

in Abwesenheit eines terminierenden Agens gebildet<sup>[14]</sup>. Die hohe Empfindlichkeit im massenspektrometrischen Ableseschritt (unterer Femtomolbereich) ist nur nutzbar, wenn der chemische Abbau wenigstens im 10–100 Pikomolbereich gelingt.

Prinzipiell könnte auch Elektrospray-Ionisierung für die Massenbestimmung der Leiterpeptide eingesetzt werden, die sich ebenfalls hervorragend für die Mischungsanalyse eignet<sup>[15]</sup>. Das bei dieser Technik übliche Auftreten mehrfachgeladener Ionen könnte das Ablesen der Sequenz jedoch komplizieren. Außerdem wird Elektrospray meist mit Quadrupolgeräten mit einer im Vergleich zu Flugzeitanalysatoren, die normalerweise mit MALDI kombiniert werden, etwas besseren Auflösung, aber begrenztem Massenbereich verwendet (*m/z* maximal 4000, meistens jedoch um 2000). Für die Sequenzierung größerer Peptide hat ein Flugzeitanalysator, der prinzipiell keine obere Massengrenze hat, Vorteile. Die rasante Entwicklung auf dem Gebiet der Flugzeitanalysatoren sowie die Verbesserung der Matrices und der Probenaufbereitung<sup>[16]</sup> läßt schon in naher Zukunft eine wesentliche Verbesserung der Massengenauigkeit erwarten.

Die Entwicklung eines vollautomatischen Proteinsequenators mit massenspektrometrischer Detektion basierend auf der Chemie der Leitersequenzierung ist möglich. Es ist jedoch zu erwarten, daß die Kosten für ein solches Gerät aufgrund der derzeit relativ teuren Massenanalysatoren deutlich höher liegen werden als für herkömmliche mit HPLC ausgestatteten Sequenatoren. Trotzdem wären solche Geräte aufgrund des hohen Proben durchsatzes und der Möglichkeit, modifizierte Peptide oder Peptide mit ungewöhnlichen Aminosäuren zu sequenzieren, für den Peptid- und Proteinchemiker sehr interessant.

[1] a) P. Edman, G. Begg, *Eur. J. Biochem.* **1967**, *1*, 80–91; b) P. Edman, *Acta Chem. Scand.* **1950**, *4*, 283–293.

- [2] N. F. Totty, M. D. Waterfield, J. J. Hsuan, *Protein Sci.* **1992**, *1*, 1215–1224.
- [3] a) H. E. Meyer, E. Hoffmann-Posorske, H. Korte, L. M. G. Heilmeyer, *FEBS Lett.* **1986**, *204*, 61–66; b) H. E. Meyer, E. Hoffmann-Posorske, A. Donella-Deana, H. Korte, *Methods Enzymol.* **1991**, *201*, 206–224.
- [4] a) M. Karas, D. Bachmann, U. Bahr, F. Hillenkamp, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1987**, *78*, 53–68; b) M. Karas, F. Hillenkamp, *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 2299–2301; c) M. Karas, U. Bahr, A. Ingendoh, F. Hillenkamp, *Angew. Chem. 1989*, *101*, 805–806; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, *28*, 760–761.
- [5] a) M. Yamashita, J. B. Fenn, *J. Phys. Chem.* **1984**, *88*, 4451–4459; b) *ibid.* **1984**, *88*, 4671–4675; c) A. P. Bruins, T. R. Covey, J. D. Henion, *Anal. Chem.* **1987**, *59*, 2642–2646.
- [6] *Mass Spectrometry/Mass Spectrometry: Techniques and Applications in tandem-Mass Spectrometry* (Hrsg.: K. L. Busch, G. L. Glish, S. A. McLuckey), VCH, New York, 1988.
- [7] K. Biemann, *Methods Enzymol.* **1990**, *193*, 455–479.
- [8] a) C. J. Barinaga, C. G. Edmonds, H. R. Udseth, R. D. Smith, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1989**, *3*, 160–164; b) R. D. Smith, C. J. Barinaga, H. R. Udseth, *J. Phys. Chem.* **1989**, *93*, 5019–5022; c) R. D. Smith, C. J. Barinaga, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1990**, *4*, 54–57; d) J. A. Loo, C. G. Edmonds, R. D. Smith, *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 2488–2499; e) K. J. Light-Wahl, J. A. Loo, C. G. Edmonds, R. D. Smith, H. E. Witkowska, C. H. L. Shakleton, C.-S. C. Wu, *Biol. Mass Spectrom.* **1993**, *22*, 112–120.
- [9] a) B. Spengler, D. Kirsch, R. Kaufmann, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 9678–9684; b) B. Spengler, D. Kirsch, R. Kaufmann, E. Jaeger, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1992**, *6*, 105–108; c) R. Kaufmann, B. Spengler, F. Lützenkirchen, *ibid.* **1993**, *7*, 902–910.
- [10] R. Aebersold, E. H. Bures, M. Namchuk, M. H. Goghari, B. Shushan, T. C. Covey, *Protein Sci.* **1992**, *1*, 494–503.
- [11] I. Katakuse, T. Matsuo, H. Matsuda, Y. Shimonishi, Y.-M. Hong, Y. Izumi, *Biomed. Mass Spectrom.* **1982**, *9*, 64–68.
- [12] a) B. T. Chait, R. Wang, R. C. Beavis, S. B. H. Kent, *Science* **1993**, *262*, 89–92; b) *Proceedings of the 40th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics* **1992**, Washington, DC, May 31–June 5, 1939–1940.
- [13] A. M. Maxam, W. Gilbert, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1977**, *74*, 560–564.
- [14] R. Wang, S. Walker, R. C. Beavis, S. B. H. Kent, B. T. Chait, *Proceedings of the 41th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, **1993**, San Francisco, California, May 31–June 4, 658.
- [15] a) J. W. Metzger, K.-H. Wiesmüller, V. Gnau, J. Brünjes, G. Jung, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 901–903; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 894–896; b) J. W. Metzger, C. Kempfer, K.-H. Wiesmüller, G. Jung, *Anal. Biochem.*, im Druck.
- [16] T. W. Hutchens, T.-T. Yip, *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **1993**, *7*, 576–580.

## Ein Strukturmodell für den wasseroxidierenden Mangancluster im Photosystem II

Karl Wieghardt\*

Höhere Pflanzen und Cyanobakterien können lichtgetriebene chemische Energie erzeugen. Bei der wasseroxidierenden Photosynthese<sup>[1]</sup> findet diese Umwandlung durch lichtinduzierte, transmembrane Ladungstrennung von Protonen und Elektronen an den Reaktionszentren Photosystem I und Photosystem II (PS I, PS II) statt (Abb. 1), wobei die Oxidation von Wasser im aktiven Zentrum von PS II an einem – wahrscheinlich<sup>[2]</sup> – vierkernigen Mangancluster abläuft [Gl. (a)]. Bahnh-



[\*] Prof. Dr. K. Wieghardt  
Lehrstuhl für Anorganische Chemie I der Universität  
Universitätsstraße 150, D-44780 Bochum  
Telefax: Int. +234/7094-109

brechende Arbeiten von Joliot und Kok haben gezeigt<sup>[3]</sup>, daß die  $\text{O}_2$ -Abspaltung periodisch nach jeweils vier Lichtblitzen erfolgt<sup>[3]</sup>. Im Kokschen Katalysecyclus (Abb. 2) werden daher fünf Oxidationszustände des manganhaltigen Zentrums im PS II definiert,  $\text{S}_0$ – $\text{S}_4$ , wobei die vier Oxidationsäquivalente schrittweise (Elektron für Elektron wird an PS I abgegeben) akkumuliert und gespeichert werden bis beim Übergang  $\text{S}_4 \rightarrow \text{S}_0$  molekularer Sauerstoff abgespalten wird, und der Cyclus von vorne beginnt. Dieser für alles Leben auf unserem Planeten verantwortliche Cyclus (Bildung der  $\text{O}_2$ -haltigen Atmosphäre) wird bis heute auf molekularer Ebene nicht verstanden, vor allem weil die Struktur des Manganclusters unbekannt ist. Auch die Rolle der essentiellen Cofaktoren, Chlorid- und Calcium-Ionen, ist nicht genau bekannt. Beide können aber durch Bromid- bzw. Strontium-Ionen ohne Funktionsverlust substituiert wer-

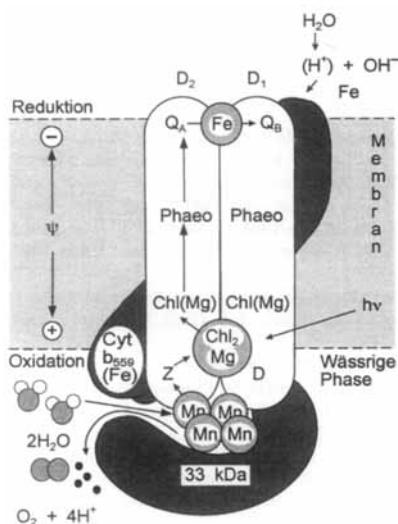


Abb. 1. Schematische Anordnung der Proteine von PS II in der Membran: Chl = Chlorophyll; Phaeo = Phaeophytin; Q = Chinon; Z = ein Tyrosinradikal. Adaptiert aus: J. R. Frausto da Silva, R. J. P. Williams, *The Biological Chemistry of the Elements*, Clarendon, Oxford, 1991.

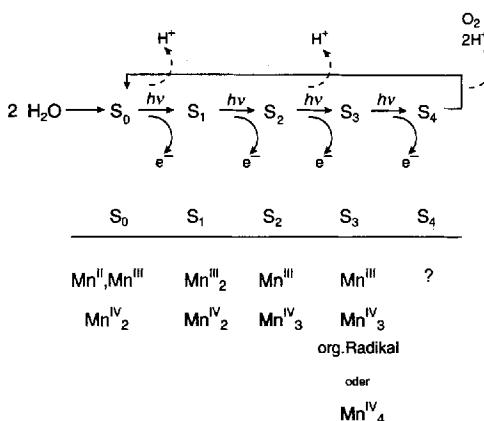


Abb. 2. Darstellung des Kokischen Katalysecyclus. Das darunter gegebene Schema zeigt die derzeit wahrscheinlichste Verteilung der Oxidationsstufen im vierkernigen Mangancluster in den S<sub>0</sub>- bis S<sub>4</sub>-Zuständen des PS II nach Lit. [6].

den<sup>[4]</sup>, während Fluorid-Ionen die O<sub>2</sub>-Entwicklung inhibieren. PS I aus *Synechococcus sp.* konnte kristallisiert und die Struktur durch eine Röntgenstrukturanalyse mit 6 Å Auflösung aufgeklärt werden<sup>[5]</sup>. Derartige Experimente für PS II stehen noch aus, obwohl kürzlich über die dreidimensionale Struktur von PS II bei 2 nm (!) Auflösung berichtet wurde. Hier wurden Daten aus elektronenmikroskopischen Aufnahmen an geordneten zweidimensionalen Anordnungen von PS II in Spinatchloroplastmembranen gewonnen<sup>[5b]</sup>, die aber noch keine Aussagen über die Struktur des Manganclusters gestatten.

Endlich hat nun die Berkeley-Gruppe um K. Sauer und M. P. Klein ihr Strukturmodell für den vierkernigen Mangancluster (Abb. 3) publiziert<sup>[6]</sup>, das im Kreis der PS-II-Fans seit etwa zwei Jahren diskutiert wird und das das Titelbild eines bereits 1992 herausgegebenen Buches schmückt<sup>[7]</sup>. Es ist das Ergebnis vieler Jahre spektroskopischer Untersuchungen wie der Elektronenspinresonanz (ESR) und vor allem Analysen der Fourier-transformierten Feinstruktur der Mangan-Röntgenabsorptionskanäle (EXAFS) an membranorientierten Präparationen von PS II im S<sub>0</sub>, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub> und S<sub>3</sub>-Zustand sowie an niedermolekularen, syn-

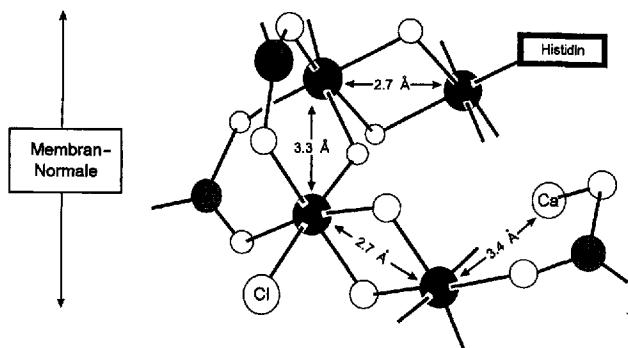


Abb. 3. Schematische Darstellung des Berkeley-Modells [6] einer möglichen räumlichen Anordnung der vier Mangan-Ionen im PS II. Auch die Cofaktoren Ca<sup>2+</sup> und Cl<sup>-</sup> sind hier nach in der Nähe des Mn-Clusters bzw. an ein Mn-Ion koordinativ gebunden. Die N-Koordination eines Histidinrestes ist spektroskopisch nachgewiesen [15]; die Natur und Anzahl der verbindenden Carboxylatgruppen ist unbekannt. Schwarze Kugeln = Mn-Zentren; weiße Kugeln = O-Zentren; gerasterte Kugeln = C-Zentren.

thetisierten Modellkomplexen, die zur Kalibrierung dieser beiden Methoden wesentlich beigetragen haben. Die Kombination dieser beiden Mn-spezifischen spektroskopischen Methoden ermöglicht Rückschlüsse auf 1) den Oxidationsgrad der Mangan-Ionen im S<sub>0</sub>, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>- und – eingeschränkt – im S<sub>3</sub>-Zustand (S<sub>4</sub> ist als Intermediat präparativ nicht zugänglich und daher bis heute nicht charakterisiert), 2) auf die Elektronenstruktur des Manganclusters sowie 3) – wiederum mit Einschränkungen – auf die räumliche Anordnung der vier Mangan-Ionen relativ zueinander.

Daß die vier Oxidationsäquivalente schrittweise nach jeweils einem Lichtblitz im Mangancluster gespeichert werden, ist ein einleuchtender, aber offenbar schwer zu beweisender Gedanke. Einerseits haben Witt et al. dies indirekt aus Änderungen der UV-Lichtabsorptionsspektren und der Elektrochromieabsorptionen während des Katalysecyclus geschlossen<sup>[8]</sup>. Andererseits hatten Klein et al.<sup>[9]</sup> aus Änderungen bei der Mn-Nahkantennröntgenabsorptionsspektroskopie (XANES) gefolgt, daß bei *kryogenen* Temperaturen die lichtinduzierten Übergänge S<sub>0</sub> → S<sub>1</sub> und S<sub>1</sub> → S<sub>2</sub> zwar die Oxidation des Manganclusters bewirken, daß aber beim Übergang S<sub>2</sub> → S<sub>3</sub> ein organisches Radikal (Histidinradikal (?)) ohne weitere Oxidation des Manganclusters gebildet wird, das zumindest in Ca<sup>2+</sup>-freien Präparationen ein ESR-Signal liefert<sup>[10]</sup>. Wiederholung der XANES-Messungen, in denen die S<sub>x</sub>-Zustände (x = 0–3) bei *physiologischen* Temperaturen hergestellt wurden, lassen dann aber den Schluß zu, daß auch der S<sub>2</sub> → S<sub>3</sub>-Übergang mit einer weiteren Oxidation des Manganclusters verbunden ist<sup>[11]</sup>.

Dieser offensichtliche Widerspruch hängt eng mit dem Problem der Herstellung von reinen S<sub>x</sub>-Zuständen zusammen. Im Dunkeln adaptierte PS-II-Proben befinden sich im S<sub>1</sub>-Zustand, für den Dexheimer und Klein<sup>[12]</sup> einen paramagnetischen Grundzustand mit wahrscheinlich S = 1 ESR-spektroskopisch nachweisen konnten, während Brudvig et al.<sup>[13]</sup> aus Messungen der dipolaren Spin-Gitter-Relaxationsgeschwindigkeitskonstanten des stabilen Tyrosinradikals im Mn-haltigen und Mn-freien PS II im S<sub>1</sub>-Zustand (resting state) einen diamagnetischen Grundzustand (S = 0) postulieren. Klein et al. müssen dann einen aktiven S<sub>1</sub>-Zustand untersucht haben, der sich von Brudvigs nur durch die zeitliche Länge der Dunkeladaptation von PS II unterscheidet (?).

Der ESR-aktive S<sub>2</sub>-Zustand wird aus dunkeladaptiertem PS II durch Lichtblitze bei 273 K oder durch kontinuierliche Beleuchtung während des raschen Einfrierens erzeugt<sup>[14]</sup>. Das berühmte von Dismukes und Siderer<sup>[16]</sup> entdeckte ESR-Multilienspektrum mit mindestens 19 Manganhyperfeinlinien bei  $g \approx 2.0$  ist wohl am besten untersucht. Simulationsversuche<sup>[17]</sup> dieses Signals sowie eine theoretische Analyse der möglichen Spinzustände haben recht eindeutig gezeigt, daß alle vier Mangan-Ionen des Clusters elektronisch miteinander gekoppelt sein müssen und sie ausschließlich in den Oxidationsstufen + III und + IV vorliegen.

Eine besonders interessante Entwicklung zur Reinsynthese von PS II in einem definierten S<sub>x</sub>-Zustand beschreiben Bocarsly und Brudvig<sup>[18]</sup>. Ihnen gelang durch Zusatz redoxaktiver Herbizide, die an der Q<sub>b</sub>-Stelle (Abb. 1) binden und den katalytischen Umsatz (Elektronentransfer) unterbrechen, die Herstellung des S<sub>3</sub>-Zustandes in großen Ausbeuten in konzentrierten PS-II-Präparationen<sup>[18]</sup>. Die Kontrolle des katalytischen Umsatzes von PS II ist sehr vielversprechend, weil nun die genauere spektroskopische Charakterisierung dieses und vielleicht des S<sub>0</sub>- und S<sub>4</sub>-Zustandes möglich sein wird.

Die etwa 1983 einsetzende stürmische Entwicklung der Koordinationschemie von Mn<sup>III</sup>- und Mn<sup>IV</sup>-Komplexen führte zur Synthese und röntgenstrukturanalytischen Charakterisierung von stabilen tetranuclearen oxoverbrückten Komplexen mit Adamantan-, Cuban- und Schmetterlingsgerüsten (Strukturen C, D bzw. E in Abb. 4)<sup>[19]</sup>, die dann Modell standen für die ersten Formulierungen von Katalysecyclen auf molekularer Ebene für die Wasseroxidation in PS II<sup>[20]</sup>. Zwei dieser Vorschläge, nämlich der von Brudvig und Crabtree<sup>[20a]</sup> einerseits und der von Vincent und Christou<sup>[20b]</sup> andererseits, fanden nicht zuletzt wegen ihrer Ästhetik sofort den Weg in die Lehrbü-

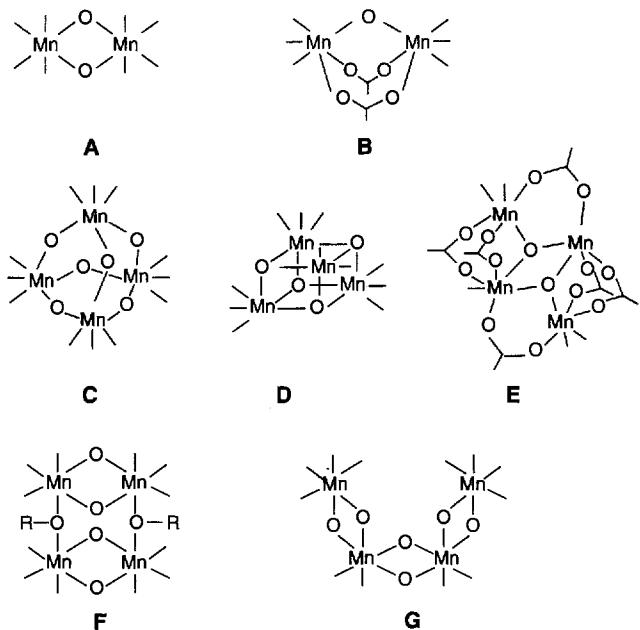


Abb. 4. Wichtige, röntgenstrukturanalytisch charakterisierte Strukturtypen von Mn<sup>III</sup>- und Mn<sup>IV</sup>-Komplexen mit Oxo- und Alkoxybrücken: A: kantenverknüpft, oktaedrisch mit Mn...Mn ≈ 2.7 Å; B:  $\mu$ -Oxo-di- $\mu$ -carboxylatodimangan-Komplex mit Mn...Mn 3.0–3.5 Å; C: Adamantan-ähnliches Mn<sup>IV</sup>( $\mu_2$ -O)<sub>6</sub>-Gerüst; D: Cubangerüst Mn<sup>IV</sup>( $\mu_3$ -O)<sub>4</sub>; E: Schmetterlingsgerüst Mn<sub>4</sub>( $\mu_3$ -O)<sub>2</sub>; F: Di- $\mu$ -alkoxo-verbrücktes Paar von Di- $\mu$ -oxodimangan-Einheiten [21]; G: offenkettige Anordnung von vier Mn<sup>IV</sup>-Ionen mit sechs Oxobrücken [22].

cher, obwohl schnell klar wurde, daß die EXAFS-Daten von PS II mit denen der Modellkomplexe nicht gut in Übereinstimmung zu bringen sind. Diese Modelle sind zu symmetrisch.

Alle EXAFS-Untersuchungen an PS II haben übereinstimmend gezeigt, daß sich die vier Mangan-Ionen in einer vorwiegend aus Sauerstoffdonatoratomen bestehenden Ligandensphäre (Oxo- und Carboxylatgruppen) befinden und – wenn überhaupt – nur wenige N-Atome gebunden haben. Weiterhin wurde gezeigt, daß sich die Struktur des Mangancusters beim Übergang S<sub>1</sub> → S<sub>2</sub> und S<sub>2</sub> → S<sub>3</sub> nur sehr wenig verändert; also keine durchgreifendere Strukturreorganisation des Clusters während der Akkumulation der Oxidationsäquivalente zu beobachten ist.

Interessanterweise wurde eindeutig ein Mn...Mn-Abstand von 2.7 Å und – weniger deutlich und immer noch nicht unumstritten – einer von 3.3 Å, der auch einem Mn...Ca-Abstand zugeordnet werden kann, gefunden. Der kürzere Mn...Mn-Vektor ist typisch für Di- $\mu$ -oxodimangan-Komplexe (Abb. 4, Struktur A) mit kurzen Mn-O<sub>oxo</sub>-Abständen von 1.8 Å, während in zweikernigen  $\mu$ -Oxo-di- $\mu$ -carboxylatodimangan-Komplexen (Abb. 4, Struktur B) je nach Oxidationsstufe der Mangan-Ionen Mn-Mn-Abstände zwischen 3.0 und 3.5 Å gefunden werden. Eine Kombination dieser beiden Strukturtypen führt folgerichtig zum Berkeley-Modell in Abbildung 3.

Einige weitere Feinheiten seien erwähnt: Aus dem beobachteten Dichroismus dieser Mn...Mn-Vektoren in geordneten, orientierten Membranen mit PS II konnten im EXAFS-Experiment Informationen über ihre relative räumliche Anordnung zueinander im S<sub>1</sub>-Zustand gewonnen werden. Aus der Empfindlichkeit der EXAFS-Spektren, die ja Mn-spezifisch sind, gegenüber einer Substitution des Cofaktors Ca<sup>2+</sup> durch Sr<sup>2+</sup> konnte der Schluß gezogen werden, daß ein Ca<sup>2+</sup>-Ion in der Nähe des Mangancusters koordinativ gebunden sein muß. Ähnliches gilt für die Cl<sup>-</sup>-Ionen, weil ihre Substitution durch Br<sup>-</sup> ebenfalls zu – allerdings sehr kleinen – Effekten im Mn-EXAFS-Spektrum führt.

Die Berkeley-Gruppe<sup>[6]</sup> warnt selbst vor einer Überinterpretation des eingängigen Modells in Abbildung 3. „Although we have provided evidence for the tetranuclear Mn model and the presence of Ca, halide, and histidine, we do not know their positions relative to each other at this time.“ Das bedeutet, daß die tatsächliche Struktur doch noch wesentlich anders aussehen könnte. Die kürzlich charakterisierten Komplexe [(Mn<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(tphpn)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> (tphpn = N,N,N',N'-Tetra(2-methylpyridyl)-2-hydroxypropandiamin; Abb. 4, Typ F)<sup>[21]</sup> und [Mn<sub>4</sub><sup>IV</sup>O<sub>6</sub>(bpy)<sub>6</sub>]<sup>4+</sup> (bpy = Bipyridin; Abb. 4, Typ G)<sup>[22]</sup> sind beispielsweise interessante, neuere Strukturtypen, da sie einige EXAFS-Charakteristika von PS II erfüllen und ersterer als gemischt valenter (Mn<sup>III</sup>Mn<sup>IV</sup>)<sub>2</sub>-Komplex in erstaunlich präziser Weise die Elektronenstruktur von PS II im aktiven S<sub>1</sub>-Zustand modelliert – er hat einen elektronischen S = 1-Grundzustand und zeigt ein ESR-Spektrum, das dem von Klein et al.<sup>[12]</sup> für PS II im S<sub>1</sub>-Zustand ermittelten verblüffend ähnlich ist.

Natürlich bleiben viele Fragen offen, die der Biochemiker oder -physiker zusammen mit dem Anorganiker noch beantworten müssen. So ist es z.B. vom mechanistischen Standpunkt her völlig unklar, was bei dem bedeutenden Schritt S<sub>4</sub> → S<sub>0</sub> auf molekularer Ebene passiert: wann und wie wird die erste O-O-Bindung aus Oxogruppen oder koordinierten H<sub>2</sub>O-Molekülen

gebildet? Auch die Koordinationschemiker sind herausgefordert: warum können wir bis heute keine guten, in homogener Phase wasseroxidierenden, tetranuclearen Modellkomplexe präsentieren? Ein Versuch der theoretischen Chemie, Antworten auf die letzten beiden Fragen zu geben<sup>[23]</sup>, ist kürzlich publiziert worden. Hier wird gezeigt, daß die drei- oder vierfach Koordination eines Peroxoliganden an Mangan-Ionen seine Zweielektronenoxidation zu molekularem Sauerstoff erleichtert. Ein vielleicht nicht überraschendes Ergebnis. Die Ermittlung der Struktur eines aktiven Zentrums eines Metalloproteins aus spektroskopischen Daten ähnelt in vieler Hinsicht einem komplizierten dreidimensionalen Puzzle, dem sogar einige Teile (Informationen) beigemischt sind, die nicht zum Spiel gehören (also falsch sind). Ich bin gespannt, ob in naher (oder ferner) Zukunft die Kristallisation von PS II und eine Röntgenstrukturanalyse mit genügender Auflösung zur Erkennung des Manganclusters gelingen wird. Schön wäre es.

- [5] a) N. Krauss, W. Hinrichs, I. Witt, P. Fromme, W. Pritzkow, Z. Danter, C. Betzel, K. S. Wilson, H. T. Witt, W. Saenger, *Nature* **1993**, *361*, 326; b) A. Holzenburg, M. C. Bewley, F. H. Wilson, W. V. Nicholson, R. C. Ford, *Nature* **1993**, *363*, 470.
- [6] V. K. Yachandra, V. J. DeRose, M. J. Latimer, I. Mukerji, K. Sauer, M. P. Klein, *Science* **1993**, *260*, 675.
- [7] *Manganese Redox Enzymes* (Hrsg.: V. L. Pecoraro), VCH, New York, **1992**.
- [8] H. Kretschmann, H. T. Witt, *Biochim. Biophys. Acta* **1993**, *1144*, 331.
- [9] R. D. Guiles, J.-L. Zimmermann, A. E. McDermott, V. K. Yachandra, J. L. Cole, S. L. Dexheimer, R. D. Britt, K. Wieghardt, U. Bossek, K. Sauer, M. P. Klein, *Biochemistry* **1990**, *29*, 471.
- [10] A. Boussac, J.-L. Zimmermann, A. W. Rutherford, J. Lavergne, *Nature* **1990**, *347*, 303.
- [11] T. One, T. Noguchi, Y. Inoue, M. Kusunoki, T. Matsushita, H. Oyanagi, *Science* **1992**, *258*, 1335.
- [12] S. L. Dexheimer, M. P. Klein, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 2821.
- [13] D. Koulougliotis, D. J. Hirsh, G. W. Brudvig, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 8322.
- [14] a) G. C. Dismukes, Y. Siderer, *FEBS Lett.* **1980**, *121*, 78; b) Ö. Hansson, L. E. Andreasson, *Biochim. Biophys. Acta* **1982**, *679*, 261.
- [15] V. J. DeRose, V. K. Yachandra, A. E. McDermott, R. D. Britt, K. Sauer, M. P. Klein, *Biochemistry* **1991**, *30*, 1335.
- [16] G. C. Dismukes, Y. Siderer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1981**, *78*, 274.
- [17] J. Bonvoisin, G. Blondin, J. J. Girerd, J.-L. Zimmermann, *Biophys. J.* **1992**, *61*, 1076.
- [18] J. R. Bocarsly, G. W. Brudvig, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9762.
- [19] a) V. L. Pecoraro, *Photochem. Photobiol.* **1988**, *48*, 249; b) G. Christou, *Acc. Chem. Res.* **1989**, *22*, 328; c) K. Wieghardt, *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 1179; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, *28*, 1153; d) G. W. Brudvig, R. H. Crabtree, *Progr. Inorg. Chem.* **1989**, *37*, 99; e) G. C. Dismukes, *Bioinorganic Catalysis* (Hrsg.: J. Reedijk), Dekker, New York, **1993**.
- [20] a) G. W. Brudvig, R. H. Crabtree, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1986**, *83*, 4586; b) J. B. Vincent, G. Christou, *Inorg. Chim. Acta* **1987**, *136*, L 41.
- [21] M. L. Kirk, M. K. Chan, W. H. Armstrong, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10432.
- [22] C. Philouze, G. Blondin, S. Menage, N. Auger, J.-J. Girerd, D. Vigner, M. Lance, M. Nierlich, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1643; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1629.
- [23] D. M. Proserpio, R. Hoffmann, G. C. Dismukes, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 4374.

## Destillative Racematspaltung mit Hilfe von Einschlußverbindungen

Gerd Kaupp\*

Chirale Wirkstoffe können und dürfen in der Regel (wichtigste Ausnahme: **D,L**-Methionin) nicht als Racemat eingesetzt werden. Es gilt, unbeabsichtigte Nebenwirkungen und unnötige Umweltbelastungen zu vermeiden. Die Bereitstellung großer Mengen enantiomerenreiner Verbindungen gelingt wirtschaftlich durch Fermentation oder (vollständige) enzymatische Umwandlung von Racematen in die jeweils gewünschten Enantiomere. So müssen zum Beispiel jährlich 420 000 t L-Glutaminsäure, riesige Mengen L-Asparaginsäure und L-Phenylalanin für den Süßstoff Aspartam sowie D-Phenylglycin enantiomerenrein hergestellt werden, ohne daß dabei übermäßige Abfallmengen entstehen<sup>[1]</sup>.

Die sich schnell entwickelnde absolute asymmetrische Synthese ist einfach und umweltschonend, erfordert aber enantiomorphe Kristalle (mit chiraler Raumgruppe), die sich nicht bei

allen Verbindungen mit Prochiralitätszentren bilden<sup>[2]</sup>. Enantioselektive Synthesen mit chiralen Hilfsstoffen (Auxiliaren) sind „ohne Biologie“ noch immer meist sehr aufwendig, wenn auch beeindruckend ausgefeilt und mit langer Tradition behaftet<sup>[3]</sup>. Man synthetisiert in chiralen Medien (neuerdings effizient mit Einschlußverbindungen)<sup>[4]</sup>, mit chiralen Katalysatoren oder man unternimmt eine diastereoselektive Synthese mit einem optisch aktiven Edukt und spaltet anschließend den Molekülteil mit dem primär vorhandenen Chiralitätszentrum wieder ab. Dies geht mit (z.B. bei der Seebach-Methode)<sup>[3]</sup> oder ohne Chiralitätsverlust des Hilfsstoffs (z.B. bei der Schöllkopf-Methode)<sup>[5]</sup>. Allerdings erscheint die Rückgewinnung bei kleinen Ansätzen nicht lohnend<sup>[3]</sup>. Ansatzvergrößerungen bis in den industriellen Maßstab sind noch immer problematisch<sup>[6]</sup>. Offensichtlich sind Racematspaltungen nach unkomplizierter Synthese nach wie vor die am häufigsten angewandte Technik.

Neue Möglichkeiten brachte die supramolekulare Chemie, als man sich systematisch den Einschlußverbindungen zuwandte und vielseitig einsetzbare Clathratbildner entwarf und nutzen

[\*] Prof. Dr. G. Kaupp

FB9 – Organische Chemie I der Universität  
Postfach 2503, D-26111 Oldenburg  
Telefax: Int. + 441/798-3409