

Tabelle 1. ^1H -NMR-Daten (300 MHz, C_6D_6) für **2a**, **2b**, **4a**, **5** und **6**.

2a: $\delta = 1.32$ (s, 9 H; $t\text{Bu}$), 2.82–2.98 (m, 1 H; $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.06–3.13 (m, 1 H; $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.15 (s, 3 H; OCH_3), 3.36–3.52 (m, 2 H; $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.80 (t, $J = 2.7$ Hz, 1 H; =CH), 5.93 (t, $J = 2.7$ Hz, 1 H; =CH), 6.45 (t, $J = 2.5$ Hz, 1 H; =CH)
2b: $\delta = 1.40$ (s, 9 H; $t\text{Bu}$), 1.51 (s, 9 H; $t\text{Bu}$), 2.82–2.98 (m, 2 H; $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.06–3.13 (m, 2 H; $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.16 (s, 3 H; OCH_3), 3.22 (s, 3 H; OCH_3), 3.36–3.52 (m, 4 H; $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.83 (t, $J = 2.7$ Hz, 1 H; =CH), 5.94 (t, $J = 2.8$ Hz, 1 H; =CH), 6.01 (t, $J = 2.8$ Hz, 1 H; =CH), 6.13 (t, $J = 2.8$ Hz, 1 H; =CH), 6.16 (t, $J = 2.8$ Hz, 1 H; =CH), 6.24 (t, $J = 2.7$ Hz, 1 H; =CH)
4a: $\delta = 1.39$ (s, 9 H; $t\text{Bu}$), 2.49 (ddd, $^3J = 7.2$, $^3J = 11.0$, $^2J = 13.0$ Hz, 1 H; CHHCH_2O), 2.65 (ddd, $^3J = 1.3$, $^3J = 5.5$, $^2J = 13.0$ Hz, 1 H; CHHCH_2O), 4.77 (ddd, $^3J = 1.5$, $^3J = 7.3$, $^2J = 10.0$ Hz, 1 H; CH_2CHHO), 5.10 (ddd, $^3J = 5.5$, $^3J = 11.0$, $^2J = 10.0$ Hz, 1 H; CH_2CHHO), 5.71–5.76 (m, 2 H; =CH), 6.11 (t, $J = 2.5$ Hz, 1 H; =CH)
5: $\delta = 1.18$ (s, 9 H; $t\text{Bu}$), 1.20 (s, 9 H; $t\text{Bu}$), 2.18 (ddd, $^2J = 13.2$, $^3J = 9.0$, $^3J = 7.5$ Hz, 1 H; CHHCH_2O), 2.58–2.69 (m, 2 H; CHHCH_2O und $\text{CHHCH}_2\text{OCH}_3$), 3.03 (dt, $^2J = 14.8$, $^3J = 5.4$ Hz, 1 H; $\text{CHHCH}_2\text{OCH}_3$), 3.10 (s, 3 H; OCH_3), 3.26–3.37 (m, 2 H; $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$), 4.65 (ddd, $^2J = 10.6$, $^3J = 7.4$, $^3J = 3.3$ Hz, 1 H; CH_2CHHO), 5.40 (t, $J = 2.7$ Hz, 1 H; =CH), 5.43 (ddd, $^2J = 10.6$, $^3J = 9.1$, $^3J = 6.7$ Hz, 1 H; CH_2CHHO), 5.75 (t, $J = 2.7$ Hz, 1 H; =CH), 5.77 (t, $J = 2.6$ Hz, 1 H; =CH), 6.00 (t, $J = 2.6$ Hz, 1 H; =CH), 6.32 (t, $J = 2.6$ Hz, 1 H; =CH), 6.43 (t, $J = 2.5$ Hz, 1 H; =CH)
6: $\delta = 0.10$ (s, d, $^2J(^1\text{H}, ^{29}\text{Si}) = 3.3$ Hz, 9 H; $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 1.29 (s, 9 H; $t\text{Bu}$), 2.77–2.81 (m, 1 H; CHHCH_2O), 3.00 (dt, $^2J = 14.6$, $^3J = 5.9$ Hz, 1 H; CHHCH_2O), 3.64–3.73 (m, 2 H; $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.77 (t, $J = 2.7$ Hz, 1 H; =CH), 5.91 (t, $J = 2.7$ Hz, 1 H; =CH), 6.37 (t, $J = 2.5$ Hz, 1 H; =CH)

Die einfache und diastereoselektive Synthese der Komplexe **5** und **6** in hoher Ausbeute und in nur zwei Stufen ausgehend von ZrCl_4 verdeutlicht einerseits den großen synthetischen Wert von 1,3-disubstituierten Cyclopentadien-Derivaten mit donorfunktionalisierter Seitenkette und andererseits die neuartigen stereochemischen Eigenschaften, die durch Kombination von planarer Chiralität und Helicität auftreten. Die Reaktionen und die Stereochemie dieser neuen chiralen Verbindungen werden zur Zeit von uns untersucht.

Eingegangen am 3. Juli 1995 [Z 8160]

Stichworte: Chelatkomplexe · Chiralität · Cyclopentadienderivate · Helicität · Zirconiumverbindungen

- [1] M. Uemura in *Stereochemistry of Organometallic and Inorganic Compounds Vol. 5* (Hrsg.: P. Zanello), Elsevier, Amsterdam, **1994**, S. 507–558.
- [2] a) W. Kaminsky, K. Külper, H.-H. Brintzinger, F. R. W. P. Wild, *Angew. Chem. 1985*, **97**, 507–508; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1985*, **24**, 507–508; b) M. Bochmann, A. J. Jagger, J. C. Nicholls, *ibid. 1990*, **102**, 830–832, bzw. **1990**, **29**, 780–782; c) J. A. Ewen, *J. Am. Chem. Soc. 1984*, **106**, 6355–6364; d) J. A. Ewen, R. L. Jones, A. Razavi, J. D. Ferrara, *ibid. 1988*, **110**, 6255–6256; e) P. G. Gassmann, M. R. Callstrom, *ibid. 1987*, **109**, 7875–7876.
- [3] W. A. Herrmann, M. J. A. Morawietz, T. Priermeier, *Angew. Chem. 1994*, **106**, 2025–2028; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1994*, **33**, 1946–1949; K. E. du Plooy, U. Moll, S. Wocadlo, W. Massa, J. Okuda, *Organometallics 1995*, **14**, 3129–3131. Derartige zweifach chelatisierte Metallocene sind stereochemisch mit organischen Spirocyclen verwandt; siehe: E. L. Eliel, S. H. Wilen, *Stereochemistry of Carbon Compounds*, Wiley, New York, **1994**, Kap. 14.
- [4] Cyclopentadien-Derivate mit donorfunktionalisierter Seitenkette wurden bereits hergestellt und als Liganden in einer Reihe von Metallkomplexen verwendet: a) T.-F. Wang, T.-Y. Lee, J.-W. Chou, C.-W. Ong, *J. Organomet. Chem. 1992*, **423**, 31–38; b) P. Jutzi, J. Dahlhaus, M. O. Kristen, *ibid. 1993*, **450**, C1–C3; c) P. Van de Weghe, C. Bied, J. Collin, J. Marcalo, I. Santos, *ibid. 1994*, **475**, 121–126; d) P. Jutzi, J. Dahlhaus, *Synthesis 1993*, 648–686; e) P. Jutzi, M. O. Kristen, B. Neumann, H.-G. Stamm, *Organometallics 1994*, **13**, 3854–3861; f) J. Lee, F. Dahan, A. Maisonnat, R. Poilblanc, *ibid. 1994*, **13**, 2743–2750; g) J. Okuda, *Comments Inorg. Chem. 1994*, **16**, 185–205.
- [5] a) R. Riemschneider, R. Nehring, *Monatsh. Chem. 1959*, **90**, 568–570; b) S. Schönholzer, M. Slongo, C. Rentsch, M. Neuenschwander, *Makromol. Chem. 1980*, **181**, 37–45.
- [6] a) J. Dale, S. B. Fredriksen, *Acta. Chem. Scand. Ser. B 1985*, **39**, 511–512; b) R. A. Schultz, B. D. White, D. M. Dishong, K. A. Arnold, G. W. Gokel, *J. Am. Chem. Soc. 1985*, **107**, 6659–6668.

[7] Die Koordination an das Zirconiumzentrum führt zu einer Tieffeldverschiebung der Signale der CH_2O -Protonen in **4** um 1.5 ppm im Vergleich zu den entsprechenden Signalen von Komplex **2**. Die höhere Elektrophilie des Zr-Zentrums und somit die verringerte Elektronendichte am O-Atom führt zu einer weiteren Tieffeldverschiebung der Signale der CH_2O -Protonen in **5** um 0.8 ppm im Vergleich zu den Signalen von Verbindung **4**.

[8] Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Direktor des Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, GB-Cambridge CB2 1EZ, unter Angabe des vollständigen Literaturzitates angefordert werden.

[9] a) G. A. Lawrence, *Chem. Rev. 1986*, **86**, 17–33; b) D. H. Johnston, D. F. Shriver, *Inorg. Chem. 1993*, **32**, 1045–1047.

Synthese des palmitoylierten und farnesylierten C-terminalen Lipohexapeptids des menschlichen N-Ras-Proteins mit Hilfe einer enzymatisch abspaltbaren Urethanschutzgruppe**

Herbert Waldmann* und Edgar Nägele

Professor Franz Effenberger zum 65. Geburtstag gewidmet

Ras-Proteine sind membrangebundene Lipoproteine, die eine entscheidende Rolle bei der Weiterleitung von Signalen, die von Wachstumsfaktoren ausgelöst werden, durch die Zellmembran in das Innere der Zelle spielen. Mit Hilfe der sogenannten Ras-Signaltransduktionskaskade regeln so unterschiedliche Organismen wie Säugetiere, Fliegen, Würmer und Hefen Zellwachstum und -teilung^[1]. Wird diese Regulierung gestört oder unterbrochen, können unkontrolliertes Wachstum und letztendlich Krebs die Folge sein. So wird bei ca. 40 % aller menschlichen Krebserkrankungen eine Punktmutation in den zugehörigen ras-Oncogenen nachgewiesen, und bei einigen der Hauptkrebsarten, wie Lungen-, Darm- und Bauchspeicheldrüsenkrebs, steigt diese Zahl bis auf 85 % an^[2]. Für die Untersuchung der von Ras-Proteinen beeinflussten biologischen Phänomene sind Modellpeptide, die die charakteristischen Strukturelemente der zugrundeliegenden Lipoproteine aufweisen, wertvolle Werkzeuge^[3]. Alle Ras-Proteine haben als Terminus einen S-farnesylierten Cysteinmethylester und mit Ausnahme von Ki-Ras folgen in Richtung des N-Terminus ein oder mehrere S-palmitoylierte Cysteine, wie zum Beispiel im C-terminalen Lipohexapeptid des menschlichen N-Ras-Proteins **1** (Abb. 1)^[4].

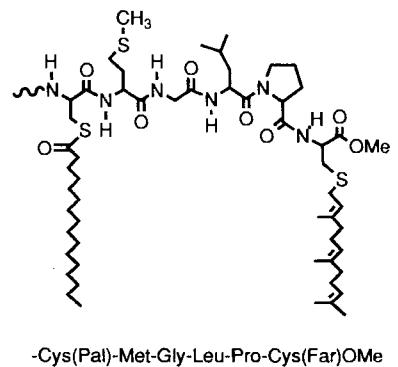


Abb. 1. Oben: Struktur des charakteristischen C-terminalen Lipohexapeptids des menschlichen N-Ras-Proteins **1** (unten).

[*] Prof. Dr. H. Waldmann, Dipl.-Chem. E. Nägele
Institut für Organische Chemie der Universität
Richard-Willstätter-Allee 2, D-76128 Karlsruhe
Telefax: Int. +721/608-4825

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert.

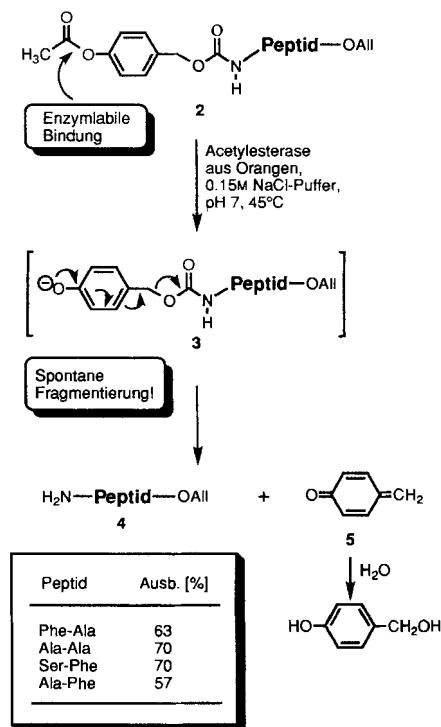
Das Vorhandensein dieser empfindlichen Seitenketten schließt die Anwendung klassischer säure- und basenlabiler Schutzgruppen beim Aufbau von *Ras*-Lipopeptiden aus. So fanden wir, daß bei der säurevermittelten Abspaltung der Boc-Schutzgruppe aus S-farnesylierten Cysteinylpeptiden stets die Doppelbindungen des Farnesylrests angegriffen werden und daß die in den S-palmitoylierten Lipopeptiden vorhandenen Thioester in wäßriger Lösung bereits bei pH 6–7 einer spontanen Hydrolyse unterliegen^[5]. Infolge dieser ausgeprägten Labilität konnten vollständig funktionalisierte, d. h. S-palmitoylierte und S-farnesylierte *Ras*-Lipopeptide bisher nicht aufgebaut werden. Um dieses Ziel zu erreichen, müssen Schutzgruppen eingesetzt werden, die selektiv unter mildesten, möglichst neutralen Bedingungen abgespalten werden können. Wir haben kürzlich von der Entwicklung enzymlabiler Schutzfunktionen berichtet^[6] und unter anderem Phenylacetamide (PhAc und PhAc-Derivate), die durch das Enzym Penicillin-G-Acylase abgespalten werden können, als enzymatisch ablösbare Schutzgruppe für die N-terminalen Aminofunktion von Peptiden eingeführt^[7]. Ein schwerwiegender Nachteil dieser Amidschutzgruppe ist jedoch, daß die PhAc-geschützten Aminosäuren bei der Aktivierung durch etablierte Peptidkupplungsreagentien zu 2–5 % racemisieren^[7]. Um die Vorteile enzymvermittelter Umsetzungen bei der Synthese komplexer Peptidkonjugate wie **1** dennoch nutzen zu können, müssen daher enzymatisch abspaltbare *Urethanschutzgruppen* eingesetzt werden. Obwohl in einigen Fällen eine biokatalysierte Hydrolyse urethannmaskierter Aminosäuren beobachtet wurde^[8], ist eine enzymatische Abspaltung einfacher Urethanschutzgruppen aus Peptiden und ähnlichen Verbindungen nach unserer Kenntnis bislang nicht beschrieben worden. Daher mußte eine neue Strategie für die Entwicklung von enzymlabilen Urethanschutzfunktionen für Peptide und Peptidkonjugate eingesetzt werden.

Wir berichten nun, daß *p*-Acetoxybenzyloxycarbonyl (AcOZ)-urethane enzymatisch unter mildesten Bedingungen (pH 7, 45 °C) von Peptiden abgespalten werden können und daß diese Schutzgruppentechnik vorteilhaft für die Synthese komplexer und empfindlicher biologisch relevanter Peptidkonjugate, wie dem S-farnesylierten und S-palmitoylierten charakteristischen C-terminalen Lipohexapeptid des menschlichen N-*Ras*-Proteins, eingesetzt werden kann.

Zur Entwicklung einer allgemeinen Klasse enzymlabiler Urethanschutzgruppen wurde eine Strategie gewählt, bei der die Urethane a) eine funktionelle Gruppe enthalten, die der Biokatalysator erkennt und die über eine enzymatisch spaltbare Bindung an b) eine funktionelle Gruppe gebunden ist, die als Folge der Spaltung der enzymlabilen Bindung eine spontane Fragmentierungsreaktion eingeht (Abb. 2). Als Folge dieser Fragmentierung wird ein Carbaminsäurederivat freigesetzt, das zum entschützten Peptid decarboxyliert^[9]. Als Schutzfunktion, die

diese Anforderungen erfüllt, wurde die *p*-Acetoxybenzyloxycarbonyl (AcOZ)-Gruppe gewählt^[10].

Die AcOZ-geschützten Peptidallylester **2** (Schema 1) können unter Verwendung bewährter Peptidkupplungsreagentien wie *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid/*N*-Hydroxybenzotriazol aus AcOZ-geschützten Aminosäuren und Aminosäureallylestern



Schema 1. Enzymatische Spaltung der *p*-Acetoxybenzyloxycarbonyl (AcOZ)-Schutzgruppe mit Hilfe der Acylesterase aus Orangen.

aufgebaut werden. Im Gegensatz zu den Befunden für die phenylacetamidogeschützten Peptide^[7] (vide supra) konnte bei denen der AcOZ-maskierten Verbindungen **2** weder mit Hochfeld-NMR-Techniken noch mit HPLC eine partielle Racemisierung der N-terminalen Aminosäure nachgewiesen werden. Die benötigten AcOZ-geschützten Aminosäuren sind leicht aus Chlorameisensäure-*p*-acetoxybenzylester und *N,O*-Bistrimethylsilylaminosäuren zugänglich^[11]. Da in den Peptiden **2** zwei unterschiedliche Estergruppen vorliegen (ein Essigsäurephenylester am N-Terminus und ein Peptidallylester am C-Terminus) mußte für das beabsichtigte N-terminale Entschützen ein Biokatalysator zum Einsatz kommen, der zwischen diesen Estergruppen differenzieren kann. Für die Hydrolyse der Acetate in **2** und die Einleitung der nachfolgenden Fragmentierung wurde daher das Enzym Acylesterase aus dem *Flavedo* von Orangen gewählt, ein Biokatalysator der Acetate angreift, längere Acylreste jedoch unangestastet läßt^[12]. Darüber hinaus zeigt dieses Enzym keine Amidaseaktivität, so daß ein unerwünschter Angriff auf die Peptidbindungen nicht befürchtet werden mußte. Beim Behandeln der Peptide **2** mit der Acylesterase in wäßrigem Puffer bei pH 7 und 45 °C wird die Acetylgruppe in der N-terminalen Schutzgruppe schonend unter Freisetzung der Phenolate **3** hydrolysiert. Diese Intermediat fragmentieren unter den Reaktionsbedingungen spontan und setzen die gewünschten Peptide **4** frei, die in analysenreiner Form in 60–70 % Ausbeute isoliert werden können. Das aus dem Phenolat gebildete Chinonmethid **5** wird durch Zugabe von Wasser als *p*-Hydroxybenzylalkohol

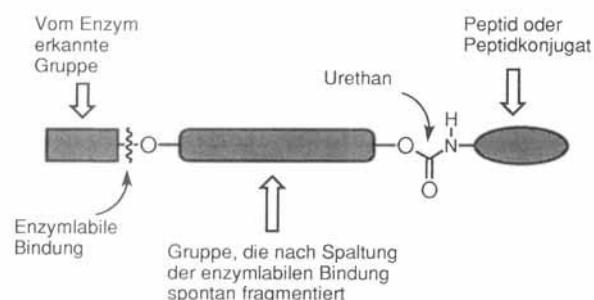
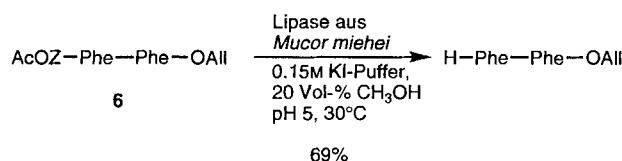


Abb. 2. Strategie für die Entwicklung einer allgemeinen Klasse enzymlabiler Urethanschutzgruppen.

abgefangen (Schema 1). Die enzymatische Umsetzung verläuft vollständig chemoselektiv, ein unerwünschter Angriff des Enzyms auf die Allylester- oder die Peptidbindungen findet nicht statt. Der Befund, daß die Fragmentierung bereits beim pH-Wert von 7 eintritt, ist nicht selbstverständlich, da in der nicht-enzymatischen Abspaltung der AcOZ-Gruppe der pH-Wert auf 10–11 angehoben werden mußte, um das entsprechende Phenol zu deprotonieren und damit seine nachfolgende Umwandlung in das Chinonmethid einzuleiten^[10]. Die enzyminduzierte Abspaltung der AcOZ-Gruppe aus Peptiden kann nicht nur mit Acylesterase bewerkstelligt werden. AcOZ-Urethane sind ebenfalls Substrate für die Acetylcholinesterase aus Zitteraaalen und insbesondere für die Lipasen aus *Mucor miehei* und *Rhizopus arrhizus*, die beispielsweise selektiv die N-terminale Schutzgruppe aus dem geschützten, sterisch anspruchsvollen Phenylalanylpeptid **6** in hoher Ausbeute ablösen (Schema 2). Ein be-

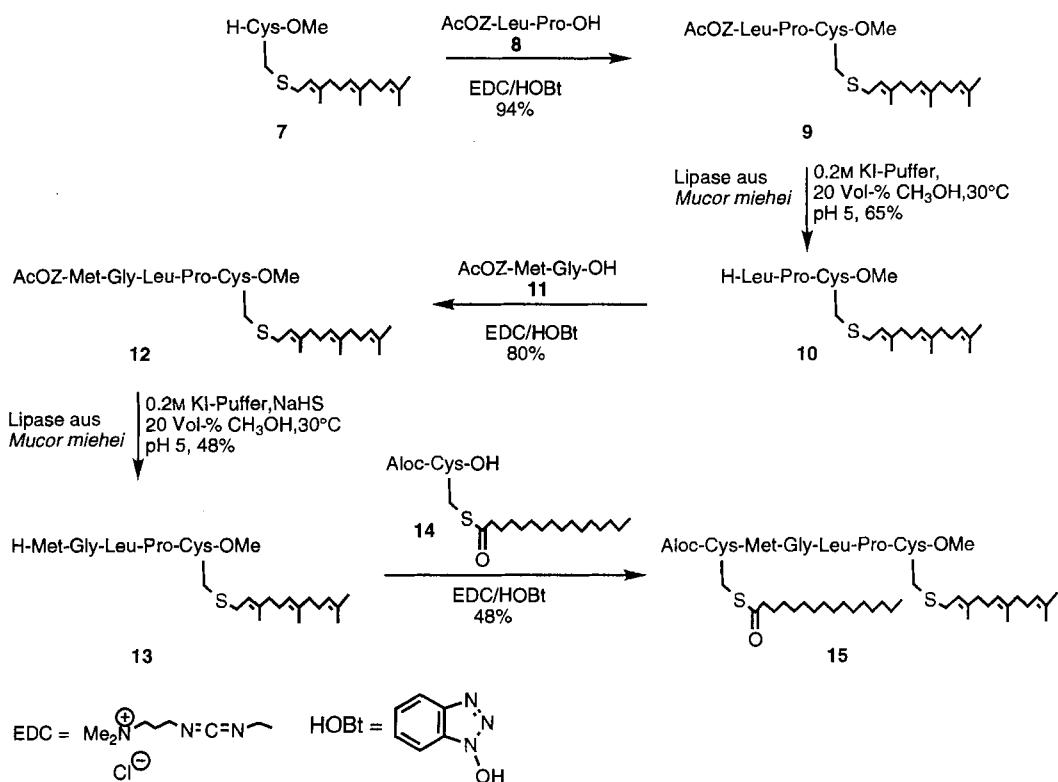


Schema 2. Lipasevermittelte Abspaltung der AcOZ-Schutzgruppe.

sonderer Vorteil der AcOZ-Schutzgruppe besteht darin, daß das verwendete Enzym ein stets gleichbleibendes Strukturelement erkennen kann. Der variable Peptidteil der Substrate ist räumlich relativ weit von der Stelle entfernt, an der der Biokatalysator angreift. Dadurch ist gewährleistet, daß die Substrattoleranz des Enzyms nicht durch eventuell störende, elektronische oder sterische Wechselwirkungen des Proteins mit dem Substrat (z.B. durch sterisch anspruchsvolle Aminosäureseitenketten) eingeschränkt wird.

Die AcOZ-Schutzgruppe ist orthogonal stabil zur Allylesterfunktion. So können die Allylester selektiv aus den Dipeptiden **2** durch Umsetzen mit $[(\text{Ph}_3\text{P})_3\text{RhCl}]$ bei 70°C oder mit $[(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}^0]/\text{Morpholin}$ bei Raumtemperatur abgespalten werden^[13].

Um die volle Leistungsfähigkeit unserer enzymatischen Schutzgruppentechnik zu demonstrieren, haben wir das charakteristische C-terminale Lipohexapeptid **1** des menschlichen N-*Ras*-Proteins aufgebaut. Dafür wurde das C-terminal deblockierte AcOZ-geschützte Peptid **8** mit Hilfe eines Carbodiimids aktiviert und mit dem S-farnesylierten Cysteinmethylester **7**^[14] in hoher Ausbeute zum Lipotripeptid **9** verknüpft (Schema 3). Aus **9** wurde die AcOZ-Urethanschutzgruppe quantitativ und ohne Angriff auf den Farnesyrest und den C-terminalen Methylester durch Behandlung mit Lipase aus *Mucor miehei* abgespalten. Das N-terminal entschützte farnesylierte Peptid **10** wurde analytisch rein in 65% Ausbeute erhalten. Eine weitere Verlängerung der Peptidkette um das Dipeptid **11** lieferte das AcOZ-geschützte Lipopentapeptid **12**. Aus **12** konnte das N-terminale Urethan erneut enzymatisch, ohne daß der Farnesyrest oder der C-terminalen Methylester angegriffen wurden, abgelöst werden. Das enzymatische Entschützen der äußerst hydrophoben Lipopeptide **9** und **12** wird am vorteilhaftesten in Gegenwart von 20 Vol.-% Methanol durchgeführt, um die organischen Substrate in Lösung zu bringen und so für den Biokatalysator zugänglich zu machen. Da die Acylesterase unter diesen Bedingungen instabil ist^[12], kann für die Abspaltung der Schutzgruppen aus **9** und **12** die Lipase aus *Mucor miehei* besonders vorteilhaft zum Einsatz kommen. Um einen unerwünschten Angriff der in diesen Reaktionen gebildeten Amine **10** und **13** auf das gebildete Chinonmethid zu verhindern, wurden die enzymatischen Umsetzungen bei pH 5 (d. h. bei Bedingungen, unter denen die Amine protoniert sind) und in Gegenwart von NaHS und/oder KI (d. h. Reagentien, die das Chinonmethid durch nucleophilen Angriff abfangen) durchgeführt. Schließlich wurde die Synthese des Alloc-geschützten *Ras*-Peptids **15** durch



Schema 3. Synthese des vollständig funktionalisierten C-terminalen Lipohexapeptids des menschlichen N-*Ras*-Proteins mit Hilfe der enzymatischen Abspaltung der N-terminalen p-AcOZ-Schutzgruppe. Alloc = Allyloxycarbonyl.

Kupplung des selektiv deblockierten Peptidkonjugats **13** mit dem S-palmitoylierten Cystein zum vollständig funktionalisierten Lipopeptid **15**, das sowohl einen basenlabilen Palmitinsäurethioester als auch einen säurelabilen Farnesylthioether enthält, abgeschlossen.

Zusammenfassend haben wir eine Strategie für die enzymatische Abspaltung von Urethanschutzgruppen aus Peptiden und labilen Peptidkonjugaten entwickelt und ihre Leistungsfähigkeit anhand der ersten Synthese des empfindlichen N-Ras-Proteins **1** belegt. Mit Hilfe dieser Technik sollten nun weitere S-palmitoylierte und S-farnesylierte Peptidkonjugate zugänglich sein, die neue Wege für die Forschung in der bioorganischen Chemie und der Biologie eröffnen können.

Eingegangen am 16. Mai 1995 [Z 7993]

Stichworte: Bioorganische Chemie · Enzyme · Ras-Proteine · Schutzgruppen

- [1] Übersichten: a) S. E. Egan, R. A. Weinberg, *Nature* **1993**, *365*, 781; b) M. S. Boguski, F. McCormick, *ibid.* **1993**, *366*, 643; c) J. L. Bos, *Mutat. Res.* **1988**, *195*, 255.
 [2] Übersicht: A. Levitsky, *Eur. J. Biochem.* **1994**, *226*, 1.
 [3] Für Anwendungen S-farnesylierter Peptide siehe beispielsweise: a) M. D. Schaber, M. B. O'Hara, V. M. Garsky, S. D. Mosser, J. D. Bergstrom, S. L. Moores, M. S. Marshall, P. A. Friedman, R. A. F. Dixon, J. B. Gibbs, *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 14701; b) S. L. Moores, M. D. Schaber, S. D. Mosser, E. Rands, M. B. O'Hara, V. M. Garsky, M. S. Marshall, D. L. Pompliano, J. B. Gibbs, *ibid.* **1991**, *266*, 14603; c) D. L. Pompliano, E. Rands, M. D. Schaber, S. D. Mosser, N. J. Anthony, J. B. Gibbs, *Biochemistry* **1992**, *31*, 3800; d) D. L. Pompliano, R. P. Gomez, N. J. Anthony, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7945.
 [4] W. A. Maltese, *FASEB J.* **1990**, *4*, 3319, zit. Lit.
 [5] H. Waldmann, P. Stöber, M. Schelhaas, unveröffentlicht.
 [6] Übersichten: a) H. Waldmann, D. Sebastian, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 911; b) H. Waldmann in *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis – A Comprehensive Handbook, Vol. II* (Hrsg: K. Drauz, H. Waldmann), VCH, Weinheim, **1995**, S. 851.
 [7] a) H. Waldmann, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 1131; b) *Liebigs Ann. Chem.* **1988**, 1175.
 [8] a) C. Sambale, M.-R. Kula, *Appl. Biochem.* **1987**, *9*, 251; b) *J. Biotechnol.* **1988**, *7*, 49; c) E. Matsumura, T. Shin, S. Murao, M. Sakaguchi, T. Kawano, *Agric. Biol. Chem.* **1985**, *49*, 3643.
 [9] Dieses Prinzip wurde erfolgreich für die Entwicklung eines Prodrug-Konzepts angewendet: L. N. Jungheim, T. A. Shepherd, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 1553.
 [10] Die AcOZ-Gruppe wurde bereits in der Peptidchemie eingesetzt (G. Le Corre, E. Guibé-Jampel, M. Wakselman, *Tetrahedron* **1978**, *34*, 3105). Sie kann nicht-enzymatisch durch Hydrazin, Na_2CO_3 oder $\text{H}_2\text{O}_2/\text{NH}_3$ abgespalten werden. Diese Bedingungen können für die Synthese empfindlicher Peptidkonjugate wie dem N-Ras-Protein **1** jedoch nicht angewendet werden.
 [11] D. R. Bolin, I.-I. Sytu, F. Humiec, J. Meienhofer, *Int. J. Pept. Res.* **1989**, *33*, 353, zit. Lit.
 [12] H. Waldmann, A. Heuser, *Bioorg. Med. Chem.* **1994**, *2*, 477, zit. Lit.
 [13] a) H. Waldmann, H. Kunz, *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 1712; b) S. Friedrich-Bohnitschek, H. Waldmann, H. Kunz, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 751.
 [14] M. Liakopoulou-Kyriakides, *Phytochemistry* **1985**, *24*, 1593.

Coexistenz von Reaktivitäts-Selektivitäts-Prinzip und Linearer-Freier-Enthalpie-Beziehung: eine Diffusions-Uhr zur Bestimmung von Carbokationen-Reaktivitäten**

Michael Roth und Herbert Mayr*

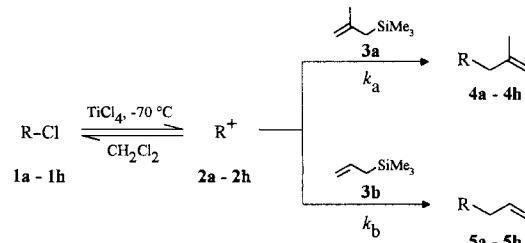
Professor Günter Schäfer zum 60. Geburtstag gewidmet

Für die Geschwindigkeit der Reaktionen von Carbokationen mit ungeladenen Nucleophilen gilt Gleichung (a), wobei Elektrophile durch den Elektrophilieparameter E und Nucleophile durch den Nucleophilieparameter N sowie den meistens nur wenig von 1 abweichenden Steigungsparameter s charakterisiert sind^[1]. Um die Stärke von Elektrophilen zu ermitteln, messen wir üblicherweise die Geschwindigkeit ($\lg k$) der Reaktion zwischen dem Elektrophil und Nucleophilen mit bekanntem s und N und errechnen dann den Elektrophilieparameter E nach Gleichung (a)^[2, 3]. Diese Methode ist allerdings nur bei gut

$$\lg k = s(N + E) \quad (a)$$

stabilisierten Carbokationen anwendbar, d. h. bei solchen, die in organischen Lösungsmitteln als Spezies mit Lebensdauern von mehr als einer Stunde herstellbar sind. Wir stellen nun eine allgemeine Methode zur Bestimmung von absoluten Geschwindigkeitskonstanten und von Elektrophilieparametern für kurzlebige Carbokationen vor. Sie beruht auf der Selektivität dieser Carbokationen, die durch chemische Ionisation aus geeigneten Vorstufen gebildet werden, und setzt nicht das Vorliegen bestimmter Chromophore voraus, wie dies beispielsweise bei der blitzphotolytischen Bildung von Carbokationen der Fall ist.

Wir stellen fest, daß die relative Reaktivität der Allylsilane **3a** und **3b** gegenüber den Benzhydrylchloriden **1a**–**e** (Schema 1), mit abnehmender Donorfähigkeit der Substituenten im



Schema 1.

Arylrest von 208 auf 2.6 sinkt (Tabelle 1). Die nach einer früher beschriebenen Vorschrift durchgeführten Konkurrenzexperimente^[4–6] ergaben vom Nucleophil-Verhältnis **3a**:**3b** unabhängige Konkurrenzkonstanten, deren Standardabweichung nur für **1a** 10 % überschritt (sehr großer und daher schwer zu bestimmender Wert). Die Übereinstimmung von Konkurrenzkonstanten und direkt gemessenen Geschwindigkeitskonstanten zeigt der Eintrag für **1c**: Beträgt k_a/k_b für das Bis(*p*-chlorophenyl)carbenium-Ion **2c** nach den Konkurrenzexperimenten 42.7 (Tabelle 1), so folgt aus den direkt gemessenen Geschwindigkeitskonstanten ($\text{CH}_3\text{CN}, 20^\circ\text{C}$) $k_a/k_b = 37^{[7]}$. Da diese Re-

[*] Prof. Dr. H. Mayr, Dipl.-Ing. M. Roth
 Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule
 Petersenstraße 22, D-64287 Darmstadt
 Telefax: Int. + 6151/165591

[**] Wir danken der Bayer AG, Leverkusen, für finanzielle Unterstützung.