

INHALTSVERZEICHNIS

1	VORBEMERKUNGEN UND ABKÜRZUNGEN	13
2	SUMMARY	15
3	EINLEITUNG	21
4	AUFGABENSTELLUNG	25
5	KENNTNISSTAND	27
5.1	Butyrolactone	27
5.2	Enantioselektive Hydrierungen von prochiralen Verbindungen.....	32
5.2.1	Enantioselektive Reduktion von C=C-Bindungen	33
5.2.2	Enantioselektive Reduktion von Carbonylgruppen	35
5.3	Biokatalytische Synthesen	37
5.3.1	Reduktion von Carbonylgruppen mit Alkoholdehydrogenasen.....	39
5.3.2	Reduktion von C=C-Doppelbindungen mit Enreduktasen.....	44
5.3.3	Reduktive Aminierung der C=O-Doppelbindung	49
5.3.4	Cofaktorregenerierung	49
6	EIGENE ERGEBNISSE.....	55
6.1	Synthese von γ -Butyrolactonen	55
6.1.1	Substratsynthese für die Biotransformationen	56
6.1.2	Erste Syntheseroute zur Darstellung von γ -Butyrolactonen	62
6.1.2.1	Synthese der Referenzverbindungen	63
6.1.2.2	Etablierung der Enantiomerenanalytik	66
6.1.2.3	Erste Teilreaktion: Reduktion mittels ADHs	69
6.1.2.4	Zweite Teilreaktion: Einsatz von Enreduktasen	75
6.1.3	Zweite Syntheseroute	76
6.1.3.1	Synthese von Referenzverbindungen	76
6.1.3.2	Etablierung der Enantiomerenanalytik	78
6.1.3.3	Erste Teilreaktion: Enreduktase-vermittelte Hydrierung	79
6.1.3.4	Optimierung der enzymatischen Reduktionen	92
6.1.3.5	Enzymatische Reaktionen im präparativen Maßstab	98
6.1.3.6	Zweite Teilreaktion: ADH-vermittelte Reduktion.....	104
6.2	Sequenzielle Eintopfsynthese	113
6.3	Chemoenzymatische Synthese weiterer Schlüsselintermediate	115
7	AUSBLICK.....	123
8	ZUSAMMENFASSUNG.....	127
9	EXPERIMENTELLER TEIL	133
9.1	Allgemeines	133
9.2	Allgemeine Arbeitsvorschriften.....	137
9.3	Substratsynthesen	140

9.4	Synthese der Referenzverbindungen	152
9.5	Enzymatische Reduktionen im analytischen Maßstab.....	178
9.6	Enzymatische Reaktionen im präparativen Maßstab.....	178
9.6.1	Enzymatische Synthese von Allylalkoholen.....	179
9.6.2	Enreduktase-katalysierte Reduktionen.....	185
9.6.3	Enzymatische Synthese von γ -Butyrolactonen	189
9.6.4	Sequenzielle Eintopfsynthese	197
9.6.5	Enzymatische Darstellung von Aminosäuren	202
9.7	Molekularbiologische Arbeiten – Material und Methoden	203
9.7.1	Geräte.....	203
9.7.2	Chemikalien und Enzyme.....	205
9.7.3	Bakterienstämme	205
9.7.4	Plasmide	206
9.7.5	Verwendete Oligonukleotide	206
9.7.6	Sequenzierungen.....	206
9.7.7	Nährmedien	206
9.7.8	Puffer und Lösungen.....	207
9.7.8.1	Puffer und Lösungen zur DNA-Isolierung	207
9.7.8.2	Puffer und Lösungen für die Agarosegelelektrophorese	207
9.7.8.3	Puffer und Lösungen zur Transformation von Bakterien	208
9.7.8.4	Puffer und Lösungen zur Proteinisolierung und SDS-PAGE.....	208
9.7.8.5	Spezielle Puffer und Lösungen zur Proteinisolierung und SDS-PAGE.....	209
9.7.9	Mikrobiologische Methoden.....	210
9.7.9.1	Kultivierung von <i>E.coli</i>	210
9.7.9.2	Herstellung kompetenter <i>E.coli</i> Zellen	210
9.7.9.3	Induzierte Genexpression in <i>E. coli</i>	211
9.7.9.4	Transformation von <i>E. coli</i> Zellen	211
9.7.10	DNA-Techniken.....	212
9.7.10.1	Isolierung von Plasmid-DNA.....	212
9.7.10.2	Midi-Präparation von Plasmid-DNA	212
9.7.10.3	DNA Konzentrationsbestimmung.....	212
9.7.10.4	Restriktion mit Restriktionsendonukleasen	212
9.7.10.5	Agarosegelelektrophorese.....	213
9.7.10.6	Elution von DNA aus Agarosegelen.....	214
9.7.10.7	Ligation von Plasmid- und Fragment-DNA.....	214
9.7.10.8	Amplifikation von DNA mittels Polymerasekettenreaktion	214
9.7.10.9	Elution von PCR-Produkten.....	215
9.7.11	Protein-Techniken	215
9.7.11.1	Zellaufschluss zur Proteinisolierung	215

Inhaltsverzeichnis

9.7.11.2	IMAC-Reinigung von Proteinen aus Zellrohextrakt	215
9.7.11.3	Entsalzen und Umpuffern von Proteinlösungen	216
9.7.11.4	Denaturierende SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese	216
9.7.11.5	Coomassie-Färbung zur Proteindetektion.....	217
9.7.12	Aktivitätsassays.....	217
10	LITERATURVERZEICHNIS	221
11	FORMELREGISTER	241
12	ANHANG	243
13	ERKLÄRUNG	245
14	LEBENS LAUF	247
15	DANKSAGUNG.....	249