

bilitäten für **2**. Deshalb müssen wir davon ausgehen, daß die  $[\text{MnCl}_4]^{2-}$ -Ionen schwach antiferromagnetisch entweder mit den Manganzentren in **2** und/oder mit sich selbst koppeln. Trotz dieser Einschränkungen bekommen wir jedoch bei höheren Temperaturen bis hinauf zu ca. 200 K sehr wichtige Einblicke in die magnetischen Eigenschaften von **2**, da die schwachen Wechselwirkungen der  $[\text{MnCl}_4]^{2-}$ -Ionen hier klein im Vergleich zu den Austauschwechselwirkungen innerhalb von **2** sind und daher vernachlässigt werden können<sup>[17]</sup>. Bei Raumtemperatur berechnet sich  $\mu_{\text{eff}}$  für **1** zu  $11.1 \mu_B$ . Da der theoretische Wert für sechs nicht gekoppelte  $\text{Mn}^{2+}$ -Zentren  $14.5 \mu_B$  beträgt, sollten die Manganatome in **2** antiferromagnetisch gekoppelt sein. Ein ähnliches Verhalten ist auch typisch für die Komplexionen  $[\text{Mn}_4\text{Te}_4(\text{TeiC}_3\text{H}_7)_4]^{4-}$ <sup>[18]</sup> und  $[\text{Mn}_2(\text{Sph})_6]^{2-}$ <sup>[19]</sup>.

In dieser Arbeit haben wir die Synthese und einige Eigenschaften des neuartigen, achtkernigen Dimetall-Komplexes **2** beschrieben, dessen herausragendes Merkmal das cubanartige  $\text{Mn}_4\text{Cu}_4$ -Gerüst ist. Die Verbindung gehört zu einer neuen Klasse gemischter Sulfid-Thiolato-Komplexe und ist das erste Beispiel für einen Metallwürfel mit einem  $\mu_4$ -S-Liganden im Zentrum.

### Experimentelles

Alle Arbeiten wurden in Handschuhkästen oder in evakuierbaren Glasapparaturen unter Stickstoff durchgeführt.

$(\text{Me}_4\text{N})_2[\text{Mn}_2(\text{SiC}_3\text{H}_7)_6]$  (**6**) (1.42 g, 2 mmol) wurde in 50 mL Acetonitril gelöst. Nach Zugabe von festem  $\text{CuCl}$  (0.40 g, 4 mmol) wurde die rote Lösung etwa 24 h gerührt, wobei die Farbe nach gelb umschlug. Anschließend wurde von einer geringen Menge eines unlöslichen Niederschlags abfiltriert, das Filtrat auf ein Drittel des Ausgangsvolumens eingeeengt und mit dem gleichen Volumen Diethylether überschichtet. Innerhalb weniger Tage fielen orangefarbene Kristalle von **1** sowie gelbe Kristalle eines Nebenprodukts (**7**) aus. Ausbeute: 65% (bezogen auf **6**); C, H, N, S-Analyse für **1**: gef. (%): C 32.08, H 7.00, N 3.74, S 18.56; ber. (%): C 32.19, H 6.92, N 3.80, S 18.65.

**1** konnte auch auf folgendem Wege erhalten werden:  $(\text{Me}_4\text{N})_2[\text{Mn}_2(\text{SiC}_3\text{H}_7)_6]$  (159 mg, 0.23 mmol) wurde mit  $\text{CuCl}$  (57 mg, 0.58 mmol) gemischt, gemörsert und in eine dickwandige Pyrex-Ampulle überführt. Nach Zugabe von 1 mL Acetonitril wurde die Ampulle mit flüssigem Stickstoff abgekühlt, unter Vakuum abgeschmolzen und bei 80 °C getempert. Nach 3 d entstanden orangefarbene hexagonale plättchenförmige Kristalle sowie ein gelbes Nebenprodukt (**7**).

Eingegangen am 19. März 1996 [Z 8933]

**Stichworte:** Kupferverbindungen • Magnetische Eigenschaften • Manganverbindungen • Schwefelverbindungen

- [1] B. Krebs, G. Henkel, *Angew. Chem.* **1991**, 103, 785; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 769.
- [2]  $[\text{Au}_2\text{Ag}_2(\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S})_4]^{2-}$ ,  $[\text{Au}_2\text{Cu}_4(\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S})_4]^{2-}$ ,  $[\text{Au}_3\text{Cu}_3(\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S})_4]^{2-}$ ,  $[\text{Cu}_4(\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S})_4]^{2-}$ , und  $[\text{Ag}_3(\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S})_4]^{3-}$ : G. Henkel, B. Krebs, P. Betz, H. Fietz, K. Saatkamp, *Angew. Chem.* **1988**, 100, 1373; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 1326.
- [3] a)  $[\text{Cu}_6\text{In}_3(\text{SEt})_{16}]^-$ : W. Hirpo, S. Dhingra, M. G. Kanatzidis, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 557; b)  $[(\text{PPH}_3)_2\text{CuIn}(\text{SEt})_4]$ : W. Hirpo, S. Dhingra, A. Sutorik, M. G. Kanatzidis, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 1597.
- [4]  $[\text{Eu}_2\text{M}_2(\text{Sph})_6(\text{py})_6]$  (M = Cd, Hg) und  $[\text{Eu}_2\text{Zn}_2(\text{Sph})_6(\text{thf})_6]$ : M. Brewer, J. Lee, J. G. Brennan, *Inorg. Chem.* **1995**, 34, 5919.
- [5] D. Coucouvanis, M. Kanatzidis, E. Simhon, N. C. Baenziger, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 6264.
- [6] H.-O. Stephan, G. Henkel, *Polyhedron*, **1996**, 15, 501.
- [7] Mikroanalysen (EDS-Methode) und der charakteristische Geruch bei der Hydrolyse an der Luft deuten auf einen Kupfer-Thiolat-Komplex hin.
- [8] Kristallstrukturanalyse von **1**: Siemens P4RA Vierkreisdiffraktometer,  $\text{MoK}_\alpha$ -Strahlung ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ), Graphitmonochromator, Drehanodengenerator, Szintillationszähler, 150 K, empirische Absorptionskorrektur, SHELXTL-PLUS-Programme, Direkte Methoden, Kleinste-Quadrat-Verfeinerung;  $\text{C}_{60}\text{H}_{156}\text{Cl}_8\text{Cu}_4\text{Mn}_6\text{N}_6\text{S}_{13}$ ,  $M_r = 2246.09$ , trigonal, Raumgruppe  $P\bar{3}1m$ ,  $a = 14.814(9)$ ,  $c = 14.164(7) \text{ \AA}$ ,  $V = 2691.91 \text{ \AA}^3$ ,  $Z = 1$ ,  $\rho_{\text{ber.}} = 1.386$ ,  $\mu(\text{MoK}_\alpha) = 1.94 \text{ mm}^{-1}$ , Kristalldimensionen ca.  $0.65 \times 0.37 \times 0.33 \text{ mm}^3$ ,  $\omega$ -scan,  $2\theta_{\text{max.}} = 54^\circ$ , 9373 Reflexe, davon 1536 symmetrieunabhängig ( $R_{\text{merge}} = 0.031$ ),  $R(R_w) = 0.0610$  (0.0562) für 1288 Reflexe mit  $I > 2\sigma(I)$ , 147 Variable, alle Nicht-H-Atome anisotrop, H-Atome berechnet und mit einem gemeinsamen Temperaturfaktor verfeinert, ein Skalierungsfaktor, ein isotroper Extinktions-

parameter. Anion **2** weist eine dreizählige Achse auf, auf der die Atome Mn1, S und Cu1 liegen (vgl. Abb. 1); die kristallographische Punktsymmetrie der Lage ist wegen einer Fehlordnung allerdings  $3m$ . Die Fehlordnung konnte vollständig modelliert werden. Im endgültigen Strukturmodell wurden die mittleren M-S-Bindungslängen chemisch äquivalenter Metallzentren so verfeinert, daß sie innerhalb von  $2\sigma$  übereinstimmen. Weitere Einzelheiten zu der Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, D-76344 Eggenstein-Leopoldshafen, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD-59401 angefordert werden.

- [9] G. A. Bowmaker, G. R. Clark, J. K. Seadon, I. G. Dance, *Polyhedron* **1984**, 5, 535.
- [10] G. S. H. Lee, D. C. Craig, I. Ma, M. L. Scudder, T. D. Bailey, I. G. Dance, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 4863.
- [11] G. S. H. Lee, K. J. Fisher, D. C. Craig, M. L. Scudder, I. G. Dance, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 6435.
- [12] H. J. Schugar, C. Ou, J. A. Thich, J. A. Potenza, R. A. Lalancette, W. Furey, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 3047; H. J. Schugar, C. Ou, J. A. Thich, J. A. Potenza, T. R. Felthouse, M. S. Haddad, D. N. Hendrickson, W. Furey, Jr., R. A. Lalancette, *Inorg. Chem.* **1980**, 19, 543.
- [13] P. J. M. W. L. Birker, *Inorg. Chem.* **1979**, 18, 3502.
- [14] P. J. M. W. L. Birker, H. C. Freeman, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 6890; P. J. M. W. L. Birker, H. C. Freeman, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1976**, 312.
- [15] C. W. Liu, T. Stubbs, R. J. Staples, J. P. Fackler, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 9778.
- [16] Im Komplexion  $[\text{Cd}_6(\text{SC}_2\text{H}_4\text{OH})_{12}(\mu_4\text{-I})]^{3+}$  variiert die Koordinationszahl der Cadmiumatome zwischen fünf und sieben: H. B. Bürgi, H. Gehr, P. Strickler, F. K. Winkler, *Helv. Chim. Acta* **1977**, 59, 2558.
- [17] Zu Vergleichszwecken wurden auch das magnetische Verhalten von  $(\text{Me}_4\text{N})_2[\text{MnCl}_4]$  und  $(\text{Et}_4\text{N})_2[\text{MnCl}_4]$  untersucht.  $(\text{Et}_4\text{N})_2[\text{MnCl}_4]$  ( $\mu_{\text{eff}} = 5.91 \mu_B$ ) verhält sich im gesamten Temperaturbereich wie ein nahezu perfektes paramagnetisches Material. Im Gegensatz dazu sind die Manganatome in  $(\text{Me}_4\text{N})_2[\text{MnCl}_4]$  schwach antiferromagnetisch gekoppelt, wobei  $\mu_{\text{eff}}$  den Bereich von  $5.1 \mu_B$  (bei 5 K) bis  $5.91 \mu_B$  (bei 300 K) überstreicht. Hier ist der kürzeste Mn...Mn-Abstand etwa  $7.8 \text{ \AA}$  lang ( $(\text{Me}_4\text{N})_2[\text{MnCl}_4]$  ist isotyp mit  $(\text{Me}_4\text{N})_2[\text{ZnCl}_4]$ : *Acta Crystallogr.* **1959**, 12, 611). In Kristallen von **1** betragen die kürzesten Abstände zwischen den Manganatomen in  $[\text{MnCl}_4]^{2-}$  und denen in **2**  $8.6 \text{ \AA}$ . Die zwischen den  $[\text{MnCl}_4]^{2-}$ -Ionen untereinander sind mit  $8.5 \text{ \AA}$  ähnlich groß. Aus diesem Grunde halten wir es für gerechtfertigt anzunehmen, daß sich die  $[\text{MnCl}_4]^{2-}$ -Ionen in **1** bei Raumtemperatur – wie auch in  $(\text{Me}_4\text{N})_2[\text{MnCl}_4]$  – wie nahezu ideale Paramagnete verhalten.
- [18] H.-O. Stephan, C. Chen, G. Henkel, K. Griesar, W. Haase, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 886.
- [19] H.-O. Stephan, K. Griesar, W. Haase, G. Henkel, *Z. Naturforsch. B* **1994**, 49, 1620.

## Nachweis der enzymkatalysierten Bildung von Carboxybiotin durch Messung von $^{15}\text{N}$ , $^{13}\text{C}$ - und $^{13}\text{C}$ , $^{13}\text{C}$ -Spin-Spin-Kopplungen\*\*

Stefan Berger\*, Annett Braune, Wolfgang Buckel\*, Ulrich Härtel und Man-Ling Lee

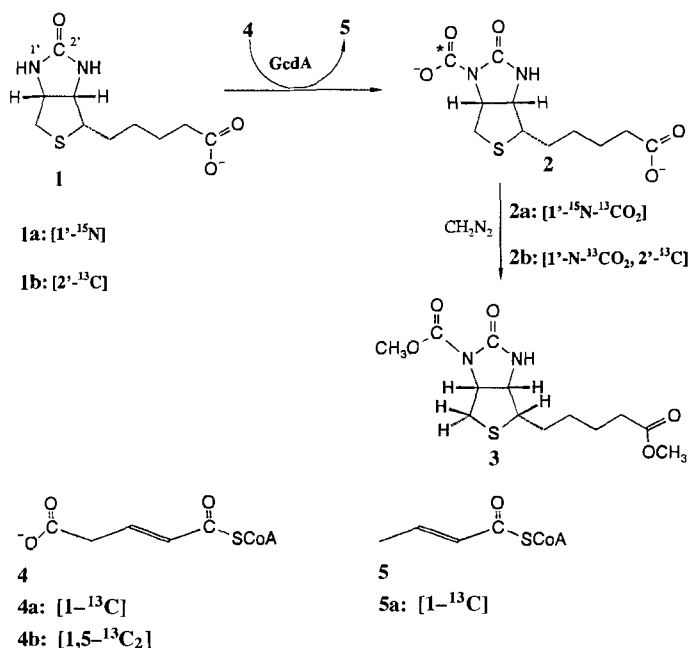
Professor Anton Rieger zum 65. Geburtstag gewidmet

Die Wirkungsweise von Biotin als prosthetischer Gruppe in carboxylierenden, trans- und decarboxylierenden Enzymen ist zwar bekannt, der genaue Mechanismus aber, nach dem Biotin **1** in Carboxybiotin **2** (Schema 1) umgewandelt wird, ist immer noch Gegenstand intensiver Debatte<sup>[1]</sup>. Selbst der Nachweis von Carboxybiotin während dieser Reaktionen ist bisher nur indirekt geführt worden. Die Fragestellung wurde erst kürzlich

[\*] Prof. Dr. S. Berger, Dr. M.-L. Lee  
Fachbereich Chemie der Universität  
D-35032 Marburg  
Telefax: Int. + 6421/288917  
E-mail: Berger@ps1515.chemie.uni-marburg.de

Prof. Dr. W. Buckel, Dipl.-Biol. A. Braune, Dr. U. Härtel  
Fachbereich Biologie der Universität  
D-35032 Marburg

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert.



Schema 1. Carboxylierung von markiertem Biotin **1** durch (*E*)-Glutaconyl-CoA **4** mit Hilfe der Carboxytransferase-Untereinheit (GcdA) der Glutaconyl-CoA-Decarboxylase.

durch die Synthese von „crippled“-Biotin, in dem das Stickstoffatom 1'-N durch ein Kohlenstoffatom ersetzt ist<sup>[2]</sup>, wieder aufgegriffen. F. Lynen und Mitarbeitern gelang es, das instabile **2**, das mit <sup>14</sup>C-markiertem Hydrogencarbonat erhalten wurde, in situ mit Diazomethan zu methylieren, das Produkt mit authentischem Methoxycarbonylbiotinmethylester **3** zu vergleichen und damit einen Hinweis auf das Auftreten von **2** während des enzymatischen Prozesses zu liefern<sup>[3]</sup>. Die direkte nicht-enzymatische Synthese von **2** ist unseres Wissens bis heute nicht gelungen. Wir konnten zeigen, daß **2**, wenn es unter NMR-Kontrolle bei 5 °C durch basenkatalysierte Hydrolyse von **3** erhalten wird, innerhalb weniger Minuten decarboxyliert<sup>[4]</sup>. Die Halbwertszeit für die Decarboxylierung in enzymatischen Prozessen beträgt dagegen 103 min<sup>[5]</sup>.

Um die Funktion von Biotin als prosthetischer Gruppe besser zu verstehen<sup>[6]</sup> und um einen direkten Nachweis für das Auftreten von **2** während der enzymatischen Reaktion zu erbringen, haben wir [1'-<sup>15</sup>N]- und [2'-<sup>13</sup>C]Biotin, **1a**<sup>[7]</sup> bzw. **1b**<sup>[8]</sup>, synthetisiert. Wir konnten ein kurzzeitig auftretendes <sup>13</sup>C-NMR-Signal bei  $\delta = 160.4$  beobachten, wenn die Carboxytransferase-Untereinheit (GcdA) der Biotin-abhängigen Natriumionpumpe Glutaconyl-CoA-Decarboxylase (EC 4.1.1.70) eingesetzt wurde, um die Carboxylierung von freiem **1b** durch (*E*)-Glutaconyl-CoA **4** unter Bildung von Crotonyl-CoA **5** zu katalysieren. Die Zeitabhängigkeit dieses Signals ist in Abbildung 1 gezeigt. Die Kurve wurde mit der Gleichung für Folgereaktionen an die Daten angepaßt, wobei je eine Geschwindigkeitskonstante erster Ordnung für die Bildung und die Decarboxylierung von **2** angenommen wurde.

Das kurzfristige Auftreten eines Signals ist jedoch angesichts möglicher Hintergrundsignale und Verunreinigungen kein überzeugender Nachweis für ein Zwischenprodukt. Wir haben deshalb die Verwendung von <sup>13</sup>C-markiertem Glutaconyl-CoA **4** in Betracht gezogen. Mit **1b** sollte man zwei zwischenzeitlich auftretende Signale des Produkts **2b** erwarten, die eine <sup>2</sup>J(C,C)-Spin-Spin-Kopplung aufweisen. Mit **1a** sollte man dagegen ein Signal erwarten, das durch eine <sup>1</sup>J(C,N)-Spin-Spin-Kopplung

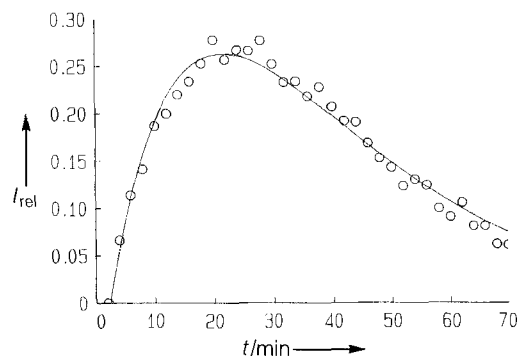
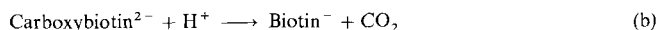
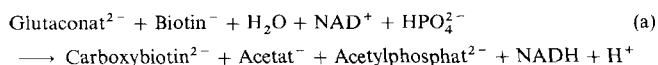


Abb. 1. Zeitabhängigkeit der Intensität des 2'-<sup>13</sup>C-Signals von Carboxybiotin **2** während der GcdA-katalysierten Reaktion von **1b** mit Glutaconyl-CoA ( $I_{rel}$  = Intensität in relativen Einheiten).

aufgespalten ist und somit eindeutig die Knüpfung einer C-N-Bindung durch das Enzym beweist.

Die Synthese von [1-<sup>13</sup>C]Glutaconsäure **4a** erwies sich infolge Markierungswanderung und anderer Probleme als unerwartet schwierig; jedoch war [1,5-<sup>13</sup>C<sub>2</sub>]Glutaconsäure **4b** ausgehend von 1,3-Dibrompropan-2-ol<sup>[9]</sup> in drei Schritten relativ leicht zugänglich. Die zusätzliche <sup>13</sup>C-Markierung erwies sich als nützlich, da sie die Beobachtung des Endprodukts Acetat ermöglichte [vgl. Gl. (a)].

Das in unseren Experimenten benutzte enzymatische System bestand aus der Carboxytransferase-Untereinheit (GcdA) der Glutaconyl-CoA-Decarboxylase aus *Acidaminococcus fermentans*<sup>[10]</sup> sowie einer Mischung von Hilfsenzymen, die aus dem gleichen Organismus präpariert wurden<sup>[11]</sup>. Zur Gewinnung der GcdA wurde das entsprechende Gen *gcdA* in den Vektor pJF118HE kloniert und in *Escherichia coli* DH5 $\alpha$  überexprimiert<sup>[10b]</sup>. Aus Zellextrakten wurde GcdA durch zwei aufeinanderfolgende Ionenaustausch-Chromatographieschritte gereinigt<sup>[12]</sup>. Die Hilfsenzym-Mischung enthielt Glutaconat-CoA-Transferase (EC 2.8.3.12), Crotonase [(*E*)-2-Butenyl-CoA-Hydratase, EC 4.1.2.17], 3-Hydroxybutyryl-CoA-Dehydrogenase (EC 1.1.1.35), Thiolase (Acetyl-CoA-C-Acetyltransferase, EC 2.3.1.9) und Phosphat-Acetyltransferase (EC 2.3.1.8). Das System war daher in der Lage, Glutaconat und Biotin in Gegenwart von NAD<sup>+</sup>, katalytischen Mengen von Acetylphosphat und CoASH in Phosphatpuffer bei pH 7.0 über die Zwischenstufen Glutaconyl-CoA, Crotonyl-CoA, (*S*)-3-Hydroxybutyryl-CoA, Acetoacetyl-CoA und Acetyl-CoA zu Acetat, Carboxybiotin und Acetylphosphat [Gl. (a)] umzusetzen. Carboxybiotin decarboxylierte schließlich zu Biotin und CO<sub>2</sub> [Halbwertszeit ca. 13 min, Gl. (b)].



Die Experimente, die bei Raumtemperatur mit einem Bruker-AMX-500-Spektrometer durchgeführt wurden, bestätigten den ursprünglich von F. Lynen vorgeschlagenen Mechanismus. <sup>13</sup>C-NMR-Spektren wurden kontinuierlich aufgenommen, wobei jeweils für die Dauer von 2 min akkumuliert wurde. Die Ausgangsspektren wurden von einer Lösung aufgenommen, die die Inkubationsmischung und **1a** oder **1b**, aber nicht die Carboxytransferase-Untereinheit (GcdA) enthielt. Diese Spektren zeigten nur die Signale der markierten Ausgangsverbindungen. Nach Zugabe von GcdA wurde je nach Art der Enzympreparation eine Induktionsperiode von einigen Minuten beobachtet.

Abbildung 2 zeigt die zwischenzeitlich auftretenden Signale, die zunächst wachsen, nach etwa einer halben Stunde ihr Maximum erreichen, dann abnehmen und verschwinden. In Abbildung 2a (hier wurde **1a** benutzt) ist eine  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ -Spin-Spin-Kopplungskonstante von 17.8 Hz, in Abbildung 2b (mit **1b**) eine  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Spin-Spin-Kopplungskonstante von 3.1 Hz zu beobachten. Beide Kopplungskonstanten sind in Übereinstimmung mit Erwartungswerten aus ähnlicher chemischer Umgebung<sup>[13, 14]</sup>.

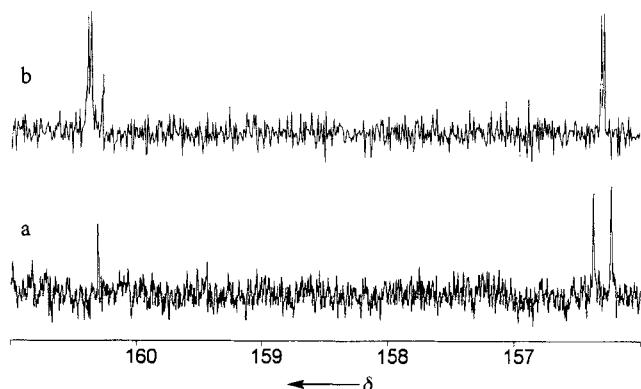


Abb. 2. Ausschnitt aus den  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren (125 MHz) von a)  $[1'-^{15}\text{N}-^{13}\text{CO}_2]\text{Carboxybiotin } \mathbf{2a}$  und b)  $[1'-\text{N}-^{13}\text{CO}_2, 2'-^{13}\text{C}]\text{Carboxybiotin } \mathbf{2b}$ .

Die hier verwendete Methode<sup>[15]</sup> ist generell dann anwendbar, wenn beide Bausteine, die durch eine neue chemische Bindung verknüpft werden, mit einer geeigneten Markierung versehen werden können. Somit kann ein eindeutiger Beweis für die enzymatische Knüpfung einer chemischen Bindung erhalten werden.

### Experimentelles

Die Inkubationsmischung des Versuchs, der die Daten in Abbildung 1 ergab, enthielt in einem Gesamtvolumen von 750  $\mu\text{L}$  folgende Substanzen: 100 mM Kaliumphosphat (pH 7.0), 10%  $^2\text{H}_2\text{O}$ , 27 mM Glutamat, 24 mM  $d\text{-}[2'-^{13}\text{C}]\text{Biotin } \mathbf{1b}$ , 6.3 mM  $\text{NAD}^+$ , 2.1 mM Acetylphosphat, 4.8 mM CoASH, 30 mM Dioxan, 330  $\mu\text{g}$  GedA und 500  $\mu\text{g}$  Hilfsenzyme. Die Inkubationsmischungen der Versuche, die die Daten in Abbildung 2 ergaben, waren identisch mit der in Abbildung 1 verwendeten, doch wurde unmarkiertes Glutamat ersetzt durch  $[1,5\text{-}^{13}\text{C}_2]\text{Glutamat}$ , und die Inkubationsmischung für Abbildung 2a enthielt  $d\text{-}[1'-^{15}\text{N}]\text{Biotin}$  anstatt  $[2'-^{13}\text{C}]\text{Biotin}$ . Da die Totalsynthese von  $[1'-^{15}\text{N}]\text{Biotin}$  nur das Racemat lieferte<sup>[7]</sup>, wurde das natürlich vorkommende *d*-Enantiomer **1a** durch HPLC auf einer chiralen Säule vom *l*-Enantiomer abgetrennt<sup>[16]</sup>.

Eingegangen am 15. April,  
veränderte Fassung am 29. Mai 1996 [Z 9029]

**Stichworte:** Biotin · Carboxylierungen · Enzymmechanismen · NMR-Spektroskopie

- [1] S. E. Polakis, R. B. Guchhait, E. E. Zwergel, M. D. Lane, *J. Biol. Chem.* **1974**, *249*, 6657–6667; R. Kluger, P. P. Davis, P. D. Adawadkar, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 5995–6000; P. A. Tipton, W. W. Cleland, *Biochemistry* **1988**, *27*, 4325–4331; T. Ogita, J. R. Knowles, *ibid.* **1988**, *27*, 8028–8033; N. F. B. Phillips, M. A. Snoswell, A. Chapman-Smith, D. B. Keech, J. C. Wallace, *ibid.* **1992**, *31*, 9445–9450; D. J. Kuo, E. A. Rose, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 387–390; H. Martini, J. Rétey, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 287–289; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 278–280.
- [2] S. A. Henderson, J. O'Connor, A. R. Rendina, G. P. Savage, G. W. Simpson, *Aust. J. Chem.* **1995**, *48*, 1907–1916.
- [3] F. Lynen, J. Knappe, E. Lorch, G. Jütting, E. Ringelmann, *Angew. Chem.* **1959**, *71*, 481–486; F. Lynen, J. Knappe, E. Lorch, G. Jütting, E. Ringelmann, J. P. Lachance, *Biochem. Z.* **1961**, *335*, 123–167; J. Knappe, E. Ringelmann, F. Lynen, *ibid.* **1961**, *335*, 168–176.
- [4] W. A. Etzel, Dissertation, Universität Marburg, **1990**.
- [5] P. A. Tipton, W. W. Cleland, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5566–5569.
- [6] K. Bendrat, S. Berger, W. Buckel, W. A. Etzel, K. H. Röhm, *FEBS Lett.* **1990**, *277*, 156–158.

- [7] M.-L. Lee, S. Berger, *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1992**, *31*, 1065–1070.
- [8] W. A. Etzel, S. Berger, *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1990**, *28*, 977–982.
- [9] M.-L. Lee, Dissertation, Universität Marburg, **1993**.
- [10] a) W. Buckel, H. Liedtke, *Eur. J. Biochem.* **1986**, *156*, 251–257; b) K. Bendrat, W. Buckel, *ibid.* **1993**, *211*, 697–702.
- [11] W. Buckel, *Methods Enzymol.* **1986**, *125*, 547–558.
- [12] A. Braune, K. Bendrat, W. Buckel, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [13] H.-O. Kalinowski, S. Berger, S. Braun, *Carbon-13 NMR Spectroscopy*, Wiley, Chichester, **1988**.
- [14] S. Berger, S. Braun, H.-O. Kalinowski, *NMR-Spektroskopie von Nichtmetallen*, Bd. 2, Thieme, Stuttgart, **1992**.
- [15] a) E. J. Mueller, E. Meyer, J. Rudolph, V. J. Davisson, J. Stubbe, *Biochemistry* **1994**, *33*, 2270–2278; b) B. T. Golding, P. K. Slaich, G. Kennedy, C. Bleasdale, W. P. Watson, *Chem. Res. Toxicol.* **1996**, *9*, 147–157.
- [16] K. Steinbach, S. Berger, unveröffentlichte Ergebnisse.

## Cyclopeptidbibliotheken als neue chirale Selektoren für die Kapillarelektrophorese

Günther Jung\*, Heike Hofstetter, Susanne Feiertag,  
Dieter Stoll, Oliver Hofstetter, Karl-Heinz Wiesmüller  
und Volker Schurig\*

Zur chromatographischen Trennung von Enantiomeren wird ein einzelner chiraler Selektor entweder zur mobilen Phase hinzugefügt oder als stationäre Phase verwendet. Einfache Gemische chiraler Selektoren wurden z.B. bei der Inclusions-<sup>[1]</sup> und Komplexierungsgaschromatographie<sup>[2]</sup> eingesetzt. Die durch die Kombinatorische Chemie zugänglichen definierten Verbindungsbibliotheken<sup>[3]</sup> sind neue chirale Vielkomponentengemische, die als Additive zur mobilen Phase oder als heterogene stationäre Phase sowohl in druck- als auch in elektrogetriebenen Trennverfahren Verwendung finden können. Indem eine Multi-selektor-Bibliothek eingesetzt wird, kann somit auf das zeitraubende Testen von vielen einzelnen möglichen chiralen Selektoren verzichtet werden. Zur Identifizierung der Komponente mit den besten Selektoreigenschaften liefern Teilbibliotheken von geringerer Komplexität wichtige Informationen. Grundsätzlich steht die Suche nach dem besten Selektor im Vordergrund, da jede einzelne Komponente innerhalb der Gesamtmischung nur in großer Verdünnung vorliegt. Dennoch kann sich die Verwendung einer kompletten Multiselektor-Bibliothek als vorteilhaft erweisen, nämlich dann, wenn kooperative Effekte zwischen den Komponenten die Enantioselektivität beeinflussen.

Kapillarelektrophorese mit chiralen Additiven in der mobilen Phase ist eine effiziente Technik zur Trennung von wasserlöslichen Enantiomeren, die in kleinen Probenvolumina vorliegen. Bisher wurden Enantiomerentrennungen mit Hilfe von Proteinen wie Rinderserumalbumin<sup>[4]</sup>, AGP Orosomucoid<sup>[5]</sup>, Orosomucoid<sup>[6, 7]</sup>, Casein<sup>[7]</sup> und Cellulase<sup>[8]</sup>, oder durch cyclische Strukturen, z.B. macrocyclische Antibiotica (Vancomycin, Rifamycin B<sup>[9, 10]</sup>), Kronenether<sup>[11]</sup> und Cyclodextrine<sup>[12]</sup> erzielt,

[\*] Prof. Dr. G. Jung, Prof. Dr. V. Schurig  
Institut für Organische Chemie der Universität  
Auf der Morgenstelle 18, D-72076 Tübingen  
Telefax: Int. +49/7071-296925 (Prof. Jung)  
Int. +49/7071-296257 (Prof. Schurig)  
E-mail: guenther.jung@uni-tuebingen.de  
volker.schurig@uni-tuebingen.de

Dipl.-Chem. H. Hofstetter, Dipl.-Biochem. O. Hofstetter  
Institut für Organische Chemie der Universität Tübingen  
Dr. S. Feiertag, Dipl.-Chem. D. Stoll, Dr. K.-H. Wiesmüller  
Naturwissenschaftliches und Medizinisches Institut an der Universität Tübingen, Reutlingen