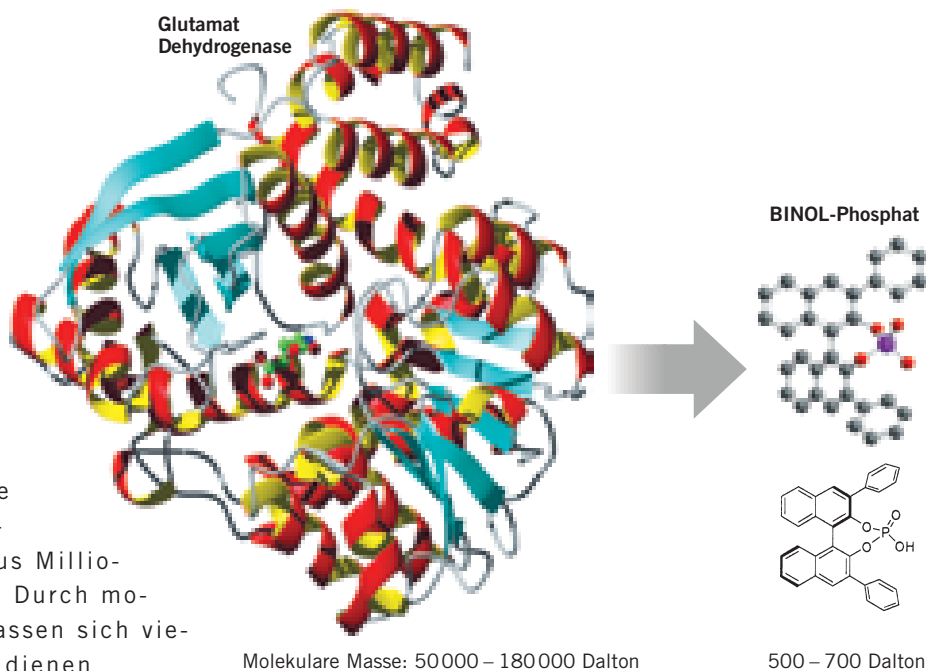


# Von der Natur lernen

## Enzyme als Vorbild für die moderne Katalysatorforschung

Von Magnus Rueping und Boris J. Nachtsheim

Die Suche nach neuen Katalysatoren ist einer der wichtigsten Forschungszweige der Chemie. Die effizientesten Katalysatoren – die Enzyme – wurden allerdings nicht von Wissenschaftlern entwickelt, sondern sind aus Millionen Jahren Evolution hervorgegangen. Durch moderne Strukturaufklärungsmethoden lassen sich viele Enzyme in die Karten schauen und dienen Chemikern als Blaupause für neue synthetische Katalysatoren. Diese zeichnen sich dadurch aus, dass sie wesentlich besser zugänglich und robuster sind als ihr natürliches Vorbild. Mit diesem biomimetischen Ansatz gelang es uns erstmals, die Glutamat-Dehydrogenase nachzuahmen. Dadurch vereinfacht sich die industrielle Synthese von Aminen, die wichtige Bausteine für Naturstoffe und Pharmazeutika sind. Auch auf die Herstellung von Antibiotika lässt sich dieses Prinzip übertragen.



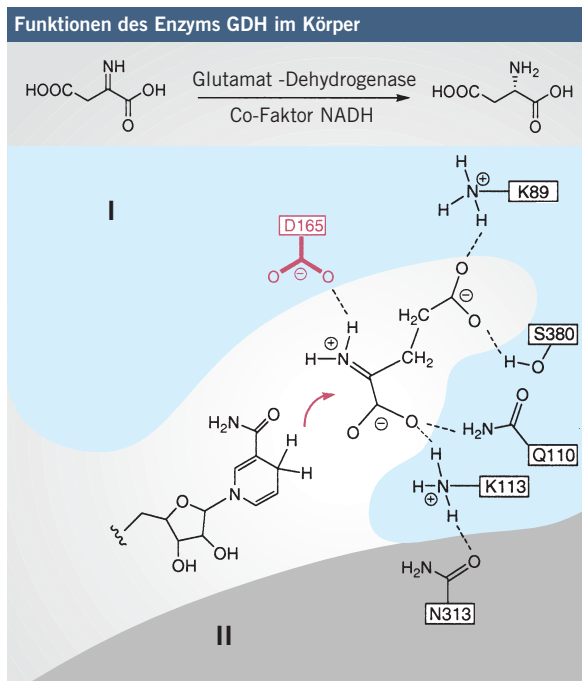
**K**atalyse ist die Beschleunigung eines langsam verlaufenden chemischen Vorgangs durch die Gegenwart eines fremden Stoffes.« Dieses elementare Prinzip der Chemie wurde bereits 1894 von dem späteren Nobelpreisträger Wilhelm Ostwald erkannt. Heute, rund hundert Jahre später, lassen sich Chemiker bei der Suche nach neuen Katalysatoren durch Enzyme inspirieren: Das sind Proteine, die in Lebewesen biochemische Reaktionen katalysieren, und zwar zeitlich und mengenmäßig genau abgestimmt auf den Bedarf des Organismus. Viele Enzyme sind dabei so effizient, dass die Geschwindigkeit, mit der eine bestimmte Reaktion katalysiert wird, nur davon abhängt, wie schnell die jeweiligen Reaktionspartner in das aktive Zentrum des Enzyms diffundieren (Diffusionskontrolle). Das aktive Zentrum ist dabei der Ort innerhalb des Enzyms, in dem der katalytische Reaktionsschritt stattfindet. Außer dem aktiven Zentrum besteht ein Enzym aus weiteren Untereinheiten, die hauptsächlich der Strukturgebung und der Regulation dienen. Die Struktur gebenden Untereinheiten dienen im Enzym dazu, das aktive Zentrum zu formen und die für die Katalyse benötigten funktionellen Gruppen (Aminosäuren) in die richtige räumliche Position zu bringen. Mit den Regulationsuntereinheiten, die durch sekundäre Botenstoffe kontrolliert werden, ist es dem Enzym möglich, das aktive Zentrum je nach Bedarf ein- und auszuschalten.

### Metallfreie Katalyse – Die Glutamat-Dehydrogenase als Modellbeispiel

Obwohl bereits einige Verfahren existieren, die Enzyme gezielt für die industrielle Synthese von Grund- und Spezialchemikalien einsetzen, gestaltet sich der Umgang mit den empfindlichen und hoch spezialisierten biologischen Molekülen häufig als schwierig. Viele Enzyme sind substratspezifisch, temperaturlabil und nur in Wasser löslich, was deren großtechnischen Nutzen einschränken kann. Da ein synthetisch hergestellter Katalysator gezielt und effizient einen Stoff A in einen Stoff B umwandeln soll, werden weder die im Enzym enthaltenen regulatorischen noch die Struktur gebenden Untereinheiten benötigt. Es sollte daher also in einem biomimetischen, den biologischen Prozess nachahmenden Ansatz möglich sein, ein Enzym durch einen nachgebauten synthetischen Molekülkatalysator zu ersetzen. Dieser Katalysator sollte die für den katalytischen Prozess benötigten funktionellen Gruppen beinhalten und in der Lage sein, ein großes Substratspektrum zu tolerieren. Zudem sollte er unter optimalen Reaktionsbedingungen höchste Effizienz aufweisen.

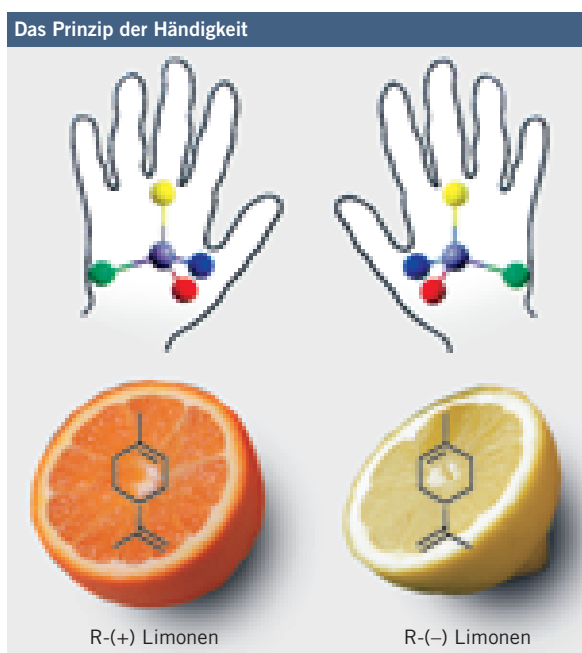
Wie ein natürlich vorkommendes Enzym funktioniert, soll am Beispiel der Glutamatdehydrogenase (GDH) erläutert werden, die ein essenzieller Bestandteil des Stickstoffzyklus im menschlichen Körper ist. GDH

**1** Modell der im aktiven Zentrum der Glutamat-Dehydrogenase (GDH) ablaufenden Reduktion. Interessant ist die Aktivierung des Imins (C=NR) durch einen Protonenübertrag vom Aspartat D165, ohne die eine Hydridübertragung vom NADH auf Ammonium-alpha-Ketoglutarat nicht stattfinden würde. Der anschließende Hydridtransfer vom NADH ergibt die Aminosäure.



gehört zur Enzymklasse der Oxidoreduktasen. Dieses Enzym katalysiert die Reaktion von Ammonium-alpha-Ketoglutarat und NADH zur Aminosäure Glutamat und NAD<sup>+</sup>. Der Cofaktor NADH dient dem menschlichen Körper hierbei als Wasserstoffquelle **1**. Im Zentrum des katalytischen Prozesses der GDH steht die Aktivierung des Imins (C=NR) durch einen Protonenübertrag von dem Aspartat D165 auf das Imin unter Ausbildung eines Iminium-Ions. Der anschließende Hydridtransfer vom NADH ergibt die Aminosäure. Ohne diese Aktivierung durch das Aspartat ist eine Hydridübertragung vom NADH auf Ammonium-alpha-Ketoglutarat kinetisch gehemmt, die Reaktion fände nicht statt. Durch die Ausbildung von weiteren Kontaktionenpaaren wird das Imin des alpha-Ketoglutarates so in der chiralen Enzymtasche positioniert, dass nur eine bestimmte Konfiguration der Aminosäure Glutamat entstehen kann, nämlich das L-Enantiomer.

**2** Darstellung der Händigkeit (Chiralität) am Beispiel von (+) und (-)-Limonen. Das R-Enantiomer riecht kräftig nach Orangen, während das S-Enantiomer einen zitronigen Duft hat. Der Grund: R-Limonen bindet an einen anderen Rezeptor als das S-Analoge.



## Das Prinzip der Händigkeit

Der Begriff Chiralität stammt aus dem Griechischen und bedeutet wörtlich übersetzt Händigkeit. Trägt ein Molekül ein Chiralitätszentrum, so trägt es an diesem Atom vier verschiedene Reste. Hier gibt es zwei Möglichkeiten, wie sich diese vier Reste zueinander anordnen können. Diese zwei möglichen Konformationen nennt man Enantiomere, sie verhalten sich wie Bild und Spiegelbild und sind durch Drehung nicht zur Deckung zu bringen. Chemisch sind die Enantiomere identisch, dennoch können sie sich – aufgrund ihrer unterschiedlichen Bindungseigenschaften an bestimmte Enzyme oder Rezeptoren – in ihrer Wirkung auf den menschlichen Körper deutlich unterscheiden. So riecht das R-Enantiomer des Duftstoffes Limonen kräftig nach Orangen, während das S-Enantiomer einen zitronigen Duft hat **2**. Der Grund: R-Limonen bindet an einen anderen Rezeptor als das S-Analoge. (Als Beispiel: Wenn sich zwei Menschen die Hand geben, dann können sie sich beide entweder die rechte oder die linke Hand geben; hält einer dagegen die rechte und der andere die linke Hand hin, kann es zu keinem Handschlag kommen **3**.)



**3** Wenn sich zwei Menschen die Hand geben, dann können sie sich beide entweder die rechte oder die linke Hand geben. Hält einer dagegen die rechte und der andere die linke Hand hin, so kann es zu keinem Handschlag kommen. Ebenso ist es bei der Synthese von Enantiomeren durch ein Enzym mit chiralem Zentrum: Es kann entweder das Bild oder das Spiegelbild des Moleküls entstehen.

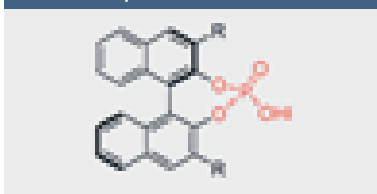
Ein anderes Beispiel ist die Aminosäure Phenylalanin, die in ihrer natürlichen L-Form bitter und in ihrer S-Form süß schmeckt. Es ist daher essenziell für viele pharmazeutische Wirkstoffe, Agrochemikalien oder Lebensmittelzusätze, dass sie in enantiomeren-reiner Form (das heißt ausschließlich das S- oder R-Enantiomere) verwendet werden, was eine gezielte Synthese der Enantiomere (asymmetrische Synthese) unbedingt notwendig macht.

Die Synthese von Enantiomeren wird dadurch erschwert, dass ihre chemischen Eigenschaften identisch sind. Befinden sich nicht chirale Ausgangssubstrate (prochirale Substrate, wie das Imin) allerdings in einem chiralen Medium, so kann dessen räumliche Struktur Chiralität-induzierend wirken, und nur eines der beiden Enantiomere wird hergestellt. In einem Enzym wird dies durch die chiralen L-Aminosäuren gewährleistet. Im Falle der GDH entsteht aus dem nicht chiralen Ammonium-alpha-Ketoglutarat ausschließlich die chirale Aminosäure L-Glutamat. Hier wird die Bildung des L-Enantiomers durch das chirale aktive Zentrum des Enzyms induziert.

## Von der Natur abgeschaut: Die erste biomimetische, Säure-katalysierte Reduktion

Nimmt man sich die GDH zum Vorbild, so sollte es möglich sein, durch den Einsatz kleiner chiraler Säuren – auf gleichem Weg wie das Aspartat in der GDH – Imin (C=NR-Funktionen) zu aktivieren. Hierbei gilt es allerdings, einige Dinge zu beachten. Zunächst muss die Säure die richtige Säurestärke besitzen. Ist sie zu stark, so kommt es zwar zu einer anfänglichen Aktivierung des Substrats, allerdings ist die Bindung zwischen Substrat und Katalysator in diesem Fall so stark, dass dessen Regeneration nicht mehr möglich ist und keine weitere

### R-Binol Phosphat



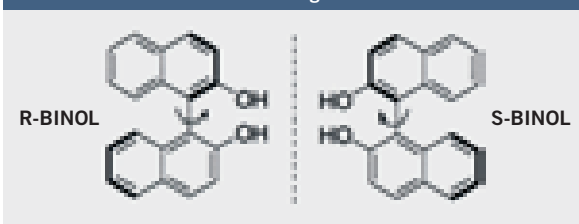
4 Struktur eines chiralen BINOL-Phosphates.

Reaktion mehr stattfinden kann. Ist die Säure zu schwach, so findet keine Protonierung (Aktivierung) statt, und das Imin ist für eine spätere Hydridübertragung nicht genügend reaktiv. Des Weiteren muss die Säure zusätzlich in eine chirale Umgebung eingebettet sein, um hohe Enantioselektivitäten (R- oder S-Selektivitäten) zu erreichen. Als ideale Kandidaten für die Lösung dieser Probleme erschienen uns BINOL-Phosphate. Hierbei handelt es sich um Phosphorsäuren mit einem pKs-Wert (ein Maß für die Stärke einer Säure) von etwa 1.9, die in die axial chirale Umgebung eines BINOLs ((R)-1,1'-binaphthyl-2,2'-diol) eingebettet sind 4. Die Chiralität beruht hier nicht auf vier unterschiedlich substituierten Kohlenstoffatomen, sondern auf einer Rotationsbarriere zwischen dem oberen und dem unteren aromatischen Ringsystem 5.

Um ausreichend hohe Enantioselektivitäten zu erhalten, muss das BINOL-Gerüst ober- und unterhalb der Phosphorsäure mit sperrigen Resten versehen werden. Der Hydridüberträger soll nur von einer Seite an das Ketimin »andocken« können. Daher muss die andere Seite so gut wie möglich abgeschirmt werden. Als geeigneten Hydridüberträger haben wir in unserem biomimetischen Ansatz an Stelle des NADH in der natürlichen Reaktion das strukturell dem NADH sehr ähnliche Hantzsch-Dihydropyridin gewählt 6.

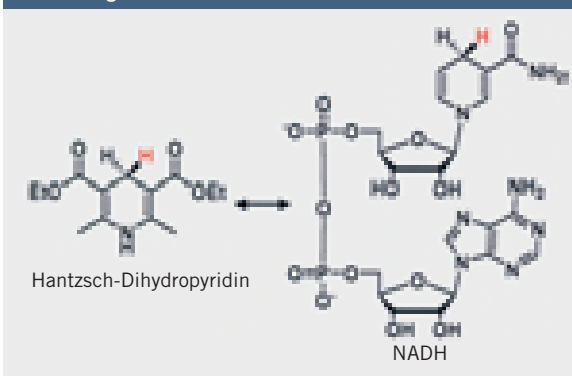
Diesem biomimetischen Ansatz folgend gelang es uns erstmals, die Glutamat-Dehydrogenase nachzuahmen.

### Axiale Chiralität des BINOL-Grundgerüsts



5 Die Chiralität des BINOLs beruht auf einer Rotationsbarriere zwischen dem oberen und dem unteren aromatischen Ringsystem.

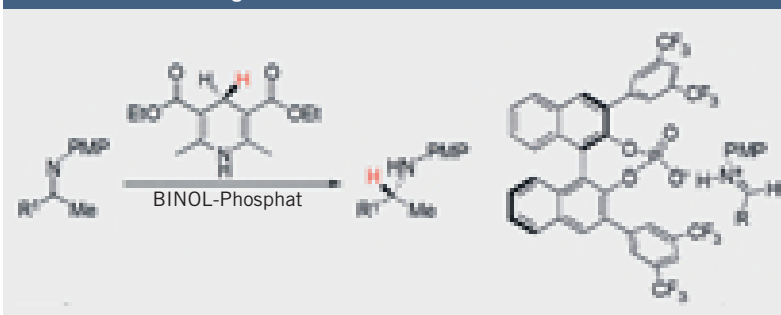
### Strukturvergleich



6 Strukturvergleich zwischen den Reduktionsmitteln Hantzsch-Dihydropyridin und dem Enzym-Cofaktor, NADH. Der zu übertragende Wasserstoff ist hier rot gekennzeichnet.

Die Aktivierung des Ketimins erfolgt in diesem Fall mit Hilfe einer chiralen Säure als Katalysator und dem Hantzsch-Dihydropyridin, einem NADH-Analog, als Hydridquelle 7. Die so erhaltenen Amine sind wichtige Bausteine für Naturstoffe und Pharmazeutika. Der Katalysator erfüllt also eine ähnliche Funktion wie die GDH, ist jedoch wesentlich besser zugänglich und robuster als das Enzym. Bisher waren solche Hydridüber-

### Reduktion und Aktivierung des Imins



tragungen ausschließlich unter hohem Wasserstoffdruck und der Verwendung metallhaltiger Katalysatoren möglich, welche aufgrund der toxischen Eigenschaften für die Wirkstoffsynthese bedenklich sind.

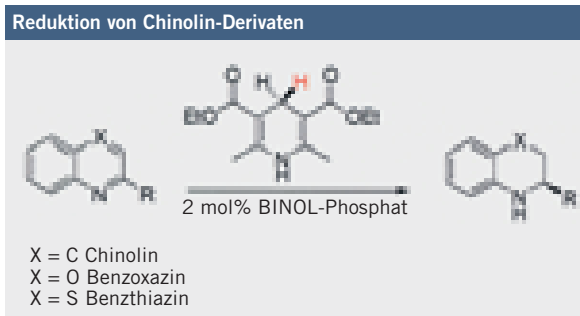
7 Links: Phosphat-katalysierte Reduktion eines Imins. Rechts: Aktivierung des Imins durch den BINOL-Phosphat Katalysator.

## Ein leichter Zugang zu Naturstoffen

Aufbauend auf der Entwicklung dieses neuen Konzepts, der ersten metallfreien Synthese von optisch aktiven Aminen, stellte sich die Frage, inwieweit das Prinzip der Säure-katalysierten Transferhydrierung auf andere Systeme übertragbar ist. Daher entschlossen wir uns, Chinolin-Derivate zu untersuchen, da diese von großem Interesse in der Chemie, Pharmazie und den Materialwissenschaften sind. Prinzipiell sollte also auch hier, durch Protonierung des Heteroaromaten, eine Transferhydrierung ermöglicht werden können. Bisher sind solche Systeme nur unter Verwendung langer Syntheserouten enantiomeren-rein zu erhalten.

Eine direkte metallfreie Hydrierung würde demnach einen großen Fortschritt zum Erlangen der entsprechenden Tetrahydrochinoline aufweisen. Tetrahydrochinoline besitzen ein weit verbreitetes Strukturmotiv, welches in vielen Pharmazeutika, wie zum Beispiel in Flumequine und Levofloxacin, sowie vielen biologisch aktiven Alkaloiden, wie Galipinin, Cusparein und Angusturein, vorkommt. Tatsächlich konnten durch Einsatz von lediglich zwei Mol-Prozent einer chiralen Phos-

8 Bei der Reduktion entstehen die entsprechenden Tetrahydrochinolin-Derivate.



phorsäure verschiedene Chinolinderivate in hohen Enantioselektivitäten und guten Ausbeuten reduziert werden, wodurch ein schneller Zugang zu allen erwähnten Verbindungen möglich ist<sup>13/</sup>. Ein naher Verwandter der Chinoline sind die Benzoxazine (X = O), 8. Hier ist ein Kohlenstoff im Grundgerüst durch ein Sauerstoff ausgetauscht.

Interessanterweise konnten diese, genau wie deren Schwefelderivate, ebenfalls in guten Ausbeuten und Enantioselektivitäten synthetisiert werden. In diesem Fall konnte die Reduktion sogar mit einer sehr geringen Menge von 0.01 Mol-Prozent Katalysator durchgeführt werden, was einem Verhältnis von 10 000 Substrat-Molekülen zu nur einem Katalysator-Molekül entspricht.<sup>14/</sup> Dies ist bis heute die niedrigste Katalysator-

9 Struktur verschiedener Pharmazeutika und Naturstoffe mit einem Tetrahydrochinolin-Grundgerüst, die von großem Interesse in der Chemie, Pharmazie und den Materialwissenschaften sind. Ihre Synthese nach dem biomimetischen Ansatz ermöglicht es, die üblichen langen Syntheserouten abzukürzen und die Produkte in guter Ausbeute enantiomeren-rein zu erhalten.

**Wichtige Pharmazeutika und Naturstoffe**

**Flumequine**

Antibiotikum  
Hemmung der bakteriellen Topoisomerase II

**Levofloxacin**

Antibiotikum  
Wirkung ähnlich dem Flumequine. Nur die S-Form zeigt antibakterielle Wirkung

**(+)-Cusparein**

**(+)-Galipinin**

Alkaloide isoliert aus *Galipea officinalis* (Angostura Baum)  
Cytotoxisch; hohe anti-Malaria-Aktivität

**(-)-Angusturein**

10 Struktur verschiedener Aminosäure-basierter Wirkstoffe, bei denen die jeweiligen Enantiomere völlig unterschiedliche physiologische Eigenschaften zeigen.

Enantiomere und ihre unterschiedlichen Eigenschaften			
	L-Aminosäure	D-Aminosäure	
	<p><b>L-Phenylalnain:</b> Bitterer Geschmack – Zusammen mit der Aminosäure Aspartat Bestandteil des Süßstoffs Aspartam</p>	<p><b>D-Phenylalnain:</b> Süßer Geschmack, Schmerzmittel</p>	
	<p><b>L-Penicillamin:</b> Hochgiftig, mutagen</p>	<p><b>D-Penicillamin:</b> Zur Behandlung rheumatischer Arthritis</p>	
	<p><b>L-Dopa:</b> zur Behandlung von Parkinson</p>	<p><b>D-Dopa:</b> verursacht Granulocytopenie</p>	
	<p><b>L-Methyldopa:</b> Antihypertonika</p>	<p><b>D-Methyldopa:</b> toxisch, Auslöser hämolytischer Anämie</p>	

**Literatur**

<sup>1/1</sup> M. Rueping, C. Azap, E. Sugiono, T. Theissmann, Brønsted acid catalysis: Organocatalytic hydrogenation of imines, *Synlett* 2005, S. 2367.

<sup>1/2</sup> M. Rueping, E. Sugiono, C. Azap, T. Theissmann, M. Bolte, Enantioselective Brønsted acid catalyzed transfer hydrogenation: Organocatalytic reduction of imines, *Organic Letters* 2005, 7, S. 3781.

<sup>1/3</sup> M. Rueping, A. R. Antonchick, T. Theissmann, A highly enantioselective Brønsted acid catalyzed cascade reaction: Organocatalytic transfer hydrogenation of quinolines and their application in the synthesis of alkaloids, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, S. 3683.

<sup>1/4</sup> M. Rueping, A. P. Antonchick, T. Theissmann, Remarkably low catalyst loading in Brønsted acid catalyzed transfer hydrogenations: Enantioselective reduction of benzoxazines, benzothiazines, and benzoxazinones, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, S. 6751.

<sup>1/5</sup> M. Rueping, E. Sugiono, C. Azap, A highly enantioselective Brønsted acid catalyst for the Strecker reaction, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, S. 2617.

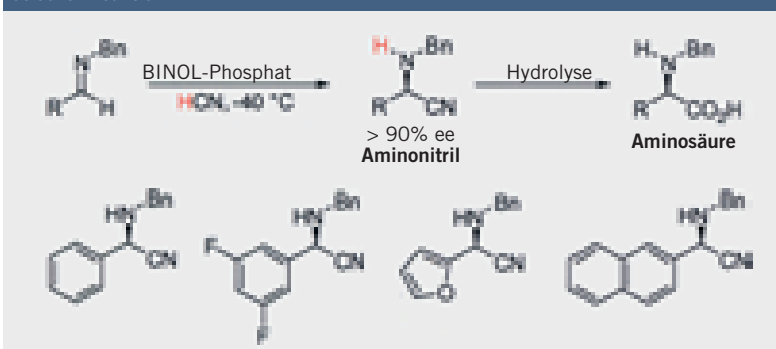
menge, die jemals in einer enantioselektiven Reduktion von Heterozyklen eingesetzt wurde, was das große Potenzial der chiralen BINOL-Phosphate, auch für industrielle Prozesse, verdeutlicht.

## Die Strecker-Reaktion – Direkter Zugang zu Aminosäuren

Enantiomeren-reine Aminosäuren finden breite Anwendung in der chemischen und pharmazeutischen Industrie für die Synthese neuer Wirkstoffe und Spezialchemikalien **10**. Der einfachste Zugang zu Aminosäuren ist die seit über hundert Jahren bekannte Strecker-Reaktion. Hierbei wird Blausäure (HCN) zu Aldiminen oder Ketiminen addiert. Nach Hydrolyse des so erhaltenen Aminonitrils gelangt man direkt zu der gewünschten Aminosäure. Nachdem gezeigt werden konnte, dass chirale Brønsted-Säuren in der Lage sind, verschiedene Iminderivate für eine Wasserstoffübertragung zu aktivieren, sollte es auch möglich sein, andere Nucleophile als Wasserstoff (H<sup>+</sup>), beispielsweise das Cyanid-Anion (CN<sup>-</sup>), an Imine anzulagern.

Durch geeignete Derivatisierung des Katalysators ist es uns gelungen, Aldimine für den nukleophilen Angriff von Cyanid-Anionen zu aktivieren und die gewünschten Aminonitrile und Aminosäuren in hohen Ausbeu-

### Strecker-Reaktion

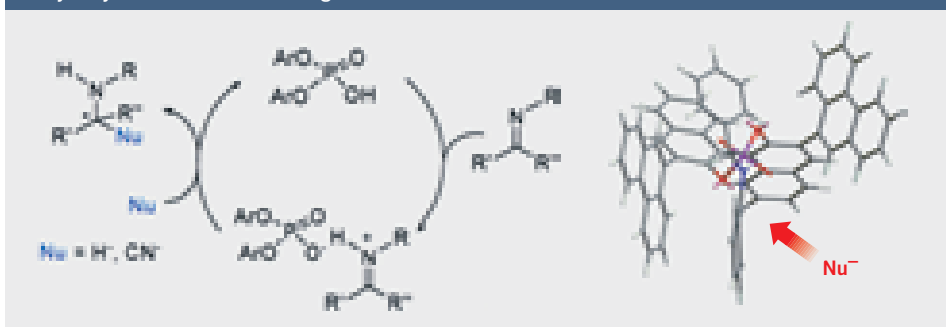


## Weiter in die Schule der Natur gehen

Es gibt zwar mittlerweile viele katalytisch enantioselektive Verfahren zur Herstellung von enantiomeren-reinen Verbindungen, jedoch verlaufen diese lange nicht so effizient, wie es uns die Natur seit Jahrmillionen vormacht. Zudem steigt nahezu täglich der Bedarf an chiralen Substraten, vor allem für die Synthese neuartiger Wirkstoffe, so dass hier immer neue maßgeschneiderte Katalysatoren gefordert werden. Wie unser Beispiel der BINOL-Phosphate zeigt, können biomimetische Ansätze

**11** BINOL-Phosphat katalysierte Strecker-Reaktion.

### Katalyse-Zyklus zur Imin-Aktivierung



**12** Links: Zunächst wird das Imin (C=N) durch das Phosphat protoniert. Es bildet sich ein Katalysator-Imin-Komplex. Das hierbei gebildete Iminium-Ion (C=NH<sup>+</sup>) ist für den Angriff eines Nucleophils (Nu) aktiviert. Nachdem das Nucleophil mit dem aktivierten Iminium-Ion reagiert hat, wird das Phosphat wieder freigesetzt, und der Zyklus beginnt von neuem. Rechts: Dreidimensionales Modell des Angriffs eines Nucleophils (Nu) an den Katalysator-Imin-Komplex.

ten und Enantioselektivitäten zu isolieren **11**. Der Katalysatormechanismus: Zunächst wird das Aldimin durch das BINOL-Phosphat protoniert. Es bildet sich in einer Zwischenstufe ein chirales Ionenpaar zwischen Katalysator und Iminium-Ion, welches für einen nukleophilen Angriff aktiviert ist. Daraufhin erfolgt der Angriff des Cyanid-Ions von der besser zugänglichen Seite, und es bildet sich das gewünschte Aminonitril <sup>15/</sup> **12**.

geeignete Lösungen für schwierige Probleme sein, mit denen täglich die Synthesechemiker in Wissenschaft und Industrie konfrontiert sind. So werden auch in der Zukunft die Lern- und Anwendungsprozesse, in denen die Natur als Vorbild dient, nicht nur bei der Entwicklung weiterer neuer Katalysatorsysteme, sondern auch beim Design und der Synthese von neuen Materialien eine entscheidende Rolle spielen. ◆

## Die Autoren



**Prof. Dr. Magnus Rueping**, 34, studierte an der Technischen Universität Berlin, der University of Dublin, Trinity College, und der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich, wo er 2002 promovierte. Anschließend absolvierte er einen zweijährigen Forschungsaufenthalt an der Harvard University und folgte 2004 einem Ruf an die Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt als Degussa-Stiftungsprofessor für Organische Synthetik. Forschungsschwerpunkte umfassen die Entwicklung und Anwendung neuer synthetischer Methoden zur Lösung chemischer, biologischer und physikalischer Fragestellungen.



**Boris Nachtsheim**, 25, studierte von 2001 bis 2005 Chemie an der Johann Wolfgang Goethe-Universität. Seine Diplomarbeit mit dem Thema »Entwicklung neuer Metall- und Organokatalysatoren und deren Anwendung in der Organischen Synthese« fertigte er in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Magnus Rueping am Institut für Organische Chemische und Chemische Biologie an. Für seine Studienleistung wurde er 2004 mit dem Albert-Hloch-Preis für das beste Vordiplom und 2006 mit dem Henkel-Förderpreis für den besten Studienabschluss Chemie ausgezeichnet. Ausgestattet mit einem Promotionsstipendium des Fonds der Chemischen Industrie beschäftigt Boris Nachtsheim sich in seiner Doktorarbeit mit der Entwicklung neuer Brønsted-Säure-Katalysatoren und metallkatalysierten C-C Knüpfungsreaktionen.