

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}C , ^{15}N -Spin-Spin-Kopplungskonstante von 17.8 Hz, in Abbildung 2b (mit **1b**) eine ^{13}C , ^{13}C -Spin-Spin-Kopplungskonstante von 3.1 Hz zu beobachten. Beide Kopplungskonstanten sind in Übereinstimmung mit Erwartungswerten aus ähnlicher chemischer Umgebung^[13, 14].

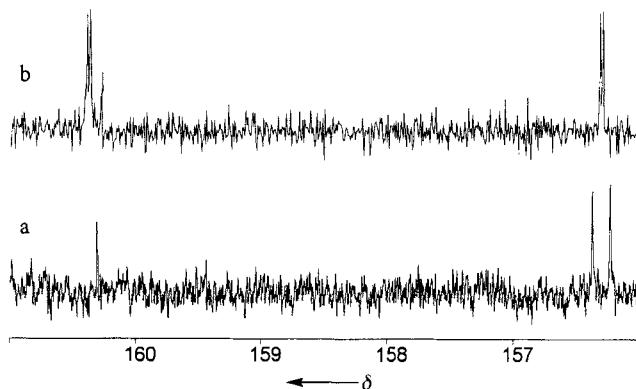


Abb. 2. Ausschnitt aus den ^{13}C -NMR-Spektren (125 MHz) von a) $[1'\text{-}^{15}\text{N}-^{13}\text{CO}_2]\text{Carboxybiotin 2a}$ und b) $[1'\text{-N-}^{13}\text{CO}_2, 2'\text{-}^{13}\text{C}]\text{Carboxybiotin 2b}$.

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

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. Zwerger, M. D. Lane, *J. Biol. Chem.* **1974**, *249*, 6657–6667; R. Kluger, P. P. Davis, P. D. Adawakar, *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. Jüttig, E. Ringelmann, *Angew. Chem.* **1959**, *71*, 481–486; F. Lynen, J. Knappe, E. Lorch, G. Jüttig, 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*, 5566–5869.
- [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-^[11] und Komplexierungsgaschromatographie^[12] eingesetzt. Die durch die Kombinatorische Chemie zugänglichen definierten Verbindungsbibliotheken^[3] 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 Multiselector-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 Gesamtmasse nur in großer Verdünnung vorliegt. Dennoch kann sich die Verwendung einer kompletten Multiselector-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^[4], AGP Orosomucoid^[5], Ovomucoid^[6, 7], Casein^[7] und Cellulase^[8], oder durch cyclische Strukturen, z.B. macrocyclische Antibiotika (Vancomycin, Rifamycin B^[9, 10]), Kronenether^[11] und Cyclodextrine^[12] 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

die jeweils als einzige chirale Selektoren eingesetzt wurden. Die Mechanismen, die der Retention und Trennung von Enantiomeren durch Proteine und Peptide zugrunde liegen, sind noch unbekannt^[13]. Allerdings ergeben sich im Fall des hier verwendeten Selektorsystems, das auf Cyclopeptiden basiert, vielversprechende Ansatzpunkte. Zum einen kann die Struktur von konformativ eingeschränkten Cyclopeptiden in Lösung sehr schnell durch zweidimensionale NMR-Spektroskopie bestimmt werden, so daß systematische Experimente zur Untersuchung der Mechanismen chiraler Erkennung auf molekularer Ebene möglich sind. Zum anderen kann die molekulare Diversität von Cyclopeptidbibliotheken durch strukturelle Veränderungen extrem erhöht werden. Verwendet man z.B. die kommerziell erhältlichen Aminosäuren mit definierter Chiralität (etwa 200 Stück) ergeben sich $200^6 = 64 \times 10^{12}$ individuelle Cyclohexapeptide. Die Zahl der zugänglichen Cyclopeptide kann noch erheblich erhöht werden durch Variation der Ringgröße, die Einbeziehung nichtpeptidischer Komponenten, durch Seitenketten- und Rückgratmodifikationen sowie den Einbau ausgewählter Bausteine mit entgegengesetzter Chiralität.

Wir berichten hier erstmals von der Anwendung dieses neuen Ansatzes zur Trennung von Enantiomeren unter Verwendung von synthetischen Cyclohexapeptidbibliotheken hoher Diversität als chirale Selektoren. Drei frei gewählte Cyclopeptid-Teilbibliotheken der allgemeinen Formel c(OXXXX) wurden der mobilen Phase bei der Kapillarelektrophorese zugesetzt. Die Verbindungsmischungen enthalten jeweils $18^3 = 5832$ einzelne Cyclohexapeptide^[14, 15]. Jede Teilbibliothek besteht aus definierten O-Positionen und drei Misch(X)-Positionen, die jeweils eine Mischung der 18 natürlichen Aminosäuren (außer Cystein und Tryptophan) repräsentieren. Die Synthese der Cyclopeptidbibliotheken ist gut reproduzierbar^[14], wie mit Elektrospray-Massenspektrometrie gezeigt wurde^[16–18].

c(DFXXXa): Unter Verwendung einer 10 mm Lösung der Cyclopeptidbibliothek c(DFXXXa) in Phosphatpuffer (pH 7.4) konnten zwei enantiomere DNP-Aminosäuren sowie die Trögersche Base in die Enantiomere getrennt werden (Tabelle 1).

Tabelle 1. Chromatographische Daten für die Enantiomerentrennung durch Cyclopeptidbibliotheken (10 mm) in Phosphatpuffer pH 7.4 (20 mM).

Selektor und Selektant	α	R_s	N_1	N_2
c(DFXXXa)	1.05	3.82	40 000	88 000
DNP-Glutaminsäure	1.01	1.08	175 000	133 000
DNP-Asparaginsäure	1.01	2.94	358 000	369 000
Trögersche Base				
c(RKXXXa)	1.13	7.2	79 000	65 000
DNP-Glutaminsäure				
c(RMXXXa)	1.04	1.91	22 300	9 430
Fmoc-Glutaminsäure				

Die Trennungen wurden bei 20 kV durchgeführt. Für die Trögersche Base wurde der geringe Trennfaktor α durch eine sehr hohe Zahl theoretischer Böden ausgeglichen, und es konnte eine sehr effiziente Trennung mit guter Auflösung R_s erzielt werden (Abb. 1 a). Das (+)-Enantiomer eluiert zuerst. Die beiden Enantiomere der DNP-Glutaminsäure (DNP = 2,4-Dinitrophenyl) wurden mit größerer Selektivität und einer höheren Auflösung R_s getrennt (Abb. 1 b). Die L-Aminosäure eluiert zuerst. Die Trennung von DNP-Asparaginsäure hat einen geringeren Trennfaktor α als die der DNP-Glutaminsäure und es konnte keine Basislinientrennung erzielt werden. Wieder eluiert die L-Form der Aminosäure zuerst.

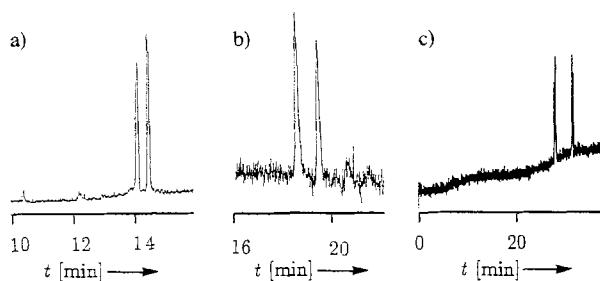


Abb. 1. Enantiomerentrennung von Trögerscher Base mit c(DFXXXa) (a); von DNP-D,L-Glutaminsäure mit c(DFXXXa) (b) und von DNP-D,L-Glutaminsäure mit c(RKXXXa) (c). Bedingungen: 10 mm Lösung der Cyclopeptidbibliotheken c(OXXXX) in Phosphatpuffer pH 7.4 (20 mM); Kapillare 50 μm innerer Durchmesser \times 50 cm effektive Länge, 20 kV für (a) und (b), -10 kV für (c), Detektion bei 260 nm (a) und 340 nm (b) und (c).

c(RKXXXa): Mit einer 10 mm Lösung von c(RKXXXa) in Phosphatpuffer konnte eine Enantiomerentrennung von DNP-Glutaminsäure erreicht werden (Abb. 1 c). Die Messungen wurden bei umgepolter Spannung (-10 kV) durchgeführt. Im Vergleich zu der Mischung c(DFXXXa) ist der Trennfaktor α und die Auflösung R_s deutlich verbessert (Tabelle 1).

c(RMXXXa): Unter Verwendung einer 10 mm Lösung von c(RMXXXa) war die Trennung der Enantiomere von Fmoc-Glutaminsäure (Fmoc = 9-Fluorenylmethoxycarbonyl) möglich. Der Trennfaktor α ist zwar hoch, jedoch liegt die Auflösung R_s relativ niedrig (Tabelle 1). Die Messung wurde bei -10 kV durchgeführt.

Die drei Beispiele zeigen, daß im Elektrolyt gelöste Cyclopeptidbibliotheken als chirale Selektoren zur kapillarelektrophoretischen Trennung einiger ausgewählter Racemate dienen können.

Unser Ansatz eröffnet die Möglichkeit, für ein gegebenes Trennproblem mit Hilfe synthetischer Peptidbibliotheken den besten Selektor zur Enantiomerentrennung herauszufinden. Erweist sich eine Mischung als geeignet, kann die aktive Komponente durch iterative Nachsynthesen von Teilbibliotheken geringerer Diversität eingegrenzt werden. Möglicherweise können dadurch verschiedene individuelle Selektoren genau definiert werden. Untersuchungen in dieser Richtung werden zur Zeit durchgeführt.

Experimentelles

Materialien und Methoden: Kapillarelektrophoretische Untersuchungen wurden am Kapillarelektrophorese-System PRINCE (Bischoff, Leonberg) und am Kapillarelektrophorese-System der Fa. Grom (Herrenberg), beide mit UV-Detektion, durchgeführt. Die Cyclohexapeptidbibliotheken wurden nach den in Lit. [14] beschriebenen Methoden synthetisiert und mit Aminosäurenanalyse und Elektrospray-Massenspektrometrie charakterisiert [15, 16]. Abkürzungen der Aminosäuren im Ein-Buchstaben-Code sind wie folgt: a = D-Alanin, D = L-Asparaginsäure, F = L-Phenylalanin, K = L-Lysin, M = L-Methionin, R = L-Arginin, X = alle natürlichen Aminosäuren außer Cystein und Tryptophan. DNP-Glutaminsäure wurde von Sigma (Deisenhofen) bezogen, Fmoc-Glutaminsäure von Orpegen (Heidelberg), Trögersche Base von Fluka (Neu-Ulm). DNP-Asparaginsäure wurde nach der in Lit. [19] gegebenen Vorschrift hergestellt. Wasser wurde über ein Waters Millipore System Q (Eschborn) aufgereinigt.

Vorbereitung der Kapillarsäulen und Trennungen: Die Trennungen wurden in Fused-silica-Kapillaren mit 50 cm effektiver Länge, 67 cm Gesamtlänge und einem Innendurchmesser von 50 μm durchgeführt. Die Cyclopeptidbibliotheken c(DFXXXa), c(RKXXXa) und c(RMXXXa) (6.6 mg mL^{-1}) wurden in Phosphatpuffer (pH 7.4, 20 mM) gelöst, so daß eine Endkonzentration von 10 mM vorlag. Die Lösungen wurden über einen Filter mit 45 μm Porengröße (Macherey-Nagel, Düren) filtriert. Die Kapillaren wurden zuerst 15 min mit 0.1 N NaOH und dann jeweils 10 min mit Wasser und Puffer gespült. Diese Behandlung wurde nach jedem fünften Lauf wiederholt, um an der Kapillaroberfläche adsorbierte Peptide zu entfernen. Die Injektionen erfolgten hydrodynamisch oder elektrokinetisch. Je nach verwendeter Peptidbibliothek wurden $+20$ kV oder -10 kV Spannung angelegt. Die DNP-Aminosäuren wurden bei 340 nm und die Trögersche Base bei 260 nm detektiert.

Die Trennung der Enantiomere wurde durch Einzelinjektionen der reinen Enantiomere überprüft und die Abfolge der eluierten Enantiomere wurde durch Spiking des Racemats mit den einzelnen Enantiomeren bestimmt. Der Trennfaktor α ergibt sich aus $\alpha = t'_{R2}/t'_{R1}$, wobei t'_{R1} die Migrationszeit des ersten und t'_{R2} die des zweiteluierten Enantiomers ist. Wasser wurde zur Bestimmung der Totzeit injiziert.

Eingegangen am 22. November 1995 [Z 8577]
Auf Wunsch der Autoren erst jetzt veröffentlicht

Stichworte: Chiralität · Enantiomerentrennung · Kapillarelektrophorese · Kombinatorische Chemie · Peptide

- [1] V. Schurig, H.-P. Nowotny, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 969; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 939.
- [2] V. Schurig in *Bioflavon '87* (Hrsg.: P. Schreier), de Gruyter, Berlin, **1987**, S. 35.
- [3] a) *Combinatorial Peptide and Nonpeptide Libraries* (Hrsg.: G. Jung), VCH, Weinheim, **1996**; b) J. Früchtel, G. Jung, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 19; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 17.
- [4] K. Jinno, Y. Saito, Y.-L. Chen, G. Luehr, J. Archer, C. J. Fetzer, W. R. Biggs, *J. Microcolumn. Sep.* **1993**, *5*, 135.
- [5] S. Busch, J. C. Kraak, H. Poppe, *J. Chromatogr.* **1993**, *635*, 199.
- [6] Y. Ishimama, Y. Oda, N. Asakawa, Y. Yoshida, T. Sato, *J. Chromatogr.* **1994**, *666*, 193.
- [7] D. Wistuba, H. Diebold, V. Schurig, *J. Microcolumn. Sep.* **1995**, *7*, 17.
- [8] L. Valcheva, G. Pettersson, S. Hjerten, *J. Chromatogr.* **1993**, *638*, 263.
- [9] D. W. Armstrong, Y. Tang, S. Chen, Y. Zhou, C. Bagwill, J. R. Chen, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 1473.
- [10] D. W. Armstrong, K. Rundlett, G.-L. Reid, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 1690.
- [11] R. Kuhn, D. Riester, B. Fleckenstein, K.-H. Wiesmüller, *J. Chromatogr.* **1995**, *716*, 371.
- [12] B. Chankvetadze, G. Endresz, G. Blaschke, *Electrophoresis (Weinheim Fed. Repub. Ger.)* **1994**, *15*, 804.
- [13] S. Allenmark, S. Andersson, *J. Chromatogr.* **1994**, *666*, 167.
- [14] K.-H. Wiesmüller, S. Feiertag, B. Fleckenstein, S. Kienle, D. Stoll, M. Herrmann, G. Jung in Lit. [3a], S. 203.
- [15] G. Jung, A. G. Beck-Sickinger, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 375; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 367.
- [16] J. W. Metzger, K.-H. Wiesmüller, V. Gnau, J. Brünjes, G. Jung, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 901; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 894.
- [17] J. W. Metzger, C. Kempter, K.-H. Wiesmüller, G. Jung, *Anal. Biochem.* **1994**, *219*, 261.
- [18] S. Feiertag, K.-H. Wiesmüller, G. J. Nicholson, G. Jung in *Peptides. Structure, Chemistry and Biology*, Proc. 14th Am. Pept. Symp. (Hrsg.: P. T. P. Kaumaya, R. S. Hodges), Mayflower Scientific, Kingswinford, Großbritannien, **1996**, im Druck.
- [19] K. R. Rao, H. A. Sober, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 1328.

Bis(guanidinium)-Alkohole als Modelle der Staphylokokken-Nuclease: Substratbindung über Ionenpaarkomplexe und schnelle Phosphoryl-Übertragungsreaktionen**

Marc-Steffen Muche und Michael W. Göbel*

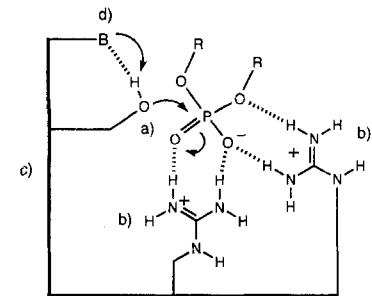
In memoriam Wolfgang Oppolzer

Seit einiger Zeit beschäftigen wir uns mit der Synthese einfacher, nicht-peptidischer Moleküle, die strukturelle und funktionelle Aspekte der Staphylokokken-Nuclease modellieren sollen^[1-2]. Das aktive Zentrum dieses Enzyms enthält zwei Arginyl-

[*] Prof. Dr. M. W. Göbel, Dipl.-Chem. M.-S. Muche
Département de Chimie Organique, Université de Genève
30 quai Ernest-Ansermet, CH-1211 Genève 4 (Schweiz)
Telefax: Int. + 22 328 7396
E-mail: Michael.Goebel@chiorg.unige.ch

[**] Diese Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie, von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung gefördert. André Pinto und Philippe Kamalapriya danken wir für die Aufnahme der ³¹P-NMR-Spektren.

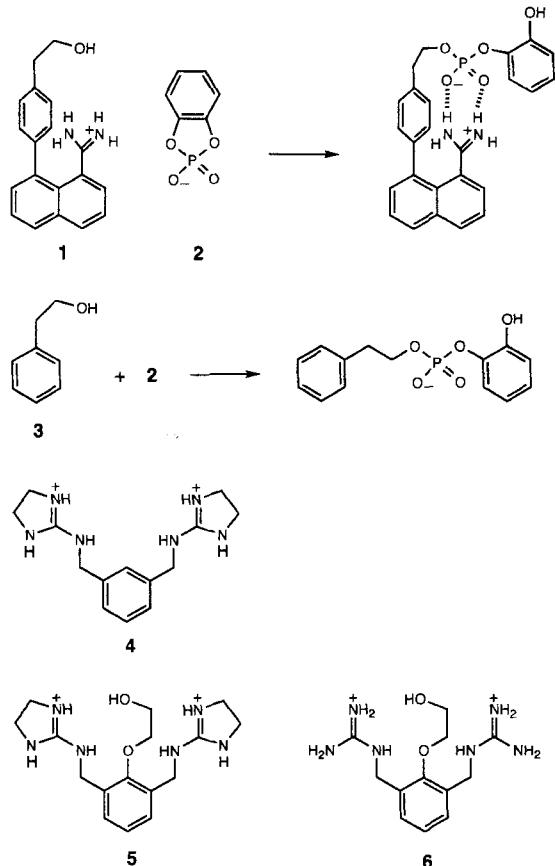
Einheiten, die zusammen mit einem Calcium-Ion die elektrophile Aktivierung von Phosphodiester-Substraten für eine Hydrolyse bewirken^[3]. Wichtig ist hierbei vor allem die optimale Komplexierung der Substrate in den trigonal-bipyramidalen Übergangszuständen durch die Guanidinium-Gruppen^[4]. Schema 1 zeigt als Arbeitshypothese, wie sich metallfreie



Schema 1. Bauprinzip einer synthetischen Phosphodiesterase. a) Nucleophil; b) Guanidinium-Ionen zur elektrostatischen Stabilisierung der Übergangszustände sowie zur Protonierung der Abgangsgruppe; c) verknüpfendes Molekülgerüst; d) Base zur Aktivierung des Nucleophils (noch nicht realisiert).

„synthetische Phosphodiesterasen^{[5-6]a} nach dem Vorbild der Staphylokokken-Nuclease konstruieren lassen sollten.

Da eine Übersetzung von Schema 1 in konkrete chemische Strukturen nicht einfach ist, haben wir uns dem Problem in Teilschritten genähert und zu Beginn die Phosphorylierung monokationischer Alkohole vom Typ **1** untersucht^[2a, d, e]. **1** assoziiert reversibel mit Phosphodiestern zu Ionenpaarkomplexen, in denen eine rasche Phosphoryl-Übertragung auf die Hydroxygruppe erfolgt. **1** wird durch das Cyclophosphat **2** 2700mal



schneller phosphoryliert als der ungeladene Alkohol **3**^[2a, d]. Die Beschleunigung erklärt sich nicht allein aus der räumlichen Nähe von Nucleophil und Substrat im Ionenpaar (**1** · **2**). Hinzu kommt eine elektrophile Aktivierung durch die Koordination