

Biotinsubstruktur aufweist, gelang durch Affinitätskapillarelektrophorese (Abb. 1). Bei Zugabe von Avidin in 10-mg-Mengen zur Probe eines Ansatzes, bei dem die Kupplungs-

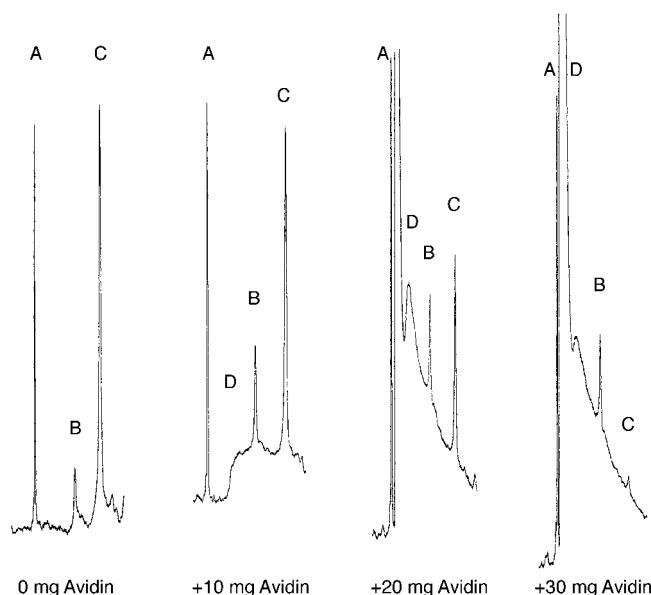


Abb. 1. Affinitätskapillarelektrophorese des Produkts **13** (C) aus Reaktion (4). A = Katalysatorkomplex; B = Pro(*p*-I-Phe)bradykinin **10**; D = Avidinproduktkomplex. Näheres siehe Text.

reaktion noch nicht beendet war, nahm nur der Produktheap ab, während der Peak eines neuen Proteinkomplexes zunahm.

Die C-C-Kreuzkupplung durch Katalyse mit Palladium-Guanidinoarylphosphan-Komplexen ermöglicht also die regioselektive Verknüpfung von Iodarenen und Alkinen, die einzeln chemisch stabil und in ihrer Reaktivität entgegengesetzt zu fast allen anderen funktionellen Gruppen in Proteinen sind. Deren spezifische Maskierung ist deshalb ebensowenig erforderlich wie Schutzmaßnahmen für die Tertiärstruktur, da die native Funktion der Proteine durch die äußerst milden Reaktionsbedingungen kaum geschädigt wird. Das Verfahren dürfte eine breite Anwendung für den Aufbau strukturell wohldefinierter Proteinkonjugate mit nichtnatürlichen funktionellen Gruppen finden.

Eingegangen am 24. September 1997 [Z10964]

Stichwörter: Bioorganische Chemie · Kreuzkupplungen · Palladium · P-Liganden · Proteine

[1] Prinzipiell bekannte Wege sind unter anderem Totalsynthese, Peptid-Segmentkondensation,^[2] In-vitro-Proteinbiosynthese^[3] und reverse Proteolyse.^[4]

[2] a) M. Brinkley, *Bioconjugate Chem.* **1992**, *3*, 2–13; b) H. D. Jakubke, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 189–191; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 175–177; c) D. Hilvert, *Chem. Biol.* **1994**, *1*, 201–203; d) C. F. Liu, J. P. Tam, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4149–4153.

[3] a) D. V. Goeddel, *Methods Enzymol.* **1990**, Vol. 185; b) J. Sambrook, E. F. Fritsch, T. Maniatis, *Molecular Cloning, a Laboratory Manual*, 2. Aufl., Cold Spring Harbor Lab, Cold Spring Harbor, New York, **1989**.

[4] a) C. Gittel, F. P. Schmidtchen, *Bioconjugate Chem.* **1995**, *6*, 70–76; b) W. Kullmann, *Enzymatic Peptide Synthesis*, CRC, Boca Raton (FL), USA, **1987**; c) H. D. Jakubke, *Kontakte (Darmstadt)* **1991**, *60*–72; d) *ibid.* **1992**, *46*–60.

- [5] a) R. D. Stephens, C. E. Castro, *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 3313–3315; b) C. E. Castro, E. J. Gaughan, D. C. Owsley, *ibid.* **1966**, *31*, 4071–4078; c) T. Sonogashira, Y. Tohda, N. Hagihara, *Tetrahedron Lett.* **1975**, 4467–4470.
- [6] a) W. A. Herrmann, C. W. Kohlpaintner, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1588–1609; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1524–1544; b) C. J. Li, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 2023–2035; c) A. Lubineau, J. Augé, Y. Quenceau, *Synthesis* **1994**, 741–760; d) R. Rossi, A. Carpita, F. Bellina, *Org. Prep. Proc. Int.* **1995**, *27*, 127–160.
- [7] a) H. Dibowski, F. P. Schmidtchen, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 2325–2330; b) A. Heßler, O. Stelzer, W. S. Sheldrick, H. Dibowski, K. Worm, F. P. Schmidtchen, *J. Org. Chem.* **1997**, *52*, 2362–2369.
- [8] E. M. Crook, A. P. Mathias, B. R. Rabin, *Biochem. J.* **1960**, *74*, 234–238.
- [9] a) E. A. Bayer, M. Wilcheck, *Methods Biochem. Anal.* **1980**, *26*, 1–45; b) *Methods Enzymol.* **1990**, *184*, 138–160; c) Y. H. Chu, W. J. Lees, A. Stassinopoulos, C. T. Walsh, *Biochemistry* **1994**, *33*, 10616–10621.

Selbstreplikation eines Peptids unter Ionenkontrolle**

Shao Yao, Indraneel Ghosh, Reena Zutshi und Jean Chmielewski*

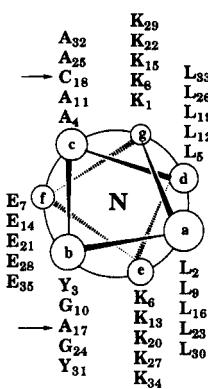
Die Fähigkeit der DNA zur Selbstreplikation stellt den sich vermehrenden Spezies einen Transfermechanismus für das genetische Material zur Verfügung; sie hat darüber hinaus eine bedeutende Rolle bei der Entwicklung der Biotechnologie gespielt.^[1] DNA war mit dieser Fähigkeit zur Selbstreplikation lange einzigartig. Spezies, die für ihre Selbstreplikation auf die DNA setzen, vermögen sich Veränderungen in ihrer Umwelt durch natürliche Selektion anzupassen. Inzwischen gibt es aber auch eine Reihe von künstlichen molekularen Systemen, die zur Selbstreplikation fähig sind: Darunter finden sich Oligomere aus Nucleotiden,^[2] Konjugate von Adenin und Kemps Tricarbonsäure,^[3] Peptide^[4] und Micellen.^[5] Die Gewinnung eines selbstreplizierenden Moleküls aus einem großen Vorrat von Molekülen hat sich als eine größere Herausforderung erwiesen.^[6] Nach jüngsten Untersuchungen von Lee et al. findet unter bestimmten Bedingungen bei Peptiden aus der GCN4-Leucinzipper-Domäne Selbstreplikation in einem autokatalytischen Cyclus statt.^[4] Wir haben nach einem selbstreplizierenden Peptidsystem gesucht, das auf seine Umgebung reagiert und sich nur unter extremen Bedingungen repliziert. Wir stellen in diesem Beitrag ein Peptid vor, das sich autokatalytisch in Abhängigkeit von den Umgebungsbedingungen repliziert.

Das Peptid K1K2 (Abb. 1) wurde auf der Grundlage einer Sequenz des KK-Peptids von Zhou et al.^[7] und unseres Peptids E1E2^[8] entwickelt. Das K1K2-Peptid enthält in den

[*] Prof. J. Chmielewski, S. Yao, I. Ghosh, R. Zutshi
Department of Chemistry
Purdue University
West Lafayette, IN 47907 (USA)
Telefax: Int. + 765/494-0239
E-mail: chml@chem.purdue.edu

[**] Diese Arbeit wurde von der National Science Foundation (9457372-CHE) gefördert. Wir danken Prof. G. von Kiedrowski, Bochum, für das Programm SimFit sowie für die Unterstützung durch ihn und Gary Knott.

a)



b)

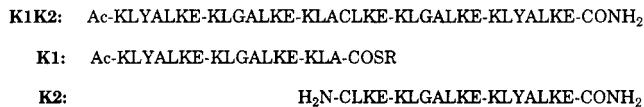


Abb. 1. a) Helixrad-Diagramm des Peptids K1K2 mit den Positionen der Coiled-coil-Wiederholung aus sieben Aminosäuren (a-g). b) Sequenzen der untersuchten Peptide [$R = (\text{CH}_2)_2\text{CONH}_2$]. Die Reste Ala und Cys, zwischen denen die Kupplung stattfindet, liegen an den Positionen b und c, die dem Lösungsmittel ausgesetzt sind.

e- und g-Positionen der Leucin-Wiederholungsregion Lys-Reste; aufgrund elektrostatischer Abstoßung verhindert dies die Bildung einer stabilen Coiled-coil-Konformation in saurem und neutralem Milieu. Unter sehr basischen Bedingungen oder unter neutralen Bedingungen mit hohen Konzentrationen abschirmender Gegenionen sollten die abstoßenden Kräfte verringert und eine Aggregation des Coiled-coil-Peptids möglich sein. Die ionenunterstützte Einleitung der Sekundärstrukturbildung (Nucleation) wurde bereits demonstriert, allerdings wurde eine Nucleation in Gegenwart von Ionen bei gleichzeitiger Autokatalyse noch nicht erreicht.^[7, 9, 10] Dieser Arbeit lag die Vorstellung zugrunde, daß eine Selbstreplikation des K1K2-Peptids aus kleineren Fragmenten nur unter solchen Bedingungen stattfinden würde, die eine stabile Coiled-coil-Konformation begünstigen, denn nur diese kann als Templat fungieren.

Zwei Fragmente wurden entworfen, aus denen sich K1K2 durch chemische Verknüpfung nach Kent et al.^[11] bilden sollte: das Peptid K1 mit einem terminalen Thioester und das nucleophile Fragment K2. Die Kupplung zwischen K1 und K2 zu K1K2 sollte unter sauren oder neutralen Bedingungen nicht autokatalytisch verlaufen, da unter diesen Bedingungen K1K2 überwiegend in der Random-coil-Konformation vorliegt, die nicht als Templat wirken kann. Wie bereits gezeigt wurde, wird bei Peptiden, die Lys-Reste in den e- und g-Positionen enthalten, die Bildung der Coiled-coil-Konformation gefördert, wenn man Salze wie NaClO₄ zufügt, weil damit die elektrostatische Abstoßung vermindert wird.^[7, 9] Diese Bedingungen sollten somit die Fähigkeit von K1K2 erhöhen, als Templat zu fungieren, was wiederum zur autokatalytischen Bildung von K1K2 im Neutralen führen sollte.

Der Helixanteil der entworfenen Peptide wurde mit Circulardichroismus(CD)-Spektroskopie bestimmt. In Abhängigkeit von der Salzkonzentration nehmen die Peptide

eine helicale Konformation ein (Abb. 2 a). Der Helixanteil von K1K2 erreicht bei 2.5 M NaClO₄ ein Maximum von 82%.^[12] Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, daß nach Abschirmung der protonierten Lys-Reste eine Coiled-coil-Konformation vorliegt, wie es auch bei KK beobachtet wurde.^[7] Das Verhältnis von $\Theta_{220\text{nm}}/\Theta_{207\text{nm}}$ korreliert mit der Anwesenheit einer Coiled-coil-Struktur; für K1K2 wurde ein Wert von 1.03 in 1.0 M NaClO₄-Lösung bestimmt, der gut mit Befunden bei anderen Coiled-coil-Peptiden übereinstimmt.^[13] Die Zugabe von 50proz. Trifluorethanol, das interhelicale Wechselwirkungen stört, zu K1K2 in 1.0 M NaClO₄-Lösung verminderte das $\Theta_{220\text{nm}}/\Theta_{207\text{nm}}$ -Verhältnis auf 0.89; dieser Wert weist auf das Vorliegen einer einsträngigen α -Helix hin.^[13] Die Sekundärstruktur der kürzeren Peptide K1 und K2 ist ebenfalls von der Salzkonzentration abhängig, wobei die höchsten Helixanteile von 34 bzw. 35% bei 2.5 M NaClO₄ auftraten. Um festzustellen, ob K1 und K2 bei 1.0 M NaClO₄ assoziieren, wurde das CD-Spektrum einer äquimolaren Mischung von K1 und K2 mit dem Summenspektrum von K1 und K2 verglichen. Die Peptidmischung wies keinen höheren Helixanteil auf als die beiden Peptide für sich, was darauf hindeutet, daß keine Assoziation zwischen K1 und K2 auftritt.

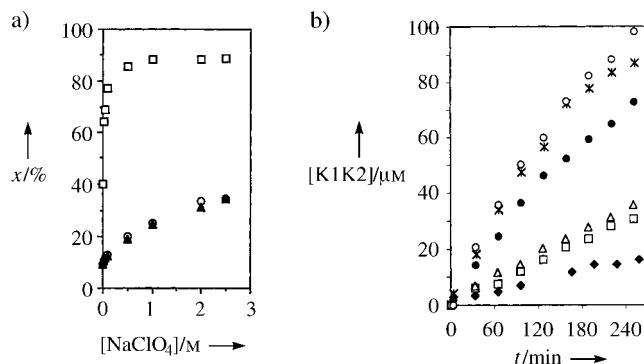


Abb. 2. a) Der Helixanteil x in K1K2 (□), K1 (○) und K2 (▲) als Funktion der NaClO₄-Konzentration. b) K1K2-Bildung als Funktion der Zeit in MOPS-Puffer bei pH 7.5 und unterschiedlichen Konzentrationen an NaClO₄. ◆ 0 M NaClO₄, □ 0.25 M NaClO₄, △ 0.5 M NaClO₄, ● 0.75 M NaClO₄, ★ 1.0 M NaClO₄, ○ 2.0 M NaClO₄.

Zur Bestimmung des Aggregationszustands von K1K2 in Gegenwart von 0.5 M NaClO₄ bei pH 7.5 wurde die Ausschlußchromatographie eingesetzt. Die relative Molekülmasse von ungefähr 18000 entspricht einer tetrameren Struktur unter diesen Bedingungen. Ohne NaClO₄ wurden sowohl monomere als auch dimere Formen von K1K2 mit der Ausschlußchromatographie nachgewiesen; dieser Strukturpolymorphismus ist auch von anderen Coiled-coil-Peptiden bekannt.^[14] Die tetramere Form von K1K2 wurde mit Harnstoff denaturiert. Dabei wurde CD-spektroskopisch ein Übergang zwischen zwei Zuständen festgestellt (Abb. 3). Eine Dissoziationskonstante von $2.84 \pm 0.71 \times 10^{-32} \text{ M}^3$ wurde für K1K2 bei 0.75 M NaClO₄ erhalten, wenn man die Daten des Denaturierungsvorgangs in die Gleichungen eines zweistufigen Modells für den Tetramer-Monomer-Übergang einsetzte.^[15]

Da sich die Konformation von K1K2 durch Zugabe von Salz kontrollieren ließ, wurde die Produktion von K1K2 aus

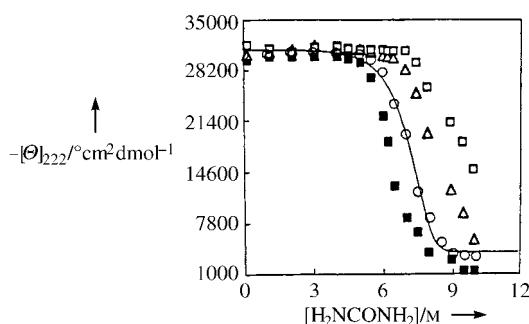


Abb. 3. Harnstoff-Denaturierung von 50 μM K1K2 bei 0.5 M NaClO₄ (■), 0.75 M NaClO₄ (○), 1.25 M NaClO₄ (△), 1.5 M NaClO₄ (□). Den Daten für 0.75 M NaClO₄ (○) ist die für ein Monomer-Tetramer-Gleichgewicht berechnete Kurve angepaßt.^[15] $[\Theta]_{222}$ ist die mittlere Restelliptizität.

K1 und K2 über einen Konzentrationsbereich von 0 bis 2.0 M NaClO₄ untersucht. Wurde die NaClO₄-Konzentration in der Reaktionsmischung ausgehend von 2.0 M abgesenkt, dann nahm auch die Bildung von K1K2 ab (Abb. 2b). Die Geschwindigkeit der K1K2-Bildung ist bei 1.0 und 2.0 M NaClO₄ deutlich höher als bei niedrigeren Salzkonzentrationen; dies läßt sich vermutlich auf die Coiled-coil-Konformation und damit die Templatfähigkeit des Produkts K1K2 unter diesen Bedingungen zurückführen. Wie sich aus Abbildung 3 ersehen läßt, wird das Aggregat mit zunehmender NaClO₄-Konzentration stabiler. Senkt man die Salzkonzentration bei der Reaktion, dann führt die elektrostatische Abstoßung der protonierten Lys-Reste zu einem Uncoiling von K1K2 und damit zu einer Verminderung seiner Templatfähigkeit für K1 und K2.

Die Autokatalyse der K1K2-Bildung bei pH 7.5 in Gegenwart von NaClO₄ ließ sich unzweifelhaft dadurch beweisen, daß die Kupplung von K1 mit K2 bei zwei NaClO₄-Konzentrationen (0.75 und 2.0 M) in Gegenwart unterschiedlicher Mengen K1K2 als Templat durchgeführt wurde (Abb. 4a und

4b). Die Gegenwart von K1K2 als Templat beschleunigt die Bildung von K1K2 bei beiden Salzkonzentrationen. Zudem ist die Anfangsgeschwindigkeit der Produktbildung linear proportional zur Quadratwurzel der Templatkonzentration (Abb. 4c), wie man es für eine autokatalytische Reaktion erwartet.

Die experimentellen Ergebnisse bei Konzentrationen von 2.0 und 0.75 M NaClO₄ wurden mit dem Programm SimFit analysiert.^[2d,e] Dieses lieferte scheinbare Geschwindigkeitskonstanten k_a der autokatalytischen Reaktion von $24.6 \pm 1.5 \text{ M}^{-3/2} \text{ s}^{-1}$ bzw. $12.9 \pm 0.8 \text{ M}^{-3/2} \text{ s}^{-1}$, Geschwindigkeitskonstanten k_b der unkatalysierten Reaktion von $0.087 \pm 0.008 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ bzw. $0.082 \pm 0.009 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ und Geschwindigkeitskonstanten k_h der Hydrolyse des Thioester-Peptidfragments K1 von $2.78 \pm 0.25 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ bzw. $3.5 \pm 0.4 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$. Aus diesen Werten ergab sich eine Autokatalyse-Effizienz ($\varepsilon = k_a/k_b$) von etwa 280 bzw. 160. Während sich die Geschwindigkeitskonstante der unkatalysierten Reaktion mit wachsenden Konzentrationen wenig veränderte, stieg die Geschwindigkeitskonstante der autokatalytischen Reaktion für die K1K2-Bildung von $12.9 \text{ M}^{-3/2} \text{ s}^{-1}$ auf $24.6 \text{ M}^{-3/2} \text{ s}^{-1}$, was vermutlich auf die verstärkte Coiled-coil- und damit Templatbildung zurückzuführen ist.

Die Kupplungsreaktion lieferte weniger als 5% K1K2, wenn man 50proz. Trifluorethanol zugab, die die Coiled-coil-Bildung inhibiert.^[13] Auch die Zugabe von 7 M Harnstoff reduzierte die Ausbeute der Kupplungsreaktion in Gegenwart von 1.0 M NaClO₄ auf Hintergrundniveau, was ebenfalls die Rolle von K1K2 als Templat für die Reaktion von K1 mit K2 unterstreicht. Die Geschwindigkeiten der Reaktion zwischen K1 und K2 ohne NaClO₄ waren sowohl in Gegenwart als auch in Abwesenheit von K1K2 bei pH 7.5 gleich; dieser Befund bestätigt, daß die Autokatalyse nur stattfindet, wenn die Bildung einer stabilen Coiled-coil-Struktur gefördert wird. Da K1K2 als Tetramer existiert, könnte die als Templat

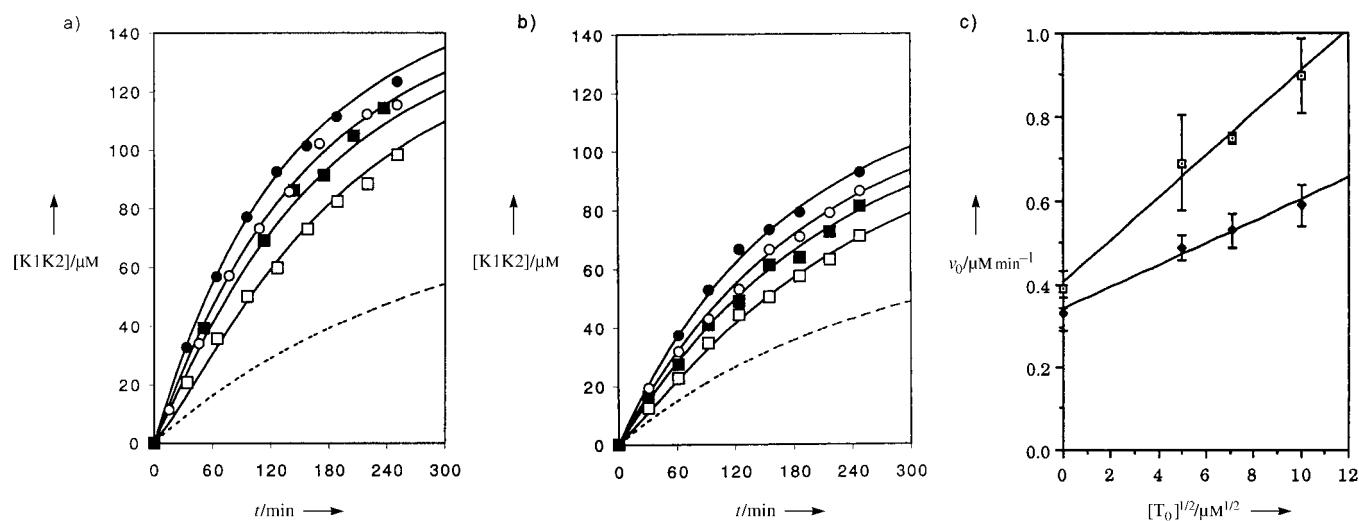


Abb. 4. a) K1K2-Bildung als Funktion der Zeit für Reaktionsmischungen von K1 und K2 mit unterschiedlichen Anfangskonzentrationen an K1K2 als Templat bei pH 7.5 in 250 mM MOPS (1% (v/v) 3-Mercaptopropionsäure) und 2.0 M NaClO₄; □ kein K1K2, ■ 25 μM K1K2, ○ 50 μM K1K2, ● 100 μM K1K2. b) Wie a), jedoch mit einer NaClO₄-Konzentration von nur 0.75 M. Die Kurven wurden mit dem Programm SimFit^[2d,e] berechnet. Die gestrichelten Linien geben die berechnete Bildung von K1K2 ohne Autokatalyse wieder. c) Anfangsgeschwindigkeit v_0 der K1K2-Bildung als Funktion der Quadratwurzel der anfänglichen Templatkonzentration $[T_0]$ in 2.0 M NaClO₄ (□) und 0.75 M NaClO₄ (●). Für die Datenanalyse mit SimFit gingen wir von den folgenden Reaktionsgleichungen aus: a) K1 + K2 \rightarrow K1K2 mit einer Geschwindigkeitskonstanten k_b ; b) K1 + K2 + 0.5 K1K2 \rightarrow 1.5 K1K2 mit einer Geschwindigkeitskonstanten k_a ; c) K1 \rightarrow K1* mit einer Hydrolysekonstanten k_h .

fungierende Spezies ein Coiled-coil-Trimer sein. Allerdings können wir nicht ausschließen, daß auch ein Monomer oder Dimer bei sehr geringen Anfangskonzentrationen von K1 K2 in der Startphase der Reaktion als Templat fungiert.

Wir haben also ein selbstreplizierendes Peptid entworfen, das seine eigene Bildung bei hohen Salzkonzentrationen fördert. Bei sehr geringen Salzkonzentrationen ist die Autokatalyse unterdrückt, die Reaktion mit zugesetztem Templat läßt sich nicht von der Hintergrundreaktion unterscheiden. Wie diese Selbstreplikation zeigt, ist eine Kontrolle durch Ionen bei der Peptidautokatalyse erreichbar. Wir wenden diese Strategie nun an, um selbstreplizierende Systeme zu entwerfen, bei denen eine Kreuzkatalyse unter kontrollierten Bedingungen möglich ist.

Experimentelles

Die Peptide K1 K2 und K2 wurden durch Festphasen-Peptidsynthese auf einem Rink-Harz^[16] mit Fmoc-Chemie synthetisiert.^[17] Das Peptid K1 wurde an einem mit Boc-Ala-S(CH₂)₂CO₂H^[18] funktionalisierten MBHA-Harz synthetisiert; dabei wurde die Boc-Chemie mit der In-situ-Neutralisation nach Kent et al.^[11] eingesetzt. Die Abspaltung des Peptids von der festen Phase mit HF/Anisol lieferte das Peptid K1, das einen Thioester enthält (Abb. 1). Alle Peptide wurden durch Umkehrphasen-HPLC bis zur Homogenität gereinigt und mit Massenspektrometrie (Plasmadesorption) und Aminosäureanalyse charakterisiert.

CD-Spektroskopie: Die Spektren für K1, K2 und K1 K2 wurden bei 20 °C in einem 10 mM MOPS-Puffer bei pH 7.5 (Puffer A) aufgenommen. Für die Untersuchungen zur Salzabhängigkeit und zur Denaturierung wurden NaClO₄ und Harnstoff aus Stammlösungen in Puffer A zugefügt. Um sicherzustellen, daß während der Messungen keine Reaktion ablief, wurden Varianten von K2 und K1 K2 eingesetzt, bei denen Cys durch Ala ersetzt worden war.

Ausschlußchromatographie: Eine 1.8 cm × 98 cm-Säule wurde mit Sephadex G-50 gepackt. Bei 25 °C und einer Flußrate von 0.34 mL min⁻¹ wurde mit folgenden Puffern äquilibriert: a) 100 mM Phosphat, 0.5 M NaClO₄, pH 7.5; b) 100 mM Phosphat, pH 7.5. Anschließend wurden 500 µL einer 75 µM-Lösung von K1 K2 auf die Säule aufgetragen. Die scheinbare Molekülmasse der eluierten Spezies wurde durch Interpolation auf einer Standardkurve von Carboanhydrase, Cytochrom c und Aprotinin bestimmt.

Reaktionsbedingungen: Mischungen von K1 (240 µM) und K2 (240 µM) wurden bei 23 °C in 250 mM MOPS (1% (v/v) 3-Mercaptopropionsäure), 0 bis 2.0 M NaClO₄ und pH 7.5 inkubiert. Nach der jeweils angegebenen Zeit wurden 50 µL der Reaktionsmischung durch Umkehrphasen-HPLC analysiert. Die Reaktionsprodukte wurden durch Isolierung und nachfolgende Charakterisierung durch Massenspektrometrie oder HPLC-Coinjektion mit authentischen Proben nachgewiesen. Die Produktkonzentrationen wurden durch Ausmessen der Peakflächen und Interpolation von einer Standardkurve bestimmt.

Eingegangen am 24. Juli 1997 [Z10729]

Stichwörter: Bioorganische Chemie • Peptide • Selbstreplikation • Templat synthesen

- [1] A. Humphrey, *Ann. NY Acad. Sci.* **1995**, *758*, 356–365.
- [2] a) G. von Kiedrowski, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 932, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 932; b) G. von Kiedrowski, B. Wlotzka, J. Helbing, *ibid.* **1989**, *101*, 1259 bzw. **1989**, *28*, 1235; c) G. von Kiedrowski, B. Wlotzka, J. Helbing, M. Matzen, S. Jordan, *ibid.* **1991**, *103*, 456 bzw. **1991**, *30*, 423; d) D. Sievers, G. von Kiedrowski, *Nature* **1994**, *369*, 221; e) T. Achilles, G. von Kiedrowski, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1225, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1198; f) G. von Kiedrowski, *Bioorg. Chem. Front.* **1993**, *3*, 113; g) W. S. Zielinski, L. E. Orgel, *Nature* **1987**, *327*, 346; h) L. E. Orgel, *ibid.* **1992**, *358*, 203; i) T. Li, K. C. Nicolaou, *ibid.* **1994**, *369*, 218.

- [3] a) T. Tjivikua, P. Ballester, J. Rebek, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 1249; b) J. S. Nowick, Q. Feng, T. Tjivikua, P. Ballester, J. Rebek, *ibid.* **1991**, *113*, 8831; c) E. A. Wintner, M. M. Conn, J. Rebek, *ibid.* **1994**, *116*, 8877; d) E. A. Wintner, B. Tsao, J. Rebek, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7997; e) E. A. Wintner, J. Rebek, *Acta Chem. Scand.* **1996**, *50*, 469.
- [4] D. H. Lee, J. R. Granja, J. A. Martinez, K. Severin, M. R. Ghadiri, *Nature* **1996**, *382*, 525.
- [5] P. A. Bachmann, P. L. Luisi, J. Lang, *Nature* **1992**, *357*, 57.
- [6] Übersicht: L. E. Orgel, *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 109.
- [7] a) N. E. Zhou, C. M. Kay, R. S. Hodges, *J. Mol. Biol.* **1994**, *237*, 500; b) W. D. Kohn, O. S. Monerra, C. M. Kay, R. S. Hodges, *ibid.* **1995**, *270*, 25495; c) H. Chao, M. E. Houston, S. Grothe, C. M. Kay, M. O'Connor-McCourt, R. T. Irvin, R. S. Hodges, *Biochemistry* **1996**, *35*, 12175.
- [8] S. Yao, I. Ghosh, R. Zutshi, J. Chmielewski, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 10559.
- [9] Y. Goto, S. Aimoto, *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 387–396.
- [10] a) M. R. Ghadiri, C. Choi, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 1630; b) R. Fuqiang, C. Yanqiu, P. B. Hopkins, *ibid.* **1990**, *112*, 9403.
- [11] a) P. E. Dawson, T. W. Muir, I. Clark-Lewis, S. B. H. Kent, *Science* **1994**, *266*, 776; b) L. E. Canne, S. M. Walker, S. B. H. Kent, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 1217; c) M. Schnolzer, P. Alewood, A. Jones, D. Alewood, S. B. H. Kent, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1992**, *40*, 180; d) L. E. Canne, S. J. Bark, S. B. H. Kent, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 5891.
- [12] P. C. Lyu, J. C. Sherman, A. Chen, N. R. Kallenbach, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 5317.
- [13] a) N. E. Zhou, C. M. Kay, R. S. Hodges, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 2664; b) S. Y. M. Lau, A. K. Taneja, R. S. Hodges, *ibid.* **1984**, *259*, 13253.
- [14] L. Gonzalez, R. A. Brown, D. Richardson, T. Alber, *Nature Struct. Biol.* **1996**, *3*, 1002.
- [15] R. Fairman, H. Chao, L. Mueller, T. B. Lavoie, L. Shen, J. Novotny, G. R. Matsueda, *Protein Sci.* **1995**, *4*, 1457.
- [16] H. Rink, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 3787.
- [17] E. Atherton, R. C. Sheppard in *The Peptides*, Vol. 9 (Hrsg.: E. Gross, J. Meienhofer), Academic Press, New York, **1987**.
- [18] a) H. Hojo, S. Aimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1991**, *64*, 111; b) L. Zhang, J. P. Tam, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2363.

Ein neues Katalysatorsystem für die Heck-Reaktion von reaktionsträgen Arylhalogeniden

Manfred T. Reetz,* Gunther Lohmer und Renate Schwickardi

Die Pd-katalysierte Heck-Reaktion von Arylhalogeniden ArX (X = Cl, Br, I) mit Olefinen gehört zwar zu den Standard-C-C-Verknüpfungsmethoden,^[1] in der industriellen Praxis hat sie aber bislang kaum Anwendung gefunden.^[2] Dies hängt unter anderem damit zusammen, daß die Reaktivität der Arylhalogenide in der Reihenfolge ArI > ArBr > ArCl drastisch abnimmt, so daß die billigen Chloride und zum Teil auch die Bromide nicht mit genügend hohen Ausbeuten, Umsatzzahlen (TON) und Selektivitäten umgesetzt werden können. Trotz neuerer Fortschritte, z. B. der Verwendung aus Tris(*o*-tolyl)phosphoran herstellbarer Palladacyclen als Katalysatoren bei der Heck-Reaktion von Arylbromiden und aktivierten Arylchloriden,^[3] gilt nach wie vor die Aktivierung

[*] Prof. Dr. M. T. Reetz, Dipl.-Chem. G. Lohmer, R. Schwickardi
Max-Planck-Institut für Kohlenforschung
Kaiser-Wilhelm-Platz 1, D-45470 Mülheim an der Ruhr
Telefax: Int. + 208/306-2985
E-mail: reetz@mpi-muelheim.mpg.de