

## Molekulares Prägen (Imprinting) in vernetzten Materialien mit Hilfe von Matrizenmolekülen – auf dem Weg zu künstlichen Antikörpern

Günter Wulff\*

Kann man in organischen oder anorganischen Polymeren Bindungsstellen ähnlich denen in Antikörpern herstellen, die für die molekulare Erkennung und unter Umständen für die Katalyse geeignet sind? In diesem Beitrag wird über ein Verfahren zusammenfassend berichtet, bei dem – ähnlich wie man es sich früher für die Bildung der Antikörper vorstellte – um ein als Matrize (Schablone, Templat) wirkendes Molekül herum in Gegenwart von wechselwirkenden Monomeren vernetzend polymerisiert wird. Nach dem Abtrennen der Matrize bleibt im Polymer ein Abdruck (Imprint) mit zur Wechselwirkung befähigten Gruppen zurück, wobei dessen Form und die Anordnung der Haftgruppen in ihm

komplementär zur Struktur des Matrizenmoleküls sind. Der Erfolg des Prägevorgangs kann bei Verwendung chiraler Matrizenmoleküle anhand der Fähigkeit des Polymers zur Spaltung des Racemats der als Matrize verwendeten Verbindung ermittelt werden. Nach umfangreichen Optimierungen des Verfahrens werden heute in der Chromatographie Trennfaktoren  $\alpha$  von 4–8 und Basislinien-Trennungen erhalten. Starkes Interesse gilt auch der Oberflächenprägung von Festkörpern und Monoschichten. Von entscheidender Bedeutung sind in allen Fällen die Struktur der Matrix in den geprägten Materialien und die Funktion der Haftgruppen. Der Mechanismus des Prägens und die mole-

kulare Erkennung von Substraten werden heute schon recht gut verstanden. Zahlreiche praktische Anwendungen derartig hergestellter Produkte werden intensiv bearbeitet. Insbesondere für die chromatographische Racematspaltung sowie die Verwendung als Chemosensoren, als künstliche Antikörper und als selektive Katalysatoren sind technische Anwendungen in Sicht. Von besonderem Interesse ist auch die Verwendung entsprechend hergestellter Verbindungen als Enzymmodelle.

**Stichworte:** Enantiomerentrennung · Imprinting · Katalyse · Molekulare Erkennung · Polymere

### 1. Einleitung

Molekulare Erkennung spielt in der Natur, z.B. bei Rezeptoren, Enzymen und Antikörpern, eine entscheidende Rolle für die biologischen Wirkungen. Auch der Chemiker hat es verstanden, immer selektivere Erkennungssysteme zu entwickeln. Besonders hohe Selektivität wird erreicht, wenn – ähnlich wie in der Natur – ein Hohlraum vorhanden ist, dessen Form komplementär zu der des einzulagernden Substrats ist, und sich im Hohlraum Haftgruppen in definierter räumlicher Anordnung befinden. Üblicherweise werden als Hohlräume niedermolekulare Ring- oder Käfigsysteme<sup>[1]</sup> wie Kronenether<sup>[2]</sup>, Cryptandane<sup>[3]</sup>, Cyclodextrine<sup>[4]</sup>, Cyclophane<sup>[5]</sup> oder konkave Moleküle<sup>[6]</sup> verwendet. Von besonderem Interesse ist der zusätzliche Einbau katalytisch wirksamer Gruppierungen, der zu enzymähnlichen Katalysatoren führen kann.

Durch ein im Prinzip sehr einfaches Verfahren lassen sich nun entsprechende Hohlräume auch in synthetischen Polymeren erhalten. Dabei wird – ähnlich wie man es sich früher für die

Bildung der Antikörper vorstellte<sup>[7]</sup> – um ein als Matrize (Schablone, Templat) wirkendes Molekül herum vernetzend polymerisiert und dieses anschließend wieder herausgelöst. Zurück bleibt im Polymer ein Abdruck (Imprint) mit zu Wechselwirkungen befähigten Gruppen<sup>[8]</sup>. Dieses Verfahren unterscheidet sich von denen, die den üblichen Templateffekt nutzen<sup>[9]</sup>, bei dem niedermolekulare Reaktanten durch ein Templat in eine für die Bildung eines bestimmten niedermolekularen (meist cyclischen) Produkts geeignete Anordnung gebracht werden. Es unterscheidet sich auch von der eigentlichen Matrizenpolymerisation<sup>[10]</sup>, bei der Monomere an ein als Templat dienendes Polymer gebunden sind und hierdurch zu definierten, linearen Polymeren polymerisiert werden können. Im Gegensatz dazu wird beim Prägen das neu gebildete Polymer vernetzt, damit die abgebildete dreidimensionale Struktur auch nach dem Entfernen des Templaets erhalten bleibt.

1972 wurde das Prägen von organischen Polymeren erstmals von unserem Arbeitskreis beschrieben<sup>[8, 11, 12]</sup>. Während in der Anfangsphase langwierige Verfahrensoptimierungen nötig waren, ist heute das Verfahren etabliert und wird in zahlreichen Arbeitskreisen genutzt. Insbesondere in der Chromatographie, in der Katalyseforschung, in der Biosensorik und bei künstlichen Antikörpern sind vielversprechende Ansätze erkennbar,

[\*] Prof. Dr. G. Wulff

Institut für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie der Universität  
Universitätsstraße 1, D-40225 Düsseldorf  
Telefax: Int. + 211/311-4788

die eine breitere praktische Anwendung möglich scheinen lassen. Zahlreiche Patente in diesem Bereich stützen diese Aussage.

Über das molekulare Prägen ist vielfach zusammenfassend berichtet worden. Neben umfassenden Übersichten<sup>[13]</sup> existieren zahlreiche kürzere<sup>[14–21]</sup> oder sich mit speziellen Aspekten wie Chromatographie<sup>[22–24]</sup> oder Haftgruppen<sup>[25–27]</sup> beschäftigende Artikel.

## 2. Das Konzept des Prägens

Um hochspezifische Bindungsstellen mit definierter Form und funktionellen Gruppen in vorgegebener Anordnung zu erhalten<sup>[8, 11, 12]</sup>, haben wir die funktionellen Gruppen in polymerisierbarer Form an ein geeignetes Matrizenmolekül gebunden (Abb. 1 a). Diese Monomere (Abb. 1 b) wurden dann unter Bedingungen copolymerisiert, unter denen stark vernetzte Polymere mit Ketten in festgelegter Anordnung gebildet werden (Abb. 1 c). Nach dem Entfernen der Matrizenmoleküle erhält man Polymere mit definierten Hohlräumen (Abb. 1 d), deren Gestalt und deren Anordnung der funktionellen Gruppen durch die chemische Natur der Matrizenverbindung vorgegeben sind. Die funktionellen Gruppen in diesen Hohlräumen befinden sich an verschiedenen Stellen der Polymerketten und werden lediglich durch die starke Vernetzung in einer definierten Anordnung zueinander gehalten. Es trägt also nicht ein nieder-

molekulares Teilstück die stereochemische Information, sondern es ist die Gesamtanordnung der Polymerketten (Topochemie), die den stereochemischen Aufbau bedingt. Dies erinnert an den Bau der aktiven Zentren der Enzyme; die Verbindungen wurden daher von uns als Enzym-analog gebaute Polymere bezeichnet. Das Verhältnis von Matrizenmolekül zu geprägtem Hohlraum entspricht dem von Emil Fischer vor rund einhundert Jahren für die Enzymkatalyse aufgestellten Schlüssel-Schloß-Prinzip<sup>[28]</sup>. Das Prägeverfahren hat eine gewisse Ähnlichkeit mit Versuchen von F. H. Dickey<sup>[29, 30]</sup>, Kieselgele durch Fällung in Gegenwart von Matrizenmolekülen zu prägen (siehe Abschnitt 3.2.2).

Als ein Beispiel für die Prägemethode soll die Polymerisation des Matrizenmonomers **1a** beschrieben werden. Mit diesem System wurden umfangreiche Optimierungsarbeiten durchgeführt<sup>[31–42]</sup>. Das Templat ist Phenyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid **1b**, an das zwei Moleküle 4-Vinylphenylboronsäure durch Veresterung mit jeweils zwei OH-Gruppen gebunden werden. Die Boronsäure wurde als Haftgruppe (Bindungsstelle) gewählt, weil

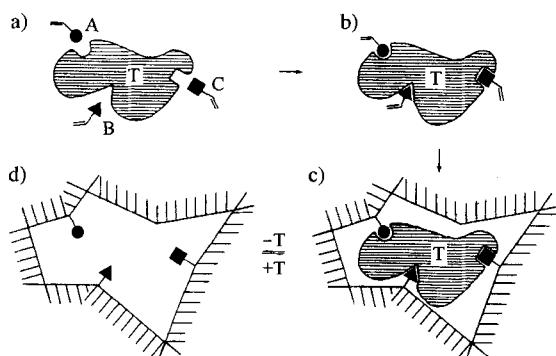
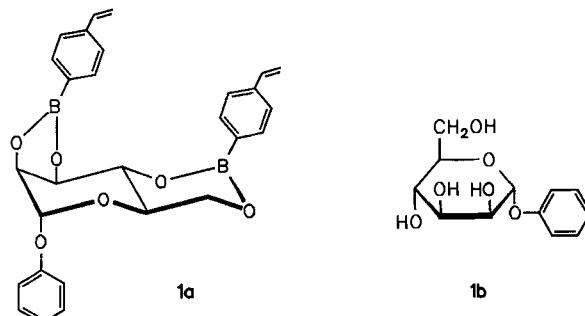


Abb. 1. Schematische Darstellung des Prägens (Imprinting) spezifischer Hohlräume in einem vernetzten Polymer durch ein Matrizenmolekül (Templat T) mit drei verschiedenen Haftgruppen.



sie eine schnelle und reversible Wechselwirkung mit Diolen eingeht. Das Monomer **1a** wird in Gegenwart hoher Anteile an Vernetzer, z.B. Ethyldimethacrylat, und eines Inertlösungsmittels (das als „Porogen“ zur Erzeugung einer Porenstruktur fungiert) radikalisch copolymerisiert, wobei makroporöse Polymere mit hoher innerer Oberfläche und einer permanenten Porenstruktur erhalten werden. Aus solchen Polymeren kann die Matrize durch Behandeln mit Wasser oder Methanol zu bis zu 95% abgespalten werden (Abb. 2).



Günter Wulff wurde 1935 in Hamburg geboren. Er studierte in seiner Heimatstadt Chemie bis zum Diplom und promovierte 1963 in Bonn bei R. Tschesche mit einer Arbeit zur Isolierung und Charakterisierung von glycosidischen Pflanzeninhaltsstoffen. 1969 habilitierte er sich in Bonn mit einer Arbeit zur Glycosidsynthese. Seit 1979 hat er an der Universität Düsseldorf den Lehrstuhl für Organische und Makromolekulare Chemie inne. Seine derzeitigen Arbeitsgebiete umfassen die Synthese von Enzym-analog gebauten Polymeren durch Prägung mit Matrizenmolekülen, die Synthese und Untersuchung von optisch aktiven, Hauptketten-chiralen Vinylpolymeren und die Nutzung von nachwachsenden Rohstoffen (Monosacchariden und Stärke) zum Aufbau von Spezialpolymeren.

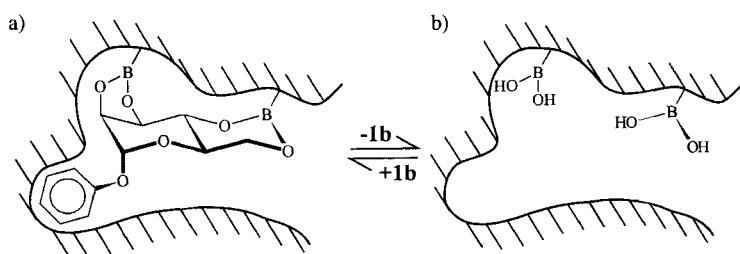


Abb. 2. Schematische Darstellung eines durch Polymerisation von **1a** erhaltenen Hohlraums (a). Mit Wasser oder Alkohol kann das Matrizenmolekül **1b** entfernt werden (b). Durch Zugabe von **1b** erhält man Wiederbelegung zu der in (a) gezeigten Form. Die Haftung des Matrizenmoleküls erfolgt in diesem Fall durch kovalente Bindung [13, 34].

Da es sich bei **1b** um eine optisch aktive Matrizenverbindung handelt, kann der korrekte Aufbau des Hohlraums durch Racematspaltungsversuche ermittelt werden. Dazu wird das von den Matrizenmolekülen befreite Polymer im Batchverfahren mit dem Racemat von **1b** äquilibriert, wobei bevorzugt das als Matrize verwendete Enantiomer aufgenommen wird. Die Selektivität wird durch den aus der Chromatographie bekannten Trennfaktor  $\alpha$  (Verhältnis der Verteilungskoeffizienten von D- und L-Form zwischen Lösung und Polymer,  $K_D/K_L$ ) ausgedrückt. In Abhängigkeit von der Polymerstruktur und den Äquilibrierungsbedingungen werden  $\alpha$ -Werte zwischen 1.20 und 6.0 erhalten. Bei den höchsten  $\alpha$ -Werten wird D-**1b** am Polymer im Batchverfahren mit 60–70 % ee angereichert. Mit diesen Polymeren als stationären Phasen in der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) lassen sich Basislinien-Trennungen der Racemate erreichen (siehe Abschnitt 6.1).

Die extrem hohen Selektivitäten bei der Racematspaltung zeigen klar, daß es tatsächlich möglich ist, Hohlräume mit definierter Gestalt und definierter Anordnung von funktionellen Gruppen zu erhalten. Während es so durch Polymeroptimierung gelang, die Eigenschaften der Polymere ganz erheblich zu verbessern, wurde die Anwendungsbreite des Verfahrens erst deutlich erweitert, als K. Mosbach et al.<sup>[43]</sup> auch durch ausschließlich nichtkovalente Wechselwirkung eine effektive Prägung erreichten. Viele Untersuchungen in diesem Zusammenhang

wurden mit L-Phenylalanin-anilid **2** als Matrize durchgeführt. Es wurde mit Acrylsäure als Comonomer, sonst aber unter den an **1a** ermittelten Polymerisationsbedingungen polymerisiert. Eine Acrylsäureeinheit geht mit dem Matrizenmolekül **2** eine elektrostatische Wechselwirkung, eine andere eine Wasserstoffbrückenbindung ein (Abb. 3)<sup>[43]</sup>. Nach umfangreichen Optimierun-

gen des Verfahrens in den Arbeitskreisen von K. Mosbach und K. J. Shea<sup>[43–54]</sup> wurden ähnlich hohe Selektivitäten bei der Racematspaltung wie im Fall von **1b** erreicht.

Die Abbildungen 4 und 5 zeigen computergraphische Darstellungen des Prägens mit den Matrizenmolekülen **1b** bzw. **2**. Die Form der Hohlräume ist stark schematisiert, da in Wirklichkeit Polymerketten von ähnlichen Dimensionen wie die Matrizenmoleküle die Begrenzung bilden und daher keine glatten Oberflächen auftreten.

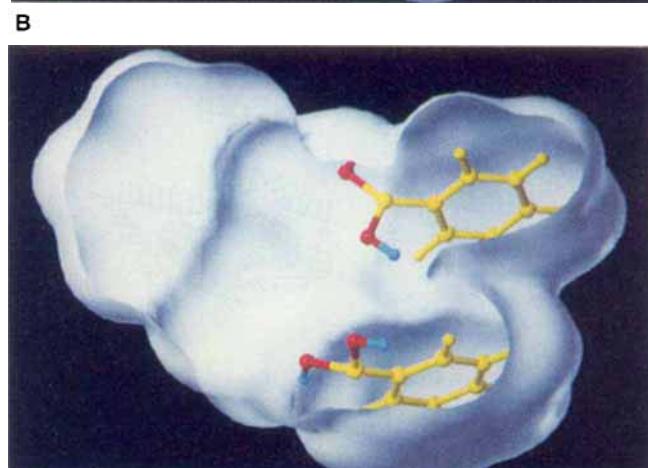
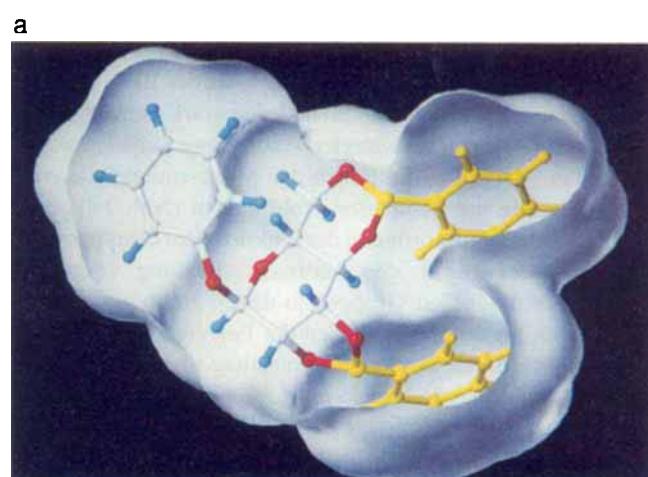


Abb. 4. Computergraphische Darstellung eines belegten (a) und eines freien Hohlräums (b) analog Abb. 2. Die Hohlräume entsprechen den elektrostatischen Potentialflächen von **1a**, die mit dem Programm MOLCAD, 1.0 berechnet wurden.

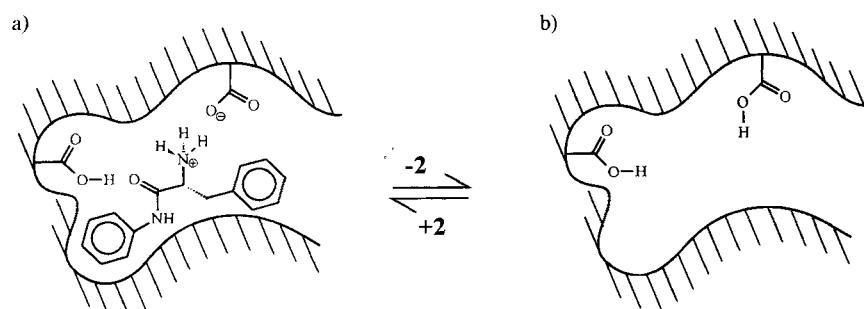
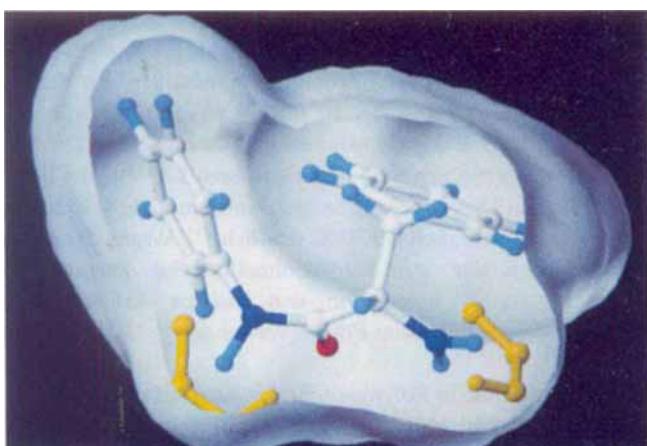


Abb. 3. Schematische Darstellung eines mit Hilfe von 2 hergestellten Hohlräums. Die Polymerisation in Gegenwart von Acrylsäure führt zur Ausbildung von (nichtkovalenten) elektrostatischen Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen [16, 43].

a



B

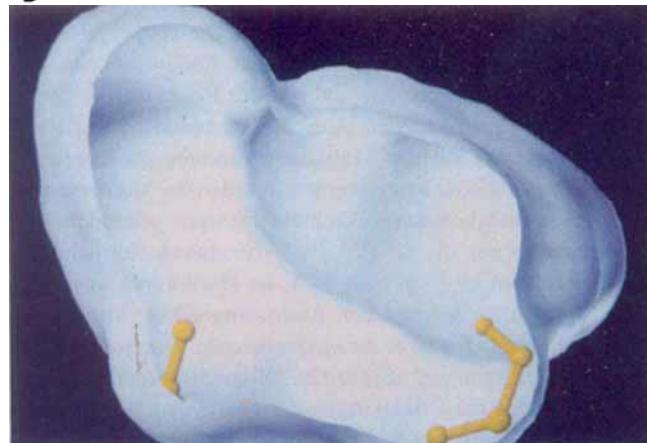


Abb. 5. Computergraphische Darstellung eines belegten (a) und eines freien Hohlraums (b) analog Abb. 3. Berechnung für 2 analog Abb. 4.

Zahlreiche weitere Substanzen sind als Matrizen zur Herstellung von geprägten Polymeren verwendet worden. In Tabelle 1 sind die bisher für das Prägen von Polymeren verwendeten Stoffklassen zusammengestellt.

Tabelle 1. Stoffklassen der zum Prägen von Polymeren verwendeten Matrizenverbindungen.

Stoffklassen	Literatur
Zucker und Zuckerderivate	[18, 23, 31, 32, 34, 35, 37, 39–42, 55, 56]
Diole, Polyoyle	[8, 57]
Hydroxycarbonsäuren	[8, 58–63]
Aminosäurederivate	[16, 21, 43, 44, 54, 64–75]
Peptide	[76]
Proteine	[26, 77]
Nucleoside und Nucleotide	[78–80]
Purinderivate	[78, 81]
Steroide	[72, 73, 82]
basische Arzneimittel	[47, 83, 84]
säure Arzneimittel	[85]
Dialdehyde	[86]
Diketone	[87–90]
Dicarbonsäuren	[71, 91]
Disulfide	[92]
Farbstoffe	[93, 94]
Coenzym-Analoga	[95–97]
basische kondensierte Arene	[74, 98]
Bisimidazole	[26, 99, 100]
Phosphonate	[101–104a]
Pestizide	[104 b]

### 3. Die Struktur der Matrix

#### 3.1. Geprägte Hohlräume in synthetischen Polymeren

Die Struktur der Matrix ist beim Abdruckverfahren von entscheidender Bedeutung. Da die spezifische Hohlräumstruktur nicht durch niedermolekulare Moleküle, sondern durch die fixierte Konformation der Polymerketten bestimmt wird, kommt der Polymeroptimierung eine besondere Rolle zu. Dabei sind folgende Gesichtspunkte wichtig<sup>[13a]</sup>:

- Die *Steifheit des Polymernetzwerkes* lässt die Hohlräume auch nach dem Entfernen der Matrizenmoleküle ihre Form behalten und so eine hohe Selektivität aufweisen.
- Eine *hohe Flexibilität* der Polymerstruktur steht im Gegensatz zu Punkt a, ist aber für die *Kinetik* wesentlich, um eine schnelle Gleichgewichtseinstellung bei der Einlagerung des Substrats in den Hohlräum zu erreichen.
- Eine *gute Zugänglichkeit* möglichst vieler Hohlräume im hochvernetzten Polymer kann durch die aus dem Verfahren resultierende besondere Polymermorphologie erreicht werden.
- Die *mechanische Stabilität* der Polymerpartikel ist für viele Anwendungen, z.B. in HPLC-Säulen bei hohem Druck oder als Katalysator im Rührkessel, von besonderer Bedeutung.
- Thermische Stabilität* der Polymere ermöglicht ihre Verwendung bei höheren Temperaturen, bei denen die Kinetik häufig wesentlich günstiger ist.

Von Anfang an sind als geprägte Polymere fast ausschließlich makroporöse Strukturen verwendet worden. Diese werden erhalten, wenn die Polymerisation der Monomere mit einem relativ hohen Vernetzgehalt (5–90 %) in Gegenwart von Inertlösungsmitteln (auch Porogene genannt) durchgeführt wird. Während der Polymerisation tritt Phasentrennung auf, und nach dem Entfernen des Porogens und dem Trocknen bleibt eine permanente Porenstruktur zurück. Diese Poren können sich beim nachträglichen Quellen verändern, sie bleiben aber in der Regel bestehen<sup>[105]</sup>. Durch die relativ große innere Oberfläche (50–600 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) und die großen Poren (ca. 100–600 Å) ist eine gute Zugänglichkeit zu den durch Prägung erhaltenen spezifischen Mikrohohlräumen (ca. 5–15 Å Durchmesser) gegeben, und kleinere Moleküle können in den Poren frei diffundieren. Bei höheren Vernetzgehalten behalten die Hohlräume auch nach dem Entfernen der Matrizenmoleküle ihre Form weitgehend.

Die ersten derartigen Polymere waren jedoch bei der Racematspaltung relativ wenig selektiv ( $\alpha = 1.03 - 1.80$ )<sup>[8, 31–33, 57, 61]</sup>, und auch die thermische und mechanische Stabilität ließen noch zu wünschen übrig. Eingehende Untersuchungen zur Polymeroptimierung in unserem Arbeitskreis brachten dann aber entscheidende Verbesserungen: Das Verhältnis von Porogen zu Monomer sollte etwa bei 1:1 (mL:g) liegen. Die Art des Porogens (Lösungsmittel oder Füllungsmittel für das sich bildende Polymer) hat einen starken Einfluß auf die Morphologie des Polymers, der Einfluß auf die Selektivität der sich bildenden Hohlräume ist aber gering<sup>[13a, 39, 54]</sup>. Der entscheidende Faktor, um eine hohe Selektivität zu erreichen, ist die Art und Menge des Vernetzers bei der Herstellung des makroporösen Polymers<sup>[34]</sup>.

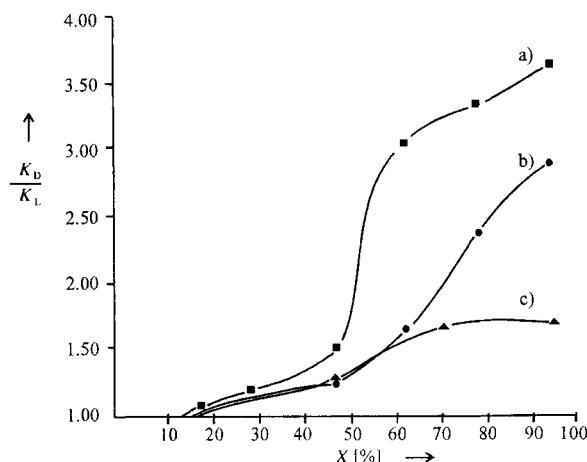


Abb. 6. Abhängigkeit der Selektivität von Polymeren von der Art und der Menge  $X$  des Vernetzers [34]. Die Polymere wurden in Gegenwart von **1a** mit verschiedenen Gehalten an Vernetzer (Ethylendimethacrylat (a), Tetramethylendimethacrylat (b) und Divinylbenzol (c)) hergestellt. Nach dem Abspalten der Matrizenmoleküle **1b** wurde der Trennfaktor  $\alpha = K_D / K_L$  für die Spaltung von D,L-**1b** im Batchverfahren bestimmt.

Abbildung 6 zeigt die Selektivität von Polymeren (ausgedrückt als Trennfaktor  $\alpha$ ) bei der Spaltung von D,L-Phenylmannopyranosid in die Enantiomere im Batchverfahren in Abhängigkeit von der Art und der Menge des Vernetzers. Am Beispiel von Ethylendimethacrylat als Vernetzer (Abb. 6a) zeigt sich, daß unterhalb eines bestimmten Vernetzergehaltes (ca. 10%) keine Selektivität auftritt; d. h. die Form der Hohlräume kann bei geringer Vernetzung nicht stabilisiert werden. Wird der Vernetzergehalt von 10 auf 50% erhöht, steigt der  $\alpha$ -Wert von 1.0 bis etwa 1.5. Zwischen 50 und 70% Vernetzergehalt tritt dann ein überraschender Anstieg von  $\alpha = 1.5$  auf  $\alpha = 3.0$  auf, was einer Vervierfachung der Selektivität in diesem Bereich entspricht. Eine Korrelation des plötzlichen Anstiegs der Selektivität mit strukturellen Änderungen im Polymer kann noch nicht gegeben werden. Eine weitere Erhöhung des Vernetzergehaltes auf 95% bringt dann noch eine Steigerung der Selektivität auf  $\alpha = 3.7$ . Eine noch höhere Selektivität bis zu  $\alpha = 6.0$  erhält man bei geringerer Beladung mit Substrat und bei Äquilibrierung bei höherer Temperatur.

Bei Divinylbenzol als Vernetzer ist der Anstieg der Selektivität bei höheren Vernetzergehalten wesentlich geringer (Abb. 6c). Dieser Vernetzer dürfte die Steifheit des Polymernetzwerkes zu stark erhöhen; darüber hinaus nimmt auch die Zugänglichkeit der Hohlräume stark ab, wie geringere Prozentsätze bei der Abspaltung der Matrizenmoleküle zeigen. Reine *ortho*-, *meta*- oder *para*-Divinylbenzole als Vernetzer verhalten sich in dieser Hinsicht ähnlich [39]. Tetramethylendimethacrylat ist als Vernetzer offenbar bereits zu flexibel, um Hohlräume ausreichend zu stabilisieren (Abb. 6b). Es muß also immer ein Kompromiß gefunden werden zwischen einer starren Anordnung der Polymerketten, die eine hohe Selektivität gewährleistet, und einer guten Flexibilität, die für eine gute Zugänglichkeit der Hohlräume und eine schnelle Einstellung der Bindungsgleichgewichte notwendig ist.

Zahlreiche weitere, zum Teil erstmals synthetisierte Vernetzer wurden auf die gleiche Weise untersucht [39]. Es stellte sich jedoch heraus, daß Ethylendimethacrylat, der am billigsten rein zu erhaltende Vernetzer, auch am günstigsten für das Prägeverfahren ist. Auch neu hergestellte, optisch aktive Ver-

netzer [39, 106] waren in der Selektivität bei der Racematspaltung nicht besser. Die thermische und mechanische Stabilität der in Gegenwart hoher Anteile an Ethylendimethacrylat hergestellten Materialien ist sehr gut: Chromatographiesäulen mit diesem Material verloren selbst bei 80 °C und 60–100 bar während Dauergebrauchs über viele Monate nicht ihre Selektivität [23, 37] (zur guten thermischen Stabilität siehe auch Lit. [54]). Bei Polymeren, die mit Divinylbenzol vernetzt sind, sinkt die Selektivität bei längeren Gebrauch bei 70 °C deutlich [33]. Wegen der guten Eigenschaften der mit Ethylendimethacrylat hergestellten Polymere werden heute von den meisten Arbeitskreisen Polymere dieses Typs beim Prägen verwendet [43, 46, 51, 53, 54, 81, 83, 84, 100, 107–109].

Die Hohlräume in Polymeren dieser Art sind relativ gut zugänglich. Wenn die Matrizenmoleküle mit leicht hydrolyzierbaren Bindungen oder durch nichtkovalente Bindungen fixiert sind, können bis über 90% der einpolymerisierten Matrizenmoleküle auch wieder abgespalten werden. Die restlichen Matrizenmoleküle befinden sich im Innern der hochvernetzten Teile des makroporösen Polymers und sind für Reaktionen nicht zugänglich. Von den geleerten Hohlräumen können bei späteren Äquilibrierungen mit der Matrizenverbindung im Überschuß etwa 80–90% wieder belegt werden. Wurden die Matrizenmoleküle durch nichtkovalente Wechselwirkungen gebunden, sind dies allerdings nur 10–15% [48, 52, 54] (für eine ausführliche Diskussion siehe in Lit. [54]). Fast 90% der Hohlräume, aus denen die nichtkovalent gebundenen Matrizenmoleküle abgespalten wurden, lassen sich also nicht wieder belegen. Hieraus resultiert eine deutlich geringere Kapazität. Offenbar verändern einige der Hohlräume nach Abspaltung der Matrizenmoleküle durch Spannungsrelaxationen und Quellung der Matrix ihre Form so weit, daß eine Aufnahme von Substanzen nicht mehr möglich ist. Bei kovalenter Bindung der Matrizenmoleküle befinden sich die polaren Haftgruppen nur im Hohlraum, der daher bevorzugt quillt und somit Substanzen gut aufnehmen kann. Bei nichtkovalenter Bindung sind drei Viertel der bindenden Gruppen außerhalb des Hohlraums angeordnet.

Die Zugänglichkeit der Hohlräume hängt außer von der Vernetzungsart im wesentlichen von der Porosität und der inneren Oberfläche ab. Die Porosität im trockenen Zustand wurde durch Hg-Porosimetrie [57], BET-Messungen (Bestimmung der Adsorptionsisotherme von N<sub>2</sub> bei tiefen Temperaturen) und Elektronenmikroskopie [33, 54] bestimmt. Wichtiger noch ist die Porosität im gequollenen Zustand während einer Trennung. Sie konnte durch inverse Gelpermeationschromatographie [33] bestimmt werden. Danach ist in optimierten Polymeren der mittlere Poredurchmesser 100–300 Å und der Anteil an die Diffusion behindernden kleinen Poren recht gering. Die innere Oberfläche der Polymere liegt bei 300–600 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> (durch BET-Untersuchungen bestimmt).

Besonders günstig sollten interpenetrierende Netzwerke für das Prägen sein, wobei man den stabilisierenden Effekt eines recht steifen vernetzten Polymers mit dem für die Kinetik wichtigen eines flexibleren kombiniert. Man stellt z. B. zunächst ein sehr starres, weitporiges Polymer aus Styrol und Divinylbenzol her, läßt anschließend dieses Polymer in einer Lösung aus Matrizenmonomer und Ethylendimethacrylat in einem Inertlösungsmittel quellen und polymerisiert ein zweites Mal. Diese Polymere sind sehr stabil und zeigen eine gute Selektivität, doch

der Prozentsatz der abgespaltenen Matrizenmoleküle ist etwas geringer<sup>[13a, 39]</sup>. Günstig ist auch die Herstellung von monodispersen Mikropartikeln in einem zweistufigen Quellungs-Polymerisations-Verfahren<sup>[110]</sup> in Gegenwart von Matrizenmonomeren<sup>[111]</sup>.

Ist das Matrizenmolekül durch schwierig zu spaltende Bindungen (Ester, Amid, Acetal) an die Polymermatrix gebunden, muß zur Abspaltung unter energischen Bedingungen hydrolysiert werden. Da hierbei auch Ethylendimethacrylat gespalten werden kann, muß in diesen Fällen das ungünstigere Divinylbenzol als Vernetzer verwendet werden<sup>[8, 63, 66, 82a]</sup>. Shea et al.<sup>[88–90]</sup> fanden, daß in einem solchen Fall Diisopropenylbenzol wesentlich günstiger als Vernetzer ist.

Eingehende Polymeroptimierungen und -charakterisierungen an makroporösen, geprägten Polymeren wurden im Arbeitskreis von K. J. Shea<sup>[54, 89, 90]</sup> durchgeführt. Dabei wurden durch Fluoreszenzmessungen an Dansylderivaten die Diffusion und die Reaktionsfähigkeit in den Hohlräumen untersucht<sup>[89]</sup>. Auch <sup>13</sup>C-CP/MAS-NMR- und FT-IR-spektroskopische Untersuchungen lieferten wichtige Ergebnisse<sup>[90]</sup>: Während der Polymerisation werden nicht alle Doppelbindungen der Matrizenmonomere umgesetzt, so daß einige Matrizenmoleküle statt mit zwei nur mit einer Haftgruppe gebunden sind<sup>[32, 54]</sup>. Bei der Abspaltung der Matrizenmoleküle wird dann die nicht polymerisierte Haftgruppe mit abgespalten<sup>[32]</sup>. Auch vom Vernetzer bleiben 6–9% der Doppelbindungen unumgesetzt<sup>[54]</sup>. Durch Nacherhitzen kann dieser Anteil reduziert und die Polymerstruktur deutlich verbessert werden<sup>[54]</sup> (siehe auch Lit.<sup>[32, 55, 59]</sup>). Dieser Effekt ist besonders ausgeprägt, wenn zunächst bei tiefer Temperatur photopolymerisiert worden ist<sup>[54]</sup>.

## 3.2. Geprägte Hohlräume auf und in anorganischen Trägern

### 3.2.1. Polymerschichten auf anorganischen Trägern

Dünne Schichten (50–100 Å) aus makroporösen Polymeren, die eine Struktur sehr ähnlich der im vorigen Abschnitt beschriebenen haben, können auch auf der Oberfläche von weitporigen Kieselgelen erhalten werden. Dazu werden auf das Kieselgel oberflächlich Methacrylatgruppen z.B. durch 3-(Trimethoxysilyl)propylmethacrylat kovalent gebunden, anschließend wird die Oberfläche mit einer typischen Monomermisschung für den Prägevorgang bedeckt, und es wird radikalisch polymerisiert. Auf diese Weise erhält man hochselektive Adsorbentien aus nicht quellbaren Partikeln mit einer gewünschten Partikelgröße. Diese Produkte eignen sich besonders gut für chromatographische Racematspaltungen<sup>[35, 36, 112, 113]</sup>.

### 3.2.2. Geprägte Kieselgele

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, war F. H. Dickey der erste, der geprägte Adsorbentien hergestellt hat. Ausgehend von Emil Fischers Schlüssel-Schloß-Prinzip<sup>[28]</sup> hatte Linus Pauling die besondere Bedeutung der Formselektivität für die Wirkungsweise von Enzymen und Antikörpern erkannt<sup>[114]</sup>. Er schlug seinem Doktoranden Dickey die Herstellung von Substrat-selektiven Adsorbentien vor<sup>[29, 30]</sup>. Dieser fällte Kieselgel in Gegenwart von Farbstoffen (Methylorange und Homologe). Diese Gele, aus denen nach dem Trocknen die Farbstoffe wieder

ausgewaschen wurden, zeigten eine erhöhte Affinität für den Matrizenfarbstoff. Offenbar werden während der Bildung der starren Kieselgelmatrix um das Matrizenmolekül Silanolgruppen so angeordnet, daß diese bestimmte Wechselwirkungen mit dem Matrizenmolekül eingehen können.

Nach diesen ersten Untersuchungen wurden solche Kieselgele auch mit optisch aktiven Matrizenverbindungen geprägt und zur Racematspaltung herangezogen<sup>[115]</sup>. Des weiteren wurde die Trennung von Pflanzenschutzmitteln und anderen Substanzen mit ihnen versucht<sup>[116]</sup>. Da die Trennungen aber nicht besonders ausgeprägt waren und die Selektivität auch leicht wieder verloren ging<sup>[117]</sup>, wurde das Verfahren in dieser Form nicht weiter verfolgt.

Eine interessante Anwendung in anderer Richtung ist folgende<sup>[118]</sup>:  $\text{CH}_3\text{Si}(\text{OCH}_3)_3$  wurde in Gegenwart von Amphiphilen hydrolysiert, die in Doppelschichten, als Vesikel, Lamellen, Röhren, Helices etc. auftreten können. Nach dem Entfernen der als Matrize dienenden Amphiphile wurden besondere Mikrostrukturen im Kieselgel erhalten.

### 3.2.3. Geprägte anorganische Schichten auf Festkörpern

In Weiterentwicklung des Dickey-Verfahrens wurden Schichten aus vernetzten Polysiloxanen in Gegenwart von Matrizenmolekülen auf fertigen Kieselgelpartikeln erzeugt, um deren Partikelstruktur zu nutzen. Darüber hinaus wurde die Polykondensation in Gegenwart von funktionellen Silanolen mit Haftgruppen durchgeführt, um zusätzliche und definiertere Wechselwirkungen zwischen dem Matrizenmolekül und der Monomermisschung zu erhalten, die später im fertigen Adsorbens eine höhere Affinität und Selektivität erzeugen sollten<sup>[23, 119–121]</sup>. Bei diesem Verfahren werden ähnliche Wechselwirkungen genutzt wie bei der Herstellung geprägter Polymere, nur daß die polymerisierbaren Doppelbindungen durch polykondensierbare Silanolgruppierungen an den Haftgruppen ersetzt sind. Durch das Nutzen nichtkovalerter Wechselwirkungen gelangen Prägungen mit Farbstoffen<sup>[119]</sup>, durch das kovalente Boronat-wechselwirkungen solche mit Glycoproteinen<sup>[113a, 119]</sup>, NAD-Dimeren<sup>[121]</sup> und Zuckern<sup>[23, 120]</sup>. Insgesamt scheint dieses Verfahren aber keinen Vorteil gegenüber der Prägung in Polymeren zu haben.

Im Hinblick auf eine spätere Verwendung der Kieselgele als Katalysatoren nutzten Morihara et al.<sup>[122, 123]</sup> ein etwas anderes Verfahren der Oberflächenmodifizierung (von ihnen als footprint catalysis bezeichnet, siehe Abschnitt 6.5).

### 3.2.4. Oberflächliche Modifizierung von Festkörpern

Beim typischen Prägen von Polymeren oder Kieselgelen hängt die Selektivität der so hergestellten Produkte von der Form des Hohlraums und der Anordnung der darin befindlichen funktionellen Gruppen ab. Es stellte sich uns die Frage, ob auch der Abstand zweier Haftgruppen auf einer Oberfläche eine Substratselektivität hervorrufen kann<sup>[86]</sup>. Um dies zu prüfen, wurden Bisazomethine auf die Oberfläche von weitporigen Kieselgelen aufkondensiert. Als am günstigsten erwiesen sich  $\text{RSi}(\text{CH}_3)(\text{OCH}_3)_2$ -Gruppierungen für die Kondensation<sup>[124]</sup>. Anschließend wurden die freien Silanolgruppen der Oberfläche mit Hexamethyldisilazan verkappt, um unspezifische Adsorp-

tion zu verhindern. Nach dem Abspalten der Matrizenmoleküle verblieben pro Matrizenmolekül zwei Aminogruppen in definiertem Abstand (Abb. 7). Um eine gute Selektivität zu erreichen, darf die Zahl der aufkondensierten Matrizenmoleküle nicht zu hoch sein, weil sonst nach deren Entfernen und dem anschließenden Äquilibrieren mit Dialdehyden auch Bindung

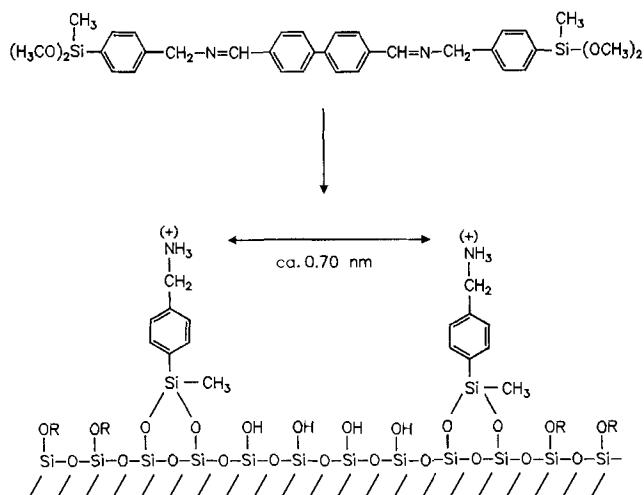


Abb. 7. Herstellung eines Kieselgels mit Paaren von Aminogruppen auf der Oberfläche in definiertem Abstand. Der Abstand der Gruppen (ca. 0.70 nm) wird durch Biphenyl-4,4'-dicarbaldehyd als Matrize bestimmt [86, 124].

über Aminogruppen von ursprünglich nicht zusammengehörenden Paaren erfolgen kann. Werden den so modifizierten Kieselgelen Dialdehyde mit unterschiedlichem Abstand der Aldehydgruppen angeboten, wird bevorzugt der ursprünglich zum Prägen verwendete Dialdehyd gebunden<sup>[86]</sup>. An diesen Kieselgelen können auch Dicarbonsäuren mit unterschiedlichem Abstand der Carboxygruppen durch HPLC sehr gut getrennt werden (Tabelle 2)<sup>[124]</sup>, wobei Terephthalsäure mit dem korrekten Abstand der Carboxygruppen von 0.70 nm am stärksten retardiert wird. Bemerkenswert hohe  $\alpha$ -Werte können so erhalten werden. Wird ein Aldehyd als Haftgruppe und ein Diamin als Matrize verwendet, gelingt nach dem Abspalten des Diamins und der Oxidation des Aldehyds zur Carbonsäure auch die Trennung von Diaminen<sup>[125]</sup>. Auf ähnliche Weise können Dreiereinheiten von Aminogruppen in definierter Anordnung auf der Oberfläche von  $\text{SiO}_2$  angeordnet werden<sup>[126]</sup>.

Tabelle 2. HPLC-Trennungen mit dem in Abb. 7 beschriebenen Kieselgel. Angegeben sind die Kapazitätsfaktoren  $k'$  einiger Dicarbonsäuren mit unterschiedlichem Abstand  $d$  der Carboxygruppen (Belegung  $4.23 \times 10^{-2}$  mmol  $\text{NH}_2$ -Gruppen pro g) sowie die Trennfaktoren  $\alpha$  für ausgewählte Substanzpaare [124]. Laufmittel: 2-Propanol/Acetonitril/Ameisensäure = 67.9/32.0/0.1.

Nr.	chromatographierte Substanz	$d[\text{nm}]$	$k'$	$\alpha$
1	<chem>O=Cc1ccc(cc1)-c2ccc(cc2)C(=O)O</chem>	1.14	0.015	
2	<chem>O=Cc1ccc(cc1)C(=O)O</chem>	0.70	0.314	$\alpha_{2,1} = 20.9$
3	<chem>O=Cc1ccc(cc1)Cc2ccc(cc2)C(=O)O</chem>	0.85	0.226	$\alpha_{3,1} = 15.1$
4	<chem>O=Cc1ccc(cc1)Cc2ccc(cc2)Cc3ccc(cc3)C(=O)O</chem>	1.11	0.037	$\alpha_{3,4} = 6.1$

Wird die Verkappung der restlichen Silanolgruppen nach dem Aufkondensieren der Matrizenverbindung mit raumerfüllenden Silanen, z.B. Methoxydimethylphenylsilan, vorgenommen, erhält man nach Abspalten der Matrize auf der Oberfläche Aussparungen (Konturen) von der Größe der Matrizenmoleküle, in denen sich die funktionellen Gruppen befinden<sup>[86]</sup> (Abb. 8). Für diesen Zweck eignen sich zur Verkappung auch langketige aliphatische Silane<sup>[127]</sup>.

Einen interessanten Weg zur Modifizierung von Oberflächen durch selbstorganisierende Systeme beschritten J. Sagiv et al.<sup>[128]</sup>: Gemischte Monoschichten aus Trichlor-n-octadecylsilan und einem mit einem Detergens modifizierten Farbstoff als Matrize wurden auf Glas adsorbiert und chemisch zu Siloxanen verknüpft. Das modifizierte Farbstoffmolekül, das nichtkovalent gebunden war, konnte anschließend herausgelöst werden. Dabei blieben Löcher in dem stabilen Netzwerk aus chemisorbierten und polykondensierten Silanmolekülen zurück. Solche Schichten absorbierten bevorzugt die ursprünglich verwendete Matrizenverbindung (Abb. 9). Ein Problem ist die Kinetik des Sorptions-Desorptions-Prozesses, da der Stoff-

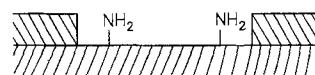


Abb. 8. Schematische Darstellung der Oberfläche eines Kieselgels mit zwei Aminogruppen in definiertem Abstand und der Kontur des ursprünglichen Matrizenmoleküls [86].

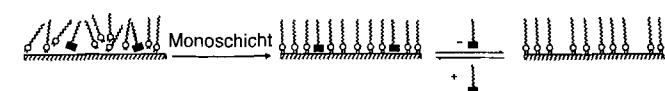


Abb. 9. Schematische Darstellung der Herstellung von gemischten Monoschichten auf Glas. Die nur physisorbierte Komponente kann reversibel entfernt und angelagert werden [128].

transport durch Kanäle erfolgen muß, die durch die dicht angeordneten langen Alkylketten in der Monoschicht gebildet werden. Die Einlagerung von Molekülen, die dem Matrizenmolekül ähnlich sind, ist ebenfalls möglich. Dabei ist es wichtig, daß amphiphile Gruppen im Molekül vorhanden sind<sup>[129]</sup>. Die Einlagerung wurde vor allem elektrochemisch<sup>[130]</sup>, mit oberflächenverstärkter Resonanz-Raman-Spektroskopie<sup>[129]</sup> und durch Ellipsometrie<sup>[131]</sup> untersucht. Als Unterlagen wurden unter anderem Glas, Zinn(II)-Oxid und Gold verwendet, wobei besonders bei Zinn(II)-Oxid und Gold als Unterlage die Verwendung in Sensoren möglich ist<sup>[132]</sup>.

Für den Einsatz in Sensoren sind auch Schichten verwendet worden, bei denen die Matrizenverbindung mit auf die Unterlage kondensiert wird, aber andere Eigenschaften (z.B. Isolator/Halbleiter) als der Rest der Monoschicht hat. Sind die Alkylketten sehr viel länger als das Matrizenmolekül, bilden sich wieder spezifische Kanäle aus, durch die nur bestimmte Substanzen penetrieren und somit ein Signal auslösen können<sup>[133, 134]</sup> (Abb. 10). Oberflächenprägungen auf Monoschichten und Vesikeln werden in Abschnitt 4.4, solche auf Mikropartikeln in Abschnitt 4.5 beschrieben.

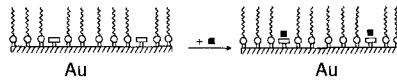


Abb. 10. Schematische Darstellung der Herstellung von gemischten Monoschichten mit chemisch gebundenen Matrizenmolekülen. Bestimmte Substanzen (■) können zu den Matrizenmolekülen penetrieren und ein Signal auslösen [133, 134].

### 3.3. Prägen in Biopolymeren (Bioimprinting)

#### 3.3.1. In Proteinen

M. H. Keyes et al.<sup>[135]</sup> haben sich ausführlich mit dem Problem beschäftigt, Proteine durch einen Prägevorgang in halbsynthetische Enzyme zu überführen, die nach Möglichkeit ähnlich effizient wie natürliche Enzyme sind, aber definiert andere Eigenschaften aufweisen. Dazu wird das Protein zunächst teilweise denaturiert und anschließend mit einem modifizierenden Agens in Kontakt gebracht, das z.B. ein Inhibitor für das zu modellierende Enzym ist. Danach wird das Protein vernetzt und die als Matrize dienende Substanz entfernt. Auf diese Weise konnten Produkte mit neuartiger enzymatischer Aktivität erhalten werden, obwohl die Ausgangsproteine keine (z.B. Albumin, Concanavalin A) oder eine ganz andere Aktivität aufwiesen (Ribonuclease, Trypsin, Glucose-Oxidase,  $\alpha$ -Amylase). Es wird angenommen, daß das partiell denaturierte Protein das Templat bindet, wodurch sich ein neues aktives Zentrum bildet, das dem des zu modellierenden Enzyms ähnlich ist.

Einen anderen Weg zum Bioimprinting haben unabhängig voneinander die Arbeitskreise von A. M. Klibanov<sup>[136]</sup> und K. Mosbach<sup>[137a]</sup> beschritten. Klibanov et al. gefriertrockneten Proteine, die gemeinsam mit in großem Überschuß zugegebenen multifunktionellen Substanzen in Wasser gelöst vorlagen, und entfernen die Matrizenmoleküle anschließend mit organischen Lösungsmitteln. Diese künstlichen Rezeptoren wiesen eine deutliche Selektivität für die Bindung der Matrizenmoleküle auf. Der Grund dafür ist die größere Starrheit von Proteinkonformationen in organischen Lösungsmitteln. In Wasser geht die Selektivität vollständig verloren, da anders als von Keyes et al. keine kovalente Vernetzung durchgeführt wurde. Interessanter noch sind die Ergebnisse von Mosbach et al. Diese Autoren füllten z. B.  $\alpha$ -Chymotrypsin in Gegenwart von *N*-Acetyl-D-phenylalanin mit 1-Propanol und trockneten das Protein anschließend. In nichtwässriger Lösung zeigte dieses modifizierte  $\alpha$ -Chymotrypsin nach dem Entfernen der Matrizenmoleküle eine gute Selektivität für die Bildung von D-Phenylalaninethylester, während ein ohne die Matrizenverbindung analog behandeltes Enzym überhaupt keine Selektivität für diese Reaktion aufwies. Ein ähnliches Bioimprinting wurde zur Untersuchung der Photochemie von markiertem Chymotrypsin angewendet<sup>[137b]</sup>.

#### 3.3.2. In Kohlenhydraten

S. Shinkai et al.<sup>[138]</sup> vernetzten wasserlösliche Stärke in Gegenwart von Methylenblau mit Cyanurchlorid. Die unlöslichen, von Methylenblau befreiten Produkte adsorbierten Methylenblau deutlich besser als eine ohne Zugabe von Methylenblau vernetzte Stärke. Der Grund war eine deutlich höhere Zahl von zugänglichen Bindungsstellen in der geprägten Stärke.

In neueren Arbeiten hat sich unsere Arbeitsgruppe eingehend mit der Stabilisierung bestimmter Helixkonformationen in der Amylose beschäftigt. Dazu wurden definierte Einschlußverbindungen aus ihr und organischen Komplexanden hergestellt und charakterisiert<sup>[139, 140]</sup>. In Abhängigkeit von der Raumerfüllung der Komplexanden erhält man sechs, sieben oder acht Glucoseeinheiten pro Windung in der Amylosehelix. Werden solche Komplexe intramolekular mit Epichlorhydrin oder intermolekular mit Cyanurchlorid vernetzt, so erhält man lösliche bzw.

unlösliche vernetzte Amylosekomplexe. Nach dem Entfernen des Komplexanden (des Templat) zeigen diese Amylosen sehr unterschiedliche Selektivitäten bei der Einlagerung von Substanzen<sup>[140]</sup>.

Das Vernetzen von Chitosanen in Gegenwart von Metall-Ionen wird in Abschnitt 4.5 (Tabelle 5) behandelt.

## 4. Die Funktion der Haftgruppen

### 4.1. Allgemeines

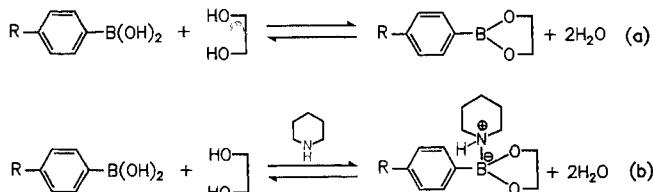
Beim Prägen übernehmen die Haftgruppen mehrere Funktionen<sup>[13a, 22, 25, 27, 36, 54]</sup>. So sollte die Bindung zwischen Matrizenmolekül und Haftgruppe während der Polymerisation möglichst fest sein, damit die Haftgruppen bei der vernetzenden Polymerisation in einer bestimmten Orientierung an den Polymerketten fixiert werden können. Anschließend sollten die Matrizenmoleküle aber möglichst vollständig abzuspalten sein. Eine sehr wichtige Funktion ist später dann die Wechselwirkung der Haftgruppen mit den zu bindenden Substraten, z.B. mit der Verbindung, die als Matrize diente. Diese Wechselwirkung sollte kinetisch möglichst wenig gehemmt und reversibel sein, um schnelle chromatographische Trennungen, aber auch Katalyse möglich zu machen. Während also für die erste Funktion eine hohe Aktivierungsenergie wünschenswert ist, sollte diese für die beiden weiteren Funktionen möglichst niedrig sein.

Als Wechselwirkungen kommen kovalente und nichtkovalente in Frage. Kovalente Wechselwirkungen haben den Vorteil, daß die Haftgruppen während der Polymerisation eindeutig im Raum fixiert sind. Wenn es gelingt, einen hohen Prozentsatz der Matrizenmoleküle wieder abzuspalten und die Wechselwirkungen mit Substraten durch Katalyse stark zu beschleunigen, sind kovalente Wechselwirkungen zum Prägen gut geeignet. Ähnliches gilt für über koordinative Bindungen fixierte Matrizenmoleküle. Bei nichtkovalenten Wechselwirkungen benötigt man einen erheblichen Überschuß an Haftgruppen in der Polymerisationsmischung (meist die mindest vierfache Menge), um im Gleichgewicht die Bindungsstellen im Matrizenmolekül vollständig abzusättigen. Auf diese Weise wird ein erheblicher Teil der Haftgruppen regellos eingebaut. Allerdings ist hier die Abspaltung der Matrizenmoleküle meist sehr leicht möglich, und auch die reversiblen Wechselwirkungen mit Substraten sind im Prinzip kinetisch nicht gehemmt. Es hängt von der Struktur des Matrizenmoleküls ab, welche Wechselwirkungen jeweils die günstigsten sind. Zur Herstellung von Chromatographiematerialien für analytische Zwecke bieten sich nichtkovalente Wechselwirkungen an, da Materialien auf diese Art einfacher erhältlich sind und ein Überschuß an Haftgruppen die Trennungen offensichtlich nicht verschlechtert. Bei Katalysatoren dagegen dürfte es wesentlich auf die Orientierung der Haftgruppen und der katalytisch wirksamen Gruppen im Hohlraum ankommen, weshalb kovalente Wechselwirkungen hier vorteilhafter sein sollten.

### 4.2. Kovalente Wechselwirkungen

Für kovalente Haftungen hat sich die Boronsäuregruppierung sehr bewährt. Poly(vinylphenylboronsäuren) sind kom-

merziell erhältlich und werden in einer chemoselektiven Affinitätschromatographie in wäßrig-alkalischer Lösung zur chromatographischen Trennung von Diolen verwendet<sup>[141]</sup>. Ähnlich können sie auch zum Prägen eingesetzt werden. Der Vorteil liegt darin, daß in nichtwässriger Lösung relativ stabile Ester entsprechend Gleichung (a) gebildet werden. In wäßrig-alkalischer



Lösung oder in Gegenwart bestimmter Stickstoffbasen (z.B. NH<sub>3</sub>, Piperidin) bilden sich dagegen Ester mit vierfach koordiniertem Bor [Gl. (b)], die in einem außerordentlich schnellen Gleichgewicht mit der freien Boronsäure und dem Diol stehen<sup>[22, 142]</sup>. Die Gleichgewichtseinstellung erfolgt in diesen Fällen ähnlich schnell wie bei nichtkovalenten Wechselwirkungen. Solche Austauschgleichgewichte mit Diolen sind besonders schnell bei intramolekularer Wechselwirkung mit Stickstoffbasen<sup>[22, 36, 143]</sup>.

Ein weiterer Vorteil der Boronsäuregruppierung liegt darin, daß die B-C-Bindung spaltbar ist und Bor als Abgangsgruppe fungiert. Auf diese Weise können auch andere funktionelle Gruppen in das Polymer eingeführt werden<sup>[55, 144]</sup>. Zahlreiche Diole wurden als Matrizenmoleküle eingesetzt und, mit 4-Vinylphenylboronsäure verestert (siehe z.B. **1a** und Abb. 2), polymerisiert. Bereits mit einer einzigen Haftgruppe wie bei Glycerinsäureestern<sup>[14, 58, 59, 61, 145]</sup> und Propandiol<sup>[57]</sup> konnten Polymere hergestellt werden, die eine signifikante Fähigkeit zur Racematspaltung aufwiesen. Bemerkenswert hoch war die Trennfähigkeit der von A. Sarhan et al.<sup>[62, 63, 146, 147]</sup> hergestellten Mandelsäurepolymere. Matrizenmoleküle, die über zwei Boronsäuregruppen einpolymerisiert wurden, ergaben Polymere mit sehr viel höherer Selektivität bei der Racematspaltung<sup>[31–33, 35–40, 55, 56a]</sup>. Die Optimierung der Struktur geprägter Polymere wurde im wesentlichen am Beispiel von Phenyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid durchgeführt. Neuerdings gelang an entsprechend hergestellten Polymeren auch die Spaltung freier Zucker (Fructose, Mannose und Galactose) in die Enantiomere. Hiermit ist erstmals bei Zuckern die Racematspaltung ohne Deaktivierung möglich geworden<sup>[41, 55, 56a]</sup>.

Man sollte annehmen, daß drei kovalente Wechselwirkungen bei der Prägung und bei der späteren molekularen Erkennung besonders günstig sind. Es hat sich jedoch gezeigt, daß bei drei Boronsäurewechselwirkungen<sup>[8, 12, 57]</sup>, bei drei verschiedenen kovalenten Wechselwirkungen<sup>[35]</sup> und auch bei drei und mehr nichtkovalenten Wechselwirkungen<sup>[44, 49, 51, 148]</sup> die Trennleistung (Bodenzahl N<sub>th</sub>) der Polymere schlechter wird. Hier dürfte vor allem die geringe Geschwindigkeit der Bildung solcher Polymer-Substrat-Komplexe eine wesentliche Rolle spielen.

Am Beispiel der Boronsäuren wurde auch der Einfluß der Flexibilität der Haftgruppe auf die Trennfähigkeit der Polymere untersucht<sup>[40, 41, 145]</sup>. Dazu wurden z. B. mit Phenyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid als Matrize neun verschiedene polymerisierbare

Boronsäuren mit unterschiedlich großer Beweglichkeit zwischen dem Boratom und der polymerisierbaren Doppelbindung verwendet<sup>[40]</sup>. Je größer die Beweglichkeit der Gruppen im Hohlraum war, desto geringer war die Selektivität bei der Racematspaltung.

Eingehend untersucht wurde auch die Eignung von Schiff-Basen zur kovalenten Haftung<sup>[25, 64, 65, 86, 150]</sup>. Grundsätzlich sind sie für die Prägung und nachträgliche Haftung geeignet – die Gleichgewichtslage ist günstig –, allerdings ist die Gleichgewichtseinstellung für eine schnelle Chromatographie zu langsam<sup>[64]</sup>. Durch geeignete Nachbargruppen im Molekül kann die Einstellung des Gleichgewichts jedoch deutlich beschleunigt werden<sup>[25]</sup>. Bei Aminosäuren bewährte sich besonders die Trennung in Form der Anilide<sup>[64]</sup>, eine Erfahrung, die später auch bei Materialien, die über nichtkovalente Wechselwirkungen hergestellt wurden, bestätigt wurde<sup>[43]</sup>. Als Matrizenmonomer diente in diesem Fall N-(4-Vinylbenzyliden)-L-phenylalanin-anilid **3**.

Haftung über Schiff-Basen wurde auch mit zweifacher Bindung als Schiff-Base<sup>[86, 149]</sup> oder in Kombination mit anderen Wechselwirkungen erfolgreich eingesetzt<sup>[35, 65, 150]</sup>. Zum Binden

von Monoalkoholen eignen sich auch intramolekulare Halbester von Boronsäuren (1-Hydroxy-1-bora-2-oxainden-Derivate)<sup>[22, 25]</sup> und bestimmte cyclische Halbacetale<sup>[151]</sup>. In beiden Fällen ist die Gleichgewichtseinstellung relativ schnell.

Ester<sup>[66, 82a, 91]</sup> und Amidgruppierungen eignen sich nicht besonders gut zur Einführung von Haftgruppen in geprägte Polymere, da diese Bindungen nur zu einem kleinen Teil (20%) wieder gespalten werden können. Bei Amiden besteht aber die Möglichkeit, die bei der Polymerisation kovalente Bindung später bei der Bindung von Substraten als elektrostatische Wechselwirkung zwischen Carbonsäure und Aminogruppe zu nutzen<sup>[8, 11, 12, 14, 58, 59, 64]</sup>. M. J. Whitcombe et al.<sup>[82b]</sup> stellten einen interessanten Ansatz vor, um die Vorteile der kovalenten Bindung während des Prägens mit denen der nichtkovalenten Wechselwirkung bei der Gleichgewichtseinstellung zu kombinieren: Sie verwendeten 4-Vinylphenylkohlensäureester für das Prägen, die anschließend leicht unter Abspaltung von CO<sub>2</sub> hydrolysiert werden können. Die dadurch erhaltene phenolische Funktion kann dann mit Alkoholen über H-Brücken wechselwirken.

Acetale zur Einführung von Haftgruppen verwendeten K. J. Shea et al.<sup>[87–90]</sup>. Dabei wurden Diketone mit unterschiedlichem Abstand der Ketogruppen mit polymerisierbaren Diolen umgesetzt. Nach dem Abspalten der Matrizenmoleküle zeigte sich bei der Belegung mit einer Mischung von Diketonen eine deutliche Selektivität für die ursprünglich verwendete Matrizenverbindung. Im Unterschied zu den früher erwähnten Wiederbelegungen verläuft hier die Bindungsbildung langsam und scheint daher im Gegensatz zu den bisher besprochenen nicht thermodynamisch, sondern kinetisch kontrolliert zu sein.

Einen Überblick über die bisher verwendeten kovalenten Wechselwirkungen (einschließlich der in Abschnitt 4.4 diskutierten koordinativen Wechselwirkung) gibt Tabelle 3.

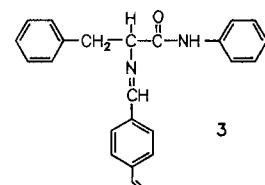


Tabelle 3. Für das Prägen bisher genutzte kovalente Wechselwirkungen.

polymerisierbare Haftgruppe	Bindungsstelle am Matrizenmolekül	Bindungstyp	Lit.
4-Vinylphenylboronsäure	Diol	Boronester	[22, 142]
Amine	Aldehyd	Schiff-Base	[86, 149]
Aldehyde	Amin	Schiff-Base	[25, 35, 64, 65, 150]
Diole	Keton	Acetal	[87–90]
Halbacetale	Alkohol	Acetal	[151]
Boronaphthalid	Alkohol	Boronester	[22, 25]
Acrylsäure	Amin	Amid	[8, 11, 12, 14, 58]
Acrylsäure	Alkohol	Ester	[66, 82a, 91]
4-Vinylphenylcarbonat	Alkohol	Ester	[82 b]
Co-Chelate	Aminosäure	Chelatkomplex	[68, 69]
Cu-Chelate	Imidazol	Chelatkomplex	[26, 77, 99, 100]
Alkohole	Carbonsäure	Ester	[71, 91]
Vinylimidazol + Co <sup>2+</sup>	Aminosäure	Chelatkomplex	[152]

### 4.3. Nichtkovalente Wechselwirkungen

Am einfachsten sind selektive Polymere durch Prägung zugänglich, wenn nichtkovalente Wechselwirkungen genutzt werden. Hierbei werden Monomere, die nichtkovalente Wechselwirkungen eingehen können, mit der Matrizenverbindung und dem Vernetzer zusammengebracht, wobei sich mehr oder weniger gut definierte Aggregate aus Matrizenmolekülen und Monomeren bilden. Die an Matrizenmoleküle koordinierten Monomere stehen in einem schnellen Gleichgewicht mit den in Lösung befindlichen Monomeren. Um im Durchschnitt möglichst zahlreiche Wechselwirkungen während der Polymerisation zu haben, muß das Ligand-Monomer in der Lösung im Überschuß zur Matrizenverbindung (mindestens 4:1) vorhanden sein<sup>[43]</sup>. Ähnlich wie beim Prägen von Kieselgelen hat man beim Prägen von Polymeren unter Nutzung nichtkovalerter Wechselwirkungen zunächst Farbstoffe als Matrizen verwendet und diese in Gegenwart von Monomeren, die wenig definierte Wechselwirkungen eingehen, vernetzt<sup>[93, 94]</sup>. Die Selektivität war, ähnlich wie bei den Kieselgelen, recht gering. Erst die sorgfältige Optimierung des Prägens unter Nutzung nichtkovalerter Wechselwirkungen durch K. Mosbach et al.<sup>[43]</sup> ermöglichte ausgezeichnete Trennungen, die in vielen Fällen genauso gut sind wie bei der Nutzung kovalenter Wechselwirkungen. Dabei ist die Nutzung von nichtkovalenten Wechselwirkungen deutlich einfacher, und es lassen sich zahlreiche neue Wechselwirkungspaire für das Prägen finden (Tabelle 4).

Die wichtigste nichtkovalente Wechselwirkung ist die elektrostatische. So wurde mit L-Phenylalanin-anilid **2** beim Prägen in Gegenwart von Methacrylsäure der Einfluß dieser Wechselwirkung auf die Selektivität intensiv untersucht<sup>[21, 43, 48, 53]</sup>. Die Stärke der Wechselwirkung hängt von den  $pK_s$ -Werten der Methacrylsäure und der Aminogruppe im Anilid **2**, vom pH-Wert der Lösung und von unter Umständen anwesenden Konkurrenz-Ionen ab. Dabei tritt die Wechselwirkung während des Prägens in einer relativ unpolaren Lösung (45 % Ethyldimethacrylat, 50 % Acetonitril, 5 % **2** + Methacrylsäure) ein, während bei der späteren Äquilibrierung (Chromatographie) der von den Matrizenmolekülen befreiten Polymere mit dem Racemat der Matrizenverbindung eine wäßrige Lösung mit variablen pH-Wert und Fremdionen-Konzentration oder auch eine essigsäure Lösung gewählt werden kann.

Tabelle 4. Für das Prägen bisher genutzte nichtkovalente Wechselwirkungen.

polymerisierbare Haftgruppe	Bindungsstelle am Matrizenmolekül	Lit.
<i>elektrostatische Wechselwirkungen</i>		
Acrylsäure, Methacrylsäure	Amine	[53, 74]
Acrylsäure	Amidine	[153]
Itaconsäure	Amine	[83]
Sulfonsäure	Amine	[98]
2-Vinylpyridin, 4-Vinylpyridin	Säuren in Kombination mit kovalenten Wechselwirkungen	[154] [14, 59, 64, 155]
Amine	in Kombination mit Carbonsäurehaftgruppen Phosphate (ATP)	[67] [79]
<i>Wasserstoffbrückenbindungen</i>		
Acrylsäure, Methacrylsäure	Amide Amide in Kombination mit elektrostatischen Wechselwirkungen	[107] [43–54]
Acrylsäure	Purinbasen	[78]
Ethyldimethacrylat	Nucleoside	[156]
<i>andere Wechselwirkungen</i>		
Charge-Transfer-Wechselwirkungen	in Kombination mit kovalenten Wechselwirkungen	[14, 61]
hydrophobe Wechselwirkungen	in Kombination mit kovalenten Wechselwirkungen	[60, 61]
Wechselwirkungen von Farbstoffen durch Intercalation	DNA	[80]

Eine elektrostatische Wechselwirkung allein bringt allerdings nur eine recht geringe Selektivität<sup>[157]</sup>; es muß eine weitere Wechselwirkung vorhanden sein. Bemerkenswert ist, daß gleichzeitig eine polymerisierbare Säure und eine Base mit einem Matrizenmolekül über elektrostatische Bindungen wechselwirken können. Voraussetzung ist, daß die Matrizen-carboxygruppe saurer als Acrylsäure ist und daher bevorzugt mit der zugesetzten Base reagiert<sup>[67]</sup>.

Eine günstige zweite Wechselwirkung ist auch eine Wasserstoffbrückenbindung, wie sie zwischen der Acrylsäure-OH-Gruppe und einem Amidsauerstoffatom gebildet wird. Unter diesen Bedingungen werden sehr selektive Hohlräume mit  $\alpha$ -Werten für die Racematspaltung von 3–8 erhalten. Wird dagegen nur eine Wasserstoffbrückenbindung bei der Prägung und bei der späteren Wechselwirkung genutzt, liegen die  $\alpha$ -Werte für die Racematspaltung nur bei 1.1–2.5<sup>[107]</sup>. Beispiele für den

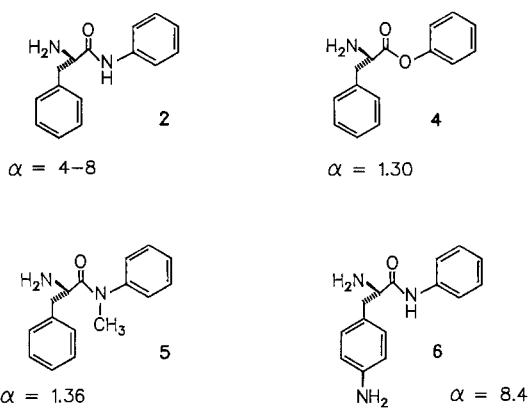


Abb. 11. Trennfaktoren  $\alpha$  für die Spaltung der Racemate von **2**, **4**, **5** und **6**. Die Trennfaktoren wurden an Polymeren bestimmt, die jeweils mit einem der Enantiomere der entsprechenden Verbindung als Matrize unter vergleichbaren Bedingungen hergestellt worden waren.

Einfluß der Bindungsstellen bieten die Matrizenverbindungen **2**<sup>[54]</sup>, **4**<sup>[157]</sup>, **5**<sup>[47]</sup> und **6**<sup>[44]</sup>, die unter ähnlichen Bedingungen in Gegenwart von Methacrylsäure oder Acrylsäure polymerisiert wurden (Abb. 11). Die Fähigkeit zur Spaltung des Racemats der Matrizenverbindung wird deutlich geringer, wenn nur eine Wechselwirkung möglich ist (**4** und **5**).

Es hat sich bei nichtkovalenten Wechselwirkungen als vorteilhaft erwiesen, die Polymerisation bei niedriger Temperatur durchzuführen, da dann das Gleichgewicht für die Assoziation besonders günstig ist<sup>[46, 49, 50, 54]</sup>.

Sehr interessante Trennungen unter Nutzung nichtkovalenter Wechselwirkungen sind auch an Nucleotiden und Nucleosiden durchgeführt worden. S. A. Piletski et al. verwendeten 2'-Desoxyadenosin<sup>[156]</sup> und Adenosintriphosphat<sup>[79]</sup> zum Prägen, die über Wasserstoffbrückenbindungen bzw. elektrostatische Wechselwirkungen gebunden waren. Die Selektivität für das Molekül der Matrizenverbindung war deutlich erhöht. So konnten ADP und ATP an diesen Materialien chromatographisch wesentlich besser als an nichtgeprägten getrennt werden. Eine hohe Selektivität von geprägten Polymeren mit Bindungskonstanten  $K_a$  von  $76\,000\text{ M}^{-1}$  wurden von K. J. Shea et al. kürzlich erhalten<sup>[78]</sup>. Als Matrize verwendeten sie 9-Ethyladenin und als Haftgruppe Methacrylsäure. Die Selektivität der Bindung ist deutlich höher als oder ähnlich wie bei niedermolekularen Rezeptoren, die in vielstufigen Synthesen hergestellt wurden<sup>[158]</sup>.

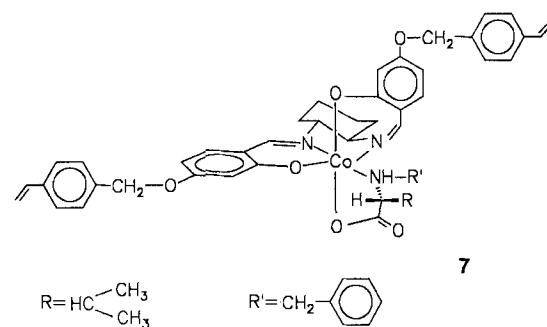
Auch für nichtkovalente Haftungen müssen neue Haftgruppen entwickelt werden, die während der Polymerisation nach Möglichkeit eine stöchiometrische Umsetzung mit der Matrize (z. B. im Verhältnis 1:1 oder 2:1) eingehen. Auf diese Weise befinden sich nach der Polymerisation und der Abspaltung der Matrizenmoleküle keine im Überschuß vorhandenen Haftgruppen unspezifisch im Polymer verteilt. Dies ist insbesondere wichtig für den Aufbau von Katalysatoren. Auch dürfte dadurch die Wiederbelegbarkeit bei nichtkovalenter Haftung wesentlich verbessert werden können, wodurch auch die Kapazität für präparative Trennungen erhöht würde. Bei den späteren Äquilibrierungen lässt sich durch Anpassung des Mediums (Art des Lösungsmittels, pH-Wert, Zusatz von Fremdstoffen) die Gleichgewichtslage im gewünschten Maße variieren.

Nichtkovalente Wechselwirkungen wurden auch in Kombination mit kovalenten genutzt. So konnten elektrostatische<sup>[14, 59, 86]</sup>, Charge-Transfer-<sup>[14, 61]</sup> und hydrophobe Wechselwirkungen<sup>[60, 61]</sup> mit kovalenten kombiniert werden; die gebildeten Polymere waren zum Teil deutlich selektiver als solche mit einer einfachen kovalenten Bindung des Matrizenmoleküls.

#### 4.4. Haftung über koordinative Metallbindung

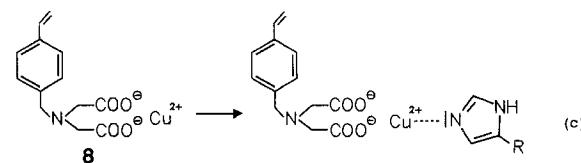
Eine sehr vielversprechende Art der Haftung während der Polymerisation und später am fertigen Polymer ist die über koordinative Metallbindungen. Diese Art der Bindung ist analog der bei der Ligandenaustauschchromatographie<sup>[159]</sup> verwendeten. Ihr Vorteil liegt darin, daß ihre Festigkeit durch die äußeren Bedingungen beeinflußt werden kann. Während der Polymerisation sind definierte Wechselwirkungen vorhanden, und es

muß kein Überschuß an Haftgruppen eingesetzt werden. Die Wechselwirkung während der späteren Bindung an das Polymer ist in vielen Fällen kinetisch so wenig gehemmt, daß auch eine schnelle Chromatographie durchgeführt werden kann. Zuerst wurde diese Methode von Y. Fujii et al.<sup>[68, 69]</sup> beim Prägen eingesetzt. Sie erhielten eine bemerkenswert hohe Selektivität bei der Spaltung von *N*-Benzyl-D,L-valin in die Enantiomere. Dabei verwendeten sie einen chiralen Schiff-Base-Liganden aus (*1R,2R*)-1,2-Diaminocyclohexan und 4-(4-Vinylbenzyloxy)salicylaldehyd, über den mittels eines  $\text{Co}^{2+}$ -Ions Aminosäuren gebunden werden können (siehe 7). Für die Spaltung des Racemats der Matrizenverbindung wurde ein ganz ungewöhnlich großer Trennfaktor  $\alpha$  von 682 beobachtet. Der Enantiomerenüberschuß betrug im Batchverfahren 99.5% ee.



Genauere Untersuchungen<sup>[69]</sup> zeigten, daß die Trennfähigkeit hauptsächlich auf den Hohlraumeffekt zurückgeht. Die Selektivität ist höher als bei vielen Enzymen. Leider ist jedoch der Massentransfer im Fall des  $\text{Co}^{2+}$ -Komplexes bei der chromatographischen Trennung recht langsam, so daß praktische Trennungen sehr erschwert sind<sup>[160]</sup>.

Sehr eingehend wurde in den letzten Jahren von F. Arnold, P. K. Dhal et al. die Haftung von Imidazol-haltigen Verbindungen über  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe des Typs **8** untersucht



[Gl. (c)]<sup>[26, 77, 99, 100]</sup>. Zunächst wurden in Modellversuchen Bisimidazole mit unterschiedlichem Abstand der Imidazolgruppen als Matrizen verwendet, um Iminodiacetatgruppen im Polymer zu positionieren<sup>[99, 100]</sup>. Diesen Untersuchungen lag der Wunsch zugrunde, ein effektives Schema zur Proteinerkennung zu entwickeln, das auf der richtigen räumlichen Anordnung einiger weniger Bindungsstellen an einem Polymer beruht. Hierfür wurden polymerisierbare Monoschichten oder Vesikel verwendet, wobei durch eine Oberflächenprägung mit einem Protein  $\text{Cu}^{2+}$ -Bindungsstellen in definierter Anordnung (komplementär zu den Imidazoleinheiten im Protein) orientiert und

dann durch Polymerisation fixiert wurden (Abb. 12)<sup>[26, 77]</sup>. Über die Leistungsfähigkeit der Oberflächenprägung durch Proteine liegen noch keine näheren Angaben vor.

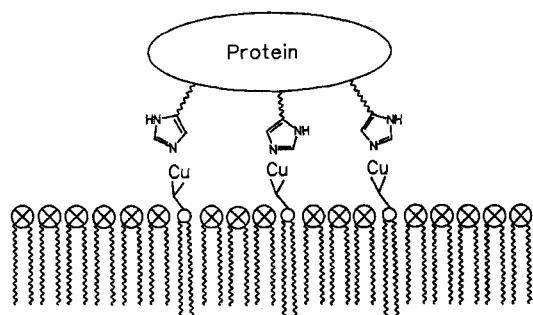


Abb. 12. Schematische Darstellung einer Monoschicht mit Cu-Iminodiacetatgruppen, die durch Wechselwirkung mit den Imidazolgruppen eines Proteins in eine definierte Anordnung gebracht werden. Anschließend wird die Anordnung in der Monoschicht durch Polymerisation fixiert (siehe Text) [26, 77].

#### 4.5. Ionenselektive geprägte Polymere

Als Matrizen bei der Prägung von vernetzten Polymeren können auch Metall-Ionen dienen. Dazu werden geeignete Ligandengruppen mit Kationen in Kontakt gebracht, wobei sich Komplexe bilden. Diese werden anschließend zu einem vernetzten Polymer umgesetzt. Nach dem Abspalten der Matrizen-Ionen weisen solche Polymere eine stark erhöhte Adsorption des Kations der Matrizenverbindung und in vielen Fällen auch

eine deutlich erhöhte Selektivität für dieses auf. Die Selektivität hängt von mehreren Faktoren ab:

1. von der Spezifität der Wechselwirkung zwischen Ligand und Kation
  2. von der Koordinationsgeometrie und -zahl der Kationen
  3. von der Ladung des Kations
  4. in gewissem Umfang von der Größe des Kations.

Die Herstellung kann in unterschiedlicher Weise vorgenommen werden (siehe Tabelle 5):

a) Aus linearen Polymeren: Lineare Polymere mit metallbindenden Gruppierungen (z. B. Poly(4-vinylpyridin)) werden in Lösung mit Metall-Ionen zusammengebracht und einige Zeit äquilibriert. Es bilden sich Metall-Polymer-Komplexe, in denen die Konformation der Polymerketten so optimiert ist, daß viele Wechselwirkungen möglich sind. Diese Komplexe werden dann vernetzt, um die optimale Polymerkonformation zu stabilisieren. Anschließend werden die Metall-Ionen ausgewaschen. Unabhängig voneinander wendeten V. A. Kabanov, A. A. Efendiev et al.<sup>[164, 165]</sup> sowie H. Nishide, E. Tsuchida et al.<sup>[161, 176]</sup> dieses Verfahren an. Im russischen Arbeitskreis wurde eine deutlich erhöhte Adsorption ermittelt, und die japanischen Wissenschaftler stellten zudem erstmals eine erhebliche Selektivität für das Prägekation fest. In der Folgezeit wurde dieses Verfahren intensiv weiter bearbeitet.

b) Ein anderer Weg zum Aufbau ionenselektiver Polymere durch Prägung besteht in der Polymerisation einer Monomer-mischung, die komplexierende Gruppen enthält, in Gegenwart von Metall-Ionen. Hierbei bilden sich intermediär Komplexe, die dann vernetzend polymerisiert werden. Die Methode ist sehr einfach, die Selektivitäten sind jedoch relativ gering.

Tabelle 5. Beispiele für ionenselektive geprägte Polymere.

Prä- methode [a]	funktionelles Polymer / Monomer	prägende Kationen	Vernetzer	Lit.
a	Poly(4-vinylpyridin)	Cu <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup> , Co <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Hg <sup>2+</sup>	1,4-Dibrombutan	[161]
	Poly(4-vinylpyridin)	Cu <sup>2+</sup>	1,4-Dibrombutan	[162]
a	Poly(4-vinylpyridin) auf Kieselgel	Cu <sup>2+</sup>	1,4-Dibrombutan	[163]
a	Poly(vinylphosphonsäurediethylester-co-acrylsäure)	Cu <sup>2+</sup>	Methylenbis(acrylamid)	[164]
a		K <sup>+</sup>	Methylenbis(acrylamid)	[165]
a	Poly(ethylenpolyamin)	Cu <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup>	photochemische Vernetzung	[166]
a	Chitosan	Cu <sup>2+</sup>	Epichlorhydrin	[167]
a	Chitosan	Cu <sup>2+</sup>	Epichlorhydrin	[168]
b	Vinylimidazol	Cu <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup>	Epichlorhydrin	[169]
b		Ni <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup>	1-Vinyl-2-pyrrolidon und $\gamma$ -Strahlen	[170]
b		Ni <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup>	Divinylbenzol	[171]
b		Mg <sup>2+</sup> , Ca <sup>2+</sup>	Divinylbenzol	[172]
c	[Cu <sub>2</sub> (methacrylat) <sub>4</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ]	Cu <sup>2+</sup>	EDMA [b]	[108]
c	[Cu <sub>2</sub> (methacrylat) <sub>4</sub> (4-vinylpyridin) <sub>2</sub> ]	Cu <sup>2+</sup>	EDMA [b]	[108]
c	[Cu <sub>2</sub> (acrylat) <sub>4</sub> (4-vinylpyridin) <sub>2</sub> ]	Cu <sup>2+</sup>	Divinylbenzol	[173]
c		Ni <sup>2+</sup>	Methylenbis(acrylamid)	[174]
d	carboxylierte Mikropartikel	Cu <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup>	Divinylbenzol	[175]

[a] Für die Beschreibung der Methoden siehe Text. [b] EDMA = Ethylenmethacrylat.

c) Etwas aufwendiger ist der Weg über die Herstellung definierter, polymerisierbarer Komplexe von Metall-Ionen in Substanz. Auf diese Weise kann die Art des Komplexes eindeutig bestimmt werden, und die Polymerisation verläuft unter streng definierten Bedingungen. Auch hier ist es wichtig, daß der Komplex während der Polymerisation nicht dissoziiert, was unter anderem durch die Wahl des Polymerisationsmediums beeinflußt werden kann.

Als erste konnten W. Kuchen et al.<sup>[108, 177]</sup> zeigen, daß mit definierten Metallkomplexen von Methacrylsäure und 4-Vinylpyridin sehr selektive Austauscher hergestellt werden können (Tabelle 6). Ungewöhnlich hohe Selektivitäten nach einer Prägung traten bei Mischbeladungen auf. Ein Vergleich mit einem Polymer mit den gleichen Haftgruppen, aber ohne Prägung ergab, daß  $Cu^{2+}$  nach der Prägung 10- bis 60mal selektiver aufgenommen wurde. Bei geringen Vernetzgehalten nimmt die Selektivität ab, während die Kapazität nach wie vor erhöht ist<sup>[173]</sup>.

Tabelle 6. Selektivität eines  $Cu^{2+}$ -geprägten Harzes bei Mischbeladung verglichen mit der eines entsprechenden ungeprägten Blindharzes bei der Trennung von Kationenpaaren[108].

Metall-Ionen	$\alpha$ [a]	$\alpha_{\text{Blind}}$ [b]	$\alpha'$ [c]
$Cu^{2+}/Zn^{2+}$	58	4.2	14
$Cu^{2+}/Cd^{2+}$	136	3.3	41
$Cu^{2+}/Pb^{2+}$	28	0.46	62

[a]  $\alpha = K_1/K_2$  = Selektivitätskoeffizient. [b]  $\alpha_{\text{Blind}}$  = Selektivitätskoeffizient für das Blindharz. [c]  $\alpha' = \alpha/\alpha_{\text{Blind}}$ .

d) Auch mit einem neuen Verfahren der Oberflächenprägung von M. Takagi et al.<sup>[175, 178]</sup> können selektive Chelat-Harze hergestellt werden. Durch Emulsionspolymerisation werden Mikropartikel ( $d = 0.4\text{--}0.7\text{ mm}$ ) mit Methacrylsäure als Comonomer erhalten. Das Korn wird mit einem Vernetzer gequollen, die Carboxygruppen durch NaOH an der Oberfläche angereichert und anschließend mit  $Cu^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  oder  $Ni^{2+}$  in eine spezifische Anordnung gebracht; diese wird anschließend durch Vernetzung fixiert (Abb. 13). Eine erhebliche Selektivität für das Prägkation wird beobachtet. So nimmt bei geringen  $Cu^{2+}$ -Konzentrationen das mit  $Cu^{2+}$  geprägte Polymer 10<sup>3</sup>mal so viel  $Cu^{2+}$  auf wie das ungeprägte.

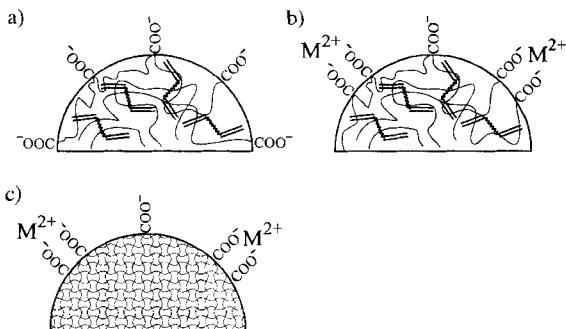


Abb. 13. Oberflächenprägung zur Herstellung ionenselektiver Polymere<sup>[178]</sup>. Carboxygruppen-haltige Mikropartikel werden mit NaOH behandelt und mit Divinylbenzol gequollen (a). Mit Hilfe von Kationen werden die Carboxygruppen in definierter Weise positioniert (b) und anschließend (z.B. mit <sup>60</sup>Co-Strahlung) vernetzt (c).

## 5. Der Prägemechanismus

In die geprägten Hohlräume wird die als Matrize genutzte Substanz im allgemeinen bevorzugt eingelagert. Wurde ein reines Enantiomer als Matrize verwendet, waren sehr effektive Racematspaltungen möglich. Hieraus wird klar, daß in diesen Fällen der Hohlraum asymmetrisch aufgebaut sein muß. Es fragt sich, worin diese Asymmetrie begründet ist. Schon sehr frühzeitig wurde sichergestellt, daß die Asymmetrie nicht durch im Polymer verbliebene optisch aktive Matrizenmoleküle hervorgerufen wird<sup>[13a, 32, 43, 58]</sup>. Denkbar ist, daß die linearen Teile der Polyvinylketten für die Asymmetrie ursächlich sind, da festgestellt wurde, daß an ein chirales Matrizenmolekül gebundene Monomerreste in einer asymmetrischen Cyclocopolymerisation optisch aktive Vinylpolymere ergeben können<sup>[179]</sup>. Es hat sich jedoch gezeigt, daß Monomere mit einer Struktur wie **1a** zu einer solchen asymmetrischen Cyclocopolymerisation nicht fähig sind<sup>[180]</sup>. Demnach muß man annehmen, daß nicht die Konfiguration, sondern eine fixierte asymmetrische Konformation der Polymerketten die Ursache für die Asymmetrie ist.

Außer durch die Racematspaltungsfähigkeit kann die Asymmetrie der Hohlräume überraschenderweise auch durch direkte Messung des Drehwertes nachgewiesen werden<sup>[18, 42]</sup>. Dabei wird das unlösliche Polymer in einem Lösungsmittel suspendiert, das genau den gleichen Brechungsindex wie das Polymer hat. Diese Technik wurde bereits bei anderen unlöslichen Substanzen angewendet<sup>[181a]</sup>. Während das Monomer **1a** eine molare Drehung  $[M]_D^{20}$  von  $-448.9^\circ$  aufweist, hat der einpolymerisierte Anteil eine von  $-61.7^\circ$ . Nach dem Abspalten der Matrizenmoleküle zeigt das Polymer einen  $[M]_D^{20}$ -Wert von  $+110.0^\circ$ . Dieser Drehwert geht nicht auf niedermolekulare, chirale Verbindungen zurück, sondern wird von den asymmetrischen Konformationen der Polymerketten hervorgerufen, die die chiralen Hohlräume bilden. Dies zeigt, daß direkte Messungen am hochvernetzten Polymer möglich sind. Wird dem von den Matrizenmolekülen befreiten Polymer erneut die Matrizenverbindung angeboten, so erhält man zunächst eine hohe positive molare Drehung von ca.  $+200^\circ$ , die langsam, bei höherer Temperatur schnell, in die ursprüngliche Drehung des Polymers von  $-61.7^\circ$  übergeht. Wie parallele kalorimetrische Messungen ergaben, werden die Matrizenmoleküle zunächst nur mit einer Boronsäure gebunden (Einpunktbindung), die erst anschließend in die stabile Zweipunktbindung übergeht (Abb. 14).

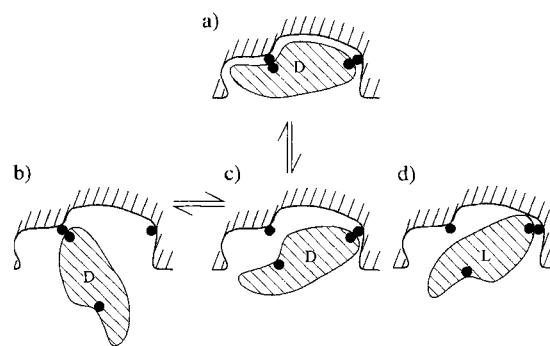


Abb. 14. Schematische Darstellung einer Zweipunkthaftung (a), einer unproduktiven (b) und einer produktiven Einpunktahaftung (c) sowie einer Einpunktahaftung des falschen Enantiomers (d).

Eine wichtige Frage ist, in welchem Umfang geprägte Polymere auch andere Substanzen als die Matrizenverbindung binden können. Sind z. B. auch Racemate anderer Substanzen auf trennbar? Bei ersten Untersuchungen an Glycerinsäureestern stellte sich heraus, daß mit einem bestimmten Ester geprägte Polymere eine ganze Reihe von Racematen trennen können, auch wenn der Alkoholrest im Racemat variiert wird (Methyl, Ethyl, Benzyl oder 4-Nitrophenyl)<sup>[61]</sup>. Ähnliches zeigte sich bei aromatischen Aminosäuren. Auch hier kann der aromatische Rest in den Racematen variieren; eine Racematspaltung ist möglich, solange die restliche Struktur erhalten bleibt<sup>[45]</sup>. Bei sonst gleicher Anordnung der funktionellen Gruppen sind allerdings die Form und die Größe des restlichen Moleküls wichtige Faktoren für die Trennbarkeit, wie sich z. B. an einer Reihe von Bisacetalen zeigte<sup>[88]</sup>.

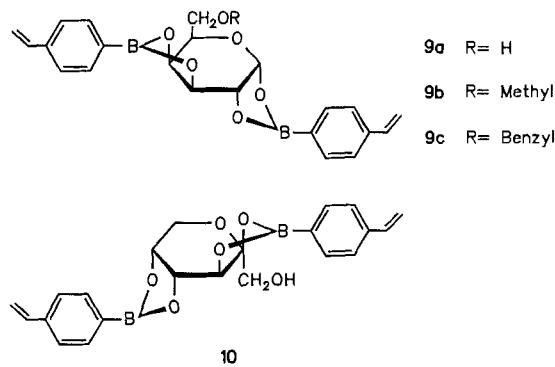
Um herauszufinden, welchen Anteil am Trennvermögen die Anordnung der Haftgruppen im Hohlraum hat und welchen die Form des Hohlraums, haben wir eine Reihe ähnlicher Monomere mit unterschiedlicher Anordnung der funktionellen Gruppen oder mit unterschiedlicher Raumerfüllung polymerisiert<sup>[18, 23, 55, 56a]</sup>. So wurden in der üblichen Weise geprägte Polymere mit Hilfe der Matrizenmonomere **1a**, **9** und **10** hergestellt. Nach dem Abspalten der Matrizenmoleküle wurde die Racematspaltungsfähigkeit mit mehreren Zuckerracematen untersucht (Tabelle 7). Alle Polymere spalteten – wie zu erwarten – das Racemat der Matrizenverbindung, wodurch jetzt auch underivatisierte Zucker direkt chromatographisch getrennt werden können<sup>[41]</sup>.

Tabelle 7. Selektivität verschiedener Polymere bei der Racematspaltung [55, 56a].

Matrizenmonomer	Racemat	$\alpha$
<b>1a</b>	Phenyl- $\alpha$ -D,L-mannosid	5.0
<b>1a</b>	D,L-Mannose	1.60
<b>1a</b>	D,L-Fructose	1.34
<b>9a</b>	D,L-Galactose	1.38
<b>9c</b>	D,L-Galactose	1.58
<b>10</b>	D,L-Fructose	1.63
<b>10</b>	D,L-Galactose	0.85 (1.17) [a]
<b>9a</b>	D,L-Fructose	0.80 (1.25) [a]
<b>9b</b>	D,L-Fructose	0.71 (1.41) [a]

[a] Um die Selektivitäten besser vergleichen zu können, ist in Klammern jeweils der reziproke Wert angegeben ( $K_1/K_0$ ).

D,L-Mannose kann auch auf einem Polymer, das mit Phenyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid geprägt worden ist, getrennt werden (2. Zeile in Tabelle 7). Dies zeigt, daß auch Racemate mit wesentlich geringerer molekularer Raumerfüllung als die Matrizenverbindung getrennt werden können. Das gleiche gilt für die Spaltung von D,L-Galactose auf einem mit 6-O-Benzyl-D-galactose geprägten Polymer (5. Zeile in Tabelle 7). In diesen Fällen haben Matrizenverbindung und Racemat die gleiche Anordnung der funktionellen Gruppen. Es gelingt jedoch nicht, andere Zuckerracemate als D,L-Fructose auf einem mit **1b** geprägten Polymer zu trennen. Interessant ist die Kreuzäquilibrierung von Polymeren, die mit D-Galactose (**P-9a**) bzw. mit D-Fructose (**P-10**) geprägt wurden. Während bei Äquilibrierung mit dem „eigenen“ Racemat die Matrizenverbindung bevorzugt gebunden wird, bindet das mit D-Fructose geprägte Polymer be-



vorzugt L-Galactose und das mit D-Galactose geprägte Polymer L-Fructose aus den jeweiligen Racematen. Diese inverse Selektivität bei der Kreuzäquilibrierung kann erklärt werden, wenn man sich die bevorzugten Konformationen der Moleküle betrachtet<sup>[55]</sup>. Als Beispiel sind in Abbildung 15  $\beta$ -L-Fructopyranose und  $\alpha$ -D-Galactopyranose gezeichnet, die beide bevorzugt vom Polymer P-9a gebunden werden. Beide Verbindungen weisen die gleiche Anordnung der mit den Boronsäuren reagierenden Hydroxygruppen auf (schwarz gezeichnet). Lediglich die Hydroxymethylengruppen (schräffiert) befinden sich an verschiedenen Positionen der Moleküle, woraus deutlich verschiedene Formen der Moleküle resultieren.

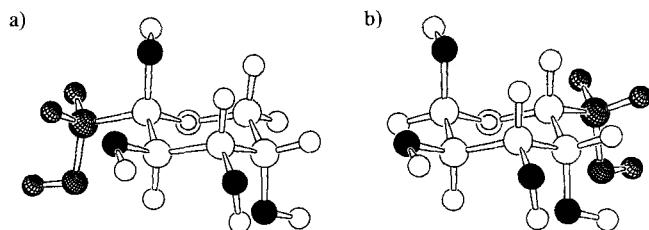


Abb. 15. Kugel-Stab-Modelle der bevorzugten Konformationen von  $\beta$ -L-Fructopyranose (a) und  $\alpha$ -D-Galactopyranose (b). Die mit den Boronsäuren reagierenden OH-Gruppen sind schwarz markiert, die die Form beeinflussenden Hydroxymethylengruppen schraffiert.

Ähnliche Überlegungen gelten für  $\beta$ -L-Galactopyranose und  $\alpha$ -D-Fructopyranose sowie für Phenyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid und  $\beta$ -D-Fructopyranose<sup>[55]</sup>. Aus diesen Ergebnissen kann man folgern, daß die Anordnung der funktionellen Gruppen im Hohlraum entscheidend für die Selektivität ist und der Form des Hohlraums eine etwas geringere Bedeutung zukommt. Für Substanzklassen mit gleicher Anordnung der wechselwirkenden Gruppen ist daher eine Gruppenselektivität vorhanden.

Für den Aufbau katalytisch wirksamer Polymere ist die Möglichkeit der Einführung von funktionellen Gruppen in definiter Anordnung von erheblicher Bedeutung. Dies ist allerdings nur mit kovalenten oder koordinativen Wechselwirkungen möglich.

Ein Substrat muß in einen spezifischen Hohlraum so eingelagert werden, daß die Wechselwirkungen mit den Haftgruppen stimmen und das Substrat in seiner Form in den Hohlraum paßt. Bei den meisten Matrizenmonomeren liegen zwei Haftgruppen vor, die zwar chemisch identisch sind, jedoch im ge-

prägten Hohlraum nichtidentische Bindungsstellen für das Matrizenmolekül und das Substrat aufweisen (siehe Abb. 14)<sup>[36]</sup>. Nimmt man zunächst eine Einpunkthaftung an, kann diese produktiv sein (wie in Abb. 14c) und im weiteren Verlauf zur korrekten Zweipunktbindung (Abb. 14a) führen. Wurde die falsche Einpunktbindung geknüpft (unproduktiv wie in Abb. 14b), kann eine zweite Bindung nicht mehr gebildet werden. Erst im Gleichgewicht kann nach dem Lösen dieser falschen Bindung eine der beiden produktiven Einpunktbindungen gebildet werden. Beim falschen Enantiomer (*L*) (oder bei anderen Isomeren, Diastereomeren etc.) kann man annehmen, daß eine (unproduktive) Bindung (z.B. Abb. 14d) wohl möglich ist, wegen der nicht passenden Geometrie des Moleküls eine zweite jedoch nicht eingegangen werden kann. Die korrekte Zweipunktbindung (wie in Abb. 14a) ist durch eine wesentlich höhere Bindungskonstante gekennzeichnet als die Einpunktbindung. Wie Chromatographie-Experimente zeigen, wird sie aber deutlich langsamer gebildet<sup>[23, 35–37]</sup>.

Wie bereits bei den Festkörperdrehwertmessungen erwähnt, kann die Bildung der Zweipunktbindung durch Erhöhung der Temperatur stark beschleunigt werden. Auch in den Untersuchungen von K. J. Shea et al. wird ein erheblicher Anteil an Einpunktbindungen festgestellt<sup>[88, 90]</sup>. Eingehende Untersuchungen zur Ein- und Zweipunktbindung bei nichtkovalerter Haftung liegen nicht vor, man kann jedoch ähnliche Verhältnisse wie bei kovalenter Haftung annehmen.

Wird das Matrizenmolekül aus dem Hohlraum abgespalten, kommt es zu einer Wechselwirkung des Lösungsmittels mit den Haftgruppen. Hierdurch tritt eine erhebliche Volumenquellung des Polymers (bis 100 %) und speziell der Hohlräume auf. Eine Einlagerung der Matrizenmoleküle in die aufgeweiteten Hohlräume ist dadurch erleichtert. Überraschenderweise geht bei der Einlagerung der Matrizenmoleküle das Volumen in etwa wieder auf das ursprüngliche zurück<sup>[14, 59]</sup>. Da die Selektivität vollständig erhalten bleibt, hat der Hohlraum seine Form bewahrt (Memory-Effekt). Dieses Phänomen ähnelt bis zu einem gewissen Grad dem aus der Enzymologie bekannten „induced fit“<sup>[181b]</sup>. Da bei der Äquilibrierung des Polymers mit Substrat und auch bei der Chromatographie ein schnelles Gleichgewicht zwischen freien und besetzten Hohlräumen vorliegt, sollte ein schnelles Pulsieren im Volumen der Hohlräume auftreten. Es ist nicht bekannt, in welcher Weise bei der Einlagerung des Substrats das Lösungsmittel den Hohlraum verläßt und ob dies – ähnlich wie bei Enzymen – auch durch die Polymermatrix möglich ist. Man kann davon ausgehen, daß diese Art von „induced fit“ bei nichtkovalerter Bindung keine Rolle spielt<sup>[54]</sup>.

Bei höherer Temperatur nimmt die Selektivität der geprägten Polymere erheblich zu. Das liegt zum einen daran, daß die selektivere Zweipunktbindung wesentlich schneller gebildet wird. Zum anderen sind durch Quellung zusätzliche Hohlräume (Bindungsstellen) zugänglich, die eine besonders hohe Selektivität aufweisen und die bei Raumtemperatur nicht belegt werden können. Daher tritt der ungewöhnliche Effekt auf, daß bei höherer Temperatur mehr Substanz aufgenommen wird oder sich die Retention erhöht<sup>[37]</sup>. Diese Tatsache erschwert eine detailliertere Untersuchung der Thermodynamik und Kinetik des Bindungsvorganges.

In diesem Zusammenhang muß darauf hingewiesen werden, daß, ähnlich wie bei polyklonalen Antikörpern, die einzelnen

Hohlräume unterschiedlich selektiv sind. Die Selektivitätsverteilung wurde in einem Vielzentrenmodell ermittelt, wobei Assoziationskonstanten für jede neu belegte Bindungsstelle berechnet wurden<sup>[31]</sup>. Demnach weist ein gewisser Teil der Hohlräume eine relativ geringe Selektivität auf (Veränderungen durch Schrumpfung oder Quellung, Lage an der Oberfläche), während die anderen eine Verteilung der Selektivität um einen Mittelwert ergeben, die auch sehr hohe Selektivitäten einschließt<sup>[31]</sup>. Für die Vergleichbarkeit von Selektivitäten ist daher der Belegungsgrad bei der Äquilibrierung oder bei der chromatographischen Trennung von entscheidender Bedeutung. Abbildung 17b demonstriert dies für eine chromatographische Trennung<sup>[54]</sup>.

## 6. Anwendungen geprägter Materialien

### 6.1. In der Chromatographie

Der Einsatz geprägter Materialien als stationäre Phase in der Chromatographie, insbesondere zur Racematspaltung, liegt auf der Hand. Trotz guter Selektivität war aber anfangs wegen der starken Peakverbreiterung während der Chromatographie keine vollständige Auf trennung z.B. des Racemats der Matrizenverbindung **1b** möglich<sup>[22, 32, 33]</sup>. Erst als wesentlich selektivere Sorbentien zur Verfügung standen, das chromatographische Verfahren verbessert war und bei höherer Temperatur gearbeitet wurde, waren uns 1986 erstmals vollständige Racematspaltungen mit einer Auflösung von  $R_s = 2.1$  möglich<sup>[38]</sup>. Später konnten durch Gradienteneluierung Auflösungen bis  $R_s = 4.3$  erreicht werden<sup>[41]</sup> (Abb. 16a). (Die Qualität einer chromatographischen Trennung wird durch die Auflösung  $R_s$  beschrieben, die in erster Linie durch den Trennfaktor  $\alpha$  des Substanzpaars und die Zahl der theoretischen Böden der Säule bestimmt wird. Eine Trennung ist ausreichend gut, wenn  $R_s \geq 1$  gilt.)

Durch das Nutzen nichtkovalerter Wechselwirkungen, wie bei durch **2** geprägten Polymeren, sollte eine Trennung wesentlich leichter zu erreichen sein. In der chromatographischen Praxis erwiesen sich diese Systeme jedoch als recht kom-

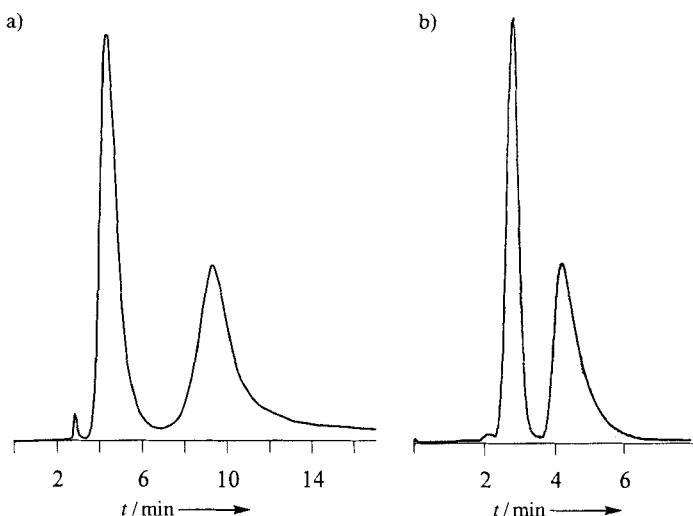


Abb. 16. Chromatographische Spaltung von D,L-1b an einem mit **1a** geprägten Polymer (a, Eluierung mit Laufmittelgradient bei 90 °C[41]) und von D,L-2 an einem mit **2** geprägten Polymer (b, Spaltung mit isokratischer Eluierung bei 80 °C[53]).

pliziert, da starke Wechselwirkungen mit dem Laufmittel auftraten und der Massentransfer ebenfalls recht langsam war. Eine vollständige Spaltung von D,L-**2** mit einem  $R_s$ -Wert von 1.2 gelang K. Mosbach et al. 1988<sup>[4,3]</sup>; eine wesentliche Verbesserung erreichten nach sehr sorgfältigen Optimierungsarbeiten B. Sellergren und K. J. Shea erst fünf Jahre später<sup>[5,3]</sup>. Durch einen Ionenaustauschmechanismus in einem wäßrigen Puffersystem von pH = 4 konnte eine Protonierung des Substrats erreicht werden, während die Carboxygruppen in den Hohlräumen zum Teil deprotoniert und die außerhalb der Hohlräume befindlichen nicht deprotoniert waren. Hierdurch kam es zu einer selektiven Bindung nur in den Hohlräumen mit einer guten Kinetik, die durch Verwendung eines hitzebehandelten Polymers<sup>[5,4]</sup> weiter bis auf einen  $R_s$ -Wert von 2.2 verbessert werden konnte (Abb. 16 b).

Auffallend bei diesen Trennungen ist, daß das stärker retardierte Enantiomer (dem Matrizenmolekül entsprechend) ohne Anwendung eines Gradienten eine sehr viel stärkere Peakverbreiterung zeigt. Die Trennbodenzahl für diese Verbindung ist höchstens halb so groß wie die für die schwächer retardierte. Der Grund dürfte im wesentlichen in der Zweipunkthaftung des Matrizenmoleküls und der Einpunktthaftung des anderen Enantiomers liegen. Der Unterschied zeigt sich auch in der Temperaturabhängigkeit der Bodenzahl für die beiden Enantiomere. Während beim Matrizenmolekül wegen der verstärkten Zweipunkthaftung bei höherer Temperatur kaum eine Abhängigkeit festzustellen ist, steigt die Bodenzahl für das zweite Enantiomer,

wie zu erwarten, stark an (Abb. 17 a)<sup>[3,8]</sup>. Auch die Mengenabhängigkeit der Retention ist für die beiden Enantiomere sehr unterschiedlich (Abb. 17 b)<sup>[5,4]</sup>. Das „falsche“ Enantiomer zeigt

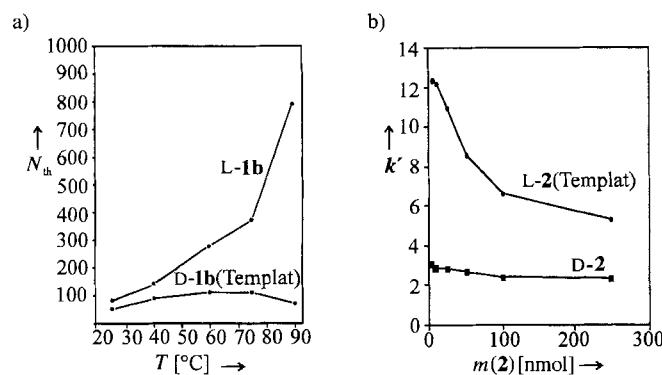


Abb. 17. Unterschiede in der Abhängigkeit der Bodenzahl von der Temperatur und der Retention von der chromatographierten Menge für ein Templatmolekül und dessen Enantiomer. a) Temperaturabhängigkeit der Bodenzahl  $N_d$ , bei der Spaltung von D- und L-1b auf einem mit D-1b geprägten Polymer. b) Mengenabhängigkeit der Kapazitätsfaktoren  $k'$  bei der Spaltung von L- und D-2 auf einem mit L-2 geprägten Polymer.

keine große Abhängigkeit, während beim Matrizenmolekül die Retention bei geringerer Konzentration stark erhöht ist. Bei geringerer Konzentration werden nur die selektivsten Hohlräume vom Matrizenmolekül belegt, und die Selektivität steigt daher stark an<sup>[3,1]</sup>. Auch präparative Trennungen sind möglich: So konnten 30 mg des Racemats von **1b** an 20 g Polymer weitgehend getrennt werden<sup>[2,3]</sup>.

Viele der in Tabelle 1 verzeichneten geprägten Polymere sind auch bei chromatographischen Trennungen eingesetzt worden.

Interessant scheint die Racematspaltung auf diese Art vor allem bei Arzneimitteln zu sein, weil es sich hier lohnt, speziell geeignete Polymere zu synthetisieren. Racematspaltungen von  $\beta$ -Blokern<sup>[8,3]</sup> und entzündungshemmenden Mitteln<sup>[8,5]</sup> sowie Gruppentrennungen von Pentamidinen<sup>[1,5,3a]</sup> wurden beschrieben.

Für derartige Zwecke dürfte sich auch ein Verfahren gut eignen, das ursprünglich von Svec und Fréchet<sup>[1,8,2]</sup> ausgearbeitet wurde. Dabei wird ein mikropartikuläres Polymer direkt in einer Säule hergestellt. Auf diesem Weg sind auch durch Matrizen geprägte Polymere zugänglich, die für Trennungen gut geeignet sind<sup>[1,5,3b], [8,3a]</sup>. Auch die direkte Herstellung von geprägten Mikropartikeln für die Chromatographie ist beschrieben worden<sup>[1,10]</sup>. Von Interesse sollten darüber hinaus kapillarelektrophoretische Trennungen in mit geprägten Polymeren gefüllten Kapillaren sein<sup>[1,5,3c]</sup>. Außerordentlich hohe Bodenzahlen lassen sich auf diese Weise erhalten, die Selektivität läßt bei diesem Verfahren allerdings noch zu wünschen übrig. Eine andere Möglichkeit ist der Einsatz von geprägten Polymeren als stationäre Phasen in der Dünnschichtchromatographie<sup>[1,8,3b]</sup>.

## 6.2. Geprägte Polymere für den Radioimmunoassay

Mosbach et al.<sup>[8,1], [8,4]</sup> setzten geprägte Polymere anstelle von Antikörpern für die Bestimmung von Arzneimitteln in Radioimmunoassays ein. So prägten sie Polymere mit Theophyllin, Diazepam<sup>[8,1]</sup> und Morphin<sup>[8,4]</sup> und erhielten z.B. für Theophyllin einen Linearitätsbereich von 14–224  $\mu\text{M}$ . Die auftretenden Kreuzreaktionen mit strukturell ähnlichen Arzneimitteln waren ähnlich wie bei Antikörpern; Probleme traten durch das anders als bei monoklonalen Antikörpern unterschiedliche Bindungsvermögen der einzelnen Hohlräume („polyklonal“) auf. Bei weiterer Optimierung des Verfahrens könnte hier eine wirkliche Alternative zur sehr aufwendigen Isolierung von Antikörpern aus Tieren und ihrer Produktion in Bakterien entstehen.

## 6.3. Membranen und Sensoren

Geprägte Polymermembranen oder Polymeroberflächen können die Grundlage von Chemosensoren bilden. Sie sind erheblich stabiler als Biosensoren und haben daher eine höhere Lebensdauer. Im Prinzip lassen sich für viele Substanzen selektiv ansprechende Schichten durch molekulare Prägung herstellen. In der Praxis gibt es zur Zeit noch erhebliche Schwierigkeiten bei der Herstellung leistungsfähiger selektiver Sensoren. Ein Problem ist die Ausarbeitung eines geeigneten Detektionsprinzips.

Als erste erzeugten I. Tabushi et al.<sup>[1,3,2]</sup> durch reine Oberflächenprägung Sensoren. Sie nutzten Sagivs Methode<sup>[1,2,8]</sup> und banden Octadecylsilyl-Monoschichten zusammen mit inerten Matrizengästen (*n*-Hexadecan, 2-Cholesteryl-3,6-dioxadecylcarbonat oder Decyladamantan-1-carboxylat) kovalent an Zinn(IV)- oder Silicium(IV)-Schichten. Nach der Extraktion der Gäste ließen sich die Vitamine K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub> und E sowie Cholesterin und Adamantan durch starke elektrochemische Signale nachweisen.

Ähnlich kann man auf Si-Wafers mit SiO<sub>2</sub>-Schichten arbeiten<sup>[1,8,4a]</sup>. Die Schichten wurden mit den Matrizenmolekülen (Nucleotide, Nucleoside, Aminosäuren) bedeckt und anschlie-

Bend die freien Silanolgruppen mit Chlortrimethylsilan oder Trichloroctadecylsilan umgesetzt. Das gleiche Verfahren wurde auch auf der Oberfläche von Glaselektroden angewendet.

Wie bereits erwähnt, können die Matrizenmoleküle auch in der inerten Monoschicht verbleiben und so molekulare Defektstellen von definierter Größe und Bindungsfähigkeit bilden. Nur ganz bestimmte Moleküle können dann ein elektrochemisches Signal hervorrufen, was zu einer erheblichen Ionenselektivität führen kann<sup>[133]</sup>.

S. A. Piletsky et al.<sup>[71–73, 104b, 184b]</sup> haben sich ebenfalls mit der Entwicklung von Sensoren auf der Basis geprägter Polymere beschäftigt. Sie stellten freitragende<sup>[71]</sup> oder auf Glasfritten aufgetragene Membranen<sup>[72, 73, 104b]</sup> aus geprägten Polymeren her, die aus (2-Diethylaminoethyl)methacrylat und Ethylenmethacrylat als Monomere bestanden und mit Adenosinmonophosphat, Aminosäuren oder Cholesterin durch nichtkovalente Wechselwirkungen geprägt waren. Durch Elektrodialyse konnte selektive Permeabilität an diesen Membranen nachgewiesen werden. Auch bei Racematspaltungen wurde eine erhebliche Selektivität erreicht<sup>[72, 73]</sup>. Der Mechanismus für diese bemerkenswerten Trennungen scheint noch nicht vollständig geklärt. In einer neuen Arbeit über Sensoren für Sialinsäure konnte erstmals die Fluoreszenz zum Nachweis eingesetzt werden<sup>[184b]</sup>. Durch eine mit Tryptophan geprägte Membran konnte diese Verbindung transportiert werden, durch Photoisomerisierung des Polymers wurde die Fähigkeit zum selektiven Transport zerstört<sup>[75]</sup>. Es wurden auch Sensoren durch Polymerisation einer geprägten Polymerschicht auf einem Silicium-Wafer mit dünner SiO<sub>2</sub>-Schicht hergestellt<sup>[185a]</sup>. Diese sehr ausgefeilte Konstruktion zeigt Selektivität für eine Reihe von Aminosäuren. Die unterschiedlichen Beladungen der Polymerschicht werden durch den kapazitiven Widerstand der Schicht gemessen.

Einen interessanten neuen Weg zum Aufbau von Sensoren beschritten D. C. Sherrington et al.<sup>[185b]</sup>. Es gelang ihnen, geprägte makroporöse Polymere als vollkommen transparente Monolithe herzustellen. Die im geprägten Polymer gebundenen Matrizenmoleküle (z. B. Michlers Keton) werden mit linear polarisiertem Licht bestrahlt, wobei die in der Anregungsrichtung liegenden Moleküle mit der Polymermatrix reagieren. Nach dem Extrahieren der nicht umgesetzten Moleküle bleibt ein anisotropes Polymer zurück, in dem die freien Hohlräume nicht nur bevorzugt die Matrize binden, sondern zugleich die Matrizen in eine bevorzugte Richtung orientieren. Die Polymere zeigen daher einen ausgeprägten Dichroismus im UV-Licht, wodurch von nichtselektiver Bindung gut unterschieden werden kann.

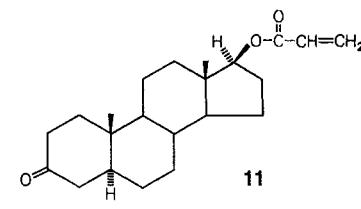
#### 6.4. Selektive Reaktionen in geprägten Hohlräumen

Ein wesentlicher Grund für die Herstellung von Hohlräumen mit definierter Form und vorherbestimmbarer Anordnung von funktionellen Gruppen ist der Wunsch, selektiv wirkende Katalysatoren und Modelle von Enzymen aufzubauen. Ein Schritt in diese Richtung sind stereo- und regioselektive Reaktionen in diesen Hohlräumen, die dann als Mikroreaktoren bezeichnet werden. Man geht dabei davon aus, daß der Hohlraum mit dem Produkt der Reaktion geprägt wird und man zunächst eine Vor-

stufe im Hohlraum bindet, um diese durch Umsetzung in das eigentliche Produkt zu überführen. Erste Versuche hierzu wurden von den Arbeitskreisen K. J. Shea<sup>[71]</sup> und D. C. Neckers<sup>[91]</sup> mit Cycloadditionen zu Cyclopropan- bzw. Cyclobutandicarbonsäuren durchgeführt, wobei letztere mit bemerkenswerter Regio- und Diastereoselektivität erhalten werden konnten<sup>[91]</sup>. Y. N. Belokon et al.<sup>[70, 96, 186]</sup> stellten fest, daß beim Abspalten eines Protons aus einem noch im Hohlraum befindlichen Matrizenmolekül das entstehende Carbanion anders als in Lösung seine ursprüngliche Konformation beibehält und daher unter Retention reagiert.

Erste asymmetrische Synthesen im chiralen Hohlraum gelangen in unserem Arbeitskreis<sup>[13a, 65, 150]</sup>. Dabei wurde ein Hohlraum mit dem L-DOPA-Methylester geprägt. Nach dem Entfernen der Matrizenmoleküle wurde Glycin im Hohlraum gebunden, deprotoniert und alkaliert. Die bisher höchsten Enantiomerenüberschüsse bei den so gebildeten Aminosäuren betragen 36% ee. Dieser Überschuß beruht allein auf der Form des asymmetrischen Hohlraums.

In sehr bemerkenswerten Versuchen konnten S. E. Byström et al.<sup>[82a]</sup> hohe Regio- und Stereoselektivität bei Reaktionen im Hohlraum demonstrieren: Sie polymerisierten das Steroid **11** als



Matrizenmonomer ein und entfernten es durch Reduktion. Die aus der Carboxygruppe neu gebildete Hydroxygruppe im Polymer wurde mit LiAlH<sub>4</sub> in ein aktives Hydrid überführt. An diesem Polymer wurde

Androstan-3,17-dion ausschließlich in der 17-Position zum Alkohol reduziert, während es in Lösung oder an einem Polymer mit statistisch verteilten Hydridfunktionen ausschließlich in 3-Position reduziert wird. Abbildung 18 zeigt, daß die Reduktion im Hohlraum nur in der 17-Position gut möglich ist. Auch eine erhebliche stereochemische Lenkung ( $\alpha$ - $\beta$ -Verhältnis der entstehenden OH-Gruppen) wurde beobachtet.

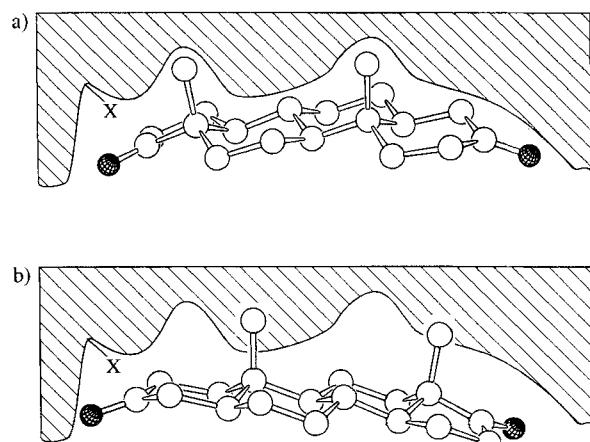


Abb. 18. Schematische Darstellung der Einlagerung von Androstan-3,17-dion in einen durch Prägung mit **11** hergestellten Hohlräum. X = CH<sub>2</sub>OH oder CH<sub>3</sub>OAIH<sub>4</sub><sup>-</sup> [82a]. a) Einlagerung mit der 17-Ketogruppe in Nachbarschaft zum Rest X; b) nichtpassende Einlagerung mit der 3-Ketogruppe in Nachbarschaft zum Rest X.

## 6.5. Katalyse mit geprägten Polymeren und Kieselgelen

Das Prägen von Polymeren bietet sich für den Aufbau von Katalysatoren, speziell solchen, die ähnlich wie Enzyme arbeiten, geradezu an<sup>[8, 14]</sup>. Es ist möglich, einen Hohlraum zu erzeugen, der in seiner Form dem aktiven Zentrum eines Enzyms ähnelt. Darüber hinaus ist es notwendig, Bindungsstellen für Substrate und katalytisch wirksame Gruppen in der richtigen Nachbarschaftsbeziehung zueinander einzubauen. Mit geeigneten Matrizenverbindungen sollte dies möglich sein. In diesen Fällen ist, ähnlich wie bei Enzymen, eine Michaelis-Menten-Kinetik zu erwarten, und die katalytische Wirksamkeit sollte von  $k_{cat}/K_m$  abhängen, wobei  $k_{cat}$  die Geschwindigkeitskonstante der katalysierten Reaktion und  $K_m$  eine Bindungskonstante ist, die die Affinität des Substrats zum Katalysator (Enzym) beschreibt. Für die Bindung an den Katalysator ist es wesentlich, daß sie in einer definierten Orientierung erfolgt (produktiv), da sonst (unproduktiv) keine Umsetzung zu erwarten ist.

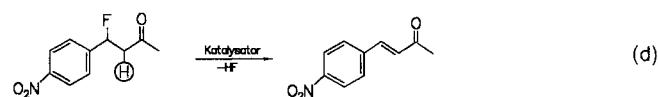
Auch sollte es möglich sein, Übergangszustandsanaloga als Matrizen zu verwenden und so ähnlich wie bei den katalytisch wirksamen Antikörpern<sup>[187]</sup> zu effektiven Katalysatoren zu kommen. Der Vorteil dieser synthetischen Katalysatoren ist ihre einfache Herstellbarkeit und ihre Stabilität. Anders als bei monoklonalen Antikörpern hat man es hier aber mit unterschiedlich aufgebauten aktiven Zentren zu tun, die mehr den polykonalen Antikörpern ähneln.

Erste Versuche zur Katalyse wurden von A. A. Efendiev, V. A. Kabanov et al.<sup>[188]</sup> durchgeführt. Dabei wurden Cobaltkomplexe von linearen Polymeren zusammen mit z.B. Ethylbenzol, dem Edukt der zu katalysierenden Reaktion, äquilibriert und anschließend das Polymer vernetzt. Solche Polymere katalysierten die Oxidation zweimal so gut wie die nicht geprägten Katalysatoren. Etwas besser war die Aktivität noch, wenn mit dem Reaktionsprodukt,  $\alpha$ -Phenylethylhydroperoxid, geprägt wurde.

Eine Retroracemisierung mit einem 4-Vinylpyridin enthaltenden, geprägten Polymer gelang A. Sarhan et al.<sup>[163]</sup>. Pyridoxal enthaltende, geprägte Polymere zeigten eine gewisse Beschleunigung des Protonaustausches in Aminosäurederivaten<sup>[97]</sup>, und mit Vinylimidazol hergestellte geprägte Polymere führten zu einer effektiveren Esterspaltung bei den Matrizenmolekülen<sup>[152]</sup>. In allen Fällen war jedoch der Matrizeneffekt recht gering. Das gleiche gilt für Versuche, mit Übergangszustandsanalogen Phosphonsäureestern Polymere für die Esterhydrolyse zu prägen<sup>[101–104a]</sup>. Recht ähnliche Phosphonsäureester sind als Antigene zur Herstellung von Antikörpern verwendet worden, und derartige Antikörper waren in einigen Fällen bei der Esterhydrolyse ganz erheblich katalytisch wirksam<sup>[187]</sup>. Bei den geprägten Polymeren beobachtete man jedoch lediglich eine Beschleunigung um den Faktor 2<sup>[101–103]</sup>, mit einem großen Überschuß an Vinylimidazol eine um den Faktor 6.8<sup>[104a]</sup>.

Eine deutlichere katalytische Beschleunigung erhielten Shea et al.<sup>[109]</sup>. Sie verwendeten Benzylmalonsäure als Matrize, um polymerisierbare Amine in definierter Anordnung im Hohlraum zu positionieren. Nach dem Entfernen der Matrizenmoleküle beschleunigte dieses Polymer die Dehydrofluorierung von 4-Fluor-4-(*para*-nitrophenyl)butanon um das 8.6fache gegenüber der entsprechenden Reaktion in Lösung

[Gl. (d)]. Die entsprechende Katalyse mit Antikörpern war zwar effektiver<sup>[189a]</sup>, doch konnten auch mit dem nichtbiologischen



System Turnover, Michaelis-Menten-Kinetik und kompetitive Hemmung beobachtet werden. Noch stärkere Beschleunigungen (25fach) wurden bei der Decarboxylierung von 3-Carboxybenzoxazolen beobachtet. In diesem Fall wurden über Di-Schiff-Basen zwei Aminogruppen in geeignetem Abstand in einen Hohlraum eingebracht<sup>[189b]</sup>. Offenbar genügt ein Übergangszustands-analoger Hohlraum für die Katalyse nicht, sondern es sind zusätzliche kooperative Effekte von katalytisch wirksamen Gruppen erforderlich.

Bereits vor einigen der genannten Untersuchungen hat sich der Arbeitskreis von K. Morihara<sup>[122, 123, 190–200]</sup> sehr intensiv mit der Herstellung von Katalysatoren auf der Oberfläche von Kieselgel beschäftigt. In einem als „Fußabdruck-Katalyse“ (Footprint Catalysis) bezeichneten Verfahren wird kommerziell erhältliches Kieselgel mit  $Al^{3+}$ -Ionen behandelt, wobei durch den isomorphen Ersatz von Silicat durch Aluminat oberflächliche Lewis-Säure-Zentren gebildet werden. Anschließend wird mit Matrizenmolekülen, die Lewis-Basen-Gruppierungen enthalten, die Oberfläche belegt (zum Vorgehen siehe besonders Lit.<sup>[192, 196]</sup>). Beim Altern und Trocknen bilden sich durch Umgruppierungen oberflächliche Hohlräume mit definiert angeordneten Lewis-Säure-Zentren ( $Al^{3+}$ ) (Abb. 19).

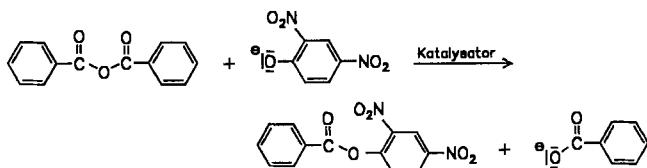
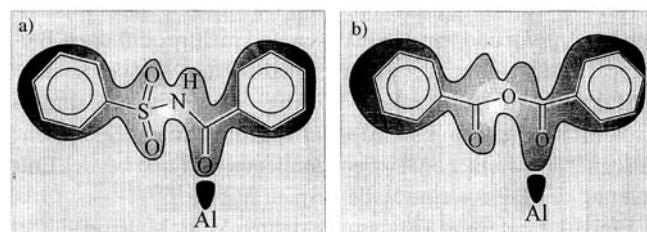


Abb. 19. Schematische Darstellung der Fußabdruck-Katalyse [192, 194]. a) Prägen mit **12** auf der Oberfläche und Plazierung eines  $Al^{3+}$ -Lewis-Säure-Zentrums in die Nachbarschaft einer Lewis-Base. b) Einlagerung des Substrats Benzoesäureanhydrid für die abgebildete Reaktion mit 2,4-Dinitrophenolat.

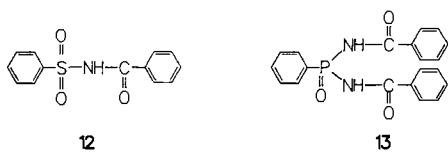
Nach dem Entfernen der Matrizenmoleküle wurde die Eignung der Verbindungen als Katalysatoren, z.B. für die Veresterung von 2,4-Dinitrophenolat mit Anhydriden, untersucht. Als Beispiel zeigt Tabelle 8<sup>[192, 194]</sup>, daß beim Prägen mit einem substratanalogen Matrizenmolekül entsprechend einer Michaelis-Menten-Kinetik die Bindungsfähigkeit des Substrats stark

Tabelle 8. Kinetikparameter für die katalysierte Veresterung von Kalium-2,4-dinitrophenolat mit Benzoesäureanhydrid.

Katalysator geprägt mit	$10^4 \times K_m$ [a] [L mol <sup>-1</sup> ]	$10^{-2} \times k_{cat}$ [b] [L <sup>-1</sup> mol s <sup>-1</sup> ]	$10^{-5} \times k_{cat}/K_m$ [L <sup>-2</sup> mol <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> ]
12	3.36	4.04	12.02 (3.19) [c]
13	4.06	33.36	82.23 (21.81) [c]
Kontrolle (ohne Prägung)	18.0	6.79	3.77

[a]  $K_m$  = Michaelis-Konstante. [b]  $k_{cat}$  = Geschwindigkeitskonstante der katalysierten Reaktion. [c] Die Zahl in Klammern gibt den Faktor gegenüber einem entsprechenden, aber nicht geprägten Katalysator an.

erhöht ist,  $k_{cat}$  jedoch größer wird. Insgesamt erhält man auf diese Weise Erhöhungen von  $k_{cat}/K_m$  um den Faktor 2 bis 8 gegenüber gleichartig hergestellten Katalysatoren ohne Prägung<sup>[191, 193–195]</sup>. Verwendet man jedoch ein Übergangszustands-analoges Prägemolekül mit tetraedrisch koordiniertem Phosphor 13<sup>[192]</sup>, ist die Bindungsfähigkeit erhöht, zugleich



nimmt aber auch  $k_{cat}$  stark zu. Erhöhungen von  $k_{cat}/K_m$  um den Faktor 22 sind auf diese Weise möglich. In vielen Fällen ist auch die Substratspezifität hoch<sup>[122, 190, 194]</sup>. Wird mit einer optisch aktiven Matrizenverbindung geprägt<sup>[123, 193, 195, 198, 200]</sup>, werden Enantiomere unterschiedlich schnell mit diesen Katalysatoren umgesetzt: Das zur Prägung verwendete Enantiomer wird zwei- bis viermal schneller umgesetzt als das andere<sup>[123, 193, 195, 198]</sup>. Eingehende Untersuchungen zur kompetitiven Hemmung und zur produktiven und nichtproduktiven Bindung<sup>[194, 195, 198]</sup> bei der Katalyse haben zum Verständnis des Verfahrens sehr beigetragen. Wichtige Anwendungen sind in Zukunft zu erwarten. Es wird sogar spekuliert, ob „präbiotische Enzyme“ auf ähnliche Weise entstandenen sind und bei der Entstehung des Lebens eine Rolle gespielt haben<sup>[197]</sup>.

Einen Umesterungskatalysator stellten W. F. Maier et al.<sup>[201]</sup> durch Prägung mit einem Phosphonsäureester in Kieselgel her. Der Katalysator enthielt Hohlräume mit Phosphor-Lewis-Säure-Zentren und zeigte eine hohe Substraselektivität. Bei der Umesterung von Phenylessigsäureethylester wurde der Octylester acht- bis zehnmal schneller als der Phenylethylester gebildet.

## 7. Ausblick

Die Herstellung von sehr exakten Abdrücken (Imprints) in Polymeren und in anderen Materialien wie auch auf Oberflächen ist heute für viele Matrizenmoleküle gut möglich. Die Anwendung derartiger Materialien rückt mehr und mehr ins Zentrum des Interesses. Wie in Abschnitt 6 beschrieben, könnten in naher Zukunft solche Materialien als künstliche Antikörper, Chemosensoren und Katalysatoren Anwendung finden. Insbesondere in der chromatographischen Racematspaltung kann

man praktische Anwendungen erwarten. Heute wird vorrangig an der Lösung folgender Probleme gearbeitet:

- Um auch mit hochmolekularen Biopolymeren, wie Proteinen, Glycoproteinen etc., prägen zu können, müssen besondere Verfahren angewendet werden. Oberflächenprägung dürfte hier eine günstige Lösung sein<sup>[19, 26, 77, 119, 202, 203]</sup>. Die Weiterentwicklung von entsprechenden Monoschichten und Vesikeln<sup>[77]</sup> scheint besonders lohnend.
- Um eine breitere Palette von Substraten beim Prägen verwenden zu können, müssen weitere Haftgruppen entwickelt werden, die nach Möglichkeit spezifisch für bestimmte funktionelle Gruppen sind.
- Trotz erheblicher Verbesserung des Massentransfers in geprägten Polymeren ist eine Beschleunigung der Gleichgewichtseinstellung der Bindung des Substrats in Hohlräumen mit Zweipunkthaftung wünschenswert.
- Es wäre günstig, wenn die Selektivitätsunterschiede der einzelnen Hohlräume („Polyklonalität“) weiter verringert werden könnten.
- Für die préparative Chromatographie ist es wichtig, die Belastbarkeit der Säulen weiter zu erhöhen. Dazu muß bei der Prägung unter Nutzung nichtkovalerter Wechselwirkungen der Anteil der wiederbelegbaren Hohlräume deutlich erhöht werden.
- Eine wesentliche Vereinfachung der Chromatographie würde erreicht, wenn nichtderivatisierte Verbindungen direkt getrennt werden könnten.
- Für den Einsatz von geprägten Polymeren als Chemosensoren benötigt man extrem empfindliche Nachweise für die in der geprägten Membran gebundenen Substanzen.

*Mein besonderer Dank gilt den an den hier vorgestellten eigenen Arbeiten beteiligten Mitarbeitern, deren Einsatz und Ideenreichtum diese Ergebnisse erst möglich gemacht haben. Finanzielle Unterstützung erhielten wir vor allem in der schwierigen Anfangsphase über längere Zeit durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, der hierfür besonders gedankt sei. Auch die Unterstützung durch den Fonds der Chemischen Industrie hat uns wesentlich geholfen. Für die Mitteilung unveröffentlichter Ergebnisse danke ich folgenden Fachkollegen: S. E. Byström, Stockholm; P. K. Dhal, Cambridge; A. A. Efendiev, Baku; Y. Fujii, Ibaraki; W. Kuchen, Düsseldorf; K. Morihara, Nara; S. A. Piletsky, Kiew; B. Sellergren, Mainz; K. J. Shea, Irvine; D. C. Sherrington, Glasgow; M. J. Whitecombe, Reading. Einen Teil der Zeichnungen und die Computergraphiken (Abb. 4 und 5) verdanke ich Dr. M. Aust, Düsseldorf.*

Eingegangen am 22. August 1994,  
veränderte Fassung am 30. November 1994 [A 78]

- [1] F. Vögtle, *Supramolekulare Chemie*, 2. Aufl., Teubner, Stuttgart, 1992; *Supramolecular Chemistry*, Wiley, New York, 1991.
- [2] D. J. Cram, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 1041–1052; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 1009–1020.
- [3] J. M. Lehn, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 91–106; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 89–104.
- [4] G. Wenz, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 851–870; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 803–822.
- [5] H.-J. Schneider, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1419–1548; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1417–1546.
- [6] J. Rebek, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 261–272; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 245–256.
- [7] L. Pauling, *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, *62*, 2643–2657.
- [8] G. Wulff, A. Sarhan, K. Zabrocki, *Tetrahedron Lett.* **1973**, 4329–4332.

- [9] R. Hoss, F. Vögtle, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 389–398; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 375–386.
- [10] C. H. Bamford in *Developments in Polymerisation – 2* (Hrsg.: R. N. Haward), Applied Science Publ., London, **1979**; Y. Y. Tan, G. Challa, *Encycl. Polym. Sci. Eng.* **1985–1989**, *16*, 554–569.
- [11] G. Wulff, A. Sarhan, *Angew. Chem.* **1972**, *84*, 364; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1972**, *11*, 341.
- [12] G. Wulff, A. Sarhan, DOS 2242796, **1974** [*Chem. Abstr.* **1975**, *83*, P60300w]; G. Wulff, A. Sarhan, US-A 4127730, **1978** (stark erweiterte Fassung des voranstehenden Patentes).
- [13] a) G. Wulff in *Polymeric Reagents and Catalysts* (Hrsg.: W. T. Ford) (*ACS Symp. Ser.* **1986**, *308*), S. 186; b) I. R. Dunkin, J. H. G. Steinke, D. C. Sherrington, *Adv. Polym. Sci.* **1995**, im Druck.
- [14] G. Wulff, A. Sarhan in *Chemical Approaches to Understanding Enzyme Catalysis: Biomimetic Chemistry and Transition-State Analogs* (Hrsg.: B. S. Green, Y. Ashani, D. Chipman), Elsevier, Amsterdam, **1982**, S. 106–118.
- [15] T. Kunieda, *Yuki Gosei Kagaku Kyokaishi* **1982**, *40*, 686–693; G. Wulff, *Ann. NY Acad. Sci.* **1984**, *434*, 327–333; K. Ichimura, *Kobunshi* **1986**, *35*, 934–937 [*Chem. Abstr.* **1987**, *106*, 33682j]; U. H. Cho, K. C. Kim, K. D. Anh, *Hwahak Kwa Kongop Ui Chinbo* **1987**, *27*, 821–827 [*Chem. Abstr.* **1988**, *109*, 210218x]; W. Huang, P. Ho, *Lizi Jiaohuan Yu Xifu* **1988**, *4*, 225–234 [*Chem. Abstr.* **1989**, *111*, 126106t]; K. Tsukagoshi, M. Takagi, *Kagaku (Kyoto)* **1992**, *47*, 500–501 [*Chem. Abstr.* **1992**, *117*, 92771]; M. M. Green, *Chemtracts: Macromol. Chem.* **1991**, *2*, 338–370.
- [16] B. Ekberg, K. Mosbach, *Trends Biotechnol.* **1989**, *7*, 92–96.
- [17] G. Wulff in *Biomimetic Polymers* (Hrsg.: C. G. Gebelein), Plenum, New York, **1990**, S. 1–14.
- [18] G. Wulff in *Bioorganic Chemistry in Healthcare and Technology* (Hrsg.: U. K. Pandit, F. C. Alderweireldt), Plenum, New York, **1991**, S. 55–68.
- [19] F. Flam, *Science* **1994**, *263*, 1221–1222.
- [20] K. J. Shea, *Trends Polym. Sci. (Cambridge, UK)* **1994**, *2*, 166–173.
- [21] K. Mosbach, *Trends Biochem. Sci.* **1994**, *19*, 9–14.
- [22] G. Wulff, W. Dederichs, R. Grottoßen, C. Jupe in *Affinity Chromatography and Related Techniques* (Hrsg.: T. C. J. Gribnau, J. Visser, R. J. F. Nivard), Elsevier, Amsterdam, **1982**, S. 207–216.
- [23] G. Wulff, M. Minarik in *Chromatographic Chiral Separations* (Hrsg.: M. Zief, L. J. Crane), Dekker, New York, **1988**, S. 15–52; G. Wulff in *Molecular Interactions in Bioseparations* (Hrsg.: T. T. Ngo), Plenum, New York, **1993**, S. 363–381.
- [24] L. I. Andersson, B. Ekberg, K. Mosbach in *Molecular Interactions in Bioseparations* (Hrsg.: T. T. Ngo), Plenum, New York, **1993**, S. 383–394; B. Sellergren in *Chiral Separations by Liquid Chromatography* (Hrsg.: G. Subramanian), VCH, Weinheim, im Druck; L. I. Andersson, I. A. Nicholls, K. Mosbach in *Highly Selective Separations in Biotechnology* (Hrsg.: G. Street), Blackie, New York, **1994**, S. 206–224; M. Kempe, K. Mosbach, *J. Chromatogr. A* **1995**, *694*, 3–13.
- [25] G. Wulff, *Pure Appl. Chem.* **1982**, *54*, 2093–2102.
- [26] S. Mallik, S. D. Plunkett, P. K. Dhal, R. D. Johnson, D. Pack, D. Shnek, F. H. Arnold, *New J. Chem.* **1994**, *18*, 299–304.
- [27] G. Wulff, *Trends Biotechnol.* **1993**, *11*, 85–87.
- [28] E. Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, *27*, 2985–2993; F. W. Lichtenhaller, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2456–2467; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2364–2374.
- [29] F. H. Dickey, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1949**, *35*, 227–229.
- [30] F. H. Dickey, *J. Phys. Chem.* **1955**, *59*, 695–707.
- [31] G. Wulff, R. Grobe-Einsler, W. Vesper, A. Sarhan, *Makromol. Chem.* **1977**, *178*, 2817–2825.
- [32] G. Wulff, W. Vesper, R. Grobe-Einsler, A. Sarhan, *Makromol. Chem.* **1977**, *178*, 2799–2816.
- [33] G. Wulff, W. Vesper, *J. Chromatogr.* **1978**, *167*, 171–186.
- [34] G. Wulff, R. Kemmerer, J. Vietmeier, H.-G. Poll, *Nouv. J. Chim.* **1982**, *6*, 681–687.
- [35] G. Wulff, D. Oberkobusch, M. Minarik, *React. Polym. Ion Exch. Sorbents* **1985**, *3*, 261–275.
- [36] G. Wulff, D. Oberkobusch, M. Minarik in *Proceedings of the XVIIIth Solvay Conference on Chemistry, Brussels 1983* (Hrsg.: G. von Binst), Springer, Berlin, **1986**, S. 229–233.
- [37] G. Wulff, H.-G. Poll, M. Minarik, *J. Liq. Chromatogr.* **1986**, *9*, 385–405.
- [38] G. Wulff, M. Minarik, *HRC & CC, J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* **1986**, *9*, 607–608.
- [39] G. Wulff, J. Vietmeier, H.-G. Poll, *Makromol. Chem.* **1987**, *188*, 731–740.
- [40] G. Wulff, H.-G. Poll, *Makromol. Chem.* **1987**, *188*, 741–748.
- [41] G. Wulff, M. Minarik, *J. Liquid Chromatogr.* **1990**, *13* (15), 2987–3000.
- [42] G. Wulff, G. Kirstein, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 706–708; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 684–686.
- [43] B. Sellergren, M. Lepistö, K. Mosbach, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5853–5860.
- [44] A. Moradian, K. Mosbach, *J. Mol. Recognit.* **1989**, *2*, 167–169.
- [45] D. J. O'Shannessy, L. I. Andersson, K. Mosbach, *J. Mol. Recognit.* **1989**, *2*, 1–5.
- [46] D. J. O'Shannessy, B. Ekberg, L. I. Andersson, K. Mosbach, *J. Chromatogr.* **1989**, *470*, 391–399.
- [47] M. Lepistö, B. Sellergren, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 6010–6012.
- [48] B. Sellergren, *Makromol. Chem.* **1989**, *190*, 2703–2711.
- [49] B. Sellergren, *Chirality* **1989**, *1*, 63–68.
- [50] D. J. O'Shannessy, B. Ekberg, K. Mosbach, *Anal. Biochem.* **1989**, *177*, 144–149.
- [51] L. I. Andersson, D. J. O'Shannessy, K. Mosbach, *J. Chromatogr.* **1990**, *513*, 167–179.
- [52] M. Kempe, K. Mosbach, *Anal. Lett.* **1991**, *24*, 1137–1145.
- [53] B. Sellergren, K. J. Shea, *J. Chromatogr.* **1993**, *654*, 17–28.
- [54] B. Sellergren, K. J. Shea, *J. Chromatogr.* **1993**, *635*, 31–49.
- [55] G. Wulff, S. Schauhoff, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 395–400.
- [56] a) G. Wulff, J. Haarer, *Makromol. Chem.* **1991**, *192*, 1329–1338; b) A. G. Mayes, L. Andersson, K. Mosbach, *Anal. Biochem.* **1994**, *222*, 483–488.
- [57] G. Wulff, I. Schulze, K. Zabrocki, W. Vesper, *Makromol. Chem.* **1980**, *181*, 531–544.
- [58] A. Sarhan, G. Wulff, *Makromol. Chem.* **1982**, *183*, 85–92.
- [59] A. Sarhan, G. Wulff, *Makromol. Chem.* **1982**, *183*, 1603–1614.
- [60] G. Wulff, A. Sarhan, J. Gimpel, E. Lohmar, *Chem. Ber.* **1974**, *107*, 3364–3376.
- [61] G. Wulff, E. Lohmar, *Isr. J. Chem.* **1979**, *18*, 279.
- [62] A. Sarhan, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1982**, *3*, 489–493.
- [63] A. Sarhan, M. A. El-Zahab, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1987**, *8*, 555–561.
- [64] G. Wulff, W. Best, A. Akelah, *React. Polym. Ion Exch. Sorbents* **1984**, *2*, 167–174.
- [65] G. Wulff, J. Vietmeier, *Makromol. Chem.* **1989**, *190*, 1727–1735.
- [66] B. Sellergren, L. Andersson, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3381–3383.
- [67] O. Ramström, L. I. Andersson, K. Mosbach, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 7562–7564.
- [68] Y. Fujii, K. Kikuchi, K. Matsutani, K. Ota, M. Adachi, M. Syoji, I. Haneishi, Y. Kuwana, *Chem. Lett.* **1984**, 1487–1490.
- [69] Y. Fujii, K. Matsutani, K. Kikuchi, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, 415–417.
- [70] Y. N. Belokon, V. I. Tararov, T. F. Savel'eva, S. V. Vitt, V. I. Bakhmutov, V. M. Belikov, *Makromol. Chem.* **1980**, *181*, 89–104.
- [71] K. J. Shea, E. A. Thompson, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 4253–4255; S. A. Piletsky, I. J. Dubey, D. M. Fedoryak, V. P. Kukhar, *Biopolim. Kletika* **1990**, *6*, 55–58; K. J. Shea, E. A. Thompson, S. D. Pandey, P. S. Beauchamp, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 3149–3151.
- [72] S. A. Piletsky, I. A. Butovich, V. P. Kukhar, *Zh. Anal. Khim.* **1992**, *47*, 1681–1684.
- [73] S. A. Piletsky, Y. P. Parhometz, N. V. Lavryk, T. L. Panasyuk, A. V. El'skaya, *Sens. Actuators B* **1994**, *18–19*, 629–631.
- [74] J. Matsui, T. Kato, T. Takeuchi, M. Suzuki, K. Yokoyama, E. Tamiya, I. Karube, *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 2223.
- [75] S. Marx-Tibbon, I. Willner, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 1261–1262.
- [76] a) O. Ramström, I. A. Nicholls, K. Mosbach, *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, *5*, 649–656; b) M. Kempe, K. Mosbach, *J. Chromatogr. A* **1995**, *691*, 317–323.
- [77] F. H. Arnold, P. K. Dhal, D. Shnek, S. Plunkett, *PCT Int. Appl. WO 9213447*, **1992** [*Chem. Abstr.* **1993**, *118*, 164712q]; D. R. Shnek, D. W. Pack, D. Y. Sasaki, F. H. Arnold, *Langmuir* **1994**, *10*, 2382–2388.
- [78] K. J. Shea, D. A. Spivak, B. Sellergren, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 3368–3369.
- [79] S. A. Piletsky, D. M. Fedoryak, V. P. Kukhar, *Dokl. Akad. Nauk Ukr. SSR Ser. B* **1990** (4), 53–54 [*Chem. Abstr.* **1991**, *114*, 165457a].
- [80] H. Büemann, N. Dattagupta, H. J. Schuetz, W. Müller, *Biochemistry* **1981**, *20*, 2864–2874.
- [81] G. Vlatakis, L. I. Andersson, R. Müller, K. Mosbach, *Nature (London)* **1993**, *361*, 645–647; K. Mosbach, *PCT Int. Appl. WO 94/11403*, **1994**.
- [82] a) S. E. Byström, A. Boerje, B. Åkermark, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 2081–2083; b) M. J. Whitcombe, M. E. Rodriguez, E. N. Vulson, *Separations for Biotechnology 3* (Hrsg.: D. L. Pyle) (*Spec. Publ. R. Soc. Chem.* **1994** (158), 565); M. J. Whitcombe, M. E. Rodriguez, P. Villar, E. N. Vulson, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7105–7111.
- [83] L. Fischer, R. Müller, B. Ekberg, K. Mosbach, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9358–9360; L. Fischer, R. Müller, K. Mosbach, B. Ekberg, *PCT Int. Appl. WO 93/09075*, **1993**.
- [84] G. Vlatakis, L. I. Andersson, K. Mosbach, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, im Druck.
- [85] M. Kempe, K. Mosbach, *J. Chromatogr. A* **1994**, *664*, 276–279.
- [86] G. Wulff, B. Heide, G. Helfmeier, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 1089–1091; *React. Polym. Ion Exch. Sorbents* **1987**, *6*, 299–310.
- [87] K. J. Shea, T. K. Dougherty, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 1091–1093.
- [88] K. J. Shea, D. Y. Sasaki, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3442–3444.
- [89] K. J. Shea, D. Y. Sasaki, G. J. Stoddard, *Macromolecules* **1989**, *22*, 1722–1730.
- [90] K. J. Shea, D. Y. Sasaki, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4109–4120.

- [91] J. Damen, D. C. Neckers, *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 1913–1916; *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 3265–3267.
- [92] G. Wulff, I. Schulze, *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 568–570; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1978**, *17*, 537–538; G. Wulff, I. Schulze, *Isr. J. Chem.* **1978**, *17*, 291–297.
- [93] T. Takagishi, I. M. Klotz, *Biopolymers* **1972**, *11*, 483–491; T. Takagishi, A. Hayashi, N. Kuroki, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* **1982**, *20*, 1533–1547; T. Takagishi, T. Sugimoto, H. Hamano, Y.-J. Lim, N. Kuroki, H. Kozuka, *J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed.* **1984**, *22*, 283–289.
- [94] R. Arshady, K. Mosbach, *Makromol. Chem.* **1981**, *182*, 687–692.
- [95] Y. N. Belokon, V. I. Tararov, T. F. Savel'eva, V. M. Belikov, *Makromol. Chem. Macromol. Phys.* **1980**, *181*, 2183–2197.
- [96] Y. N. Belokon, V. I. Tararov, T. F. Savel'eva, O. I. Lependina, G. I. Timofeyeva, V. M. Belikov, *Makromol. Chem.* **1982**, *183*, 1921–1934.
- [97] L. I. Andersson, K. Mosbach, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1989**, *10*, 491–495.
- [98] I. R. Dunkin, J. Lenfeld, D. C. Sherrington, *Polymer* **1993**, *34*, 77.
- [99] P. K. Dhal, F. H. Arnold, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7417–7418.
- [100] P. K. Dhal, F. H. Arnold, *Macromolecules* **1992**, *25*, 7051–7059.
- [101] K. Mosbach, US-A 5110833, *1992 [Chem. Abstr. 1992, 117, 107313r]*.
- [102] D. K. Robinson, K. Mosbach, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 969–970.
- [103] B. Sellergren, K. J. Shea, *Tetrahedron Asymmetry* **1994**, *5*, 1403–1406.
- [104] a) K. Ohkubo, Y. Urata, S. Hirota, Y. Honda, T. Sagawa, *J. Mol. Catal.* **1994**, *87*, L21–L24; K. Ohkubo, Y. Urata, S. Hirota, Y. Honda, Y. Fujishita, T. Sagawa, *ibid.* **1994**, *93*, 189–193; K. Ohkubo, Y. Urata, Y. Honda, Y. Nakashima, K. Yoshinga, *Polymer* **1994**, *35*, 5372–5374; b) S. A. Piletsky, E. V. Piletskaya, A. V. Elgersma, K. Yano, I. Kurube, Yu. P. Parhometz, A. V. Elskaya, *Biosens. Bioelectron.*, eingereicht.
- [105] J. R. Millar, D. G. Smith, T. R. E. Kressman, *J. Chem. Soc.* **1965**, 304–310; A. Guyot in *Synthesis and Separation Using Functional Polymers* (Hrsg.: D. C. Sherrington, P. Hodge), Wiley, Chichester, **1989**, S. 1–42.
- [106] L. Andersson, B. Ekberg, K. Mosbach, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 3623–3624.
- [107] L. I. Andersson, K. Mosbach, *J. Chromatogr.* **1990**, *516*, 313–322.
- [108] W. Kuchen, J. Schram, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 1757–1763; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 1695–1701.
- [109] J. V. Beach, K. J. Shea, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 379–380; siehe auch R. Müller, L. J. Andersson, K. Mosbach, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1993**, *14*, 637–641.
- [110] K. Hosoya, J. M. J. Fréchet, *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **1993**, *31*, 2129.
- [111] K. Hosoya, K. Yoshizako, N. Tanaka, K. Kimata, T. Araki, J. Hagiwara, *Chem. Lett.* **1994**, 1437–1438.
- [112] O. Norrlöw, M. Glad, K. Mosbach, *J. Chromatogr.* **1984**, *299*, 29–41.
- [113] a) M. Glad, M. Kempe, K. Mosbach, PCT Int. Appl. WO 9305068, *1993 [Chem. Abstr. 1993, 119, 4425r]*; b) F. H. Arnold, S. Plunkett, P. K. Dhal, S. Vidyasankar, *Polym. Prepr.* **1995**, *36*, 97–98.
- [114] L. Pauling, *Chem. Eng. News* **1949**, *27*, 913–916.
- [115] R. Curti, U. Colombo, *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 3961; A. H. Beckett, P. Anderson, *Nature (London)* **1957**, *179*, 1074–1075; *J. Pharm. Pharmacol.* **1960**, *12*, 228T–236T; H. Erlenmeyer, H. Bartels, *Helv. Chim. Acta* **1964**, *47*, 46–51, 1285–1288.
- [116] V. V. Patriceev, A. F. Sholin, *Mol. Khromatogr.* **1964**–**1964**, 66–72 [*Chem. Abstr.* **1965**, *62*, 11127d]; E. S. Kosmatyi, K. A. Chebot'ko, V. I. Galinskaya, V. V. Strelko, *Zh. Anal. Khim.* **1974**, *29*, 168–170 [*Chem. Abstr.* **1974**, *81*, 59097n].
- [117] S. B. Bernhard, *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 4946–4947.
- [118] K. Sakata, T. Kunitake, *Chem. Lett.* **1989**, 2159–2162.
- [119] M. Glad, O. Norrlöw, B. Sellergren, N. Siegbahn, K. Mosbach, *J. Chromatogr.* **1985**, *347*, 11–23.
- [120] T. Huver, *Dissertation, Düsseldorf*, **1987**, siehe auch Übersicht Lit. [23].
- [121] O. Norrlöw, M.-O. Mansson, K. Mosbach, *J. Chromatogr.* **1987**, *396*, 374–377.
- [122] K. Morihara, S. Kurihara, J. Suzuki, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1988**, *61*, 3991–3998.
- [123] K. Morihara, M. Kurokawa, Y. Kamata, T. Shimada, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 358–360.
- [124] G. Wulff, T. Görlich, unveröffentlicht; T. Görlich, *Dissertation, Düsseldorf*, **1991**.
- [125] G. Wulff, R. Poensgen, unveröffentlicht.
- [126] D. C. Tahmassebi, T. Sasaki, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 679–681.
- [127] Y.-T. Tao, Y.-H. Ho, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 417–418.
- [128] J. Sagiv, *Isr. J. Chem.* **1979**, *18*, 346–353; *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 92–98; S. R. Cohen, R. Naaman, J. Sagiv, *J. Phys. Chem.* **1986**, *90*, 3054–3056.
- [129] J.-H. Kim, T. M. Cotton, R. A. Uphaus, *Thin Solid Films* **1988**, *160*, 389–397.
- [130] J.-H. Kim, T. M. Cotton, R. A. Uphaus, *J. Phys. Chem.* **1988**, *92*, 5575–5578.
- [131] L. I. Andersson, C. F. Mandenius, K. Mosbach, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 5437–5440.
- [132] K. Yamamura, H. Hatakeyama, K. Naka, I. Tabushi, K. Kurihara, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 79–81; I. Tabushi, K. Kurihara, K. Naka, K. Yamamura, H. Hatakeyama, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 4299–4302.
- [133] I. Rubinstein, S. Steinberg, Y. Tor, A. Shanzer, J. Sagiv, *Nature (London)* **1988**, *332*, 426–429; O. Chailapakul, R. M. Crooks, *Langmuir* **1993**, *9*, 884–888; R. Bilewicz, M. Majda, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5464–5466.
- [134] S. Steinberg, Y. Tor, E. Sabatani, I. Rubinstein, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5176–5182; S. H. Chen, C. W. Frank, *Langmuir* **1991**, *7*, 1719–1726.
- [135] M. H. Keyes, DOS 3147947 A1, **1982**; UK-B 2088880, **1984**; S. Saraswathi, M. H. Keyes, *Enzyme Microb. Technol.* **1985**, *6*, 98–100; M. H. Keyes, D. E. Albert, S. Saraswathi, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1987**, *501*, 201–204.
- [136] L. Braco, K. Dabulis, A. M. Klibanov, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 274–277; K. Dabulis, A. M. Klibanov, *Biotechnol. Bioeng.* **1992**, *39*, 176–185.
- [137] a) M. Stahl, M.-O. Mansson, K. Mosbach, SE-B 84040215-4, **1989**; M. Stahl, M.-O. Mansson, K. Mosbach, *Biotechnol. Lett.* **1990**, *12*, 161–166; M. Stahl, U. Jeppsson-Wistrand, M.-O. Mansson, K. Mosbach, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9366–9368; b) I. Willner, M. Lion-Dagan, S. Rubin, J. Wonner, F. Effenberger, P. Bäuerle, *Photochem. Photobiol.* **1994**, *59*, 491–496.
- [138] S. Shinkai, M. Yamada, T. Sone, O. Manabe, *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 3501–3504.
- [139] G. Wulff, S. Kubik, *Makromol. Chem.* **1992**, *193*, 1071–1080; *Carbohydr. Res.* **1992**, *237*, 1–10.
- [140] G. Wulff, S. Kubik, H.-G. Breitinger in *Nachwachsende Rohstoffe – Perspektiven für die Chemie* (Hrsg.: M. Eggersdorfer, S. Warwel, G. Wulff), VCH, Weinheim, **1993**, S. 311–322; S. Kubik, G. Wulff, *Starch / Staerke* **1993**, *45*, 220–225.
- [141] A. Bergold, W. H. Scouten in *Solid Phase Biochemistry* (Hrsg.: W. H. Scouten), Wiley, New York, **1983**, S. 149–187; M. J. Benes, A. Stembergova, W. H. Scouten in *Molecular Interactions in Bioseparations* (Hrsg.: T. T. Ngo), Plenum, New York, **1993**, S. 313–322.
- [142] M. Lauer, G. Wulff, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1987**, 745–749.
- [143] G. Wulff, M. Lauer, H. Böhne, *Angew. Chem.* **1984**, *96*, 714–715; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 741–742; M. Lauer, H. Böhne, R. Grotstollen, M. Salehnia, G. Wulff, *Chem. Ber.* **1985**, *118*, 246–260; G. Wulff, H. Stellbrink, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1990**, *109*, 216–221.
- [144] G. Wulff, H. Schmidt, H. Witt, R. Zentel, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 240–243; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 188–191.
- [145] G. Wulff, J. Gimpel, *Makromol. Chem.* **1982**, *183*, 2469–2477.
- [146] A. Sarhan, M. M. Ali, M. Y. Abdelaal, *React. Polym.* **1989**, *11*, 57–70.
- [147] A. Sarhan, *Makromol. Chem.* **1989**, *190*, 2031–2039.
- [148] B. Sellergren, K. G. I. Nilsson, *Methods Mol. Cell. Biol.* **1989**, *1*, 59–62.
- [149] K. J. Shea, G. J. Stoddard, D. M. Shavelle, F. Wakui, R. M. Choate, *Macromolecules* **1990**, *23*, 4497–4507.
- [150] G. Wulff, J. Vietmeier, *Makromol. Chem.* **1989**, *190*, 1717–1726.
- [151] G. Wulff, G. Wolf, *Chem. Ber.* **1986**, *119*, 1876–1889.
- [152] A. Leonhardt, K. Mosbach, *React. Polym. Ion Exch. Sorbents* **1987**, *6*, 285.
- [153] a) B. Sellergren, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 1578–1582; b) B. Sellergren, *J. Chromatogr. A* **1994**, *673*, 133–141; c) K. Nilsson, J. Lindell, O. Norrlöw, B. Sellergren, *ibid.* **1994**, *680*, 57–61.
- [154] M. Kempe, L. Fischer, K. Mosbach, *J. Mol. Recognit.* **1993**, *6*, 25–29.
- [155] G. Wulff, M. Minarik, S. Schauhoff, *GIT Fachz. Lab.* **1991**, *35*, 10–17.
- [156] S. A. Piletsky, V. P. Kukhar, D. M. Fedoryak, *Ukr. Khim. Zh. (Russ. Ed.)* **1989**, *55*, 872–875 [*Chem. Abstr.* **1990**, *112*, 159517b].
- [157] B. Sellergren, B. Ekberg, K. Mosbach, *J. Chromatogr.* **1985**, *347*, 1–10.
- [158] K. Williams, B. Askew, P. Ballester, C. Buhr, K. S. Jeong, S. Jones, J. Rebek, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 1090–1094; S. C. Zimmerman, Z. Zeng, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4789–4791; J. C. Adrian, C. S. Wilcox, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8055–8057.
- [159] V. A. Davankov, A. V. Semechkin, *J. Chromatogr.* **1977**, *141*, 313–353; V. A. Davankov, A. A. Kurganov, S. A. Bochkov, *Adv. Chromatogr.* **1983**, *22*, 71–116.
- [160] Y. Fujii, Privatmitteilung, Ibaraki, Japan.
- [161] H. Nishide, J. Deguchi, E. Tsuchida, *Chem. Lett.* **1976**, 169–174; *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* **1977**, *15*, 3023–3029.
- [162] L. S. Molochnikov, L. V. Demidova, Y. M. Sultanov, R. A. Gaibli, D. D. Orudzhev, E. B. Amanov, A. A. Efendiev, *Vysokomol. Soedin. Ser. B* **1990**, *32*, 945–947 [*Chem. Abstr.* **1991**, *114*, 83404f]; A. A. Efendiev, E. B. Amanov, D. D. Orudzhev, V. A. Kabanov, *Dokl. Akad. Nauk SSSR* **1988**, *300*, 1393–1395.
- [163] M. Chanda, G. L. Rempel, *React. Polym.* **1992**, *16*, 149–158.
- [164] V. A. Kabanov, A. A. Efendiev, D. D. Orudzhev, Russ.-Pat. 502907, **1976** [*Chem. Abstr.* **1976**, *85*, 6685d]; A. A. Efendiev, D. D. Orudzhev, V. A. Kabanov, *Vysokomol. Soedin. Ser. B* **1977**, *19*, 91 [*Chem. Abstr.* **1977**, *86*, 140873n]; V. A. Kabanov, A. A. Efendiev, D. D. Orudzhev, N. M. Samedova, *Dokl. Akad. Nauk. SSSR* **1978**, *238*, 356–358 [*Chem. Abstr.* **1978**, *88*, 90425m].
- [165] A. A. Efendiev, V. A. Kabanov, *Pure Appl. Chem.* **1982**, *54*, 2077–2092.
- [166] M. Shirai, T. Orikata, M. Tanaka, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1983**, *4*, 65; M. Shirai, A. Ueda, M. Tanaka, *Makromol. Chem.* **1985**, *186*, 493–496; M. Shirai, M. Tanaka, *Eur. Polym. J.* **1985**, *21*, 999–1003.
- [167] A. A. Efendiev, Y. M. Sultanov, B. K. Abbasova, S. I. Bagbanly, V. A. Kabanov, *Vysokomol. Soedin. Ser. B* **1985**, *27*, 264–266.
- [168] K. Inoue, Y. Baba, K. Yoshizuka, H. Noguchi, M. Yoshizaki, *Chem. Lett.* **1988**, 1281–1284.

- [169] K. Ohga, Y. Kurauchi, H. Yanase, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1987**, *60*, 444–446.
- [170] M. Kato, H. Nishide, E. Tsuchida, T. Sasaki, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* **1981**, *19*, 1803–1809.
- [171] S. N. Gupta, D. C. Neckers, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* **1982**, *20*, 1609–1622.
- [172] T. Rosatzin, L. I. Andersson, W. Simon, K. Mosbach, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1991**, 1261–1265.
- [173] D. A. Harkins, G. K. Schweitzer, *Sep. Sci. Technol.* **1991**, *26*, 345–354.
- [174] Y. Fujii, H. Maie, S. Kumagai, T. Sugai, *Chem. Lett.* **1992**, 995–998.
- [175] K. Yu, K. Tsukagoshi, M. Maeda, M. Takagi, *Anal. Sci.* **1992**, *8*, 701–703; K. Tsukagoshi, K. Y. Yu, M. Maeda, M. Takagi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1993**, *66*, 114–120.
- [176] H. Nishide, E. Tsuchida, *Makromol. Chem.* **1976**, *177*, 2295.
- [177] U. Braun, W. Kuchen, *Chem.-Ztg.* **1984**, *108*, 255; W. Kuchen, J. Schram, DOS DE 3 804-646, **1989** [Chem. Abstr. **1990**, *112*, 140473n]; unveröffentlichte Ergebnisse in Dissertationen an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf: H. Zoch, 1991, S. Kümmel, 1992, S. Pausch, 1994.
- [178] H. Kido, T. Miyajima, K. Tsukagoshi, M. Maeda, M. Makoto, *Anal. Sci.* **1992**, *8*, 749–753; K. Tsukagoshi, K. Yu, M. Maeda, M. Takagi, *Kobunshi Ronbunshu* **1993**, *50*, 455–458 [Chem. Abstr. **1993**, *119*, 73583c]; H. Kido, H. Sonoda, K. Tsukagoshi, M. Maeda, M. Takagi, H. Maki, T. Miyajima, *ibid* **1993**, *50*, 403–410 [Chem. Abstr. **1993**, *119*, 73662c].
- [179] G. Wulff, K. Zabrocki, J. Hohn, *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 567–568; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1978**, *17*, 535–537; G. Wulff, R. Kemmerer, B. Vogt, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 7449–7457; G. Wulff, *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 22–38; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, *28*, 21–37; *Chemtech* **1991**, 364–370; *Polym. News* **1991**, *16*, 167–173.
- [180] G. Wulff, J. Hohn, *Macromolecules* **1982**, *15*, 1255–1261.
- [181] a) P. Pino, I. Bartus, O. Vogl, *Polym. Prepr. (Am. Chem. Soc. Div. Polym. Chem.)* **1988**, *29*, 254–255; O. Vogl, I. Bartus, J. R. Murdoch, *Monatshefte Chem.* **1990**, *121*, 311–316; J. Bartus, O. Vogl, *Polymer Int.* **1994**, *33*, 25–36; b) D. E. Kosland, Jr., *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2468–2472; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2408–2412; M. Gerstein, A. M. Lesk, C. Chotia, *Biochemistry* **1994**, *33*, 6739–6749.
- [182] F. Svec, J. M. J. Fréchet, *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 820–822.
- [183] a) J. Matsui, T. Kato, T. Takeuchi, M. Suzuki, K. Yokoyama, E. Tamiya, I. Karube, *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 2223–2224; B. Sellergren, SE-B 9 303 164-9, **1993**; b) D. Kriz, C. B. Kriz, L. I. Andersson, K. Mosbach, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 2636–2640.
- [184] a) S. A. Piletsky, N. F. Starodub, *Zh. Anal. Khim.* **1992**, *47*, 623–628; N. F. Starodub, S. A. Piletsky, N. V. Lavryk, A. V. Elskaya, *Sens. Actuators B* **1994**, *18–19*, 629–632; b) S. A. Piletsky, E. V. Piletskaya, K. Yano, A. Kugimiya, A. V. Elgersma, R. Levi, U. Kahlow, T. Takeuchi, I. Karube, T. J. Panasyuk, A. V. Elskaya, *Anal. Lett.*, eingereicht; siehe auch D. Kriz, O. Ramström, A. Svensson, K. Mosbach, *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 2142–2144.
- [185] a) E. Hedborg, F. Winquist, I. Lundström, L. I. Andersson, K. Mosbach, *Sens. Actuators A* **1993**, *37–38*, 796–799; b) J. H. G. Steinke, J. R. Dunkin, D. C. Sherrington, *Macromolecules*, eingereicht.
- [186] Y. N. Belokon, V. I. Tararov, T. F. Savel'eva, M. M. Vorob'ev, S. V. Vitt, V. F. Sizov, N. A. Sukhacheva, G. V. Vasil'ev, V. M. Belikov, *Makromol. Chem.* **1983**, *184*, 2213–2223.
- [187] R. A. Lerner, S. J. Benkovic, P. G. Schultz, *Science* **1991**, *252*, 659–667; P. G. Schultz, *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 1336–1348; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, *28*, 1283–1295; B. S. Green, D. S. Tawfik, *Trends Biotechnol.* **1989**, *7*, 304–309.
- [188] A. A. Efendiev, D. D. Orujew, T. N. Shakhtakhinsky, V. A. Kabanov in *Homogeneous and heterogeneous catalysis* (Hrsg.: Y. Yermakov, V. Likhobolov), VNU Science, Utrecht, **1986**, S. 717–725; A. A. Efendiev, *Makromol. Chem. Makromol. Symp.* **1994**, *80*, 289–313; A. A. Efendiev, J. J. Orujew, E. B. Amanov, Y. M. Sultanov in *Metal-Containing Polymer Materials* (Hrsg.: C. Pittman, Jr.), Plenum, New York, im Druck.
- [189] a) K. M. Shokat, C. J. Leumann, R. Sugasawa, P. G. Schultz, *Nature (London)* **1989**, *338*, 269–271; b) S. Kato, K. J. Shea, *J. Am. Chem. Soc.*, im Druck.
- [190] K. Morihara, E. Nishihata, M. Kojima, S. Miyake, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1988**, *61*, 3999–4003.
- [191] K. Morihara, E. Tanaka, Y. Takeuchi, K. Miyazaki, N. Yamamoto, Y. Sagawa, E. Kawamoto, T. Shimada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1989**, *62*, 499–505.
- [192] T. Shimada, K. Nakanishi, K. Morihara, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1992**, *65*, 954–958.
- [193] T. Matsuishi, T. Shimada, K. Morihara, *Chem. Lett.* **1992**, 1921–1924.
- [194] T. Shimada, R. Kurazona, K. Morihara, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1993**, *66*, 836–840.
- [195] K. Morihara, S. Kawasaki, M. Kofuji, T. Shimada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1993**, *66*, 906–913.
- [196] K. Morihara, S. Doi, M. Takiguchi, T. Shimada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1993**, *66*, 2977–2982.
- [197] K. Morihara, T. Iijima, H. Usui, T. Shimada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1993**, *66*, 3047–3052.
- [198] T. Matsuishi, T. Shimada, K. Morihara, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1994**, *67*, 748–756.
- [199] T. Shimada, R. Hirose, K. Morihara, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1994**, *67*, 227–235.
- [200] K. Morihara, M. Takiguchi, T. Shimada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1994**, *67*, 1078–1084.
- [201] J. Heilmann, W. F. Maier, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 491–493; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 471–473.
- [202] M. Glad, M. Kempe, K. Mosbach, *PCT Int. Appl. Se 92 00610*, **1992**.
- [203] N. B. Afeyan, L. Varady, F. E. Regnier (Perceptive Biosystems), *PCT Int. Appl. WO 93 19844*, **1993** [Chem. Abstr. **1994**, *120*, 265 352u].