \quad (4.4)$$

$N$	Anzahl der Elektronen
$M$	Anzahl der Atomkerne
$Z_A$	Ladung des $A$ -ten Atomkerns
$r_{iA}$	Abstand zwischen $i$ -tem Elektron und $A$ -tem Kern
$r_{ij}$	Abstand zwischen Elektron $i$ und $j$
$\nabla_i^2$	Laplace Operator, zweifache Ableitung des $i$ -ten Elektrons nach seinen Koordinaten

Dieser elektronische Hamilton-Operator ist Grundlage der meisten quantenchemischen Rechenverfahren.

**Variationsprinzip** Als Hilfestellung bei der Suche nach einer geeigneten Wellenfunktion ist das Variationsprinzip von größter Wichtigkeit. Es lässt sich nämlich zeigen, dass der Erwartungswert der Energie jeder nicht exakten Funktion stets über der wahren Energie liegt. Daraus ergibt sich, dass eine Funktion verbessert werden kann, indem man sie so verändert, dass die berechnete Energie minimiert wird. Solange die Energie sinkt, kommt man der wahren Funktion näher.

**Slater-Determinante** Die Wellenfunktion selbst wird in der konventionellen Quantenchemie meist als Slater-Determinante approximiert. Unter einer Slater-Determinante versteht man die normierte Determinante einer Matrix, die wie folgt aufgebaut ist:

$$\Psi(x_1, x_2, \dots, x_N) = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_i(x_1) & \chi_j(x_1) & \cdots & \chi_k(x_1) \\ \chi_i(x_2) & \chi_j(x_2) & \cdots & \chi_k(x_2) \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ \chi_i(x_N) & \chi_j(x_N) & \cdots & \chi_k(x_N) \end{vmatrix} \quad (4.5)$$

$N$	Anzahl der Elektronen
$x_i$	Raum und Spinkoordinaten von Elektron $i$
$\chi_j$	Spinorbitale

In den Zeilen der Slater-Determinante sind die Elektronenkoordinaten aufgetragen, in den Spalten die Orbitale. Unter einem Orbital versteht man dabei

eine Ein-Elektron-Wellenfunktion. Die Slater-Determinante ordnet die Orbitale nicht fest einzelnen Elektronen zu. Dem Variationsprinzip folgend muss der Erwartungswert, also die Gesamtenergie des Systems, durch Manipulation dieser Slater-Determinante minimiert werden. Die Möglichkeit diese Determinante zu minimieren, liegt in der Wahl der Orbitale  $\chi$ .

**Hartree-Fock Gleichung** Ein Verfahren, diese optimalen Orbitale  $\chi$  zu finden, stellt die Hartree-Fock SCF Methode dar. Man kann zeigen, dass die gesuchten Orbitalfunktionen der folgenden Hartree-Fock Eigenwertgleichung gehorchen:

$$f(i)\chi(x_i) = \epsilon\chi(x_i) \quad (4.6)$$

Der Fock-Operator für ein beliebiges Elektron 1  $f(1)$  besteht aus drei Termen.

$$f(1) = h(1) + \sum_j \{2J_j(1) - K_j(1)\} \quad (4.7)$$

Der erste Term  $h(1)$  beschreibt die kinetische Energie und die Elektron-Kern Anziehung des Elektrons. Der zweite Term  $J_j(1)$  beschreibt die coulombsche Abstoßung zwischen dem Elektron und der durchschnittlichen Ladungsdichte, die durch die anderen Elektronen verursacht wird. Der Operator  $K_j$ , der als Austausch-Operator bezeichnet wird, ist nicht so leicht physikalisch zu interpretieren. Er sorgt dafür, dass die Wellenfunktion antisymmetrisch im Bezug auf den Austausch zweier Elektronen ist (Pauli-Prinzip). Somit hängt der Fock-Operator für jedes Orbital von den Orbitalen aller anderer Elektronen ab. Daraus wiederum folgt, dass die Lösung in iterativen Schritten erfolgen muss. Eine solche Prozedur wird in der Quantenmechanik als self-consistent-field (SCF)-Prozedur bezeichnet. Aus den konvergierten Orbitalen wird dann die Slater-Determinante gebildet, die letztendlich die approximierte Wellenfunktion darstellt.

**Basissätze** Betrachtet man Systeme, in denen nur gepaarte Elektronen vorkommen, ist es ausreichend, anstatt der Spinorbitale  $\chi$  Atomorbitale  $\psi$  zu berechnen, die nur von den Koordinaten im Raum, nicht aber vom Spin abhängen. Die erhaltenen Orbitale werden dann jeweils mit zwei Elektronen besetzt. Dieser Ansatz wird als restricted Hartree-Fock Ansatz bezeichnet. Die Orbitale in

der Hartree-Fock Gleichung werden dabei aus einem beschränkten Basissatz von Funktionen expandiert.

$$\psi_i = \sum_{\mu=1}^K C_{\mu i} \phi_{\mu} \quad (4.8)$$

$\psi_i$	Orbitalfunktion
$K$	Anzahl der Basisfunktionen
$\phi$	Basisfunktion
$C_{\mu i}$	Koeffizient

Somit reduziert sich das Problem der Berechnung der HF Orbitale auf das Auffinden eines Satzes geeigneter Expansionskoeffizienten  $C_{\mu i}$ . In der Praxis werden als Basisfunktionen oft Gaußfunktionen verwendet.

Ein häufig verwendeter Basissatz ist der 6-31G\*\* Basissatz. Er ist wie folgt aufgebaut: Die inneren Atomorbitale sind in fester Kombination aus sechs Gaußfunktionen aufgebaut. Die Valenzelektronen werden durch drei innere und eine äußere Gaußfunktion repräsentiert. Die Sterne bezeichnen polarisierbare Basisfunktionen, der erste Stern bedeutet zusätzliche d Orbitale für die Schweratome, der zweite zusätzliche p Orbitale für Wasserstoffatome.

**Semiempirische Verfahren** Führt man die oben beschriebene SCF-Rechnung durch, ohne experimentelle Daten einzubeziehen, so spricht man von einem ab initio Verfahren. Parallel dazu wurden semiempirische Methoden entwickelt [83]. Diese beruhen auf mehreren Vereinfachungen. Es werden zum einen nur Valenzelektronen explizit berechnet, zum anderen werden bestimmte Integrale, die bei der Ausformulierung der Hartree-Fock Gleichung auftreten, ignoriert oder durch feste Parameter ersetzt. Diese Parameter können auf experimentelle Daten gefittet werden. Von diesen semiempirischen Methoden hat sich besonders das von Dewar [84] entwickelte Austin Model 1 und ein daraus hervorgegangener weiterer Parametersatz mit der Bezeichnung PM3 [85, 86] bewährt. Die PM3 Parameter wurden durch eine automatisierte Prozedur erhalten. Sie wurden anhand von experimentellen Geometrien, Dipolmomenten, Ionisierungspotentialen und intermolekularen Wechselwirkungen optimiert.

## 4.2 Dichtefunktionaltheorie [87]

Mit den oben beschriebenen Hartree-Fock Methoden lassen sich im Prinzip molekulare Systeme sehr gut beschreiben. Sie haben aber den Nachteil, dass größere Systeme aufgrund des enormen Rechenaufwands nur schwer zugänglich sind. Dieses Problem verschärft sich besonders bei ab initio Ansätzen mit großen Basisätzen. Als Alternative dazu haben sich in den letzten Jahren Dichtefunktional-Methoden etabliert, eine Entwicklung, die durch die Vergabe des Nobelpreises an John Pople und Walter Kohn erst kürzlich gewürdigt wurde.

**Funktionale** Unter einem Funktional versteht man eine Vorschrift, die eine Funktion auf einen skalaren Wert abbildet, also die Funktion einer Funktion. Zum Beispiel kann die Grundzustandsenergie  $E$  als Funktional der Wellenfunktion  $\Psi$  aufgefasst werden  $E[\Psi]$ . Die Wellenfunktion wird hier auf eine Zahl, nämlich  $E$  abgebildet.

**Elektronendichte** Die Elektronendichte  $\rho(r)$  ist die zentrale Größe der Dichtefunktionaltheorie. Damit unterscheidet sie sich von den anderen quantenchemischen Methoden, bei denen die Wellengleichung im Mittelpunkt steht. Die Elektronendichte ist streng genommen eine Wahrscheinlichkeitsdichte und wie folgt definiert:

$$\rho(r_1) = N \int \cdots \int |\Psi(x_1 x_2, \dots, x_N)|^2 ds_1 dx_1 \dots dx_N \quad (4.9)$$

Sie stellt also die Wahrscheinlichkeit dar, eines der  $N$  Elektronen im Volumenelement  $dr$  mit beliebigem Spin zu finden, während die anderen Elektronen beliebige Positionen und Spins haben.

**Hohenberg-Kohn Theoreme [88]** Hohenberg und Kohn konnten grundsätzlich beweisen, dass die Grundzustandsenergie eines Moleküls ein Funktional der Elektronendichte ist. Welche Form dieses Funktional hat, ist damit aber in keiner Art und Weise geklärt. Die exakte Grundzustandsenergie  $E_0$  kann als Summe mehrerer Funktionale geschrieben werden.

$$E_0 = T[\rho] + V_{N,e}[\rho] + V_{e,e}[\rho] \quad (4.10)$$

$T[\rho]$      Funktional der durchschnittlichen kinetischen Energie der Elektronen  
 $V_{N,e}[\rho]$    Funktional der potentiellen Energie der Elektron Atomkern Anziehung  
 $V_{e,e}[\rho]$      Funktional der potentiellen Energie der Elektron Elektron Abstoßung

Das Funktional für  $V_{N,e}$  ist bekannt [89]. Um eine Näherung für die anderen beiden Terme zu finden, geht man von einem Referenzsystem aus, das die selbe Elektronendichte hat, aber aus nicht-interagierenden Teilchen besteht. Für die zwei Funktionale  $T$  und  $V_{e,e}$  kann man dann die Differenz zwischen dem Funktional des realen und dem des Referenzsystem bilden:

$$\Delta T[\rho] = T[\rho] - T[\rho]_{referenz} \quad (4.11)$$

$$\Delta V_{e,e}[\rho] = V_{e,e}[\rho] - V_{e,e}[\rho]_{referenz} \quad (4.12)$$

Somit ist man in der Lage die Gleichung 4.10 durch folgende zu ersetzen:

$$E_0 = V_{N,e}[\rho] + T[\rho]_{referenz} + V_{e,e}[\rho]_{referenz} + E_{xc}[\rho] \quad (4.13)$$

$$E_{xc}[\rho] = \Delta T[\rho] + \Delta V_{e,e}[\rho] \quad (4.14)$$

Für die ersten drei Glieder dieser Summe sind, wie bereits erwähnt, die exakten Funktionale bekannt. Die verschiedenen DFT-Methoden unterscheiden sich in der Form des als exchange-correlation bezeichneten Funktionals  $E_{xc}$ .

Die Hybrid Funktionale, zu denen das zweite in der Arbeit verwendete B3LYP Funktional gehört, zeichnen sich dadurch aus, dass  $E_{xc}$  als Summe mehrerer Funktionale beschrieben wird, die mit Gewichtungsfaktoren multipliziert werden. Diese Faktoren werden erhalten, indem man die Gleichung auf experimentelle Daten fittet.

**Kohn-Sham Gleichungen** Die Elektronendichte  $\rho$  wird durch eine Summe über die quadrierte Orbitalfunktionen erhalten:

$$\rho(r) = \sum_{i=1}^N |\phi_i(r)|^2 \quad (4.15)$$

$\phi$      Kohn-Sham Orbitale  
 $N$      Anzahl der Orbitale



Diese Orbitale können mit einer dem Hartree-Fock Verfahren (Gleichung 4.6) ähnlichen Methode gefunden werden.

$$f^{KS}\phi_i = \epsilon_i\phi_i \quad (4.16)$$

Dabei ist  $f^{KS}$  ein Ein-Elektronen-Operator, dessen genaue Form in der Literatur [87] nachgelesen werden kann.

### 4.3 Kraftfelder

Alle bisher beschriebenen Methoden sind direkt von der physikalisch exakten Beschreibung molekularer Systeme abgeleitet. Die Kraftfeldmethoden basieren auf einem rein empirischen Ansatz. Sie beschreiben Moleküle als eine Ansammlung von Massepunkten, die über Federkräfte zusammengehalten werden. Die einzelnen Bestandteile eines Kraftfelds sollen anhand des im Programmpaket Sybyl [90] implementierten Tripos Kraftfelds illustriert werden. Dieses Kraftfeld wurde für die Energieminimierungen im weiteren Verlauf der Arbeit verwendet. Kraftfelder approximieren die Grundzustandsenergie eines Moleküls durch eine Summe über verschiedene Terme.

$$E_{total} = \sum E_{str} + \sum E_{bend} + \sum E_{oop} + \sum E_{tor} + \sum E_{vdw} + \sum E_{ele} \quad (4.17)$$

Im ersten Abschnitt wird auf den Aufbau der Terme eingegangen, die die Kräfte zwischen gebundenen Atomen beschreiben. Der zweite Abschnitt behandelt die Potentialfunktionen, welche die Wechselwirkung zwischen nicht-gebundenen Atomen beschreiben.

#### 4.3.1 Kräfte zwischen gebundenen Atomen

**Valenzbindung** Die Valenzbindungen zwischen zwei Atomen werden durch die folgende Funktion beschrieben:

$$E_{str} = \frac{1}{2}k^d(d - d^0)^2 \quad (4.18)$$

$E_{str}$	Bindungsenergie [ $kcal/mol$ ]
$k^d$	Kraftkonstante [ $kcal/mol \cdot \text{\AA}^2$ ]
$d$	Abstand der Atome [ $\text{\AA}$ ]
$d^0$	Equilibriumsabstand der Atome [ $\text{\AA}$ ]

Dabei werden zwei empirische Parameter verwendet, der Equilibriumsabstand  $d^0$  und die Kraftkonstante  $k^d$ . Der Equilibriumsabstand ist als der Abstand zu verstehen, den zwei gebundene Atome ohne weitere Einflüsse einnehmen würden. Entspricht der Atomabstand genau dieser Idealbindungslänge, so erhält man einen Energiebetrag von Null. Werden die beiden Atome aus dieser Stellung ausgelenkt, dann wird die Energie größer als Null, also ungünstiger. Wie schnell die Dehnungsenergie ansteigt, wird durch den zweiten Parameter, die Kraftkonstante, festgelegt. Da die Funktion quadratisch ist, sind nur geringe Auslenkungen möglich. Diese Form der Beschreibung von Bindungen ist in Fällen, in denen sich die beteiligten Atome nahe der normalen Bindungsabstände bewegen, eine sehr gute Näherung der wahren Werte. Erst wenn der Abstand in den Bereich des Bindungsbruches kommt, werden keine reellen Energiewerte mehr errechnet. Mit diesem Modell ist also naturgemäß keine Beschreibung von chemischen Reaktionen möglich, die mit dem Bruch oder der Formation neuer Bindungen einhergehen.

**Bindungswinkel** Der Bindungswinkel zwischen drei Atomen wird ebenso wie die Valenzbindung durch eine quadratische Potentialfunktion beschrieben.

$$E_{bend} = \frac{1}{2}k^\theta(\theta - \theta^0)^2 \quad (4.19)$$

$E_{bend}$	Winkelenergie [ $kcal/mol$ ]
$k^\theta$	Kraftkonstante [ $kcal/mol \cdot ^\circ$ ]
$\theta$	Bindungswinkel [ $^\circ$ ]
$\theta^0$	Equilibriumswinkel [ $^\circ$ ]

Diese Gleichung kann analog 4.18 interpretiert werden, d.h. alle Abweichungen von einem als ideal angesehenen Winkel  $\theta^0$  führen zu einer Strafenergie. Wie schwer es ist, den Winkel zu dehnen oder zu stauchen, ist durch die Kraftkonstante festgelegt.

**out of plane** Der als out of plane Term bekannte Bestandteil der Kraftfeldgleichung beschreibt die Energie, die auftritt, wenn sich ein sp<sup>2</sup> hybridisiertes Atom aus der Ebene bewegt, die von seinen drei Substituenten aufgespannt wird. Dieser Term wird benötigt um zu verhindern, dass Substituenten an Aromaten aus der Ebene des Rings gebogen oder ganze Ringsysteme verdreht werden. Die Potentialfunktion ist entsprechend wieder quadratisch. Es wird automatisch ein Abstand von Null als ideal angenommen.

$$E_{oop} = \frac{1}{2} k^{oop} d^2 \quad (4.20)$$

$E_{oop}$	Out of plane Energie [kcal/mol]
$k^{oop}$	Kraftkonstante [kcal/mol · Å <sup>2</sup> ]
$d$	Abstand des Atoms von der Ebene der Substituenten [Å]

**Torsionswinkel** Während die bis hierhin beschriebenen Energierterme alle auf einer harmonischen Potentialfunktion beruhen, ist diese für die Beschreibung von Torsionswinkel nicht geeignet. Bei der Drehung um Einfachbindungen gibt es meist mehrere Minima. Somit ergibt sich, dass eine trigonometrische Funktion verwendet werden muss.

$$E_{tor} = \frac{1}{2} V^\omega [1 \pm \cos(|n| \cdot \omega)] \quad (4.21)$$

$E_{tor}$	Torsionsenergie [kcal/mol]
$V^\omega$	Höhe der Torsionsbarriere [kcal/mol]
$\pm$	wenn die Minima bei 0 und 180 Grad liegen +, sonst –
$n$	Periodizität oder Anzahl der Minima
$\omega$	Torsionswinkel

Die Parameter hängen von der Art der vier Atomen ab, zwischen denen der Torsionswinkel definiert ist. Daraus ergeben sich so viele Kombinationsmöglichkeiten, dass häufig spezifische Parameter fehlen und Standardwerte eingesetzt werden müssen. Außerdem führt diese schematische Beschreibung der Torsionsenergie oft zu symmetrischen Potentialhyperflächen, bei denen viele lokale Minima mit sehr ähnlichen Energiewerten gefunden werden. Dabei sind gerade diese Energiewerte für das Auseinanderhalten verschiedener Konformere besonders wichtig.

### 4.3.2 Kräfte zwischen nicht-gebundenen Atomen

Neben den bisher beschriebenen Energietermen gibt es auch solche, die für Atompaare berechnet werden, welche keine direkte Bindung eingehen. Die Interaktionen werden dabei nur bis zu einem gewissen einstellbaren cut off Abstand berechnet. Für Atompaare, die weiter voneinander entfernt sind als der cut off, werden keine Wechselwirkungen berechnet. Das Tripos Kraftfeld verwendet zwei unterschiedliche Potentialfunktionen, die im folgenden erläutert werden.

**Van der Waals Energie** Der obligatorische Van der Waals Term sorgt dafür, dass nicht-gebundene Atome zwei Grenzbedingungen einhalten. Erstens verhindert er, dass sich Atome näher kommen, als es ihre Van der Waals Radien zulassen würden, und zweitens muss er ab einem gewissen Abstand den Wert Null annehmen. Diese Bedingungen sind in der Lennard-Jones Potentialfunktion realisiert.

$$E_{vdw} = \sqrt{E_i \cdot E_j} \left[ \frac{1.0}{a_{ij}^{12}} - \frac{2.0}{a_{ij}^6} \right] \quad (4.22)$$

$E_{vdw}$  Van der Waals Energie [*kcal/mol*]

$E_i/E_j$  Van der Waals Konstanten der Atome *i* und *j*

$a_{ij}$  Abstand der Atome *i* und *j* geteilt durch die Summe der VdW-Radien

Somit beschreibt dieser Term sowohl die anziehenden London oder Dispersionskräfte, die zwischen nicht kovalent gebundenen Atomen auftreten, als auch die Abstoßungskräfte, die auftreten, wenn sich die beiden Atome zu nahe kommen.

**Elektrostatistischer Term** Neben der Van der Waals Energie kann im Kraftfeld ein weiterer Term in die Berechnung der Gesamtenergie mit einbezogen werden. Dieser beruht auf dem Coulombschen Gesetz und berücksichtigt die Anziehung von Partialladungen mit gegensätzlichem Vorzeichen, also die elektrostatische Interaktion. Er wird nach Gleichung 4.23 berechnet:

$$E_{ele} = 332.17 \frac{Q_i Q_j}{r_{ij}^2 \epsilon_r} \quad (4.23)$$

$E_{ele}$	elektrostatische Energie [ <i>kcal/mol</i> ]
332.17	Umrechnungsfaktor für die Einheiten
$Q_i/ Q_j$	Partialladungen der Atome $i$ und $j$
$r_{ij}$	Abstand der Atome $i$ und $j$ [Å]
$\epsilon$	relative Dielektrizitätskonstante

## 4.4 Beschreibung von Lösungsmitteln

Wenn man Lösungsmiteleigenschaften in die Betrachtung eines molekularen Systems einbeziehen will, so hat man unterschiedliche Möglichkeiten. Die naheliegendste ist, eine Anzahl von Lösungsmittelmolekülen in der Rechnung explizit zu berücksichtigen. Dieses Verfahren ist jedoch aus Zeitgründen meist nur bei der Verwendung von Kraftfeldern möglich. Will man eine QM- oder DFT- Methode anwenden, ist es unerlässlich, eine Näherung zu verwenden.

### 4.4.1 Die freie Lösungsenergie

Die Lösungsenergie setzt sich aus unterschiedlichen Effekten zusammen [91]. Die Bezeichnung der einzelnen Terme geht aus Gleichung 4.24 hervor:

$$\Delta G_{solvation}^0 = \Delta G_{elec} + \Delta G_{cavity} + \Delta G_{dispersion} + \Delta G_{repulsion} + \Delta G_{thermal} \quad (4.24)$$

Der erste Term  $\Delta G_{elec}$  steht für die elektrostatische Wechselwirkung zwischen dem Soluten und dem Lösungsmittel. Er resultiert aus Dipol-Dipol, oder Ion-Dipol Kräften. Sein Beitrag zur Lösungsenergie wird in den quantenchemischen SCRF-Rechnungen berücksichtigt (siehe 4.4.4). Der Solut muss in seiner Lösungsumgebung einen Hohlraum formen, die seinem Volumen entspricht. Der Betrag dieser Verdrängungsarbeit wird als  $\Delta G_{cavity}$  bezeichnet. Die beiden Terme  $\Delta G_{dispersion}$  und  $\Delta G_{repulsion}$  berücksichtigen die London Dispersionskräfte und die Abstoßungskräfte. Der letzte Term resultiert aus der unterschiedlichen Molekülbewegung beim Wechsel von der Gas- in die kondensierte Lösungsphase. Es werden Translations- und Rotationsbewegungen behindert und somit verändert sich die Zustandssumme.

### 4.4.2 Solvent accessible surface area (SASA)

Ein sehr einfaches Lösungsmittelmodell stellt die solvent accessible surface area (SASA)- Näherung dar. Die freie Solvatationsenergie wird mit der folgenden sehr einfachen Formel berechnet:

$$\Delta G_{solvation} = \sum_i \sigma_i A_i \quad (4.25)$$

$\sigma_i$  empirischer Parameter (atomare Oberflächenspannung)

$A_i$  Fläche des Atoms  $i$ , die dem Lösungsmittel zugänglich ist

Für jedes Atom oder jede Gruppe  $i$  wird zunächst die Oberfläche bestimmt, die dem Lösungsmittel zugänglich ist. Man errechnet sie, indem man virtuell ein Lösungsmittelmolekül über die Oberfläche rollen lässt. Alle Flächenelemente, die dabei in Kontakt mit dem Lösungsmittel kommen, werden aufaddiert. Für jedes Atom / jede Gruppe gibt es dann einen Parameter  $\sigma$ , der ein Maß für die gemittelte Lösungsenergie darstellt. Die Parameter  $\sigma$  erhält man, indem man die obige Gleichung auf eine Vielzahl von bekannten Lösungsenergien fittet. Diese sehr einfache Näherung kann zum Beispiel herangezogen werden, um schnelle Schätzwerte für die Solvatationsenergie von Biomolekülen zu erhalten.

### 4.4.3 Generalized Born / surface area

Born entwickelte eine Gleichung, die die Änderung der freien Energie beschreibt, wenn eine geladene Kugel von der Gasphase in ein Medium mit einer Dielektrizitätskonstante  $\epsilon$  überführt wird. Diese Born-Gleichung lautet:

$$\Delta G_{solvation} = -\frac{1}{2} \left(1 - \frac{1}{\epsilon_r}\right) \frac{Q^2}{a} \quad (4.26)$$

$Q$  Ladung der Kugel

$a$  Radius

$\epsilon_r$  relative Dielektrizitätskonstante

Dieses Konzept kann man für Systeme erweitern, die aus einer Ansammlung von mehreren geladenen Kugeln bestehen. Hier muss neben der Solvent-Solut Interaktion auch die Wechselwirkung der geladenen Teilchen untereinander berücksichtigt werden. Daraus ergibt sich die generalisierte Born Gleichung 4.27:

$$\Delta G_{solvation} = -\left(1 - \frac{1}{\epsilon}\right) \sum_{j>i} \sum_i \frac{Q_i Q_j}{R_{ij}} - \frac{1}{2} \left(1 - \frac{1}{\epsilon}\right) \sum_i \frac{Q_i^2}{a_i} \quad (4.27)$$

$R_{ij}$       Abstand der beiden Kugeln i und j  
 $Q_i/ Q_j$     Ladung der Kugeln i bzw. j

Hier entspricht die erste Doppelsumme dem Coulomb Potential zwischen den einzelnen Atomen und der zweite Term der Born Gleichung aus 4.26. Nimmt man diese Gleichung als Modell für die Lösungsenergie werden die Interaktionen zwischen Atomen, die keinen oder sehr wenig Kontakt zum Lösungsmittel haben, überbewertet. Um dies zu berücksichtigen, entwickelten Still *et al.* [92, 93] Beziehung 4.28:

$$\Delta G_{solvation} = \frac{1}{2} \left(1 - \frac{1}{\epsilon}\right) \sum_i \sum_j \frac{Q_i Q_j}{\left(R_{ij}^2 + a_i a_j^{-R_{ij}^2/4a_i a_j}\right)^{\frac{1}{2}}} \quad (4.28)$$

Dabei sind die mit  $a_i$  und  $a_j$  bezeichneten Größen aber nicht mehr als Radien im eigentlichen Sinne zu verstehen, sondern vielmehr als ein Maß für den Abstand der Atome zum Dielektrikum [93]. Diese Gleichung stellt nur den elektrostatischen Anteil der Lösungsenergie, also eigentlich  $\Delta G_{elec}$  dar.

#### 4.4.4 Self consistent reaction field Rechnungen [91, 94]

Gibt man ein Molekül in ein Lösungsmittel, so werden die umgebenden Lösungsmittelmoleküle polarisiert und ändern ihre Orientierung. Diese beiden Änderungen führen damit zu einem geänderten elektrischen Feld in der Nähe des gelösten Stoffes, welches als reaction field bezeichnet wird. Diese Änderungen wiederum haben einen Effekt auf die Elektronenverteilung des Soluten.

In den meisten quantenchemischen Ansätzen zur Berechnung der freien Lösungsenergie wird so vorgegangen, dass zuerst eine Gasphasenrechnung durchgeführt

wird. Auf Basis der dabei ermittelten Elektronenverteilung wird entweder lediglich das Dipolmoment der Substanz (Quanten-Onsager SCRF Methode), höhere Multipolmomente oder Partialladungen für alle Atome bestimmt. Die Wechselwirkung des Moleküls mit dem Lösungsmittel wird dann durch einen Term  $V_{int}$  (Interaktionspotential) modelliert. Dieser Term wird zum Gasphasen Hamilton-Operator hinzu addiert und die SCF-Rechnung wiederholt. Aus der resultierenden Ladungsverteilung im Molekül ergibt sich ein verändertes Interaktionspotential. Mit diesem wird der soeben beschriebene Zyklus wiederholt. Dieses Verfahren wird als self consistent reaction field Rechnung bezeichnet. Es wird so lange wiederholt bis bei einer Iteration eine vernachlässigbare Energieänderung erzielt wird.

Verschiedene Kontinuum Solvent Modelle unterscheiden sich in der Form des  $V_{int}$  Potentials und in der Berücksichtigung anderer Größen, wie der Energie, die benötigt wird, um einen Hohlraum von der Größe des Moleküls zu schaffen.

#### 4.4.5 Bekannte Fehler

Bei den soeben besprochenen Ansätzen wird besonders die Solvatationsenergie von Aminen und Amidien schlecht wiedergegeben. In einer Veröffentlichung von Marten *et al.* wird der Fehler mit 1-2 kcal/mol für jede der erwähnten funktionellen Gruppen angegeben [95]. Fehler in derselben Größenordnung werden aber auch unter Verwendung expliziter Wassermoleküle im Kraftfeld oder bei free energy perturbation Rechnungen gefunden [96]. Der Grund für diese Fehler kann darin zu finden sein, dass lediglich der elektrostatische Anteil möglicher Wasserstoffbrücken zwischen Solut und Lösungsmittel beschrieben wird. Die Autoren von [95] konnten durch das Einbeziehen eines expliziten Wassermoleküls belegen, dass der elektrostatische Anteil der Wasserstoffbrückenbindung oft nur schlecht mit der wahren Bindungsenergie korreliert. Wendet man dieses Erkenntnis auf die vorliegende Untersuchung an, so sollten von vornherein keine allzu großen Erwartungen an die absoluten Werte der Solvatationsenergie gesetzt werden. Auf der anderen Seite aber sollte sich ein Teil der Fehler gegenseitig kürzen, wenn man die Energien isomerer Strukturen relativ zueinander betrachtet.



## 4.5 Konformationsanalyse

Alle in dieser Arbeit betrachteten organischen Moleküle können als verschiedene Konformationsisomere vorliegen. Die Konformere unterscheiden sich in der Stellung der Torsionswinkel an Einfachbindungen. Ziel der Konformationsanalyse ist es, möglichst viele dieser Geometrien zu finden. Es existieren viele verschiedene Ansätze, mit denen Konformationsanalysen durchgeführt werden können [97, 98]. Im Folgenden sollen einige davon am Beispiel des Chinins vorgestellt werden.

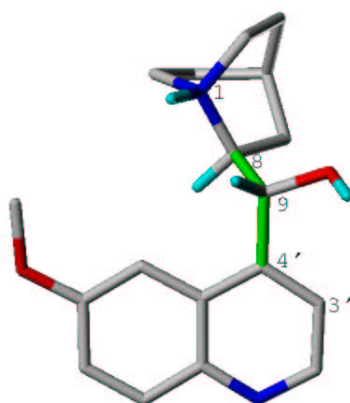


Abbildung 4.1: Chinin: die beiden Torsionswinkel sind in grün gekennzeichnet

### 4.5.1 Systematische Analyse

Bei der systematischen Konformationsanalyse geht man so vor, dass zunächst alle frei drehbaren Bindungen in einem Molekül ermittelt werden. Jede dieser Bindung wird dann in einer vorher zu wählenden Schrittweite rotiert. Aus allen möglichen Kombinationen werden Konformere konstruiert und deren Energie berechnet. Dieses Verfahren ist aufgrund der rasch anwachsenden Anzahl an konstruierten Konformeren auf Strukturen mit wenigen Einfachbindungen beschränkt. Die Zahl der Konformere errechnet sich wie folgt:

$$\text{Anzahl der Konformere} = (360^\circ / \text{Schrittweite})^{\text{Anzahl der Bindungen}} \quad (4.29)$$

Um diese große Anzahl an Strukturen handhabbar zu machen, werden häufig Filter angeschlossen, die zum Beispiel Strukturen mit überlappenden Van der Waals

Radien sofort aus dem Datensatz entfernen (sog. bump check). In Abbildung 4.2 ist das Vorgehen dieses Algorithmuses am Chinin gezeigt. Auf den Achsen sind die beiden Torsionswinkel abgetragen, während die erhaltenen Energiewerte als farbige Punkte dargestellt sind. Von den 144 Geometrien ist bereits ein Großteil durch den “bump check” eliminiert worden, sodass nur 40 Konformere übrig geblieben sind.

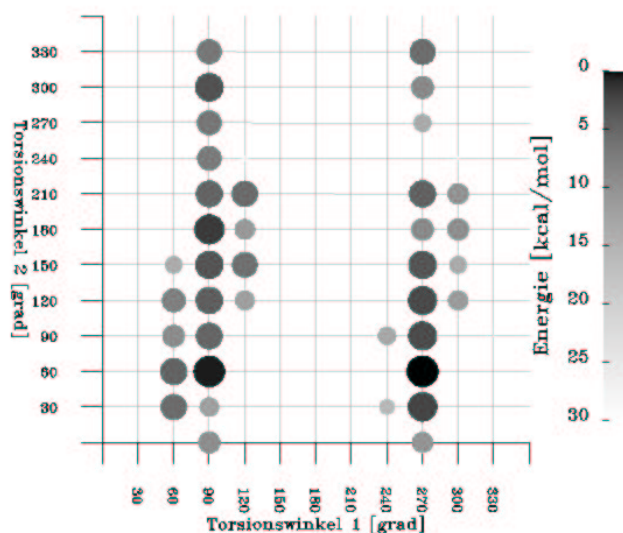


Abbildung 4.2: Systematische Konformationsanalyse des Chinins. Auf der X-Achse ist der Torsionswinkel zwischen C3', C4', C9 und C8 aufgetragen, auf der Y-Achse der Winkel zwischen C4', C9, C8 und N1. Die Farbe der Punkte gibt die relative Energie der Konformere an.

In Abbildung 4.3 ist die gleiche Analyse ausgehend von einer anderen Startgeometrie gezeigt. Wie man im Vergleich leicht sehen kann, sind die Werte der potentiellen Energie unterschiedlich und auch die Geometrie des globalen Minimums wird durch die Wahl der minimierten Ausgangsstruktur beeinflusst. Außerdem werden bei der zweiten Rechnung höchstens fünf der sechs (siehe Kapitel 5.1.3) tatsächlich vorhandenen Konformere gefunden.

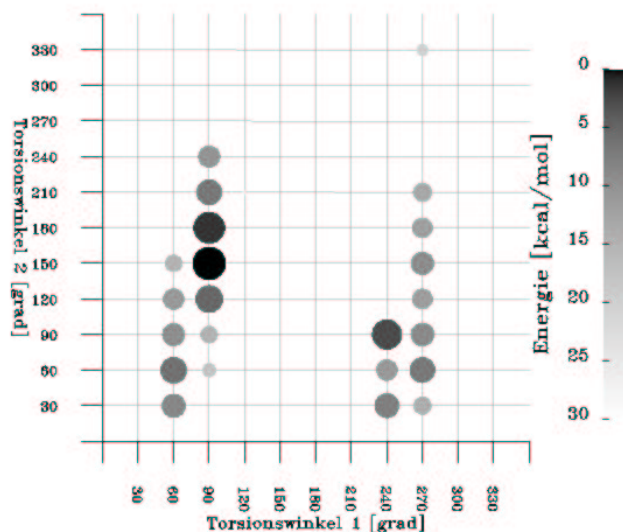


Abbildung 4.3: Systematische Konformationsanalyse des Chinins ausgehend von einer anderen Startgeometrie als in Abbildung 4.2. (Erklärung der Abbildung siehe Abb.4.2)

## 4.5.2 Grid search

Der Grund für die Probleme des systematic search Algorithmuses liegt in der zu ungenauen Beschreibung der Potentialhyperfläche, da keine Minimierungsschritte durchgeführt werden. Es ist also naheliegend eine Geometrieoptimierung durchzuführen. Diese Art der Konformationsanalyse wird dann als grid search bezeichnet. Dabei wird jedes Konformer bei fixierten Torsionswinkeln minimiert. In Abbildung 4.4 ist das Ergebnis einer solchen Analyse zu sehen. Im Vergleich zu den Ergebnissen aus dem systematic search ist die Hyperfläche nun viel exakter beschrieben. Diese Methode hat also den Vorteil, dass man Informationen über den gesamten Konformationsraum erhält. So können zum Beispiel direkt Rotationsbarrieren abgelesen werden oder man kann abschätzen, welche Konformationen leicht ineinander übergehen können. Für das Beispiel des Chinins würde das bedeuten, dass die beiden Stellungen des Chinuclidinrings relativ zur Chinolinebene durch eine Barriere von über 10 kcal/mol getrennt sind. Die Drehung des Bicyclus um die C9-C8 Achse ist hingegen mit 4 kcal/mol weniger beschränkt. Es zeigt sich auch, dass es ein zusätzliches Konformer bei dem Winkelpaar  $90^\circ / 300^\circ$  gibt, welches beim systematic search nicht zuverlässig gefunden wird. Somit ist klar,

dass der rechnerische Aufwand für einen grid search um ein vielfaches höher ist, die Ergebnisse aber aussagekräftiger sind.

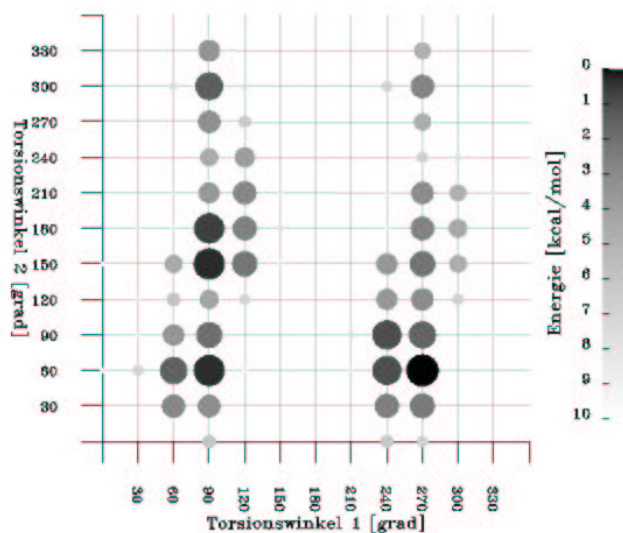


Abbildung 4.4: Konformationsanalyse des Chinins mit der grid search Methode (Erklärung der Abbildung siehe Abb.4.2)

### 4.5.3 Random search

Beim random search wird jeder frei drehbaren Bindung ein zufälliger Wert zugewiesen. Die so entstandenen Strukturen werden dann vollständig minimiert. Man muss bei dieser Methode vor dem Beginn der Analyse ein Abbruchkriterium angeben. Dies kann entweder eine feste Anzahl der Zyklen sein, oder man legt fest, wie oft dieselbe Struktur wiedergefunden werden muss, bis man davon ausgehen kann, dass der Konformationsraum komplett abgesucht worden ist. In Abbildung 4.5 ist dargestellt, wie ein solches Verfahren im Falle des Chinins aussehen würde. In der oberen Hälfte sieht man, dass die 50 Ausgangsstrukturen unregelmäßig im Raum verteilt liegen. In der unteren Hälfte sind alle minimierten Konformere dargestellt. Es kann hier das Problem auftreten, dass man die Strukturen in Familien einteilen muss. Eine häufig angewendete Lösung ist es, auf Basis eines RMSD Kriteriums die Verwandtschaft festzulegen. Dabei gibt es in diesem Beispiel viele Strukturen, die nicht in das exakt gleiche Minimum optimieren wurden. Wie in der Abbildung zu erkennen ist, hat man selbst visuell

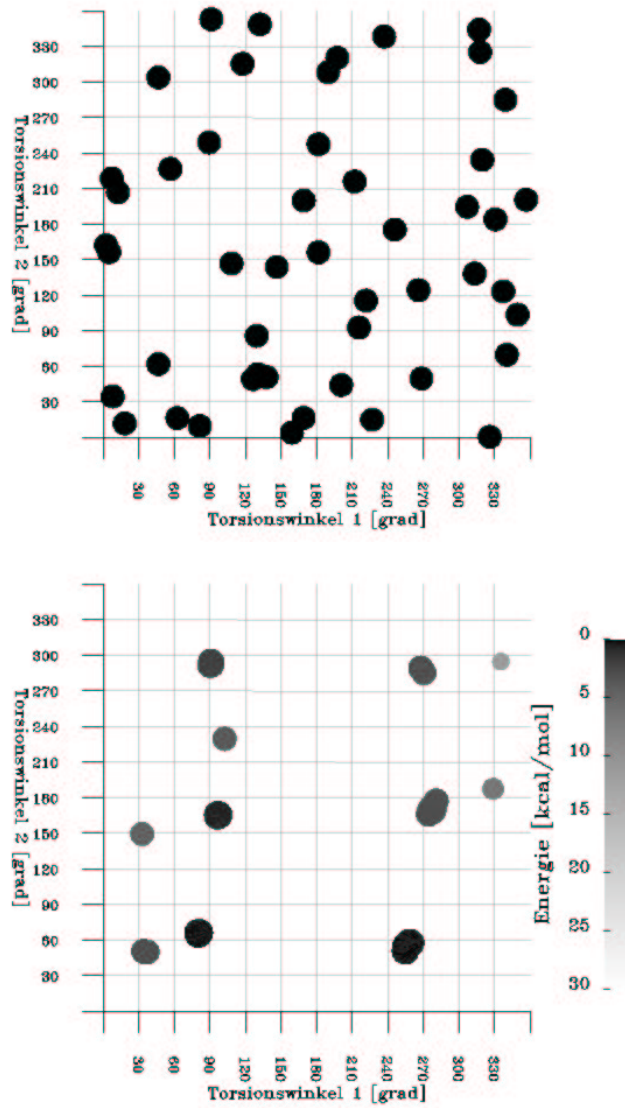


Abbildung 4.5: Konformationsanalyse des Chinins mit dem random search Verfahren; oben: Lage der Ausgangsstrukturen, unten: Lage der erhaltenen Minimumstrukturen

Schwierigkeiten, Strukturen zu Clustern zusammenzuführen.

#### 4.5.4 Simulated annealing

Das simulated annealing ist eine Methode, die sich von Dynamik Simulationen ableitet. Man führt eine Simulation durch, in deren Verlauf man die Struktur einem Temperaturprogramm unterzieht. In mehreren Zyklen wird das Molekül sehr stark ( $\geq 1000$  K) erhitzt, und anschließend wieder abgekühlt. Diese Zufuhr von Wärmeenergie ermöglicht es den Strukturen, Rotationsbarrieren zu überwinden, sodass prinzipiell alle Bereiche des Konformationsraums zugänglich sind. Beim Abkühlen werden dann einzelne Konformere mit niedriger Energie eingefroren. Diese Methode hat sich besonders bei der Untersuchung von Ringsystemen bewährt, da hier bei der systematischen Analyse virtuell einzelne Ringbindungen gebrochen werden müssen, um die Rotation durchführen zu können. Werden diese Bindung dann wieder geknüpft, entsteht eine Überdehnung der Bindung, die zu einem extrem hohen Energiewert im Kraftfeld führt. Ansonsten ist die Methode mit einem hohen Rechenaufwand verbunden, zumal die Endgeometrien wieder minimiert und geclustert werden müssen.

#### 4.5.5 Fragment basierter grid search

Aus dem zuvor gesagten ergibt sich, dass die grid search Methode als die am besten geeignete angesehen wurde. Sie bildet als einzige die gesamte Potentialhyperfläche des Konformationsraums ab. Diese Methode hat aber den Nachteil, dass schon im Kraftfeld der Rechenaufwand erheblich ist. Sind nun in einem Molekül mehrere Torsionswinkel vorhanden, so stößt man schnell auf Beschränkungen durch die zur Verfügung stehende Hardware. Nun war aber angestrebt, besonders aufwendige Verfahren wie die QM- und DFT-Methodiken anzuwenden. Um hier die dringend gebotene Reduktion der Freiheitsgrade zu ermöglichen, wurde für die vorliegende Arbeit eine Fragment basierte Vorgehensweise entwickelt. Dabei wurden die Moleküle in einzelne Fragmente zerteilt. Die Trennung der Fragmente wurde so durchgeführt, dass nur diejenigen rotierbaren Bindungen in einem Fragment blieben, die von einem einzigen Atom ausgehen. So wurde die Anzahl der frei drehbaren Bindungen pro Fragment so reduziert, dass auch

mit aufwendigen Rechenverfahren eine vollständige Darstellung möglich war. Ein weiterer Vorteil dieser Methode liegen in der Möglichkeit, den so beschränkten Raum visuell darstellen zu können. Bis zu einer Dimension von drei kann man den Konformationsraum gut graphisch darstellen und so auch direkt die verschiedenen Methoden vergleichen. Als dritter Vorteil ergibt sich, dass man die so berechneten Teilstrukturen mit Kristalldaten vergleichen kann. Sucht man nach einem Templat für das Gesamtmolekül, so findet man unter Umständen nur wenige oder gar keine Kristallstrukturen, die dem Muster entsprechen. Im Vergleich dazu sind die Fragmente weniger spezifisch und es wird immer mehrere Vergleichsmöglichkeiten geben. Zuletzt kann man aus den lokalen Minima das Gesamtmolekül wieder rekonstruieren. Die so generierten Minimumkonformere können dann, nachdem sie vollständig minimiert sind, nach ihrer Energie sortiert und bewertet werden. Zusammenfassend sind die Vorteile also die Reduktion der Dimensionen des Konformationsraums, die graphische Darstellbarkeit, die Möglichkeit Rotationsbarrieren einschätzen zu können und die Vergleichbarkeit mit Kristallstrukturen.

## 4.6 Verwendete Software und Parameter

### 4.6.1 Entwickelte Programme

Im Verlauf der Untersuchung stellte sich an vielen Stellen heraus, dass die vorhandene Software für die erwünschte Vorgehensweise nur unzureichende Unterstützung anbietet. Es sollten außer den oft gut implementierten Kraftfeldmethoden auch semiempirische und DFT-Ansätze angewendet werden. Während für alle Methoden eine große Auswahl an gut entwickelten Routinen für die Energieminimierung erhältlich ist, ist der systematische Aufbau einer Konformerdatenbank nur in Kraftfeld-orientierten Programmen wie Sybyl möglich. Außer der systematischen Generierung von Strukturen sollten Konformere im Rahmen eines grid searches partiell minimiert werden. Das erforderliche Editieren aller Eingabedateien für die QM- und DFT-Rechnungen von Hand ist fehleranfällig und langwierig. Aus diesen Gründen wurde eine Reihe von Hilfsprogrammen entwickelt, die für eine zuverlässige Durchführung des Forschungsvorhabens unerlässlich war.

Um es zu ermöglichen, solche Programme mit vertretbarem Aufwand zu schreiben, musste auf gut etablierte Bibliotheken zurückgegriffen werden. Zunächst wurde die Molecular Modelling Bibliothek Ghemical [99] getestet. Es zeigte sich jedoch, dass das Programmpaket erhebliche Nachteile aufweist, obwohl DFT-, Kraftfeld- und semiempirische Methoden über Schnittstellen angesprochen werden können. Das Kraftfeld basiert zwar auf einer Tripos Version, ist aber nicht für alle Atomtypen vollständig implementiert und in keiner Veröffentlichung validiert. Als weiterer mindestens ebenso gravierender Nachteil zeigte sich, dass die Minimierungsroutinen von Mopac, die auf Verwendung einer Z-Matrix beruhen, nicht angesprochen werden können.

Insgesamt musste der Schluss gezogen werden, dass Hilfsprogramme erstellt werden mussten, welche nicht die eigentliche Rechnung übernehmen. Vielmehr sollten sie die Konformere oder sonstige Geometrien in einem ersten Schritt automatisch generieren. Erst in einem zweiten Schritt sollten daraus die Eingabedateien für die verschiedenen Programme zusammen mit den gewünschten Informationen über die Art der Minimierung geschrieben werden. Als ideal für diesen Zweck erwies sich das OpenBabel Projekt. Diese Bibliothek leitet sich von dem Programm Babel der Firma OpenEye Scientific Software [100] ab. Sie ist vollständig in der Programmiersprache C++ geschrieben. C++ stellt neben der Objektorientierung vielfältige Containerklassen zur Verfügung und eignet sich somit sehr gut, um fertige Bibliotheken an eine spezielle Zielstellung anzupassen. Seit die Firma die Quellcodes frei zugänglich gemacht hat, werden die Module als Gemeinschaftsprojekt im Internet weiterentwickelt [101]. Das Programm ist ursprünglich als reines Konvertierungsprogramm konzipiert worden und verfügt somit über die Möglichkeit die Eingabedateien für verschiedene Programme auszugeben. Für den angestrebten Verwendungszweck mussten die Klassen jedoch an vielen Stellen verändert und erweitert werden.

**setup\_search** Das erste Programm, welches entwickelt wurde, erstellt Konformeren- oder Strukturdatenbanken. Es lässt sich über den Befehl `setup_search` aufrufen. Wird kein weiterer Parameter übergeben oder sind die Argumente nicht vollständig, gibt das Programm eine Beschreibung der Syntax aus:

**usage : setup\_search**  
**-d** directory to put files



**-f** name of .mol2 file

**-p** name of .par file

Dabei wird unter dem mit -d angegebenen Namen ein Verzeichnis erstellt, in welchem die generierten Strukturen abgespeichert werden. Mit -f wird eine Moleküldatei angegeben, die als Grundlage für die Untersuchung dient. Die .par Datei gibt an, welche Parameter systematisch variiert werden sollen. Es kann aus mehreren Sektoren bestehen, die mit einem der drei Schlüsselwörter [TORSION], [ANGLE], oder [BOND] beginnen. Auf jedes dieser Schlüsselworte können mehrere Zeilen folgen, in denen jeweils die Nummern der Atome angegeben werden. Soll zum Beispiel der Bindungswinkel von drei Atome mit den Nummern 1, 2 und 3 untersucht werden, würde der entsprechende Eintrag lauten:

```
[ANGLE]
1 2 3 110 130 5
```

Wobei die drei Zahlen hinter der Atomspezifizierung den Bereich angeben, also von 110° bis 130° bei einer Schrittweite von 5 Grad. In entsprechender Art und Weise werden die Parameter für Torsionswinkel oder Abstände angegeben. Das Programm ist für Konformationsanalysen ebenso gut geeignet, wie für die Untersuchung intermolekularer Wechselwirkungen in Abhängigkeit verschiedener Positionsparameter. Diese Art der Untersuchung wurde zur Beschreibung der Salzbrücke angewendet.

**part\_min\_ff** Hat man mit dem oben vorgestellten Programm eine Moleküldatenbank erstellt, muss die Information eingegeben werden, welche Freiheitsgrade der Moleküle minimiert werden sollen. Die Art und Weise, wie Molekülteile als rigide definiert werden, unterscheidet sich zwischen Kraftfeldern und QM-Ansätzen. Während die Minimierung im Kraftfeld in kartesischen Koordinaten vorgenommen wird, verwenden die QM-Methoden häufig interne Koordinaten. Also musste für die Sybyl-Rechnungen eine grundsätzlich andere Strategie entworfen werden, um partielle Minimierungen zu ermöglichen. Rigidität wird dabei durch einen zusätzlichen Strafterm erreicht der aus einem harmonischen Potential besteht. Die Konstante des Strafterms wurde auf 100 kcal/(mol \* deg<sup>2</sup>) festgesetzt. Der Wert wurde so gewählt, dass er nach erfolgter Minimierung in allen Fällen mit moderater innerer Spannung den erwünschten Winkel erhalten konnte.

Das SPL Makro `part_min_ff` geht nun so vor, dass es die Winkel laut Eingabe zuerst misst und dann mit dem erwähnten Strafpotential stabilisiert. Anschließend minimiert es die Struktur und speichert sie unter dem gleichen Namen wieder ab.

**convert\_zm** Die meisten Programme, die semiempirische oder DFT Methoden implementieren, akzeptieren die Eingabe in internen Koordinaten. Die Koordinaten werden angegeben als Abstand, Winkel und Torsionswinkel relativ zu anderen bereits definierten Atomen. Diese Variablen können dann so markiert werden, dass sie entweder in der Minimierung berücksichtigt werden oder auf dem Wert der Eingabe bleiben, also als konstant angesehen werden. Das Programm `convert_zm` ist so ausgelegt, dass es zunächst die kartesischen Koordinaten aus der Eingabe in interne umwandelt und diese dann je nach Eingabe als konstant oder variabel markiert. Die Syntax des Befehls wird wieder über die Eingabe des Befehls ohne Parameter angezeigt und lautet wie folgt:

```
usage : convert_zm  
-ams /  
-jag to indicate type of calculation  
-f name of .mol2 file  
-o name of outfile  
-m name of .min file  
-s name of .setup file
```

Das Argument `-m` ermöglicht die Angabe einer Datei mit Informationen über die Minimierung. Diese Datei enthält, nach einem ähnlichen Schema wie für `setup_search` besprochen, Schlüsselworte für Bindungswinkel, Bindungslängen oder Torsionswinkel. Nach dem Schlüsselwort wird dann entweder eine 1 angegeben, wenn das folgende Muster minimiert werden soll, oder mit einer 0 angezeigt, dass alle Bindungen, welche dem Muster entsprechen fixiert werden sollen. Als nächstes können die Nummern der Atome angegeben werden, die entsprechend markiert werden sollen. Alternativ kann auch ein Suchmuster angegeben werden. Dieses Suchmuster besteht entweder aus einem Stern stellvertretend für alle Atomtypen oder aus den Atomtypen, welche ausgewählt werden sollen. Die `.setup` Datei enthält die für das entsprechende Programm bzw. für die gewünschte Methode erforderlichen Schlüsselworte. Diese bestimmen, welche Methode, welche Ladung oder mit welchen Lösungsmittelparametern gearbeitet werden soll.

**measure** Da nun auch die Ausgabedateien in verschiedenen Formaten anfallen, wäre es sehr mühsam, alle einzeln in ein Sybyl kompatibles Format zu konvertieren, um anschließend die gewünschten Informationen auszulesen. Des Weiteren geht bei der Konvertierung eine entscheidende Information, nämlich die Energie des Moleküls verloren. Da aber mit dem OpenBabel Programmpaket schon ein Großteil der Voraussetzungen geschaffen war, wurde auch dieser Schritt automatisiert. Die Leseroutinen für die verwendeten Ausgabeformate mussten nur leicht verändert werden, um alle Informationen einlesen zu können. Das Programm *measure* kann strukturelle Informationen bestimmen und die entsprechenden Energiewerte mitliefern.

**usage : measure**

give type of input, name of file,  
any of -a, -t, -d, -e, -n

Von den angegebenen Argumenten steht -a für einen Winkel, -t für einen Torsionswinkel, -d für einen Atom-Atomabstand, -e für den Energiewert und -n für den Namen der Verbindung.

### 4.6.2 Tripos Sybyl

Das Programm Sybyl in der Version 6.9 wurde für den Aufbau der Strukturen, deren Visualisierung und die Kraftfeldrechnungen verwendet.

Als Parameter für die Minimierungen wurden die voreingestellten Werte übernommen. Lediglich die Anzahl der Minimierungsschritte wurde von 100 auf 500 heraufgesetzt. Der minimale zeitliche Mehraufwand fiel bei der überproportional längeren Berechnungsdauer der DFT-Methoden nicht ins Gewicht.

### 4.6.3 Amsol

Benutzt man Programme, welche unter Vakuumbedingungen rechnen, erhält man durch die Überbewertung aller intramolekularen Kräfte oft Strukturen im globalen Minimum, die in der kondensierten Phase nicht die günstigsten sind. Deswegen wurden alle semiempirischen und die DFT-Rechnungen mit einer Solventnäherung durchgeführt. Das Programm Amsol wurde auf Basis des semiempirischen

Ampac [102] und EF [103] entwickelt. Es bietet die Möglichkeit, sowohl mit dem AM1-, als auch mit dem PM3-Parametersatz zu arbeiten. Dabei ist es möglich, die Molekülgeometrie in der Lösungsmittelphase zu optimieren. Die Lösungsenergie wird aus zwei Termen berechnet [104].

$$\Delta G_{solvation} = \Delta G_{elec} + G_{CDS} \quad (4.30)$$

$\Delta G_{elec}$  elektrostatischer Anteil der Solvatationsenergie  
 $G_{CDS}$  cavitation, dispersion und solvent disposition

Dabei errechnet sich  $\Delta G_{elec}$  als die Differenz zwischen der Energie aus der Gasphasen-SCF-Rechnung und der Energie aus der SCRF-Rechnung, die die Polarisation durch das Lösungsmittel berücksichtigt. Der zweite Term besteht aus einer solvent accessible surface area (SASA) Approximierung. Er berücksichtigt die Energie, die benötigt wird um den Hohlraum für das Molekül zu bilden, die dispersiven Wechselwirkungen, mögliche Wasserstoffbrücken und die Verdrängung der Lösungsmittelmoleküle durch den gelösten Stoff. Dieser Term wird auch als Oberflächenspannungsterm bezeichnet.

Das Programm wird zusammen mit einem Satz parametrisierter Lösungsmittel vertrieben. Diese Parameter beschreiben physikalisch messbaren Größen wie der Oberflächenspannung und den Brechungsindex aber auch aus Faktoren für die Fähigkeit, Wasserstoffbrücken zu donieren und zu akzeptieren. Unter diesem Satz von Lösungsmittelmodellen befindet sich aber keine Methanol / Wasser Mischung, wie sie im Experiment benutzt wurde. Aufgrund der Tatsache, dass die Variablen für Methanol aufwendig optimiert und validiert worden sind [105], wurden diese verwendet und darauf verzichtet, eigene Parameter zu entwerfen. Dies erschien deshalb sinnvoll, weil der Einfluss des Lösungsmittels, wie in Abschnitt 2.3.4 besprochen, eher gering einzuschätzen ist. Des weiteren werden ohnehin Bestandteile des Lösungsmittels wie Puffer oder Salzgehalt bei jeder Näherung vernachlässigt. Es wurden alle Rechnungen sowohl mit dem PM3- als auch mit dem AM1-Parametersatz durchgeführt.

#### 4.6.4 Jaguar

Das Programm Jaguar wurde für alle DFT-Rechnungen benutzt. Es weist gegenüber anderen Programmen wie Turbomole [106] oder Gamess [107] den Vorteil

auf, dass die Beschreibung von Lösungsmittelleffekten gut in das Programm integriert ist [108, 109].

Jaguar rechnet zunächst nach dem üblichen SCRF Verfahren den elektrostatische Beitrag  $\Delta G_{elec}$  zur Lösungsenergie aus. Die freie Lösungsenergie  $\Delta G_{solvation}$  wird dann als Summe aus zwei Termen berechnet:

$$\Delta G_{solvation} = \Delta G_{elec} + \Delta G_{unpolar} \quad (4.31)$$

Der zweite Term  $\Delta G_{unpolar}$  berücksichtigt alle nicht-elektrostatischen Beiträge zur Lösungsenergie. Um diesen zu ermitteln, trägt man experimentelle Lösungsenergien [110] einer Reihe verzweigter und geradkettiger Alkane gegen ihre Oberflächen auf. Aus der erhaltenen Geradengleichung kann der Betrag des  $\Delta G_{unpolar}$  Terms abgelesen werden [109]. Er entspricht also der Solvatationsenergie eines unpolaren Moleküls, welches die gleiche Oberfläche wie die untersuchte Struktur hat.

Das Lösungsmittel wird im Jaguar Modul durch drei Parameter beschrieben: der Dielektrizitätskonstante  $\epsilon$ , die Masse der Lösungsmittelmoleküle und die Dichte [108]. Diese Parameter konnten leicht dem Lösungsmittelgemisch Methanol/Wasser 80:20, das im Experiment verwendet wurde, angepasst werden. In Tabelle 4.1 sind alle Parameter angegeben.

relative Dielektrizitätskonstante $\epsilon_r$	41,81
relative Molmasse	92,2 g/mol (durchschnittliche Masse)
Dichte	0,8468 g/cm <sup>-3</sup>

Tabelle 4.1: Lösungsmittel-Parameter, die bei den Jaguar Rechnungen verwendet wurden

Alle Rechnungen wurden mit zwei DFT-Methoden durchgeführt. Es wurde einmal mit einer GGA-Methode und zum anderen mit den B3LYP-Funktionalen gearbeitet. In Tabelle 4.2 ist aufgeführt, aus welchen Bestandteilen die Funktionale für  $E_{xc}$  aufgebaut sind, die dabei verwendet wurden.

	GGA	B3LYP
local exchange	Slater	Slater
non-local exchange	Perdew-Wang GGA-II, 1991	Becke 1988
local correlation	=	Vosko-Nusair-Wilk
non-local correlation	=	Lee-Yang-Parr

Tabelle 4.2:  $E_{XC}$  Funktionale der verwendeten DFT-Methode

## 4.7 Cambridge Structural Database

Die Cambridge Structural Database CSD [111] stellt eine umfassende Sammlung von Kristallstrukturdaten dar. Dort sind über 290.000 Strukturen (Juni 2003) abgelegt [112] mit den Koordinaten von über 1.830.000 Atomen. Von diesen Strukturen gehören 264.000 zu organischen Molekülen.

Mit dem Programm ConQuest1.6 [113] wird für die Suche nach passenden Geometrien außerdem ein intelligentes Werkzeug zur Verfügung gestellt. Es ermöglicht neben einer 2D Darstellung des Suchtemplates die Vorgabe weiterer Parameter. Zum Beispiel kann angegeben werden, welche Atome Teil eines Ringes sein dürfen und welche nicht. Neben der reinen Suche können direkt strukturelle Daten erhoben werden. Moleküle können in einem Dateiformat exportiert werden, das Informationen über die Gitterstruktur enthält, was einen virtuellen Aufbau des Kristallgitters ermöglicht. Bei allen Untersuchungen wurden folgende allgemeine Filter verwendet:

3D coordinates defined

R factor < 0,05

Not disordered

No errors

Not polymeric

Only Organics

Wo es erforderlich war, wurde außerdem mit der Beschränkung gearbeitet, dass die Atome nicht Teil eines Rings sein durften.

# Kapitel 5

## Durchführung und Ergebnisse

### 5.1 Konformationsanalyse des Selektors

Die Konformationsanalyse wurde sehr detailliert ausgeführt. Es wurde in dieser Arbeit größter Wert darauf gelegt, den Konformationsraum lückenlos abzusuchen. Dabei wurde so vorgegangen, dass alle Moleküle von Interesse in kleine Fragmente zerteilt wurden. Jedes Fragment wiederum wurde mit einer Vielzahl verschiedener Methoden, nämlich zwei semiempirischen und zwei DFT-Methoden sowie dem Tripos Kraftfeld berechnet. Diese Vorgehensweise hat neben einer großen Übersichtlichkeit die Vorteile, dass Kristallstrukturen mit ähnlichem Muster als Referenz herangezogen werden können. Außerdem ist es möglich, in einfachen Darstellungen den energetischen Verlauf visuell zu erfassen. Sind die theoretischen Methoden auf verschiedenen Ebenen der Abstraktion mit den experimentellen Ergebnissen im Einklang, so kann mit großer Sicherheit davon ausgegangen werden, dass die Konformere realistisch sind. Nur so zeigen sich außerdem die Stellen, an denen das Kraftfeld falsch parametrisiert ist.

Alle Rechnungen wurden mit den im Kapitel 4.6 vorgestellten Programmen durchgeführt. Zuerst wurde jeweils eine Konformerendatenbank mit dem Befehl `setup_search` erstellt. Die Parameterdateien können entsprechend den unten aufgeführten Erklärungen leicht nachvollzogen werden. Diese wurden dann zunächst mit dem SPL Makro `part_min_ff` minimiert. Von diesen nun im Kraftfeldminimum liegenden Strukturen ausgehend wurden dann mit dem Programm `convert_zm` Eingabedateien für Jaguar und Amsol erstellt. Die Verarbeitung der

so erstellten Verzeichnisse erfolgte über Shellskripte. Waren alle Rechnungen für einen Satzes von Strukturen durchgeführt, konnten mit dem Programm measure leicht die relevanten Ergebnisse zusammengestellt werden.

Der Selektor tert.-butyl-Carbamoylchinin, im folgenden TBCH abgekürzt, verfügt über fünf frei drehbare Bindungen. In Abbildung 5.1 sind diese in grün gekennzeichnet. Für die Konformationsanalyse wurden der Methoxylsubstituent am Chinolinring und der tert.-butyl-Carbamoylrest getrennt untersucht. Von den drei Einfachbindungen am Kohlenstoff C9 konnten nur im Kraftfeld alle drei systematisch variiert werden. Um aufwendigere Methoden einsetzen zu können, musste der Konformationsraum eingeschränkt werden. So wurde das Chinin untersucht, das über zwei der drei Bindungen verfügt. Die dritte Position wird von einer Hydroxylgruppe besetzt. So sollte es möglich sein, die Stellung des Chinuclidinrings relativ zum Chinolinring beurteilen zu können. Im Anschluss daran konnte eine Auswahl der lokalen Minima in Verbindung mit der Carbamoyl-Seitenkette berechnet werden.

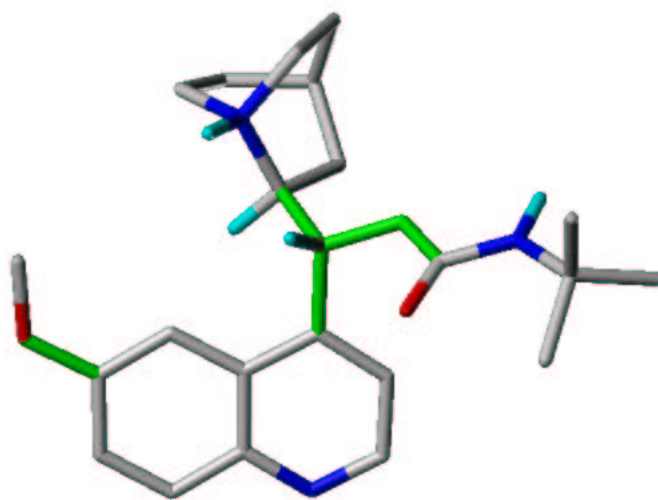


Abbildung 5.1: frei drehbare Bindungen des Selektors

### 5.1.1 6-Methoxychinolin

Zuerst wurde die Stellung der Methoxylgruppe am Chinolinring untersucht. Diese ist in der Lage, eine Wasserstoffbrücke zu akzeptieren. Des weiteren wird sie in



einer anderen Untersuchung als Interaktionspartner der Amidfunktion einiger *R*-Aminosäuren diskutiert [51]. Es ist also durchaus wichtig, ihre Stellung richtig zu beurteilen, um die Möglichkeit, Komplexe zu stabilisieren, einschätzen zu können. An Stelle des gesamten Selektors wurde nur das 6-Methoxyl-4-methylchinolin (Abb.5.2) untersucht.

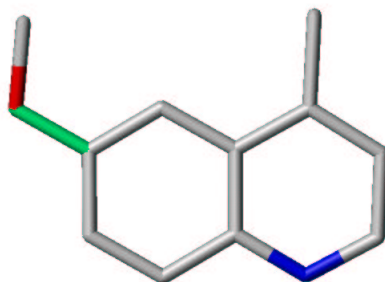


Abbildung 5.2: 6-Methoxyl-4-methylchinolin

Es wurde eine systematische Drehung um die Chinolin - Methoxyl-Sauerstoff Bindung durchgeführt, wobei die Bindung in fünf Grad Inkrementen verändert wurde. In jeder Stellung wurde dann die Struktur unter der Einschränkung minimiert, dass der Torsionswinkel unverändert bleibt. In Abbildung 5.3 ist die Energie in kcal/mol gegen den Torsionswinkel aufgetragen. Die Werte sind jeweils relativ zum niedrigsten Energiebetrag aufgetragen, der den Wert Null erhielt. Der Legende ist zu entnehmen, welche Energiewerte mit welcher Methode errechnet wurden.

Die Minimierungen mit den semiempirischen bzw. DFT Methoden ergaben zwei Minima, das globale bei  $0^\circ$  und ein weiteres lokales bei  $180^\circ$ . Dabei zeigten sich bei der Rechnung mit den PM3 Parametern einige Schwächen bei der Optimierung, die zu einem Zwischenminimum bei etwa  $160^\circ$  führten. Dieser Parametersatz scheint also von den semiempirischen Ansätzen in diesem Fall weniger robust als AM1 zu sein. Große Unterschiede zeigten sich bei der Bewertung der Rotationsbarriere. Für AM1 und PM3 liegt diese mit 1-2 kcal/mol deutlich niedriger als bei den DFT Methoden mit Werten von 3,5 und 5 kcal/mol.

Geringer fallen die Unterschiede zwischen den verschiedenen Methoden aus, wenn man das lokale Minimum bei  $180^\circ$  betrachtet. Hier ist jedoch der absolute Betrag von Bedeutung, um abschätzen zu können ob bzw. welcher Anteil der Selektorpo-

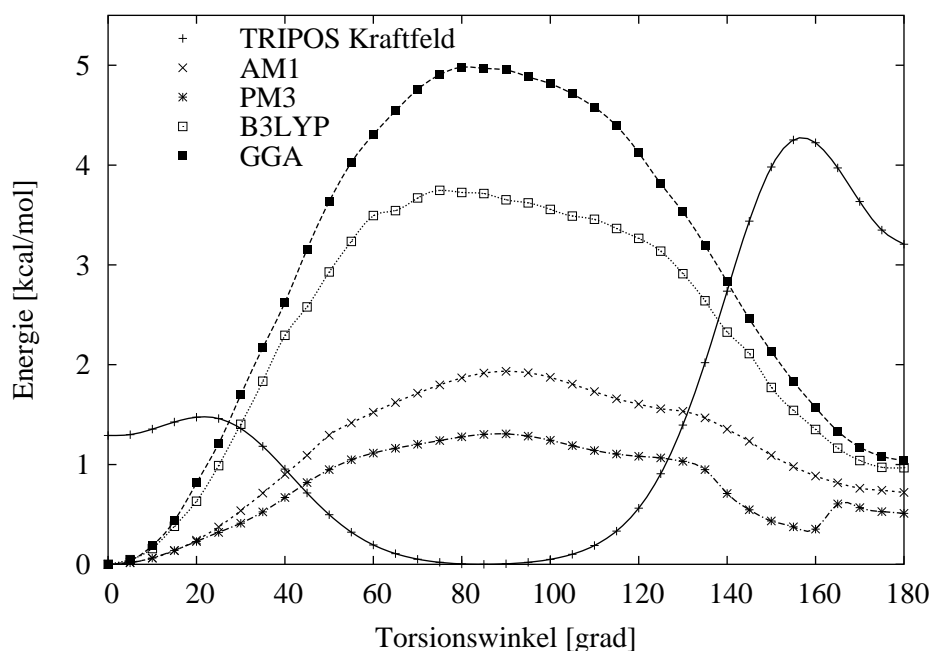


Abbildung 5.3: Energie des 6-Methoxyl-4-methylchinolins in Abhängigkeit des Torsionswinkels der Methoxygruppe

pulation in dieser Konformation vorliegt. Errechnet man für die Energiedifferenz von 1 kcal/mol eine Besetzung nach der Boltzmannverteilung, so würden bei 25°C etwa 20% im Nebenminimum liegen. Hinweise auf die Wahrscheinlichkeit dieses Zustandes können aber ebenfalls aus Kristallstrukturdaten gewonnen werden (siehe unten).

Im Gegensatz zu den bisher diskutierten Ergebnissen stehen die mit dem Tripos Kraftfeld ermittelten Werte. Hier wird für das 90°-Konformer der niedrigste Energiewert und lokale Minima bei 0° bzw. 180° berechnet. Dieses abweichende Verhalten muss, gerade nach Analyse der CSD, als Parametrisierungsfehler eingeschätzt werden.

Die Suche in der Cambridge Structural Database nach geeigneten Kristallstrukturen wurde mit 6-Methoxyl-4C-chinolin (Abb. 5.4) ausgeführt, wobei C als ein Kohlenstoff mit beliebigem Bindungsmuster definiert war. Bei den Strukturen, die dem Suchprofil entsprachen, ist ein Diederwinkel von 0° wie erwartet am häufigsten anzufinden. Von den gefundenen 38 Strukturen weisen 37 einen Torsionswinkel von  $0^\circ \pm 15^\circ$  auf. Nur eine einzige liegt bei etwa 180°.

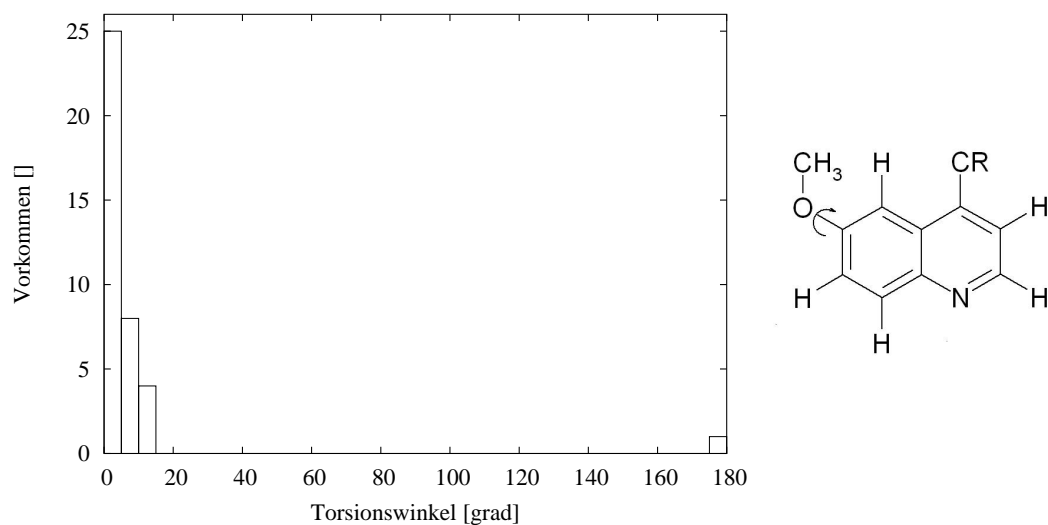


Abbildung 5.4: CSD Analyse; links: Häufigkeit der jeweiligen Diederwinkel, rechts: Templat 6-Methoxyl-4C-chinolin

Da es sich bei dieser Ausnahme zudem um die Geometrie eines fluorierten Chinidins handelt, wurde ihr besondere Aufmerksamkeit zuteil. Um die Umgebung im Kristall beurteilen zu können, wurde ein Ausschnitt des Kristallgitters virtuell aufgebaut. So kann gezeigt werden, dass durch die spezielle Struktur dieses Gitters der Raum, der der Methoxygruppe zur Verfügung steht, stark begrenzt ist. In Abbildung 5.5 sind die relevanten Atome als Kalottenmodell abgebildet. Man kann so leicht einsehen, wie durch die Anordnung des Chinuclidinrings des im Kristall benachbarten Chinidins die Methylgruppe in eine Winkelstellung von 180° gezwungen wird.

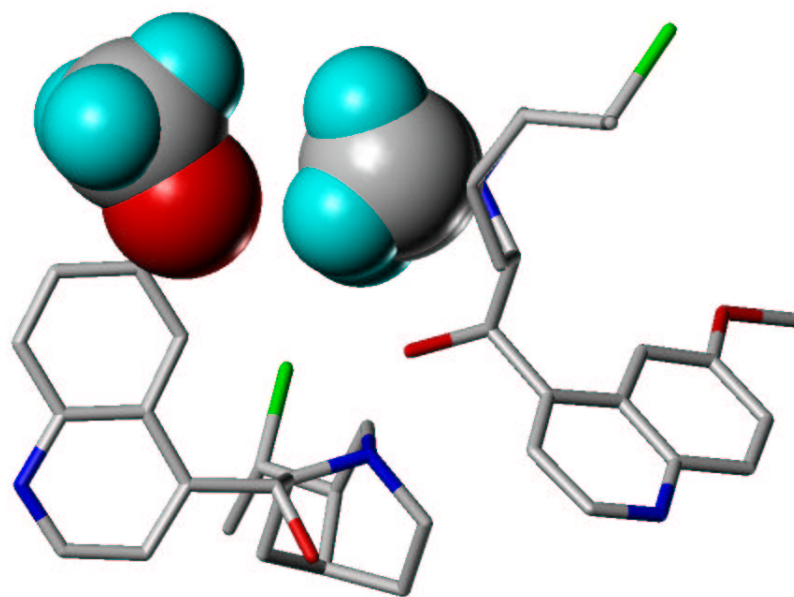


Abbildung 5.5: CSD: abweichende Struktur mit  $180^\circ$  Diederwinkel (CSD-Eintrag: MOHBUG)

Letztendlich wurde nur das Konformer in  $0^\circ$  Stellung in die Untersuchung mit einbezogen. Diese Entscheidung wurde gefällt, aufgrund der Tatsache, dass das  $0^\circ$ -Konformer bei allen Methoden außer dem Kraftfeld die niedrigste Energie hat. Außerdem ergab die Auswertung der Kristallstrukturen in der CSD, dass die große Mehrzahl der gefundenen Geometrien eben diese Ausrichtung aufweist.

### 5.1.2 Methylcarbaminsäuremethylester

Im folgenden Schritt wurde die Seitenkette des Selektors an C9 untersucht (Abb.5.6). Sie wurde eingefügt, um den Selektanden weitere Bindungsmöglichkeiten zur Verfügung zu stellen. Für die amidartige Bindung wurde eine  $180^\circ$  Anordnung angenommen. Interessant ist jedoch die Stellung der Methylgruppe. Um ihre Stellung zu untersuchen, wurde der Torsionswinkel zwischen Methyl-Kohlenstoff, Sauerstoff, Carbonyl-Kohlenstoff und Carbonyl-Sauerstoff in  $5^\circ$  Schritten variiert.

Nach bewährtem Schema sind in Abbildung 5.7 die Energiewerte des Methylcarbaminsäureesters gegen den Torsionswinkel aufgetragen. Das Triplos Kraftfeld gibt zwei Minima bei  $0^\circ$  und  $180^\circ$  an. Diese sind durch eine sehr hohe Torsi-

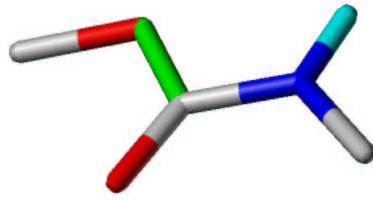


Abbildung 5.6: Methyl-Carbaminsäuremethylester

onsbarriere von 10 kcal/mol voneinander getrennt. Vergleicht man die relative Energie der beiden Minima, kann man erkennen, dass bei einem Unterschied von etwa 3,8 kcal/mol nur das erste bei Raumtemperatur besetzt ist.

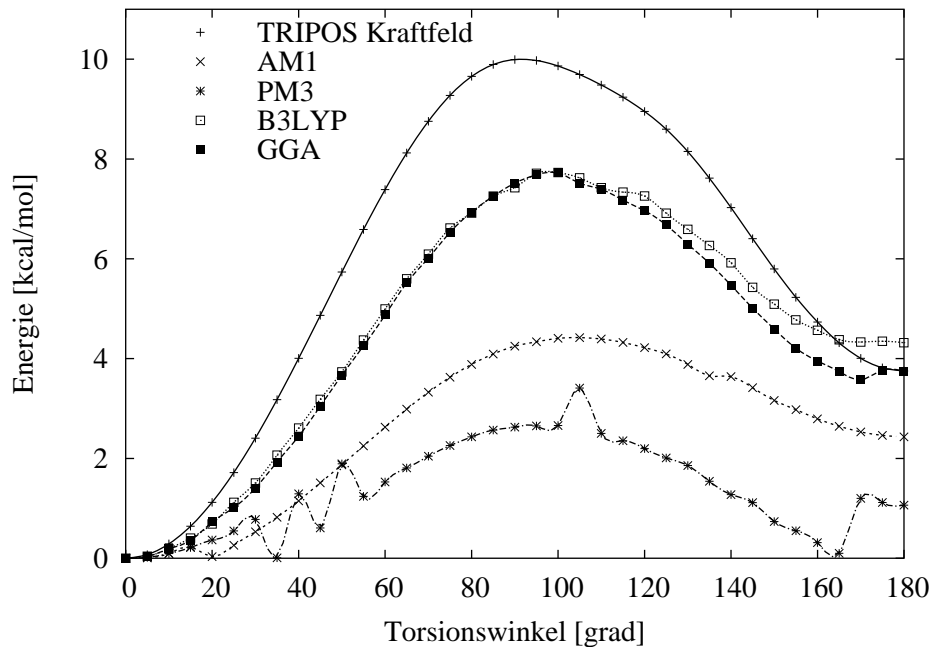


Abbildung 5.7: Methyl-Carbaminsäure Torsionswinkel

Wie schon zuvor zeigen sich bei PM3 Schwächen bei der Minimierung. Im Trend lässt sich jedoch eine der AM1-Methode gleichwertige Aussage ableiten, nämlich dass die Minima bei  $0^\circ$  und  $180^\circ$  liegen, mit deutlicher Präferenz für  $0^\circ$ . Die DFT-Rechnungen bestätigen dies. Hier fällt aber der Energieunterschied zwischen den beiden Minima deutlich höher aus, und auch die Torsionsbarriere liegt mit 8 kcal/mol wieder um einiges höher als dies bei den AM1- und PM3-Methoden der Fall ist.

Die Suche nach Kristallstrukturen erfolgte mit einem Templat, welches neben der gesuchten Teilstruktur sowohl am Stickstoff als auch am Sauerstoff einen beliebig substituierten Kohlenstoff enthielt (Abb.5.8). Von den gefundenen 417 Geometrien, die dem Muster entsprechen, weisen alle einen Torsionswinkel im Bereich nahe  $0^\circ$  auf. Somit war die Ausrichtung des untersuchten Torsionswinkels von  $0^\circ$  sowohl experimentell als auch durch alle theoretischen Methoden bestätigt.

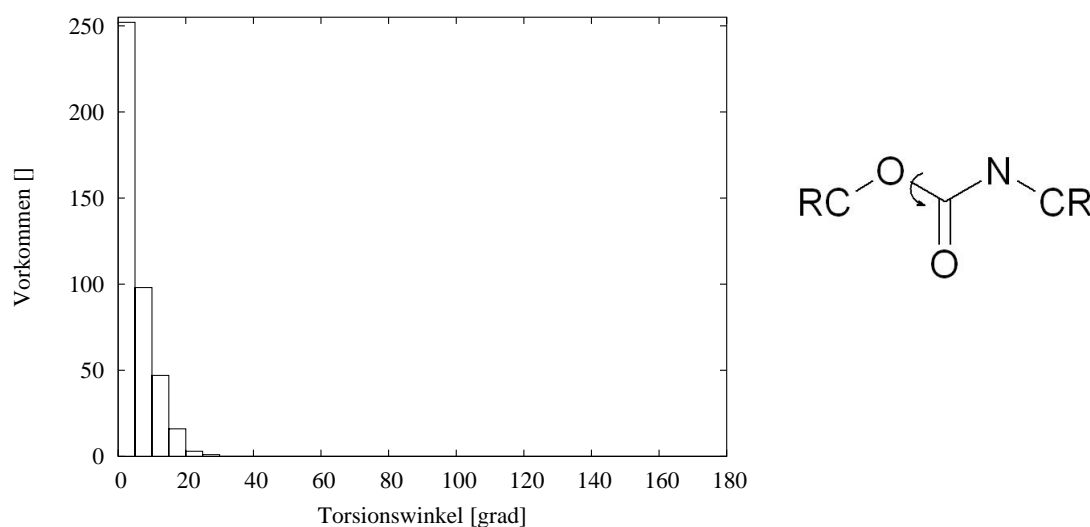


Abbildung 5.8: CSD-Suche für Urethan; links: Häufigkeit der gesuchten Winkel, rechts: Suchtemplat

### 5.1.3 Stellung des Chinuclidinrings

Um die Struktur möglicher Komplexe vorhersagen zu können, ist es besonders wichtig, die Stellung des Chinuclidinrings richtig zu beschreiben. Der kationische Stickstoff stellt die wichtigste Interaktionsmöglichkeit dar, da er an der ionischen Bindung der Selektanden beteiligt ist. Diese intermolekulare Bindung ergibt den größten Energiegewinn bei der Ausbildung der Komplexe, und die dabei wirkenden Coulombkräfte haben die größte Reichweite. Um hier genauere Einblicke zu gewinnen, wurde deshalb eine Analyse des Chinins durchgeführt (Abb.5.9). Für die Rechnungen wurde auf den Allylsubstituenten am Chinuclidinring verzichtet. Dieser ist für die kovalente Bindung der Selektoren an die stationäre Phase wichtig und somit auf der Säule nicht mehr vorhanden. Es wurde die Abhängigkeit der Gesamtenergie von den zwei Bindungen am chiralen C9 systematisch

untersucht. Als Kompromiss zwischen Genauigkeit und Rechenzeit wurde ein Inkrementsschritt von  $30^\circ$  gewählt. In jeder Stellung wurde das Gesamtmolekül geometrieoptimiert, wobei die Torsionswinkel, die Teil der Untersuchung waren, starr gehalten wurden. Die Rechnungen wurden wie schon vorher mit mehreren Methoden durchgeführt.

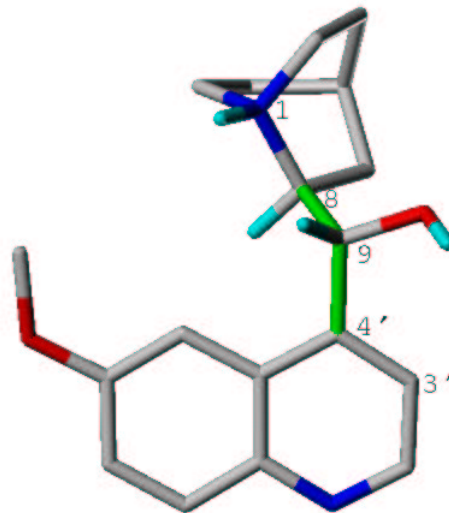


Abbildung 5.9: frei drehbare Bindungen des Chinins (ohne Allylsubstituent)

In der Abbildung 5.10 ist das Energieprofil der Rechnungen im Tripos Kraftfeld zu sehen. Auf der horizontalen X-Achse ist der Torsionswinkel zwischen C3' C4' C9 und C8 aufgetragen, auf der vertikalen Y-Achse der Diederwinkel zwischen C4' C9 C8 und N1. Für jede minimierte Struktur ist ein Kreis eingezeichnet, dessen Größe und Farbe linear mit der Energie skaliert ist. Der günstigsten Struktur wurde der Wert Null zugewiesen und die Werte der anderen Konformere darauf bezogen. Es sind Geometrien, die bis zu 10 kcal/mol über dem globalen Minimum liegen, eingezeichnet. Es zeigt sich deutlich, dass es zwei durch eine größere Energiebarriere getrennte Konformationsräume gibt. Die Räume unterscheiden sich in der Ausrichtung des Chinuclidinrings relativ zum Chinolinring. Die Stellung des Chinuclidins im linken Energietal ist in Abbildung 5.11 auf der linken Seite dargestellt. In der gleichen Abbildung auf der rechten Seite sind die Konformere abgebildet, die dem rechten entsprechen. Das Energieprofil steht in voller Übereinstimmung mit der Erwartung, dass der voluminöse Bicyclus im rechten Winkel zur Fläche des Chinolinrings zu finden sein muss, um die sterische Abstoßung zu

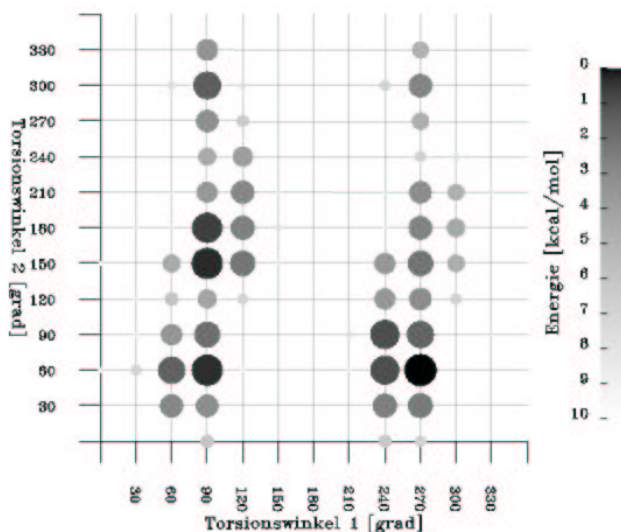


Abbildung 5.10: Potentialhyperfläche des Chinins berechnet mit dem Triplos Kraftfeld

minimieren. Der Torsionswinkel 2 entspricht der Drehung um die C8, C9 Bindungsachse. Die drei lokalen Minima liegen bei  $60^\circ$ ,  $150^\circ$  und  $300^\circ$ . Auch diese beobachteten günstigen Geometrien, decken sich mit der allgemeinen Erwartung, dass bei der Drehung um die Bindung von zwei  $sp^3$  hybridisierten Kohlenstoff-Atomen drei Minima zu finden sein werden. Das globale Minimum wurde bei einer Konformation gefunden, die den Torsionswinkeln von  $270^\circ$  und  $60^\circ$  entspricht. Nahezu gleichwertige Energiebeträge ergaben aber auch zwei Strukturen mit den Winkelpaaren  $90^\circ/60^\circ$  bzw.  $90^\circ/150^\circ$ .

Das gleiche System wurde nun auch mit Amsol semiempirisch untersucht (Abb.5.12). Zwar gleichen sich die Potentialhyperflächen auf den ersten Blick, im Detail sind jedoch einige Unterschiede zur Kraftfeldrechnung zu finden. Erstens liegt bei AM1 und PM3 das globale Minimum an einer anderen Stelle, nämlich bei der Torsionswinkel-Kombination  $90^\circ/180^\circ$ . Zweitens ist der Energieunterschied zu den anderen lokalen Minima deutlich größer als es bei der Kraftfeldrechnung der Fall war. Im Unterschied zur Kraftfeldrechnung lässt sich auch erkennen, welcher Weg beim Wechsel der Konformationsräume die geringste Aktivierungsenergie erfordern würde. Insgesamt ist das Profil des Potentialgebirges flacher, die Diskriminierung der Konformere mit niedriger Energie aber deutlicher.

Um nun weitere Anhaltspunkte zu finden, welches Konformer tatsächlich über-



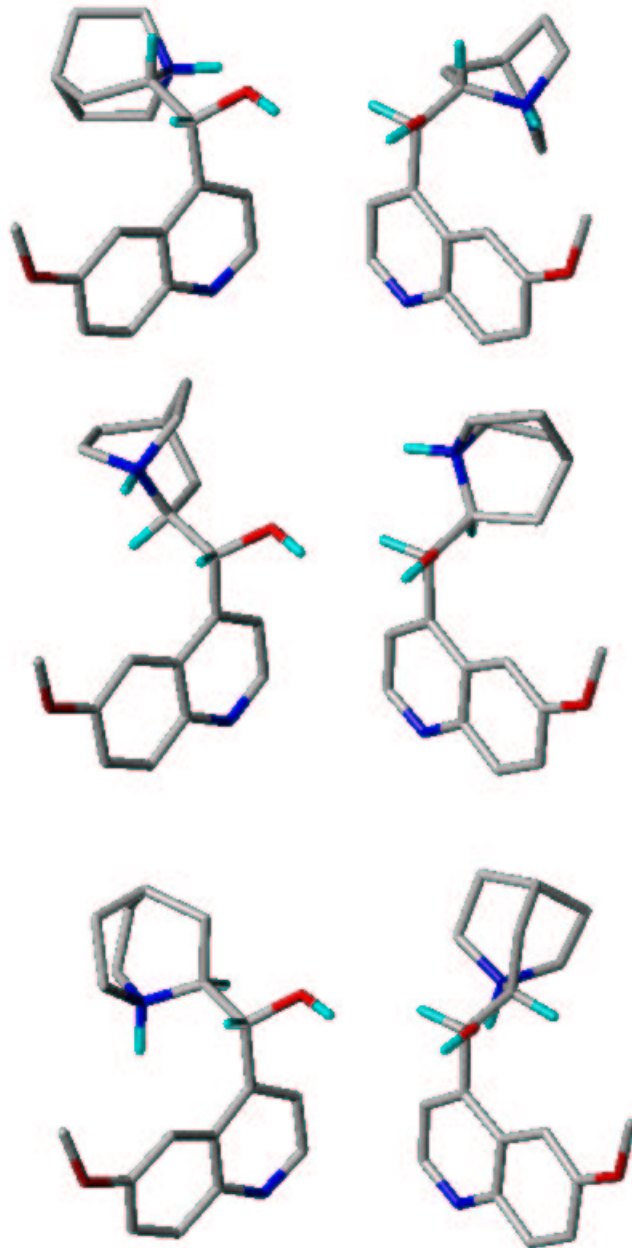


Abbildung 5.11: Konformere des Chinins: die Position in der Abbildung korrespondiert zur Lage der Torsionswinkel im Konformerenraum

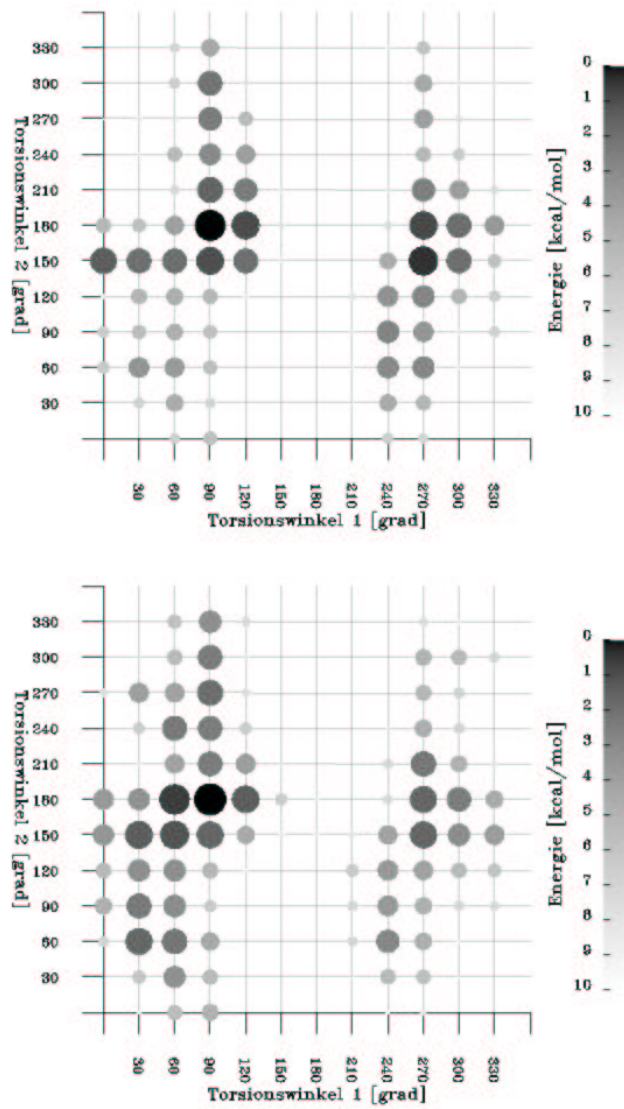


Abbildung 5.12: Potentialhyperfläche des Chinins berechnet mit Amsol; oben: AM1, unten: PM3

wiegt, wurde eine Struktur aus jedem der sechs lokalen Minima ausgewählt, um DFT-Rechnungen durchzuführen. Diese Auswahl war nötig, da die Anzahl von 144 Strukturen für diese aufwendige Rechenmethode als zu groß angesehen wurde. Außerdem schien die Lage der Minima ausreichend gesichert. Hier wurde im Gegensatz zu dem sonst etablierten Vorgehen eine vollständige Optimierung in allen Freiheitsgraden durchgeführt. Es sollte ja eine gänzlich relaxierte Struktur gefunden werden, die es erlaubt den Besetzungszustand auch quantitativ zu beurteilen. Um es zu ermöglichen, auch diese Ergebnisse direkt in den Vergleich mit den bisher diskutierten Rechnungen zu sehen, wurde das bisher verwendete Darstellungsschema beibehalten (Abb.5.13). Das globale Minimum in der Potentialfläche ist das gleiche, wie bei den zuvor gezeigten semiempirischen Methoden. Insbesondere die Rechnung mit dem B3LYP-Hybridfunktional zeigt deutlich, dass diese Konformation alle anderen überwiegen sollte. Die Lage der verschiedenen Geometrien im Konformationsraum ist bei beiden Methoden nahezu exakt gleich. Die Tatsache, dass das  $90^\circ/280^\circ$  Konformer bei diesen Methoden im Vergleich zu den anderen als günstig berechnet wird, unterstreicht die Wichtigkeit den Konformationsraum nicht vorschnell zu beschneiden. Dieses Konformer war nämlich bei den anderen Methoden vergleichsweise ungünstig berechnet worden.

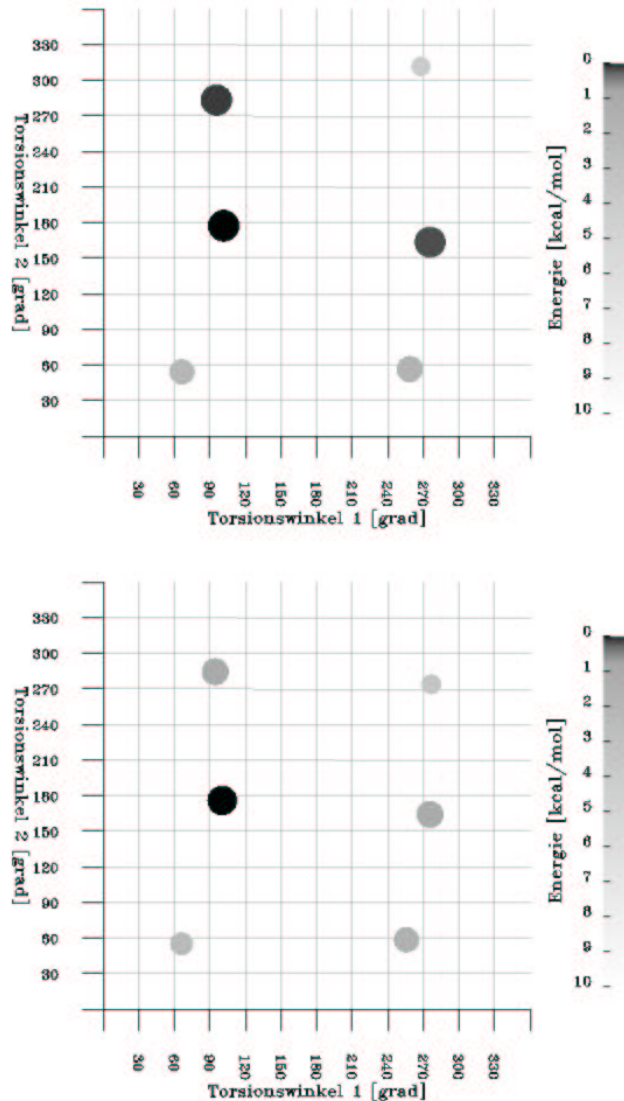


Abbildung 5.13: Potentialhyperfläche des Chinins berechnet mit Jaguar oben: GGA, unten: B3LYP

Eine Analyse geeigneter Kristallstrukturen zeigte aber, dass in der Tat in diesem Segment einige experimentell ermittelte Konformere zu liegen kommen. Die Suche in der CSD wurde mit einem Suchtemplat durchgeführt, welches an Stelle der Hydroxylgruppe an C9 noch weitere Substituenten zuließ (Abb.5.14). Dabei musste beachtet werden, dass die Chiralität der des Chinins entsprechen musste.

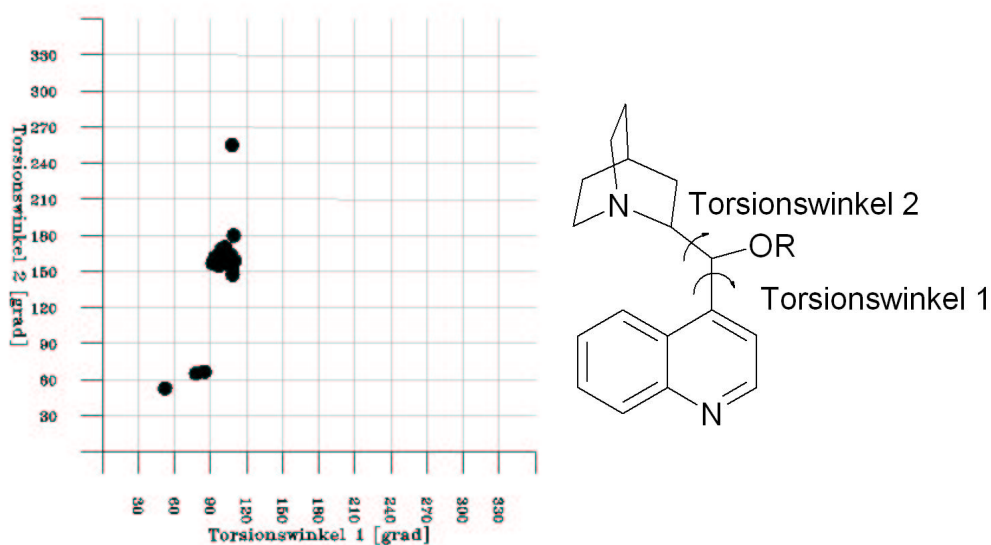


Abbildung 5.14: CSD Suche links: Lage der gefundenen Strukturen in der Konformationsfläche, rechts: Suchtemplat

Die Untersuchung ergab, dass in allen Kristallstrukturen der Chinuclidinring auf der gleichen Seite zu liegen kommt. Dieses Ergebnis ist etwas überraschend, da sowohl die semiempirischen als auch die ab initio Rechnungen eine günstige Struktur bei dem Winkelpaar  $270^\circ/150^\circ$  vorhergesagt hatten. Es muss hier betont werden, dass man nicht grundsätzlich davon ausgehen kann, dass Kristallstrukturen den kompletten Konformationsraum abbilden. Es kann also keine Aussage gemacht werden, ob hier die theoretischen Methoden ein falsches Energieprofil zeigen. Es wurden Beispiele für alle drei Rotamere, um die C8-C9 Achse gefunden. 22 der 26 Strukturen hatten eine Geometrie, die im errechneten Minimum aller Hartree-Fock und DFT-Methoden liegt. Problematisch bei der Auswertung dieser Ergebnisse ist, dass der Protonierungszustand des Stickstoffes im Bicyclus einen Einfluss auf die relativen Energiewerte der verschiedenen Konformere ausüben kann. Der Protonierungszustand hängt von den Bedingungen ab, unter denen der Kristall erhalten wurde. Da Protonen bei der Röntgenstrukturanalyse nicht aufgelöst werden, ist aber nicht mit letzter Sicherheit zu entscheiden, ob die freie Base oder das Salz vorliegt.

### 5.1.4 Tert.-butyl-Carbamoylchinin

**Kraftfelduntersuchung des gesamten Konformationsraums** Aus Rechenzeitgründen wurden die drei Einfachbindungen an C9 nur mit dem Kraftfeld systematisch untersucht. Bei einer Variation aller Winkel in jeweils 30°-Schritten über einen Bereich von 360° ergeben sich  $12^3$ , also 1728 Einzelstrukturen. Anhand dieser kompletten Untersuchung sollte der Ansatz evaluiert werden, das Chinin getrennt von der Seitenkette zu untersuchen, d. h. ob es in diesem Fall sinnvoll war, mehrere von einem Atom ausgehende Einfachbindungen getrennt zu untersuchen. In Abbildung 5.15 sind die X- und die Y-Achse wie schon in Abbildung 5.10 definiert. Auf der Z-Achse ist der Winkel zwischen C4', C9, Seitenketten-Sauerstoff und Carbonyl-Kohlenstoff aufgetragen. Die Energie ist in Form von Isokonturflächen in drei Farben dargestellt. Dabei entspricht rot einem maximalen Energieunterschied relativ zur günstigsten Struktur von 2 kcal/mol, grün 4 kcal/mol und blau 8 kcal/mol. Die äußeren beiden Flächen sind durchscheinend dargestellt, damit man die inneren besser erkennen kann. Wie in der Frontansicht 5.15 gut zu sehen ist, wird ein der zweidimensionalen Untersuchung sehr ähnliches Bild erhalten. Wiederum ist im gleichen Ausschnitt der XY-Fläche das globale Minimum zu finden. Auch die anderen lokalen Minima werden bei der 3D Untersuchung wiedergefunden. Somit ist das Vorgehen, zuerst nur zwei der drei Torsionswinkel zu betrachten, gerechtfertigt. Für die dritte drehbare Bindung zwischen C9 und dem Seitenketten-Sauerstoff wird das Minimum bei 300° berechnet.

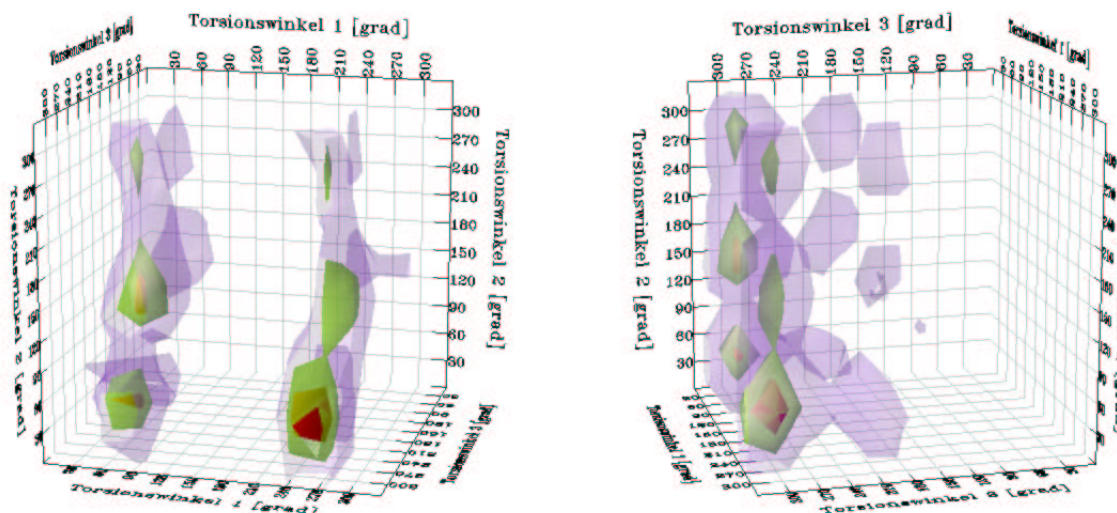


Abbildung 5.15: Abhängigkeit der Energie von der Stellung der drei Einfachbindungen an C9; rot: 0-2 kcal/mol; grün: 2-4 kcal/mol; blau: 4-8 kcal/mol; links: Frontansicht, rechts: Seitenansicht

**Semiempirische Untersuchung eines Teils des Konformationsraums** Nachdem zuvor das Chinin in seiner Flexibilität eingehend untersucht worden war, musste für die folgenden Rechnungen das Gesamtmolekül aus den bisher ermittelten Minima zusammengesetzt werden. So wurden von den sechs Konformeren des Chinins, die in Abschnitt 5.1.3 mit den DFT-Ansätzen behandelt wurden, die fünf ausgewählt, die weniger als 3 kcal/mol vom globalen Minimum entfernt sind. Es trat nun die Frage auf, in welcher Stellung sich diese Carbamoylgruppe an C9 befindet. Es musste also für jedes Chininkonformer untersucht werden, welcher Torsionswinkel zu einer günstigen Gesamtenergie führt. Es wurde hierzu schrittweise eine Drehung in  $5^\circ$  Inkrementen durchgeführt und die entstehenden Geometrien partiell minimiert. In Abbildung 5.16 sind die Energiewerte in Abhängigkeit von den drei Winkeln eingetragen. Die Größe der Sphären und die Farbe sind linear mit der Energie relativ zum Minimum skaliert. Im Gegensatz zur Kraftfelduntersuchung wird für die Seitenketten eine Stellung bei  $330^\circ$  als besonders günstig bewertet. In dieser Stellung verläuft die Bindungsachse der Carbonylfunktion fast parallel zum Wasserstoff an C9, während im Kraftfeld die gleiche Achse deutlich in Richtung Chinolinring gedreht ist.

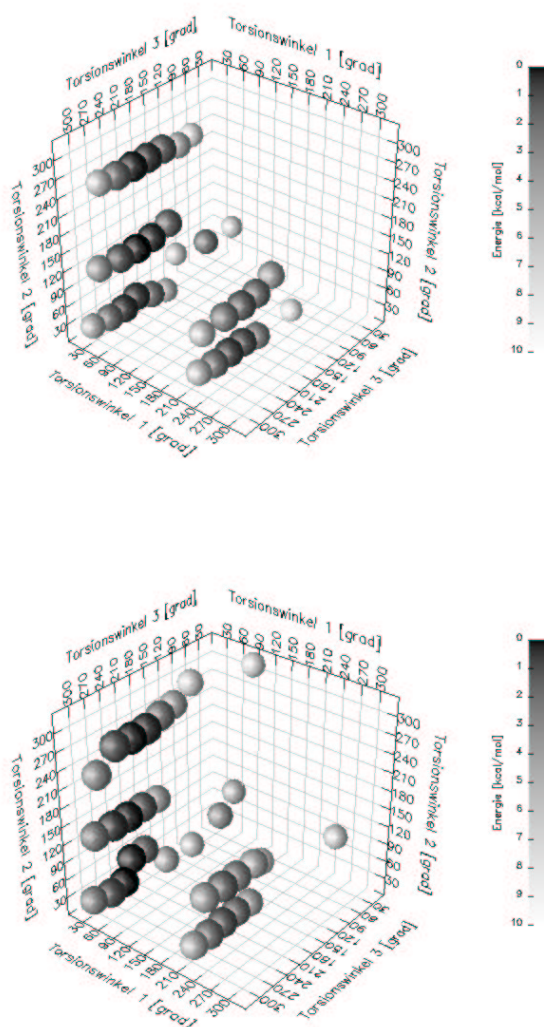


Abbildung 5.16: Konformationssubraum mit semiempirischen Energiewerten; oben: AM1, unten: PM3

**DFT-Untersuchung ausgewählter Konformere** Nachdem gezeigt war, welche fünf Stellungen der beiden Einfachbindungen des Chinins energetisch erlaubt sind und sich diese auch als dominierend für das tert.-butyl-Derivat herausgestellt hatten, wurden Konformere konstruiert, die die Seitenkette in einem Winkel von  $330^\circ$  trugen. Diese Strukturen wurden dann frei minimiert. In der Abbildung 5.17 ist die Lage der geometrieoptimierten Moleküle abzulesen. Bei Verwendung der GGA-Methode ergab sich die niedrigste Energie für ein Konformer, bei



dem der Chinuclidin-Stickstoff in Richtung des Chinolin-Stickstoffs ausgerichtet ist. Im Gegensatz dazu ist das globale Minimum, bei Verwendung des B3LYP-Funktional an einer anderen Stelle zu finden. Diese Struktur wird durch eine intramolekulare Wasserstoffbrücke stabilisiert, die zwischen dem Ammonium-Stickstoff und dem Carbonyl-Sauerstoff der Carbaminsäure ausgebildet wird. Bei der freien Minimierung fielen einige der Ausgangsstrukturen in das gleiche Energieoptimum, deswegen sind in Abbildung 5.17 nicht, wie zu erwarten, fünf Punkte zu finden.

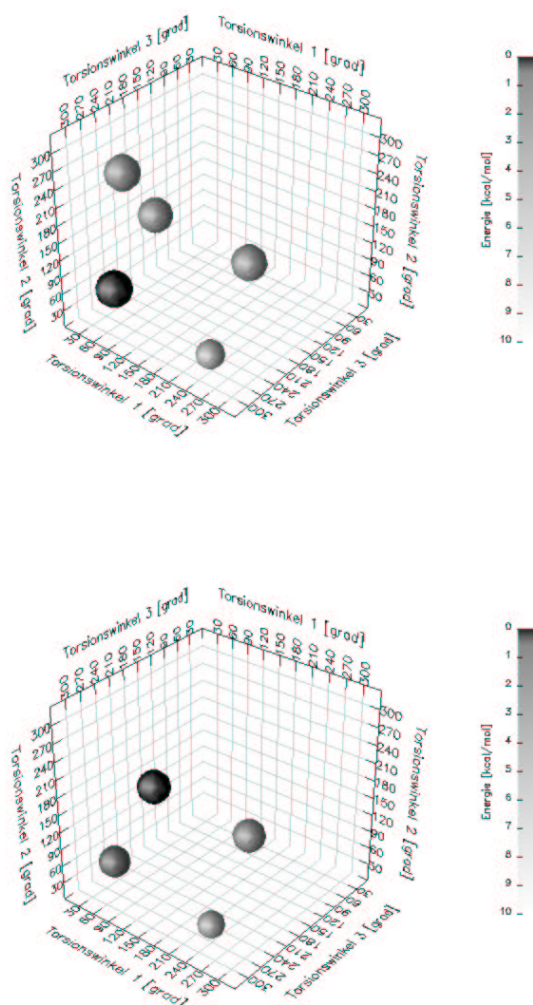


Abbildung 5.17: DFT-Energiewerte der ausgewählten Konformere ; oben: GGA, unten: B3LYP

## 5.2 Konformationsanalyse der Selektanden

### 5.2.1 *S*-N-Acetylalanin

Die drei Selektanden sind aus ähnlichen Fragmenten aufgebaut. Sie bestehen aus dem selben  $\alpha$ -Aminosäuregrundkörper, haben aber unterschiedliche Seitenketten und unterscheiden sich im Substituenten am Stickstoff. Um also grundsätzliche strukturelle Aussage treffen zu können, wurde zunächst eine Untersuchung am *S*-N-Acetylalanin (Abb.5.18) durchgeführt.

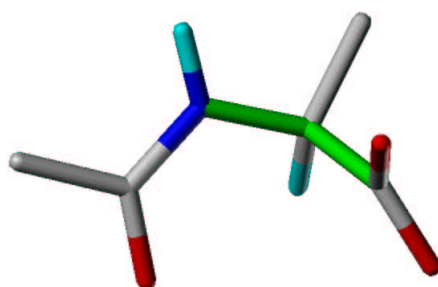


Abbildung 5.18: *S*-N-Acetylalanin, die frei drehbaren Torsionswinkel sind grün eingefärbt

Der Konformationsraum wird durch die beiden Einfachbindungen an  $C\alpha$  bestimmt. Für diese beiden Torsionswinkel wurde eine systematische Analyse mit einer Schrittweite von  $30^\circ$  durchgeführt. Die Untersuchung der Bindung zwischen  $C\alpha$  und Carboxylat-Kohlenstoff konnte dabei auf Werte zwischen  $0^\circ$  und  $180^\circ$  beschränkt werden, da sie symmetrisch ist. In Abbildung 5.19 ist auf der horizontalen Achse der Torsionswinkel zwischen dem Stickstoff und  $C\alpha$  aufgetragen. Auf der vertikalen Achse ist der Winkel zwischen  $C\alpha$  und Carboxylat-Kohlenstoff eingezeichnet. Sowohl die Farbe der Punkte als auch die Größe sind linear mit der Kraftfeldenergie skaliert.

Die Region mit der geringsten Energie auf der Potentialhyperfläche liegt in der rechten Hälfte des Konformationsraums bei einem Winkel von  $300^\circ$ . Der zweite Winkel, also die Drehung der Carboxylatgruppe, ist wenig eingeschränkt, auch wenn sich eine bevorzugte Region zwischen  $0^\circ$  und  $-90^\circ$  befindet. Im Vergleich zur Energiefläche des Chinins (Abb.5.10) ist das Potentialgebirge sehr viel flacher, und der Aminosäure stehen innerhalb des selben Tales mehrere leicht variierende

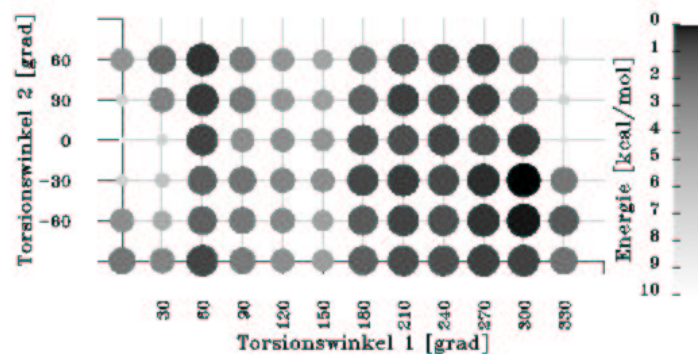


Abbildung 5.19: Potentialhyperfläche des *S*-N-Acetylalanins, berechnet mit dem Tripos Kraftfeld

Geometrien offen. In Abbildung 5.20 sind alle Strukturen überlagert, die bis zu einem kcal/mol über dem Minimum bei 300°/80° liegen.

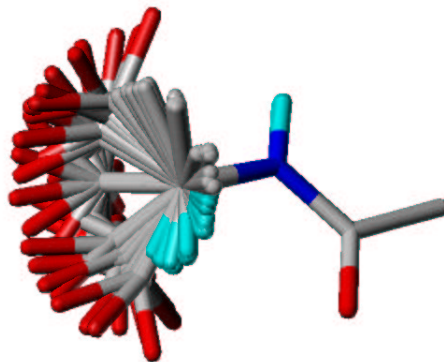


Abbildung 5.20: Strukturen des *S*-N-Acetylalanins, die im selben Energietal liegen (bis zu 1 kcal/mol über dem globalen Minimum laut Kraftfeld)

Die Betrachtung der selben Aufgabenstellung mit AM1 und PM3 (Abb.5.21) ergab ein ähnliches Profil. Das globale Minimum bei der AM1-Rechnung liegt nun für Torsionswinkel 1 bei 270°, was einen Unterschied von 30° zur zuvor beschriebenen Kraftfeldrechnung ausmacht. Das Energieprofil zeigt schärfere Unterschiede zwischen der günstigsten Struktur und den anderen im Konformationsraum benachbarten. Das würde bedeuten, dass den Selektanden eine geringere Flexibilität zufällt, als es das Kraftfeld vorhersagt. Als weiterer Unterschied ist festzustellen, dass Konformationen mit einem Stickstoff - C $\alpha$ -Winkel unter 150° mit so hohen

Energiewerten berechnet werden, dass sie bei Normaltemperatur nicht vorkommen dürften.

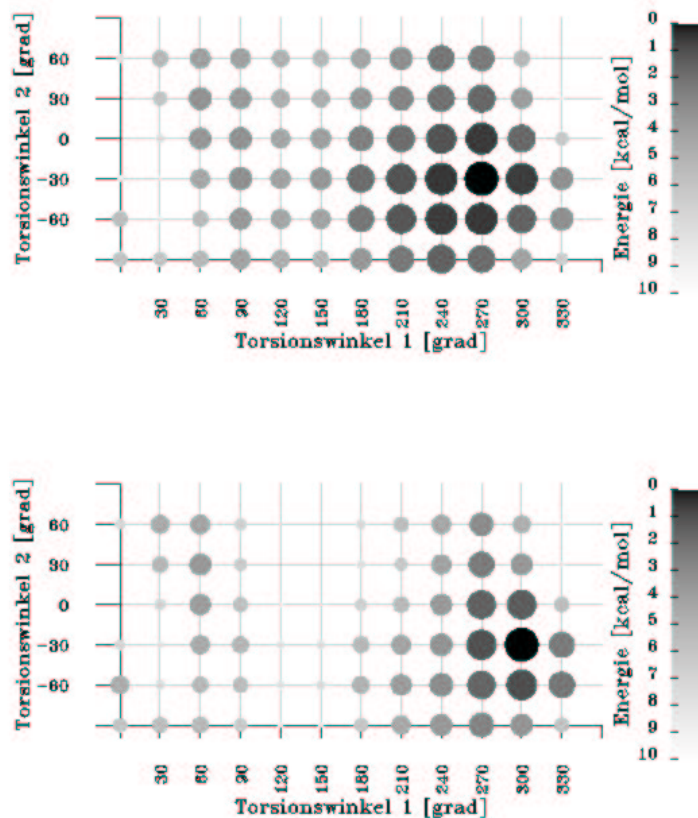


Abbildung 5.21: Potentialhyperfläche des *S*-N-Acetylalanins berechnet mit Am-  
sol; oben: AM1, unten: PM3

Die geringe Anzahl der Atome ermöglichte es im vorliegenden Fall, die gesamte Fläche auch mit DFT-Methoden zu berechnen (Abb.5.22). Das globale Minimum ist, wie auch bei den Hartree-Fock Methoden, eng abgegrenzt, liegt im Vergleich aber leicht verschoben. In diesem Zusammenhang muss darauf hingewiesen werden, dass bei einer engmaschigeren Untersuchung des Konformationsraums die Unterschiede unter Umständen weniger scharf erschienen wären. Die verschiedenen globalen Minimumsgeometrien unterscheiden sich oft nur um  $30^\circ$ , was einem einzigen Inkrement entspricht. Womöglich liegt für mehrere Methoden das frei optimierte Minimum auch zwischen den berechneten Gitterpunkten.

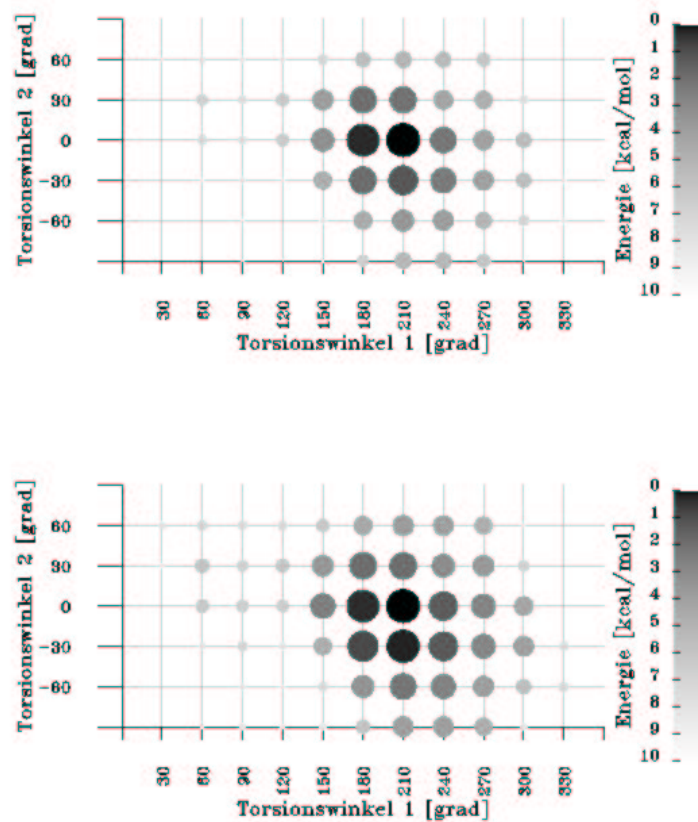


Abbildung 5.22: Potentialhyperfläche des *S*-N-Acetylalanins berechnet mit Jaguar; oben: GGA, unten: B3LYP

Weitere Informationen über den Konformationsraum wurden durch eine Analyse der CSD erhalten (Abb. 5.23<sup>1</sup>). Die Torsionswinkel der verschiedenen Moleküle, die das Suchtemplat enthalten, sind in besonders guter Übereinstimmung mit den Kraftfeldrechnungen. Es wurden nämlich auch Strukturen unterhalb von 90° auf der X-Achse gefunden, an einer Stelle, die nur im Kraftfeld ein lokales Minimum darstellt. Außerdem war die Verteilung in einem relativ großen Bereich um das globale Minimum herum nur nach der Tripos Rechnung zu erwarten. Es muss also angemerkt werden, dass sowohl PM3 als auch GGA und B3LYP den Konformationsraum, der dem *S*-N-Acetylalanin zur Verfügung steht, als zu eng einschätzen. Dies lässt sich aber nachvollziehen, wenn man beachtet, dass das Molekül bei diesen Rechnungen eine negative Ladung trug. Wird diese Ladung aber durch ein

<sup>1</sup>Nur *S*-Enantiomere wurden in die Untersuchung mit eingeschlossen

positives Gegenion abgeschwächt, oder liegt das Molekül in der Säureform vor, so wird sich die Gestalt des Raums auch in der theoretischen Betrachtung dem Experiment annähern. Diese Hypothese wird auch durch die Tatsache unterstützt, dass die Kraftfeldrechnung keine Ladung berücksichtigte und den Konformationsraum so gut beschrieb. Es scheint also durchaus vernünftig, anzunehmen, dass die Flexibilität über einen weiteren Bereich auch von den semiempirischen bzw. DFT-Methoden besser wiedergegeben werden kann, wenn wie im Komplex ein Gegenion vorhanden ist. Betrachtet man nun noch gesondert die vier Strukturen, die unterhalb von  $90^\circ$  liegen, so fällt auf, dass alle einen sterisch aufwendigen und lipophilen Rest an dem Seitenketten Kohlenstoff tragen. Somit kann weiterhin angenommen werden, dass hier lipophile Wechselwirkungen zwischen den Molekülen im Kristallgitter eine abweichende Ausrichtung begünstigt haben.

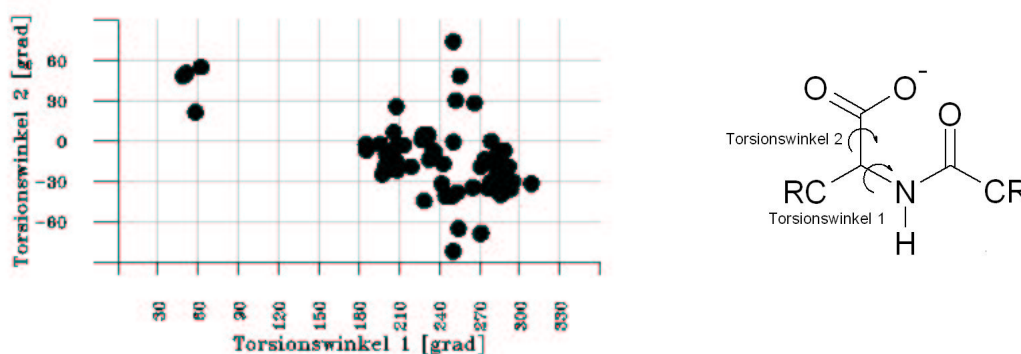


Abbildung 5.23: CSD Analyse für *S*-N-Acylalanin; links: Lage der gefundenen Strukturen in der Konformationsfläche, rechts: Suchtemplat

### 5.2.2 *S*-N-Acetylvalin

Basierend auf den Ergebnissen der Untersuchung des Konformationsraums des *S*-N-Acetylalanins konnte im Anschluss das *S*-N-Acetylvalin (Abb.5.18) untersucht werden. Das zusätzliche Isopropylfragment, das die Methylgruppe des Alanins ersetzt, bewirkt, dass bei Drehung um die neue C-C Bindung unterschiedliche Konformere entstehen können, da diese Bindung keine  $C_3$ -Symmetrieachse ist, wie bei der Methylgruppe. Als Grundstruktur wurde ein Vertreter aus dem Cluster gewählt, der bei allen Methoden als besonders günstig eingeschätzt worden

war und dem Großteil der in der CSD Suche gefundenen Strukturen entsprach. Da außerdem dieser Teil der Struktur von der jeweils verwendeten Methode frei minimiert werden durfte, sollte durch diese Entscheidung keine Verzerrung des Konformationsraums entstehen.

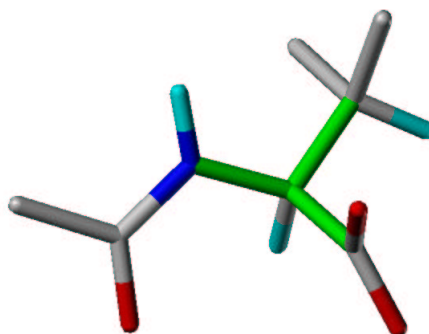


Abbildung 5.24: *S*-N-Acetylvalin

Der Verlauf der Energie bei Drehung um die  $C\alpha$ - $C\beta$  Bindung ist in Abbildung 5.25 dargestellt. Dabei ist der Winkel zwischen dem Wasserstoff an  $C\beta$ ,  $C\beta$ ,  $C\alpha$  und dem Stickstoff angegeben. Bei dieser Untersuchung ergaben sich im Kraftfeld Probleme bei der Geometrieoptimierung. Die gefundene Abhängigkeit der Energie vom Torsionswinkel weist mehrere kleine Sprünge auf. Durch Anpassung der Minimierungsparameter wäre es sicher möglich, einen stetigeren Verlauf zu erhalten. Die prinzipielle Aussage, dass drei Minima bei  $60^\circ$ ,  $180^\circ$  und  $300^\circ$  gefunden werden, war aber auch so deutlich abzuleiten. Dieses Ergebnis war bei einer Drehung um die Bindung zwischen zwei  $sp^3$  hybridisierten Kohlenstoffatomen zu erwarten.

Von den drei Minima wird das bei  $180^\circ$  von allen Methoden etwa gleich günstig eingeschätzt. Während die DFT-Methoden bei einem Torsionswinkel von  $60^\circ$  Energien von 1 bis 2 kcal/mol über dem globalen Minimum finden, wurde mit den semiempirischen Ansätzen das  $300^\circ$  Rotamer als 2 bis 3 kcal/mol ungünstiger als das globale Minimum berechnet.

In der CSD wurden nur vier Koordinatensätze für das Templat 5.26 gefunden. Drei dieser Strukturen hatten einen Torsionswinkel von etwa  $60^\circ$  und einen Winkel von etwa  $180^\circ$ . Diese geringe Anzahl an übereinstimmenden experimentellen Geometrien schwächt allerdings die Aussagefähigkeit der gefundenen Diederwinkel ab. Die Komplexe wurden von dem  $180^\circ$  Konformer ausgehend aufgebaut.

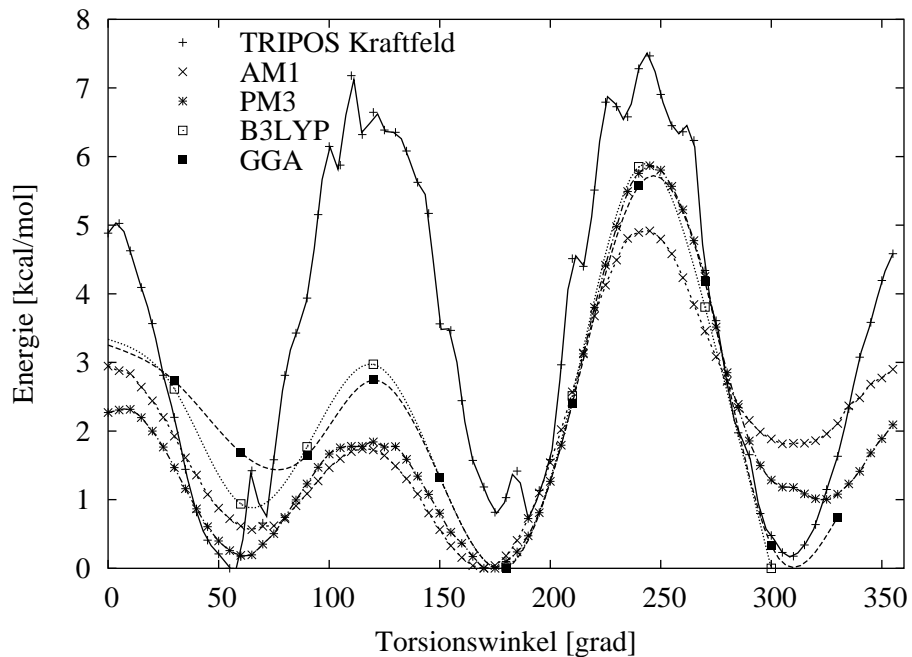


Abbildung 5.25: Abhängigkeit der Energie des N-Acetylvalins vom Torsionswinkel zwischen  $C\alpha$  und  $C\beta$

Wie sich später zeigte, beeinflusst die genaue Ausrichtung der Seitenkette das Interaktionsmuster nicht. Betrachtet man die Torsionsbarrieren einer Drehung um die untersuchte Achse, so erscheint die Aktivierungsenergie für eine Umwandlung der verschiedenen Konformere ineinander relativ hoch. Wäre aber eine Drehung nicht möglich, müsste man im Chromatogramm verschiedene Peaks für die verschiedenen Konformere erhalten, was nicht der Fall ist.

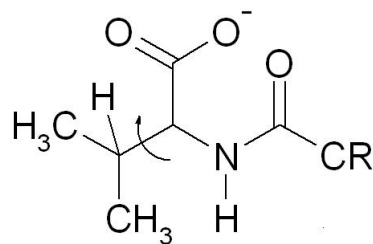


Abbildung 5.26: Templat für die CSD Analyse



### 5.2.3 *S*-N-Benzoylalanin

Um den Konformationsraum des *S*-N-Benzoylalanins ab zu suchen, musste noch der Winkel zwischen dem Aromaten und der Carbonylfunktion der Amidgruppe betrachtet werden. Die Stellung der beiden Torsionswinkel an  $C\alpha$  wurde bereits in Abschnitt 5.2.1 untersucht. Als das Fragment, das stellvertretend den Konformationsraum abdecken sollte, wurde das Benzoesäuremethyramid (Abb. 5.27) ausgewählt. Es wurde dabei angenommen, dass weitere Substituenten jenseits des Kohlenstoffs am amidischen Stickstoff nur geringen Einfluss auf das Verhalten des Benzolrings haben. Die Symmetrie dieses Moleküls lässt es zu, nur den Teilbereich zwischen  $0^\circ$  und  $90^\circ$  zu betrachten. Es kann einmal eine Spiegelebene normal zur Ringebene gezogen werden, so dass z.B. ein Winkel von  $80^\circ$  auf  $100^\circ$  abgebildet werden kann. Eine zweite Möglichkeit für eine Symmetrieoperation besteht in der Spiegelung an der Ringebene. Also wurde lediglich der Abschnitt von  $0^\circ$  bis  $90^\circ$  in fünf Grad Inkrementen untersucht. Alle Strukturen wurden unter fixiertem Torsionswinkel minimiert.

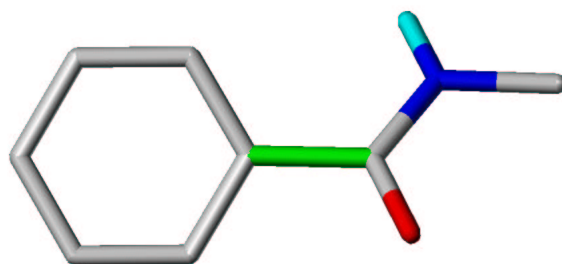


Abbildung 5.27: Benzoesäuremethyramid

Die Abbildung 5.28 zeigt das erhaltene Energieprofil für die verschiedenen Methoden. Während die Kraftfeldmethode ebenso wie die DFT-B3LYP-Methode ein Minimum zwischen  $25^\circ$  und  $30^\circ$  berechnet, liegt das Minimum bei GGA mit  $20^\circ$  etwas niedriger.

Bei den semiempirischen Methoden weicht der gesamte Verlauf der Energie stark ab. Es werden Minima bei  $40^\circ$  (AM1) und  $60^\circ$  (PM3) angegeben. Insgesamt ist der Kurvenverlauf bei der semiempirischen Untersuchung weniger stetig und eindeutig als bei den anderen Methoden. Torsionsbarrieren sind nicht zu finden. Es gelingt dem Verfahren nicht, verschiedene Stellungen energetisch zu unterscheiden.

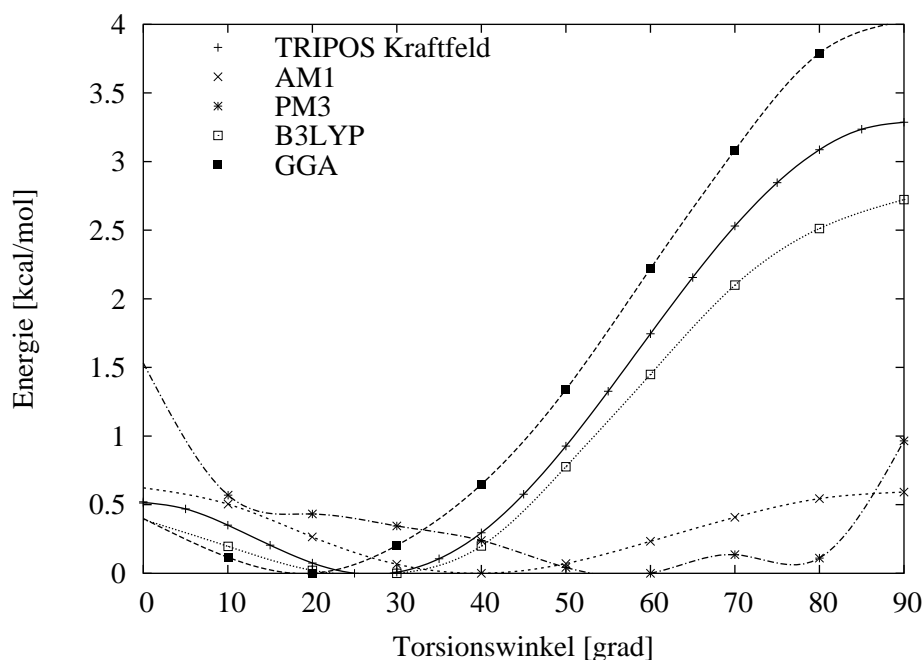


Abbildung 5.28: Abhängigkeit der Energie des Benzoessäuremethyramid vom Torsionswinkel

Betrachtet man die Torsionsbarrieren für die anderen Methoden, so fällt auf, dass die Drehung des Carbonyl-Sauerstoffs durch die Ringebene gegenüber der Drehung durch die Normale zur Ringebene bevorzugt ist. Mit absoluten Werten von ca. 0,5 kcal/mol liegt diese Barriere des Weiteren so niedrig, dass man nicht erwarten kann, die beiden Konformere getrennt beobachten zu können. Die zweite Möglichkeit eines Konformerübergangs wird energetisch unterschiedlich beurteilt. Während die DFT-Methoden Werte von 2,7 kcal/mol (B3LYP) und 4 kcal/mol (GGA) angeben liegt die Kraftfeld Energie mit einem Betrag von 3,3 kcal/mol dazwischen.

Die Ergebnisse zur Stellung der Carbonylgruppe lassen sich wiederum sehr gut durch experimentelle Kristallstrukturen bestätigen. Als Suchstruktur wurde das Benzoessäuremethyramid mit der Erweiterung verwendet, dass alle Substituenten am Methyl-Kohlenstoff erlaubt waren. In dem Histogramm 5.29 ist das Ergebnis aufgetragen. Es wurden 158 Strukturen gefunden, die dem Suchtemplat entsprechen. Wie zu erwarten war, sind die Maxima in der Verteilung unter 50° bzw. über 130° zu finden. Die Verteilung der Strukturen über einen Bereich von ca. 40° - 50° korrespondiert dabei in idealer Weise mit dem flachen Energietal der

Rechnungen.

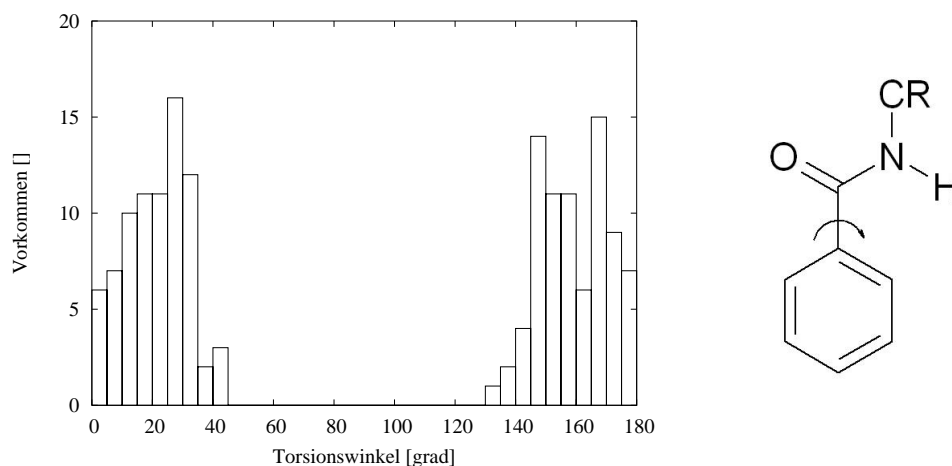


Abbildung 5.29: CSD Suche für Benzoesäuremethamid; links: Verteilung der Winkel, rechts: Suchtemplat

Das Benzoylalanin enthält als chirale Struktur natürlich keine Symmetrieebene normal zum Benzolring. Für die folgenden Untersuchungen mussten deshalb also immer zwei Stellungen sowohl bei 25° als auch bei 155° berücksichtigt werden.

#### 5.2.4 *S*-N-3,5-Dinitrobenzoylalanin

Nun sollte ermittelt werden, welche Einflüsse die zwei Nitrogruppen in den Positionen drei und fünf der Ringes auf den Energieverlauf haben. Hier ergibt sich ein ähnliches Bild wie für das nicht-substituierte Derivat (Abb.5.30). Sowohl die Höhe der Torsionsbarrieren als auch die Lage der Minima entsprechen denen des Benzoylamids.

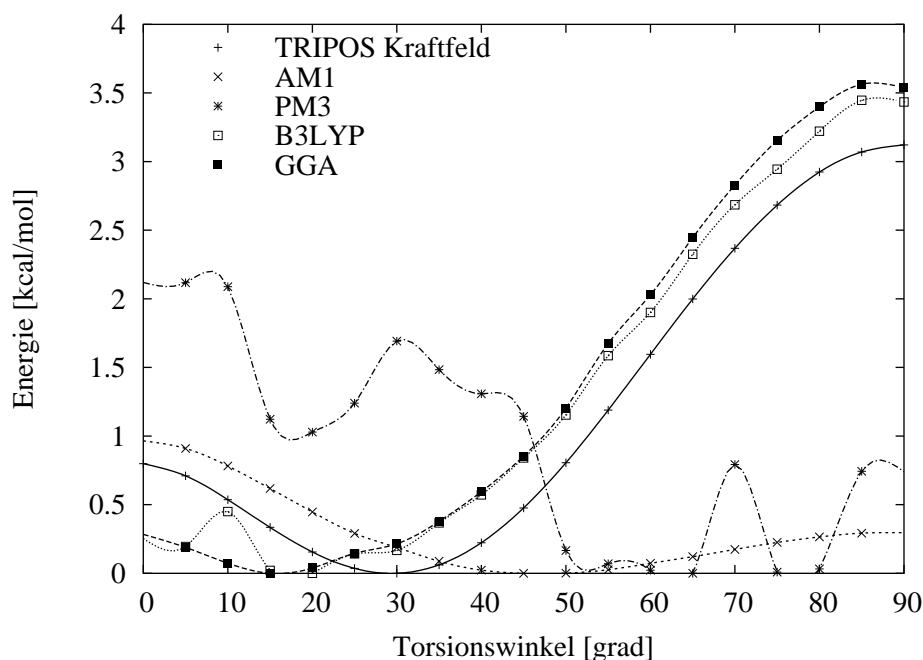


Abbildung 5.30: Abhängigkeit der Energie des N-3,5-Dinitrobenzoesäuremethyramid vom Torsionswinkel

Der PM3 Parametersatz scheint für die Betrachtung der Dinitroverbindung noch weniger geeignet zu sein. Der Verlauf der Energie zeigt Sprünge und findet das globale Minimum bei Werten, die sowohl vom Experiment als auch von den übrigen Ergebnissen stark abweichen.

Die Ergebnisse der Kraftfeldrechnungen entsprechen denen aus der Untersuchung des Benzoylamids. Eine Tatsache, die nicht weiter verwundert, denn die elektronischen Effekte, die durch die beiden Nitrogruppen verursacht werden, werden bei dieser Methode überhaupt nicht berücksichtigt.

Die beiden DFT-Methoden liefern fast deckungsgleiche Profile. Im Detail unterscheiden sie sich jedoch von den Benzoylrechnungen. So ist die Rotationsbarriere für eine Drehung durch die Ebene des nitrierten Rings mit 1 kcal/mol etwa doppelt so hoch wie bei dem elektronenreicheren Aromaten. Die Drehung durch die Ringnormale wird hier von beiden Verfahren gleich beurteilt. Diese Änderungen haben aber insgesamt keinerlei Auswirkung auf die Komplexgeometrie.

## 5.3 Interaktionsanalyse

### 5.3.1 Salzbrücke

#### 5.3.1.1 Vorgehen bei der Untersuchung der Salzbrücke

**Aufbau eines repräsentativen Komplex-Ensembles** Nachdem die konformationale Flexibilität des Selektors und der verschiedenen Selektanden in den obigen Abschnitten genau untersucht worden waren, sollte die Geometrie der jeweiligen Komplexe untersucht werden. Die Komplexe werden primär durch das Ausbilden der Salzbrücke zwischen dem anionischen Carboxylat und dem Ammonium-Kation stabilisiert. Diese Salzbrücke besteht sowohl aus einer ionischen Komponente als auch aus einer Wasserstoffbrücke. Die Ausbildung dieser Interaktion ergibt zum einen den größten Energiegewinn, und zum anderen haben Coulombkräfte die größte Reichweite. Deshalb musste untersucht werden, inwieweit die verschiedenen theoretischen Methoden ihre Geometrie korrekt wiedergeben können. Darüber hinaus interessierte es natürlich auch, in welcher Größenordnung der Energieverlust bei einer Auslenkung aus dem Minimum liegt. Für diese Untersuchung sollten zunächst vereinfachte Strukturen herangezogen werden. Die Komplexe dieser Moleküle sollten nicht diastereomer sein, damit die Ergebnisse nicht von der Konfiguration der Teilnehmer abhängig sind. Als Anion wurde das N-Acetylglycinat gewählt. Dieses Molekül kann als das kleinste gemeinsame Grundelement aller *R*- und *S*-konfigurierten Selektanden angesehen werden. Als kationischer Part wurde die Chinuclidin-Teilstruktur des Selektors ausgewählt. Das grundsätzliche Vorgehen wurde analog zu den Konformationsanalysen gewählt. Zunächst musste eine Ausgangslage konstruiert werden. Dazu wurde die Carboxylatgruppe des N-Acetylglycins in die XZ-Ebene gelegt, mit dem Kohlenstoff im Ursprung. Ebenso wurde die Stickstoff-Wasserstoff-Bindung am Chinuclidin entlang der X-Achse ausgerichtet. Der gesamte Chinuclidinring wurde im nächsten Schritt so positioniert, dass der Abstand zur Säurefunktion 2 Å betrug. Aus dieser Ausgangsposition heraus wurde die Stellung der beiden Moleküle zueinander systematisch variiert. Der Chinuclidinring wurde so um die Y-Achse rotiert, dass dreizehn verschiedene Positionen im einem Bereich von  $-60^\circ$  bis  $+60^\circ$  entstanden. Für jede dieser dreizehn verschiedenen Strukturen wurde dann der Chinuclidinring in mehreren Schritten um die Z-Achse gedreht. So wur-

den insgesamt  $13^2 = 169$  Ausgangskomplexe gebildet. In Abbildung 5.31 sind alle so generierten Komplexe dargestellt.

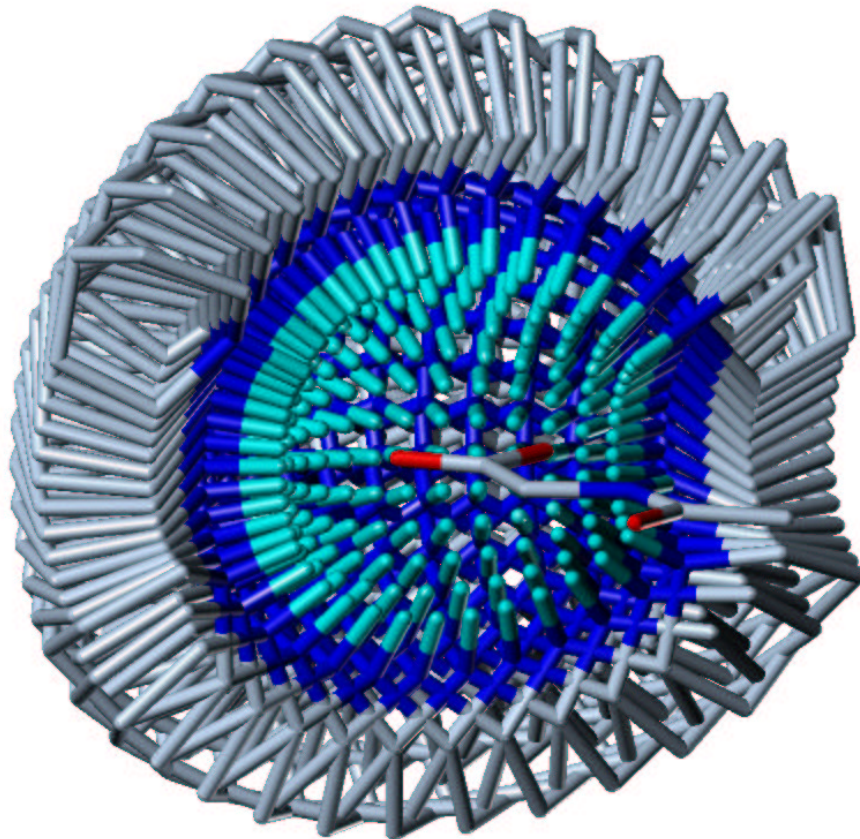


Abbildung 5.31: N-Acetylglycin mit dem Ensemble der Chinuclidin-Ausgangsstrukturen

**Geometrieoptimierung der Komplexe** Wie schon bei der Analyse des Konformationsraums wurde keine Minimierung in allen Freiheitsgraden durchgeführt. Es interessierte ja das Verhalten der Methoden im gesamten Interaktionsraum. Von den Parametern, die die relative Stellung der beiden Komplexpartner beschreiben, sollte lediglich der Abstand optimiert werden. Es mussten also zwei Winkel fixiert werden. Der eine davon beschreibt die Auslenkung zur XZ-Ebene, der andere die Auslenkung zur XY-Ebene. Da eine Rigidisierung nur über Atome definiert werden kann, wurde zum einen der Torsionswinkel fixiert, der über die beiden Sauerstoffatome der Carboxylatgruppe, den Wasserstoff am Ammonium-

Stickstoff und einem der Substituenten am Stickstoff definiert ist. Die zweite Einschränkung der Freiheitsgrade erfolgte über den Winkel zwischen den Carboxylat-Sauerstoffatomen und dem Wasserstoff am kationischen Stickstoff. Die Fixierung für die QM- und DFT-Methoden wurde einfach über eine Manipulation der Z-Matrix realisiert. Im Kraftfeld wurde erneut mit Strafpotentialen gearbeitet.

Es müssen hier einige kritische Anmerkungen gemacht werden, was die Korrektheit der Rechnung angeht. Es müsste sich nämlich so verhalten, dass die beiden Subräume oberhalb und unterhalb der XZ-Ebene genau die gleichen Energiewerte beinhalten. Das Anion, N-Acetylglycin ist ja keine chirale Struktur, sondern symmetrisch zur eben beschriebenen Ebene. Diese Symmetrie der Energiesubräume ist zwar im Großen und Ganzen zu erkennen, wird aber nicht sehr streng befolgt. Erklären lässt sich diese Beobachtung, wenn man berücksichtigt, dass die räumliche Fixierung über eigentlich nicht miteinander verbundenen Atome definiert ist. Dies erschwert eine akkurate Optimierung. So kann die Symmetrie des berechneten Interaktionsraums als Qualitätskriterium für den Minimierungsalgorithmus dienen.

### 5.3.1.2 Ergebnisse

**Triplos Kraftfeld** In einem ersten Schritt wurde mit dem Triplos Kraftfeld minimiert. Im Gegensatz zu dem bisher angewandten Vorgehen keinen elektrostatischen Term in der Berechnung der Kraftfeldenergie zu verwenden, musste nun natürlich mit einem solchen gearbeitet werden. Als Methode für die Ladungsbeziehung wurde das Gasteiger-Hückel Verfahren [114] gewählt.

Da die Energiegradienten gegenüber der Analyse verschiedener Konformere geringer ausfallen, wurden Änderungen an der Optimierungsprozedur vorgenommen. Erstens wurde das Abbruchkriterium von  $0,05 \text{ kcal/mol\AA}$  auf  $0,02 \text{ kcal/mol\AA}$  reduziert. Außerdem hatte sich während der Berechnung gezeigt, dass die Verwendung des BFGS-Algorithmus in diesem speziellen Fall Vorteile gegenüber dem conjugate gradient Algorithmus [115] hat.

In Abbildung 5.32 sind die jeweiligen Energiewerte aus der Kraftfeldrechnung als Kugeln dargestellt. Sie sind in Farbe und Größe linear mit der Gesamtenergie skaliert. Die Stellung der Kugeln im Koordinatensystem ergibt sich aus der

Position des Protons am Ammonium-Stickstoff des Chinuclidinrings. Diese Positionen wurden nach einer Überlagerung aller Komplexe auf das N-Acetylglycin in der Ausgangsposition erhalten. Somit ergeben sich aus der dargestellten Graphik die relative Position und die relative Energie der Komplexe. Die Energiewerte wurden so umgerechnet, dass die günstigste Struktur den Wert Null erhielt. Dadurch kann man die Geometrie der Potentialtäler für die verschiedenen Methoden gut direkt vergleichen. Es können jedoch nicht die absoluten Bindungsenergien miteinander verglichen werden. Es werden zwei voneinander getrennte Energietäler gefunden. Bei einer Ausrichtung der Ammonium-Wasserstoff-Bindungsachse genau zwischen den beiden Sauerstoffen der Säure wird eine im Vergleich ungünstige Energie erhalten. Betrachtet man den Energieverlauf genau, so erkennt man, dass beide Täler nicht den exakt gleichen Energieinhalt aufweisen. Hier muss aber beachtet werden, dass es sich auch hier um Artefakte der Optimierungsroutine handeln könnte. Somit ist nicht anzunehmen, dass bei einer Optimierung aller Freiheitsgrade die Methode wirkliche energetische Unterschiede zwischen den beiden Komplexen mit der niedrigsten Energie finden würde.

**Semiempirische Rechnungen** Einige zusätzliche Schwierigkeiten traten bei der Minimierung mit der PM3-Methode in Amsol auf. Bei mehreren Clustern wurden Minima gefunden, die einen allzu großen Abstand zwischen den ladungstragenden Gruppen zeigten: zwischen 6 und 8 Å. Hier musste so verfahren werden, dass ausgehend von den AM1-Endgeometrien minimiert wurde. Als weitere Einschränkung wurde der Abstand zwischen Carboxylat-Kohlenstoff und Wasserstoff bei den abweichenden Geometrien zusätzlich fixiert. Diese Beschränkungen waren jedoch nicht in den Gebieten der globalen Minima nötig, sondern eher in den Bereichen ober- und unterhalb der XZ-Ebene. Hier traten die unrealistischen Strukturen unregelmäßig und selten auf. Insgesamt waren Korrekturen bei 12 der 169 Cluster nötig. Sie wurden lediglich vorgenommen, um das Bild zu vervollständigen und fügten sich in ihren Energiewerten nahtlos in die anderen Rechnungen mit ein. (Abb. 5.33) Erstaunlicherweise widersprechen die AM1-Ergebnisse den anderen Methoden in der Lage des globalen Minimum. Es wird hier nämlich eine Struktur als die günstigste angegeben, bei der die Ammonium-Wasserstoff-Bindung genau zwischen den Sauerstoffen liegt. Diese Abweichung wird aber weder vom Kraftfeld noch von dem PM3-Parametersatz, oder den DFT-Methoden



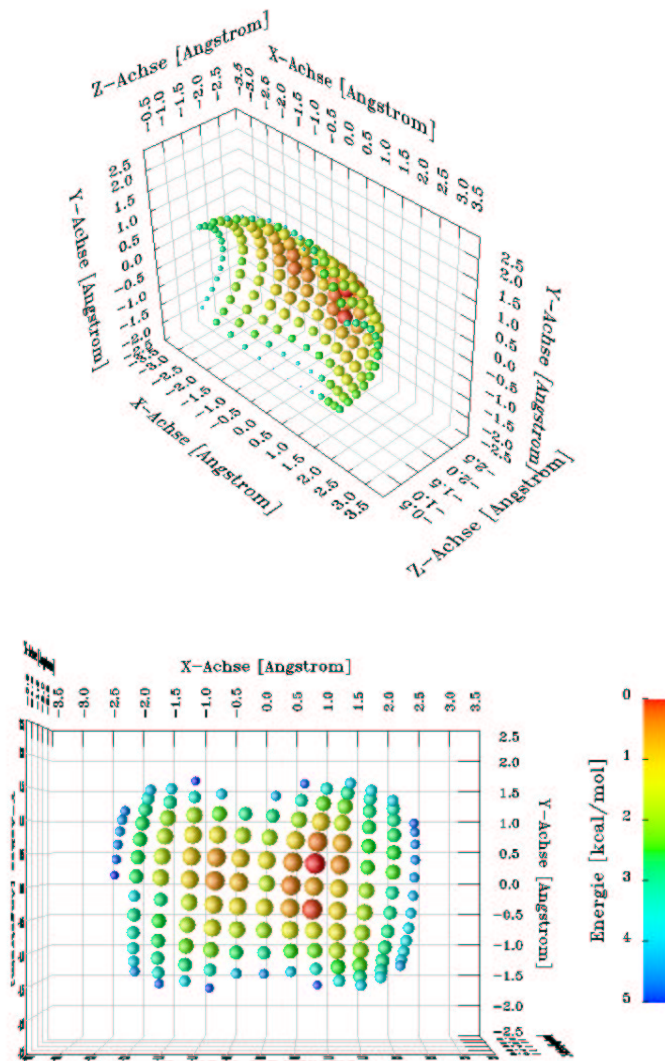


Abbildung 5.32: Energie der Salzbrücke berechnet mit dem Tripos Kraftfeld; oben: diagonale Ansicht, unten: frontale Ansicht

bestätigt. Daher wurde die AM1-Methode im Verlauf der weiteren Analyse der Komplexe nicht mehr verwendet. Interessant ist auch eine Betrachtung des Verlaufs der Interaktionsenergie bei Auslenkung aus der Ideallage. Bei der PM3-Rechnung zeigt sich, dass eine Auslenkung aus der Ebene, die die drei Atomen der Carboxylatgruppe beschreiben, die Interaktionsenergie deutlich weniger stark abfällt, als bei einer Auslenkung im rechten Winkel dazu.

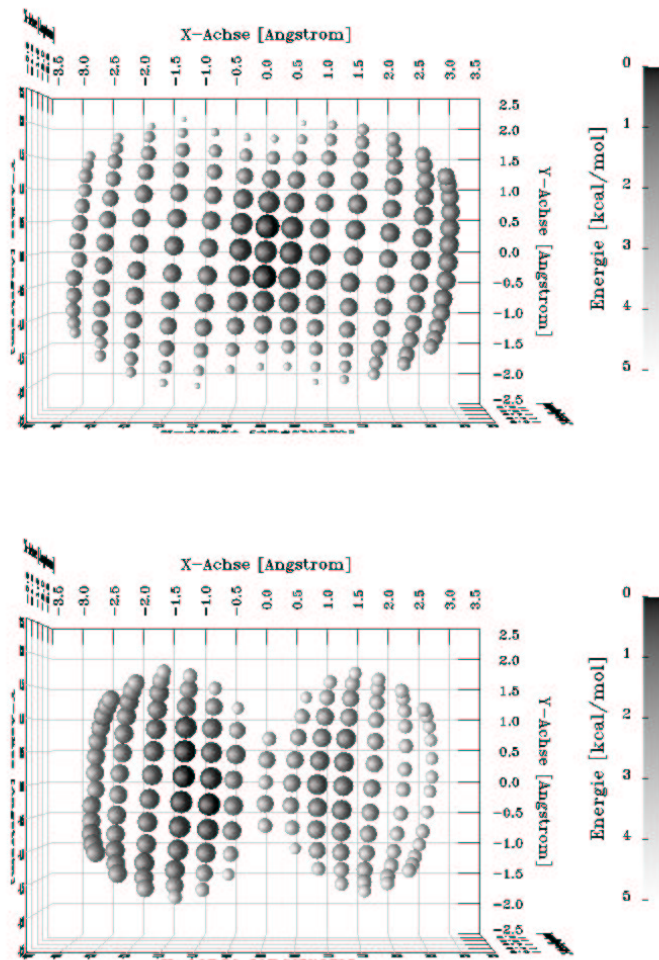


Abbildung 5.33: Energie der Salzbrücke berechnet mit Amsol; oben: AM1, unten: PM3. (Skalierung der Z-Achse siehe Abb. 5.32 oben)

**Dichtefunktionaltheorie** Für die Minimierung mit den DFT-Methoden wurden fünf Strukturen ausgewählt. Bei der ersten liegt der Ammonium-Wasserstoff in der Mitte zwischen den Sauerstoffatomen. Die anderen vier liegen ebenfalls in der XZ-Ebene in einem Abstand von  $10^\circ$  und  $20^\circ$  zu beiden Seiten. Der Cluster mit dem mittigen Stickstoff konnte mit keiner Methode erfolgreich minimiert werden, und es kann somit kein Energiewert angegeben werden. Die anderen vier kamen wie erwartet in den zwei Tälern zu liegen. Inwieweit die semiempirischen PM3-Rechnungen die Ausbreitung des Energietals richtig beschreibt, konnte durch die beschränkte Auswahl an Strukturen nicht überprüft werden. Es konnte jedoch festgestellt werden, dass, wie schon vermutet, die beiden Sauerstoffatome zu Salzbrücken der gleichen Energie beitragen können.

**CSD-Kristalldaten** Komplettiert wurden die Rechnungen durch eine Analyse von Kristallstrukturen (Abb.5.35). Angemerkt sei vorweg, dass zwischenmolekulare Kräfte im Vergleich zu kovalenten Bindungen um einiges schwächer sind. Aus diesem Grund können Packungskräfte Geometrien erzwingen, die im gelösten Zustand keine Rolle spielen. Es muss also im Zweifelsfall sehr genau erwogen werden, wie die Aussagekraft von Kristallstrukturen bei der Untersuchung von Komplexen eingeschätzt werden muss. Bei einem Teil der gefundenen Koordinatensätze, war die gesuchte Salzbrücke nicht ausgebildet. Dies kann daran liegen, dass sich die beiden Partner nicht in der selben Einheitszelle des abgelegten Koordinatensatzes befindet oder dass andere Gegenionen zugegen waren. Es wurde in der vorliegenden Untersuchung jedoch darauf verzichtet, die Kristalle aus den mitgelieferten Daten zu konstruieren. Es konnte ohnehin ein aussagekräftiger Datensatz gewonnen werden. Die Strukturen mussten dann so überlagert werden, dass ein den Rechnungen vergleichbares Diagramm erhalten werden konnte. Auf den ersten Blick ist zu erkennen, wie akkurat sowohl das Kraftfeld als auch PM3- und die DFT-Ansätze den Interaktionsraum wiedergegeben hatten. Es wird nicht ein einziger Datensatz mit mittigem Ammonium-Wasserstoff gefunden. Außerdem weist die Verteilung der Strukturen deutlich nach, dass die Fläche des theoretischen erhaltenen Tals sehr gut die realen Verhältnisse wiedergeben kann.

**Zusammenfassung** Die günstigste Interaktionsgeometrie ergibt sich also nicht etwa, wenn die Ammoniumgruppe in der Mitte zwischen den Sauerstoffen des

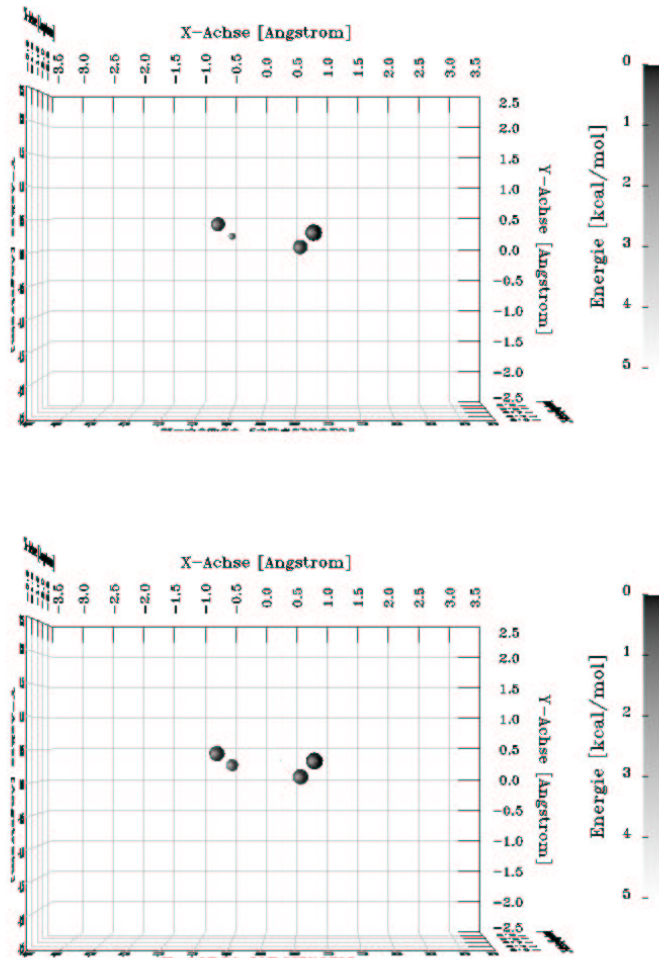


Abbildung 5.34: Ausgewählte Komplexe mit DFT-Energie Werten; oben: GGA, unten: B3LYP (Skalierung der Z-Achse siehe Abb. 5.32 oben)

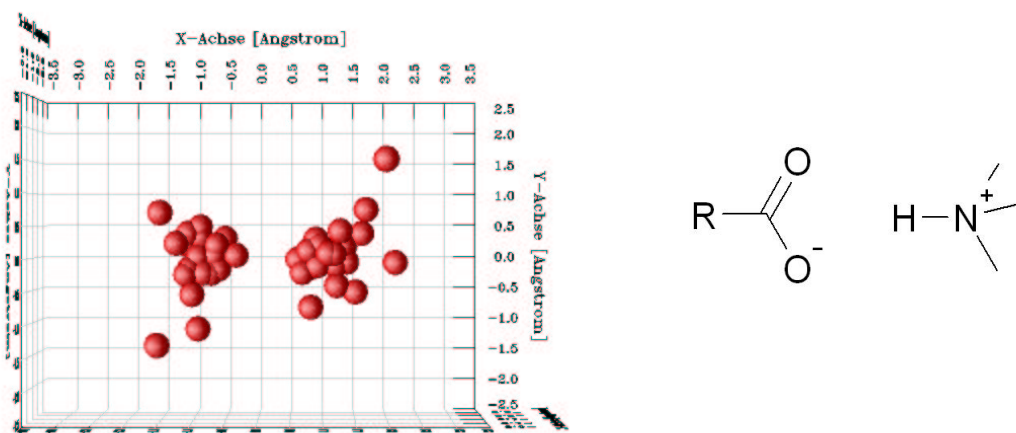


Abbildung 5.35: CSD-Analyse von Strukturen, die eine Salzbrücken enthalten; links: Lage der Strukturen im Raum, rechts: Suchtemplat

Säureanions zu liegen kommt, sondern dann, wenn sie eine Wasserstoffbrücke mit jeweils einem der Sauerstoffe eingeht. Dieses Ergebnis wird auch durch die Kristalldaten bestätigt. Hier wird nicht eine einzige Struktur gefunden, bei der eine mittige Anordnung auftritt. Allein die AM1-Methode kann hier die Verhältnisse nicht richtig wiedergeben. Die Tatsache, dass im Kraftfeld das eine Sauerstoffatom und bei der PM3-Methode das andere bevorzugt wird, ist wohl eher ein Artefakt der Geometrieoptimierung, als auf echte Unterschiede in der Bewertung zurückzuführen.

## 5.3.2 Systematische Generierung der Komplexe

### 5.3.2.1 Auswahl der Konformere

Basierend auf den bisher durchgeführten Rechnungen konnten nun alle relevanten Konformere konstruiert werden. Wie aus den Untersuchungen in den Abschnitten 5.1 und 5.2 hervorgeht, ist die bevorzugte Konformation des tert.-butyl-Carbamoylchinins wie in Abbildung 5.36 dargestellt. Neben dieser Stellung können geringere Anteile anderer Rotamere des Chinuclidinrings um die C9-C8 Achse auftreten. Möglicherweise hat die lipophile Eigenschaft der stationären Phase einen Einfluss auf das Gleichgewicht der verschiedenen Rotamere. Es gibt aber Untersuchungen wie die kalorimetrische Titration (siehe Abschnitt 2.3.5), die

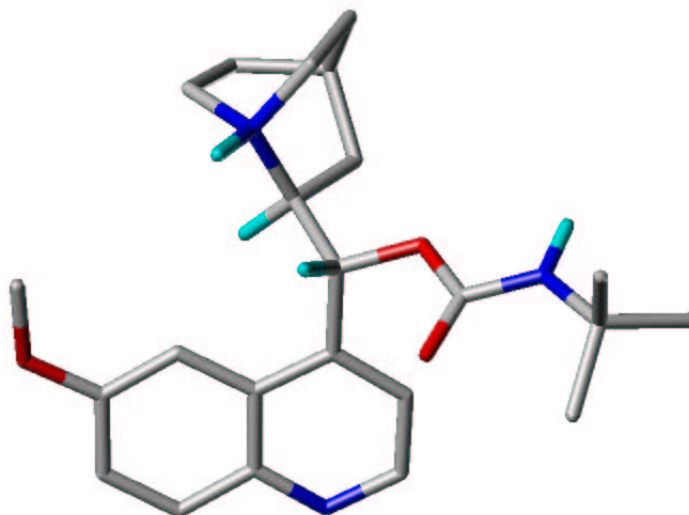


Abbildung 5.36: Struktur des Selektors im globalen Minimum

beweisen, dass das Vorhandensein der stationären Phase keinen Einfluss auf die Energetik der Trennung hat. Die Überprüfung des Einflusses auf rechnerischem Wege würde den virtuellen Aufbau eines Systems, das alle Bestandteile der Säule enthält erfordern. Hierfür sind jedoch zu wenige strukturelle Daten vorhanden.

Das *S*-*N*-Acetylvalin kann wie unter 5.2.1 diskutiert in drei verschiedenen Konformationen vorliegen, die sich jeweils nur in der Stellung des Isopropylrestes unterscheiden. Die entsprechenden Strukturen des *R*-Enantiomers wurden durch Spiegelung erhalten.

Die *S*-Enantiomere des Benzoylalanins und *N*-3,5-Dinitrobenzoylalanins wurden ebenso wie die des *N*-Acetylvalins aus dem *S*-*N*-Acetylalanin und den jeweiligen Aromaten aufgebaut. Es mussten wie in Abschnitt 5.2.3 erläutert zwei Stellungen des Rings relativ zur Carbonylgruppe beachtet werden. Die *R*-Enantiomere wurden ebenfalls durch Spiegelung erhalten.

### 5.3.2.2 Vorgehensweise beim Aufbau

Nachdem nun der Konformationsraum erschöpfend untersucht war, konnten mit Hilfe der Ergebnisse aus Abschnitt 5.3.1 Cluster aufgebaut werden. Wie gezeigt ergeben sich für jedes Selektor- Selektandpaar zwei Möglichkeiten für eine Salzbrücke. Setzt man die Ausbildung dieser Wechselwirkung voraus, so hat das

System noch zwei Freiheitsgrade, nämlich die Rotation um die Achse zwischen Ammonium-Wasserstoff und Carboxylat-Sauerstoff und das Abkippen aus der Ebene, die von den drei Atomen der Carboxylatgruppe aufgespannt wird. Der letzte Freiheitsgrad rigider Körper im dreidimensionalen Raum, der Abstand zwischen Wasserstoff und Stickstoff, kann als nahezu konstant angesehen werden. Für die automatisierte Komplexbildung wurden Rotamere um die Salzbrückenbindungsachse konstruiert. In Abbildung 5.37 sind alle Ausgangsstrukturen dargestellt so wie sie für die Berechnung für ein Enantiomer in einer Konformation und bei einer der beiden Salzbrücken aufgebaut wurden.

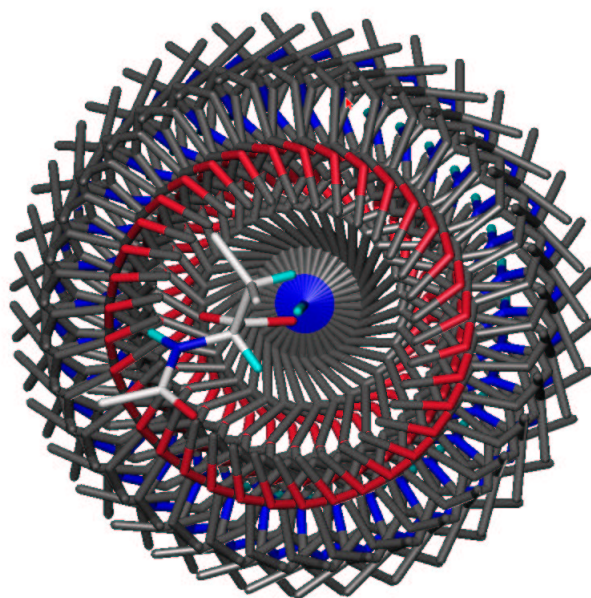


Abbildung 5.37: Ausgangskomplexe des *S*-N-Acetylvalins für ein Konformer und eine der beiden Salzbrücken. Der Selektand ist in weiß, die Selektoren in dunkelgrau eingefärbt.

### 5.3.2.3 Minimierung

Verschiedene Protokolle zur Minimierung unter verschiedenen Fixierungen wurden für diesen Schritt ausgiebig getestet. Dabei wurden vor allem zwei Probleme deutlich. Zum einen werden Geometrieoptimierungen mit constraints zwischen zwei Fragmenten mit zunehmender Anzahl der Freiheitsgrade schwieriger. Zwei-

tens werden durch die automatische Generierung der Komplexe oft Bindungsabstände unterschritten. Benutzt man hier QM-Methoden an nicht voroptimierten Strukturen, werden zum Teil kovalente Bindungen gebrochen oder neu ausgebildet. Daraus ergab sich, dass der Einsatz von Kraftfeldmethoden unumgänglich ist, um die Komplexe in einen relaxierten Zustand zu bringen, in dem keine Standard-Bindungsabstände mehr unterschritten werden. Außerdem hatten ja die vorherigen Untersuchungen gezeigt, dass Kraftfelder, solange sie richtig parametrisiert sind, Strukturen oft sogar besser als semiempirische Methoden vorhersagen können. Um die offensichtlichen Fehler im Tripos Kraftfeld bei der Beschreibung der Methoxylgruppe am Chinolinring auszugleichen, wurde hier mit einem zusätzlichen constraint gearbeitet. Alle Komplexe wurden dann ohne weitere Fixierungen frei minimiert.

Die so gewonnenen Strukturen wurden dann frei mit PM3 optimiert. Die AM1-Methode wurde nicht mehr verwendet, da sie die Salzbrücke nicht richtig wiedergeben kann. Als weitere Änderung wurde mit dem Programm Mopac gearbeitet. Das Programm Amsol bietet nämlich nicht die Möglichkeit Amidfunktionen über ein zusätzliches Kraftfeldpotential in eine planare Lage zu zwingen. Für die Beschreibung des Konformationsraums wurde die Möglichkeit als vorrangig betrachtet, die bestehenden Ladungen durch die gute Beschreibung von Solvata-tionseffekten abzuschirmen. Nun war es wichtiger, die korrekten Geometrien der Amide zu erhalten.

Auf die Diskussion der Ergebnisse mit dem GGA-Funktional wird im folgenden verzichtet. GGA-Rechnungen wurden nur zum Teil durchgeführt, da sich schnell zeigte, dass keine zusätzlichen interessanten Informationen zu erwarten waren. Der zeitliche Aufwand, Systeme der vorliegenden Größe zu minimieren ist auch für diese Methode erheblich. Um einen Vergleich der Energiewerte mit experimentellen Daten zu ermöglichen, sollten also nur die besonders genauen B3LYP-Rechnungen durchgeführt werden. Bei der Minimierung der Moleküle wurden zum Teil die Ladungen aufgehoben, d.h. es kam zu einer Neutralisationsreaktion zwischen der Kationensäure und dem Anion. Da dieser Effekt im Experiment aufgrund von Überlegungen zur Säurestärke ausgeschlossen werden konnte, wurde die Bindungslänge der Ammonium-Wasserstoff Bindung fixiert.

Ein weiteres Problem ergab sich aus der Tatsache, dass der Optimierungsalgorithmus in Jaguar mit Komplexen der verwendeten Größenordnung nicht zurecht



kam. In Abbildung 5.52 (Abschnitt 5.4.3.3) ist die Solvatationsenergie gegen die Anzahl der Minimierungsschritte aufgetragen. Man erkennt, dass die Rechnung nicht konvergiert und sich die Energiewerte keinem Wert annähern. Aus diesem Grund wurde auf den Solvatationsterm bei der Angabe der Energiewerte verzichtet. Für das Beispiel des N-Acetylvalins werden mögliche Solventeffekte an der Darstellung der Lipophilie auf der Moleküloberfläche diskutiert.

Aus der großen Anzahl der minimierten Komplexen musste eine Auswahl getroffen werden, welche Strukturen für die Trennung entscheidend sind. Zu diesem Zweck wurden alle Geometrien ausgewählt, die entweder im Kraftfeld oder bei der PM3-Minimierung maximal 1 kcal/mol vom absoluten Minimum entfernt waren.

## 5.4 Komplexe

### 5.4.1 N-Benzoylalanin

#### 5.4.1.1 Komplexe des *R*-N-Benzoylalanins

Bei den *R*-N-Benzoylalanin-Komplexen ist die Auswahl der besten Struktur schwierig. Wie in Abbildung 5.38 zu sehen ist, wird im Kraftfeld eine andere relative Anordnung als globales Minimum gefunden als bei der semiempirischen Methode. Es muss hier bedacht werden, dass bei der Kraftfeldrechnung das Lösungsmittel nicht beachtet wurde. Deshalb werden grundsätzlich Komplexe als besonders günstig eingestuft, bei denen die beiden Moleküle eine große Kontaktfläche haben, denn dann wird die Interaktionsenergie, die aus dem Van der Waals Term berechnet wird, besonders groß. In der kondensierten Phase kann diese Art Kontakt aber auch zu den umliegenden Lösemittelmolekülen ausgebildet werden, und es wird eine Ausrichtung der hydrophilen Molekülteile in Richtung der hydrophilen Umgebung günstig sein. Es kann sich also bei der hier gezeigten Struktur um eine günstige Geometrie im Vakuum handeln, die aber unter den Bedingungen im Experiment nur eine geringe Rolle spielt. Im Gegensatz dazu steht dem Liganden bei den PM3-Rechnungen ein weiter Bereich mit ähnlicher potentieller Energie offen.

Die angeführten Überlegungen sollten natürlich durch Rechnungen bestätigt werden. So wurde sowohl der Minimumskomplex aus dem Kraftfeld als auch der

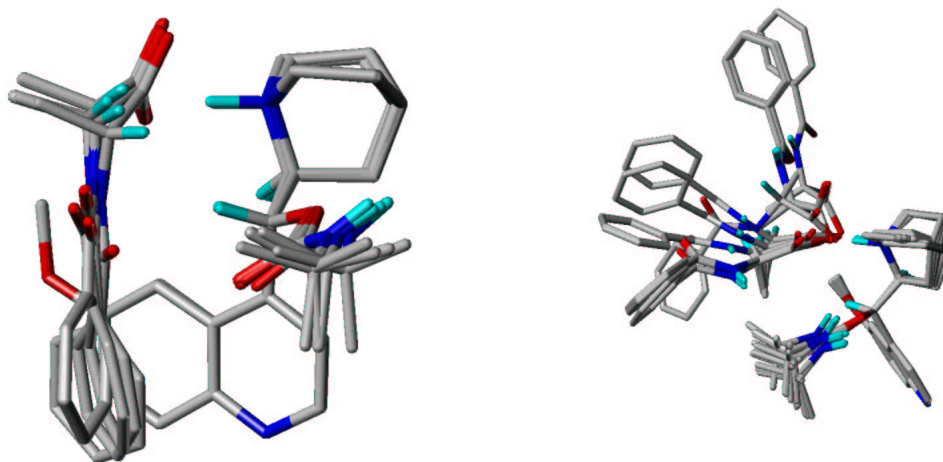


Abbildung 5.38: Komplexe des *R*-N-Benzoylalanins bis zu 1 kcal/mol über dem globalen Minimum; links: Tripos Kraftfeld, rechts: Mopac PM3

aus der PM3-Rechnung mit der B3LYP-Methode minimiert. Der Komplex, der dem globalen Minimum aus der PM3-Rechnung entspricht wurde, wie vermutet, als energetisch günstiger berechnet. Der Energieunterschied beträgt laut B3LYP-Funktional 2,4 kcal/mol. Die dabei gefundene optimale Geometrie ist in Abbildung 5.39 dargestellt. Als Hauptinteraktion besteht die Salzbrücke. Weitere schwache, rein dispersive Kontakte können sich zwischen der tert.-butyl-Teilstruktur des Selektors und dem Aromaten ausbilden. Ein leicht negativer Beitrag zur Gesamtenergie wird durch die Dipol-Dipol-Beziehung zwischen dem Amid des Selektanden und dem Keton in der Seitenkette des Selektors realisiert. Stärkere intermolekulare Bindungen wie Wasserstoffbrücken sind jedoch nicht möglich.

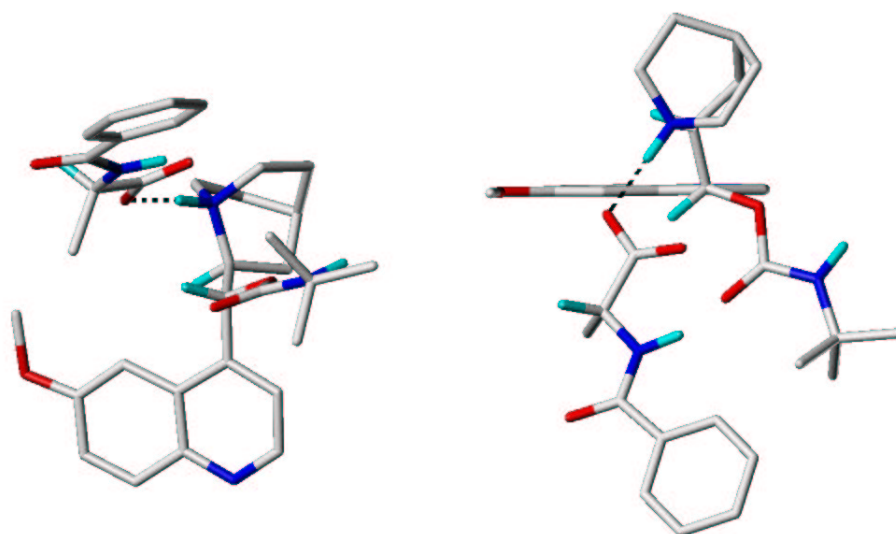


Abbildung 5.39: Minimumstruktur des Komplexes zwischen *R*-*N*-Benzoylalanin und dem Selektor

#### 5.4.1.2 Komplexe des *S*-*N*-Benzoylalanins

Ähnlich wie für das *R*-Enantiomer werden auch für das *S*-*N*-Benzoylalanin von den beiden Methoden unterschiedliche globale Minima berechnet. In Abbildung 5.40 sind die Strukturen der Kraftfeldrechnung und die der PM3-Rechnung dargestellt. Die beiden Geometrien ähneln den schon zuvor für das *R*-*N*-Benzoylalanin gefundenen Koordinatensätzen sehr. Es scheint fast so, als ob das Ergebnis stärker von der Methode der Minimierung abhängen würde, als von der Konfiguration der Teilnehmer. Es fällt allerdings sofort auf, dass in der links gezeigten Struktur eine zusätzliche Wasserstoffbrücke möglich ist.

Wie sich in einer B3LYP-Geometrieoptimierung zeigte, ist die Struktur, so wie sie im Kraftfeld als globales Minimum gefunden wurde, in der Tat um etwa 2,7 kcal/mol günstiger. Da das Ergebnis der PM3-Rechnung verwunderte, wurde die Moleküldatenbank nach weiteren Clustern untersucht. Dabei wurde keine zweite Geometrie in einem Abstand von maximal 1 kcal/mol zum globalen Minimum gefunden. Erweitert man den Schwellenwert auf 2,0 kcal/mol, so ergeben sich zwar weitere Komplexe, diese sind aber wieder weit vom Kraftfeld und DFT-Minimum entfernt. Einen Komplex, in dem die Wasserstoffbrücke ausgebildet wird, findet

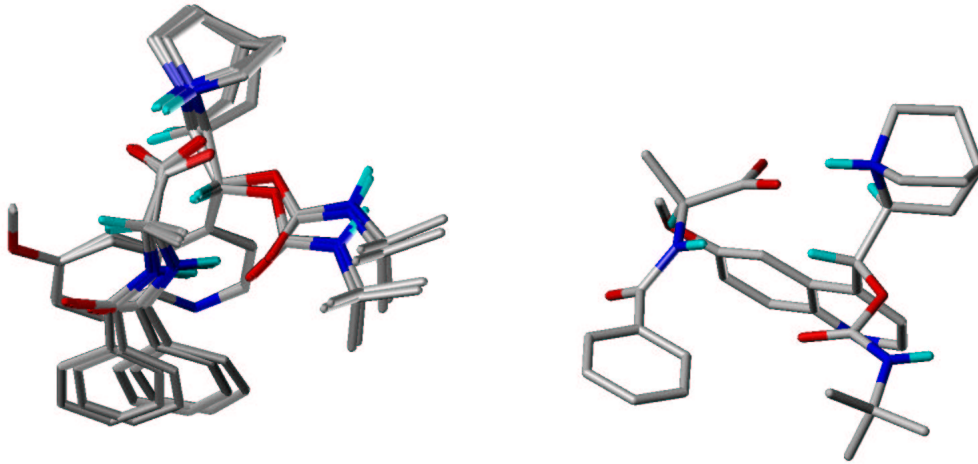


Abbildung 5.40: Komplexe des *S*-N-Benzoylalanins bis zu 1 kcal/mol über dem günstigsten links: Tripos Kraftfeld, rechts: Mopac PM3

man erst bei einem relativen Abstand von 5 kcal/mol.

Das Interaktionsmuster für den Komplex zwischen *S*-Benzoylalanin und TBCH ist in Abbildung 5.41 zu erkennen. Neben der schon erwarteten Salzbrücke wird zwischen dem Amid der Aminosäure und dem Carbonyl des Carbaminsäureesters eine zusätzliche Wasserstoffbrücke ausgebildet. Als dritter intermolekularer Kontakt wird eine  $\pi - \pi$  Interaktion zwischen den aromatischen Ringsystemen ausgebildet.

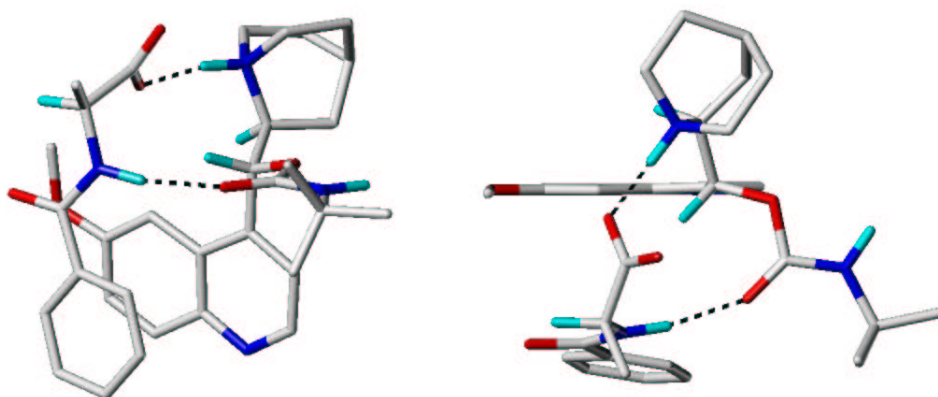


Abbildung 5.41: Interaktionsmuster im *S*-N-Benzoylalanin-TBCH-Komplex

#### 5.4.1.3 Zusammenhang zwischen Selektivität und Energiedifferenz

Es wurde lediglich versucht die Energiewerte der B3LYP-Rechnungen in Beziehung zur Selektivität zu setzen. Für die anderen Methoden erschien eine solche Betrachtungen wenig sinnvoll, da weder das Kraftfeld noch die Mopac-Methode die richtigen Strukturen für beide Enantiomere erkannt hatte. Der mit dem Programm Jaguar errechnete Wert wird mit 0,31 kcal/mol angegeben. Dieser Wert stimmt sehr gut mit dem experimentelle Wert von 0,34 kcal/mol überein. Die Tatsache, dass hier die Rechnung das Experiment so exakt wiedergibt, sollte nicht überbewertet werden. Es muss davon ausgegangen werden, dass sich hier ein Teil der Fehler gegenseitig gekürzt hat. Dennoch zeigt sich hier deutlich, dass es in der Tat gelungen ist, mit diesem überaus peniblen Vorgehen die Enantiomeren-trennung äußerst genau rechnerisch nachzuvollziehen.

### 5.4.2 N-3,5-Dinitrobenzoylalanin

#### 5.4.2.1 Komplexe des *R*-N-3,5-Dinitrobenzoylalanins

Bei der Untersuchung des *R*-N-3,5-Dinitrobenzoylalanins wurden bei der Optimierung der Cluster mit der Kraftfeldmethode ein Satz an Strukturen gewonnen, der in Abbildung 5.42 dargestellt ist. Es sind alle Molekülpaare eingezeichnet,

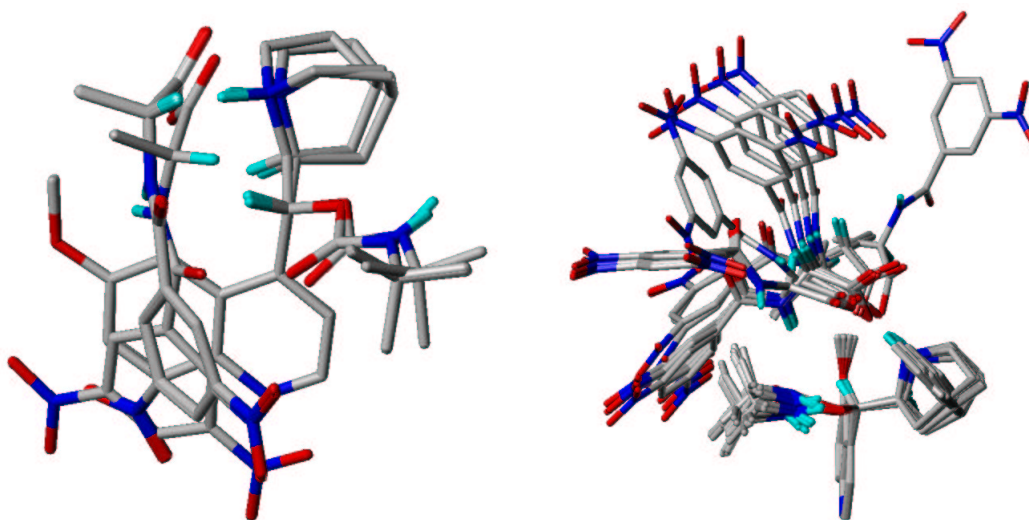


Abbildung 5.42: Komplexe des *R*-N-3,5-Dinitrobenzoylalanins bis zu 1 kcal/mol über dem globalen Minimum; links: Kraftfeld, rechts: PM3

die sich nicht mehr als 1 kcal/mol vom besten Komplex unterscheiden. Die 21 Strukturen, die diesem Kriterium entsprechen, liegen alle sehr ähnlich. Sie zeichnen sich in der Ausbildung mehrerer intermolekularer Bindungen aus. Neben der Salzbrücke kann in dieser Anordnung eine günstige  $\pi - \pi$  Wechselwirkung stattfinden. Sehr gut lässt sich an der Abbildung erkennen, wie sich die Konfiguration am chiralen Kohlenstoff auf den Bindungsmodus auswirkt. Die Stellung des Selektanden ist nämlich in zwei Punkten der des *S*-Enantiomers analog. Auch hier werden sowohl die Salzbrücke als auch die  $\pi - \pi$  Interaktion realisiert. Allein die dritte Bindung, also die Wasserstoffbrücke zwischen dem Amid der Aminosäure und dem Carbonyl-Sauerstoff, kann aufgrund der Stellung der beiden Gruppen nicht ausgebildet werden. Wäre diese Struktur in der Tat der Komplex mit der niedrigsten Energie, so wäre das Drei-Punkte-Modell der chiralen Erkennung ideal erfüllt.

Wie aber in derselben Abbildung auf der rechten Seite zu sehen ist, widerspricht die QM-Rechnung der soeben diskutierten Ausrichtung. Der Ligand nimmt der Mopac-Rechnung zu Folge eher eine Position über dem Chinolinring ein. Hier werden außer der Salzbrücke apolare Wechselwirkungen zwischen dem Dinitroaromaten und der tert.-butyl-Partialstruktur realisiert. Es kommt zusätzlich zu einer Dipol-Dipol-Wechselwirkung zwischen dem Amid und dem Carbonyl der Seitenkette des Selektors (Abb.5.43). Die DFT Rechnung der beiden möglichen

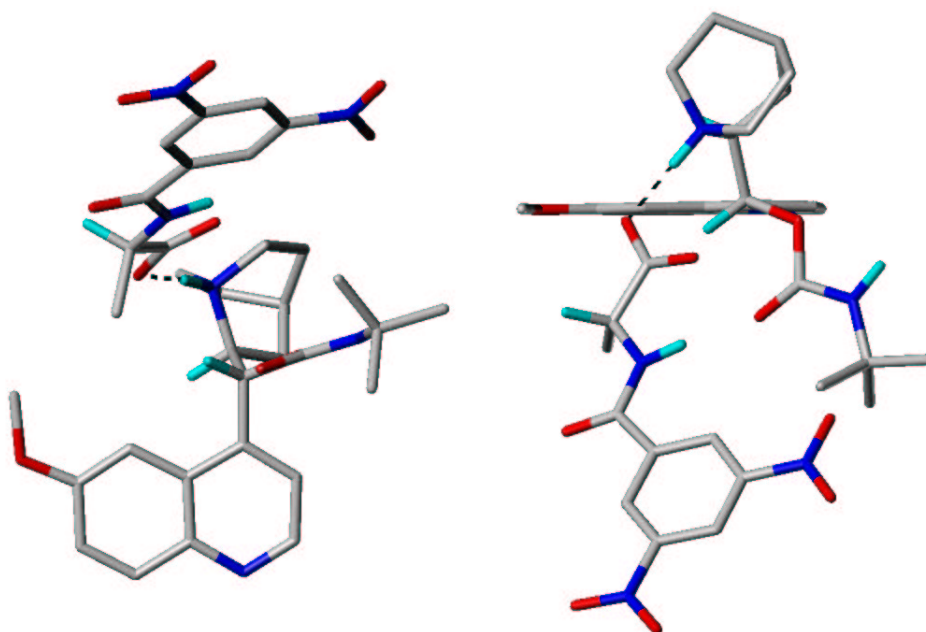


Abbildung 5.43: Minimumkomplex für *R*-N-3,5-Dinitrobenzoylalanin

Komplexgeometrien machte eine Aussage zugunsten der PM3-Struktur. Die Energiedifferenz fällt aber mit 0,79 kcal/mol sehr gering aus. Trotzdem wurde im folgenden die PM3-Struktur als die entscheidende betrachtet.

#### 5.4.2.2 Komplexe des *S*-N-3,5-Dinitrobenzoylalanins

Beim *S*-N-3,5-Dinitrobenzoylalanin wurde in der Kraftfeldminimierung der Komplex als der günstigste vorhergesagt, der in Abbildung 5.44 auf der linken Seite zu sehen ist. Es wurden insgesamt 16 einzelne Geometrien mit der gezeigten Anordnung gefunden, die alle innerhalb von 1 kcal/mol Abstand zur besten liegen. Dieser Komplex wird durch drei Interaktionen stabilisiert (Abb.5.45). Hierzu zählen die Salzbrücke, die Wasserstoffbrücke und der  $\pi - \pi$  Stapel. Auf der rechten Seite in Abbildung 5.44 sind die Minimumstrukturen der PM3-Rechnung abgebildet. Es sind verschiedene Orientierungen des Selektanden relativ zum TBCH möglich, die sich in ihrer Energie kaum unterscheiden. Dies ist auch leicht zu verstehen, denn sie haben alle nur eine intermolekulare Bindung. Die DFT-Methode erbrachte auch hier den Beweis, dass wie schon bei den zuvor betrachteten *S*-Komplexen die Kraftfeldstruktur den energetisch niedrigeren Komplex erkennt.

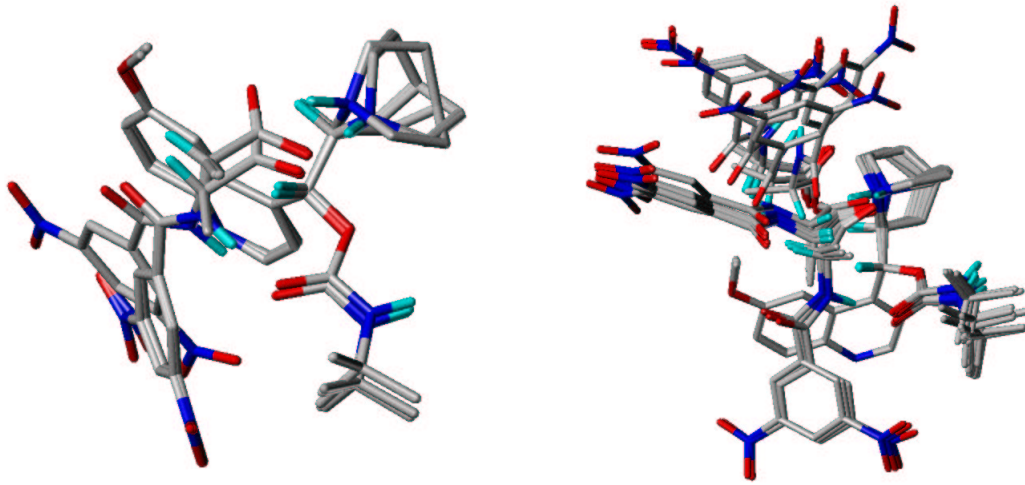


Abbildung 5.44: Komplexe des *S*-N-3,5-Dinitrobenzoylalanins bis zu 1 kcal/mol über dem globalen Minimum; links: Kraftfeld, rechts: PM3

Der mit dieser DFT-Methode errechnete Unterschied fällt mit einem Betrag von 5,7 kcal/mol auch sehr deutlich aus.

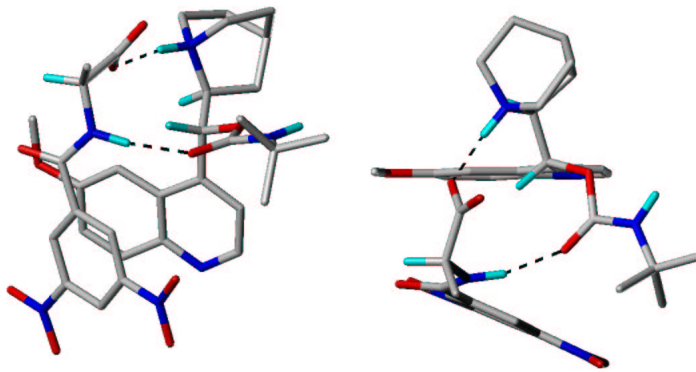


Abbildung 5.45: Minimumkomplex für *S*-N-3,5-Dinitrobenzoylalanin

#### 5.4.2.3 Zusammenhang zwischen Selektivität und Energiedifferenz

Bei der Trennung des N-3,5-Dinitrobenzoylalanin-Racemats wird im Experiment eine Selektivität von 7,93 gefunden. Errechnet man daraus den Unterschied in



der freien Energie, ergibt sich eine Differenz von 1,23 kcal/mol. Dieser Betrag wird mit einem rechnerischen Wert von 1,03 kcal/mol sehr gut reproduziert.

### 5.4.3 N-Acetylvalin

Das N-Acetylvalin-Racemat war für die Untersuchung ausgewählt worden, da es nicht über einen aromatischen Ring verfügt. Es kann also an diesem Beispiel verfolgt werden, welche Rolle die Anwesenheit eines aromatischen Systems im molekularen Erkennungsprozess spielt. Nach dem oben aufgezeigten Schema wurde also eine Vielzahl von Komplexen konstruiert und optimiert.

#### 5.4.3.1 Komplexe des *R*-N-Acetylvalins

Es wurden wiederum alle Strukturen mit einer Abweichung von maximal 1 kcal/mol vom absoluten Minimum betrachtet. In Abbildung 5.46 ist die Kraftfeldgeometrie in Cyan gezeichnet. Sie wurde in der Minimierung mit geringsten Abweichungen mehrmals gefunden. Im Vergleich dazu ist die PM3-Struktur in Magenta eingezeichnet. Auch diese Struktur wurde zweimal erreicht und ist die einzige, die in dem erwähnten Energiefenster zu finden ist. Wie zu erkennen ist, kommen die beiden Methoden in Bezug auf die relative Anordnung der Moleküle zu dem gleichen Ergebnis. Bei der Überlagerung der Schweratome wurde ein RMSD-Wert von 0,45 Å gefunden. Die voluminöse Seitengruppe verhindert im Vergleich zu den anderen *R*-Komplexen eine größere Flexibilität in dieser Stellung.

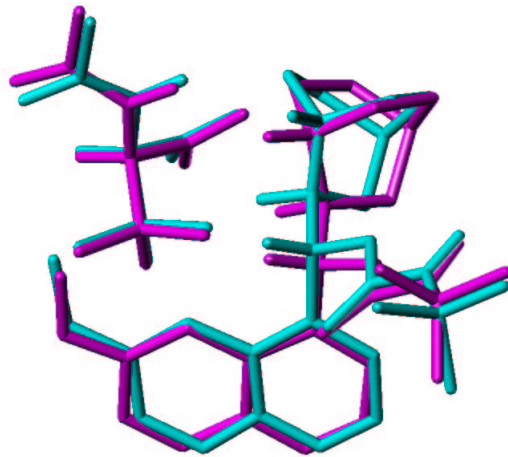


Abbildung 5.46: *R*-N-Acetylvalin; magenta: PM3-Minimum, cyan: Kraftfeld-Minimum

Als Hauptinteraktion wird die schon vorausgesetzte Salzbrücke ausgebildet. In Abbildung 5.47 wird das Bindungsmuster verdeutlicht. Auf der linken Seite ist eine Seitenansicht und rechts eine Aufsicht dargestellt.

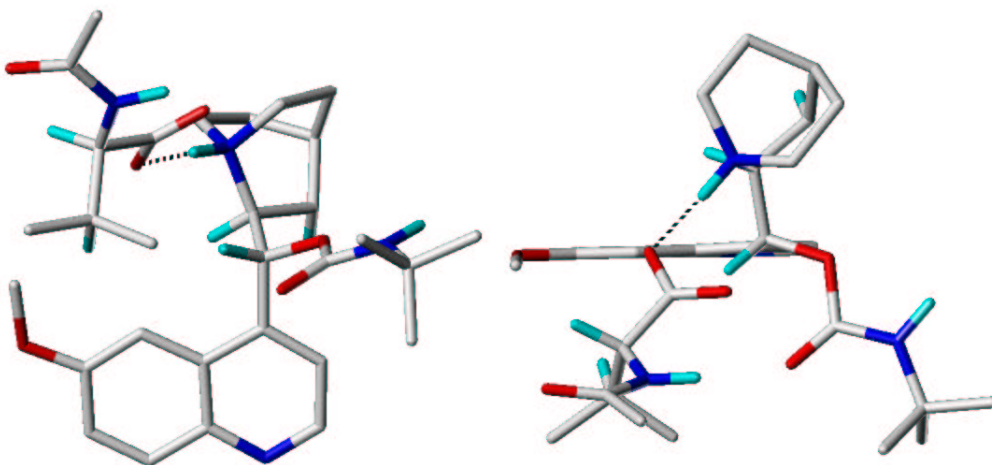


Abbildung 5.47: Interaktionen im *R*-N-Acetylvalinkomplex

Die gezeigten Darstellungen beziehen sich auf eines der drei Konformere des *R*-N-Acetylvalins. Wie aber aus Abschnitt 5.2.2 bekannt ist, sind drei Geometrien als

ungefähr gleichwertig anzusehen. Die Stellung des Isopropylfragments spielt aber für das Interaktionsmuster keine Rolle, wie man an der Überlagerung der globalen Minima aller Konformere erkennt. In Abbildung 5.48 sind die Wasserstoffatome am zentralen Isopropyl-Kohlenstoff in Magenta eingefärbt. Man sieht, dass die prinzipielle Anordnung der Fragmente für alle Konformere gleich bleibt. Es gibt jedoch bei den Energiewerten Unterschiede zwischen den einzelnen Strukturen.

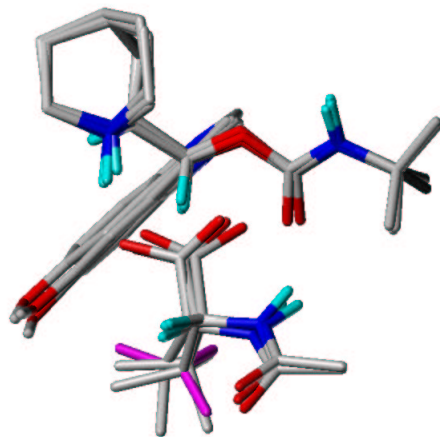


Abbildung 5.48: Überlagerung der *R*-N-Acetylvalin Konformere im globalen Minimum

#### 5.4.3.2 Komplexe des *S*-N-Acetylvalins

Bei der Untersuchung des *S*-Enantiomers werden sowohl vom Kraftfeld, als auch von der PM3-Methode sehr ähnliche Endstrukturen im globalen Minimum gefunden. Diese sind in Abbildung 5.49 dargestellt.

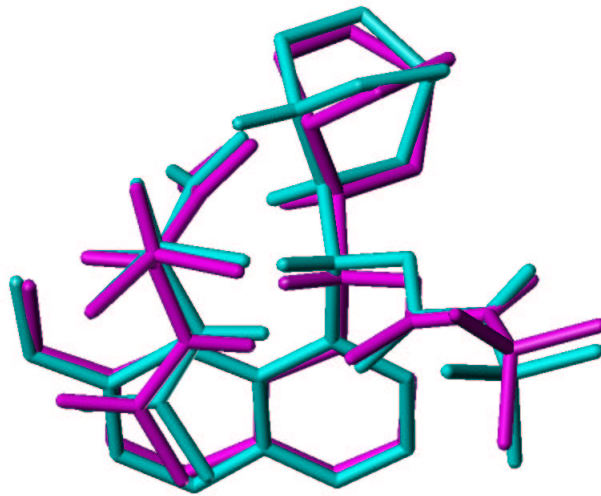


Abbildung 5.49: *S*-*N*-Acetylvalin PM3 Minimum magenta, Kraftfeld Minimum cyan

Es ergibt sich ein Interaktionsmuster, in dem neben der Salzbrücke noch eine Wasserstoffbrücke ausgebildet wird. In dieser Bindung fungiert das *S*-*N*-Acetylalanin mit seiner Amid-NH-Funktion als Donor und die Seitenkette des Selektors mit ihrer Carbonylfunktion als Akzeptor. Es wird also eine im Vergleich zum *R*-Enantiomer zusätzliche intermolekulare Bindung erreicht, die den Komplex stabilisiert.

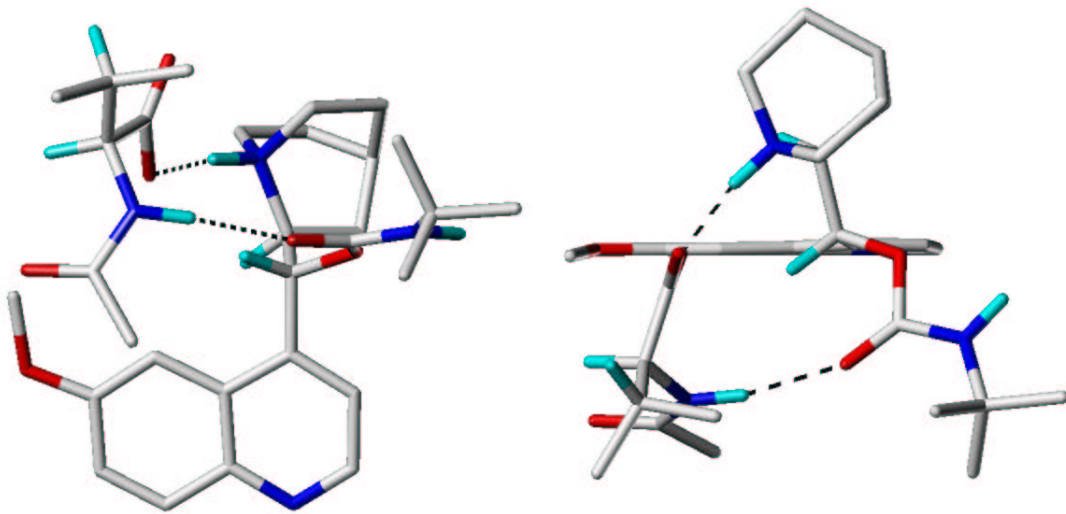


Abbildung 5.50: Interaktionen im *S*-N-Acetylvalinkomplex

Die Stellung des Isopropylsubstituenten ist ebenso wie für den Komplex des *R*-Enantiomers nicht für die Geometrie des Clusters entscheidend. In Abbildung 5.51 sind die Minima aller Rotamere überlagert. Um die verschiedenen Geometrien besser unterscheiden zu können, wurden die Bindungen zum Wasserstoff in Magenta eingezeichnet.

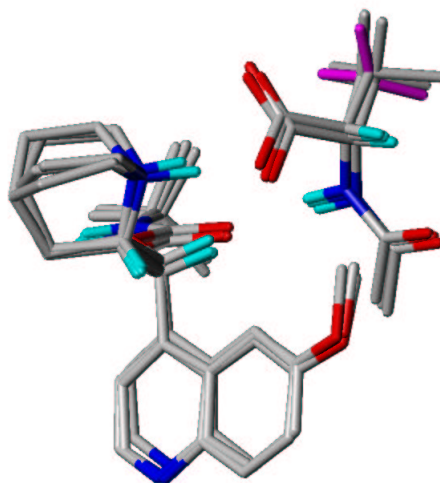


Abbildung 5.51: Überlagerung der globalen Minima aller niedrig Energie Komplexe der *S*-N-Acetylvalin Konformere

### 5.4.3.3 Zusammenhang zwischen Selektivität und Energiedifferenz

Die oben erwähnten Strukturen wurden alle mit der DFT-B3LYP-Methode geometrieoptimiert. In Tabelle 5.1 sind die Energiewerte der unterschiedlichen Komplexe aufgetragen. Es ergibt sich für die Rechnung in der Gasphase ein Energieunterschied der globalen Minima für die Enantiomere von 2,73 kcal/mol. Dieser Wert zeigt deutlich, dass die Retentionsreihenfolge richtig beurteilt werden kann, aber gemessen an einem experimentellen Wert von 0,29 bedarf dieses Ergebnis einer weiteren Untersuchung.

Komplex	Gasphase B3LYP [kcal/mol]
<i>R</i> -NAV Konformer 1	-32,92
<i>R</i> -NAV Konformer 2	-31,43
<i>R</i> -NAV Konformer 3	-30,61
<i>S</i> -NAV Konformer 1	-32,44
<i>S</i> -NAV Konformer 2	-34,68
<i>S</i> -NAV Konformer 3	-35,65

Tabelle 5.1: Tabelle der Energiewerte für die *R/S*-N-Acetylvalin Komplexe. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde ein Betrag von 1154700 kcal/mol von allen Werten abgezogen.

Es ist zu erwarten, dass die Solvatationsenergie für den *R*-Komplex günstiger als für den *S*-Komplex ausfällt und damit das Ergebnis korrigieren kann. Wie sich aber zeigte (siehe Abbildung 5.52) bestehen für das verwendete Programm Jaguar erhebliche Probleme, die Geometrie im Lösungsmittel zu optimieren. Diese Fehlleistung könnte zum einen auf die Anwesenheit mehrerer Amidfunktionen zurückzuführen sein. Wie schon in Kapitel 4.6.4 erwähnt, zeigen sich hierbei besonders oft fehlerhafte Ergebnisse. Es kann trotzdem vorsichtig abgeleitet werden, dass der *R*-Komplex eine niedrigere Solvatationsenergie hat. Der absolute Betrag ist zwar nicht exakt zu ermitteln, liegt aber in der Größenordnung von 2 kcal/mol. Dieser Hinweis sollte nun noch visuell überprüft werden. Dazu wurde mit dem Programm Molcad [116] eine molekulare Oberfläche generiert, die die Lipophilie [117] darstellt. Hierzu wurde eine Connolly-Oberfläche [118] verwendet, die man erhält, indem man eine kugelförmigen Probe über die Van der Waals Oberfläche eines Moleküls „rollt“. Diese Art von Oberflächen simuliert also, welche Teile des Moleküls für eine Interaktion mit den Lösemittelmolekülen zur Verfügung stehen.

## 5.52

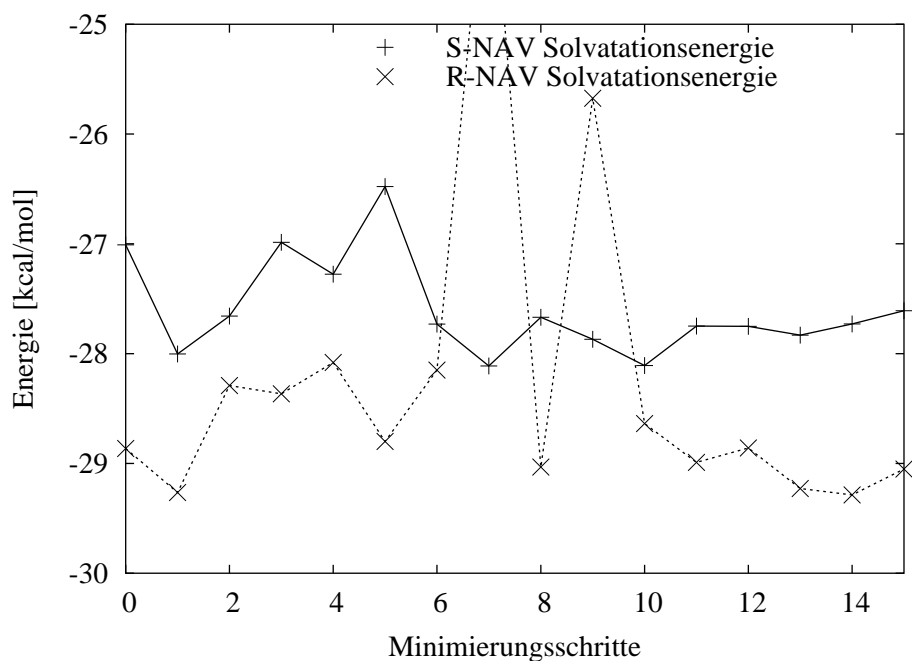


Abbildung 5.52: Solvationsenergie des *S*-N-Acetylvalin Komplexes in Abhängigkeit von der Zahl der Minimierungsschritte

Anteile, die eine Höhle bilden, haben keinen Kontakt mit dem Medium und können somit auch nicht zur Lösungsenergie beitragen. In Abbildung 5.53 kann man erkennen, wie sehr sich durch den unterschiedlichen Bindungsmodus die beiden Komplexe in ihrer Lipophilie unterscheiden. Im *R*-Komplex steht die Carbonylfunktion der Aminosäure frei in den Lösemittelraum und trägt somit zu einer günstigen Solvataion bei. Im *S*-Komplex hingegen ist diese funktionelle Gruppe in Richtung des Aromaten gedreht und nicht zugänglich. Beim *S*-N-Acetylvalin-TBCH-Komplex liegt die lipophile Seitenkette in Richtung des Lösungsraums.

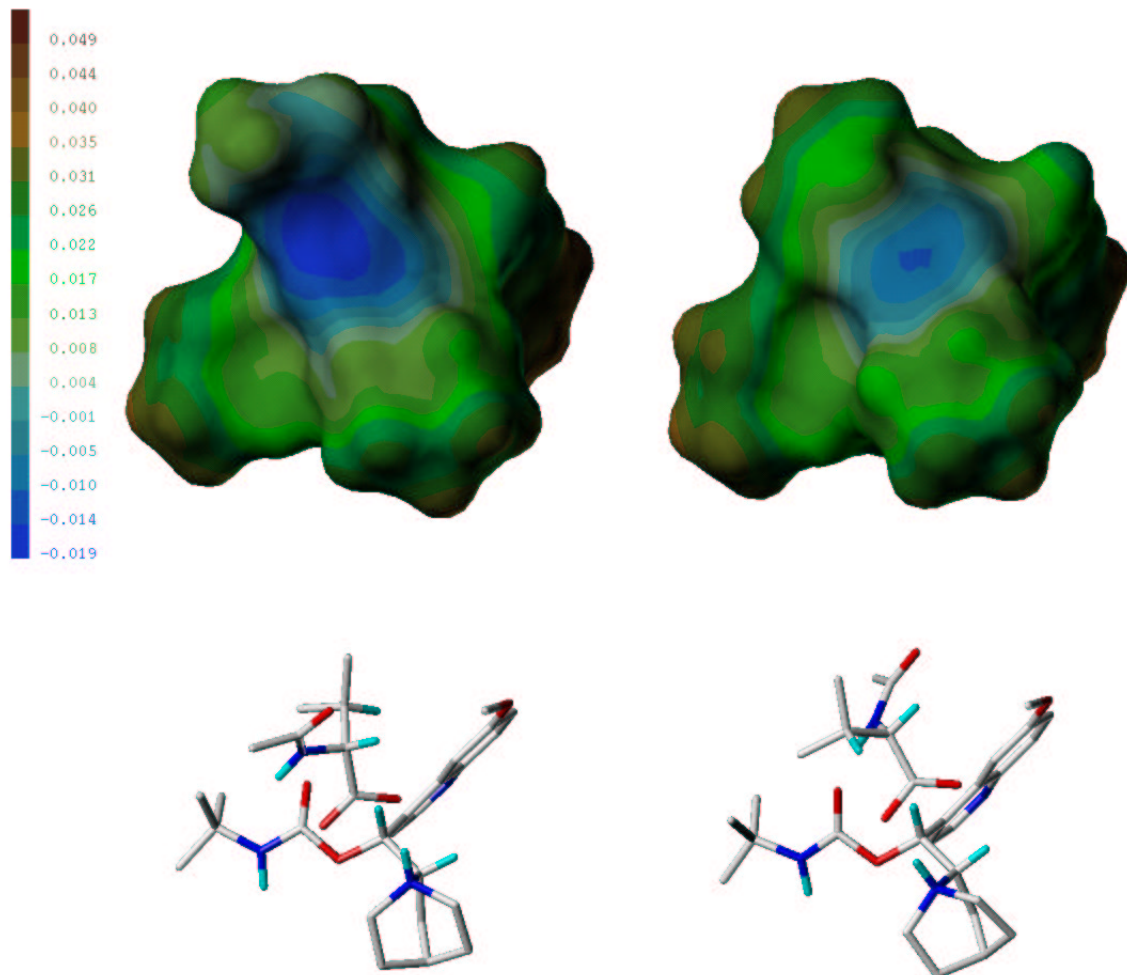


Abbildung 5.53: N-Acetylvalin Komplexe; oben: Connolly Oberfläche mit lipophilen Potentialen; unten: entsprechende Ansicht der Komplexe ohne Moleküloberfläche; die Komplexe des *R*-Enantiomers sind auf der linken, die des *S*-Enantiomers auf der rechten Seite dargestellt.



# Kapitel 6

## Diskussion

### 6.1 Vorgehensweise

#### 6.1.1 Reduktion der Freiheitsgrade

Ziel der vorliegenden Arbeit war es ein Modell für die chirale Trennung in der HPLC zu erstellen. Diese Trennung beruht auf spezifischen Erkennungsprozessen, die nicht nur in der chromatographischen Enantiomerentrennung eine Bedeutung haben, sondern prinzipiell ebenso für andere biologische Systeme gelten. Die Trennung erfolgt durch die Bildung diastomerer Komplexe zwischen den Analyten und den chiralen Bestandteilen der stationären Phase. Das Auffinden dieser Komplexe ist eine schwierige Aufgabe, da das System über eine große Anzahl an Freiheitsgraden verfügt. Für die Trennung des N-Acetylvalins würde sich die Zahl der Freiheitsgrade wie folgt errechnen: 5 frei drehbare Bindungen des Selektors, 3 frei drehbare Bindungen des Selektanden und 6 Freiheitsgrade für die relative Position zweier rigider Körper im dreidimensionalen Raum. Diese 5 Freiheitsgrade könnten zum Beispiel in der Entfernung der Schwerpunkte (3 Koordinaten) und der Drehung um 2 orthogonale Raumachsen bestehen. Eine vollständige systematische Untersuchung, die alle Freiheitsgrade in einem kleinen Inkrement variieren würde, würde zu einem extrem großen Ensemble führen. Man kann sich aber mit der Annahme behelfen, dass sich das globale Minimum des Gesamt-Systems aus den lokalen Minima für die einzelnen Freiheitsgrade zusammensetzt. Dieser Ansatz läßt sich begründen, indem man z.B. Kristallstrukturen

heranzieht. Obwohl hier die Geometrien verschiedener Moleküle abgelegt sind, die unter sehr unterschiedlichen Bedingungen erhalten wurden, werden einige Torsionswinkel häufiger gefunden als andere. Das Gleiche gilt für das Auftreten von Wechselwirkungsmustern zwischen verschiedenen Molekülen. Auch hier werden bestimmte Muster, wie z.B. Wasserstoffbrücken zwischen Carbonylfunktionen und Amid-NH-Gruppen häufig gefunden. Die Reduktion der Freiheitsgrade wurde in der vorliegenden Arbeit besonders stark vorgenommen. Der Grund dafür liegt darin, dass aufwendige Rechenverfahren, wie die Dichtefunktionaltheorie, und semiempirische Rechnungen durchgeführt werden sollten. Deswegen wurden bei der Konformationsanalyse nur die allgemeinen Fragmente untersucht, aus denen die Strukturen aufgebaut sind. Auch für die Interaktionsanalyse wurde analog vorgegangen. Die Salzbrücke wurde zuerst an Fragmenten untersucht, um auch hier den Raum in kleinen Schritten und mit vielen Methoden effizient absuchen zu können.

### 6.1.2 Evaluierung mithilfe von Kristallstrukturen

Da in dieser Arbeit ausschließlich theoretische Methoden eingesetzt wurden, musste auf die existierenden experimentellen Daten zurückgegriffen werden. Die Fragmente, die in der Konformationsanalyse untersucht wurden, sind Bestandteil einer Vielzahl von Kristallstrukturen. Diese Kristallstrukturen dienen als Referenz für die Evaluierung der Lage der Minima. Die Häufigkeit, mit der ein Torsionswinkel gefunden wird, kann als Maß für dessen relative Energie dienen. Die Besetzung der Zustände hängt bei einer gegebenen Temperatur gemäß der Boltzmann-Gleichung nur von der Energiedifferenz zwischen den Zuständen ab. Bei der quantitativen Auswertung von Kristallstrukturen ist aber Vorsicht geboten. Die Beziehung zwischen Häufigkeit des Auftretens und Energie gilt nämlich nur, wenn man davon ausgehen kann, dass die abgelegten Geometrien ein repräsentatives Ensemble darstellen. Wie bei allen statistischen Verfahren, kann man nur bei einer großen Anzahl von Molekülen davon ausgehen, dass diese Forderung erfüllt ist. Weitere Faktoren, die die quantitative Auswertung erschweren liegen im Auftreten von Packungskräften. Sie können dazu führen, dass Konformere im Kristall aufgrund der Struktur des Gitters bevorzugt werden, die sonst energetisch eher ungünstig sind. Die Umgebung im kristallisierten Zustand unterscheidet sich stark von der

in einer Lösung. Auch dieser Effekt muss bei der Interpretation von Kristalldaten berücksichtigt werden.

## 6.2 Konformationsanalyse

Da in der vorliegenden Untersuchung durchgehend verschiedene Methoden zur Konformationsanalyse eingesetzt wurden, kann nun deren Leistungsfähigkeit beurteilt werden. Bei der Konformationsanalyse kann man zwei Kriterien unterscheiden: erstens ob eine Methode in der Lage ist die relative Energie verschiedener Konformere richtig zu berechnen und zweitens ob die Höhe der Rotationsbarrieren richtig eingeschätzt wird.

### 6.2.1 Das Tripos Kraftfeld

Die Konformationsanalysen im Kraftfeld erbrachten solide Ergebnisse, die besonders gut im Einklang mit den Kristalldaten standen. Diese Tatsache verwundert allerdings nicht, da das Tripos Kraftfeld in Hinblick auf die Vorhersage von 76 Kristallstrukturen organischer Moleküle parametrisiert wurde [119]. Bis auf einen Fall lieferte es eine gute Abschätzung der möglichen Konformere. Lediglich der Torsionswinkel des 6-Methoxychinolins war falsch parametrisiert. Dieser Fehler war leicht zu entdecken, illustriert aber die Notwendigkeit Kraftfelder zumindest an leicht zugänglichen Daten, wie Kristallstrukturen, zu evaluieren. Die relativen Energiewerte verschiedener Konformere waren jedoch oft nicht im Einklang mit den DFT-Methoden und den Daten aus der CSD. Dieser Fehler ist jedoch bekannt. Im Vergleich zu anderen Kraftfeldern [120, 121] schneidet das Tripos Kraftfeld bei der Bewertung verschiedener Konformere mit einem durchschnittlichen absoluten Fehler von 1,11 kcal/mol eher schlecht ab. Dieser Wert wird von z.B. von MM2, MM3[122], und CHARMM[123] um fast die Hälfte unterboten. Die Beschreibung der Höhe von Rotationsbarrieren ist mit dem Tripos Kraftfeld nur schlecht möglich. Eine Untersuchung von 13 Barrieren ergab einen absoluten Fehler von 64% [124]. Dieser Fehler fällt aber nicht weiter ins Gewicht, da sich die vorliegende Untersuchung vor allem mit Strukturen niedriger Energie auseinandersetzte.

### 6.2.2 Die semiempirischen Methoden

Zur Verwendung semiempirischer Methoden muss zunächst gesagt werden, dass bei Systemen von der Größe der verwendeten Selektanden und Selektoren kaum Nachteile bei der Rechenzeit gegenüber den Kraftfeldrechnungen zu beobachten waren. Erst bei den Minimierungen der Komplexe bedeutete der Einsatz des Programms Mopac eine deutlicher längere Rechenzeit. Die routinemäßige Verwendung von Programmen wie Mopac oder Amsol zur Konformationsanalyse kann also in dieser Hinsicht in vielen Fällen in Betracht gezogen werden.

Für die Berechnung der relativen Energie verschiedener Konformere wird für semiempirische Methoden ein Fehler unter 2 kcal/mol angegeben [86] (AM1 1,3 kcal/mol; PM3 1,8 kcal/mol). Dieser Wert ist für eine quantitative Auswertung jedoch zu ungenau. Auch der absolute Betrag von Torsionswinkeln im Minimum wird von semiempirischen Methoden ungenauer als im Kraftfeld wiedergegeben. Während der Fehler im Kraftfeld bei  $9,5^\circ$  liegt [119], wird er bei semiempirischen Untersuchungen mit  $12,5^\circ$  für AM1 und  $14,9^\circ$  für PM3 angegeben [124]. Besonders schlecht in dieser Arbeit wurde der Energieverlauf bei Drehung um den Torsionswinkel des Benzoessäureamids berechnet.

Ebenfalls die Höhe der Torsionsbarrieren wurde nur sehr schlecht berechnet. Auch diese Schwäche war bereits bekannt. Santos und Almeida [125] untersuchten Rotationsbarrieren bei der Drehung um Einfachbindungen. Sie fanden bei 75 Molekülen mit 85 Einfachbindungen einen durchschnittlichen Fehler von 63% (AM1) und 61% (PM3). Der Einsatz der semiempirischen Methoden bei der Konformationsanalyse erbrachte also keine neuen Erkenntnisse. Die verwendete Näherung erscheint zu grob und in vielerlei Hinsicht dem Kraftfeld unterlegen.

### 6.2.3 DFT-B3LYP und GGA

Die beiden verwendeten DFT-Methoden B3LYP und GGA zeigten bei der Konformationsanalyse eine recht ähnliches Verhalten. In den meisten Untersuchungen wurden die Vorhersage der DFT-Methoden durch experimentelle Daten bestätigt. Eine Ausnahme stellt die Betrachtung der Konformationshyperfläche des *S*-N-Acetylanilins dar. Für dieses Molekül gibt es ein Konformer bei  $60^\circ/60^\circ$ , welches nur im Kraftfeld gefunden wurde.

Einen Unterschied zwischen den beiden DFT-Methoden förderte erst die Untersuchung der Gesamtstruktur des Selektors zu Tage. Bei der B3LYP-Rechnung bildet sich eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen dem Wasserstoff der Ammoniumgruppe und der Carbonylfunktion der Seitenkette, die die Struktur im globalen Minimum stabilisiert. Die gleiche Struktur wird von dem GGA-Funktional nicht als die günstigste berechnet, vielmehr wird eine Geometrie als globales Minimum erkannt, bei der die Ammoniumgruppe in Richtung des Chinolins zeigt. Für diese Anordnung ist aber weder eine experimentelle Struktur bekannt noch wird sie von einer der anderen Methoden als besonders vorteilhaft eingeschätzt.

Die Leistungsfähigkeit der Dichtefunktional-Methoden bei der Beschreibung der Energiedifferenz zwischen verschiedenen Konformeren ist auch in anderen Untersuchungen dokumentiert. Besonders das B3LYP Funktional ist mit einem durchschnittlichen absoluten Fehler von 0,6 kcal/mol (6-31G\*) vergleichbar gut wie Hartree-Fock Verfahren mit dem entsprechenden Basissatz [124]. Bei dem in dieser Arbeit angewendeten größeren Basissatz sollte dieser gute Wert noch unterboten werden. Auch bei der Betrachtung von Rotationsbarrieren schneidet B3LYP mit dem 6-31G\* Basissatz mit einem absoluten prozentualen Fehler von 17% sehr gut ab [124].

## 6.3 Intermolekulare Wechselwirkungen

Bei der Berechnung intermolekularer Kräfte spielt besonders die Elektrostatik eine große Rolle. Treffen zwei Dipole aufeinander hat das Feld des einen Dipols eine Vergrößerung des Dipolmoments des zweiten Dipols zur Folge. Diese gegenseitige Beeinflussung bezeichnet man als Polarisation. Da QM-Methoden Polarisationseffekte berücksichtigen, sollten sie bei der Berechnung von intermolekularen Wechselwirkungen bessere Ergebnisse erbringen als das Kraftfeld.

### 6.3.1 Kraftfeld

Das Kraftfeld war in der Lage die Geometrie der Salzbrücke richtig zu erkennen. Die Werte entsprechen der Verteilung in den gefundenen Kristallstrukturen. Bei den Komplexgeometrien werden nur zum Teil die gleichen globalen Minima

berechnet, wie bei Verwendung des B3LYP-Funktional. Besonders die Komplexe der aromatischen *R*-Enantiomere wurden falsch vorhergesagt. Dieser Fehler ist unter Umständen auf das Fehlen einer Solventnäherung zurückzuführen. Dadurch werden nämlich immer Strukturen bevorzugt, bei denen die Kontaktfläche möglichst groß ist, denn dann ergibt die Summe der Van der Waals Terme einen besonders niedrigen Wert. Der Einsatz des Kraftfeldes zum Voroptimieren der Strukturen war aber unerlässlich, da die QM-Methoden sonst Bindungen neu geknüpft oder gebrochen hätten.

### 6.3.2 Semiempirische Methoden

War bei der Konformationsanalyse vor allem der PM3-Parametersatz ungünstig zu beurteilen, so ergab die Betrachtung der Salzbrücke ein anderes Bild. Der AM1-Parametersatz konnte als einzige der fünf angewendeten Methoden die globalen Minima nicht richtig erkennen. Nach diesen Rechnungen wäre eine mittige Anordnung der Ammonium-Wasserstoff Achse zwischen den beiden Sauerstoffatomen besonders günstig. Das kann aber unter Berücksichtigung der anderen Methoden und bei Betrachtung der Kristallstrukturen ausgeschlossen werden. Die PM3-Untersuchung konnte die Verteilung der Kristallstrukturen sehr gut erklären. Es wurde eine große Übereinstimmung zwischen dem geringen Energiegradienten der Rechnung mit der Verteilung der Strukturen in einem größeren Raumsegment gefunden. Die Lage der globalen Minima stimmt außerdem genau mit der DFT-Untersuchung überein.

Bei der Untersuchung der benzylierten *S*-Aminosäuren zeigte sich überraschender Weise, dass die zusätzliche Wasserstoffbrücke zwischen der Amidfunktion des Anions und der Carbonylgruppe in der Seitenkette des Selektors energetisch nicht richtig beschrieben wird. Es wurden zwar Geometrien erhalten, die dieses Muster aufzeigen, diese wurden aber energetisch viel ungünstiger (5 kcal/mol) als andere berechnet.

Dieser Fehler überraschte besonders, weil die Berechnung von Dipolmomenten mit semiempirischen Methoden im Allgemeinen sehr gut gelingt. Es wird ein absoluter Fehler von 0,35 D bei AM1 und zwischen 0,38-0,4 D bei PM3 gefunden. Aus der korrekten Beschreibung der Dipolmomente könnte man schließen, dass der elektrostatische Anteil und damit die Interaktionsenergien gut wiedergegeben

werden können, eine Vermutung die sich aber nicht bewahrheitet hat. Auch andere Autoren [126, 127, 128] konnten erhebliche Mängel bei der Beschreibung von Systemen, die Wasserstoffbrücken enthalten, feststellen. Buemi [126] stellte einen durchschnittlichen prozentualen Fehler von 57% im Vergleich zu experimentellen Werten fest.

Es schien trotz der bekannten Makel vernünftig, semiempirische Methoden für die Untersuchung von Komplexgeometrien einzusetzen, da die oben erwähnten Untersuchungen vor allem absolute Werte verglichen haben. Im vorliegenden Fall sollte aber die relative Stabilität verschiedener Anordnungen der gleichen Strukturen untersucht werden. Bei diesem Vorgehen konnte man erwarten, dass sich ein Teil der Fehler gegenseitig kürzt, weil er in allen Komplexen den gleichen Betrag hat.

Abschließend muss man anmerken, dass die semiempirischen AM1- und PM3-Methoden nicht speziell für die verwendeten Strukturen parametrisiert worden sind. Es wäre sicherlich interessant herauszufinden, inwieweit sich durch eine Optimierung der Parameter verbesserte Ergebnisse erzielen lassen.

### 6.3.3 DFT-B3LYP und GGA

Wechselwirkungen wie die Salzbrücke werden von den beiden DFT-Methoden in etwa gleich gut beschrieben. Bei der Geometrieoptimierung der Gesamtkomplexe wurde lediglich das B3LYP-Funktional eingesetzt. Von der Verwendung der GGA-Methode waren keine weiteren Einblicke zu erwarten, außerdem konnte diese Methode die intramolekulare Wasserstoffbrücke im Selektor nicht richtig beschreiben. Die sehr gute Übereinstimmung zwischen der Gesamtenergie der Komplexe und den chromatographisch ermittelten Werten unterstreicht eindrucksvoll die Leistungsfähigkeit der DFT-B3LYP-Methode. Die Beschreibung von Clustern, die über Wasserstoffbrücken miteinander verbunden sind, gelingt generell mit B3LYP bei einem genügend großen Basissatz gut [129].

## 6.4 Die verwendeten Näherungen

### 6.4.1 Zustandssumme

Die Zustandssumme wurde, wie in Abschnitt 2.2.3 diskutiert, nicht berechnet. Nun soll erörtert werden, ob diese Näherung die Richtigkeit der Untersuchung beeinträchtigt hat. Bei zwei der drei untersuchten Enantiomerenpaare ist die Übereinstimmung zwischen den berechneten Komplexenergien und dem Experiment sehr gut. Bei der dritten untersuchten Trennung, der des *R/S*-*N*-Acetylvalins, gelingt es nicht, die Selektivität quantitativ nachzuvollziehen. Der Grund dafür kann aber nicht im Vernachlässigen der Zustandssumme liegen. Ein Effekt dieser Vereinfachung wäre eher bei den aromatisch substituierten Aminosäuren zu vermuten gewesen. Hier haben nämlich die *R*-Enantiomere in ihren Komplexen die Möglichkeit, einen größeren Raum mit etwa gleicher Energie auszufüllen. D.h. innerhalb des gebildeten Komplexes haben die aromatischen *R*-Aminosäuren eine größere Bewegungsfreiheit als die durch die Wasserstoffbrücke fixierten *S*-Aminosäuren. Man könnte annehmen, dass die Möglichkeit, sich in einem größeren Interaktionsraum zu bewegen, zu einer Erniedrigung der freien Energie führen sollte. Gerade diese Flexibilität hat aber das *R*-*N*-Acetylvalin im TBCH-Komplex nicht, da die voluminöse Isopropylgruppe eine Auslenkung aus der Minimumlage verhindert. Somit kann es im großen und ganzen als gerechtfertigt beurteilt werden, die Zustandssumme nicht explizit in die Untersuchung mit einzubeziehen.

### 6.4.2 Beschränkung der Untersuchung auf die Beschreibung eines einzigen Komplexes

In der vorliegenden Arbeit wurde angenommen, dass das gesamte Trennverhalten durch die Beschreibung der günstigsten Komplexe erklärt werden kann. Dieser Ansatz müsste eigentlich dazu führen, dass die berechneten Energiedifferenzen größer als die experimentell gemessenen sind. Bildeten sich nämlich vorübergehend Komplexe, die nur auf eine ionische Wechselwirkung beruhen, aber nicht komplett in das Minimum relaxieren, würde das den selben Effekt haben, wie eine nicht-spezifische Wechselwirkung mit der stationären Phase. Da dieser Beitrag nicht stereospezifisch wäre, müsste er für *R*- und *S*-Enantiomer den gleichen



Betrag ergeben und damit die Selektivität verringern. Das kann aber nicht der Fall sein, denn zum einen sind die DFT-Energiewerte der singulären Komplexe in gutem Einklang mit dem Experiment, und zum anderen sind die kalorimetrischen Titrations 2.3.5 unter Equilibriumsbedingungen durchgeführt worden. Der Fehler, der durch diese Näherung zustande kommt, könnte aber zur Erklärung der überschätzten Energiedifferenz der N-Acetylvalin-Trennung herangezogen werden. Eventuell führen sterische Effekte der im Vergleich größeren Seitenkette dazu, dass der komplette Gleichgewichtszustand nicht so schnell erreicht wird.

### 6.4.3 Vernachlässigung der Matrix der stationären Phase

Die Matrix wurde bei der Beschreibung der Komplexe vollständig vernachlässigt. Zu dieser Entscheidung hatten die in Abschnitt 2.3.5 beschriebenen Experimente geführt. Die darin zitierten Untersuchungen wurden aber nur an aromatisch substituierten Aminosäuren durchgeführt, die keine Isopropylseitenkette hatten. Deshalb kann nun nicht geklärt werden, ob dieser Ansatz auch für das N-Acetylvalin valide ist. Es kann hier nicht unbedingt in Analogie davon ausgegangen werden, dass auch bei der acetylierten Aminosäuren der Komplex nicht durch eine zusätzliche Interaktion mit der stationären Phase stabilisiert wird.

## 6.5 Gemeinsamer Bindungsmodus

Bei der Betrachtung der Komplexe fiel auf, dass sowohl die *R*- als auch die *S*-Enantiomere in ihren Komplexen sehr ähnliche Geometrien einnehmen. Aufgrund dieser Tatsache kann ein gemeinsamer Bindungsmodus postuliert werden. Die an der Bindung beteiligten Gruppen der Selektanden sind alle Bestandteil des Aminosäuregrundkörpers. Diese theoretische Erkenntnis stimmt sehr gut mit der Beobachtung überein, dass zum einen alle  $\alpha$ -Aminosäuren die gleiche Retentionsreihenfolge haben und zum anderen der Selektor in der Lage ist, eine Vielzahl unterschiedlich funktionalisierter Aminosäuren zu trennen. Der gemeinsame Bindungsmodus der *S*-Enantiomere wird in Abbildung 6.1 illustriert. Dort ist eine Überlagerung aller TBCH-Komplexe der *S*-Enantiomere zu sehen. Man kann erkennen, dass das  $C\alpha$ , das Amid und die Carboxylatgruppe in allen Komplexen

die gleiche Position einnehmen. Die Seitenketten der Aminosäuren stehen in den freien Raum ab. Eine  $\pi - \pi$  Interaktion ist zwar nur beim *S*-*N*-Benzoylalanin und dem *S*-*N*-3,5-Dinitrobenzoylalanin möglich, diese Wechselwirkung ist aber nicht essenziell, wie man an der erfolgreichen Trennung der acetylierten Aminosäure sehen kann.

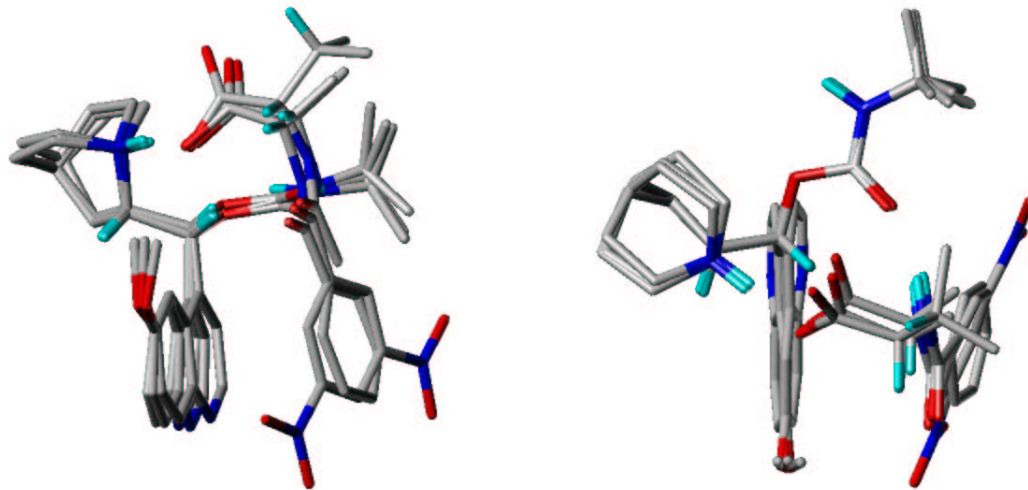
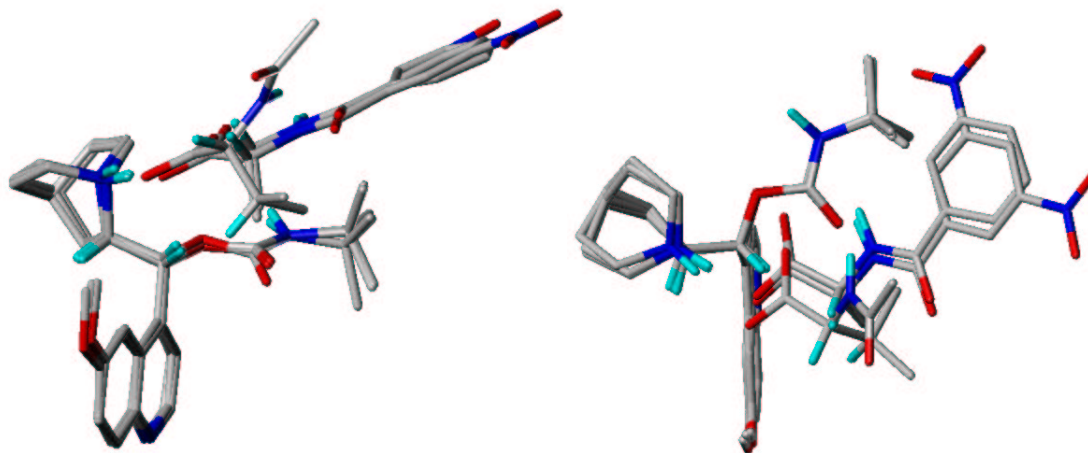


Abbildung 6.1: Gemeinsamer Bindungsmodus der *S*-Enantiomere

In Abbildung 6.2 ist eine Überlagerung der *R*-Enantiomeren-Komplexe zu sehen. Für die Bindung an die stationäre Phase ist ebenso wie bei den *S*-Enantiomeren in erster Linie die Salzbrücke verantwortlich. Eine weitere Wechselwirkung besteht in der Dipol-Dipol-Interaktion zwischen dem Amid-NH und der Carbonylgruppe des Selektors. Die Acylsubstituenten am Stickstoff kommen mit dem tert.-butyl-Rest in Kontakt und stabilisieren durch die schwachen Van der Waals Kräfte den Komplex.

Abbildung 6.2: Gemeinsamer Bindungsmodus der *R*-Enantiomere

## 6.6 Ableitung eines Modells für die chirale Erkennung

In Abschnitt 2.4.1 wurden verschiedene Modellvorstellungen zur chiralen Erkennung beschrieben. Nun soll diskutiert werden, inwieweit sich die in dieser Arbeit gefundenen Trennmechanismen mit diesen Modellen erklären lassen.

Die Komplexe der *S*-Enantiomere lassen sich sowohl als Drei-Punkt- als auch als Pseudo-Zwei-Punkt Modell beschreiben. Man kann die Salzbrücke als den ersten Interaktionspunkt ansehen. Die Sauerstoffatome sind dabei zwar nicht unmittelbar am chiralen Zentrum gebunden, die Carboxylatgruppe als interagierendes Prinzip jedoch schon. Die Salzbrücke als zwischenmolekulare Bindung ist außerdem zumindest teilweise gerichtet. Die elektrostatische Anziehung zwischen zwei Monopolen ist zwar in allen räumlichen Richtungen gleich groß, aber ein Teil der Interaktionsenergie wird durch die Wasserstoffbrücke zwischen Ammonium-Wasserstoff und Carboxylat-Sauerstoff ausgebildet. Die zweite Wechselwirkung besteht in der Wasserstoffbrücke zwischen der Amidgruppe des Selektanden und der Carbonylfunktion in der Seitenkette des Selektors. Diese ist stark räumlich gerichtet. Es wären also schon hier die Forderungen des Pseudo-Zwei-Punkt Modells erfüllt. Neben diesen beiden Energiebeiträgen tragen aber im Falle der aromati-

schen Aminosäuren noch die  $\pi-\pi$  Effekte zur Bindung bei. Dass diese Interaktion aber nicht erforderlich ist, zeigt sich bei der Trennung des N-Acetylvalins. Um ein gemeinsames Modell zu generieren, könnte man dem Chinolinring auch in erster Linie eine sterische Aufgabe zuschreiben. Insofern werden die zwingenden Erfordernisse für eine chirale Erkennung von dem Selektor über-erfüllt. In der Ligandbindung werden mit der Salzbrücke, der Wasserstoffbrücke und der  $\pi-\pi$  Interaktion drei gerichtete Bindungen realisiert.

Die *R*-Enantiomere haben einen anderen Bindungsmodus. Nur die Salzbrücke wird analog zu den *S*-Enantiomeren gebildet. Als zweite Wechselwirkung kommt es zu einer Dipol-Dipol Interaktion. Einen weiteren Beitrag liefern disperse Kräfte zwischen den Aromaten bzw. dem Isopropylrest und dem tert.-butyl-Rest. Es wären also zwei gerichtete Interaktionen, Dipol-Dipol und Salzbrücke, neben einer ungerichteten dispersiven zu nennen. Dieses Wechselwirkungsmuster kann nicht von den *S*-Enantiomeren erfüllt werden.

Würde man in Analogie zu Abbildung 2.4.1 ein Modell erstellen wollen, so könnte man für die ionischen Funktionen die Buchstaben A und A' verwenden. Die anderen Gruppen B, B', C und C' wären dann für die *S*-Enantiomere die Wasserstoffbrücke (Amid des Selektanden B und Carbonyl des Selektors B') und die  $\pi-\pi$  Wechselwirkung (Aromat Selektand C, Chinolin C'). Bei den *R*-Enantiomeren kommt es aber nicht zu einer A-C' Annäherung, sondern vielmehr ebenfalls zu einer A-A' Interaktion. Die B-B' Wechselwirkung ist andersartig, d.h. sie besteht in einer Dipol-Dipol Interaktion, also (B-B')'. Die C' Gruppe ist an der Bindung der Selektanden nicht beteiligt. So müsste man vielleicht D' definieren als den tert.-butyl-Rest und käme zu folgender Beschreibung der Komplexe (siehe Abbildung 6.3):

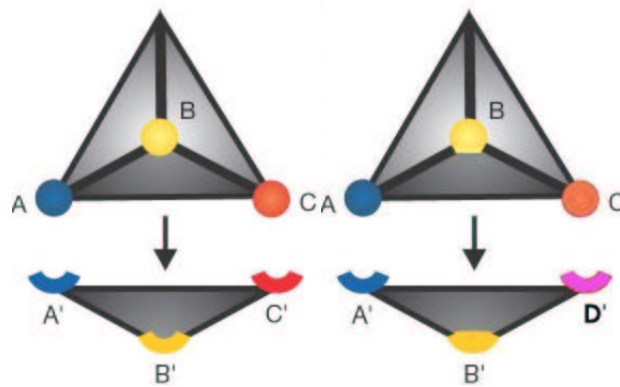


Abbildung 6.3: Modell der chiralen Trennung, links: *S*-Enantiomer: A-A', B-B', C-C'; rechts: *R*-Enantiomer: A-A', (B-B')', C-D'

- *S*-Enantiomer: A-A' (Salzbrücke), B-B' (Wasserstoffbrücke), C-C' (Aromat/Isopropyl - Chinolin Wechselwirkung)
- *R*-Enantiomer: A-A' (Salzbrücke), (B-B')' (Dipol-Dipol-Interaktion), C-D' (Aromat/Isopropyl - tert.butyl-Rest Wechselwirkung)

Insgesamt muss man feststellen, dass die Klassifikation der Enantiomerentrennung als Drei-Punkt-Prozess nicht wirklich die Komplexität realer chromatographischer Systeme wiedergeben kann. In diesen Betrachtungen wird der Anteil den die unterschiedliche Solvatation an der Energiedifferenz zwischen den Komplexen hat gar nicht berücksichtigt. Im Prinzip sind an der Bindung der Enantiomere unterschiedliche Prozesse und Kräfte beteiligt, und eine Adaption an die klassische Drei-Punkte-Regel ist mühsam und nicht illustrativ.

# Kapitel 7

## Zusammenfassung

In der Enantiomerenanalytik spielen chromatographische Verfahren eine wichtige Rolle. Die enantio-selektive Chromatographie eignet sich sowohl zur Bestimmung der Enantiomerenreinheit, als auch zur Racemattrennung. Das System, das Gegenstand der vorliegenden Untersuchung ist, besteht aus dem Selektor, dem tert.-butyl-Carbamoylchinin, der kovalent an eine RP-Phase gebunden ist. Als Selektanden werden eine Reihe von N-funktionalisierten Aminosäuren betrachtet: *R/S*-N-Benzoylalanin, *R/S*-N-3,5-Dinitrobenzoylalanin und *R/S*-N-Acetylvalin.

Die Selektivität ist eine chromatographische Kenngröße, die ein Maß für Güte der Trennung ist. Thermodynamische Überlegungen zeigen, dass ein direkter Zusammenhang zwischen der Selektivität und der Stabilität der Komplexe, zwischen dem Selektor und den Selektanden besteht. Ziel dieser Untersuchung war es die Struktur dieser Komplexe zu identifizieren und darauf aufbauend ein Modell für die Trennung auf atomarer Ebene zu erstellen.

Für die Konformationsanalyse wurde ein spezialisiertes Vorgehen entwickelt. Zunächst wurden die Moleküle in Fragmente zerteilt. Jedes dieser Fragmente wurde dabei so gewählt, dass es höchstens drei frei drehbare Bindungen besaß. Die dabei entstehenden freien Valenzen wurden mit Wasserstoffatomen abgesättigt. Durch diese Reduktion der Dimensionalität des Konformationsraums war es möglich, rechnerisch aufwendige Verfahren wie semiempirische Methoden und Dichtefunktional-Methoden anzuwenden. Jedes Fragment wurde anschließend in einer systematischen Konformationsanalyse untersucht. Die dabei generierten Konformere wurden bei fixierten Torsionswinkeln geometrieoptimiert. Aus den

Minima der Teilstrukturen konnten dann zuletzt der Selektor und die Selektanden wieder zusammengesetzt werden. Bei allen Berechnungen wurden durchgängig die semiempirischen AM1- und PM3-Methoden, das Tripos-Kraftfeld und zwei DFT-Methoden angewendet. Bei den QM- und DFT-Rechnungen wurden Kontinuum-Solvent Modelle eingesetzt. Für die Evaluierung der Konformationsanalyse und der Rechnungen zur Salzbrücke wurden Kristallstrukturdaten herangezogen.

Der Selektor wurde in drei Fragmenten unterteilt. Diese Fragmente waren das 6-Methoxychinolin, das Chinin, der Methylcarbaminsäuremethylester und die Bindung, die die Chinin-Seitenkette mit dem tert.-butyl-Carbamoylrest verknüpft. Alle diese Strukturen wurden in einem grid search systematisch variiert und minimiert. Bei der Auswertung der Ergebnisse konnte eine einzige Konformation als globales Minimum identifiziert werden.

Die Selektanden wurden in folgenden Fragmente zerlegt: das *S*-N-Acetylalanin, als gemeinsamer  $\alpha$ -Aminosäuregrundkörper, das *S*-N-Acetylvalin, das Benzoesäuremethyamid und das 3,5-dinitro-Benzoesäuremethyamid.

Da die wichtigste intermolekulare Kraft bei der Stabilisierung der diastereomeren Komplexe in der Ausbildung einer Salzbrücke besteht, ist ihre korrekte Beschreibung besonders wichtig. Um die Geometrie dieser Salzbrücke zu untersuchen, wurde in Analogie zur Konformationsanalyse systematisch ein Ensemble von Komplexen aufgebaut. Für den Aufbau dieser Komplexe wurde der Chinuclidin-Bicyclus und das N-Acetylglycin verwendet. Alle Strukturen wurden dann semi-rigide minimiert. Bei dieser Minimierung wurde die relative Position der beiden Komplexpartner im Raum in fixiert, lediglich der Abstand war als variabel definiert. Die Auswertung der erhaltenen Energiewerte ergab, dass eine einzelne Wasserstoffbrücke zwischen einem der Sauerstoffe der Carboxylat-Gruppe und der Ammoniumgruppe den größten Energiegewinn ergibt.

Ausgehend von den Konformeren mit der niedrigsten Energie und der Analyse der Salzbrückengeometrie konnten dann systematisch Komplexe aufgebaut werden. Dabei wurde so vorgegangen, dass für alle Konformerenpaare und beide Carboxylat-Sauerstoffe eine Drehung um die Wasserstoffbrücken-Bindungsachse in fünf Grad Inkrementen durchgeführt wurde. Die erhaltenen Komplexe wurden dann sukzessive im Kraftfeld und mit der PM3-Methode minimiert. Basierend auf Energiekriterien wurden wenige besonders günstige Komplexgeometrien isoliert

und mit dem B3LYP-Funktional minimiert.

Sowohl für die *R*-, als auch die *S*-Enantiomere der verschiedenen Aminosäuren konnten gemeinsame Bindungsmodi aufgeklärt werden. Dabei können die *S*-Enantiomere eine zusätzliche Wasserstoffbrücke zwischen dem amidischen Proton und der Carbonylgruppe des Selektors ausbilden. Die theoretischen Energiedifferenzen der diastereomeren Komplexe stimmen, wenn man die unterschiedlichen Solvatationsenergien des aliphatisch substituierten Enantiomerenpaares berücksichtigt, sehr gut mit den experimentellen Daten überein (Tabelle 7.1).

Racemat	$\Delta G$ experimentell	$\Delta G$ theoretisch
<i>R/S</i> -N-Acetylvalin	0,29 kcal/mol	2,73 kcal/mol
<i>R/S</i> -N-Benzoylalanin	0,34 kcal/mol	0,31 kcal/mol
<i>R/S</i> -N-3,5-Dinitrobenzoylalanin	1,23 kcal/mol	1,03 kcal/mol

Tabelle 7.1: Gegenüberstellung der experimentellen und theoretisch berechneten Energiedifferenzen

Das in dieser Arbeit entwickelte Vorgehen ist auf alle Trennungen an chiralen Ionenaustauschern anwendbar. Will man Selektoren beschreiben, die ihre Liganden nicht über eine Ionische Interaktion binden, so kann der Aufbau der Komplexe nicht wie hier über eine Drehung um die Salzbrückenachse erfolgen. Es wären dafür Abwandlungen des Verfahrens nötig. Da jedoch Aminosäuren eine sehr wichtige Stoffklasse darstellen und in der Literatur weitere Trennungen an dem vorgestellten Selektor zu finden sind, stehen der Methode noch zahlreiche interessante Anwendungen offen. Neben dem Einsatz in chromatographischen Systemen wird Chinin auch in anderen enantioselektiven Prozessen, wie der stereo-spezifischen Synthese, eingesetzt. In diesen Gebieten kann der systematische Aufbau von Komplexen, wie in dieser Arbeit vorgestellt, sicherlich ebenfalls zu interessanten Erkenntnissen führen.



# Literaturverzeichnis

- [1] H. Beyer and W. Walter. *Lehrbuch der Organische Chemie*. S. Hirzel Verlag, Stuttgart, 20 edition, 1984.
- [2] G. Bringmann and D. Menche. Erste, atrop-enantioselektive totalsynthese der axial-chiralen phenylanthrachinon-naturstoffe knipholon und 6'-methylknipholon. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 113:1733–1736, 2001.
- [3] J. Gasteiger and A. Schunk. cis-trans isomerie. *BMBF Leitprojekt Vernetztes Studium - Chemie* <http://www2.chemie.uni-erlangen.de>, 2002.
- [4] R.S. Cahn, C. Ingold, and V. Prelog. Spezifikation der molekularen chiralität. *Angew. Chem.*, 78:413, 1966.
- [5] A.H.-J. Wang, G.J. Quigley, F.J. Kolpak, G. Van der Marel, J.H. Van Boom, and A. Rich. Left-handed double helical dna: variations in the backbone conformation. *Science*, 211:171–176, 1981.
- [6] K.P.C. Vollhardt. *Organische Chemie*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 1990.
- [7] E.J. Ariens. *Chirality in Drug Design and Synthesis*, volume 29-43. Acad. Press, New York, 1990.
- [8] H.-J. Böhm, G. Klebe, and H. Kubinyi. *Wirkstoffdesign*, volume 113-127. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, 1996.
- [9] H. Auterhoff, J. Knabe, and H.-D. Höltje. *Lehrbuch der Pharmazeutischen Chemie*. 14. Auflage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 1999.

- [10] E. Mutschler and M. Schäfer-Korting. *Arzneimittelwirkungen, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*. 53. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 1996.
- [11] M. Eichelbaum and A.S. Gross. *Stereochemical aspects of drug action and disposition In: Advances in Drug Research*, volume 28. London Academic Press, 1996.
- [12] E.J. Ariens, W. Soudijn, and P.B.H.W.H. Timmermans. *Stereochemistry and Biological Activity of Drugs*. Oxford, Blackwell, 1983.
- [13] D.F. Smith. *Handbook of Stereoisomers: Therapeutic Drugs*. Boca Raton, CRC Press, 1989.
- [14] R. Crossley. *Chirality and the Biological Activity of Drugs*. Boca Raton, CRC Press, 1995.
- [15] S. K. O'Neill and G.T. Bolger. Enantiomer selectivity and the development of tolerance to the behavioral effects of the calcium channel activator bay k 8644. *Brain Res. Bull.*, 6(865-872), 1988.
- [16] FDA. Center for drug evaluation and research: Fda's policy statement for the development of new stereoisomeric drugs. *Drug development and industrial pharmacy*, 5:1-5, 1992.
- [17] J.M. Daniels, E.R. Nestmann, and A. Kerr. Development of stereoisomeric (chiral) drugs: A brief review of scientific and regulatory considerations. *Drug Information Journal*, 31(639-646), 1997.
- [18] FDA. Department of health and human services: International conference on harmonisation; draft guidance on specifications: Test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products. *Federal Register*, 227:62889-62909, 1997.
- [19] G. Rücker, M. Neugebauer, and G.G. Willems. *Instrumentelle pharmazeutische Analytik*. 3 Auflage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 2001.
- [20] D.A. Skoog, F. J. Holler, and T.A. Nieman. *Principles of Instrumental Analysis*, volume 5th Edition. Saunders College Publishing, 1998.

- [21] [www.lcresources.com](http://www.lcresources.com). Lc resources inc. all rights reserved.
- [22] R. Kellner, J.-M. Mermet, M. Otto, and H.M. Widmer. *Analytical Chemistry*. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 1998.
- [23] [www.zal.tu-cottbus.de/zal/prakt/orgaanal.htm](http://www.zal.tu-cottbus.de/zal/prakt/orgaanal.htm). Practical course of analytical chemistry.
- [24] W.R. Oberleitner, N.M. Maier, and W. Lindner. Enantioseparation of various amino acid derivatives on a quinine based anion-exchange selector at variable temperature conditions. influence of structural parameters of the analytes on the apparent retention and enantioseparation characteristics. *J. Chromatography A*, 960:97–108, 2002.
- [25] G. Götmar, T. Fornstedt, and G. Guiochon. Apparent and true enantioselectivity in enantioseparations. *Chirality*, 12:558–564, 2000.
- [26] P. Franco, N.M. Maier, M. Lämmerhofer, and W. Lindner. unpublished results.
- [27] P.W. Atkins and J. de Paula. *Physical Chemistry*. 7. Oxford University Press, 2002.
- [28] T.L. Hill. *An Introduction to Statistical Thermodynamics*. Dover Publications, Inc., New York, 1986.
- [29] H. Gohlke, L.A. Kuhn, and D.A. Case. Change in protein flexibility upon complex formation: Analysis of ras-raf using molecular dynamics and a molecular framework approach protein. *Proteins*, 56:322–327, 2004.
- [30] H. Gohlke and D.A. Case. Converging free energy estimates: Mm-pb(gb)sa studies on the protein protein complex ras-raf. *J. Comput. Chem.*, 25:238–250, 2004.
- [31] B.O. Brandsdal and A.O. Smalas. Evaluation of protein-protein association energies by free energy perturbation calculations. *Protein Engineering*, 13(4):239–245, 2000.

- [32] H.C. Kolb, P.G. Andersson, and K.B. Sharpless. Towards an understanding of the high enantioselectivity in the osmium-catalyzed asymmetric dihydroxylation (ad). part i: Kinetics. *J. Am. Chem. Soc.*, 116:1278, 1994.
- [33] P.O. Norrby, H.C. Kolb, and K.B. Sharpless. Toward an understanding of the high enantioselectivity in the osmium-catalyzed asymmetric dihydroxylation. 2. a qualitative molecular mechanics approach. *J. Am. Chem. Soc.*, 116(19):8470–8478, 1994.
- [34] D.L. Hughes, U.-H. Dolling, K.M. Ryan, E.F. Schönewaldt, and E.J.J. Grabowski. Efficient catalytic asymmetric alkylations. 3. a kinetic and mechanistic study of the enantioselective phase-transfer methylation of 6,7-dichloro-5-methoxy-2-phenyl-1-indanone. *J. Org. Chem.*, 52(21):4745–4752, 1987.
- [35] M.J. O'Donnell, S. Wu, and J.C. Huffman. A new active catalyst species for enantioselective alkylation by phase transfer catalysis. *Tetrahedron*, 50:4507–4518, 1994.
- [36] C. Petterson. Chromatographic separation of enantiomers of acids with quinine as chiral counter ion. *J. Chromatogr.*, 316:553–567, 1984.
- [37] G. Schill C. Petterson. *J. Liq. Chromatogr.*, 9:269, 1986.
- [38] N. Grubhofer and L. Schleith. *Naturwiss.*, 40:508, 1953.
- [39] C. Rosini, P. Altemura, D. Pini, C. Bertucci, G. Zullino, and P. Salvadori. Cinchona alkaloids for preparing new, easily accessible stationary phases ii. resolution of binaphthol derivatives on silica-supported quinine. *J. Chromatogr.*, 348:79–87, 1985.
- [40] C. Petterson and C. Gioeli. Improved resolution of enantiomers of naproxen by the simultaneous use of chiral stationary phase and a chiral additive in the mobile phase. *J. Chromatogr.*, 435:225–228, 1988.
- [41] R. Mathur, S. Bohra, C.K. Narang, and N.K. Mathur. *J. Liq. Chromatogr.*, 15:573, 1992.

- [42] M. Lämmerhofer, E. Zarbl, and W. Lindner. tert.-butyl carbamoyl quinine as chiral ion-pair agent in non-aqueous enantioselective capillary electrophoresis applying the partial filling technique. *J. Chromatogr. A*, 892:509–521, 2000.
- [43] K.-H. Kellner, A. Blasch, H. Chemiel, M. Lämmerhofer, and W. Lindner. Enantioseparation of n-protected alpha-amino acid derivatives by liquid-liquid extraction technique employing stereoselective ion-pair formation with a carbamoylated quinine derivative. *Chirality*, 9:268–273, 1997.
- [44] Lämmerhofer M. *Chirale Erkennung mittels enantioselektiven Ionenaustauschern und carbamoylierten Cinchonan Derivaten als chirale Selektoren in der HPLC Enantiomerentrennung*. PhD thesis, Karl-Franzens-Universität Graz, 1996.
- [45] W.R. Oberleitner, N.M. Maier, and W. Lindner. Enantioseparation of various amino acid derivatives on a quinine based chiral anion-exchange selector at variable temperature conditions. influence of structural parameters of the analytes on the apparent retention and enantioseparation characteristics. *J. Chromatographie A*, 960:97–108, 2002.
- [46] K.H. Krawinkel, E. Gavioli, N.M. Maier, and W. Lindner. Evaluation of different surface-anchoring strategies for cinchona carbamate type selectors. *Chromatographia*, 58:555–564, 2003.
- [47] M. Lämmerhofer and W. Lindner. Quinine and quinidine derivatives as chiral selectors in brush type chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography based on cinchonan carbamates and their application as chiral anion exchangers. *J. Chromatography A*, 741(33-48), 1996.
- [48] C. Czerwenka, M.M. Zhang, H. Kählig, N.M. Maier, K.B. Lipkowitz, and W. Lindner. Chiral recognition of peptide enantiomers by cinchona alkaloids derived chiral selectors: Mechanistic investigation by liquid-chromatographie, nmr spektroskopie, and molecular modeling. *J. Org. Chem.*, 68:8315–8327, 2003.

- [49] S. Schefzick, W. Lindner, K.B. Lipkowitz, and M. Jalaie. Enantiodiscrimination by a quinine-based chiral stationary phase: A computational study. *Chirality*, 12:7–15, 2000.
- [50] N.M. Maier, S. Schefzick, G.M. Lombardo, M. Feliz, K. Rissanen, W. Lindner, and K.B. Lipkowitz. Elucidation of the chiral recognition mechanism of cinchona alkaloid carbamate-type receptors for 3,5-dinitrobenzoyl amino acids. *J. Am. Chem. Soc.*, 124:8611–8629, 2002.
- [51] S. Buchwald-Werner. *Theoretische Untersuchung zur Eneantiomerentrennung an carbamoylierten Chininderivaten Eine Molecular Modelling Studie*. PhD thesis, Heinrich-Heine Universität Duesseldorf, Universitätsstr. 1, 2001.
- [52] I.W. Wainer. Proposal for the classification of high-performance liquid chromatographic chiral stationary phases: How to choose the right column. *Trends Anal. Chem.*, 6:125–134, 1987.
- [53] S. Jönsson, A. Schön, R. Isaksson, C. Petterson, and G. Petterson. An unexpected temperature effect obtained on enantiomer separation using cbh i-silica as a chiral stationary phase: Increase in retention enad enantioselectivity at elevated column temperature: A chromatographic and microcalorimetric study. *Chirality*, 4:505–508, 1992.
- [54] T. Fornstedt, P. Sajonz, and G. Guiochon. Thermodynamic study of an unusual chiral separation. propranolol enantiomers on an immobilized cellulase. *J. Am. Chem. Soc.*, 119(6):1254–1264, 1997.
- [55] A. Karlsson and A. Aspegren. *Chromatographia*, 47:189, 1998.
- [56] K.A. Connors. *Binding Constants. The Measurement of Molecular Complex Stability*. Wiley, New York, 1987.
- [57] N.M. Maier, L. Nicoletti, M. Lämmerhofer, and W. Lindner. Enantioselective anion exchangers based on cinchona alkaloid-derived carbamates: Influence of c8/c9 stereochemistry on chiral recognition. *Chirality*, 11:522–528, 1999.

- [58] J. Lah, N.M. Maier, W. Lindner, and G. Vesnaver. Thermodynamics of binding (r)- and (s)-dinitrobenzoyl leucine to cinchona alkaloids and their tert-butylcarbamate derivatives in methanol: Evaluation of enantioselectivity by spectroscopic (cd,uv) and microcalorimetric (itc) titrations. *J. Phys. Chem. B.*, 105:1670–1678, 2001.
- [59] J. Lesnik, M. Lämmerhofer, and W. Lindner. Fourier transform infrared spectroscopic characterization of complexes of carbamoylated quinidine chiral selector and n-derivatized leucine enantiomers in solution evidence for stereoselective intermolecular interactions. *Analytica Chimica Acta*, 401:3–10, 1999.
- [60] M. Lämmerhofer and W. Lindner. Quinine and quinidine carbamate based anion exchanger type chiral stationary phases. *GIT Special Chromatographie International*, pages 16–20, 1996.
- [61] E.H. Easson and E. Stedman. Studies on the relationship between chemical constitution and physiological action; molecular dissymetry and physiological activity. *Biochem. J.*, 27:1257–1266, 1933.
- [62] A.G. Ogston. Interpretation of experiments on metabolic processes, using isotopic tracer elements. *Nature*, 963, 1948.
- [63] C.E. Dalgliesh. The optical resolution of aromatic amino acids on paper chromatograms. *J. Chem. Soc.*, 137:3940–3952, 1952.
- [64] A. Kuehnle, T.R. Linderoth, B. Hammer, and F. Besenbacher. Chiral recognition in dimerization of adsorbed cysteine observed by scanning tunneling microscopy. *Nature*, 415:891–893, 2002.
- [65] S. Topiol and M. Sabio. Computational chemical studies of stationary phase models. complexes of methyl-(2-naphthyl)alanine with n-(3,5-dinitrobenzoyl)leucine n-propylamide. *J. Chromatogr. A*, 461:129–137, 1989.
- [66] W. A. Pirkle and T.C. Pochapsky. Consideration of chiral recognition relevant to the liquid chromatographic separation of enantiomers. *Chem. Rev.*, 89(347-362), 1988.

- [67] V.I. Sokolov and N.S. Zefirov. Enantioselectivity in two-point binding: rocking tetrahedron model. 318:1382–1383, 1991.
- [68] V.A. Danakov. Separation of enantiomeric compounds using chiral hplc systems. a brief review of general principles, advances and development trends. *Chromatographia*, 27:475–482, 1989.
- [69] V.A. Danakov. The nature of chiral recognition: Is it a three point interaction? *Chirality*, pages 99–102, 1997.
- [70] K.B. Lipkowitz. Atomistic modeling of enantioselection in chromatography. *J. Chromatography A*, 906:417–442, 2001.
- [71] R. Däppen, H.R. Karfunkel, and F.J.J. Leusen. Computational chemistry applied to the design of chiral stationary phases for enantiomeric separation. *J. Comput. Chem.*, 11:181 – 193, 1990.
- [72] M.G. Still and L.B. Rogers. Computational studies of the chiral separations of three n-acyl-1-aryl-1-aminoethanes on an (r)-n-dinitrobenzoylphenylglycine stationary phase. *Talanta*, 37:599–612, 1990.
- [73] K.B. Lipkowitz, D.A. Demeter, R. Zegarra, R. Larter, and T. Darden. A protocol for determining enantioselective binding of chiral analytes on chiral chromatographic surfaces. *J. Am. Chem. Soc.*, 110:3446–3452, 1988.
- [74] T. Beier and H.-D. Höltje. Modified cyclodextrins as chiral selectors: molecular modelling investigations on the enantioselective binding properties of heptakis(2,3-di-o-methyl-6-o-tert.-butyldimethylsilyl)-b-cyclodextrin. *J. Chromatogr. B*, 708:1–20, 1997.
- [75] G. Zuchowski, K. Zborowski, and J. Bojarski. Rationalization of enantioselective chromatography of 2-thioprominal by means of semiempirical am1 calculation. *Chem. Anal.*, 45(6):767, 2000.
- [76] K. Zborowski and G. Zuchowski. Enantioselective chromatography of alkyl derivatives of 5-ethyl-5-phenyl-2-thiobarbituric acid studied by semiempirical am1 method. 14:632–637, 2002.



- [77] A.M. Da Silva, J. Empis, and J.J.c. Teixeira-Dias. Inclusion of enantiomeric carvones in [ $\beta$ ]-cyclodextrin: a variable temperature 1h-nmr study in aqueous solution. *Journal of Inclusion Phenomena*, 33(1):81–97, 1999.
- [78] P. Camilleri, D.J. Livingstone, J.A. Murphy, and D.T. Manallack. Chiral chromatography and multivariate quantitative structure-property relationships of benzimidazole sulphoxides. *J-CAMD*, 188:61–69, 1993.
- [79] S. Schefzick, M. Lämmerhofer, W. Lindner, K. B. Lipkowitz, and M. Jalaie. Comparative molecular field analysis of quinine derivatives used as chiral selectors in liquid chromatography: 3d qsar for the purposes of molecular design of chiral stationary phases. *Chirality*, 12:742–750, 2000.
- [80] K.F. Riley, M.P. Hobson, and S.J. Bence. *Mathematical Methods for Physics and Engineering*. Cambridge University Press, 2 edition, 2002.
- [81] A. Szabo and N.S. Ostlund. *Modern Quantum Chemistry Introduction to Advanced Electronic Structure Theory*. Dover Publications, Inc. Mineola, New York, 1989.
- [82] P.W. Atkins and R.S. Friedman. *Molecular quantum mechanics*. Oxford University Press, 1997.
- [83] J.A. Pople and D.L. Beveridge. *Approximate molecular orbital theory*. McGraw-Hill, New York, 1970.
- [84] M.J.S. Dewar, E.G. Zöbisch, E.F. Healy, and J.J.P. Stewart. Am1: A new general purpose quantum mechanical molecular model. *J. Am. Chem. Soc.*, 107:3902–3909, 1985.
- [85] J.J.P. Stewart. Optimization of parameters for semiempirical methods i. methods. *J. Comput. Chem.*, 10:209, 1989.
- [86] J.J.P. Stewart. Optimization of parameters for semiempirical methods ii. application. *J. Comput. Chem.*, 10:221, 1989.
- [87] W. Koch and M.C. Holthausen. *A Chemists Guide to Density Functional Theory*. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 2000.

- [88] P. Hohenberg and W. Kohn. Inhomogeneous electron gas. *Phys. Rev.*, 136:864–871, 1964.
- [89] I. N. Levine. *Quantum Chemistry*, chapter 15.20, pages 593–602. Prentice Hall, Inc., 5 edition, 2000.
- [90] Tripos Associates, St. Louis, Missouri, USA. *SYBYL*, 6.9 edition, 11 2002.
- [91] I. N. Levine. *Quantum Chemistry*, chapter 15.22, pages 593–602. Prentice Hall, Inc., 5 edition, 2000.
- [92] W.C. Still, R.C. Hawley, and T. Hendrickson. A general treatment of solvation for molecular mechanics. *J. Am. Chem. Soc.*, 112:6127, 1990.
- [93] D. Qiu. The gb/sa continuum model for solvation. a fast analytical method for the calculation of approximate born radii. *J. Phys. Chem. A*, 101:3005–3014, 1997.
- [94] I. N. Levine. *Quantum Chemistry*, chapter 16.7, pages 680–684. Prentice Hall, Inc., 5 edition, 2000.
- [95] B. Marten, K. Kim, C. Cortis, R.A. Friesner, R.B. Murphy, M.N. Ringnalda, D. Sitkoff, and B. Honig. New model for calculation of solvation free energies: Correction of self-consistent reaction field continuum dielectric theory for short-range hydrogen-bonding effects. *J. Phys. Chem.*, 100:11775–11788.
- [96] Y. Ding, D. Bernardo, K. Krogh-Jespersen, and R.M. Levy. Solvation free energies of small amides and amines from molecular dynamics/free energy perturbation simulations using pairwise additive and many-body polarizable potentials. *J. Phys. Chem.*, 99:11575–11583, 1995.
- [97] A.R. Leach. *Molecular Modelling Principles and Applications*. Pearson Education Limited, Essex, England, 2 edition, 2001.
- [98] H.-D. Höltje, W. Sippl, D. Rognan, and G. Folkers. *Molecular Modeling Basic Principles and Applications*. Wiley-VCH, 2 edition, 2003.
- [99] T. Hassinen. Ghemical. <http://www.uku.fi/thassine/ghemical/ra>.

- [100] OpenEye Scientific Software. *3600 Cerrillos Rd. Suite 1107, Santa Fe, NM 87507*.
- [101] Open Babel. <http://openbabel.sourceforge.net>.
- [102] D.A. Liotard, E.F. Healy, J.M. Ruiz, and M.J.S. Dewar. Ampac version 2.1.
- [103] F. Jensen. Ef.
- [104] G.D. Hawkins, D.J. Giesen, G.C. Lynch, C.C. Chambers, I. Rossi, J.W. Storer, J.L.T. Zhu, J.D. Thompson, P. Winget, B.J. Lynch, D. Rinaldi, D.A. Liotard, C.J. Cramer, and D.G. Truhlar. *AMSOL Version 7.0 Manual*, 2003.
- [105] D. J. Giesen, C. J. Cramer, and D. G. Truhlar. A universal model for the quantum mechanical calculation of free energies of solvation in non-aqueous solvents. *Theoretical Chemistry Accounts*, 98:85–109, 1997.
- [106] [tchibm8.chemie.uni-karlsruhe.de/PC/TheoChem/](http://tchibm8.chemie.uni-karlsruhe.de/PC/TheoChem/). Turbomole.
- [107] [www.msg.ameslab.gov/GAMESS/GAMESS.html](http://www.msg.ameslab.gov/GAMESS/GAMESS.html). Gamess.
- [108] J.R. Wright. *Jaguar User Guide*. Schroedinger, Inc., 2001.
- [109] D. J. Tannor, B. Marten, R. Murphy, R.A. Friesner, D. Sitkoff, A. Nicholls, M. Ringnalda, W.A. Goddard, and B. Honig. Accurate first principle calculation of molecular charge distribution and solvation energies from ab initio quantum mechanics and continuum dielectric theory. *J. Am. Chem. Soc.*, 116:11875–11882, 1994.
- [110] A. Ben-Naim and Y.J. Marcus. Solvation thermodynamics of nonionic solutes. *J. Chem. Phys.*, 81:2016–2027, 1984.
- [111] Dr. Olga Kennard. F.r.s cambridge structural database.
- [112] <http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/csd/statistics/>.
- [113] Conquest version 1.6. *Copyright CCDC*, 2003.

- [114] J. Gasteiger and M. Marsili. Iterative partial equalization of orbital electronegativity - a rapid access to atomic charges. *Tetrahedron*, 36:3219–3228, 1980.
- [115] W.H. Press, B.P. Flannery, S.A. Teukolsky, and W.T. Vetterling. *Numerical Recipes in C, The Art of Scientific Computing*. Cambridge University Press, 1988.
- [116] W. Heiden, G. Möckel, and J. Brickman. A new approach to analysis and display of local lipophilicity/hydrophilicity mapped on molecular surfaces. *J. Comput.-Aided Mol. Design*, 7:503–514, 1993.
- [117] P. Furet, A. Sele, and N.C. Cohen. 3d molecular lipophilicity potential profiles: a new tool in molecular modeling. *J. Mol. Graphics*, 6:182–189, 1988.
- [118] M. L. Connolly. Solvent-accessible surfaces of proteins and nucleic acids. *Science*, 221:709–713, 1983.
- [119] M. Clark, R.D. Cramer, and N. Van Opdenbosch. Validation of the general purpose tripos 5.2 force field. *J. Comput. Chem.*, 10:982–1012, 1989.
- [120] K. Gundertofte, T. Liljerfors, P.-O. Norrby, and I. Pettersson. A comparison of conformational energies calculated by several molecular mechanics methods. *J. Comput. Chem.*, 17:429, 1996.
- [121] M.C. Nicklas. Conformational energies calculated by the molecular mechanics program charmm. *J. Comput. Chem.*, 18(1056-1060), 1997.
- [122] N.L. Allinger and L. Yan. Molecular mechanics (mm3). calculations of furan, vinyl ethers, and related compounds. *J. Am. Chem. Soc.*, 115(11918-11925), 1993.
- [123] B.R. Brooks, R.E. Bruccoleri, B.D. Olafson, D.J. States, S. Swaminathan, and M. Karplus. Charmm: A program for macromolecular energy, minimisation and dynamics calculations. *J. Comput. Chem.*, 4(187):187–217, 1983.
- [124] W.J. Hehre. *Practical Strategies for Electronic Structure Calculations*. Wavefunction, 1995.

- [125] H.F. Dos Santos and W.B. De Almeida. Mndo/am1/pm3 quantum mechanical semiempirical and molecular mechanics barriers to internal rotation: a comparative study. *J. Mol. Struct.*, 335(129-139), 1995.
- [126] G. Buemi, F. Zuccarello, and A. Raudino. Hydrogen bonding and rotation barriers: a comparison between mndo and am1 results. *J.Mol.Struct.THEOCHEM*, 164:379–389, 1988.
- [127] A.A. Bliznyuk and A.A. Voityuk. Mndo/m calculations on hydrogen bonded systems. *J. Molec. Struct.*, 164:343–349, 1988.
- [128] J.J. Dannenberg. Hydrogen-bonds: A comparison of semiempirical and ab initio treatments. *J. Mol. Struct.*, 401:279–286, 1997.
- [129] B. Paizs and S. Suhai. Comparative study of bsse correction methods at dft and mp2 levels of theory. *J. Comput. Chem.*, 19:575–584, 1998.

# Anhang A

## Entwickelte Programme

In diesem Anhang sind lediglich die Header- Dateien aller entwickelten Klassen und der komplette Quellcode der Programme abgedruckt. Die Implementierung der Klassen hätte zu viel zusätzlichen Platz eingenommen.

### A.1 Header Dateien

#### gm\_error.h

```
#ifndef GM_ERROR_H
#define GM_ERROR_H 1

#include<fstream>
#include<string>

namespace ERROR {
    using std::string;
    using std::cerr;
    struct file_open_error
    {
        const char* file;
        file_open_error( const char* f ) {
            file = f;
        }
        void print_error_message() {
            cerr << "cannot open file " << file << "\n";
        }
    };
};
```

```
    }
};
struct file_read_error
{
    const char* file;
    int line;
    file_read_error( const char* f, int l=0 ) {
        file = f;
        line = l;
    }
    void print_error_message() {
        cerr << "cannot read from file " << file << "\n";
        if ( line != 0 ) cerr << "error on line " << line << "\n";
    }
};
}

#endif // GM_ERROR_H
```

### gm\_fileio.h

```
#ifndef GM_FILEIO_H
#define GM_FILEIO_H 1

#include<fstream>
#include<string>
#include<iostream>

#include"gm_mol.h"
#include"gm_searchitem.h"
#include"gm_searchengine.h"
#include"gm_error.h"

void read_par_file( std::string file_name,
    gm_search_engine&, bool quiet = false );
void read_par_file( const char* file_name,
    gm_search_engine&, bool quiet = false );
```

```
void read_min_file( std::string file_name, gm_mol& );
void read_min_file( const char* file_name, gm_mol& );

void read_MOL2_file( std::string file_name, gm_mol& );
void read_MOL2_file( const char* file_name, gm_mol& );

void print_MOPAC_file( std::string file_name,
    std::string setup_file, gm_mol& );
void print_MOPAC_file( const char* file_name,
    const char* setup_file, gm_mol& );

void print_JAGUAR_file( std::string file_name,
    std::string setup_file, gm_mol& );
void print_JAGUAR_file( const char* file_name,
    const char* setup_file, gm_mol& );

bool read_AMPAC_file( std::string file_name,
    std::string setup_file, gm_mol& );
bool read_AMPAC_file( const char* file_name,
    const char* setup_file, gm_mol& );

#include"gm_fileio.cpp"
#endif // GM_FILEIO_H

gm_internal.h

#ifndef GMINTERNAL_H
#define GMINTERNAL_H 1

#include<vector>
#include"mol.h"

using OpenBabel::OBAtom;
```



```
using std::vector;

enum ICTYPE { ME, BND, ANG, TOR, NOTDEFINED };

class gm_internal_coord
{
    OBAtom* iatom[4];
public :
    gm_internal_coord();
    bool min_flag[4];
    unsigned int get_atom_idx(ICTYPE i) const;
    OBAtom* get_atom(ICTYPE i) const;
    void set_atom(ICTYPE i, OBAtom* a);
};
```

```
#include"gm_internal.cpp"
#endif // GMINTERNAL_H
```

### gm\_mol.h

```
#ifndef GM_MOL_H
#define GM_MOL_H 1

#include<string>
#include<fstream>
#include<iostream>
#include<vector>
#include<stack>

using std::stack;
using std::vector;
using std::string;
using std::cout;

#include"mol.h"
```

```
#include"gm_internal.h"
#include"quaternion.h"

using namespace OpenBabel;

class gm_mol : public OBmol
{
    OBAAtom* get_internal_bond (OBAAtom*);
    OBAAtom* get_internal_angle (OBAAtom*);
    OBAAtom* get_internal_torsion (OBAAtom*);
public:
    void setup_internal_coords();
    vector<gm_internal_coord*> vic;
    vector<gm_internal_coord*>::iterator it;
    int modify_constraints(
        ICTYPE ict, vector< string > &v, bool flag);
    bool modify_constraints(
        ICTYPE ict, vector< unsigned int > &v, bool flag);
    void set_torsion( OBAAtom*, OBAAtom*, OBAAtom*, OBAAtom*, float a );
    void set_angle ( OBAAtom*, OBAAtom*, OBAAtom*, float a );
    void find_children ( vector<OBAAtom*>& v, OBAAtom* a, OBAAtom* b);
    gm_mol();
    ~gm_mol() {};
};

#include"gm_mol.cpp"
#endif // GM_MOL_H

gm_searchengine.h

#ifndef GM_SEARCHENGINE_H
#define GM_SEARCHENGINE_H 1

#include "gm_mol.h"
#include "gm_searchitem.h"
```

```

class gm_search_engine
{
    private:
        gm_mol* mol;
        vector < gm_search_item* > tv;
        vector < gm_search_item* > ::iterator it;
        int nvar;
        int n1;
        bool overflow;
        bool firstround;
        void update_all();
    public:
        gm_search_engine (gm_mol*);
        ~gm_search_engine() {}
        void add_item(gm_search_item * g);
        void print_current_values( std::ostream& );
        vector < double > analyze_values ( );
        bool take_step();
        gm_mol* get_molecule();
};

```

```

#include"gm_searchengine.cpp"
#endif // GM_SEARCHENGINE_H

```

### gm\_searchitem.h

```

#ifndef GM_SEARCHITEM_H
#define GM_SEARCHITEM_H 1

#include <iostream>
#include "gm_mol.h"
#include "gm_error.h"

class gm_search_item
{
    protected :
        gm_search_item( gm_mol* m );
        virtual ~gm_search_item(){
            gm_mol* mol;
        }
    public :
        vector <float> list;
        vector <float> ::iterator now;
};

```

```
float get_now() const;
void increment();
bool overflow();
void reset();
virtual void update() = 0;
virtual bool set_atoms( vector < unsigned int >& ) = 0;
virtual void print ( std::ostream& ) = 0;
virtual double analyze() = 0;
};

class gm_torsion : public gm_search_item
{
private :
    OBAAtom *a, *b, *c, *d;
public :
    gm_torsion ( gm_mol* m );
    bool set_atoms( vector < unsigned int>& );
    void update();
    void print ( std::ostream& );
    double analyze();
    virtual ~gm_torsion() { }
};

class gm_angle : public gm_search_item
{
private :
    OBAAtom *a, *b, *c;
public :
    gm_angle ( gm_mol* m );
    bool set_atoms( vector < unsigned int >& );
    void update();
    void print ( std::ostream& );
    double analyze();
    virtual ~gm_angle() { }
};

#include"gm_searchitem.cpp"
#endif // GM_SEARCHITEM_H
```

## A.2 C++ Programme

**setup\_search.cpp** Dieses Programm kann verschiedene Strukturdatenbanken aufbauen. Es können Winkel und/oder Torsionswinkel angegeben werden, die dann systematisch variiert werden. Es wird ein Verzeichnis erstellt, das Moleküle in allen Kombinationen der angegebenen Parameter enthält.

```
#include<iostream>
#include<string>
#include <sys/stat.h>

#include"gm_tools.h"
#include"gm_mol.h"
#include"gm_searchengine.h"
#include"gm_fileio.h"

using namespace std;

int main(int argc, char* argv [])
{
    string mol_file = "";
    string dir = "";
    string par_file = "";
    string arg;

    // process input //
    for ( int i = 1; i != argc; ++i ) {
        string arg = argv[i];
    if ( arg == "-f" && ++i <= argc ) {
        mol_file = argv[i];
        continue;
    }
    if ( arg == "-p" && ++i <= argc ) {
        par_file = argv[i];
        continue;
    }
    if ( arg == "-d" && ++i <= argc ) {
        dir = argv[i];
        if ( mkdir(dir.c_str(), 0711) == -1 ) {
            cerr << "cannot create directory " << dir << "\n";
        }
    }
}
```

```
        return (-1);
    }
    if ( dir[string::npos] != '/' ) dir += "/";
    continue;
}
cerr << arg << " argument not supported\n";
return (-1);
}

// check input //
if ( mol_file == "" || dir == "" || par_file == "" ) {
cerr << "usage : " << argv [0] << "\n"
    << "-d      directory to put files\n"
        << "-f      name of .mol2 file\n"
        << "-p      name of .par file\n";
return (-1);
}

gm_mol mol;
gm_search_engine gms( &mol );

try
{
    cout << "\nReading mol file ... \n\n";
    ifstream ifs ( mol_file.c_str() );
    OBFileFormat::ReadMolecule ( ifs, mol );

    cout << "\nReading par file ... \n\n";
    read_par_file ( par_file, gms );
}

catch ( ERROR::file_read_error f ) {
    f.print_error_message();
    return (-1);
}

catch ( ERROR::file_open_error f ) {
    f.print_error_message();
    return (-1);
}

string bn = mol_file.substr( 0, mol_file.find_last_of ( "." ) );
string fn;
```

```
cout << "Printing file ...\\n\\n";
int cnt = 0;

while ( gms.take_step() )
{
    fn = bn + to_string( 4, ++cnt ) + ".mol2";
    mol.SetTitle( fn );
    fn = dir + fn;
    cout << fn << " ";
    gms.print_current_values( cout );
    ofstream fout ( fn.c_str() );
    OBFileFormat::WriteMolecule ( fout, mol );
}

cout << "\\nDONE\\n\\n";
return (0);
}
```

**convert\_zm.cpp** Mit Hilfe dieses Programms können Moleküle im MOL2 Format in verschiedene Z-Matrix Darstellungen konvertiert werden. Dabei kann angegeben werden, welche Freiheitsgrade minimiert werden sollen. Als Ausgabeformate sind Mopac, Jaguar und Amsol möglich. Die Angaben in einer Setup-Datei werden so in die Ausgabedatei übertragen, dass alle Eingabeoptionen für die oben angegebenen Programme realisiert werden können.

```
#include<iostream>
#include<string>
#include<fcntl.h>

#include"gm_tools.h"
#include"gm_mol.h"
#include"gm_searchengine.h"
#include"gm_fileio.h"

using namespace std;

int main(int argc, char* argv [])
{
```

```

typedef void ( *FPTR ) ( string, string, gm_mol& );
FPTR print_file = 0;
string mol_file = "";
string setup_file = "";
string min_file = "";
string out_file = "";
string arg;
for ( int i = 1; i != argc; ++i ) {
    string arg = argv[i];
if ( arg == "-f" && ++i <= argc ) {
    mol_file = argv[i];
    continue;
    }
    if ( arg == "-o" && ++i <= argc ) {
        out_file = argv[i];
        continue;
    }
    if ( arg == "-s" && ++i <= argc ) {
        setup_file = argv[i];
        continue;
    }
    if ( arg == "-m" && ++i <= argc ) {
        min_file = argv[i];
        continue;
    }
    if ( arg == "-ams" ) { print_file = print_MOPAC_file ; continue; }
    if ( arg == "-jag" ) { print_file = print_JAGUAR_file; continue; }

    cerr << arg << " argument not supported\n";
    return (-1);
}

if ( mol_file == "" || min_file == "" ||
    setup_file == "" || out_file == "" ||
    !print_file )
{
cerr << "usage : " << argv [0] << "\n"
    << "-ams    or\n-jag    to indicate output type\n"
    << "-f      name of .mol2  file\n"
    << "-o      name of .out   file\n"
    << "-m      name of .min   file\n"
    << "-s      name of .setup file\n";
return (-1);
}

```



```
    }

    gm_mol mol;

    try
    {
        cout << "\nReading mol file " << mol_file << " ...\n";
        read_MOL2_file( mol_file, mol );
        cout << "\nReading min file " << min_file << " ...\n\n";
        read_min_file ( min_file, mol );
        cout << "\nPrinting out file " << out_file << " ...\n\n";
        print_file ( out_file, setup_file, mol );
    }

    catch ( ERROR::file_read_error f ) {
        f.print_error_message();
        return (-1);
    }
    catch ( ERROR::file_open_error f ) {
        f.print_error_message();
        return (-1);
    }
    }

    return (0);
}
```

**measure.cpp** Das hier abgedruckte Skript ermöglicht es verschiedene strukturelle Parameter aus einem Ausgabefile zu extrahieren. Es ermöglicht weiterhin zusätzliche Informationen wie Energiewerte oder Molekülnamen auszugeben.

```
#include<iostream>
#include<string>
#include"mol.h"

using namespace OpenBabel;
using namespace std;

int main(int argc, char* argv [])
```

```
{

    cout.setf ( std::ios_base::fixed );
    cout.setf ( std::ios::right );

    if ( argc < 3 )
    {
        cerr << "ERROR: give type of input,"
              << " name of file\n -n -a, -t, -e, -d, -v\n";
        return (0);
    }

    if (! extab.CanReadExtension(argv[1]))
    {
        cerr << "ERROR: can't read requested file type " << argv[1] << "\n";
        cout << "\n";
        return (0);
    }

    io_type inFileType = extab.FileNameToType(argv[1]);

    OBMol mol (inFileType,MOL2);
    ifstream ifs( argv[2] );
    if ( !ifs )
    {
        cerr << "ERROR: can't find molecule: " << argv[2] << "\n";
        cout << "\n";
        return (0);
    }

    if ( ! OBFileFormat::ReadMolecule ( ifs, mol ) )
    {
        cerr << "ERROR reading file " << argv[2] << "\n";
        cout << "\n";
        return (0);
    }

    for ( int i = 3; i < argc; ++i ) {
        string arg = argv[i];

        if ( arg == "-a" )
        {
            if ( i + 3 >= argc ) {
```

```
        cerr << "ERROR: need 3 arguments for angle measurement\n";
        cout << "\n";
        return(0);
    }
    OBAAtom* a = mol.GetAtom( atoi (argv[++i]) );
    OBAAtom* b = mol.GetAtom( atoi (argv[++i]) );
    OBAAtom* c = mol.GetAtom( atoi (argv[++i]) );
    if ( !a || !b || !c ) {
        cerr << "ERROR: can't find atoms with corresponding ID's\n";
        cout << "\n";
        return (0);
    }
    cout.width(11);
    cout << OpenBabel::vectorAngle( a->GetVector() - b->GetVector(),
        c->GetVector() - b->GetVector() ) << " " ;
    continue;
}

if ( arg == "-t" )
{
    if ( i + 4 >= argc ) {
        cerr << "ERROR: need 4 arguments for torsion measurement\n";
        cout << "\n";
        return(0);
    }
    OBAAtom* a = mol.GetAtom( atoi (argv[++i]) );
    OBAAtom* b = mol.GetAtom( atoi (argv[++i]) );
    OBAAtom* c = mol.GetAtom( atoi (argv[++i]) );
    OBAAtom* d = mol.GetAtom( atoi (argv[++i]) );
    if ( !a || !b || !c || !d ) {
        cerr << "ERROR: can't find atoms with corresponding ID's\n";
        cout << "\n";
        return (0);
    }
    cout.width(10);
    cout << OpenBabel::CalcTorsionAngle ( a->GetVector(),
        b->GetVector(), c->GetVector(), d->GetVector() ) << " " ;
    continue;
}

if ( arg == "-d" )
{
    if ( i + 2 >= argc ) {
```

```
        cerr << "ERROR: need 2 arguments for distance measurement\n";
        cout << "\n";
        return(0);
    }
    OAtom* a = mol.GetAtom( atoi (argv[++i]) );
    OAtom* b = mol.GetAtom( atoi (argv[++i]) );
    if ( !a || !b ) {
        cerr << "ERROR: can't find atoms with corresponding ID's\n";
        cout << "\n";
        return (0);
    }
    cout.width(12);
    cout << ( a->GetVector() - b->GetVector()).length () << " " ;
    continue;
}

if ( arg == "-e" ) {
    cout.width(12);
    cout << mol.GetEnergy() << " " ;
    continue;
}

if ( arg == "-n" ) {
    cout.width(15);
    cout << left << mol.GetTitle() << " " ;
    continue;
}

if ( arg == "-v" )
{
    if ( i + 1 >= argc ) {
        cerr << "ERROR: need 1 argument for vector measurement\n";
        cout << "\n";
        return(0);
    }
    OAtom* a = mol.GetAtom( atoi (argv[++i]) );
    if ( !a ) {
        cerr << "ERROR: can't find atoms with corresponding ID's\n";
        cout << "\n";
        return (0);
    }
    vector3 v = a->GetVector();
    cout.width(10); cout << v.x() << " " ;
}
```

```

        cout.width(10); cout << v.y() << " ";
        cout.width(10); cout << v.z() << " ";
        continue;
    }
    cerr << arg << " argument not supported\n";
    cout << "\n";
    return (0);
}
cout << "\n";
return (1);
}

```

### A.3 SPL Skripte

SPL steht für Sybyl Programming Language. Dies bezeichnet eine Makro-Sprache, die einen Teil der Funktionalität des Programmpaketes Sybyl bereitstellt. Es können Abläufe automatisiert werden. Hier ist eine Auswahl an kurzen Skripten abgedruckt, die häufig für verschiedene Fragestellungen benutzt wurden.

**db\_min\_bfgs.spl** Dieses Skript eignet sich dazu Moleküldatenbanken durchzuminimieren. Das heisst es wird jedes Molekül eingelesen und entsprechend den angegebenen Parametern optimiert. Dieses Makro lässt sich in analoger Weise leicht für verschiedenen Aufgabenstellungen abwandeln.

```

#####
###      db_min_bfgs.spl                               ###
###      minimizes all database members according to   ###
###      parameters                                    ###
###      02.05.2004 Gerd Menche HHU Duesseldorf       ###
#####

```

```
uims define macro db_min_bfgs sybylbasic yes
```

```
setvar cgq_old $cgq_timeout
set cgq 0
```

```

if %not($database_name)
echo A Sybyl database has not been opened.
return
endif

setvar TAILOR!MAXIMIN2!MINIMIZATION_METHOD BFGS
setvar TAILOR!MAXIMIN2!TERMINATION_OPTION GRADIENT
setvar TAILOR!MAXIMIN2!RMS_GRADIENT 0.02
setvar TAILOR!MAXIMIN2!MAXIMUM_ITERATIONS 2000

for molecule in %database(*)
  echo minimizing $molecule '...'
  database get "$molecule" m1      > $nulldev
  maximin2 m1 done interactive     > $nulldev
  database add m1 replace           > $nulldev
endfor

set cgq_timeout $cgq_old
.

db_mop_geo.spl Das Programm db_mop_geo ermöglicht es die Ergebnisse
einer Mopac-Rechnung auf eine Moleküldatenbank zu übertragen. Dabei werden
sowohl die Partialladungen, als auch die Geometrien übernommen.

#####
###      db_mop_geo.spl                               ###
###      retrieve charges and geometries from MOPAC run  ###
###      07.04.2003 Gerd Menche HHU Duesseldorf         ###
#####

uims define macro db_mop_geo sybylbasic yes

setvar cgq_old $cgq_timeout
set cgq 0

if %not($1)
  echo db_mop_geo : directory with MOPAC calculations required
  return
endif

```

```

if %not($database_name)
    echo A Sybyl database has not been opened.
    return
endif

for molecule in %database(*)
    database get "$molecule" m1
    QCPE m1 MOPAC RETRIEVE %cat($1 $molecule) COULSON_CHARGES |
    QCPE m1 MOPAC RETRIEVE %cat($1 $molecule) GEOMETRY |
    database add m1 replace
endfor

set cgq_timeout $cgq_old
.

```

**db\_uni.spl** Minimiert man einen Satz an Konformeren eines gegebenen Moleküls in allen Freiheitsgraden, so wird man häufig ähnliche Struktur erhalten. Dieses Skript ermöglicht es diese Strukturen anhand eines RMSD Wertes zu vergleichen. Stimmt der erhaltene Wert innerhalb eines anzugebenden Höchstabweichung überein, wird die Geometrie mit der ungünstigeren Kraftfeldenergie aus der Datenbank gelöscht.

```

#####
###      db_uni.spl                               ###
###      Finds Elements within given RMSD and deletes  ###
###      the energetically less favourable           ###
###      rms threshold as argument required          ###
###      18.09.2002 Gerd Menche HHU Duesseldorf     ###
#####

uims define macro db_uni sybylbasic yes

setvar cgq_old $cgq_timeout
set cgq 0

if %not($1)
echo rms threshold as parameter required
return
endif

```

```

if %not($database_name)
echo A Sybyl database has not been opened.
return
endif

setvar work_area m1
setvar match_area m2

for molecule in %database(*)
  database get "$molecule" $work_area > $nulldev
  echo testing $molecule '...'
  for matchmol in %database(*)
    database get "$matchmol" $match_area > $nulldev
    if %streql(%mol_info($work_area name) %mol_info($match_area name))
      goto next_molecule
    endif
    match %cat( $match_area "(*-<H>)" ) \
          %cat( $work_area "(*-<H>)" ) > $nulldev
    if %lteq($match_rms $1)
      if %gteq(%ENERGY($work_area(*)) %ENERGY($match_area(*)))
        database delete molecule $molecule YES > $nulldev
        echo $molecule deleted from database eq2 $matchmol
        goto next_molecule
      endif
      database delete molecule $matchmol YES > $nulldev
      echo $matchmol deleted from database eq2 $molecule
    endif
  endfor
  next_molecule:
endfor
zap *
set cgq_timeout $cgq_old
.
```

**db\_reflect.spl** Da in der vorliegenden Arbeit die Konformationsanalyse für jeweils das S-Enantiomer der Selektanden durchgeführt wurde, mussten die R-Konformere durch Spiegelung erhalten werden. Dieses kurze Skript automatisiert diesen Prozess. Die Spiegelebene wird durch drei Atome konstruiert, die angegeben werden müssen.



```

uims define macro refl sybylbasic yes

if %not($database_name)
echo A Sybyl database has not been opened.
return
endif

setvar old_timeout $cgq_timeout
set cgq_timeout 0

setvar at1 " "
setvar at2 " "
setvar at3 " "

for molecule in %database(*)
  database get "$molecule" m1 > $nulldev

  setvar at1 %PROMPTIF("$at1" atom " " "give 1st Atom")
  setvar at2 %PROMPTIF("$at2" atom " " "give 2nd Atom")
  setvar at3 %PROMPTIF("$at3" atom " " "give 3rd Atom")
  setvar arg %cat('M1((( ' $at1 ')+' $at2 ')+' $at3 ') P " "')
  echo $arg
  DEFINE PLANE $arg
  REFLECT * P
  REMOVE PLANE M1 P
  database add m1 replace > $nulldev
endfor

set cgq_timeout $old_timeout
.

```

**part\_min\_ff.spl** Das Makro `part_min_ff` fragt eine Liste von Torsionswinkeln ab. Alle Strukturen der geöffneten Datenbank werden dann minimiert unter Fixierung der angegebenen Torsionswinkel. Dieses Programm wurde für alle Konformationsanalysen mit dem Tripos Kraftfeld verwendet.

```
#####
### part_min_ff.spl          ###
### will do a semirigid optimization  ###
### fixing torsional angles      ###
### 01.03.2004 Gerd Menche HHU    ###
#####

uims define macro min_ff sysbylbasic yes

setvar old_timeout $cgq_timeout
set cgq_timeout 0

if %not($database_name)
    echo "no database open"
    return
endif

setvar nvar 0

### input section

WHILE TRUE

    echo "give 4 atom ID's defining the torsional angle to fix / 999 to end"
    setvar atlist %PROMPT("anything" "" "conan" "")

    IF %eq(%ARG(1 $atlist) 999)
GOTO mark1
ENDIF

    setvar nvar %math($nvar + 1)

    setvar a[$nvar] %ARG(1 $atlist)
    setvar b[$nvar] %ARG(2 $atlist)
```

```
setvar c[$nvar] %ARG(3 $atlist)
setvar d[$nvar] %ARG(4 $atlist)
```

```
ENDWHILE
```

```
mark1:
```

```
for molecule in %database(*)
  echo minimizing $molecule '...'
  database get "$molecule" m1 > $nulldev

  for n in %range( 1 $nvar )

    setvar tor %TORSION( $a[$n] $b[$n] $c[$n] $d[$n] )
    DEFINE CONSTRAINT TORSION $a[$n] $b[$n] $c[$n] $d[$n] $tor 100
    echo $a[$n] $b[$n] $c[$n] $d[$n] $tor

  endfor

  maximin2 m1 done interactive > $nulldev
  constraint remove torsion m1 * > $nulldev
  DATABASE ADD M1 replace

endfor

set cgq_timeout $old_timeout
.
```

# Anhang B

## OpenDx Programme

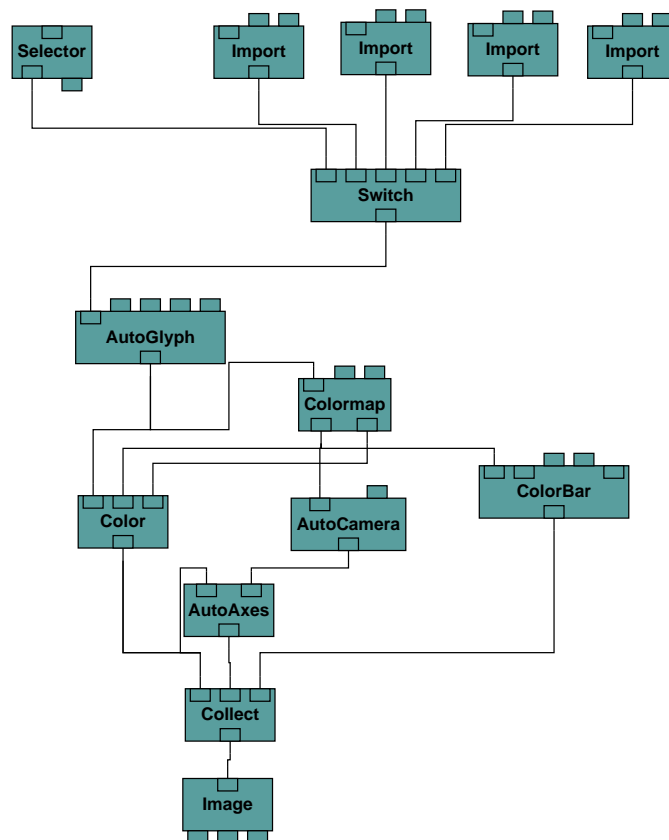


Abbildung B.1: dx Programm für die Visualisierung der Ergebnisse der Untersuchung der Salzbrücke

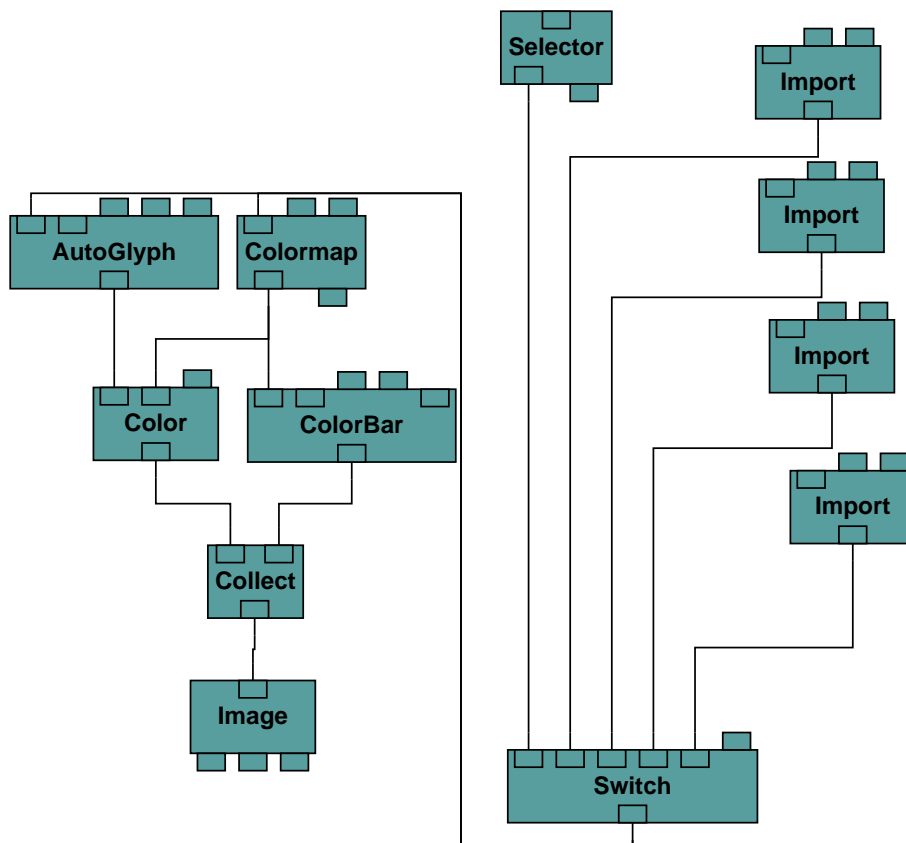


Abbildung B.2: dx Programm für die Visualisierung der Ergebnisse der Konformationsanalyse des *S*-N-Acetylvalins

# Anhang C

## Minimierungsparameter und Keywords

### Werte der Minimierungsparameter bei den Kraftfeldrechnungen

TAILOR!MAXIMIN2!BATCH\_CHECKPOINT\_INTERVAL 0  
TAILOR!MAXIMIN2!COLOR\_OPTION POTENTIAL  
TAILOR!MAXIMIN2!GRAPHICS\_UPDATE 1  
TAILOR!MAXIMIN2!LIST\_TERMS NO  
TAILOR!MAXIMIN2!LS\_ACCURACY 0.001  
TAILOR!MAXIMIN2!LS\_STEP\_SIZE 0.001  
TAILOR!MAXIMIN2!MAXIMUM\_ITERATIONS 500  
TAILOR!MAXIMIN2!MAX\_DISPLACEMENT 0.01  
TAILOR!MAXIMIN2!MINIMIZATION\_METHOD POWELL  
TAILOR!MAXIMIN2!MIN\_ENERGY\_CHANGE 0.050  
TAILOR!MAXIMIN2!NON\_BONDED\_RESET 10  
TAILOR!MAXIMIN2!RESET\_COUNT 100  
TAILOR!MAXIMIN2!RMS\_DISPLACEMENT 0.001  
TAILOR!MAXIMIN2!RMS\_GRADIENT 0.050  
TAILOR!MAXIMIN2!SIMPLEX\_ITERATIONS 20  
TAILOR!MAXIMIN2!SIMPLEX\_THRESHOLD 1000.0  
TAILOR!MAXIMIN2!SITE\_DAMPING 0.8  
TAILOR!MAXIMIN2!STATUS\_UPDATE 1  
TAILOR!MAXIMIN2!TERMINATION\_OPTION GRADIENT

TAILOR!MAXIMIN2!THRESHOLD -10.0

### **Keywords der Amsol-Rechnungen**

#### **AM1**

AM1 SM5.4a IOFR=1.3288

ALPHA=0.43 BETA=0.47 GAMMA=22.1

GEO-OK DIELEC=32.63 SOLVNT=GENORG

#### **PM3**

PM3 SM5.4p IOFR=1.3288

ALPHA=0.43 BETA=0.47 GAMMA=22.1

GEO-OK & DIELEC=32.63 SOLVNT=GENORG

### **Keywords der Jaguar-Rechnungen**

#### **GGA**

idft=4441 igeopt=1 isolv=2

epsout=41.81 radprb=1.89768 ip11=2

#### **B3LYP**

idft=22111 igeopt=1 isolv=2

epsout=41.81 radprb=1.89768

basis=6-31G\*\* ip11=2

# Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die am Zustandekommen dieser Arbeit beteiligt waren. Dazu zählen neben meinem Betreuer vor allem meine Kollegen Britta Bröer, Birgit Schlegel und Bernd Rupp. Bernd Rupp danke ich besonders für das Interesse an meiner Arbeit und die unzähligen Gespräche zu den unterschiedlichsten wissenschaftlichen Themen. Vielen Dank an Britta Bröer und Birgit Schlegel für Ihre Freundschaft und das Korrekturlesen der Arbeit, vor allem für das richtige Setzen aller Kommatas.

Bei allen anderen Mitgliedern des Arbeitskreises, auch den ehemaligen Kollegen, bedanke ich mich für die aufmunternden Worte und die nette Aufnahme im Arbeitskreis.

Den Kollegen, die mit mir das Praktikum der Instrumentellen Analytik betreut haben, möchte ich auch herzlich danken für die gute Zusammenarbeit. Neben denen, die ich bereits erwähnt habe, möchte ich dabei die Praktikumsleiter Prof. Joachim Jose und Dr. Carsten Wittekind, aber auch Joachim Schönlau, Dirk Betscheider und Ricardo Bollig hervorheben. Die Studentenbetreuung - besonders mit Euch zusammen - hat mir sehr viel Freude bereitet.

Meiner Familie und meinen Freunden außerhalb der Universität vielen Dank für die Unterstützung und Ablenkung während der gesamten Studien- und Promotionszeit.



## **Lebenslauf**

**Name** Gerd Menche

**Geburt** 24.09.1973 in Bad Hersfeld

**Familienstand** ledig, eine Tochter

### **Schulbildung**

1984 - 1992 Armin Knab Gymnasium Kitzingen

1992 - 1994 Steigerwald Landschulheim Wiesentheid

### **Zivildienst**

1994 - 1995 Kreiskrankenhaus Kitzingen

### **Hochschulstudium**

1995 - 1997 Studium der Pharmazie an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg

1997 - 2000 Studium der Pharmazie an der Christian-Albrechts-Universität Kiel

### **Pharmazeutisches Praktikum**

Juni - Nov. 2000 Ostsee Apotheke Kiel

Dez. - Mai 2001 Institut für Pharmazeutische Chemie Heinrich Heine Universität Düsseldorf Arbeitskreis Prof. Höltje

Juli 2001 Erteilung der Approbation

### **Promotion**

Juni 2001 - Jan. 2005 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Pharmazeutische Chemie Heinrich Heine Universität Düsseldorf

Anfertigung einer Dissertation mit dem Thema  
Molecular Modelling Untersuchungen zur Enantiomerentrennung in der HPLC

Assistententätigkeit im Praktikum Instrumentelle Analytik