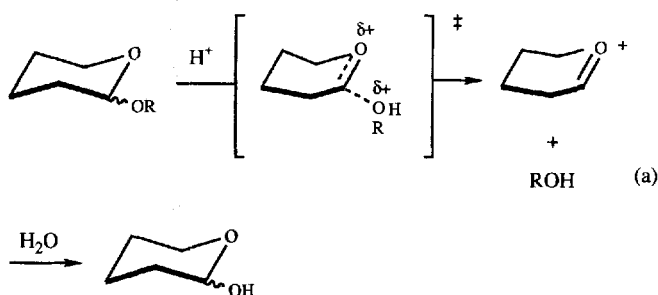


Auf dem Weg zu Antikörper-Glycosidasen**

Jaehoon Yu, Linda C. Hsieh, Lynn Kochersperger, Shirlee Yonkovich, James C. Stephans, Mark A. Gallop* und Peter G. Schultz*

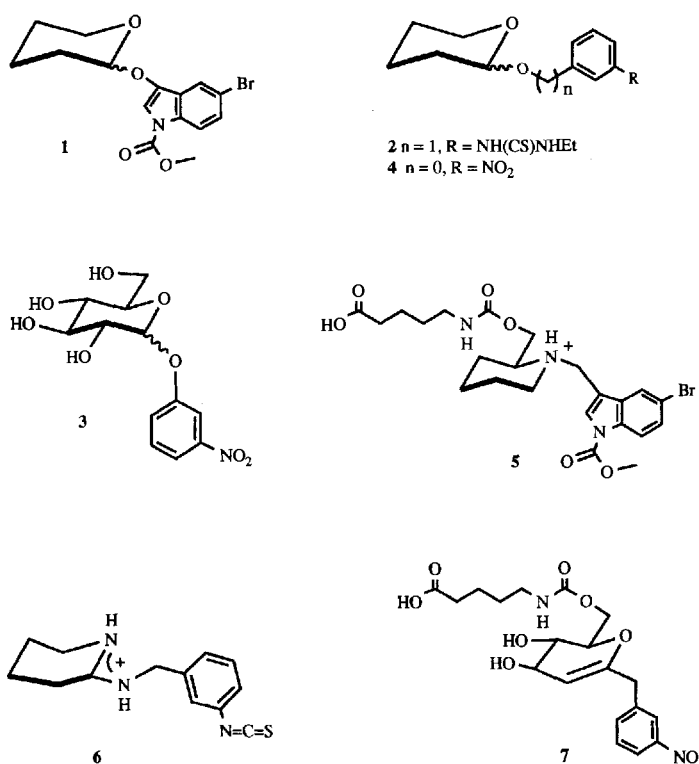
Die Entwicklung von Katalysatoren zur sequenzspezifischen Spaltung von Oligosacchariden wäre ein wichtiger Fortschritt bei der Erforschung der Struktur und Wirkungsweise von Kohlenhydraten^[1]. Katalytische Antikörper erscheinen für diese Aufgabe besonders geeignet, da die Antikörper-Spezifität über das Design eines Haptens vorgegeben werden kann. Mechanistische Untersuchungen der enzymatischen Oligosaccharid-Hydrolyse weisen darauf hin, daß die Bindungsstelle eines katalytischen Antikörpers dazu dienen muß, die delokalisierte positive Ladung und/oder die Halbsessel-Konformation des energiereichen Oxocarbenium-Ions, das durch säurekatalysierte Abspaltung der Abgangsgruppe entsteht, zu stabilisieren [Gl. (a)]^[2].



Als Teil eines Programms zur Gewinnung von Antikörpern mit Glycosidase-Aktivität haben wir monoklonale Antikörper gegen Übergangszustands-Analoga für die Hydrolyse der Modellacetale und Glycosid-Substrate 1–4 entwickelt. Vorlage für das Design des Haptens 5 sind die bekannten Glycosidase-Inhibitoren mit cyclischer Aminstruktur wie Nojirimycin und Castanospermin^[3]. Man nimmt an, daß das positiv geladene Ammonium-Ion funktionelle Gruppen in der Antikörper-Bindungsstelle induziert, die bei der Hydrolyse des Substrats 1 entweder den Übergangszustand mit delocalisierter Ladung stabilisieren und/oder die säurekatalysierte Abspaltung der Abgangsgruppe unterstützen. Die 5-Bromindolyl-Abgangsgruppe, die an der Luft schnell zu Bromindigo oxidiert wird, ermöglicht einen einfachen, direkten Nachweis für katalytische Aktivität in Zellkulturüberständen, was das Screening während der Hybridombil-

dung wesentlich erleichtert^[4]. Zusätzlich dient diese Gruppe als ein gemeinsames Erkennungselement von Substrat und Hapten, um die Bindung des Substrats sicherzustellen. Vorlage für das Hapten 6 sind Amidin-enthaltende Glycosidase-Inhibitoren, von denen man annimmt, daß sie sowohl die Halbsessel-Konformation als auch die positive Ladung des energiereichen Oxocarbenium-Ions nachahmen^[5]. Die schwächer aktivierte benzyliche Abgangsgruppe im Substrat 2 sichert die Protonierung der Amidingruppe im entsprechenden Hapten und liefert das gemeinsame Erkennungselement. Zum Vergleich wurden auch Antikörper gegen das D-Galactal-Derivat 7 gezüchtet, das ein neutrales Analogon zu dem bei der Hydrolyse des Substrats 3 entstehenden Halbsessel-Oxocarbenium-Ion ist^[6].

Der erste Reaktionsschritt bei der Darstellung des Haptens 5 war die Formylierung von 5-Bromindol mit POCl₃ in Dimethylformamid (DMF). Anschließend wurde der Indol-Stickstoff mit Dimethylpyrocarbonat geschützt. Durch schrittweise Umsetzung mit NaBH₄ und PPh₃/Br₂ wurde die Formylgruppe in das entsprechende primäre Bromid übergeführt, welches für die Alkylierung von 2-Hydroxymethylpiperidin verwendet wurde. Durch Derivatisierung der primären Hydroxygruppe mit 5-Iso-cyanvaleriansäuremethylester und anschließende Verseifung entstand das Hapten 5. Dieses wurde über einen N-Hydroxysuccinimidester (NHS) an die Trägerproteine KLH = („keyhole limpet hemocyanin“ = Hämocyanin aus *Megathura crenulata*) und Rinderserumalbumin (bovine serum albumin, BSA) gebunden^[7]. Bei der Synthese des Haptens 6 wurde δ -Valerolactam mit *m*-Nitrobenzylamin unter wasserfreien methanolischen Bedingungen umgesetzt^[5]. Nach dem Ansäuern wurde die Nitrogruppe mit H₂/Pd(OH)₂ reduziert und das dabei entstehende Amin mit Thiophosgen umgesetzt. Das Hapten 6 wurde über eine Thioharnstoffgruppe mit den Trägerproteinen KLH und BSA verknüpft^[8]. Die Darstellung des Haptens 7 erfolgte durch Kupplung von 1-Tributylstannyl-3,4,6-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilylglucal mit *m*-Nitrobenzylbromid in Gegenwart eines Pd⁰-Katalysators und anschließende Desilylierung



[*] Prof. P. G. Schultz, L. C. Hsieh, J. C. Stephans

Department of Chemistry
University of California
and
Lawrence Berkeley Laboratory
Berkeley, CA 94720 (USA)
Telefax: Int. + 510/642-8369

Dr. M. A. Gallop, Dr. J. Yu^[+], Dr. L. Kochersperger, S. Yonkovich
Affymax Research Institute
4001 Miranda Avenue, Palo Alto, CA 94304 (USA)

[+] Derzeitige Anschrift:

Department of Chemistry, Korea Institute of Technology
Seoul (Korea)

[**] Diese Arbeit wurde vom Office of Naval Research (Nr. N00014-91-J-1130) und vom Assistant Secretary for Conservation and Renewable Energy, Advanced Industrial Concepts Division of the U.S. Department of Energy (Nr. DE-AC03-76SF00098), gefördert. L. C. H. wird durch ein Graduierten-Stipendium der National Science Foundation gefördert. Wir danken Holly C. Wessling für ihre Unterstützung.

mit Tetrabutylammoniumfluorid^[9]. Die bereits oben beschriebene Umsetzung mit 5-Isocyanvaleriansäuremethylester lieferte das Hapten 7, welches an KLH und BSA gebunden wurde^[10].

Balb/c-Mäuse wurden mit den KLH-Konjugaten der Haptene 5–7 immunisiert, und es wurden nach Standardverfahren monoklonale Antikörper erhalten^[11]. Es konnten 28, 29 bzw. 60 für die Haptene 5, 6 bzw. 7 spezifische Hybridomzelllinien isoliert werden.

Die Zellkulturüberstände und Rohascites von Zelllinien, die Antikörper gegen das Hapten 5 produzierten, wurden direkt mit dem Substrat 1 auf ihre katalytische Aktivität getestet^[12]. Zehn der monoklonalen Antikörper aus Zellkultur-Überständen waren katalytisch aktiv, und acht dieser Antikörper behielten ihre Aktivität in Ascites-Flüssigkeit. Einer dieser Antikörper, AA71.17, wurde nach Reinigung durch Protein-A-Affinitätschromatographie und Ionen(MONO-S)-Austauschchromatographie^[13] genauer charakterisiert. Die Hydrolyse des Substrats 1 durch den Antikörper AA71.17 wurde durch Umkehrphasen(RP)-HPLC verfolgt. Es wurden 10 mM 2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure(MES)- oder N-(2-Hydroxyethyl)piperazin-N'-3-propansulfonsäure(EPPS)-Pufferlösungen bei pH 5.5, 7.0 und 8.5 und einer Ionenstärke von 100 mM NaCl untersucht^[14]. Die Antikörper-katalysierte Hydrolyse zeigte eine Sättigungskinetik mit einem k_{cat} -Wert von 0.904 h^{-1} und einem K_M -Wert von $324 \mu\text{M}$ (pH 5.5), was einer scheinbaren Geschwindigkeitskonstanten zweiter Ordnung von $2.3 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ h}^{-1}$ entspricht (Abb. 1). Als Vergleich wurde die Geschwindigkeitskonstante zweiter Ordnung für die Hintergrund-Hydrolyse des Substrats 1 durch normale Säuren AcOH ermittelt. Diese lag bei $1.3 \times 10^{-1} \text{ M}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Die Antikörperreaktion konnte durch das Hapten 5 kompetitiv gehemmt werden; dies spricht dafür, daß die Reaktion an der Antikörper-Bindungsstelle stattfindet. Die Dixon-Analyse mit dem Hapten 5 ergab einen K_i -Wert von $35 \mu\text{M}$. Bei pH 7.0 und 8.5 wurden k_{cat} und K_M -Werte von $0.0913 \text{ h}^{-1}/154 \mu\text{M}$ bzw. $1.00 \text{ h}^{-1}/178 \mu\text{M}$ bestimmt. Dieses Ergebnis zeigt, daß die Antikörper-Reaktion sowohl säure- als auch basenkatalysiert abläuft. Für die Hydrolyse des Substrats 1 durch AcO^- wurde eine Geschwindigkeitskonstante zweiter Ordnung kleiner $1.6 \times 10^{-2} \text{ M}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ermittelt. Bei einer chemischen Modifizierung des Antikörpers mit Diazoacetamid in Abwesenheit des Haptens 5 wurde eine um 33% geringere katalytische Aktivität beobachtet als bei chemischer Modifizierung des Antikörpers in Gegenwart von 2 mM Hapten, was auf die Beteiligung einer Carboxylatgruppe im aktiven Zentrum hindeutet^[15].

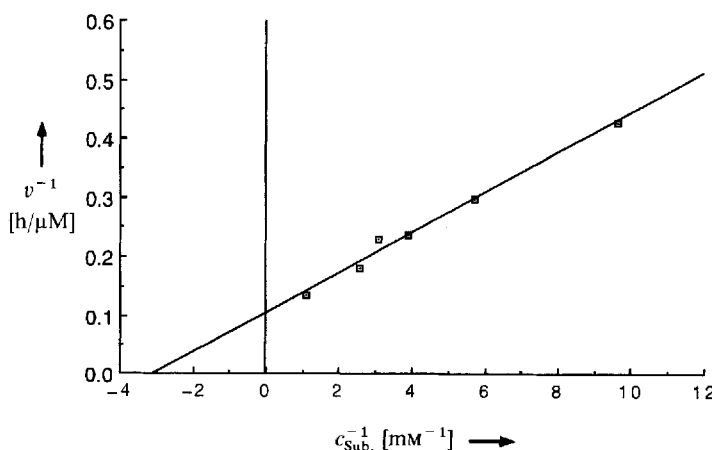


Abb. 1. Lineweaver-Burk-Diagramm für die durch den Antikörper AA71.17 katalysierte Hydrolyse des Substrats 1 bei pH 5.5. c_{sub} = Konzentration des Substrats.

Neunundzwanzig für das Hapten 6 spezifische Antikörper wurden wie oben beschrieben bis zur Homogenität gereinigt^[13] und auf ihre Fähigkeit untersucht, die Hydrolyse des Substrats 2 zu katalysieren. Dazu wurde sowohl eine Pufferlösung bestehend aus 50 mM MES, 50 mM NaCl und 0.02% NaN_3 bei pH 5.5 als auch eine Pufferlösung bestehend aus 10 mM Borat und 100 mM NaCl bei pH 8.25 verwendet^[16]. Die gleichen Antikörper wurden auch mit dem Substrat 4 getestet (pH 5.5 und 8.25), da das Hapten 6 ein „explodiertes“ Analogon für den Übergangszustand der Hydrolyse sein könnte^[16]. Bei keinem der Substrate wurde ein katalytischer Effekt beobachtet. Sechzig für das Hapten 7 spezifische Antikörper sind bis zur Homogenität gereinigt^[13] und auf ihre Fähigkeit untersucht worden, die Hydrolyse der α - und β -Isomere des *m*-Nitrophenyl-D-glucosids 3 zu katalysieren^[17]. Auch in diesem Fall wurde keine katalytische Aktivität beobachtet^[18].

Sowohl diese Untersuchung als auch eine Arbeit von Raymond et al. zeigen, daß mit Haptenen, die eine dem amomeren Zentrum eines cyclischen Acetals entsprechende positive Ladung aufweisen, Antikörper mit hydrolytischer Aktivität erzeugt werden können^[19]. Zwei Versuche, die Struktur des Halbsessel-Übergangszustands anzupassen, waren jedoch erfolglos. Die fehlende katalytische Aktivität der für die Haptene 6 und 7 spezifischen Antikörper könnte darauf zurückzuführen sein, daß die planare Struktur dieser Haptene die axiale Abgangsgruppe in den Substraten nicht berücksichtigt. Im Fall des Haptens 7 könnte auch der Unterschied in der Lage der Doppelbindung im Vergleich zum Oxocarbenium-Ion eine Rolle spielen^[20]. Ein verbessertes Hapten-Design, das sich der Struktur des Übergangszustands samt Abgangsgruppe besser annäht, sollte zu Antikörper-Glycosidasen führen. Wir untersuchen zur Zeit eine Reihe von Azazuckern als Haptene für die Oligosaccharid-Hydrolyse.

Eingegangen am 20. September 1993 [Z 6366]

- a) T. Feizi, R. A. Childs, *Trends Biochem. Sci.* **1985**, *10*, 24; b) F. A. Quiocho, *Annu. Rev. Biochem.* **1986**, *55*, 287; c) R. Kornfeld, S. Kornfeld, *ibid.* **1985**, *54*, 631; d) *Structural Glycoproteins in Cell Matrix Interactions* (Hrsg.: J. Labat-Robert, R. Timpl), Karger, New York, **1986**.
- a) M. L. Sinnott, *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 1171; b) S. Rosenberg, J. F. Kirsch, *Biochemistry* **1981**, *20*, 3196; c) L. E. H. Smith, L. H. Mohr, M. A. Raftery, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 7497; d) B. A. Malcolm, S. Rosenberg, M. J. Corey, J. S. Allen, A. de Baetselier, J. F. Kirsch, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, *86*, 133.
- a) B. G. Winchester, I. Cenci di Bello, A. C. Richardson, R. J. Nash, L. E. Fellows, N. G. Ramsden, G. Fleet, *Biochem. J.* **1990**, *269*, 227; b) T. Kajimoto, K. K.-C. Liu, R. L. Pedersen, Z. Zhong, Y. Ichikawa, J. A. Porco, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 6187; c) G. Legler, *Biochim. Biophys. Acta* **1978**, *524*, 94.
- B. Gong, S. A. Lesley, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1486.
- a) M. K. Tong, G. Papandreou, B. Ganem, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6137; b) B. Ganem, G. Papandreou, *ibid.* **1991**, *113*, 8964.
- Y. C. Lee, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1969**, *35*, 161.
- 5**: $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $[\text{D}_6]\text{Aceton}$, 25°C): δ = 0.7–1.1 (m, 6H), 1.4–1.7 (m, 5H), 1.7–1.8 (m, 1H), 2.1–2.2 (m, 1H), 2.2–2.3 (t, $^3J(\text{H,H})$ = 7 Hz, 2H), 3.1 (m, 4H), 3.4 (s, 3H), 3.7 (d, $^3J(\text{H,H})$ = 9 Hz, 1H), 6.8 (m, 1H), 7.0 (s, 1H), 7.4 (m, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $[\text{D}_6]\text{Aceton}$, 25°C): δ = 23.1, 24.2, 25.9, 26.0, 30.2, 34.3, 41.3, 49.6, 52.5, 54.4, 63.7, 64.2, 116.4, 117.3, 120.0, 124.0, 126.1, 127.9, 133.0, 135.8, 146.0, 158.9, 180.5; FAB⁺-MS (Hochauflösung): ber. 447.1379 ($M^+ \cdot \text{Na}^+$); gef. 447.1377. Die Epitopdichten (E.D.) von 14 (KLH) und 15 (BSA) wurden durch UV-Absorption (286 nm) bestimmt; die Proteinkonzentrationen wurden nach der Methode von O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall (*J. Biol. Chem.* **1951**, *193*, 265) ermittelt.
- 6**: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $[\text{D}_6]\text{Dimethylsulfoxid}$): δ = 1.72 (m, 4H), 2.62 (m, 2H), 3.31 (m, 2H), 4.46 (d, $^3J(\text{H,H})$ = 5.8 Hz, 2H), 7.36 (d, 1H, $^3J(\text{H,H})$ = 7.5 Hz), 7.40 (d, $^3J(\text{H,H})$ = 7.9 Hz, 2H), 7.45 (s, 1H), 7.47 (t, $^3J(\text{H,H})$ = 7.8 Hz, 1H), 9.45 (br s, 1H), 9.55 (br s, 1H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125.73 MHz, $[\text{D}_6]\text{Dimethylsulfoxid}$): δ = 17.83, 20.62, 26.26, 41.37, 49.47, 125.39, 130.45, 133.33, 134.47, 137.92, 163.27; IR (CDCl_3): $\tilde{\nu}[\text{cm}^{-1}]$ = 2120 (N=C=S); FAB⁺-MS (Hochauflösung): ber. 246.1065 (M^+); gef. 246.1063. Die Epitopdichten (bei 276 nm) (27 für KLH und 14 für BSA) und die Proteinkonzentrationen wurden wie oben beschrieben ermittelt.

- [9] J. M. Saa, G. Martorell, A. Garcia-Raso, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 678.
- [10] ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD): δ = 1.5–1.7 (m, 4H), 2.3 (t, ³J(H,H) = 7 Hz, 2H), 3.1 (t, ³J(H,H) = 7 Hz, 2H), 3.5 (s, 2H), 3.6 (m, 1H), 3.9–4.0 (m, 1H), 4.1–4.2 (m, 1H), 4.3–4.4 (m, 2H), 4.8 (d, ³J(H,H) = 2 Hz, 1H), 7.6 (t, ³J(H,H) = 7 Hz, 1H), 7.7 (d, ³J(H,H) = 7 Hz, 1H), 8.1–8.2 (m, 2H); ¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD): δ = 24.1, 30.5, 36.7, 40.1, 41.5, 64.3, 70.5, 78.5, 102.1, 122.5, 124.6, 130.5, 136.4, 141.7, 149.7, 154.1, 158.9, 180.5; FAB⁺-MS (Hochauflösung): ber. 381.0814 (MH⁺); gef. 381.0819. E.D. (262 nm) = 25 (KLH) und 28 (BSA).
- [11] a) B. A. L. Hurn, S. M. Chantler, *Methods Enzymol.* **1980**, *70*, 104; b) R. Sugawara, C. Prato, J. Sipple, *Infect. Immun.* **1983**, *42*, 863; c) E. Engvall, P. Perlmann, *J. Immunol.* **1972**, *109*, 129.
- [12] Das Substrat **1** wurde durch Kupplung von 1-Acetyl-5-bromindol mit 2-Chlorpyran unter basischen Bedingungen, anschließende Desacetylierung und Reinigung durch RP-HPLC erhalten. Zellüberstände oder Ascites-Flüssigkeiten wurden mit dem gleichen Volumen an MES-Pufferlösung (pH 5.5), die 2 mM Substrat und 20% (v/v) DMF enthielt, verdünnt. Nach zwölfstündiger Inkubation bei 37°C war die Indigofarbe zu erkennen.
- [13] a) J. Jacobs, R. Sugawara, M. Powell, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 2174; b) K. M. Shokat, *Dissertation*, University of California, Berkeley, CA, **1991**.
- [14] Die Versuche wurden durch Zugabe einer Stammlösung des Substrats **1** in DMF zu einer Lösung des Antikörpers im Testpuffer bei 37°C gestartet (die Antikörperkonzentration betrug 6.67 µM; 20% (v/v) DMF). Die Hydrolyse wurde durch HPLC [Microsorb-C18-RP-Säule (4.6 mm × 25 cm); Elutionsmittel: Acetonitril/Wasser-Gradient (10–60%); interner Standard: 3-Nitrobenzonitril] verfolgt. Die Reaktionsgeschwindigkeiten wurden bei weniger als 10% Umsatz gemessen.
- [15] A. L. Grossberg, D. Pressman, *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 5478.
- [16] Die Substrate **2** und **4** wurden durch Kondensation von 3,4-Dihydro-2H-pyran mit *m*-Nitrobenzylalkohol bzw. *m*-Nitrophenol dargestellt. Das Produkt der ersten Kondensation wird mit Pd/C hydriert und anschließend mit Thiophosgen in Gegenwart von Hünig-Base zum Isothiocyanat umgesetzt, welches mit Ethylamin zum Produkt **2** reagiert. Versuchsbedingungen: 6.67 µM Antikörper, 250 µM Substrat, 10% (v/v) CH₃CN im Reaktionspuffer, 22°C. Der Reaktionsablauf wurde wie oben beschrieben durch RP-HPLC mit 2,4-Dimethoxybenzamid als internem Standard verfolgt.
- [17] Für die Synthese des Substrats **3** wurde α-D-Glucosepentaacetat mit *m*-Nitrophenol in Gegenwart einer katalytischen Menge TiCl₄ bei Raumtemperatur in CH₂Cl₂ kondensiert und das dabei gebildete Produkt in K₂CO₃/CH₃OH desacetyliert. Das Anomerenverhältnis war 3:1 (α:β). Versuchsbedingungen: 6.67 µM Antikörper, 2.5 mM Substrat, 10% (v/v) DMF. Der Reaktionsablauf wurde an einer Microsorb-Phenylsäule (4.6 mm × 15 cm) verfolgt.
- [18] ELISA-Tests (ELISA = enzyme-linked immunosorbent assays) mit Substrat-BSA-Konjugaten zeigten, daß 71 bzw. 63% der Antikörper gegen die Haptene **6** und **7** ihre Substrate binden konnten.
- [19] J.-L. Reymond, K. D. Janda, R. A. Lerner, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1690; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1711.
- [20] D. F. Wentworth, R. Wolfenden, *Biochemistry* **1974**, *13*, 4715.

mer Proteine, die Enzyme, hervor. Chemiker stehen nun vor einem scheinbar unlösbaren Problem, wenn sie Enzyme nachmachen wollen: der begrenzten Lebensspanne menschlicher Wesen. Die Synthese komplexer Moleküle mit potentiell enzymartiger Wirkung ist eine zeitraubende Angelegenheit, und Chemiker können in den Jahren, die ihnen vergönnt sind, nur eine begrenzte Anzahl solcher Moleküle untersuchen. Ein evolutionärer Ansatz – wie ihn die Natur so erfolgreich angewendet hat – erscheint im organisch-chemischen Laboratorium als ein hoffnungsloses Unterfangen.

Uns kam nun der Gedanke, daß das Problem, dem sterbliche Chemiker gegenüberstehen, ein klein wenig erleichtert werden könnte, wenn man kovalente Bindungen vermeidet. Der Aufbau kovalenter Bindungen verschlingt die meiste Zeit, wenn man versucht, Enzyme nachzumachen. Würde man stattdessen die Enzymimitate über nichtkovalente Bindungen herstellen, könnte man eine Vielzahl solcher Spezies testen, denn nichtkovalente Bindungen entstehen praktisch sofort.

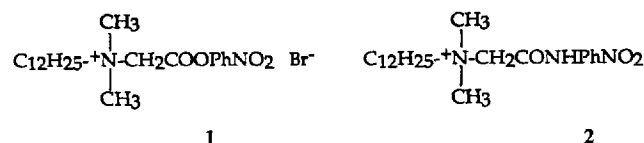
Unsere ursprüngliche Idee bestand also darin, Mengen langkettige Verbindungen mit Imidazol-, Carbonsäure-, Hydroxy- oder Amin-Funktionen an den Enden in Wasser in unterschiedlichen Verhältnissen zu mischen. Aufgrund hydrophober Wechselwirkungen sollten diese Verbindungen Assoziate bilden, die wir als „Klumpen“ bezeichnen. Ein solcher Klumpen ist eine Vielkomponentenmischung schwach assoziierter Verbindungen, die alle eine potentiell katalytisch wirksame Gruppe tragen, die zusammen mit den benachbarten Gruppen wirksam werden kann.

Wir haben nun Hunderte von „Klumpen“ mit Hilfe eines zweiminütigen spektralphotometrischen Tests daraufhin untersucht, ob sie die Hydrolyse des Esters **1** beschleunigen. Auf diese Weise entdeckten wir Systeme, die die Hydrolysegeschwindigkeit von **1** so stark erhöhen, daß sie mit konventionellen Methoden nicht mehr meßbar ist. Zu unserer Überraschung erwies sich reines Hexadecanoat dabei als das wirksamste dieser Systeme. Multikomponentenklumpen mögen zwar bei anderen Reaktionstypen wahrscheinlich etwas wirksamer sein (dies wird gerade untersucht)^[2], uns hatten jedoch die schnellen Hexadecanoat-induzierten Hydrolysen so neugierig gemacht, daß wir weitere Untersuchungen mit einem weniger reaktiven Substrat, dem Amid **2**, durchführten. Bevor wir auf Einzelheiten zu den kinetischen Untersuchungen eingehen, sollte noch etwas zu Hydrolysereaktionen an Amiden gesagt werden.

Schnelle Spaltung von Amidbindungen unter milden Bedingungen; ein evolutionärer Ansatz zur bioorganischen Katalyse**

Fredric M. Menger* und Zheng X. Fei

Von F. Monod stammt der Satz „Nature is a tinkerer“^[1]. Dieses Zitat könnte man auch lesen als „Die Natur ist ein Kesselflicker ohne zeitliche Zwänge“. Denn die Natur hatte 4.5 Milliarden Jahre Zeit, ohne jede Eile unzählige Verbindungen zu synthetisieren und auszuprobieren und nach und nach die nützlichsten auszuwählen. Dieses durch den Zufall bestimmte Streben nach Verbesserung brachte eine Gruppe katalytisch wirksa-



Die Hydrolyse von Amiden ist bei biologischen Systemen häufig anzutreffen, aber dies ist nicht der einzige Grund dafür, daß diese Reaktion seit Jahren das Interesse bioorganischer Chemiker weckt^[3–8]. Amidgruppen sind resonanzstabilisiert und schwierig zu hydrolysieren. So verlangt z.B. eine typische Arbeitsvorschrift zur chemischen Hydrolyse aliphatischer Amide 10 h Rückfluß in 8 N HCl^[9]. Daher stellen Amide für Chemiker, die sich für die Katalyse von Reaktionen sehr reaktionsträger Gruppen interessieren, eine besondere Herausforderung dar. Bis heute ist man dieser hauptsächlich durch intramolekulare Katalyse begegnet^[3–8]; auch wir haben dazu ein Beispiel beigesteuert (nämlich ein Amid der Kempfischen Tricarbonsäure, dessen Hydrolyse um den Faktor 10¹² oder mehr beschleunigt

[*] Prof. F. M. Menger, Dr. Z. X. Fei
Department of Chemistry, Emory University
Atlanta, GA 30322 (USA)
Telefax: Int. + 404/727-6586

[**] Diese Arbeit wurde von der National Science Foundation gefördert.