

**Enantiomernanalytik  
chiraler Inhalationsanästhetika  
und ihrer Zersetzungsprodukte  
mittels GC**

DISSERTATION

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

zur Erlangung des Grades eines Doktors  
der Naturwissenschaften

2001

vorgelegt von

**Roswitha Schmidt**

Tag der mündlichen Prüfung: 25.01.2001

Dekan: Professor Dr. H. Probst

1. Berichterstatter: Professor Dr. V. Schurig

2. Berichterstatter: Professor Dr. E. Bayer

Die vorliegende Arbeit wurde von Oktober 1997 bis Oktober 2000 am Institut für Organische Chemie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen unter Leitung von Prof. Dr. V. Schurig durchgeführt.

Herrn Prof. Schurig danke ich für das interessante Thema und die großzügige Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die Förderung durch ein Promotionsstipendium im Rahmen des Graduiertenkollegs „Analytische Chemie“.

Meinen Kolleginnen und Kollegen Harri Czesla, Ashraf Ghanem, Dr. Birgit Gross, Dr. Heike Hofstetter, Dr. Oliver Hofstetter, Dr. Jingwu Kang, Dr. Jens Pfeiffer, Michael Preschel, Dr. Sabine Reich, Dr. Michael Roeder, Alexander Ruderisch, Gabriele Schoetz, Oliver Trapp und Dr. Dorothee Wistuba sowie Indro Biswas und Fernanda Oliveira danke ich für die gute Zusammenarbeit und die herzliche Arbeitsatmosphäre. Herrn Graeme Nicholson danke ich für seine immerwährende Unterstützung nicht nur bei GC/MS-Fragestellungen und FT-ICR-MS-Messungen.

Für die Durchführung der Routinemessungen möchte ich allen Mitarbeitern des Chemischen Instituts danken.

Herrn Prof. Dr. A. Simon und Herrn Dr. O. Oeckler vom Max-Planck-Institut für Festkörperforschung in Stuttgart danke ich für die Hilfsbereitschaft und für die Durchführung der Röntgenstrukturanalysen.

Herrn Dr. D. Belder, Herrn W. Reissig und Herrn D. Stoffels vom Max-Planck-Institut für Kohlenforschung in Mülheim/Ruhr danke ich für die Gastfreundschaft und die Bereitstellung ihres präparativen Gaschromatographen.

Frau Dr. M. Hadjidimos und den Mitarbeitern der Chirurgischen Klinik Feuerbach in Stuttgart danke ich herzlich für die Bereitstellung der Patientenproben.

Herrn Dr. H. G. Wahl und seinen Mitarbeitern Claudia Peterfi und Roman Werner danke ich für die Möglichkeit der Datenaufnahme an ihrem GC/MS-System am Universitätsklinikum Tübingen. Frau Dr. H. Häberle und Herrn Dr. H. J. Dieterich danke ich für die Bereitstellung der Inhalationsanästhetika Desfluran und Sevofluran.

Ich möchte mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, insbesondere bei Jost, Sabine und bei meiner Familie.



„Die Holzhammernarkose“

Eine Vignette von Honoré Daumier, aus „*Némésis médicale*“, Paris, aus dem Jahre 1840.<sup>1</sup>



---

## Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	I
Abkürzungen und Symbole .....	III
1 Einleitung.....	1
2 Desfluran.....	4
2.1 Problemstellung.....	4
2.2 Enantiomerenverhältnis von Desfluran in Blut- und Urinproben.....	6
2.3 Desflurankonzentrationen in Blut- und Urinproben .....	12
2.3.1 Präparative Enantiomerentrennung von Desfluran durch GC .....	13
2.3.2 Bestimmung der Desflurankonzentration in Blut und Urin.....	15
3 Compound B – ein Zersetzungsprodukt von Sevofluran.....	19
3.1 Problemstellung.....	19
3.2 Gaschromatographische Enantiomerentrennung von Compound B an Cyclodextrinderivaten .....	22
3.3 Vergleich der Trennfaktoren an $\alpha$ -, $\beta$ - und $\gamma$ -Cyclodextrinderivaten.....	25
3.4 Thermodynamische Parameter der gaschromatographischen Enantiomerentrennung von Compound B an Cyclodextrinphasen .....	27
3.4.1 Allgemeines.....	27
3.4.2 Experimentelle Bestimmung der thermodynamischen Daten .....	31
3.5 Präparative GC zur Trennung der Compound B-Enantiomere.....	37
3.5.1 Präparative GC am Dr. Hupe APG 402 .....	38
3.4.2 Präparative GC am Gerstel AMPG 60.....	40
3.6 Bestimmung der Absolutkonfigurationen der Compound B-Enantiomere ..	43
4 Experimenteller Teil.....	47
4.1 Materialien und Geräte.....	47
4.1.1 Materialien .....	47
4.1.2 Geräte .....	49

---

4.2	Synthesen.....	50
4.2.1	Synthese von 2-(Fluormethoxy)-3-methoxy-1,1,1,3,3-pentafluorpropan .....	50
4.2.2	Synthese von Heptakis(6- <i>O</i> -tert-butyldimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin....	51
4.2.3	Synthese von Heptakis(6- <i>O</i> -tert-butyldimethylsilyl-2,3-di- <i>O</i> -acetyl)- $\beta$ - cyclodextrin <sup>81</sup> .....	52
4.2.5	Heptakis(2,6-di- <i>O</i> - <i>n</i> -pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin.....	53
4.2.5	Heptakis(3- <i>O</i> -butanoyl-2,6-di- <i>O</i> - <i>n</i> -pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin.....	54
4.3	Analytische Gaschromatographie .....	55
4.3.1	Kapillar-GC - Herstellen der Säulen.....	55
4.3.2	Gepackte GC - Herstellen der gepackten analytischen Säule.....	55
4.4	Präparative Gaschromatographie .....	56
4.4.1	Trennung der Desfluran-Enantiomere .....	56
4.4.2	Trennung der Compound B-Enantiomere.....	57
4.5	Thermodynamische Messungen.....	59
4.6	Bestimmung der Absolutkonfigurationen der isolierten Compound B- Enantiomere.....	60
4.7	Desfluran-Enantiomere in Blut- und Urinproben .....	62
4.7.1	Probengewinnung.....	62
4.7.2	Kontrollproben .....	63
4.7.3	Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse mittels GC/MS.....	64
4.7.4	Quantitative Bestimmung von Desfluran in Blut- und Urinproben.....	64
5	Zusammenfassung.....	66
6	Anhang .....	70
6.1	Thermodynamische Parameter der GC-Enantiomerentrennung von Compound B an Lipodex E.....	70
6.2	Daten der Röntgenstrukturanalyse von R-(-)- und S-(+)-Compound B .....	75
7	Literaturverzeichnis.....	79



## Abkürzungen und Symbole

$\alpha$	Trennfaktor
$\rho$	Dichte
$\lambda$	Wellenlänge
$c$	Konzentration (g/l)
CD	Cyclodextrin
$d_f$	Filmdicke
DMSO	Dimethylsulfoxid
<i>ee</i>	Enantiomerenüberschuß
EI	Elektronenstoßionisation (electron impact)
FT-ICR-MS	Fouriertransformation-Ionencyclotronresonanz-MS
GC	Gaschromatographie
I.D.	Innendurchmesser
IPDS	Image Plate Determination System
MHz	Megahertz
MS	Massenspektrometrie
$m/z$	Masse-Ladungs-Verhältnis
$n$	Anzahl der Messungen
NMR	Kernresonanzspektroskopie (nuclear magnetic resonance)
OP	Operation
SD	Standardabweichung
S.E.M.	Standardabweichung der Mittelwerte
SIM	Selected Ion Monitoring
TMS	Tetramethylsilan
6-TBDMS-2,3-ac- $\beta$ -CD	Heptakis(6- <i>O</i> -tert-butyldimethylsilyl-2,3-di- <i>O</i> -acetyl)- $\beta$ -cyclodextrin
Lipodex E	Octakis(3- <i>O</i> -butanoyl-2,6-di- <i>O</i> - <i>n</i> -pentyl)- $\gamma$ -cyclodextrin



# 1 Einleitung

*Dolor Tyrannus*

*Und Dolor Tyrannus also sprach:  
“Ihr lieben Ärzte, gemacht, gemacht,  
immer enger wollt ihr mich umziehn  
mit Opium, Morphium, Kokain  
Immer reicher stellt sich euch zur Wahl  
Äther, Chloroform, Chloral,  
und doch, ob Brom, ob Jod, ob Od,  
der Schmerz ist ewig wie der Tod.“*

Theodor Fontane

Das Bestreben, durch Krankheit oder Verletzung bedingte Schmerzen zu lindern, ist so alt wie die Medizin selbst. Auch gab es schon früh in der Geschichte der Menschheit Ansätze, Operationsschmerzen auszuschalten.<sup>1</sup> Im Mittelalter beispielsweise wurden Vollnarkosen bei chirurgischen Eingriffen durch den Einsatz sogenannter *Spongia Somnifera* erzielt.<sup>2</sup> Diese „Schlafschwämme“ waren mit einem Gemisch von sedierenden, narkotisierenden, analgesierenden und auch halluzinogenen Alkaloiden<sup>a</sup> getränkt und wurden den Patienten über Mund und Nase gelegt, zum Aufwachen wurden sog. „Weckschwämme“ mit Fenchelextrakten benutzt. Aufgrund der unzureichenden Steuerbarkeit der Narkosetiefe und den häufig vorkommenden Zwischenfällen, auch aufgrund des wachsenden Einflusses des Christentums, das die Einstellung der Menschen zu Schmerzen änderte, war die Operationsnarkose in Europa und den USA verpönt<sup>b</sup> und hatte erst Mitte des 19. Jahrhunderts mit der Einführung der Inhalationsanästhesie ihren endgültigen Durchbruch.

---

<sup>a</sup> Aus Mohn, Alraune, Bilsenkraut, Schierling u.a. gewonnenen Pflanzenextrakten.

<sup>b</sup> „Solange in Salem Hexen verbrannt wurden, konnte unmöglich 20 Meilen weiter in Boston die Anästhesie entdeckt werden.“ N.M. Greene, 1971.



Abb. 1: Chloroforminhalator von J. Snow (1848).<sup>c</sup>

1846 setzte der Dentist John Riggs bei seinem Kollegen Horace Wells erstmals Distickstoffoxid (Lachgas), welches hauptsächlich analgetisch wirksam ist, bei einer Zahnextraktion ein. Im selben Jahr, am 16. Oktober 1846, wurde in Boston (USA) von William T. G. Morton die erste Operation unter Vollnarkose mit Diethylether durchgeführt. Diethylether und etwas später Chloroform wurden lange Zeit - über 100 Jahre - als Narkosemittel auch in der Geburtshilfe eingesetzt. Der Brite John Snow (1813-1858) optimierte die Chloroformnarkose u.a. durch Konstruktion eines Inhalators (Abb. 1) und verhalf der *Geburt a la reine* zur Popularität. Allerdings gab es schon bald die ersten tödlichen Narkosezwischenfälle. Schließlich führten die Toxizität und unmittelbaren Gefahren bei der Anwendung (Brennbarkeit, Explosibilität im Gemisch mit Luft) und die Entwicklung neuer narkotisierender Substanzen mit günstigeren Eigenschaften zum Ersatz der historischen Inhalationsanästhetika Diethylether und Chloroform. 1956 wurde Halothan eingeführt, welches ein sehr viel günstigeres Wirkungsspektrum als alle anderen bis dahin verfügbaren Narkosegase besaß. Allerdings weist dieses Halogenalkan eine hohe Metabolisierungsrate (20 %) auf und bei mehrmaliger Anwendung kann es zu einer massiven Lebernekrose

<sup>c</sup> Mit freundlicher Abdruckgenehmigung von Referenz 1.

führen.<sup>3,4</sup> Heutzutage werden polyhalogenierte Ether wie Enfluran, Isofluran, seit den letzten Jahren auch Sevofluran und Desfluran, eingesetzt. Distickstoffoxid wird weiterhin in Kombination mit den modernen Narkosegasen angewendet, da es deren anästhetische Potenz verstärkt.<sup>5</sup>

Die meisten der heute gebräuchlichen Inhalationsanästhetika (Halothan, Enfluran, Isofluran und Desfluran) sind chiral, was bei ihrer Entwicklung als potente Narkosemittel nicht berücksichtigt wurde. Nun gibt es zahlreiche Beispiele dafür, dass die optischen Isomere eines Xenobiotikums unterschiedliche biologische Eigenschaften haben. Mehrere Untersuchungen ergaben deutliche Unterschiede der Enantiomere des Narkotikums Ketamin sowohl in ihrer analgetischen als auch psychomimetischen Aktivität. Der Wirkort dieses Injektionsanästhetikums ist bekannt,<sup>6</sup> an diesem weist S-(+)-Ketamin eine höhere Affinität auf und ist deshalb 3-4 mal potenter als das R-(–)-Ketamin.<sup>7,8</sup> Zwischenzeitlich ist S-Ketamin auch als reines Enantiomer neben dem Racemat im Handel. Im Gegensatz dazu ist bei den volatilen Inhalationsanästhetika der spezifische Wirkort sowie die Wirkungsweise noch nicht vollständig geklärt. Die Meyer-Overton-Regel (1899 / 1901) besagt, dass mit zunehmender Lipophilie volatiler Anästhetika auch deren anästhesiologische Potenz steigt, doch allein durch die Lipidlöslichkeit lässt sich die Wirkung nicht erklären. Neuere Untersuchungen zeigen, dass die Anästhetika eher direkt mit Proteinen als mit Lipiden wechselwirken.<sup>9</sup> Wahrscheinlich erzielen sie ihre Wirkung über Ionenkanäle,<sup>10</sup> wobei noch nicht geklärt ist, ob sie direkt<sup>11</sup> oder indirekt über Änderungen der Umgebungsstruktur<sup>12</sup> den Ionenkanal beeinflussen. Zahlreiche Studien konnten keine eindeutigen Beweise für eine bessere Wirksamkeit eines der Enantiomere erbringen, die Narkosegase werden klinisch weiterhin als Racemate eingesetzt. Die Fachliteratur setzt sich aber in den letzten Jahren verstärkt mit der Problematik des Einsatzes von racemischen Narkosemitteln auseinander,<sup>13,14,15</sup> nicht zuletzt lassen sich durch den Einsatz optisch reiner Isomere Aussagen über spezifische Bindungsstellen machen.

## 2 Desfluran

### 2.1 Problemstellung

Desfluran (2-(Difluormethoxy)-1,1,1,2-tetrafluorethan) wurde bereits in den sechziger Jahren des 20. Jahrhunderts synthetisiert.<sup>16</sup> Aufgrund der Schwierigkeiten bei der Herstellung und der Handhabung, bedingt durch den extrem hohen Dampfdruck (Siedepunkt 23 °C), wurde diese Substanz zunächst nicht als neues Narkosegas in Betracht gezogen. Durch verbesserte Techniken (neuer Syntheseweg, spezielle Verdampfer) konnte sie allerdings 1995 in der Klinik als modernes Inhalationsanästhetikum eingeführt werden.

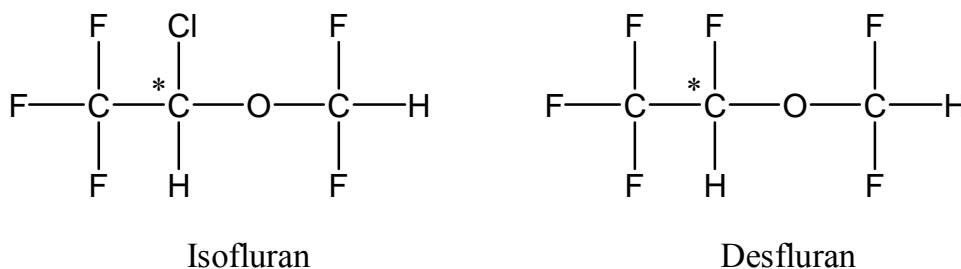


Abb. 2: Strukturen der Inhalationsanästhetika Isofluran und Desfluran.

Desfluran unterscheidet sich von Isofluran nur durch Austausch des Chloratoms durch ein weiteres Fluoratom (Abb. 2). Die daraus resultierenden veränderten physikochemischen Eigenschaften kommen der heutigen Vorstellung eines „idealen“ Anästhetikums entgegen. Die anästhetische Potenz ist durch die geringe Löslichkeit im Blut<sup>d</sup> und im Gewebe stark vermindert (Desfluran : Isofluran 1 : 5), welches zu einer verbesserten Steuerbarkeit der Narkosetiefe, zu einem schnelleren Erwachen und zu einer schnelleren vollständigen Erholung von der Anästhesie führt.<sup>17,18</sup> Dies ist besonders in der zunehmend ambulanten Anästhesiepraxis erwünscht. Auch die Anästhesie mit niedrigem Frischgasfluss (*low flow*-Anästhesie) gewinnt aus ökonomischen Aspekten immer mehr an

<sup>d</sup> Niedrigster Blut/Gas-Verteilungskoeffizient von 0.42, Lachgas: 0.47, Isofluran: 1.38.

Bedeutung.<sup>19</sup> Ein weiterer Vorteil dieses ausschließlich fluorierten Narkotikums liegt in seiner hohen molekularen Stabilität. *In vivo* wird Desfluran praktisch nicht metabolisiert, d.h. potentiell toxische hepatische Abbauprodukte (z.B. Fluorid) sind klinisch vollkommen vernachlässigbar, außerdem zerfällt diese Substanz unter normalen Bedingungen nicht in CO<sub>2</sub>-Absorbern wie z.B. Halothan und Sevofluran.<sup>20,21</sup>

Desfluran besitzt wie Isofluran und andere Inhalationsanästhetika ein asymmetrisches C-Atom und besteht somit aus einem Enantiomerenpaar. Bei verschiedenen stereoselektiven Untersuchungen des strukturell verwandten Isoflurans wurde eine höhere biologische Aktivität des S-Enantiomers gefunden,<sup>11,22,23,24,25</sup> wogegen in anderen Studien keine anästhetisch bessere Wirksamkeit nachgewiesen werden konnte.<sup>26,27,28</sup>

Die Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse von Isofluran im Humanblut bis zu 8 Tage nach der Operation unter Narkose mit dem Racemat zeigte eine signifikante Anreicherung von S-(+)-Isofluran.<sup>29</sup> Die höchste Anreicherung von 52-54 % gegenüber dem Racemat (50 %) wurde bei den meisten Patienten am 2. Tag nach der Narkose detektiert. Erklärbar wäre dieses Ergebnis mit einer höheren Affinität des S-Enantiomers zu Plasmaproteinen.<sup>30,31</sup> Bei dieser Studie wurden am 5. und am 8. Tag nach der Operation zusätzlich Urinproben genommen. In diesen Proben war die Absolutmenge an Isofluran nahe am Detektionslimit, die Enantiomerenverhältnisse konnten deshalb nicht sicher bestimmt werden.<sup>32</sup> Bei einem Patienten allerdings wurde in den ersten 48 Stunden Urin gesammelt und dabei eine geringere Ausscheidung des S-Enantiomers im Vergleich zum R-Enantiomer gefunden.<sup>33</sup>

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde eine ähnliche Studie mit Desfluran entwickelt. Desfluran ist Isofluran im Vergleich zu den anderen volatilen Narkotika strukturell am ähnlichsten mit einer noch geringeren *in vivo*-Metabolisierungsrate (0.02 % vs. 0.2 %) und einer deutlich schnelleren pulmonalen Eliminierung nach Absetzen der Narkose. Bei den Desfluran-Enantiomeren sind

bislang keine Hinweise auf unterschiedliche biologische Aktivitäten erhalten worden,<sup>17,27</sup> auch ist keine höhere Affinität zu Plasmaproteinen eines der Enantiomere bekannt. Allerdings beschreibt eine Patentschrift *in vivo*-Versuche mit den isolierten Enantiomeren, bei denen Ratten nach Gabe von S-Desfluran schneller aus der Narkose erwachen als nach Gabe von R-Desfluran.<sup>34</sup> Durch die neue Studie, die in den nächsten Kapiteln beschrieben wird, sollten Hinweise auf eventuelle pharmakokinetische Unterschiede der Enantiomere volatiler Inhalationsanästhetika überprüft werden.

## 2.2 Enantiomerenverhältnis von Desfluran in Blut- und Urinproben

In die Studie zur Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse und der Absolutmenge an Desfluran in Humanproben wurden 14 Patienten, die einer Operation unter Narkose mit dem Racemat (1 - 3.5 Stunden) unterzogen worden sind, einbezogen. Den Studienteilnehmern (8 weibliche, 6 männliche, 26-84 Jahre alt) wurde unmittelbar vor Einleitung und direkt nach Ausleitung der Narkose Blut entnommen, in den darauffolgenden 3 Tagen wurden täglich Blut- und Urinproben gesammelt. Die Proben wurden sofort nach Abnahme eingefroren und später in gasdichte Gläschen umgefüllt.

Die Desfluran-Enantiomere lassen sich durch enantioselektive Gaschromatographie mit Octakis(3-*O*-butanoyl-2,6-di-*O*-*n*-pentyl)- $\gamma$ -cyclodextrin (Lipodex E)<sup>35</sup> als chiralem Selektor trennen.<sup>36</sup> Da die Substanz sehr flüchtig ist, wurden die Proben mittels Headspace-Gaschromatographie-Massenspektrometrie (Headspace-GC/MS) analysiert. Die Headspace-GC ist eine elegante Methode zur Bestimmung volatiler Komponenten in komplexen Matrices, da keine Probenextraktion notwendig ist, sondern nur der Dampfraum über der Probe in einem geschlossenen Gefäß analysiert wird.<sup>37</sup> Durch Detektion mit einem Massenspektrometer konnten die Desfluran-Enantiomere sicher neben anderen volatilen Substanzen der Humanproben identifiziert werden (Abb. 3 und 4).



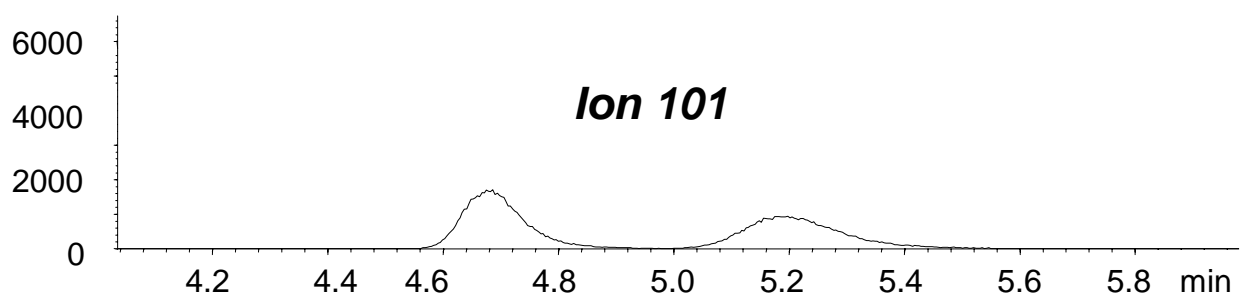
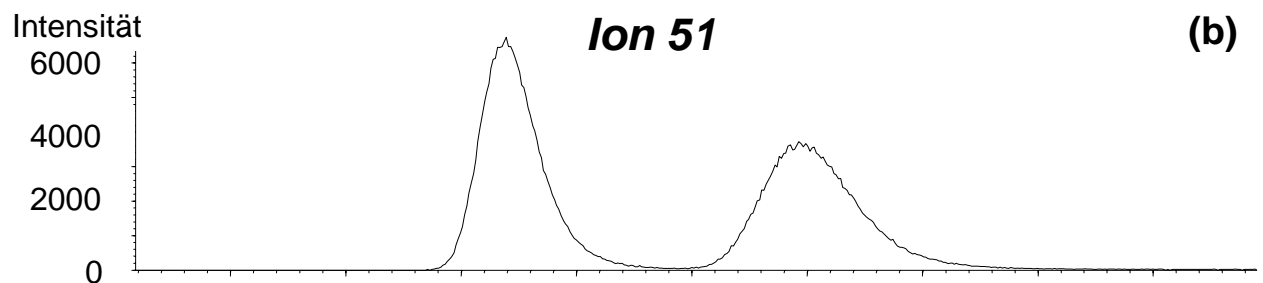
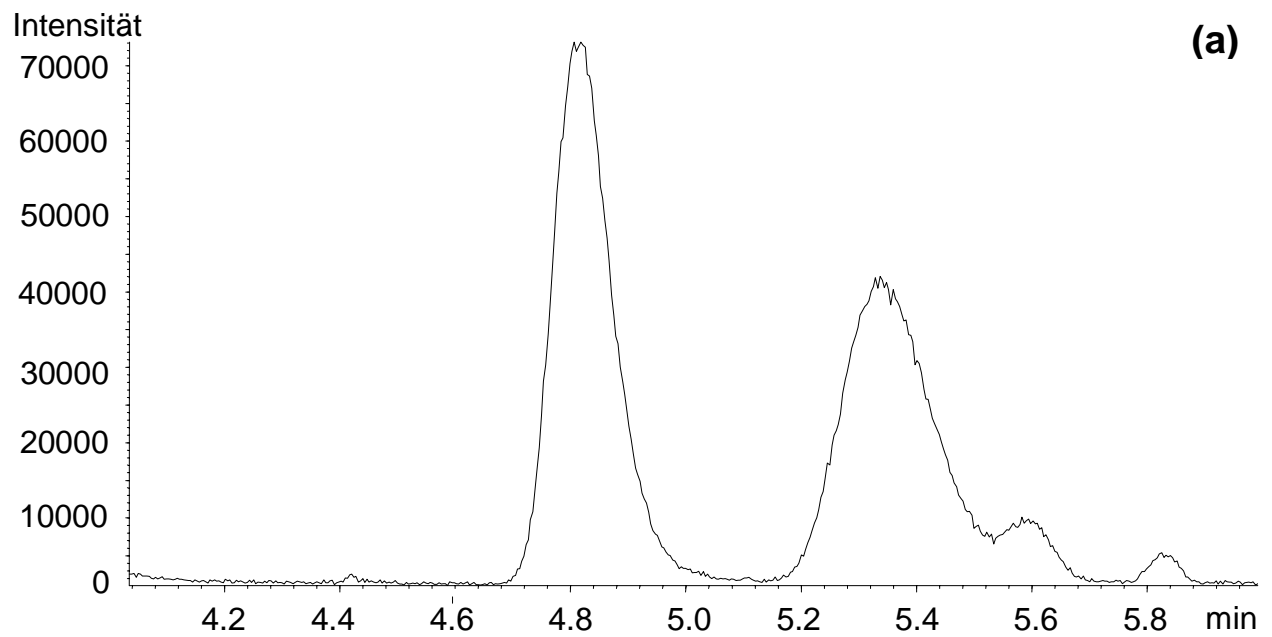


Abb. 3: GC/MS-Trennung der Desfluran-Enantiomere im Blut (a): Totalionenchromatogramm (Scan 40-200 u), (b): Ionenchromatogramme ( $m/z$  51 und  $m/z$  101). Kapillarsäule (50 m  $\times$  0.25 mm I.D., retention gap 1 m): Lipodex E 20 % in PS 255,  $d_f$  0.5  $\mu$ m; 1.2 bar Helium, Ofentp. 33  $^{\circ}$ C.

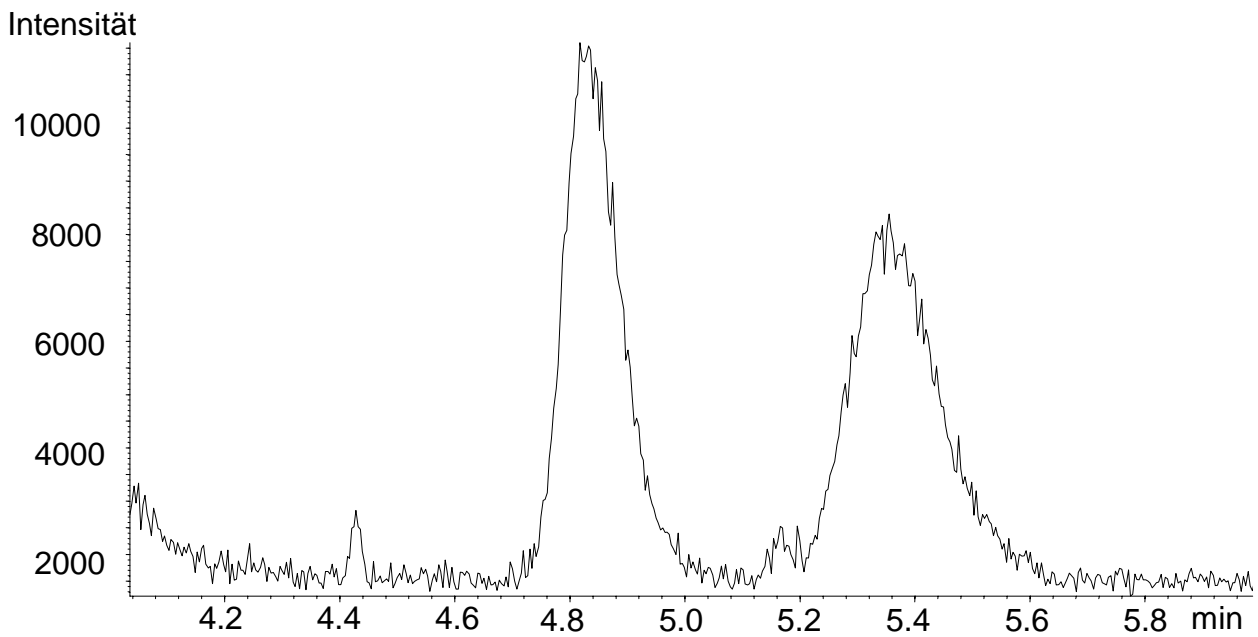


Abb. 4: GC/MS-Trennung der Desfluran-Enantiomere im Urin, Totalionenchromatogramm (Scan 40-200 u). Kapillarsäule (50 m × 0.25 mm I.D., retention gap 1 m): Lipodex E 20 % in PS 255,  $d_f$  0.5  $\mu\text{m}$ ; 1.2 bar Helium, Ofentp. 33 °C.

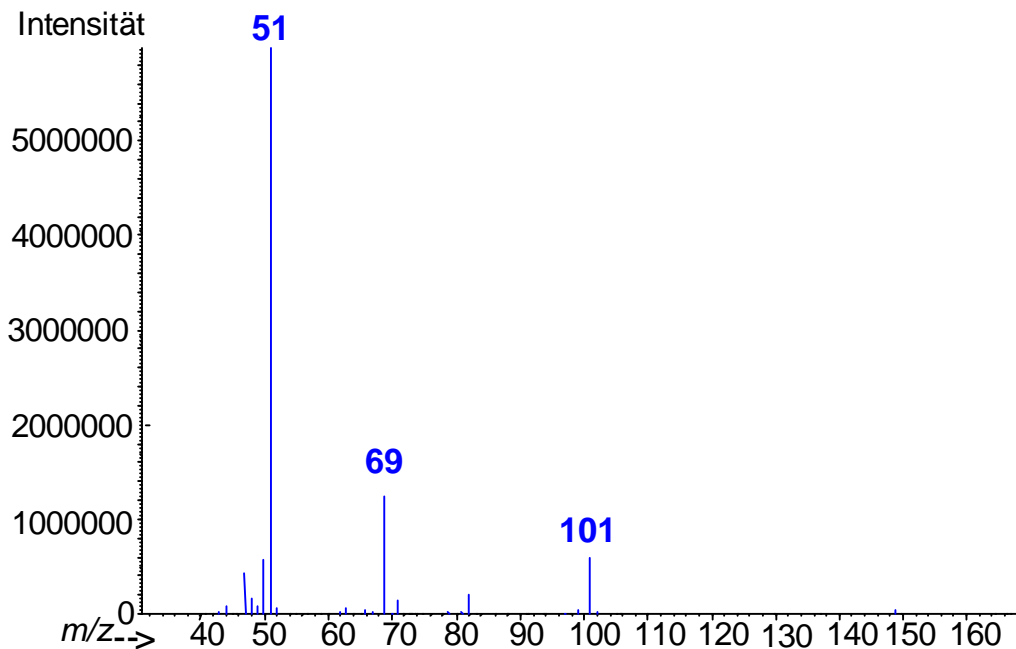


Abb. 5: Massenspektrum von Desfluran, erhalten durch GC/MS (EI, 70 eV).

Detektiert wurden im *Selected Ion Monitoring* (SIM)-Modus die Ionen  $m/z$  51 und  $m/z$  101 (Abb. 5), um die Sensitivität deutlich zu erhöhen (Abb. 6).

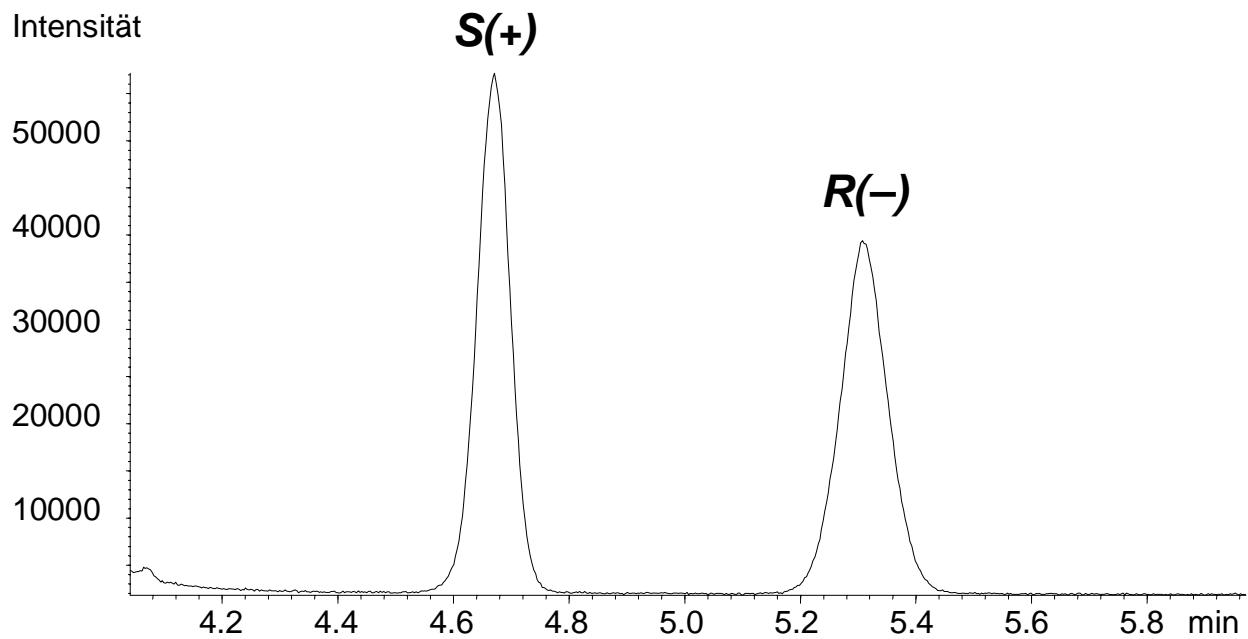


Abb. 6: GC/MS(SIM) der Desfluran-Enantiomere im Blut (Ionen  $m/z$  51 und  $m/z$  101).

Zur automatischen Probenaufgabe von bis zu 1 ml Dampf wurde ein Multipurpose-Sampler in Verbindung mit einem Kaltaufgabesystem (Gerstel), das mit flüssigem Stickstoff gekühlt werden kann und zur Probenfokussierung dient, verwendet.<sup>38,29</sup> Um die Absolutmenge an Desfluran im Dampfraum zu erhöhen, wurden die Proben zusätzlich vor der Analyse bei 50 °C equilibriert. Durch Headspace-GC/MS(SIM) war es möglich, die Enantiomerenverhältnisse von Desfluran bis zu drei Tage nach der Narkose mit dem Racemat zu bestimmen, wobei bei einigen Patienten die Konzentrationen am dritten postoperativen Tag nahe am Detektionslimit (0.02 nmol/ml, vgl. Kapitel 2.3.2) lagen und somit nicht ausgewertet werden konnten. Das Fragmention  $m/z$  101 wurde, da es spezifisch ist, zur Auswertung herangezogen. Es ergab sich eine Anreicherung des S-(+)-Desfluran<sup>39</sup> in den Blutproben, die höchste Anreicherung von bis zu 54 % gegenüber 50 % im Racemat wurde in den Proben direkt nach dem Ausleiten der Narkose detektiert. In den postoperativen Tagen nahm diese Anreicherung des S-Enantiomers wieder ab (Abb. 7). Bei den Urinproben wiederum zeigte sich durchgehend eine verminderte Ausscheidung des S-Enantiomers gegenüber dem

R-Enantiomer. Bei Kontrollproben (Blut- bzw. Urinproben versetzt mit racemischem Desfluran) wurde wie erwartet ein 50 : 50 %-Verhältnis der Enantiomere gefunden mit einer Standardabweichung (SD) von 0.6 % (n = 17, Blutkontrollproben) bzw. 0.3 % (n = 21, Urinkontrollproben). Die gefundenen Abweichungen vom racemischen Verhältnis in den Patientenproben sind statistisch signifikant, da sie größer sind als der SD-Bereich der Kontrollproben. Da die Absolutmenge an Desfluran im Blut und somit auch im Urin durch die sehr geringe Löslichkeit rasch nach Absetzen der Narkose abnimmt (vgl. Kapitel 2.3.2), ist es nicht verwunderlich, dass die größte Anreicherung im Blut direkt nach Ausleiten der Narkose gefunden wurde. Auch die geringere Ausscheidung von S-Desfluran im Urin spricht für eine unterschiedliche Pharmakokinetik der Enantiomere aufgrund stereoselektiver Verteilung in den Körperflüssigkeiten. Diese Ergebnisse stimmen mit denen der Isofluranstudie<sup>29</sup> überein.

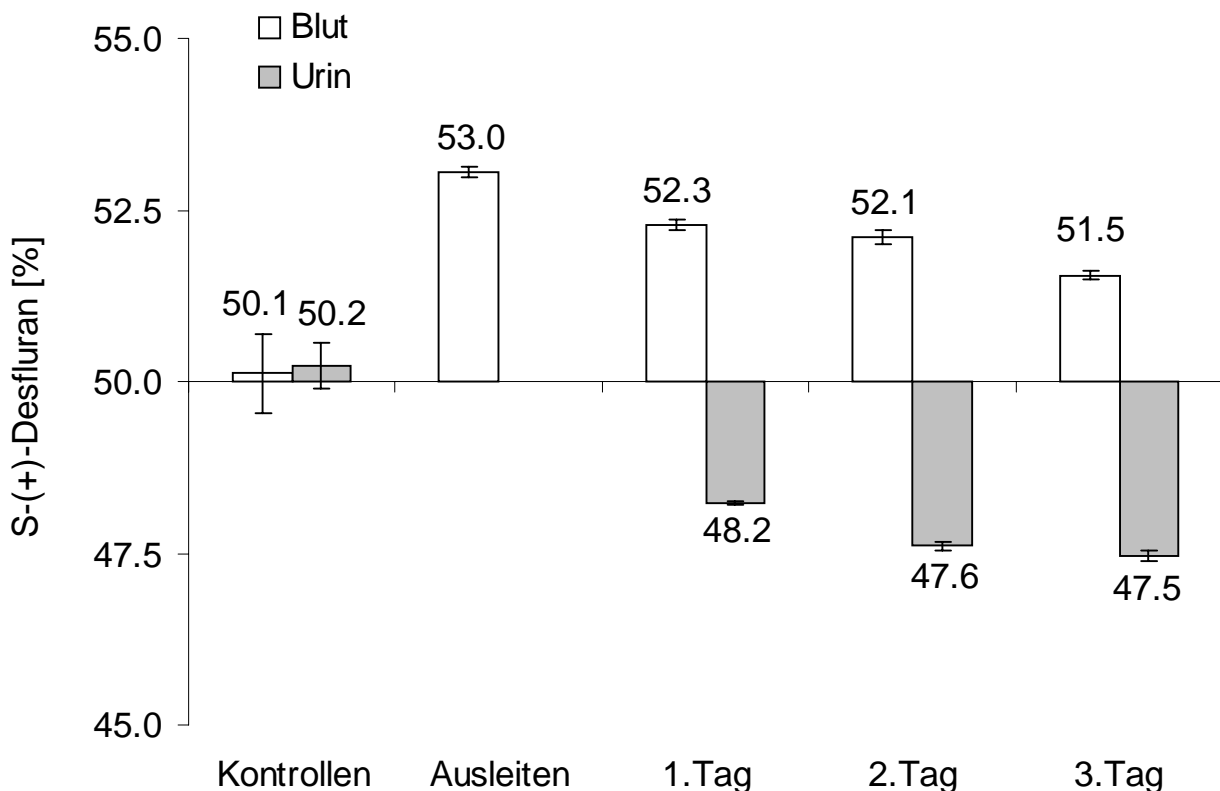


Abb. 7: S-(+)-Desfluran [%] in Patientenproben (MW  $\pm$  S.E.M.) und in Kontrollproben (MW  $\pm$  SD).

Tab. 1: Enantiomerenverhältnis S-Desfluran [%] in Blut und Urin. Narkoseabstände 7 Tage.

Probennahme	nach Extubation	1. Tag nach OP	2. Tag nach OP	3. Tag nach OP
	S-Desfluran [%]	S-Desfluran [%]	S-Desfluran [%]	S-Desfluran [%]
1. Narkose Blut	53.7	51.3	n.b.	n.b.
Urin		47.1	47.1	47.0
2. Narkose Blut	52.9	53.4	51.8	51.8
Urin		48.0	47.3	46.0

n.b. nicht bestimmbar

In die Studie war ein Teilnehmer einbezogen, der in einem Abstand von sieben Tagen zweimal operiert wurde. Ihm wurden jeweils bis drei Tage nach der Narkose Proben entnommen und analysiert (Tab. 1). Zusätzlich wurde ein anderer Patient an zwei aufeinanderfolgenden Tagen Operationen unter Desflurannarkose unterzogen. Abb. 8 zeigt den Verlauf der Enantiomerenverhältnisse bei diesem Patienten, welcher sich nicht von denen der anderen unterscheidet. Desfluran ist nach drei Tagen praktisch nicht mehr in den Körperflüssigkeiten nachweisbar und bereits nach Absetzen der Narkose ist die Restkonzentration so gering, dass bei erneuter Gabe von Desfluran eine vorhergehende stereoselektive Verteilung der Enantiomere im Organismus nicht ins Gewicht fällt.

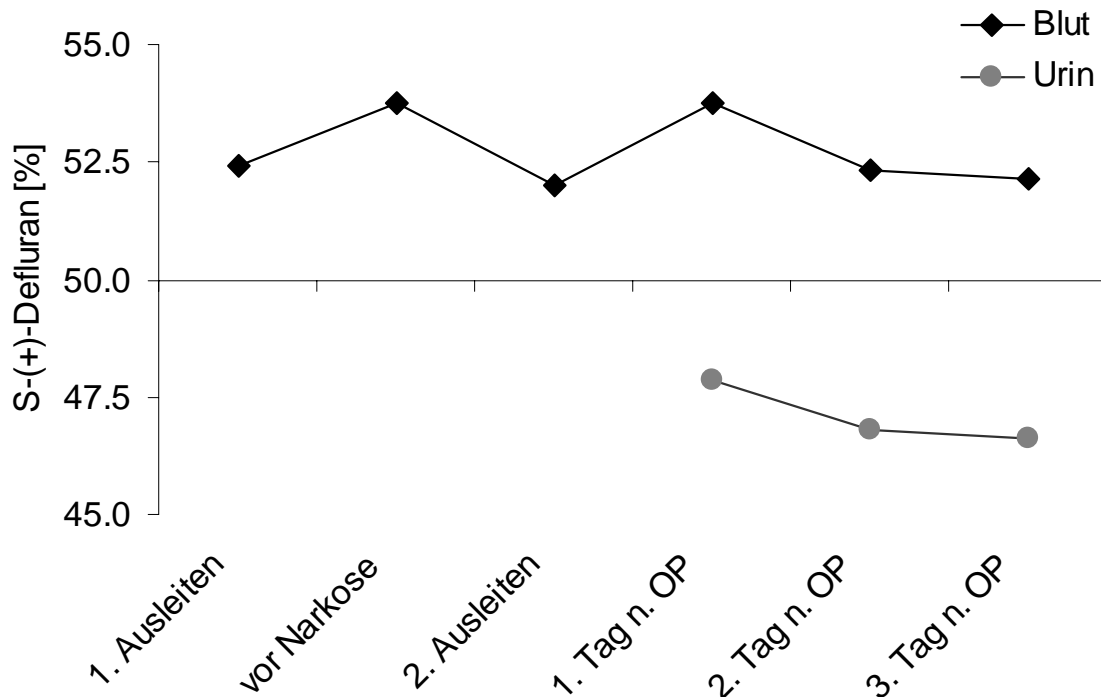


Abb. 8: S-Desfluran [%] nach zwei Narkosen an aufeinanderfolgenden Tagen.

### 2.3 Desflurankonzentrationen in Blut- und Urinproben

Die quantitative Analyse einer Substanz ist mit verschiedenen Verfahren möglich (innere Standardisierung, Zumischmethode, externe Kalibration), wobei bei der Headspace-GC beachtet werden muss, dass die Menge der Komponente im Dampfraum vom jeweiligen Partialdruck bestimmt wird, welcher wiederum u.a. von der Probenmatrix abhängig ist.<sup>40</sup> Bei der enantioselektiven GC besteht zusätzlich die Möglichkeit, die Konzentration einer chiralen Substanz durch sog. *enantiomer labeling* zu bestimmen.<sup>41,42</sup> Dabei fallen die Nachteile der anderen Quantifizierungsmethoden (Matrixabhängigkeit, Notwendigkeit eines Vergleichskomponentenpeaks) weg. Wenn ein angereichertes Enantiomer zur Verfügung steht, ist dies die Methode der Wahl.<sup>43</sup>

### 2.3.1 Präparative Enantiomerentrennung von Desfluran durch GC

Die Desfluran-Enantiomere wurden mittels präparativer Gaschromatographie isoliert. Die präparative Trennung der Enantiomere von Enfluran, Isofluran und Desfluran an einem automatisierten Gaschromatographen ist in der Literatur beschrieben.<sup>44,45,46</sup> Da es bei dem verwendeten System<sup>46</sup> nicht möglich war, den Ofenraum zu kühlen und dadurch eine bessere Trennung zu erhalten, schalteten die Autoren zur Isolierung der Desfluran-Enantiomere zwei Säulen mit geringerer Probenkapazität ( $2 \times 1 \text{ m} \times 6 \text{ mm I.D.}$ ) hintereinander. Zur Isolierung der Enfluran- und Isofluran-Enantiomere diente eine dickere Säule ( $1 \text{ m} \times 24 \text{ mm I.D.}$ ), die mit Chromosorb P, belegt mit 20.3 Gew. % einer Mischung von 10.6 Gew. % ungereinigtem Lipodex E in Polysiloxan SE 54, gefüllt war.

In der vorliegenden Arbeit, in der der in der Literatur beschriebene präparative Gaschromatograph (Dr. Hupe APG 402 Prototyp) verwendet wurde, gelang die Trennung der Desfluran-Enantiomere auch mit der oben beschriebenen dickeren Säule bei erniedrigter Temperatur. Dazu wurde diese mit einem Kupferrohr umwickelt und mit Isolierband nach außen hin abgedichtet. Das Rohr wurde an einen Kryostaten angeschlossen und mit Kühlflüssigkeit durchspült, um eine Temperierung der Trennsäule auch unterhalb der Raumtemperatur zu erreichen. Die Trennung erfolgte schließlich bei einer Temperatur von  $0 \text{ }^\circ\text{C}$ . Obwohl nur ein aliquoter Teil des Dampfraumes über dem halbgefüllten Probengefäß injiziert wurde, wurde keine Basislinientrennung erreicht, dafür ließen sich aber die Produktionsraten steigern.<sup>47</sup> Es wurden drei Fraktionen gesammelt (Abb. 9), wobei die mittlere Fraktion verworfen wurde. In 41 Zyklen wurden 373 mg des ersteluierten Enantiomers (*ee* 91 %, S-(+)-Desfluran) und 190 mg des zweiteluierten Enantiomers (*ee* 72 %, R-(-)-Desfluran) gewonnen (Abb. 10).

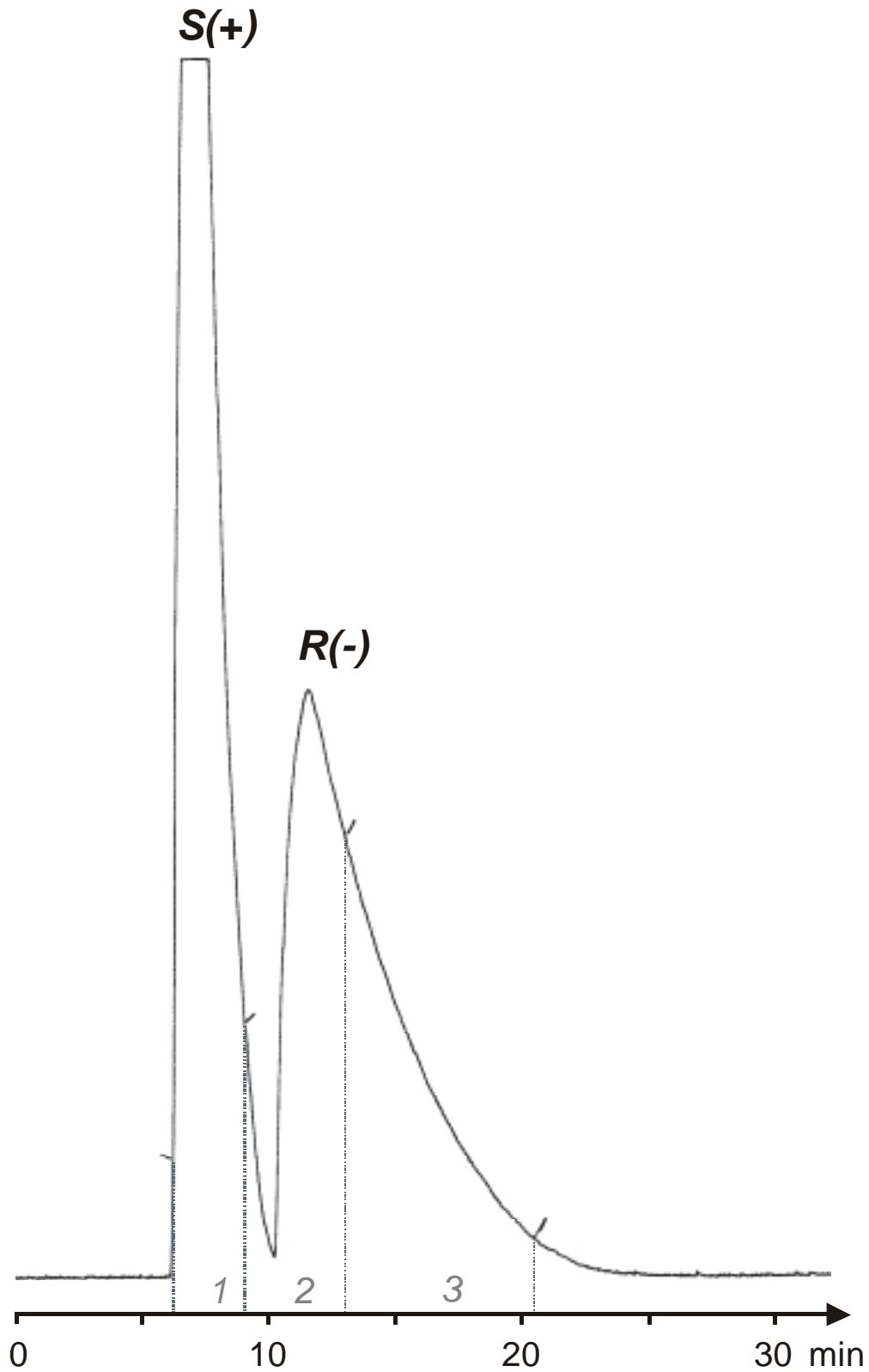


Abb. 9: Präparative gaschromatographische Enantiomerentrennung von rac. Desfluran bei 0 °C, gesammelte Fraktionen 1-3. Stahlsäule (1 m × 24 mm I.D.) gepackt mit Chromosorb P AW DMCS (80-100 mesh), belegt mit 20.3 % einer Mischung von 10.6 % Lipodex E in SE 54; 0.8 bar N<sub>2</sub>.



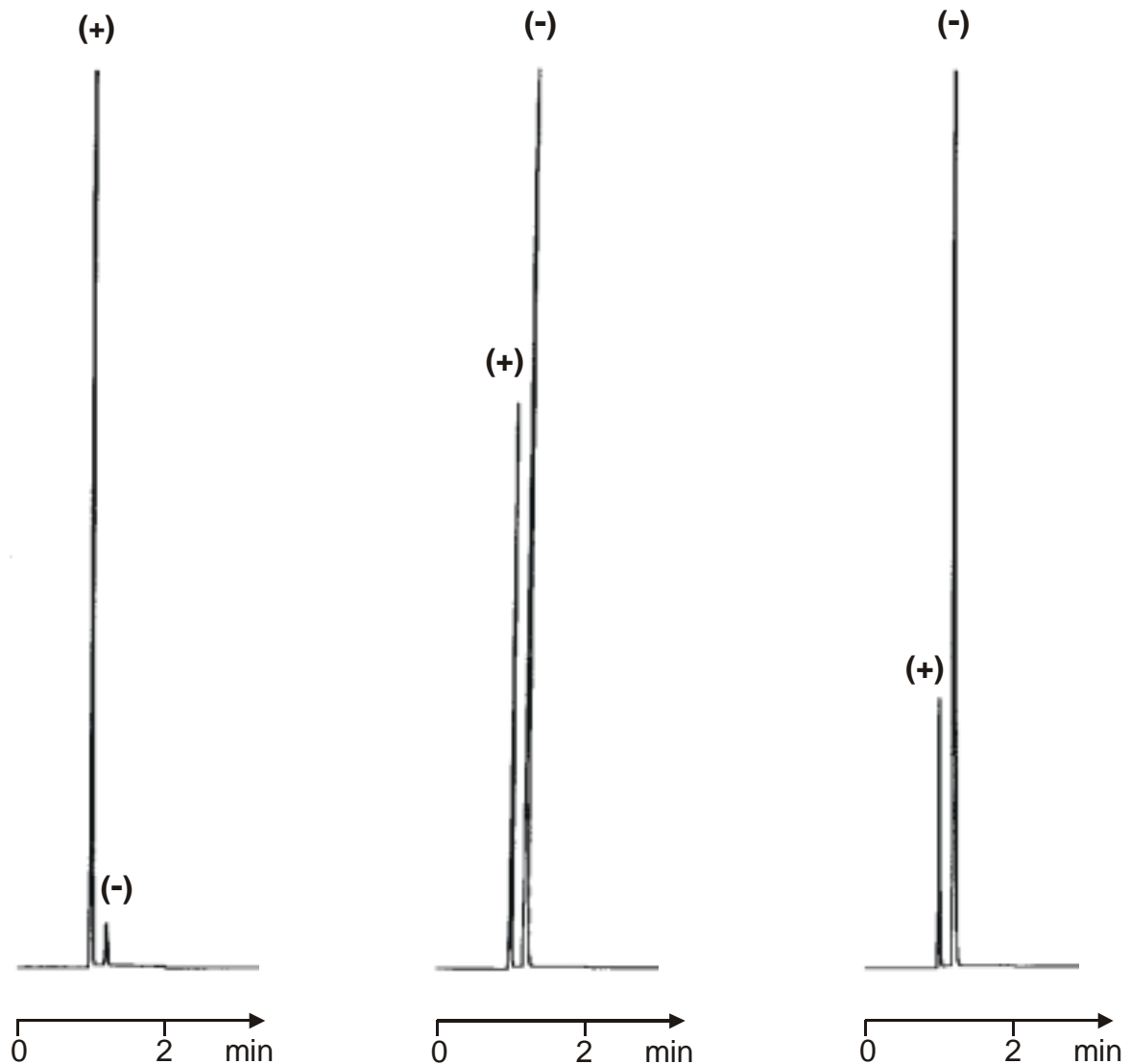


Abb. 10: Gaschromatographische Bestimmung der Enantiomerenreinheit der Fraktionen 1-3. Kapillarsäule (30 m × 0.25 mm I.D.): Lipodex E 10 % in PS 255,  $d_f$  0.5  $\mu\text{m}$ ; Ofentp. 29 °C, Trägergas 0.8 bar  $\text{H}_2$ .

### 2.3.2 Bestimmung der Desflurankonzentration in Blut und Urin

Die Absolutmenge an Desfluran in Blut und Urin wurde mittels *enantiomer labeling* bestimmt. Als Standard wurde das durch präparative GC isolierte S-(+)-Desfluran (*ee* 91 %) verwendet.

Jede Patientenprobe war in zwei Portionen aufgeteilt (siehe Kapitel 4.7.1). Jeweils eine Portion wurde mit unterschiedlichen Mengen an S-Desfluran, verdünnt in Blutplasma bzw. Urin, aufgestockt und der genaue Standardgehalt

durch Wiegen ermittelt. Nach Bestimmen der Enantiomerenverhältnisse mittels Headspace-GC/MS(SIM) (Abb. 11) unter den in Kapitel 2.2 beschriebenen Bedingungen und durch Vergleich mit den Enantiomerenverhältnissen in der ursprünglichen Probe konnte die Absolutmenge an Desfluran mit der Gleichung von Frank *et. al*<sup>41</sup> ermittelt werden:

$$X_i = m_S \frac{(A_R - A_S C_S)(1 + C_R)}{(A_S - A_R C_R)(1 + C_S)} \quad (1)$$

mit:	$X_i$	Menge der chiralen Komponente $i$
	$m_S$	zugewogene Menge des Standards $S$
	$A_R$	Peakfläche des R-Enantiomers
	$A_S$	Peakfläche des S-Enantiomers
	$C_S$	R/S-Verhältnis des Standards
	$C_R$	S/R-Verhältnis der ursprünglichen Probe

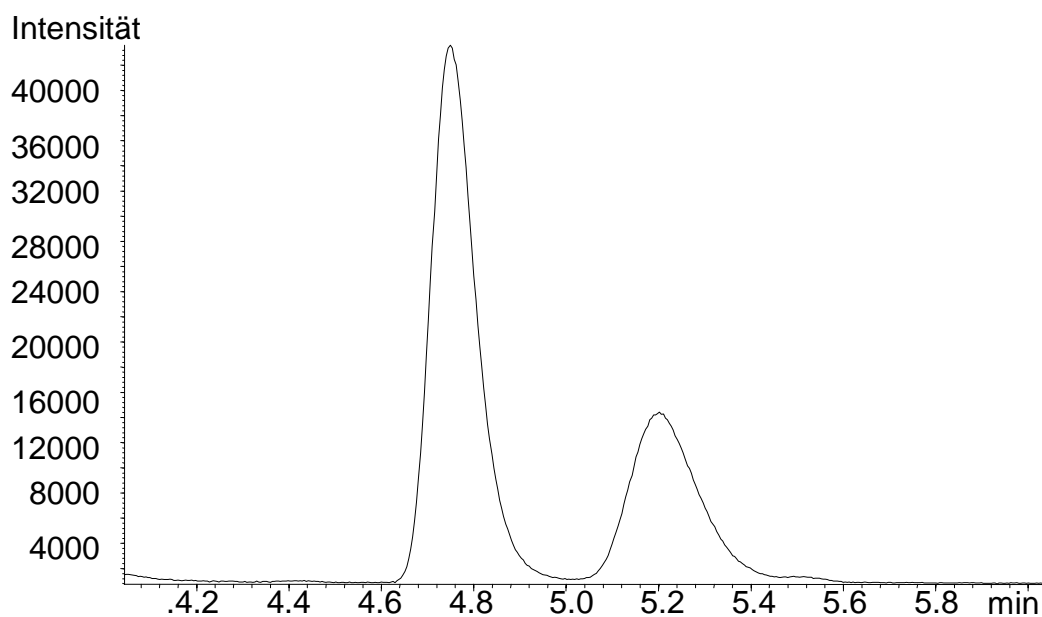


Abb. 11: Headspace-GC/MS(SIM) einer mit S-Desfluran-Standard versetzten Blutprobe ( $m/z$  51 und  $m/z$  101). Bedingungen siehe Abb. 4.

Die Konzentrationen an Desfluran in den Blutproben, die direkt nach Extubation abgenommen worden waren, lagen im Bereich von  $27 \pm 10$  nmol/ml (MW  $\pm$  SD). Bereits 24 Stunden nach der Narkose war nur noch 1 nmol/ml nachweisbar, nach drei Tagen lag bei den meisten Proben die Absolutmenge unter der Bestimmungsgrenze von 0.02 nmol/ml (Abb. 12, Tab. 2). In den Urinproben wurden vergleichbare Konzentrationsprofile gefunden (Abb. 13).

Die Konzentrationen von Desfluran lagen mehr als ein Zehntel unter den bei Isofluran-Narkose gefundenen Werten.<sup>29</sup> Auch wenn noch einmal ausdrücklich darauf hingewiesen werden muss, dass bei der Probennahme und -aufarbeitung (siehe Kapitel 4.7.1) durch den extrem hohen Dampfdruck von Desfluran Verluste kaum vermeidbar sind, so stimmen diese Ergebnisse doch gut mit der deutlich schnelleren Abflutung dieser Substanz aus den Körperkompartimenten nach Absetzen der Narkose im Vergleich zu Isofluran überein.

Tab. 2: Konzentrationen an Desfluran in Blutproben nach Desflurannarkose.

Ausleiten (nmol/l)	1. Tag n. OP (nmol/l)	2. Tag n. OP (nmol/l)	3. Tag n. OP (nmol/l)
19.78	1.16	0.08	0.04
45.82	0.79	0.10	n.b.
21.03	0.82	0.08	0.02
11.12	1.00	n.b.	n.b.
27.25	0.89	0.06	0.02
20.51	0.43	n.b.	n.b.
30.55	1.33	0.02	n.b.
17.55	1.16	0.07	n.b.
24.17	1.22	0.06	0.03
27.76	0.53	0.04	n.b.
21.34	0.66	0.08	n.b.
34.22	0.07	n.b.	n.b.
46.93	0.64	n.b.	n.b.
22.96	0.95	n.b.	n.b.
28.27	1.25	0.04	0.03

n.b. nicht bestimmbar

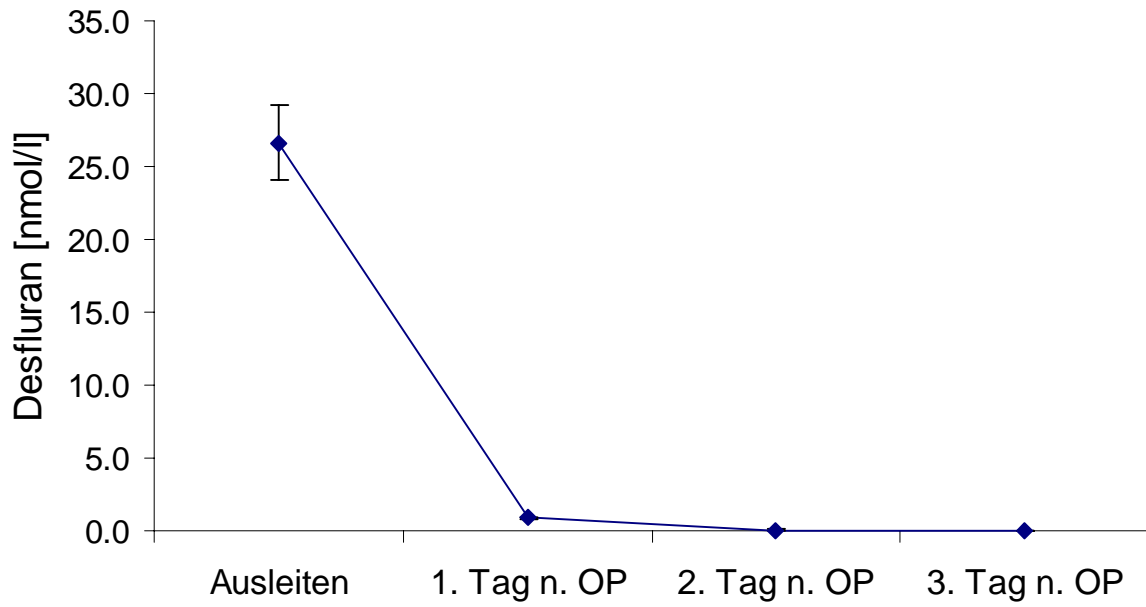


Abb. 12: Desfluran-Konzentrationen in Blutproben nach der Narkose, MW  $\pm$  S.E.M.

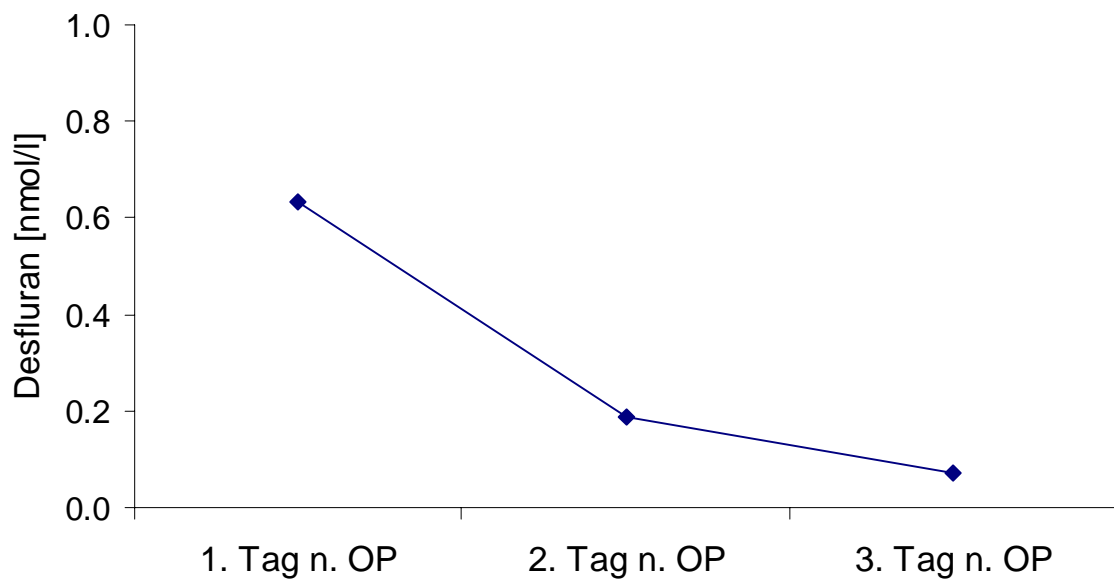


Abb. 13: Desfluran-Konzentrationen im Urin eines Patienten nach der Narkose.

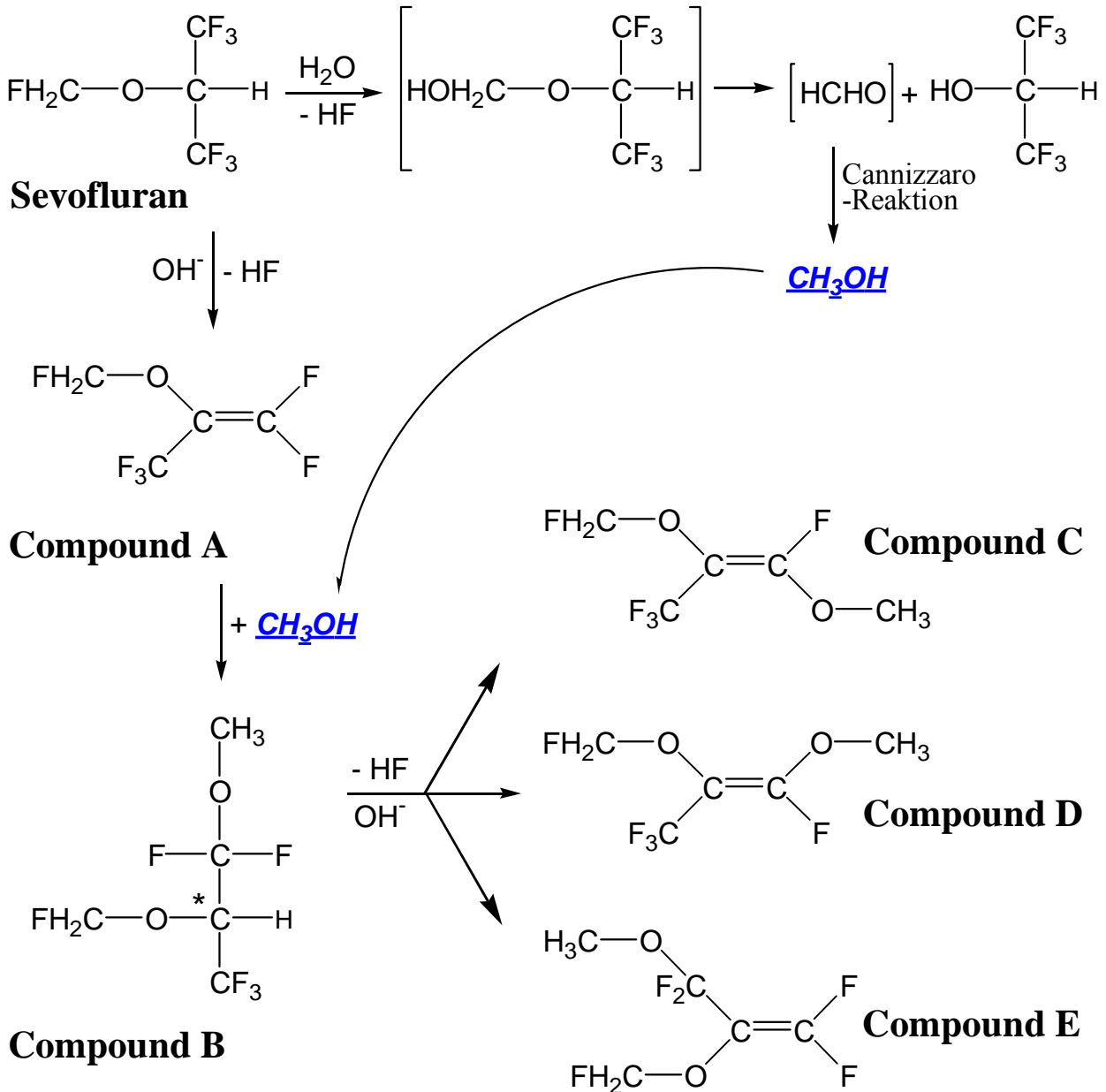
### 3 Compound B – ein Zersetzungsprodukt von Sevofluran

#### 3.1 Problemstellung

Das neue Inhalationsanästhetikum Sevofluran (2-(Fluormethoxy)-1,1,1,3,3,3-hexafluorpropan)<sup>48</sup> wurde Anfang der 90er Jahre in Japan in der klinischen Praxis eingeführt und wird seit 1995 auch in mehreren Europäischen Staaten und den USA eingesetzt.<sup>49</sup> Die geringe Blutlöslichkeit dieses fluorierten Methylisopropylethers bewirkt eine schnelle An- und Abflutung der Konzentration im Organismus und somit eine bessere Steuerbarkeit der Anästhesietiefe. Ein weiterer Vorteil im Gegensatz zu Enfluran, Isofluran und auch Desfluran liegt in seinem angenehmen, die Atemwege nicht irritierenden Geruch<sup>50</sup>. Deshalb ist Sevofluran für die Kinderanästhesie, bei der die Narkose üblicherweise durch Inhalation eingeleitet wird<sup>e</sup>, besonders geeignet und ersetzt dabei das ebenfalls nicht atemwegsirritierende Halothan.<sup>51,52</sup> Allerdings hat Sevofluran zwei Nachteile. Zum einen entstehen bei seiner *in vivo*-Metabolisierung (Metabolisierungsrate 2-5 %) neben Hexafluorisopropanol, das rasch glukuronidiert ausgeschieden wird, auch nephrotoxisch wirkende freie Fluoridionen.<sup>48,53</sup> Klinisch relevante Nierenschäden konnten jedoch trotz hoher Fluoridkonzentrationen im Serum (bis 50 µmol/l) nicht nachgewiesen werden, da die Metabolisierung von Sevofluran hauptsächlich in der Leber erfolgt.<sup>54,55,56</sup>

---

<sup>e</sup> Bei Erwachsenen werden die Narkosen in der Regel durch intravenös verabreichte Narkotika eingeleitet und intraoperativ mit Inhalationsnarkotika aufrecht erhalten.



Schema 1: Zersetzung von Sevofluran unter basischen Bedingungen.

Der weitere Nachteil des Narkosegases ist seine basische Instabilität.<sup>57,58,59</sup> *In vitro* wurden insgesamt fünf Zersetzungsprodukte identifiziert (Schema 1). Wenn Sevofluran als Narkosemittel in recycelischen Systemen (*low-flow* und *closed-circuit* Anästhesie, Abb. 14) eingesetzt und somit durch einen basischen Kohlendioxid-Absorber (Natronkalk, Baralyme<sup>®</sup>)<sup>f</sup> geleitet wird, gelangen die Zersetzungsprodukte in den Organismus des narkotisierten Patienten.

<sup>f</sup> Diese Absorbentien enthalten neben Calciumoxid Natrium- bzw. Kaliumhydroxid.

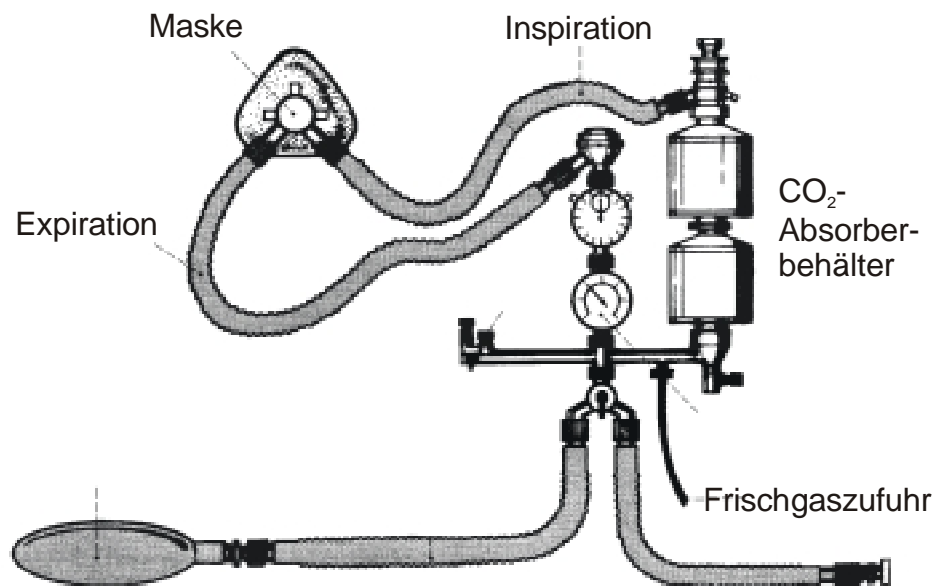


Abb. 14: Kreissystem bei der *low-flow* und *closed-circuit* Anästhesie.

Bislang konnten zwei der fünf Zerfallsprodukte in geringen Mengen bei Patienten nachgewiesen werden.<sup>60,61,62</sup> Das Hauptzersetzungsprodukt 2-(Fluormethoxy)-1,1,1,3,3-pentafluorpropen, das allgemein als Compound A bezeichnet wird, ist aufgrund eines  $\beta$ -Lyase-abhängigen Metabolismus<sup>63,64,65</sup> bei Ratten nierenschädigend.<sup>66,67,68</sup> Nach der Anästhesie mit Sevofluran wurden beim Menschen bislang keine toxischen Effekte festgestellt, da nur geringe Mengen von Compound A im Absorberkalk entstehen und in den Körper gelangen. Außerdem ist die Aktivität der  $\beta$ -Lyase im menschlichen Organismus sehr viel geringer als in Ratten.<sup>69,70</sup> In der jüngsten Zeit wurden alternative  $\text{CO}_2$ -Absorber wie Molekularsieb<sup>71</sup>, Lithiumhydroxid<sup>72</sup> und andere Absorbentien (Amsorb<sup>®</sup>, Drägersorb<sup>®</sup>, Medisorb<sup>®</sup>),<sup>73,74</sup> die kein Natrium- oder Kaliumhydroxid enthalten, entwickelt, bei denen deutlich weniger Compound A entsteht. Auch durch den Einsatz neuerer Anästhesiemaschinen (PhysioFlex<sup>®</sup>),<sup>75,76</sup> bei denen die Absorbtemperatur niedrig gehalten wird, kann die Zersetzung von Sevofluran reduziert werden.

Das zweite, im menschlichen Organismus nach Sevofluran-Narkose nur in Spuren nachgewiesene Zersetzungsprodukt 2-(Fluormethoxy)-3-methoxy-1,1,1,3,3-pentafluorpropan (Compound B) entsteht *in situ* durch die Reaktion von Methanol mit Compound A (vgl. Schema 1). Es sind bislang keine toxischen Effekte beobachtet worden. Dieses chirale Molekül wurde in der vorliegenden Arbeit hinsichtlich Wechselwirkung mit enantioselektiven Stationärphasen in der Gaschromatographie untersucht. Durch Isolierung und Charakterisierung der Enantiomere wäre es möglich, stereoselektive Mechanismen im Organismus untersuchen zu können.

### 3.2 Gaschromatographische Enantiomerentrennung von Compound B an Cyclodextrinderivaten

In der enantioselektiven Chromatographie beruht die Trennung auf der reversiblen Bildung diastereomerer Komplexe zwischen den Enantiomeren und dem chiralen Selektor. Für die Enantiomerentrennung in der Kapillargaschromatographie werden heutzutage hauptsächlich Cyclodextrinderivate als chirale Selektoren eingesetzt.<sup>77,78,79</sup> Cyclodextrine bestehen aus  $\alpha$ -D-Glucoseeinheiten, die durch 1,4-glykosidische Verknüpfung cyclisiert sind. Durch verschiedenartige Derivatisierungen der  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Cyclodextrine<sup>g</sup> sind Enantiomerentrennungen unterschiedlichster apolarer und polarer Substanzen möglich. Da viele Cyclodextrinderivate bei Raumtemperatur als Feststoffe vorliegen, werden sie meist in Polysiloxan verdünnt eingesetzt.<sup>80</sup> Dadurch können die hervorragenden Belegungseigenschaften und Effizienz der Polysiloxane mit der Enantioselektivität der Cyclodextrine kombiniert werden. Die verdünnten Stationärphasen sind in einem weiten Temperaturbereich stabil. Zusätzlich kann ihre Polarität durch gezielte Wahl des als Lösungsmittel fungierenden Polysiloxans variiert werden.

---

<sup>g</sup> Bestehen aus sechs ( $\alpha$ ), sieben ( $\beta$ ) und acht ( $\gamma$ )  $\alpha$ -D-Glucoseeinheiten.



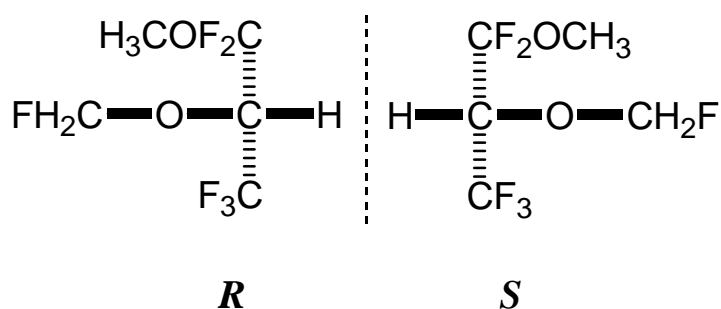


Abb. 15: Enantiomere von 2-(Fluormethoxy)-3-methoxy-1,1,1,3,3-pentafluorpropan (Compound B).

Die Enantiomere von Compound B (Abb. 15) konnten gaschromatographisch an verschiedenen Cyclodextrinphasen getrennt werden. Überraschenderweise sind dabei außergewöhnlich hohe Trennfaktoren gefunden worden (Tab. 3). Mit dem Cyclodextrinderivat Heptakis(6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-acetyl)- $\beta$ -cyclodextrin<sup>81,82</sup> (6-TBDMS-2,3-ac- $\beta$ -CD) gelöst in dem Polysiloxan PS 86 (20 Gew. %) wurde ein Trennfaktor ( $\alpha$ ) von 4.1 bei 30 °C gefunden (Abb. 16, links).<sup>83</sup> Darüber hinaus wurde bei Verwendung von Octakis(3-*O*-butanoyl-2,6-di-*O*-*n*-pentyl)- $\gamma$ -cyclodextrin (Lipodex E)<sup>35</sup> als chiralem Selektor (20 Gew. % in SE 54) ein noch höherer Trennfaktor ( $\alpha$ ) von 7.7 bei 40 °C gefunden (Abb. 16, rechts). Dies sind die höchsten Trennfaktoren, die je in der enantioselektiven Kapillargaschromatographie erreicht worden sind. Auch wenn andere halogenierte Etherverbindungen, wie z.B. das Inhalationsanästhetikum Enfluran ( $\alpha > 2$  an Lipodex E),<sup>45</sup> hohe Trennfaktoren an Cyclodextrinphasen zeigen, war dieses Ergebnis doch unerwartet.

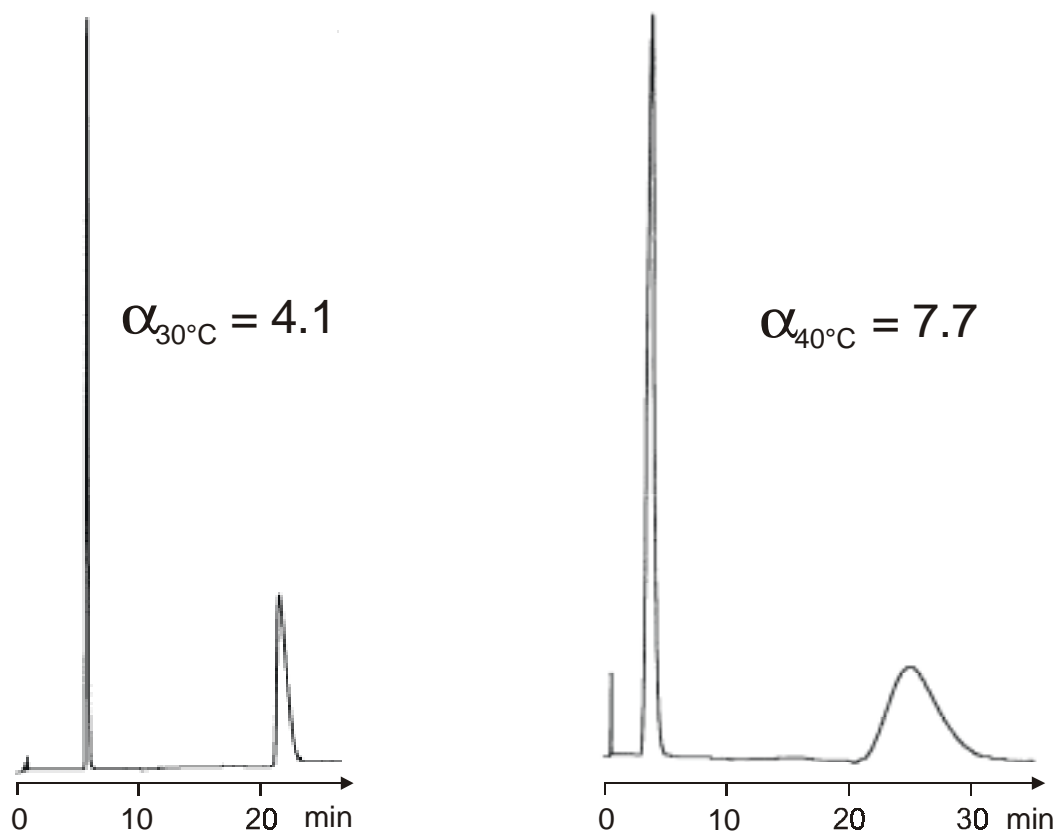


Abb. 16: Gaschromatographische Enantiomerentrennung von Compound B an verschiedenen Cyclodextrinderivaten. Kapillarsäulen  $10\text{ m} \times 0.25\text{ mm I.D.}$ ,  $d_f 0.25\text{ }\mu\text{m}$ , Trägergas  $0.25\text{ bar H}_2$ . Links: 6-TBDMS-2,3-ac- $\beta$ -CD 20 % in PS 86,  $30\text{ }^\circ\text{C}$ . Rechts: Lipodex E 20 % in SE 54,  $40\text{ }^\circ\text{C}$ .

Tab. 3: Enantioselektive GC von Compound B, reduzierte Retentionszeiten  $t'_R$ , Trennfaktoren  $\alpha$  und Auflösung  $R_S$  bei verschiedenen Temperaturen mit zwei verschiedenen Cyclodextrinderivaten, jeweils 20 % in Polysiloxan gelöst, Kapillarsäulen  $10\text{ m} \times 0.25\text{ mm I.D.}$ ,  $d_f 0.25\text{ }\mu\text{m}$ , Trägergas  $0.25\text{ bar H}_2$ .

6-TBDMS-2,3-ac- $\beta$ -CD 20 % in PS 86				Lipodex E 20 % in SE 54			
T ( $^\circ\text{C}$ )	$t'_{R1} / t'_{R2}$	$\alpha$	$R_S$	T ( $^\circ\text{C}$ )	$t'_{R1} / t'_{R2}$	$\alpha$	$R_S$
30	5.15 / 20.8	4.1	20.9				
40	2.42 / 7.85	3.2	20.2	40	3.07 / 23.7	7.7	5.4
50	1.25 / 3.16	2.5	15.5	50	1.37 / 8.23	6.0	5.3
60	0.72 / 1.47	2.0	12.5	60	0.75 / 3.30	4.4	5.1
70	0.45 / 0.75	1.7	7.8	70	0.41 / 1.35	3.3	4.5
80	0.32 / 0.44	1.4	4.4	80	0.25 / 0.63	2.5	3.9

### 3.3 Vergleich der Trennfaktoren an $\alpha$ -, $\beta$ - und $\gamma$ -Cyclodextrinderivaten

Um die Abhängigkeit der Trennfaktoren der Compound B-Enantiomere von der Ringgröße der verwendeten Cyclodextrinderivate zu untersuchen, wurden neben Lipodex E (Abb. 17) die entsprechenden  $\alpha$ - und  $\beta$ -Cyclodextrine synthetisiert.

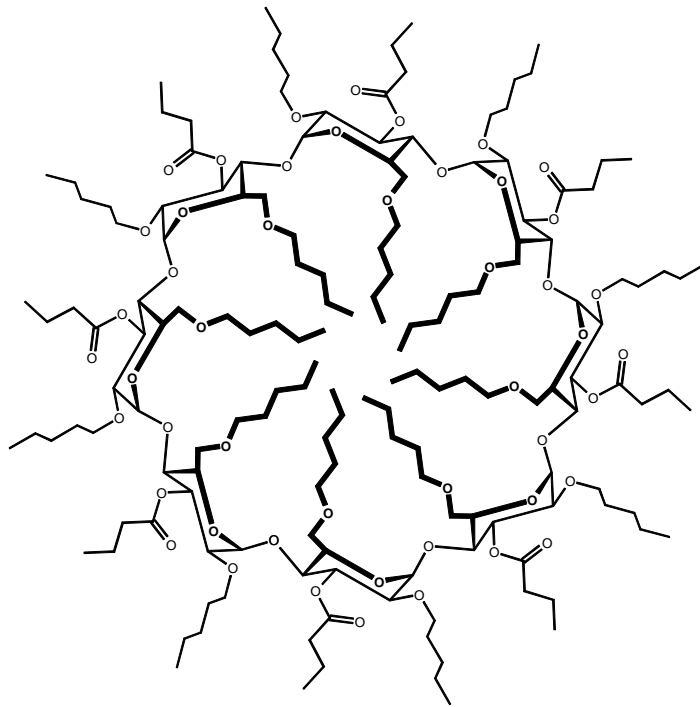


Abb. 17: Struktur von Octakis(3-*O*-butanoyl-2,6-di-*O*-*n*-pentyl)- $\gamma$ -cyclodextrin (Lipodex E).

Mit Hexakis-(3-*O*-butanoyl-2,6-di-*O*-*n*-pentyl)- $\alpha$ -cyclodextrin als chiralem Selektor ließen sich die Compound B-Enantiomere auch bei 30 °C nicht trennen. Bei Verwendung von Heptakis-(3-*O*-butanoyl-2,6-di-*O*-*n*-pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin wurde ein Trennfaktor von 2.1 bei 30 °C und von 1.6 bei 40 °C gefunden (Abb. 18). Die mit Abstand höchsten Trennfaktoren wurden mit dem  $\gamma$ -Cyclodextrinderivat (Lipodex E) erreicht (Tab. 4).

Tab. 4: Vergleich der chiralen Trennfaktoren  $\alpha$  der Compound B-Enantiomere bei verschiedenen Temperaturen mit den derivatisierten  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Cyclodextrinen, jeweils 20 % in PS 255 bzw. SE 54, Kapillarsäulen  $10 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm I.D.}$ ,  $d_f 0.25 \mu\text{m}$ , Trägergas  $0.25 \text{ bar H}_2$ .

T [°C]	$\alpha$ ( $\alpha$ -CD)	$\alpha$ ( $\beta$ -CD)	$\alpha$ ( $\gamma$ -CD)
30	1.0	2.1	
40	1.0	1.6	7.7
50	1.0	1.4	6.0

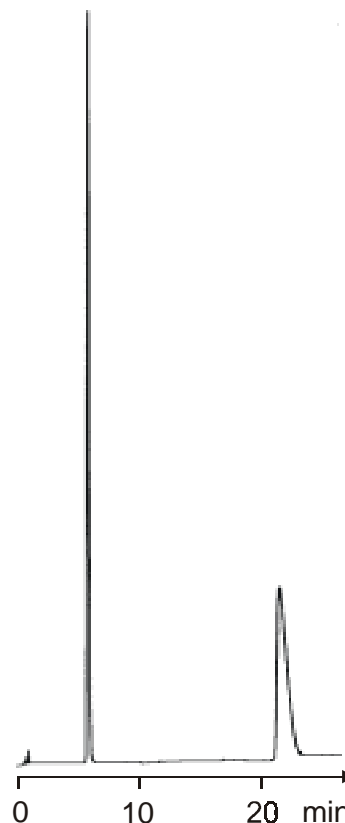


Abb. 18: Gaschromatographische Enantiomerentrennung von Compound B bei  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ . Kapillarsäule ( $10 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm I.D.}$ ), Heptakis-(3-*O*-butanoyl-2,6-di-*O*-*n*-pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin 20 % in PS 255,  $d_f 0.25 \mu\text{m}$ , Trägergas  $0.25 \text{ bar H}_2$ .

Compound B ist ein relativ kleines Molekül, das auf Grund seiner Größe in den Hohlraum des  $\alpha$ -Cyclodextrins passen müsste, deshalb ist der geringe  $\alpha$ -Wert nicht durch reine Inklusionswechselwirkungen erklärbar. In der Literatur sind verschiedene Untersuchungen beschrieben, bei denen  $\gamma$ -Cyclodextrinderivate im Vergleich mit den entsprechend derivatisierten  $\beta$ -Cyclodextrinen eine höhere Enantiomerendiskriminierung zeigen.<sup>84,85</sup> Allerdings kann daraus kein allgemein gültiges Modell abgeleitet werden. Sicher ist, dass neben der Inklusion verschiedene andere Wechselwirkungen der Analyte mit dem Cyclodextrin für die

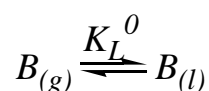
chirale Erkennung eine Rolle spielen.<sup>79</sup> Bei NMR-spektroskopischen Untersuchungen der Wechselwirkung von Enfluran mit Lipodex E und anschließenden Modellrechnungen wurden beispielsweise Bindungsstellen auch an der Außenseite des Cyclodextrinhohlraums beobachtet.<sup>86</sup> Außerdem konnte gezeigt werden, dass eine Pentylgruppe in das Innere des Hohlraums ragt, was wahrscheinlich eine Rolle für die Wechselwirkung mit Gastmolekülen spielt.

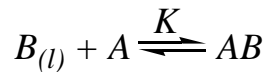
### 3.4 Thermodynamische Parameter der gaschromatographischen Enantiomerentrennung von Compound B an Cyclodextrinphasen

#### 3.4.1 Allgemeines

Die gaschromatographische Enantiomerentrennung an chiralen Stationärphasen beruht auf den unterschiedlichen Stabilitäten der reversibel zwischen Analyt und Selektor gebildeten Diastereomerenkomplexe. Die thermodynamischen Parameter dieser Wechselwirkung können in der Gaschromatographie relativ einfach erhalten werden. Das im folgenden verwendete Modell zur Berechnung der Differenz der Freien Assoziationsenthalpie  $-\Delta_{R,S}(\Delta G)$ , der Assoziationsenthalpie  $-\Delta_{R,S}(\Delta H)$  und der Assoziationsentropie  $\Delta_{R,S}(\Delta S)$  wurde von Schurig *et al.* eingeführt.<sup>87,88</sup> Dabei werden Retentionsinkremente  $R'$  bestimmt, die direkt ein Maß für die Wechselwirkung zwischen Analyt und Selektor sind.

Beim Lösen eines (chiralen) Selektors  $A$  in einem (achiralen) Solvens  $S$  (hier Cyclodextrin  $A$  in Polysiloxan  $S$ ) stellen sich im einfachsten Fall (Bildung eines 1:1 Komplexes zwischen  $A$  und  $B$ ) für einen flüchtigen Analyten  $B$  in der GC-Säule zwei Verteilungsgleichgewichte ein:





Die Verteilung von  $B$  zwischen der Gasphase und der flüssigen Stationärphase kann durch den Verteilungskoeffizienten  $K_L^0$  (physikalischer Beitrag) beschrieben werden:

$$K_L^0 = \frac{a_{B(l)}}{a_{B(g)}} \quad (2)$$

Das Komplettierungsgleichgewicht des in der Stationärphase gelösten Analyten  $B$  mit dem Selektor  $A$  kann durch die thermodynamische Komplettierungskonstante  $K$  (chemischer Beitrag) beschrieben werden:

$$K = \frac{a_{AB}}{a_A a_{B(l)}} \quad (\text{Massenwirkungsgesetz}) \quad (3)$$

Die Gesamtmenge von  $B$  in der stationären Phase beträgt  $a_{B(l)} + a_{AB}$ , somit ergibt sich für den scheinbaren Verteilungskoeffizienten:

$$K_L = \frac{a_{B(l)} + a_{AB}}{a_{B(g)}} \quad (4)$$

Mit Gleichung (3) und (4) erhält man

$$K \cdot a_A = \frac{K_L}{K_L^0} - 1 \quad (5)$$

Durch Einsetzen in die Grundgleichung der Chromatographie:

$$t' = \frac{K_L}{\beta} \cdot t_M \quad (6)$$

mit  $t'$  = reduzierte Retentionszeit,  $t_M$  = Durchflusszeit und  
 $\beta$  = Phasenverhältnis

ergibt sich:

$$t' = t^0 (1 + K \cdot a_A) \quad (7)$$

$t^0$  ist die reduzierte Retentionszeit auf einer vollständig identischen Referenzsäule ohne Selektor A. Der Retentionszuwachs (das Retentionsinkrement)  $R'$  ist definiert als:

$$R' = K \cdot a_A \quad (8)$$

und somit ein Maß für die Wechselwirkung zwischen Analyt  $B$  und dem im (achiralen) Solvens gelöstem Selektor A. Da es experimentell nicht möglich ist,  $t'$  und  $t^0$  an zwei GC-Säulen (Reaktorsäule und Referenzsäule) mit exakt identischen Parametern wie Säulenlänge, Durchmesser, Filmdicke und Flussrate zu bestimmen, geht man von relativen Retentionsdaten aus, indem man die reduzierten Retentionszeiten ( $t'$ ) der Enantiomere auf jene ( $t^{r*}$ ) von inerten Referenzstandards  $B^*$  (z.B. kleine  $n$ -Alkane) bezieht. Die Gleichung (7) lässt sich somit umschreiben zu:

$$r = r^0 (1 + R')$$

bzw.

$$R' = \frac{r}{r^0} - 1 \quad (9)$$

mit den relativen Retentionen  $r$  und  $r^0$ :

$$r = \frac{t'}{t^{r*}} \quad \text{Reaktorsäule (A in S)} \quad (10)$$

$$r^0 = \frac{t^{r0}}{t^{r0*}} \quad \text{Referenzsäule (nur S)} \quad (11)$$

Durch die Ermittlung der relativen Retentionen  $r$  und  $r^0$  bei genau gleicher Temperatur lässt sich  $R'$  berechnen. Über die Retentionsinkremente ist die Quantifizierung der Enantioselektivität, die über die Differenz der Freien

Reaktionsenthalpie der beiden Enantiomere ( $-\Delta_{R,S}(\Delta G)$ ) definiert ist, möglich. Über die thermodynamische Beziehung:

$$\Delta G = -RT \ln K \quad (12)$$

und dem Verhältnis der thermodynamischen Stabilitätskonstanten aus Gl. (8):

$$\frac{K_R}{K_S} = \frac{R'_R}{R'_S} = \frac{r_R - r^0}{r_S - r^0} \quad (13)$$

erhält man die Differenz der Freien Reaktionsenthalpie der Bildung diastereomerer Assoziate:

$$-\Delta_{R,S}(\Delta G) = -(\Delta G_R - \Delta G_S) = RT \ln \frac{R'_R}{R'_S} \quad (14)$$

Der Index  $R$  steht dabei per Definition für das zweiteluierte Enantiomer. Das Verhältnis  $R'_R/R'_S$  und somit auch  $-\Delta_{R,S}(\Delta G)$  sind unabhängig von der Cyclodextrin-Aktivität  $a_A$  im Solvent  $S$ .

Über die Gibbs-Helmholtz-Gleichung bzw. die van't Hoff-Plots können auch die Assoziationsenthalpie  $-\Delta_{R,S}(\Delta H)$  und die Assoziationsentropie  $\Delta_{R,S}(\Delta S)$  ermittelt werden:

$$\begin{aligned} -\Delta_{R,S}(\Delta G) &= -\Delta_{R,S}(\Delta H) + T \cdot \Delta_{R,S}(\Delta S) \\ &= RT \cdot \ln \frac{R'_R}{R'_S} = RT \cdot \ln \frac{r_R - r^0}{r_S - r^0} \end{aligned} \quad (15)$$

$$\Rightarrow \frac{-\Delta_{R,S}(\Delta G)}{T} = \frac{-\Delta_{R,S}(\Delta H)}{T} + \Delta_{R,S}(\Delta S) = R \ln \frac{r_R - r^0}{r_S - r^0} \quad (16)$$



### 3.4.2 Experimentelle Bestimmung der thermodynamischen Daten

Es wurde die Wechselwirkung von Compound B mit Lipodex E untersucht, da mit diesem System der höchste gaschromatographische chirale Trennfaktor  $\alpha$  gefunden wurde. Zur Bestimmung der thermodynamischen Daten wurden die Retentionszeiten auf zwei Reaktorsäulen (10 m Länge) mit unterschiedlichem Cyclodextringehalt, namentlich 5 und 10 Gew. % Lipodex E gelöst in Polysiloxan PS 255, ermittelt (Abb. 19) und auf eine Referenzsäule, die reines PS 255 enthielt, bezogen.

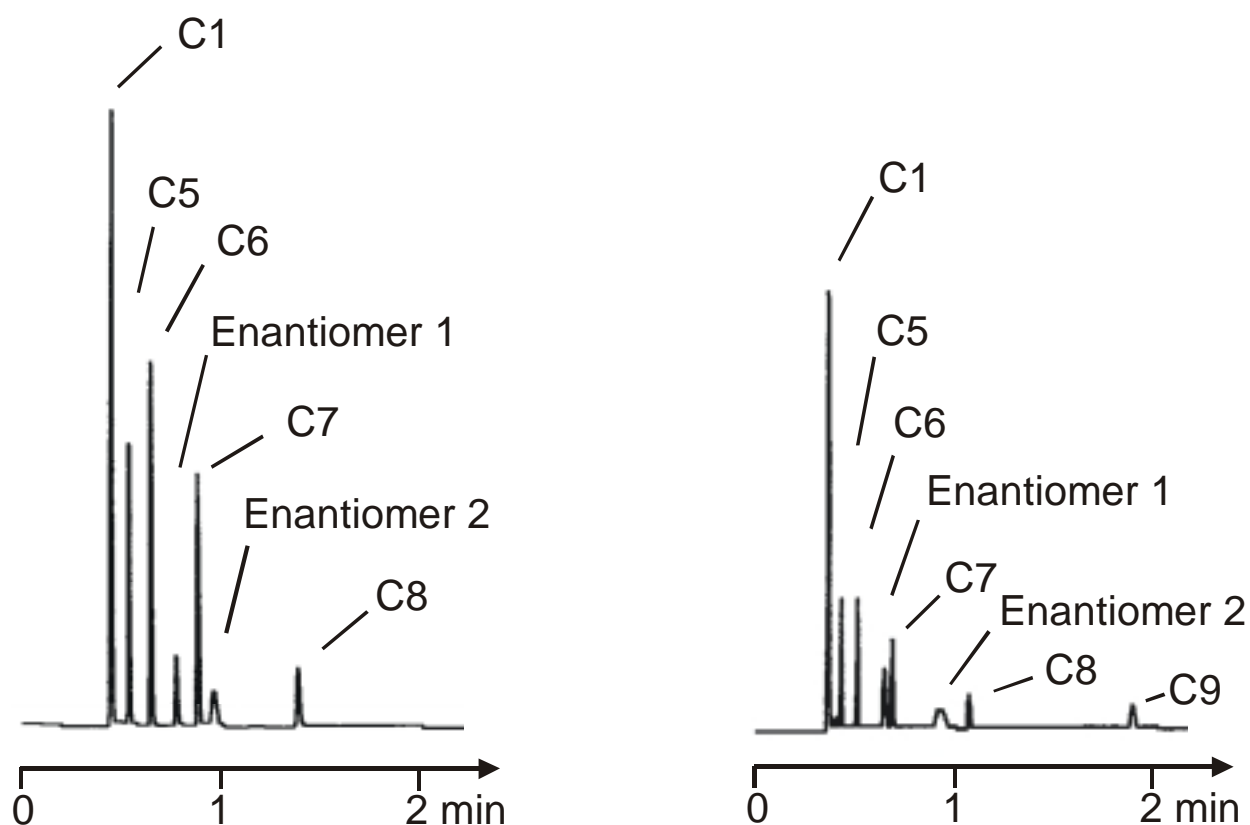


Abb. 19: GC-Chromatogramme der Compound B-Enantiomere, Methan (C1) und der Referenzsubstanzen *n*-Pentan (C5), *n*-Hexan (C6), *n*-Heptan (C7), *n*-Octan (C8) bei 70 °C. Reaktorsäulen (10 m × 0.25 mm I.D.), links: 5 % Lipodex E in PS 255, rechts: 10 % Lipodex E in PS 255;  $d_f$  0.5  $\mu$ m. Trägergas 0.25 bar H<sub>2</sub>, Split 50 ml/min.

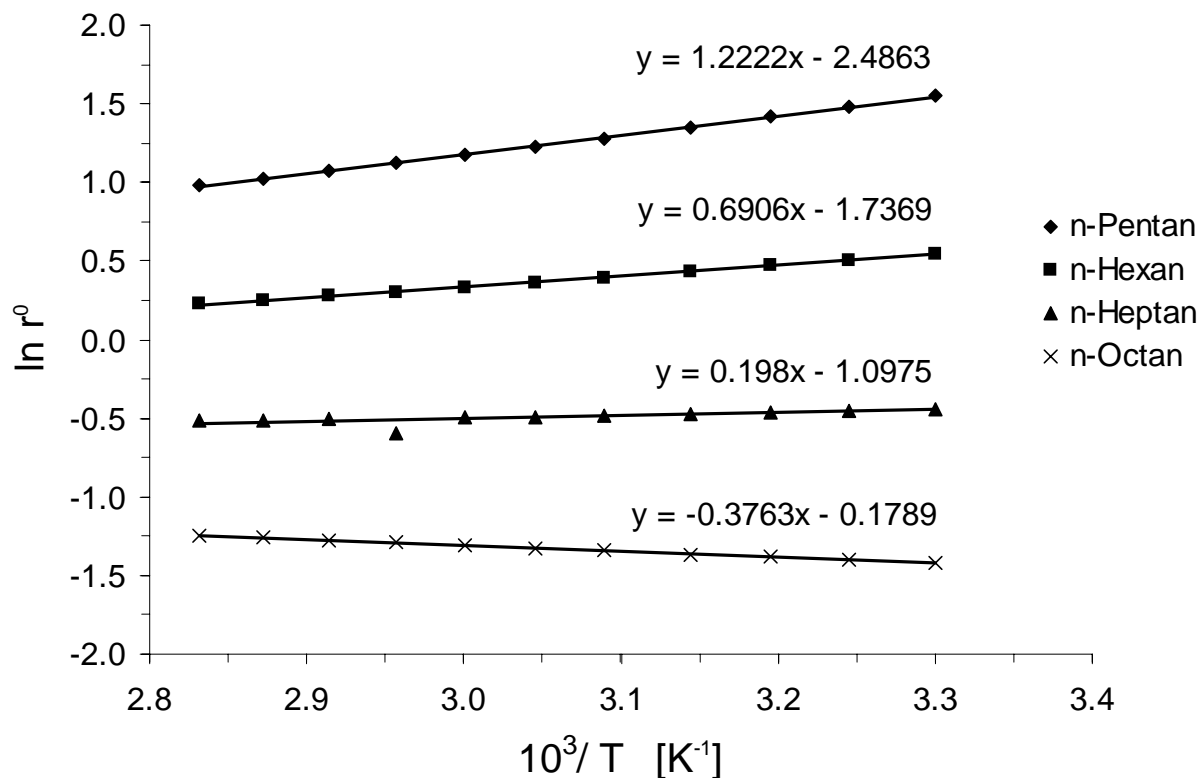


Abb. 20: Lineare Interpolation von  $\ln r^0$  für die vier Referenzverbindungen *n*-Pentan, *n*-Hexan, *n*-Heptan und *n*-Octan zwischen 30 °C und 80 °C auf der Referenzsäule (30 m × 0.25 mm I.D.) PS 255;  $d_f$  0.5  $\mu\text{m}$ . Trägergas 0.25 bar  $\text{H}_2$ , Split 50 ml/min.

Damit die  $r^0$ -Werte recht genau erhalten werden konnten, wurde eine längere Referenzsäule (30 m) verwendet. Die relativen Retentionen der Compound B-Enantiomere zu den Referenzsubstanzen *n*-Pentan, *n*-Hexan, *n*-Heptan und *n*-Octan wurden in 5 °C-Schritten bei 30 - 80 °C bestimmt. Alle Messungen wurden drei- bis viermal wiederholt. Abb. 20 zeigt die relativen Retentionen  $r^0$  durch Auftragung von  $\ln r^0$  gegen  $1/T$ . Die  $r^0$ -Werte wurden über die angegebenen Geradengleichungen ermittelt, da bei den Messungen an den Reaktorsäulen nicht immer die exakt gleiche Temperatur wie bei der Referenzsäule eingestellt werden konnte.

Tab. 5: Relative Retentionen  $r^0$  (durch lineare Interpolation) und  $r$  für die Compound B-Enantiomere bezüglich der Referenzsubstanzen *n*-Pentan (C5), *n*-Hexan (C6), *n*-Heptan (C7) und *n*-Octan (C8) und die berechneten Retentionsinkremente  $R'_R$  und  $R'_S$  sowie  $-\Delta_{R,S}(\Delta G)$  [kJ/mol] für 30 °C, 50 °C und 70 °C auf den Reaktorsäulen. Links: 5 % Lipodex E in PS 255, rechts: 10 % Lipodex E in PS 255; 10 m × 0.25 mm I.D.,  $d_f$  0.5  $\mu$ m. Trägergas 0.25 bar H<sub>2</sub>.

30.0 °C	C5	C6	C7	C8	30.0 °C	C5	C6	C7	C8
$r^0$	4.69	1.72	0.64	0.24	$r^0$	4.69	1.72	0.64	0.24
$r_S$	11.16	4.03	1.49	0.56	$r_S$	16.69	6.07	2.25	0.84
$r_R$	66.21	23.91	8.83	3.30	$r_R$	120.41	43.80	16.25	6.08
$R'_S$	1.38	1.35	1.32	1.31	$R'_S$	2.53	2.51	2.50	2.48
$R'_R$	13.12	12.92	12.78	12.67	$R'_R$	24.46	24.30	24.22	24.10
$-\Delta_{R,S}(\Delta G)$	5.7	5.7	5.7	5.7	$-\Delta_{R,S}(\Delta G)$	5.7	5.7	5.7	5.7

50.5 °C	C5	C6	C7	C8	50.5 °C	C5	C6	C7	C8
$r^0$	3.63	1.49	0.62	0.26	$r^0$	3.63	1.49	0.62	0.26
$r_S$	5.67	2.27	0.94	0.39	$r_S$	7.31	2.97	1.24	0.52
$r_R$	15.62	6.24	2.58	1.08	$r_R$	26.36	10.69	4.45	1.88
$R'_S$	0.56	0.52	0.52	0.50	$R'_S$	1.01	0.99	1.01	0.99
$R'_R$	3.30	3.20	3.19	3.12	$R'_R$	6.25	6.19	6.24	6.18
$-\Delta_{R,S}(\Delta G)$	4.8	4.9	4.9	4.9	$-\Delta_{R,S}(\Delta G)$	4.9	4.9	4.9	4.9

70.2 °C	C5	C6	C7	C8	70.0 °C	C5	C6	C7	C8
$r^0$	2.93	1.32	0.59	0.28	$r^0$	2.93	1.32	0.59	0.28
$r_S$	3.66	1.65	0.75	0.35	$r_S$	4.27	1.93	0.88	0.41
$r_R$	5.80	2.61	1.19	0.55	$r_R$	8.33	3.75	1.72	0.79
$R'_S$	0.25	0.25	0.26	0.24	$R'_S$	0.46	0.46	0.46	0.45
$R'_R$	0.98	0.98	1.00	0.96	$R'_R$	1.84	1.85	1.85	1.83
$-\Delta_{R,S}(\Delta G)$	3.9	3.9	3.8	4.0	$-\Delta_{R,S}(\Delta G)$	4.0	4.0	4.0	4.0

Durch Bestimmung der Retentionsinkremente  $R'_R$  und  $R'_S$  lässt sich die Differenz der Freien Reaktionsenthalpie für die Bildung der diastereomeren Addukte ( $-\Delta_{R,S}(\Delta G)$ ) bei der jeweiligen Temperatur berechnen (Tab. 5). Die gute Übereinstimmung der  $-\Delta_{R,S}(\Delta G)$ -Werte für die verschiedenen Referenzsubstanzen bestätigt die Gültigkeit von Gleichung (14).

Auch *n*-Alkane sind nicht völlig inerte Referenzsubstanzen, sondern zeigen eine geringe Wechselwirkung mit Cyclodextrinen und somit einen geringen Retentionszuwachs. Deshalb erhält man die höchsten Retentionsinkremente  $R'$  für das kleinste verwendete Alkan *n*-Pentan. Die  $R'$ -Werte müssten also durch  $R'_{true}$ -Werte ersetzt und berechnet werden:<sup>88</sup>

$$R'_{true} = \frac{r_{true}}{r^0} - 1 \quad (17)$$

Allerdings zeigen die erhaltenen Daten, dass dieser Einfluss vernachlässigt werden kann.

Über die van't Hoff-Plots (Gl. 16) sind die Werte für die Assoziationsenthalpie  $-\Delta_{R,S}(\Delta H)$  und Assoziationsentropie  $\Delta_{R,S}(\Delta S)$  zugänglich (Abb. 21 und Tab. 6). Als Mittelwerte ( $\pm$  SD) erhält man  $-\Delta_{R,S}(\Delta H) = 20 \pm 1$  [kJ mol<sup>-1</sup>] und  $\Delta_{R,S}(\Delta S) = -47 \pm 2$  [J K<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>]. Die Elutionsreihenfolge kehrt sich oberhalb der isoenantioselektiven Temperatur ( $T_{iso}$ ) um, bei der gilt  $\Delta_{R,S}(\Delta G) = 0$  (Peakkoaleszenz). Dies ist bei  $T_{iso} = 426 \pm 5$  K ( $153 \pm 5$  °C) der Fall.

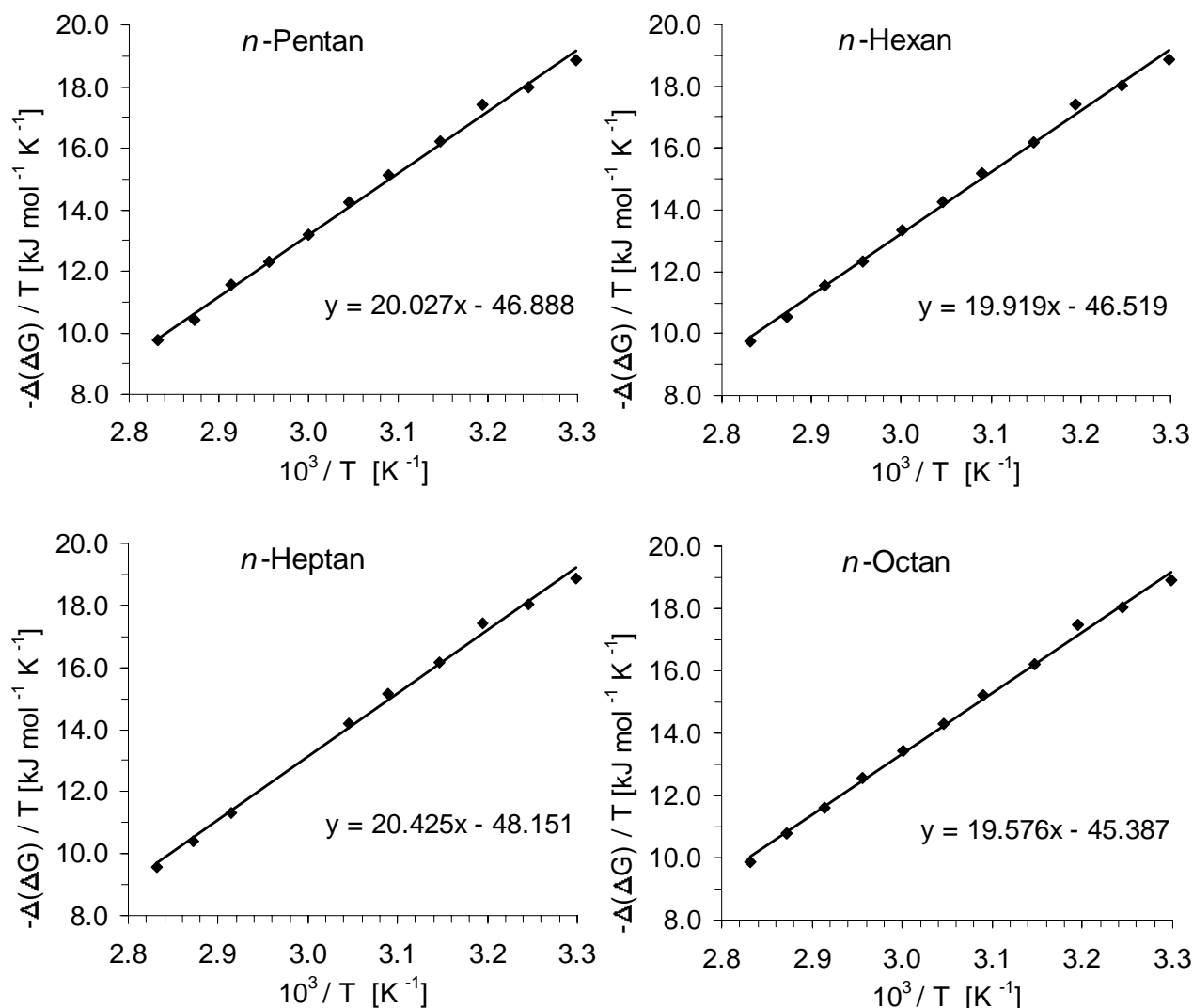


Abb. 21: Van't Hoff-Plots  $-\Delta_{R,S}(\Delta G)/T$  gegen  $1/T$  bezüglich aller vier Referenzverbindungen. Reaktorsäule: 10 % Lipodex E in PS 255.

Tab. 6: Thermodynamische Daten für die Enantiomerentrennung von Compound B für die vier Referenzverbindungen.

Referenz	Lipodex E 5 % in PS 255		Lipodex E 10 % in PS 255	
	$-\Delta_{R,S}(\Delta H)$ [ $\text{kJ mol}^{-1}$ ]	$\Delta_{R,S}(\Delta S)$ [ $\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$ ]	$-\Delta_{R,S}(\Delta H)$ [ $\text{kJ mol}^{-1}$ ]	$\Delta_{R,S}(\Delta S)$ [ $\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$ ]
<i>n</i> -Pentan	21.2	- 50.7	20.0	- 46.9
<i>n</i> -Hexan	20.6	- 48.6	19.9	- 46.6
<i>n</i> -Heptan	20.3	- 47.9	20.4	- 48.2
<i>n</i> -Octan	19.1	- 43.8	19.6	- 46.4

Das zweiteluierte Enantiomer zeigt eine sehr starke Wechselwirkung mit dem Cyclodextrin, während das ersteluierte Enantiomer nur schwach wechselwirkt. Deshalb erhält man sehr hohe  $\Delta_{R,S}(\Delta G)$ -Werte, die höchsten, die in der GC je beschrieben wurden.

Bei unverdünnten Selektorsystemen ist es möglich, die thermodynamischen Daten direkt aus dem chiralen Trennfaktor  $\alpha$  zu berechnen über die Gleichung:

$$-\Delta_{R,S}(\Delta G) = RT \ln \alpha \quad (17)$$

Da der Trennfaktor allerdings auch von der Konzentration des chiralen Selektors  $A$  im achiralen Solvens  $S$  abhängt (Abb. 22), ist diese Methode hier nicht anwendbar. Bei dem Konzept des Retentionsinkrements hingegen geht nur der Beitrag des chiralen Selektors  $A$  bei der Berechnung der thermodynamischen Daten ein, somit ist deren Bestimmung unabhängig von der Selektoraktivität (Konzentration)  $a_A$ .

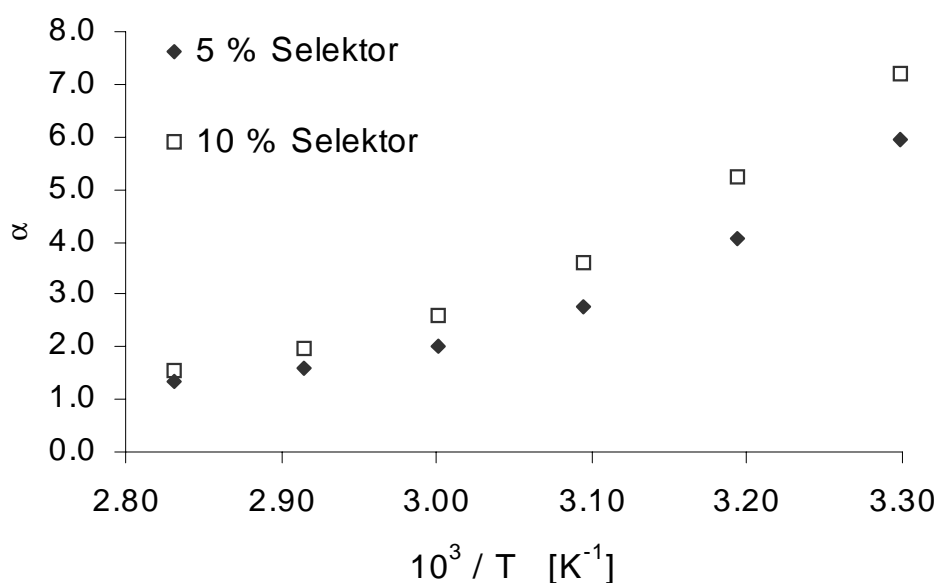


Abb. 22: Trennfaktoren der Compound B-Enantiomere in Abhängigkeit von der Selektorkonzentration und der Temperatur. Kapillarsäulen Lipodex E 5 bzw. 10 % in PS 255 (10 m  $\times$  0.25 mm I.D.),  $d_f$  0.5  $\mu$ m, Trägergas 0.25 bar H<sub>2</sub>, Split 50 ml/min.

### 3.5 Präparative GC zur Trennung der Compound B-Enantiomere

Durch den hohen Trennfaktor der Compound B-Enantiomere an Cyclodextrinen sollte es leicht möglich sein, die Enantiomere durch präparative Gaschromatographie an einer gepackten Säule zu isolieren. Gepackte Säulen haben eine höhere Probenkapazität und sind deshalb für einen größeren Probendurchsatz vorzuziehen. Als Trägermaterial wurde Chromosorb P von der Qualität AW-DMCS<sup>h</sup> verwendet (Partikeldurchmesser 80-100 *mesh*, entspricht 180-150  $\mu\text{m}$ ). Durch seine hohe spezifische Oberfläche (4.0  $\text{m}^2/\text{g}$ ) ist eine Beladung bis zu 30 Gew. % möglich.

Für die Stationärphase wurde 6-TBDMS-2,3-ac- $\beta$ -CD als chiraler Selektor eingesetzt und in dem Polysiloxan PS 86 gelöst (15 bzw. 20 Gew. %). Dieses Cyclodextrinderivat ist recht einfach auch in größerer Menge herstellbar, zumal es nicht notwendig war, sowohl die Vorstufe Heptakis(6-*O*-tert-butyldimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin als auch das Endprodukt säulenchromatographisch zu reinigen. Ein hoher Polysiloxananteil in der Stationärphase gewährleistet hohe Diffusionskoeffizienten und dadurch hohe Säuleneffizienz, gute Benetzbarkeit (somit gute Filmqualität) sowie eine ausgeprägte Filmstabilität auch bei höheren Temperaturen und nach längerer Anwendungsdauer.<sup>80,89,90</sup>

Um die Übertragbarkeit der analytischen Trennung auf den präparativen Maßstab<sup>91</sup> zu überprüfen, wurde zunächst eine analytischen Gepacksäule (2.3 m  $\times$  3 mm I.D.) hergestellt. Bei 70 °C wurde ein  $\alpha$ -Wert von 1.7 (Abb. 23) bestimmt, daher sollte es problemlos möglich sein, eine präparative Enantiomerentrennung auch mit einer größer dimensionierten Gepacksäule zu erreichen.

Für die präparative Trennung wurde eine Stahlsäule (1 m  $\times$  18 mm I.D.) angefertigt und mit Chromosorb P, beladen mit 19 Gew. % einer Stationärphase aus 15 Gew. % 6-TBDMS-2,3-ac- $\beta$ -CD gelöst in PS 86, gepackt.

---

<sup>h</sup> acid-washed, mit Dimethyldichlorsilan desaktiviert

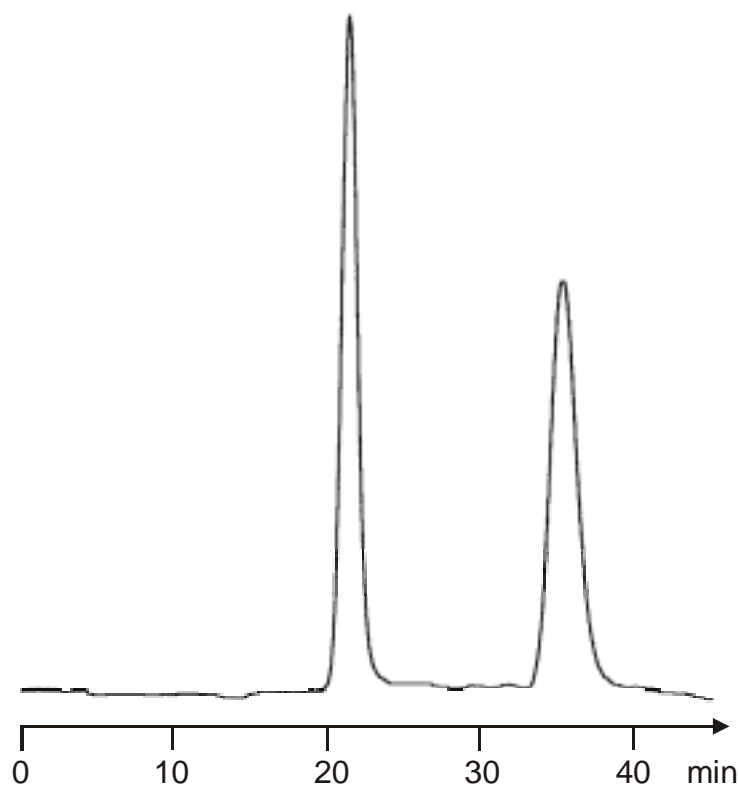


Abb. 23: Enantiomerentrennung von Compound B auf einer analytischen Gepacktsäule (2.3 m × 3 mm I.D.) bei 70 °C. Packung: Chromosorb P belegt mit 20 % Stationärphase aus 20 % 6-TBDMS-2,3-ac-β-CD gelöst in PS 86. Trägergas 1.5 bar Helium.

### 3.5.1 Präparative GC am Dr. Hupe APG 402

Die präparative Enantiomerentrennung von Compound B wurde an zwei verschiedenen präparativen Gaschromatographen durchgeführt. Zunächst wurde die Trennung an dem präparativen Gaschromatographen Dr. Hupe APG 402 Prototyp (Baujahr 1962) durchgeführt. Bei diesem Gerät ist ein automatisches Injizieren und Schalten der angeschlossenen Kühlfallen möglich.<sup>46</sup>

Zur Vereinfachung der Probenaufgabe wurde Compound B mit Diethylether (1:5) verdünnt. Es wurde eine Basislinientrennung von 50 µl (75 mg) Compound B bei 70 °C erreicht. Um eine Isolierung der Enantiomere in hoher Reinheit zu gewährleisten, wurden drei Fraktionen gesammelt (Abb. 24).



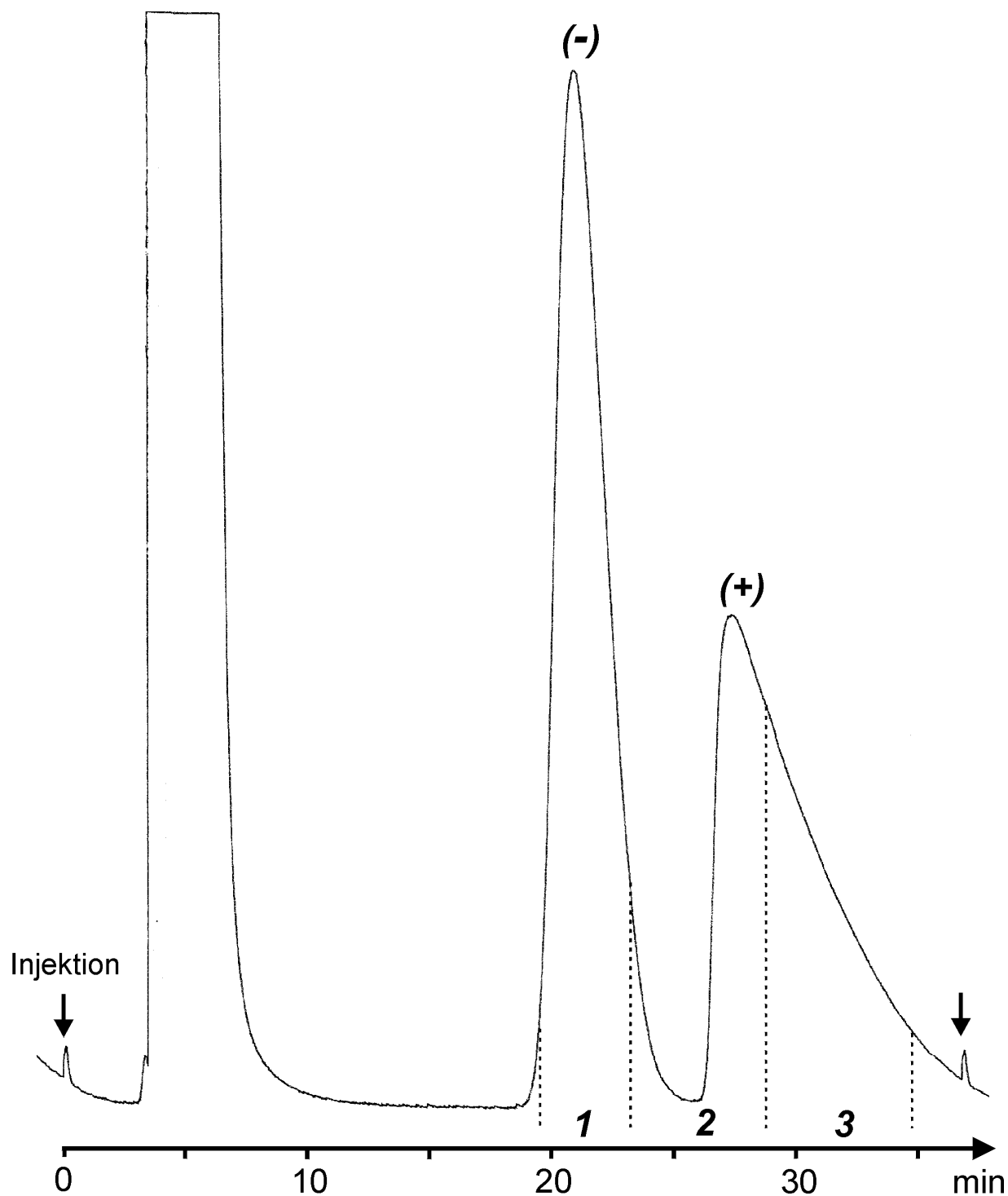


Abb. 24: Präparative gaschromatographische Enantiomerentrennung von rac. Compound B in Diethylether bei 70 °C, Fraktionen 1-3. Stahlsäule (1 m × 18 mm I.D.) gepackt mit Chromosorb P AW DMCS (80-100 *mesh*), belegt mit 19 % einer Mischung von 6-TBDMS-2,3-ac- $\beta$ -CD in PS 86; 0.4 bar N<sub>2</sub>.

Das erstelierte Enantiomer (Fraktion 1, 275 mg in 10 Läufen, 99.3 % chemische Reinheit (GC)) wurde mit einem Enantiomerenüberschuß von  $ee > 99.9\%$  erhalten, das zweitelierte Enantiomer (Fraktion 3, 73 mg, 97.8 % chem. Reinheit (GC)) mit einem  $ee = 99.7\%$  (Abb. 25). Die mittlere Fraktion ( $ee = 87.7\%$  des 2. Enantiomers) wurde zur Reinjektion aufbewahrt.

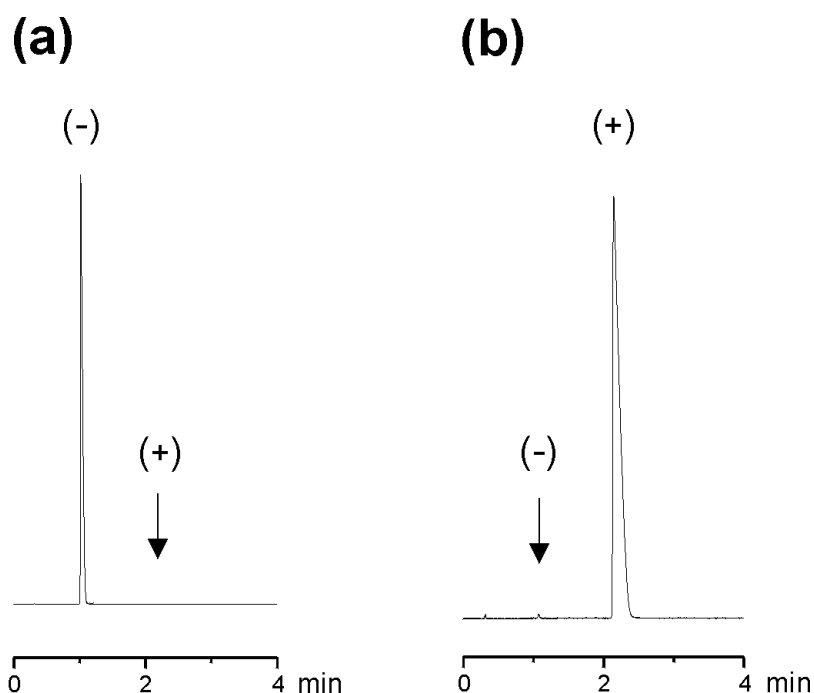


Abb. 25: Gaschromatographische Reinheitsbestimmung der gewonnenen Compound B-Enantiomere: (a) (-)-Compound B (Fraktion 1), (b) (+)-Compound B (Fraktion 3). Kapillarsäule (10 m  $\times$  0.25 mm I.D.), 6-TBDMS-2,3-ac- $\beta$ -CD 20 % in PS 86,  $d_f$  0.25  $\mu$ m, 0.25 bar  $H_2$ .

### 3.4.2 Präparative GC am Gerstel AMPG 60

Bei dem anderen verwendeten präparativen Gaschromatographen handelt es sich um den AMPG 60 der Firma Gerstel, der am Max-Planck-Institut für Kohlenforschung in Mülheim/Ruhr entwickelt wurde.<sup>92</sup> Es erlaubt die präparative Trennung verdampfbarer Substanzen unter zeitsparender Anwendung der aus der analytischen GC bekannten Doppelsäulentekniken (*peak-cutting* und *back-flush*).

Bei diesem System wird eine Vorsäule der eigentlichen Haupttrennsäule vorgeschaltet. Das bei der Dosierung verdampfte Substanzgemisch gelangt demnach zunächst in die Vorsäule, in der eine grobe Vortrennung stattfindet. Durch Umschalten der Strömungswege am Ende der Vorsäule ist es möglich, die störenden niedrigsiedenden Komponenten (z.B. Lösungsmittel) direkt in eine spezielle Kühlfalle zu leiten, so dass sie erst gar nicht auf die Haupttrennsäule gelangen. Die zu sammelnden Komponenten werden nach diesem *peak-cutting* auf die Hauptsäule geleitet. Des Weiteren ist es möglich, schwerflüchtige Probenanteile mit langen Retentionszeiten, die nicht gesammelt werden sollen, mittels *back-flush* zu entfernen. Dieses Prinzip ersetzt in der präparativen GC ein Herausspülen der Restkomponenten durch schnelles Aufheizen der Säule (Temperaturprogramm), da dies zuviel Zeit in Anspruch nehmen würde. Bei der *back-flush*-Technik wird, wenn die zu isolierenden Komponenten die Vorsäule verlassen haben und sich auf der Haupttrennsäule befinden, die Strömung in der Vorsäule umgekehrt. Das bedeutet, dass die hochsiedenden Komponenten, die sich noch in der Vorsäule befinden, zurückgespült und in einer speziellen Falle vor dem Eingang der Vorsäule aufgefangen werden. Da die Strömung in der Haupttrennsäule unabhängig von der Strömung in der Vorsäule gesteuert werden kann, werden gleichzeitig die interessierenden Komponenten in der Haupttrennsäule weiter aufgetrennt und dem Fraktionsverteiler zugeleitet.

Bei der Compound B-Synthese entstehen verschiedene Nebenprodukte, die durch fraktionierte Destillation nicht vollständig abgetrennt werden können.<sup>58</sup> Deshalb wurde bei der präparativen Trennung am Gerstel AMPG 60 die *back-flush*-Technik angewandt. Als Vorsäule wurde eine kurze Säule (1 m × 14 mm I.D.) gefüllt mit Volaspher A 4 (100-120 *mesh*), belegt mit 10 Gew. % SE 30, verwendet. Das racemische Compound B wurde 1:5 in Diethylether verdünnt aufgegeben und eluierte auf der Vorsäule in dessen Hinterflanke, konnte aber auf der Hauptsäule vollständig vom Lösungsmittel abgetrennt werden. Es wurden zwei Fraktionen gesammelt (Abb. 26).

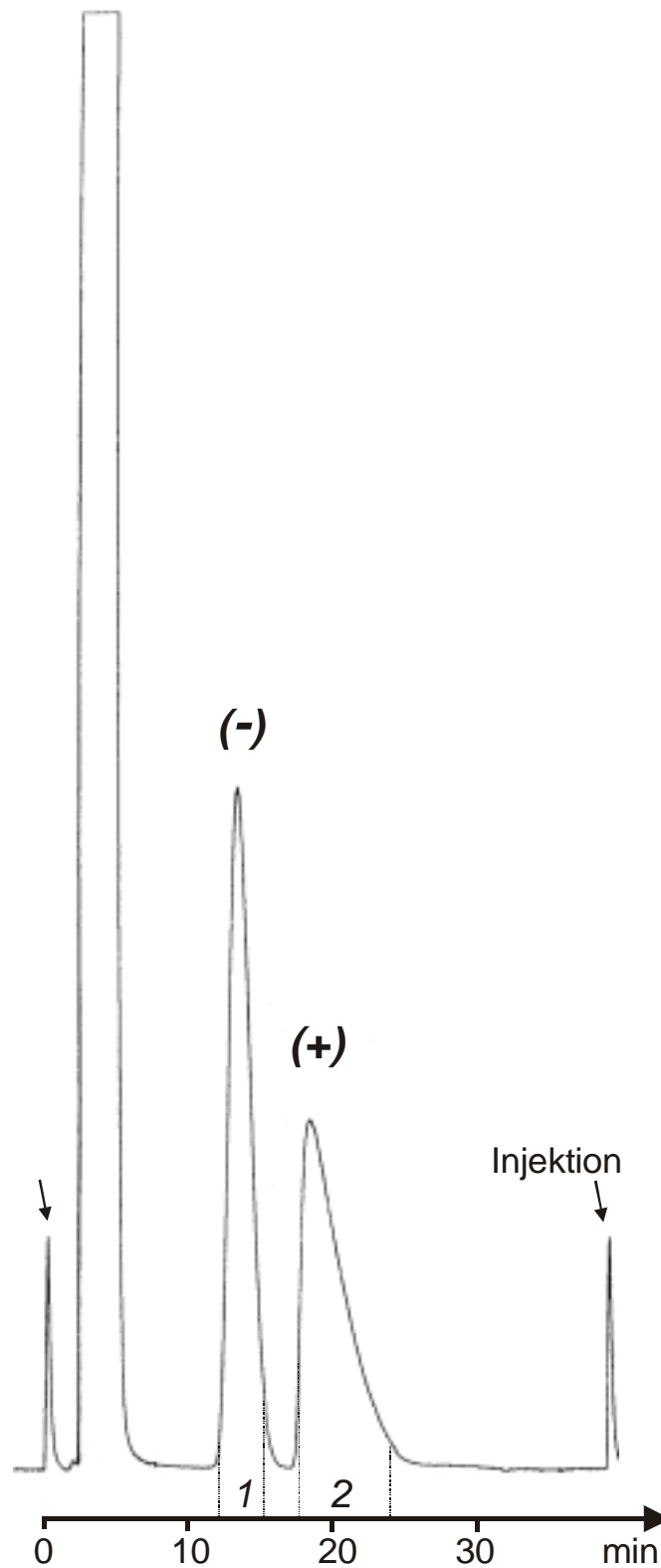


Abb. 26: Präparative gaschromatographische Enantiomerentrennung von rac. Compound B in Diethylether bei 70 °C am Gerstel AMPG 60, Fraktionen 1 und 2. Stahlsäule (1 m × 18 mm I.D.) gepackt mit Chromosorb P AW DMCS (80-100 *mesh*), belegt mit 19 % einer Mischung von 6-TBDMS-2,3-ac- $\beta$ -CD in PS 86; 0.4 bar N<sub>2</sub>.

Durch die bei diesem Gerät mögliche Anwendung der *back-flush*-Technik konnten die Fraktionen in höherer chemischer Reinheit gewonnen werden als bei dem anderen präparativem GC-System. In 15 Zyklen wurden beispielsweise 257 mg ersteluiertes Enantiomer (99.9 % chem. Reinheit (GC),  $ee > 99.9\%$ ) und 223 mg zweiteluiertes Enantiomer (99.4 % chem. Reinheit (GC),  $ee = 99.8\%$ ) gesammelt. Insgesamt wurden aus verschiedenen rac. Compound B-Chargen je 1.7 g der isolierten Enantiomere in hoher chemischer und enantiomerer Reinheit erhalten.

### 3.6 Bestimmung der Absolutkonfigurationen der Compound B-Enantiomere

Von den reinen Compound B-Enantiomeren wurden die spezifischen Drehwerte in Lösung (Chloroform,  $c$  1) bestimmt. Das linksdrehende Enantiomer ( $[\alpha]_D^{20} - 30$ ) eluierte an dem verwendeten Cyclodextrinderivat vor dem rechtsdrehenden Enantiomer ( $[\alpha]_D^{20} + 29$ ). Zusätzlich konnten die Absolutkonfigurationen mittels Röntgenstrukturanalyse bestimmt und zugeordnet werden. Dies ist durch die anomale Röntgenstreuung (differentielle Bijvoet-Röntgenstrukturanalyse) möglich. Dazu wurden Einkristalle der beiden isolierten Enantiomere ( $ee > 99.9\%$  bzw.  $ee = 99.7\%$ ) *in situ* auf dem verwendeten Diffraktometer bei tiefer Temperatur gezüchtet. Compound B ist bei Raumtemperatur flüssig, der Schmelzpunkt liegt bei  $-30\text{ °C}$ . Die Substanz kristallisiert in der orthorhombischen Raumgruppe  $P2_12_12_1$  mit vier Molekülen in der Elementarzelle (Abb. 27). Die Messungen wurden bei  $-175\text{ °C}$  mit  $\text{MoK}_\alpha$ -Strahlung ausgeführt. Auch wenn der anomale Streuunterschied von Fluor- und Wasserstoffatomen bei der verwendeten  $\text{MoK}_\alpha$ -Strahlung sehr gering ist, konnten die Flack-Parameter<sup>93</sup> (0.11(31) für die R- und  $-0.16(38)$  für die S-Konfiguration) bestimmt werden. Der Flack-Parameter wird in die Verfeinerung des

Strukturmodells einbezogen um zu prüfen, ob dieses der tatsächlich vorhandenen absoluten Struktur entspricht. Ein Wert von 0 beschreibt das ursprüngliche Strukturmodell, ein Wert von 1 das invertierte. Extinktions- und Absorptions-Korrekturen hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Werte der Flack-Parameter. Die Einkristalle wurden aus den reinen Enantiomeren gezüchtet, somit war eine racemische Zwillingsbildung<sup>94,95</sup> praktisch ausgeschlossen. Die Standardabweichungen der Flack-Parameter (0.31 bzw. 0.38) sind recht groß, doch die Werte für die richtige Zuordnung liegen nahe bei 0. Für die entgegengesetzte Absolutkonfiguration müsste ein Wert nahe 1 bestimmt werden, doch dieser liegt hier außerhalb eines 99.7 % igen Wahrscheinlichkeits-Intervals. Somit können die Absolutkonfigurationen der GC-Elutionsfolge und den optischen Rotationen zugeordnet werden (Abb. 28):

ersteluiertes Enantiomer: (R)-(-)-Compound B

zweiteluiertes Enantiomer: (S)-(+)-Compound B.

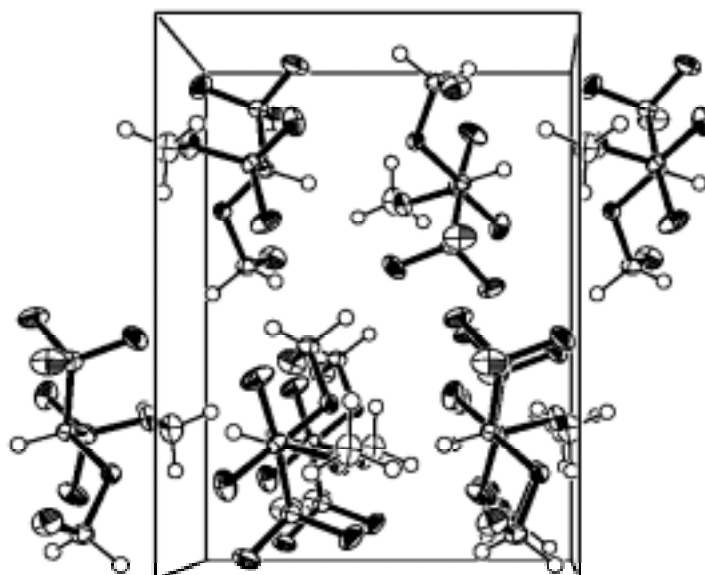


Abb. 27: Elementarzelle des (R)-(-)-Compound B entlang der a-Achse.

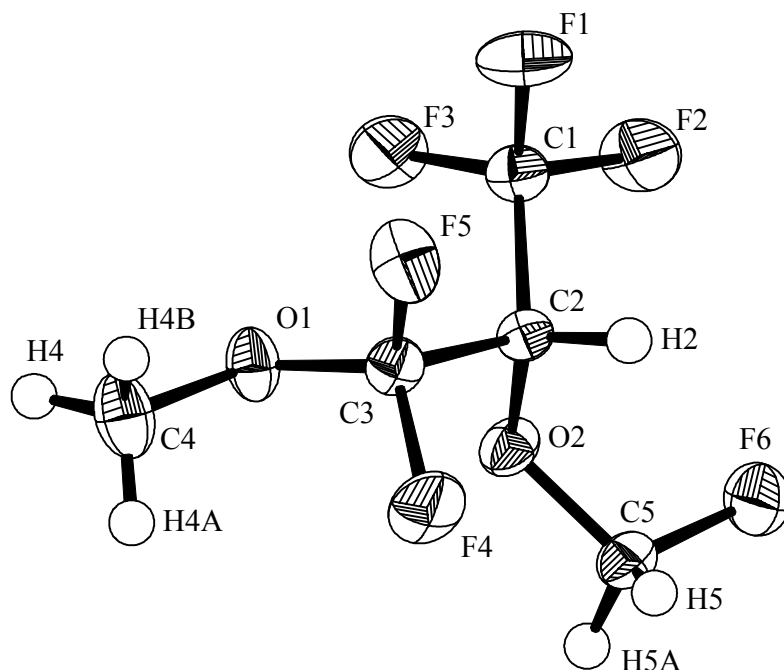


Abb. 28: Struktur von (R)-(-)-Compound B (DIAMOND<sup>i</sup>-Plot).

In den absoluten Konfigurationen der Compound B-Enantiomere ist der *anomere Effekt*<sup>96</sup> der 1,3-ständigen Heteroatome wirksam. Die Fluoratome der CF<sub>2</sub>-Gruppe (F4 und F5) sind *gauche* zu der CH<sub>3</sub>-Gruppe orientiert (Tab. 7), wodurch sie *trans* zu den nichtbindenden Elektronenpaaren des Sauerstoffatoms (O1) stehen und diese Konfiguration somit energetisch begünstigt ist. Auch das Fluoratom der CH<sub>2</sub>F-Gruppe (F6) ist *gauche* zum chiralen C-Atom (C2) orientiert und steht somit *trans* zu einem der nichtbindenden Elektronenpaare des O2-Atoms. Durch die Hyperkonjugation ( $lp(O) \rightarrow \sigma^*(C-F)$ ) sind die Bindungslängen der O2-C5- im Vergleich zur O2-C2-Bindung und die O1-C3- im Vergleich zur C1-C4-Bindung verkürzt. Zusätzlich sind die Sauerstoff-Atome (O1 und O2) *gauche* zueinander orientiert. Die durch den anomeren Effekt stabilisierten *gauche*-Konfigurationen sind auch bei gasförmigem Isofluran und Desfluran als stabilste Konfigurationen gefunden worden,<sup>97</sup> wogegen bei Enfluran aus sterischen Gründen lediglich ein F-Atom der CF<sub>2</sub>H-Gruppe *gauche* zur C-O-Bindung stehen kann.<sup>98</sup>

<sup>i</sup> Informationssystem für Kristallstrukturen.

Tab. 7: Ausgewählte Bindungslängen und Torsionswinkel in R-(–)-Compound B, Standardabweichung in Klammern.

Bindungslängen [Å]		Torsionswinkel [°]	
F1-C1	1.3272(9)	C5-O2-C2-C1	126.43(7)
F4-C3	1.3609(8)	C5-O2-C2-C3	-110.27(7)
F6-C5	1.3775(9)	C4-O1-C3-F4	51.70(9)
O1-C3	1.3323(10)	C4-O1-C3-F5	-64.94(9)
O1-C4	1.4511(10)	C4-O1-C3-C2	171.29(7)
O2-C5	1.3874(9)	O2-C2-C3-O1	-55.56(8)
O2-C2	1.4087(9)	C1-C2-C3-O1	63.30(9)
C1-C2	1.5232(10)	O2-C2-C3-F4	66.95(8)
C2-C3	1.5318(10)	C1-C2-C3-F4	-174.19(7)
C2-H2	0.985(13)	O2-C2-C3-F5	179.70(6)
C5-H5	0.904(13)	C1-C2-C3-F5	-61.44(9)
C5-H5A	0.977(16)	C2-O2-C5-F6	-80.83(8)



## 4 Experimenteller Teil

### 4.1 Materialien und Geräte

#### 4.1.1 Materialien

##### Chemikalien:

Nicht aufgeführte Chemikalien stammen aus der Chemikalienausgabe des Chemischen Instituts der Universität Tübingen.

Aldrich: 1-Brompentan

Fluka : Buttersäureanhydrid

$\beta$ -Cyclodextrin

4-Dimethylaminopyridin (DMAP)

Essigsäureanhydrid

Natriumhydroxid puriss.

Gelest/ABCR: PS 086 [(85-88%)Methyl-(12-15 %)phenylpolysiloxan]

PS 255 [Polydimethyl-(0.5-1 %)-methylvinylsiloxan-Copolymer]

Macherey-Nagel: SE 54 [Methylphenylvinyl-silicon (94:5:1)]

Ziemer: Fused-Silica-Kapillarsäulen (0.25 mm I.D.)

Die folgenden Cyclodextrinderivate wurden in der Arbeitsgruppe synthetisiert: Octakis(3-*O*-butanoyl-2,6-di-*O*-*n*-pentyl)- $\gamma$ -cyclodextrin (Lipodex E) nach H. Grosenick<sup>89</sup> und analog dazu Hexakis-(3-*O*-butanoyl-2,6-di-*O*-*n*-pentyl)- $\alpha$ -cyclodextrin.

Die Inhalationsanästhetika Sevofluran und Desfluran wurden vom Universitätsklinikum Tübingen zur Verfügung gestellt.

Pulverisiertes Natriumhydroxid wurde durch Zermahlen von NaOH-Plätzchen (puriss.) erhalten und sofort verwendet.

$\beta$ -Cyclodextrin (10 - 15 % Wassergehalt) wurde vor Verwendung über Phosphorpentoxid getrocknet (unter Vakuum bei 75 °C, 2 Tage).

***Allgemeine Vorsichtsmassnahmen beim Umgang mit Inhalationsanästhetika:  
Einatmen vermeiden, im Abzug arbeiten, den Ausgang am Präparativen  
Gaschromatographen in den Abzug leiten !***

### **Dünnschichtchromatographie:**

DC-Fertigplatten (Folienträger) Polygram-Sil G/UV<sub>254</sub> der Firma Macherey-Nagel. Zur Detektion wurden die Platten mit einem Reagenz aus konz. Schwefelsäure in Ethanol (5 %) besprüht und für wenige Minuten auf ca. 120 °C erhitzt.

### **Säulenchromatographie:**

Glassäulen verschiedener Dimensionen (5 - 9 cm I.D.) mit Fritte am Säulenende wurden mit einer blasenfreien Aufschlämmung von Kieselgel (32 - 64  $\mu$ m Korngröße) im Laufmittel gepackt.

### **Lösungsmittel:**

Dimethylsulfoxid (DMSO) (99.9 %, wasserfrei) wurde von Merck bezogen und über Molsieb 4 Å aufbewahrt.

Die übrigen Lösungsmittel wurden nach gebräuchlichen Standardverfahren unter Schutzgas absolutiert: Pyridin über Calciumhydrid, Tetrahydrofuran über Natrium/Benzophenon, Triethylamin über Calciumhydrid, Chloroform über Calciumchlorid und anschließender Destillation.

**Gase:**

Alle Gase wurden von der Fa. Messer-Griessheim bezogen: Wasserstoff (Reinheit 5.0), Helium (Reinheit 4.6), Stickstoff (Reinheit 4.6). Der als Schutzgas verwendete Stickstoff wurde zusätzlich durch einen blaugelhaltigen Filter gereinigt. Die Druckluft (gereinigt mit Aktivkohle) stammte aus der hauseigenen Anlage.

**4.1.2 Geräte**

**Hochauflösungs-Lösungs-NMR-Spektroskopie:** Bruker AC 250 bzw. DRX 250, Messtemperatur 297 bzw. 300 K. Meßfrequenzen und Standards:

$^1\text{H}$ -NMR 250.13 MHz, Referenzierung gegen Restprotonensignale der deuterierten Lösungsmittel bezogen auf TMS;

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR: 62.90 MHz, Referenzierung gegen Restprotonensignale der deuterierten Lösungsmittel bezogen auf TMS;

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -NMR: 235.33 MHz, externer Standard  $\text{CFCl}_3$ .

**Polarimetrie:** Perkin-Elmer Polarimeter 241.

**Massenspektrometrie:** EI-Spektren wurden auf einem MAT TSQ 70 der Firma Finnigan aufgenommen (Ionisierungstp. 200 °C, Elektronenenergie 70 eV).

Für hochaufgelöste Ionenspray-Spektren wurde ein APEX II FT-ICR-Massenspektrometer der Firma Bruker eingesetzt. Die Proben (0.1 % in Methanol bzw. Dichlormethan) wurden 1 : 200 verdünnt und mit 0.1 % NaCl-Lösung versetzt.

**Elementaranalyse:** Vario EL der Fa. Elementar.

**Gaschromatographie:**

**GC-FID-System:** Carlo-Erba-Gaschromatograph (ThermoQuest) Typ MEGA 6000, Chrompack CP 9000 und Agilent HP 5890A, alle ausgerüstet mit Splitinjektor und Flammenionisationsdetektor (FID); Fraktovap 2101 (Carlo-Erba)

mit Injektor und FID. Die Datenaufnahme und -auswertung erfolgte mit Integratoren des Typs C-R3A oder C-R6A der Firma Shimadzu. Die Datenauswertung am Chrompack CP 9000 erfolgte mittels eines IBM-386-PC (MOSAIC-Software-Paket der Fa. Chrompack).

**GC-MS-System:** Agilent HP 5890/5971 mit Autosampler und mit Kaltaufgabesystem der Fa. Gerstel.

**Präp. GC I:** Prototyp APG 402 der Fa. Dr. Hupe (Karlsruhe), Baujahr 1962, ausgerüstet mit automatischem Probenaufgabesystem, FID, Schreiber und 5 elektronisch ansteuerbaren Kühlfallen.

**Präp. GC II:** Gerstel AMPG 60, entwickelt im Max-Planck-Institut für Kohlenforschung in Mülheim/Ruhr (Abteilung Chromatographie), mit multidimensionaler Doppelsäulentechnik (*peak-cutting* und *back-flush*); ausgestattet mit zwei FID und zwei Schreibern. Betrieben wird das präp. GC mit einer Puffersäule, einer Vorsäule und einer Hauptsäule. Durch Massenflussregler können die Strömungen in jeder Säule separat gesteuert werden. Die Fallensteuerung (Öffnen und Schließen) erfolgt entweder zeitlich oder elektronisch über das Einstellen von Schwellenwerten. Eine genaue Beschreibung der Funktionsweise ist der Literatur zu entnehmen.<sup>92</sup>

## 4.2 Synthesen

### 4.2.1 Synthese von 2-(Fluormethoxy)-3-methoxy-1,1,1,3,3-pentafluorpropan

2-(Fluormethoxy)-3-methoxy-1,1,1,3,3-pentafluorpropan (Compound B) wurde nach einer modifizierten Literaturvorschrift von Huang *et al.*<sup>58</sup> synthetisiert.

In einem 250-ml-Kolben wurden 110 ml (0.6 mol) Natriummethanolat (30 %) in Methanol unter Stickstoffatmosphäre mit einem Wasserbad auf 10 - 15 °C gekühlt. Nach langsamem Zutropfen über 90 min von 26 ml (0.2 mol) Sevofluran wurde die Reaktionslösung 3 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend 2 h

unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen wurde die milchige Lösung durch Schütten in 800 ml Eiswasser hydrolysiert. Da sich die Phasen im Scheidetrichter nicht vollständig getrennt hatten, wurde die Zwischenschicht in 10 ml-Zentrifugenröhrchen gefüllt und abzentrifugiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit  $2 \times 20$  ml  $\text{H}_2\text{O}$  gewaschen. Nach dem Trocknen über Nacht über Natriumsulfat bei  $4\text{ }^\circ\text{C}$  wurde das Rohprodukt (29.7 g) bei einem Druck von 76 - 83 mbar destilliert. Bei  $50 - 51\text{ }^\circ\text{C}$  wurden 9.3 g 2-(Fluormethoxy)-3-methoxy-1,1,1,3,3-pentafluorpropan (Compound B) erhalten. Ausbeute: 22 % d. Th., Reinheit (GC): 98.1 %.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ): 3.12 (s, 3 H,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.84-3.91 (m, 1 H, CH), 4.74 (d, 2 H,  $^2\text{J}_{\text{HF}}$  54.4 Hz,  $-\text{OCH}_2\text{F}$ ).

$^{13}\text{C-}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$  ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ): 50.2 (t,  $^3\text{J}_{\text{CF}}$  7.4 Hz,  $-\text{OCH}_3$ ), 75.0-76.6 (m, -CH), 102.9 (d,  $^2\text{J}_{\text{CF}}$  224.5 Hz,  $-\text{OCH}_2\text{F}$ ), 119.8 (s,  $-\text{CF}_2$ ), 120.5 (s,  $-\text{CF}_3$ ).

$^{19}\text{F-}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$  ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ): -153 (t, 1 F,  $-\text{CH}_2\text{F}$ ), - 83 (dd, 2 F,  $-\text{OCF}_2$ ), - 74 (s, 3 F,  $-\text{CF}_3$ ).

MS (EI): 193.1 ( $[\text{M} - \text{F}]^+$ , 29 %), 163.0 ( $[\text{M} - \text{CH}_2\text{FO}]^+$ , 13 %), 131.0 ( $[\text{M} - \text{CH}_3\text{OCF}_2]^+$ , 19 %), 112.8 ( $[\text{CF}_3\text{CHOCH}_3]^+$ , 57 %), 81.1 ( $[\text{CH}_3\text{OCF}_2]^+$ , 100 %), 63.1 ( $[\text{CH}_2\text{FOCH}_2]^+$ , 36 %), 51.3 ( $[\text{CHF}_2]^+$ , 54 %).

Elementaranalyse: berechnet: C: 27.78, H: 2.85, F: 53.74

gefunden: C: 28.31, H: 2.77, F: 53.02.

#### 4.2.2 Synthese von Heptakis(6-*O*-tert-butyldimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin

Die Synthese erfolgte nach Mosandl *et. al.*<sup>82</sup>

Unter Stickstoff wurden in einem 1 l-Kolben 25 g (22.0 mmol)  $\beta$ -Cyclodextrin in 380 ml absolutiertem Pyridin gelöst und mit einem Eiswasserbad auf  $0\text{ }^\circ\text{C}$  gekühlt. 24.9 g (165.2 mmol) tert.-Butyldimethylchlorsilan, gelöst in 100 ml absolutem Pyridin, wurden innerhalb 2 h bei  $0 - 2\text{ }^\circ\text{C}$  zugetropft, anschließend wurde die Lösung bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Die trübe

Reaktionsmischung wurde in 800 ml Eiswasser geschüttet, dabei fiel das Produkt aus. Nach Abfiltrieren wurde der Rückstand in 650 ml Ethylacetat aufgenommen und mit  $2 \times 50$  ml wässriger 1 M HCl-Lösung gewaschen. Anschließend wurde die organische Phase mit 50 ml gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und mit 15 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Magnesiumsulfat über Nacht getrocknet und anschließend am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Nach Trocknen im Vakuum wurde das Rohprodukt (37.4 g, entspricht 88 % d. Th.) ohne Reinigung weiter umgesetzt.

DC:  $R_f$  0.50 ( $\text{CHCl}_3 : \text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O} = 150 : 38 : 3$ ).

#### 4.2.3 Synthese von Heptakis(6-*O*-tert-butyltrimethylsilyl-2,3-di-*O*-acetyl)- $\beta$ -cyclodextrin<sup>81</sup>

5 g (2.58 mmol) Heptakis(6-*O*-tert-butyltrimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin wurden in einem 250 ml-Kolben in 50 ml absolutem Pyridin gelöst. Nach Zugabe von 50 ml (528.9 mmol) Essigsäureanhydrid wurde die Reaktionslösung 4 h bei 90 °C unter Rückfluß erhitzt und anschließend 2 Tage bei Raumtemperatur gerührt, wobei am ersten Tag weitere 5 ml (52.9 mmol) Essigsäureanhydrid zugegeben wurden. Anschließend wurde die Lösung mit Toluol zur azeotropen Entfernung der Essigsäure versetzt und die gesamten Lösungsmittel abrotiert. Das verbleibende braune Öl wurde in einem Toluol/Ethanol-Gemisch (10:1) gelöst und über eine geringe Menge Kieselgel und Kieselgur abfiltriert, um Salz und Edukte zu entfernen. Mit 50 ml Toluol/Ethanol (5:1) wurde nachgewaschen. Nach Abziehen des Lösungsmittels und Trocknen im Vakuum (0.01 mbar) wurden leicht gelbliche Kristalle erhalten. Ausbeute: 5.8 g (96.5 % d. Th.). Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung als chiraler Selektor in der analytischen und präparativen GC verwendet.

DC:  $R_f$  0.51 (Toluol : Ethanol = 5 : 1).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ): 5.72 (dd, 7 H,  $^3J_{\text{HH}}$  9.0 Hz, H-3), 5.52 (d, 7 H,  $^3J_{\text{HH}}$  3.4 Hz, H-1), 5.05 (dd, 7 H,  $^3J_{\text{HH}}$  9.8 Hz, H-2), 4.27-3.97 (m, 28 H, H-4, H-5, H-6<sub>a</sub>, H-6<sub>b</sub>), 1.95 & 1.91 (2 s, 42 H,  $\text{OCHCH}_3$ ), 1.07 (s, 63 H,  $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$ ), 0.26 & 0.27 (2 s, 42 H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ ).

$^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ): 170.0 & 169.4 (CO), 97.2 (C-1), 75.9 (C-4), 72.6 & 71.9 & 71.7 (C-2, C-3, C-5), 62.5 (C-6), 26.2 ( $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$ ), 20. & 20.5 ( $\text{COCH}_3$ ), 18.6 ( $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$ ), -4.7 & -4.9 ( $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ ).

Ionenspray-MS (berechnet): 1272.5580 (1272.5598,  $[\text{M} + \text{H} + \text{Na}]^{++}$ ), 1280.5439 (1280.5467,  $[\text{M} + \text{H} + \text{K}]^{++}$ ).

#### 4.2.5 Heptakis(2,6-di-*O*-*n*-pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin

Die Synthese erfolgte analog der ersten Stufe der Perpentylisierung von Cyclodextrinen.<sup>99</sup>

In einem 500 ml-Rundkolben wurden 5 g (4.4 mmol)  $\beta$ -Cyclodextrin in 120 ml DMSO gelöst. Nach Zugabe von 5.8 g (145.2 mmol) pulverisierten NaOH-Plätzchen und 18 ml (145.2 mmol) 1-Brompentan ließ man die Reaktionslösung bei Raumtemperatur 6 Tage rühren. Jeden Tag wurden weitere 1.9 g (47.6 mmol) pulv. NaOH und 6 ml (48.4 mmol) 1-Brompentan zugegeben. Der Reaktionsverlauf wurde mittels DC verfolgt. Die Reaktionslösung wurde in 500 ml Eiswasser gegeben und mit  $3 \times 100$  ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurde mit  $2 \times 50$  ml  $\text{H}_2\text{O}$  und  $1 \times 50$  ml NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen der Lösung über wasserfreiem  $\text{MgSO}_4$  wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen.

Die säulenchromatographische Reinigung des gelben Rohprodukts wurde in mehreren Portionen mit jeweils einem schrittweisen Gradienten (40-100 %) von Diethylether in Petrolether (Siedebereich 60-95 °C) durchgeführt. Es wurde ein Gemisch aus 2,6-dipentylisiertem  $\beta$ -CD und überpentylierten Cyclodextrinderivaten erhalten. Die Mischfraktion des 2,6-dipentylisiertem  $\beta$ -CD und einfach

überpentyliertem  $\beta$ -CD (1.32 g, 14 % d. Th.) wurde für die weitere Umsetzung verwendet.

DC:  $R_f$  0.52 (Toluol/Ethylacetat 5:1).

Ionenspray-MS (berechnet): 1080.7255 (1080.7219,  $[M + Na_2]^{++}$ ), 1115.7658 (1115.7610,  $[M + C_5H_{10} + Na_2]^{++}$ ).

Anmerkung : Da überpentylierte Produkte erhalten wurden, wäre bei einem weiteren Ansatz günstiger, nur am zweiten Reaktionstag NaOH und Brompentan zuzugeben (vgl. Synthese des Lipodex E<sup>89</sup>).

#### 4.2.5 Heptakis(3-*O*-butanoyl-2,6-di-*O*-*n*-pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin

Die Butanoylierung von Heptakis(2,6-di-*O*-*n*-pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin erfolgte entsprechend der beschriebenen Derivatisierung des  $\gamma$ -Cyclodextrins (Lipodex E).<sup>89</sup>

Unter Stickstoffatmosphäre wurden in einem 250 ml-Kolben 1.32 g (0.64 mmol) Heptakis(2,6-di-*O*-*n*-pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin, 110.5 mg 4-Dimethylaminopyridin (1.35 mmol, entspricht 0.2 equiv. DMAP pro OH-Gruppe im CD) und 2.2 ml (14.51 mmol) Buttersäureanhydrid in 50 ml absolutem Triethylamin gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde 9 Tage bei Raumtemperatur gerührt, wobei am 3. Tag erneut Buttersäureanhydrid (0.7 ml, 4.84 mmol) zugegeben wurde. Nach Beendigung der Reaktion wurde das Lösungsmittel abgezogen, wobei  $3 \times 10$  ml Toluol zur azeotropen Entfernung der Buttersäure zugesetzt wurde. Das orangebraune Öl wurde in Diethylether gelöst und nacheinander mit je 10 ml H<sub>2</sub>O, verdünnter KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Lösung, H<sub>2</sub>O, verdünnter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und H<sub>2</sub>O gewaschen und über wasserfreiem MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Beim Abziehen des Lösungsmittels wurden erneut  $3 \times 10$  ml Toluol zugegeben. Anschließend wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch mit einem Lösungsmittelgradienten (10-20 %) von Essigsäureethylester in Petrolether (60-95 °C) gereinigt. Die Ausbeute des reinen Produkts betrug 10 % d. Th.



DC:  $R_f$  0.61 (Essigester : Petrolether 60-95 = 1 : 3).

$\alpha_D^{20} +84 \pm 2$  (c 1, Chloroform).

Ionenspray-MS (berechnet): 2628.8402 (2628.7475,  $[M + Na]^+$ ), 2644.8264 (2644.6851,  $[M + K]^+$ ).

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ ): 0.87-0.93 (m, 63 H,  $CH_3$ -Substituent), 1.28-1.29 & 1.56 (2m, 98 H,  $-CH_2$ -Substituent), 2.08-2.36 (2m, 12 H,  $COCH_3$ ), 3.13-3.56 & 3.69-3.96 (2m, 56 H,  $O-CH_2$ -Substituent, H-2, H-4, H-6A, H-6B), 4.64 (d, 7 H, H-5), 4.89-5.27 (2m, 14 H, H-1, H-3).

### 4.3 Analytische Gaschromatographie

#### 4.3.1 Kapillar-GC - Herstellen der Säulen

Fused-Silica-Kapillarsäulen wurden über Nacht im schwachen Trägergasstrom (0.2 bar  $H_2$ ) auf 260 °C erhitzt und ohne weitere Desaktivierung mit einer gefilterten Lösung der Stationärphase in absolutem Diethylether nach der statischen Methode belegt.<sup>100</sup> Zur Thermostatisierung bei der Belegung diente ein Wasserbad (20 °C). Die Konzentrationen der Beleglösungen wurden entsprechend der gewünschten Filmdicke berechnet. Die anschließende Konditionierung im GC erfolgte bei einem schwachen Trägergasstrom (0.2 bar  $H_2$ ) mit einem Temperaturprogramm (40 °C, 2h, 0.5 °C/min, 160 °C, 10 h).

Die GC-Geräte wurden mit einer Injektortemperatur von 200 °C und einer Detektortemperatur von 250 °C betrieben.

#### 4.3.2 Gepackte GC - Herstellen der gepackten analytischen Säule

2.0 g PS 86 und 0.5 g 6-TBDMS-2,3-ac- $\beta$ -CD wurde in 70 ml absolutem Chloroform gelöst. Unter Schwenken wurden 10 g Chromosorb P AW DMCS (80-100 *mesh*) zugegeben und die Suspension 15 min im Ultraschallbad homogenisiert. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer langsam abgezogen. Durch Ausheizen über Nacht bei 50 °C und Vakuum (0.01 mbar) wurde das

Packungsmaterial vollständig getrocknet. Eine Glassäule (2.3 m × 3 mm I.D.) wurde unter manuellem Klopfen mit dem Trägermaterial gepackt. Die Säule wurde in den Gaschromatographen Fractovap 2101 eingebaut und bei einem Trägergasstrom von 1 bar Helium bei 150 °C konditioniert, Injektor- und Detektortemperatur 200 °C.

## 4.4 Präparative Gaschromatographie

### 4.4.1 Trennung der Desfluran-Enantiomere

Die Trennung der Desfluran-Enantiomere wurde auf dem Präp. GC I-System durchgeführt. Die verwendete Trennsäule (Stahl 1 m × 24 mm I.D.) wurde mit einem Kupferrohr umwickelt, um durch Anschluss an einen Kryostaten die Säule zu temperieren. Die Säule wurde mit Armaflex gegen die Außentemperatur isoliert, die Temperatur des Kryostaten wurde während der Messung auf 0 °C eingestellt. Die gepackte Trennsäule<sup>46</sup> enthielt 398 g Chromosorb P AW DMCS 80/100 *mesh*, belegt mit 101.25 g einer Stationärphase aus 10.75 g Octakis(3-*O*-butanoyl-2,6-di-*O*-pentyl)- $\gamma$ -cyclodextrin gelöst in 90.5 g SE-54. Als Trägergas diente Stickstoff (0.8 bar), die Injektor- und Detektortemperatur betrug 100 °C. Injiziert wurde nur ein aliquoter Teil des Dampfraumes des Probengefäßes, das zur Hälfte mit racemischem Desfluran gefüllt war.

In 41 Zyklen wurden jeweils drei Fraktionen gesammelt. Die Kühlfallen, in denen die Fraktionen aufgefangen wurden, wurden mit flüssigem Stickstoff gekühlt. Beim Abnehmen der Kühlfallen wurden die Fraktionen mit gekühlten Glaspipetten aufgenommen und in vorgekühlte gasdichte Gläschen umgefüllt. Durch den hohen Dampfdruck von Desfluran erleidet man trotz dieser Maßnahmen beim Umfüllen einen beträchtlichen Ausbeuteverlust.

Fraktion 1 (373 mg): ersteluiertes S-(+)-Enantiomer mit  $ee = 91.1 \%$ .

Fraktion 2 (214 mg): zweiteluiertes R-(-)-Enantiomer mit  $ee = 44.7 \%$ .

Fraktion 3 (190 mg): zweiteluiertes R-(-)-Enantiomer mit  $ee = 71.8 \%$ .

#### 4.4.2 Trennung der Compound B-Enantiomere

28 g Polysiloxan PS 86 und 5 g Heptakis(6-*O*-tert-butyl-dimethylsilyl-2,3-di-*O*-acetyl)- $\beta$ -cyclodextrin wurden in 840 ml absolutem Chloroform gelöst und über Nacht gerührt. 140 g Chromosorb P AW DMCS (80-100 *mesh*) wurde unter Schütteln zugegeben, anschließend wurde die Suspension mehrere Minuten in einem Ultraschallbad homogenisiert. Das Lösungsmittel wurde an einem Rotationsverdampfer langsam innerhalb mehrerer Stunden entfernt. Nach Trocknen bei 10 mbar und 60 °C Ölbadtemperatur für 48 h wurde das mit Stationärphase (19.1 Gew. %) belegte Chromosorb erhalten, wobei die Stationärphase aus 15.2 % Cyclodextrinderivat, gelöst in dem Polysiloxan PS 86, bestand.

Die präparative Stahlsäule (1 m  $\times$  18 mm I.D.) wurde mit am Ende angelegtem Wasserstrahlpumpenvakuum mit dem Packungsmaterial gefüllt.

#### Trennung der Compound B-Enantiomere am Präp. GC I-System:

Die Injektor- und Detektortemperatur betrug 170 °C, die Ofentemperatur wurde bei 70 °C gehalten. Als Trägergas wurde Stickstoff (0.4 bar) verwendet. Die automatische Probeninjektion und -sammlung am Gerät wurde in der Literatur beschrieben.<sup>46</sup> Compound B wurde in absolutem Diethylether verdünnt (1:5) injiziert. Es wurden drei Fraktionen gesammelt, wobei die Kühlfallen mit flüssigem Stickstoff gekühlt wurden. Nach 10 Injektionen wurden die Kühlfallen entfernt, die Fraktionen in 2 ml Gläschen überführt und bei -18 °C aufbewahrt. Die chemische Reinheit und die Enantiomerenreinheit der Fraktionen wurde mittels GC ermittelt. Die spezifischen Drehwerte der isolierten Enantiomere (Fraktionen 1 und 3) wurden in Chloroform bestimmt. Die mittlere Fraktion (*ee* = 87.7 % des 2. Enantiomers) wurde aufbewahrt zur Reinjektion.

Fraktion 1 (275 mg, 99.3 % chem. Reinheit): ersteluiertes Enantiomer, *ee*  $\geq$  99.9 %,  $[\alpha]_D^{20}$  -30  $\pm$  1 (c 1, Chloroform).

Fraktion 3 (73 mg, 97.8 % chem. Reinheit): zweiteluiertes Enantiomer,  $ee = 99.7\%$ ,  $[\alpha]_D^{20} + 29 \pm 1$  (c 1, Chloroform).

### **Trennung der Compound B-Enantiomere am Präp. GC II:**

Injektortemperatur 160 °C, Auslasstemperatur 50 °C, Detektortemperatur 200 °C. Ofentemperatur 70 °C. Hauptsäulenfluss 240 ml/min.

Puffersäule (0.9 m × 8 mm I.D.): Volasphär A 4 60-80 *mesh*; Vorsäule (1.0 m × 14 mm I.D.): Volaspher A 4 belegt mit 10 % SE 30.

Compound B wurde in Diethylether 1:5 verdünnt und im Vorlagegefäß bei -20 °C gekühlt. Die Dosierzeit D über eine Kapillare (0.6 mm I.D.) betrug 2.5 s, in dieser Zeit wurden 250 µl Lösung in den Injektorblock überführt. Die  $t_2$ -Zeit war 180 s, nach dieser Zeit wurde die Strömung in der Vorsäule umgekehrt (*back-flush*). Die *back-flush*-Zeit  $t_3$  betrug 40 min und  $t_4 = 10$  min (Stabilisierzeit vor der nächsten Einspritzung), S wurde auf 10 min eingestellt (Sammelzeit, nach dieser Zeit wurde das Fraktionssammeln gestartet). Die Fallen zum Sammeln der Fraktionen wurden mit einem Kryostaten auf -30 °C gekühlt und über eingestellte Schwellenwerte elektronisch gesteuert. Es wurden jeweils zwei Fraktionen der basisliniengetrennten Compound B-Enantiomere gesammelt. Die Fraktionen wurden in 1 ml-Ampullen überführt und die Ampullen wurden abgeschmolzen.

Es wurden mehrere racemische Compound B-Chargen in unterschiedlichen Reinheiten (96 - 98 %) eingesetzt. Die Enantiomere wurden in mehreren Portionen gesammelt, die chemische und die enantiomere Reinheit wurde durch GC bestimmt. Die gesamte Ausbeute betrug 50 %.

Ersteluiertes (-)-Enantiomer:

- 406 mg in 26 Zyklen, 99.8 % chem. Reinheit,  $ee = 99.8\%$
- 257 mg in 15 Zyklen, 99.9 % chem. Reinheit,  $ee > 99.9\%$

- 404 mg in 33 Zyklen, 99.6 % chem. Reinheit,  $ee = 98.4\%$ <sup>j</sup>
- 334 mg in 21 Zyklen, 99.9 % chem. Reinheit,  $ee = 99.9\%$
- 316 mg in 21 Zyklen, 99.9 % chem. Reinheit,  $ee = 99.9\%$

Zweiteliertes (+)-Enantiomer:

- 395 mg in 26 Zyklen, 99.5 % chem. Reinheit,  $ee = 99.6\%$
- 223 mg in 15 Zyklen, 99.4 % chem. Reinheit,  $ee = 99.8\%$
- 827 mg in 54 Zyklen, 99.5 % chem. Reinheit,  $ee = 99.8\%$
- 261 mg in 20 Zyklen, 99.6 % chem. Reinheit,  $ee = 97.9\%$

#### 4.5 Thermodynamische Messungen

Zur Bestimmung thermodynamischer Parameter in der GC wurden drei verschiedene Säulen eingesetzt. Die beiden Reaktorsäulen (10 m × 0.25 mm I.D.) enthielten 5 und 10 Gew. % Lipodex E gelöst in Polysiloxan PS 255 ( $d_f = 0.5\ \mu\text{m}$ ). Die Referenzsäule (30 m × 0.25 mm I.D.) enthielt das reine Polysiloxan PS 255 als Stationärphase ( $d_f = 0.5\ \mu\text{m}$ ).

Die Messungen wurden an dem HP 5890 A durchgeführt. Die exakte Temperatur wurde mit einem Thermofühler extern kontrolliert. Compound B und die Standards *n*-Pentan, *n*-Hexan, *n*-Heptan und *n*-Octan sowie Methan als Durchflusszeitmarker wurden in gasdichte Headspace-Gläschen gefüllt und ein Teil des Dampfraumes wurde coinjiziert. Um eine Überladung zu vermeiden, wurden minimale Mengen an Dampfraum aufgetragen. Jede Messung wurde bei der entsprechenden Temperatur drei- bis viermal wiederholt, aus den Mittelwerten wurden die relativen Retentionsdaten ermittelt.

---

<sup>j</sup> Verunreinigung mit 2. Enantiomer durch Fehler während des automatischen Laufs.

#### 4.6 Bestimmung der Absolutkonfigurationen der isolierten Compound B-Enantiomere

Die Absolutkonfigurationen der Enantiomere von Compound B wurden mittels Röntgenstrukturanalyse bestimmt. Dazu wurden Einkristalle aus beiden isolierten Enantiomeren *in situ* auf einem Stoe IPDS Diffraktometer, ausgestattet mit einer Flüssigstickstoff-Kühlung, gezüchtet. Zur Aufnahme der Intensitätsdaten wurde MoK $\alpha$ -Strahlung ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ , Graphit-Monochromator) verwendet. Zur Kristallzucht diente eine modifizierte Bridgman-Apparatur.<sup>101</sup> Das Probenröhrchen konnte bei der Kristallzucht mit einer CCD-Kamera beobachtet werden.

Das (-)-Enantiomer (*ee* > 99.9 %) wurde unter Argon-Atmosphäre in ein Markröhrchen (0.2 mm I.D.) gefüllt. Das Glasröhrchen wurde abgeschmolzen und in einem Probenhalter fixiert. Die Probe wurde auf dem Diffraktometer installiert und langsam abgekühlt. Bei - 80 °C kristallisierte sie als Pulver (beobachtet durch Schwenkaufnahmen) aus. Nach vorsichtigem Anbringen der modifizierten Bridgman-Apparatur wurde die Temperatur des Flüssigstickstoff-Strahls stufenweise bis auf 2 - 3 °C unterhalb der Schmelztemperatur erhöht. Die Messingplatte (mod. Bridgman-Apparatur), die bei Raumtemperatur gehalten wurde, wurde um die Kapillare herum auf- und abwärts bewegt, so dass das Schmelzen und Rekrystallisieren der Substanz durch die Kamera beobachtet werden konnte. Nach wiederholtem Anschmelzen und Rekrystallisation konnte das Wachsen eines zylindrischen Einkristalls beobachtet werden. Der Einkristall wurde auf - 175 °C gekühlt, ohne dabei eine Phasenumwandlung zu durchlaufen. Ein Einkristall des (+)-Enantiomers (*ee* = 99.7 %) konnte auf ähnliche Weise erhalten werden.

Die Messung der Reflexe erfolgte bei beiden Enantiomeren bei - 175 °C. Die Strukturen wurden durch direkte Methoden mit dem Programm SHELXS-97<sup>102</sup> gelöst und mit dem Programm SHELXL-97<sup>103</sup> verfeinert. Alle Wasserstoffatome

wurden mit individuellen isotropen Temperaturen ohne geometrische Einschränkungen (*restraints*) verfeinert.

Tab. 8: Kristallographische Daten und Parameter der Strukturbestimmung der Compound B-Enantiomere.

	(-)-Compound B	(+)-Compound B
Summenformel	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> F <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> F <sub>6</sub> O <sub>2</sub>
Molmasse [g/mol]	212.10	212.10
Kristallsystem	orthorhombisch	orthorhombisch
Raumgruppe	P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>	P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>
Gitterkonstanten a [Å]	8.055(1)	8.054(1)
b [Å]	8.498(1)	8.499(1)
c [Å]	11.331(2)	11.327(2)
Zellvolumen V [Å <sup>3</sup> ]	775.6(2)	775.3(2)
Formeleinheiten Z	4	4
T [°C]	- 175	- 175
ρ <sub>calc.</sub> [g/cm <sup>-3</sup> ]	1.82	1.82
Gesamtelektronenzahl F(000)	424	424
Zylindr. Kristall, Durchmesser [mm]	0.20	0.20
Messbereich θ [°]	3.00 - 30.50	3.00 - 30.50
Zahl gemessener Reflexe	16314	16011
Zahl unabhängiger Reflexe	2309	2210
Verfeinerte Parameter	143	142
R <sub>int</sub>	0.0222	0.0237
Gütefaktoren R1, wR2 (I > 2σ(I))	0.0219, 0.0585	0.0270, 0.0657
R1, wR2 (alle Daten)	0.0227, 0.0594	0.0283, 0.0674
GooF S	1.095	1.105
Flack-Parameter	0.11(31)	-0.16(38)
Extinktionskorrektur x	0.044(4)	keine

Anmerkungen: Der Gütefaktor R1 (*residual-* oder *reliability-factor*) für eine Verfeinerung gegen F-Werte gibt Auskunft über die Übereinstimmung der gemessenen Intensitätsdaten  $F_0$  und der aufgrund eines vorliegenden Strukturmodells berechneten  $F_c$ -Werte. WR2 ist der gewichtete R-Wert, ein Gütefaktor für die Verfeinerung gegen  $F^2$ , er ist im Normalfall zwei- bis dreimal so groß wie R1. Ein weiteres Merkmal für die Qualität eines berechneten Strukturmodells ist der Faktor S (*Goodness of fit*), bei richtiger Struktur und korrekter Gewichtung sollte S Werte um 1 annehmen.

Die kompletten Datensätze der Strukturen sind in der kristallographischen Datenbank in Cambridge hinterlegt (CCDC 146748 und CCDC 146749) und können auf Anfrage kostenlos erhalten werden (CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK, Fax: 44-1223-3360033, E-Mail: [deposit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:deposit@ccdc.cam.ac.uk)).

## **4.7 Desfluran-Enantiomere in Blut- und Urinproben**

### **4.7.1 Probengewinnung**

Die Blut- und Urinproben wurden freundlicherweise von der Abteilung für Anästhesie der Chirurgischen Klinik Feuerbach (Bürgerhospital Stuttgart) gesammelt und zur Verfügung gestellt. Die Studie wurde von der lokalen Ethik-Kommission genehmigt. Alle Patienten wurden vor der Blutentnahme über diese Studie aufgeklärt und erteilten ihr schriftliches Einverständnis.

Studienteilnehmer: 14 Patienten, 26-84 Jahre alt, die sich einer Operation unter Desflurannarkose unterzogen.

Ausschlußkriterien: extrem adipöse und extrem exsikierte Patienten, ambulante Behandlung, stationärer Aufenthalt nach der Operation < 3 Tage.



14 Patienten wurde unmittelbar vor der Narkose, bei Extubation und täglich bis drei Tage nach ihrer Operation 3 ml Blut (Monovette mit  $K_2EDTA^k$  als Antikoagulant) entnommen. An den postoperativen Tagen wurde zusätzlich Spontanurin der Patienten gesammelt. Alle Proben wurden sofort bei  $-18\text{ °C}$  eingefroren.

Zum Umfüllen in gasdichte Gläschen wurden die Proben langsam auf  $4\text{ °C}$  aufgetaut. In einem Kühlraum ( $4\text{ °C}$ ) wurde in 2 ml-Gläschen je 1 ml Vollblut bzw. Urin gegeben und mit teflonbeschichteten Butylgummisepten und Aluminiumbördelkappen gasdicht verschlossen. Von den Blutproben wurden 2 Portionen, vom Urin jeweils 4 Portionen abgefüllt und bis zur eigentlichen Analyse wieder bei  $-18\text{ °C}$  aufbewahrt.

#### 4.7.2 Kontrollproben

Die Genauigkeit der Methode zur Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse in Blut und Urin sollte mit Kontroll-Proben, die mit racemischem Desfluran versetzt wurden, überprüft werden.

Zu EDTA-Blut eines Patientenpools (enthielt ursprünglich kein Desfluran) wurden unterschiedliche Mengen an racemischem Desfluran ( $1 - 3\text{ }\mu\text{l}$ ) zugegeben und je 1 ml in gasdichte 2 ml-Gläschen überführt (vgl. Kapitel 4.7.1). Um niedrigere Konzentrationen zu erhalten, wurden die Lösungen mit weiterem Poolblut verdünnt. Die Kontroll-Proben wurden behandelt und analysiert wie die Patientenproben. Die Desflurankonzentrationen lagen im Bereich  $100 - 0.02\text{ nmol/ml}$ .

Die Kontrollen für die Urinproben wurden entsprechend aus mit racemischem Desfluran versetztem Urin eines Freiwilligen hergestellt.

---

<sup>k</sup> Ethylendiamintetraacetat-Dikaliumsalz

### 4.7.3 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse mittels GC/MS

Die Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse von Desfluran in den Blut- bzw. Urinproben erfolgte durch Headspace-GC/MS(SIM). Vor dem Auftauen der Patientenproben wurden alle Gläschen mit neuen gasdichten Deckeln versehen, um eine Verschmutzung der Injektionsspritze mit am Septum hängendem Probenmaterial zu vermeiden.

Die Gläschen wurden 5 min bei 50 °C equilibriert. Die Headspace-Entnahme erfolgte mit einer auf 50 °C geheizten gasdichten 1 ml-Spritze des Multi-Purpose-Samplers, indem zuvor Helium in das Gläschen injiziert wurde, um einen Unterdruck zu vermeiden. Entnommen wurden 50 µl Dampfraum bei den Blutproben entnommen nach der Extubation, bei allen anderen Proben 1000 µl Dampfraum. Der Dampf wurde splitlos auf den auf -150 °C gekühlten Injektor gegeben. Nach 30 s wurde der Injektorblock schnellstmöglich auf 200 °C erhitzt (Heizrate 12 °C/s) und die Probe somit auf die Säule überführt.

Enantioselektive Säule: Lipodex E 20 Gew. % gelöst in PS 255 (50 m × 0.25 mm;  $d_f$  0.5 µm), *retention gap* (1 m × 0.25 µm), 1.2 bar Helium. Chromatographiert wurde isotherm bei 33 °C Ofentemperatur. Die massenspektrometrische Detektion (Transfer line 250 °C, MS-Temperatur 157 °C) erfolgte im SIM-Modus mit den Ionen  $m/z$  51 und  $m/z$  101.

Alle Proben wurden zweimal analysiert und die Mittelwerte aus den beiden Messungen ermittelt, sofern diese < 0.5 % (bez. auf die Enantiomerenverhältnisse) voneinander abwichen, ansonsten wurde eine dritte Messung angeschlossen.

### 4.7.4 Quantitative Bestimmung von Desfluran in Blut- und Urinproben

S-(+)-Desfluran mit einer Enantiomerenreinheit von 95.7 % (*ee* 91 %) wurde durch präparative Gaschromatographie erhalten (Kapitel 4.4.1).

Für die Blutproben wurden 9.0 mg (+)-Desfluran in 100.53 g Konservenplasma<sup>1</sup> bei 4 °C gelöst. Für die Urinproben wurden 6.1 mg (+)-Desfluran in 93.46 g Spontanurin (enthielt ursprüngl. kein Desfluran) gelöst. Jeweils 1 ml der Standard-Stammlösungen wurden weiter in der entsprechenden Matrix verdünnt. Die Standardlösungen wurden anschließend in 2 ml-Gläschen umgefüllt, gasdicht verschlossen und bei - 18 °C aufbewahrt.

1-10 µl der Standardlösungen wurden zu je einer Portion der Patientenproben zugegeben. Die Gläschen wurden vor und nach der Zugabe gewogen:

- Proben nach Extubation (Blut): 10 µl Standard-Stammlösung
- Proben am 1. postoperativen Tag (Blut & Urin): 1 µl Standard-Stammlösung
- Proben am 2. postoperativen Tag (Blut & Urin): 10 µl verd. Standardlösung
- Proben am 3. postoperativen Tag (Blut & Urin): 1 µl verd. Standardlösung

Die mit Standard versetzten Proben wurden wie die ursprünglichen Patientenproben analysiert (Kapitel 4.7.3). Durch Vergleich der Enantiomerenverhältnisse vor und nach der Standardzugabe und mit der genauen Standardmenge ließen sich die Desflurankonzentrationen in den Patientenproben berechnen (Kapitel 2.3.2).

---

<sup>1</sup>Das Blutplasma wurde freundlicherweise von der lokalen Blutbank zur Verfügung gestellt.

## 5 Zusammenfassung

Durch die Einführung der modernen Inhalationsanästhetika Desfluran und Sevofluran werden erstmals rein fluoridierte Ether in der klinischen Praxis verwendet, was zu verkürzten Einleitungs- und Ausleitungsphasen der Narkose, einer intraoperativ besser steuerbaren Anästhesietiefe und auch zu besserer Umweltverträglichkeit nach Entweichen in die Atmosphäre führt. Der genaue Wirkmechanismus der Inhalationsanästhetika ist bis heute nicht vollständig aufgeklärt. Da die meisten der verwendeten Narkosegase bzw. ihre Zersetzungsprodukte chiral sind, sollte die vorliegende Arbeit dazu beitragen, durch Untersuchungen der Enantiomere Hinweise auf stereoselektive Mechanismen im menschlichen Organismus zu erhalten.

Im ersten Teil der Arbeit wurden die Enantiomerenverhältnisse des chiralen Inhalationsanästhetikums Desfluran in Blut und in Urin von 14 Patienten, die sich einer Narkose mit dem Racemat unterzogen, bestimmt. Bis drei Tage nach der Anästhesie wurden Proben gesammelt und sowohl die Enantiomerenverhältnisse, als auch die Absolutmengen an Desfluran in den Körperflüssigkeiten bestimmt.

Die gaschromatographische Trennung der Desfluran-Enantiomere ist mit Lipodex E als chiraalem Selektor (verdünnt in Polysiloxan) möglich. Die Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse in den Humanproben erfolgte mittels Headspace-Gaschromatographie-Massenspektrometrie-Kopplung im *Selected Ion Monitoring*-Modus (Headspace-GC/MS/(SIM)), um neben anderen volatilen Substanzen R- und S-Desfluran selektiv detektieren zu können. Zusätzlich war es möglich, durch Verwendung eines Kaltaufgabesystems die aufgebene Dampfmenge durch Fokussierung im Injektor zu erhöhen und dadurch eine höhere Sensitivität der Methode zu erreichen.

In den Blutproben wurde eine Anreicherung von S-Desfluran ermittelt. In den Urinproben hingegen lagen umgekehrte Enantiomerenverhältnisse vor, das S-

Enantiomer wurde gegenüber dem R-Enantiomer vermindert ausgeschieden. Somit wurde eine unterschiedliche Pharmakokinetik der Desfluran-Enantiomere aufgrund enantioselektiver Verteilung im Organismus festgestellt. Dieses Ergebnis ergänzt und bestätigt die ermittelten Enantiomerenverhältnisse in Blutproben nach Gabe des strukturell verwandten Narkosegases Isofluran,<sup>29</sup> bei denen auch das S-Enantiomer angereichert war.

Der Konzentrationsverlauf von Desfluran in Blut und Urin nach Absetzen der Narkose wurde durch die Methode des *enantiomer labeling* bestimmt. Bei dieser Quantifizierungsmethode mittels Headspace-GC/MS(SIM) wurde S-Desfluran als Standard eingesetzt, da dieses durch präparative gaschromatographische Trennung von racemischem Desfluran in hoher Reinheit isoliert werden konnte. Die Absolutkonzentration von Desfluran in Blut bzw. Urin fällt nach Absetzen der Narkose rasch ab. Direkt nach Extubation wurden in den Blutproben Werte zwischen 11-64 nmol/l gemessen, bei einigen Proben war am dritten Tag nach Absetzen der Narkose die Menge an Desfluran nicht mehr quantifizierbar.

Der zweite Teil dieser Arbeit beschäftigte sich mit der Untersuchung eines chiralen Zersetzungsproduktes des Inhalationsanästhetikums Sevofluran.

Sevofluran zersetzt sich unter basischen Bedingungen zu sog. Compound A und Compound B. Da in einem Narkosekreislaufsystem basische CO<sub>2</sub>-Absorber eingesetzt werden, gelangen die Abbauprodukte auch in den menschlichen Organismus. Compound B (2-(Fluormethoxy)-3-methoxy-1,1,1,3,3-Pentafluorpropan) ist chiral und wurde deshalb in der enantioselektiven GC untersucht. Die Enantiomere von Compound B konnten gaschromatographisch an verschiedenen Cyclodextrinphasen getrennt werden. Mit dem Cyclodextrinderivat Lipodex E als Selektor wurde ein chiraler Trennfaktor  $\alpha$  von 7.7 (40 °C) erreicht, der höchste Trennfaktor, der bislang in der enantioselektiven GC bestimmt werden konnte. Um den Einfluss der Kavitätsgröße der verwendeten Cyclodextrine auf den  $\alpha$ -Wert zu untersuchen, wurden die entsprechend derivatisierten  $\alpha$ - und  $\beta$ -Cyclodextrine

synthetisiert. Der mit Abstand höchste Trennfaktor wurde am  $\gamma$ -Cyclodextrinderivat (Lipodex E) erreicht.

Um die Wechselwirkung dieses Selektors mit dem Analyten Compound B zu quantifizieren, wurden die thermodynamische Daten der Enantiomerentrennung bestimmt. Die Differenz der freien Reaktionsenthalpie  $-\Delta_{R,S}(\Delta G)$  betrug 5.7 kJ/mol (30 °C). Dies ist die höchste Enantiomerendiskriminierung, die je in der enantioselektiven GC bestimmt wurde. Deshalb ist eine computergestützte Berechnung der diastereomeren Assoziate (*Molecular Modelling*), für die der Fehler etwa 1 kcal beträgt, an diesem Selektor-Selektant-System sinnvoll.

Für weitere Untersuchungen der Mechanismen der chiralen Erkennung mit diesem System ist es notwendig, die Absolutkonfigurationen der Enantiomere zu bestimmen. Aus diesem Grund wurden die Enantiomere von Compound B durch präparative GC isoliert. Dabei wurden zwei verschiedene präparative Gaschromatographen eingesetzt. Mit dem Dr. Hupe APG 402 (Prototyp) konnten die Compound B-Enantiomere in hoher optischer Reinheit erhalten werden. Mit dem Gerstel AMPG 60 war es möglich, auch die chemischen Reinheiten noch zu verbessern. Da bei der Synthese von racemischem Compound B mehrere Nebenprodukte entstehen, die destillativ nicht vollständig abgetrennt werden konnten, wurden bei dem zweiten präparativen GC-System vor der Hauptsäule die höhersiedenden Komponenten abgefangen. Dadurch gelangten sie nicht in den Fraktionssammler. Von jedem Enantiomer konnten mehr als 1 g in hoher chemischer und optischer Reinheit isoliert werden.

Die Absolutkonfigurationen der Compound B-Enantiomere wurden durch anomale Röntgenstrukturanalyse bei -175 °C bestimmt. Dazu wurden Einkristalle *in situ* bei niedriger Temperatur gezüchtet. Das levorotatorische Enantiomer (–) hat die R-Konfiguration, das dextrorotatorische Enantiomer (+) hat die S-Konfiguration. Die Elutionsreihenfolge an den verwendeten Cyclodextrinderivaten ist R vor S.

Nun stehen die reinen Compound B-Enantiomere für chiroptische Anwendungen, NMR-Studien und Untersuchungen mit verschiedenen Sensorsystemen zur Verfügung, um einen tieferen Einblick in die Mechanismen der chiralen Erkennung zu erhalten. Außerdem können eventuelle enantioselektive Metabolismen im Organismus durch den Einsatz der reinen Enantiomere aufgeklärt werden.

## 6 Anhang

### 6.1 Thermodynamische Parameter der GC-Enantiomerentrennung von Compound B an Lipodex E

Tab. 9: Retentionszeiten von CH<sub>4</sub>, Compound B, Referenzstandards Pentan, Hexan, Heptan und Octan auf der Referenzsäule (30 m × 0.25 mm I.D.) PS 255, d<sub>f</sub> 0.5 μm; Trägergas 0.65 bar H<sub>2</sub>.

	T [°C]	CH4	C5	C6	C7	C8	Comp B
80°C	80.0	1.205	1.395	1.610	2.055	2.960	1.715
	80.0	1.210	1.400	1.615	2.055	2.965	1.715
	80.0	1.205	1.395	1.610	2.050	2.960	1.710
MW	80.0	1.207	1.397	1.612	2.053	2.962	1.713
t' (t-t <sub>M</sub> )			0.190	0.405	0.847	1.755	0.507
75°C	75.0	1.192	1.402	1.647	2.167	3.250	1.777
	75.0	1.193	1.402	1.648	2.167	3.252	1.778
	75.0	1.193	1.402	1.648	2.167	3.252	1.778
MW	75.0	1.193	1.402	1.648	2.167	3.251	1.778
t' (t-t <sub>M</sub> )			0.209	0.455	0.974	2.059	0.585
	70.0	1.173	1.403	1.685	2.290	3.585	1.847
	70.0	1.172	1.402	1.683	2.288	3.583	1.845
	70.0	1.173	1.403	1.685	2.290	3.583	1.847
MW		1.173	1.403	1.684	2.289	3.584	1.846
t' (t-t <sub>M</sub> )			0.230	0.512	1.117	2.411	0.674
65°C	65.1	1.162	1.417	1.743	2.597	4.027	1.948
	65.1	1.162	1.415	1.742	2.595	4.025	1.948
	65.1	1.162	1.418	1.743	2.598	4.028	1.952
MW	65.1	1.162	1.417	1.743	2.597	4.027	1.949
t' (t-t <sub>M</sub> )			0.255	0.581	1.435	2.865	0.787
60°C	60.1	1.150	1.435	1.813	2.668	4.575	2.075
	60.1	1.150	1.435	1.815	2.667	4.573	2.075
	60.1	1.153	1.438	1.817	2.670	4.577	2.078
MW	60.1	1.151	1.436	1.815	2.668	4.575	2.076
t' (t-t <sub>M</sub> )			0.285	0.664	1.517	3.424	0.925
55°C	55.2	1.142	1.460	1.902	2.920	5.253	2.232
	55.2	1.138	1.457	1.898	2.918	5.252	2.228
	55.2	1.142	1.460	1.902	2.922	5.255	2.233
MW	55.2	1.141	1.459	1.901	2.920	5.253	2.231
t' (t-t <sub>M</sub> )			0.318	0.760	1.779	4.113	1.090
50°C	50.5	1.183	1.562	2.105	3.390	6.410	2.547
	50.5	1.182	1.560	2.103	3.387	6.398	2.545
	50.5	1.185	1.563	2.107	3.392	6.410	2.548
MW	50.5	1.183	1.562	2.105	3.390	6.406	2.547
t' (t-t <sub>M</sub> )			0.378	0.922	2.206	5.223	1.363



	T[°C]	CH4	C5	C6	C7	C8	Comp B
45°C	44.9	1.165	1.603	2.265	3.880	7.800	2.860
	44.9	1.163	1.602	2.263	3.878	7.783	2.857
	44.9	1.167	1.603	2.265	3.878	7.785	2.857
MW	44.9	1.165	1.603	2.264	3.879	7.789	2.858
t' (t-t <sub>M</sub> )			0.438	1.099	2.714	6.624	1.693
40°C	39.8	1.138	1.632	2.415	4.378	9.265	3.178
	39.8	1.138	1.632	2.415	4.377	9.265	3.178
	39.8	1.138	1.632	2.415	4.375	9.255	3.177
MW	39.8	1.138	1.632	2.415	4.377	9.262	3.178
t' (t-t <sub>M</sub> )			0.494	1.277	3.239	8.124	2.040
35°C	35.0	1.127	1.692	2.627	5.040	11.218	3.618
	34.9	1.125	1.688	2.623	5.032	11.207	3.613
	35.0	1.120	1.682	2.613	5.013	11.165	3.600
MW	35.0	1.124	1.687	2.621	5.028	11.197	3.610
t' (t-t <sub>M</sub> )			0.563	1.497	3.904	10.073	2.486
30°C	29.9	1.097	1.742	2.858	5.830	13.680	4.147
	29.9	1.095	1.740	2.858	5.832	13.677	4.147
	29.9	1.087	1.732	2.848	5.818	13.663	4.135
MW	29.9	1.093	1.738	2.855	5.827	13.673	4.143
t' (t-t <sub>M</sub> )			0.645	1.762	4.734	12.580	3.050

Tab. 10: Gemessene r<sup>0</sup>-Werte von Compound B auf der Referenzsäule.

T [°C]	10 <sup>3</sup> /T [K <sup>-1</sup> ]	r <sup>0</sup> (C5)	r <sup>0</sup> (C6)	r <sup>0</sup> (C7)	r <sup>0</sup> (C8)	ln r <sup>0</sup> (C5)	ln r <sup>0</sup> (C6)	ln r <sup>0</sup> (C7)	ln r <sup>0</sup> (C8)
29.9	3.300	4.729	1.731	0.644	0.242	1.554	0.549	-0.440	-1.417
35.0	3.245	4.414	1.661	0.637	0.247	1.485	0.507	-0.451	-1.399
39.8	3.195	4.129	1.597	0.630	0.251	1.418	0.468	-0.462	-1.382
44.9	3.144	3.868	1.540	0.624	0.256	1.353	0.432	-0.472	-1.364
50.5	3.090	3.604	1.479	0.618	0.261	1.282	0.392	-0.481	-1.343
55.2	3.046	3.425	1.435	0.613	0.265	1.231	0.361	-0.490	-1.328
60.1	3.001	3.246	1.393	0.610	0.270	1.177	0.332	-0.495	-1.309
65.1	2.956	3.092	1.356	0.549	0.275	1.129	0.304	-0.600	-1.292
70.0	2.914	2.929	1.317	0.603	0.279	1.075	0.275	-0.505	-1.275
75.0	2.872	2.795	1.286	0.600	0.284	1.028	0.251	-0.510	-1.258
80.0	2.832	2.667	1.251	0.598	0.289	0.981	0.224	-0.513	-1.242

Tab. 11: Thermodynamische Daten auf der Reaktorsäule (10 m × 0.25 mm I.D.) 5 % Lipodex E in PS 255,  $d_f$  0.5  $\mu$ m; Trägergas 0.25 bar  $H_2$ .

T [°C]	$r^0$ C5	$r_S$ C5	$r_R$ C5	$R'_S$ C5	$R'_R$ C5	$R'_R/R'_S$	$\ln R'_R/R'_S$
30.0	4.690	11.163	66.213	1.380	13.119	9.504	2.252
35.0	4.393	8.947	42.995	1.037	8.788	8.477	2.137
39.9	4.128	7.697	33.555	0.864	7.128	8.245	2.110
44.6	3.897	6.539	21.939	0.678	4.630	6.828	1.921
50.5	3.633	5.671	15.615	0.561	3.298	5.879	1.771
55.2	3.442	5.093	11.951	0.480	2.472	5.154	1.640
60.3	3.251	4.402	8.848	0.354	1.722	4.862	1.581
65.3	3.080	4.010	7.094	0.302	1.303	4.315	1.462
70.2	2.925	3.662	5.797	0.252	0.982	3.899	1.361
75.1	2.782	3.442	4.952	0.237	0.780	3.291	1.191
80.0	2.650	3.237	4.324	0.221	0.632	2.853	1.048

T [°C]	$r^0$ C6	$r_S$ C6	$r_R$ C6	$R'_S$ C6	$R'_R$ C6	$R'_R/R'_S$	$\ln R'_R/R'_S$
30.0	1.718	4.032	23.912	1.347	12.918	9.593	2.261
35.0	1.656	3.350	16.097	1.023	8.722	8.526	2.143
39.9	1.599	2.937	12.805	0.837	7.010	8.371	2.125
44.6	1.547	2.584	8.670	0.670	4.603	6.870	1.927
50.5	1.487	2.267	6.243	0.524	3.198	6.097	1.808
55.2	1.442	2.072	4.862	0.436	2.371	5.432	1.692
60.3	1.397	1.886	3.790	0.350	1.714	4.893	1.588
65.3	1.355	1.757	3.108	0.297	1.294	4.361	1.473
70.2	1.316	1.645	2.605	0.250	0.980	3.912	1.364
75.1	1.279	1.559	2.243	0.219	0.754	3.446	1.237
80.0	1.244	1.489	1.989	0.196	0.598	3.045	1.113

T [°C]	$r^0$ C7	$r_S$ C7	$r_R$ C7	$R'_S$ C7	$R'_R$ C7	$R'_R/R'_S$	$\ln R'_R/R'_S$
30.0	0.641	1.489	8.833	1.323	12.775	9.660	2.268
35.0	0.634	1.276	6.132	1.011	8.665	8.570	2.148
39.9	0.628	1.150	5.012	0.830	6.979	8.406	2.129
44.6	0.622	1.039	3.488	0.670	4.605	6.868	1.927
50.5	0.615	0.935	2.575	0.520	3.186	6.125	1.812
55.2	0.610	0.871	2.043	0.428	2.350	5.496	1.704
60.3	0.604	0.821	1.651	0.359	1.732	4.819	1.573
65.3	0.599	0.782	1.383	0.306	1.310	4.287	1.455
70.2	0.594	0.749	1.186	0.261	0.997	3.815	1.339
75.1	0.589						
80.0	0.585						

T [°C]	$r^0$ C8	$r_s$ C8	$r_R$ C8	$R'_s$ C8	$R'_R$ C8	$R'_R/R'_s$	$\ln R'_R/R'_s$
30.0	0.242	0.557	3.304	1.305	12.672	9.710	2.273
35.0	0.247	0.491	2.362	0.993	8.577	8.639	2.156
39.9	0.251	0.455	1.985	0.811	6.897	8.500	2.140
44.6	0.256	0.423	1.421	0.655	4.552	6.952	1.939
50.5	0.261	0.391	1.077	0.497	3.121	6.285	1.838
55.2	0.266	0.373	0.875	0.403	2.292	5.690	1.739
60.3	0.271	0.362	0.728	0.338	1.690	4.996	1.609
65.3	0.275	0.352	0.622	0.279	1.263	4.525	1.510
70.2	0.279	0.345	0.546	0.235	0.955	4.065	1.402
75.1	0.284	0.341	0.491	0.203	0.731	3.599	1.281
80.0	0.288	0.337	0.450	0.168	0.560	3.334	1.204

Tab. 12: Thermodynamische Daten auf der Reaktorsäule (10 m × 0.25 mm I.D.) 10 % Lipodex E in PS 255,  $d_f$  0.5  $\mu$ m; Trägergas 0.25 bar H<sub>2</sub>.

T [°C]	$r^0$ C5	$r_s$ C5	$r_R$ C5	$R'_s$ C5	$R'_R$ C5	$R'_R/R'_s$	$\ln R'_R/R'_s$
30.0	4.690	16.691	120.409	2.559	24.675	9.642	2.266
35.0	4.393	13.730	85.657	2.126	18.500	8.703	2.164
39.9	4.128	10.964	59.612	1.656	13.440	8.117	2.094
44.6	3.897	8.973	39.607	1.303	9.164	7.035	1.951
50.5	3.633	7.313	26.355	1.013	6.255	6.174	1.820
55.2	3.442	6.266	19.144	0.821	4.562	5.559	1.715
60.1	3.258	5.531	14.358	0.697	3.407	4.884	1.586
65.1	3.086	4.853	10.839	0.572	2.512	4.388	1.479
70.0	2.931	4.274	8.328	0.458	1.841	4.020	1.391
75.0	2.785	3.949	6.865	0.418	1.465	3.504	1.254
80.0	2.650	3.545	5.539	0.338	1.090	3.227	1.171

T [°C]	$r^0$ C6	$r_s$ C6	$r_R$ C6	$R'_s$ C6	$R'_R$ C6	$R'_R/R'_s$	$\ln R'_R/R'_s$
30.0	1.718	6.071	43.800	2.534	24.494	9.666	2.269
35.0	1.656	5.147	32.113	2.109	18.396	8.723	2.166
39.9	1.599	4.233	23.013	1.648	13.396	8.130	2.096
44.6	1.547	3.573	15.774	1.309	9.194	7.021	1.949
50.5	1.487	2.965	10.685	0.994	6.185	6.224	1.828
55.2	1.442	2.623	8.015	0.819	4.557	5.565	1.717
60.1	1.399	2.333	6.057	0.668	3.331	4.984	1.606
65.1	1.356	2.129	4.755	0.570	2.505	4.399	1.481
70.0	1.317	1.926	3.753	0.462	1.849	4.002	1.387
75.0	1.280	1.798	3.125	0.405	1.442	3.562	1.270
80.0	1.244	1.662	2.597	0.336	1.087	3.238	1.175

T [°C]	$r^0$ C7	$r_S$ C7	$r_R$ C7	$R'_S$ C7	$R'_R$ C7	$R'_R/R'_S$	$\ln R'_R/R'_S$
30.0	0.641	2.252	16.248	2.512	24.338	9.688	2.271
35.0	0.634	1.966	12.262	2.098	18.327	8.736	2.167
39.9	0.628	1.663	9.042	1.648	13.395	8.130	2.096
44.6	0.622	1.444	6.375	1.321	9.244	6.999	1.946
50.5	0.615	1.235	4.452	1.008	6.236	6.187	1.823
55.2	0.610	1.118	3.416	0.833	4.601	5.521	1.709
60.1	0.605						
65.1	0.599						
70.0	0.594	0.882	1.719	0.484	1.892	3.908	1.363
75.0	0.589	0.836	1.453	0.418	1.466	3.503	1.254
80.0	0.585	0.791	1.235	0.352	1.113	3.159	1.150

T [°C]	$r^0$ C8	$r_S$ C8	$r_R$ C8	$R'_S$ C8	$R'_R$ C8	$R'_R/R'_S$	$\ln R'_R/R'_S$
30.0	0.242	0.843	6.084	2.490	24.176	9.710	2.273
35.0	0.247	0.759	4.733	2.077	18.196	8.761	2.170
39.9	0.251	0.660	3.586	1.624	13.269	8.169	2.100
44.6	0.256	0.589	2.598	1.300	9.154	7.040	1.952
50.5	0.261	0.520	1.876	0.991	6.174	6.232	1.830
55.2	0.266	0.481	1.471	0.811	4.532	5.590	1.721
60.1	0.270	0.447	1.159	0.652	3.288	5.045	1.618
65.1	0.275	0.423	0.944	0.538	2.436	4.525	1.510
70.0	0.279	0.406	0.792	0.455	1.835	4.034	1.395
75.0	0.284	0.392	0.682	0.383	1.403	3.667	1.299
80.0	0.288	0.382	0.597	0.327	1.074	3.281	1.188

## 6.2 Daten der Röntgenstrukturanalyse von R-(-)- und S-(+)-Compound B

Tab. 13: Atomkoordinaten und isotrope Temperaturparameter ( $\text{\AA}^2 \cdot 10^4$ ) für R-(-)-Compound B.

Atom	x	y	z	U(eq)
F1	0.00487(7)	0.28641(8)	0.53702(4)	270.0(13)
F2	0.22995(6)	0.21125(9)	0.62068(5)	295.8(13)
F3	0.04445(8)	0.04157(7)	0.57442(5)	279.1(13)
F4	-0.24642(7)	0.23585(8)	0.85233(5)	288.5(14)
F5	-0.26954(6)	0.30585(7)	0.67066(5)	242.3(12)
F6	0.29021(7)	0.20297(8)	0.89076(5)	281.3(13)
O1	-0.24629(7)	0.05036(7)	0.71301(5)	189.7(12)
O2	0.05883(7)	0.09552(7)	0.81227(5)	174.2(11)
C1	0.06674(9)	0.18655(10)	0.61560(7)	165.1(14)
C2	-0.00858(8)	0.21149(9)	0.73747(6)	135.7(12)
C3	-0.19791(9)	0.19544(10)	0.74135(6)	156.3(14)
C4	-0.42132(10)	0.01795(12)	0.73117(9)	252.6(18)
C5	0.13208(10)	0.15051(10)	0.91512(7)	183.6(15)
H2	242(16)	3187(16)	7611(10)	16(3)
H4	-4400(2)	-790(2)	6995(15)	36(4)
H4A	-4410(2)	110(2)	8112(17)	38(4)
H4B	-4860(2)	960(2)	6936(15)	43(4)
H5	720(15)	2296(15)	9470(11)	17(3)
H5A	1430(2)	605(19)	9683(13)	32(4)

Tab. 14: Anisotrope Temperaturparameter ( $\text{\AA}^2 \cdot 10^4$ ) für R-(-)-Compound B.

Atom	U11	U22	U33	U23	U13	U12
F1	313(3)	337(3)	160(2)	61(2)	13.2(19)	117(2)
F2	130(2)	496(4)	261(2)	1(2)	39.4(18)	-6(2)
F3	364(3)	234(3)	239(2)	-93(2)	97(2)	6(2)
F4	237(2)	411(3)	218(2)	-131(2)	90.2(19)	-16(2)
F5	157.7(19)	206(2)	363(3)	50(2)	-33.9(18)	42.0(19)
F6	201(2)	375(3)	268(2)	47(2)	-49.2(18)	-77(2)
O1	129(2)	167(3)	273(3)	-34(2)	19.7(19)	-12(2)
O2	220(2)	145(3)	158(2)	9.4(19)-	58(2)	12(2)
C1	143(3)	193(3)	159(3)	2(2)	10(2)	26(2)
C2	133(3)	145(3)	129(3)	-1(2)	-6(2)	20(2)
C3	142(3)	165(3)	161(3)	-29(2)	19(2)	20(2)
C4	131(3)	250(5)	377(5)	-11(3)	26(3)	-28(3)
C5	181(3)	219(4)	151(3)	3(2)	-30(3)	-11(3)

Tab. 15: Bindungslängen [ $\text{\AA}$ ] und Torsionswinkel [ $^\circ$ ] in R-(-)-Compound B.

Atome	Abstand [ $\text{\AA}$ ]	Atome	Winkel [ $^\circ$ ]
F1-C1	1.3272(9)	C5-O2-C2-C1	126.43(7)
F2-C1	1.3326(9)	C5-O2-C2-C3	-110.27(7)
F3-C1	1.3296(10)	F1-C1-C2-O2	177.16(6)
F4-C3	1.3609(8)	F3-C1-C2-O2	55.24(8)
F5-C3	1.3619(9)	F2-C1-C2-O2	-64.10(8)
F6-C5	1.3775(9)	F1-C1-C2-C3	57.98(10)
O1-C3	1.3323(10)	F3-C1-C2-C3	-63.95(9)
O1-C4	1.4511(10)	F2-C1-C2-C3	176.72(7)
O2-C5	1.3874(9)	C4-O1-C3-F4	51.70(9)
O2-C2	1.4087(9)	C4-O1-C3-F5	-64.94(9)
C1-C2	1.5232(10)	C4-O1-C3-C2	171.29(7)
C2-C3	1.5318(10)	O2-C2-C3-O1	-55.56(8)
C2-H2	0.985(13)	C1-C2-C3-O1	63.30(9)
C4-H4	0.914(17)	O2-C2-C3-F4	66.95(8)
C4-H4A	0.922(19)	C1-C2-C3-F4	-174.19(7)
C4-H4B	0.941(18)	O2-C2-C3-F5	179.70(6)
C5-H5	0.904(13)	C1-C2-C3-F5	-61.44(9)
C5-H5A	0.977(16)	C2-O2-C5-F6	-80.83(8)

Tab. 16: Bindungswinkel [ $^\circ$ ] in R-(-)-Compound B.

Atome	Winkel [ $^\circ$ ]	Atome	Winkel [ $^\circ$ ]
C3-O1-C4	115.19(6)	F4-C3-F5	104.36(6)
C5-O2-C2	115.70(6)	O1-C3-C2	111.52(6)
F1-C1-F3	107.84(7)	F4-C3-C2	106.85(6)
F1-C1-F2	107.38(7)	F5-C3-C2	110.09(6)
F3-C1-F2	107.12(7)	O1-C4-H4	106.1(10)
F1-C1-C2	111.70(6)	O1-C4-H4A	108.5(10)
F3-C1-C2	113.16(7)	H4-C4-H4A	107.3(15)
F2-C1-C2	109.38(6)	O1-C4-H4B	109.7(11)
O2-C2-C1	107.13(6)	H4-C4-H4B	111.4(15)
O2-C2-C3	107.71(6)	H4A-C4-H4B	113.5(15)
C1-C2-C3	114.22(6)	F6-C5-O2	109.51(6)
O2-C2-H2	112.3(7)	F6-C5-H5	109.6(8)
C1-C2-H2	105.6(7)	O2-C5-H5	111.0(8)
C3-C2-H2	109.9(8)	F6-C5-H5A	107.2(9)
O1-C3-F4	111.85(7)	O2-C5-H5A	107.0(9)
O1-C3-F5	111.83(6)	H5-C5-H5A	112.5(12)

Tab. 17: Atomkoordinaten und isotrope Temperaturparameter ( $\text{\AA}^2 10^4$ ) für S-(+)-Compound B.

Atom	x	y	z	U(eq)
F1	-0.00495(9)	-0.28660(10)	-0.53701(5)	269.8(16)
F2	-0.22998(7)	-0.21133(11)	-0.62054(6)	295.3(16)
F3	-0.04434(9)	-0.04157(10)	-0.57440(6)	280.5(15)
F4	0.24640(8)	-0.23579(10)	-0.85228(6)	291.9(17)
F5	0.26960(7)	-0.30567(9)	-0.67064(6)	244.0(14)
F6	-0.29010(8)	-0.20299(11)	-0.89081(6)	282.0(16)
O1	0.24628(8)	-0.05048(9)	-0.71303(6)	191.7(14)
O2	-0.05879(9)	-0.09560(9)	-0.81233(6)	172.2(14)
C1	-0.06680(11)	-0.18645(12)	-0.61559(8)	164.6(16)
C2	0.00859(10)	-0.21154(12)	-0.73748(7)	132.4(15)
C3	0.19796(10)	-0.19516(13)	-0.74129(7)	157.3(17)
C4	0.42125(12)	-0.01767(15)	-0.73135(11)	252(2)
C5	-0.13202(12)	-0.15042(13)	-0.91513(8)	183.2(18)
H2	-220(2)	-3150(2)	-7610(13)	18(3)
H4	4390(2)	770(2)	-6997(16)	32(4)
H4A	4440(2)	-200(2)	-8113(18)	31(4)
H4B	4870(3)	-970(3)	-7025(18)	41(5)
H5	-714(19)	-2340(2)	-9491(13)	17(3)
H5A	-1410(2)	-600(2)	-9663(15)	28(4)

Tab. 18: Anisotrope Temperaturparameter ( $\text{\AA}^2 10^4$ ) für S-(+)-Compound B.

Atom	U11	U22	U33	U23	U13	U12
F1	316(3)	336(4)	158(2)	60(2)	15(2)	118(3)
F2	127(2)	497(5)	262(3)	-2(3)	42(2)	-7(3)
F3	362(3)	240(4)	240(3)	-92(2)	95(3)	5(3)
F4	234(3)	419(4)	222(3)	-133(3)	93(2)	-16(3)
F5	157(2)	209(3)	366(3)	51(3)	-33(2)	41(2)
F6	199(3)	376(4)	271(3)	45(3)	-50(2)	-77(3)
O1	125(3)	177(4)	273(3)	-33(2)	20(2)	-10(2)
O2	221(3)	135(3)	160(3)	7(2)	-60(2)	13(2)
C1	142(3)	194(5)	158(3)	1(3)	14(3)	27(3)
C2	133(3)	137(4)	128(3)	-1(3)	-6(2)	18(3)
C3	139(3)	173(5)	159(3)	-24(3)	19(3)	26(3)
C4	127(4)	250(6)	380(6)	-13(4)	28(4)	-28(3)
C5	179(4)	218(5)	153(4)	3(3)	-28(3)	-11(3)

Tab. 19: Bindungslängen [ $\text{\AA}$ ] und Torsionswinkel [ $^\circ$ ] in S-(+)-Compound B.

Atome	Abstand [ $\text{\AA}$ ]	Atome	Winkel [ $^\circ$ ]
F1-C1	1.3284(11)	C5-O2-C2-C1	-126.43(8)
F2-C1	1.3322(10)	F1-C1-C2-O2	-177.25(8)
F3-C1	1.3292(13)	F3-C1-C2-O2	-55.31(10)
F4-C3	1.3608(10)	F2-C1-C2-O2	64.21(10)
F5-C3	1.3621(11)	F1-C1-C2-C3	-58.20(12)
F6-C5	1.3771(11)	F3-C1-C2-C3	63.74(11)
O1-C3	1.3288(13)	F2-C1-C2-C3	-176.74(9)
O1-C4	1.4514(11)	C4-O1-C3-F4	-51.56(11)
O2-C5	1.3859(11)	C4-O1-C3-F5	65.03(10)
O2-C2	1.4086(11)	C4-O1-C3-C2	-171.17(8)
C1-C2	1.5233(12)	O2-C2-C3-O1	55.53(9)
C2-C3	1.5321(12)	C1-C2-C3-O1	-63.21(11)
C2-H2	0.951(18)	O2-C2-C3-F4	-67.08(10)
C4-H4	0.90(2)	C1-C2-C3-F4	174.18(8)
C4-H4A	0.92(2)	O2-C2-C3-F5	-179.63(7)
C4-H4B	0.92(2)	C1-C2-C3-F5	61.62(11)
C5-H5	0.943(16)	C2-O2-C5-F6	80.75(10)
C5-H5A	0.964(19)	C5-O2-C2-C3	110.38(9)

Tab. 20: Bindungswinkel [ $^\circ$ ] in S-(+)-Compound B.

Atome	Winkel [ $^\circ$ ]	Atome	Winkel [ $^\circ$ ]
C3-O1-C4	115.32(8)	F4-C3-F5	104.26(8)
C5-O2-C2	115.75(8)	O1-C3-C2	111.64(8)
F1-C1-F3	107.90(8)	F4-C3-C2	106.76(7)
F1-C1-F2	107.24(8)	F5-C3-C2	110.03(8)
F3-C1-F2	107.22(8)	O1-C4-H4	105.9(12)
F1-C1-C2	111.60(8)	O1-C4-H4A	109.1(11)
F3-C1-C2	113.18(8)	H4-C4-H4A	112.3(17)
F2-C1-C2	109.44(7)	O1-C4-H4B	111.6(14)
O2-C2-C1	107.10(7)	H4-C4-H4B	115.1(19)
O2-C2-C3	107.64(7)	H4A-C4-H4B	102.8(18)
C1-C2-C3	114.18(7)	F6-C5-O2	109.54(8)
O2-C2-H2	112.3(9)	F6-C5-H5	108.4(10)
C1-C2-H2	106.3(9)	O2-C5-H5	112.1(9)
C3-C2-H2	109.4(10)	F6-C5-H5A	107.8(11)
O1-C3-F4	111.92(8)	O2-C5-H5A	105.7(11)
O1-C3-F5	111.87(8)	H5-C5-H5A	113.2(14)



## 7 Literaturverzeichnis

---

- <sup>1</sup> L. Brandt (Hrsg): Illustrierte Geschichte der Anästhesie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart (1997).
- <sup>2</sup> G. Keil: Spongia somnifera. Mittelalterliche Meilensteine auf dem Weg zur Voll- und Lokalnarkose. *Anaesthesist* **38** (1989), 643-648.
- <sup>3</sup> D.C. Ray, G.B. Drummond: Halothane hepatitis. *Br. J. Anaesth.* **67** (1991), 84-99.
- <sup>4</sup> J.G. Kenna, F.N.A.M. van Pelt: The metabolism and toxicity of inhaled anaesthetic agents. *Anaesth. Pharmacol. Rev.* **2** (1994), 29-42.
- <sup>5</sup> H. Lüllmann, K. Mohr, A. Ziegler (Hrsg.): Taschenatlas der Pharmakologie. Thieme Verlag Stuttgart (1990), 200-203.
- <sup>6</sup> P. Klepstad, A. Maurset, E.R. Moberg, I. Oye: Evidence of a role for NMDA receptors in pain perception. *Eur. J. Pharmacol.* **187** (1990), 513-518.
- <sup>7</sup> S. Ryder, W.L. Way, A.J. Trevor: Comparative pharmacology of the optical isomers of ketamine in mice. *Eur. J. Pharmacol.* **49** (1978), 15-23.
- <sup>8</sup> J. Schüttler: S-(+)-Ketamin. *Anaesthesist* **41** (1992), 585-587.
- <sup>9</sup> N.P. Franks, W.R. Lieb: Molecular and cellular mechanisms of general anaesthesia. *Nature* **367** (1994), 607-614.
- <sup>10</sup> B. Rehberg, Y.-H. Xiao, D.S. Duch: Central nervous system sodium channels are significantly suppressed at clinical concentrations of volatile anesthetics. *Anesthesiology* **84** (1996), 223-233.
- <sup>11</sup> N. P. Franks, W.R. Lieb: Stereospecific effects of inhalational general anesthetic optical isomers on nerve ion channels. *Science* **254** (1991), 427-430.
- <sup>12</sup> K.W. Miller: The nature of the site of general anesthesia. *Int. Rev. Neurobiol.* **27** (1985), 1-61.
- <sup>13</sup> E.J. Moody, B.D. Harris, P. Skolnick: The potential for safer anaesthesia using stereoselective anaesthetics. *Trends Pharmacol. Sci.* **15** (1994), 387-391.
- <sup>14</sup> V. Nigrovic, C. Diefenbach, H. Mellinshoff: Ester und Stereoisomere. *Anaesthesist* **46** (1997), 282-286.
- <sup>15</sup> B.M. Graf, E. Martin: Stereoisomere in der Anästhesie, theoretische Grundlagen und klinische Bedeutung. *Anaesthesist* **47** (1998), 172-183.
- <sup>16</sup> J.F. Vitcha: A history of forane. *Anesthesiology* **35** (1971), 4-7.
- <sup>17</sup> E.I. Eger II: Suprane<sup>®</sup> (Desfluran), ein Kompendium und Nachschlagewerk. Pharmacia & Upjohn (1994).

- <sup>18</sup> S.S. Patel, K.L. Goa: Desflurane, a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and its efficacy in general anaesthesia. *Drugs* **50** (1995), 742-767.
- <sup>19</sup> J. Baum, M. Berghoff, H.G. Stanke, M. Petermeyer, G. Kalff: Niedrigflußnarkosen mit Desfluran. *Anaesthesist* **46** (1997), 287-293.
- <sup>20</sup> E.I. Eger II: Stability of I-653 in soda lime. *Anesth. Analg.* **66** (1987), 983-985.
- <sup>21</sup> Z.X. Fang, E.I. Eger II, M.J. Laster: Carbon monoxide production from degradation of desflurane, enflurane, isoflurane, halothane, and sevoflurane by soda lime and baralyme. *Anesth. Analg.* **80** (1995), 1187-1193.
- <sup>22</sup> B. Harris, E. Moody, P. Skolnick: Isoflurane anesthesia is stereoselective. *Europ. J. Pharmacol.* **217** (1992), 215-216.
- <sup>23</sup> G.S. Lysko, J.L. Robinson, R. Casto, R.A. Ferrone: The stereospecific effects of isoflurane isomers in vivo. *Europ. J. Pharmacol.* **263** (1994), 25-29.
- <sup>24</sup> A.C. Hall, W.R. Lieb, N.P. Franks: Stereoselective and non-stereoselective actions of isoflurane on the GABA<sub>A</sub> receptor. *Br. J. Pharmacol.* **112** (1994), 906-910.
- <sup>25</sup> P.G. Morgan, M.F. Usiak, M.M. Sedensky: Genetic differences affecting the potency of stereoisomers of isoflurane. *Anesthesiology* **85** (1996), 385-392.
- <sup>26</sup> E.J. Moody, B. Harris, P. Hoehner, P. Skolnick: Inhibition of [<sup>3</sup>H]isradipine binding to L-type calcium channels by the optical isomers of isoflurane. *Anesthesiology* **81** (1994), 124-128.
- <sup>27</sup> B.M. Graf, M. Boban, D.F. Stoe, J.P. Kampine, Z.J. Bosnjak: Lack of stereospecific effects of isoflurane and desflurane isomers in isolated guinea pig hearts. *Anesthesiology* **81** (1994), 129-136.
- <sup>28</sup> E.I. Eger, D.D. Koblin, M.J. Laster, V. Schurig, M. Juza, P. Ionescu, D. Gong: Minimum alveolar anesthetic concentration values for the enantiomers of isoflurane differ minimally. *Anesth. Analg.* **85** (1997), 188-192.
- <sup>29</sup> R. Schmidt, H.G. Wahl, H. Häberle, H.-J. Dieterich, V. Schurig: Headspace gas chromatography-mass spectrometry analysis of isoflurane enantiomers in blood samples after anesthesia with the racemic mixture. *Chirality* **11** (1999), 206-211.
- <sup>30</sup> R.G. Eckenhoff, H. Shuman: Halothane binding to soluble proteins determined by photoaffinity labelling. *Anesthesiology* **79** (1993), 96-106.
- <sup>31</sup> Y. Xu, P. Tang, L. Firestone, T.T. Zhang: <sup>19</sup>F-Nuclear magnetic resonance investigation of stereoselective binding of isoflurane to bovine serum albumin. *Biophys. J.* **70** (1996), 532-538.
- <sup>32</sup> R. Schmidt: R/S-Isofluran. Enantiomeranalytik mittels Headspace-Gaschromatographie in Patientenblutproben. *Diplomarbeit*, Universität Tübingen (1997).

- <sup>33</sup> H.G. Wahl, R. Schmidt, H. Häberle, H. Krause, H. Jakubetz, H.J. Dieterich, V. Schurig: Pharmacokinetics of isoflurane enantiomers after anaesthesia with a non-rebreathing circuit system. *Proc. 20th Int. Symp. Capillary Chromatography*, Riva del Garda, Italien (1998).
- <sup>34</sup> L.A. Rozov, C. Huang, D.F. Halpern, G.G. Vernice: Preparation of purified optical isomers of desflurane. U.S. 5283372 A (1994).
- <sup>35</sup> W.A. König, R. Krebber, P.J. Mischick: Cyclodextrins as chiral stationary phases in capillary gas chromatography part V: octakis(3-*O*-butyryl-2,6,di-*O*-pentyl)- $\gamma$ -cyclodextrin. *J. High Resolut. Chromatogr.* **12** (1989), 732-738.
- <sup>36</sup> V. Schurig, H. Grosenick, M. Juza: Enantiomer separation of chiral inhalation anesthetics (enflurane, isoflurane and desflurane) by gas chromatography on a  $\gamma$ -cyclodextrin derivative. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **114** (1995), 211-219.
- <sup>37</sup> H. Hachenberg, K. Beringer: Die Headspace-Gaschromatographie als Analysen- und Meßmethode. Friedr. Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH Braunschweig (1996).
- <sup>38</sup> H.G. Wahl, A. Hoffmann, D. Luft, H.M. Liebich: Analysis of volatile organic compounds in human urine by headspace gas chromatography-mass spectrometry with a multipurpose sampler. *J. Chromatogr. A* **847** (1999), 117-125.
- <sup>39</sup> V. Schurig, M. Juza, B.S. Green, J. Horakh, A. Simon: Die absoluten Konfigurationen der Inhalationsanästhetika Isofluran und Desfluran. *Angew. Chem.* **108** (1996), 1814-1816.
- <sup>40</sup> M. Mohnke, W. Rödel, D. Rodewald, E. Stottmeister: Gaschromatographische Headspace-Analyse. In: E. Leibnitz, H.G. Struppe (Hrsg.). *Handbuch der Gaschromatographie*. Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.G., Leipzig (1984), 666-677.
- <sup>41</sup> H. Frank, G.J. Nicholson, E. Bayer: Enantiomer labelling, a method for the quantitative analysis of amino acids. *J. Chromatogr.* **167** (1978), 187-196.
- <sup>42</sup> N.E. Blair, W.A. Bonner: Quantitative determination of D # L mixtures of optical enantiomers by gas chromatography. *J. Chromatogr.* **198** (1980), 185-187.
- <sup>43</sup> M. Juza, H. Jakubetz, H. Hettesheimer, V. Schurig: Quantitative determination of isoflurane enantiomers in blood samples during and after surgery via headspace gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* **735** (1999), 93-102.
- <sup>44</sup> V. Schurig, H. Grosenick, B.S. Green: Präparative Enantiomerentrennung des Narkosegases Enfluran durch Einschluß-Gaschromatographie. *Angew. Chem.* **105** (1993), 1690-1691.
- <sup>45</sup> V. Schurig, H. Grosenick: Preparative enantiomer separation of enflurane and isoflurane by inclusion gas chromatography. *J. Chromatogr. A* **666** (1994), 617-625.

- 
- <sup>46</sup> M. Juza, E. Braun, V. Schurig: Preparative enantiomer separation of the inhalation anesthetics enflurane, isoflurane and desflurane by gas chromatography on a derivatized  $\gamma$ -cyclodextrin stationary phase. *J. Chromatogr. A* **769** (1997), 119-127.
- <sup>47</sup> S.C. Jacobson, G. Guiochon: Experimental study of the production rate of pure enantiomers from racemic mixtures. *J. Chromatogr.* **590** (1992), 119-126.
- <sup>48</sup> R.F. Wallin, B.M. Regan, M.D. Napoli, I.J. Stern: Sevoflurane: a new inhalational anesthetic agent. *Anesth. Analg.* **54** (1975), 758-766.
- <sup>49</sup> P. Conzen, J. Hobbhahn: Sevofluran Kompendium. Wissenschaftliche Verlagsabteilung Abbott GmbH, Wiesbaden (1996).
- <sup>50</sup> M. Doi, K. Ikeda: Airway irritation produced by volatile anaesthetics during brief inhalation: comparison of halothane, enflurane, isoflurane and sevoflurane. *Can. J. Anaesth.* **40** (1993), 122-126.
- <sup>51</sup> Y. Naito, S. Tamai, K. Shingu, R. Fujimori, K. Mori: Comparison between sevoflurane and halothane for paediatric ambulatory anaesthesia. *Br. J. Anaesth.* **67** (1991), 387-389.
- <sup>52</sup> W. Funk, J. Moldaschl, Y. Fujita, K. Taeger, J. Hobbhahn: Sevofluran oder Halothan bei inhalativ eingeleiteten Narkosen im Kindesalter. *Anaesthesist* **45** (1996), 22-30.
- <sup>53</sup> D.A. Holaday, F.R. Smith: Clinical Characteristics and biotransformation of sevoflurane in healthy human volunteers. *Anesthesiology* **54** (1981), 100-106.
- <sup>54</sup> T.L. Cook, W.J. Beppu, B.A. Hitt, J.C. Kosek, R.I. Mazze: Renal effects and metabolism of sevoflurane in Fischer 344 rats: an in-vivo and in-vitro comparison with methoxyflurane. *Anesthesiology* **43** (1975), 70-77.
- <sup>55</sup> P.F. Conzen, M. Nuscheler, A. Melotte, M. Verhaegen, T. Leupolt, H. van Aken, K. Peter: Renal function and serum fluoride concentrations in patients with stable renal insufficiency after anesthesia with sevoflurane or enflurane. *Anest. Analg.* **81** (1995), 569-575.
- <sup>56</sup> E.D. Kharasch, D.C. Hankins, K.E. Thummel: Human kidney methoxyflurane and sevoflurane metabolism. Intrarenal fluoride production as a possible mechanism of methoxyflurane nephrotoxicity. *Anesthesiology* **82** (1995), 689-699.
- <sup>57</sup> D.P. Strum, B.H. Johnson, E.I. Eger II: Stability of sevoflurane in soda lime. *Anesthesiology* **67** (1987), 779-781.
- <sup>58</sup> C. Huang, V.S. Venturella, A.L. Cholli, F.M. Venutolo, A.T. Silbermann, G.G. Vernice: Detailed investigation of fluoromethyl-1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propyl ether (sevoflurane) and its degradation products. Part I: synthesis of fluorinated, soda lime induced degradation products. *J. Fluorine Chem.* **45** (1989), 239-253.
- <sup>59</sup> M. Morio, K. Fujii, N. Satoh, M. Imai, U. Kawakami, T. Mizuno, Y. Kawai, Y. Ogasawara, T. Tamura, A. Negishi, Y. Kumagai, T. Kawai: Reaction of sevoflurane and

---

its degradation products with soda lime (toxicity of the byproducts). *Anesthesiology* **77** (1992), 1155-1164.

<sup>60</sup> E.J. Frink, T.P. Malan, S.E. Morgan, E.A. Brown, M. Malcomson, B.R. Brown: Quantification of the degradation products of sevoflurane in two CO<sub>2</sub> absorbants during low-flow anesthesia in surgical patients. *Anesthesiology* **77** (1992), 1064-1069.

<sup>61</sup> H. Bito, K. Ikeda: Closed-circuit anesthesia with sevoflurane in humans (effects on renal and hepatic function and concentrations of breakdown products with soda lime in the circuit). *Anesthesiology* **80** (1994), 71-76.

<sup>62</sup> H. Bito, K. Ikeda: Long-duration, low-flow sevoflurane anesthesia using two carbon dioxide absorbents. *Anesthesiology* **81** (1994), 340-345.

<sup>63</sup> L. Jin, T.A. Baillie, M.R. Davis, E.D. Kharasch: Nephrotoxicity of sevoflurane compound A [Fluoromethyl-2,2-difluoro-1-(trifluoromethyl)vinylether] in rats: evidence for glutathione and cysteine conjugate formation and the role of renal cysteine conjugate  $\beta$ -lyase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **210** (1995), 498-506.

<sup>64</sup> K.A. Keller, C. Callan, P. Prokocimer, L. Delgado-Herrera, M.B. Friedman, G.M. Hoffman, W.L. Wooding, P.K. Cusick, R.W. Krasula: Inhalation toxicity study of a haloalkene degradant of sevoflurane, Compound A (PIFE), in sprague-dawley rats. *Anesthesiology* **83** (1995), 1220-1232.

<sup>65</sup> D.K. Spracklin, E.D. Kharasch: Evidence for metabolism of fluoromethyl-2,2-difluoro-1-(trifluoromethyl)vinylether (compound A), a sevoflurane degradation product, by cystein conjugate  $\beta$ -lyase. *Chem. Res. Toxicol.* **9** (1996), 696-702.

<sup>66</sup> E.D. Kharasch, D. Thorning, K. Garton, D.C. Hankins, C.G. Kilty: Role of renal cysteine conjugate  $\beta$ -lyase in the mechanism of Compound A nephrotoxicity in rats. *Anesthesiology* **86** (1997), 160-171.

<sup>67</sup> C.T. Gonsowski, M.J. Laster, E.I. Eger II, L.D. Ferrell, R.L. Kerschmann: Toxicity of compound A in rats. Effect of a 3-hour administration. *Anesthesiology* **80** (1994), 556-565.

<sup>68</sup> C.T. Gonsowski, M.J. Laster, E.I. Eger II, L.D. Ferrell, R.L. Kerschmann: Toxicity of compound A in rats. Effect of increasing duration of administration. *Anesthesiology* **80** (1994), 566-573.

<sup>69</sup> R.A. Iyer, M.W. Anders: Cysteine conjugate  $\beta$ -lyase-dependent biotransformation of the cysteine S-conjugates of the sevoflurane degradation product compound A in human, nonhuman primate, and rat kidney cytosol and mitochondria. *Anesthesiology* **85** (1996), 1454-1461.

<sup>70</sup> R.A. Iyer, E.J. Frink, T.J. Ebert, M.W. Anders: Cysteine conjugate  $\beta$ -lyase-dependent metabolism of Compound A (2-(fluoromethoxy)-1,1,3,3,3-pentafluoro-1-propene) in

---

human subjects anesthetized with sevoflurane and in rats given Compound A. *Anesthesiology* **88** (1998), 611-618.

<sup>71</sup> J.P.H. Fee, J.M. Murray, S.R. Luney: Molecular sieves: an alternative method of carbon dioxide removal which does not generate compound A during simulated low-flow sevoflurane anaesthesia. *Anaesthesia* **50** (1995), 841-845.

<sup>72</sup> H. Förster, M. Behne, U.H. Warnken, F. Asskali, R. Dudziak: Die Anwendung von Lithiumhydroxid als Kohlendioxidabsorbens verhindert das Entstehen von Compound A während Sevoflurananästhesie. *Anaesthesist* **49** (2000), 106-112.

<sup>73</sup> C.R. Stabernack, R. Brown, M.J. Laster, R. Dudziak, E.I. Eger II: Absorbents differ enormously in their capacity to produce compound A and carbon monoxide. *Anesth. Analg.* **90** (2000), 428-435.

<sup>74</sup> H. Higuchi, Y. Adachi, S. Arimura, M. Kanno, T. Satoh: Compound A concentrations during low-flow sevoflurane anesthesia correlate directly with the concentration of monovalent bases in carbon dioxide absorbents. *Anesth. Analg.* **91** (2000), 434-439.

<sup>75</sup> W. Funk, M. Gruber, W. Jakob, J. Hobbhahn: Compound A does not accumulate during closed circuit sevoflurane anaesthesia with the Physioflex. *Br. J. Anaesth.* **83** (1999), 571-575.

<sup>76</sup> H. Bito, A. Suzuki, Y. Sanjo, T. Katoh, S. Sato: Comparison of compound A concentrations with sevoflurane anaesthesia using a closed system with a PhysioFlex anaesthesia machine vs a low-flow system with a conventional anaesthesia machine. *Br. J. Anaesth.* **84** (2000), 350-353.

<sup>77</sup> V. Schurig: Enantiomer separation by gas chromatography on chiral stationary phases. *J. Chromatogr. A* **666** (1994), 111-129.

<sup>78</sup> W.A. König (Hrsg.): Gas chromatographic enantiomer separation with modified cyclodextrins. Hüthig Verlag Heidelberg (1992).

<sup>79</sup> P. Schreier, A. Bernreuther, M. Huffer (Hrsg.): Analysis of chiral organic molecules. Walter de Gruyter Verlag Berlin, New York (1995), 132-233.

<sup>80</sup> V. Schurig, H.P. Nowotny: Separation of enantiomers on diluted permethylated  $\beta$ -cyclodextrin by high-resolution gas chromatography. *J. Chromatogr.* **441** (1988), 155-163.

<sup>81</sup> K. Takeo, H. Mitoh, K. Uemura: Selective chemical modification of cyclomalto-oligosaccharides via tert.-butyldimethylsilylation. *Carbohydr. Res.* **187** (1989), 203-221.

<sup>82</sup> A. Dietrich, B. Maas, V. Karl, P. Kreis, D. Lehmann, B. Weber, A. Mosandl: Stereoisomeric flavor compounds part LV: stereodifferentiation of some chiral volatiles on heptakis(2,3-di-O-acetyl-6-O-tert-butyl dimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin. *J. High Resolut. Chromatogr.* **15** (1992), 176-179.

- <sup>83</sup> R. Schmidt, M. Roeder, O. Oeckler, A. Simon, V. Schurig: Separation and absolute configuration of the enantiomers of a degradation product of the new inhalation anesthetic sevoflurane. *Chirality* **12** (2000), 751-755.
- <sup>84</sup> B. Maas, A. Dietrich, A. Mosandl: Comparison of different 6-tert-butyl-dimethyl-silylated cyclodextrins as chiral stationary phases in GC. *J. Microcol. Sep.* **8** (1996), 47-56.
- <sup>85</sup> T. Beck, J.M. Liepe, J. Nandzik, S. Rohn, A. Mosandl: Comparison of different di-tert-butyl-dimethyl-silylated cyclodextrins as chiral stationary phases in capillary gas chromatography. *J. High Resolut. Chromatogr.* **23** (2000), 569-575.
- <sup>86</sup> A. Mele, G. Raffaini, M. Juza, V. Schurig: NMR and molecular dynamics study on octakis(3-*O*-butanoyl-2,6,di-*O*-*n*-pentyl)- $\gamma$ -cyclodextrin (Lipodex E): conformational properties and its mode of interaction with the inhalation anaesthetic enflurane. In Vorbereitung.
- <sup>87</sup> V. Schurig, R.C. Chang, A. Zlatkis, B. Feibush: Thermodynamics of molecular association by gas-liquid chromatography.  $\sigma$ -Donor molecules and dimeric 3-trifluoroacetylcamphorates of Mn(II), Co(II) and Ni(II). *J. Chromatogr.* **99** (1974), 147-171.
- <sup>88</sup> M. Jung, D. Schmalzing, V. Schurig: Theoretical approach to the gas chromatographic separation of enantiomers on dissolved cyclodextrin derivatives. *J. Chromatogr.* **552** (1991), 43-57.
- <sup>89</sup> H. Grosenick: Synthese und Anwendung von Chirasil- $\gamma$ -Dex – Enantiomerendiskriminierung chiraler Inhalationsanästhetika in GC und NMR. *Dissertation*, Universität Tübingen (1995).
- <sup>90</sup> V. Schurig, H.P. Nowotny: Gaschromatographische Enantiomerentrennung an Cyclodextrinderivaten. *Angew. Chem.* **102** (1990), 969-986.
- <sup>91</sup> A. Zlatkis, V. Pretorius (Hrsg.): Preparative Gas Chromatography. Wiley-Interscience, New York (1971).
- <sup>92</sup> G. Schomburg, H. Kötter, D. Stoffels, W. Reissig: Automated instrumentation for multidimensional preparative scale GC (PSGC). *Chromatographia* **19** (1984), 382-390.
- <sup>93</sup> H.D. Flack: On enantiomorph-polarity estimation. *Acta Cryst.* **A39** (1983), 876-881.
- <sup>94</sup> H.D. Flack, G. Bernardinelli: Absolute structure and absolute configuration. *Acta Cryst.* **A55** (1999), 908-915.
- <sup>95</sup> H.D. Flack, G. Bernardinelli: Reporting and evaluating absolute-structure and absolute-configuration determinations. *J. Appl. Cryst.* **33** (2000), 1143-1148.
- <sup>96</sup> S. Hauptmann, G. Mann: Stereochemie. Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg, Berlin, Oxford (1996), 114-130.

- <sup>97</sup> A. Hermann, H.G. Mack, H. Oberhammer: Conformations and structures of desflurane and isoflurane. *J. Fluorine Chem.* **101** (2000), 223-231.
- <sup>98</sup> A. Pfeiffer, H.G. Mack, H. Oberhammer: Enflurane: structure and conformational properties. *J. Am. Chem. Soc.* **120** (1998), 6384-6388.
- <sup>99</sup> G. Wenz, P. Mischnick, R. Krebber, M. Richters, W.A. König: Preparation and Characterization of per-O-pentylated cyclodextrins. *J. High Resolut. Chromatogr.* **13** (1990), 724-728.
- <sup>100</sup> K. Grob: Making and manipulating capillary columns for gas chromatography, Dr. Alfred Hüthig Verlag Heidelberg (1986), 156-176.
- <sup>101</sup> A. Simon, H.-J. Deiseroth, E. Westerbeck, B. Hillenkötter: Untersuchungen zum Aufbau von Tetracäsiumoxid. *Z. Anorg. Allg. Chem.* **423** (1976), 203-211.
- <sup>102</sup> G.M. Sheldrick: SHELXS 97, Programm zur Lösung von Kristallstrukturen. Universität Göttingen (1997).
- <sup>103</sup> G.M. Sheldrick: SHELXL 97, Programm zur Verfeinerung von Kristallstrukturen. Universität Göttingen (1997).



Meine akademischen Lehrer waren:

E. Bayer, M. Brendle, D. Christen, H. Eckstein, G. Gauglitz, W. Göpel, M. Hanack, D. Hoffmann, V. Hoffmann, W. Jäger, G. Jung, S. Kemmler-Sack, W. Koch, B. Koppenhöfer, K.-A. Kovar, N. Kuhn, D. Krug, H. Liebich, E. Lindner, M. Mathieu, H. Mayer, W. Nakel, H. Oberhammer, D. Oelkrug, H. Pauschmann, G. Pausewang, H. Pommer, B. Rieger, V. Schurig, F. Seelig, Ha. Stegmann, J. Strähle, W. Voelter, K.-P. Zeller, C. Ziegler.



## Lebenslauf

### Persönliche Daten:

Roswitha Ursula Schmidt  
geb. am 10. Januar 1966 in Hof/Saale  
ledig, Staatsangehörigkeit deutsch

### Schulbildung:

09/1972 - 06/1976 Grundschule in Trossingen / Schura  
08/1976 - 09/1977 Realschule Trossingen  
09/1977 - 06/1978 Schickhardt-Realschule in Stuttgart  
08/1978 - 05/1985 Schickhardt-Gymnasium in Stuttgart, Abschluss: Abitur

### Beruflicher Werdegang:

10/1985 - 09/1987 Ausbildung zur medizinisch-technischen Laboratoriums-  
assistentin an der Lehranstalt für Technische Assistenten in  
der Medizin am Katharinenhospital in Stuttgart,  
Abschluss: Staatsexamen

10/1987 - 09/1990 Angestellte am Institut für Klinische Chemie und  
Laboratoriumsmedizin des Bürgerhospitals in Stuttgart

04/1990 - 09/1990 Leitende MTLA des Bereichs Klinische Chemie

10/1990 - 09/1997 Studium der Chemie an der Eberhard-Karls-Universität  
Tübingen. Thema der Diplomarbeit: "R/S-Isofluran -  
Enantiomeranalytik mittels Headspace-Gaschromatographie  
in Patientenblutproben"  
Abschluss: Diplom

10/1990 - 12/1997 während des Studiums Teilzeittätigkeit (25 %) als Angestellte  
am Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin  
des Bürgerhospitals in Stuttgart

10/1997 - 01/2001 Doktorarbeit bei Prof. Dr. Volker Schurig im Arbeitskreis  
Analytische Chemie und Stereochemie, Institut für  
Organische Chemie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen  
mit dem Thema "Enantiomeranalytik chiraler Inhalations-  
anästhetika und ihrer Zersetzungsprodukte mittels GC"

10/1998 - 02/1999 assoziiertes Mitglied des Graduiertenkollegs der Deutschen  
Forschungsgemeinschaft "Analytische Chemie - Quantitative  
Analyse und Charakterisierung pharmazeutisch und  
biochemisch relevanter Substanzen"

02/1999 - 01/2001 Stipendiatin des Graduiertenkollegs der DFG