

DOI: 10.1002/ange.200504387

Fluor in nativer Peptidumgebung – wie Raumanspruch und Polarität von Fluoralkylgruppen die Proteinfaltung beeinflussen**

Christian Jäckel, Mario Salwiczek und Beate Koksch*

Nichtnatürliche Aminosäuren haben sich als nützliche Bausteine zur Modifizierung struktureller, biologischer und pharmakologischer Eigenschaften von Peptiden und Proteinen erwiesen.^[1] Hierbei hat sich der Einbau von Fluor zu einer gängigen Strategie zur Stabilisierung dieser Biomoleküle entwickelt.^[1,2] Die Modifikation mit Fluor führt zu einem zu einer geringeren Polarisierbarkeit des Kohlenstoffgerüsts und erhöht auf der anderen Seite den Raumanspruch des Moleküls. Dadurch kommt es zu einer Erhöhung der Hydrophobie,^[3] die unter anderem mit einer verbesserten Membrangängigkeit einhergehen kann. Diese Eigenschaft kann insbesondere im Hinblick auf die Entwicklung peptidbasierter Wirkstoffe den Transport durch die Blut-Hirn-Schranke erleichtern.^[4] Die Fluorierung hat jedoch nicht nur einen Einfluss auf die Hydrophobie, sondern führt wegen des stark dipolaren Charakters der C-F-Bindung auch zur Induktion polarer Wechselwirkungen.^[5] Die außerordentlich hohe Elektronegativität des Fluoratoms hat einen großen Einfluss auf das Kohlenstoffgerüst und somit beispielsweise auf die Acidität und Basizität benachbarter funktioneller Gruppen.^[6]

Die durch die Einführung von Fluorsubstituenten in Alkylgruppen bedingte Polarisierung von C-H-Bindungen in räumlicher Nachbarschaft zur Substitutionsstelle verändert gleichzeitig die elektrostatischen Eigenschaften des Moleküls. In diesem Zusammenhang hat sich eine größere Kontroverse über die Fähigkeit von Fluorsubstituenten zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken entwickelt.^[7] Darüber hinaus sind die folgenden besonderen Eigenschaften von Fluoralkylgruppen Auslöser heftiger Diskussionen oder sind im Kontext einer Proteinumgebung noch nicht systematisch untersucht worden, sodass die gezielte Anwendung der Fluorsubstitution im Peptid- und Proteindesign weiterhin eingeschränkt bleibt:^[8] 1) Literaturdaten über den sterischen Anspruch einer Trifluormethylgruppe variieren von Methyl^[9] bis hin zu Phenyl oder auch *tert*-Butyl.^[10] Jedoch sind diese Daten immer von der Untersuchungsmethode sowie der anschlie-

henden Interpretation der Ergebnisse abhängig.^[11] Neuere Untersuchungen lassen darauf schließen, dass eine CF₃-Gruppe in Proteinumgebung weniger mit einem Methylrest als vielmehr mit größeren Alkylresten verglichen werden kann.^[12] 2) Die elektrostatischen Auswirkungen der Fluorierung auf die C-F-Bindung und auf C-H-Bindungen in unmittelbarer Nachbarschaft sind im Zusammenhang mit hydrophoben Proteinwechselwirkungen noch nicht explizit untersucht worden. 3) Die Fähigkeit fluoralkylmodifizierter Aminosäuren, hydrophobe Proteindomänen zu stabilisieren, wird zum einen einer generellen Erhöhung der Hydrophobie zugeschrieben,^[13] zum anderen werden auch spezifische Fluor-Fluor-Wechselwirkungen zur Erklärung der stabilisierenden Effekte herangezogen. Hierbei taucht in der neueren Literatur häufig der Begriff „Fluoreffekt“ auf.^[14] Wenn Fluor bei der Modulation der Eigenschaften de novo entworfener Peptide in Proteinen in Zukunft eine Rolle spielen soll, gilt es, die genannten Kontroversen zu klären.

Wir haben kürzlich eine Methode zur Untersuchung der Eigenschaften von fluorierten Aminosäuren in einer nativen Peptidumgebung vorgestellt.^[15,16] Das dazu verwendete Modellsystem basiert auf einem 41 Aminosäuren umfassenden α -helicalen *coiled coil*, das im gefalteten Zustand ein antiparalleles Homodimer bildet^[17] und dessen Primärstruktur durch so genannte Heptad-Repeats charakterisiert ist. Diese Wiederholung einer Abfolge von jeweils sieben Aminosäuren wird im Modell mit den Buchstaben *a* bis *g* gekennzeichnet. Dabei sind die Positionen *a* und *d* generell mit Aminosäuren besetzt, die Alkylseitenketten tragen. Die Wechselwirkung dieser Alkylketten führt zur Bildung einer hydrophoben Wechselwirkungsdomäne, innerhalb derer die Seitenketten ähnlich dem Reißverschlussprinzip miteinander verzahnt sind. Die Positionen *e* und *g* enthalten geladene Aminosäuren, die die Bildung interhelicaler Salzbrücken ermöglichen.^[18] Es ist bekannt, dass selbst Einzelmutationen innerhalb dieser beiden Erkennungsdomänen einen erheblichen Einfluss auf die Stabilität des Systems haben.^[19] Deshalb ist das Faltungsmotiv des α -helicalen *coiled coil* für die von uns beabsichtigten Untersuchungen ein ideales System. Da es sowohl über eine hydrophobe als auch über eine geladene Wechselwirkungsdomäne verfügt, wird es möglich, die vielfältigen molekularen Wechselwirkungen der Fluoralkylgruppen innerhalb nativer Polypeptide im Detail an ein und demselben Modell zu studieren.

Die Reste Lys8 in der geladenen sowie Leu9 in der hydrophoben Wechselwirkungsdomäne dienen als Substitutionsstellen für verschiedene fluorierte Aminosäuren (Abbildung 1). Dabei gewährleistet die antiparallele Orientierung des Dimers, dass die nichtnatürlichen Peptidbausteine ausschließlich mit natürlichen Aminosäuren in genau definierten Positionen im gegenüberliegenden Peptidstrang wechselwirken (Glu29 in der geladenen sowie Leu30, Leu33 und Leu37 in der hydrophoben Domäne).

Zur Untersuchung der Eigenschaften fluorierter Aminosäuren werden zwei Screens verwendet. Screen I dient der Untersuchung der thermischen Stabilität der fluormodifizierten α -helicalen Peptiddimere. Screen II basiert auf der Eigenschaft α -helicaler *coiled coils*, die chemische Ligation zweier kleinerer Teilfragmente katalysieren zu können

[*] C. Jäckel, M. Salwiczek, Prof. Dr. B. Koksch
Institut für Chemie und Biochemie
Freie Universität Berlin
Takustraße 3, 14195 Berlin (Deutschland)
Fax: (+49) 308-385-5644
E-mail: koksch@chemie.fu-berlin.de

[**] Diese Untersuchungen wurden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (KO1976/2-1) und das Graduiertenkolleg 788 finanziell unterstützt.

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

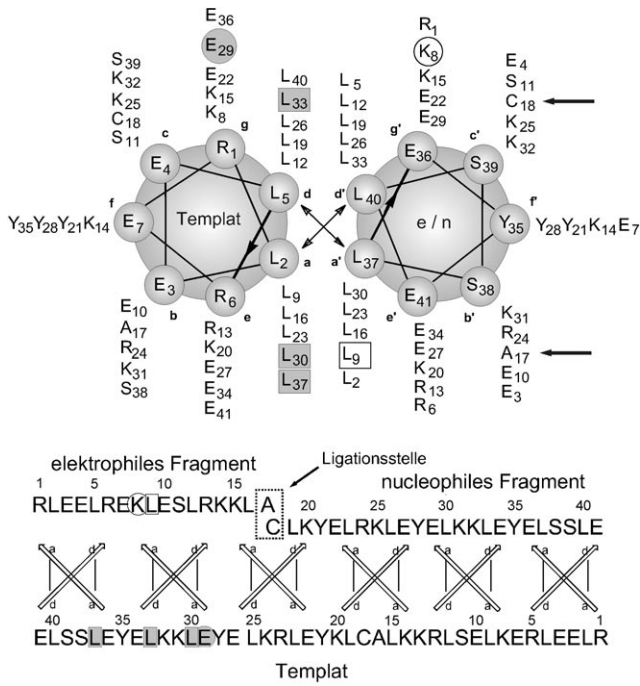


Abbildung 1. Helixrad-Darstellung und Aminosäuresequenz des Originalpeptids. Die Substitutionspositionen innerhalb der hydrophoben Domäne sind mit einem schwarzen Rahmen und innerhalb der geladenen Domäne mit einem schwarzen Kreis hervorgehoben. Ihre jeweiligen Wechselwirkungspartner sind mit grau schattierten Kästchen bzw. Kreisen hervorgehoben. Die Ligationsstelle zwischen dem elektrophilen und nucleophilen Fragment ist mit Pfeilen gekennzeichnet.

(Selbstreplikation).^[19] Dazu wurden die fluormodifizierten elektrophilen Peptidfragmente als C-terminale Thioester synthetisiert, die die Ligation mit einem nucleophilen Fragment ermöglichen.^[20] Die Untersuchung des zeitlichen Verlaufes der Reaktion lässt Rückschlüsse auf molekulare Wechselwirkungen der eingebauten Aminosäuren zu. In vorangegangenen Untersuchungen hat sich erwiesen, dass beide Screens empfindlich genug sind, den Unterschied von nur einem Fluoratom innerhalb der Seitenkette der betreffenden Aminosäure zu detektieren.^[15] Unter Verwendung des vorgestellten Modellsystems wurden Aminosäuren, die sich in der Länge der Seitenkette und im Fluorierungsgrad unterscheiden, erstmals systematisch untersucht. Somit ist es nun möglich, detaillierte Aussagen zur Auswirkung von Fluoralkylsubstitutionen auf die molekularen Wechselwirkungen von Aminosäuren in nativen Polypeptiden treffen zu können.

Literaturangaben zufolge entspricht der sterische Anspruch einer Trifluormethylgruppe dem einer Isopropylgruppe.^[21] Demnach sollte der Raumanpruch der Seitenkette von (*S*)-4,4,4-Trifluorethylglycin (TfeGly, Abbildung 2) dem

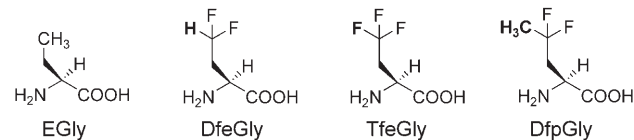


Abbildung 2. (*S*)-Ethylglycin und seine fluorierten Analoga.

der Seitenkette des natürlich vorkommenden Leucins entsprechen. Um diese Fragestellung systematisch zu untersuchen, gingen wir zunächst von (*S*)-Ethylglycin (EGly) und dessen difluoriertem Analogon (*S*)-4,4-Difluorethylglycin (DfeGly) aus. Um nun den Raumanpruch der Seitenkette stufenweise zu erhöhen, wurde der Wasserstoff der Difluormethylgruppe einerseits durch Fluor (TfeGly) und andererseits durch eine Methylgruppe ((*S*)-4,4-Difluorpropylglycin, DfpGly) ersetzt.

Die Aminosäure Alanin in der jeweiligen Substitutionsposition diene als Vergleich. Die elektrophilen Peptide, die sowohl die Originalreste (Leu und Lys) als auch die Substitutionen enthalten, wurden synthetisiert und für die Stabilitätsuntersuchungen im präparativen Maßstab mit dem nucleophilen Fragment zum *Coiled-coil*-Monomer ligiert.

Screen I auf thermische Stabilität: Die Schmelzkurven (CD-Spektroskopie) zeigen, dass alle Substitutionen in der Position Leu9 das α -helicale *coiled coil* gegenüber der Originalsequenz stark destabilisieren (Abbildung 3 a). Die Schmelzpunkte der substituierten Peptide sind um 14.9 K bis 22.3 K abgesenkt (Abbildung 4). Der Einbau von Alanin (Leu9Ala) führt zu einer erheblichen Verminderung der hydrophoben Kontaktfläche und destabilisiert dadurch das gesamte Faltungsmotiv. Die Verlängerung der Alaninseitenkette durch eine Methylgruppe (Leu9EGly) vermag diesen Effekt durch Erhöhung des sterischen Anspruchs wiederum abzuschwächen. Die stufenweise Vergrößerung des Volumens

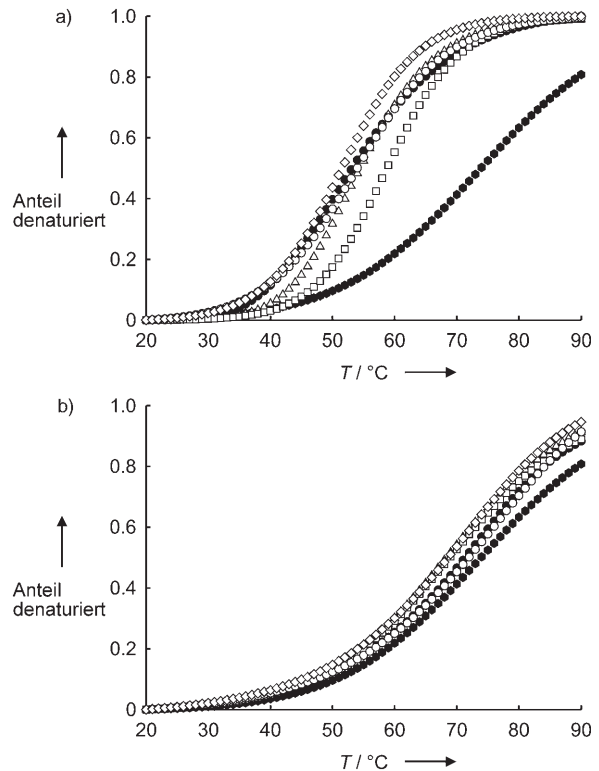


Abbildung 3. Denaturierungsprofile von a) Leu9- und b) Lys8-substituierten Peptiden. Die Denaturierung wurde mit CD-Spektroskopie verfolgt, indem das Minimum bei 222 nm unter stufenweiser Temperaturerhöhung aufgezeichnet wurde. Originalpeptid (volle Sechsecke), Ala (●), EGly (○), DfeGly (△), TfeGly (□), DfpGly (◇).

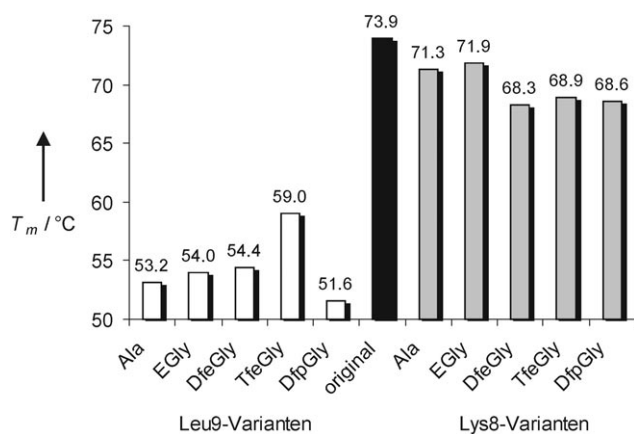


Abbildung 4. Schmelzpunkt des Originalpeptids im Vergleich zu denen der substituierten Varianten. T_m ist als die Temperatur definiert, bei der 50% des Peptids entfaltet vorliegen.

der Seitenkette durch schrittweise Fluorierung führt zu einer weiteren Erhöhung der Schmelzpunkte (Leu9DfeGly und Leu9TfeGly).

Interessanterweise ist dieser Effekt für das difluorierte Analogon weniger stark ausgeprägt ($\Delta T_m = 0.4$ K), während das Peptid, das noch ein weiteres Fluoratom enthält (Leu9TfeGly), einen um 5 K erhöhten Schmelzpunkt aufweist. Die Vergrößerung der Seitenkette durch Substitution eines Fluoratoms in TfeGly durch eine Methylgruppe (Leu9DfpGly) führt allerdings zu einem drastischen Verlust an struktureller Stabilität im Vergleich zu Leu9TfeGly. Offenbar führt die durch die hohe Elektronegativität der Fluorsubstituenten hervorgerufene Polarisierung benachbarter Wasserstoffatome innerhalb der Alkylkette dazu, dass im Falle von DfpGly die Wechselwirkung der Aminosäuren in der hydrophoben Domäne erheblich gestört wird. Das Ausmaß der Destabilisierung korreliert indes mit der Zahl der benachbarten Wasserstoffatome, die durch Fluorsubstituenten polarisiert werden können. Obwohl DfpGly innerhalb der Reihe der untersuchten Aminosäuren die räumlich anspruchsvollste und die dem Leucin ähnlichste Seitenkette trägt, ist die Leu9DfpGly-Variante sogar noch weniger stabil als das mit Alanin modifizierte Peptid. Kürzlich wurde berichtet, dass polare Wechselwirkungen der CF_3 -Gruppe eine Peptidstruktur stabilisieren und dabei den destabilisierenden Effekt des erhöhten Raumanspruchs überkompensieren konnten.^[22] Unsere Ergebnisse zeigen in ähnlicher Weise, dass die elektrostatischen Auswirkungen der Fluorierung von Alkylketten einen viel stärkeren Einfluss auf hydrophobe Proteinwechselwirkungen haben können als der durch stufenweise Fluorierung erhöhte Raumanspruch (Abbildung 5).

Im Vergleich zu den Leu9-Varianten haben alle Substitutionen des Lysins in Position 8 der geladenen Domäne einen wesentlich geringeren Einfluss auf die Stabilität des Dimers (Abbildung 3b). Die Absenkung des Schmelzpunktes um 2.0 bis 5.6 K ist dem Verlust der Salzbrücke Lys8–Glu29 durch die Substitution des Lysins zuzuschreiben. Die beiden nichtfluorierten Peptide (Lys8Ala und Lys8EGly) unterscheiden sich nur geringfügig in ihrer Stabilität (Abbildung 4). Die Fluorierung der lösungsmittel-exponierten Al-

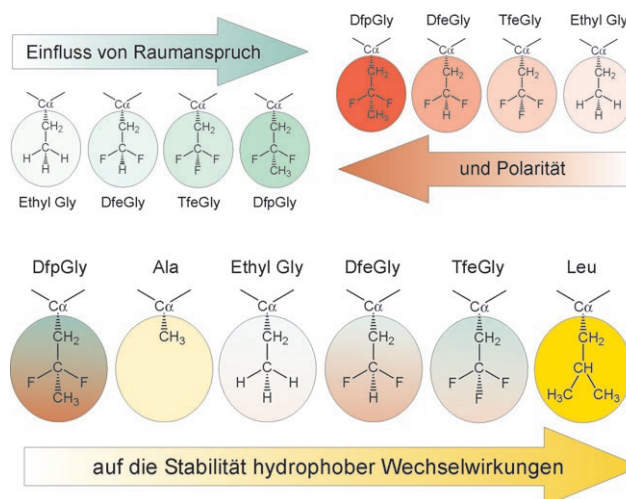


Abbildung 5. Einfluss von Polarität und Raumerfüllung von Fluoralkylgruppen auf die Stabilität hydrophober Proteinwechselwirkungen.

kyloseitenketten (Lys8DfeGly, Lys8TfeGly und Lys8DfpGly) führt jedoch zu einer zusätzlichen Destabilisierung. Daraus folgern wir, dass Fluor-Fluor-Wechselwirkungen im ungefalteten Zustand einen Einfluss auf das Monomer-Dimer-Gleichgewicht haben müssen. Zur näheren Untersuchung dieses „Fluoreffektes“ haben wir anschließend die Selbstreplikation der fluormodifizierten Analoga untersucht.

Screen II auf Selbstreplikation: Die chemische Ligation des elektrophilen und nucleophilen Fragments im Zuge der Selbstreplikation wird durch die Anlagerung beider Fragmente an ein komplementäres Helix-Monomer, das als Templat fungiert, katalysiert (Abbildung 6).^[23] Dabei führt

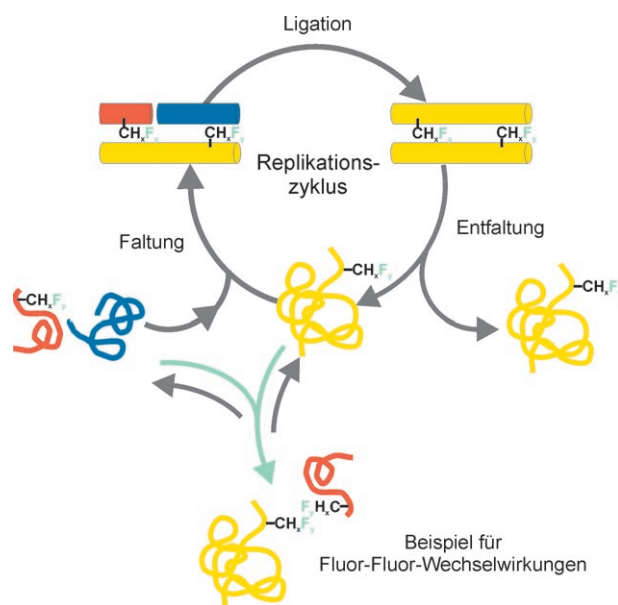


Abbildung 6. Templatunterstützte autokatalysierte Peptidligation (Replikation) und der Einfluss von Fluor-Fluor-Wechselwirkungen auf den Reaktionszyklus. Der Prozess der Peptidbindungsbildung basiert auf dem Ansatz von Kent (siehe Hintergrundinformationen).^[20] Gelb: Ligationprodukt, rot: elektrophiler Peptidthioester, blau: nucleophiles Peptid.

die Reaktion des C-terminalen Benzylthioesters des elektrophilen Fragments mit dem N-terminalen Cystein des nucleophilen Fragments nach einer Umesterung zur Bildung der Peptidbindung.^[20] Das so gebildete Monomer dient anschließend als Templat für weitere Reaktionszyklen. In Kontroll-experimenten wurde belegt, dass die Geschwindigkeit der nichtkatalysierten Hintergrundreaktion vernachlässigbar ist (siehe Hintergrundinformationen). Dazu wurden Bedingungen gewählt, die eine Bildung des *coiled coil* stören oder gar verhindern, ohne Einfluss auf die Chemie der Ligationsreaktion zu nehmen.

Der Einfluss, den ein Aminosäureaustausch in beiden Erkennungsdomänen auf die Stabilität des α -helicalen *coiled coil* hat, sollte sich auch auf die Geschwindigkeit der Replikation auswirken. Zur Detektion dieses Effekts kann die Zeitabhängigkeit der Produktbildung untersucht werden. Fluor-Fluor-Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren des elektrophilen Fragments sowie des Templats haben möglicherweise einen negativen Einfluss auf die Faltung und würden somit den Replikationszyklus inhibieren. Demzufolge sollte der „Fluoreffekt“ eine verminderte Produktbildungsgeschwindigkeit zur Folge haben. Bei diesem Screen haben wir ausschließlich Aminosäuren gleicher Seitenkettenlänge untersucht, die sich lediglich im Fluorierungsgrad unterscheiden (EGly, DfeGly und TfeGly).

Die Replikation des Originalpeptids und der Leu9EGly-Variante (Abbildung 7a) belegen, dass eine Verringerung des

Raumannspruchs innerhalb der hydrophoben Domäne des α -helicalen *coiled coil* zu einer beträchtlich niedrigeren Reaktionsgeschwindigkeit führt. Eine Erhöhung des Raumannspruchs durch stufenweise Fluorierung (Leu9DfeGly und Leu9TfeGly) kann die hydrophoben Wechselwirkungen stabilisieren und sollte daher die Reaktionsgeschwindigkeit erhöhen. Stattdessen wurde einer weitere Verlangsamung der Reaktion beobachtet. Da dieser Effekt mit der Zahl der Fluoratome in der Aminosäureseitenkette korreliert, folgern wir, dass Fluor-Fluor-Wechselwirkungen die Ursache dafür sein müssen.

Der Einbau von EGly in Position 8 der geladenen Wechselwirkungsdomäne zeigt auf, dass die Destabilisierung des Faltungsmotivs durch den Wegfall einer Salzbrücke die Replikation gegenüber dem Originalpeptid beschleunigen kann (Abbildung 7b). Eine weitere Destabilisierung durch die Fluorierung der Seitenkette führt jedoch zu keiner weiteren Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit. Vielmehr wird eine schrittweise Verlangsamung beobachtet, die wiederum mit dem Fluorgehalt korreliert. Dieser Effekt konnte bereits im Falle der Leu9-modifizierten Peptide beobachtet werden.

Unsere Ergebnisse sind ein Indiz dafür, dass die Inhibierung des Replikationszyklus durch stufenweise Fluorierung der EGly-Seitenkette in beiden Wechselwirkungsdomänen durch spezifische Fluor-Fluor-Wechselwirkungen im ungefalteten Zustand der Peptide hervorgerufen wird. Literaturbekannte Experimente zur Selbstorganisation zweier α -Helix-Monomere, von denen eines nativ vorlag, während das andere in den *a*- und *d*-Positionen fluoriert war, haben gezeigt, dass sich in diesem Fall ausschließlich Homodimere von α -Helices bilden, bei denen nichtfluorierte Aminosäuren nur mit ihresgleichen und fluorierte nur mit fluorierten Aminosäuren in Wechselwirkung treten.^[24] Diese Untersuchungen untermauern unsere Interpretation zum Einfluss von Fluor-Fluor-Wechselwirkungen. Zusammenfassend bedeutet dies, dass Fluor in einer nativen Peptidumgebung immer dazu tendiert, mit anderen Fluoratomen in Wechselwirkung zu treten. Dieser Effekt kann jedoch durch die hohe Triebkraft des α -helicalen *coiled coil* zur Bildung seiner charakteristischen Sekundärstruktur überkompensiert werden. Fluor-Fluor-Wechselwirkungen sind aber stark genug, sowohl Ligand-Rezeptor-Wechselwirkungen als auch die Protein- oder Peptidfaltung nachhaltig zu beeinflussen.

Wir haben die erste systematische Studie zum Einfluss von Fluorsubstitutionen auf das Wechselwirkungsprofil von Aminosäuren in einer nativen Polypeptidumgebung vorgestellt. Unsere Ergebnisse zeigen die gegenläufigen elektrostatischen und sterischen Auswirkungen, die die Fluorierung von Alkylresten auf die Stabilität hydrophober Proteindomänen haben kann, und dass Fluor-Fluor-Wechselwirkungen die Peptidfaltung entscheidend beeinflussen. Weitere Aminosäuren, die sich in der Länge der Seitenketten und im Fluorgehalt unterscheiden, werden wir unter Verwendung des hier vorgestellten Modellsystems untersuchen. Unsere Studien leisten damit einen Beitrag für eine gezielte Anwendung der besonderen Eigenschaften des Fluors beim rationalen Peptid- und Proteindesign.

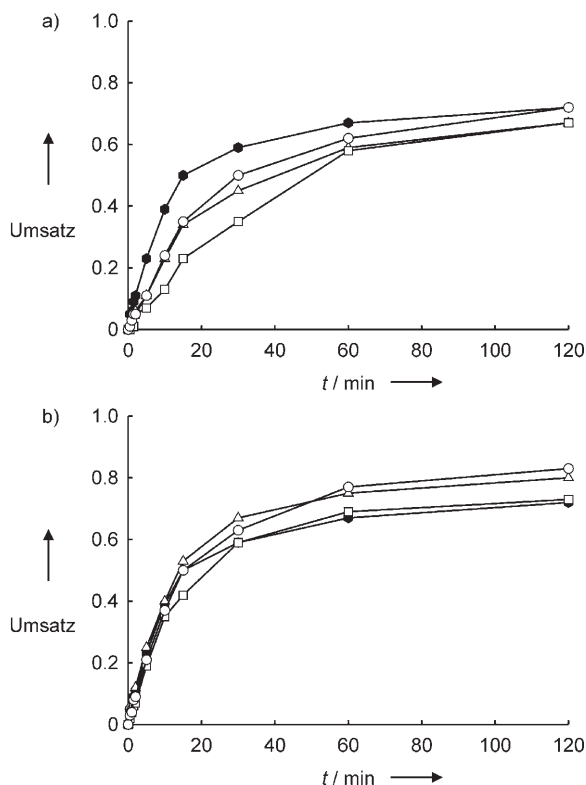


Abbildung 7. Zeitabhängigkeit des Umsatzes von a) Leu9- und b) Lys8-substituierten elektrophilen Fragmenten mit dem nucleophilen Fragment. Originalpeptid (volle Sechsecke), Ala (●), EGly (○), DfeGly (△), TfeGly (□).

Experimentelles

Materialien: Harze für die Festphasenpeptidsynthese wurden von Bachem bezogen. Standard-Fmoc-Aminosäuren wurden von Novabiochem, Iris Biotech und MultiSynTech erhalten. Racemisches TfeGly wurde durch eine Malonestersynthese unter Verwendung von Diethylacetamidomalonat und Trifluorethanol, das zunächst in das Triflat überführt wurde, präpariert.^[25] Die Racematspaltung erfolgte mithilfe von Schweinenierenacylase. DfeGly und DfpGly wurden stereoselektiv ausgehend von hexafluoracetongeschütztem Aspartat unter Verwendung von Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) synthetisiert.^[26]

Peptidsynthese: Peptide wurden nach einer Standard-Fmoc/tBu-Strategie an den Syntheserobotern SyroXP (MultiSynTech GmbH, Deutschland) und ACT90 (AdvancedChemTech, USA) synthetisiert. Die Säurefunktion wurde durch TCTU/HOBt/DIEA und DIC/HOAt zur Kupplung an fluorierte Aminosäuren aktiviert. Die elektrophilen Peptide wurden an einem Sulfamylbutyryl-Harz synthetisiert. Die Peptidthioester wurden durch Aktivierung des Harzes mit Iodacetonitril und anschließende Spaltung mit Benzylthiol erhalten.^[27] Das nucleophile Peptid wurde am Wang-Harz synthetisiert. Die Reinigung der Peptide erfolgte durch präparative HPLC unter Verwendung von CH₃CN/H₂O-Gradienten, die 0.1% Trifluoressigsäure (TFA) enthielten.

Chemische Ligation: Die präparative Ligation der elektrophilen Peptide mit dem nucleophilen Fragment erfolgte bei Peptidkonzentrationen von 290 μM bei pH 7 (200 mM Phosphatpuffer). Um die Bildung von Disulfidbrücken zu verhindern, wurde Tris(2-carboxyethyl)phosphan (TCEP) (280 μM) zugegeben. Die Ligationsprodukte wurden anschließend durch HPLC unter Verwendung eines CH₃CN/H₂O-Gradienten, der 0.1% TFA enthielt, gereinigt.

Replikations-Experimente: Die Reaktionen wurden in 200 mM Phosphatpuffer bei pH 7 und 22°C durchgeführt. Die Konzentrationen des elektrophilen und nucleophilen Fragments betragen 100 μM. Um Disulfidbildung zu verhindern, wurde TCEP (250 μM) zugegeben. Die Reaktionen wurden durch Zugabe des elektrophilen Fragments gestartet. Zu definierten Zeitpunkten wurden Proben zur Analyse entnommen, und der Reaktionsverlauf wurde durch HPLC zeitlich verfolgt. Als Detektionsgrundlage diente die Fluoreszenzemission der Tyrosinreste im nucleophilen Fragment und im Ligationprodukt ($\lambda_{\text{ex}} = 230 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 310 \text{ nm}$).

Thermische Denaturierung: Die Schmelzkurven wurden durch Detektion des CD-Signals bei 222 nm am Spektropolarimeter J715 (Jasco) bei einem Temperaturanstieg von 3 K min⁻¹ in 1-mm-Küvetten aufgenommen. Die Peptidkonzentration war 20 μM bei pH 7.4 in einer 5 M Gdn-HCl-Lösung. Die Schmelzprofile wurden durch Angleich einer Sigma-Funktion mit fünf Parametern geglättet.

Eingegangen am 9. Dezember 2005,
 veränderte Fassung am 28. Februar 2006
 Online veröffentlicht am 11. Mai 2006

Stichwörter: Aminosäuren · Fluor · Fluor-Fluor-Wechselwirkungen · Peptide · Proteinmodifikation

- [7] a) J. D. Dunitz, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 614–621; b) E. Carosati, S. Sciabola, G. Cruciani, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 5114–5125.
- [8] C. Jaeckel, B. Koksche, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 4483–4503.
- [9] F. Leroux, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 644–649.
- [10] K. Mikami, Y. Itoh, M. Yamanaka, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1–16.
- [11] C. Wolf, W. A. Koenig, C. Roussel, *Liebigs Ann.* **1995**, 781–786.
- [12] M. Zanda, *New J. Chem.* **2004**, *28*, 1401–1411.
- [13] a) K.-H. Lee, H.-Y. Lee, M. M. Slutsky, J. T. Anderson, E. N. G. Marsh, *Biochemistry* **2004**, *43*, 16277–16284; b) J.-C. Horng, D. P. Raleigh, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9286–9287.
- [14] a) A. Niemz, D. A. Tirrell, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7407–7413; b) B. Bilgicer, K. Kumar, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 15324–15329; c) B. Bilgicer, A. Fichera, K. Kumar, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 4393–4399; d) Y. Tang, G. Ghirlanda, N. Vaidehi, J. Kua, D. T. Mainz, W. A. Goddard III, W. F. DeGrado, D. A. Tirrell, *Biochemistry* **2001**, *40*, 2790–2796; e) Y. Tang, D. A. Tirrell, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 11089–11090; f) Y. Tang, G. Ghirlanda, W. A. Petka, T. Nakajima, W. F. DeGrado, D. A. Tirrell, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 1545–1548; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1494–1496.
- [15] C. Jaeckel, W. Seufert, S. Thust, B. Koksche, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 717–720.
- [16] S. K. Ritter, *Chem. Eng. News* **2005**, *83*, 35–40.
- [17] K. Pagel, B. Seiwert, K. Seeger, S. Berger, A. Mark, B. Koksche, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 1189–1194.
- [18] J. Mason, K. M. Arndt, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 170–176.
- [19] a) K. Severin, D. H. Lee, J. A. Martinez, M. R. Ghadiri, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1017–1024; b) A. Saghatelian, Y. Yokobayashi, K. Soltani, M. K. Ghadiri, *Nature* **2001**, *409*, 797–801.
- [20] P. E. Dawson, T. W. Muir, I. Clark-Lewis, S. B. H. Kent, *Science* **1994**, *266*, 776–779.
- [21] D. O'Hagan, H. S. Rzepa, *Chem. Commun.* **1997**, *7*, 645–652.
- [22] J. Xiao, B. Weisblum, P. Wipf, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5742–5743.
- [23] K. Severin, D. H. Lee, A. J. Kennan, M. R. Ghadiri, *Nature* **1997**, *389*, 706–709.
- [24] B. Bilgicer, X. Xing, K. Kumar, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 11815–11816.
- [25] T. Tsushima, K. Kawada, S. Ishihara, N. Uchida, O. Shiratori, J. Higaki, M. Hirata, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 5375–5387.
- [26] a) D. Winkler, K. Burger, *Synthesis* **1996**, 1419–1421; b) S. N. Osipov, T. Lange, P. Tsouker, J. Spengler, L. Hennig, B. Koksche, S. Berger, S. M. El-Kousy, K. Burger, *Synthesis* **2004**, 1821–1829.
- [27] a) G. W. Kenner, J. R. McDermott, R. C. Sheppard, *Chem. Commun.* **1971**, 636–637; b) R. Ingenito, E. Bianchi, D. Fattori, A. Pessi, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11369–11374.

- [1] A. J. Link, M. L. Mock, D. A. Tirrell, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2003**, *14*, 603–609.
- [2] N. C. Yoder, K. Kumar, *Chem. Soc. Rev.* **2002**, *31*, 335–341.
- [3] J. C. Biffinger, H. W. Kim, S. G. DiMagno, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 622–627.
- [4] G. Gerebtzoff, X. Li-Blatter, H. Fischer, A. Frentzel, A. Seelig, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 676–684.
- [5] J. A. Olsen, D. W. Banner, P. Seiler, B. Wagner, T. Tschopp, U. Obst-Sander, M. Kansy, K. Müller, F. Diederich, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 666–675.
- [6] B. E. Smart, *J. Fluorine Chem.* **2001**, *109*, 3–11.