

- [15] T. Chirayil, P. Y. Zavalij, M. S. Whittingham, *Chem. Mater.* **1998**, *10*, 2629.
- [16] a) D. Riou, G. Férey, *J. Solid State Chem.* **1995**, *120*, 137; b) D. Riou, G. Férey, *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 6520; c) Y. Zhang, R. C. Haushalter, A. Clearfield, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 4950.
- [17] a) L. F. Nazar, B. E. Coene, J. F. Britten, *Chem. Mater.* **1996**, *8*, 327; b) Y. Zhang, R. C. Haushalter, A. Clearfield, *Chem. Commun.* **1996**, 1055.
- [18] Kristallstrukturanalyse von **1**: $V_2O_5C_5N_2H_7$, monoklin $P2_1/n$ (Nr. 14), $a = 3.5765(4)$ Å, $b = 11.340(1)$, $c = 20.689(2)$ Å, $\beta = 90.395(2)$ °, $V = 839.1(1)$ Å³, $Z = 4$, $\rho_{\text{ber.}} = 2.192$ g cm⁻³, $\mu = 2.222$ mm⁻¹, $T = 296$ K. Zur Strukturlösung und -verfeinerung wurden 978 Reflexe mit $I \geq 3.0\sigma(I_0)$ verwendet. Die Verfeinerung konvergierte bei $R = 0.064$, $R_w = 0.085$ und GOF = 1.94. Die Daten wurden auf einem Siemens-SMART-Diffraktometer mit Mo_{Kα}-Strahlung aufgenommen ($\lambda = 0.71073$ Å). Eine empirische Absorptionskorrektur, die auf simulierten ψ -Scans basierte, wurde durchgeführt. Die Lagen aller Wasserstoffatome ließen sich aus Differenz-Fourier-Karten entnehmen und wurden in die Berechnung der Strukturfaktoren einbezogen, nicht aber verfeinert. Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, D-76344 Eggenstein-Leopoldshafen (Fax: (+49) 7247-808-666; E-mail: crysdata@fiz-karlsruhe.de), unter der Hinterlegungsnummer CSD-408636 angefordert werden.
- [19] I. D. Brown, D. Altermatt, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1985**, *41*, 244.
- [20] Y.-J. Liu, J. A. Cowen, T. A. Kaplan, D. C. DeGroot, J. Schindler, C. R. Kannewurf, M. G. Kanatzidis, *Chem. Mater.* **1995**, *7*, 1616.
- [21] Y. Zhang, J. R. D. DeBord, C. J. O'Connor, R. C. Haushalter, A. Clearfield, J. Zubieta, *Angew. Chem.*, **1996**, *108*, 1067; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 989.
- [22] Die anderen Topologien ähnlicher Schichten sind ebenfalls beschrieben worden: a) P. Y. Zavalij, M. S. Whittingham, E. A. Boylan, V. K. Pecharsky, R. A. Jacobson, *Z. Kristallogr.* **1996**, *211*, 464; b) D. Riou, O. Roubeau, G. Férey, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1998**, *624*, 1021.
- [23] R. Enjalbert, J. Galy, *Acta Crystallogr. Sect. C* **1986**, *42*, 1467.
- [24] F. A. Cotton, G. Wilkinson, *Advanced Inorganic Chemistry*, 5. Aufl., Wiley, New York, **1988**, S. 668–669.
- [25] W. A. Walters, J. S. Littler in *Oxidation in Organic Chemistry* (Hrsg.: K. B. Wiberg), Academic Press, New York, **1965**, S. 185.

Bestimmung von Enantiomerenüberschüssen durch kinetische Racematspaltung und Massenspektrometrie**

Jianhua Guo, Jiangyue Wu, Gary Siuzdak* und M. G. Finn*

Kombinatorische Methoden zur Synthese von Bibliotheken kleiner Moleküle sind sehr effizient, und der geschwindigkeitsbestimmende Schritt für ihre Anwendung ist oft die

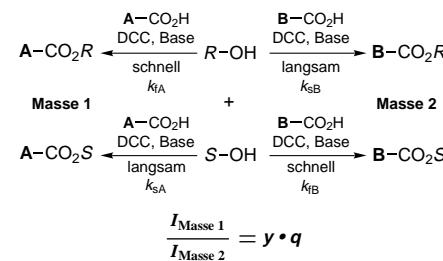
[*] Prof. G. Siuzdak, Prof. M. G. Finn, Dr. J. Guo, Dr. J. Wu
Department of Chemistry
The Scripps Research Institute
10550 North Torrey Pines Road
La Jolla, CA 92037 (USA)
Fax: (+1) 619-784-8850
E-mail: mgfinn@scripps.edu

[**] Wir danken dem Skaggs Institute for Chemical Biology, dem Department of Chemistry der University of Virginia und der Mass Consortium Corporation für die Unterstützung dieser Arbeit. Dr. A. Works, Prof. W. D. Harman und Prof. H. B. Kagan danken wir für hilfreiche Diskussionen.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.wiley-vch.de/home/angewandte/> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

Analyse dieser Verbindungen.^[1] Die Entdeckung neuer katalytischer enantioselektiver Prozesse durch das Testen einer großen Zahl möglicher Katalysatoren ist ein faszinierendes Ziel.^[2] Will man hierfür kombinatorische Methoden optimal einsetzen, sollte man Enantiomerenüberschüsse in kleinem Maßstab bei hohem Durchsatz messen können, eine Aufgabe, für die gegenwärtig Techniken entwickelt werden.^[1, 3] Wir beschreiben hier eine Methode zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses von Alkoholen und Aminen im nanomolaren Bereich durch diastereoselektive Derivatisierung und automatisierte quantitative Elektrospray-Ionisations-Massenspektrometrie (ESI-MS).^[4, 5] Da sich die Massenspektrometrie auch zur Analyse von Substanzgemischen eignet,^[4, 6] lassen sich hierbei einfache chemische Reaktionen und Reagenzien verwenden, und die Methode dürfte allgemein anwendbar sein.

Bei unserer Methode arbeitet man mit einer äquimolaren Mischung aus pseudoenantiomeren, massenmarkierten (mass-tagged), chiralen Acylierungsmitteln, die sich durch einen Substituenten unterscheiden, der nicht direkt an das chirale Zentrum gebunden ist, so daß die Masse der Moleküle in Beziehung zu ihrer absoluten Konfiguration steht. Im allgemeinen reagieren die Enantiomere chiraler Substrate mit einem chiralen Reagens unterschiedlich schnell ($k_f > k_s$; f = fast, s = slow).^[7] Dies ist auch so in der in Schema 1 auf-



Schema 1. Allgemeines Schema für die Reaktion chiraler Alkohole mit chiralen, massenmarkierten Säuren in Gegenwart von DCC und einer Base. I = Peakintensität des Massenspektrums, q = Korrekturfaktor für die Ionisation, y = korrigiertes Intensitätsverhältnis.

geförderten Reaktion von Alkoholen mit den chiralen, massenmarkierten Säuren **A**-CO₂H und **B**-CO₂H in Gegenwart von 1,3-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC). Das Verhältnis der entstehenden Ester, das man hierbei massenspektrometrisch ermittelt, läßt sich heranziehen, um anhand von Gleichung (1) und mit zwei Eichmessungen den Enantiomeren-

$$\% \text{ ee} = \left[\frac{(y-1)(s+1)}{(y+1)(s-1)} \right] \cdot 100 \quad \text{mit} \quad \begin{cases} s = \frac{k_f}{k_s} \\ y = \text{korrigiertes Intensitätsverhältnis} \end{cases} \quad (1)$$

gehalt des Substrats zu Beginn der Reaktion zu bestimmen.^[8] Diese Methode ist eine Weiterentwicklung der Methode von Horeau et al. zur Bestimmung der absoluten Konfiguration sekundärer Alkohole.^[9] Man kann sie aber auch als eine Anwendung der von Vedejs und Chen beschriebenen „parallelen kinetischen Racematspaltung“ betrachten,^[10] wenngleich wir unsere Methode unabhängig davon entwickelt haben.

Bisher wurden schon mehrere nichtenzymatische, chirale Acylierungsmittel zur kinetischen Racematspaltung durch solche Acylierungen entwickelt.^[10, 11] Wir bedienten uns hier der massenmarkierten *N*-Acylproline **1a** und **1b** (zusammen mit DCC) als einfache chirale Acylierungsmittel.^[12] Diese wählten wir, wie wir noch ausführen, nicht in erster Linie deshalb, weil sie zwischen den nucleophilen Enantiomeren unterscheiden können, sondern vielmehr, weil sie leicht herzustellen sind und zu Produkten führen, die sich durch die Elektrospraytechnik mit hoher Empfindlichkeit detektieren lassen sollten. Obwohl es lediglich einen mäßigen Unterschied in den Veresterungsgeschwindigkeiten der Enantiomere des Phenethylalkohols **2** mit diesen und verwandten *N*-Acylprolinen gibt ($s = k_f/k_s = 2.0\text{--}2.6$ bei Raumtemperatur), erwies er sich doch als ausreichend, um durch die Messung der kleinen Intensitätsunterschiede der massenmarkierten Produkte durch ESI-MS den Enantiomerenüberschuß zu bestimmen. Alkohole wurden hierfür mit einem 20fachen Überschuß einer äquimolaren Mischung der beiden Säuren **1a** und **1b** in Gegenwart von DCC und einer katalytischen Menge an 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) zur Reaktion gebracht,^[13] die Amine wurden in ähnlicher Weise mit **1a**, **1b**, DCC und 1-Hydroxybenzotriazol derivatisiert. Bei den ersten Versuchen wurden bei den Alkoholen jeweils 1 μmol und bei den Aminen jeweils 10 nmol eingesetzt, später merkten wir jedoch, daß sich für beide Arten von Substrat mit 1–10 nmol (oder weniger) der gleiche Erfolg erzielen läßt. Nach der Acylierung wurden die Reaktionsmischungen eingeengt, wieder aufgelöst, verdünnt und durch ESI-MS analysiert; dabei wurden jeweils 5- μL -Aliquote injiziert, so daß eine Probe nie mehr als 50 pmol des gesuchten Esters bzw. Amids enthielt. Eine mehrfache Wiederholung der Injektionen führte zu reproduzierbaren Intensitätsverhältnissen mit einer Standardabweichung von ungefähr 1–3%.^[14] Zwei verschiedene Geräte wurden für unsere Messungen verwendet, die beide gute Ergebnisse lieferten – mit dem einen wurden vorwiegend $[M+\text{H}^+]$ -Ionen, mit dem anderen vorwiegend $[M+\text{Na}^+]$ -Ionen detektiert.

Die Eichung muß für jedes Substrat mit einer racemischen Probe und mit einer Probe mit bekanntem Enantiomerenüberschuß durchgeführt werden. Mit dem gefundenen Massenverhältnis des Racemats ist ein Korrekturfaktor q definiert, der den Unterschieden im Ausmaß der Elektrospray-Ionisation von Verbindungen Rechnung trägt, die sich durch eine Methylgruppe unterscheiden. Für die Eichung mit den nichtracemischen Proben wählten wir käufliche, enantiomerenreine (>98% ee) Verbindungen. Der Meßwert y (Schema 1) und der bekannte Enantiomerenüberschuß der Eichprobe werden in eine modifizierte Version von Gleichung (1)^[15] eingesetzt, wodurch man s erhält. Der Enantiomerenüberschuß der eigentlichen Proben läßt sich dann aus den entsprechenden MS-Intensitätsverhältnissen und

den bei der Eichung erhaltenen Werten für q und s ermitteln.

Abbildung 1 zeigt die Ergebnisse für neun sekundäre Alkohole (**2–10**) und fünf primäre und sekundäre Amine (**11–15**); jede der Substanzen liegt dabei jeweils mit 20, 50, 70 und 90% ee vor. Verbindung **15** ist Epibatidin, ein sehr wirksames Nicht-Opiat-Analgetikum, das in letzter Zeit viel Beachtung findet.^[16] Jeder Meßpunkt in Abbildung 1 ist der

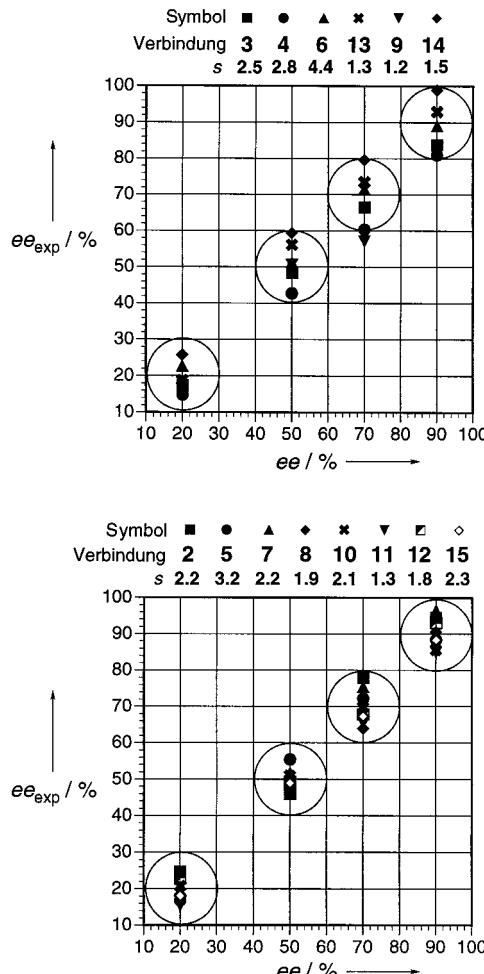
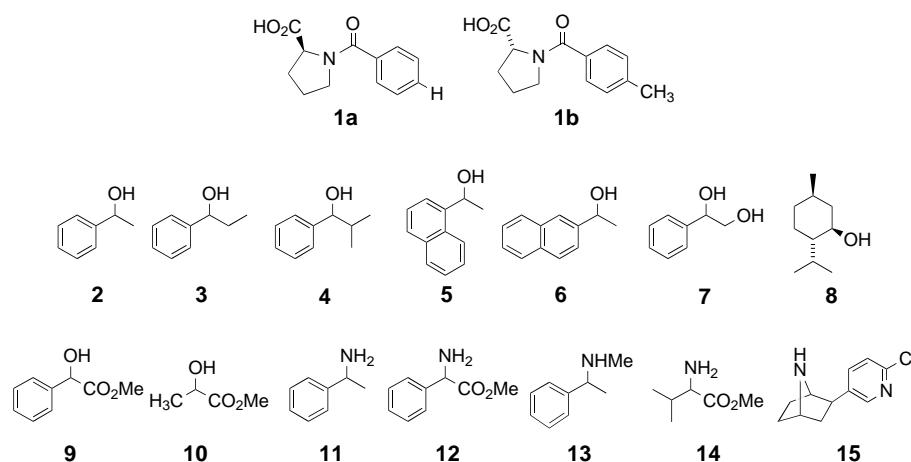


Abbildung 1. Auftragung des tatsächlichen gegen den gemessenen Enantiomerenüberschuß sowie s -Werte von **2–15**. Oben ist das (S)-Enantiomer angereichert, unten das (R)-Enantiomer.



Mittelwert aus zwei unabhängigen Acylierungen einer Probe, wobei jede Reaktion mit drei ESI-MS-Injektionen analysiert wurde, deren Werte wiederum gemittelt wurden. Mit Ausnahme eines Wertes (**9** bei 70% *ee*) weichen die Meßwerte nicht mehr als 10% vom wahren *ee*-Wert ab. Im allgemeinen ist die *ee*-Messung um so besser, je größer die Unterscheidung zwischen den Enantiomeren (*s* oder *1/s*) beim Acylierungsprozeß ist. Bemerkenswerterweise ist das Massenspektrometer hinreichend zuverlässig, um damit bei einem k_f/k_s -Verhältnis von nur 1.2 für eine Substrat/Massenmarkierungs-Kombination erfolgreich einen Enantiomerenüberschuß zu ermitteln. Die Bestimmung des Enantiomerenverhältnisses einer bestimmten Substanz über den Unterschied in den Reaktionsgeschwindigkeiten beruht also auf einer Energie-differenz zwischen den miteinander konkurrierenden diastereomeren Übergangszuständen von nur etwa 0.1 kcal mol⁻¹. Daß der energetische Unterschied nur so klein sein muß, bedeutet, daß bereits ein einzelnes Paar von Massenmarkierungen genügt, um wie im vorliegenden Fall viele verschiedene Arten von Strukturen zu analysieren.^[17]

Die hier beschriebene Methode zur Bestimmung von Enantiomerenüberschüssen hat mehrere charakteristische Merkmale:

1) Da die notwendigen Unterschiede in den Reaktionsgeschwindigkeiten sehr gering sind, lassen sich sicherlich leicht zugängliche chirale Säuren finden, um damit chirale Verbindungen mit einem breiten strukturellen Spektrum analysieren zu können.

2) Die Methode läßt sich auch in umgekehrter Weise anwenden, nämlich zur Bestimmung der Enantiomerenzusammensetzung von Acylierungsmitteln mit massenmarkierten chiralen Nucleophilen. Und sie läßt sich für zahlreiche andere Reaktionen verwenden, bei denen Bindungen geknüpft werden, wobei diese Reaktionen, sofern zwei Enantiomere einen geringen Unterschied in den Reaktionsgeschwindigkeiten aufweisen, Aufschluß über die Enantiomerenzusammensetzung liefern können.

3) Anstatt mit einer bekannten Reaktivität (der relativen Geschwindigkeit *s*) eine unbekannte Zusammensetzung (*ee*) zu ermitteln, könnte man diese Methode auch dazu verwenden, auf schnelle Weise Struktur-Aktivitäts-Beziehungen zu ermitteln, indem man die Reaktivität (*s*) von Verbindungen bekannter Zusammensetzung (Strukturen in racemischer und enantiomerenreiner Form, die von Interesse sind) bestimmt. Denn die *s*-Werte in Abbildung 1 zeigen z. B. zum einen, daß sich die enantiomeren Formen der Alkohole mit großen aromatischen Gruppen (**5** und **6**) leichter erkennen lassen, und zum anderen heben sie einen möglicherweise interessanten Unterschied zwischen den Verbindungen **4** und **9** hervor, deren Moleküle zwar ungefähr gleich groß sind, deren kinetische Racematspaltung aber mit unterschiedlicher Effizienz erfolgt.

4) Die Methode ist nicht auf eine chromatographische Trennung angewiesen und kann darum besonders in solchen Fällen hilfreich sein, bei denen eine Chromatographie entweder nicht zum Erfolg führt oder schwierig ist.^[18]

5) Da die massenmarkierten chiralen Reagentien in großem Überschuß eingesetzt werden und man die gesuchten Massen aus einem komplizierten Massenspektrum heraus-

suchen kann, verträgt diese Methode die Anwesenheit reaktiver achiraler Verunreinigungen, z. B. Wasser, und erfordert, wenn überhaupt, nur eine geringe Reinigung.

6) Es handelt sich um eine schnelle Methode,^[19] die man automatisieren und bei kleinen Substratmengen einsetzen kann (10 nmol oder weniger).^[20] Gegenwärtig ist es beabsichtigt, sie auch zum Screening asymmetrischer Katalysatoren einzusetzen, da hierfür die Bestimmung eines Enantiomerenüberschusses von bis zu $\pm 10\%$ ausreicht.

Die Entwicklung neuer, massenmarkierter analytischer Reagentien zur Erweiterung des Anwendungsfeldes und zur Verbesserung der Empfindlichkeit und Genauigkeit der Methode ist ebenso im Gange wie die Anwendung der Methode zum Screening möglicher katalytischer asymmetrischer Prozesse auf Mikrotiterplatten.

Experimentelles

Exemplarische Vorgehensweise für Alkohole: Eine Lösung des Alkohols (1 µmol in 50 µL Toluol) wurde in ein kleines Reagensglas oder auf eine Mikrotiterplatte gebracht. Dazu gab man eine Mischung von **1a** (10 µmol) und **1b** (10 µmol) in 100 µL CH₂Cl₂ und danach eine Mischung von DMAP (0.1 µmol) und DCC (10 µmol) in 50 µL CH₂Cl₂. Das Gefäß wurde 24 h dicht verschlossen gehalten, um so die Vollständigkeit der Reaktion sicherzustellen, wenngleich dies für den Erfolg der Methode nicht unbedingt nötig ist. Danach ließ man das Lösungsmittel verdampfen.

Exemplarische Vorgehensweise für Amine: Eine Lösung des Amins (10 nmol in 50 µL Toluol (für **15** THF)) wurde auf eine Mikrotiterplatte mit 96 Vertiefungen gebracht. Dann wurden nacheinander eine Mischung aus **1a** (100 nmol) und **1b** (100 nmol) in 20 µL CH₂Cl₂, 1-Hydroxybenzotriazol (10 nmol) in 20 µL THF und DCC (100 nmol) in 20 µL CH₂Cl₂ hinzugefügt. Die Platte wurde 24 h dicht verschlossen gehalten, danach ließ man das Lösungsmittel verdampfen. Für alle Substanzen wurden je zwei Sätze identischer Reaktionslösungen aus den gleichen Stammlösungen angesetzt.

Das jeweilige Reaktionsprodukt aus den oben beschriebenen Versuchen wurde in 500 µL Methanol aufgenommen; dann wartete man, bis sich der Niederschlag abgesetzt hatte. Anschließend wurde im Falle der Alkohole ein Aliquot von 5 µL aus dem Überstand auf 1.0 mL verdünnt und diese Lösung in das Reagensglas eines HPLC-Autosamplers überführt. Im Falle der Amine wurde ein Aliquot von 50 µL des Überstandes zur Analyse auf 100 µL verdünnt. Der Autosampler diente dazu, 5-µL-Proben in das Elektrospray-Massenspektrometer (Hewlett-Packard 1100 MSD) einzubringen. Die Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase (Methanol) betrug 0.5 mL min⁻¹. Die Proben wurden in Abständen von 2 min direkt in das Spektrometer injiziert. Um die Desolvatisierung der geladenen Tröpfchen zu unterstützen und um zu verhindern, daß größere Partikel in den Analysator gelangen, wurde ein Curtain Gas aus ultrareinem Stickstoff in das Interface geleitet. Die Strömungsgeschwindigkeit des Trocknungsgasstromes wurde auf 12 L min⁻¹, seine Temperatur auf 350 °C und der Druck zur Zerstäubung wurde auf 1810 Torr eingestellt. Zur Aufladung der Tröpfchen der Meßprobe wurde an den Interface-Sprayer eine Kapillarspannung von 3500 V angelegt. Die Fragmentierungsspannung wurde auf ein relativ niedriges Potential (80 V) eingestellt, um die Fragmentierung der Ionen auf einem Minimum zu halten. Die Messung erfolgte in Schritten von 0.15 *m/z* in einem Bereich, der die Aufnahme der relevanten Massen ermöglichte. Unter diesen Bedingungen entstanden mit diesem Gerät vorwiegend [M+Na⁺]-Ionen. Die Proben für die Substanzen **5**–**7** wurden zuvor in einem Perkin-Elmer-SCIEZ-API100-LC-MS-Gerät vermessen, das mit einem einzigen Quadrupol ausgerüstet war (Zerstäubergas 1.6 L min⁻¹, Elektrospraypotential 4200 V, die Strömungsgeschwindigkeit für das Curtain Gas aus ultrareinem Stickstoff betrug 1.6 L min⁻¹, die Spannung an der Mündung 80 V). Unter diesen Bedingungen konnte man in den Spektren überwiegend [M+H⁺]-Peaks beobachten. Der endgültige Analysenwert jeder Probe war das Mittel aus drei Injektionen. Nach jeweils 36 Injektionen wurde 20 min mit einer Strömungsgeschwindigkeit

digkeit von 2 mL min^{-1} gespült. Detaillierte experimentelle Angaben zur Herstellung und Charakterisierung der massenmarkierten Reagentien sind in den Hintergrundinformationen beschrieben.

Eingegangen am 14. Juli 1998,
veränderte Fassung am 23. März 1999 [Z12142]
International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1755–1758

Stichwörter: Analytische Methoden • Enantiomerentrennung • Kinetische Racematspaltung • Kombinatorische Chemie • Massenspektrometrie

- [1] a) M. C. Pirrung, J. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1240–1245; b) M. H. J. Ohlmeyer, R. N. Swanson, L. W. Dillard, J. C. Reader, G. Asouline, R. Kobayashi, M. Wigler, W. C. Still, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 10922–10926; c) K. C. Nicolaou, X.-Y. Xiao, Z. Parandoosh, A. Senyei, M. P. Nova, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2476–2479; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2289–2291; d) H. Kessler, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 857–859; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 829–831; e) S. C. Berk, K. T. Chapman, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 837–842; f) K. Burgess, H.-J. Lim, A. M. Porte, G. A. Sulikowski, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 192–194; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 220–222; g) J. N. Kyranos, J. C. Hogan, Jr., *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 389A–395A.
- [2] a) G. Liu, J. A. Ellman, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7712–7713; b) B. M. Cole, K. D. Shimizu, C. A. Krueger, J. P. A. Harrity, M. L. Snapper, A. H. Hoveyda, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1776–1779; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1668–1671; c) K. D. Shimizu, B. M. Cole, C. A. Krueger, K. W. Kuntz, M. L. Snapper, A. H. Hoveyda, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1781–1785; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1704–1707; d) M. S. Sigman, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4901–4902; e) F. M. Menger, J. Ding, V. Barragan, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 7578–7579; f) D. Moye-Sherman, M. B. Welch, J. Reibenspies, K. Burgess, *Chem. Commun.* **1998**, 2377–2378; g) A. M. Porte, J. Reibenspies, K. Burgess, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9180–9187; h) S. J. Taylor, J. P. Morken, *Science* **1998**, *280*, 267–270; i) M. T. Reetz, M. H. Becker, K. M. Kühling, A. Holzwarth, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2792–2795; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2647–2650; j) K. Ding, A. Ishii, K. Mikami, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 519–523; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 497–501.
- [3] Informationen zum Enantiomerengehalt in kleinen Proben kann man nach geeigneter Derivatisierung durch Exciton-gekoppelten Circular-dichroismus erhalten: G. Cai, N. Bozhkova, J. Odingo, N. Berova, K. Nakanishi, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7192–7198; A. Kawamura, N. Berova, V. Dirsch, A. Mangoni, K. Nakanishi, G. Schwartz, A. Bielawska, Y. Hannun, I. Kitagawa, *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 1035–1043; die Entwicklung neuer „Sensing-Verbindungen“ zur Messung optischer Aktivität verspricht weitere Fortschritte auf diesem Gebiet: Y. Furusho, T. Kimura, Y. Mizuno, T. Aida, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 5267–5268; Y. Kubo, S. Maeda, S. Tokita, M. Kubo, *Enantiomer* **1997**, *2*, 287–292. Zum Einsatz der Rastertunnelmikroskopie siehe: G. P. Lopinski, D. J. Moffatt, D. M. Wayner, R. A. Wolkow, *Nature* **1998**, *392*, 909–911; zum Einsatz der Kapillarelektrophorese siehe: M. Chiari, V. Desperati, E. Manera, R. Longhi, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 4967–4973.
- [4] a) J. Wu, S. Takayama, C.-H. Wong, G. Siuzdak, *Chem. Biol.* **1997**, *4*, 653–657; b) J. Wu, K. Chatman, K. Harris, G. Siuzdak, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 3767–3771.
- [5] a) Zur relativen Bindungsaffinität chiraler Wirtmoleküle gegenüber chiralen Gastmolekülen mit einer Massenmarkierung siehe: M. Sawada, Y. Takai, H. Yamada, S. Hirayama, T. Kaneda, T. Tanaka, K. Kamada, T. Mizooku, S. Takeuchi, K. Ueno, K. Hirose, Y. Tobe, K. Naemura, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7726–7736, zit. Lit. für andere Beispiele zur Bestimmung der Chiralität durch massenspektrometrische Untersuchung diastereomerer Aggregate; b) zur Unterscheidung von Stereoisomeren auf der Grundlage charakteristischer Fragmentierungsenergien und -muster siehe: G. Smith, J. A. Leary, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3293–3294, zit. Lit.; c) zur Unterscheidung von Enantiomeren durch Multiphotonen-Ionisations-Spektroskopie siehe:
- [6] Zur massenspektrometrischen Untersuchung kombinatorischer Bibliotheken siehe: a) Y.-H. Chu, D. P. Kirby, B. L. Karger, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5419–5420; b) R. S. Youngquist, G. R. Fuentes, M. P. Lacey, T. Keough, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 3900–3906; c) S. C. Pomerantz, J. A. McCloskey, T. M. Tarasow, B. E. Eaton, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 3861–3867; d) Q. Wu, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 865–872.
- [7] Übersichtsartikel zur kinetischen Racematspaltung: H. B. Kagan, J. C. Fiaud, *Top. Stereochem.* **1988**, *18*, 249–330.
- [8] Messungen wurden unter den folgenden Bedingungen durchgeführt, die die Auswertung sehr vereinfachen: $[\mathbf{A}-\text{CO}_2\text{H}] = [\mathbf{B}-\text{CO}_2\text{H}] \gg [\mathbf{R}-\text{OH}] + [\mathbf{S}-\text{OH}]$; $k_{\text{fA}} = k_{\text{fB}} = k_{\text{fF}}$; $k_{\text{sA}} = k_{\text{sB}} = k_{\text{sS}}$.
- [9] a) Zu Horeaus theoretischem Ansatz und zur Beschreibung von Experimenten, die in erster Linie die optische Rotation als Meßmethode nutzen, siehe: A. Horeau in *Stereochemistry: Fundamentals and Methods*, Vol. 3 (Hrsg.: H. B. Kagan), Thieme, Stuttgart, **1977**, S. 51–94; b) A. Schoofs, A. Horeau, *Tetrahedron Lett.* **1977**, 3259–3262; c) zur Detektion durch Massenspektrometrie siehe: A. Horeau, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 2707–2110; d) zur Detektion durch Gaschromatographie siehe: R. Weidmann, A. Horeau, *Tetrahedron Lett.* **1973**, 2979–2982.
- [10] E. Vedejs, X. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2584–2585.
- [11] a) D. A. Evans, J. C. Anderson, M. K. Taylor, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 5563–5566; b) J. C. Ruble, G. C. Fu, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7230–7231; c) J. C. Ruble, J. Tweddell, G. C. Fu, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 2794–2795; d) K. Isihara, M. Kubota, H. Yamamoto, *Synlett* **1994**, 611–614; e) T. Oriyama, K. Imai, T. Sano, T. Hosoya, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3529–3532; f) S. J. Miller, G. T. Copeland, N. Papaaoannou, T. E. Horstmann, E. M. Ruel, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 1629–1630.
- [12] Der komplementäre Satz von Säuren, in denen die *p*-Tolyl- und die Phenylgruppe vertauscht sind, ergibt äquivalente Ergebnisse.
- [13] Bei der Veresterung mit DCC beobachteten wir, daß ein geringer Anteil der *N*-Acylproline epimerisiert, was aber bei der hier vorliegenden Anwendung nicht stört.
- [14] Setzt man konzentriertere Proben ein mit ungefähr 25 nmol der zu vermessenden Ester bzw. Amide zusammen mit den anderen Komponenten der Mischung aus der Acylierung, wird die Empfindlichkeit geringer, und man erhält weniger genaue Ergebnisse (die Standardabweichungen bei mehrfach wiederholten Injektionen liegen bei ungefähr 5%).
- [15] $s = [\% ee(y+1) + 100(y-1)] / [\% ee(y+1) - 100(y-1)]$ für 100% ee, $s = y$.
- [16] a) T. F. Spande, H. M. Garraffo, M. W. Edwards, H. J. C. Yeh, L. Pannell, J. W. Daly, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3475–3478; b) J. W. Daly, *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 162–172; c) Z. M. Chen, M. L. Trudell, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 1179–1193.
- [17] Zur Auswertung der Reaktion am Diol **7** wurden z. B. nur die Massen der Diester mit jeweils zwei Massenmarkierungen herangezogen. Diester mit jeweils einer Massenmarkierung wurden nicht berücksichtigt. Anscheinend verläuft die zuerst ablaufende Derivatisierung des primären Alkohols kaum oder gar nicht diastereoselektiv, die Veresterung des sekundären Alkohols geschieht hingegen mit $s \approx 2$. Die Untersuchung chiraler, mehrfunktioneller Verbindungen (z. B. Diole) sollte also auch möglich sein.
- [18] Es sei angemerkt, daß z. B. zur Auftrennung der Verbindungen, die hier untersucht wurden, eine einzige HPLC- oder GC-Säule mit chiraler stationärer Phase nicht genügt hätte. Natürlich sind diese Techniken insoweit verwandt, als die bei der chromatographischen Auftrennung von Molekülen wirksamen chemischen Wechselwirkungen wohl denen ähneln, die zur Diastereoselektivität im Derivatisierungsprozeß führen, der der massenspektrometrischen Analyse vorauseht.
- [19] Eine Injektion in das Massenspektrometer dauert gegenwärtig etwa zwei Minuten. Eine raschere Analyse ist dadurch möglich, daß man pro Injektion mehrere Verbindungen mit unterschiedlichen Molekülmassen einspritzt.
- [20] Die Nachweisgrenze für quantitative ESI-MS-Analyse kleiner Moleküle liegt bei uns gegenwärtig bei etwa 500 fmol μL^{-1} .^[6]