

Chirale Erkennung von Naturstoffen an optisch aktiven Polysiloxanen

Chiral Recognition of Natural Products on Optically Active Polysiloxanes

Ernst Bayer*

Institut für Organische Chemie der Universität Tübingen,
Auf der Morgenstelle 18, D-7400 Tübingen 1

Z. Naturforsch. **38b**, 1281–1291 (1983); eingegangen am 8. August 1983

Polysiloxanes, Enantiomers, Racemization

Polysiloxanes with chiral peptide side chains have been synthesized and used as stationary phases in gas chromatography. With these phases amino acid enantiomers can be separated as N-acyl esters. Due to temperature stability up to 230 °C all protein amino acids can be separated and the racemization of synthetic biologically active peptides controlled. The phases can be used to assign the absolute configuration of amino acids. A variety of other classes of compounds can be separated into their enantiomers using the chiral polysiloxanes, like hydroxy acids, sulfoxides, phosphorous compounds, glycols, atrop isomers, amines and alcohols. Various applications of these phases are described including investigations of enantiomer selectivity in nature.

Eine der bemerkenswertesten Erscheinungen der belebten Natur ist die Selektivität natürlicher Enzyme und Rezeptoren für ein bestimmtes Enantiomer. Die Evolution dieser Bevorzugung eines Bildes gegenüber seinem Spiegelbild in der Natur liegt auch heute noch im dunkeln. In der synthetischen Chemie ist eine der Natur vergleichbare Selektivität bisher nur in Einzelfällen mit großem Aufwand zu erzielen gewesen. Diese Enantioselektivität ist bisher als Beispiel für die allgemeine Selektivität von Enzymen angesehen worden und hat für die Biochemie den Charakter eines Dogmas. Cornforth [1] hat allerdings kürzlich darauf hingewiesen, daß es eigentlich an genauen Methoden fehlt, um die Enantiomerelektivität von Enzymen nachzuweisen. Er hat die gängigen Bestimmungsmethoden für die Reinheit von Enantiomeren und deren Genauigkeit entsprechend Tab. I angegeben.

Dies trifft letzten Endes auch für die Bestimmung der Enantiomerreinheit von natürlichen und

vor allem synthetischen Polypeptiden zu. Wenn man unterstellt, daß auch biologisch aktive Peptide nur als die richtigen Spiegelbilder voll wirksam sind, kommt der Bestimmung der Enantiomerreinheit besondere Bedeutung zu. Bei synthetischen Polypeptiden, die therapeutisch verwendet werden, ist die Kontrolle des Gehalts an unerwünschtem Enantiomer um so wichtiger, weil nicht vorausgesagt werden kann, ob das falsche Enantiomer nicht nur unwirksam, sondern vielleicht gar toxisch ist. Bei synthetischen Arzneimitteln wird einer unterschiedlichen biologischen Aktivität von Enantiomeren noch zu wenig Aufmerksamkeit geschenkt. So hätten die Schwierigkeiten bei Contergan (Thalidomid) vermieden werden können. Ein Enantiomer weist die Schlafmittelwirksamkeit auf, während der optische Antipode die tragischen Mißbildungen hervorruft [2]. Ein anderes Beispiel für unterschiedliche biologische Wirkung von Enantiomeren ist D-Penicillamin, bei dem das L-Enantiomer stark toxisch ist. Gerade bei langen Behandlungsperioden mit D-Penicillamin ist die Prüfung auf toxische Anteile des L-Enantiomers sehr wichtig [3].

Bei unseren Arbeiten über die Liquid-Phase-Synthese von Peptiden [4] war die Kontrolle der Enantiomerreinheit der Syntheseprodukte wichtig. Denn bei allen stufenweisen Synthesen gibt es keine Zwischenreinigungen und es können sich auch Peptidsequenzen mit falschen Enantiomeren bilden, die nicht mehr abgetrennt werden können. Aber auch bei klassischen Synthesen mit Zwischenreinigungen

Tab. I. Methoden zum Nachweis der Stereospezifität nach [1].

Methode	Genauigkeit
Polarimetrie	$\pm 1 - 5\%$
Enzymatische Methoden	$\pm 0,1 - 1\%$
Diastereomere Derivate	$\pm 0,1 - 10\%$
An- oder Abwesenheit von Isotopen	$\pm 0,1 - 1\%$
Messung Isotopengehalt	$\pm 0,02 - 10\%$

* Festvortrag anlässlich der Verleihung der Max-Bergmann-Medaille, Oktober 1981.

0340-5087/83/1000-1281/\$ 01.00/0

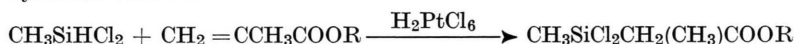
können Schwierigkeiten auftreten. Wenn nicht auf Razemisierung kontrolliert wird, kann sich bei Reinigungsoperationen sogar das falsche Diastereomer anreichern.

Dies war Anlaß für uns, Methoden auszuarbeiten, mit denen alle in Proteinen vorkommenden Aminosäureenantiomere getrennt und leicht quantitativ bestimmt werden können. Neben der Anwendung in der Peptidsynthesekontrolle war auch Motiv dieser Arbeiten, die Enantioselektivität natürlicher Systeme experimentell zu überprüfen. Gewählt haben wir als Methode die gaschromatographische Direktbestimmung. Für analytische Arbeiten hat die Gaschromatographie gegenüber der Flüssigkeitschromatographie den Vorteil, daß die Detektion empfindlich, über mehrere Zehnerpotenzen linear und in Form der Kapillarchromatographie am trennwirksamsten unter allen chromatographischen Verfahren ist. Die Direktbestimmung ist gegenüber der Bestimmung als Distereomere genauer, da sie kein chirales Hilfsreagens definierter Enantiomerreinheit erfordert. Bei der Direktbestimmung wird zwar eine chirale Phase benötigt. Es ist für die Trennung aber im Gegensatz zur Diastereomermethode unerheblich, ob die Phase optisch rein ist. Es müssen nur so viele chirale Zentren vorhanden sein, daß zwischen Substrat und Phase genügend Wechselwirkung und damit ein genügend großer Trennfaktor zustande kommt.

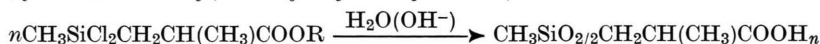
Vor unseren Arbeiten war keine gaschromatographische Phase, die eine Trennung aller Proteinamino-säureenantiomere erlaubt hätte, verfügbar. Es gab die wegweisenden Untersuchungen von Gil-Av [5, 6], der als Phasen Peptide und Ureide vorgeschlagen hat. Wegen zu geringer Thermostabilität dieser Phasen war es jedoch nicht möglich, alle Proteinamino-säuren zu bestimmen. Auch die in der Folgezeit berichteten Variationen dieser Gil-Avschen Phasen [7–9] waren nicht im notwendigen Temperaturbereich von 60–200 °C flüssig und thermostabil.

Zusammen mit Frank und Nicholson [10–16] ist mit der Synthese chiraler Polysiloxane eine Lösung des Problems gelungen, die weit über die Peptidchemie hinaus von Bedeutung geworden ist. Diese Arbeiten zur Synthese chiraler Polysiloxane standen im Zusammenhang mit Arbeiten über die Funktionalisierung von synthetischen Polymeren durch Peptideinheiten, mit dem Ziel, biomimetisch die Selektivität von Enzymen nachzuahmen und für die synthetische organische Chemie nutzbar zu machen [17, 18]. Auch die durch Peptide funktionalisierten Polysiloxane sind als Grundpolymere für Katalysatoren verwendbar. Hier soll aber deren Anwendung zur chiralen Erkennung und zur Trennung von Aminosäuren interessieren. Der erste Schritt war die Synthese, die im nachfolgenden Schema (Abb. 1) wiedergegeben ist. Wichtig ist

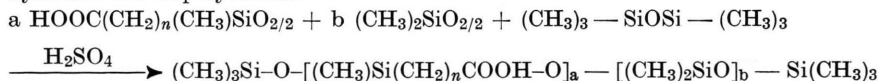
1. Synthese vom Dichlorsilanmonomeren:



2. Synthese von Poly(carboxyalkylmethylsiloxan):



3. Synthese des Copolymeren:



4. Kopplung einer chiralen Aminosäure oder eines Peptids an Polysiloxan:

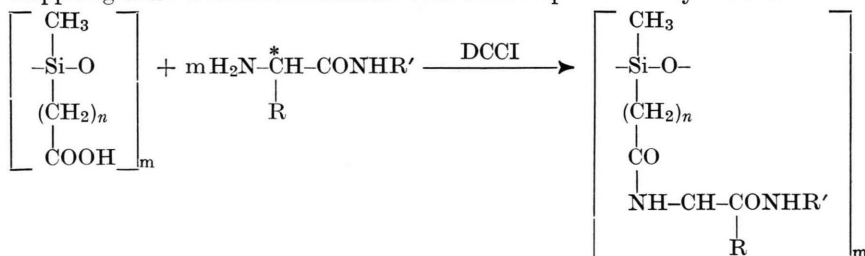


Abb. 1. Syntheseschema für chirale Polysiloxane.

hierbei, daß der gemittelte, scheinbare Abstand der Funktionen optimal einstellbar ist. An die Amino- oder Carboxylgruppen eines solchen Polyorganosiloxans können nun nach den Methoden der Peptidkupplung Aminosäuren und Peptide geknüpft werden. Das funktionalisierte Polysiloxan kann auch aus im Handel erhältlichen Polysiloxanen hergestellt werden, wobei die Endstufe der Peptidkupplung identisch ist [19, 20]. Die Totalsynthese der Polysiloxane erlaubt jedoch eine größere Variationsbreite zur Darstellung.

Besonders bewährt haben sich Polysiloxane mit Valinamid-Einheiten als chiraleten Zentrum, wie z. B. die in Abb. 2 angegebene Valin-*tert*-butylamidphase, die unter dem Namen Chirasil-Val bekannt geworden ist [10–16].

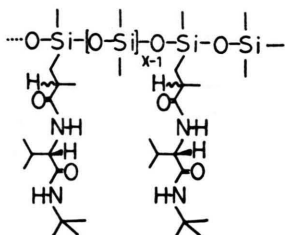


Abb. 2. Dimere Einheit des chiralen Polysiloxanes Chirasil-Val.

Dem mittleren Abstand der chiralen Zentren im Polymer kommt besondere Bedeutung zu. Bewährt haben sich mittlere Abstände von 11 Einheiten. Bei geringeren Abständen verschlechtern sich die Trennungen. Das Silikon kristallisiert, da die Peptidseitenketten miteinander in Wechselwirkung treten. Bei zu großem Abstand ist die Zahl der Wechselwirkungsstellen im Molekül zu gering, und es resultiert ein zu kleiner Trennfaktor. Der mittlere Abstand sagt nichts über die molekulare, statistische Verteilung der Gruppen aus, die in Abb. 3 zu sehen ist.

Aus dieser statistischen Verteilung geht hervor, daß nicht zu erwarten ist, daß alle Gruppen in Wechselwirkung treten können. Wenn man die Synthese richtig durchführt, erhält man Phasen, die bis 230 °C temperaturstabil sind und mit denen alle L-Proteinamino-säuren und ihre Enantiomere zur Basislinie mit Kapillarsäulen als N-Acyl-Aminosäureester getrennt werden können (Abb. 4). Damit kann die Enantiomereinheit von Amino-

säuren überprüft und weniger als 0,1% eines „falschen“ Enantiomers bestimmt werden. Wenn wir zu Peptiden übergehen, tritt jedoch eine zusätzliche Komplikation auf. Bevor die Razemisierung der einzelnen Aminosäuren bestimmt werden kann, muß das Peptid hydrolysiert werden. Bei der Hydrolyse treten geringe Razemisierungen auf und es wird schwierig zu entscheiden, ob nun der Aminosäurerest schon im Peptid racemisiert war oder erst bei der Hydrolyse. Es gibt zwei Wege, um dies exakt festzustellen.

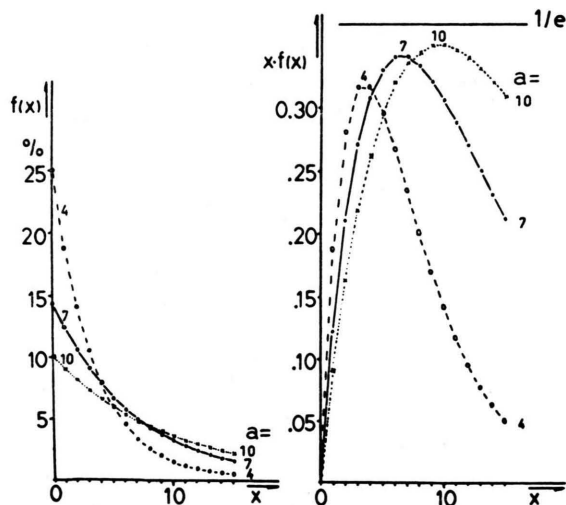


Abb. 3. a) Prozentuale Häufigkeit $f(X)$ der Abstände x der funktionellen Gruppen. b) Beitrag $f(X)$ der einzelnen Abstände zum mittleren Abstand a , nach [31].

Man kann die Inversionskonstanten in saurem Medium bestimmen und dann auf den Zeitpunkt 0 extrapolieren. Dies ist in Abb. 5 wiedergegeben. Bei Abwesenheit von D-Aminosäuren geht die Kurve durch den 0-Punkt. Auch die relativen Inversionskonstanten sind informativ. Asparaginsäure, Prolin und Glutaminsäure razemisieren in saurem Medium am schnellsten, Serin, Valin und Tryptophan am langsamsten. Wenn nun Peptide unter gleichen Bedingungen wie reine Aminosäuren sauer behandelt und dabei gleichzeitig hydrolysiert werden, erhält man die gleiche Kurvenneigung. Allerdings gehen die Kurven nicht durch den 0-Punkt, wenn in einem synthetischen Peptid durch Razemisierung D-Aminosäuren anwesend sind. Auf diese Weise lassen sich Razemisierungen feststellen [21].

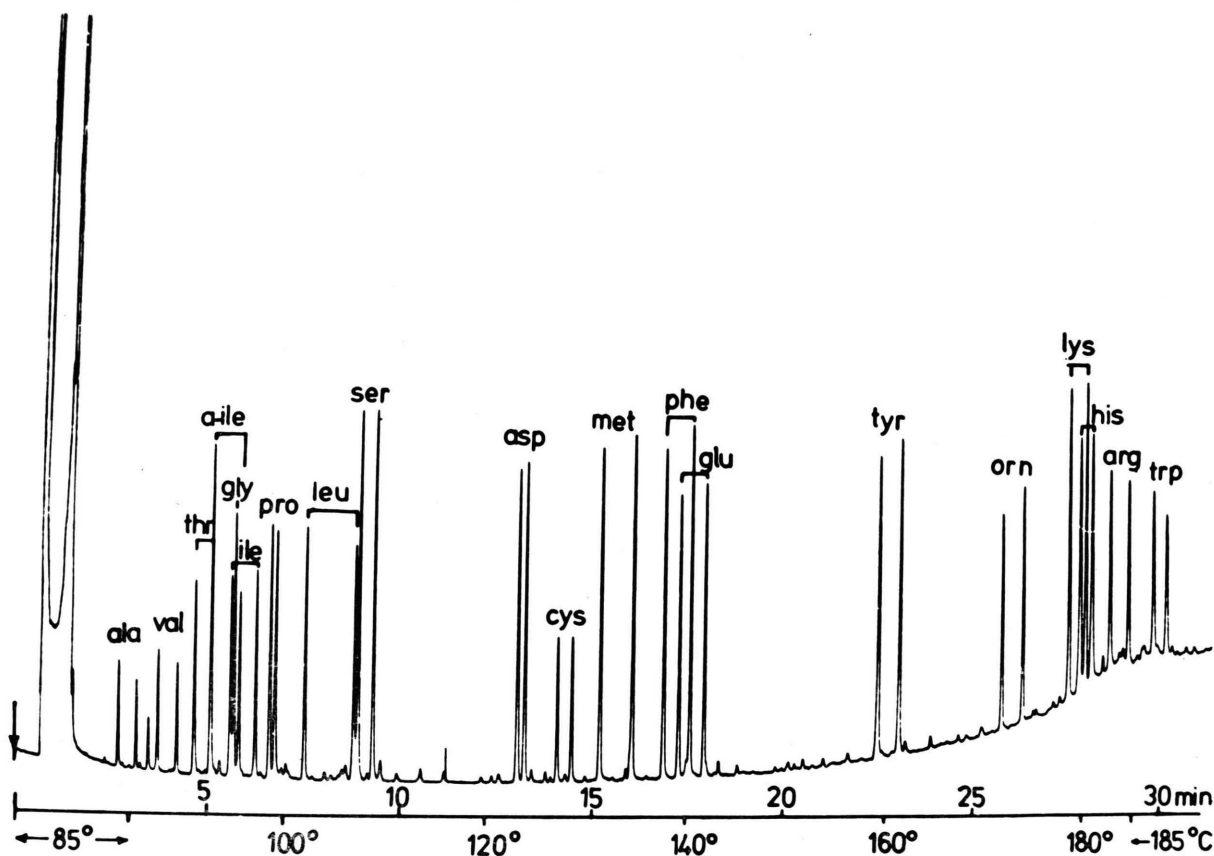


Abb. 4. Trennung eines Gemisches racemischer Proteinamino-säuren als N,O,S-Pentafluorpropionyl-isopropyl-ester; Histidin als N^{im}-Ethoxycarbonylderivat. Säule: 20 m × 0,27 mm Duran-50-Glaskapillare, imprägniert mit Chirasil-Val. Druck 0,35 bar, Trägergas Wasserstoff. Detektor FID. Das D-Enantiomer eluiert jeweils vor dem L-Enantiomer.

Um sehr genaue Analysen synthetischer Peptide zu erhalten, sollte allerdings immer auch das natürliche Peptid vergleichend untersucht werden. Denn auch bei natürlichen Peptiden können bei manchen Aminosäuren Abweichungen auftreten, wie in Abb. 6 für Insulin gezeigt wird. Man könnte dies so interpretieren, daß auch im natürlichen Peptid ein geringer Gehalt des falschen Enantiomers anwesend wäre. Da bei Proteinen bisher keine Abweichungen von der Enantiomerreinheit berichtet wurden, ist eine solche Deutung unwahrscheinlich. Daher wurden weitere Untersuchungen notwendig, da zu vermuten war, daß die Inversionskonstanten sich während der Reaktion ändern, besonders in der Anfangsphase der Hydrolyse. Tatsächlich wird bei einigen Aminosäuren im Peptidverband in der Anfangsphase eine weit größere Razemisierung festgestellt als bei freien Amino-

säuren. Schon Neuburger [22] hat auf die Möglichkeit hingewiesen, daß „Protein-gebundene“ Aminosäuren schneller als freie racemisieren könnten ohne dies experimentell verifizieren zu können. Mit der entwickelten Methode können solche Razemisierungsvorgänge in Peptidverbänden erstmals exakt verfolgt werden.

Neben diesen vergleichenden kinetischen Messungen der Inversionskonstanten der freien Aminosäuren und Peptid-gebundener Aminosäurereste kann ein ursprünglich vorhandener Anteil D-Enantiomer auch durch saure Hydrolyse in D₂O/DCI und anschließende gaschromatographische Trennung an Chirasil-Val und massenspektrometrische Bestimmung des Deuterium:Wasserstoff-Verhältnisses am α -Kohlenstoff der jeweiligen Aminosäure unterschieden werden [23].

Nun wollen wir die Razemisierungsstudien ver-

lassen und eine weitere Anwendungsmöglichkeit von Chirasil-L-Valinamiden zeigen.

Bei Siloxanen, die L-Aminosäurereste als chirales Zentrum enthalten, erscheint die D- vor der L-Form im Chromatogramm. Man kann daher die Phasen zur Zuordnung der absoluten Konfiguration bei Aminosäuren verwenden, ein relativ einfaches Verfahren. Dies hat z. B. Anwendung gefunden bei der Strukturaufklärung von Antibiotika durch Jung und Mitarb. [24]. In Peptidantibiotika konnte so Isovalin die R-Konfiguration zugeordnet und auch für eine Reihe von Antibiotika die Konfiguration als R-Isovalin richtiggestellt werden [24].

Chirasil-Val ist weit über die Peptidanalysen hinaus von Bedeutung geworden und viele Verbindungsklassen wie Hydroxysäuren [27, 30], Glykole [24], Zucker [25], Amine, Alkohole [26, 29], chirale Phosphor- und Schwefelverbindungen [28, 29] lassen sich trennen, so daß diese chiralen

Siloxane ein weites Feld für Enantiomertrennungen bei Naturstoffen und Arzneimitteln eröffnen.

Es gibt keine chromatographische Phase, mit der so viele unterschiedliche chirale Verbindungsklassen getrennt werden können wie mit Chirasil-Val. Abb. 7–11 verdeutlichen dies am Beispiel der Trennung von chiralen S-Oxiden [28], Glykolen [11, 31], Atropisomeren [11, 31], Hydroxysäuren [27, 30, 31], dem Methylester des Antibiotikums Phosphinotricin [29], der neben dem chiralen C-Atom auch einen chiralen Phosphor enthält sowie alicyclischer Alkohole [29]. Diese Trennungen können alle an Polysiloxanen mit L-Valin-*tert*-butylamid als optisch aktivem Zentrum durchgeführt werden. Andere Aminosäure- bzw. Peptidreste sowie andere Aminokomponenten an Stelle des *tert*-Butylamids bringen geringfügige Verschiebungen der Selektivität, sind aber nicht notwendig. Günstiger ist oft die Veränderung der Polarität des Silikons durch Copolymerisation mit z. B. Cyanosiloxanen, Phenylsiloxanen oder achiralen Säureamiden [32].

Die chiralen Polysiloxane können auch als Modelle für Rezeptor-Substrat-Komplexe dienen. Am Beispiel von Sympatomimetika sei dies angeführt, der 1-Phenyl-2-amino-ethanol und -propanol. Die Trennungen sind in Abb. 12 wiedergegeben. Bei diesen Verbindungen läßt sich die chirale Erken-

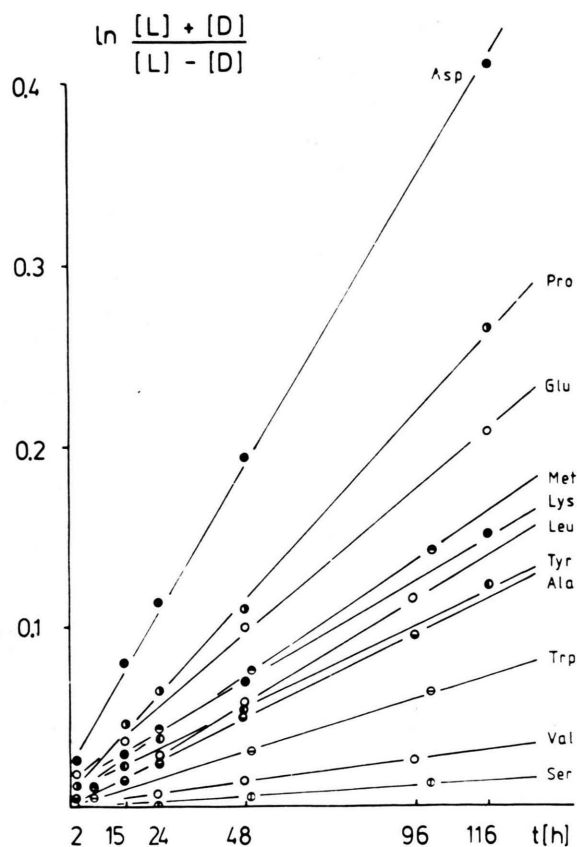


Abb. 5. Zeitabhängigkeit der Razemisierung von L-Aminosäuren in 6 N HCl bei 110 °C.

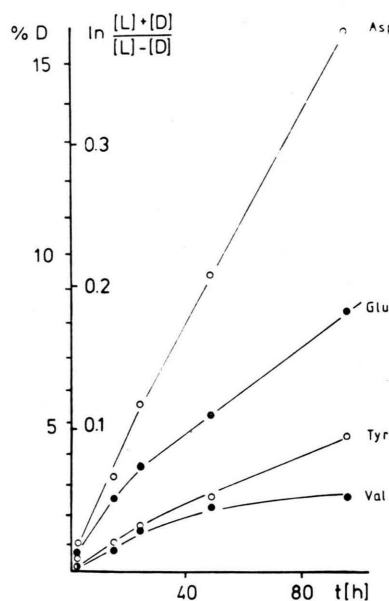


Abb. 6. Razemisierung von Aminosäuren bei saurer Hydrolyse von Insulin mit 6 N HCl bei 110 °C.

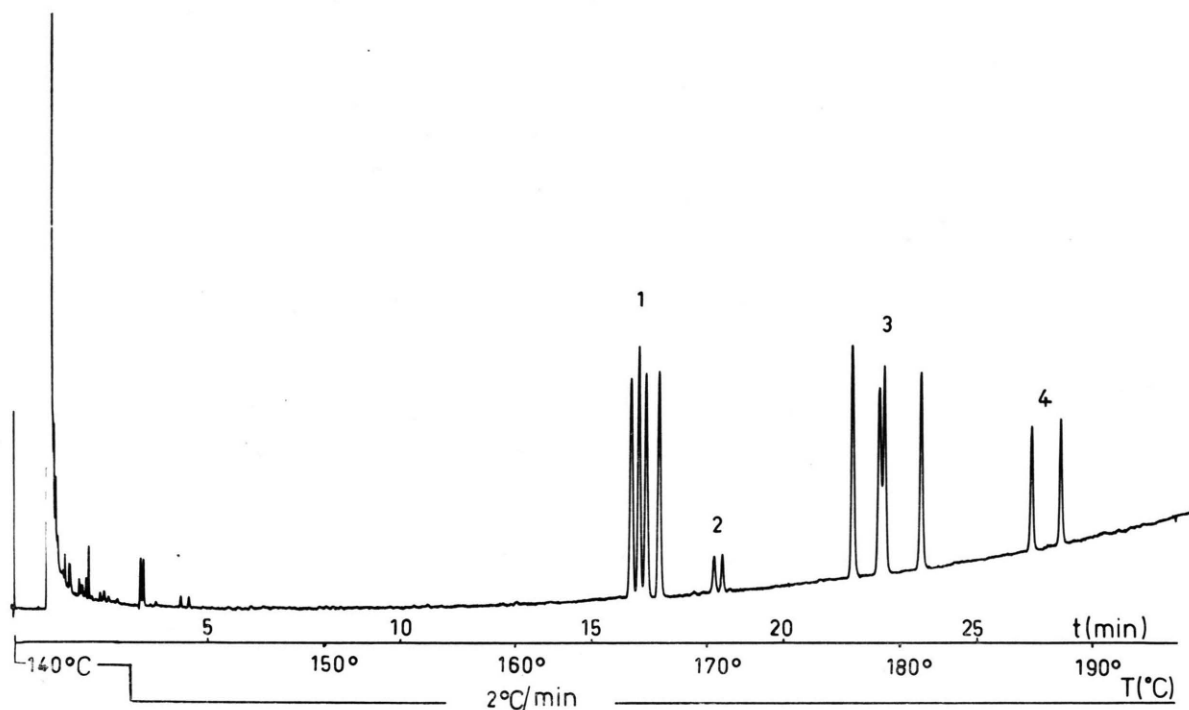


Abb. 7. Trennung der Enantiomeren- und Diastereomerenpaare von 1 = 2-Methylmethionin-S-oxid (Reihenfolge: R, R; S, R; R, S; S, S); 2 = 2-Methylmethionin-S-dioxid; 3 = Methionin-S-oxid; 4 = Methionin-S-dioxid als N-Pentafluorpropionyl-methylester. Quarzkapillare (20 m $\times$ 0,25 mm). P = 0,4 bar H_2 .

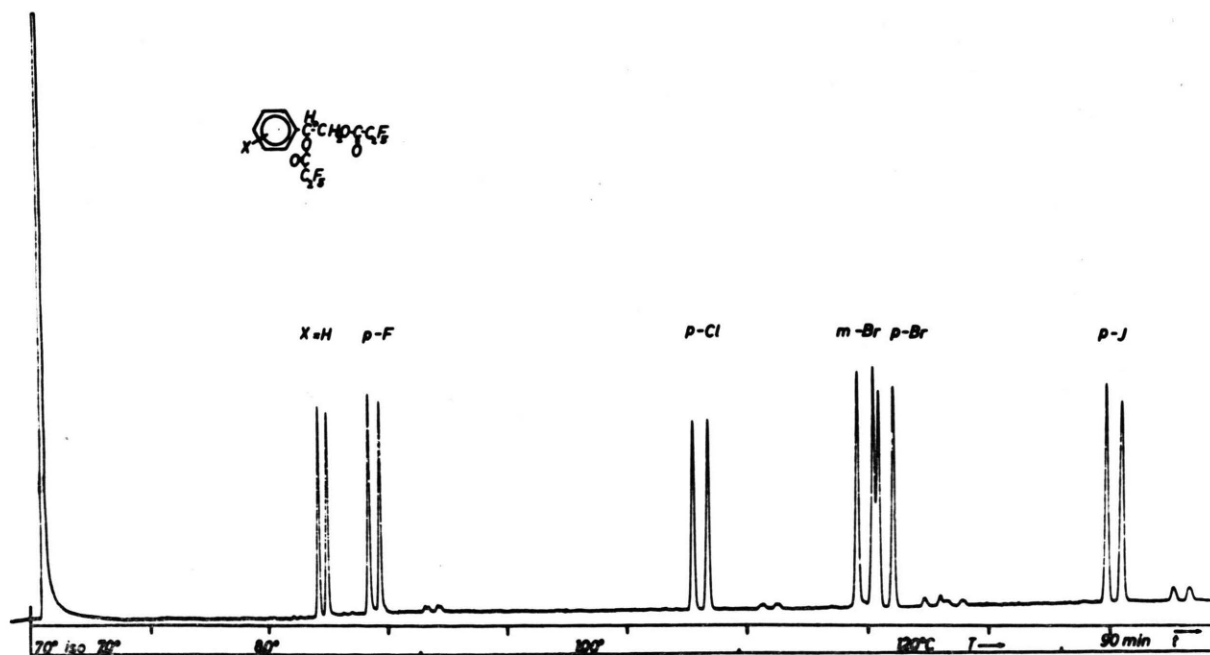


Abb. 8. Trennung von enantiomeren Arylglycolen als Trifluoressigsäureester. Säule wie in Abb. 4. Temperaturprogramm: 6 min isotherm bei 70 °C, dann 0,8 °C/min. Das S- eluiert jeweils vor dem R-Enantiomer.

nung an den Polysiloxanen mit L-Valin-*tert*-butylamid mit der pharmakologisch festgestellten Aktivität direkt korrelieren [10, 26]. Die aus den gaschromatographischen Daten errechneten Entropie- und Enthalpiedaten der Wechselwirkung mit Chirasil-Val gehen parallel mit der pharmakologisch festgestellten Aktivität (Abb. 13). Hier liegt ein weites Feld für Modellstudien der Rezeptorwirkung mittels synthetischer Peptidpolymere. Dazu ist es notwendig, Informationen über die Konformation der am Polysiloxan gebundenen Peptideinheit sowie des bei der chiralen Erkennung des Substrats gebildeten Komplexes zu erhalten.

Im Gegensatz zu Proteinen ist bei Chirasil-Val das Peptid in einem relativ beweglichen Polymer gebunden. Die Peptidgruppe kann daher potentiell mit vielen Substrattypen in Wechselwirkung treten, wobei sich verschiedene Konformationen ausbilden können. Diese Potenz zur Ausbildung ver-

schiedener Konformationen wird auch durch die Trennbarkeit sehr unterschiedlicher chiraler Verbindungstypen deutlich. In Proteinen ist eine rigide Konformation ausgebildet und dadurch wird die höhere Selektivität erreicht. Die geringere Se-

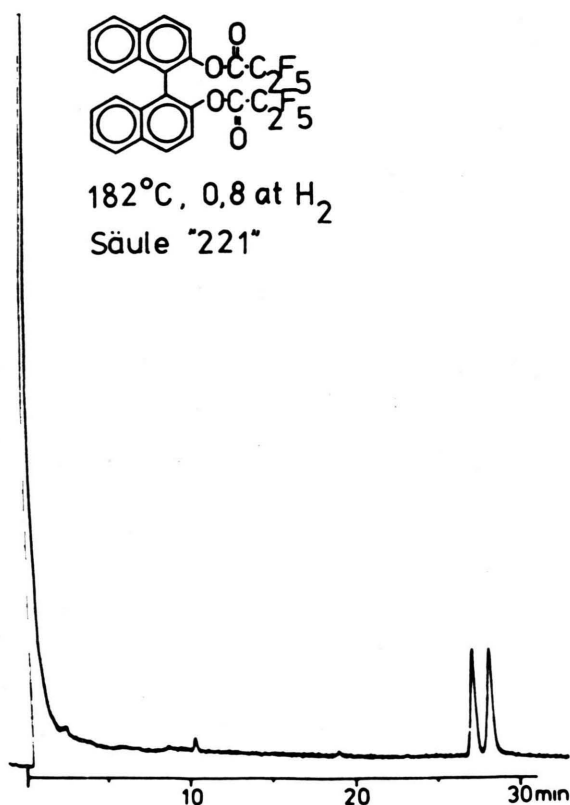


Abb. 9. Trennung der atropisomeren 2,2'-Diamino-1,1'-binaphthyle als N-Trifluoracetyl-derivate. Säule wie Abb. 4. Trenntemperatur isotherm 179 °C. Das R- eluiert vor dem S-Enantiomer.

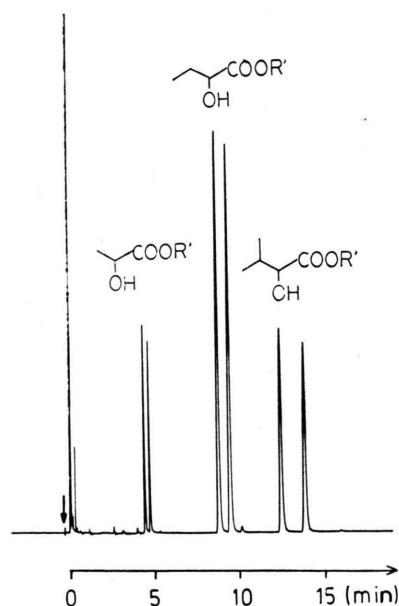


Abb. 10. Trennung von enantiomeren 2-Hydroxysäuren als 3-Pentylester bei 50 °C isotherm. Säule: Quarzkapillare (20 m × 0,25 mm) belegt mit Chirasil-Val.

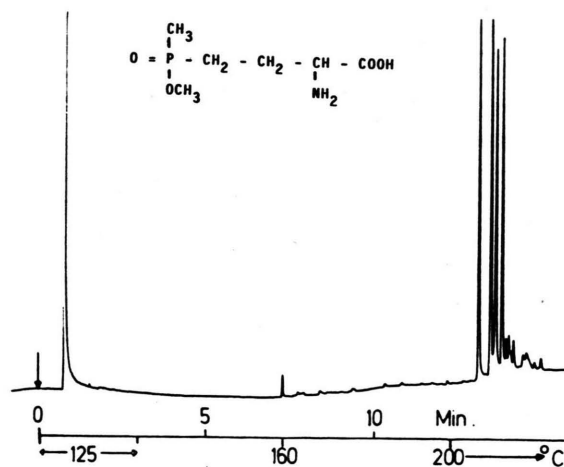


Abb. 11. Trennung der enantiomeren und diastereomeren Phosphinotricin-PO-Methylester als N-Pentafluorpropionyl-isopropylester. Säule wie in Abb. 4. Temperaturprogramm 3 min 125 °C isotherm, dann 8 °C/min bis 200 °C.

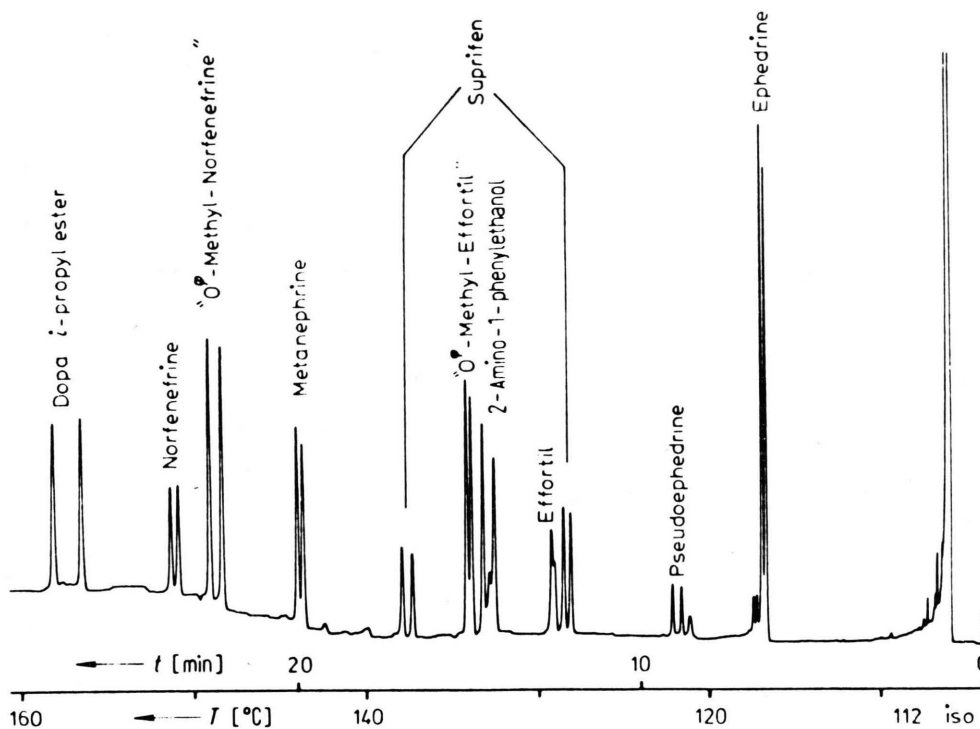


Abb. 12. Gaschromatographische Trennung der Enantiomeren- und Diastereomerenpaare von Metaboliten und Arzneimitteln als N,O-Perpentafluorpropionyl-Derivate. Säule wie Abb. 4.

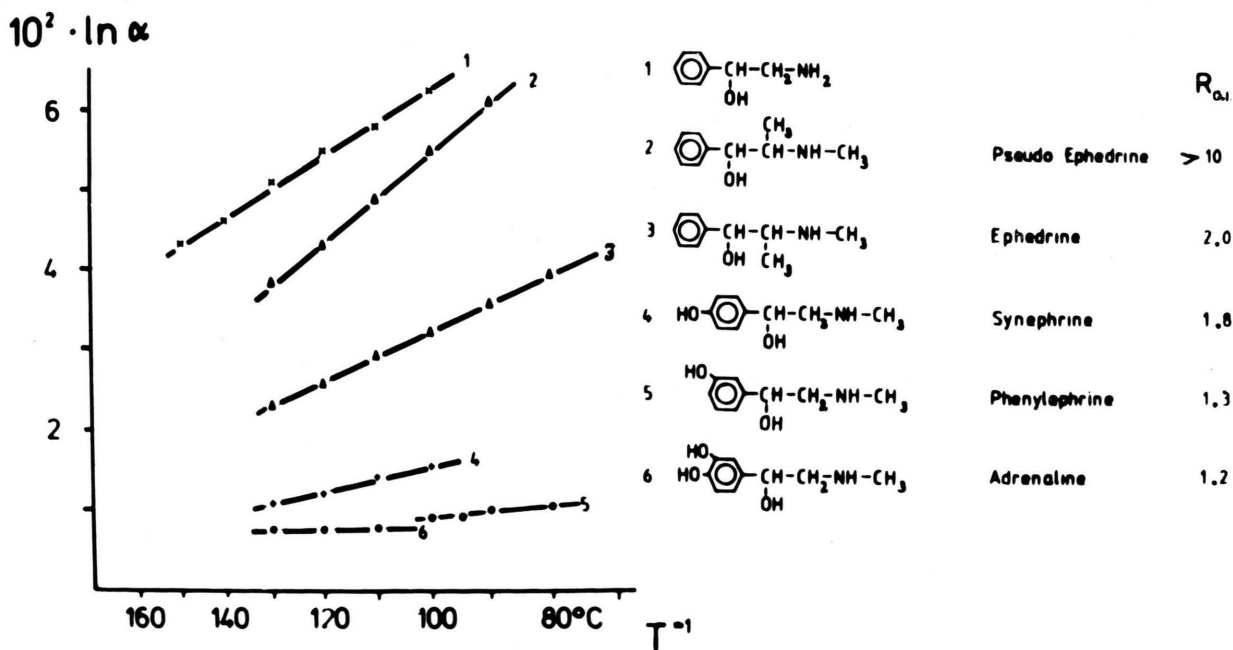


Abb. 13. Temperaturabhängigkeit der gaschromatographisch ermittelten Trennfaktoren α von Enantiomeren von Sympathicomimetika und Korrelation mit andrenerger Wirkung R_{ci} .

lektivität des Chirasil-Val hat jedoch den Vorteil, daß mit einem Aktivzentrum die Wechselwirkung mit unterschiedlichsten Substraten festgestellt werden kann. Bei der Einwirkung des Substrats auf das synthetische Polymerpeptid wird nach dem Mechanismus eines „induced fit“, unter Beteiligung von ein oder zwei Seitenketten des Polymers ein Assoziationskomplex gebildet. In Analogie zu einfachen Dipeptiden haben wir für die Wechselwirkung von Chirasil-Val mit α -Hydroxy- und α -Aminosäurederivaten die Ausbildung von Faltblattstrukturbezirken unter Interkalation der Aminosäure bzw. Hydroxysäure zwischen zwei Peptidseitenketten angenommen (s. Abb. 14). Solche Strukturen sind jedoch bei den Phenylethylaminen unwahrscheinlich. Sie sind noch unwahrscheinlicher bei den Glykolen, deren Trennung in Abb. 8 und 9 wiedergegeben ist.

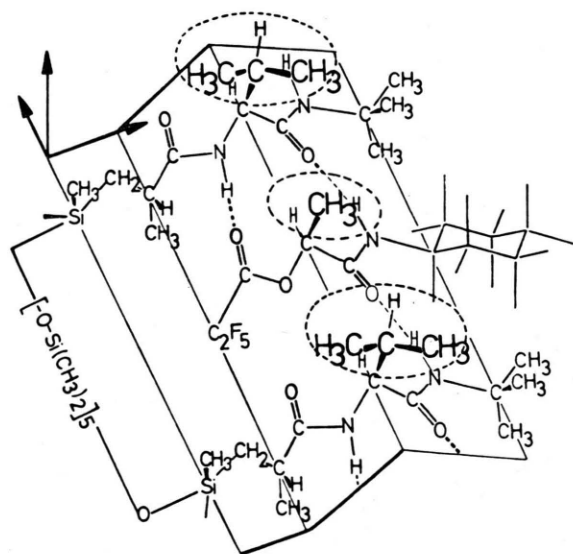


Abb. 14. Faltblattstruktur eines Assoziats von Chirasil-L-Val mit *o*-Pentafluorpropionyl-L-milchsäure-cyclohexylamid.

Wenn man die Wechselwirkungen mit Chirasil-Val verstehen will, kann man die bevorzugten Konformationen von Valinderivaten betrachten. Nach statistischer Auswertung der Konformation von Valinresten in Proteinen [33] und nach Berechnungen [34, 35] liegen Valinamide bevorzugt in β -Faltblatt- oder *R*- α -Helix-Strukturen, mit einer deutlichen Bevorzugung letzterer Konformation, vor [31].

Die *R*- α -Konformation der Peptidseitenkette von Chirasil-Val ist in Abb. 15 wiedergegeben. Eine *R*- α -Helix eignet sich besonders gut zur Wechselwirkung mit Diestern und Dicarbonylverbindungen [31]. In der *R*- α -Helix weisen die beiden NH-Donorfunktionen in die gleiche Richtung und schließen einen negativen Diederwinkel C-C² ein. Sie können mit Diestern Wasserstoffbrücken bilden mit einer nahezu parallelen Anordnung (Abb. 16). Es kann daher angenommen werden, daß bei den Diestern bzw. Dicarbonylverbindungen die Peptidseitenkette des Chirasil-Val zu einer *R*- α -Konformation im diastereotopen Zustand der Wechselwirkung von Selektor und Selektand induziert wird, während bei der Wechselwirkung mit Aminosäuren bzw. Hydroxysäuren β -Strukturen induziert werden. Mit diesen Modellen kann die Vielfalt der Wechselwirkungen von Chirasil-Val erklärt werden.

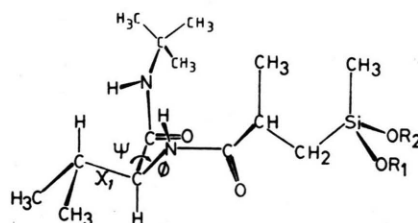


Abb. 15. *R*- α -Helix-Konformation der chiralen Seitenkette von Chirasil-Val nach [31].

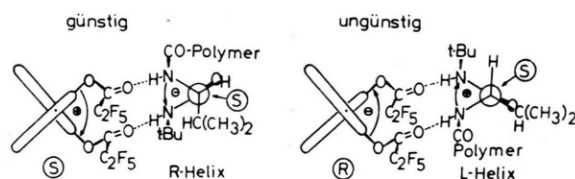


Abb. 16. Assoziat der enantiomeren 2,2'-Binaphtholdi(pentafluorpropionate) mit Chirasil-Val, seitliche Betrachtung [31].

Doch wollen wir nochmals zur Frage zurückkehren, wie enantioselektiv die Natur ist. Mit Chirasil-Val ist eine genaue und schnelle gaschromatographische Methode zur quantitativen Bestimmung der Enantiomerenreinheit bei verschiedensten Substanzklassen möglich.

Bei einer anderen Problemstellung ergab sich die Notwendigkeit, möglichst reine Enantiomere von Phenylalkoholen und Phenylglykolen herzustellen

[31]. In der Annahme, daß Mikroorganismen einen einfacheren Zugang zu diesen Enantiomeren ergäben als Synthesen, wurden eine Reihe Acetophenonderivate mit Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* umgesetzt. Die Alkoholdehydrogenase der Hefe sollte diese Umsetzungen bewerkstelligen. In Tab. II sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen wiedergegeben. In allen Fällen wird zwar die Bevorzugung eines Enantiomers festgestellt. Die Enantiomerreinheit schwankt jedoch sehr stark.

Tab. II. Enantiomerausbeute, bevorzugter Antipode und $\Delta\Delta G^*_{298}$ -Werte bei der Reduktion von Acetophenonderivaten $C_6H_5CO-CH_2X$ mit Bäckerhefe.

Substituent X	Bevorzugt gebildeter Antipode	Enantiomer- ausbeute [% ee]	$\Delta\Delta G^*_{298}$ [kcal/Mol]
-H	S	73 $\pm$ 3	1,1 $\pm$ 0,08
-OCOCH ₃	S	85 $\pm$ 3	1,5 $\pm$ 0,13
-OH	R	99,19 $\pm$ 0,08	3,26 $\pm$ 0,06

Bei der Umsetzung von α -Hydroxyacetophenon zum Glykol konnte die höchste Enantioselektivität festgestellt werden, während der aus Acetophenon

gebildete Alkohol erhebliche Anteile des „falschen“ Enantiomers aufwies. Auch die Beeinflussung der Enantioselektivität durch verschiedene Substituenten im Phenylring ist bemerkenswert. Orientierende Versuche weisen darauf hin, daß auch bei Umsetzungen mit isolierter Alkoholdehydrogenase ebenfalls keine reinen Enantiomeren entstehen. Diese Untersuchungen legen nahe, daß auch die Natur nicht immer enantioselektiv ist. Sicher bedarf diese Beobachtung der weiteren Vertiefung, die nun mit den entwickelten Methoden möglich ist. Auch wenn die hier verwendeten Substrate nicht die natürlichen Substrate des Enzyms sind, läßt sich zumindest folgern, daß eine starre Anordnung der substratbindenden Stellen in diesem Enzym nicht vorliegen kann. Dafür spricht auch, daß LADH mit vielen sterisch sehr unterschiedlich aufgebauten Substraten reagiert [36, 37].

Mit Hilfe der Gaschromatographie an chiralen Polysiloxanen ist eine einfache und exakte Methode der Bestimmung der Enantiomerenreinheit von vielen Naturstoffen möglich geworden, die auch die Untersuchung der Enantioselektivität von Organismen und Enzymen erlaubt.

- [1] J. Cornforth in W. Bartmann und G. Snatzke (Herausg.): *Structure of Complexes between Biopolymers and Low Molecular Weight Molecules*, S. 1, John Wiley, New York 1982.
- [2] H. Ockenfels und F. Kohler, *Experientia* **26**, 1236 (1970).
- [3] H. Frank, G. J. Nicholson und E. Bayer, *J. Chromatogr.* **146**, 197 (1978).
- [4] E. Bayer und M. Mutter, *Nature (London)* **237**, 512 (1972).
- [5] E. Gil-Av, B. Feibush und R. Charles-Sigler, in A. B. Littlewood (Herausg.): *Gas Chromatography 1967*, S. 227, Institute of Petroleum, London 1967.
- [6] E. Gil-Av, R. Charles-Sigler, G. Fischer und D. Narok, *J. Gas Chromatogr.* **4**, 51 (1966).
- [7] W. König, W. Parr, H. Lichtenstein, E. Bayer und J. Oro, *J. Chromatogr. Sci.* **8**, 177 (1970).
- [8] U. Beitler und B. Feibush, *J. Chromatogr.* **123**, 149 (1976).
- [9] W. Parr, J. Pleterski, C. Yang und E. Bayer, *J. Chromatogr. Sci.* **9**, 141 (1971).
- [10] H. Frank, G. J. Nicholson und E. Bayer, *J. Chromatogr. Sci.* **15**, 174 (1977).
- [11] H. Frank, G. J. Nicholson und E. Bayer, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **17**, 363 (1978).
- [12] H. Frank, G. J. Nicholson und E. Bayer, *J. Chromatogr.* **167**, 187 (1978).
- [13] H. Frank, A. Rettenmeier, H. Welcker, G. J. Nicholson und E. Bayer, *Anal. Chem.* **54**, 715 (1982).
- [14] E. Bayer, *Acta Pharm. Suecica* **19**, 58 (1981).
- [15] H. Frank, A. Rettenmeier, H. Weicker, G. J. Nicholson und E. Bayer, *Clinica Chim. Acta* **105**, 201 (1980).
- [16] H. Frank, A. Eimiller, H. H. Kornhuber und E. Bayer, *J. Chromatogr.* **224**, 177 (1981).
- [17] E. Bayer und G. Holzbach, *Angew. Chem.* **89**, 120 (1977).
- [18] E. Bayer und V. Schurig, *Chem. Technology* **6**, 212 (1976).
- [19] W. A. König und I. Benecke, *Angew. Chem.* **94**, 709 (1982).
- [20] T. Saeed, P. Sandra und M. Verzele, *J. Chromatogr.* **186**, 611 (1979).
- [21] H. Frank, W. Woiwode, G. J. Nicholson, und E. Bayer, *Liebigs Ann. Chem.* **1981**, 354.
- [22] A. Neuberger, *Adv. Protein Chem.* **4**, 297 (1948).
- [23] W. Woiwode, H. Frank, G. J. Nicholson und E. Bayer, *Chem. Ber.* **111**, 3711 (1978).
- [24] H. Brückner, G. J. Nicholson, G. Jung, K. Kruse und W. A. König, *Chromatographia* **13**, 209 (1980).
- [25] W. A. König, I. Benecke und H. Bretting, *Angew. Chem.* **93**, 688 (1981).
- [26] E. Bayer und H. Frank in C. E. Caraher und M. Tsuda (Herausg.): *Modification of Polymers*, S. 341, American Chemical Society, Washington 1980.
- [27] B. Koppenhöfer, H. Allmendinger, G. J. Nicholson und E. Bayer, *J. Chromatogr.* **260**, 63 (1983).
- [28] E. Küsters. Dissertation, Universität Tübingen 1983.

- [29] D. Thumm, Dissertation, Universität Tübingen 1980.
- [30] J. Gerhardt, Diplomarbeit, Universität Tübingen 1981.
- [31] B. Koppenhöfer, Dissertation, Universität Tübingen 1980.
- [32] E. Bayer und H. Frank, US-Pat. Nr. 4387 206 (1983).
- [33] S. Tanaka und H. Scheraga, *Macromolecules* **10**, 9 (1977).
- [34] B. Maigret, D. Perahia, und B. Pullman, *Biopolymers* **10**, 491 (1971).
- [35] E. M. Popov, G. M. Lipkind, S. F. Arhkipova, und V. G. Dashevskii, *Mol. Biol.* **2**, 622 (1968).
- [36] C. I. Bränden, H. Jörnvall, H. Eklun und B. Furugren in P. D. Boyer (Herausg.): *The Enzymes*, 3rd ed. Vol. XI, Academic Press, New York 1975.
- [37] H. Dutler, *Biochem. Soc. Trans.* **5**, 617 (1977).