

- [9] Wenn die Reaktionstemperatur auf  $-110^{\circ}\text{C}$  gesenkt wurde, wurden 71 % ee und 37 % chemische Ausbeute erzielt.
- [10] T. F. Bates, M. T. Clarke, R. D. Thomas, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5109–5112.
- [11] Bei der Umsetzung von **1** nur mit *t*BuLi in Diethylether unter den gleichen Bedingungen wurde **2** nicht erhalten. Hingegen lieferte die Reaktion in THF **2** in 70 % Ausbeute.
- [12] Zur Chemie von RLi/R'OLi-Komplexen siehe: P. Caubetre, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 2317–2334.
- [13] Wir fanden, daß das separat vorgemischte *t*BuLi/Lithium-Alkoxid von **2** nicht reaktiv genug ist, um die Umlagerung zu induzieren.
- [14] Die Umlagerung von **4** und **6b** mit 10 Mol-% **3** führte zu 53 % ee (56 %) bzw. 54 % ee (35 %).
- [15] Die Enantiomerenüberschüsse wurden durch  $^1\text{H}$ -NMR-Analysen der (S)-MTPA-Ester bestimmt. Die absoluten Konfigurationen der aus **4** und **5** erhaltenen Hauptenantiomere wurden nicht bestimmt. Die (R)-Konfiguration von **7a** wurde durch Überführung in das bekannte (R)-Methyl- $\alpha$ -benzylmandelat bestimmt:  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -13.5$  ( $c = 1.20$  in  $\text{CHCl}_3$ ) (65 % ee); Literaturwert:  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -32.4$  ( $c = 3.4$  in  $\text{CHCl}_3$ ): H. R. Sullivan, J. R. Beck, A. Pohland, *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 2381–2385.

## Erweiterung des Repertoires von katalytischen Antikörpern mit Aldolaseaktivität durch Kombination von reaktiver Immunisierung und Übergangszustandstheorie: neue Enantio- und Diastereoselektivitäten\*\*

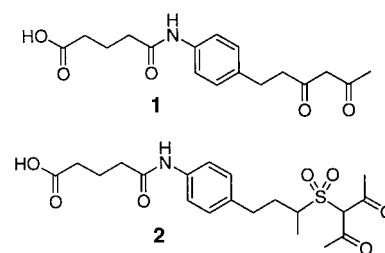
Guofu Zhong, Richard A. Lerner\* und Carlos F. Barbas III\*

Die Aldolreaktion ist eine Reaktion zur Bildung von C-C-Bindungen, die für die Praxis der organischen Synthesechemie von großer Bedeutung ist.<sup>[1]</sup> Wegen ihrer Nützlichkeit wurden große Anstrengungen in die Entwicklung katalytischer enantioselektiver Varianten dieser Reaktion gesteckt. Katalytische enantioselektive Aldolreaktionen werden gewöhnlich mit zuvor hergestellten Enolaten und chiralen Übergangsmetallkatalysatoren<sup>[2a–e]</sup> oder mit natürlich vorkommenden Aldolasen<sup>[2f–h]</sup> durchgeführt. Die Enantioselektivität von durch Übergangsmetalle katalysierten Aldolreaktionen läßt sich ohne weiteres durch Austausch des chiralen Liganden, der den stereochemischen Verlauf der Reaktion

steuert, umkehren. Ein allgemeiner Ansatz zur Umkehrung der Enantioselektivität ist jedoch mit Enzymen nicht möglich. Um das Problem der Herstellung von Aldolasen de novo anzugehen, entwickelten wir die Strategie der reaktiven Immunisierung. Hierbei verwendeten wir  $\beta$ -Diketon-Haptene, um Antikörpern einen chemischen Mechanismus „einzuprogrammieren“, der dem von natürlichen Aldolasen der Klasse I analog ist.<sup>[3a]</sup> Die Chemie dieser Enzymklasse beruht auf einem einzigartigen chemisch reaktiven Lysinrest, der für den kovalenten Mechanismus dieser Katalysatoren essentiell ist.

In unserem ursprünglichen Modell verwendeten wir die  $\beta$ -Diketongruppe des Haptens **1** als reaktives Immunogen zum „Abfangen“ eines chemisch reaktiven Lysinrests im aktiven Zentrum eines Antikörpers. Ein Abfangen durch Bildung einer kovalenten Bindung wurde durch intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen erleichtert, die ein Enaminon im aktiven Zentrum des Antikörpers stabilisieren. Der zu dem stabilisierten Enaminon führende chemische Mechanismus sollte mit dem von Aldolasen der Klasse I in diesem Bereich der Reaktionskoordinate übereinstimmen. Da der Mechanismus bezüglich des Übergangszustands, in dem die C-C-Bindung gebildet wird, symmetrisch ist, konnte mit diesem Ansatz der mehrstufige Reaktionsmechanismus in Antikörper einprogrammiert werden.<sup>[3a,d]</sup> Die hierbei erhaltenen wirksamen katalytischen Antikörper ab38C2 (Aldrich) und ab33F12 (ab = antibody) katalysieren eine Vielzahl von enantioselektiven Aldolreaktionen und Retro-Aldolreaktionen.<sup>[3]</sup> Wir berichten hier über unsere Bemühungen, das Repertoire an Katalysatoren für diese Reaktion zu erweitern, und dabei insbesondere nach Antikörpern mit Antipodenreaktivität zu suchen. Bei dieser Suche testeten wir das Potential eines neuen Konzepts des Haptendesigns, um eine effizientere Programmierung der Reaktion zu erreichen.

Für diese Zwecke wurde das  $\beta$ -Diketonsulfon-Hapten **2** entworfen und synthetisiert. Eine deutliche Einschränkung unseres ursprünglichen Haptenmodells (**1**) besteht darin, daß es die tetraedrische Geometrie des Übergangszustands beim

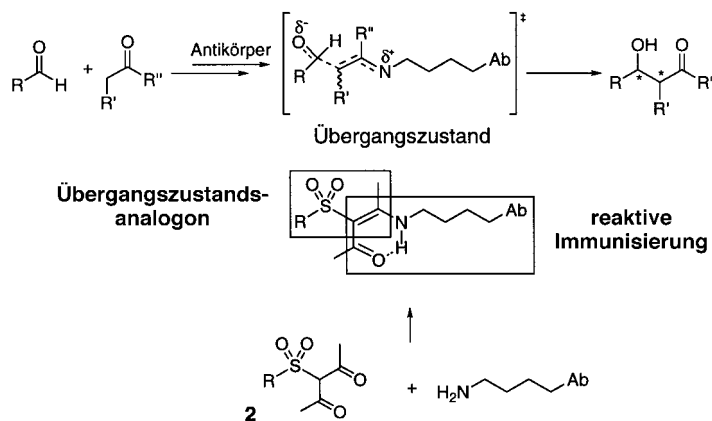


geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der C-C-Bindungsbildung nicht berücksichtigt.<sup>[3a, 4]</sup> Das Hapten **2** hat diese Einschränkung nicht und enthält Merkmale der Methode der Verwendung von Übergangszustandsanaloga, die für so viele Reaktionen erfolgreich war,<sup>[5]</sup> sowie die  $\beta$ -Diketongruppe, die für die Strategie der reaktiven Immunisierung entscheidend ist. Die Tetraedergeometrie der Sulfoneinheit im Hapten **2** ahmt den tetraedrischen Übergangszustand beim Schritt der C-C-Bindungsbildung nach und sollte daher einen nucleophilen Angriff der Enaminon-Zwischenstufe auf den Aldehyd-Acceptor erleichtern (Schema 1).

[\*] Prof. Dr. C. F. Barbas III, Prof. Dr. R. A. Lerner, Prof. Dr. G. Zhong Skaggs Institute for Chemical Biology and Department of Molecular Biology Scripps Research Institute 10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037 (USA) Fax: (+1) 858-784-9098 E-mail: carlos@scripps.edu

[\*\*] Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health unterstützt (CA27489). Wir danken D. Kubitz und L. Kerwin für die Herstellung der Antikörper, B. List, A. Li und S. Sinha für ihre Beiträge zu Retro-Aldolreaktionen sowie S. Sinha für Daten, die zum Entwurf von **16** führten.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.wiley-vch.de/home/angewandte/> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.



Schema 1. Mechanismus der durch Antikörper katalysierten Aldolreaktion und reaktive Immunisierung mit **2** zur Herstellung neuer Aldolase-Antikörper. Ab = Antikörper.

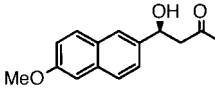
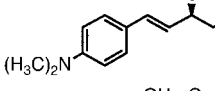
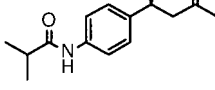
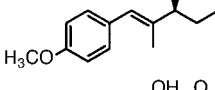
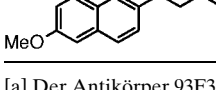
Mäuse wurden mit dem Hapten **2** immunisiert, das an das Trägerprotein KLH (keyhole limpet hemocyanin; Hämocyanin der Schlüsselloch-Napfschnecke *Megathura crenulata*) gekoppelt war, und es wurden 17 monoklonale Antikörper hergestellt und gereinigt.<sup>[3a]</sup> Alle Antikörper wurden zunächst auf ihre Fähigkeit untersucht, mit 2,4-Pentandion unter Bildung eines stabilen, kovalent gebundenen Enaminons reagieren zu können.<sup>[3a]</sup> Neun Antikörper, 85A2, 85C7, 92F9, 93F3, 84G3, 84G11, 84H9, 85H6 und 90G8, wiesen nach Inkubation mit 2,4-Pentandion das charakteristische Enaminon-Absorptionsmaximum bei 316 nm im UV-Spektrum auf. Alle Antikörper wurden dann mit den fluoreszierenden und UV-aktiven Substraten für die Retro-Aldolreaktion ( $\pm$ )-**3**<sup>[6]</sup> bzw. ( $\pm$ )-**4**<sup>[3f]</sup> getestet. Nur mit Antikörpern, bei denen mit 2,4-Pentandion eine Enaminonbildung stattgefunden hatte, ließ sich eine katalytische Wirkung nachweisen. Bei der Untersuchung der Fähigkeit der Antikörper, die Aldoladdition von Aceton an 3-(4-Acetamidophenyl)propanal **12** und 4-Isobutyramidobenzaldehyd **13** zu katalysieren, wurden die gleichen Katalysatoren identifiziert. Alle durch Antikörper katalysierten Aldolreaktionen und Retro-Aldolreaktionen verliefen nach einer Michaelis-Menten-Kinetik und wurden durch Zugabe einer stöchiometrischen Menge von 2,4-Pentandion gehemmt. Diese Ergebnisse sind mit einem kovalenten katalytischen Mechanismus konsistent, an dem eine reaktive Aminogruppe in diesen Antikörpern beteiligt ist.<sup>[3]</sup> Die Zahl der unter Verwendung dieses Haptens hergestellten Katalysatoren, 9 von 17, ist deutlich größer als bei unseren früheren Untersuchungen mit dem Hapten **1**, bei denen nur 2 von 20 Antikörpern katalytisch aktiv waren.<sup>[3a]</sup>

Für einen Vergleich dieser Antikörper mit dem im Handel erhältlichen Aldolase-Antikörper 38C2 wurden mehrere Aldol- und Retro-Aldolreaktionen ausgewählt. Die Antikörper 93F3 und 84G3 wurden bei diesen Untersuchungen detailliert charakterisiert.

Um die Anwendungsbreite in der Synthese sowie die Enantioselektivität dieser Antikörper zu bestimmen, untersuchten wir ihren Einsatz bei der kinetischen Racematspaltung von  $\beta$ -Hydroxyketonen. Die racemischen Aldole **3–7** wurden mit ab93F3 oder ab84G3 (0.2–0.4 Mol-%) in wässrigem Puffer wie bereits für ab38C2 beschrieben<sup>[3f]</sup> inkubiert.

Die HPLC-Analyse zeigte, daß die Retro-Aldolreaktion bei jeweils etwa 50 % Umsatz zum Stillstand kam, was belegte, daß der Antikörper hoch enantioselektiv war. Die nicht umgesetzten Aldole wurden wiedergewonnen und mit HPLC an chiraler Phase untersucht. Der Vergleich der Ergebnisse mit denen der Untersuchung enantiomerenangereicherter Referenzverbindungen<sup>[7]</sup> zeigte, daß der Katalysator hoch enantioselektiv war und die wiedergewonnenen (*S*)-Aldole mit *ee*-Werten von typischerweise über 96 % lieferte (Tabelle 1). Da der Antikörper 38C2 die entsprechenden (*R*)-Aldole durch kinetische Racematspaltung liefert, stellt ab93F3 aufgrund seiner Antipodenreaktivität dessen Gegenstück dar. Die Untersuchung mit ab84G3 ergab eine ähnliche Enantioselektivität wie die von ab93F3.<sup>[8]</sup>

Tabelle 1. Antikörper-katalysierte kinetische Racematspaltung durch Retro-Aldolreaktion.

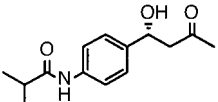
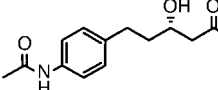
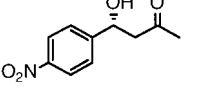
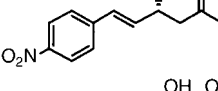
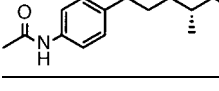
| Produkt <sup>[a]</sup>  | Umsatz [%] | <i>ee</i> [%]         |
|---|------------|-----------------------|
|  ( <i>S</i> )- <b>3</b>   | 50         | 99 <sup>[a]</sup>     |
|  ( <i>S</i> )- <b>4</b>   | 50         | 97 <sup>[a]</sup>     |
|  ( <i>S</i> )- <b>5</b>  | 52         | > 99 <sup>[a,b]</sup> |
|  ( <i>S</i> )- <b>6</b> | 50         | 96 <sup>[a]</sup>     |
|  ( <i>S</i> )- <b>7</b> | 50         | > 99 <sup>[b]</sup>   |

[a] Der Antikörper 93F3 wurde verwendet. Die absoluten Konfigurationen wurden durch Vergleich der Aldol-Produkte mit denen aus ab38C2-katalysierten Reaktionen zugeordnet. [b] Antikörper 84G3 wurde verwendet.

Wir untersuchten dann die Katalyse der Umsetzung von Aceton mit den vier Aldehyden **12**, **13**, 4-Nitrobenzaldehyd und 4-Nitrozimtsäurealdehyd zu den Aldolen **5**, **8**, **9** bzw. **10** (Tabelle 2). Die Analyse mit HPLC an chiraler Phase zeigte, daß die Enantioselektivität von durch ab93F3 und ab84G3 katalysierten Aldoladditionen substratabhängig ist. Die Aldole (*R*)-**5**, (*R*)-**9** und (*R*)-**10** werden mit beiden Katalysatoren in praktisch enantiomerenreiner Form erhalten, während die Enantioselektivität bei der Synthese von (*S*)-**8** mäßig ist (69 % *ee* mit ab93F3 (Tabelle 2) oder 54 % mit ab84G3). Die mit diesen Katalysatoren erzielten *ee*-Werte sind ähnlich den bei Verwendung von ab38C2 erhaltenen Werten, wobei jedoch die Enantioselektivität umgekehrt ist.

Um die Diastereoselektivität von ab93F3 zu prüfen, untersuchten wir die Umsetzung von 3-Pentanone zum Aldol **11**. In diesem Fall wurde mit ab93F3 *syn*-**11** als Hauptprodukt erhalten. Die vom Antikörper 93F3 katalysierte Reaktion wies Diastereo- und Enantioselektivitäten auf, die sich von den mit ab38C2 erhaltenen unterscheiden. Der Antikörper

Tabelle 2. Durch den Antikörper 93F3 katalysierte Aldolreaktionen.

| Produkt <sup>[a]</sup>  |                           | ee [%]                            |
|---|---------------------------|-----------------------------------|
|  | ( <i>R</i> )- <b>5</b>    | > 99 %                            |
|  | ( <i>S</i> )- <b>8</b>    | 69 %                              |
|  | ( <i>R</i> )- <b>9</b>    | 95 %                              |
|  | ( <i>R</i> )- <b>10</b>   | 98 %                              |
|  | ( <i>S,R</i> )- <b>11</b> | 90 %<br>( <i>syn:anti</i> = 95:5) |

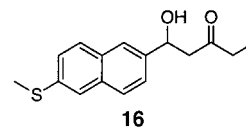
[a] Die absoluten Konfigurationen wurden anhand der asymmetrischen Synthese der Aldole zugeordnet.<sup>[7]</sup>

93F3 liefert **11** mit 90 % *de* (*syn-α*-Isomer) und 90 % *ee*, während die Verwendung von ab38C2 zu **11** mit 62 % *de* (*anti*-Isomer) und 59 % *ee* führt.

Um die Anwendungsbreite der durch diese Antikörper katalysierten Reaktionen zu testen, untersuchten wir verschiedene Ketone als Aldol-Donorsubstrate in der Umsetzung mit dem Aldehyd **14**. Vorläufige Ergebnisse zeigen, daß neben Aceton und 3-Pentanon auch die sieben Ketone 2-Butanon, 3-Methyl-2-butanon, 2-Pentanon, Cyclopentanon, Cyclohexanon, Hydroxyaceton und Fluoraceton als Substrate geeignet sind. Die getesteten Antikörper weisen daher auch die charakteristische große Anwendungsbreite auf, die wir zuvor für ab38C2 bestimmt hatten.

Die Ergebnisse der Untersuchung der Kinetik von drei Retro-Aldolreaktionen und einer Aldoladdition sind in Tabelle 3 angegeben. Die Katalyseeffizienz<sup>[9]</sup> von ab93F3 und

ab84G3 übersteigt die von ab38C2 in den meisten der untersuchten Fälle (siehe Hintergrundinformationen für weitere Beispiele). Bei der Aldolreaktion von 3-Pentanon mit **12** zu (*S,R*)-**11** wird eine dreifache Steigerung der Katalyseeffizienz beobachtet. Diese allgemeine Tendenz einer Zunahme der Wirksamkeit ist mit der Feststellung konsistent, daß das Einbeziehen des Konzepts des Übergangszustandsanalogons beim Entwurf des Haptens zu einer erhöhten katalytischen Wirksamkeit führt. Dieser Effekt ist besonders bei Substrat **7** ausgeprägt, bei dem eine 1000fache Zunahme der Effizienz gegenüber der von ab38C2 katalysierten Reaktion beobachtet wird. Aufgrund des Erfolgs dieses Substrats synthetisierten wir das Analogon **16**.



Da bei Racematspaltungen von Aldolen mit Antikörpern das nichtumgesetzte Enantiomer die Umsetzung des Enantiomers, das das Substrat für den Antikörper darstellt, hemmen kann,<sup>[3b]</sup> isolierten wir (*R*)-**16** durch HPLC an chiraler Phase. Eine Untersuchung der Kinetik der Retro-Aldolisierung von (*R*)-**16** durch ab84G3 zeigte, daß (*R*)-**16** vom Antikörper äußerst schnell umgesetzt wurde ( $k_{\text{cat}} = 1.4 \text{ s}^{-1}$ ). Eine Untersuchung der nichtkatalysierten Reaktion zeigte, daß (*R*)-**16** chemisch nicht reaktiver als das entsprechende Methoxyderivat **7** war und daß mit dem Antikörper eine Geschwindigkeitserhöhung  $k_{\text{cat}}/k_{\text{uncat}}$  von  $2.3 \times 10^8$  erreicht wurde. Die Katalyseeffizienz<sup>[9]</sup> von ab84G3 für die Retro-Aldolisierung des Aldols (*R*)-**16** ist fast 1000fach höher als die für andere katalytische Antikörper berichteten Werte.<sup>[3f, 10]</sup> Die Katalyseeffizienz des Antikörpers für dieses Substrat ( $3.3 \times 10^5 \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}$ ) läßt sich gut mit der Effizienz natürlicher Muskelaldolase ( $4.9 \times 10^4 \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}$ ) für die Retro-Aldolisierung von deren Substrat Fructose-1,6-bisphosphat vergleichen.<sup>[11]</sup>

Wir haben gezeigt, daß die Kombination des Konzepts des Übergangszustandsanalogons und der reaktiven Immunisierung beim Design eines Haptens zu Steigerungen sowohl bei der Zahl der vom Immunsystem gebildeten Katalysatoren als auch bei deren Wirksamkeit führen kann. Diese Strategie führte zur Charakterisierung der effizientesten katalytischen Antikörper, die bisher hergestellt worden sind. Die Antikörper 93F3 und 84G3 katalysieren eine breite Vielfalt von Aldolreaktionen mit *ee*-Werten von über 95 % in den meisten Fällen. Bei Verwendung von Aceton als Aldol-Donorsubstrat wird durch den Angriff auf der *re*-Seite des Aldehyds ein neues stereogenes Zentrum gebildet. Somit wurde bezüglich der Antipodenreaktivität das Gegenstück von ab38C2 bei Aldolreaktionen erhalten. Beide Enantiomere des Aldols können durch Aldol- und Retro-Aldolreaktionen erhalten werden. Diese Katalysatoren sollten den Zugang zu einer großen Vielzahl enantiomerenangereicherter Synthone mit Anwendungsmöglichkeiten in der Naturstoffsynthese eröffnen.

Eingegangen am 29. April,  
ergänzte Fassung am 4. August 1999 [Z13339]  
International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 3738–3741

**Stichwörter:** Aldolreaktionen • Asymmetrische Synthesen • Enantiomerentrennung • Katalytische Antikörper • Retro-Aldolreaktionen

Tabelle 3. Kinetische Parameter für Antikörper-katalysierte Aldolreaktionen und Retro-Aldolreaktionen.

| Substrat           | Antikörper           | $k_{\text{cat}}$ <sup>[a,b]</sup><br>[min <sup>-1</sup> ] | $K_{\text{M}}$ <sup>[a,b]</sup><br>[μM] | $k_{\text{cat}}/k_{\text{uncat}}$ <sup>[c]</sup> | $(k_{\text{cat}}/K_{\text{M}})/k_{\text{uncat}}$ <sup>[d]</sup> |
|--------------------|----------------------|---|---|--|---|
| (±)- <b>3</b>      | 93F3                 | 2.65  | 15                                      | $2.7 \times 10^6$                                | $1.8 \times 10^{11}$  |
|                    | 84G3                 | 3.5   | 23                                      | $3.6 \times 10^6$                                | $1.6 \times 10^{11}$  |
|                    | 38C2 <sup>[6]</sup>  | 1.0   | 14                                      | $1.0 \times 10^6$                                | $7.1 \times 10^{10}$  |
| (±)- <b>7</b>      | 93F3                 | 43.3  | 6.5                                     | $4.9 \times 10^7$                                | $7.4 \times 10^{12}$  |
|                    | 84G3                 | 46.8  | 10.3                                    | $5.2 \times 10^7$                                | $5.0 \times 10^{12}$  |
|                    | 38C2                 | 0.053   | 29.5                                    | $5.8 \times 10^4$                                | $2.0 \times 10^9$   |
| (R±)- <b>16</b>    | 93F3                 | 69.6  | 2.6                                     | $1.9 \times 10^8$                                | $7.4 \times 10^{13}$  |
|                    | 84G3                 | 81.4  | 4.2                                     | $2.3 \times 10^8$                                | $5.4 \times 10^{13}$  |
| <b>12</b> + Aceton | 93F3                 | $33 \times 10^{-3}$                                       | 34                                      | $1.5 \times 10^5$                                | $4.4 \times 10^9$   |
|                    | 84G3                 | $27 \times 10^{-3}$                                       | 29                                      | $1.2 \times 10^5$                                | $4.1 \times 10^9$   |
|                    | 38C2 <sup>[3a]</sup> | $6.7 \times 10^{-3}$                                      | 17                                      | $2.9 \times 10^4$                                | $1.7 \times 10^9$   |

[a] Die Daten für (±)-**7** und (*R*)-**16** wurden in Phosphatpuffer bei pH 7.7 gemessen, die anderen Daten wurden in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) bei pH 7.4 gemessen. [b] Pro aktivem Zentrum des Antikörpers.  $k_{\text{cat}}$  und  $K_{\text{M}}$  wurden durch nichtlineare Regressionsanalyse mit dem Programm Grafit aus den experimentellen Daten erhalten. [c] Für Aldolreaktionen: Einheit  $\text{M}^{-1}$ . [d] Für Retro-Aldolreaktionen: Einheit  $\text{M}^{-1}$ .

- [1] Für Übersichtsartikel zur Aldolreaktion siehe: a) S. Masamune, W. Choy, J. S. Peterson, L. R. Sita, *Angew. Chem.* **1985**, *97*, 1–31; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1985**, *24*, 1–30; b) C. H. Heathcock, *Aldrichim. Acta* **1990**, *23*, 99–111; c) D. A. Evans, *Science* **1988**, *240*, 420–426; d) C. J. Cowden, I. Paterson, *Org. React.* **1997**, *51*, 1; e) A. S. Franklin, I. Paterson, *Contemp. Org. Synth.* **1994**, *1*, 317.
- [2] a) S. G. Nelson, *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 357–389; b) A. Yanagisawa, Y. Matsumoto, H. Nakashima, K. Asakawa, H. Yamamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9319–9320; c) E. M. Carreira, W. Lee, R. A. Singer, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 3649–3650; d) D. A. Evans, D. W. C. MacMillan, K. R. Campos, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 10859–10860; e) D. J. Ager, M. B. East, *Asymmetric Synthetic Methodology*, CRC Press, Boca Raton, **1996**; f) C. H. Wong, G. M. Whitesides, *Enzymes in Synthetic Organic Chemistry*, Pergamon, Oxford, **1994**; g) C. H. Wong, R. L. Halcomb, Y. Ichikawa, T. Kajimoto, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 453–474; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 412–432; h) W. D. Fessner, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, *2*, 85–89.
- [3] a) J. Wagner, R. A. Lerner, C. F. Barbas III, *Science* **1995**, *270*, 1797–1880; b) R. Björnstedt, G. Zhong, R. A. Lerner, C. F. Barbas III, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 11720–11724; c) G. Zhong, T. Hoffmann, R. A. Lerner, S. Danishefsky, C. F. Barbas III, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8131–8132; d) C. F. Barbas III, A. Heine, G. Zhong, T. Hoffmann, S. Gramatikova, R. Björnstedt, B. List, J. Anderson, E. A. Stura, E. A. Wilson, R. A. Lerner, *Science* **1997**, *278*, 2085–2092; e) T. Hoffmann, G. Zhong, B. List, D. Shabat, J. Anderson, S. Gramatikova, R. A. Lerner, C. F. Barbas III, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2768–2779; f) G. Zhong, D. Shabat, B. List, J. Anderson, S. C. Sinha, R. A. Lerner, C. F. Barbas III, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2609–2612; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2481–2484; g) S. C. Sinha, J. Sun, G. Miller, C. F. Barbas III, R. A. Lerner, *Org. Lett.* **1999**, im Druck; h) B. List, D. Shabat, G. Zhong, J. M. Turner, A. Li, T. Bui, J. Anderson, R. A. Lerner, C. F. Barbas III, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7283–7291; i) für eine alternative Aldolaseantikörper-Strategie siehe: J. L. Reymond, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2471–2473; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2285–2287; J. L. Reymond, Y. Chen, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6970–6979.
- [4] Für Diskussionen der Geometrie des Übergangszustands der Aldolreaktion siehe: a) H. E. Zimmerman, M. D. Traxler, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 1920–; b) S. E. Denmark, B. R. Henke, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 2177–2194, zit. Lit.; c) C. Gennari, S. Vieth, A. Comotti, A. Vulpatti, J. M. Goodman, I. Paterson, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 4439–4458.
- [5] a) P. G. Schultz, R. A. Lerner, *Science* **1995**, *269*, 1835–1842; b) N. R. Thomas, *Nat. Prod. Rep.* **1996**, *13*, 479–511.
- [6] B. List, C. F. Barbas III, R. A. Lerner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 15351–15355.
- [7] I. Paterson, J. M. Goodman, M. A. Lister, R. C. Schumann, C. K. McClure, R. D. Norcross, *Tetrahedron* **1990**, *46*, 4663–4684.
- [8] Wir haben zwei Katalysatoren mit Enantioselektivitäten identifiziert, die denen von ab38C2 ähnlich sind.
- [9] A. R. Radzicka, R. A. Wolfenden, *Science* **1995**, *267*, 90–93.
- [10] N. R. Thomas, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **1994**, *47*, 345–372.
- [11] Die Daten für Muskelaldolase wurden für 4°C angegeben: A. J. Morris, D. R. Tolan, *Biochemistry* **1994**, *33*, 12291–12297.

## Schrittweise Replikation eines Analogons der Trögerschen Base\*\*

Braja G. Bag und Günter von Kiedrowski\*

Die molekulare Replikation ist das Herzstück biologischer Systeme. Auf der einfachsten Ebene bedeutet „molekulare Replikation“ die Fähigkeit eines Moleküls, eine Kopie seiner selbst herzustellen, wobei Informationen über die Konstitution weitergegeben werden. In den letzten Jahren wurde dieses Phänomen anhand verschiedener chemischer Modellsysteme auf der Grundlage von Oligonucleotiden,<sup>[1]</sup> Peptiden<sup>[2]</sup> und anderen synthetischen supramolekularen Systemen<sup>[3]</sup> mit dem Ziel untersucht, ein besseres Verständnis für die präbiotische Replikation zu erlangen.<sup>[4]</sup> Ein gemeinsames Problem dieser templatvermittelten katalytischen Systeme, unabhängig davon, ob sie autokatalytisch oder kreuzkatalytisch (cross-catalytic) sind, ist das durch Produktinhibierung bedingte parabolische Wachstum. Erst kürzlich berichteten Luther et al. über eine schrittweise exponentielle Replikation von Oligonucleotiden, die auf einem festen Träger immobilisiert waren.<sup>[5]</sup> Wir berichten hier über ein neues Konzept zur schrittweisen Replikation, das auf einem Analogon der Trögerschen Base basiert und eine Makrocyclisierung sowie die kovalente Anbindung eines Templats beinhaltet.

Die Trögersche Base mit ihrer steifen, V-förmigen Struktur hat in den vergangenen Jahren gerade auf dem Gebiet der supramolekulare Chemie großes Interesse gefunden.<sup>[6]</sup> Wir erkannten, daß eine Thiol-Disulfid-Austauschreaktion<sup>[7]</sup> mit der Bildung der Trögerschen Base verbunden werden kann. Darauf basierend konnte ein neuartiges Replikationssystem entwickelt werden.<sup>[6b]</sup> Molecular-Modeling-Rechnungen unter Verwendung des PCMODEL-Programms<sup>[8]</sup> ergaben, daß die Synthese der „dimeren“ Struktur des Makrocyclus **4** geometrisch möglich sein sollte (siehe Schema 1). Als Templat wählten wir die Verbindung **1**, die im Unterschied zur Trögerschen Base an den 2- und 8-Methylgruppen jeweils eine Thiolgruppe aufweist. Die Reaktion von **1** mit **2** liefert über eine Disulfidaustauschreaktion die Verbindung **3** (Schema 1). Die intramolekulare Kondensation der beiden Anilineinheiten in **3** führt zu **4** und die reduktive Spaltung der Disulfidbrücken zu einem Replikat von **1** sowie zum Vorstufen-Templat.

Die Synthese von **1** haben wir bereits publiziert.<sup>[9]</sup> Einen indirekten Hinweis auf die Praktikabilität dieses Replikationsschemas lieferte die Tatsache, daß die Oxidation von **1** mit Iod<sup>[10]</sup> in einer hochverdünnten THF-Lösung als Hauptprodukt **4** lieferte, das mittels HPLC nachgewiesen werden

[\*] Prof. Dr. G. von Kiedrowski, Dr. B. G. Bag  
Lehrstuhl für Organische Chemie I–Bioorganische Chemie der Universität  
Universitätsstraße 150, D-44780 Bochum  
Fax: (+49) 234-32-14355  
E-mail: kiedro@ernie.orch.ruhr-uni-bochum.de

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 452) und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Wir danken Rolf Breuckmann, Beate Materne und Klaus Körner für ihre technische Hilfe.