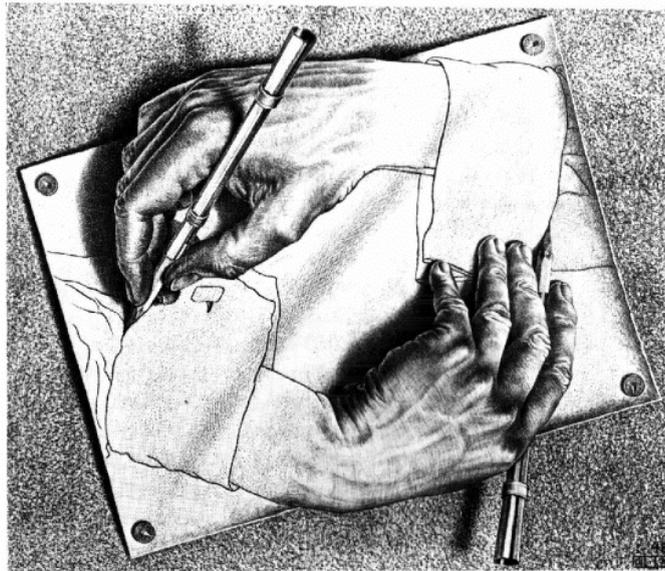


Wechselwirkung von Arzneimitteln mit Cyclodextrinen: Experimente und Simulationen



Diplomarbeit

dem Diplomprüfungsausschuß Chemie
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von

Stefan Würthner

aus Gärtringen

1997

Wechselwirkung von Arzneimitteln mit Cyclodextrinen: Experimente und Simulationen

Diplomarbeit

dem Diplomprüfungsausschuß Chemie
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard–Karls–Universität Tübingen

vorgelegt von

Stefan Würthner

aus Gärtringen

1997

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Priv.-Doz. Dr. Bernhard Koppenhoefer in der Zeit von Dezember 1996 bis August 1997 am Institut für Organische Chemie der Universität Tübingen durchgeführt.

Meinem Lehrer, Herrn Priv.-Doz. Dr. Bernhard Koppenhoefer, danke ich für die Stellung des Themas, sein stetes Interesse und die vielen wertvollen Ratschläge.

Hiermit erkläre ich eidesstattlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt habe.

Danksagungen

Mein Dank gilt

der Arbeitsgruppe Prof. Lin Bingcheng am Dalian Institute of Chemical Physics in China, insbesondere Zhu Xiaofeng und Ji Yibing

der Arbeitsgruppe Prof. Wolfgang Rosenstiel am Lehrstuhl für Technische Informatik der Eberhard-Karls-Universität Tübingen, insbesondere Lothar Ludwig, Adelmo Cechin und Josef Göppert

der Arbeitsgruppe Prof. Gerhard Wenz am Institut für Polymerchemie in Karlsruhe, insbesondere Susanne Wehrle

Frau P. T. Nguyen für die Aufnahme der NMR-Spektren

Weiterhin danke ich meinen Kollegen im Arbeitskreis, insbesondere Dr. Ulrich Epperlein, Rainer Schlunk und Andreas Jakob, für die freundschaftliche Zusammenarbeit und die gute Arbeitsatmosphäre.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Chirale Arzneistoffe	1
1.2 Enantiomerenanalytik	4
1.3 Struktur-Eigenschafts-Beziehungen zur chromatogra- phischen Enantiomerentrennung	6
1.4 Cyclodextrine	7
1.5 Einschlußverbindungen mit Cyclodextrinen	9
1.5.1 Charakterisierung von Einschlußverbindungen	9
1.5.2 Der Einschlußprozeß	10
1.5.3 Anwendungen	14
2. Problemstellung	16
3. Allgemeiner Teil	19
3.1 Kapillarelektrophorese zur Trennung von Enantiomeren	19
3.1.1 Einführung	19
3.1.2 Ergebnisse und Diskussion	25
3.2 Kernspinresonanzspektroskopie zur Untersuchung von Enantiomeren	53
3.2.1 Einführung	53
3.2.2 Ergebnisse und Diskussion	54
3.3 Mikrokolorimetrie zur Untersuchung der Wechselwirkung von Arzneimitteln mit Cyclodextrinen	75
3.3.1 Einführung	75
3.3.2 Ergebnisse und Diskussion	76
3.4 Simulationen von Wirt-Gast-Wechselwirkungen mit Neuronalen Netzen	81
3.4.1 Einführung	81
3.4.2 Ergebnisse und Diskussion	100

4. Experimenteller Teil	120
4.1 Kapillarelektrophorese	120
4.2 Kernspinresonanzspektroskopie	143
4.3 Mikrokolorimetrie	149
4.4 Rechnungen.....	151
5. Zusammenfassung	154
6. Literaturverzeichnis	156

Abkürzungen und Symbole

3H	Arylgruppe mit 3 benachbarten C-H-Einheiten im Ring
4H	Arylgruppe mit 4 benachbarten C-H-Einheiten im Ring
α_m	Migrationstrennfaktor
ANN	artificial neural network – Künstliches Neuronales Netz
BPN	backpropagation network – Backpropagation-Netzwerk
CCC	countercurrent chromatography – Gegenstromchromatographie
CD	Cyclodextrin
CD	Circulardichroismus
CE	capillary electrophoresis – Kapillarelektrophorese
CEC	capillary electrochromatography – Kapillar-Elektrochromatographie
CGE	capillary gel electrophoresis – Kapillargelelektrophorese
CIEF	capillary isoelectric focussing – kapillar-isoelektrische Fokussierung
CPN	counterpropagation network – Counterpropagation-Netzwerk
CSA	chiral solvating agent – chirales Solvatisierungsmittel
CSP	chiral stationary phase – chirale stationäre Phase
CZE	capillary zone electrophoresis – Kapillarzonenlektrophorese
$\Delta\delta$	Differenz der chemischen Verschiebungswerte [ppm]
δ	chemische Verschiebung [ppm]
ΔG°	Freie Komplexbindungsenergie [cal·mol ⁻¹]
ΔH_s	Komplexbildungsenthalpie [cal·mol ⁻¹]
ΔS_s	Komplexbildungsentropie [cal·mol ⁻¹ ·K ⁻¹]
EOF	electroosmotic flow – elektroosmotischen Fluß
FQ	Flexibilitätsquotient
GC	gas chromatography – Gaschromatographie
GLC	gas-liquid chromatography – Gas-Flüssig-Chromatographie
HP	Hydroxypropyl
HPCE	high performance capillary electrophoresis – Hochleistungskapillarelektrophorese

HPLC	high performance liquid chromatography – Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
ITP	isotachopheresis – Isotachophorese
K_D	Dissoziationskonstante [$\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$]
K_s	Bindungskonstante [$\text{l}\cdot\text{mol}^{-1}$]
MC	microcalorimetry – Mikrokalorimetrie
MD	molecular dynamics – Molekulardynamik
MECC	micellar electrokinetic capillary chromatography – mizellarelektrokinetische Kapillar-Chromatographie
MEEKC	microemulsion electrokinetic chromatography – mikroemulsions-elektrokinetische Chromatographie
MEKC	micellar electrokinetic chromatography – mizellarelektrokinetische Chromatographie
NMR	nuclear magnetic resonance spectroscopy – Kernspinresonanzspektroskopie
QSAR	quantitative structure-activity relationships – quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehungen
QSPR	quantitative structure-property relationships – quantitative Struktur-Eigenschafts-Beziehungen
R_m	Migrationsretardierungsfaktor
R_{suc}	Erfolgsquote
SFC	supercritical fluid chromatography – Superkritische Flüssigchromatographie
SOM	self-organizing map – Selbstorganisierende Karte
SPR	structure-property relationships – Struktur-Eigenschafts- Beziehungen
Tbdms	Tertiärbutyldimethylsilyl
TLC	thin layer chromatography – Dünnschichtchromatographie

1. Einleitung

1.1 Chirale Arzneistoffe

Das Wort „Chiralität“ ist aus dem Griechischen abgeleitet und bedeutet soviel wie „Händigkeit“: So wie die linke Hand als dreidimensionales Gebilde mit ihrem Spiegelbild, der rechten Hand, nicht deckungsgleich ist, können alle Phänomene, die diese Bedingung erfüllen, als chiral bezeichnet werden. Im Bereich der Chemie tritt die Chiralität als eine spezielle Form der Stereoisomerie in Erscheinung. Wenn ein Molekül das spiegelbildliche Gegenstück eines anderen darstellt, aber nicht deckungsgleich mit diesem ist, spricht man von Enantiomeren eines Stoffes. Das Gemisch aus gleichen Anteilen beider Enantiomere wird als Racemat bezeichnet.

Während sich beide Enantiomere eines Stoffes in einer achiralen Umgebung annähernd gleich verhalten, können ihre Wechselwirkungen mit einer chiralen Umgebung, z. B. einer anderen chemischen Verbindung, differieren. Dies gilt insbesondere für die Biomakromoleküle, die aus chiralen Grundbausteinen (Aminosäuren, Kohlenhydrate, Nucleinsäuren) aufgebaut sind. Es verwundert daher nicht, daß die körpereigenen Rezeptoren für

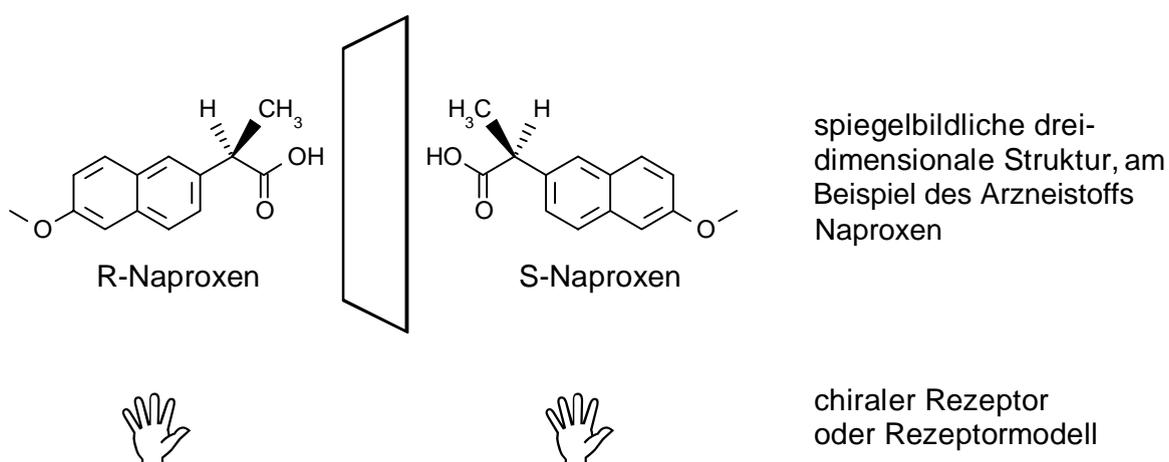


Abbildung 1: Ein chiraler Rezeptor, symbolisiert durch die rechte Hand, kann zwischen den Enantiomeren (Spiegelbildisomeren) eines chiralen Liganden unterscheiden.

Arznei- und Geruchsstoffe in aller Regel zwischen enantiomeren Formen eines Liganden unterscheiden (Abbildung 1).

Die Existenz von Unterschieden in der Wirkung zweier Enantiomere auf den menschlichen Organismus ist seit geraumer Zeit bekannt [1-3]; die allein vom (S)-Enantiomer verursachte teratogene Wirkung von Thalidomid [4] ist das bekannteste Beispiel für dieses Phänomen (wobei zu bedenken ist, daß im menschlichen Metabolismus die Enantiomeren der Metaboliten leicht ineinander übergehen können). Weitere Beispiele sind Verapamil, für dessen negativ dromotrope Wirkung am Herzen vorrangig das (R)-Enantiomer verantwortlich ist, Ibuprofen, dessen analgetische Aktivität hauptsächlich auf dem (S)-Enantiomer beruht, (S)-Warfarin, das in seiner Wirkung als Antikoagulans das (R)-Enantiomer übertrifft; diese Reihe ließe sich mit vielen weiteren Stoffen fortsetzen [5, 6]. Nicht nur die Pharmakodynamik, auch die pharmakokinetischen Prozesse Absorption, Metabolismus, Verteilung und Exkretion sind für die Enantiomere eines Arzneistoffs in der Regel verschieden. Als Beispiele seien genannt: Methotrexat (Absorption), Propranolol und Verapamil (präsystemische Elimination), Acenocoumarol (metabolische Clearance), Metoprolol (renale Clearance) sowie Tocainid und Oxazepam (Verteilungsvorgänge). Zusätzliche Komplexität gewinnen auch die Arzneimittelwechselwirkungen, wenn racemische Produkte daran beteiligt sind [5, 7]. Im Bereich der Geruchswahrnehmung sind ebenfalls zahlreiche Beispiele für Enantiomerenunterschiede bekannt [8].

Infolge der Fortschritte im Bereich der enantiospezifischen Analysemethoden (siehe Kapitel 1.2) ist das Bewußtsein für die Probleme, die von racemischen Arzneistoffen in der Forschung und Therapie verursacht werden, erheblich gestiegen [9, 10]. Generell hat es sich eingebürgert, das Enantiomer eines Arzneistoffs, das hauptsächlichlicher Träger der erwünschten Wirkung ist, als Eutomer zu bezeichnen, das andere hingegen als Distomer. In mittlerweile allen Industriestaaten wird eine Untersuchung beider einzelnen Enantiomere verlangt, falls ein neuer Arzneistoff als Racemat zugelassen werden soll [11-14]. Es erfolgt daraufhin eine Einzelfallentscheidung der Zulassungsstelle, ob im konkreten Fall die Anwesenheit des

Distomers im Produkt toleriert werden kann. Mit anderen Worten: „*If you do not make a new drug in a single enantiomer form, you had better have a good excuse*“ [15]. In diesem Kontext konnte in den letzten Jahren eine erhebliche Zunahme des Anteils homochiraler Pharmaka beobachtet werden. Eine Statistik der Neuzulassungen für den US-amerikanischen Markt belegt, daß von 1991 ab die Zahl von Einzelenantiomeren synthetischer Herkunft die Zahl der Racemate übertrifft [16]. Auch bei einer Betrachtung des gesamten Arzneischatzes fallen sie bereits deutlich ins Gewicht – noch 1987 dagegen waren die enantiomerenreinen Arzneistoffe innerhalb der synthetisch produzierten eher eine Ausnahme (siehe Abbildung 2).

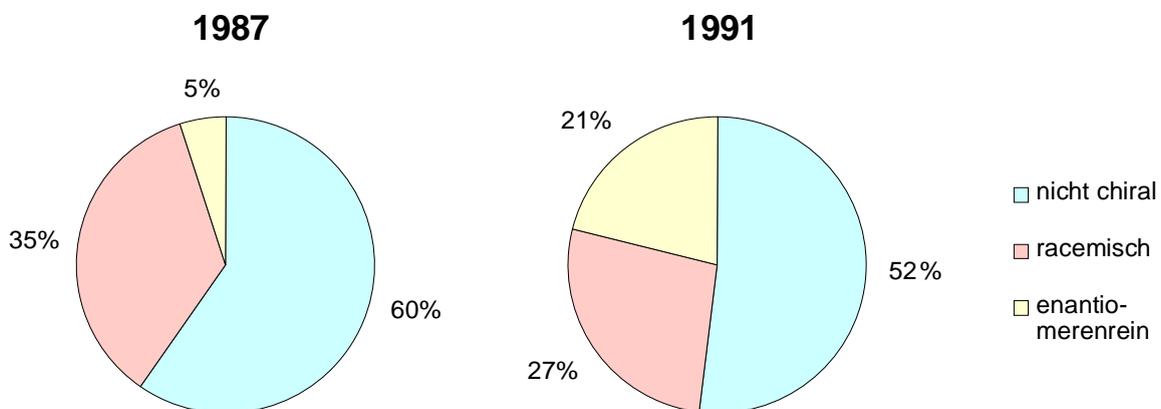


Abbildung 2: Anteil nichtchiraler, racemischer und enantiomerenreiner Arzneistoffe an den synthetisch produzierten Arzneistoffen auf dem Markt in den Jahren 1987 und 1991 (nach [17] und [18])

Bezüglich einer detaillierteren Analyse der möglichen Konstellationen im Zusammenwirken zweier Enantiomere im Organismus [6, 19, 20] und der Argumente für beziehungsweise gegen die Entwicklung enantiomerenreiner Arzneistoffe [21-23] sei auf weiterführende Literatur verwiesen.

Enantiomerenreine Wirkstoffe können entweder durch enantioselektive Synthese oder durch Enantiomerentrennung, oder eine Kombination von beiden, hergestellt werden. Außerdem sind empfindliche analytische Techniken notwendig, um die Enantiomerenreinheit zu testen.

1.2 Enantiomerenanalytik

In einer achiralen Umgebung sind die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Enantiomere eines Stoffes völlig identisch, sofern man von einer geringen Energiedifferenz bei der Kopplung zwischen Elektronen und Nukleonen über die schwache Wechselwirkung (Paritätsverletzung [24]) absieht. Für die Diskriminierung von Enantiomeren ist daher die Wechselwirkung mit einer zweiten chiralen Größe nötig (Tabelle 1). Zur Bestimmung der Enantiomerenreinheit am vorteilhaftesten erweisen sich chromatographische und elektrophoretische Methoden unter Beteiligung einer chiralen stationären Phase (CSP) [25-27] oder eines chiralen Solvatisierungsagens (CSA) [25].

Chirales Prinzip	Abkürzungen	Analysentechnik
Chirale Derivatisierungsmittel	CDA	NMR, HPLC, GC, SFC, TLC, CCC, CE
Chirale stationäre Phasen	CSP	HPLC, GC, SFC, TLC, CE
Chirale Additive zur mobilen Phase	CMA	HPLC, TLC, CCC, CE
Chirale Additive zum Puffer	CBA	HPLC, CE
Chirale Solvatisierungsreagenzien	CSA	NMR, CE
Chirale Lanthanid-Verschiebungsreagenzien	CLSR	NMR

Tabelle 1: Enantioselektive Analysentechniken [28]

Im Gegensatz zu Methoden ohne Trenneffekt (Bestimmung der Drehung von linear polarisiertem Licht [29], NMR-Spektroskopie [30]) kann hier auch eine Messung aus dem Gemisch mit anderen Stoffen heraus erfolgen. Indirekte Methoden, bei denen die Bildung von diastereomeren Addukten der eigentlichen Analyse vorausgeht, leiden hingegen unter Enantiomeren-

verunreinigungen des Derivatisierungsreagens, die hier von Enantiomerenverunreinigungen des Analyten *a priori* nicht unterscheidbar sind. Als weitere Fehlerquellen sind unterschiedliche Umsetzungsraten des Reagens mit den Enantiomeren des Analyten und eine Racemisierung während der Reaktion in Betracht zu ziehen.

Chirale Amide [32], Metallkomplexe [33] und Cyclodextrine [34] bilden die Grundlage der meisten gegenwärtig verwendeten CSPs (Tabelle 2).

Phasen-Typ	Einträge
Cyclodextrine	13053
Amide	7121
Metallkomplexe	558
Andere	268
Gesamt	21000

Tabelle 2: Chirale Stationäre Phasen in der GC, nach Chirbase/GC Vs. 2/97 [31]

Methode	Einträge	Analyten	CSPs	kommerz. CSPs
GC	21 000	7 365	656	119 (18 %)
LC/SFC	36 600	10 700	785	128 (16 %)
CE	2 811	782	14	+ 409 CSAs
Gesamt	60 411	18 847	1 455	

Tabelle 3: Inhalte von Chirbase Vs. 2/97, Stand 1. Juli 1997 [31]

Bis heute wurden mehr als 280 Phasen mit unterschiedlicher molekularer Struktur publiziert. Grund für diese große Zahl ist die hohe Spezifität der Wechselwirkungen: Phase und Analyt müssen in ihrer dreidimensionalen Struktur aufeinander abgestimmt sein. Die mögliche Synthese einer universell für die Analytik aller denkbaren Enantiomeren einsetzbaren CSP ist

daher zweifelhaft; selbst die Auswahl einer erfolgversprechenden Phase kann sich im Einzelfall als schwierig erweisen. Nichtsdestoweniger wurden laut der im Arbeitskreis Koppelhofer aufgebauten Faktendatenbank Chirbase/GC [35] inzwischen mehr als 7000 Analyten bearbeitet (Tabelle 3).

1.3 Struktur-Eigenschafts-Beziehungen zur chromatographischen Enantiomerentrennung

Relativ häufig findet man in wissenschaftlichen Arbeiten über Enantiomerentrennung Termini wie „*chiral recognition study*“ oder „*chiral recognition model*“. Meist handelt es sich hierbei um prinzipielle Überlegungen, in welcher Weise einzelne molekulare Gruppen von Selektor und Selektand miteinander wechselwirken könnten, so daß die beobachtete Affinitätsdifferenz resultiert. Quantitative Aussagen finden sich hingegen so gut wie gar nicht.

Grundsätzlich bestehen zwei Möglichkeiten, sich dem Problem zu nähern: Auf der einen Seite steht die Anwendung der Molekülaufbau und -wechselwirkung beschreibenden Theorien, auf der anderen das Ableiten von Erkenntnissen aus einer genügend großen Anzahl von Beispielen. Während der letztere, das heißt empirische Zugang generell eine bessere Genauigkeit bietet, spricht die angestrebte Universalität der Modelle für die theoriebasierte Lösung [36]. Beide Methoden sind jedoch mit spezifischen Problemen konfrontiert. Die Berechnung von Wechselwirkungsenthalpiendifferenzen mit Molecular-Modeling-Ansätzen scheitert in der Regel an der Vielzahl von Konstellationen zwischen einem oder mehreren Selektor- und Selektand-Molekülen, die zur Gesamtenthalpiendifferenz beitragen [36]. Molekulardynamik-Rechnungen könnten hier voraussichtlich Verbesserungen bringen, mußten in der vorliegenden Diplomarbeit aber aus Zeitgründen zurückgestellt werden.

Ein zusätzliches Problem erwächst aus den zur Verminderung des Berechnungsaufwands notwendigen Vereinfachungen, allen voran der Vernachlässigung von Solvatisierungseffekten in flüssigen Phasen. So können die

Ergebnisse am ehesten dazu dienen, bevorzugte räumliche Orientierungen bei der Interaktion zu postulieren und die Elutionsreihenfolge vorherzusagen [37-42]. Eine Übereinstimmung oder zumindest Korrelation der berechneten Interaktionsenergien mit den experimentellen chromatographischen Daten [43, 44] ist dagegen eher die Ausnahme. Ein Hindernis für eine quantitative Betrachtung anhand von Meßserien liegt in aller Regel bereits in der geringen Anzahl von strukturverwandten Analyten, die unter identischen Bedingungen untersucht wurden. So beschränkt sich die Korrelation von Struktur und Trennfaktor meist auf homologe Reihen [45]. Die erfolgreiche Vorhersage von Kapazitäts- und Trennfaktoren bei komplexerer Variation der Analytenstruktur oder auch nur die Selektion einer erfolgversprechenden CSP [46] erweist sich dagegen auch bei der Ausrichtung des Modells an mit Beispielsubstanzen gewonnenen Meßgrößen als nicht einfach. In der Literatur vorliegende, mit linearen modellbasierten Methoden gewonnene Erfahrungen [47-55] waren zum Teil enttäuschend, jedoch sollten sich mit Neuronalen Netzen als nichtlinearen und modellfreien Werkzeugen bessere Ergebnisse als bisher erreichen lassen [56].

1.4 Cyclodextrine

Cyclodextrine sind enzymatisch gewonnene, cyclische Oligosaccharide, die aus α -1,4-verknüpften D-Glucopyranose-Einheiten bestehen (Abbildung 3). Je nach der Ringgröße unterscheidet man α -, β - und γ -Cyclodextrin (6, 7 bzw. 8 Glucosebausteine); höhere Cyclooligomere [57] haben bislang keine breite Verwendung gefunden.

Da keine freie Drehbarkeit um die Bindungen, welche die Glucopyranose-Einheiten miteinander verknüpfen, besteht, haben die Cyclodextrine konische Gestalt. Die primären Hydroxygruppen der Zuckerreste befinden sich auf der engeren Seite des gebildeten Konus, während die weitere Seite die sekundären Hydroxylgruppen trägt. Die häufigsten, in der Natur vorkommenden Cyclodextrine sind α -, β - und γ -Cyclodextrin. Von diesen drei Homologen wird β -Cyclodextrin aufgrund der Größe seiner Kavität,

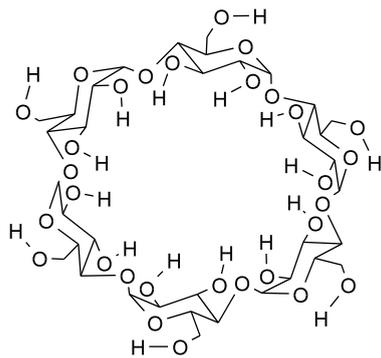
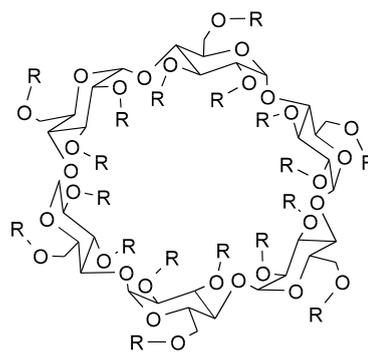
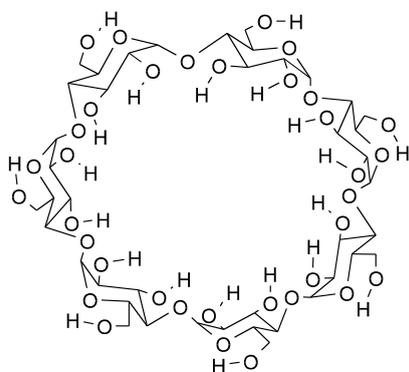
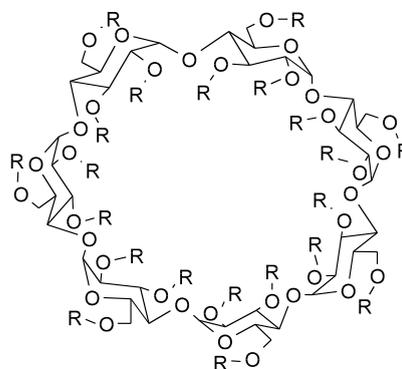
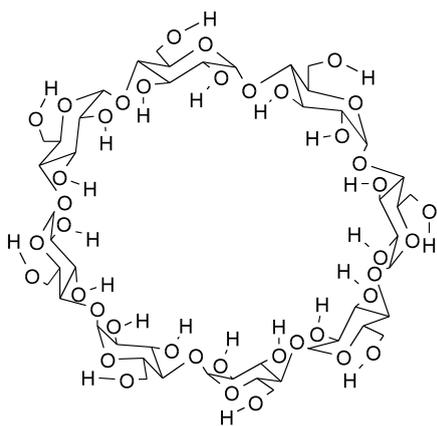
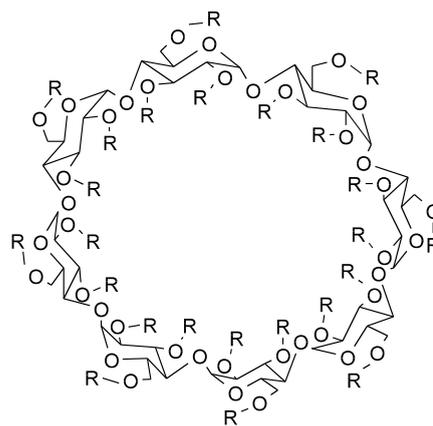
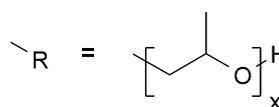
 α -CyclodextrinHydroxypropyl- α -cyclodextrin β -CyclodextrinHydroxypropyl- β -cyclodextrin γ -CyclodextrinHydroxypropyl- γ -cyclodextrin

Abbildung 3: Verwendete chirale Solvatisierungsagenzien (CSAs)

seiner Verfügbarkeit, seinem niederen Preis und anderer Eigenschaften als der nützlichste pharmazeutische Komplexbildner angesehen [58].

Jedoch ist γ -CD in wäßrigem Medium viel besser löslich als β -CD und hat relativ gute Komplexierungseigenschaften. Somit kann γ -CD für bestimmte pharmazeutische Zubereitungen durchaus ein besseres Hilfsmittel sein als β -CD [58]. Obwohl Cyclodextrine mit weniger als sechs Glucopyranose-Einheiten aufgrund sterischer Faktoren nicht existieren sollten, wurden andererseits Cyclodextrine gefunden, die mehr als acht Einheiten enthalten; allerdings sind ihre Fähigkeiten zur Komplexierung im allgemeinen geringer als bei β -Cyclodextrin und somit sind sie von geringerem pharmazeutischem Interesse [58].

1.5 Einschlußverbindungen mit Cyclodextrinen

Die bemerkenswerteste Eigenschaft der Cyclodextrine ist ihre Fähigkeit, Einschlußverbindungen mit einer Vielzahl von Molekülen zu bilden, die offenbar nur eine Bedingung erfüllen müssen – in den Cyclodextrin-Hohlraum entweder ganz oder wenigstens teilweise hineinzupassen [63]. Das wesentliche Merkmal dieser Einschlußverbindungen ist, daß die Wirkkomponente in ihrem Hohlraum Gastkomponenten aufnimmt, ohne kovalente Bindungen zu knüpfen.

Während sich Clathrate im allgemeinen aufgrund des besonderen Kristallgitters der Wirkkomponenten nur im festen Zustand bilden, entstehen die Cyclodextrinkomplexe schon in wäßriger Lösung. Sie lassen sich daher elegant mit spektroskopischen oder kalorimetrischen Methoden untersuchen.

1.5.1 Charakterisierung von Einschlußverbindungen

Absorbiert eine Gastkomponente Licht im VIS- oder UV-Bereich [64], fluoresziert sie [65] oder handelt es sich um ein Radikal [66], so kann die

Bildung eines Einschlußkomplexes anhand dieser Eigenschaften durch Titration mit Cyclodextrin verfolgt werden. Ähnlich läßt sich die Änderung des Circular dichroismus (CD) der Gastkomponenten bei Zusatz von Cyclodextrin ausnutzen. Selbst achirale Moleküle, die keine CD-Banden aufweisen, können durch die Chiralität des einschließenden Cyclodextrins CD-aktiv werden [67]. In letzter Zeit haben NMR-Methoden sehr zum Verständnis der Cyclodextrin-Gast-Wechselwirkungen beigetragen. Die anfänglichen qualitativen Daten [68] wurden mit der Entwicklung der hochauflösenden Spektroskopie so verfeinert, daß quantitative Aussagen über thermodynamische und kinetische Parameter der Komplexbildung möglich wurden [69]. Wesentlich hierbei ist, daß sich atomare Wechselwirkungen zwischen Gast und Wirt erkennen lassen und damit die geometrischen Verhältnisse aufgeklärt werden können. Während also die Röntgen-Strukturanalyse atomare Details des statischen Komplexes im Festkörper widerspiegelt, kann durch die NMR-Spektroskopie die Dynamik in der Lösung studiert werden [70].

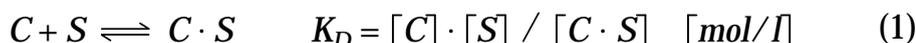
Darüberhinaus läßt sich der Einschluß eines Gastmoleküls durch Änderung seiner Leitfähigkeit [71] und seiner polarographischen Eigenschaften [72], durch die scheinbare Änderung seiner Basizität [73], durch Erhöhung oder Erniedrigung seiner Löslichkeit in Gegenwart von Cyclodextrin [74] oder durch Messung der Ultraschall-Relaxation [75] verfolgen. Eine wichtige Methode zur direkten Bestimmung der thermodynamischen Parameter ist die Mikrokalorimetrie [76].

1.5.2 Der Einschlußprozeß

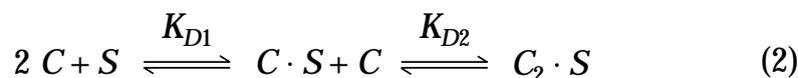
Die Komplexbildung der Cyclodextrine mit Gastmolekülen ist Gegenstand einer umfassenden Literatur [77-81]. Das Interesse an diesem Vorgang ist deshalb so groß, weil hier zwei Komponenten ohne spezifische Wechselwirkungen assoziieren und weil u. U. Parallelen zu vielen biochemischen Vorgängen gezogen werden können.

1.5.2.1 Thermodynamik und Kinetik des Einschlußprozesses

Die Bildung des Komplexes ($C \cdot S$) aus den Komponenten Cyclodextrin (C) und Gast (Substrat, S) nach

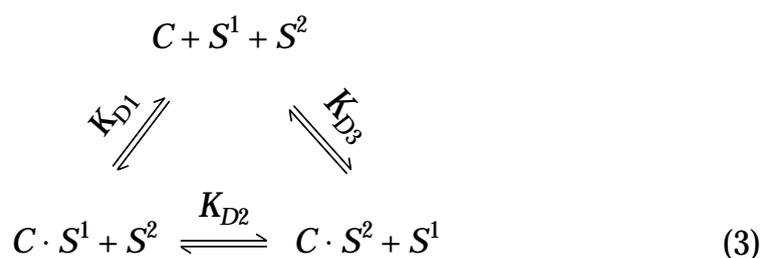


läßt sich durch die Dissoziationskonstante K_D quantitativ beschreiben. Zur Bestimmung von K_D stehen je nach Art des Substrats die zuvor genannten Methoden und die Competition eines Substrats bei der durch Cyclodextrine katalysierten Esterhydrolyse [82] zur Verfügung. Am verbreitetsten sind Untersuchungen, die die Lichtabsorption ausnutzen und K_D aus einer Auftragung der Absorptionsänderung des Substrats (bei konstanter Wellenlänge) gegen die Cyclodextrin-Konzentration nach *Benesi* und *Hildebrand* [83] ermitteln. Isosbestische Punkte lassen auf ein 1:1-Gleichgewicht schließen. Bei einem 2:1-Einschluß nach dem Schema



wie er für Methylorange in wäßriger Lösung gefunden und später kristallographisch nachgewiesen wurde, stellt sich bei niedriger Cyclodextrin-Konzentration ein isosbestischer Punkt für K_{D1} ein. Bei weiterer Zugabe von Cyclodextrin bildet sich ein neuer isosbestischer Punkt für K_{D2} , weil das langgestreckte Methylorangemolekül zwei Cyclodextrinringen Platz bietet.

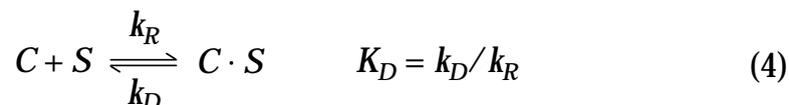
Werden dem Cyclodextrin gleichzeitig zwei verschiedene Substratmoleküle S^1 und S^2 angeboten, so können sie um das Cyclodextrin konkurrieren:



Dieses Schema kann ausgenutzt werden, um K_D für ein Substrat, das kein meßbares Signal liefert, indirekt zu ermitteln [84]. Die Cyclodextrine verhalten sich wie Enzyme, die Substrat und auch Inhibitoren kompetitiv in ihr aktives Zentrum aufnehmen können. Die bevorzugte Bindung einer der Komponenten wird in beiden Fällen durch die Dissoziationskonstanten K_D bestimmt. Die K_D -Werte liegen im allgemeinen im Bereich um 10^{-3} mol/l und sind charakteristisch für schwache intermolekulare Wechselwirkungen. Es ist bemerkenswert, daß keine offensichtliche Korrelation zwischen chemischen Eigenschaften (funktionellen Gruppen) des Gastmoleküls und Dissoziationskonstanten besteht. Der Einschluß hängt demnach nicht primär vom Charakter des Gasts ab.

Aus der Temperaturabhängigkeit der Dissoziationskonstante lassen sich die thermodynamischen Parameter Enthalpie ($-\Delta H$) und Entropie (ΔS) ermitteln. Das Vorzeichen der Enthalpie ist hierbei stets negativ, bzw. $-\Delta H$ ist stets eine positive Zahl, d. h. bei Erhöhung der Temperatur dissoziiert der Komplex. Die Entropie ΔS kann positiv oder negativ sein – ein Hinweis darauf, daß je nach Gastmolekül mehrere Kräfte bei der Komplexbildung zusammenwirken. Relativ genaue $-\Delta H$ - und ΔS -Werte können aus kalorischen Messungen direkt erhalten werden [85-87]. Trägt man für verschiedene Gastmoleküle $-\Delta H$ gegen ΔS auf, so läßt sich eine lineare Beziehung (Kompensation) erkennen, und aus der Steigung der Gerade kann eine „Isoäquilibrium“-Temperatur bestimmt werden. Da eine Kompensation allgemein mit der Teilnahme von Wassermolekülen an eine Komplexbildung korreliert wird, muß angenommen werden, daß das Gastmolekül bei Eintritt in den Cyclodextrin-Hohlraum seine Hydrathülle verliert, und daß auch Wassermoleküle aus dem „leeren“ Cyclodextrin-Hohlraum ausgestoßen werden.

Die thermodynamischen Parameter ergeben ein makroskopisches Bild des Einschlußprozesses, welches durch kinetische Daten detaillierter beschrieben werden kann. Die Geschwindigkeitskonstanten k_D für Dissoziation und k_R für Rekombination des Cyclodextrin-Substrat-Komplexes $C \cdot S$ lassen sich durch Relaxations- und Mischverfahren [88] ermitteln.



Die Komplexbildung kann in mehrere Schritte unterteilt werden: 1. Annäherung des Substrats an das Cyclodextrin; 2. Entfernen der Wassermoleküle aus dem Cyclodextrin-Hohlraum; 3. Aufnahme dieser Wassermoleküle in das umgebende Wasser (Entropiegewinn); 4. Wechselwirkungen zwischen Cyclodextrin und Substrat durch van-der-Waals-Kräfte und möglicherweise Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen; 5. Rekonstitution der Hydratstruktur um den fertigen Komplex.

1.5.2.2 Die treibende Kraft der Komplexbildung

Seit Kenntnis der Cyclodextrin-Einschlußverbindungen wurden die zur Komplexbildung führenden zwischenmolekularen Wechselwirkungen diskutiert [89-92]. Es hat sich gezeigt, daß mehrere Kräfte gleichzeitig wirken, die je nach Substrat verschieden stark beteiligt sind.

Die Abhängigkeit der Bindungskonstanten von der Polarisierbarkeit [93] des Substrats deutet darauf hin, daß allgemein van-der-Waals-Kräfte vorherrschen; die Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Gast und (vorzugsweise) O(6)H-Gruppen des Cyclodextrins konnte direkt kristallographisch gezeigt werden. Daneben sind hydrophobe Wechselwirkungen [94] beteiligt, denn das Gastmolekül muß bei Einschluß in den Cyclodextrin-Hohlraum die dort befindlichen Wassermoleküle ausstoßen und seine eigene Hydrathülle abstreifen. Die freigewordenen Wassermoleküle werden vom umgebenden Wasser aufgenommen, gewinnen Freiheitsgrade und tragen durch Entropiezunahme zur Stabilität der Komplexe bei.

Da der Einschluß von den chemischen Eigenschaften des Gastmoleküls weitgehend unabhängig ist, wurde weiter vorgeschlagen, daß Kräfte, die dem Cyclodextrin selbst innewohnen, zur Assoziation beitragen. Als solche

Kraft könnte das im „leeren“ Cyclodextrin eingeschlossene Wasser angesehen werden, das sich in ungünstiger, hydrophober Umgebung befindet, sein (tetraedrisches) Wasserstoffbrücken-Potential nicht zu sättigen vermag und daher „aktiviert“ ist [95]. Bei Ausstoßung müßte also nicht nur der Entropie-, sondern auch der Potentialenergie-Gewinn die Komplexbildung begünstigen. Außerdem wurde für das im „leeren“ Zustand gespannte α -Cyclodextrin [96] ein Energiegewinn gefordert, wenn es sich bei Bildung eines Komplexes entspannt und den Ring von Wasserstoffbrücken zwischen den O(2)H- und O(3)H-Gruppen benachbarter Glucoseeinheiten bildet. Dieser Energiegewinn ist nur bei α -Cyclodextrin möglich, da „leeres“ β - und γ -Cyclodextrin nicht gespannt sind [97].

Obwohl Experimente [98] und theoretische Überlegungen [99] zeigen, daß wahrscheinlich van-der-Waals-Kräfte und hydrophobe Wechselwirkungen bei der Komplexbildung überwiegen, dürften sich die anderen diskutierten, im „leeren“ Cyclodextrin-Hydrat selbst begründeten Kräfte je nach Art des eingeschlossenen Gastmoleküls verschieden stark beteiligen. In jedem Fall aber ist die den Cyclodextrinen eigene, ringförmige Struktur entscheidend, da sich Einschlußkomplexe nur bilden, wenn Gast- und Wirkkomponente räumlich gut ineinanderpassen.

1.5.3 Anwendungen

Cyclodextrine sind jedes Jahr das Thema von annähernd 1000 wissenschaftlicher Artikel und Abstracts, von denen ein große Anzahl Arzneimittel und arzneimittelverwandte Produkte behandelt [58]. Darüberhinaus wurden zahllose Entwicklungen beschrieben, die Cyclodextrine enthalten (mehr als 1000 Patente oder Patentanträge in den letzten 5 Jahren) [58].

Die Besonderheit der Cyclodextrine liegt zum einen darin, daß sie durch ihre nach außen weisenden Hydroxylgruppen wasserlöslich und chemisch modifizierbar sind. Zum anderen können sie in ihren hydrophoben Hohlraum (Durchmesser 5 – 8 Å) lipophile Gastmoleküle einlagern [59]. Aufgrund dieser Eigenschaften werden sie als Hilfsmittel eingesetzt, um

schlecht lösliche Verbindungen in Wasser zu solubilisieren. Dies kann für Arzneistoffe wichtig sein, um deren Bioverfügbarkeit im Organismus zu erhöhen [100-102]. Außerdem können mit Cyclodextrinen lipophile Substanzen von einer organischen in eine wäßrige Phase extrahiert werden. Mit ihnen ist es zudem möglich, Reaktionen an lipophilen Substanzen in Wasser statt in organischen Lösungsmitteln durchzuführen. Nicht zu vergessen ist auch ihr Anwendungspotential im Bereich chromatographischer Trennverfahren. Dank ihrer Chiralität sind Cyclodextrine in der Enantiomerenanalytik von großer Bedeutung [60-62].

2. Problemstellung

Die Beziehung zwischen der chemischen Struktur eines Stoffes und seinen Eigenschaften zählt zu den interessantesten Fragen der aktuellen Forschung. Ein tieferes Verständnis dieser Problematik eröffnet den Weg zu „maßgeschneiderten“ Verbindungen mit der bestmöglichen Eignung für den geplanten Einsatz. Wie weit man vielfach noch von diesem Ziel entfernt ist, zeigt eine Zahl aus der Arzneimittelforschung: durchschnittlich 25 000 neue Verbindungen müssen gegenwärtig synthetisiert und getestet werden, um ein einziges neues Medikament zu entwickeln [103]. Bei den hiermit verbundenen Kosten von 150 – 300 Millionen DM (zum Teil noch weit höher) wird klar, welches Potential schon eine geringfügige Verbesserung in der Suchstrategie in sich trägt. In der Kostenrechnung addiert sich zum verminderten Synthesaufwand der Vorteil einer beschleunigten Produktentwicklung und früheren Marktreife, bei Umsätzen von bis zu mehreren Mrd. DM jährlich.

Während die Wirkung eines Stoffes auf einen Organismus von einer Vielzahl von Parametern abhängt, kann die chromatographische oder kapillarelektrophoretische Enantiomerentrennung durch einen chiralen Selektor als ein vergleichsweise einfaches Modellsystem für die Wechselwirkung zwischen Substanz und biologischem Rezeptor angesehen werden. Gleichwohl ist auch hier der Kenntnisstand bislang unbefriedigend, so daß in der Praxis für die Auswahl eines für einen gegebenen Analyten geeigneten Selektors (chirale stationäre Phase oder chirales Solvatisierungsmittel) das *Trial-and-error-Verfahren* dominiert [104, 105]. Wie bei vielen anderen naturwissenschaftlichen Problemen erschweren die hohe Dimensionalität und Nichtlinearität der Wechselwirkungen die Formulierung von Gesetzmäßigkeiten für die Beziehung zwischen Struktur und Eigenschaften.

Mit der Entwicklung fortgeschrittener Methoden der Datenanalyse und -interpretation wurde eine Möglichkeit geschaffen, das bisher als „unberechenbar“ geltende Gebiet der chiralen Erkennung einem rationalen Ansatz zugänglich zu machen. In der vorliegenden Diplomarbeit galt es, den Einfluß verschiedener molekularer Parameter auf die Wechselwirkung

von Arzneimitteln mit Cyclodextrinen zu erforschen. Hierbei sollten neben Experimenten mit Kapillarelektrophorese (CE), Protonen-Kernresonanzspektroskopie (^1H -NMR-Spektroskopie) und Mikrokalorimetrie (MC) auch Künstliche Neuronale Netze unterschiedlicher Architektur eingesetzt werden.

Die erste Stufe dieses „Chinese-German Drug Screening Programs“ wurde mit 86 Arzneimitteln und 6 verschiedenen Cyclodextrinen in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Lin Bingcheng an der Chinesischen Akademie der Wissenschaften in Dalian, China, durchgeführt [106-113, 122]. Die Auswertung der Ergebnisse mit Künstlichen Neuronalen Netzen erfolgte in Zusammenarbeit mit den Mitarbeitern Göppert, Ludwig und Cechin vom Arbeitskreis Rosenstiel am Lehrstuhl für Technische Informatik der Universität Tübingen. Ende 1996 fand zu diesem Thema in Tübingen eine Tagung mit dem Titel „Chemie und Informatik“ statt, die diese erfolgreiche Kooperation weiter vertiefte. Im Herbst 1997 wird unter meiner Mitwirkung ein Tagungsband mit dem Titel „*Chemie und Informatik – Terra incognita oder das Land der unbegrenzten Möglichkeiten ?*“ [114] erscheinen, der die zunehmende Dynamik dieses interdisziplinären Gebiets umfassend dokumentiert.

Um ein molekulares Bild der Wirt-Gast-Komplexe zu erhalten, sind die von Epperlein [56] verwendeten Methoden jedoch nicht ausreichend. Deshalb wurden auch die analytischen Verfahren ^1H -NMR-Spektroskopie und MC mit in die vorliegende Arbeit einbezogen. Leider können diese Systeme in Molekularmechanik-Rechnungen nur ungenügend beschrieben werden [115], weil in der Regel viele Minima existieren und außerdem das Wasser eine entscheidende Rolle spielt; das Entropieproblem könnte eventuell mit Molekulardynamik-Rechnungen angegangen werden.

Da für den Mechanismus zunächst die Wirt-Gast-Gesamtwechselwirkung wichtiger ist als die ohnehin kleine Wechselwirkungsdifferenz der enantiomeren Gäste mit dem chiralen Wirt, kommt der in der CE beobachteten Gesamtretardierung R_m eine größere Bedeutung zu als dem Migrations-trennfaktor α_m . Für eine Erläuterung dieser Begriffe sei auf die folgenden

Kapitel verwiesen. Die R_m -Werte lassen sich wiederum mit den Gleichgewichtskonstanten K_s der Assoziatbildung korrelieren, welche in der vorliegenden Arbeit mit $^1\text{H-NMR}$ und MC gemessen werden sollten.

3. Allgemeiner Teil

3.1 Kapillarelektrophorese zur Trennung von Enantiomeren

3.1.1 Einführung

Die Kapillarelektrophorese (high performance capillary electrophoresis: HPCE) stellt die neueste Technik elektrophoretischer Verfahren dar. In dünnen Glaskapillaren, „fused silica“-Kapillaren wie sie aus der Kapillar-GC bekannt sind, mit Innendurchmessern von 25 bis 100 μm und Längen von 20 bis 100 cm, lassen sich im Prinzip alle beschriebenen Methoden der Elektrophorese heute mit einer Apparatur ausführen [116].

Das Prinzip der Elektrophorese beruht auf der Wanderung gelöster geladener Teilchen in einem elektrischen Feld. Um die Konvektion des Lösungsmittels einzuschränken, kann dieses durch einen Gelbildner stabilisiert werden (Gelelektrophorese), was vor allem für präparative Trennungen Anwendung findet. Mit der Verwendung einer Kapillare als Trennstrecke ist eine weitere Möglichkeit geschaffen worden, die sich für

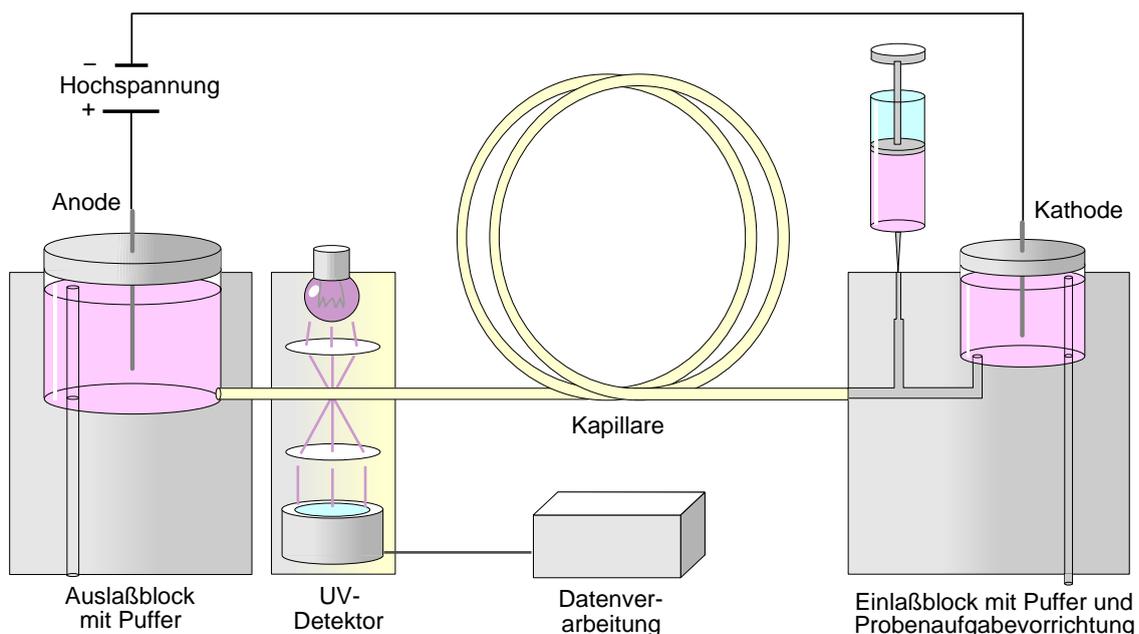


Abbildung 4: Schema einer Kapillarelektrophorese-Apparatur (nach [116])

Arbeiten im Analysenmaßstab sehr schnell durchgesetzt hat (apparativer Aufbau schematisch dargestellt in Abbildung 4).

Die mit Puffer gefüllte Kapillare taucht mit beiden Enden jeweils in ein separates Pufferreservoir. In diese Pufferlösungen tauchen auch die Elektroden der Hochspannungsversorgung ein. Die Spannungsquelle kann bis etwa 30 kV bei einer Stromstärke von bis zu 100 μ A betrieben werden. Das Detektionssystem, z. B. ein UV-Detektor, ist kurz vor dem Auslaßteil der Trennkapillare angeordnet. Mit Hilfe eines speziellen Linsensystems wird Licht der Wellenlängen zwischen beispielsweise 190 und 380 nm auf die Kapillare fokussiert. Alle Teile sind weitgehend miniaturisiert: Volumen der Elektrodenkammern ca. 1 ml, des Einlaßblockes ca. 0,1 ml; der Durchmesser der Optik ca. 2 mm. Das Detektionssystem erzeugt ein der Substanzmenge bzw. -konzentration proportionales Signal, das an ein Datenverarbeitungssystem weitergeleitet werden kann. Neben der Kapillare (Abbildung 5) stellt der Einlaßblock mit der Probenaufgabevorrichtung einen wesentlichen Teil dieser Technik dar: Im Hinblick auf die geringen Gesamtvolumina in der Kapillare (bei 50 cm Länge und 50 μ m Innendurchmesser nur etwa 1 μ l) darf das Probevolumen nicht mehr als 1–10 Nanoliter betragen, um schmale Startzonen zu gewährleisten. Das Prinzip aller Probenaufgabesysteme zur Kapillarelektrophorese besteht darin, daß größere Volumina im μ l-Bereich vorgelegt, davon aber nur Nanoliter-Volumina in die Kapillare transferiert werden. Zur Injektion durch Schwerkraft wird durch Anheben des Probegefäßes (oder Absenken des Puffergefäßes am Auslaßblock) ein Niveauunterschied hergestellt: Nach dem Prinzip der kommunizierenden Röhren erfolgt ein hydrostatischer Fluß; Höhenunterschied und Zeit bestimmen das in die Kapillare hineinfließende Volumen. Bei der elektrokinetischen Applikation wird die Probe durch Anlegen eines starken elektrischen Feldes elektrophoretisch in die Kapillare migriert. Bei der Vakuum- oder Druck-Applikation bestimmen Druckdifferenz und Zeit das applizierte Volumen [116].

Die Kapillare sollte sich in einer thermostatisierbaren Kassette befinden. Sie besteht in vielen Fällen wie in der GC aus Quarz. Die Quarz-Kapillaren mit Innendurchmessern zwischen 10 und 200 μ m sind polyamidummantelt.

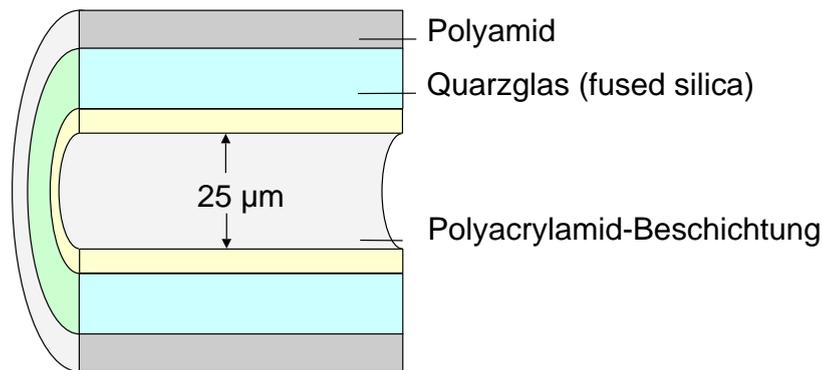


Abbildung 5: Querschnitt durch eine Quarz-Kapillare (nach [116])

Dickwandige Kapillaren bieten den Vorteil, daß sie bei höheren Spannungen aufgrund der höheren Wärmekapazität die entsprechende Joule-Wärme wirkungsvoller ableiten. Bei der UV-Detektion spielt die UV-Transparenz des Quarzes eine wichtige Rolle. Unerwünschte Adsorptionseffekte an den Wandungen der Kapillaren können durch eine Desaktivierung der Innenwände, durch ein sogenanntes „Coaten“ (= Beschichten) mit Polyacrylamid, vermieden werden. Auch das Packen mit einem Gelmaterial ist möglich, jedoch wegen der Gefahr der Blasenbildung schwierig durchzuführen [116].

Die Technik der Kapillarelektrophorese wurde erstmals 1969 von Virtanen beschrieben [117-119]. Einen Vorläufer der Methode stellen die Arbeiten von Hjertén über Elektrophorese in rotierenden Glasröhren dar [120]. Vorteile der CE gegenüber der Gelelektrophorese liegen in der kurzen Analysendauer (in der Regel unter 20 Minuten), der Automatisierbarkeit und dem kleinen Probenvolumen. Kommerzielle CE-Geräte sind seit 1989 erhältlich.

Grundsätzlich beruht die Trennung von Stoffen durch Elektrophorese auf der Differenzierung nach ihrer elektrophoretischen Mobilität μ , das heißt nach dem Quotienten aus Ladung und Radius – siehe Abbildung 6 und Gleichung 5. Die Symbole in der Gleichung haben folgende Bedeutung: μ – elektrophoretische Mobilität, l – effektive Länge der Kapillare (Länge

bis zum Detektor), L – Gesamtlänge der Kapillare, t_m – Migrationszeit, V – angelegte Spannung, q – Ladung des Teilchens, r – Radius des Teilchens, η – Viskosität des Mediums.

$$\mu = \frac{l \cdot L}{t_m \cdot V} = \frac{q}{6 \cdot \pi \cdot r \cdot \eta} \quad (5)$$

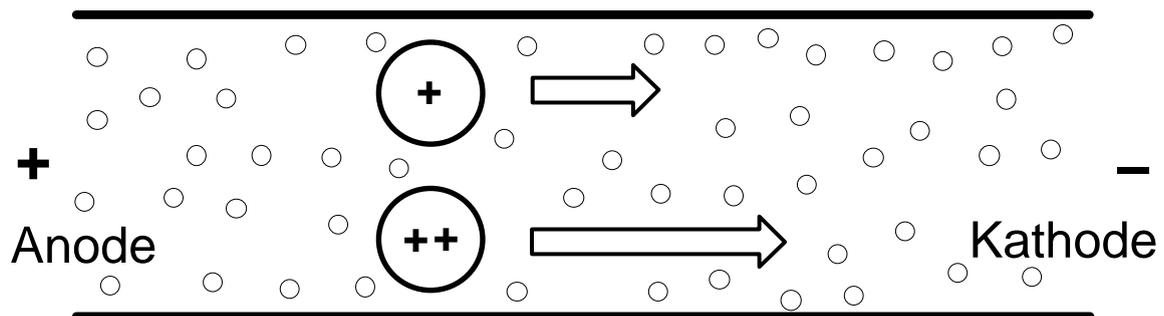


Abbildung 6: Schematische Darstellung des Trennmechanismus in der CE

Die Methode Kapillarelektrophorese kann in verschiedenen Operationsmodi betrieben werden. Befinden sich Analyt und gegebenenfalls zusätzliche Agenzien frei in einer leitfähigen Pufferlösung, spricht man von Kapillarzonenelektrophorese (capillary zone electrophoresis, CZE). Werden dem Arbeitspuffer Mizellbildner hinzugefügt, können diese eine pseudo-stationäre Phase bilden. Mittels geladener Mizellen sind so auch ungeladene Probenmoleküle gemäß ihrer Affinität zur mizellaren Phase auftrennbar (mizellarelektrokinetische Chromatographie, micellar electrokinetic chromatography, MEKC, teilweise auch als mizellarelektrokinetische Kapillar-Chromatographie, micellar electrokinetic capillary chromatography, MECC, bezeichnet). In der Kapillar-Elektrochromatographie (capillary electrochromatography, CEC) nutzt man den elektroosmotischen Fluß (EOF), eine zur Kathode gerichtete Solvensströmung über negativ aufgeladenen Oberflächen, zum Transport der Analyten und zum Erzielen eines chromatographischen Trenneffekts an einer echten (immobilisierten) stationären Phase. Weitere Betriebsmodi der CE sollen hier lediglich erwähnt werden: Kapillargelelektrophorese (capillary gel electrophoresis, CGE), Isotachophorese (isotachopheresis, ITP), kapillar-isoelektrische

Fokussierung (capillary isoelectric focussing, CIEF) und mikroemulsions-elektrokinetische Chromatographie (microemulsion electrokinetic chromatography, MEEKC).

Als Maß für die Güte einer Trennung konnte sich bisher hauptsächlich die auch in der Chromatographie verwendete Peak-Auflösung (-Resolution) durchsetzen (Gleichung 6). Da die Auflösung vielen Einflüssen unterliegt, wurde in der vorliegenden Arbeit hauptsächlich mit dem Migrations-Trennfaktor gearbeitet, der sich aus dem Quotienten der Migrationszeiten ergibt (Gleichung 7) und der eine bessere Aussagekraft für die Enantiomerendiskriminierung bietet, soweit der EOF vernachlässigt werden kann [121-123]. Die Symbole bedeuten: *Res* – Resolution, *wh* – Peakbreite in halber Höhe, α_m – Migrations-Trennfaktor.

$$Res = \frac{t_{m(2)} - t_{m(1)}}{wh_{(1)} + wh_{(2)}} \quad (6)$$

$$\alpha_m = t_{m(2)} / t_{m(1)} \quad (7)$$

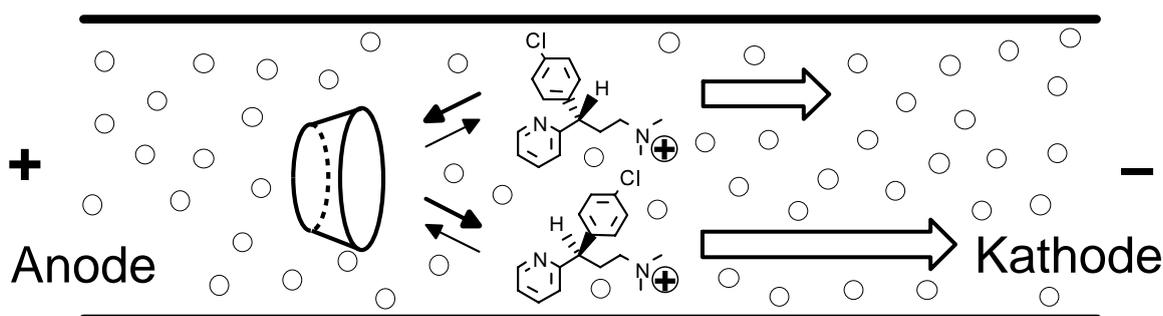


Abbildung 7: Grundlegender Mechanismus der Trennung von Enantiomeren in der CZE

Enantiomerentrennungen erreicht man in der Regel durch den Zusatz eines chiralen Solvatisierungsagens zum Trennpuffer, wie 1985 erstmals gezeigt wurde [124]. In der CZE werden dafür bisher überwiegend Cyclodextrine (CD) und ihre Derivate verwendet (siehe Abbildung 7). Ungleiche Affinität

zum CSA und ungleiche Mobilität von gebundenem und freiem Analyten führen zu einer Differenz der resultierenden Gesamtmobilitäten [125, 126]. In Kombination mit achiralen Mizellbildnern wie Natriumdodecylsulfat werden Cyclodextrine auch in der MEKC als CSA benutzt. Daneben besteht die Möglichkeit der Verwendung von chiralen Mizellbildnern wie Gallensäuren [127] und Aminosäurederivaten [128]. Auch die Aufbringung einer chiralen stationären Phase auf die Kapillarwand [129] und die Kapillarelektrochromatographie an einer gepackten Säule [130] sind demonstriert worden.

Cyclodextrine und ihre Derivate zählen in der Kapillarelektrophorese zu den mit Abstand meistgebrauchten chiralen Solvatisierungsmitteln. Aufgrund ihrer vorteilhaften Eigenschaften wie Wasserlöslichkeit, pH-Stabilität und UV-Transparenz sind sie vielseitig einsetzbar. Von 351 Originalartikeln, die für die Datenbank Chirbase/CE indexiert wurden, betreffen mit 219 Artikeln mehr als die Hälfte die Verwendung von Cyclodextrinen zur Enantiomerentrennung [131]. Innerhalb der Cyclodextrine ist die Verwendung von β -CD und seinen Derivaten als Standardmethode anzusehen (207 der 219 Artikel) [131], wogegen die α - und γ -Formen wegen ihrer vermeintlich geringeren Erfolgsquote, eventuell auch aus Preisgründen, seltener Verwendung fanden (45 bzw. 57 Artikel) [131].

Nach Chirbase/CE sind bisher mehr als 160 CSAs unterschiedlicher molekularer Struktur zur Trennung von mehr als 780 verschiedenen Enantiomerenpaaren in der CE verwendet worden [131]. Wie in der GC ist die hohe Zahl an Selektoren auf die Spezifität der Wechselwirkung zurückzuführen. Hinzu kommt als besonderer Vorteil der CE der geringe Verbrauch an chiraalem Selektor. So wird verständlich, daß auch exotische biogene Verbindungen wie das Glycosid Digitonin [132] und das Antibiotikum Vancomycin [133] bereits als CSA zum Einsatz kamen. Auch in der CE erleichtert das außerordentlich hohe Auflösungsvermögen die Enantiomerentrennung selbst bei geringerer Selektivität. Die Bestimmung thermodynamischer Parameter bei der Enantiomerentrennung durch Kapillarelektrophorese wurde bisher nur in wenigen Fällen versucht [134-137].

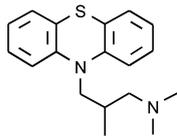
3.1.2 Ergebnisse und Diskussion

Die Kapillarelektrophorese ist für die derivatisierungsfreie Bestimmung der Enantiomerenreinheit von wasserlöslichen Arzneimitteln besonders gut geeignet [138]. Prinzipiell erscheint es wünschenswert, daß für die Untersuchung von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen eng voneinander abgeleitete Verbindungen oder zumindest solche mit häufig wiederkehrenden Strukturelementen zur Verfügung stehen. Jedoch ist das bei den auf dem Weltmarkt eingeführten Arzneimitteln nur in eingeschränktem Maß der Fall. Ferner mußte zunächst ein ausgedehntes Screening-Programm mithilfe der Kapillarelektrophorese unter Hinzufügen bestimmter Cyclodextrine durchgeführt werden [139], da bisher keine ausreichend großen Versuchsreihen unter konstanten Bedingungen durchgeführt worden waren. Die hierbei eingesetzten Analyte waren in der Tat marktgängige racemische Arzneistoffe, die in ihren molekularen Strukturen eine relativ weit gefächerte Diversität aufweisen. Die meist unsystematische Variation der Analytenstruktur erschwert u. U. das Erkennen von Zusammenhängen.

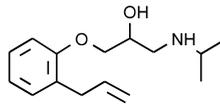
Von den 123 racemischen Arzneistoffen dieses Meßprogramms ließen sich 86 in einem Standard-Phosphatpuffer mit pH 2.5 vermessen (Abbildung 8). Als chirale Solvatisierungsmittel (CSAs) wurden neben underivatisierten Cyclodextrinen auch technische Hydroxypropyl-derivate verwendet, bei denen eine oder mehrere Hydroxylgruppen (in 2-, 3- oder 6-Stellung) statistisch mit der 2-Hydroxypropylgruppe (HP) derivatisiert sind.

Die Verwendung von Cyclodextrinen für Wirt-Gast-Wechselwirkungen wurde in einem der vorhergehenden Kapitel bereits angesprochen.

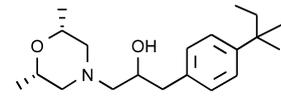
Migrationszeiten und abgeleitete Parameter, die aus dem Screening-Programm resultierten, sind in Tabelle 4 im Experimentellen Teil aufgeführt. Als Maß für die Trennung wurde der Migrationstrennfaktor α_m verwendet, den wir als Quotient aus den Migrationszeiten des erst- und zweiteluierten Enantiomers ($t_{m(1)}$ und $t_{m(2)}$) definierten (Gleichung 7). Auf diese Weise erhält man ein von der Kapillarlänge und weiteren, die Peakauflösung beeinflussenden Faktoren unabhängiges Maß. Bei den hier



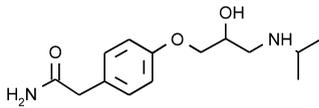
Alimemazin



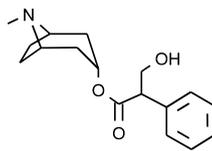
Alprenolol



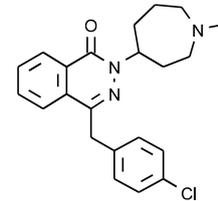
Amorolfin



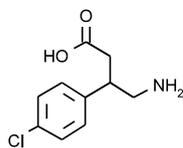
Atenolol



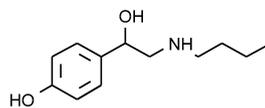
Atropin



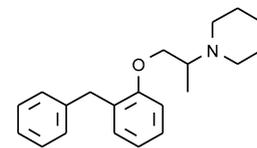
Azelastin



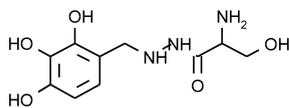
Baclofen



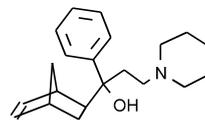
Bamethan



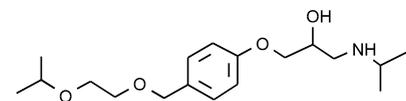
Benproperin



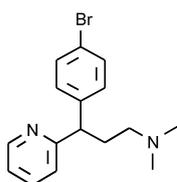
Benserazid



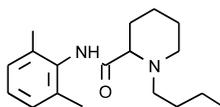
Biperiden



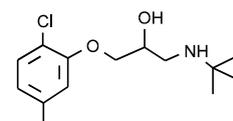
Bisoprolol



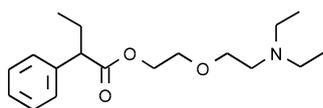
Bromphenamin



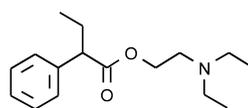
Bupivacain



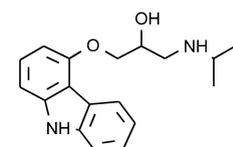
Bupranolol



Butamirat



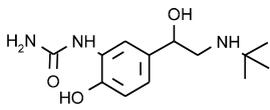
Butetamat



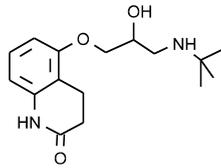
Carazolol

Abbildung 8: Strukturen und Namen der untersuchten Arzneistoffe (Fortsetzung auf den folgenden Seiten)

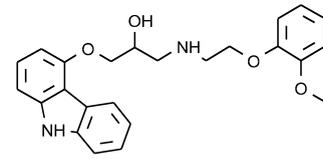
3.1 Kapillarelektrophorese



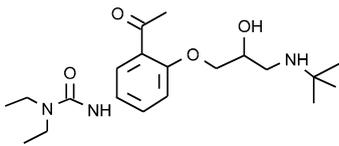
Carbuterol



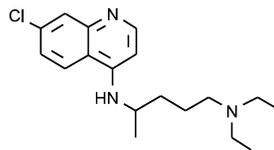
Carteolol



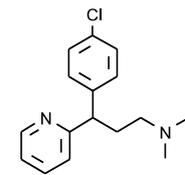
Carvedilol



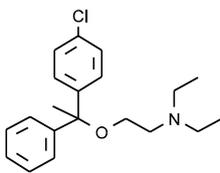
Celiprolol



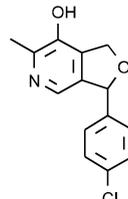
Chloroquin



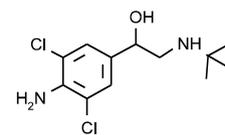
Chlorphenamin



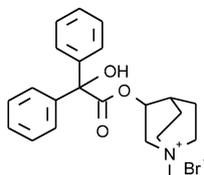
Chlorphenoxamin



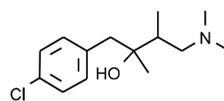
Cicletanin



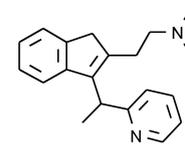
Clenbuterol



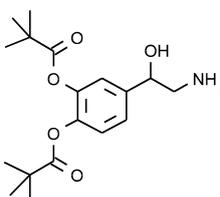
Clidiniumbromid



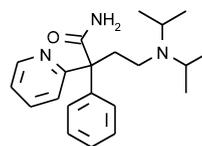
Clobutinol



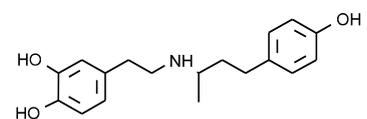
Dimetinden



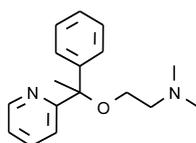
Dipivefrin



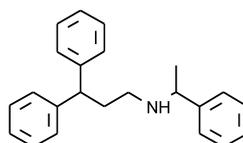
Disopyramid



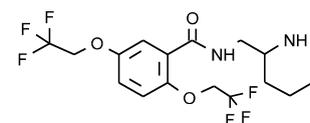
Dobutamin



Doxylamin

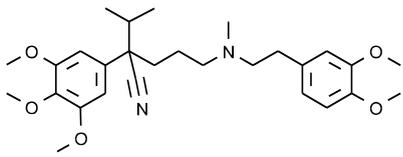


Fendilin

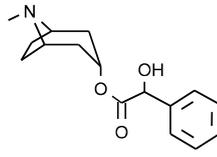


Flecainid

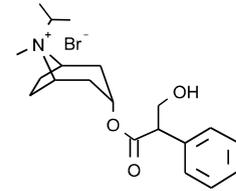
3.1 Kapillarelektrophorese



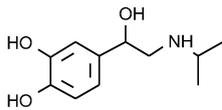
Gallopamil



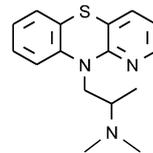
Homatropin



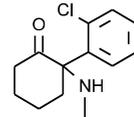
Ipratropiumbromid



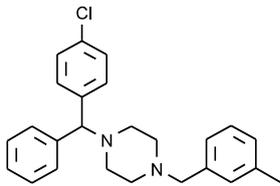
Isoprenalin



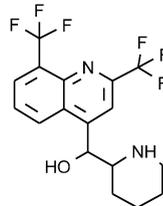
Isothipendyl



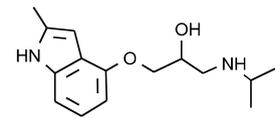
Ketamin



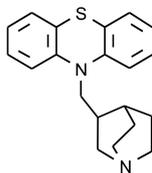
Meclozin



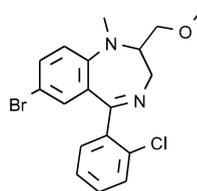
Mefloquin



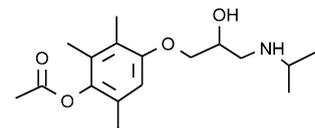
Mepindolol



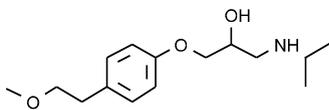
Mequitazin



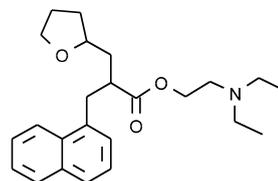
Metaclazepam



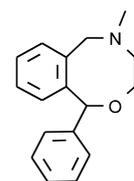
Metipranolol



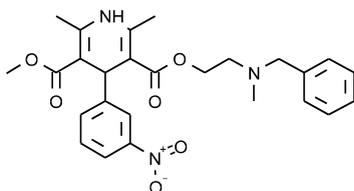
Metoprolol



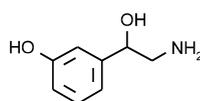
Naftidrofuryl



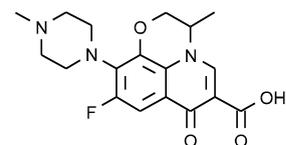
Nefopam



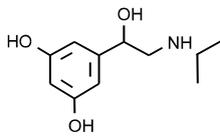
Nicaardipin



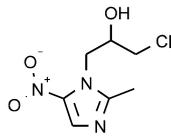
Norfenefrin



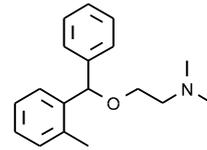
Ofloxacin



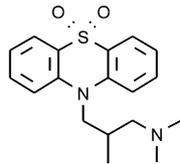
Orciprenalin



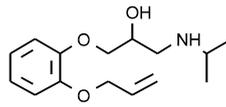
Ornidazol



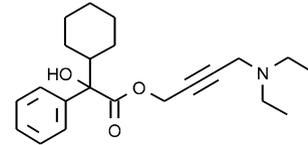
Orphenadrin



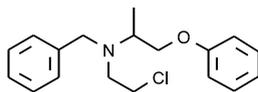
Oxomemazin



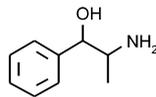
Oxprenolol



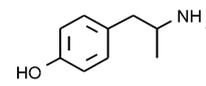
Oxybutynin



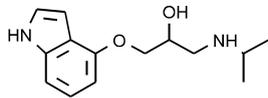
Phenoxybenzamin



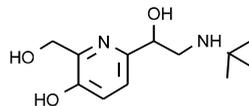
Phenylpropanolamin



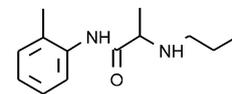
Pholedrin



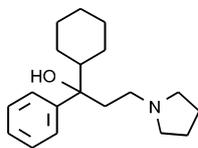
Pindolol



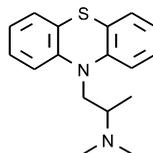
Pirbuterol



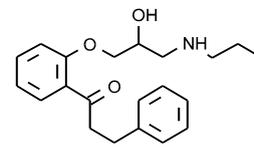
Prilocain



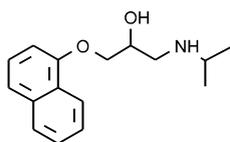
Procyclidin



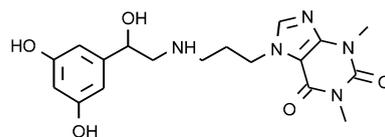
Promethazin



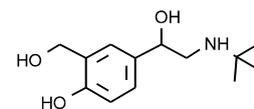
Propafenon



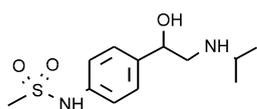
Propranolol



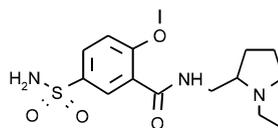
Reproterol



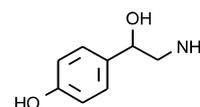
Salbutamol



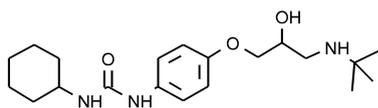
Sotalol



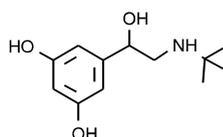
Sulpirid



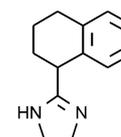
Synephrin



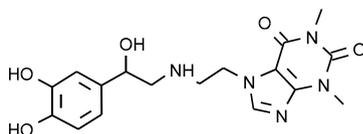
Talinolol



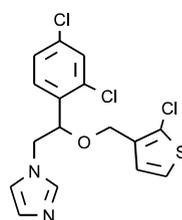
Terbutalin



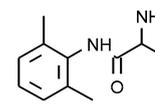
Tetryzolin



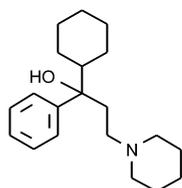
Theodrenalin



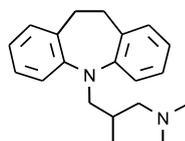
Tioconazol



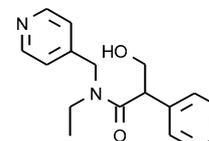
Tocainid



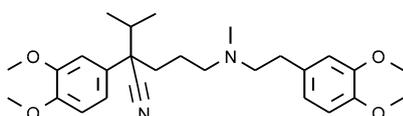
Trihexyphenidyl



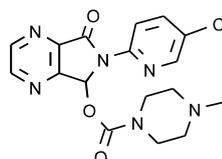
Trimipramin



Tropicamid



Verapamil



Zopiclon

vorliegenden Messungen gibt diese Zahl in guter Näherung direkt das Verhältnis der elektrophoretischen Mobilitäten $\mu_{(1)}$ und $\mu_{(2)}$ der beiden Enantiomere wieder (Gleichung 8), da der elektroosmotische Fluß im konkreten Fall vernachlässigt werden kann.

$$\alpha_m = t_{m(2)}/t_{m(1)} \quad (7)$$

$$t_{m(2)}/t_{m(1)} = \mu_{(1)}/\mu_{(2)} \quad (8)$$

Bekanntlich übt die CSA-Konzentration in der Kapillarzonenelektrophorese einen wesentlichen Einfluß auf das Trennergebnis aus [125, 126]. Bis zu einem Optimum erfolgt ein steiler Anstieg und darüber ein weniger steiler Abfall der Trennleistung, wobei die Optimalkonzentration von den spezifischen Komplexbildungskonstanten der Enantiomere mit dem CSA bestimmt wird. Um die generelle Trennbarkeit von Analyten mit einem chiralen Selektor festzustellen, sollte die CSA-Konzentration für die meisten Analyten eher oberhalb ihres Optimums liegen, wobei immer noch mit einer befriedigenden Trennung gerechnet werden kann. Bei Konzentrationen unterhalb des Optimums hingegen sind fälschlicherweise negative Trennergebnisse nicht auszuschließen, wenn die Peakauflösung unterhalb der Meßbarkeitsgrenze liegt; Enantiomerendifferenzen in der Affinität zum CSA werden dann nicht mehr erkannt. Als Konsequenz dieser Überlegung wurde eine CSA-Konzentration von einheitlich 45 mmol/l gewählt; lediglich für natives β -CD war durch die Löslichkeitsgrenze eine Konzentration von 15 mmol/l vorgegeben. Die nachfolgend abgebildeten Elektropherogramme (Abbildung 9 – Abbildung 11) zeigen beispielhaft einige der so erzielten Enantiomerentrennungen. Es soll darauf hingewiesen werden, daß die Peakform und somit die Auflösung der Peaks weiter verbessert werden können, indem beispielsweise die Konzentration des Puffers, die Art des Pufferkations und die Viskosität der Pufferlösung einer Optimierung unterzogen werden. Dies war jedoch nicht die Aufgabe des ersten Screenings, in dem zunächst nur die grundsätzliche Fähigkeit der Cyclodextrin-CSAs zur Trennung der breiten Palette von Arzneistoffen untersucht werden sollte.

Neben den Migrationszeiten bei Zugabe von chiralen Solvatisierungsagenzien wurden auch jene in reinem Phosphatpuffer bestimmt, um über den Vergleich beider Werte ein Maß für die Retardierung durch das CSA und somit für die Stärke der Wechselwirkung zwischen Analyt und CSA zu

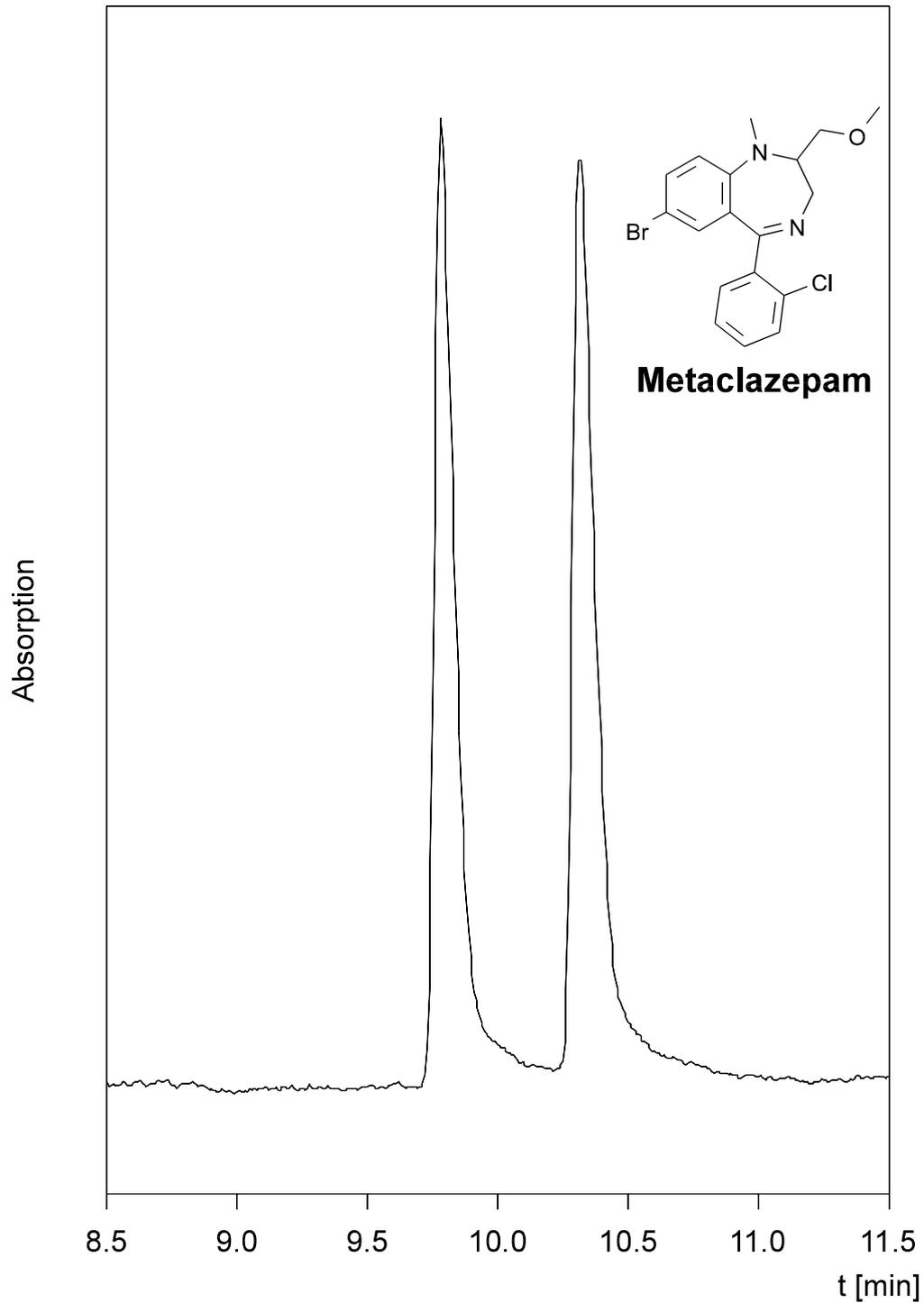


Abbildung 9: Kapillarelektrophoretische Trennung von Metaclozepam-Enantiomeren an HP- α -CD (CSA-Konzentration 45 mmol/l)

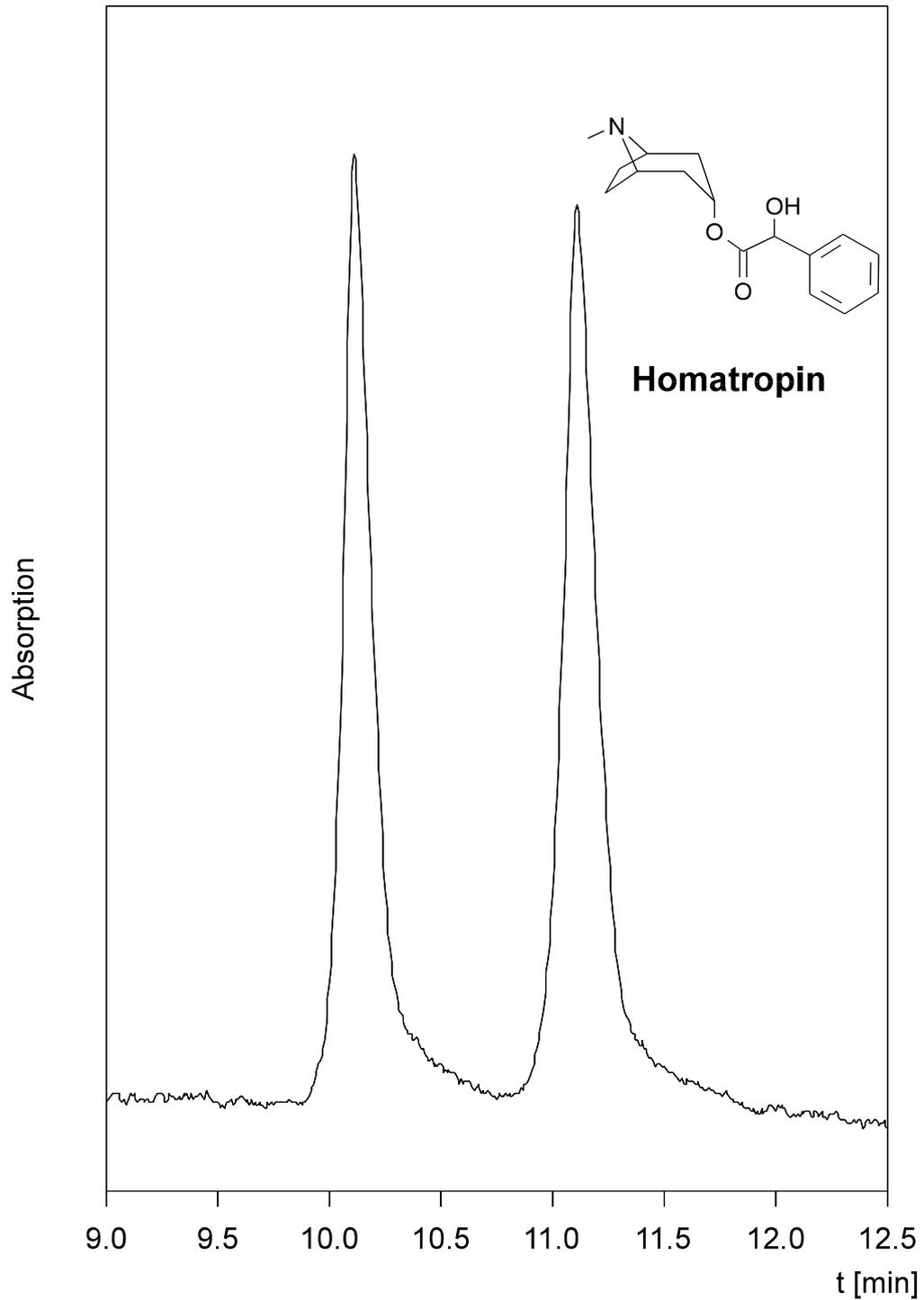


Abbildung 10: Kapillarelektrophoretische Trennung von Homatropin-Enantiomeren an HP- β -CD (CSA-Konzentration 45 mmol/l)

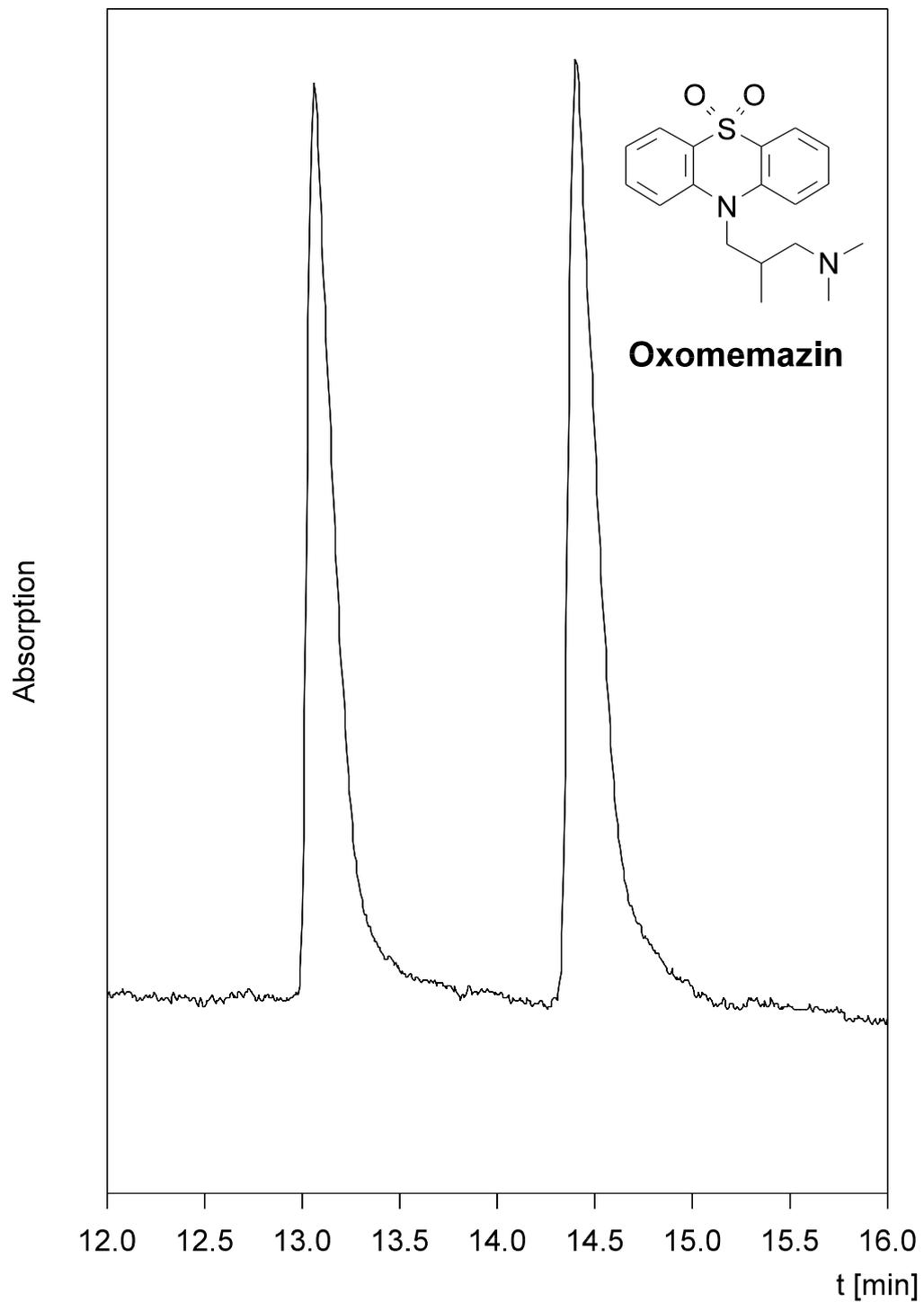


Abbildung 11: Kapillarelektrophoretische Trennung von Oxomemazin-Enantiomeren an HP- γ -CD (CSA-Konzentration 45 mmol/l)

erhalten. Ein Migrationsretardierungsfaktor R_m wurde nach Gleichung 9 als der Quotient aus der Migrationszeit in CSA enthaltendem Puffer (falls getrennt, des zweiteluierten Enantiomers) t_m (CSA) und der Migrationszeit in reinem Phosphatpuffer t_m (plain) definiert.

$$R_m = t_{m(\text{CSA})} / t_{m(\text{plain})} \quad (9)$$

Ziel der Meßserie war es, möglichst viele Selektor-Selektand-Kombinationen abzudecken. Um die Reproduzierbarkeit der Migrationszeiten zwischen Messungen an verschiedenen Meßtagen zu ermitteln, wurden 23 Paare von Meßwerten gewonnen. Es ergab sich eine Differenz von nur $1.1 \pm 0.6\%$ zwischen beiden Messungen. Im kurzfristigen Vergleich auf Basis von sechs Meßpaaren wurde eine noch geringere Abweichung von nur $0.8 \pm 0.2\%$ der Migrationszeiten ermittelt.

3.1.2.1 Statistik zur Selektivität der chiralen Solvatisierungsagenzien

Der Einfluß einiger experimenteller Parameter, z. B. CSA-Konzentration und pH-Wert des Basispuffers, wurden bereits eingehend diskutiert [125, 126]. Demgegenüber gilt die gezielte Auswahl eines für den Analyten geeigneten Cyclodextrins oder eines entsprechenden Derivats bislang als schwierig [105, 140]. Einen möglichen Anhaltspunkt liefert unter Umständen die Gestalt des Analytenmoleküls, auf die der Durchmesser des Cyclodextrins einer weitverbreiteten Hypothese zufolge abgestimmt werden könnte. Unter der Annahme einer Inklusion von hydrophoben Molekülteilen des Analyten sollten mögliche Gäste von α -Cyclodextrin offenkettig-aliphatisch oder monocyclisch aufgebaut sein, β -CD erlaubt mono- oder bicyclische Gäste, γ -CD Gäste bis zur Größe eines Pyrenmoleküls [141, 142].

Die folgenden Ergebnisse zeigen jedoch, daß diese Annahmen der Literatur revidiert werden müssen. Wir haben erstmals eine ausreichend große experimentelle Basis mit genügend vielen Analyten gelegt, um die tatsächlich relevanten Strukturmerkmale der Analyten ausfindig zu machen.

Im ersten Schritt sollen die verwendeten CSAs in ihrer Selektivität miteinander verglichen werden. Als allgemeines Vergleichsmaß für die Trennbarkeit von Analyten unter verschiedenen Bedingungen bzw. mit verschiedenen Strukturmerkmalen definierte U. Epperlein [56] die Erfolgsquote R_{suc} , die sich nach Gleichung 10 aus dem Anteil von getrennten Analyten An_{sep} an der Gesamtzahl der betrachteten Analyten An_{tot} ergibt.

$$R_{suc} = An_{sep} / An_{tot} \quad (10)$$

Die so erhaltene Maßzahl ist ein Wert zwischen 0 und 1, der alternativ auch in Prozentschreibweise angegeben werden kann. Sie ist für vergleichende Betrachtungen eventuell eine bessere Maßzahl als die Migrationstrennfaktoren selbst. Wenig sinnvoll erscheint hingegen die Mittelwertbildung aus den Migrationstrennfaktoren, solange ein Großteil der betrachteten Analyten überhaupt nicht getrennt wird und somit keine Normalverteilung der Werte vorliegt [56].

Bei der Anwendung aller sechs CSAs wurden insgesamt 63 der 86 untersuchten Analyten in die Enantiomeren getrennt, entsprechend einer Erfolgsquote von 73%. Laut Abbildung 12 zeigen die verschiedenen CSAs deutliche Unterschiede in ihrer Erfolgsquote. Während Hydroxypropyl- β -cyclodextrin nahezu die Hälfte aller Racemate in die Enantiomeren trennt, zeigen die übrigen Wirte geringere Erfolgsquoten. Prinzipiell läßt sich folgendes beobachten: 1. Das Hydroxypropylderivat mit der geringsten Erfolgsquote kann immer noch mehr Analyten trennen als das native Cyclodextrin mit der höchsten Erfolgsquote; 2. Innerhalb der nativen wie auch innerhalb der hydroxypropylierten Cyclodextrine ist zwar jeweils das Heptamer (also die β -Form) das erfolgreichste Cyclooligomere, jedoch ist der Unterschied geringer als vielfach antizipiert.

Die Ursache für den ersten Sachverhalt liegt u. U. in der durch die Substituenten erweiterten Interaktionsmöglichkeit der Cyclodextrinmoleküle mit den Analytenmolekülen; dieser Punkt soll durch NMR- und MC-Messungen weiter untersucht werden. Die zweite Beobachtung erklärt sich aus der molekularen Struktur der eingesetzten Analyten. Bei der vermu-

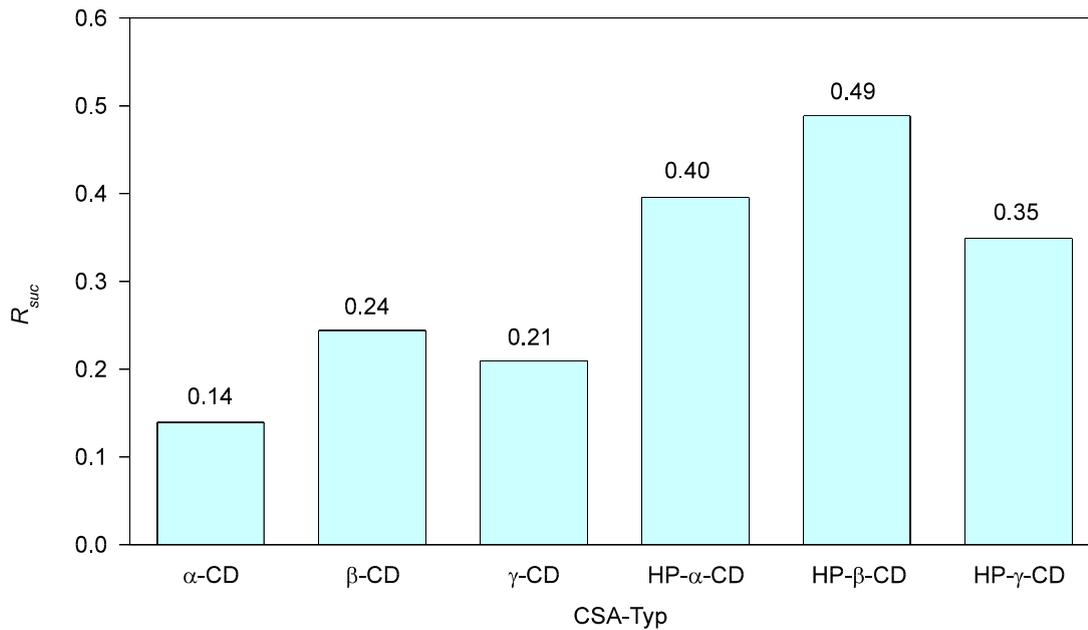


Abbildung 12: Die Erfolgsquote R_{suc} aller untersuchten chiralen Solvatisierungsagenzien, bezogen auf die Gesamtheit der Analyten in der Studie [56]

teten Abhängigkeit der optimalen Ringgröße des Cyclodextrins von der Gestalt des Analytenmoleküls sollte ein überproportionaler Anteil mittelgroßer Analyten zu einer überproportional hohen Erfolgsquote der mittelgroßen Cyclodextrin-CSAs führen. Eine Aufschlüsselung der Erfolgsquote auf einzelne Gruppen von Analyten, wie in Kapitel 3.1.2.2 vorgenommen, sollte hierüber Auskunft geben können. Im Folgenden wird zunächst das Auftreten von Komplementaritäten und Konformitäten im Trennverhalten der CSAs betrachtet.

Bereits die Gesamterfolgsquote von 73% zeigt an, daß die einzelnen CSAs sich in ihrer Selektivität nicht völlig unabhängig voneinander verhalten, denn bei einer rein statistischen Verknüpfung der einzelnen R_{suc} -Werte würden 90% der Analyten getrennt werden. Die Trennung eines bestimmten Analyten mit jedem der untersuchten Cyclodextrinderivate hingegen ist dreimal aufgetreten (siehe Abbildung 13), was die statistisch zu erwartende Wahrscheinlichkeit um das 73fache übertrifft. Diese Ergebnisse sind nicht ganz unerwartet, denn alle untersuchten CSAs gehören derselben Stoffgruppe an, was in gewissem Grade übereinstimmende Selektivitäten nahelegt.

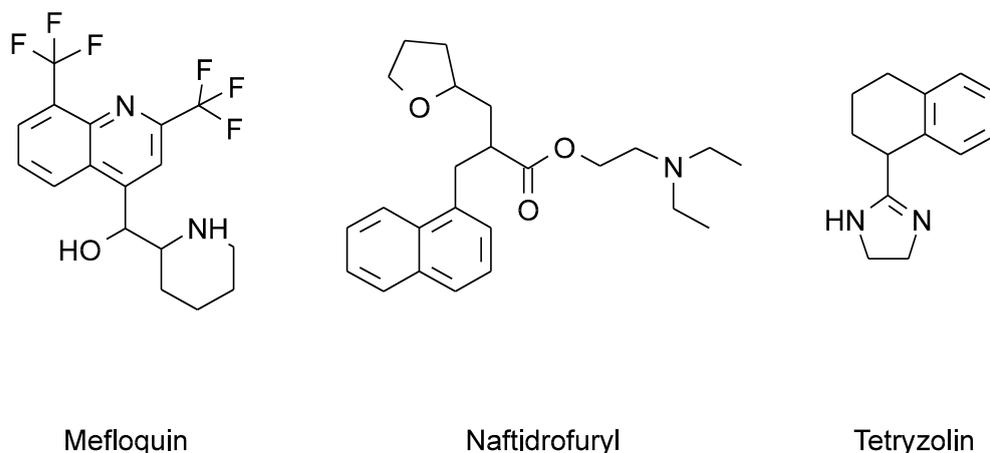


Abbildung 13: Analyten, die mit jedem der untersuchten chiralen Solvatisierungsagenzien (CSAs) in ihre Enantiomere getrennt werden konnten. Jedes der drei Moleküle zeichnet sich durch mehrere, unterschiedlich große Ringstrukturen aus, was die Beteiligung unterschiedlicher Wechselwirkungsmechanismen je nach Ringgröße des Cyclodextrins nahelegt [56].

Analyten-Klasse	Erfolgsquote R_{suc} der Enantiomerentrennung an					
	α -CD	β -CD	γ -CD	HP- α -CD	HP- β -CD	HP- γ -CD
<i>alle 86 Verbindungen</i>	14.0%	24.4%	20.9%	39.5%	48.8%	34.9%
davon 74 nicht getrennt mit α -CD		21.6%	17.6%	36.5%	45.9%	25.7%
davon 65 nicht getrennt mit β -CD	10.8%		18.5%	38.5%	35.4%	30.8%
davon 68 nicht getrennt mit γ -CD	10.3%	22.1%		26.5%	45.6%	27.9%
davon 52 nicht getrennt mit HP- α -CD	9.6%	23.1%	3.8%		38.5%	23.1%
davon 44 nicht getrennt mit HP- β -CD	9.1%	4.5%	15.9%	27.3%		29.5%
davon 56 nicht getrennt mit HP- γ -CD	1.8%	19.6%	12.5%	28.6%	44.6%	

Tabelle 5: Die Erfolgsquote an verschiedenen CSAs für Verbindungen, die an anderen CSAs in dieser Studie nicht trennbar waren (Komplementarität)

Laut Epperlein [56] können Analyten, die sich an einem bestimmten CSA nicht in ihre Enantiomere trennen ließen, häufig an anderen CSAs getrennt

werden (Tabelle 5). Erwartungsgemäß erreichen die an einem bestimmten CSA getrennten Analyten auch an jedem der anderen CSAs eine überdurchschnittliche Erfolgsquote (Tabelle 6). Die höchsten Erfolgsquoten in jeder Analyten-Klasse (in der Tabellen durch Fettdruck hervorgehoben) werden an den hydroxypropylierten Cyclodextrinen erreicht, wobei HP- β -CD eine besonders hohe Erfolgsquote aufweist. Maximalwerte bei anderen CSAs weisen auf Komplementaritäten (Tabelle 5) bzw. Konformitäten (Tabelle 6) der betroffenen CSAs in ihrem Trennverhalten hin [56]. So besteht offenbar eine gewisse Komplementarität zwischen β -CD und HP- α -CD, da die an β -CD nicht getrennten Analyten an HP- α -CD ihre höchste Erfolgsquote haben. Gleiches gilt für HP- β -CD und HP- γ -CD. Eine Konformität in der Selektivität zeigt sich beispielsweise zwischen α -CD und HP- γ -CD, da die an α -CD getrennten Analyten zu 91.7% ebenfalls an HP- γ -CD getrennt werden konnten. Ähnlich hohe Werte gelten für β -CD und HP- β -CD sowie für γ -CD und HP- α -CD.

Analyten-Klasse	Erfolgsquote R_{suc} der Enantiomerentrennung an					
	α -CD	β -CD	γ -CD	HP- α -CD	HP- β -CD	HP- γ -CD
<i>alle 86 Verbindungen</i>	14.0%	24.4%	20.9%	39.5%	48.8%	34.9%
davon 12 getrennt mit α -CD		41.7%	41.7%	58.3%	66.7%	91.7%
davon 21 getrennt mit β -CD	23.8%		28.6%	42.9%	90.5%	47.6%
davon 18 getrennt mit γ -CD	27.8%	33.3%		88.9%	61.1%	61.1%
davon 34 getrennt mit HP- α -CD	20.6%	26.5%	47.1%		64.7%	52.9%
davon 42 getrennt mit HP- β -CD	19.0%	45.2%	26.2%	52.4%		40.5%
davon 30 getrennt mit HP- γ -CD	36.7%	33.3%	36.7%	60.0%	56.7%	

Tabelle 6: Die Erfolgsquote an verschiedenen CSAs für Verbindungen, die an anderen CSAs in dieser Studie trennbar waren (Konformität)

Interessant für die Praxis ist die in Tabelle 7 aufgeschlüsselte Rate, mit der eine Verbesserung des Migrationstrennfaktors beim Übergang zu einem anderen CSA zu erwarten ist. Die Maximalwerte folgen hier der aus Tabelle 6 bekannten Anordnung und erreichen für den Übergang von

nativen Cyclodextrinen zu hydroxypropylierten Cyclodextrinen teilweise beträchtliche Zahlen. Demgegenüber wurde beim Wechsel von hydroxypropylierten Cyclodextrinen zu nativen Cyclodextrinen nur selten eine Verbesserung der Trennleistung beobachtet; der Maximalwert beträgt 14.7% für den Übergang von HP- α -CD zu β -CD.

Analyten-Klasse	Verbesserte Enantiomerentrennung an					
	α -CD	β -CD	γ -CD	HP- α - CD	HP- β - CD	HP- γ - CD
12 Analyten, getrennt mit α -CD		8.3%	8.3%	41.7%	33.3%	83.3%
21 Analyten, getrennt mit β -CD	19.0%		9.5%	19.0%	66.7%	33.3%
18 Analyten, getrennt mit γ -CD	22.2%	22.2%		72.2%	50.0%	38.9%
34 Analyten, getrennt mit HP- α -CD	5.9%	14.7%	8.8%		26.5%	20.6%
42 Analyten, getrennt mit HP- β -CD	9.5%	11.9%	4.8%	31.0%		21.4%
30 Analyten, getrennt mit HP- γ -CD	3.3%	10.0%	13.3%	36.7%	26.7%	

Tabelle 7: Der Anteil der getrennten Analyten, die bei Wechsel des CSAs eine Verbesserung ihres Migrationstrennfaktors erfahren

Hieraus folgt, daß hydroxypropylierte Cyclodextrine für die kapillarelektrophoretische Enantiomerentrennung den nativen Cyclodextrinen in aller Regel überlegen sind.

Während derartige Aussagen eine Domäne der zahlenmäßigen Falluntersuchungen sind, kann zur Frage der Komplementarität und Konformität im Trennverhalten der einzelnen Cyclodextrinderivate auch eine Auswertung mit der Selbstorganisierenden Karte (SOM) herangezogen werden. Das Training des Neuronalen Netzes kann beispielsweise mit den Migrations-trennfaktoren an verschiedenen CSAs erfolgen, wobei die mit anderen Methoden gewonnenen Erkenntnisse bestätigt und präzisiert werden können. Diese Ergebnisse werden im Kapitel „Neuronale Netze“ besprochen.

3.1.2.2 *Einfluß allgemeiner Strukturmerkmale der Analyten auf ihre Trennbarkeit*

In der Literatur ist die Größe des Analytenmoleküls bzw. charakteristischer Teile (z.B. Phenylgruppen) einer der wenigen Anhaltspunkte für die Auswahl eines geeigneten Cyclodextrinderivats als chiraler Selektor in der Kapillarelektrophorese [141, 142]. Diese Hypothese soll im weiteren überprüft werden. Für diesen Zweck betrachten wir das Trennverhalten von Analyten, die nur einen einzigen mono- oder oligocyclischen Rest enthalten. Es finden sich unter den 86 vermessenen Substanzen 56 mit dem Strukturmerkmal eines Monocyclus, 5 mit dem eines Bicyclus und 6 mit dem eines Tricyclus.

Die Erfolgsquote der Enantiomerentrennung der monocyclischen Analyten (Abbildung 15) an den einzelnen CSAs zeigt ein ähnliches Bild wie die Erfolgsquote aller Analyten zusammengenommen (Abbildung 12). Dies ist verständlich, macht die untersuchte Teilgruppe doch die Mehrheit aller Analyten aus. In Übereinstimmung mit den gängigen Empfehlungen zur CSA-Auswahl wird hier eine gewisse Überlegenheit von nativem und hydroxypropyliertem β -Cyclodextrin über deren α - und γ -Homologen beobachtet. Bei den bicyclischen Analyten ergibt sich ein ähnliches Bild. Eine Verlagerung der optimalen Ringgröße (α , β oder γ) des Cyclodextrins ist jedoch auch bei den hydroxypropylierten Derivaten nicht zu erkennen. Diese interessante Beobachtung konnte in der vorliegenden Diplomarbeit anhand der $^1\text{H-NMR}$ - und MC-Untersuchungen auf molekularer Ebene aufgeklärt werden (siehe unten).

Betroffen sind auch die mit tricyclischen Analyten gewonnenen Meßergebnisse. Während hier die Erfolgsquote der hydroxypropylierten Cyclodextrine mit der Ringgröße wächst, ist bei den nativen Cyclodextrinen sogar ein gegenläufiger Effekt zu beobachten. Verglichen mit den monocyclischen Analyten wird sowohl an HP- γ -CD als auch an α -CD eine Erhöhung der Erfolgsquote beobachtet, für die sich trotz der geringen Anzahl von tricyclischen Analyten mit dem z-Test eine statistische Signifikanz nachweisen läßt [56]. Mit Oxomemazin als einem Vertreter der tricyclischen

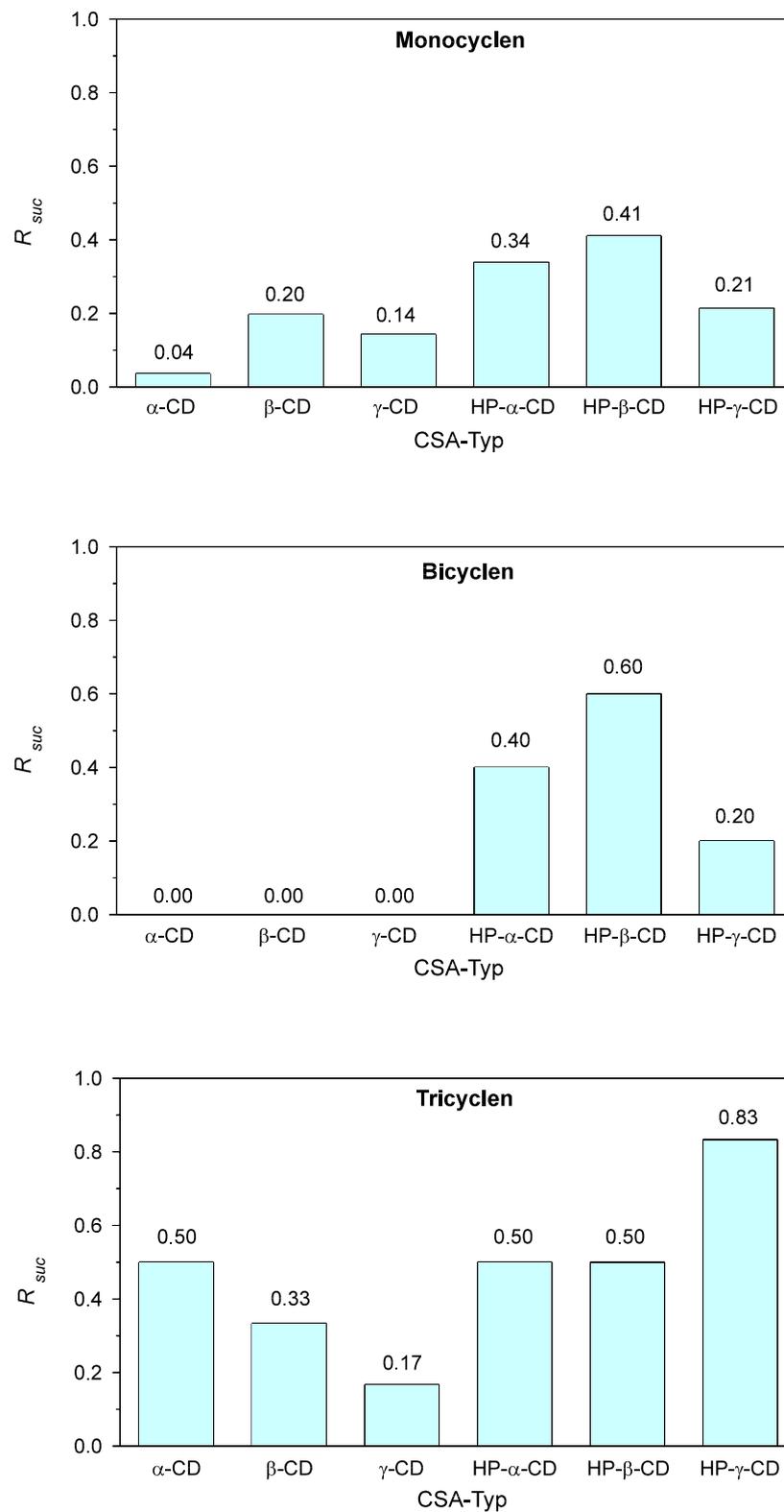


Abbildung 15: Die Erfolgsquote (R_{suc}) der Enantiomerentrennung von mono-, bi- und tricyclischen Verbindungen an den untersuchten chiralen Solvatisierungsagenzien (CSAs)

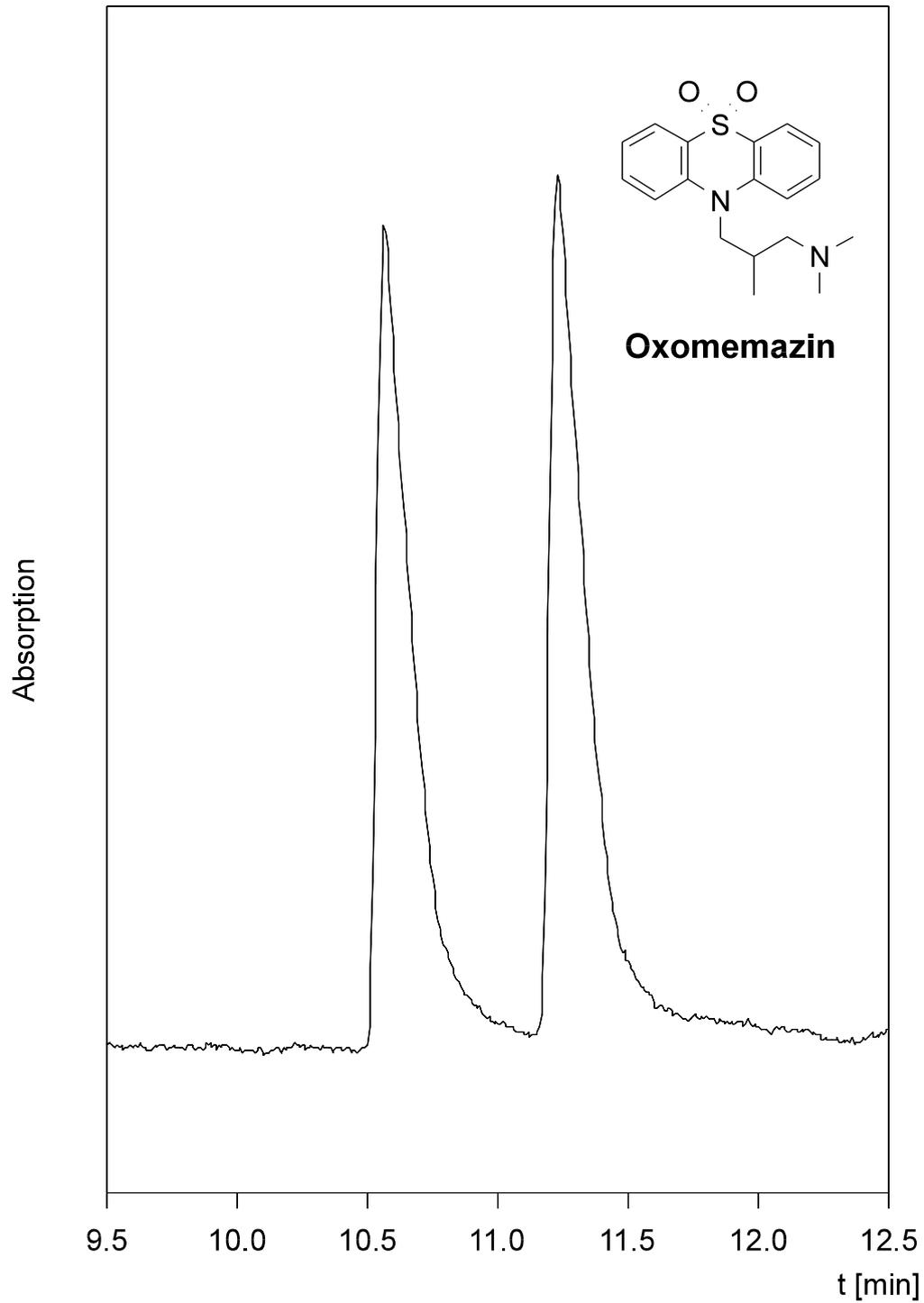
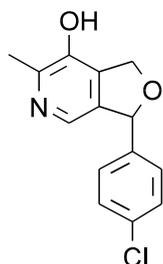


Abbildung 16: Kapillarelektrophoretische Enantiomerentrennung von Oxomemazin an α -Cyclodextrin (CSA-Konzentration 45 mmol/l), $\alpha_m = 1.063$

Analyten wird an α -CD sogar der insgesamt höchste Migrationstrennfaktor von allen Analyten erreicht (Abbildung 16).

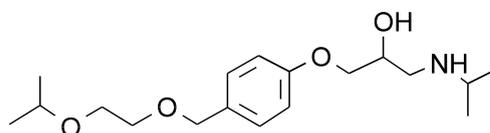
Epperlein [56] hat gezeigt, daß lediglich bei α -CD und HP- γ -CD eine gewisse Tendenz zu höheren Erfolgsquoten bei höherer Molmasse existieren könnte. Diese Befunde sollten eher mit Vorsicht interpretiert werden, da hier die Gestalt der Analyten weitgehend unberücksichtigt bleibt.

geringe Flexibilität



Cicletanin (0.050)

hohe Flexibilität



Bisoprolol (0.522)

Abbildung 17: Zwei Arzneimittel mit geringer (links) und hoher (rechts) Flexibilität; in Klammern jeweils der Flexibilitätsquotient (FQ)

Die Flexibilität des Analytenmoleküls dagegen, ausgedrückt durch den Flexibilitätsquotienten (FQ), zeigt einen klaren Einfluß auf die Erfolgsquote der kapillarelektrophoretischen Enantiomertrennung [56]. Der Flexibilitätsquotient ist ein relativ grobes Maß für die Flexibilität eines Moleküls, siehe Abbildung 17. Er ist definiert als der Anteil aller zur Flexibilität des Moleküls beitragenden Bindungen an der Gesamtanzahl von Bindungen zwischen den Nicht-Wasserstoff-Atomen des Moleküls, im obigen Beispiel eine von 20 Bindungen in Cicletanin und 12 von 23 Bindungen in Bisoprolol.

Bei höherer Flexibilität des Analytenmoleküls läßt sich ein Trend zu geringeren Erfolgsquoten feststellen (Abbildung 18 und 19). So zeigen die starren Analyten ($FQ \leq 0.2$) eine Gesamterfolgsquote von ca. 50%, während flexiblere Moleküle ($FQ > 0.3$) nur noch 20% erfolgreiche Trennversuche

aufzuweisen haben und bei ausgesprochen flexiblen Molekülen ($FQ > 0.5$) überhaupt keine Trennungen mehr beobachtet wurden. Der Plan, ausgefeiltere Maßzahlen für die Flexibilität von Analyten aus der Literatur zu verwenden oder auch selbst solche Maßzahlen zu definieren, sprengte den zeitlichen Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit. Unter Umständen würde so eine noch klarere Abhängigkeit der chiralen Erkennung von der Flexibilität des Analytenmoleküls sichtbar.

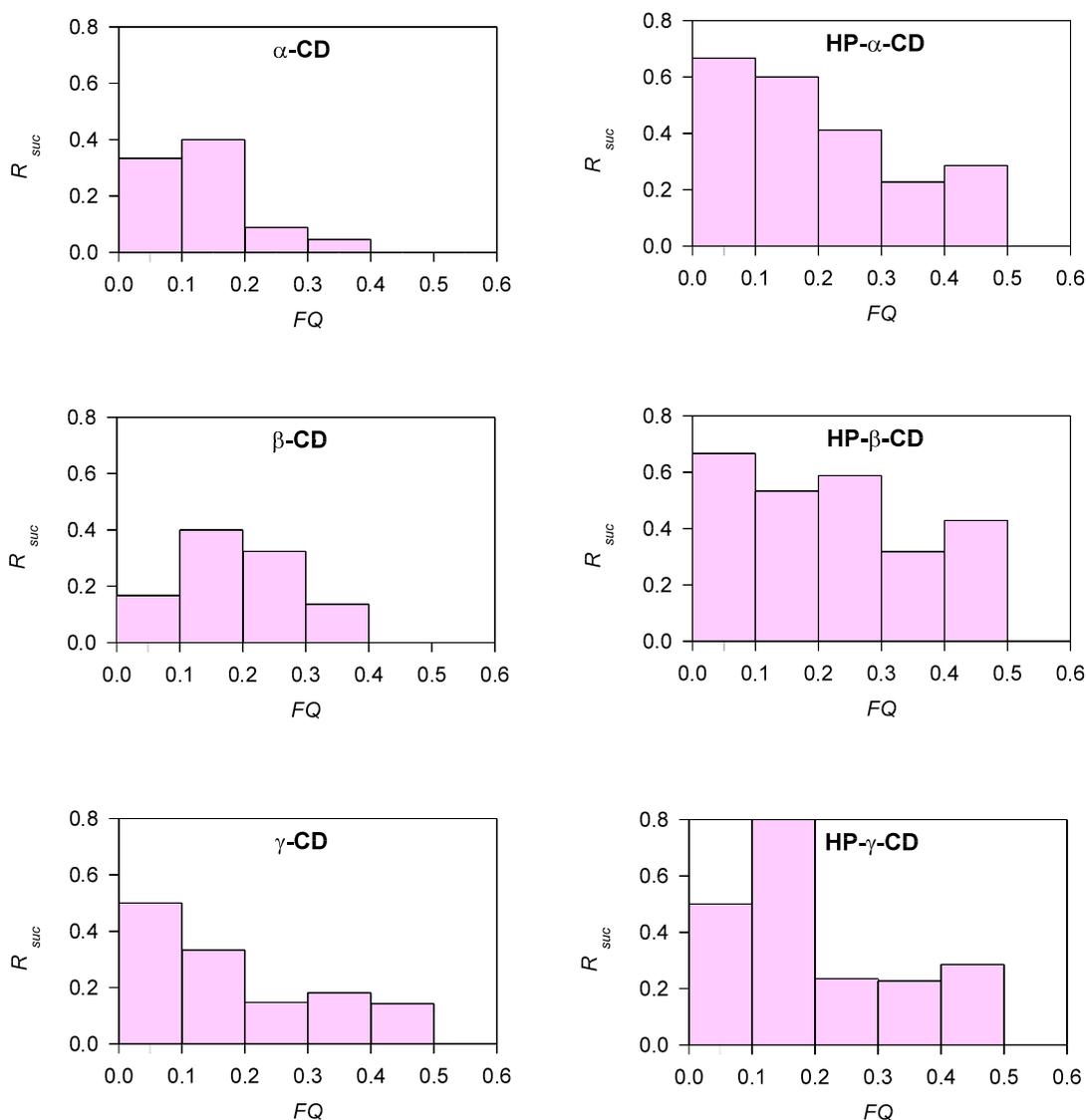


Abbildung 18: Erfolgsquote (R_{suc}) der Enantiomerentrennung an den verschiedenen chiralen Wirten; Histogrammdarstellung für die Analyten in Abhängigkeit des Flexibilitätsquotienten (FQ); die einzelnen Bereiche sind mit 6, 15, 34, 22, 7 bzw. 2 Verbindungen besetzt.

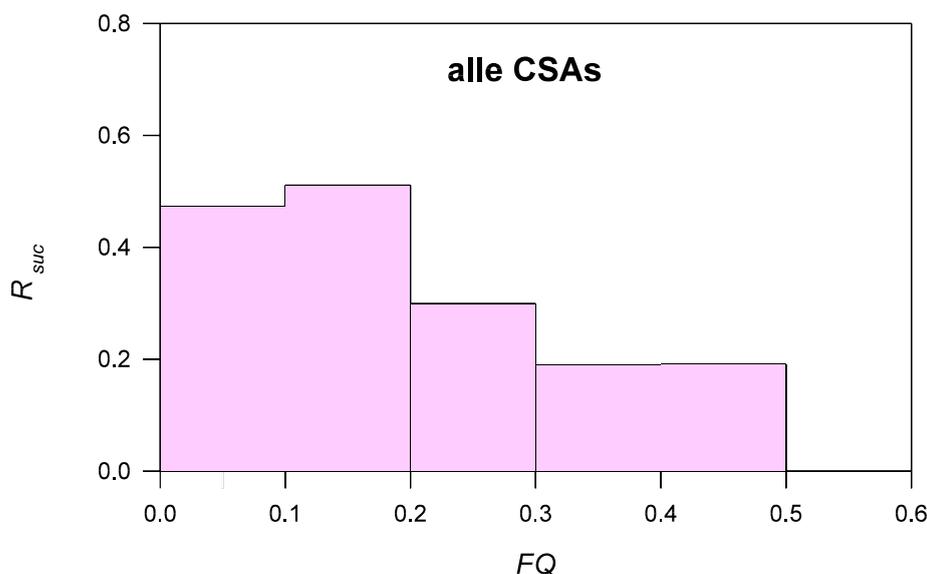


Abbildung 19: Erfolgsquote (R_{suc}) der Enantiomerentrennung an allen Cyclodextrin-CSAs zusammengenommen; Histogrammdarstellung für die Analyten in Bereichen mit bestimmtem Flexibilitätsquotienten (FQ)

3.1.2.3 Das Ausmaß der Retardierung als Richtungsweiser für die Optimierung der Trennfaktoren

Als Voraussetzungen für eine Enantiomerentrennung nach der beschriebenen Methode gelten:

- Ein Unterschied in der Mobilität von gebundenem und freiem Analyten
- Ein Unterschied in der Affinität beider Enantiomere
- Eine CSA-Konzentration, bei der dieser Unterschied zum Tragen kommt

Weder bei zu niedrigen CSA-Konzentrationen, wobei das CSA nur geringe Anteile der beiden Enantiomere bindet, noch bei zu hohen CSA-Konzentrationen, wo nur geringe Anteile der beiden Enantiomere sich frei in der Lösung befinden, werden sich die beiden Enantiomere in ihren Anteilen von gebundenen und freien Molekülen wesentlich unterscheiden. Die optimale CSA-Konzentration c_{opt} ergibt sich nach Gleichung 11 aus den Mobilitäten der unkomplexierten und komplexierten Enantiomere, μ_u und

μ_c , sowie den Komplexbildungskonstanten $K_{(1)}$ und $K_{(2)}$ der beiden Enantiomere [107].

$$c_{opt} = \sqrt{\frac{\mu_u/\mu_c}{K_{(1)} \cdot K_{(2)}}} \quad (11)$$

Hohe Komplexbildungskonstanten verlangen somit nach niedrigen CSA-Konzentrationen und umgekehrt. Die Komplexbildungskonstanten können in der CE durch die Messung von Migrationszeiten bei mehreren unterschiedlichen CSA-Konzentrationen bestimmt werden [135, 143, 144], jedoch sollte die Retardierung gegenüber reinem Basispuffer bereits einen Anhaltspunkt bezüglich der Größenordnung der Komplexbildungskonstanten geben. Hierzu genügt neben der Messung der Migrationszeiten der Analyten in den CSA-Puffern eine einzige weitere Messung der Migrationszeiten im Basispuffer, womit der experimentelle Aufwand erheblich reduziert ist.

Jenseits der Betrachtung von Einflüssen der molekularen Struktur des Analyten konnten so die Meßergebnisse genutzt werden, um anhand der vorliegenden großen Anzahl von Analyten eine Korrelation zwischen dem Migrationsretardierungsfaktor R_m (Gleichung 9) und dem Migrationstrennfaktor α_m nachzuweisen (Abbildung 20).

$$R_m = t_{m(CSA)}/t_{m(plain)} \quad (9)$$

Während die meisten erfolglosen Trennexperimente ($\alpha_m = 1$) einen Migrationsretardierungsfaktor (R_m) zwischen 1 und 1.5 aufweisen und damit auf die zu schwache Interaktion zwischen Analyt und CSA deuten, liegen die meisten erfolgreichen Trennexperimente bei R_m -Werten zwischen 1.5 und 2.5. Wenngleich der darüber liegende R_m -Bereich noch einige sehr gute Trennungen aufweist, nimmt der Anteil der erfolgreichen Trennungen hier bereits wieder ab, da bei der hier beobachteten starken Bindung der Analyten an das CSA die Unterschiede in der Affinität beider Enantiomere bereits wieder in den Hintergrund treten.

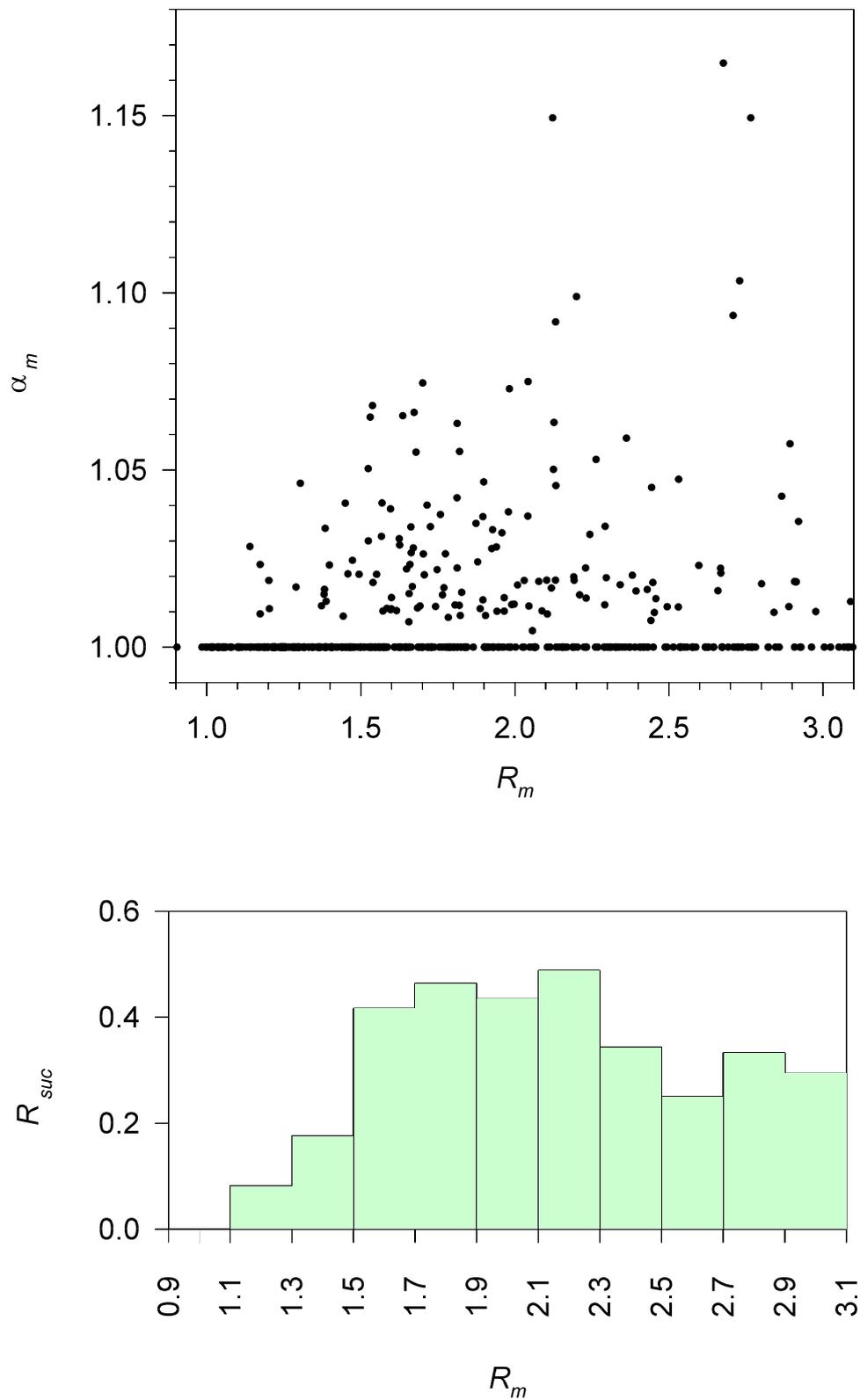


Abbildung 20: Der Migrationstrennfaktor α_m und die Erfolgsquote R_{suc} in Abhängigkeit vom Migrationsretardierungsfaktor R_m

Für die Optimierung der Migrationstrennfaktoren läßt sich aus den getroffenen Beobachtungen die Konsequenz ziehen, für Analyten mit starker Retardierung im ersten Screening in der Folge geringere CSA-Konzentrationen zu erproben, für solche mit schwacher Retardierung dagegen höhere CSA-Konzentrationen [56]. Auf dieses Verfahren soll hier nicht näher eingegangen werden.

Analyten-Klasse	Hohe Gesamtretardierung ($R_m \geq 1.5$) an					
	α -CD	β -CD	γ -CD	HP- α - CD	HP- β - CD	HP- γ - CD
<i>alle 86 Verbindungen</i>	43.0%	67.4%	61.6%	79.1%	83.7%	67.4%
davon 50 mit $R_m < 1.5$ an α -CD		26.7%	24.4%	37.2%	41.9%	25.6%
davon 28 mit $R_m < 1.5$ an β -CD	2.3%		8.1%	16.3%	19.8%	10.5%
davon 33 mit $R_m < 1.5$ an γ -CD	4.7%	14.0%		18.6%	25.6%	18.6%
davon 18 mit $R_m < 1.5$ an HP- α -CD	-	3.5%	-		12.8%	2.3%
davon 14 mit $R_m < 1.5$ an HP- β -CD	1.2%	3.5%	4.7%	9.3%		3.5%
davon 28 mit $R_m < 1.5$ an HP- γ -CD	1.2%	10.5%	11.6%	15.1%	19.8%	

Tabelle 8: Hohe Gesamtretardierungen an verschiedenen CSAs für Verbindungen, die an anderen CSAs niedrige R_m -Werte zeigen (Komplementarität)

Analog Tabelle 5 – Tabelle 7 kann die Frage der Komplementarität und Konformität auch bei den Migrationsretardierungsfaktoren R_m untersucht werden. Wie Abbildung 20 zeigt, liegen die meisten erfolgreichen Trennexperimente bei $R_m = 1.5$ oder darüber. Daher können wir mit $R_m \geq 1.5$ einen Schwellenwert festlegen, der eine für den Erfolg der Enantiomeren-trennung ausreichende Affinität zwischen Analyt und CSA beschreibt, im folgenden als „hohe Gesamtretardierung“ bezeichnet. Tabelle 8 zeigt eine Komplementaritätstabelle bezüglich der R_m -Werte. Fett hervorgehoben sind die maximalen Prozentzahlen an Verbindungen, die an einem bestimmten CSA (Kopfzeile) eine Gesamtretardierung über dem Schwellenwert ($R_m \geq 1.5$), an einem anderen CSA (linke Spalte) eine Gesamtretardierung unterhalb des Schwellenwertes aufweisen. Bei den R_m -Werten aller 86

Verbindungen (erste Zeile) erhält α -CD den bei weitem niedrigsten Wert, offenbar passen nur weniger als die Hälfte (angedeutet durch den Wert 43.0%) der Analyten in die relativ enge Cavity dieses Wirtes. Den maximalen Wert (83.7%) finden wir für HP- β -CD, möglicherweise aufgrund der sterischen Anpassung der relativ flexiblen Hydroxypropylgruppen an den jeweils eingeschlossenen Gast („*induced fit*“, nach Koshland, [145]). Abbildung 21 zeigt dies noch einmal graphisch. Sowohl beim Übergang von β -CD nach γ -CD als auch von HP- β -CD nach HP- γ -CD nimmt der Anteil der Analyten mit einer hohen Gesamtretardierung ab, weil ein gewisser Teil der Gäste sich im größeren Ringsystem hin und her bewegen kann („*schlackert*“). Die höchste Selektivität zeigt nach dieser Betrachtungsweise das α -CD. Wie sind nun die Komplementaritätswerte zu verstehen? Betrachten wir nun z. B. die Zahl 2.3% am oberen Ende der ersten Spalte. Diese gibt an, daß lediglich 2 Verbindungen (2.3% von 86) an α -CD eine hohe, an β -CD jedoch eine niedrige Gesamtretardierung aufweisen. In anderen Worten: Gäste, die in das engere Ringsystem passen, können auch von dem mittelgroßen Ringsystem aufgenommen werden. Der Umkehrschluß gilt nicht, d. h. ein gewisser Prozentsatz (26.7% von 86) paßt zwar

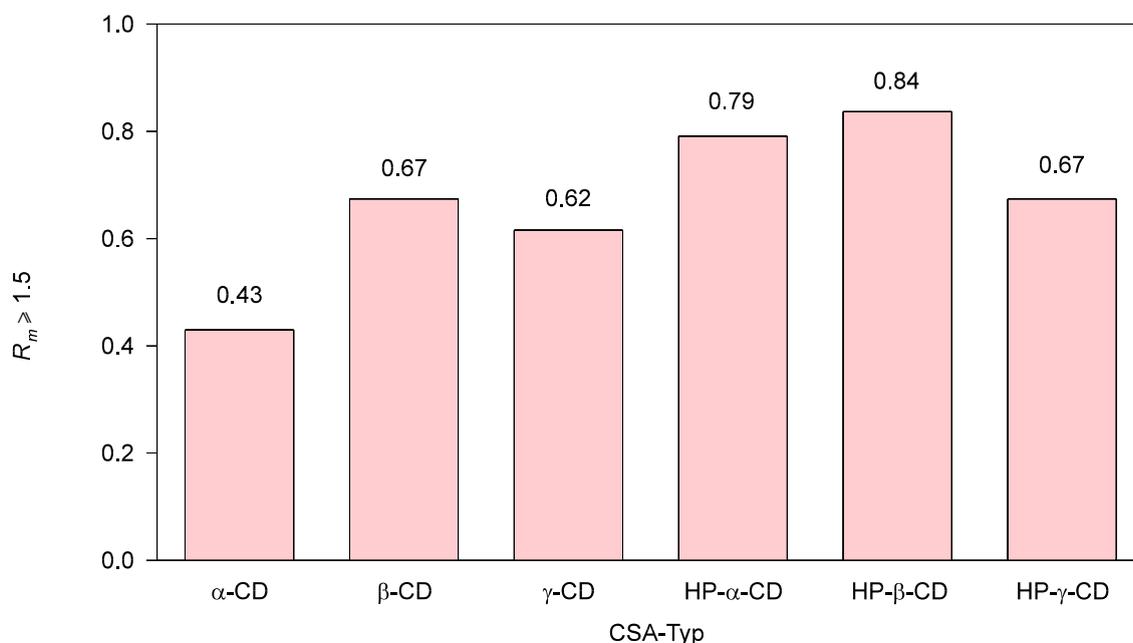


Abbildung 21: Hohe Gesamtretardierung ($R_m \geq 1.5$) bei den untersuchten chiralen Solvatisierungsagenzien, bezogen auf die Gesamtheit der Analyten in der Studie [56]

noch in die Cavity des β -CD, aber nicht mehr in die des α -CD. Die jeweils höchsten Werte einer Zeile (in Tabelle 8 fett hervorgehoben) finden sich beim HP- β -CD. Dies läßt den Schluß zu, daß HP- β -CD die geringste Selektivität aufweist, gemäß der Überlegung, daß eine hohe Selektivität eine niedrige Komplementarität bedingt und umgekehrt.

In Tabelle 9 finden sich generell deutlich höhere Werte als in Tabelle 8, d. h. die beobachteten Konformitäten sind i. a. sehr viel höher als die Komplementaritäten. Die höchsten Werte weisen wiederum die hydroxypropylierten Cyclodextrine HP- α -CD und HP- β -CD auf, da sie am flexibelsten sind und sich so am besten in ihrer Gestalt an den Analyten anpassen können. Auch β - und γ -CD zeigen hier relativ hohe Werte; Gäste, die in diese Wirte passen, wechselwirken auch gut mit anderen Wirten. Nur für α -CD ergeben sich etwas niedrigere Konformitäten: Gäste, die in α -CD gut eingepaßt werden können, sind für die größeren Cavities etwas zu klein, entsprechend wird z. B. eingelagertes Wasser nicht so effizient verdrängt wie bei der Komplexbildung mit α -CD.

Analyten-Klasse	Hohe Gesamtretardierung ($R_m \geq 1.5$) an					
	α -CD	β -CD	γ -CD	HP- α - CD	HP- β - CD	HP- γ - CD
<i>alle 86 Verbindungen</i>	43.0%	67.4%	61.6%	79.1%	83.7%	67.4%
davon 36 mit $R_m \geq 1.5$ an α -CD		40.7%	37.2%	43.0%	41.9%	41.9%
davon 58 mit $R_m \geq 1.5$ an β -CD	40.7%		53.5%	64.0%	62.8%	57.0%
davon 53 mit $R_m \geq 1.5$ an γ -CD	37.2%	53.5%		65.1%	57.0%	48.8%
davon 68 mit $R_m \geq 1.5$ an HP- α -CD	43.0%	64.0%	61.6%		70.9%	65.1%
davon 72 mit $R_m \geq 1.5$ an HP- β -CD	41.9%	64.0%	57.0%	70.9%		64.0%
davon 58 mit $R_m \geq 1.5$ an HP- γ -CD	41.9%	57.0%	48.8%	64.0%	64.0%	

Tabelle 9: Hohe Gesamtretardierungen an verschiedenen CSAs für Verbindungen, die an anderen CSAs ebenfalls hohe R_m -Werte zeigen (Konformität)

Der Anteil der Analyten mit hoher Gesamtretardierung, die bei Wechsel des CSAs eine Erhöhung ihrer Gesamtretardierung erfahren, ist wiederum bei HP- β -CD am höchsten (siehe Tabelle 10). Demnach ist dieser Wirt zwar bereit, mit möglichst vielen Gästen zu interagieren, jedoch findet sich in der überwiegenden Zahl der Fälle ein Wirt, der in seiner Gestalt noch besser an den Gast angepaßt ist. Dies unterstreicht die Bedeutung von HP- β -CD als „Breitband-CSA“ mit etwas niedrigerer, jedoch meist ausreichender Affinität für die meisten der eingesetzten Analyten. Somit kann die hohe Erfolgsquote R_{suc} für alle Analyten an HP- β -CD (Abbildung 12, S. 37) auf der Basis der R_m -Werte gut verstanden werden.

Analyten-Klasse	Verbesserte Gesamtretardierung an					
	α -CD	β -CD	γ -CD	HP- α - CD	HP- β - CD	HP- γ - CD
36 Analyten mit $R_m \geq 1.5$ an α -CD		26.7%	15.1%	24.4%	40.7%	34.9%
58 Analyten mit $R_m \geq 1.5$ an β -CD	12.8%		17.4%	31.4%	59.3%	27.9%
53 Analyten mit $R_m \geq 1.5$ an γ -CD	23.3%	36.0%		44.2%	51.2%	33.7%
68 Analyten mit $R_m \geq 1.5$ an HP- α -CD	18.6%	32.6%	16.3%		55.8%	38.4%
72 Analyten mit $R_m \geq 1.5$ an HP- β -CD	1.2%	2.3%	4.7%	14.0%		8.1%
58 Analyten mit $R_m \geq 1.5$ an HP- γ -CD	5.8%	27.9%	15.1%	26.7%	54.7%	

Tabelle 10: Der Anteil der Analyten mit hoher Gesamtretardierung ($R_m \geq 1.5$), die bei Wechsel des CSAs eine Erhöhung ihrer Gesamtretardierung erfahren

3.2 Kernspinresonanzspektroskopie zur Untersuchung von Enantiomeren

3.2.1 Einführung

Magnetische Kernresonanzspektroskopie (NMR) in achiralem Solvens unterscheidet nicht zwischen Enantiomeren. Die Resonanzen von enantiotopen Kernen sind isochron [30]. Zur Bestimmung der Enantiomerenzusammensetzung durch NMR-Spektroskopie benötigt man wenigstens eine der drei möglichen Methoden, wie sie in Tabelle 1 im Kapitel 1.2 beschrieben sind (CDAs, CLSRs oder CSAs).

Einen direkten Zugang zu den Ursachen der Enantiomerenerkennung in Cyclodextrinen liefert die NOE-NMR-Spektroskopie [146]. Sie erlaubt Aussagen über die Topographie der Wirt-Gast-Komplexe. Auch die Komplexbildungskonstante K_s gibt Auskunft über die intermolekularen Wechselwirkungen zwischen Wirt und Gast [146]. Nach Wenz [146] sollte die Selektivität der Wirt-Gast-Komplexierung mit steigender Stabilität der Komplexe steigen, weil die Stabilität der Komplexe umso größer sei, je genauer der Gast in den Wirt paßt.

Im Gegensatz dazu zeigen unsere Ergebnisse (Abbildung 20 in Kapitel 3.1), daß bei zu hohen Affinitäten (hier: R_m -Werten) die relative Differenz (hier R_{suc} - oder α_m -Werte) wieder abnehmen kann. Bei Verfahren mit zunehmender Signalverbreiterung, z. B. Chromatographie, Kapillarelektrophorese und ^1H -NMR-Spektroskopie in Gegenwart von paramagnetischen Zusätzen (z. B. LSRs, siehe Tabelle 1) existiert daher ein Optimum. Bei anderen Verfahren, insbesondere ^1H -NMR-Spektroskopie in Gegenwart von niedermolekularen, diamagnetischen Zusätzen geringer Viskosität (Bedingungen, die von Cyclodextrin-Lösungen häufig erfüllt werden), scheint eine große Komplexbildungskonstante K_s in aller Regel günstig zu sein. Die Bestimmung der Komplexbildungskonstanten K_s wurde bereits im Kapitel 1.5 angesprochen, detailliert wird darauf in 3.2.1.1 eingegangen.

3.2.1.1 Berechnung der Bindungskonstanten K_s

Die Bindungskonstanten K_s können aus den Differenzen der chemischen Verschiebung $\Delta\delta_0$ auf drei verschiedene Arten bestimmt werden:

1. Graphisch über den Benesi-Hildebrand-Plot [83].
2. Mit Hilfe des Non-linear fitting-Modul in der Software Sigma-Plot über die Gleichung 12 aus der Literatur [147]

$$\Delta\delta = \Delta\delta_0 \cdot \left[\frac{(c_{\text{guest}}^0 + c_{\text{host}}^0 + K_d) - \sqrt{(c_{\text{guest}}^0 + c_{\text{host}}^0 + K_d)^2 - 4 \cdot c_{\text{guest}}^0 \cdot c_{\text{host}}^0}}{2 \cdot c_{\text{guest}}^0} \right] \quad (12)$$

wobei

$$K_d = \frac{c_{\text{guest}} \cdot c_{\text{host}}}{c_{\text{complex}}}, \quad \Delta\delta = \delta_{\text{observed}} - \delta_{\text{guest}}, \quad \Delta\delta_0 = \delta_{\text{complex}} - \delta_{\text{guest}}$$

3. Mit dem Programm EXACTFIT von Wenz [148], welches die obengenannte Gleichung 12 aus der Literatur verwendet

3.2.2 Ergebnisse und Diskussion

In Zusammenarbeit mit Zhu Xiaofeng aus der Arbeitsgruppe von Prof. Lin Bingcheng am Dalian Institute of Chemical Physics, China, wurden bisher über 180 ^1H -NMR-Messungen durchgeführt, um die Wechselwirkung von neun chiralen Arzneimitteln (Gastmolekülen) mit sechs verschiedenen Cyclodextrinen (Wirten) zu untersuchen (siehe Tabelle 20 im Experimentellen Teil).

Bestimmt wurden die chemischen Verschiebungen der einzelnen NMR-Signale der Gastmoleküle bei Zugabe der Wirtkomponente. Aus diesen Titrationen konnten die Bindungskonstanten berechnet werden, wobei verschiedene Substruktur-Einheiten der Analyten als Sonden etwas differie-

rende Ergebnisse für K_s liefern. An sich wäre zu erwarten, daß die unterschiedlichen Differenzen in den chemischen Verschiebungen ($\Delta\delta$ -Werte) der auswertbaren Protonen des Analyten, die ohnehin unterschiedliche chemische Verschiebungen (δ -Werte) aufweisen, alle dieselbe Bindungskonstante K_s liefern. Tatsächlich bezieht sich K_s auf das ganze Molekül, und nicht etwa nur auf bestimmte Einheiten davon. Eine mögliche Erklärung für die variierenden K_s -Werte je nach betrachtetem Proton beruht auf dem Auftreten von energetisch verschiedenen Konformeren im Wirt-Gast-Komplex, die miteinander in einem dynamischen Gleichgewicht stehen. Wenn nun die einzelnen Protonen auf bestimmte Anordnungen unterschiedlich sensitiv ansprechen, so könnten durchaus differierende K_s -Werte vorgetäuscht werden.

Exemplarisch seien nun die Messungen im System α -Cyclodextrin/Oxomemazin (das in der CE optimale α_m -Werte gezeigt hatte), besprochen. Das ^1H -NMR-Spektrum von α -CD (siehe Abbildung 22) zeigt im Bereich von 3.5811 – 4.0252 ppm die Signale der sekundären und tertiären CH-Einheiten. Aufgrund der komplexen Kopplungsmuster und Überlappungen wurde keine weitergehende Interpretation vorgenommen. Das Signal von 5.0683 – 5.0769 ppm läßt sich HDO und den C-OH-Gruppen zuordnen. Von Vorteil ist, daß durch die Signale dieses Cyclodextrins nur ein schmaler Ausschnitt des Spektrums betroffen ist, während die hydroxypropylierten CDs sehr viel mehr Signale im aliphatischen Bereich zeigen, was zu Überlappungen mit den Signalen der Arzneimittel führen kann.

Ein Problem liegt im dem Auftreten verschiedener Protonierungszustände der basischen Analyten bei $\text{pH} = 2.5$. Abbildung 23 zeigt vier mögliche Spezies des zwei basische Zentren enthaltenden Arzneimittels Oxomemazin. Die unprotonierte Base (a) dürfte beim vorliegenden sauren Milieu nur in zu nachlässigenden Anteilen vorkommen. Von den beiden monoprotonierten Spezies sollte die am Trialkylamin-Stickstoff protonierte Form (b) gegenüber der am weniger basischen Diarylmonoalkylamin-Stickstoff protonierten Form (c) überwiegen. Darüberhinaus ist auch mit der diprotonierten Spezies (d) zu rechnen. Aus Vereinfachungsgründen wird in den nachfolgenden Spektren die unprotonierte Form der Base gezeichnet.

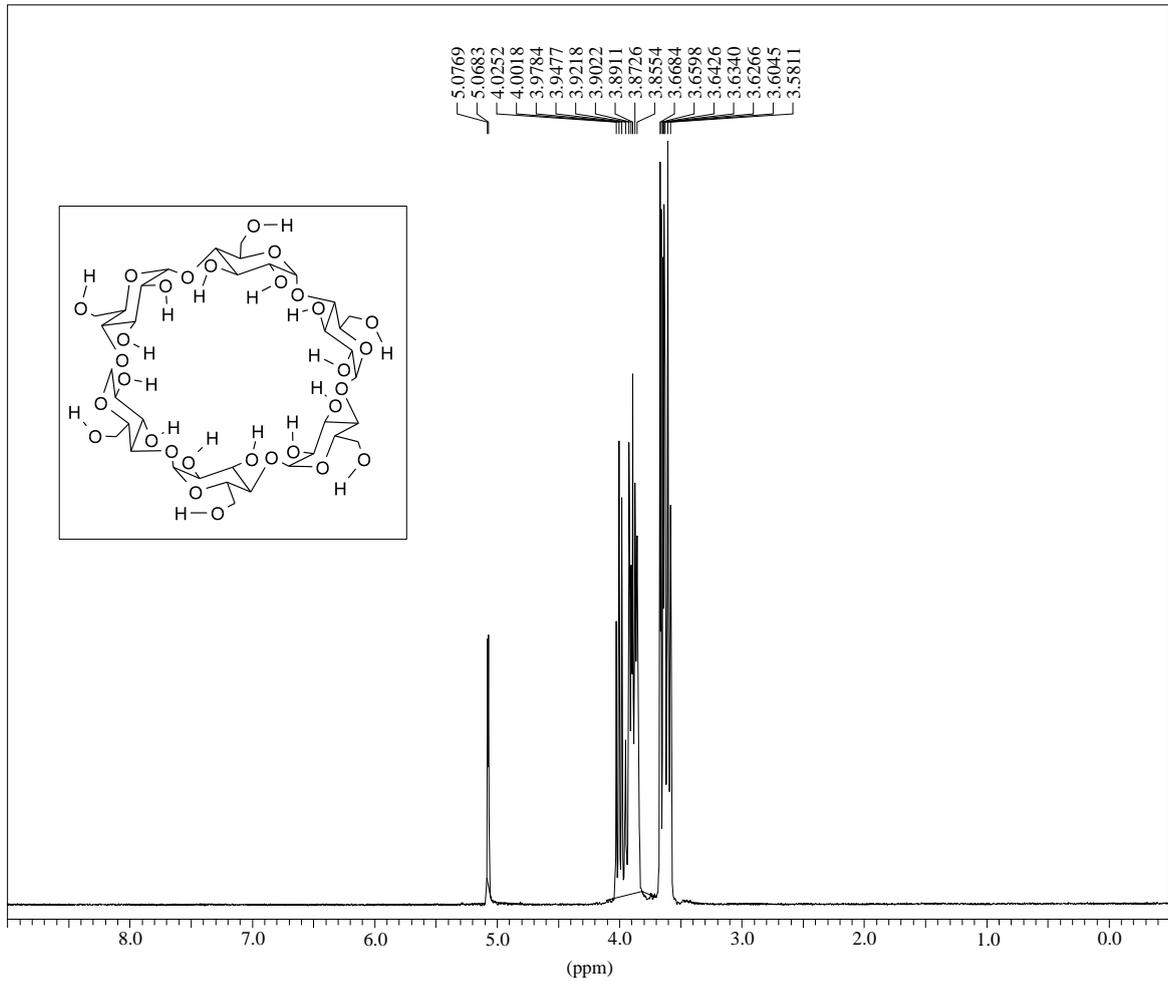


Abbildung 22: ^1H -NMR-Spektrum von α -Cyclodextrin in D_2O

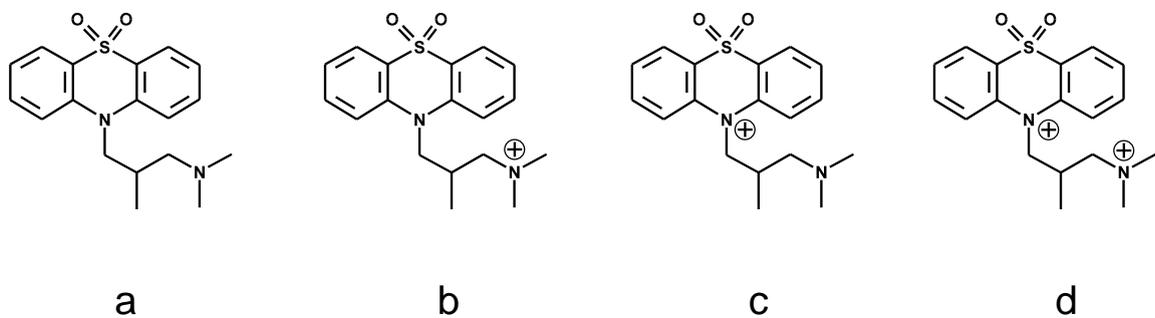


Abbildung 23: Vier mögliche Spezies des zwei basische Zentren enthaltenden Arzneimittels Oxomemazin

Abbildung 24a zeigt ein teilweise zugeordnetes ^1H -NMR-Spektrum von Oxomemazin, Abbildung 24b den Ausschnitt von 7.2 – 8.2 ppm. Die diastereotopen Methylgruppen 9 und 9' können durch Umklappen des pyramidalen Stickstoffatoms interkonvertieren, jedoch sind sie im Spektrum bei Raumtemperatur um 0.2116 ppm getrennt. Eine weitergehende Zuordnung von 9 und 9' scheint momentan schwierig.

Die heterocyclische Phenothiazin-Einheit weist als Symmetrieelemente zwei Spiegelebenen auf, jedoch wird in der Bootkonformation die Spiegelebene in der Ringebene aufgehoben, sofern die beiden Bootkonformationen nicht rasch ineinander überführt werden. Die Spiegelebene, die senkrecht

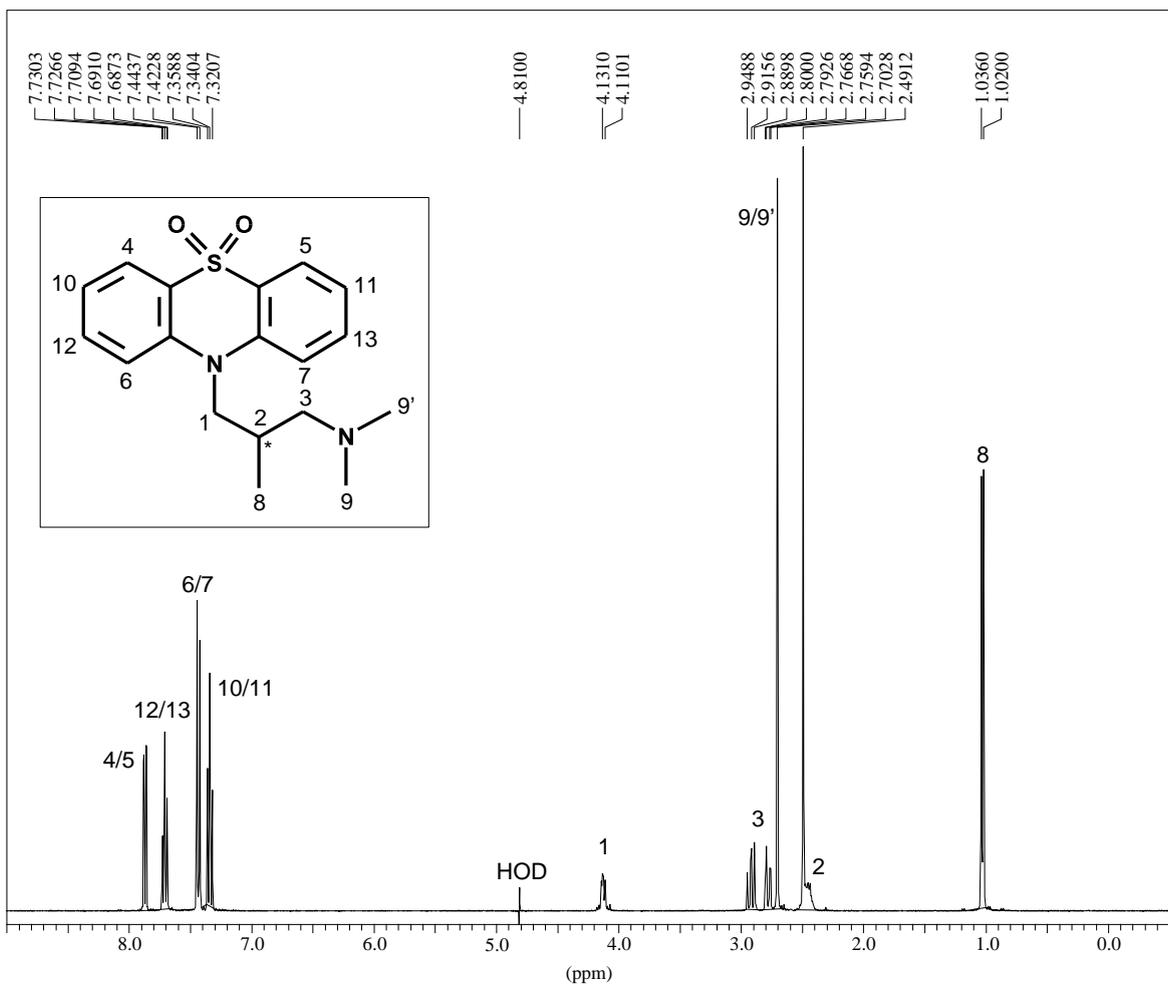


Abbildung 24a: ^1H -NMR-Spektrum von Oxomemazin (15mM), in Puffer (pH 2.5), vorläufige Nummerierung

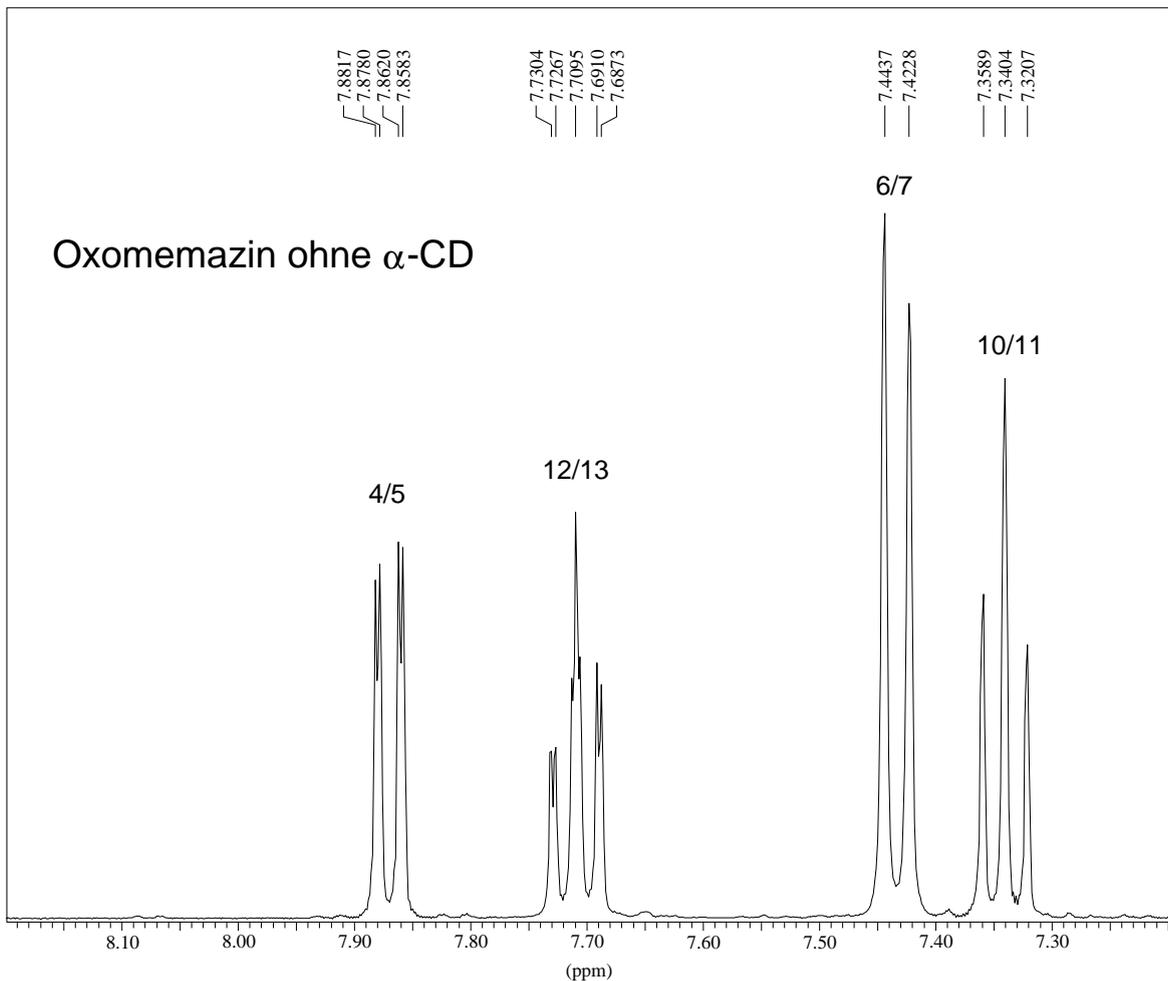


Abbildung 24b: ^1H -NMR-Spektrum von Oxomemazin (15mM), ohne Zugabe von α -CD, im Bereich von 7.2 bis 8.2 ppm

zur „Molekülebene“ durch das N- und S-Atom geht, sollte eine Entartung der beiden Arylgruppen verursachen, die aber durch Komplexierung mit einem Cyclodextrin teilweise aufgehoben wird.

Deutlich erkennt man die Signale der Wasserstoffatome 4, 10, 12 und 6, mit der die ortho-Phenylengruppe in die Cavity eintauchen kann. Hier werden relativ große chemische Verschiebungen $\Delta\delta$ beobachtet. Bei höheren Cyclodextrinkonzentrationen kann sich ein weiteres CD an Oxomemazin anlagern. Es bildet sich dann ein 2:1-Komplex. H-4 und H-5 zeigen aufgrund

der Sulfongruppe die stärkste Tieffeldverschiebung und erscheinen bei 7.87 ppm mit einer ortho-Kopplungskonstanten zu H-10 bzw. H-11 von jeweils 7.88 Hz. Die meta-Feinaufspaltung zu H-12 bzw. H-13 beträgt 1.48 Hz.

H-12 erscheint bei 7.7095 ppm und zeigt eine meta-Kopplung mit H-4 (1.48 Hz) und je eine ortho-Kopplung mit H-10 und H-6 (jeweils 7.88 Hz); man erhält ein Pseudotriplett. H-6 liegt bei 7.4333 ppm und liefert eine ortho-Kopplung mit H-12, während die meta-Kopplung mit H-10 bei dieser Auflösung nicht mehr zu erkennen ist; die Signalverbreiterung beruht möglicherweise auf der Quadrupolkopplung mit dem N-Atom des Heterocyclus.

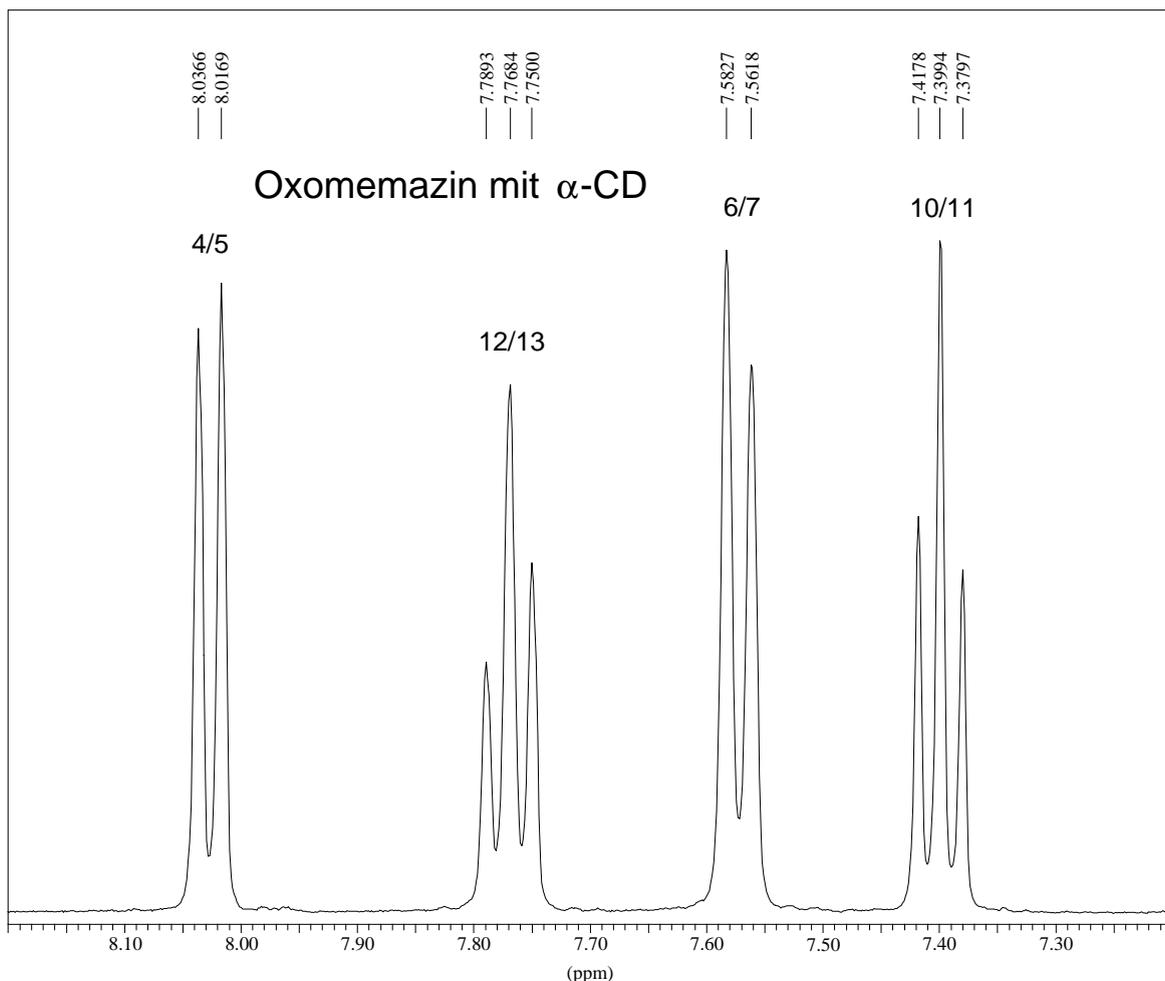


Abbildung 24c: ^1H -NMR-Spektrum von Oxomemazin (15mM), nach Zugabe von α -CD (45mM), in Puffer (pH 2.5)

Aus Zeit- und Platzgründen wird nachfolgend nur auf den aromatischen Teil des Spektrums eingegangen. Dieser zeigt bei Zugabe von Cyclodextrin eine Verschiebung der Signale (Abbildung 24c). Der aliphatische Bereich, der eine interessante Enantiomerenaufspaltung aufweist, wird hier nicht besprochen.

1. Bestimmung von K_s anhand der Protonen Nr. 12 und 13

Die in Tabelle 11 aufgelisteten chemischen Verschiebungen δ bzw. $\Delta\delta$ wurden für die Protonen 12 bzw. 13 beobachtet:

Messung Nr.	Konz. α -CD [mM]	δ [ppm]	$\Delta\delta$ [ppm]
1	0	7.7091	0
2	5	7.7168	0.0077
3	7.5	7.7232	0.0141
4	15	7.7316	0.0225
5	30	7.7545	0.0454
6	45	7.7693	0.0602

Tabelle 11: Oxomemazin (15 mM), α -CD, geschätzter Fehler ± 0.1 mM und ± 0.0002 ppm

a.) Ergebnis der Benesi-Hildebrand-Auftragung:

$$K_s = 1 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}; \Delta\delta_{\text{max}} = 0.8858 \text{ ppm}$$

b.) Auswertung nach EXACTFIT:

$$K_s = 8 \pm 3 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}; -\Delta G^\circ = 5.39 \pm 1.06 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$

$$\Delta\delta_{\text{max}} = 0.2288 \text{ ppm}; \delta_{\text{max}} = 7.9379 \text{ ppm}; \text{mittlere Abw.} = 0.0010 \text{ ppm}$$

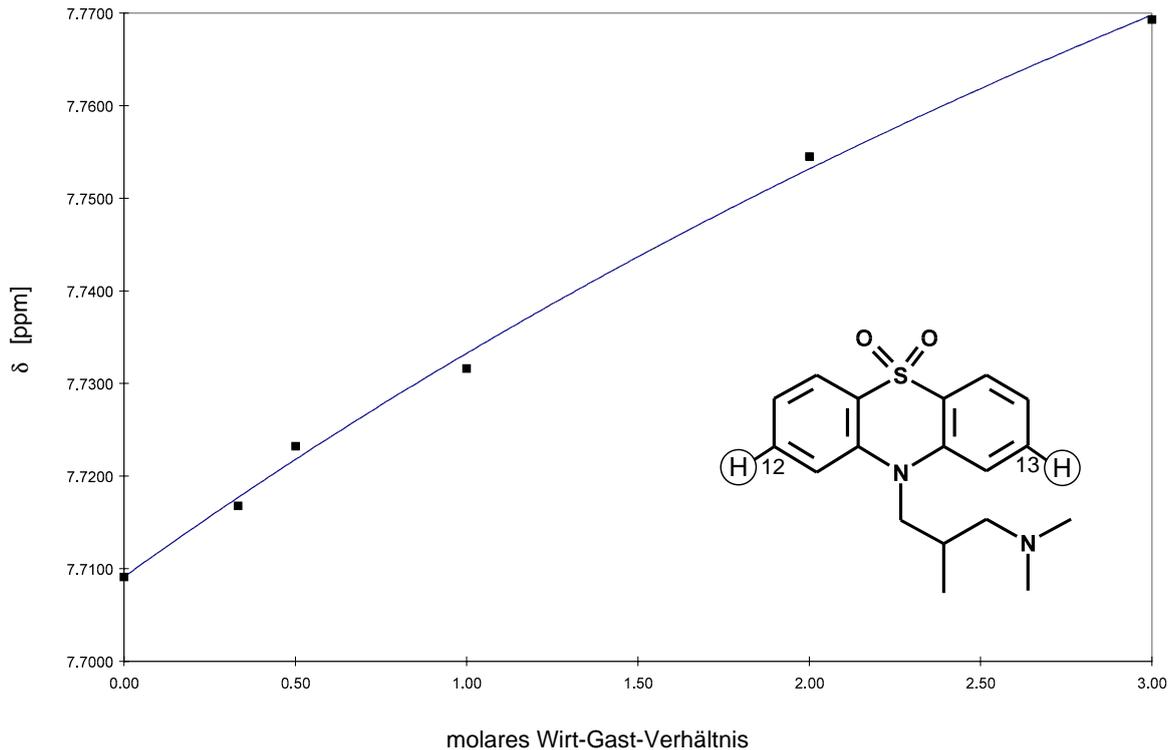


Abbildung 25: ^1H -NMR-spektroskopische Verschiebung δ [ppm] der Protonen Nr. 12 und 13 von Oxomemazin (15mM) unter Zugabe von α -Cyclodextrin, aufgetragen gegen das relative molare Wirt/Gast-Verhältnis

2. Bestimmung von K_s anhand der Protonen Nr. 10 und 11

Die in Tabelle 12 aufgelisteten chemischen Verschiebungen δ bzw. $\Delta\delta$ wurden für die Protonen 10 bzw. 11 beobachtet:

Messung Nr.	Konz. α -CD [mM]	δ [ppm]	$\Delta\delta$ [ppm]
1	0	7.3400	0
2	5	7.3474	0.0074
3	7.5	7.3547	0.0147
4	15	7.3621	0.0221
5	30	7.3843	0.0443
6	45	7.4057	0.0657

Tabelle 12: Oxomemazin (15 mM), α -CD, geschätzter Fehler ± 0.1 mM und ± 0.0002 ppm

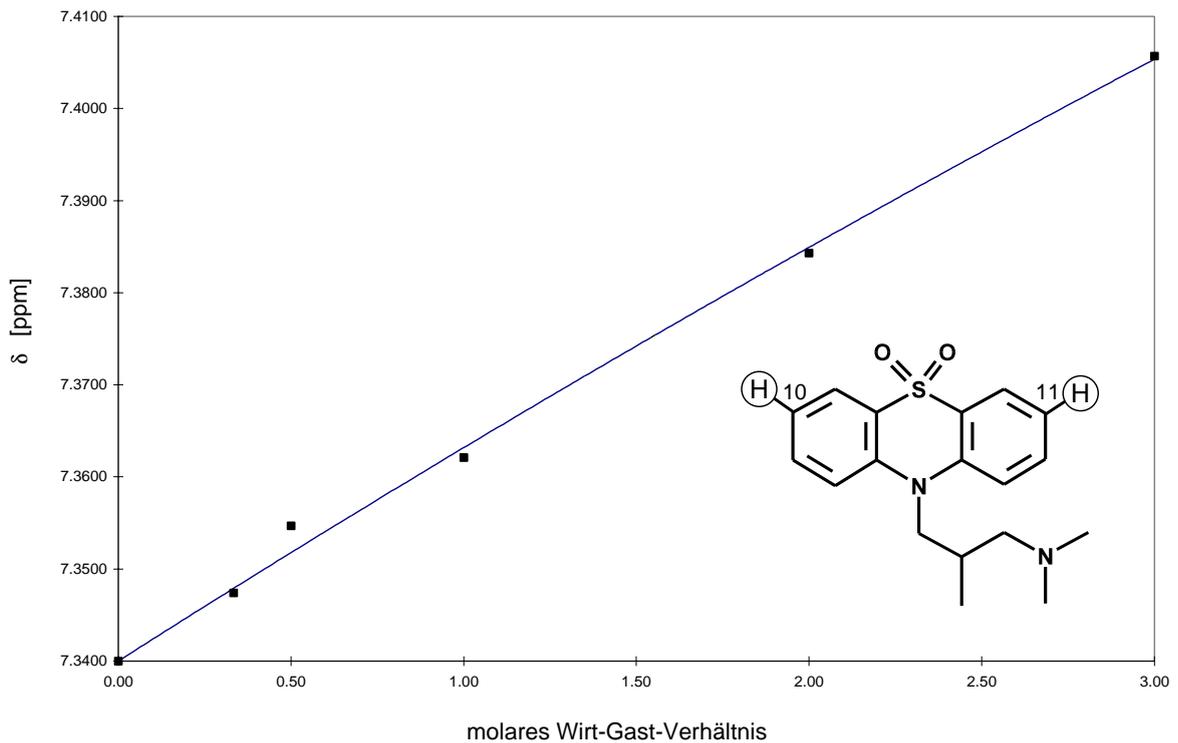


Abbildung 26: ^1H -NMR-spektroskopische Verschiebung δ [ppm] der Protonen Nr. 10 und 11 von Oxomemazin (15mM) unter Zugabe von α -Cyclodextrin, aufgetragen gegen das relative molare Wirt/Gast-Verhältnis

a.) Ergebnis der Benesi-Hildebrand-Auftragung:

$$K_s = -1 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}; \Delta\delta_{\text{max}} = -2.3370 \text{ ppm}$$

b.) Auswertung nach EXACTFIT:

$$K_s = 2 \pm 2 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}; -\Delta G^\circ = 2.11 \pm 2.83 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$

$$\Delta\delta_{\text{max}} = 0.7063 \text{ ppm}; \delta_{\text{max}} = 8.0463 \text{ ppm}; \text{mittlere Abw.} = 0.0009 \text{ ppm}$$

3. Bestimmung von K_s anhand der Protonen Nr. 4 und 5

Die in Tabelle 13 aufgelisteten chemischen Verschiebungen δ bzw. $\Delta\delta$ wurden für die Protonen 4 bzw. 5 beobachtet:

Messung Nr.	Konz. α -CD [mM]	δ [ppm]	$\Delta\delta$ [ppm]
1	0	7.8700	0
2	5	7.8854	0.0154
3	7.5	7.9013	0.0313
4	15	7.9260	0.0560
5	30	7.9850	0.1150
6	45	8.0268	0.1568

Tabelle 13: Oxomemazin (15 mM), α -CD, geschätzter Fehler ± 0.1 mM und ± 0.0002 ppm

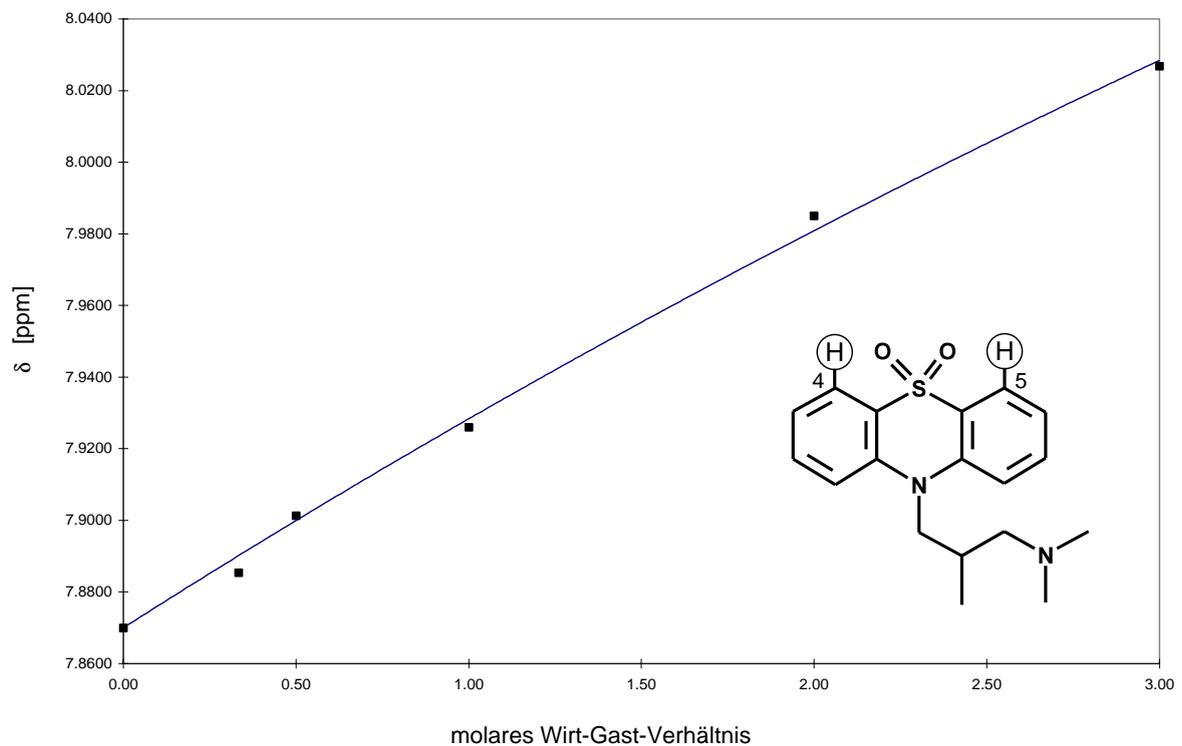


Abbildung 27: ^1H -NMR-spektroskopische Verschiebung δ [ppm] der Protonen Nr. 4 und 5 von Oxomemazin (15mM) unter Zugabe von α -Cyclodextrin, aufgetragen gegen das relative molare Wirt/Gast-Verhältnis

a.) Ergebnis der Benesi-Hildebrand-Auftragung:

$$K_s = -9 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}; \Delta\delta_{\text{max}} = -0.3598 \text{ ppm}$$

b.) Auswertung nach EXACTFIT:

$$K_s = 4 \pm 2 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}; -\Delta G^\circ = 3.50 \pm 1.65 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$

$$\Delta\delta_{\text{max}} = 1.0607 \text{ ppm}; \delta_{\text{max}} = 8.9307 \text{ ppm}; \text{mittlere Abw.} = 0.0024 \text{ ppm}$$

4. Bestimmung von K_s anhand der Protonen Nr. 6 und 7

Die in Tabelle 14 aufgelisteten chemischen Verschiebungen δ bzw. $\Delta\delta$ wurden für die Protonen 6 bzw. 7 beobachtet:

Messung Nr.	Konz. α -CD [mM]	δ [ppm]	$\Delta\delta$ [ppm]
1	0	7.4333	0
2	5	7.4462	0.0129
3	7.5	7.4610	0.0277
4	15	7.4813	0.0480
5	30	7.5366	0.1033
6	45	7.5723	0.1390

Tabelle 14: Oxomemazin (15 mM), α -CD, geschätzter Fehler ± 0.1 mM und ± 0.0002 ppm

a.) Ergebnis der Benesi-Hildebrand-Auftragung:

$$K_s = -11 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}; \Delta\delta_{\text{max}} = -0.2484 \text{ ppm}$$

b.) Auswertung nach EXACTFIT:

$$K_s = 3 \pm 3 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}; -\Delta G^\circ = 3.16 \pm 2.38 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$

$$\Delta\delta_{\text{max}} = 1.0577 \text{ ppm}; \delta_{\text{max}} = 8.4910 \text{ ppm}; \text{mittlere Abw.} = 0.0028 \text{ ppm}$$

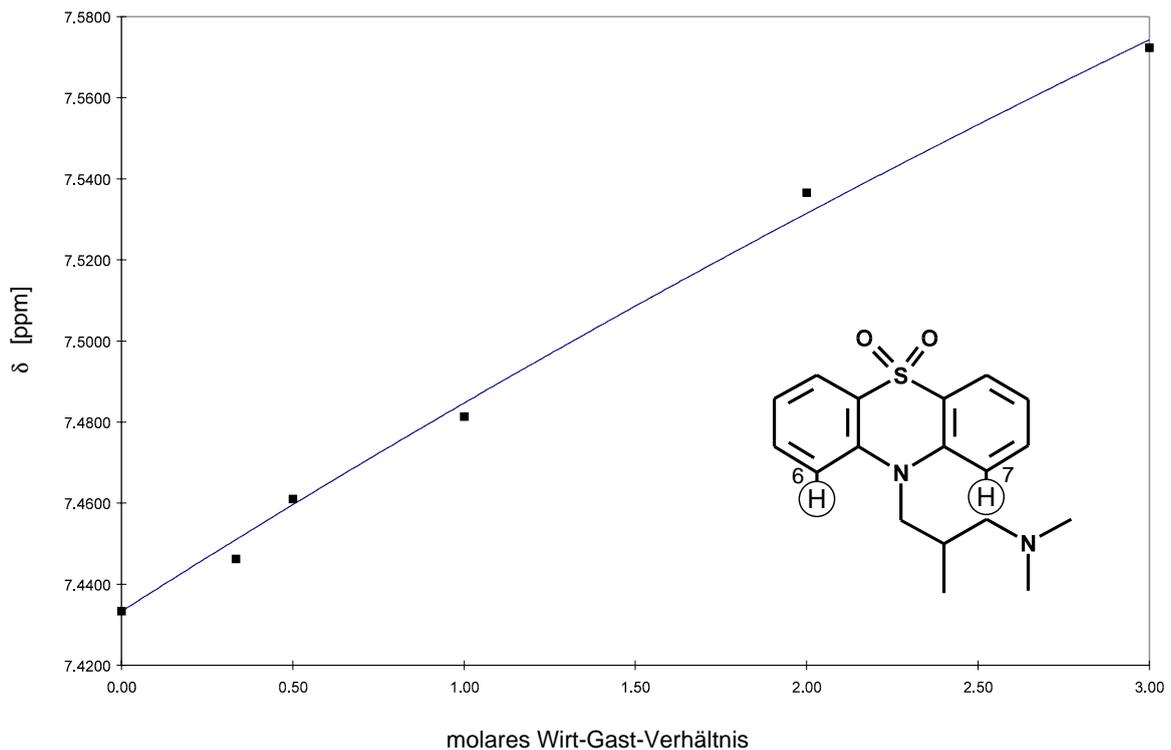


Abbildung 28: ^1H -NMR-spektroskopische Verschiebung δ [ppm] der Protonen Nr. 6 und 7 von Oxomemazin (15mM) unter Zugabe von α -Cyclodextrin, aufgetragen gegen das relative molare Wirt/Gast-Verhältnis

3.2.2.1 Selbstassoziation der Arzneimittel, Konzentrationseffekte

Neben der Assoziation von Wirt und Gast ist bei amphiphilen Gästen im wässrigen Medium die Assoziation Gast-Gast zu betrachten. Diese sollte sich bei unterschiedlicher Arzneimittelkonzentration sowohl durch unterschiedliche chemische Verschiebungen der Protonen des Gastes als auch in unterschiedlichen Bindungskonstanten zu erkennen geben. Bisher waren solche Unterschiede bei verschiedenen Arzneimittelkonzentrationen in

keinem der untersuchten Fälle zu beobachten. Jedoch ist dies noch nicht im Detail bestimmt worden, es wurden lediglich zwei Konzentrationsstufen für jedes Arzneimittel eingesetzt (5mM bzw. 15mM).

3.2.2.2 „Side-on binding“ von ortho-substituierten Phenylringen

Bei allen bisher ausgewerteten NMR-Spektren werden nach Zugabe der Cyclodextrine die Signale der Arylprotonen mehr oder weniger stark verschoben, während die Signale der aliphatischen Protonen nicht meßbar auf die Zugabe reagieren. Demnach lagern sich amphiphile Gäste bevorzugt mit der hydrophoben Arylregion in die Cavity der Cyclodextrin-Wirte ein. Bei polar substituierten Arylverbindungen (meist phenolische Mono- oder Dihydroxyverbindungen) sollte dieser hydrophobe Effekt fehlen, bei hochsubstituierten Arylverbindungen wird die Einlagerung sterisch behindert. Demgegenüber sollte nichts gegen ein mehr oder weniger tiefes Eindringen von unsubstituierten Arylregionen in die Cavity sprechen.

Tatsächlich zeigt auch die statistische Auswertung der CE-Daten einen deutlich sichtbaren Einfluß der Strukturmerkmale 3H und 4H sowohl auf den Trennfaktor (gemessen an der Erfolgsquote R_{suc} , Abbildung 29), als auch auf die Retardierung (gemessen am Migrationsretardierungsfaktor R_m , Abbildung 30). Von den 86 Analyten der Studie tragen 50 das Element 3H und 43 das Element 4H. Die relativen Anteile (58% bzw. 50%) an der Gesamtmenge der Analyten haben jedoch keinen Einfluß auf die in Abbildung 29 und 30 gezeigten Werte, da diese jeweils den Anteil der erfolgreichen (Abbildung 29) bzw. stark retardierten (Abbildung 30) Analyten in den Klassen „Element vorhanden“ und „Element nicht vorhanden“ wiedergeben.

Zunächst soll die Wahrscheinlichkeit der Enantiomerentrennung ausgewertet werden. Insbesondere bei α -CD haben die Motive 3H und auch 4H einen sehr großen Einfluß auf die Erfolgsquote R_{suc} der Enantiomerentrennung (0.14 zu 0 für 3H bzw. 0.13 zu 0.02 für 4H). Bei β - und γ -CD wird die Erfolgsquote ebenfalls noch deutlich beeinflusst, aber nicht mehr so

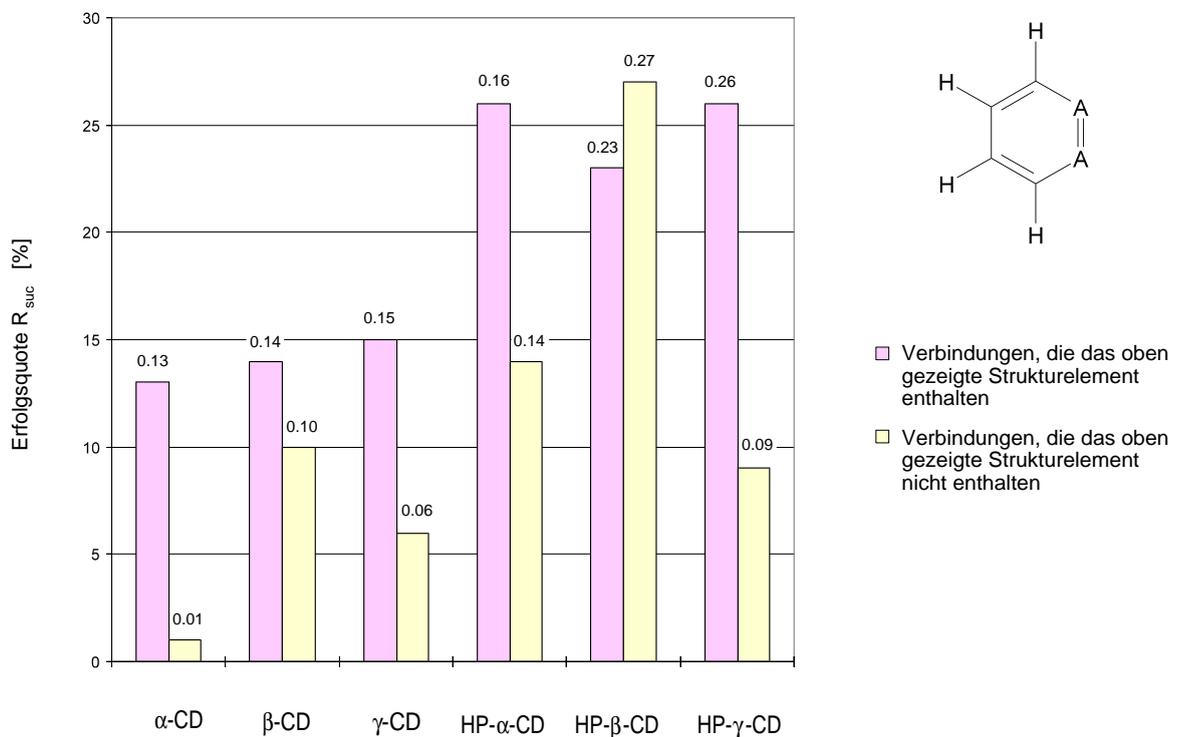
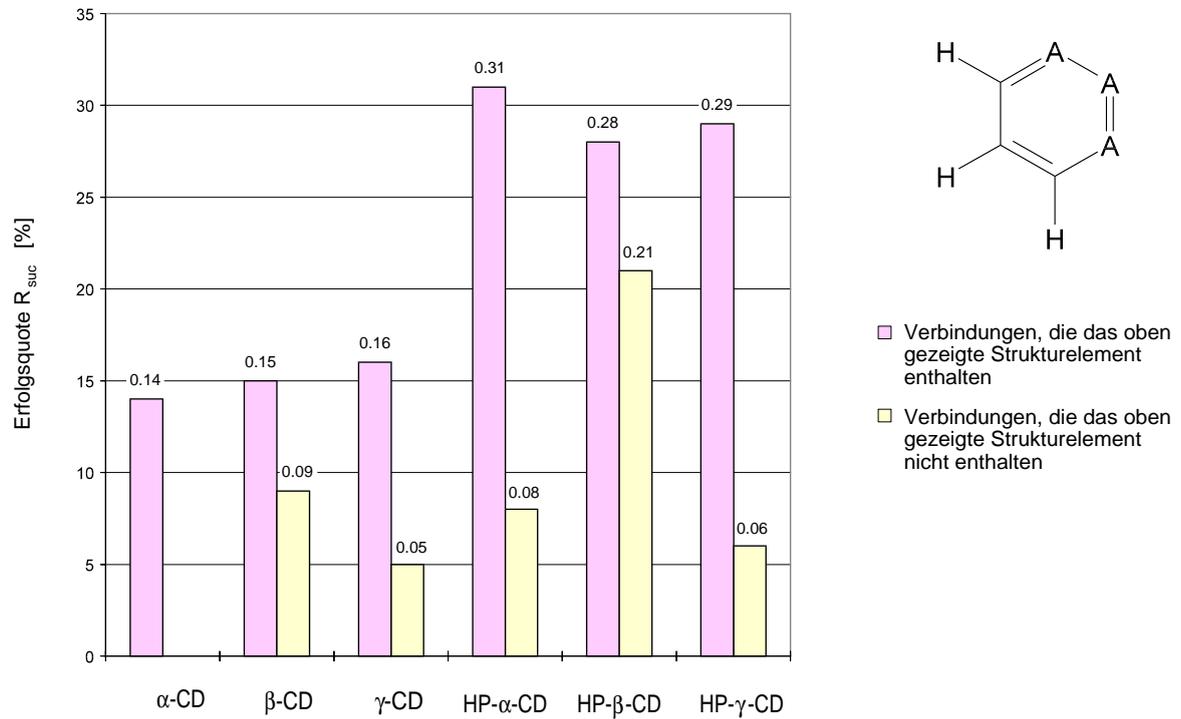


Abbildung 29: Abhängigkeit der Erfolgsquote R_{succ} vom Vorhandensein des Strukturmerkmals 3H bzw. 4H (Arylgruppen mit 3 bzw. 4 benachbarten C-H-Einheiten im Ring)

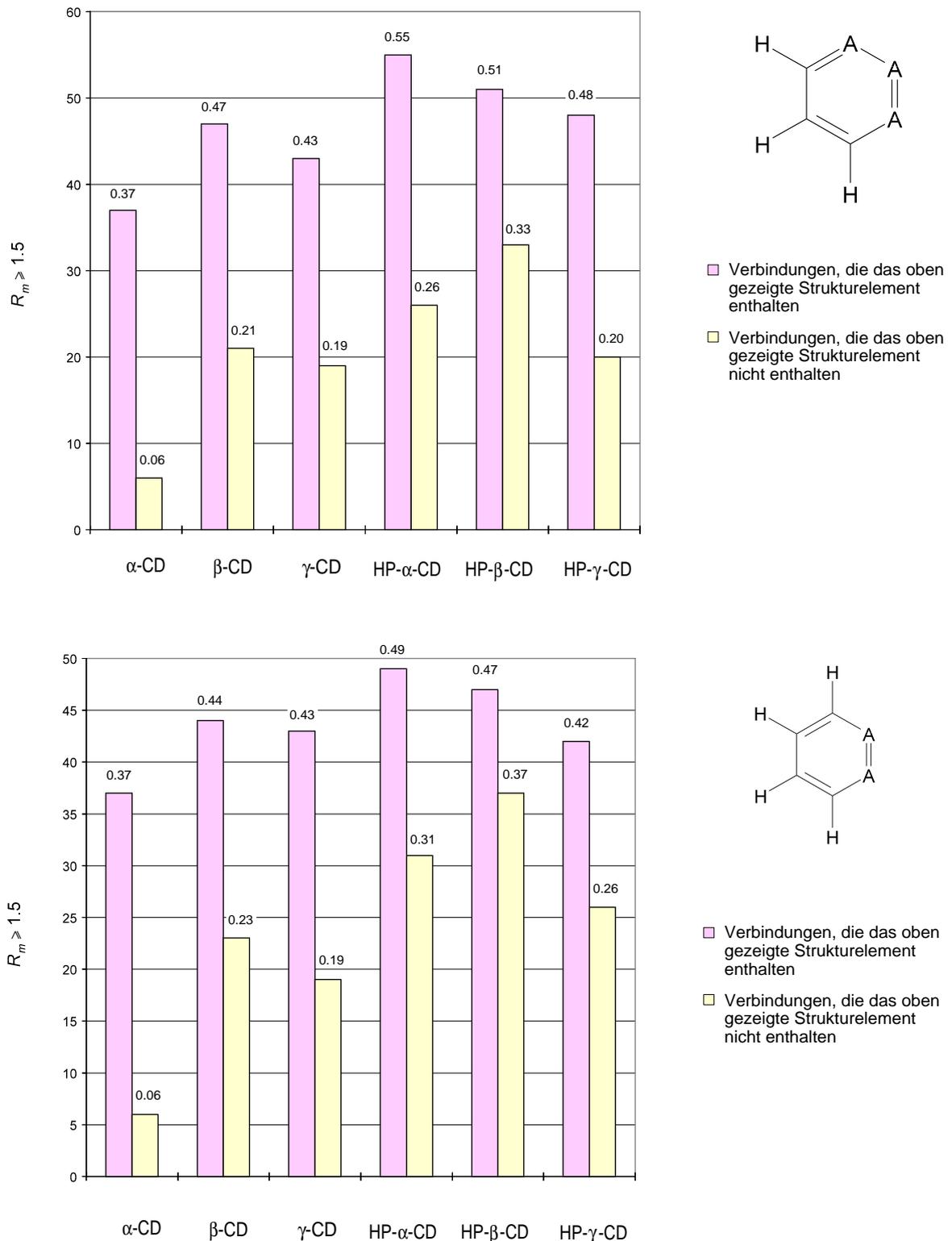


Abbildung 30: Abhängigkeit der hohen Gesamtretardierung ($R_m \geq 1.5$) vom Vorhandensein des Strukturmerkmals 3H bzw. 4H (Arylgruppen mit 3 bzw. 4 benachbarten C-H-Einheiten im Ring)

signifikant wie bei α -CD. Die Berücksichtigung von Heterocyclen als Strukturmerkmal wurde hier aus Zeitgründen ausgespart, obwohl die Effekte dort vermutlich noch deutlicher ausfallen würden.

Betrachten wir nun das Kriterium der hohen Gesamtretardierung ($R_m \geq 1.5$). Der obere Teil der Abbildung 30 zeigt ein Histogramm für das Strukturelement 3H. Erneut wird am α -CD der größte Unterschied zwischen „Strukturelement vorhanden“ (37% erfüllen das Kriterium $R_m \geq 1.5$) und „Strukturelement nicht vorhanden“ (6% erfüllen das Kriterium) beobachtet. Aber auch bei den anderen 5 CSAs überwiegen die positiven Beispiele bei weitem. Mit Ausnahme des „Breitband-CSA“ HP- β -CD erhöht sich bei allen CSAs die Chance für eine hohe Gesamtretardierung ($R_m \geq 1.5$) bei Vorhandensein des Strukturelements 3H im Analyten um mehr als das Doppelte. Die R_m -Werte zeigen insgesamt ein etwas einheitlicheres Bild als die R_{suc} -Werte, es ist allerdings zu bedenken, daß die Schwelle $R_m \geq 1.5$ willkürlich angesetzt wurde. Der Versuch, bei anderen Schwellenwerten noch signifikantere Unterschiede aufzufinden, wurde bisher noch nicht unternommen. Das Strukturelement 4H zeigt im Vergleich zu 3H etwas geringere Unterschiede; bemerkenswert ist aber das Überwiegen der positiven Beispiele bei HP- β -CD ($R_m \geq 1.5$, siehe Abbildung 30), im Gegensatz zu R_{suc} (siehe Abbildung 29).

Wie bereits in Abbildung 21 und Tabelle 8 in Kapitel 3.1.2.3 dargestellt wurde, zeigt α -CD die geringsten Anteile hoher Gesamtretardierungen. Andererseits offenbart eine detaillierte Betrachtung, daß bestimmte Analyten, die von α -CD gut erkannt werden, mit β -CD und γ -CD geringere R_m -Werte ergeben, siehe Tabelle 15 für das Beispiel Oxomemazin. Zwar füllt dieser Gast die Cavity von α -CD nicht ganz aus, da er nicht so tief eintaucht, jedoch paßt er in β -CD und insbesondere γ -CD noch schlechter, er „schlackert“ aufgrund der deutlich größeren Cavityabmessungen, wodurch das dort eingelagerte Wasser weniger effektiv verdrängt wird.

Der Trennwert α_m nimmt ebenfalls ab, u. a. weil der laterale Abstand der polaren Gruppen am Cyclodextrin von α -CD über β -CD zum γ -CD hin stetig zunimmt.

Cyclodextrin	α -CD	β -CD	γ -CD
Migrationstrennfaktor α_m	1.063	1.019	1.000
Gesamtretardierung R_m	2.13	2.08	1.58

Tabelle 15: Enantiomerentrennung und Gesamtretardierung von Oxomemazin

Aus den geometrischen Verhältnissen von Wirt und Gast (Abbildung 31) ergibt sich die unterschiedliche Eintauchtiefe des Strukturelements 4H in die Cavity von α - im Vergleich zu β - und γ -Cyclodextrin, wobei im Fall von γ -CD auch eine laterale Bewegung („Schlackern“) möglich ist (siehe Abbildung 32)

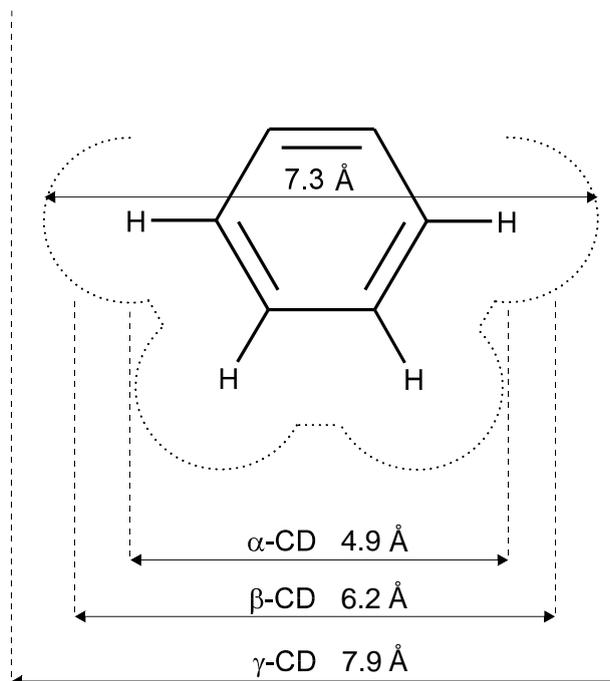


Abbildung 31: Vergleich der Benzolgeometrie mit den Cavitydurchmessern von α -, β - und γ -Cyclodextrin [59]

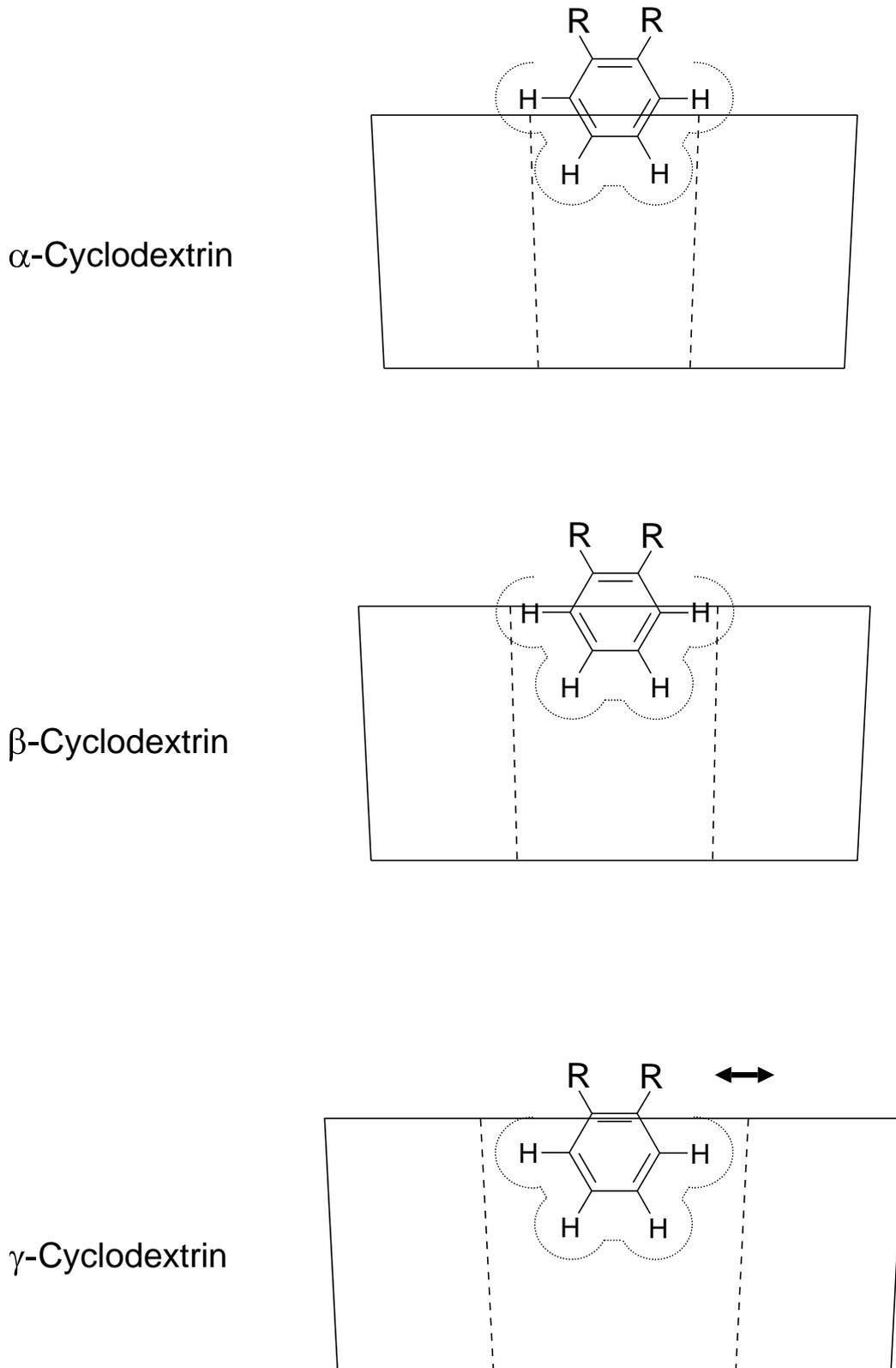


Abbildung 32: Unterschiedliche Eintauchtiefe des Strukturelements 4H in die Cavity von α -, β - und γ -Cyclodextrin; laterale Bewegung („Schlackern“) bei γ -Cyclodextrin

Wir bezeichnen diesen Bindungsmodus als „Side-on“-Komplex, wobei auch ausgedehnte polycyclische Systeme effektiv an einer Seite (drei bis vier C-Atome umfassend) von α -Cyclodextrin komplexiert werden können (siehe Abbildung 33).

Für Oxomemazin bedeutet dies, daß immer nur einer der zwei Phenylringe der tricyclischen Seitenkette gleichzeitig mit der Kavität des jeweiligen Cyclodextrins wechselwirken sollte (im Gegensatz zur ursprünglichen Annahme, das ganze tricyclische System würde wechselwirken).

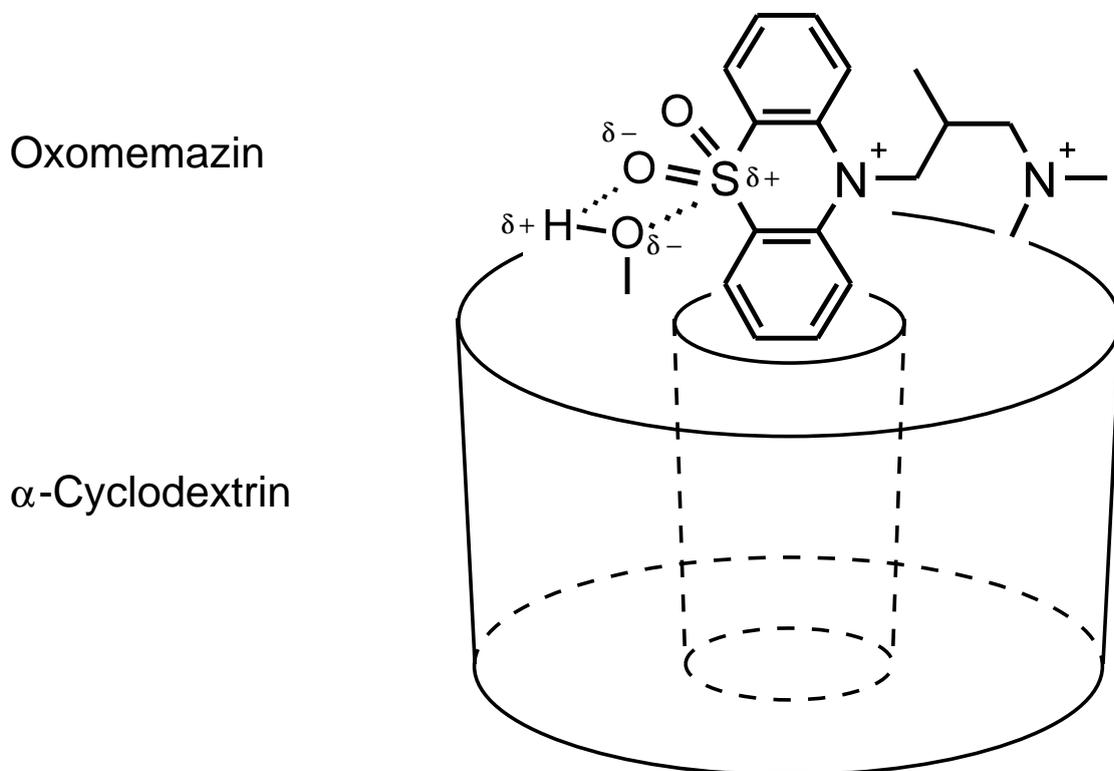


Abbildung 33: Vorgeschlagenes Modell für den Wirt-Gast-Komplex aus Oxomemazin und α -Cyclodextrin

Eine entscheidende Rolle bei der Erkennung der Enantiomeren in Oxomemazin scheint die Sulfonbrücke zu spielen. Vermutlich geht sie eine Wechselwirkung mit den Hydroxylgruppen des sekundären Randes ein, wobei sowohl Wasserstoffbrücken als auch Dipol-Dipol-Wechselwirkungen eine Rolle spielen. Alimemazin, welches eine Thioether- anstelle der Sulfon-

brücke besitzt (Abbildung 34), wird interessanterweise an keinem der nativen CDs getrennt, obwohl die Gesamtwechselwirkungen R_m sogar noch größer sind als bei Oxomemazin (Tabelle 16).

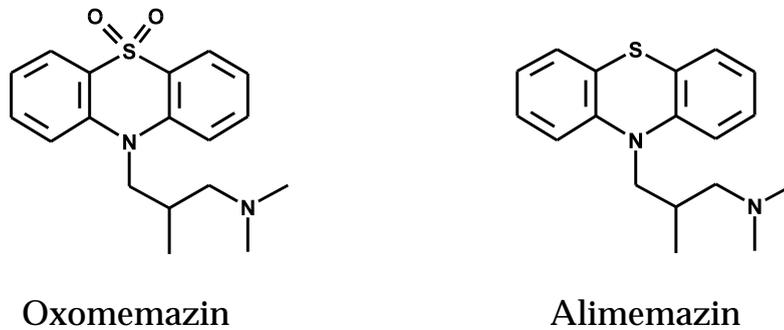


Abbildung 34: Molekülstrukturen von Oxomemazin und Alimemazin

Cyclodextrin	α -CD	β -CD	γ -CD
Migrationstrennfaktor α_m	1.000	1.000	1.000
Gesamtretardierung R_m	2.73	2.58	2.05

Tabelle 16: Enantiomerentrennung und Gesamtretardierung von Alimemazin

Diese Synergie der beiden polaren Gruppen von Oxomemazin in der Wechselwirkung mit den nativen Cyclodextrinen kann bei Alimemazin nicht stattfinden, denn die Sulfidbrücke wirkt eher lipophil und trägt daher nicht zur Diskriminierung der Enantiomeren bei.

Bei Trimipramin wird überraschenderweise mit γ -CD eine Enantiomerentrennung beobachtet, obwohl auch hier der R_m -Wert in der Reihe α -CD > β -CD > γ -CD abnimmt (vgl. Tabelle 17). Möglicherweise kommt hier der äußere Stickstoff der aliphatischen Seitenkette bei einem der beiden Enantiomeren auf unvorhergesehene Weise in eine günstige Orientierung zur einer Hydroxylgruppe am oberen Rand des Cyclodextrins (siehe Abbildung 35).

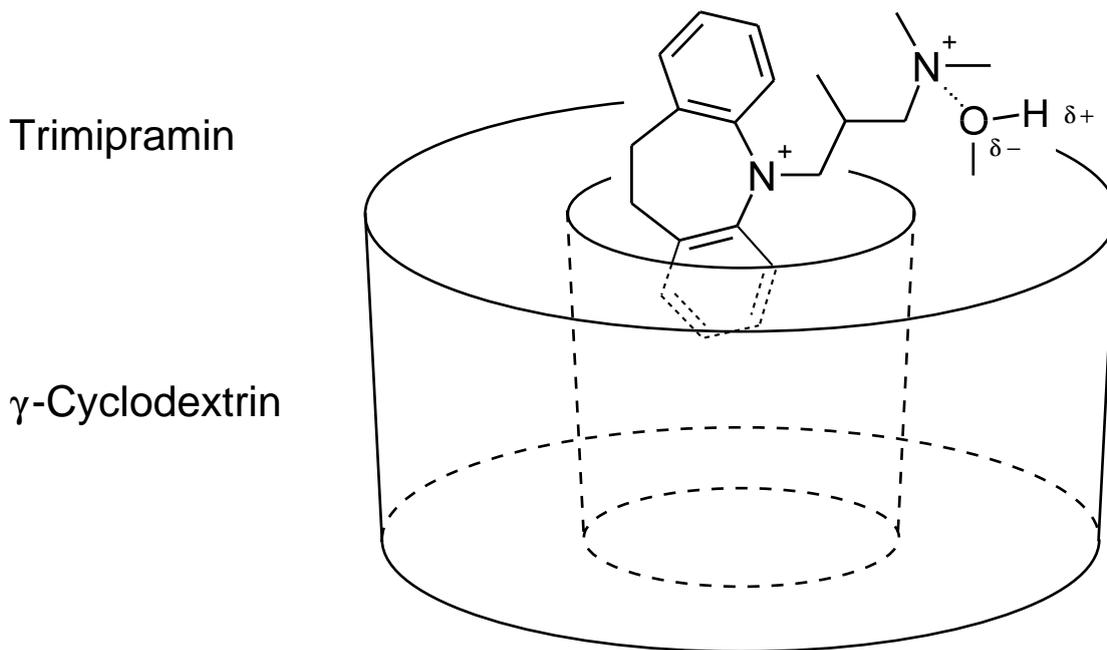


Abbildung 35: Vorgeschlagenes Modell für die Wechselwirkung zwischen Trimipramin und γ -Cyclodextrin

Cyclodextrin	α -CD	β -CD	γ -CD
Migrationstrennfaktor α_m	1.000	1.000	1.037
Gesamtretardierung R_m	2.76	2.49	2.04

Tabelle 17: Enantiomerentrennung und Gesamtretardierung von Trimipramin

Zusammenfassend bleibt festzustellen, daß sich die Stärke der Wechselwirkung der einzelnen Arzneimittel mit den eingesetzten Cyclodextrinen relativ gut mit den strukturellen Gegebenheiten verstehen und vorhersagen läßt. Die oft ziemlich geringe Differenz der Wechselwirkung der Enantiomeren eines Arzneimittels mit dem chiralen Cyclodextrin-Wirt wird offenbar von zahlreichen Details bestimmt, die sich im Einzelfall nur schwer prognostizieren lassen.

3.3 Mikrokolorimetrie zur Untersuchung der Wechselwirkung von Arzneimitteln mit Cyclodextrinen

3.3.1 Einführung

Besonders gut geeignet zur Bestimmung der Stabilität von Wirt-Gast-Komplexen ist die mikrokolorimetrische Titration. Dabei wird zum Beispiel eine Lösung des Gastes in einer Meßzelle vorgelegt und der Wirt zutitriert. Die dabei jeweils freiwerdenden Wärmen werden aufgezeichnet und daraus die Reaktionsenthalpie und die Stabilitätskonstante des Komplexes durch Kurvenanpassung bestimmt [149].

Diese Methode erlaubt die sehr genaue Bestimmung der Komplexbildungskonstanten K_s , sowie der Komplexbildungsenthalpie $-\Delta H_s$ und der Komplexbildungsentropie ΔS_s . Für starke Komplexe, mit hoher Paßgenauigkeit zwischen Wirt und Gast, werden stark exotherme Komplexierungsenthalpien gemessen, die mit einer Erniedrigung der Enthalpie einhergehen. Für lose Komplexe, mit schlechter Paßgenauigkeit zwischen Wirt und Gast, werden dagegen keine oder endotherme Komplexierungsenthalpien mit Zunahme der Entropie gemessen. Somit erlaubt die Bestimmung der thermodynamischen Zustandsgrößen – ebenso wie die NOE-Spektroskopie – eine Aussage über die Paßgenauigkeit von Wirt und Gast [146].

Die Unterscheidung der thermodynamischen Größen für Enantiomerenpaare erfordert bei der mikrokolorimetrischen Titration eine hohe Meßgenauigkeit, da die zu erwartenden Unterschiede nur gering sind. Daher sind bislang nur wenige Ergebnisse auf diesem Gebiet publiziert worden. Eine Korrelation mit chromatographischen Ergebnissen steht ebenfalls noch aus [146]. Leider war es im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit noch nicht möglich, diese reizvolle Aufgabe anzugehen.

3.3.2 Ergebnisse und Diskussion

In Zusammenarbeit mit Susanne Wehrle aus der Arbeitsgruppe von Prof. Gerhard Wenz am Institut für Polymerchemie, Karlsruhe, wurden bisher 34 Mikrokolorimetrie-Experimente durchgeführt.

Es erfolgte die Titration von fünf Arzneimitteln (Gästen) mit den drei verschiedenen nativen Cyclodextrinen. Aus diesen Messungen können die thermodynamischen Parameter Enthalpie, Entropie und Bindungskonstante der entsprechenden Wirt-Gast-Wechselwirkung berechnet werden. Alle Ergebnisse wurden in der von A. Jakob generierten Moleküldatenbank MC-Base niedergelegt. Eine vollständige Darstellung dieser Messungen inklusive eines Vergleiches mit Literaturdaten muß vertiefenden Untersuchungen vorbehalten bleiben. Nachfolgend wird auf die Messungen im System α -Cyclodextrin/Oxomemazin näher eingegangen.

Das entsprechende Datenblatt zu Oxomemazin ist in Abbildung 36 gezeigt, die zugehörige Messung in Abbildung 37 wiedergegeben. Im oberen Teil von Abbildung 37a sieht man für jede Zugabe der Cyclodextrinlösung einen Puls nach unten, der der freigewordenen Wärmetönung entspricht. Diese setzt sich aus der Komplexbildungswärme und den Verdünnungswärmen der einzelnen Komponenten zusammen. Die Verdünnungswärme wiederum beinhaltet u. a. die Dissoziation von Wirt-Wirt- oder Gast-Gast-Aggregaten. Es wird also nicht die reine Bildungswärme der Komplexe gemessen, sondern die Summe aller ablaufenden Vorgänge; die Bestimmung von K_s sowie den dazugehörigen thermodynamischen Daten ist demnach nur dann verlässlich, wenn sowohl der Wirt als auch der Gast in den beiden Lösungen weitgehend monomolekular vorliegen.

Die Punkte im unteren Teil der Abbildung 37a zeigen die jeweils freiwerdende Wärmemenge in [kcal·mol⁻¹]. Mit jeder weiteren Zugabe nimmt erwartungsgemäß die freiwerdende Wärmemenge ab. Mithilfe des mit dem Mikrokolorimeter mitgelieferten Programms Origin/ITC werden die in Abbildung 37b aufgelisteten kalorischen Daten erhalten, wobei die Annahme eines 1:1-Komplexes die geringsten Fehler lieferte. Die resul-

Wenz, Koppenhoefer: MC-Base Version 1.0

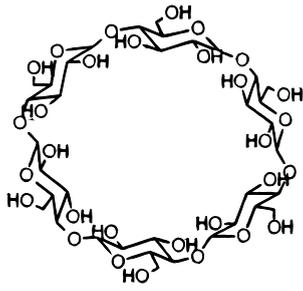
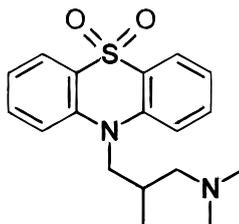
Dil-File		MCXF010V.ITC		Dil-Date		03.04.1997	
MC-File		MCXF011A.ITC		MC-Date		04.04.1997	
Host				Guest			
Reg. No.				Reg. No.			
Name1				Name1			
Name2				Name2			
Supplier				Supplier			
Structure				Structure			
							
$C_{36}H_{60}O_{30}$		Mol. weight [g/mol]		972.9		$C_{18}H_{22}N_2O_2S$	
Solubility of host [g/100ml]				Solubility of guest [g/100ml]			
Solubility of host/guest complex [g/100ml]							
Solvent				Water		Buffer	
Cosolvent				Buffer molarity [M]		0.1 pH	
Content of cosolvent (%)				Temperature [°C]		25	
Weight of host [mg]		437.4		in solvent [ml]		10	
Concentration of host [mM]		45.00		Weight of guest [mg]		17.5	
				in solvent [ml]		10	
				Concentration of guest [mM]		5.30	
MC routine				Injection time [s]			
Substance in syringe				Host			
Syringe No.				Baseline (1,2,3,4 or 5)		3	
				Max. molar ratio		1.75	
Fitting routine				one set of sites		No. of sites per host unit	
Binding constant1 Ks1 [l/mol]		13 +/-		6		Binding constant2 Ks2 [l/mol]	
Binding free energy1 $\Delta G1$ [cal/mol]		-1506 +/-		948		Binding free energy2 $\Delta G2$ [cal/mol]	
Binding enthalpy1 $\Delta H1$ [cal/mol]		-2383 +/-				Binding enthalpy2 $\Delta H2$ [cal/mol]	
Binding entropy1 $T^*\Delta S1$ [cal/mol]		-877 +/-				Binding entropy2 $T^*\Delta S2$ [cal/mol]	
Stoichiometry ratio N1		1.00				Stoichiometry ratio N2	
Literature							
Author						X.Zhu, et al.	
Journal						Unpublished	
Lit. No.		Year		Vol.		Page	
Comments							

Abbildung 36: Datenblatt zum Wirt-Gast-Komplex Oxomemazin/ α -Cyclodextrin

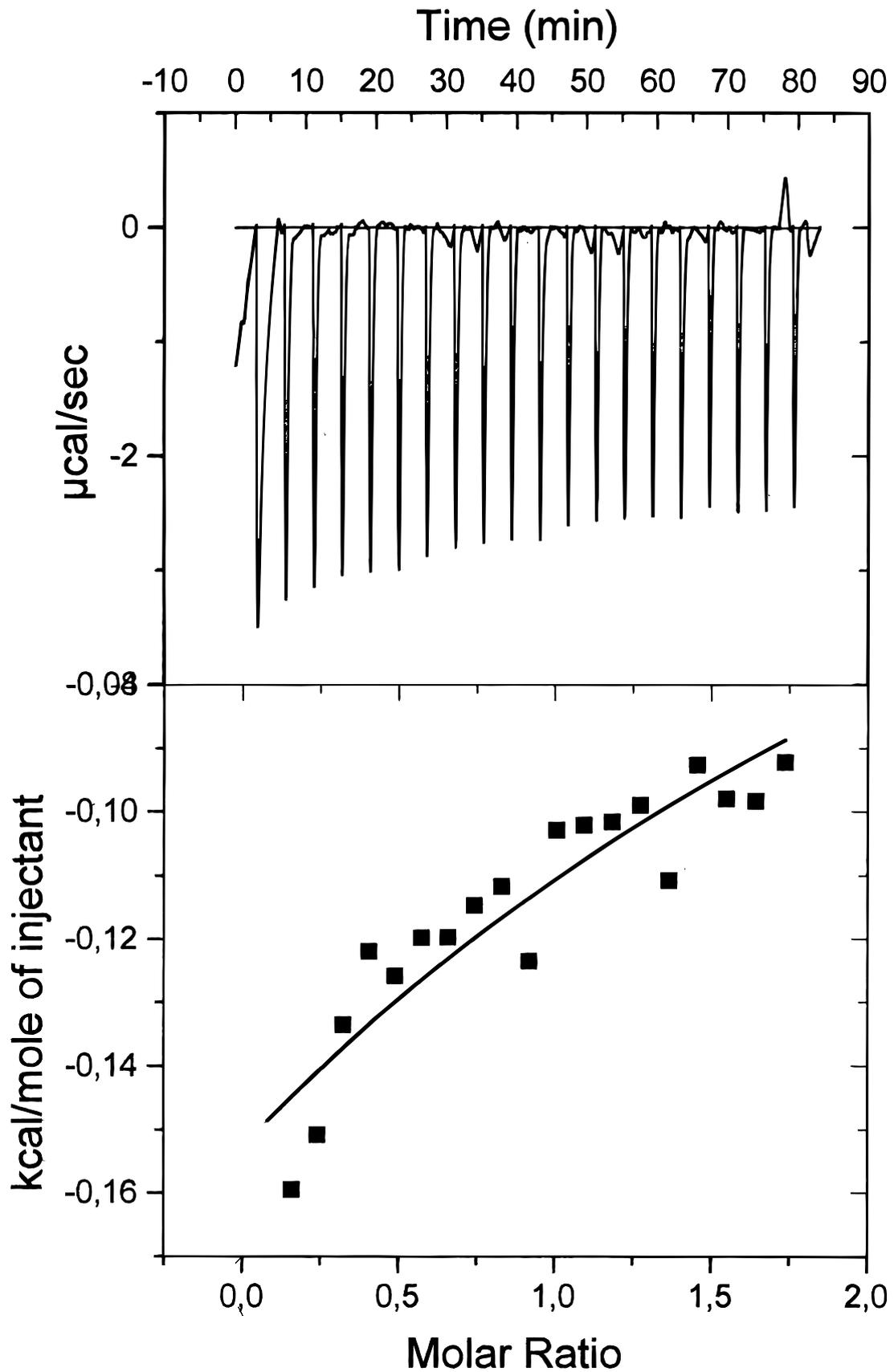


Abbildung 37a: Mikrokolorimetrische Titration von Oxememazin mit α -CD

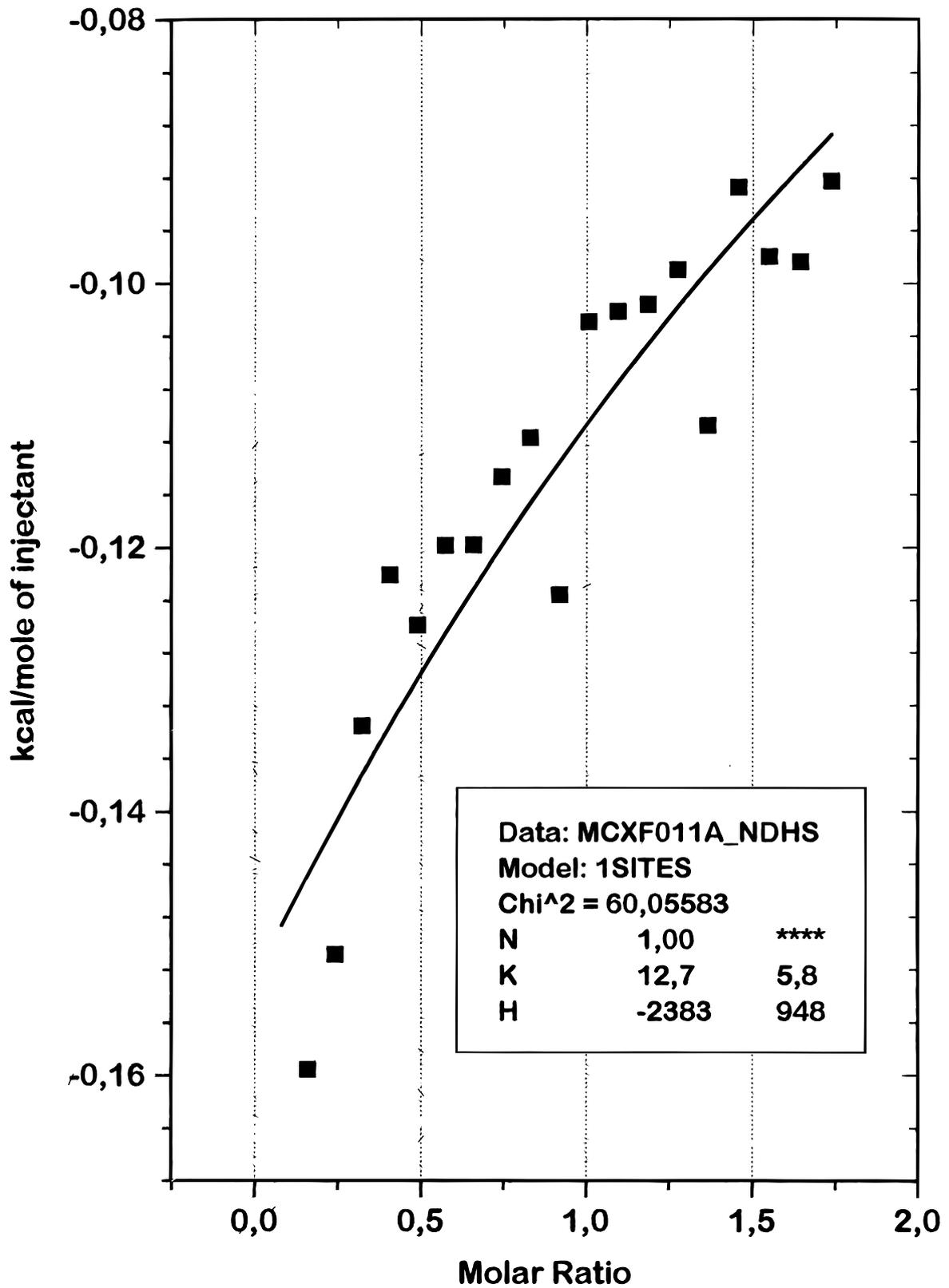


Abbildung 37b: Auswertung der mikrokolorimetrischen Titrationskurve mit Origin/ITC

tierende Bindungskonstante $K_s = 13 \pm 6 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}$ weicht deutlich von den NMR-spektroskopisch bestimmten Werten ab. Dies liegt u. a. an den relativ hohen Meßfehlern in beiden Methoden, die bei derart schwachen Komplexen an ihre Grenzen stoßen.

Das Vorzeichen des Entropiebeitrags resultiert einerseits aus einer Erhöhung der Ordnung durch Komplexbildung und andererseits einer Erniedrigung der Ordnung durch Freisetzen der Solvathüllen von Wirt und Gast. Offenbar überwiegt im vorliegenden Beispiel die Zunahme der Ordnung durch Komplexbildung.

3.4 Simulationen von Wirt-Gast-Wechselwirkungen mit Neuronalen Netzen

3.4.1 Einführung

Das Forschungsgebiet der Künstlichen Neuronalen Netze (Artificial Neural Networks, ANN) hat sich mit dem Streben nach einem besseren Verständnis der Nerventätigkeit im Gehirn wie auch mit dem Ziel der Anwendung von natürlichen Funktionsmechanismen in der Datenverarbeitung herausgebildet. Anfänge der Disziplin reichen bis in die vierziger Jahre zurück [150-152]. Seit dem Beginn der intensiven Forschungen [153-155] sind hervorragende Werkzeuge für Aufgaben wie Datenassoziation, -klassifikation, -transformation (mapping) und Funktionsmodellierung entstanden. Der Rückschluß von den Modellansätzen auf die Funktionsweise biologischer Neuronaler Netze verdient besonderes Interesse [156-158].

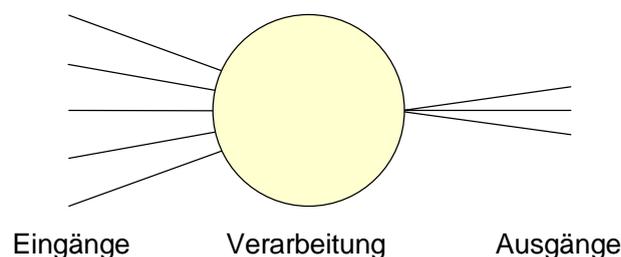


Abbildung 38: Modell eines Neurons

Wesentliches Merkmal eines Künstlichen wie eines Natürlichen Neuronalen Netzes ist die Verknüpfung einfacher Grundeinheiten (Neuronen, Abbildung 38). Erst in einer komplexen Funktionseinheit können vielschichtige Aufgaben erfüllt werden.

In einem Neuronalen Netz ist von Grund auf das Prinzip der verteilten Informationsverarbeitung und -speicherung realisiert. Dieses wird gern mit dem 100-Schritte-Paradoxon illustriert: Zwischen einem Reiz und der Antwort darauf liegt bei den meisten Wirbeltieren eine Zehntelsekunde. Entsprechend der Verarbeitungsgeschwindigkeit der Nervenzellen von 10^3 Schritten pro Sekunde muß das Nervensystem hier mit 100 sequentiellen

Schritten auskommen. Da die Komplexität der zwischen Reiz und Antwort nötigen Datenverarbeitung in der Regel beträchtlich ist, kann die kurze Reaktionszeit nur durch eine parallele, d. h. gleichzeitige Abarbeitung von Teilaufgaben erreicht werden [159, 160]. In dieser Parallelisierung sehen einige Experten das größte Potential der Künstlichen Neuronalen Netze, da sie bei einer Hardware-Implementierung die klassische von-Neumann-Architektur der Computer mit sequentieller Befehlsausführung überwinden hilft. Im Forschungsstadium werden nicht-zeitkritische Anwendungen aus ökonomischen Gründen in der Regel auf Standard-Rechnern softwarebasiert implementiert.

Für unterschiedliche Einsatzzwecke sind verschiedene Architekturen Neuronaler Netze entwickelt worden, die sich unter anderem in der Richtung des Informationsflusses durch das Netzwerk (mit oder ohne Rückkopplung), in der Übertragungsfunktion (linear oder nichtlinear) und im Lernalgorithmus (überwacht oder nichtüberwacht) unterscheiden [161]. Drei häufig verwendete Typen sollen nachfolgend detaillierter beschrieben werden.

3.4.1.1 Backpropagation-Netzwerk

Backpropagation-Netze (BPN) [155] dienen allgemein zur Modellierung des Zusammenhangs zwischen mehreren gegebenen Größen und einer oder mehreren Zielgrößen. Die Neuronen sind in mehreren Schichten angeordnet. Der anschauliche Begriff „Schicht“ bezeichnet eine Gruppe von Neuronen, die mit Neuronen aus vor- und nachgeordneten Schichten in Verbindung stehen können, nicht aber mit Neuronen aus der eigenen Schicht (Abbildung 39). Die Anzahl der Neuronen in der Eingabeschicht ist durch die Anzahl der gegebenen Größen festgelegt, ebenso die Anzahl der Ausgangsneuronen durch die Anzahl der Zielgrößen. Zahl und Größe der verborgenen Schichten müssen dem konkreten Problem angepaßt werden.

Die Eingabeschicht hat allein die Aufgabe, die Eingabedaten zu speichern und den nachgeordneten Neuronen zur Verfügung zu stellen. Sie führt normalerweise keine Verarbeitung durch. Verborgene Schichten (Abbil-

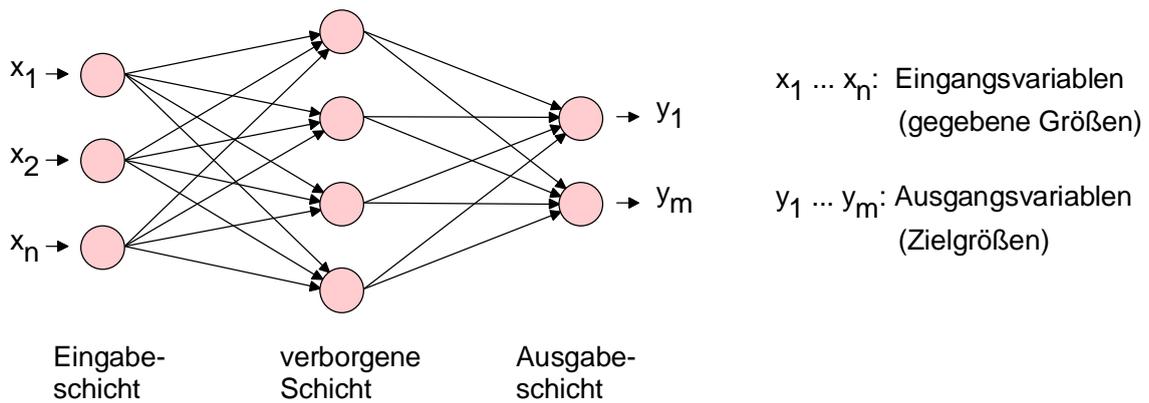


Abbildung 39: Struktur eines Backpropagation-Netzwerks

Abbildung 40) verdanken ihren Namen dem Umstand, daß sie keine direkte Verbindung mit der Außenwelt haben. Ihre Neuronen bilden eine gewichtete Summe der Eingangssignale, das heißt das Skalarprodukt p_i der n Eingänge x_j und Gewichte w_{ij} des Neurons i (Gleichung 13). Der nachfolgenden Schicht wird ein Ausgangswert o_i zur Verfügung gestellt, der aus p_i mittels der Übertragungsfunktion gebildet wird. Die Übertragungsfunktion, auch als Aktivierungsfunktion bezeichnet, ermöglicht, beispielsweise durch eine sigmoide Form wie in Gleichung 14, ein nichtlineares Verhalten des Netzwerks.

$$p_i = \sum_{j=1}^n x_j \cdot w_{ij} \tag{13}$$

$$o = f(p) = \frac{1}{1 + e^{-(\alpha \cdot p + v)}} \tag{14}$$

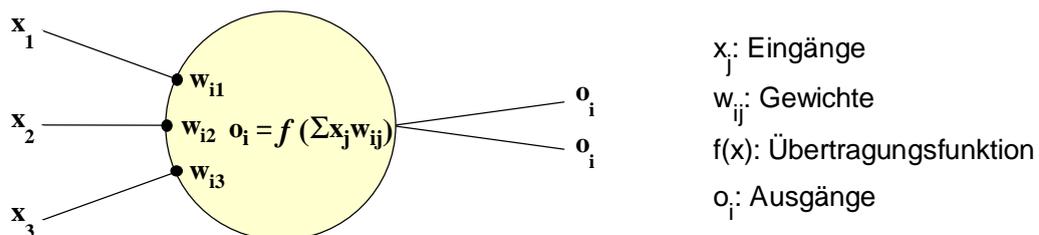


Abbildung 40: Neuron der verborgenen Schicht eines BPN

Eine verborgene Schicht wird eingeführt, wenn die einfache Signalverarbeitung in der Ausgabeschicht mit der Komplexität der Aufgabenstellung überfordert ist. Die Konstruktion von Netzwerken mit mehreren nacheinander geschalteten verborgenen Schichten ist möglich und kann zur Lösung spezieller Probleme vorteilhaft sein; wie jedoch mathematisch gezeigt werden konnte, ist eine einzelne verborgene Schicht genügender Größe in jedem Fall ausreichend [162]. Die Neuronen in der Ausgabeschicht unterscheiden sich qualitativ nicht von denen in der verborgenen Schicht. Prinzipiell genügt es, den Ausgabewert des Netzes aus dem Skalarprodukt von Eingängen und Gewichten der Ausgabeneuronen zu bilden; eine nichtlineare Übertragungsfunktion in der Ausgabeschicht ist fakultativ.

Entscheidend für die korrekte Funktion des Netzes sind die Gewichte, die im Verlauf einer Trainingsphase angepaßt werden. Man spricht hier von überwachtem Lernen, da der gewünschte Netzausgang (Sollwert) für jedes Trainingsmuster dem Netz bekanntgegeben wird. Die jeweilige Abweichung gegenüber dem Sollwert ist eine Funktion des Betrags aller Gewichte. Ziel des Trainingsprozesses ist das Finden des globalen Minimums dieser Fehlerfunktion. Beim Backpropagation-Algorithmus wird hierfür das Gradientenabstiegsverfahren benutzt. In fortlaufenden Zyklen werden alle Trainingsmuster dem Netz präsentiert, der Netzausgang berechnet und der Fehler gegenüber dem Sollwert ermittelt, woraufhin die Gewichte, beginnend bei der Ausgabeschicht, in Richtung einer besseren Übereinstimmung des Netzausgangs mit dem Sollwert verändert werden (back-propagation of errors). Einen Durchlauf aller Trainingsmuster bezeichnet man als Epoche. Für Einzelheiten wird auf die Literatur verwiesen [163].

Wichtig für eine reale Beurteilung der Vorhersagefähigkeit des trainierten Netzes ist, daß die zur Validierung verwendeten Daten nicht bei demselben Netz zum Training verwendet wurden. Als Vergleichsmaß für den Vorhersagefehler dient im allgemeinen der RMS-Wert (root-mean-square error, Gleichung 15 – hier bedeuten r_v die realen Zielwerte, y_v die zugehörigen Vorhersagewerte (Netzausgänge) und N die Anzahl der Validierungsmuster).

$$RMS = \sqrt{\frac{\sum_{v=1}^N (r_v - y_v)^2}{N}} \quad (15)$$

Die praktische Anwendung eines BPN kann mit verschiedenen Schwierigkeiten verbunden sein, die in ihrem Ausmaß stark von der Qualität der Beispieldaten abhängen. Zum einen muß das fehlende *a-priori*-Wissen über die optimale Netzstruktur genannt werden. Es werden daher meistens unterschiedlich dimensionierte Netze auf dieselbe Aufgabenstellung trainiert und die Ergebnisse miteinander verglichen. Bei ähnlich guten Vorhersageergebnissen gibt man dem kleineren Netz den Vorzug, da man hier eine bessere Approximation des den Daten zugrundeliegenden funktionalen Zusammenhangs (Generalisierung) und eine geringere Anpassung an die spezifischen Trainingsdaten erwarten kann. Ähnliches gilt für die Anzahl der Trainingsepochen. Während der Fehler für die Trainingsmuster (recall error) mit zunehmender Trainingsdauer beliebig klein werden kann, wenn dem Netz genügend Neuronen zur Verfügung stehen, wird der Vorhersagefehler (prediction error) in dem Maße zunehmen, in dem das Netz die Trainingsdaten „auswendig lernt“. Um den hier beschriebenen Overtraining-Effekt zu erkennen, kann man den Vorhersagefehler während des Trainings protokollieren und das erreichte Optimum zur Auswertung heranziehen. In der vorliegenden Diplomarbeit wurde auf die Anwendung von Netzen des BPN-Typs aus Zeitgründen verzichtet.

3.4.1.2 Selbstorganisierende Karte nach Kohonen

Die Selbstorganisierende Karte (self-organizing map, SOM) [154, 164] wird nach ihrem Entwickler oft auch als Kohonenkarte bezeichnet. Anwendungsziel ist eine Klassifizierung und Visualisierung hochdimensionaler Datensätze. Da für diesen Zweck kein Zielzustand vorgegeben werden muß, arbeitet die SOM nach dem Prinzip des unüberwachten Trainings. Die Gewichte werden in einem Prozeß der Selbstorganisation adaptiert.

Die Neuronen in der Kohonenkarte nehmen eine Verarbeitung vor, die sich von der für das BPN vorgestellten unterscheidet: Statt dem Skalarprodukt von Eingängen und Gewichten des jeweiligen Neurons wird hier die Euklidische Distanz beider Vektoren gebildet (Gleichung 16; p_i steht für die Euklidische Distanz, x_j für die Komponenten des Eingabevektors, w_{ij} für die Komponenten des Gewichtsvektors und n für die Anzahl der Komponenten).

$$p_i = \sqrt{\sum_{j=1}^n (x_j - w_{ij})^2} \quad (16)$$

Auch die Ausgabefunktion unterscheidet sich: Grundsätzlich ist das Neuron mit der geringsten Distanz zum Eingabevektor aktiv – auch als gewinnendes Neuron bezeichnet – die anderen Neuronen dagegen inaktiv (Gleichung 17; l ist der Zählindex der m Neuronen).

$$o_i = \begin{cases} 1 & p_i = \min_{l=1}^m (p_l) \\ 0 & \text{sonst} \end{cases} \quad (17)$$

Während die Gewichte zu Beginn des Trainings wiederum mit Zufalls-werten belegt werden, erfolgt die Adaption bei der SOM in Richtung einer größtmöglichen Übereinstimmung der Gewichtsvektoren mit den Vektoren des Trainingsdatensatzes. Hierbei wird das gewinnende Neuron am stärksten adaptiert, die Neuronen in der Nachbarschaft zum gewinnenden Neuron schwächer [165]. Die Nachbarschaft ergibt sich aus der Netzwerkdefinition analog zu einem Gitter, in dem jedes Neuron einen bestimmten Platz einnimmt (Abbildung 41).

Die nach dem Training angelegten Validierungsmuster werden wiederum dem Neuron zugeordnet, zu dem sie die geringste Distanz besitzen (dem Gewinner). Somit führt der Trainingsalgorithmus zu einer Abbildung der Datenpunkte aus dem m -dimensionalen Eingangsraum auf die meist zweidimensionale Karte unter möglichst guter Topologieerhaltung. Mit dem Begriff Topologieerhaltung wird zum Ausdruck gebracht, daß im Eingangsraum benachbarte Datenpunkte auch nach der Abbildung auf die Karte benachbart sind.

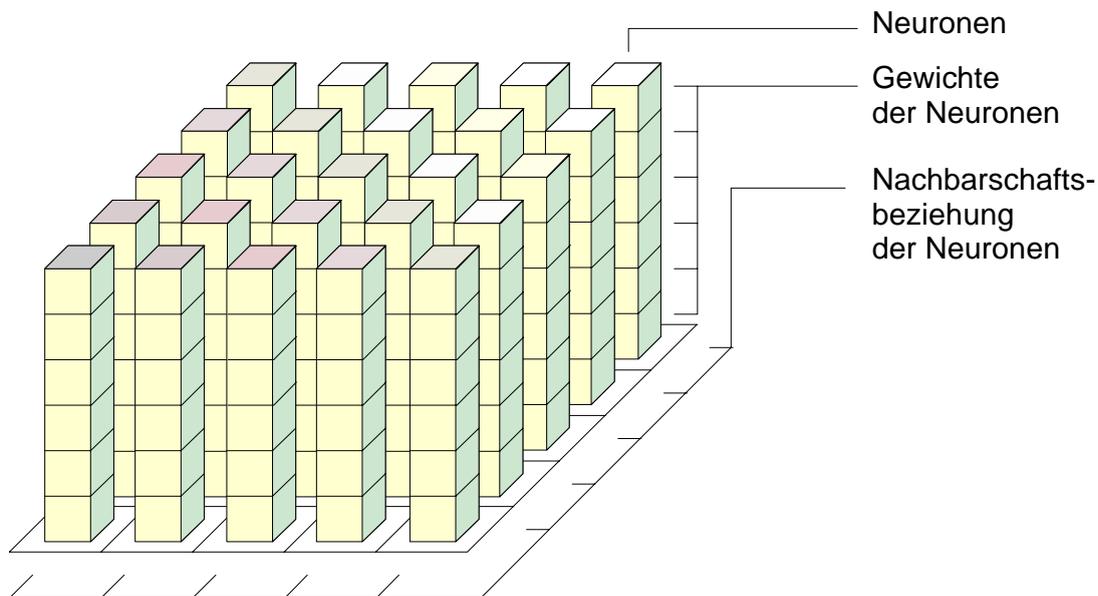


Abbildung 41: Schema einer 5×5-Kohonenkarte mit sechsdimensionalen Datenvektoren

Untersuchungen ergaben, daß für eine gute Topologieerhaltung die Dimension der Karte der den Daten inhärenten Dimension (Informationsdimension) entsprechen muß. Andernfalls ist die Karte gezwungen, sich in den Datenraum zu falten (bzw. umgekehrt), wodurch Topologiedefekte bedingt werden. Das bedeutet, daß ähnliche Datenpunkte dann durch entfernt liegende Neuronen repräsentiert sein können. Die Informationsdimension kann allerdings wesentlich geringer sein als die algebraische Dimension (Anzahl der Komponenten) des Datensatzes, wenn die einzelnen Komponenten miteinander korreliert sind. Als ein Kriterium zur Beurteilung der Topologieerhaltung steht das Waberprodukt zur Verfügung [166, 167].

3.4.1.3 Counterpropagation-Netzwerk

Ein Counterpropagation-Netzwerk (CPN) [168] dient wie ein Backpropagation-Netzwerk zur Korrelation von gegebenen Größen und Zielgrößen und bildet somit eine Alternative zu diesem Netztyp. Das CPN arbeitet in

der verborgenen Schicht mit Neuronen desselben Typs wie die Selbstorganisierende Karte. Der Nachbarschaftseinfluß beim Training ist nicht zwingend notwendig, doch kann in der Tat eine SOM als verborgene Schicht (Codierungsschicht) verwendet werden. Hinzu kommt eine Ausgabeschicht, die dem jeweils gewinnenden Neuron in der Codierungsschicht Ausgabewerte zuordnet (Abbildung 42). Die Gewichte der Ausgabeschicht müssen in Form eines überwachten Trainings adaptiert werden.

In der Standardform des CPN ist die Anzahl verschiedener möglicher Antworten auf die Anzahl der Neuronen in der Codierungsschicht beschränkt, da jedes Eingangsmuster ein einziges Neuron in der Codierungsschicht aktiviert (winner takes all), das seinerseits mit einem festen Ausgabemuster gekoppelt ist. Neuere Entwicklungen ermöglichen durch Interpolation die Einbeziehung von mehreren Neuronen in die Ermittlung des Ausgabewerts, und somit eine Verbesserung der Vorhersagequalität bei verringerter Netzgröße und Trainingszeit [169, 170]. Netze des CPN-Typs kamen in der vorliegenden Arbeit nicht zur Anwendung.

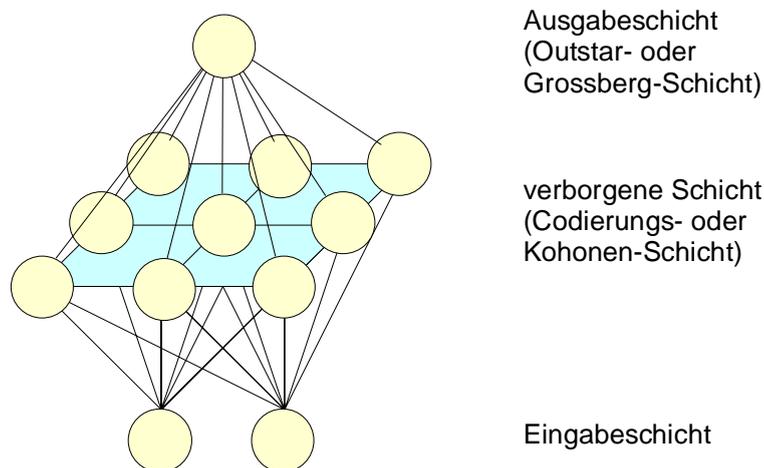


Abbildung 42: Aufbau eines Counterpropagation-Netzes

3.4.1.4 Stabilität der Klassifizierung und Einfluß der Trainingsparameter

Die Stabilität der Klassifizierung und der Einfluß der Trainingsparameter wurde ebenfalls von Epperlein untersucht [56]. Bedingt durch die Initialisierung des Kohonenalgorithmus mit einer Zufallsbelegung der Gewichte kann sich nach jedem Trainingslauf prinzipiell ein neues Ergebnis bieten. Um dem möglichen Kritikpunkt eines Zufallsergebnisses entgegenzutreten, wurden exemplarisch die Stabilität der Klassifizierung und der Einfluß von Trainingsparametern auf das Ergebnis untersucht [56]. Erwartungsgemäß führt ein wiederholtes Starten des Trainingsalgorithmus mit unterschiedlichen Zufallsbelegungen zu unterschiedlichen Ausrichtungen der Gradienten in den Komponentenkarten; jedoch bleibt der Verlauf der Datenkomponenten relativ zueinander in verschiedenen Testläufen erhalten.

Gleiches gilt für die Position der die Moleküle repräsentierenden Neuronen (Prototypvektoren) – die wesentlichen, bereits diskutierten Struktur-Eigenschafts-Beziehungen wurden stets wiedergegeben. Jedoch sollte bei der Auswertung beachtet werden, daß die Kanten einer quadratischen Karte prinzipiell gleichwertig sind. Es existieren somit für jede Anordnung der Prototypvektoren insgesamt acht äquivalente Anordnungen, die durch Dreh- und Spiegeloperationen ineinander übergehen. Für eine vergleichende Betrachtung der Ergebnisse verschiedener Trainingsläufe hat es sich daher als zweckmäßig erwiesen, das Koordinatensystem so zu transformieren, daß die Position der Moleküle die größtmögliche Übereinstimmung mit einem willkürlich ausgewählten Musternetz aufweist. Graduelle Unterschiede in der Anordnung der Moleküle, die durch die Initialisierung des Kohonenalgorithmus mit Zufallsvariablen bedingt sind, werden so leichter erkannt.

Gesucht wird dann ein quantitatives Kriterium, um die nach dieser Transformation verbleibende Divergenz zwischen den Ergebnissen einzelner Trainingsläufe abschätzen zu können und somit ein Maß für die Verlässlichkeit der Klassifizierung zu haben. Leitgedanke ist dabei, daß der entscheidende Parameter für die Ableitung von Ähnlichkeitsrelationen zwischen den durch die Prototypvektoren repräsentierten Substanzen die

Position der Substanzen relativ zueinander ist. Es wird daher für jedes mögliche Paar a, b aus zwei Substanzen a und b die Euklidische Entfernung p_{ab} auf der Karte ermittelt. Aus der Euklidischen Entfernung ein und desselben Pairs auf verschiedenen Karten läßt sich die relative Standardabweichung $rsd(p_{ab})$ der Entfernung für dieses Paar berechnen. Das relative Stabilitätsmaß S_r für eine bestimmte Konstellation aus Eingabedaten und Trainingsparametern schließlich läßt sich nach Gleichung 18 als Mittelwert der relativen Standardabweichung über alle n Paare definieren.

$$S_r = \frac{\sum_1^n rsd(p_{ab})}{n} \quad (18)$$

Durch den Bezug der Standardabweichungen auf die absolute Größe der Euklidischen Distanzen sollte S_r von der Dimension und Geometrie der SOM unabhängig sein und so auch einen Vergleich von Karten unterschiedlicher Größe ermöglichen. Das absolute Stabilitätsmaß S_a , das sich analog unter Verwendung der absoluten Standardabweichung ergibt, vermittelt

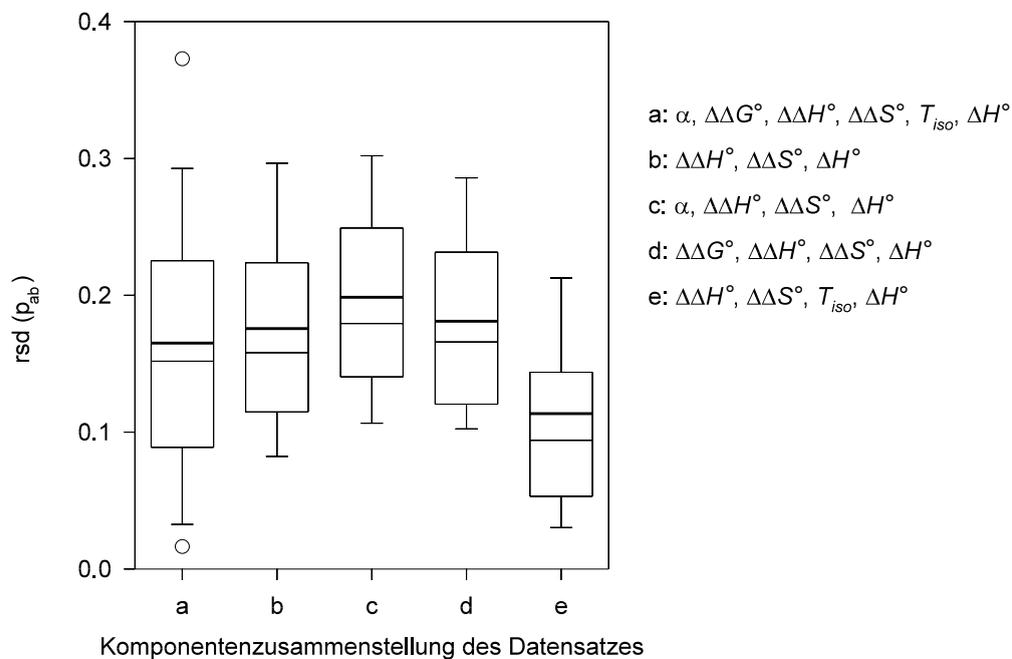


Abbildung 43: Das Stabilitätsmaß S_r in Abhängigkeit von der Komponentenauswahl [56]

hingegen ein Bild davon, in welcher Größenordnung die Entfernungen der Prototypvektoren tatsächlich schwanken.

Bei der Bestimmung von S_a für 10 nach konstanten Parametern trainierte Karten erhielt Epperlein mit 0.93 einen Wert, der eine befriedigende Stabilität ausdrückt und sich zu einem gewissen Teil schon als „Quantifizierungsrauschen“ interpretieren läßt, welches aus der Zuweisung von diskreten Koordinaten für Objekte mit kontinuierlich variierenden Eigenschaften resultiert [56].

Neben der durch die Anzahl der Komponenten gebildeten algebraischen Dimension des Datensatzes ist auch die den Daten inhärente Dimension (fraktale Informationsdimension) zu diskutieren. So bilden beispielsweise Datenpunkte, die innerhalb einer Ebene sämtlich auf einer Geraden liegen, ein eindimensionales Objekt, auch wenn zu ihrer Beschreibung zwei Koordinaten benutzt werden. Das Prinzip läßt sich auf Datensätze mit mehr als zwei Variablen übertragen; für den von Epperlein untersuchten Datensatz errechnet sich eine Informationsdimension von ca. 1.5. Erwartungsgemäß änderte sich dieser Wert nur wenig, wenn die Anzahl abhängiger Komponenten variiert wurde. Gleiches gilt für das Waberprodukt, mit dem die Topologieerhaltung der Karte untersucht wird und dessen positiver Betrag von ca. 0.028 bestätigte, daß die Dimension der SOM höher ist als die den Daten inhärente Dimension; der geringe Unterschied in den Dimensionen bleibt jedoch ohne negative Folgen für das Trainingsergebnis [56].

Der Trainingsverlauf der Kohonenkarte läßt sich mit der Wahl der Trainingsparameter gezielt beeinflussen. Höhe und Weite der Adaptionfunktion (oft als Gauß-Funktion realisiert) regeln die Adaptionsstärke des Gewinners und seiner Nachbarn. Beide Parameter läßt man über die Trainingsdauer hinweg abnehmen, um nach der Ausbildung der globalen Ordnung Feinkorrekturen im Nahbereich zu erwirken. Bei exponentieller Abnahme gibt der Parameter τ die relative Abnahmegeschwindigkeit an (Abbildung 44). Unterschiedliche τ -Werte (Abbildung 45 a) und unterschiedliche Endwerte (Abbildung 45 b) für die Weite der Adaptionfunktion

haben einen besonderen Einfluß auf die Ausbildung der Feinstruktur der Karte. Aus Vorversuchen [56] ist bekannt, daß ein gegenüber der Standardeinstellung erhöhter Wert für τ zu ausgeglicheneren Komponenten-

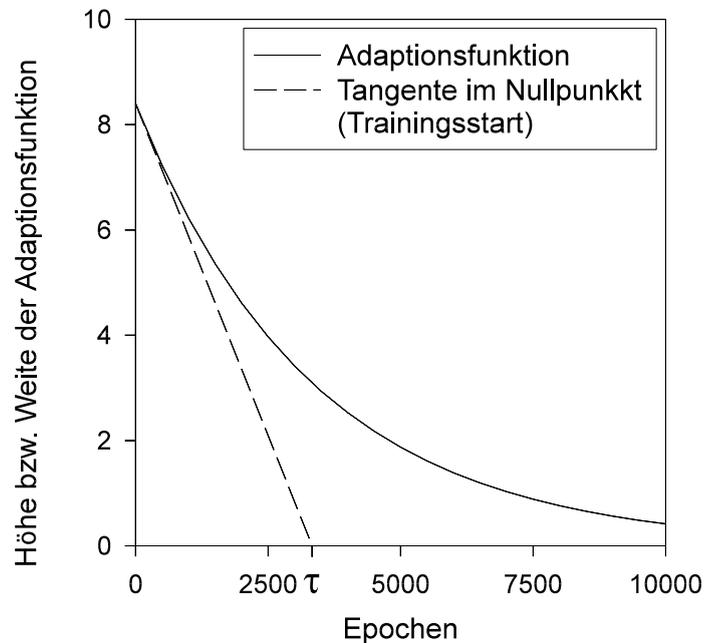


Abbildung 44: Der Parameter τ als Kenngröße für den zeitlichen Verlauf der Adaptionssfunktion

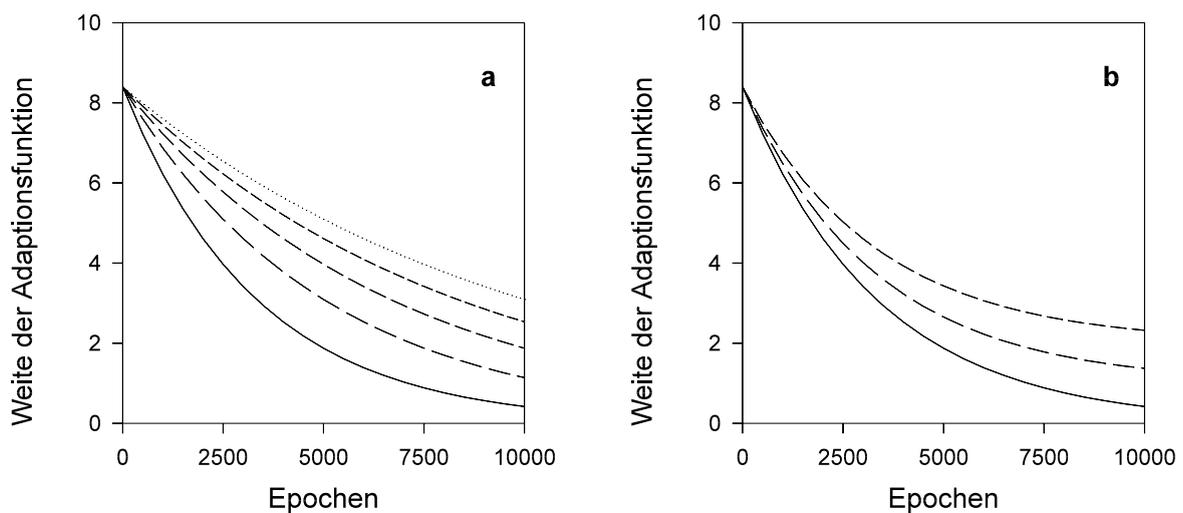


Abbildung 45: Zeitlicher Verlauf der Adaptionssweite in Abhängigkeit von τ und Endweite

tenkarten führt. Mit der Bestimmung von S_r kann gemessen werden, ob die Wahl der Trainingsparameter einen wesentlichen Einfluß auf die Stabilität der Klassifizierung hat.

Aus Abbildung 46 ist ersichtlich, daß generell mit geringerer Abnahmegeschwindigkeit der Adaptioneweite (das heißt mit steigendem Wert für τ , von links nach rechts innerhalb jeder der drei Gruppen in der Abbildung) die Standardabweichung der Prototypvektor-Distanzen geringer wird. Bei einer von vornherein höher angesetzten Endweite (Gruppen 1 und 2 in Abbildung 46) ergeben sich nur graduelle Unterschiede zur Voreinstellung (Gruppe 0). Insgesamt sind dem Einfluß der Trainingsparameter auf S_r durch die Überlagerung mit Quantifizierungsrauschen (s. o.) Grenzen gesetzt. Die intuitive Wahl der Parameter (in Abbildung 46 durch Säule „c“ repräsentiert) erwies sich dennoch als günstig [56].

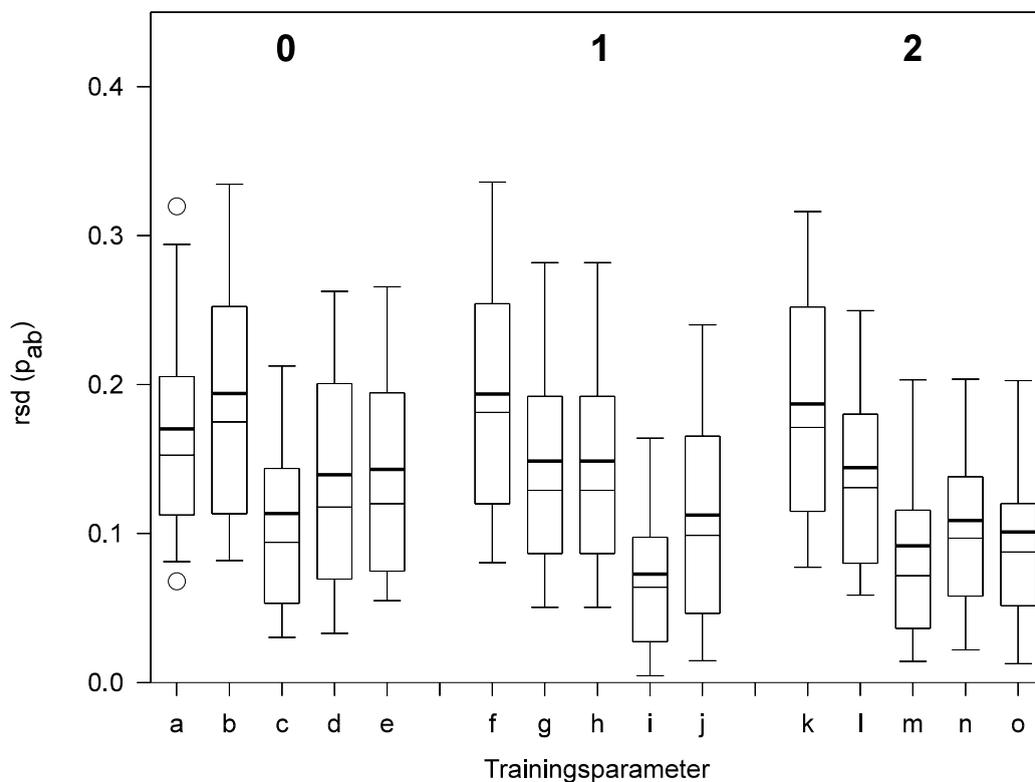


Abbildung 46: Stabilitätsmaß in Abhängigkeit von ausgewählten Trainingsparametern

Wenn in einer Karte mit den Standardmaßen von 10×10 Neuronen mehr als vier freie Neuronen auf jedes Molekül entfielen, ermittelte Epperlein auch den relativen Stabilitätsparameter für kleinere Netze. Gemäß Abbildung 47 ist S_r (dicke Linie) bemerkenswert konstant. Die bei den kleineren Netzen beobachtete vergrößerte Streubreite innerhalb von $rsd(p_{ab})$ ist mit den kleineren Absolutwerten der Prototypvektor-Distanzen zu erklären, auf welche die relative Standardabweichung bezogen wird (steigender Anteil des Quantifizierungsrauschens).

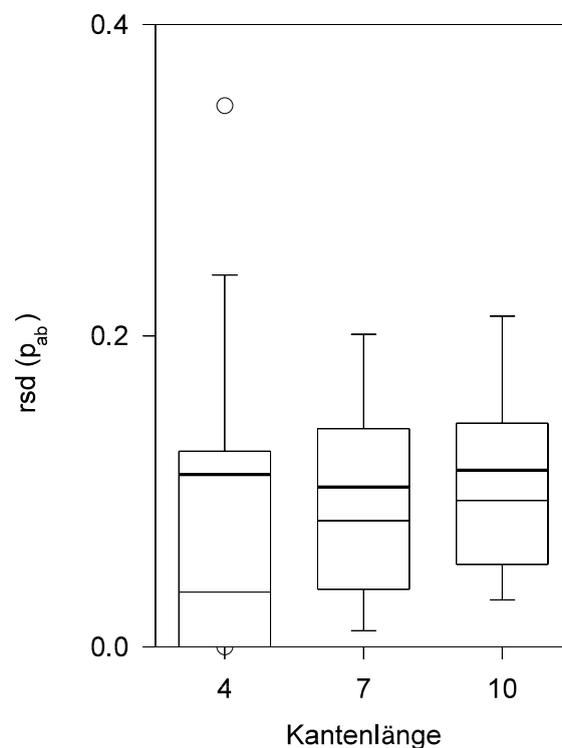


Abbildung 47: S_r in Abhängigkeit von der Größe der SOM

Beispielhaft sei das Trainingsergebnis einer Kohonenkarte mit 4×4 Neuronen dargestellt. Wie Abbildung 48 zeigt, ist die Ableitung von Erkenntnissen über Struktur-Eigenschafts-Beziehungen hier etwas erschwert durch den Sachverhalt, daß mitunter mehrere Substanzen auf ein und dasselbe Neuron abgebildet werden und nicht klar hervorgeht, welche der Substanzen bei einer derartigen Doppelbelegung die größere Ähnlichkeit mit welchem Nachbarn hat. Zudem erzwingt der Platzmangel stärkere Verschlingungen und zum Teil Aufspaltungen der Gebiete von Substanzen

mit identischen Strukturmerkmalen. Insgesamt gesehen bringt jedoch die Verringerung der Neuronenzahl keine wesentliche Änderung in der Anordnung der Prototypvektoren mit sich.

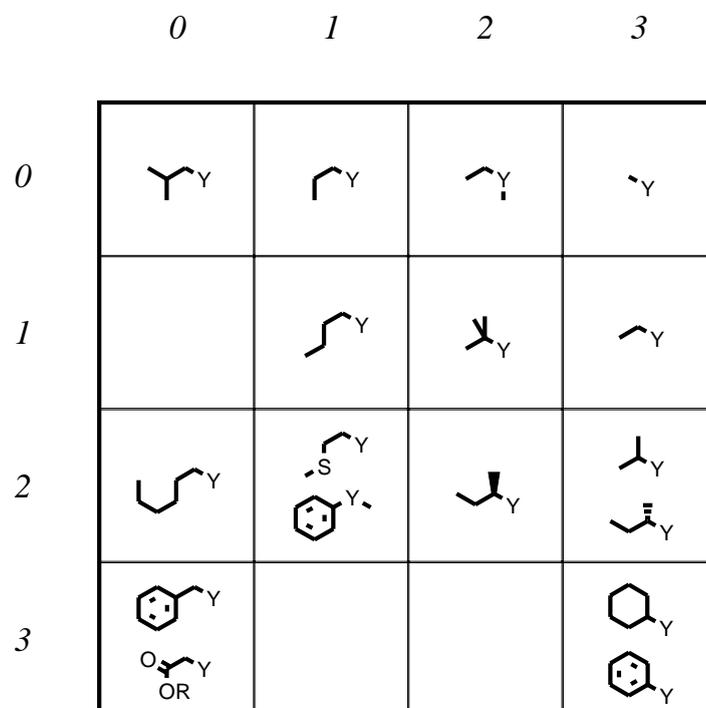


Abbildung 48: Anordnung der Analyten auf einer aus 4×4 Neuronen bestehenden Selbstorganisierenden Karte

Aufgrund dieser Ergebnisse schloß Epperlein auf eine ausreichend hohe Stabilität der Klassifizierung, sie hing nur wenig von Trainingsparametern und Netzgröße ab. Entsprechend ließ sich die aus der Klassifizierung gewonnene Einsicht in die Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Enantiomerentrennung für eine Vorhersage des Trennfaktors und weiterer Substanzparameter nutzen [56].

Zur Auswahl von Netztypen und Validierungsmustern wurden von Epperlein insgesamt 11 verschiedene Molekülcodes auf ihre Tauglichkeit für die Korrelation der experimentellen Werte mit der Molekülstruktur überprüft. Zu diesem Zweck wurde eine Auswahl aus verschiedenen Typen und Architekturen Neuronaler Netze (siehe Kapitel 3.4.1) getroffen:

Backpropagation

- Übertragungsfunktion:
- lineare Netze ohne verborgene Schicht
 - Netze mit nichtlinearen Neuronen in der verborgene Schicht
- verborgene Schicht:
- 0, 2, 5 oder 10 Neuronen
- Integration der Aufgaben:
- einzelne Netze mit je einem Ausgang
 - kombiniertes Netz mit mehreren Ausgängen

Counterpropagation

- Interpolationsart:
- Interpolation zwischen dem Gewinner und den Neuronen mit den zum Eingabevektor nächstbenachbarten Gewichtsvektoren
 - Interpolation zwischen dem Gewinner und den zum Gewinner in der Netztopologie nächstbenachbarten Neuronen
- Interpolationsweite:
- Winner takes all
 - Interpolation zwischen 2, 3, 4, 5 oder 6 Neuronen

Ein Problem für den Backpropagation-Trainingsalgorithmus stellen lokale Minima der Fehlerfunktion dar. Daher wurde das Training für jedes BPN dreifach mit verschiedener Anfangsbelegung der Gewichte durchgeführt, was einem unterschiedlichen Startpunkt auf der Fehlerfunktion entspricht. Die so resultierende Variation der Optimierungspfade entschärft diese Problematik ein wenig. Der Counterpropagation-Algorithmus ist hingegen wenig anfällig für lokale Minima, so daß diese Prozedur dort unterbleiben konnte. Das Training einzelner Netze für jede Zielgröße im Vergleich zur integrierten Lösung erscheint hier ebenfalls nicht nötig, da die einzelnen Ausgänge in einem CPN mathematisch unabhängig sind.

$$RMS = \sqrt{\frac{\sum_{v=1}^N (r_v - y_v)^2}{N}} \quad (15)$$

Der Vergleich der Ergebnisse einzelner Netzkonfigurationen und Molekülcodierungen erfolgte über den RMS-Fehler der Vorhersage von Validierungsmustern (Gleichung 15; r_v sind die realen Zielwerte, y_v die vorhergesagten Werte, N ist die Anzahl der Validierungsmuster). Eine feste Aufteilung der Daten von n Verbindungen in Trainingsdatensatz und Validierungsdatensatz scheint nicht zweckmäßig zu sein, da dies die Datenbasis für das Netztraining empfindlich schmälern würde. Es wird deshalb die Cross-Validierung nach der *leave one out*-Methode angewandt. Das bedeutet, daß für jede Konfiguration aus Netztyp und Molekülcode mehrere Netze mit je $n-1$ Trainingsmustern trainiert wurden. Der RMS-Fehler für diese Konfiguration ergibt sich aus den Vorhersagen der jeweils übrigen, nicht zum Training verwendeten Muster. Im Fall von Backpropagation-Netzen sollten die Ergebnisse der einzeln trainierten Netze bei identischer Trainingsepochenanzahl nicht in die RMS-Berechnung eingehen. Diese Lösung verspricht Robustheit gegenüber Zufallsoptima, die im Trainingsverlauf bei jedem einzelnen Netz auftreten können. Weiterhin stellte sich heraus [56], daß nicht alle Substanzen als Validierungsmuster geeignet sind. Es ist von keiner Methode zu erwarten, daß sie Codeparameter interpretieren kann, die im Trainingsdatensatz nicht repräsentiert sind. Ebenfalls problematisch sind Extremwerte im Code, die eine Extrapolation aus den Trainingsdaten heraus erfordern. Substanzen mit im Datensatz zu selten vertretenen oder extremen Strukturmerkmalen müssen den Netzen daher stets zum Training präsentiert werden.

3.4.1.5 Anwendung Neuronaler Netze auf chemische Fragestellungen

Seit dem Beginn der achtziger Jahre erfährt das Forschungsgebiet der Neuronalen Netze eine stürmische Entwicklung. Anwendungen in der Chemie spiegeln die wachsende Popularität wieder, mit mehr als 500 Referenzen pro Jahr seit 1993 laut Chemical Abstracts Service (CAS)-

Literaturdienst. Eine Reihe von Einführungs- und Übersichtsartikel sind bereits erschienen [171-178, 114]. Wesentliche Einsatzgebiete sind die Prozeßkontrolle und -optimierung in der Verfahrenstechnik, molekulare Aspekte der Genetik sowie Strahlungsdetektoren in der Nuklear-technologie. Betrachtet wurde auch die Korrelation zwischen chemischer Struktur und biologischer Wirkung (QSAR, quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehungen [179-187]) sowie weiteren Substanzeigenschaften, z. B. Wasserlöslichkeit [188], Lipophilie [189], Siedepunkt [190-192] und Reaktivität [193], Toxizität [56] und Nichtlineare Optik [56].

3.4.1.6 Struktur-Eigenschafts-Beziehungen in chromatographischen Systemen mit chiraler Erkennung

Eine Klassifizierung von Substanzen aufgrund ihrer thermodynamischen Parameter der Wechselwirkung der Enantiomeren von Hydroxysäuren mit Chirasil-Val wurde von Epperlein durchgeführt [56]. Mit der Selbstorganisierenden Karte sollte überprüft werden, ob ein Künstliches Neuronales Netz in der Lage ist, die Daten zu interpretieren, ohne daß es Informationen über die Struktur der zugrundeliegenden Moleküle erhalten hat. Bildlich gesprochen werden die Substanzen durch den Trainingsalgorithmus so lange auf der Karte verschoben, bis eine Anordnung entsteht, in der jedes Molekül im Bereich der Eingabedaten (hier: thermodynamische Parameter) eine größtmögliche Ähnlichkeit mit seinen Nachbarn hat. Die Position eines jeden Moleküls auf der Karte ergibt sich dabei aus seinem Prototypvektor, das heißt aus dem Neuron, das am stärksten an das jeweilige Molekül adaptiert ist. Welche experimentellen Parameter die Anordnung der Moleküle dominieren, erfährt man aus der Betrachtung der Komponentenkarten. Diese geben über die gesamte Ausdehnung des Netzes den Verlauf der antrainierten Parameter wieder, der Betrag der adaptierten Gewichte ist durch das Ausmaß der Schwärzung symbolisiert.

Tatsächlich ist der Kohonenalgorithmus in besonderem Maße dazu geeignet, unübersichtliche Daten so zu klassifizieren und aufzubereiten, daß der menschliche Wissenschaftler angeregt wird, Zusammenhänge zu postu-

lieren sowie Hypothesen zu generieren und in weiteren Experimenten zu überprüfen [194]. Selbstverständlich spielt hierbei auch die Qualität der verfügbaren Daten eine wesentliche Rolle, sowohl die experimentelle Meßgenauigkeit, als auch die Auswahl der Komponenten und die Abdeckung des untersuchten Phänomens mit einer ausreichenden Anzahl von Meßpunkten. Zieht man den Aufwand für Synthese und Analytik von chemischen Substanzen in Betracht, so wird letztlich selten ein guter Datensatz zur Verfügung stehen, ohne daß gewisse Zusammenhänge bei seiner Erstellung bereits vorgedacht waren, die mit der Meßserie bestätigt werden sollten. Bedauerlicherweise waren unsere vielfältigen Versuche, von anderen Arbeitskreisen aus dem universitären Umfeld ausreichend große Datensätze zu erhalten, bislang wenig erfolgreich. Aussichtsreich dagegen dürfte die Anwendung des Kohonenalgorithmus in der industriellen Forschung sein, wo bei der Wirkstoffsuche in Screeningprozessen ständig große Datenmengen anfallen.

Die Analyse der Komponentenkarten erbrachte u. a. das interessante Ergebnis, daß viele Analyten in der GC ausreichend hohe Werte für die Enthalpiedifferenz der Wechselwirkung erreichen ($\Delta\Delta H^\circ$), infolge der Kompensation durch eine ebenfalls hohe Entropiedifferenz der Wechselwirkung ($\Delta\Delta S^\circ$) aber nur wenige Substanzen tatsächlich hohe Trennfaktoren (α) vorzuweisen haben [56]. Bei einer stationären Phase, die sich aus relativ starren Molekülen zusammensetzt, ist die Enthalpie-Entropie-Kompensation verständlicherweise besonders ausgeprägt, da die geringe Anzahl günstiger Anlagerungskomplexe mit einem besonders hohen Entropieverlust einhergeht. Dies ist jedoch als ein unerwünschter Effekt zu betrachten, der bei der Entwicklung von chiralen stationären Phasen nicht angestrebt wird, da er die Notwendigkeit einer unüberschaubaren Anzahl verschiedener CSPs als Konsequenz nach sich ziehen würde. Besser ist es, der CSP eine „*informierte Flexibilität*“ zu geben, wie sie auch biologischen Systemen innewohnt; dieser Begriff wurde von B. Koppenhoefer geprägt [195]. Mit einer optimal eingestellten Flexibilität können graduell verbesserte Trennfaktoren für eine Vielzahl von Analyten erreicht werden.

Generell ist das Verhalten der Cyclodextrin-CSPs in der GC deutlich komplizierter zu erfassen als das der Amidphasen, da die Analyten keine durch ausgeprägte Wechselwirkung mit funktionellen Gruppen motivierte Vorzugsrichtung bei der Interaktion mit dem Modellrezeptor einnehmen. Erstmals ließen sich aber auch hier Regeln aufstellen, die sich aus der Struktur der Analyten ableiten [56].

3.4.2 Ergebnisse und Diskussion

3.4.2.1 Identifizierung problemrelevanter Strukturmerkmale durch Analyse der Trennergebnisse mit Neuronalen Netzen

Neben allgemeinen Strukturmerkmalen (z. B. der Flexibilität des Analytenmoleküls) können auch charakteristische Substrukturelemente identifiziert werden, die einen Einfluß auf die Erfolgsaussichten (R_{suc}) der Enantiomertrennung an ganz bestimmten chiralen Wirten haben. Zunächst wurde eine Selbstorganisierende Karte (SOM) ausgewertet, die mit den Migrationstrennfaktoren der Analyten an allen untersuchten CSAs trainiert worden war (Abbildung 49). Bei diesem Verfahren werden Analyten mit einem ähnlichen Muster an Migrationstrennfaktoren auf identische oder benachbarte Felder der Karte abgebildet (Abbildung 50). Besser als bei der alleinigen Betrachtung der Migrationstrennfaktoren von einem einzelnen CSA treten so Strukturelemente hervor, welche die chirale Erkennung generell beeinflussen [56].

Die 23 Analyten, die an keinem der verwendeten CSAs in ihre Enantiomeren getrennt werden konnten, haben ein völlig identisches Muster an Migrationstrennfaktoren (α_m -Werten), bestehend aus sechsmal der Zahl Eins. Für das Training der Selbstorganisierenden Karte wurden daher nur die α_m -Werte derjenigen Analyten verwendet, die mindestens eine erfolgreiche Trennung aufzuweisen haben. Im Interesse kürzerer Rechenzeiten wurde eine standardisierte Karte der Dimension 10×10 Neuronen beibehalten, obwohl die Belegungsdichte der Karte mit 63 Objekten : 100 Neuronen erheblich über den in vergleichbaren Untersuchungen von

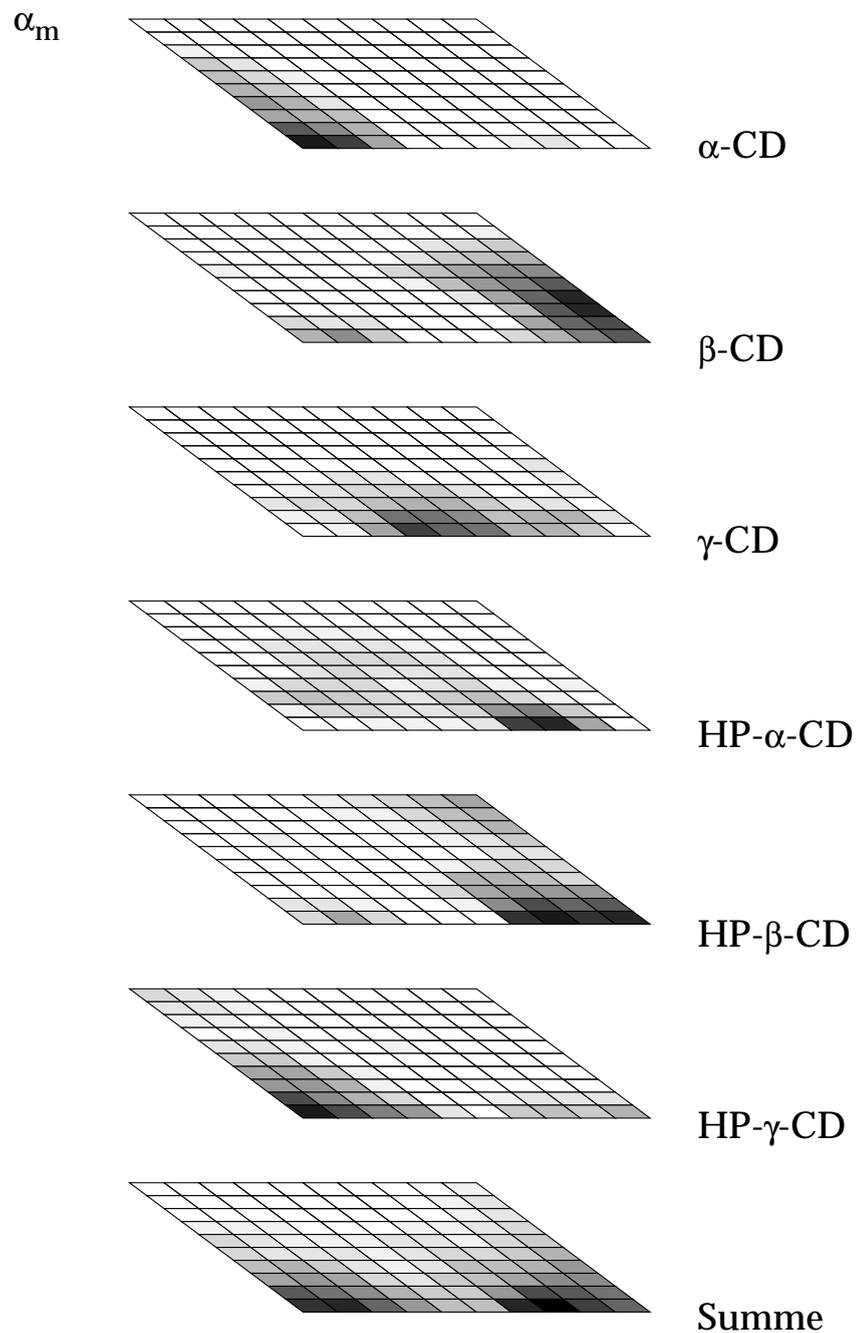


Abbildung 49: Abbildung der Migrationstrennfaktoren α_m von 63 Analyten an sechs verschiedenen CSAs durch eine Selbstorganisierende Karte (SOM). Während die sechs oberen Ebenen das Verhalten der Analyten an speziellen CSAs darstellen, wurde die unterste Ebene nach dem Training eingefügt und veranschaulicht die Summe der Trennfaktoren.

nach mehr als zwei Kriterien zu sortieren. Dies ist jedoch mit einer zweidimensionalen Darstellung *a priori* nicht möglich, es sei denn, diese Kriterien sind miteinander korreliert. Die vielen Struktureinflüsse, die für eine Trennung mit Cyclodextrinen in der Kapillarelektrophorese bedeutsam sein können, konkurrieren daher als Ordnungsprinzipien in der SOM. Es bilden sich somit kaum geschlossene Bereiche für ein bestimmtes Merkmal aus, wohl aber Cluster. Wenn bestimmte Strukturmerkmale nicht gleichmäßig über die Karte verteilt sind, könnte das zum Schluß führen, daß sie zumindest bei einem Teil der CSAs die Trennung beeinflussen.

Epperlein identifizierte auf diesem Weg zehn Strukturmerkmale, die er einer weiteren Betrachtung für würdig befand. Dabei zeigten sich allerdings auch die Grenzen dieser Methode, weil die mechanistisch bedeutsameren Retentionsdaten R_m nicht betrachtet wurden (siehe unten). Die Strukturmerkmale werden nachfolgend mit dem Symbol aus Tabelle 18 bezeichnet. In Abbildung 51 und 52 sind die Analyten mit einem Teil dieser Strukturmerkmale gesondert eingezeichnet, um einen Überblick über ihre Verteilung zu gewähren. Es soll an dieser Stelle nochmals darauf hingewiesen werden, daß es sich hier nicht mehr um geschlossene Gebiete handeln kann, sondern nur um lokale Anhäufungen von Substanzen mit identischen Strukturmerkmalen (Cluster). Oft ergibt daher die Betrachtung der von dem jeweiligen Strukturmerkmal freien Regionen auf der Karte ein klareres Bild als die mit den entsprechenden Analyten besetzten Felder.

Um die Relevanz der aufgefundenen Strukturmerkmale für die einzelnen CSAs zu überprüfen, bestimmte Epperlein die Erfolgsquoten der Enantiomertrennung gesondert für Anwesenheit und Abwesenheit des jeweiligen Strukturmerkmals [56]. Zwei ausgewählte Histogramme finden sich in Abbildung 53. In vielen Fällen ergaben sich deutliche Unterschiede [56], jedoch zeigten z. B. die Wirte α -CD und HP- γ -CD auch überraschende Gemeinsamkeiten. Insgesamt ist α -CD deutlich selektiver, was sowohl an der höheren Flexibilität als auch an der geringeren chemischen Einheitlichkeit von HP- γ -CD liegen kann. In der Zusammenfassung für alle sechs Wirte (Abbildung 54) sind die Unterschiede ebenfalls weniger deutlich ausgeprägt. Charakteristische Beispiele für das völlige Fehlen erfolgreicher

Trennungen sind Betablocker-Pharmaka (Strukturmerkmal „BB“) und Phenylethylamine (Strukturmerkmal „PH“) an α -CD.

Sym- bol	Beschreibung, Zahl des Auftretens in den mindestens einmal getrennten Analyten und Zahl des Auftretens in allen Analyten		
SA	primäres oder sekundäres Amin	29	41
TA	tertiäres oder quartäres Amin	30	40
MP	Methylierter Phenylring	5	7
HP	Halogenierter (Hetero-)Phenylring	13	16
MS	Methylgruppe am stereogenen Zentrum	16	19
CS	Carbonylgruppe am stereogenen Zentrum oder mit einem Atom dazwischen, auch als Bestandteil von Säure-, Ester- und Amidfunktionen	14	19
RR	zwei über eine Methanobrücke oder eine Heteroatom verbundene, mindestens teilweise ungesättigte Ringe	21	24
PY	Pyridinstruktur, die nicht mehrfach kondensiert ist	8	11
BB	3-Aminopropan-1,2-diol (typische Struktur von Betablocker-Pharmaka)	10	16
PH	(Hetero-)(Phenylethyl)amin mit Wasserstoffbrückendonator am Ring	13	15
3H	Arylgruppen mit 3 benachbarten C-H-Einheiten im Ring	42	50
4H	Arylgruppen mit 4 benachbarten C-H-Einheiten im Ring	37	43

Tabelle 18: Strukturmerkmale, die in der Selbstorganisierenden Karte lokale Häufungen zeigen und daher einen Einfluß auf die Enantiomertrennung an einem Teil der untersuchten CSAs nahelegen

Es sind jedoch nicht nur große Differenzen in den R_{suc} -Werten erforderlich, sondern gleichermaßen eine ausreichende Anzahl von Beispielen zu jedem Strukturmerkmal, wenn die beobachteten Unterschiede eine statistische Signifikanz erreichen und damit über die immer zu erwartenden zufälligen Unterschiede bei der Gruppeneinteilung hinausgehen sollen. Die in der Prüfung mit dem z-Test als signifikant nachgewiesenen Strukturmerkmale sind deshalb in Abbildung 53 und 54 mit einem „*“ gekennzeichnet.

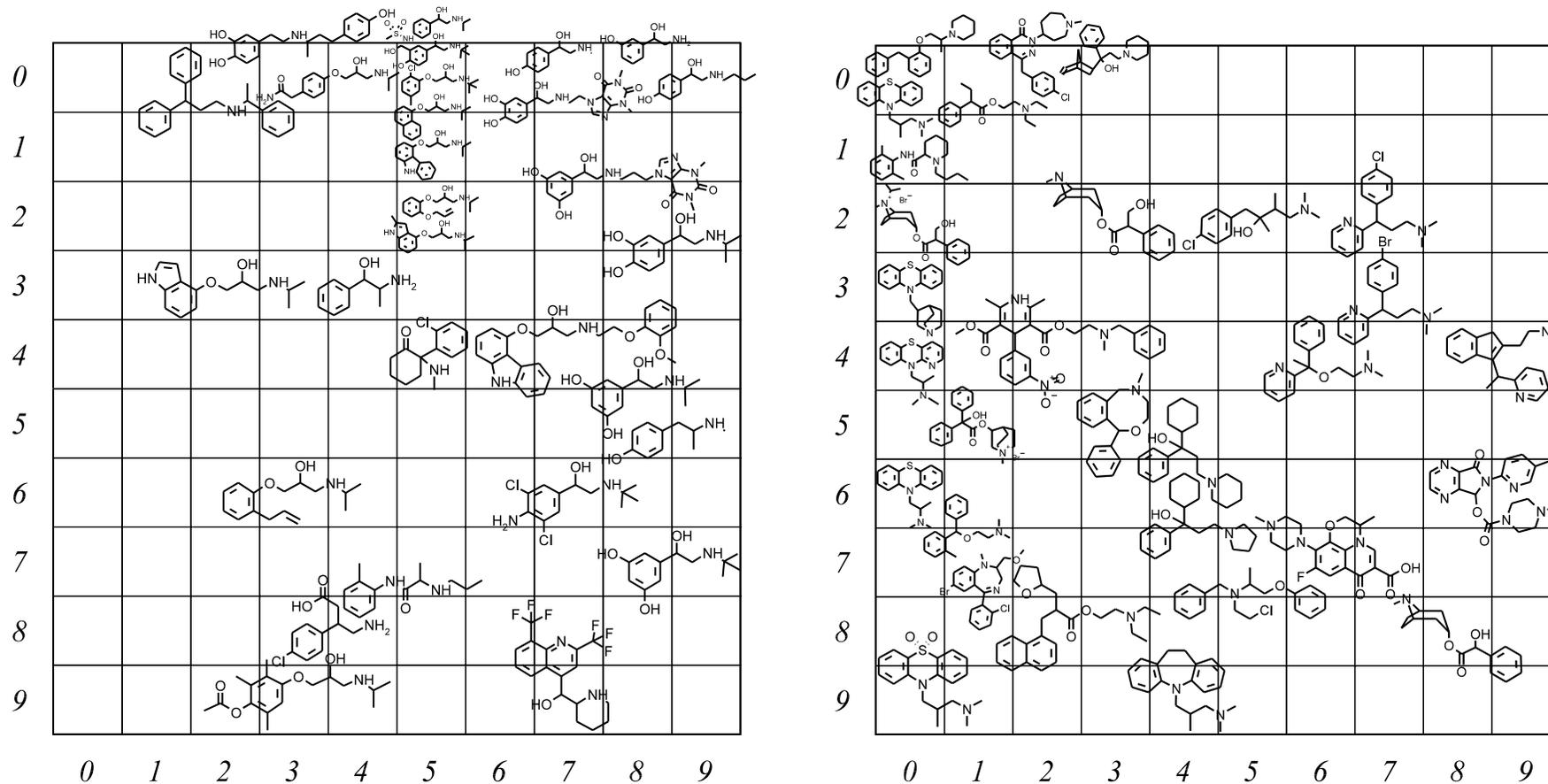


Abbildung 51: Verteilung von Analyten mit bestimmten Strukturmerkmalen auf der Selbstorganisierenden Karte (SOM) nach der Ähnlichkeit ihrer Migrationstrennfaktoren (α_m)
links: Strukturmerkmal „SA“ (primäres oder sekundäres Amin)
rechts: Strukturmerkmal „TA“ (tertiäres oder quartäres Amin)

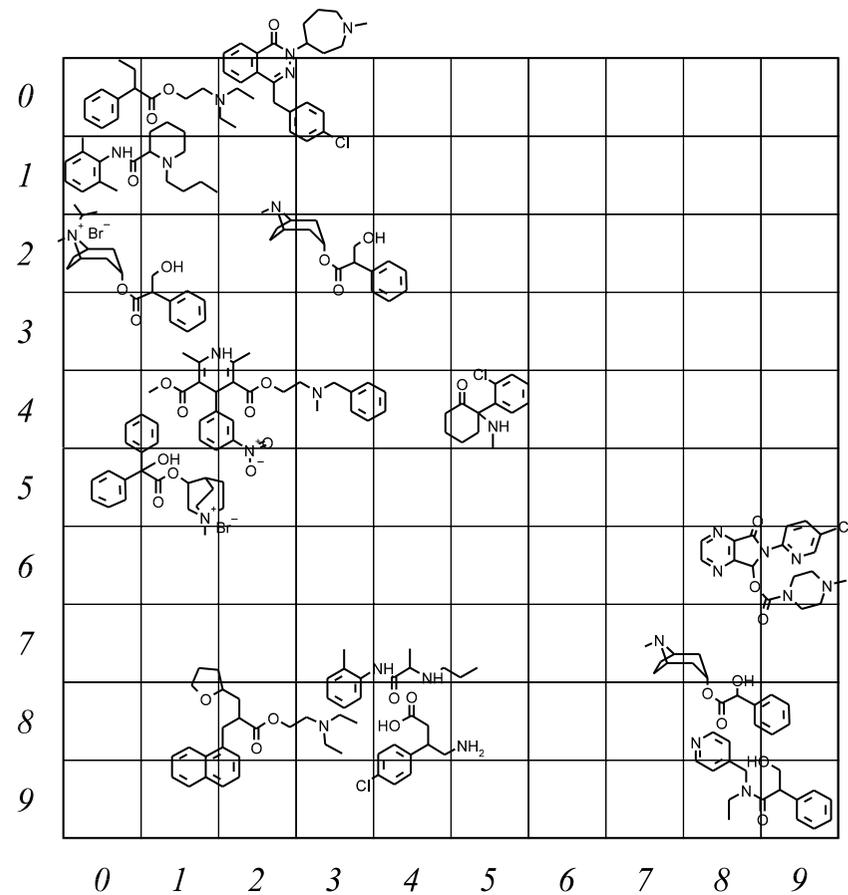
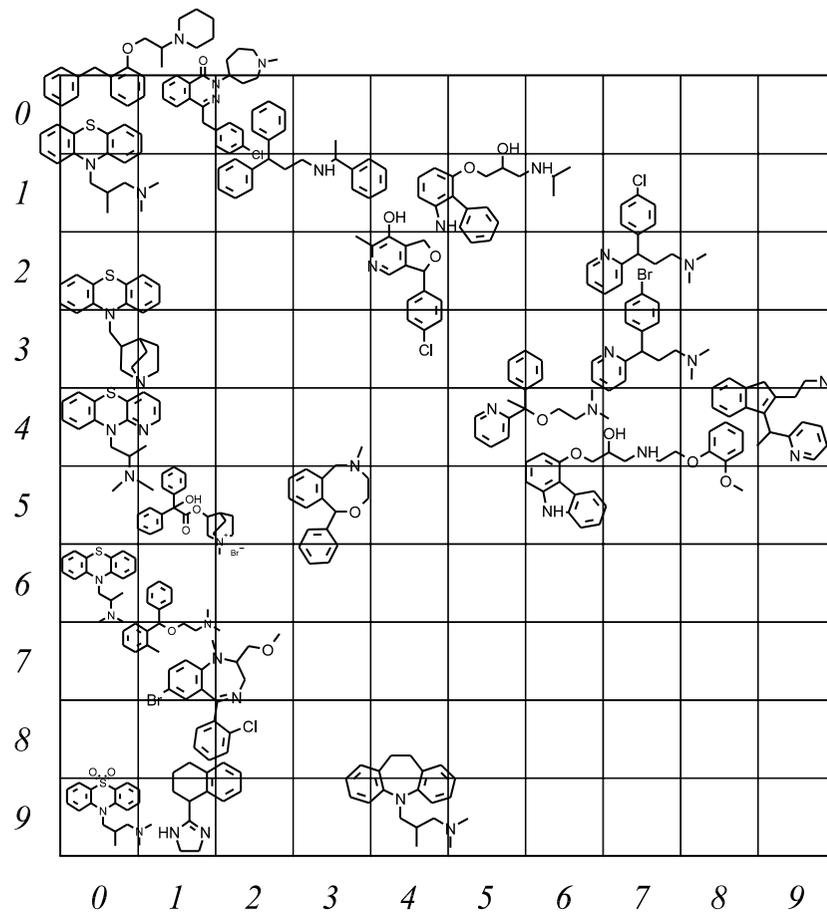


Abbildung 52: Verteilung von Analyten mit bestimmten Strukturmerkmalen auf der Selbstorganisierenden Karte (SOM) nach der Ähnlichkeit ihrer Migrationstrennfaktoren (α_m)

links: Strukturmerkmal „RR“ (zwei über eine Methanobrücke oder ein Heteroatom verbundene, mindestens teilweise ungesättigte Ringe)

rechts: Strukturmerkmal „CS“ (Carbonylgruppe am stereogenen Zentrum oder mit einem Atom dazwischen, auch als Bestandteil von Säure-, Ester- und Amidfunktionen)

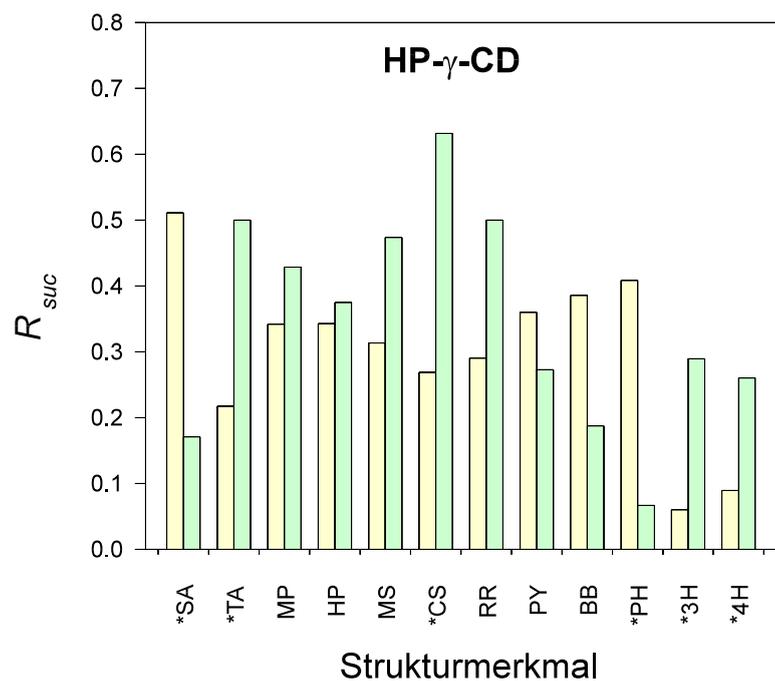
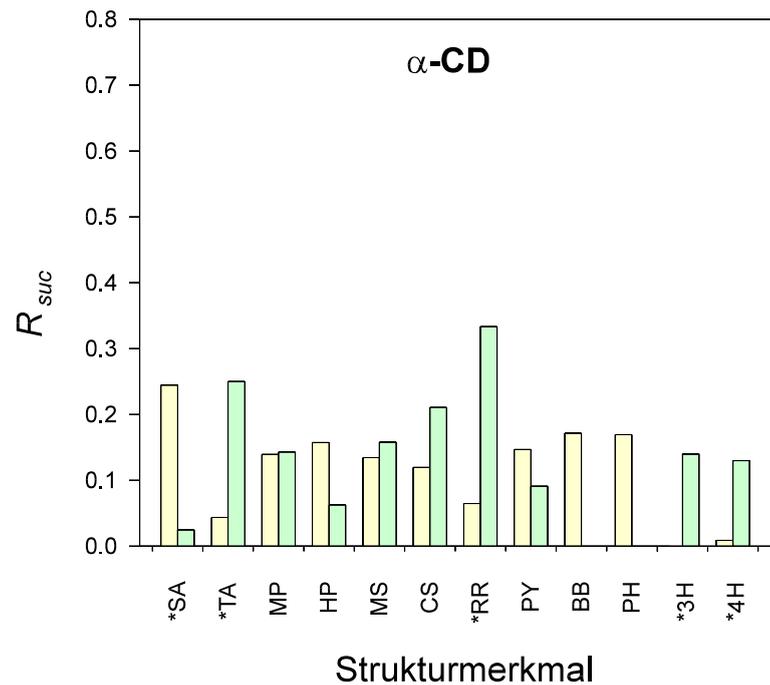


Abbildung 53: Einfluß von Strukturmerkmalen der Analyten auf die Erfolgsquote (R_{suc}) der kapillarelektrophoretische Enantiomerentrennung an α -CD (oben) und HP- γ -CD (unten). Für die Definition der Strukturmerkmale siehe Tabelle 18. Gelbe Balken: Analyten ohne das entsprechende Strukturmerkmal; grüne Balken: Analyten mit dem entsprechenden Strukturmerkmal. Strukturmerkmale mit statistisch signifikantem Einfluß auf die Erfolgsquote sind mit einem „*“ markiert.

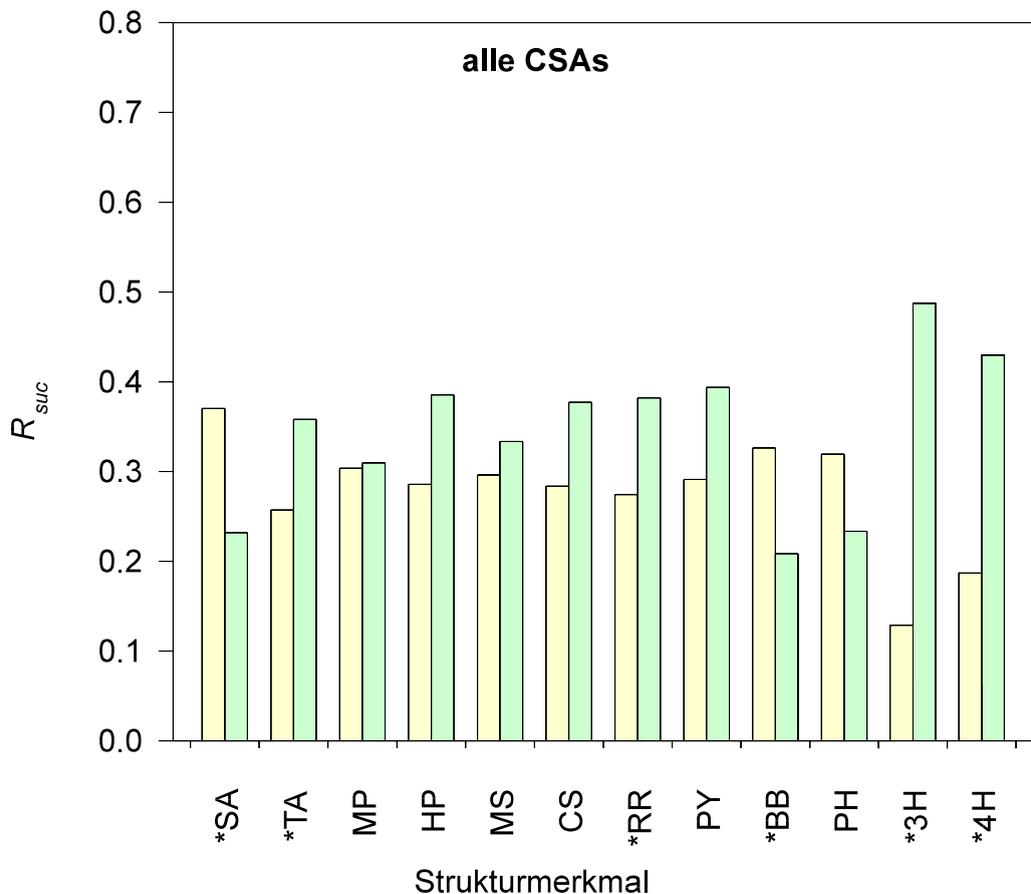


Abbildung 54: Einfluß von Strukturmerkmalen der Analyten auf die Erfolgsquote (R_{suc}) der kapillarelektrophoretische Enantiomerentrennung an allen CSAs zusammengefasst. Für die Definition der Strukturmerkmale siehe Tabelle 18. Gelbe Balken: Analyten ohne das entsprechende Strukturmerkmal; grüne Balken: Analyten mit dem entsprechenden Strukturmerkmal. Strukturmerkmale mit statistisch signifikantem Einfluß auf die Erfolgsquote sind mit einem „“ markiert.*

In vielen Fällen nivellieren sich gegensätzliche Trends, so der positive Einfluß der Phenylethylamin-Gruppierung („PH“) an β -CD und HP- β -CD und ihr negativer Einfluß an den übrigen CSAs. Dagegen weisen z. B. die primären und sekundären Amine („SA“) auch insgesamt gesehen eine signifikant geringere Erfolgsquote auf als die übrigen Verbindungen, die tertiären und quartären Amine hingegen ebenso wie die verknüpften Ring-systeme („RR“) eine signifikant höhere Erfolgsquote.

Der Einfluß der signifikanten Strukturparameter läßt sich zum großen Teil mit der bereits oben als bedeutsam erkannten Flexibilität der Analyten erklären. So läßt sich nachweisen, daß die tertiären Amine unter den untersuchten Analyten überwiegend starre Moleküle sind, die sekundären Amine hingegen im Mittel flexibler als die übrigen Analyten. Auch die im allgemeinen gute chirale Erkennung der verknüpften Ringsysteme („RR“) läßt sich mit der starren Gestalt der Moleküle begründen. Bei nur mit einer Brücke verknüpften Ringen ist zu beachten, daß eine mit der hier möglichen Torsion der Ringe einhergehende Gestaltsänderung relativ gering ist (Abbildung 55). Bei den Amidgruppen, die das Gros der Carbonylverbindungen ausmachen, wird eine Stabilisierung durch den partiellen Doppelbindungscharakter der Amidbindung erklärt (Abbildung 56).

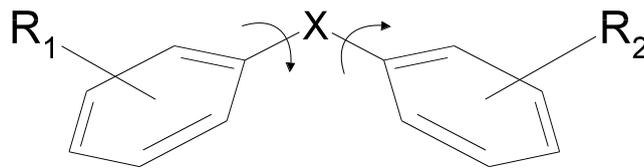


Abbildung 55: Begrenzte Gestaltsänderung bei der Torsion von (Hetero-)diarylmethansystemen

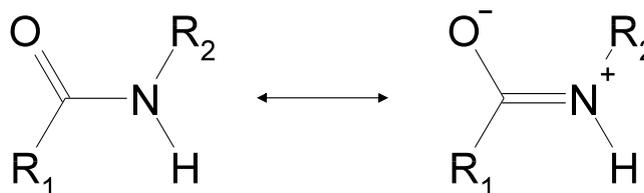


Abbildung 56: Durch Doppelbindungscharakter bewirkte Starrheit der Amidgruppe

Wie bereits zuvor aufgezeigt wurde (Abbildung 18, Seite 45), hat die Flexibilität der Analytenmoleküle grundsätzlich an allen CSAs den gleichen Einfluß. In Übereinstimmung damit zeigen solche Strukturmerkmale der Analyten keine Korrelation mit der Flexibilität, die nur an ausgewählten CSAs die Erfolgsquote beeinflussen. Hier sind vor allem die Pyridinderivate und die Phenylethylamine zu nennen. Die Ursache für die Effekte dieser

Gruppen kann nur in spezifischen Wechselwirkungen liegen, die in Abhängigkeit von der Ringgröße des Cyclodextrins in unterschiedlichem Maße begünstigt werden.

Abschließend in diesem Zusammenhang soll untersucht werden, ob die signifikanten Strukturmerkmale in ihrem Auftreten miteinander korreliert und somit zum Teil vielleicht redundant sind. Bei den Merkmalen „SA“ (primäres oder sekundäres Amin) und „TA“ (tertiäres oder quartäres Amin) gibt es unter den untersuchten Analyten keine Überschneidung; daneben kommen folgende drei Kombinationen in Betracht:

- Strukturmerkmale „TA“ (tertiäres oder quartäres Amin) und „RR“ (zwei über eine Methanobrücke oder eine Heteroatom verbundene, mindestens teilweise ungesättigte Ringe); beide mit signifikantem Einfluß auf die Erfolgsquote an α -CD
- Strukturmerkmale „TA“ (tertiäres oder quartäres Amin) und „CS“ (Carbonylgruppe am stereogenen Zentrum oder mit einem Atom dazwischen, auch als Bestandteil von Säure-, Ester- und Amidfunktionen); beide mit signifikantem Einfluß auf die Erfolgsquote an HP- γ -CD
- Strukturmerkmale „SA“ (primäres oder sekundäres Amin) und „PH“ ((Hetero-)(Phenylethyl)amin mit Wasserstoffbrückendonator am Ring); beide mit signifikantem Einfluß auf die Erfolgsquote an HP- γ -CD

Abbildung 57 zeigt relativen Anteil und Auswirkungen von Überschneidungen von ausgewählten Strukturmerkmalen. Bei α -Cyclodextrin wirken die Strukturmerkmale „TA“ und „RR“ synergistisch, jedoch konnte mangels einer ausreichenden Zahl von Beispielen noch keine Signifikanz nachgewiesen werden [56]. Erwartungsgemäß läßt sich jedoch den Gruppen „TA+RR“ und „weder TA noch RR“ ein signifikanter Unterschied nachweisen. Auch für die Auswirkung der Strukturmerkmale „TA“ und „CS“ und ihrer Kombination auf die Erfolgsquote an HP- γ -CD wird ein Synergieeffekt beobachtet, der sich teilweise auch statistisch absichern läßt (Unterschied zwischen „TA“ und „TA+CS“).

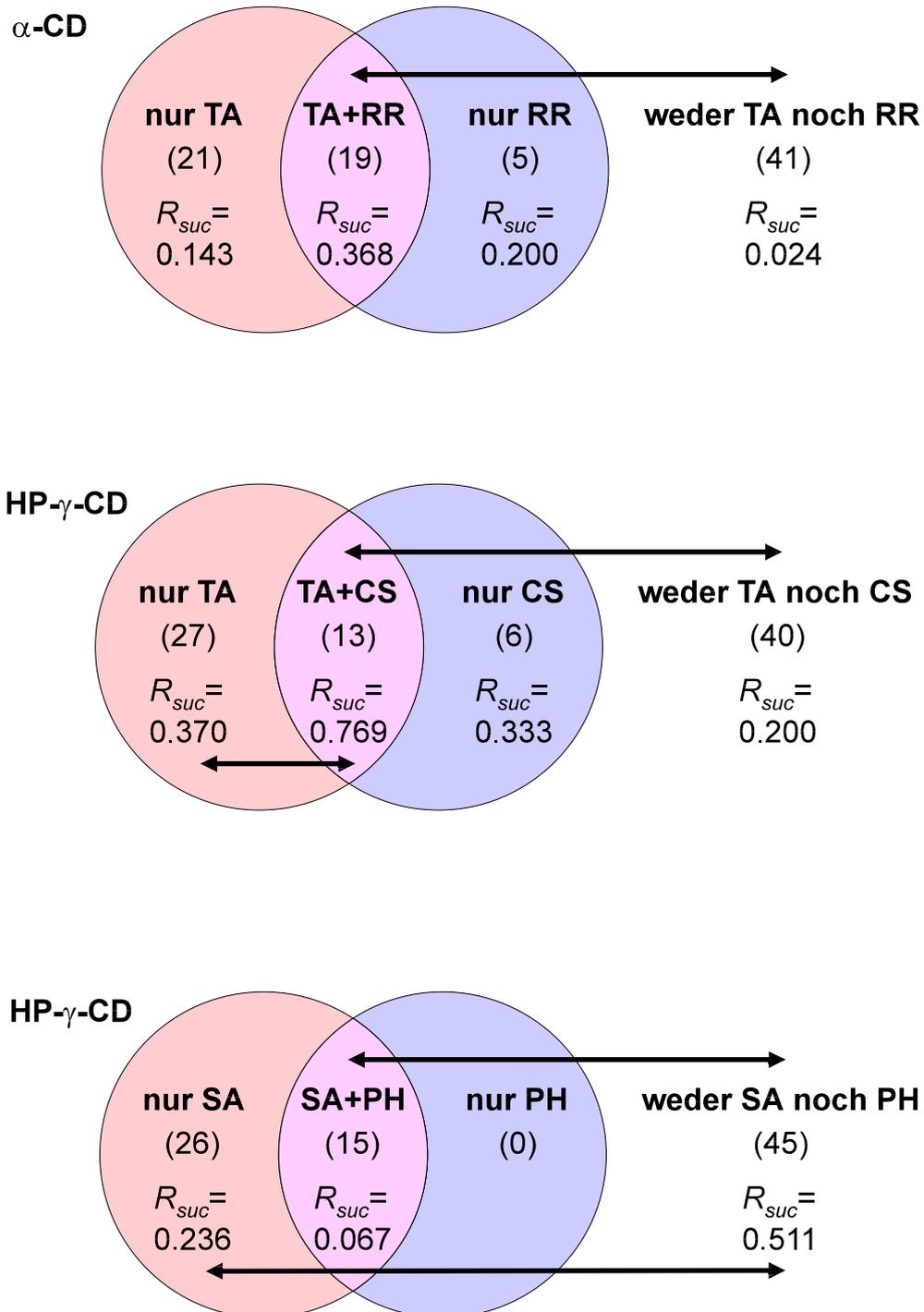


Abbildung 57: Das Verhalten der Erfolgsquote (R_{suc}) bei Überschneidung von Strukturelementen, die für sich genommen einen signifikanten Einfluß ausüben. Pfeile symbolisieren signifikante Unterschiede zwischen den Teilmengen; in Klammern jeweils die Größe der Teilmengen.

Die Phenylethylamine unter den vermessenen Analyten (genauer gesagt, die (Hetero-)(Phenylethyl)amine mit Wasserstoffbrückendonator am Ring) sind eine Teilmenge der primären bzw. sekundären Amine mit einem bereits bekannten negativen Einfluß auf die Erfolgsquote an HP- γ -CD. Auch für die übrigen primären bzw. sekundären Amine läßt sich ein solcher Effekt nachweisen, so daß die Definition beider Strukturmerkmale für sich gerechtfertigt erscheint.

Auf die Vorhersage der Trennbarkeit auf Basis von Molekülcodes muß hier aus Zeit- und Platzgründen verzichtet werden.

Nach Epperlein [56] ist in Abbildung 58 deutlich die gleichgerichtete Selektivität von α -CD und HP- γ -CD zu erkennen; beide CSAs haben den Analyten mit dem höchsten Migrationstrennfaktor (α_m) gemeinsam (Oxomemazin, dunkles Feld in den linken unteren Ecken beider Komponentenkarten). Auch die Grauwerte in beiden Karten sind weitgehend identisch verteilt, worin zum Ausdruck kommt, daß sieben der zehn Analyten mit den höchsten α_m -Werten an α -CD gleichzeitig zu den 10 Analyten mit den höchsten α_m -Werten an HP- γ -CD gehören und umgekehrt. Epperlein schlägt vor, daß die Hydroxypropylsubstituenten von HP- γ -CD die Kavität des Cyclodextrinrings verengen und an die Größenverhältnisse von nativem α -CD angleichen, womit das ähnliche Verhalten beider CSAs begründet werden könnte. Andererseits läßt sich für die Paarung β -CD und HP- β -CD in Abbildung 58 eine große Ähnlichkeit in den Grauwerten beobachten, ohne daß die zuvor genannte Hypothese hier zur Anwendung kommen kann; tatsächlich zeigen die Komponentenkarten im Detail, daß β -CD und HP- β -CD nicht die Analyten mit den jeweils höchsten α_m -Werten gemeinsam haben (visualisiert durch die Felder mit der tiefsten Schwärzung in den Komponentenkarten). Jedoch sind viele der erfolgreich getrennten Verbindungen (graue Felder in den Komponentenkarten) an beiden CSAs identisch, von den zehn Analyten mit den höchsten α_m -Werten sind hier immerhin sechs. Eine einfache Erklärung dieser Beobachtung steht noch aus, die weitere Untersuchung mit $^1\text{H-NMR}$ und MC könnte jedoch erste Einblicke in das molekulare Geschehen gewähren.

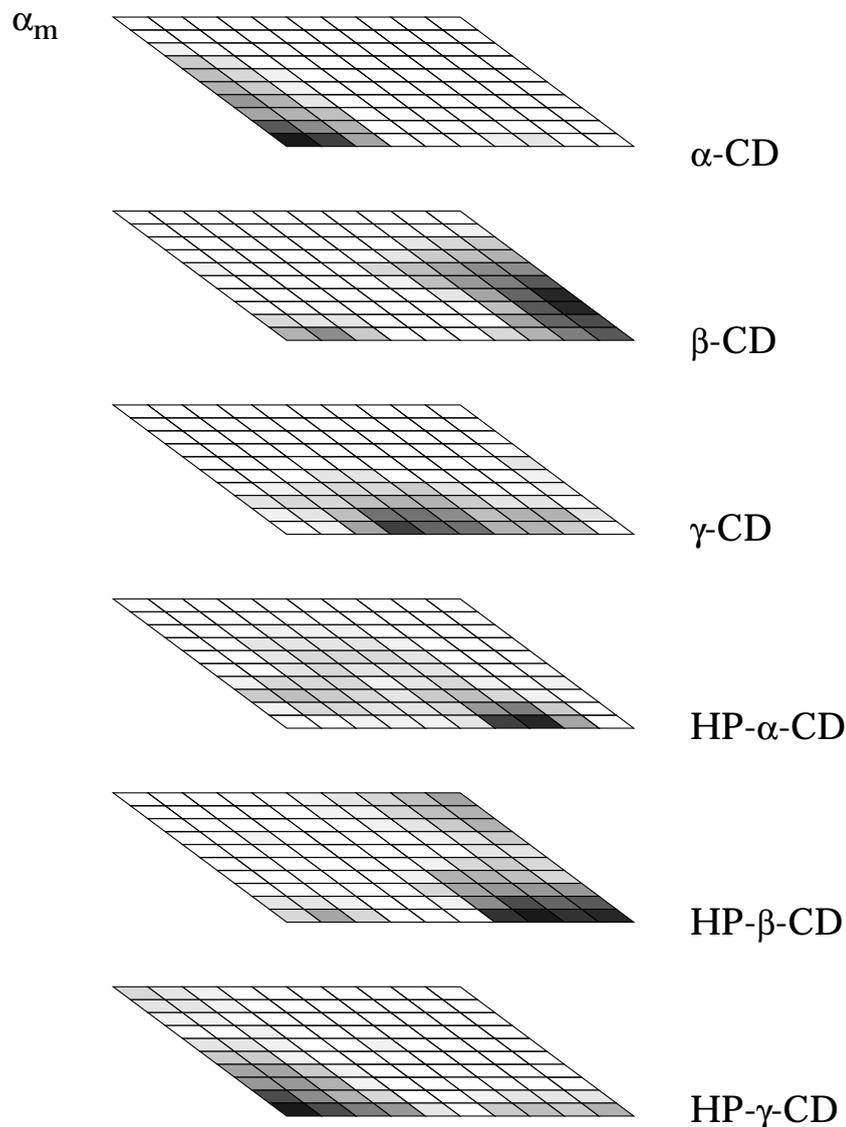


Abbildung 58: Visualisierung von Richtung und Ausmaß der Selektivität chiraler Solvatisierungsagenzien in der Kapillarelektrophorese durch die Selbstorganisierende Karte (SOM)

Eine nur scheinbare Konformität besteht zwischen HP- α -CD und HP- β -CD. Hier ist außer Mefloquin, der Verbindung mit dem augenfälligen Maximalwert der Migrationstrennfaktoren, nur ein weiterer Analyt gleichzeitig unter den 10 Analyten mit den höchsten α_m -Werten an beiden CSAs zu finden. Die wenig überlappende Verteilung der grauen Felder in den beiden Komponentenkarten bringt eher eine Komplementarität des Trennver-

haltens beider CSAs zum Ausdruck. Noch ausgeprägter tritt die Komplementarität zwischen HP- β -CD und HP- γ -CD in Erscheinung, die bereits oben mit der Erfolgsquotenanalyse beschrieben wurde.

Die Analyse der den Migrationstrennfaktoren von 63 getrennten Analyten an sechs CSAs inhärenten Informationsdimension ergab einen Wert von 1.77. Hierdurch wird die gute Eignung einer zweidimensionalen Kohonenkarte für die Visualisierung der Komponenten demonstriert und die teilweise Korrelation der Trennleistung an den einzelnen CSAs bestätigt.

3.4.2.2 Analyse der Retardierungsergebnisse mit Neuronalen Netzen

Während der Kohonen-Karte von α_m nur 63 Analyten zugrunde lagen, wurden bei R_m alle 86 Analyten eingesetzt, was den direkten Vergleich etwas erschwert. Die Anordnung der Analyten auf der Selbstorganisierenden Karte (SOM) nach der Ähnlichkeit ihrer Migrationsretardierungsfaktoren (R_m) als Summenparameter an sechs chiralen Solvatisierungsagenzien ist in Abbildung 59 dargestellt.

Die Komponentenkarte R_m (α -CD), siehe Abbildung 60, weist ähnlich wie α_m (α -CD), siehe Abbildung 58, einen dunklen Bereich links unten auf, daneben aber auch weitere Bereiche rechts unten und rechts oben. Die Komponentenkarte R_m (β -CD) unterscheidet sich wesentlich von der entsprechenden Komponentenkarte der Trennfaktoren α_m (β -CD); bei R_m (β -CD) finden sich die dunklen Stellen eher am linken unteren Rand. Die Verteilung der Schwärzung bei der Komponentenkarte R_m γ -CD zeigt ebenfalls eine gewisse Ähnlichkeit mit der von α_m (γ -CD). Für R_m (HP- α -CD) liegt der Schwerpunkt im Vergleich zu α_m (HP- α -CD) nun eher links unten; ebenfalls bei der Summenkarte. Eine Links-Rechts-Spiegelung würde u. U. eine etwas bessere Übereinstimmung zwischen den Karten für α_m und R_m ergeben, muß jedoch vertiefenden Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Wenn man die Komplementarität betrachtet, so beobachtet man, daß das Muster der Komponentenkarte R_m (α -CD) mit denen der anderen Cyclo-

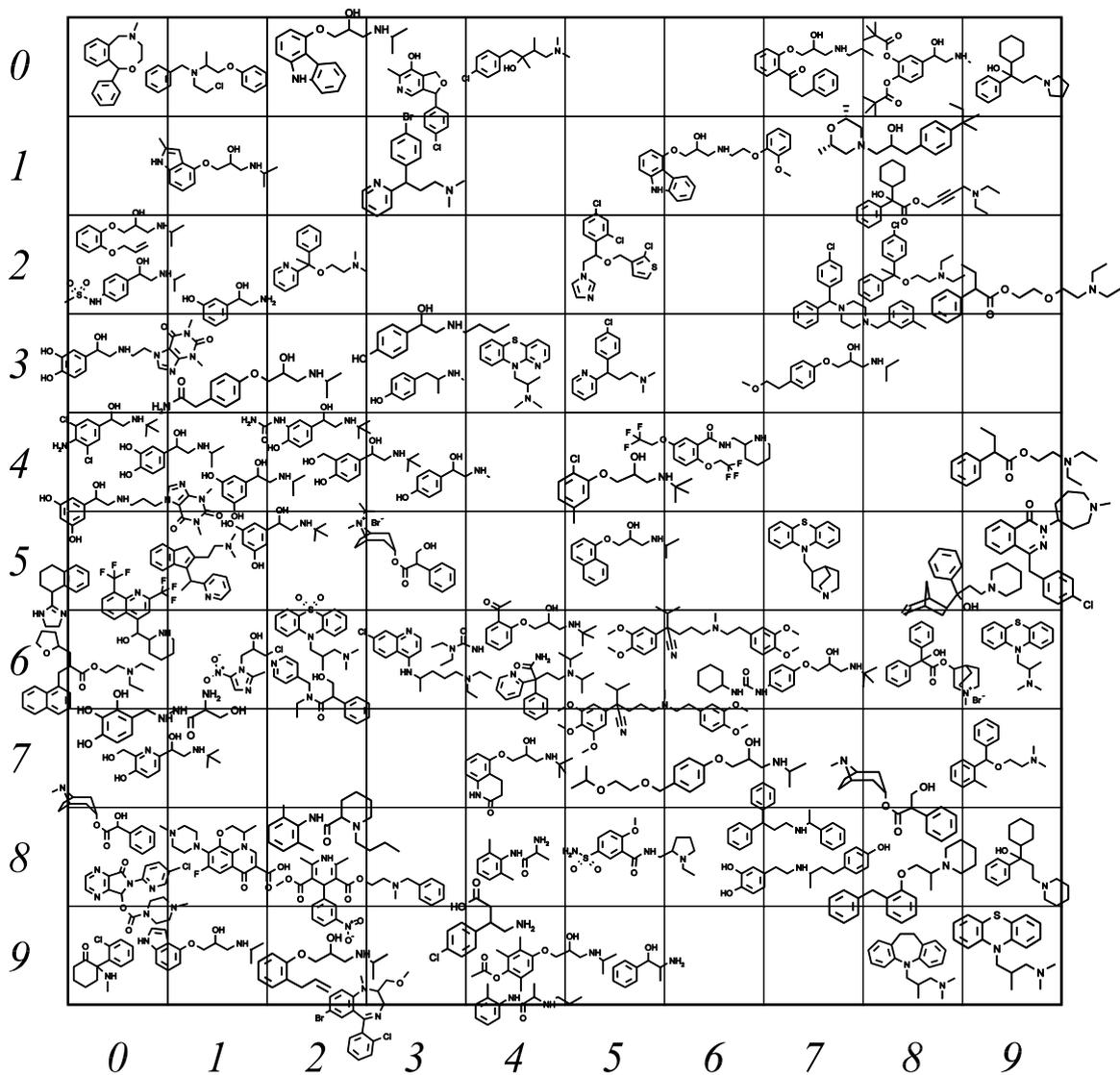


Abbildung 59: Anordnung von Analyten auf der Selbstorganisierenden Karte (SOM) nach der Ähnlichkeit ihrer Migrationsretardierungsfaktoren (R_m) als Summenparameter an sechs chiralen Solvatisierungsagenzien

dextrine besonders schlecht übereinstimmt. Dies war aufgrund der Komplementaritätstabelle (Tabelle 8) ohnehin zu erwarten. Hingegen stimmen die Karten für R_m (HP- β -CD) und R_m (HP- γ -CD) gut überein; R_m (HP- α -CD) und R_m (γ -CD) zeigen ebenfalls eine recht ähnliche Verteilung.

Entsprechend könnten Homogenitäten bzw. Inhomogenitäten in der Verteilung der Grauwerte über die jeweilige Komponentenkarte einen Hinweis

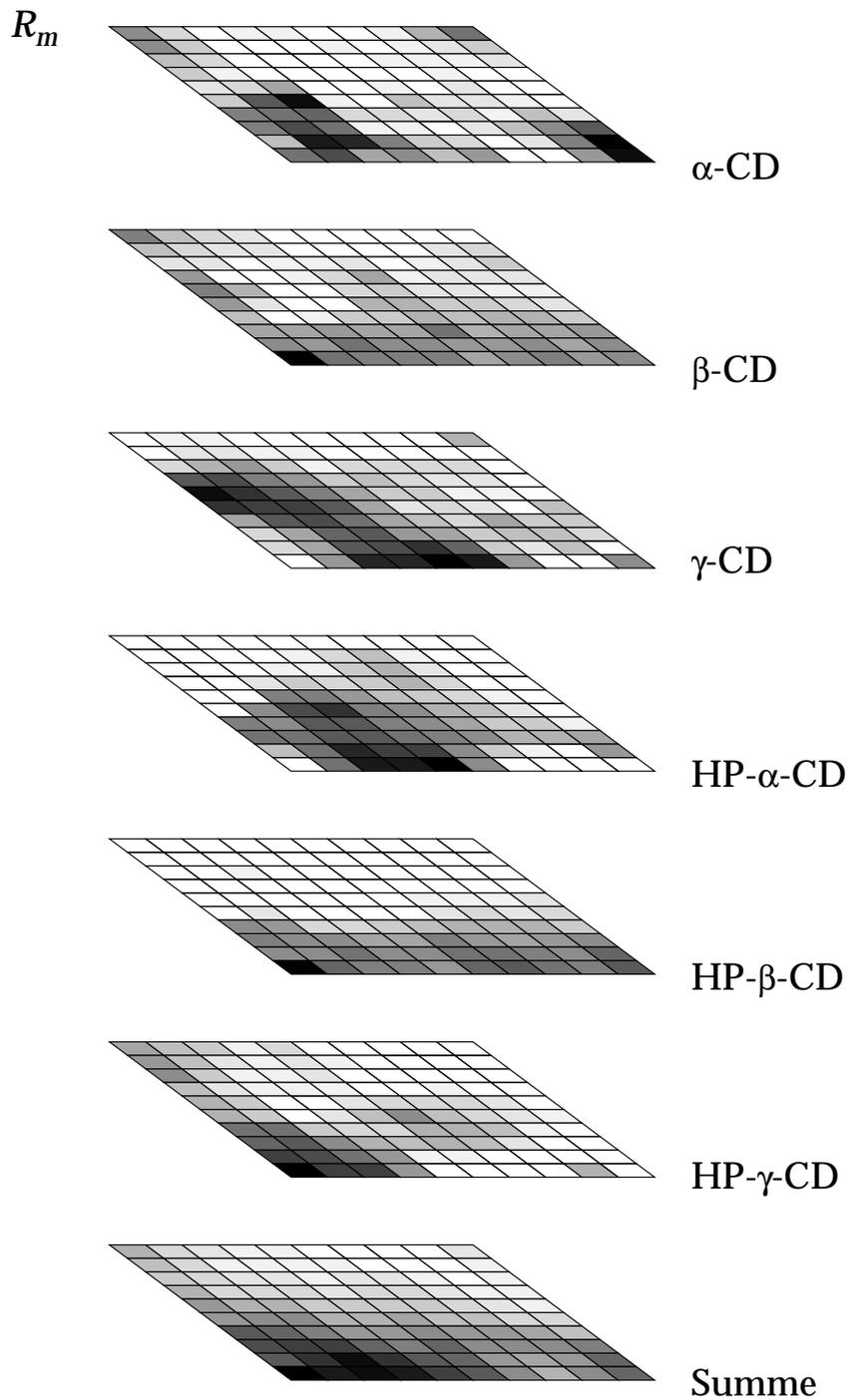


Abbildung 60: Abbildung der Migrationsretardierungsfaktoren R_m von 86 Analyten an sechs verschiedenen CSAs durch eine Selbstorganisierende Karte (SOM).

auf die Selektivität der einzelnen CSAs geben. Beim Vergleich der nativen mit den derivatisierten Cyclodextrinen fällt auf, daß die Karte zu R_m (α -CD) am stärksten „gekörnt“ ist, was mit der hohen Selektivität von α -CD in Einklang steht. R_m (β -CD) und R_m (γ -CD) sind eher „verschmiert“. Auch die R_m -Werte der hydroxypropylierten Cyclodextrine ergeben ein etwas verschmierteres Bild, weil sich diese Selektoren aufgrund der Flexibilität der Hydroxypropyl-Seitenketten an die Gestalt des jeweils eingeschlossenen Gastes anpassen können („*induced fit*“, nach Koshland, [145]), ein Effekt, der bereits in Kapitel 3.1.2.3 angesprochen wurde.

Besonderes Interesse findet nun die Frage, wie sich die als bedeutsam erkannten Motive 3H und 4H auf die Komponentenkarten für R_m der einzelnen Cyclodextrine anordnen (siehe Abbildung 61). Tatsächlich findet man auf der Komponentenkarte R_m (α -CD) im dunklen Bereich am unteren Rand zahlreiche Verbindungen mit den Strukturmerkmalen 3H bzw. 4H; auch in den dunklen Bereichen links oben und rechts oben finden sich diese Verbindungen wieder. Es besteht jedoch kein gravierender Unterschied zwischen den beiden Komponentenkarten, da 3H im Vergleich zu 4H nur wenige zusätzliche Moleküle beschreibt. Deswegen soll nachfolgend nur die Verteilung von 4H betrachtet werden.

Man erkennt zwei Schwerpunkte: unten links und unten rechts, daneben einige weitere Vertreter in der oberen linken und rechten Ecke in sehr guter Übereinstimmung mit der Verteilung der Grauwerte (Abbildung 60). Ein Vergleich der Komponentenkarten R_m (α -CD) und R_m (β -CD) zeigt, daß auch noch andere Motive außer 3H und 4H einen ähnlichen Effekt hervorrufen können, z. B. die Inklusion von Heterocyclen. Interessanterweise ist die Position von Oxomemazin (Feld 2/6) nicht besonders stark geschwärzt.

Bemerkenswert ist demgegenüber der in Abbildung 62 als Ausschnittsvergrößerung gezeigte Bereich. Hier ist eine starke Schwärzung des Feldes 2/5 auf der Kohonenkarte erkennbar, obwohl dieses Feld nicht mit einem Objekt besetzt ist.

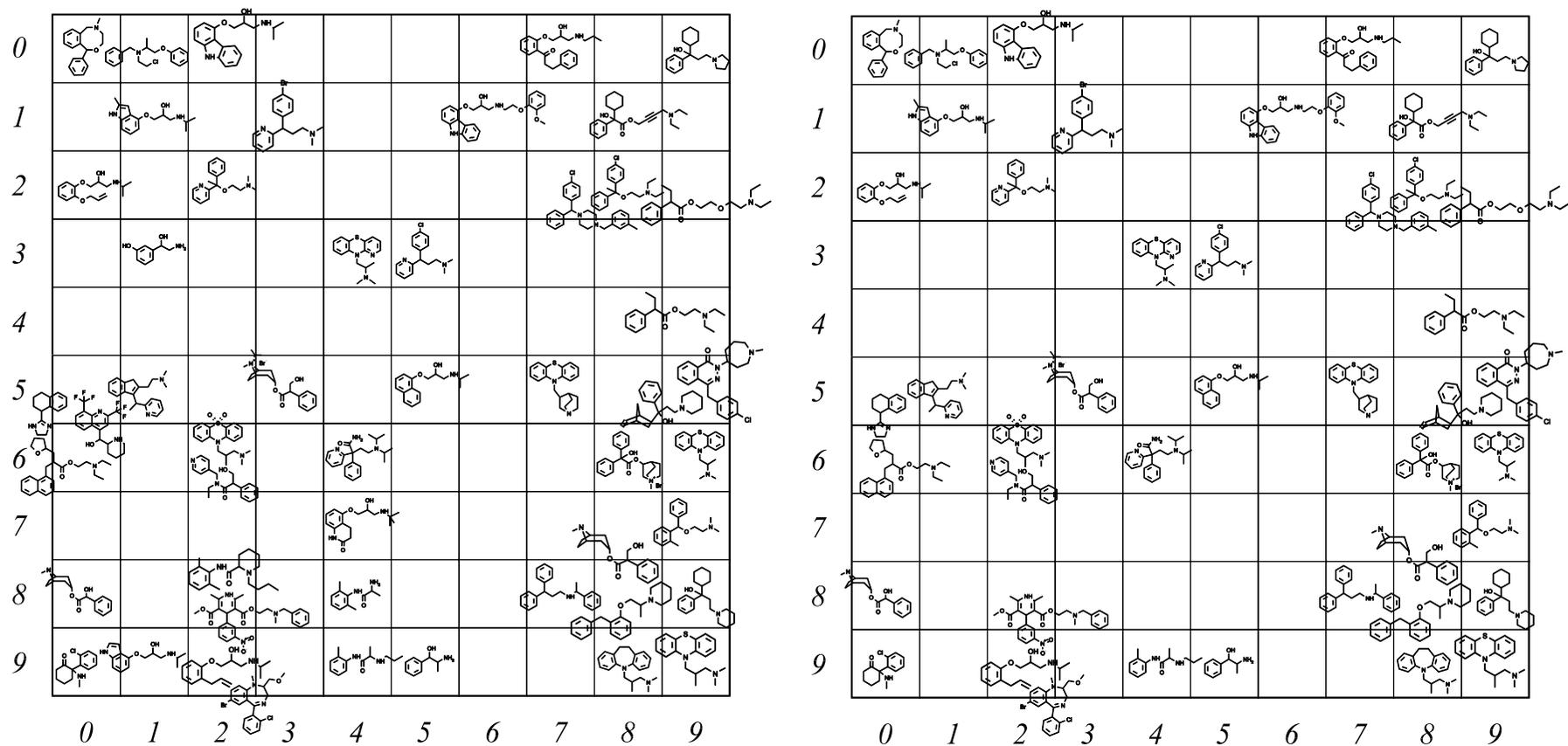


Abbildung 61: Verteilung von Analyten mit bestimmten Strukturmerkmalen auf der Selbstorganisierenden Karte (SOM) nach der Ähnlichkeit ihrer Migrationsretardierungsfaktoren (R_m)
 links: Strukturmerkmal „3H“ (Arylgruppen mit 3 benachbarten C-H-Einheiten im Ring)
 rechts: Strukturmerkmal „4H“ (Arylgruppen mit 4 benachbarten C-H-Einheiten im Ring)

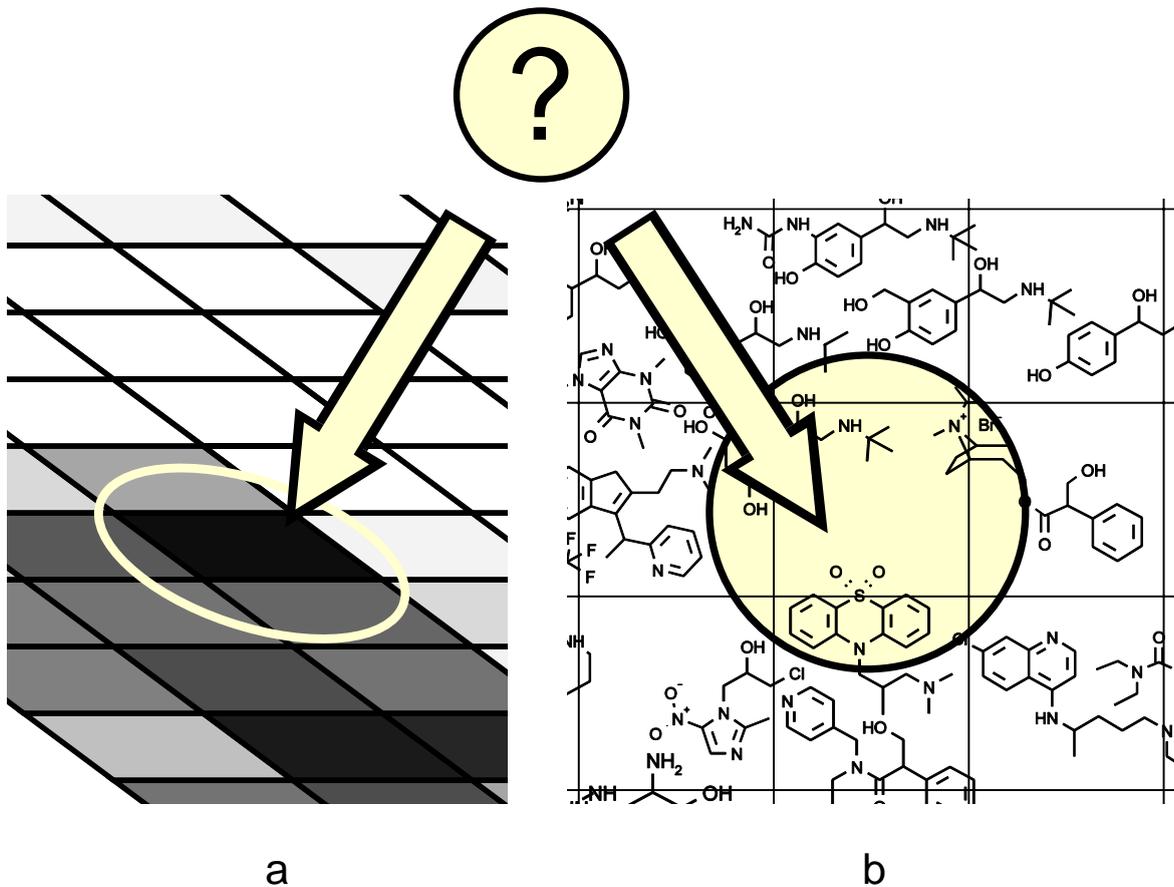


Abbildung 62: Ausschnittsvergrößerung aus Abbildung 59 und Abbildung 60

Somit kann die verwendete Methode auch auf Arzneimittel hinweisen, die noch gar nicht existieren, aber eine große Wechselwirkung aufweisen sollten. Man könnte sich hier die Frage stellen, welches Arzneimittel auf dem o.g. Komponentenfeld zum Liegen kommt, bisher allerdings noch nicht Teilnehmer am Screening-Programm ist.

Die Strukturen der umliegenden Moleküle könnten so die Phantasie des Chemikers anregen, um neue Moleküle mit noch besseren Eigenschaften zu synthetisieren.

4. Experimenteller Teil

4.1 Kapillarelektrophorese

Die Messungen wurden in Tübingen vorbereitet und in Kooperation mit Prof. Lin Bingcheng, Dalian (VR China) und seinen Mitarbeitern Ji Yibing und Zhu Xiaofeng in Teamarbeit durchgeführt. Hiermit danke ich allen Beteiligten für ihre vielfältige Unterstützung.

4.1.1 Instrumentation und Versuchsbedingungen

CE-Gerät: Bio-Focus 3000, Bio-Rad Laboratories

Kapillarmaterial: Quarzkapillare, 0.05 mm ID, 0.375 mm OD (Yongnian Optical Conductive Fiber Plant, Yongnian, Provinz Hebei, V.R. China), Innenfläche mit Polyacrylamid überzogen

Injektion: 15 kV für 3 sec

Analyse: 15 kV + → -

Detektion: UV, 200 bzw. 210 nm

Kapillartemperatur: 25 °C

Basispuffer: Natriumdihydrogenphosphat 100 mmol/l, pH 2.5, Hercules, Ca, USA

Probenlösung: 0.1 g/ml in Basispuffer

4.1.2 Chemikalien

CSAs: Wacker Chemie

Analyten: Allergan, Ankerpharm, Arzneimittelwerk Dresden, ASTA Medica, Astra Chemicals, Bayer, Boehringer Mannheim, Chephasaar, Ciba-Geigy, Dispersa, Dolorgiet, Durachemie, Gödecke, Hexal, Intersan, Jena-pharm, Kali-Chemie, Klinge, Knoll, Kreussler, Krewel, Mann, Medice, E. Merck, 3M Medica, Pfizer, Pharmacia, Rhône-Poulenc Rorer, Robugen, Roche, Röhm Pharma, Schering, Sigma, Thiemann, Wellcopharm, Zyma

Übrige Reagenzien: Analysenreinheit

4.1.3 Kapillarlängen

Kapillare A: 29 cm Gesamtlänge, 24.5 cm effektive Länge (Länge bis zum Detektor): Alprenolol, Atenolol, Baclofen, Bamethan, Benserazid, Bisoprolol, Bupranolol, Butamirat, Butetamat, Carbuterol, Celiprolol, Clenbuterol, Clobutinol, Dipivefrin, Isoprenalin, Metipranolol, Metoprolol, Norfenefrin, Orciprenalin, Ornidazol, Oxprenolol, Phenylpropanolamin, Pholedrin, Pirbuterol, Prilocain, Procyclidin, Salbutamol, Sotalol, Synephrin, Terbutalin, Tocainid

Kapillare B: 30 cm Gesamtlänge, 25.5 cm effektive Länge: Amorolfen, Bromphenamin, Bupivacain, Carteolol, Chloroquin, Chlorphenamin, Chlorphenoxamin, Disopyramid, Dobutamin, Doxylamin, Flecainid, Gallopamil, Ketamin, Mepindolol, Orphenadrin, Oxybutynin, Phenoxybenzamin, Pindolol, Propafenon, Propranolol, Sulpirid, Talinolol, Tropicamid, Verapamil

Kapillare C: 36 cm Gesamtlänge, 31.5 cm effektive Länge: Azelastin, Biperiden, Carvedilol, Clidiniumbromid, Meclozin, Mequitazin, Ofloxacin, Zopiclon

Kapillare D: 32 cm Gesamtlänge, 27.5 cm effektive Länge: Alimemazin, Atropin, Benproperin, Carazolol, Cicletanin, Dimetinden, Fendilin, Homatropin, Ipratropiumbromid, Isothipendyl, Mefloquin, Metaclozepam, Naftidrofuryl, Nefopam, Nicardipin, Oxomemazin, Promethazin, Reproterol, Tetryzolin, Theodrenalin, Tioconazol, Trihexyphenidyl, Trimipramin

4.1.4 Migrationszeiten und daraus abgeleitete Parameter

Zur besseren Übersicht über die Trennbarkeit der Analyten sind in Tabelle 4 nur bei erfolgreichen Trennexperimenten Werte für $t_m(2)$ angegeben; für $\alpha_m = 1$ gilt $t_m(2) = t_m(1)$.

Verbindung	CSA	$t_m(1)$	$t_m(2)$	α_m	R_m
Alimemazin	ohne	5.18			
	α -CD	14.16		1	2.734
	β -CD	13.34		1	2.575
	γ -CD	10.61		1	2.048
	HP- α -CD	11.92	12.13	1.018	2.342
	HP- β -CD	18.80		1	3.629
	HP- γ -CD	9.70	9.97	1.028	1.925
Alprenolol	ohne	5.90			
	α -CD	8.18		1	1.386
	β -CD	10.21		1	1.731
	γ -CD	13.90	14.12	1.016	2.393
	HP- α -CD	16.64	17.23	1.035	2.920
	HP- β -CD	16.23	16.52	1.018	2.800
	HP- γ -CD	12.18	12.41	1.019	2.103
Amorolfin	ohne	5.57			
	α -CD	15.18		1	2.725
	β -CD	13.20		1	2.370
	γ -CD	10.89		1	1.955
	HP- α -CD	14.37		1	2.580
	HP- β -CD	16.50		1	2.962
	HP- γ -CD	17.15		1	3.079

4. Experimenteller Teil

Atenolol	ohne	6.14			
	α -CD	6.51		1	1.060
	β -CD	8.49		1	1.383
	γ -CD	8.04		1	1.309
	HP- α -CD	7.67		1	1.249
	HP- β -CD	11.04	11.17	1.012	1.819
	HP- γ -CD	8.07		1	1.314
Atropin	ohne	5.27			
	α -CD	9.44		1	1.791
	β -CD	11.37		1	2.157
	γ -CD	8.54		1	1.620
	HP- α -CD	8.60	8.73	1.015	1.657
	HP- β -CD	14.87		1	2.822
	HP- γ -CD	10.79	10.84	1.005	2.057
Azelastin	ohne	6.68			
	α -CD	11.47		1	1.717
	β -CD	13.81		1	2.067
	γ -CD	19.56		1	2.928
	HP- α -CD	15.53		1	2.325
	HP- β -CD	23.39		1	3.501
	HP- γ -CD	11.17	11.30	1.012	1.692
Baclofen	ohne	5.20			
	α -CD	5.73		1	1.102
	β -CD	6.09		1	1.171
	γ -CD	15.76	16.31	1.035	3.137
	HP- α -CD	16.82	17.31	1.029	3.329
	HP- β -CD	8.23		1	1.583
	HP- γ -CD	6.53		1	1.256
Bamethan	ohne	5.42			
	α -CD	5.48		1	1.011
	β -CD	6.99		1	1.290
	γ -CD	11.41		1	2.105
	HP- α -CD	9.76		1	1.801
	HP- β -CD	10.01	10.74	1.073	1.982
	HP- γ -CD	7.05		1	1.301

4. Experimenteller Teil

Benproperin	ohne	5.50			
	α -CD	12.48		1	2.269
	β -CD	12.86		1	2.338
	γ -CD	9.56		1	1.738
	HP- α -CD	10.81	10.94	1.012	1.989
	HP- β -CD	17.03		1	3.096
	HP- γ -CD	15.73	16.02	1.018	2.913
Benserazid	ohne	5.20			
	α -CD	5.49		1	1.056
	β -CD	5.48		1	1.054
	γ -CD	5.39		1	1.037
	HP- α -CD	5.62		1	1.081
	HP- β -CD	6.24		1	1.200
	HP- γ -CD	6.00		1	1.154
Biperiden	ohne	7.01			
	α -CD	12.47		1	1.779
	β -CD	16.46		1	2.348
	γ -CD	20.38		1	2.907
	HP- α -CD	14.96		1	2.134
	HP- β -CD	24.43		1	3.485
	HP- γ -CD	11.09	11.21	1.011	1.599
Bisoprolol	ohne	6.81			
	α -CD	8.08		1	1.186
	β -CD	14.05		1	2.063
	γ -CD	12.29		1	1.805
	HP- α -CD	10.97		1	1.611
	HP- β -CD	15.40		1	2.261
	HP- γ -CD	12.24		1	1.797
Bromphenamin	ohne	2.71			
	α -CD	3.36		1	1.240
	β -CD	6.57	6.66	1.014	2.458
	γ -CD	6.98		1	2.576
	HP- α -CD	8.48	8.57	1.011	3.162
	HP- β -CD	5.83	5.94	1.019	2.192
	HP- γ -CD	4.00		1	1.476

4. Experimenteller Teil

Bupivacain	ohne	4.81			
	α -CD	6.23		1	1.295
	β -CD	6.25		1	1.299
	γ -CD	6.77		1	1.407
	HP- α -CD	7.60	7.68	1.011	1.597
	HP- β -CD	6.88	6.94	1.009	1.443
	HP- γ -CD	7.31	7.46	1.021	1.551
Bupranolol	ohne	5.49			
	α -CD	6.25		1	1.138
	β -CD	10.60		1	1.931
	γ -CD	9.82		1	1.789
	HP- α -CD	12.57		1	2.290
	HP- β -CD	12.81	13.07	1.020	2.381
	HP- γ -CD	9.95		1	1.812
Butamirat	ohne	5.41			
	α -CD	9.15		1	1.691
	β -CD	14.16		1	2.617
	γ -CD	15.27		1	2.823
	HP- α -CD	17.29		1	3.196
	HP- β -CD	16.90		1	3.124
	HP- γ -CD	16.67		1	3.081
Butetamat	ohne	5.04			
	α -CD	7.80		1	1.548
	β -CD	13.33		1	2.645
	γ -CD	15.54		1	3.083
	HP- α -CD	17.08		1	3.389
	HP- β -CD	13.20		1	2.619
	HP- γ -CD	13.19	13.40	1.016	2.659
Carazolol	ohne	5.66			
	α -CD	8.71		1	1.539
	β -CD	7.71		1	1.362
	γ -CD	8.22		1	1.452
	HP- α -CD	10.88	10.99	1.010	1.942
	HP- β -CD	13.53	13.75	1.016	2.429
	HP- γ -CD	12.97		1	2.292

4. Experimenteller Teil

Carbuterol	ohne	5.81			
	α -CD	5.79		1	0.997
	β -CD	6.46		1	1.112
	γ -CD	7.11		1	1.224
	HP- α -CD	7.41		1	1.275
	HP- β -CD	7.23		1	1.244
	HP- γ -CD	8.16		1	1.404
Carteolol	ohne	5.10			
	α -CD	6.57		1	1.288
	β -CD	6.97		1	1.367
	γ -CD	6.18		1	1.212
	HP- α -CD	7.82		1	1.533
	HP- β -CD	7.64		1	1.498
	HP- γ -CD	7.98		1	1.565
Carvedilol	ohne	7.12			
	α -CD	14.45		1	2.029
	β -CD	13.43	13.81	1.028	1.940
	γ -CD	17.22		1	2.419
	HP- α -CD	15.58		1	2.188
	HP- β -CD	19.72		1	2.770
	HP- γ -CD	17.90		1	2.514
Celiprolol	ohne	7.05			
	α -CD	7.41		1	1.051
	β -CD	8.59		1	1.218
	γ -CD	11.08		1	1.572
	HP- α -CD	11.52		1	1.634
	HP- β -CD	10.38		1	1.472
	HP- γ -CD	11.58		1	1.643
Chloroquin	ohne	2.81			
	α -CD	3.03		1	1.078
	β -CD	3.37		1	1.199
	γ -CD	4.04		1	1.438
	HP- α -CD	5.24		1	1.865
	HP- β -CD	3.36		1	1.196
	HP- γ -CD	3.49		1	1.242

4. Experimenteller Teil

Chlorphenamin	ohne	2.56			
	α -CD	3.05		1	1.191
	β -CD	5.34	5.39	1.009	2.105
	γ -CD	6.27		1	2.449
	HP- α -CD	7.69		1	3.004
	HP- β -CD	6.69	6.83	1.021	2.668
	HP- γ -CD	3.55		1	1.387
Chlorphenoxamin	ohne	4.47			
	α -CD	11.33		1	2.535
	β -CD	12.14		1	2.716
	γ -CD	10.80		1	2.416
	HP- α -CD	14.93		1	3.340
	HP- β -CD	15.45		1	3.456
	HP- γ -CD	12.24		1	2.738
Cicletanin	ohne	5.50			
	α -CD	8.08		1	1.469
	β -CD	12.80		1	2.327
	γ -CD	13.35		1	2.427
	HP- α -CD	14.35	14.67	1.022	2.667
	HP- β -CD	15.71	15.89	1.011	2.889
	HP- γ -CD	9.65		1	1.755
Clenbuterol	ohne	6.35			
	α -CD	7.25		1	1.142
	β -CD	7.04	7.24	1.028	1.140
	γ -CD	6.60		1	1.039
	HP- α -CD	7.28	7.45	1.023	1.173
	HP- β -CD	9.96	10.62	1.066	1.672
	HP- γ -CD	10.45		1	1.646
Clidiniumbromid	ohne	6.42			
	α -CD	10.52	10.70	1.017	1.667
	β -CD	15.34		1	2.389
	γ -CD	9.71		1	1.512
	HP- α -CD	10.59		1	1.650
	HP- β -CD	20.50		1	3.193
	HP- γ -CD	10.65	10.93	1.026	1.702

4. Experimenteller Teil

Clobutinol	ohne	4.85			
	α -CD	6.22		1	1.282
	β -CD	12.74		1	2.627
	γ -CD	14.80		1	3.052
	HP- α -CD	17.75	17.98	1.013	3.707
	HP- β -CD	14.79	14.98	1.013	3.089
	HP- γ -CD	9.71		1	2.002
Dimetinden	ohne	3.17			
	α -CD	4.01		1	1.265
	β -CD	5.29	5.47	1.034	1.726
	γ -CD	5.00	5.07	1.014	1.599
	HP- α -CD	4.94		1	1.558
	HP- β -CD	5.14	5.26	1.023	1.659
	HP- γ -CD	4.25		1	1.341
Dipivefrin	ohne	6.10			
	α -CD	9.32		1	1.528
	β -CD	15.47		1	2.536
	γ -CD	8.94		1	1.466
	HP- α -CD	10.37		1	1.700
	HP- β -CD	17.43		1	2.857
	HP- γ -CD	19.08		1	3.128
Disopyramid	ohne	3.96			
	α -CD	4.94		1	1.247
	β -CD	6.06		1	1.530
	γ -CD	6.13		1	1.548
	HP- α -CD	6.37		1	1.609
	HP- β -CD	5.54		1	1.399
	HP- γ -CD	5.80		1	1.465
Dobutamin	ohne	5.34			
	α -CD	9.08		1	1.700
	β -CD	11.58		1	2.169
	γ -CD	7.29		1	1.365
	HP- α -CD	9.42		1	1.764
	HP- β -CD	14.03		1	2.627
	HP- γ -CD	10.08	10.17	1.009	1.904

4. Experimenteller Teil

Doxylamin	ohne	2.53			
	α -CD	2.78		1	1.099
	β -CD	4.08	4.17	1.022	1.648
	γ -CD	4.81		1	1.901
	HP- α -CD	4.58	4.74	1.035	1.874
	HP- β -CD	3.56		1	1.407
	HP- γ -CD	3.17		1	1.253
Fendilin	ohne	6.05			
	α -CD	12.25		1	2.025
	β -CD	13.27		1	2.193
	γ -CD	11.13		1	1.840
	HP- α -CD	11.77		1	1.945
	HP- β -CD	16.74		1	2.767
	HP- γ -CD	14.92	15.09	1.011	2.494
Flecainid	ohne	5.27			
	α -CD	7.08		1	1.343
	β -CD	8.88		1	1.685
	γ -CD	9.62		1	1.825
	HP- α -CD	12.19		1	2.313
	HP- β -CD	10.46		1	1.985
	HP- γ -CD	8.08		1	1.533
Gallopamil	ohne	6.27			
	α -CD	8.24		1	1.314
	β -CD	10.20		1	1.627
	γ -CD	8.58		1	1.368
	HP- α -CD	10.64		1	1.697
	HP- β -CD	10.79		1	1.721
	HP- γ -CD	9.68		1	1.544
Homatropin	ohne	5.05			
	α -CD	8.01		1	1.586
	β -CD	8.78	9.15	1.042	1.812
	γ -CD	7.98	8.21	1.029	1.626
	HP- α -CD	7.67	7.91	1.031	1.566
	HP- β -CD	10.11	11.11	1.099	2.200
	HP- γ -CD	8.70	8.80	1.011	1.743

4. Experimenteller Teil

Ipratropiumbromid	ohne	5.41			
	α -CD	9.57	9.65	1.008	1.784
	β -CD	11.59		1	2.142
	γ -CD	9.13		1	1.688
	HP- α -CD	8.96		1	1.656
	HP- β -CD	15.94	16.10	1.010	2.976
	HP- γ -CD	10.10	10.21	1.011	1.887
Isoprenalin	ohne	5.11			
	α -CD	5.22		1	1.022
	β -CD	6.48	6.59	1.017	1.290
	γ -CD	6.20		1	1.213
	HP- α -CD	7.18		1	1.405
	HP- β -CD	8.71	9.26	1.063	1.812
	HP- γ -CD	7.04		1	1.378
Isothipendyl	ohne	4.80			
	α -CD	8.51	8.70	1.022	1.813
	β -CD	10.87	11.00	1.012	2.292
	γ -CD	10.38		1	2.163
	HP- α -CD	11.04		1	2.300
	HP- β -CD	15.08	15.32	1.016	3.192
	HP- γ -CD	11.54	11.75	1.018	2.448
Ketamin	ohne	3.76			
	α -CD	7.74		1	2.059
	β -CD	7.42	7.51	1.012	1.997
	γ -CD	6.50		1	1.729
	HP- α -CD	7.13	7.36	1.032	1.957
	HP- β -CD	6.71	6.79	1.012	1.806
	HP- γ -CD	7.42	7.55	1.018	2.008
Meclozin	ohne	6.62			
	α -CD	16.47		1	2.488
	β -CD	18.41		1	2.781
	γ -CD	16.79		1	2.536
	HP- α -CD	17.82		1	2.692
	HP- β -CD	20.81		1	3.144
	HP- γ -CD	15.92		1	2.405

4. Experimenteller Teil

Mefloquin	ohne	6.31			
	α -CD	8.56	8.66	1.012	1.372
	β -CD	7.44	7.58	1.019	1.201
	γ -CD	8.62	8.82	1.023	1.398
	HP- α -CD	11.65	13.39	1.149	2.122
	HP- β -CD	14.50	16.89	1.165	2.677
	HP- γ -CD	11.77	12.16	1.033	1.927
Mepindolol	ohne	4.68			
	α -CD	6.59		1	1.408
	β -CD	7.31		1	1.562
	γ -CD	6.23		1	1.331
	HP- α -CD	8.14	8.26	1.015	1.765
	HP- β -CD	8.42	8.55	1.015	1.827
	HP- γ -CD	8.49		1	1.814
Mequitazin	ohne	6.16			
	α -CD	9.31	9.48	1.018	1.539
	β -CD	17.01		1	2.761
	γ -CD	11.71		1	1.901
	HP- α -CD	14.22		1	2.308
	HP- β -CD	18.90		1	3.068
	HP- γ -CD	12.23		1	1.985
Metaclozepam	ohne	5.67			
	α -CD	8.15	8.35	1.025	1.473
	β -CD	9.73		1	1.716
	γ -CD	8.82	8.91	1.010	1.571
	HP- α -CD	9.78	10.32	1.055	1.820
	HP- β -CD	12.77	13.02	1.020	2.296
	HP- γ -CD	9.61	9.97	1.037	1.758
Metipranolol	ohne	6.11			
	α -CD	7.17		1	1.173
	β -CD	7.14		1	1.169
	γ -CD	8.78	9.35	1.065	1.530
	HP- α -CD	11.21	11.48	1.024	1.879
	HP- β -CD	10.54		1	1.725
	HP- γ -CD	11.61	12.48	1.075	2.043

4. Experimenteller Teil

Metoprolol	ohne	5.57			
	α -CD	6.90		1	1.239
	β -CD	12.27		1	2.203
	γ -CD	13.41		1	2.408
	HP- α -CD	14.41		1	2.587
	HP- β -CD	14.20		1	2.549
	HP- γ -CD	10.59		1	1.901
Naftidrofuryl	ohne	6.15			
	α -CD	13.41	13.71	1.022	2.229
	β -CD	12.71	12.84	1.010	2.088
	γ -CD	10.28	10.49	1.020	1.706
	HP- α -CD	10.63	10.91	1.026	1.774
	HP- β -CD	17.30	17.47	1.010	2.841
	HP- γ -CD	15.61	15.97	1.023	2.597
Nefopam	ohne	4.90			
	α -CD	9.35		1	1.908
	β -CD	13.09		1	2.671
	γ -CD	8.16	8.25	1.011	1.684
	HP- α -CD	8.96	9.29	1.037	1.896
	HP- β -CD	18.67	18.87	1.011	3.851
	HP- γ -CD	10.36		1	2.114
Nicardipin	ohne	6.81			
	α -CD	12.30	12.41	1.009	1.822
	β -CD	9.26		1	1.360
	γ -CD	10.27		1	1.508
	HP- α -CD	11.06	11.37	1.028	1.670
	HP- β -CD	12.74	12.91	1.013	1.896
	HP- γ -CD	13.77	13.93	1.012	2.046
Norfenefrin	ohne	3.95			
	α -CD	4.08		1	1.033
	β -CD	4.93		1	1.248
	γ -CD	5.05		1	1.278
	HP- α -CD	5.41	5.48	1.013	1.387
	HP- β -CD	8.49	8.94	1.053	2.263
	HP- γ -CD	5.12		1	1.296

4. Experimenteller Teil

Ofloxacin	ohne	6.42			
	α -CD	7.98		1	1.243
	β -CD	8.35		1	1.301
	γ -CD	8.73	8.86	1.015	1.380
	HP- α -CD	8.00	8.37	1.046	1.304
	HP- β -CD	9.24	9.87	1.068	1.537
	HP- γ -CD	7.46	7.53	1.009	1.173
Orciprenalin	ohne	5.17			
	α -CD	5.38		1	1.041
	β -CD	7.94	8.25	1.039	1.596
	γ -CD	6.50		1	1.257
	HP- α -CD	6.97		1	1.348
	HP- β -CD	11.53	12.21	1.059	2.362
	HP- γ -CD	7.51		1	1.453
Ornidazol	ohne	13.38			
	α -CD	15.57		1	1.164
	β -CD	9.88		1	0.738
	γ -CD	13.39		1	1.001
	HP- α -CD	23.91		1	1.787
	HP- β -CD	13.62		1	1.018
	HP- γ -CD	15.31		1	1.144
Orphenadrin	ohne	4.46			
	α -CD	9.58	9.77	1.020	2.191
	β -CD	11.79		1	2.643
	γ -CD	7.76	7.89	1.017	1.769
	HP- α -CD	10.43	10.90	1.045	2.444
	HP- β -CD	14.39		1	3.226
	HP- γ -CD	12.20	12.90	1.057	2.892
Oxomemazin	ohne	5.28			
	α -CD	10.56	11.23	1.063	2.127
	β -CD	10.77	10.97	1.019	2.078
	γ -CD	8.32		1	1.576
	HP- α -CD	9.69		1	1.835
	HP- β -CD	13.21	13.36	1.011	2.530
	HP- γ -CD	13.06	14.41	1.103	2.729

4. Experimenteller Teil

Oxprenolol	ohne	5.17			
	α -CD	5.83		1	1.128
	β -CD	7.07		1	1.368
	γ -CD	6.50		1	1.257
	HP- α -CD	10.77	10.95	1.017	2.118
	HP- β -CD	10.02	10.16	1.014	1.965
	HP- γ -CD	8.56		1	1.656
Oxybutynin	ohne	5.43			
	α -CD	13.89		1	2.558
	β -CD	12.89		1	2.374
	γ -CD	9.40		1	1.731
	HP- α -CD	12.51		1	2.304
	HP- β -CD	15.88		1	2.924
	HP- γ -CD	15.45		1	2.845
Phenoxybenzamin	ohne	4.63			
	α -CD	8.88		1	1.918
	β -CD	8.86		1	1.914
	γ -CD	7.50	7.70	1.027	1.663
	HP- α -CD	9.37	9.84	1.050	2.125
	HP- β -CD	11.19	11.72	1.047	2.531
	HP- γ -CD	10.30		1	2.225
Phenylpropanolamin	ohne	3.94			
	α -CD	4.08		1	1.036
	β -CD	5.46		1	1.386
	γ -CD	6.40		1	1.624
	HP- α -CD	6.21	6.40	1.031	1.624
	HP- β -CD	7.23		1	1.835
	HP- γ -CD	5.05		1	1.282
Pholedrin	ohne	4.10			
	α -CD	4.41		1	1.076
	β -CD	9.09	9.40	1.034	2.293
	γ -CD	7.27		1	1.773
	HP- α -CD	6.39		1	1.559
	HP- β -CD	11.27	11.75	1.043	2.866
	HP- γ -CD	5.84		1	1.424

4. Experimenteller Teil

Pindolol	ohne	4.55			
	α -CD	6.78		1	1.490
	β -CD	6.93		1	1.523
	γ -CD	5.29		1	1.163
	HP- α -CD	7.78	7.95	1.022	1.747
	HP- β -CD	9.52	9.70	1.019	2.132
	HP- γ -CD	8.85	8.94	1.010	1.965
Pirbuterol	ohne	3.83			
	α -CD	3.77		1	0.984
	β -CD	3.46		1	0.903
	γ -CD	4.07		1	1.063
	HP- α -CD	4.00		1	1.044
	HP- β -CD	4.24		1	1.107
	HP- γ -CD	4.02		1	1.050
Prilocain	ohne	6.01			
	α -CD	5.27		1	0.877
	β -CD	6.64		1	1.105
	γ -CD	8.37	8.71	1.041	1.449
	HP- α -CD	8.05	8.32	1.034	1.384
	HP- β -CD	8.77		1	1.459
	HP- γ -CD	7.12		1	1.185
Procyclidin	ohne	3.93			
	α -CD	8.12		1	2.066
	β -CD	16.68		1	4.244
	γ -CD	16.07	16.34	1.017	4.158
	HP- α -CD	16.35	16.67	1.020	4.242
	HP- β -CD	18.94		1	4.819
	HP- γ -CD	14.33		1	3.646
Promethazin	ohne	5.06			
	α -CD	11.00	11.35	1.032	2.243
	β -CD	12.86		1	2.542
	γ -CD	9.93		1	1.962
	HP- α -CD	12.29	12.41	1.010	2.453
	HP- β -CD	18.01		1	3.559
	HP- γ -CD	15.35	15.97	1.040	3.156

4. Experimenteller Teil

Propafenon	ohne	5.42			
	α -CD	10.72		1	1.978
	β -CD	11.67		1	2.153
	γ -CD	8.02		1	1.480
	HP- α -CD	12.78		1	2.358
	HP- β -CD	16.39		1	3.024
	HP- γ -CD	14.49		1	2.673
Propranolol	ohne	4.73			
	α -CD	7.35		1	1.554
	β -CD	9.03		1	1.909
	γ -CD	6.23		1	1.317
	HP- α -CD	10.55		1	2.230
	HP- β -CD	13.50	13.75	1.019	2.907
	HP- γ -CD	11.03		1	2.332
Reproterol	ohne	7.21			
	α -CD	8.88		1	1.232
	β -CD	9.80	9.96	1.016	1.381
	γ -CD	8.78		1	1.218
	HP- α -CD	8.94		1	1.240
	HP- β -CD	13.08	13.69	1.047	1.899
	HP- γ -CD	10.12		1	1.404
Salbutamol	ohne	5.42			
	α -CD	5.52		1	1.018
	β -CD	6.62		1	1.221
	γ -CD	6.77		1	1.249
	HP- α -CD	6.88		1	1.269
	HP- β -CD	7.74	7.90	1.021	1.458
	HP- γ -CD	7.51		1	1.386
Sotalol	ohne	5.33			
	α -CD	5.88		1	1.103
	β -CD	8.77		1	1.645
	γ -CD	6.52		1	1.223
	HP- α -CD	6.58		1	1.235
	HP- β -CD	10.62	10.82	1.019	2.030
	HP- γ -CD	8.68		1	1.629

4. Experimenteller Teil

Sulpirid	ohne	4.71			
	α -CD	5.74		1	1.219
	β -CD	6.81		1	1.446
	γ -CD	5.56		1	1.180
	HP- α -CD	6.32		1	1.342
	HP- β -CD	7.40		1	1.571
	HP- γ -CD	6.54		1	1.389
Synephrin	ohne	4.26			
	α -CD	4.34		1	1.019
	β -CD	6.12		1	1.437
	γ -CD	6.71		1	1.575
	HP- α -CD	6.39		1	1.500
	HP- β -CD	8.12	8.43	1.038	1.979
	HP- γ -CD	5.52		1	1.296
Talinolol	ohne	6.99			
	α -CD	8.95		1	1.280
	β -CD	13.60		1	1.946
	γ -CD	11.04		1	1.579
	HP- α -CD	15.29		1	2.187
	HP- β -CD	18.94		1	2.710
	HP- γ -CD	12.88		1	1.843
Terbutalin	ohne	5.48			
	α -CD	5.55		1	1.013
	β -CD	8.72	9.20	1.055	1.679
	γ -CD	6.63		1	1.210
	HP- α -CD	7.06		1	1.288
	HP- β -CD	13.57	14.84	1.094	2.708
	HP- γ -CD	8.01		1	1.462
Tetryzolin	ohne	4.24			
	α -CD	6.15	6.46	1.050	1.524
	β -CD	6.99	7.27	1.040	1.715
	γ -CD	6.97	7.02	1.007	1.656
	HP- α -CD	6.78	6.85	1.010	1.616
	HP- β -CD	8.28	9.04	1.092	2.132
	HP- γ -CD	6.71	7.21	1.075	1.700

4. Experimenteller Teil

Theodrenalin	ohne	6.96			
	α -CD	8.49		1	1.220
	β -CD	8.73		1	1.254
	γ -CD	8.27		1	1.188
	HP- α -CD	8.45		1	1.214
	HP- β -CD	11.19	11.57	1.034	1.662
	HP- γ -CD	9.46		1	1.359
Tioconazol	ohne	5.48			
	α -CD	14.92		1	2.723
	β -CD	13.28	13.38	1.008	2.442
	γ -CD	14.65		1	2.673
	HP- α -CD	15.18		1	2.770
	HP- β -CD	19.66	19.87	1.011	3.626
	HP- γ -CD	18.81	19.04	1.012	3.474
Tocainid	ohne	4.50			
	α -CD	4.76		1	1.058
	β -CD	5.02		1	1.116
	γ -CD	5.59		1	1.242
	HP- α -CD	5.99		1	1.331
	HP- β -CD	6.74		1	1.498
	HP- γ -CD	6.49		1	1.442
Trihexyphenidyl	ohne	6.23			
	α -CD	11.36		1	1.823
	β -CD	13.91		1	2.233
	γ -CD	13.71	13.90	1.014	2.231
	HP- α -CD	13.57	13.77	1.015	2.210
	HP- β -CD	19.51		1	3.132
	HP- γ -CD	12.87		1	2.066
Trimipramin	ohne	5.49			
	α -CD	15.13		1	2.756
	β -CD	13.69		1	2.494
	γ -CD	10.81	11.21	1.037	2.042
	HP- α -CD	11.82		1	2.153
	HP- β -CD	19.18		1	3.494
	HP- γ -CD	18.30	18.54	1.013	3.377

Tropicamid	ohne	4.73			
	α -CD	6.24		1	1.319
	β -CD	9.65	10.09	1.046	2.133
	γ -CD	6.63		1	1.402
	HP- α -CD	8.43		1	1.782
	HP- β -CD	11.38	13.08	1.149	2.765
	HP- γ -CD	7.13	7.42	1.041	1.569
Verapamil	ohne	6.74			
	α -CD	9.56		1	1.418
	β -CD	12.43		1	1.844
	γ -CD	9.48		1	1.407
	HP- α -CD	12.98		1	1.926
	HP- β -CD	16.39		1	2.432
	HP- γ -CD	13.01		1	1.930
Zopiclon	ohne	6.98			
	α -CD	11.61		1	1.663
	β -CD	10.72	11.42	1.065	1.636
	γ -CD	10.94	11.06	1.011	1.585
	HP- α -CD	10.33	10.64	1.030	1.524
	HP- β -CD	10.22	10.43	1.021	1.494
	HP- γ -CD	8.31	8.40	1.011	1.203

Tabelle 4: Migrationszeiten und daraus abgeleitete Parameter von chiralen Arzneistoffen in der Kapillarelektrophorese. CSA-Konzentration 15 mmol/l (β -CD) bzw. 45 mmol/l (übrige CSAs).

4.1.5 Entwurf der Datenbank Chirbase/CE

Die systematische Erfassung der eigenen wie der von anderen Autoren publizierten experimentellen Ergebnisse in einer Moleküldatenbank ist eine wesentliche Voraussetzung dafür, aus der bisher breit gestreuten Information wertvolle Erkenntnisse über die Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der molekularen Interaktion zu gewinnen. Es wurde daher von Epperlein [56]

eine Datenbankstruktur konzipiert, die sich an die bereits existierenden Sektionen von Chirbase [35] anlehnt und somit einen weiteren Schritt zu einem umfassenden Informationssystem auf dem Gebiet der Enantiomeren-trennung darstellt.

Wie die bereits existierenden Sektionen von Chirbase beinhaltet Chirbase/CE Informationen über Name und Struktur des Analyten und die – in der Kapillarelektrochromatographie vorhandene – chirale Stationäre Phase, Angaben über die Versuchsbedingungen, die experimentellen Ergebnisse und die Literaturquellen. Besonderheiten der CE-Datenbank liegen in der Aufnahme von Trennungen mit Hilfe von chiralen Solvatisierungsmitteln (CSAs), in der Berücksichtigung einzelner Operationsmodi in der Feldstruktur (Angabe von k' -Werten nur in der MEKC) und in der von vornherein breiter angelegten Erfassung von Details wie der elektroosmotischen Flußrate, der Kapillarvorbehandlung, dem Hersteller und der Modellbezeichnung des CE-Geräts. Aus Zeitgründen wieder aufgegeben wurden ursprüngliche Pläne, auch die Peakbreiten und elektrophoretischen Mobilitäten zu erfassen. Ebenso wurden Felder wieder aufgegeben, weil die Literatur nur sehr selten Informationen enthielt; dies betrifft die Proben-temperatur, das Injektionsvolumen und die Reproduzierbarkeit der Migrationszeiten.

In einer Testphase, während der die Datenbankstruktur ausgehend von der ursprünglichen Konzeption an die praktischen Bedürfnisse angepaßt wurde, sind insgesamt 2173 Einträge in der Datenbank Chirbase/CE entstanden. Darüber hinaus wurden mehr als 350 Originalartikel und zahlreiche Dokumente aus anderen Quellen (Poster, Abstracts, Reviews, Werbung) hinsichtlich ihres Informationsgehalts indexiert und so für die Erstellung detaillierter Datenbankeinträge vorbereitet. Insbesondere wurden mehr als 780 verschiedene Enantiomerenpaare und mehr als 160 unterschiedliche CSAs zur weiteren Verarbeitung in entsprechende Moleküldatenbanken aufgenommen (Chirbase/CE, Version 1/97).

In Tabelle 19 wird die Datenbankstruktur von Chirbase/CE zusammenfassend vorgestellt.

Feldname	Feldinhalt	Maßeinheit	Feldtyp*
ID	Identifikationsnummer des Eintrags		IntID
METHOD	Analytische Methode (in dieser Datenbank immer CE)		VarText
MODE	Betriebsart des CE-Geräts, z.B. CZE, MEKC, CGE, CEC, ITP		Vartext
MOL NAME	Name des Analyten (wie in der Publikation aufgeführt)		VarText
MOL NO	Kennnummer für jeden Analyten, unabhängig von anderen Datenbankteilen		FxText/9
CHIRALITY	Typ der Chiralität des Analyten		VarText
Fst	Konfiguration des ersteluierten Enantiomers		VarText
Sec	Konfiguration des zweiteluierten Enantiomers		VarText
tm1	Migrationszeit des ersteluierten Enantiomers	min	Real/2
tm2	Migrationszeit des zweiteluierten Enantiomers	min	Real/2
tm2/tm1	Migrationstrennfaktor		Real/3
RES	Peakauflösung		Real/2
k1	Kapazitätsfaktor des ersteluierten Enantiomers		Real/2
k2	Kapazitätsfaktor des zweiteluierten Enantiomers		Real/2
BUFFER TYPE	Name des Basiselektrolyten		VarText
BUFFER CONC	Konzentration des Basiselektrolyten	mmol/l	Real/1
BUFFER pH	pH-Wert des Basiselektrolyten		Real/2
MODIFIER1 TYPE	Name eines den Basiselektrolyten modifizierenden Agens (außer CSA)		VarText
MODIF1 CONC	Konzentration eines den Basiselektrolyten modifizierenden Agens	mmol/l	Real/1
MODIFIER2 TYPE	Name eines weiteren den Basiselektrolyten modifizierenden Agens (außer CSA)		VarText
MODIF2 CONC	Konzentration eines weiteren den Basiselektrolyten modifizierenden Agens	mmol/l	Real/1
CSA NAME	chemische Bezeichnung des chiralen Solvatisierungsagens		VarText

4. Experimenteller Teil

CSA CONC	Konzentration des chiralen Solvatisierungsmittels	mmol/l	Real/1
CSA NO	Kennnummer des chiralen Solvatisierungsmittels		Integer
CSA TRADE NAME	Handelsname des chiralen Solvatisierungsmittels		VarText
CSA SUPPLIER	Bezugsquelle des chiralen Solvatisierungsmittels		VarText
CSP NAME	chemische Bezeichnung der chiralen stationären Phase		VarText
CSP NO	Kennnummer der chiralen stationären Phase		Integer
CSP TRADE NAME	Handelsname der chiralen stationären Phase		VarText
CSP SUPPLIER	Bezugsquelle der chiralen stationären Phase		VarText
EQUIPMENT	Hersteller und Modellbezeichnung des CE-Geräts		VarText
TYPE OF COLUMN	Material, Coating, Gesamtlänge, effektive Länge, Innendurchmesser und Außendurchmesser der Kapillare		VarText
COLUMN TREATMENT	Vorbehandlung der Kapillare vor der ersten Benutzung		VarText
CONDITIONING	Einstellung der Pufferzusammensetzung in der Kapillare		VarText
APPLIED VOLTAGE	angelegte Spannung	kV	Real/1
ELECTRIC FIELD	angelegte Spannung geteilt durch Kapillarlänge	kV/m	Real/1
EOF	elektroosmotische Flußrate	mm ² /(V*s)	Real/0
DETECTION	Detektionsart		VarText
INJECTION MODE	Injektionsart		VarText
INJ TIME	Injektionszeit	s	Real/1
INJ VOLTAGE	Injektionsspannung bei Injektion durch Elektromigration	kV	Real/1
INJ PRESS	Injektionsdruck bei Druckinjektion	mbar	Real/1
INJ HEIGHT	Puffergefäßhöhe bei hydrostatischer Injektion	mm	Real/1
SAMPLE CONC	Probenkonzentration	mg/ml	Real/2
MOLAR SAMPLE CONC	molare Probenkonzentration	mmol/ml	Real/3

SAMPLE MOLARITY	Konzentration des Probenlösungsmittels	mmol/l	Real/1
COLUMN TEMP	Kapillartemperatur	°C	Integer
REF NO	Referenznummer des Originaldokuments		VarText
AUTHOR	Autoren der Publikation		VarText
SOURCE	Quelle der Publikation		VarText
YEAR	Jahr der Publikation		VarText
VOLUME	Bandnummer der Publikation		VarText
PAGE	Seitenzahlen der Publikation		VarText
COMMENTS	Kommentare		VarText

* FxText: Textfeld mit begrenzter Länge; VarText: Textfeld mit variabler Länge; Zahlen stehen für die Länge des Feldes beim Feldtyp FxText bzw. für die Anzahl der registrierten und angezeigten Nachkommastellen beim Feldtyp Real.

Tabelle 19: Aufbau der Datenbank Chirbase/CE

4.2 Kernspinresonanzspektroskopie

4.2.1 Instrumentation und Versuchsbedingungen

NMR-Spektrometer: Bruker (400 MHz). Alle chemischen Verschiebungen sind in ppm angegeben (bezogen auf TMS als Standard).

NMR-Röhrchen: Wilmad glass company, NJ, USA; 5 mm OD

Das Lösungsmittelsignal dient als Referenz für die chemischen Verschiebungen (mit $\delta = 4.81$ ppm relativ zu TMS).

4.2.2 Chemikalien und Puffer

D₂O, H₃PO₄ (85%),

KH₂PO₄, NaH₂PO₄ · H₂O (von Prof. Wenz, Karlsruhe)

**4.2.2.1 Ansetzen des Phosphatpuffers 100 mM, pH 2.5,
 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \text{H}_2\text{O}/\text{H}_3\text{PO}_4/\text{D}_2\text{O}$ -System (Puffer 1)**

Es wird eine 100 mM NaH_2PO_4 -Lösung und entsprechend eine 100 mM H_3PO_4 -Lösung angesetzt. Durch Titration läßt sich ermitteln, daß eine Mischung von 25.0 ml 100 mM NaH_2PO_4 -Lösung und 7.6 ml 100 mM H_3PO_4 -Lösung einen pH von 2.5 aufweist. Entsprechend dem Verhältnis von 25.0 zu 7.6 wurde der Puffer dann hergestellt.

**4.2.2.2 Ansetzen des Phosphatpuffers 100 mM, pH 2.5,
 $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4/\text{D}_2\text{O}$ -System (Puffer 2)**

Es wird analog 4.2.2.1 vorgegangen; hier ergibt sich ein Mischungsverhältnis der 100mM Stammlösungen von 25.0 zu 8.0. Die Mischung weist dabei ebenfalls einen pH-Wert von 2.5 auf. Für NMR-Messungen wird der Natriumphosphat-Puffer verwendet.

4.2.3 Konzentrationen für die NMR-Experimente

Arzneimittelkonzentration: 15 mmol/l (konstant)

Es wurden 5 verschiedene Verhältnisse für die Cyclodextrin-Arzneimittel-Mischungen ausgewählt, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1; das Lösungsvolumen beträgt 600 μl .

4.2.4 Software

WinNMR 1D for PC, Bruker, (Extraktion der Daten)

ACD/HNMR 2.5 DB, ACD Labs, (Vorhersage und Zuordnung der Daten)

NMR-Base unter ISIS/Base

EXACTFIT, Version 1, 20. 9. 1988

4.2.5 Übersicht über die bisher durchgeführten Messungen

Nr.	Analyt	Lösungsmittel	Molmasse	CAS-Nr.
Zhu 006	Homatropine	D2O	275.33	51-56-9
Zhu 007	Mefloquine	CDCl3	378.32	53230-10-7
Zhu 008	Metipranolol	CDCl3	309.42	22664-55-7
Zhu 009	Alprenolol	CDCl3	249.34	13655-52-2
Zhu 010	Baclofen	D2O	213.67	1134-47-0
Zhu 011	Isoprenaline	D2O	211.26	7683-59-2
Zhu 012	Ketamine	D2O	237.74	6740-88-1
Zhu 013	Oxomemazine	CDCl3	330.46	3689-50-7
Zhu 014	Propranolol	D2O	259.34	525-66-6
Zhu 015	Tetryzoline	D2O	200.29	89-22-0
Zhu 016	Propranolol	D2O	259.34	525-66-6
Zhu 017	Azelastin.HCl	D2O	381.91	58581-89-8 (R,S)
Zhu 018	alpha-CD	D2O	972	(14.5g/100mL)
Zhu 019	beta-CD	D2O	1135	(1.85g/100mL)
Zhu 020	gamma-CD	D2O	1297	(23.3g/100mL)
Zhu 021	HP-alpha-CD	D2O	1179.75 (DS=0.6)	
Zhu 022	HP-beta-CD	D2O	1500.27 (DS=0.9)	
Zhu 023	HP-gamma-CD	D2O	1572.99 (DS=0.6)	
Zhu 024	Metipranolol	Puffer 1	309.42	22664-55-7
Zhu 025	Azelastin.HCl	Puffer 1	381.91	58581-89-8 (R,S)

Nr.	Analyt	Wirt-Gast-Verhältnis	Puffer
Zhu 026	Metipranolol	gamma-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 027	Metipranolol	gamma-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 028	Metipranolol	gamma-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 029	Metipranolol	gamma-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 030	Metipranolol	gamma-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 031	gamma-CD	15 mM	Puffer 1
Zhu 032	Homatropine	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 033	Homatropine	gamma-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 034	Homatropine	gamma-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 035	Homatropine	gamma-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 036	Homatropine	gamma-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 037	Homatropine	gamma-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 038	Alprenolol	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 039	Alprenolol	gamma-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1

Zhu 040	Alprenolol	gamma-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 041	Alprenolol	gamma-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 042	Alprenolol	gamma-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 043	Alprenolol	gamma-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 044	Baclofen	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 045	Baclofen	gamma-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 046	Baclofen	gamma-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 047	Baclofen	gamma-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 048	Baclofen	gamma-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 049	Baclofen	gamma-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 050	Isoprenaline	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 051	Isoprenaline	gamma-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 052	Isoprenaline	gamma-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 053	Isoprenaline	gamma-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 054	Isoprenaline	gamma-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 055	Isoprenaline	gamma-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 056	Ketamine	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 057	Ketamine	gamma-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 058	Ketamine	gamma-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 059	Ketamine	gamma-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 060	Ketamine	gamma-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 061	Ketamine	gamma-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 062	Propranolol	(10mg/mL, D2O) 1H, 13C, H-H,H-C COSY	
Zhu 063	Oxomemazine	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 064	Oxomemazine	gamma-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 065	Oxomemazine	gamma-CD:Racemat=1:2 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 066	Oxomemazine	gamma-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 067	Oxomemazine	gamma-CD:Racemat=2:1 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 068	Oxomemazine	gamma-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 069	Propranolol	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 070	Propranolol	gamma-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 071	Propranolol	gamma-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 072	Propranolol	gamma-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 073	Propranolol	gamma-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 074	Propranolol	gamma-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 075	Tetryzoline	gamma-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 076	Tetryzoline	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 077	Tetryzoline	gamma-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 078	Tetryzoline	gamma-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 079	Tetryzoline	gamma-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 080	Tetryzoline	gamma-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1

Zhu 081	Metipranolol	Reinsubst. 15mmol/l (2D-NMR)	Puffer 1
Zhu 082	Homatropine	Reinsubst. 15mmol/l (2D-NMR)	Puffer 1
Zhu 083	Alprenolol	Reinsubst. 15mmol/l (2D-NMR)	Puffer 1
Zhu 084	Homatropine	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 085	Homatropine	alpha-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 086	Homatropine	alpha-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 087	Homatropine	alpha-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 088	Homatropine	alpha-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 089	Homatropine	alpha-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 090	Metipranolol	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 091	Metipranolol	alpha-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 092	Metipranolol	alpha-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 093	Metipranolol	alpha-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 094	Metipranolol	alpha-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 095	Metipranolol	alpha-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 096	Alprenolol	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 097	Alprenolol	alpha-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 098	Alprenolol	alpha-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 099	Alprenolol	alpha-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 100	Alprenolol	alpha-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 101	Alprenolol	alpha-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 102	Homatropine	beta-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 103	Homatropine	beta-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 104	Homatropine	beta-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 105	Metipranolol	beta-CD:Racemat=1:1 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 106	Metipranolol	beta-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 107	Metipranolol	beta-CD:Racemat=1:3 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 108	Alprenolol	beta-CD:Racemat=1:1 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 109	Alprenolol	beta-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 110	Alprenolol	beta-CD:Racemat=1:3 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 111	Homatropine	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 112	Homatropine	HP-alpha-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 113	Homatropine	HP-alpha-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 114	Homatropine	HP-alpha-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 115	Homatropine	HP-alpha-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 116	Homatropine	HP-alpha-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 117	Metipranolol	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 118	Metipranolol	HP-alpha-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 119	Metipranolol	HP-alpha-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 120	Metipranolol	HP-alpha-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 121	Metipranolol	HP-alpha-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1

Zhu 122	Metipranolol	HP-alpha-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 123	Alprenolol	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 124	Alprenolol	HP-alpha-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 125	Alprenolol	HP-alpha-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 126	Alprenolol	HP-alpha-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 127	Alprenolol	HP-alpha-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 128	Alprenolol	HP-alpha-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 129	Homatropine	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 130	Homatropine	HP-beta-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 131	Homatropine	HP-beta-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 132	Homatropine	HP-beta-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 133	Homatropine	HP-beta-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 134	Homatropine	HP-beta-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 135	Metipranolol	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 136	Metipranolol	HP-beta-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 137	Metipranolol	HP-beta-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 138	Metipranolol	HP-beta-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 139	Metipranolol	HP-beta-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 140	Metipranolol	HP-beta-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 141	Alprenolol	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 142	Alprenolol	HP-beta-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 143	Alprenolol	HP-beta-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 144	Alprenolol	HP-beta-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 145	Alprenolol	HP-beta-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 146	Alprenolol	HP-beta-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 147	Homatropine	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 148	Homatropine	HP-gamma-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 149	Homatropine	HP-gamma-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 150	Homatropine	HP-gamma-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 151	Homatropine	HP-gamma-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 152	Homatropine	HP-gamma-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 153	Metipranolol	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 154	Metipranolol	HP-gamma-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 155	Metipranolol	HP-gamma-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 156	Metipranolol	HP-gamma-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 157	Metipranolol	HP-gamma-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 158	Metipranolol	HP-gamma-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 159	Alprenolol	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 160	Alprenolol	HP-gamma-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 161	Alprenolol	HP-gamma-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 162	Alprenolol	HP-gamma-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1

Zhu 163	Alprenolol	HP-gamma-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 164	Alprenolol	HP-gamma-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 165	Oxomemazine	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 166	Oxomemazine	alpha-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 167	Oxomemazine	alpha-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 168	Oxomemazine	alpha-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 169	Oxomemazine	alpha-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 170	Oxomemazine	alpha-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 171	Metipranolol	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1
Zhu 172	Metiptanolol	Reinsubst. 1.36 mmol/l	Puffer 1
Zhu 173	Alimemazine	Reinsubst. 5 mmol/l	Puffer 1
Zhu 174	Alimemazine	alpha-CD:Racemat=3:1 (45mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 175	Alimemazine	alpha-CD:Racemat=2:1 (30mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 176	Alimemazine	alpha-CD:Racemat=1:1 (15mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 177	Alimemazine	alpha-CD:Racemat=1:2 (7.5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 178	Alimemazine	alpha-CD:Racemat=1:3 (5mM:15mM)	Puffer 1
Zhu 179	Alimemazine	alpha-CD:Racemat=3:1 (15mM: 5mM)	Puffer 1
Zhu 180	Alimemazine	alpha-CD:Racemat=2:1 (10mM: 5mM)	Puffer 1
Zhu 181	Alimemazine	alpha-CD:Racemat=1:1 (5mM: 5mM)	Puffer 1
Zhu 182	Alimemazine	alpha-CD:Racemat=1:2 (2.5mM: 5mM)	Puffer 1
Zhu 183	Alimemazine	alpha-CD:Racemat=1:3 (1.7mM: 5mM)	Puffer 1
Zhu 184	Alimemazine	Reinsubst. 15 mmol/l	Puffer 1

Tabelle 20: Bisher durchgeführte ¹H-NMR-Messungen

4.3 Mikrokolorimetrie

4.3.1 Instrumentation und Versuchsbedingungen

Titrationmikrokolorimeter: Omega, Microcal, Inc.

Die nötige Probenmenge beträgt ungefähr 5ml Lösung, einschließlich der Menge zum Nachspülen der Zelle.

4.3.2 Chemikalien

analog 4.2.2 (NMR-Spektroskopie)

4.3.3 Übersicht über die bisher durchgeführten Messungen

Datum	Analyt	Konz. Analyt	CD	Konz. CD	pH	Temp.
25.03.97	Alprenolol	5.3 mM	HP-beta-CD	45 mM	2.5	25 °C
	Puffer		HP-beta-CD	45 mM	2.5	25 °C
	Homatropin	5.3 mM	HP-alpha-CD	45 mM	2.5	25 °C
26.03.97	Puffer		HP-alpha-CD	45 mM	2.5	25 °C
27.03.97	Ketamin	5.3 mM	HP-beta-CD	45 mM	2.5	25 °C
	Puffer		gamma-CD	45 mM	2.5	25 °C
01.04.97	Oxomemazin	5.3 mM	gamma-CD	45 mM	2.5	25 °C
	Alprenolol	1.6 mM	beta-CD	13.6 mM	2.5	25 °C
02.04.97	Puffer		beta-CD	13.6 mM	2.5	25 °C
	Homatropin	1.6 mM	beta-CD	13.6 mM	2.5	25 °C
03.04.97	Metipranolol	1.6 mM	beta-CD	13.6 mM	2.5	25 °C
	Ketamin	1.6 mM	beta-CD	13.6 mM	2.5	25 °C
	Homatropin	5.3 mM	alpha-CD	45 mM	2.5	25 °C
04.04.97	Puffer		alpha-CD	45 mM	2.5	25 °C
	Oxomemazin	5.3 mM	alpha-CD	45 mM	2.5	25 °C
07.04.97	Alprenolol	5.3 mM	alpha-CD	45 mM	2.5	25 °C
	Ketamin	5.3 mM	alpha-CD	45 mM	2.5	25 °C
09.04.97	Metipranolol	5.3 mM	alpha-CD	45 mM	2.5	25 °C
	Alprenolol	5.3 mM	gamma-CD	45 mM	2.5	25 °C
10.04.97	Oxomemazin	5.3 mM	gamma-CD	45 mM	2.5	25 °C
	Ketamin	5.3 mM	gamma-CD	45 mM	2.5	25 °C
11.04.97	Puffer		gamma-CD	45 mM	2.5	25 °C
14.04.97	Homatropin	5.3 mM	gamma-CD	45 mM	2.5	25 °C
	Metipranolol	5.3 mM	gamma-CD	45 mM	2.5	25 °C
15.04.97	SDS	1.6 mM	beta-CD	13.6 mM	7.2	25 °C
16.04.97	Puffer		alpha-CD	45 mM	7.2	25 °C
	Alprenolol	5.3 mM	alpha-CD	45 mM	7.2	25 °C
17.04.97	Alprenolol	1.6 mM	alpha-CD	13.6 mM	7.2	25 °C
	Alprenolol	5.3 mM	gamma-CD	45 mM	7.2	25 °C
	Puffer		gamma-CD	45 mM	7.2	25 °C
18.04.97	Oxomemazin	1.6 mM	gamma-CD	13.6 mM	7.2	25 °C
	Puffer		gamma-CD	13.6 mM	7.2	25 °C

Tabelle 21: Bisher durchgeführte MC-Messungen

4.3.4 Software

Die gemessenen Daten werden in *.DIL-Dateien (= Heat of Dilution) und in *.ITC-Dateien (normale Titrationsen) gespeichert.

Origin/ITC

MC-Base unter ISIS/Base

4.4 Rechnungen

4.4.1 Computer-Hardware

SPARCstation 2, SPARCstation 10 und SPARC Ultra I, Sun Microsystems Computer Corporation, Mountain View, CA, USA

RISC System/6000 250, International Business Machines Corporation

4.4.2 Klassifizierung

Programm KDMIN von Josef Göppert, Lehrstuhl für Technische Informatik der Universität Tübingen. Herrn Josef Göppert wird für die Kooperation auf dem Gebiet der Neuronalen Netze, insbesondere bei der Anwendung von SOM, gedankt.

ADAP_WIDTH_TAU in Bezug auf die bei 10000 liegende Trainingsepochenanzahl und absolut	ADAP_WIDTH_MIN		
	0	1	2
2/6; 3333	a	f	k
3/6; 5000	b	g	l
4/6; 6666	c	h	m
5/6; 8333	d	i	n
6/6; 10000	e	j	o

Tabelle 22: Aufschlüsselung der in Abbildung 46 verwendeten Trainingsparameter-Symbole

4.4.3 Vorhersage

4.4.3.1 Molekülcodes (Codierung von Arzneistoffstrukturen für die Vorhersage von Migrationstrennfaktoren bzw. Trennbarkeiten in der Kapillarelektrophorese)

Die ersten 10 Codepositionen stehen für das Vorhandensein bestimmter Strukturmerkmale (Definition siehe Tabelle 18) und stellen damit einen Fragmentcode dar. Ergänzt wird die Strukturcodierung durch die Angabe der Molmasse (MW) und des Flexibilitätsquotienten (FQ, Erläuterungen im Text, siehe Kapitel 3.1.2.2).

Name	SA	TA	MP	HP	MS	CS	RR	PY	BB	PH	3H	4H	MW	FQ
Alimemazin	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	298.45	0.1739
Alprenolol	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	249.36	0.4444
Atenolol	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	266.34	0.4211
Atropin	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	289.38	0.2174
Azelastin	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	381.91	0.1000
Baclofen	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	213.67	0.2857
Bamethan	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	209.29	0.4000
Benproperin	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	309.46	0.2400
Bromphenamin	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	319.25	0.2500
Bupivacain	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	288.44	0.2727
Bupranolol	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	271.79	0.3333
Butetamat	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	263.38	0.4737
Carazolol	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	298.39	0.2500
Carvedilol	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	406.49	0.3030
Chlorphenamin	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	274.80	0.2500
Cicletanin	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	261.71	0.0500
Clenbuterol	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	277.20	0.2353
Clidiniumbromid	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	432.37	0.1724
Clobutinol	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	255.79	0.2941
Dimetinden	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	292.43	0.2083
Dobutamin	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	301.39	0.3043
Doxylamin	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	270.38	0.2857
Fendilin	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	315.46	0.2692
Homatropin	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	275.35	0.1818
Ipratropiumbromid	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	412.38	0.2308
Isoprenalin	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	211.26	0.2667
Isothipendyl	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	285.41	0.1364
Ketamin	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	237.73	0.1176

Mefloquin	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	378.32	0.1429
Mepindolol	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	262.35	0.3000
Mequitazin	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	322.48	0.0741
Metaclazepam	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	393.72	0.1200
Metipranolol	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	309.41	0.3636
Naftidrofuryl	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	383.54	0.3667
Nefopam	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	253.35	0.0476
Nicardipin	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	479.54	0.2973
Norfenefrin	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	153.18	0.1818
Ofloxacin	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	361.38	0.0690
Orciprenalin	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	211.26	0.2667
Orphenadrin	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	269.39	0.2857
Oxomemazin	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	330.45	0.1600
Oxprenolol	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	265.36	0.4737
Phenoxybenzamin	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	303.84	0.3636
Phenylpropanolamin	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	151.21	0.1818
Pholedrin	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	165.24	0.2500
Pindolol	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	248.33	0.3158
Prilocain	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	220.32	0.3750
Promethazin	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	284.43	0.1364
Propranolol	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	259.35	0.3000
Reproterol	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	389.41	0.2333
Salbutamol	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	239.32	0.2941
Sotalol	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	272.37	0.3333
Synephrin	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	167.21	0.2500
Terbutalin	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	225.29	0.2500
Theodrenalin	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	375.39	0.2069
Trimipramin	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	294.44	0.1667
Tropicamid	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	284.36	0.3182
Zopiclon	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	388.82	0.1333

Tabelle 23: Codierung von Arzneistoffstrukturen für die Vorhersage von Migrationstrennfaktoren bzw. Trennbarkeiten in der Kapillarelektrophorese

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Diplomarbeit wurden intermolekulare Wechselwirkungen von 86 Arzneistoffen mit 6 Cyclodextrinen untersucht. Als experimentelle Methoden dienten Kapillarelektrophorese (CE), Protonen-Kernresonanzspektroskopie ($^1\text{H-NMR}$) und Mikrokalorimetrie (MC). Die erhaltenen Struktur-Eigenschafts-Beziehungen wurden in Zusammenarbeit mit Prof. W. Rosenstiel und L. Ludwig vom Institut für Technische Informatik mit Neuronalen Netzen analysiert.

Das Gebiet des chiralen Erkennens ist bisher weitgehend empirisch bearbeitet worden, tragfähige Regeln existieren nur in Ansätzen. Aufbauend auf Voruntersuchungen von Epperlein zeigt die vorliegende Diplomarbeit, daß durchaus Zusammenhänge zwischen Molekülstruktur und Eigenschaften bestehen, die aber in der Regel nichtlinear und mehrdimensional sind und sich daher nur durch Anwendung von Künstlichen Neuronalen Netzen, insbesondere der Selbstorganisierenden Karte (Kohonen-Karte), erschließen.

Ein wesentlicher Faktor ist der Einfluß des chiralen Solvatisierungsmittels auf die Retentionsdaten des Analyten. Auf der Basis einer großen Anzahl durchgeführter Trennexperimente kann die Affinität des Analyten zum Selektor abgeschätzt werden. Ausgeprägte Migrationsretardierungsfaktoren ($R_m \geq 1.5$) sind eine gute Voraussetzung für eine hohe Erfolgsrate (R_{suc}) der Enantiomertrennung. Tabellen zur Konformität und zur Komplementarität der Wirt-Gast-Wechselwirkungen der 86 Gäste mit 6 verschiedenen Wirten zeigen die höchste Spezifität bei α -Cyclodextrin (α -CD) und die geringste bei HP- β -Cyclodextrin (HP- β -CD). Bei α -CD führt die Beschränkung der Interaktion auf Analyten mit genügend kleinen hydrophoben Bindungsstellen häufig zum Ausbleiben der Trennung, während in HP- β -CD die flexiblen Hydroxypropylgruppen Gelegenheit zur strukturellen Anpassung geben (nach dem „Induced fit“-Modell von Koshland).

Um Einblick in die molekularen Details zu erhalten, kann die CE sinnvoll durch die $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie und die MC ergänzt werden. In Zusam-

menarbeit mit Prof. Lin Bingcheng und Zhu Xiaofeng, Dalian Institute of Chemical Physics, China, wurden in Tübingen mehr als 180 ^1H -NMR-Messungen durchgeführt, um die Wechselwirkung von neun chiralen Arzneimitteln (Gastmolekülen) mit sechs verschiedenen Cyclodextrinen (Wirten) zu untersuchen. In Zusammenarbeit mit Prof. G. Wenz und S. Wehrle am Institut für Polymerchemie, Karlsruhe, wurden 34 MC-Experimente durchgeführt, die ebenfalls sehr aufschlußreich sind, da sie direkt die kalorischen Daten der Wechselwirkung liefern.

Hierbei wurden insbesondere zwei neue, für die Wechselwirkung mit Cyclodextrinen entscheidende Strukturmerkmale der Analyten identifiziert. Diese lassen den Schluß zu, daß die Arzneistoffe nicht im bisher angenommenen Umfang von den Cyclodextrinen inkludiert werden, vielmehr tauchen die Arylverbindungen nur mit einer 3 – 4 C-H-Einheiten umfassenden Region in die Cavity ein, was wir als „Side-on binding“ der Arylgruppen bezeichnen. Diese Rolle kann alternativ z. B. auch von einer Methylgruppe übernommen werden.

In vertiefenden Untersuchungen sollten die vorgeschlagenen Modelle anhand einer noch breiteren experimentellen Basis überprüft werden, was den eng gesteckten zeitlichen Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit bei weitem überschritten hätte.

6. Literaturverzeichnis

- [1] Piutti, A.: Ein neues Asparagin. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 19 (1886) 1691
Piutti, A.: Cristallographic chimique – Sur une nouvelle espèce d'asparagine. *Compt. Rend.* 103 (1886) 134-138
- [2] Easson, L. H.; Stedman, E.: Studies on the Relationship between Chemical Constitution and Physiological Action. V. Molecular Dissymmetry and Physiological Activity. *Biochem. J.* 27 (1933) 1257-1266
- [3] Pfeiffer, C. C.: Optical Isomerism and Pharmacological Action, a Generalisation. *Science* 124 (1956) 29-31
- [4] Blaschke, G.; Kraft, H. P.; Fickentscher, K.; Köhler, F.: Chromatographische Racemattrennung von Thalidomid und teratogene Wirkung der Enantiomere. *Arzneim.-Forsch.* 29 (1979) 1640-1642
- [5] Williams, K.; Lee, E.: Importance of Drug Enantiomers in Clinical Pharmacology *Drugs* 30 (1985) 333-354
- [6] Holzgrabe, U.; Bejeuhr, G.: Racemate: Ihre Bedeutung in der Arzneimitteltherapie. *Dtsch. Apoth. Ztg.* 134 (1994) 2133-2144
- [7] Coutts, R. T.; Baker, G. B.: Implications of Chirality and Geometric Isomerism in Some Psychoactive Drugs and Their Metabolites. *Chirality* 1 (1989) 99-120
- [8] Bernreuther, A.; Epperlein, U.; Koppenhoefer, B.: Enantiomers: Why they are important and how to resolve them. in Marsili, R. (Ed.): *Techniques for Analyzing Food Aroma*, Marcel Dekker, New York, (1997) S. 143-207
- [9] Ariens, E. J.: Stereochemistry, a Basis for Sophisticated Nonsense in Pharmacokinetics and Clinical Pharmacology. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 26 (1984) 663-668
- [10] Ariens, E. J.: Racemic Therapeutics – Problems all along the Line. in Brown, C. (Ed.): *Chirality in Drug Design and Synthesis*, Academic Press, London (1990) S. 29-43
- [11] Commission of the European Communities: *The Rules Governing Medicinal Products in the European Community*, Bd. 2, Luxembourg (1989), S. 73

-
- [12] U.S. Department of Health and Human Services: FDA's Policy Statement for the Development of New Drugs: Availability. Federal Register 57 (Wednesday, 27 May 1992)
- [13] Food and Drug Administration: FDA's Policy Statement for the Development of New Stereoisomeric Drugs. *Chirality* 4 (1992) 338-340
- [14] Drug Approval and Licensing Procedures in Japan 1989. Yakugyo Jiho Co. Ltd., Kanada, Chiyoda-ku, Tokyo, Japan
- [15] Scott, J., Hoffmann-LaRoche, zitiert nach Amato, I.: Looking Glass Chemistry. *Science* 256 (1992) 964-966
- [16] Stinson, S. C.: Chiral Drugs. *Chem. Eng. News* Sept 19 (1994) 38-72
- [17] Kleemann, A.; Engel, J.: Pharmazeutische Wirkstoffe. Georg Thieme, Stuttgart (1982, Ergänzungsband 1987), zitiert nach Martens, J. Bhushan, R.: Importance of Enantiomeric Purity and its Control by Thin-Layer Chromatography. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 8 (1990) 259-269
- [18] Millership, J. S.; Fitzpatrick, A.: Commonly Used Chiral Drugs: A Survey. *Chirality* 5 (1993) 573-576
- [19] Ariens, E. J.: Nonchiral, Homochiral and Composite Chiral Drugs. *Trends Pharmacol. Sci.* 14 (1993) 68-75
- [20] Krstulovic, A. M.: Racemates versus Enantiomerically Pure Drugs: Putting High-Performance Liquid Chromatography to Work in the Selection Process. *J. Chromatogr.* 488 (1989) 53-72
- [21] Testa, B.; Trager, W. F.: Racemates versus Enantiomers in Drug Development: Dogmatism or Pragmatism? *Chirality* 2 (1990) 129-133
- [22] Cayen, M. N.: Racemic Mixtures and Single Stereoisomers: Industrial Concerns and Issues in Drug Development. *Chirality* 3 (1991) 94-98
- [23] Wainer, I. W. (Ed.): Drug Stereochemistry. Analytical Methods and Pharmacology. Marcel Dekker, Inc., New York-Basel-Hong Kong, zweite Auflage (1993)
- [24] Commins, E.; Bucksbaum, P.: Weak Interactions of Leptons and Quarks. Cambridge University Press, Cambridge (1983) S. 115
- [25] Chiral Separations by HPLC. Applications to pharmaceutical compounds (Krstulovic, A. M., Ed.), Ellis Horwood, New York, 1989
- [26] Chiral Separations (Stevenson, D.; Wilson, I. D., Ed.), Plenum Press, New York, London, 1988
-

-
- [27] Allenmark, S.: *Chromatographic Enantioseparation. Methods and Applications*. Ellis Horwood, New York, London, 1991
- [28] Bernreuther, A.; Epperlein, U.; Koppenhoefer, B.: Enantiomers: Why they are important and how to resolve them. in Marsili, R. (Ed.): *Techniques for Analyzing Food Aroma*, Marcel Dekker, New York, 1997, 170
- [29] Consiglio, G.; Pino, P.; Flowers, L. I.; Pittman, Jr., C. U.: *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* (1983), 612
- [30] Pirkle, W. H.: *J. Am. Chem. Soc.* 88 (1966) 4294
- [31] Datenbank Chirbase/GC, Version 2/97
- [32] Frank, H.; Nicholson, G. J.; Bayer, E.: Rapid Gas Chromatographic Separation of Amino Acid Enantiomers with a Novel Chiral Stationary Phase. *J. Chromatogr. Sci.* 15 (1977) 174-176
- [33] Schurig, V.: Current Methods for Determination of Enantiomeric Compositions (Part 3): Gas Chromatography on Chiral Stationary Phases. *Kontakte Darmstadt* 1 (1986) 3-21
- [34] Koscielski, T.; Sybilska, D.; Jurczak, J.: Separation of α - and β -Pinene into Enantiomers in Gas-Liquid Chromatography Systems via α -Cyclodextrin Inclusion Complexes. *J. Chromatogr.* 280 (1983) 131-134
- [35] Koppenhoefer, B.; Nothdurft, A.; Pierrot-Sanders, J.; Piras, P.; Popescu, C.; Roussel, C.; Stiebler, M.; Trettin, U.: CHIRBASE, a Graphical Molecular Database on the Separation of Enantiomers by Liquid-, Supercritical Fluid-, and Gas Chromatography. *Chirality* 5 (1993) 213-219
- [36] Lipkowitz, K. B.: Modeling Enantiodifferentiation in Chiral Chromatography. in Subramanian, G.: *A Practical Approach to Chiral Separations by Liquid Chromatography*, VCH, Weinheim (1994) S. 19-55
- [37] Lipkowitz, K. B.; Landwer, J. M.; Darden, T.: Theoretical Studies of a Chiral Stationary Phase Used in Column Chromatography. *Anal. Chem.* 58 (1986) 1611-1617
- [38] Norinder, U.; Sundholm, E. G.: The Use of Computer Aided Chemistry To Predict Chiral Separation in Liquid Chromatography. *J. Liq. Chromatogr.* 10 (1987) 2825-2844
-

-
- [39] Topiol, S.; Sabio, M.; Moroz, J.; Caldwell, W. B.: Computational Studies of the Interaction of Chiral Molecules: Complexes of Methyl N-(2-Naphthyl)alaninate with N-(3,5-Dinitrobenzoyl)leucine n-Propylamide as a Model for Chiral Stationary Phase Interactions. *J. Am. Chem. Soc.* 110 (1988) 8367-8376
- [40] de Vries, N. K.; Coussens, B.; Meier, R. J.; Heemels, G.: The Separation of Enantiomers on Modified Cyclodextrin Columns: Measurements and Molecular Modeling. *J. High Resolut. Chromatogr.* 15 (1992) 499-504
- [41] Hanai, T.; Hatano, H.; Nimura, N.; Kinoshita, T.: Molecular Recognition in Chromatography Aided by Computational Chemistry. *Supramol. Chem.* 3 (1994) 243-247
- [42] Ede, A. M.; Heaton, D. M.; Bartle, K. D.; Clifford, A. A.; Myers, P.: A Computational Study of the Chromatographic Separation of Racemic Mixtures. *Chromatographia* 41 (1995) 161-166
- [43] Lipkowitz, K. B.; Baker, B.; Zegarra, R.: Theoretical Studies in Molecular Recognition: Enantioselectivity in Chiral Chromatography. *J. Comput. Chem.* 10 (1989) 718-732
- [44] Lipkowitz, K. B.; Baker, B.: Computational Analysis of Chiral Recognition in Pirkle Phases. *Anal. Chem.* 62 (1990) 770-774
- [45] Wainer, I. W.; Alembik, M. C.: Resolution of Enantiomeric Amides on a Cellulose-Based Chiral Stationary Phase. Steric and Electronic Effects. *J. Chromatogr.* 358 (1986) 85-93
- [46] Stauffer, S. T.; Dessy, R. E.: CHIRULE: A Chiral Chromatographic Column Selection System Utilizing Similarity Searching. *J. Chromatogr. Sci.* 32 (1994) 228-235
- [47] Wolf, R. M.; Francotte, E.; Lohmann, D.: Quantitative Correlation between Calculated Molecular Properties and Retention of a Series of Structurally Related Racemates on Cellulose Triacetate. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 1988 893-901
- [48] Erlandsson, P.; Isaksson, R.; Nilsson, I.; Wold, S.: Chemometric Approach to Explain the Liquid Chromatographic Retention of Some Chiral Indols on Swollen Microcrysalline Triacetylcellulose. *J. Chromatogr.* 466 (1989) 364-370
-

-
- [49] Norinder, U.; Hermansson, J.: Chiral Separation of N-Aminoalkylsuccinimides on an α_1 -Acid Glycoprotein Column: A Quantitative Structure-Enantioselectivity Relationship Study. *Chirality* 3 (1991) 422-426
- [50] Kaliszan, R.; Noctor, T. A. G.; Wainer, I. W.: Quantitative Structure-Enantioselective Retention Relationships for the Chromatography of 1,4-Benzodiazepines on a Human Serum Albumin Based HPLC Chiral Stationary Phase: An Approach to the Computational Prediction of Retention and Enantioselectivity. *Chromatographia* 33 (1992) 546-550
- [51] Roussel, C.; Stein, J.-L.; Sergent, M.; Phan Tan Luu, R.: Attempts to Quantify the Effect of Selected Structural Parameters on the Separation of Some N-Arylthiazoline-2-thione and N-Arylthiazolin-2-one Atropisomers on the Chiral Stationary Phase, Cellulose Triacetate (CTA1). in Stevenson, D.; Wilson, I. D. (Ed.): Recent Advances in Chiral Separations, Plenum Press, New York (1991) 105-108
- [52] Roussel, C.; Popescu, C.: Effects of Alkyl Substituents on Chiral Separation of N-Arylthiazolin-2-(thi)-one Atropisomers on Tris(p-methylbenzoyl)cellulose Beads and Cellulose Triacetate: Lipophilicity Aspects. *Chirality* 6 (1994) 251-260
- [53] Roussel, C.; Favrou, A.: γ -Cyclodextrin as Chiral Mobile Phase Additive in the HPLC Separation of the Atropisomers of Some N-Arylthiazoline-2-thiones and N-Arylthiazoline-2-ones: Attempts to Quantify the Effect of Selected Structural Parameters. *Chirality* 5 (1993) 471-478
- [54] Pyka, A.: A New Optical Topological Index (Iopt) for Predicting the Separation of D and L Optical Isomers by TLC Part III. *J. Planar Chromatogr. Mod. TLC* 6 (1993) 282-288
- [55] Berthod, A.; San-Chun Chang, Armstrong, D. W.: Empirical Procedure that Uses Molecular Structure to Predict Enantioselectivity of Chiral Stationary Phases. *Anal. Chem.* 64 (1992) 395-404
- [56] Epperlein, U.: Experimente zu intermolekularen Struktureigenschaften-Beziehungen und Auswertung mit neuronalen Netzen. Dissertation, Universität Tübingen (1996)
-

-
- [57] French, D.; O Pulley, A.; Effenberger, J. A.; Rougvie, M. A.; Abdullah, M.: Studies on the Schardinger Dextrins. XII. The Molecular Size and Structure of the delta-, epsilon-, zeta-, and eta-Dextrins. *Arch. Biochem. Biophys.* 111 (1965) 153-160
- [58] Loftsson, T.; Brewster, M. E.: *Pharmaceutical Technology Europe* May (1997) 26-34
- [59] Wenz, G.: *Angew. Chem.* 106 (1994) 851-870
- [60] Schurig, V.; Juvancz, Z.; Nicholson, G. J.; Schmalzing, D.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 14 (1991) 58-62
- [61] König, W. A.; Lutz, S.; Mischnick-Lübbecke, P.; Brassat, B.; von der Bey, E.; Wenz, G.: *Stärke* 40 (1988) 472-476
- [62] Han, D. M.; Han, Y. I.; Armstrong, D. W.: *J. Chromatogr.* 441 (1988) 376-381
- [63] Saenger, W.: *Angew. Chem.* 92 (1980) 343-361
- [64] Connors, K. A.; Lipari, J. M.: *J. Pharm. Sci.* 65 (1976) 379
- [65] Tabushi, I.; Fujita, K.; Yuan, L. C.: *Tetrahedron Lett.* (1977) 2503
- [66] Michon, J.; Rassat, A.: *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 995
- [67] Flohr, K.; Paton, R. M.; Kaiser, E. T.: *J. Am. Chem. Soc.* 97 (1975) 1209
- [68] Demarco, P. V.; Zhakkar, A. L.: *Chem. Commun.* (1970) 2
- [69] Gelb, R. I.; Schwartz, L. M.; Johnson, R. F.; Laufer, D. A.: *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 1869
- [70] Behr, J. P.; Lehn, J. M.: *J. Am. Chem. Soc.* 98 (1976) 1743
- [71] Okubo, T.; Kitano, H.; Ise, N.: *J. Phys. Chem.* 80 (1976) 2661
- [72] Ota, T.; Matsue, T.; Fujihara, M.: *Heterocycles* 6 (1977) 1833
- [73] Miyaji, T.; Kurono, Y.; Uekama, K.; Ikeda, K.: *Chem. Pharm. Bull.* 24 (1976) 1155
- [74] Cohen, J.; Lach, J. L.: *J. Pharm. Sci.* 52 (1963) 132
- [75] Rohrbach, R. P.; Rodriguez, L. J.; Eyring, E. M.; Wojcik, J. F.: *J. Phys. Chem.* 81 (1977) 944
- [76] Kondo, H.; Nakatani, H.; Hiromi, K.: *J. Biochem.* 79 (1976) 393
- [77] Edwards, H. E.; Thomas, J. K.: *Carbohydr. Res.* 65 (1978) 173
- [78] Harata, K.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 51 (1978) 2737
- [79] Bergeron, R. J.: *J. Chem. Educ.* 54 (1977) 204
- [80] Siegel, B.; Eberlein, D.; Rifkin, D.; Davis, K. A.: *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 775
-

-
- [81] Bergeron, R. J.; McPhie, P.: *Bioorg. Chem.* 6 (1977) 465
- [82] Komiyama, M.; Bender, M. L.: *J. Am. Chem. Soc.* 100 (1978) 2259
- [83] Benesi, H. A.; Hildebrand, J. H.: *J. Am. Chem. Soc.* 71 (1949) 2703
- [84] Mochida, K.; Kagita, A.; Matsui, Y.; Date, Y.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 46 (1973) 3703
- [85] Kondo, H.; Nakatani, H.; Hiromi, K.: *Carbohydr. Res.* 52 (1976) 1
- [86] Lewis, E. A.; Hansen, L. D.: *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* (1973) 2081
- [87] Hardee, G. E.; Otagiri, M.; Perrin, J. H.: *Acta Pharm. Suec.* 15 (1978) 188
- [88] Cramer, F.; Saenger, W.; Spatz, H.-Ch.: *J. Am. Chem. Soc.* 89 (1967) 14
- [89] Cramer, F.: *Einschlußverbindungen*, Springer, Heidelberg, 1954
- [90] French, D.: *Adv. Carbohydr. Chem.* 12 (1957) 189
- [91] Bender, M. L.; Komiyama, M.: *Cyclodextrin Chemistry*, Springer, Berlin, 1978
- [92] Saenger, W.; Noltemeyer, M.; Manor, P. C.; Hingerty, B.; Klar, B.: *Bioorg. Chem.* 5 (1976) 187
- [93] Bergeron, R. J.; Channing, M. A.; Gibeily, G. J.; Pillor, D. M.: *J. Am. Chem. Soc.* 99 (1977) 5146
- [94] Komiyama, M.; Bender, M. L.: *J. Chem. Phys.* 100 (1978) 2259
- [95] Lindner, K.; Saenger, W.: *Angew. Chem.* 90 (1978) 738
- [96] Manor, P. C.; Saenger, W.: *J. Am. Chem. Soc.* 96 (1974) 3630
- [97] McLennan, J. M.; Stezowski, J. J.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 92 (1980) 926
- [98] Hall, E. S.; Ache, H. J.: *J. Phys. Chem.* 83 (1979) 1805
- [99] Tabushi, I.; Kiyosuke, Y.-I.; Sugimoto, T.; Yamamura, K.: *J. Am. Chem. Soc.* 100 (1978) 916
- [100] Mifune, A.; Shima, A.: *J. Synth. Org. Chem. Jap.* 35 (1977) 116
- [101] Szejtli, J.: *Stärke* 29 (1976) 26
- [102] Firmenschrift: β -Cyclodextrin. Chinoin Pharmazeutische und Chemische Fabriken Ltd., Laboratorium für biochemische Forschung, Budapest 1979
- [103] Gasteiger, J.: Informationsvermittlung und Nutzung in der Chemie. *Mitt. Chem. Inform. Comput. GDCh* 31 (1995) 6-17

-
- [104] Sandra, P.: The Enantioselectivity of Derivatized Cyclodextrins – A Plea for More Systematic Studies. *J. High Resolut. Chromatogr.* 13 (1990) 665
- [105] Guttman, A.: Novel Separation Scheme for Capillary Electrophoresis of Enantiomers. *Electrophoresis* 16 (1995) 1900-1905
- [106] Ji Yibing; Chen Yuying; Lin B.; Epperlein, U.; Koppenhoefer, B.: Separation of Drug Enantiomers by Capillary Electrophoresis: alpha-Cyclodextrin as Chiral Solvating Agent. *Chromatographia* 42 (1996) 106-110
- [107] Koppenhoefer, B.; Epperlein, U.; Christian, B.; Lin Bingcheng, Ji Yibing, Chen Yuying: Separation of Enantiomers of Drugs by Capillary Electrophoresis, Part III. β -Cyclodextrin as Chiral Solvating Agent. *J. Chromatogr.* 735 (1996) 333-343
- [108] Koppenhoefer, B.; Epperlein, U.; Zhu Xiaofeng; Lin B.: Separation of Enantiomers of Drugs by Capillary Electrophoresis, Part 4. Hydroxypropyl-gamma-Cyclodextrin as Chiral Solvating Agent. *Electrophoresis* 18 (1997) 924-930
- [109] Koppenhoefer, B.; Epperlein, U.; Schlunk, R.; Zhu Xiaofeng; Lin, B.: Separation of Enantiomers of Drugs by Capillary Electrophoresis, Part 5. Hydroxypropyl-alpha-Cyclodextrin as Chiral Solvating Agent. *J. Chromatography*, 1997, im Druck
- [110] Lin B.; Zhu Xiaofeng; Epperlein, U.; Schwierskott, M; Koppenhoefer, B.: Separation of Enantiomers of Drugs by Capillary Electrophoresis, Part 6. Hydroxypropyl-beta-Cyclodextrin as Chiral Solvating Agent. *Journal of High Resolution Chromatography*, 1997, im Druck
- [111] Koppenhoefer, B.; Epperlein, U.; Jakob, A.; Zhu Xiaofeng; Lin, B.: Separation of Enantiomers of Drugs by Capillary Electrophoresis, Part 7. gamma-Cyclodextrin as Chiral Solvating Agent. *Chirality*, 1997, im Druck
- [112] Lin, B.; Zhu Xiaofeng; Wuerthner, S.; Epperlein, U.; Koppenhoefer, B.: Separation of Enantiomers of Drugs by Capillary Electrophoresis, Part 8. beta-Cyclodextrin as Chiral Solvating Agent. *Talanta*, 1997, im Druck
-

-
- [113] Koppenhoefer, B.; Zhu Xiaofeng; Epperlein, U.; Lin B.: Separation of Drug Enantiomers by Capillary Electrophoresis: alpha-Cyclodextrin as Chiral Solvating Agent, Part 9. *GIT*, (Bayer) (1997) 99-101
- [114] Koppenhoefer, B; Epperlein, U. (Editors): Chemie und Informatik: Terra incognita oder das Land der unbegrenzten Möglichkeiten? Shaker-Verlag, Aachen, 1997, im Druck
- [115] Lipkowitz, K. B.; Pearl, G.; Coner, B.; Peterson, M. A.: *J. Am. Chem. Soc.* 119 (1997) 600-610
- [116] Schwedt, G.: Taschenatlas der Analytik, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1992, S. 182
- [117] Virtanen, R.; Kivalo, P.: Quantitative High-Voltage Zone Electrophoresis Method. *Suom. Kemistilehti B* 42 (1969) 182-184
- [118] Virtanen, R.; Nántö, V.: *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 27 (1971) 27-30
- [119] Virtanen, R.: Zone Electrophoresis in a Narrow-Bore Tube Employing Potentiometric Detection. Theoretical and Experimental Study. *Acta Polytech. Scand., Chem. Incl. Metall. Ser.* 123 (1974) 1-67
- [120] Hjertén, S.: *Arkiv Kemi* 13 (1958) 151-157
- [121] Heuermann, M.; Blaschke, G.: Chiral Separation of Basic Drugs Using Cyclodextrins as Chiral Pseudo-Stationary Phases in Capillary Electrophoresis. *J. Chromatogr.* 648 (1993) 267-274
- [122] Lin Bingcheng; Ji Yibing; Chen Yuying; Epperlein, U.; Koppenhoefer, B.: Separation of Drug Enantiomers by Capillary Electrophoresis: α -Cyclodextrin as Chiral Solvating Agent. *Chromatographia* 42 (1996) 106-110
- [123] Schmid, M. G.; Guebitz, G.: Capillary Zone Electrophoretic Separation of the Enantiomers of Dipeptides Based on Host-Guest Complexation with a Chiral Crown Ether. *J. Chromatogr. A* 709 (1995) 81-88
- [124] Gassmann, E.; Kuo, J. E.; Zare, R. N.: Electrokinetic Separation of Chiral Compounds. *Science* 230 (1985) 813-814
- [125] Wren, S. A. C.; Rowe, R. C.: Theoretical Aspects of Chiral Separation in Capillary Electrophoresis I. Initial Evaluation of a Model. *J. Chromatogr.* 603 (1992) 235-241

-
- [126] Rawjee, Y. Y.; Vigh, G.: A Peak Resolution Model for the Capillary Electrophoretic Separation of the Enantiomers of Weak Acids with Hydroxypropyl β -Cyclodextrin-Containing Background Electrolytes. *Anal. Chem.* 66 (1994) 619-627
- [127] Terabe, S.; Shibata, M.; Miyashita, Y.: Chiral Separation by Electrokinetic Chromatography with Bile Salt Micelles. *J. Chromatogr.* 480 (1989) 403-411
- [128] Dobashi, A.; Ono, T.; Hara, S.; Yamaguchi, J.: Optical Resolution of Enantiomers with Chiral Mixed Micelles by Electrokinetic Chromatography. *Anal. Chem.* 61 (1989) 1984-1986
- [129] Mayer, S.; Schurig, V.: Enantiomer Separation by Electrochromatography on Capillaries Coated with Chirasil-Dex. *J. High Resolut. Chromatogr.* 15 (1992) 129-131
- [130] Li, S.; Lloyd, D. K.: Direct Chiral Separations by Capillary Electrophoresis Using Capillaries Packed with an α_1 -Acid Glycoprotein Chiral Stationary Phase. *Anal. Chem.* 65 (1993) 3684-3690
- [131] Datenbank Chirbase/CE, Version 1/97
- [132] Otsuka, K.; Terabe, S.: Enantiomeric Resolution by Micellar Electrokinetic Chromatography with Chiral Surfactants. *J. Chromatogr.* 515 (1990) 221-226
- [133] Armstrong, D. W.; Rundlett, K. L.; Chen, J.-R.: Evaluation of the Macrocyclic Antibiotic Vancomycin as a Chiral Selector for Capillary Electrophoresis. *Chirality* 6 (1994) 496-509
- [134] Kuhn, R.; Erni, F.; Bereuter, T.; Haeusler, J.: Chiral Recognition and Enantiomeric Resolution Based on Host-Guest Complexation with Crown Ethers in Capillary Zone Electrophoresis. *Anal. Chem.* 64 (1992) 2815-2820
- [135] Penn, S. G.; Bergstroem, E. T.; Goodall, D. M.; Loran, J. S.: Capillary Electrophoresis with Chiral Selectors: Optimization of Separation and Determination of Thermodynamic Parameters for Binding of Tioconazole Enantiomers to Cyclodextrins. *Anal. Chem.* 66 (1994) 2866-2873

-
- [136] Kuhn, R.; Steinmetz, C.; Bereuter, T.; Haas, P.; Erni, F.: Enantiomeric Separations in Capillary Zone Electrophoresis Using a Chiral Crown Ether. *J. Chromatogr. A* 666 (1994) 367-373
- [137] Lindner, W.; Boehs, B.; Seidel, V.: Enantioselective Capillary Electrophoresis of Amino Acid Derivatives on Cyclodextrin. Evaluation of Structure-Resolution Relationships. *J. Chromatogr. A* 697 (1995) 549-560
- [138] Altria, K. D.; Kersey, M. T.: Capillary Electrophoresis and Pharmaceutical Analysis: A Survey of Industrial Applications and Their Status in the United Kingdom and United States. *LC GC int.* 8 (1995) 201-208
- [139] Lin Bingcheng; Ji Yibing; Epperlein, U.; Koppenhoefer, B.: The Chinese-German Chiral Drug Screening Program. Poster präsentiert auf der HPCE '95, Würzburg, Deutschland, 29. Januar – 2. Februar 1995
Lin Bingcheng; Zhu Xiaofeng; Koppenhoefer, B.; Epperlein, U.: Chiral Separation of 123 Drugs in Capillary Electrophoresis. Vortrag auf der HPCE '96, Orlando, FL, USA, 21.-25. Januar 1996
- [140] Palmarsdottir, S.; Edholm, L.-E.: Capillary Zone Electrophoresis for Separation of Drug Enantiomers using Cyclodextrins as Chiral Selectors. Influence of Experimental Parameters on Separation. *J. Chromatogr. A* 666 (1994) 337-350
- [141] Issaq, H. J.: Comparison of Chiral Separations in Capillary Zone Electrophoresis with Other Methods. *Instrument. Sci. Technol.* 22 (1994) 119-149
- [142] Sepaniak, M. J.; Cole, R. O.; Clark, B. K.: Use of Native and Chemically Modified Cyclodextrins for the Capillary Electrophoretic Separation of Enantiomers. *J. Liq. Chromatogr.* 15 (1992) 1023-1040
- [143] Penn, S. G.; Goodall, D. M.; Loran, J. S.: Differential Binding of Tioconazole Enantiomers to Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin Studied by Capillary Electrophoresis. *J. Chromatogr.* 636 (1993) 149-152
- [144] Rogan, M. M.; Altria, K. D.; Goodall, D. M.: Enantiomeric Separation of Salbutamol and Related Impurities Using Capillary Electrophoresis. *Electrophoresis Weinheim Ger.* 15 (1994) 808-817
- [145] Koshland Jr, D. E.: *Sci. Am.* 229 (1973) 52
-

-
- [146] Wenz, G.: pers. Mitteilung
- [147] I. J. Colquhoun, B. J Goodfellow: *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* (1994) 1803-1807; M. Sawada et al.: *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993) 7381-7388
- [148] G. Wenz, E. von der Bey in J. Szejtli (Hrsg.): *Proceed. 4th Intern. Symp. on Cyclodextrins*, Reidel Publ., 1988
- [149] Höfler, T.; Wenz, G.: Einschluß von Aromaten in β -Cyclodextrin und β -Cyclodextrinsulfonaten. in Eierdanz, H. (Hrsg.): *Perspektiven nachwachsender Rohstoffe in der Chemie*. VCH, S. 276-279
- [150] McCulloch, W. S.; Pitts, W.: A Logical Calculus of the Ideas Immanent in the Nervous Activity. *Bull. Math. Biophys.* 5 (1943) 115-133
- [151] Pitts, W.; McCulloch, W. S.: How We Know Universals: The Perception of Auditory and Visual Forms. *Bull. Math. Biophys.* 9 (1947) 127
- [152] Hebb, D. O.: *The Organization of Behavior*. Wiley, New York, USA, 1949
- [153] Hopfield, J. J.: Neural Networks and Physical Systems with Emergent Collective Computational Abilities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79 (1982) 2554-2558
- [154] Kohonen, T.: Self-Organized Formation of Topologically Correct Feature Maps. *Biol. Cybernet.* 43 (1982) 59-69
- [155] Rummelhart, D. E.; Hinton, G. E.; Williams, R. J.: Learning Internal Representations by Error Propagation. in Rummelhart, D. E.; McClelland (Ed.): *Parallel Distributed Processing: Explorations in the Microstructures of Cognition*, Vol. 1. MIT Press, Cambridge, MA, USA (1986) S. 318-362
- [156] Aleksander, I.: Fleshing out Intelligent Machines. *Nature* 376 (1995) 564
- [157] Freedman, D. H.: A Romance Blossoms between Gray Matter and Silicon. *Science* 265 (1994) 889-890
- [158] Spitzner, M.: Neuronale Netzwerke. *Med. Monatsschr. Pharm.* 17 (1994) 329-341
- [159] Zupan, J; Gasteiger, J.: *Neural Networks for Chemists. An Introduction*. VCH, Weinheim (1993) S. 37
-

-
- [160] Rummelhart, D.: The Architecture of Mind: A Connectionist Approach. in Posner, M. (Ed.): Foundations of Cognitive Science. MIT Press, Cambridge, MA, USA (1989) S. 133-159
- [161] Lawrence, J.: Neuronale Netze. Computersimulation biologischer Intelligenz. Systema, München (1992) S. 83-86
- [162] Hornik, V.; Stinchcombe, M.; White, H.: Universal Approximation of an Unknown Mapping and Its Derivatives Using Multilayer Feedforward Networks. *Neural Networks* 3 (1990) 551-560
- [163] Zupan, J; Gasteiger, J.: Neural Networks for Chemists. An Introduction. VCH, Weinheim (1993) S. 122-124
- [164] Kohonen, T.: Self-Organizing Maps. Volume 30 of Springer Series in Information Science. Springer, Berlin, Heidelberg (1995)
- [165] Zupan, J; Gasteiger, J.: Neural Networks for Chemists. An Introduction. VCH, Weinheim (1993) S. 83-87
- [166] Bauer, H.-U.; Pawelzik, K. R.: Quantifying the Neighborhood Preservation of Self-Organizing FeatureMaps. *IEEE Trans. Neur. Networks* 3 (1992) 570-578
- [167] Speckmann, H.; Raddatz, G.; Rosenstiel, W.: Improvement of Learning Results of the Selforganizing Map by Calculating Fractal Dimensions. Proceedings of the European Symposium on Artificial Neural Networks (ESANN), Brussels, Belgium (1994) 251-256
- [168] Hecht-Nielsen, R.: Counterpropagation Networks. Proceedings of the IEEE First International Conference on Neural Networks, Piscataway, NJ, USA (1987) Bd. 2 S. 19-32
Hecht-Nielsen, R.: Counterpropagation Networks. *Appl. Optics* 26 (1987) 4979-4984
- [169] Göppert, J.; Rosenstiel, W.: Topology-Preserving Interpolation in Self-Organizing Maps. Proceedings of Neuro-Nimes 93, Nanterre, France (1993) S. 425-434
- [170] Göppert, J.; Rosenstiel, W.: Interpolation in SOM: Improved Generalization by Iterative Methods. Proceedings of ICANN '95, Paris, France (1995)
- [171] Lacy, M. E.: Neural Network Technology and its Application in Chemical Research. *Tetrahedron Comput. Methodol.* 3 (1990) 119-128
-

-
- [172] Zupan, J.; Gasteiger, J.: Neural Networks: A New Method for Solving Chemical Problems or just a Passing Phase? *Anal. Chim. Acta* 248 (1991) 1-30
- [173] Kateman, G.; Smits, J. R. M.: Colored Information from a Black Box? Validation and Evaluation of Neural Networks. *Anal. Chim. Acta* 277 (1993) 179-188
- [174] Smits, J. R. M.; Melssen, W. J.; Buydens, L. M. C.; Kateman, G.: Using Artificial Neural Networks for Solving Chemical Problems Part I. Multi-Layer Feed-Forward Networks. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 22 (1994) 165-189
- [175] Melssen, W. J.; Smits, J. R. M.; Buydens, L. M. C.; Kateman, G.: Using Artificial Neural Networks for Solving Chemical Problems Part II. Kohonen Self-Organising Feature Maps and Hopfield Networks. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 23 (1994) 267-291
- [176] Burns, J. A.; Whitesides, G. M.: Feed-Forward Neural Networks in Chemistry: Mathematical Systems for Classification and Pattern Recognition. *Chem. Rev.* 93 (1993) 2583-2601
- [177] Gasteiger, J.; Zupan, J.: Neuronale Netze in der Chemie. *Angew. Chem.* 105 (1993) 510-536
- [178] Kraus, G.; Göppert, J.; Rosenstiel, W.; Gauglitz, G.: Neuronale Netze in der chemischen Analytik. *GIT Fachz. Lab.* 38 (1994) 1133-1138
- [179] Oinuma, H.; Miyake, K.; Yamanaka, M.; Nomoto, K.-I.; Katoh, H.; Sawada, K.; Shino, M.; Hamano, S.: Neural Networks Applied to Structure-Activity Relationships. *J. Med. Chem.* 33 (1990) 905-908
- [180] So, Richards, W. G.: Application of Neural Networks: Quantitative Structure-Activity Relationships of Derivatives of 2,4-Diamino-5(substituted-benzyl)pyrimidines as DHFR Inhibitors. *J. Med. Chem.* 35 (1992) 3201-3207
- [181] Zitko, V.: Prediction of Biodegradability of Organic Chemicals by an Artificial Neural Network. *Chemosphere* 23 (1991) 305-312

-
- [182] Rose, V. S.; Macfie, H. J. H.; Croall, I. F.: Kohonen Topology-Preserving Mapping: An Unsupervised Artificial Neural Network Method for Use in QSAR Analysis, in Silipo, C.; Vittoria, A. (Eds.): QSAR: Rational Approaches to the Design of Bioactive Compounds (Pharmacochem. Libr.) Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam (1991) S. 213-216
- [183] Rose, V. S.; Croall, I. F.; MacFie, H. J. H.: An Application of Unsupervised Neural Network Methodology (Kohonen Topology-Preserving Mapping) to QSAR Analysis. *Quant. Struct. Act. Relat.* 10 (1991) 6-15
- [184] Weinstein, J. N.; Kohn, K. W.; Grever, M. R.; Viswanadhan, V. N.; Rubinstein, L. V.; Monks, A. P.; Scuderio, D. A.; Welch, L.; Koutsoukos, A. D.; Chiausa, A. J.; Paull, K. D.: Neural Computing in Cancer Drug Development: Predicting Mechanism of Action. *Science* 258 (1992) 447-451
- [185] Osdol, W. W.; Myers, T. G.; Paull, K. D.; Kohn, K. W.; Weinstein, J. N.: Use of the Kohonen Self-Organizing Map to Study the Mechanisms of Action of Chemotherapeutic Agents. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* 86 (1994) 1853-1859
- [186] Villemin, D.; Cherqaoui, D.; Mesbah, A.: Predicting Carcinogenicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Back-Propagation Neural Network. *J. Chem. Inf. Computer Sci.* 34 (1994) 1288-1293
- [187] Xin-Hua Song, Min Xiao, Ru-Qin Yu: Artificial Neural Networks Applied to Classification of Mutagenic Activity of Nitro-Substituted Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Comput. Chem.* 18 (1994) 391-396
- [188] Bodor, N.; Harget, A.; Ming-Ju Huang: Neural Network Studies. 1. Estimation of the Aqueous Solubility of Organic Compounds. *J. Am. Chem. Soc.* 113 (1991) 9480-9483
- [189] Cense, J. M.; Diawara, B.; Legendere, J. J.; Rouillet, G.: Neural Networks Prediction of Partition Coefficients. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 23 (1994) 301-308
- [190] Cherqaoui, D.; Villemin, D.: Use of a Neural Network To Determine the Boiling Point of Alkanes. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1* 90 (1994) 97-102
-

- [191] Lohninger, H.: Evaluation of Neural Networks Based on Radial Basis Functions and Their Application to the Prediction of Boiling Points from Structural Parameters. *J. Chem. Inf. Computer Sci.* 33 (1993) 736-744
- [192] Egolf, L. M.; Jurs, P. C.: Prediction of Boiling Points of Organic Heterocyclic Compounds Using Regression and Neural Network Techniques. *J. Chem. Inf. Computer Sci.* 33 (1993) 616-625
- [193] Simon, V.; Gasteiger, J.; Zupan, J.: A Combined Application of Two Different Neural Network Types for the Prediction of Chemical Reactivity. *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993) 9148-9159
- [194] Koppenhoefer, B.: persönliche Mitteilung
- [195] Koppenhoefer, B.: Stereoselektivität in Enzymen und Modellsystemen. Habilitationsschrift, Universität Tübingen (1989)
- [196] Riedmiller, M.; Braun, H.: A Direct Adaptive Method for Faster Backpropagation Learning: The RPROP Algorithm. Proc. ICNN-93, IEEE Int. Conf. on Neural Networks, San Francisco, CA, USA (1993) 586-591

