

Effiziente Assays für kombinatorische Methoden zur Entdeckung von Katalysatoren

Thomas Bein*

Chemische Forschung und Entwicklung erfordern meist starken manuellen Einsatz und spezielle Fertigkeiten. So verläuft eine typische organische Synthese im Laboratorium über viele Arbeitsschritte wie Abwiegen, Aufbau der Geräte, Filtern, Destillieren usw. Genauso ist die Verifizierung interessanter Eigenschaften wie der pharmazeutischen Aktivität organischer Verbindungen oder der Supraleitung von Metalloxiden ein komplexes Unterfangen. Dieser hohe Anteil manueller Tätigkeit bleibt selbst im Computerzeitalter bestehen, in einer Zeit also, in der viele mentale Prozesse wie komplexe Berechnungen oder die Überwachung von Geräten hochautomatisiert ablaufen. Deshalb schreitet die Entdeckung neuer Verbindungen mit nützlichen Eigenschaften meist recht langsam voran und ist teuer.

Der Wunsch, all dies zu ändern, hat als erstes auf dem Sektor der pharmazeutischen Forschung zur Entwicklung der kombinatorischen Methoden in der Chemie geführt.^[1] Diese Verfahren zielen auf zwei unabhängige Aspekte des Entdeckungsprozesses ab: die Synthese und die Charakterisierung. Chemiker lernten vom Immunsystem als effizientem Musterbeispiel und haben zunächst die automatisierte Kombination von geeigneten organischen Grundbausteinen wie den Aminosäuren in Angriff genommen. Selbst mit nur 20 Aminosäuren kann die zufällige Kombination dieser Grundbausteine zur Bildung einer Vielzahl verschiedener Oligopeptide führen. Es können z.B. 64 Millionen verschiedene Hexapeptide hergestellt werden. Man unterscheidet generell die Bildung von Baustein-Kombinationen an Mischungen kleiner, polymerer Harzkugeln von der schnellen Parallelsynthese in Miniaturreaktoren, z.B. den Vertiefungen auf Tüpfelplatten mit 96 Löchern. Das erste Verfahren ermöglicht es, eine immense Zahl verschiedener Verbindungen zu bilden. Die aktiven Kugelchen müssen allerdings durch spezielle Nachweismethoden identifiziert werden. Bei der Parallelsynthese in getrennten Reaktoren ist die Zahl der möglichen Produkte in der Regel limitiert, die Produkte können aber anhand ihrer Position identifiziert werden. Die Charakterisierung der entstandenen mehreren Tausend oder gar Millionen neuer Produkte stellt eine enorme Herausforderung für die Ent-

wicklung kreativer Assays dar. Einige der ersten Assays beruhten auf Bindungsstudien; so können die mit den Produkten einer organischen Festphasensynthese beladenen Kugelchen Rezeptoren mit fluoreszierenden oder farbigen Chromophoren ausgesetzt werden. Starke Bindungen werden durch die optische Veränderung der aktiven Kugelchen nachgewiesen. Die Perspektiven der kombinatorischen Methoden und der von ihnen ausgehende Anreiz haben dazu geführt, daß dieses Gebiet explosionsartig gewachsen ist; beinahe jede größere Arzneimittelfirma ist mittlerweile in der kombinatorischen organischen Chemie aktiv.

Anders als in der organischen Molekülchemie wurden in anderen Bereichen der Chemie und der Materialwissenschaften bislang kaum derartige Anstrengungen zur Beschleunigung wissenschaftlicher Entdeckung unternommen.^[2] Eine nennenswerte Ausnahme gibt es jedoch: Das amerikanische Unternehmen Symyx hat kürzlich in der Materialwissenschaft und in der Katalyse kombinatorische Pionierarbeit geleistet. Beim Vergleich der Synthese organischer Verbindungen durch Permutation molekularer Grundbausteine (in linearer, cyclischer, sternförmiger oder anderer Anordnung) mit der Herstellung von Materialien wie oxidischen Supraleitern oder Röntgen-Leuchttstoffen fallen interessante Unterschiede auf. Die Leuchttstoffe werden durch Mischen verschiedener Mengen an Ausgangsmaterialien hergestellt; Diversität kann durch graduelle Änderung der Zusammensetzung und der Prozeßbedingungen erreicht werden. Die inzwischen berühmte „Bibliothek“ der Firma Symyx, die aus tausenden von lumineszierenden Punkten auf einer einzigen Scheibe besteht, unterstreicht die Stärke der Parallelsynthese und der auf Arrays basierenden Assays: Die optischen Eigenschaften aller Punkte können gleichzeitig und sogar mit dem Auge erfaßt werden.^[3] Bisher wurden hauptsächlich die folgenden beiden Synthesemethoden entwickelt: 1) Die Gasphasenabscheidung auf Scheiben, wobei die Abscheidungszeit und Maskierung für die Bildung des Arrays kontrolliert werden (siehe oben), sowie 2) die Dosierung von Flüssigkeiten in Tüpfelplatten^[4] mit anschließender Erwärmung und/oder Reaktion.

Wird es möglich sein, mit kombinatorischen Verfahren neue Katalysatoren herzustellen? Die Natur lehrt uns, daß die Antwort eindeutig „ja“ lauten muß: Die hocheffizienten natürlichen Katalysatoren, die Enzyme, sind im Prinzip Kombinationen aus natürlichen Aminosäuren mit verschie-

[*] Prof. T. Bein
Department of Chemistry, Purdue University
West Lafayette, IN 47907-1393 (USA)
Fax: (+1) 765-494-0239
E-mail: tbein@chem.purdue.edu

denen Sequenzen und Größen. Jüngste Arbeiten konzentrieren sich auf die Entwicklung kombinatorischer Enzym-Bibliotheken, wobei eine Verbesserung von Eigenschaften wie der Temperaturbeständigkeit oder der chemischen Stabilität angestrebt wird.^[5] Antikörper können katalytisch aktiv gemacht werden, wenn sie gegen Modellmoleküle gerichtet werden, deren Gestalt der des für eine chemische Reaktion angenommenen Übergangszustands entspricht. Dies haben Schultz und Lerner nachgewiesen, wobei sie natürliche Systeme sehr kreativ verwendeten.^[6] Katalytische Antikörper können bei hoher Aktivität chemo- und enantioselektiv sein. In der Antikörperkatalyse kann man effiziente chemische Selektionswerkzeuge einsetzen, um aktive Systeme zu finden, wie man festgestellt hat.^[7]

In der homogenen molekularen Chemie werden diskrete Grundbausteine zusammengefügt. Kürzlich wurden in dieser Disziplin einige Beispiele für die automatisierte oder halb-automatisierte Entdeckung von Katalysatoren beschrieben.^[8, 9] Mehrere Grundstrukturen wurden auf Kugeln zusammengefügt, wobei durch Anbindung von Bausteinkombinationen an diese Grundstrukturen Diversität erreicht wurde. Einige dieser Systeme wurden dann metalliert, was zu einer Auswahl möglicher Katalysatoren führte. In einem frühen Beispiel beschreiben Liu und Ellman die Festphasensynthese von 2-Pyrrolidinylmethanol-Liganden, die nach der Abspaltung vom Träger in enantioselektiven Additionen untersucht wurden.^[10] Burgess et al. führten das Hochdurchsatz-Screening mit Metallkatalysatoren für eine asymmetrische C-H-Insertion unter Beteiligung von Diazoverbindungen durch.^[11] In einer Parallelsynthese wurden chelatisierende Disulfonamid-Liganden hergestellt und in Lösung für die enantioselektive Addition von Diethylzink an Aldehyde geprüft.^[12]

Eine Ligandendiversität kann auch erreicht werden, ohne daß alle möglichen Permutationen der Grundbausteine hergestellt werden müssen, wie Hoveyda et al. gezeigt haben.^[13] Damit verringert sich der Syntheseaufwand für die Katalysatorentwicklung drastisch. Beim Beispiel der Titan-katalysierten enantioselektiven Addition von Trimethylsilylcyanid an Epoxide wurden verschiedene Dipeptid-Schiff-Base-Liganden hergestellt. Es gelang, die Bausteine der Grundstruktur jeweils an nur einer einzigen Position zu variieren, um eine Verbesserung der katalytischen Aktivität und Selektivität zu erreichen. Der daraus entwickelte Katalysator war eine Kombination aller an den verschiedenen Positionen optimierten Liganden. Dieses unerwartete Ergebnis läßt vermuten, daß es weitere Beispiele geben könnte, bei denen ein Zusammenwirken innerhalb der Koordinationssphäre des Metalls weniger wichtig für das katalytische Verhalten ist. Auch auf einem festen Träger kann diese Methode, geeignete Liganden zu finden, sehr erfolgreich durchgeführt werden.^[14] Sigman und Jacobsen fanden synergistische Effekte zwischen Komponenten von Schiff-Base-Katalysatoren für die hochenantioselektive asymmetrische Strecker-Reaktion.^[15]

In einer weiteren auf Peptiden beruhenden Aufbaumethode wurde eine Bibliothek von phosphanhaltigen Peptiden zur Komplexierung von Rhodium herangezogen und – mit einem mäßigen Enantiomerenüberschuß – in der asymmetrischen Hydrierung von Enamiden untersucht.^[16] In alternativen

Ansätzen wurde unter anderem ein Eintopf-Screening einer Bibliothek prochiraler Substrate mit einem chiralen Katalysator durchgeführt.^[17] Über erste Beispiele für kombinatorisch hergestellte anorganische Katalysatoren wurde ebenfalls berichtet: Hill und Gall haben aus Stammlösungen, die Vorstufen wie Na_2WO_4 , Na_2MoO_4 und Na_2HPO_4 enthielten, verschiedene Polyoxometallate für die aerobe Oxidation von Tetrahydrothiophen hergestellt.^[18]

Das kreative Design des katalytischen Assays ist das Schlüsselement bei der Entwicklung effizienter „Algorithmen“ für die Entdeckung neuer homogener Katalysatoren, wie im Beispiel der Addition an Epoxide belegt wurde.^[13] Von hohem Interesse wäre es, dies ebenfalls beim Nachweis der katalytischen Aktivität in den Feldern (arrays) zu erreichen. Um dieses Kunststück fertigzubringen, hat man die mit vielen chemischen Reaktionen einhergehenden Enthalpieunterschiede und die dabei freiwerdende Reaktionswärme mit Infrarotkameras beobachtet. Empfindliche, thermische Bildaufzeichnungsgeräte mit Felddetektoren ermöglichen es jetzt ebenfalls, die Felder reaktiver Lösungen zu überwachen. Unter Anwendung dieses Konzepts untersuchten Reetz et al.^[19] die durch immobilisierte Lipase (aus *candida antartica*) katalysierte, homogene enantioselektive Acylierung des chiralen Alkohols 1-Phenylethanol sowie die Übergangsmetall-Salen-katalysierte enantioselektive Ringöffnung chiraler Epoxide (Salen-*N,N'*-Bis(salicylidene)ethylendiamin-Dianion). Die Reaktanten wurden in kleine Röhrchen gegeben und als Feld angeordnet. Die oberhalb der Röhrchen angebrachte, thermische PtSi-Kamera konnte die aktiven von den inaktiven Proben eindeutig unterscheiden. Für den Nachweis der Enantioselektivität der Katalysatoren war eine zusätzliche Maßnahme vorgesehen: Das Reaktantenfeld enthielt beide Enantiomere des Substrats, gegenüber denen die Katalysatoren extrem unterschiedliche Aktivitäten zeigten. Die attraktive Möglichkeit des Farbwechsels für Parallel-Assays haben Crabtree et al. erkannt. Sie haben reaktive Farbstoffe aus einer Kombination von Elektronendonator und -acceptor entwickelt, die ihrerseits über eine reaktive Gruppe wie $\text{C}\equiv\text{C}$ miteinander verbunden sind.^[20] Wird diese funktionelle Gruppe während der katalytischen Reaktion verändert, z. B. durch Hydrosilylierung, dann wird die elektronische Verbindung zwischen Donor- und Acceptorgruppe unterbrochen, und die Farbe des Farbstoffs verblaßt (Abbildung 1). Dieses elegante Konzept sollte auch bei vielen anderen katalytischen Reaktionen anwendbar sein.^[27]

Die Anwender der heterogenen Katalyse haben sich sehr unterschiedlichen Herausforderungen zu stellen. Während die Arrays für heterogene Katalysatoren – z. B. Metall-Legierungen oder Mischoxide – entsprechend der von Symyx und anderen entwickelten Methoden automatisierbar sind (Gasphasenabscheidung oder Flüssigdosierung), ist der Assay für die katalytische Aktivität keinesfalls trivial. Selbst wenn man die Unterschiede der Oberflächencharakteristik und der Dispersion des aktiven Materials akzeptiert, was zu beträchtlichen Fehlern bei der Bestimmung „intrinsischer“ Aktivitäten wie der Turnover-Frequenz führen kann, sind für eine effiziente Aktivitäts- und Selektivitätsbestimmung unter realistischen Bedingungen unter Umständen ganz verschiedene Lösungen für jedes einzelne zu untersuchende kataly-

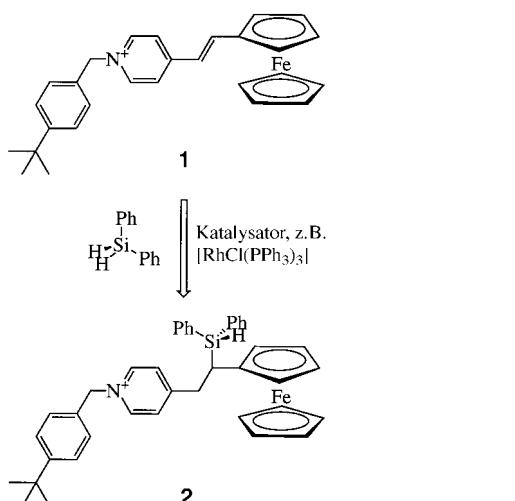


Abbildung 1. Der Einsatz eines reaktiven Farbstoffs, **1**, für den Nachweis der Hydrosilylierungsaktivität. Im Verlauf der homogen katalysierten Hydrosilylierung wird **1** innerhalb weniger Minuten in **2** überführt, wobei sich die Farbe von Dunkelviolettt nach Hellgelb ändert.^[20]

tische System erforderlich.^[21] Kürzlich wurde über einige vielversprechende Entwicklungen auf diesem Gebiet berichtet. In Weiterführung früherer Arbeiten von Willson et al.^[22] mit geheizten Katalysatorkügelchen (Metalle auf Tonerde zur Wasserstoffoxidation) konzentrierten sich die neuesten Arbeiten von Morken et al. auf die Wärmemenge, die von mehreren tausend codierten Kugeln beim teilweisen Eintauchen in die für eine Acylierung hergestellte, reaktive Lösung freigesetzt wird.^[23]

Die thermische Bildaufzeichnung kann interessanterweise als hochempfindliche Methode für den Aktivitätsnachweis in katalytischen Bibliotheken verwendet werden, wobei nach Maier et al. nur ca. 200 µg des Katalysators pro Position vorhanden sein müssen.^[24] Winzige Vertiefungen in Schieferplatten – zur Vermeidung von Interferenzen wurde dieses Material wegen seiner geringen thermischen Reflexion ausgewählt – wurden mit Sol-Gel-Lösungen von Vorstufen für amorphe mikroporöse Metalloxide verschiedener Zusammensetzungen gefüllt. Diese wurden dann zur Bildung eines Arrays von Katalysator-Kandidaten entsprechend behandelt (Abbildung 2). Vom gesamten Array ohne Substrat wurde ein thermisches Bild gepeichert, welches dann anschließend von den Bildern des aktiven Arrays subtrahiert wurde. Mit dieser Technik konnten Maier et al. die durch unterschiedliche thermische Abstrahlung der Katalysatorvertiefungen verursachten Effekte derart minimieren, daß sehr kleine, mit der katalytischen Aktivität einhergehende Temperaturdifferenzen nachgewiesen werden konnten. Thermische Bildaufzeichnungen können in der Tat bequem und schnell für Parallel-Assays ganzer Katalysator-Bibliotheken herangezogen werden, z.B. für die Hydrierung von 1-Hexin bei 100 °C oder die Oxidation von Isooctan und Toluol bei 350 °C. Eine offensichtliche Einschränkung der thermischen Bildaufzeichnung ist, daß sie über die Katalyseprodukte keine chemischen Informationen liefert. Diese könnte man jedoch aus der Emission oder Absorption von IR-Strahlung durch die Reaktionsprodukte erhalten.

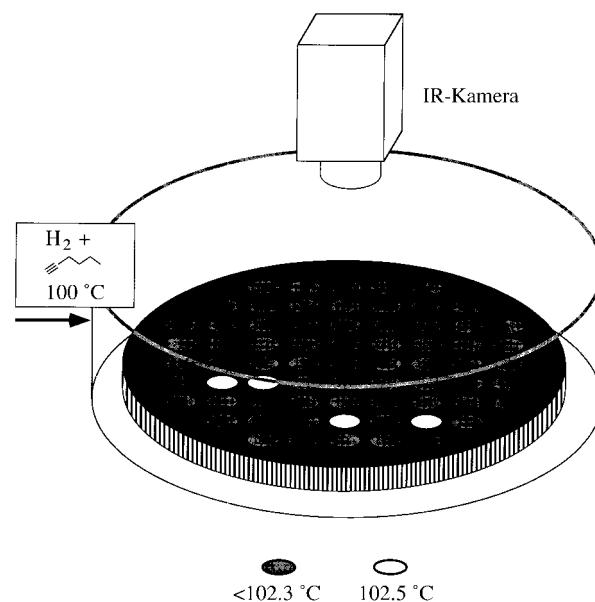


Abbildung 2. Anordnung zur Aufzeichnung der Hydrierungsaktivität von Katalysatorpunkten (ca. 200 µg pro Punkt) auf einem Schiefersubstrat. Zur Herstellung der Katalysatoren wurde Titandioxid- oder Silica-Sole mit Metallsalzlösungen in den Vertiefungen der Schieferplatte zusammengegeben und anschließend auf 250 °C erhitzt. Die IR-Kamera spürt Temperaturunterschiede von nur 0.1 K auf.^[24]

Andere Strategien liefern in Kombination mit der katalytischen Aktivität Informationen bezüglich der chemischen Selektivität. Elektrokatalysatoren, die aus Metall-Legierungen bestehen, können optimiert werden, indem die Bildung von Protonen während der elektrochemischen Oxidation von Methanol in einer Brennstoffzelle genutzt wird, wie Mallouk et al. dargelegt haben.^[25] Dieser Arbeitsgruppe gelang mit einer eleganten, auf einem fluoreszierenden pH-Indikator basierenden Technik die Identifizierung aktiver Katalysatorpunkte (Abbildung 3). Diese Punkte wurden über die Auf-

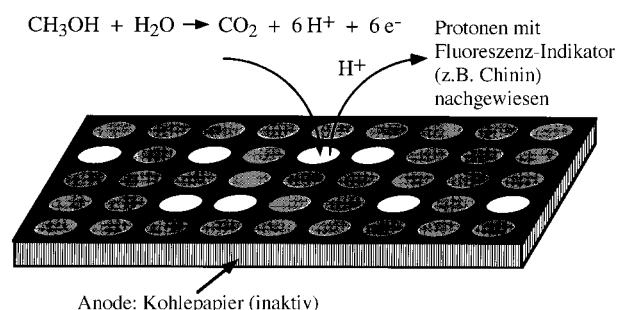


Abbildung 3. Für die anodische Oxidation von Methanol in einer wäßrigen Indikatorlösung werden ternäre und quaternäre Felder eingesetzt. Ein Fluoreszenzindikator wie Chinin zeigt die Bildung von Protonen in Anodennähe an.^[25]

tragung verschiedener Metallsalzlösungen in unterschiedlichen Mengenverhältnissen mit einem handelsüblichen Tintenstrahldrucker und anschließende Reduktion mit NaBH₄ gebildet. Eine weitere neue Entwicklung ist der pseudoparallele Nachweis von Katalyseprodukten, die an einem Array aus festen Katalysatoren auf einem porösen Träger gebildet wurden, durch Laserionisationstechniken (Abbildung 4).^[26]

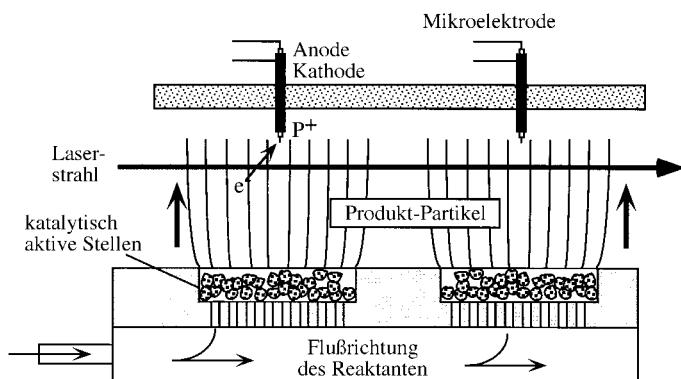


Abbildung 4. Hochdurchsatz-Screening von Katalysator-Bibliotheken mit laserinduzierter, resonanzverstärkter Multiphotonenionisation zum selektiven Nachweis von Reaktionsprodukten. Hier wird die Dehydrierung von Cyclohexan zu Benzol nachgewiesen, das selektiv mit gepulstem, abstimmbarem UV-Licht in unmittelbarer Nähe der katalytischen Zentren (5 ± 5 nm) des Feldes photoionisiert wird. Der Laser bildet spannungsabhängig Photoionen P^+ und Photoelektronen.

Diese Methode bietet sich für eine effiziente Lösung des Problems der dringend benötigten Identifizierung von Reaktionsprodukten aus Katalysator-Bibliotheken an.

Kombinatorische Verfahren werden also mittlerweile auch auf Gebieten wie der Materialentwicklung und der homogenen sowie heterogenen Katalyse auf ihre Anwendbarkeit überprüft und folgen so den revolutionären Entwicklungen in der pharmazeutischen Forschung. Die Fragen nach der Parallel-Synthese von Materialien und einer effizienten Möglichkeit ihrer strukturellen und physikalischen Charakterisierung werden für die Kreativität der auf diesem spannenden Gebiet tätigen Wissenschaftler und Ingenieure auch in der Zukunft eine Herausforderung sein.

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 323–326

Stichwörter: Analytische Methoden · Heterogene Katalyse · Homogene Katalyse · Kombinatorische Chemie

[1] Übersichtsartikel und Spezialausgaben: a) *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 347–510; b) H. Fenniri, *Curr. Med. Chem.* **1996**, *3*, 343–378; c) W. H. Weinberg, B. Jandeleit, K. Self, H. Turner, *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* **1998**, *3*, 104–110; d) F. Balkenhohl, C. von dem Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2436–2487; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2288–2337.

- [2] a) X.-D. Xiang, X. Sun, G. Briceno, Y. Lou, K.-A. Wang, H. Chang, W. G. Wallace-Freedman, S.-W. Chen, P. G. Schultz, *Science* **1995**, *268*, 1738–1740; b) G. Briceno, H. Chang, X. Sun, P. G. Schultz, X.-D. Xiang, *Science* **1995**, *270*, 273–275; c) P. G. Schultz, X.-D. Xiang, *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* **1998**, *3*, 153–158.
- [3] E. Danielson, J. H. Golden, E. W. McFarland, C. M. Reaves, W. H. Weinberg, X. Di Wu, *Nature* **1997**, *389*, 944–948.
- [4] X.-D. Sun, K.-A. Wang, Y. Yoo, W. G. Wallace-Freedman, C. Gao, X.-D. Xiang, P. G. Schultz, *Adv. Mater.* **1997**, *9*, 1046–1049.
- [5] O. Kuchner, F. H. Arnold, *Trends Biotechnol.* **1997**, *15*, 523–530.
- [6] a) P. G. Schultz, R. A. Lerner, *Science* **1995**, *269*, 1835–1842; b) J. R. Jacobsen, P. G. Schultz, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1995**, *5*, 818–824.
- [7] K. D. Janda, L.-C. Lo, C.-H. L. Lo, M.-M. Sim, R. Wang, C.-H. Wong, R. A. Lerner, *Science* **1997**, *275*, 945–948.
- [8] Aktueller Übersichtsartikel: K. D. Shimizu, M. L. Snapper, A. H. Hoveyda, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1885–1889.
- [9] C. Gennari, H. P. Nestler, U. Piarulli, B. Salom, *Liebigs Ann.* **1997**, *637*–647.
- [10] G. C. Liu, J. A. Ellman, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7712–7713.
- [11] K. Burgess, H.-J. Lim, A. M. Porte, G. A. Sulikowski, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35*, 192–194; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 220–222.
- [12] C. Gennari, S. Ceccarelli, U. Piarulli, C. A. G. N. Montalbetti, R. F. W. Jackson, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 5312–5313.
- [13] B. M. Cole, K. D. Shimizu, C. A. Krueger, J. P. A. Harrity, M. L. Snapper, A. H. Hoveyda, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1776–1779; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1668–1671.
- [14] K. D. Shimizu, B. M. Cole, C. A. Krueger, K. W. Kuntz, M. L. Snapper, A. Hoveyda, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1782–1785; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1704–1707.
- [15] M. S. Sigman, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4901–4902.
- [16] S. R. Gilbertson, X. Wang, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6475–6478.
- [17] X. Gao, H. B. Kagan, *Chirality* **1998**, *10*, 120–124.
- [18] C. L. Hill, R. D. Gall, *J. Mol. Catal. A* **1996**, *114*, 103–111.
- [19] M. T. Reetz, M. H. Becker, K. M. Kühling, A. Holzwarth, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2792–2795; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2647–2650.
- [20] A. C. Cooper, L. H. McAlexander, D.-H. Lee, M. T. Torres, R. H. Crabtree, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9971–9972.
- [21] Diskussionen weiterer kritischer Aspekte: R. Schlögl, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2467–2470; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2333–2336.
- [22] F. C. Moates, M. Soman, J. Annamalai, J. T. Richardson, D. Luss, R. C. Willson, *Ind. Eng. Chem. Res.* **1996**, *35*, 4801–4803.
- [23] S. J. Taylor, J. P. Morken, *Science* **1998**, *280*, 267–270.
- [24] A. Holzwarth, H.-W. Schmidt, W. F. Maier, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2788–2792; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2644–2647.
- [25] E. Reddington, A. Sapienza, B. Gurau, R. Viswanathan, S. Sarangapani, E. S. Smotkin, T. E. Mallouk, *Science* **1998**, *280*, 1735–1737.
- [26] S. M. Senkan, *Nature* **1998**, *394*, 350–353.
- [27] R. Dagani, *Chem. Eng. News* **1998**, *76*(38), 13.