

Kristallisation lassen sich weitere, reine Substanzproben gewinnen. – $^{31}\text{P}^{\{1\}\text{H}}$ -NMR (121.5 MHz, DME): $\delta = 494.1$ (d), 295.5 (t, $^1\text{J}(\text{P},\text{P}) = 430.1$ Hz). – ^1H -NMR (300 MHz, ext. Ref., DME): $\delta = 0.4$ (s, 9 H, CSiMe₃), 0.5 (s, 9 H, CSiMe₃). – ^{13}C -NMR (75.5 MHz, ext. Ref., DME): $\delta = 2.3$ (d, $^3\text{J}(\text{C},\text{P}) = 9.9$ Hz, PCSiC₃), 3.0 (m), $|^3\text{J}(\text{C},\text{P}) + ^4\text{J}(\text{C},\text{P})| = 12.5$ Hz, PPCSiC₃), 156.8 (m, X-Teil eines ABB'X-Spinsystems: $^2\text{J}(\text{C},\text{P}) = 4.5$ Hz; $|^1\text{J}(\text{C},\text{P}) + ^3\text{J}(\text{C},\text{P})| = 60.3$ Hz. – MS (EI, 70 eV): m/z (%): [M⁺ + H] 410 (3), [M⁺ + H – SiMe₃] 377 (2.6), [PPCSiMe₃]⁺ 147 (15), [SiMe₃]⁺ 73 (100).

6: Eine Lösung von 2 mmol **4** in DME wird unter Rückfluß 2 h auf 100 °C erhitzt, wobei die Reaktionslösung sich von dunkelrot nach rot-violett verfärbt. Die flüchtigen Bestandteile werden bei 25 °C im Vakuum entfernt, wobei 6 als rotviolette Öl anfällt. – ^{31}P -NMR (121.5 MHz, DME): $\delta = -71$ (d); 377 (t) ($^2\text{J}(\text{P},\text{P}) = 15.3$ Hz). – ^1H -NMR (300 MHz, ext. Ref., DME): $\delta = 0.4$ (s), 0.5 (s) (SiMe₃). – ^{13}C -NMR (75.5 MHz, ext. Ref., DME): $\delta = 0.1$ (m, $|^2\text{J}(\text{C},\text{P}) + ^3\text{J}(\text{C},\text{P})| = 15.2$ Hz, PPCSiC₃), 5.4 (dd, $^3\text{J}(\text{C},\text{P}) = 4.6$, 1.5 Hz, PPCSiC₃), 94.1 (m, X-Teil eines AMM'X-Spinsystems: $^1\text{J}(\text{C},\text{P}_A) = 70$ Hz, $|^1\text{J}(\text{C},\text{P}_M) + ^2\text{J}(\text{C},\text{P}_M)| = 61.8$ Hz). – MS (EI, 20 eV): m/z (%): [M⁺ + H] 410 (4), [M⁺ – 2SiMe₃ + H] 265 (5), [M⁺ – PC(SiMe₃)₂] 221 (6), [PPCSiMe₃]⁺ 147 (21), [SiMe₃]⁺ 73 (100).

7: Eine Lösung von **4** wird in einer offenen Atmosphäre unter Ausschluß von Luftfeuchtigkeit 24 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich die Lösung von rotviolett nach gelb verfärbt. Die flüchtigen Bestandteile werden im Vakuum entfernt und der Rückstand mehrmals mit n-Pentan gewaschen. Auf diese Weise erhält man **7** in Form eines hellgelben, mikrokristallinen Feststoffes. Ausbeute: (72%). – $^{31}\text{P}^{\{1\}\text{H}}$ -NMR (121.5 MHz, DME): $\delta = 313$ (t), 328 (d), ($^2\text{J}(\text{P},\text{P}) = 31.8$ Hz). – ^{13}C -NMR (75.5 MHz, C₆D₆): $\delta = 179.1$ (m, X-Teil eines ABB'X-Spinsystems): $^1\text{J}(\text{C},\text{P}_A) = 77.8$ Hz, $|^1\text{J}(\text{C},\text{P}_B) + ^2\text{J}(\text{C},\text{P}_B)| = 51.5$ Hz), 5.4 (m, SiC₃). – MS (EI, 70 eV): m/z (%): [M⁺ + H] 264 (2), [M⁺ – PC(SiMe₃)₂] 221 (2), [PPCSiMe₃]⁺ 147 (52), [SiMe₃]⁺ 73 (100).

9: Eine Lösung von **2** in DME, das Spuren von Feuchtigkeit enthält, wird für 2 h auf 100 °C erhitzt, wobei sich die Lösung von dunkelrot nach hellgelb verfärbt. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum verbleibt **9** als gelbes Öl. ^{31}P -NMR (121.5 MHz, C₆D₆): $\delta = -72.5$ (t), –263.5 (dd); $^1\text{J}(\text{P},\text{P}) = 179.3$ Hz; $^2\text{J}(\text{P},\text{H}) = 9$ Hz. – MS (EI, 70 eV): m/z (%): [M⁺] 410 (21), [M⁺ – P₂] 348 (28), [M⁺ – PC(SiMe₃)₂] 221 (33), [PPCSiMe₃]⁺ 147 (52), [SiMe₃]⁺ 73 (100).

Eingegangen am 18. September 1995 [Z 8407]

Stichworte: Heterocyclen · Pentadienide · Phosphorverbindungen · Triphosphapentadienid

- [1] Übersicht: P. Powell, *Adv. Organomet. Chem.* **1986**, *26*, 125–164.
- [2] T. P. Hanusa, J. S. Overby, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2300–2303; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2191–2193; vgl. hierzu: D. Stalke, *ibid.* **1994**, *106*, 2256–2259 bzw. **1994**, *33*, 2220–2222.
- [3] a) E. Niecke, M. Nieger, P. Wenderoth, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 6989–6990; b) *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 362–363; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 353–354; c) *ibid.* **1994**, *106*, 2045–2046 bzw. **1994**, *33*, 1945–1947; d) K. Paasch, M. Nieger, P. Wenderoth, E. Niecke, noch unveröffentlicht.
- [4] Die Existenz eines 1-Phospha- [5a], 1,3-Diphospha- und 1,3,5-Triphosphapentadienids [5b] konnte NMR-spektroskopisch wahrscheinlich gemacht werden. Ein 1,2,4-Triphosphapentadienid, [Me₃Si-PPC(Mes)PC(2,4,6-Me₃C₆H₃SiMe₃)][–], ist in Stabilen Form bekannt [5c].
- [5] a) J. R. Bleeke, A. M. Rohde, K. D. Robinson, *Organometallics* **1995**, *14*, 1674–1680; b) R. Appel, P. Fölling, B. Josten, W. Schuhn, H. V. Wenzel, F. Knoch, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1988**, *556*, 7–22; c) G. Becker, G. Ditten, K. Hübler, K. Merz, M. Niemeyer, N. Seidler, M. Westermann, „The Function of the Trimethylsilyl Substituent in the Synthesis of Low-Valent Phosphorus and Arsenic Containing Compounds“ in *Organosilicon Chemistry II* (Hrsg.: N. Auner, J. Weis), VCH, Weinheim, **1996**, S. 161–186.
- [6] F. Mathey, *Coord. Chem. Rev.* **1994**, *137*, 1–552, zit. Lit.; N. Maigret, N. Avarvari, C. Charrier, F. Mathey, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 623–624; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 590–592.
- [7] a) R. Bartsch, P. B. Hitchcock, J. F. Nixon, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 1046–1048; b) *J. Organomet. Chem.* **1989**, *373*, C31.
- [8] R. Appel, A. Westerhaus, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 2159–2160.
- [9] Die Umsetzung zwischen **1** und **2** im Molverhältnis von 1:1 liefert das persilylierte 1,2-Diphosphapropen, (Me₃Si)₂P=P=C(SiMe₃)₂ [rubinrote Kristalle, Ausbeute: 85%]. Schmp.: 26–28 °C. – $\delta(^{31}\text{P}) = 434$, –134.5, $J(\text{P},\text{P}) = 237$ Hz].
- [10] G. Fritz, J. Z. Härrer, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1981**, *481*, 185–200.
- [11] Ein 1,2-Diphosphapropenid, [Me₃Si-PPC(Ph)SiMe₃][–], konnte durch Umsetzung von **1** mit Benzoesäureethylester erhalten werden [5c].
- [12] Röntgenstrukturanalyse von **4** · Li(dme)₃: [C₁₄H₃₆P₃Si₄][–][Li(dme)₃]⁺: rote Kristalle, Kristalldimensionen 0.28 × 0.40 × 0.45 mm: $M = 687.0$; orthorhomatisch, Raumgruppe *Pnma* (Nr. 62), $a = 15.411(1)$, $b = 20.003(2)$, $c = 12.249(3)$ Å, $V = 4342(1)$ Å³, $Z = 4$, $\mu(\text{CuK}_{\alpha}) = 2.55$ mm^{–1}; $T = 208$ K, $F(000) = 1496$. Auf einem Enraf-Nonius-CAD-4-Diffraktometer wurden mit Cu-K_α-Strahlung 4288 Intensitäten bis $\theta_{\max.} = 140^\circ$ gemessen, von denen 4208 unabhängige für alle Berechnungen verwendet wurden. Die Struktur wurde mit

Direkten Methoden gelöst und gegen F^2 anisotrop, die H-Atome mit einem Reiter-Modell verfeinert (Programm SHELLXL-93 [13]). Der endgültige Gütekoeffizient $wR2(F^2)$ betrug 0.188 mit einem konventionellen $R(F) = 0.064$ für 231 Parameter. Es wurde eine Absorptionskorrektur auf der Basis von Ψ -Scans und eine Extinktionskorrektur durchgeführt. Zwei DME-Moleküle sind fehlgeordnet. Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, D-76344 Eggenstein-Leopoldshafen, unter der Hinterlegungsnummer CSD-404621 angefordert werden.

- [13] G. M. Sheldrick, SHELLXL-93, Universität Göttingen, **1993**.
- [14] Sämtliche Rechnungen wurden mit dem Gaussian-92-Programmsystem (Revision G.3) durchgeführt [15].
- [15] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, P. M. W. Gill, B. G. Johnson, M. W. Wong, J. B. Foresman, M. A. Robb, M. Head-Gordon, E. S. Replogle, R. Gomperts, J. L. Andres, K. Raghavachari, J. S. Binkley, C. Gonzalez, R. L. Martin, D. J. Fox, D. J. Defrees, J. Baker, J. P. Stewart, J. A. Pople, Gaussian Inc., Pittsburgh, PA, USA, **1993**.
- [16] A. F. Reed, L. A. Curtiss, F. Weinhold, *Chem. Rev.* **1988**, *88*, 899. 6-31+G*-Basisatz mit diffusen Funktionen. T. Clark, J. Chandrasekhar, G. W. Spitznagel, P. von R. Schleyer, *J. Comput. Chem.* **1983**, *4*, 294; M. J. Frisch, J. A. Pople, J. S. Binkley, *J. Chem. Phys.* **1984**, *80*, 3265.
- [17] Die Grenzorbitale [RHF/6-31+G(d,p)] von [H₂CPPPC₂H₂][–] und [(H₂Si)₂CPPPC(SiH₃)₂][–] ergeben sich zu: HOMO (π_3 , b_1 in C_{2v}) –2.5 [–3.5] eV; HOMO-1 ($n_3(P)$, a_1 in C_{2v}) –4.1 [–4.9] eV. NBO-Analyse von [H₂CPPPC₂H₂][–] (π -Raum): C (1.31), P (0.88), P (1.68 eV).
- [18] a) R. Appel, A. Westerhaus, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 2159–2160; b) G. David, E. Niecke, M. Nieger, J. Radseck, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 2191–2192.
- [19] Ein Lithium-1,2,4-triphospholenid, [Me₃Si-P(P(SiMe₃)₂C(Ph)C(Ph)P)][–], konnte bei der Cyclisierung des 1,2,4-Triphosphapentadienids erhalten werden [5c].
- [20] a) R. Appel, B. Niemann, M. Nieger, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 957; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 957; b) E. Niecke, O. Altmeyer, M. Nieger, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 945–946.

Reversibler Übergang von der α -Helix zur 3_{10} -Helix in einem fluoreszenzmarkierten Peptid **

Graham Hungerford, Marta Martinez-Insua, David J. S. Birch und Barry D. Moore*

Eines der Hauptziele der molekularen Elektronik ist die Synthese molekularer Systeme, die sich auf spezifische Reize hin schnell und reversibel zwischen zwei oder mehreren Zuständen „umschalten“ lassen^[1]. Idealerweise sollte zum „Schalter“ ein Übertragungsmechanismus gehören, mit dem es möglich ist, Änderungen auf molekularer Ebene auf makroskopischem Niveau zu beobachten^[2, 3]. Wir haben zur Entwicklung molekularer Schalter daher Oligopeptide eingesetzt. Bei diesen können verschiedene geometrische Zustände optisch detektiert werden, indem das Ausmaß des intramolekularen Elektronentransfers durch Fluoreszenzlösung interner Marker verfolgt wird^[2]. Unser Ziel ist die Entwicklung von Schaltern, die so eingestellt werden können, daß sie auf eine große Bandbreite von Reizen reagieren; dies sollte über die Einführung funktioneller Gruppen in die Peptidkette gelingen. Wir beschreiben nun ein neues Peptid, das sich zwischen zwei helicalen Konformationen, einer

[*] Dr. B. D. Moore, Dr. G. Hungerford, M. Martinez-Insua
Department of Pure and Applied Chemistry
University of Strathclyde
Thomas Graham Building, 295 Cathedral Street
GB-Glasgow, G1 1XL (Großbritannien)
Telefax: Int. + 44/5525664
E-mail: b.d.moore@strath.ac.uk
Prof. D. J. S. Birch
Department of Physics and Applied Physics, University of Strathclyde,
Glasgow

[**] Diese Arbeit wurde vom Engineering and Physical Sciences Research Council (EPSRC) gefördert. Wir danken Sharon Kelly und Nicholas Price an der University of Stirling für CD-Messungen, Fiona Donald für wertvolle Ratschläge und NovaBioChem/Calbiochem für ihre Unterstützung.

α -Helix und einer 3_{10} -Helix, umschalten läßt. Beweise für diesen Übergang lieferten Methoden wie Circulardichroismus (CD)-Messungen, Infrarot-Spektroskopie (IR) und die Fluoreszenzlösung nach photoinduziertem Elektronentransfer (PET).

Übergänge zwischen Sekundärstrukturen von Peptiden, wie von der α -Helix zum Zufallsknäuel (random coil) und von der α -Helix zum β -Faltblatt, sind bereits gut untersucht^[4, 5]. Im Gegensatz dazu wurde der Übergang von der α - zur 3_{10} -Helix, den beiden wichtigsten Helixtypen bei Peptiden, kaum beachtet, obwohl er bei Enzymen eine Rolle spielt^[6, 7]. Der Unterschied zwischen beiden Formen ist in Abbildung 1 schematisch dargestellt.

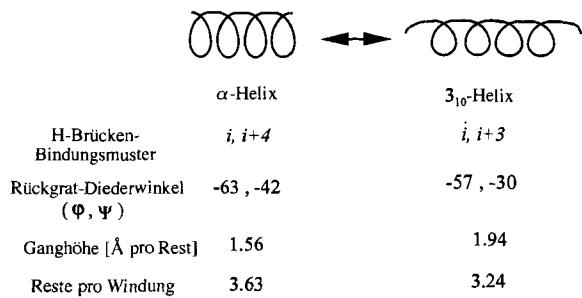
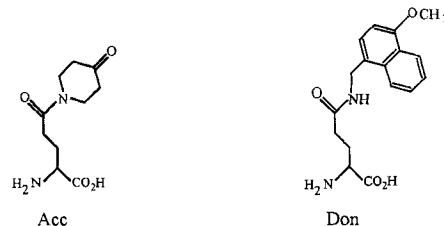


Abb. 1. Allgemeine Eigenschaften einer α - und einer 3_{10} -Helix [29].

stellt. Die 3_{10} -Helix ist stärker gewunden und hat ein anderes Wasserstoffbrücken-Bindungsmuster. Man findet sie häufig in kurzen Peptiden, die α -Aminoisobuttersäure (Aib) enthalten^[8], sowie an den Enden längerer α -helicaler Bereiche in Proteinen^[9]. Untersuchungen an einer Reihe von Peptidfamilien haben ergeben, daß die relative Stabilität der beiden Konformationen durch Veränderung der Sequenz^[10], der Länge^[11, 12] und der Peptidumgebung^[13] gesteuert werden kann. Moleküldynamik-Simulationen zeigten, daß der Übergang zwischen beiden Formen auf einem wohldefinierten Pfad^[14, 15] in 15 Picosekunden erfolgt^[15]. Das System α -Helix/ 3_{10} -Helix bietet sich daher zur Entwicklung eines molekularen Schalters an.

Wir synthetisierten eine Reihe von Peptiden unterschiedlicher Länge und Sequenz, in denen Konformationsänderungen über die Messung der Geschwindigkeit des PET zwischen spezifischen Aminosäuren untersucht werden können^[16]. Alle Peptide enthalten drei oder mehr Aib-Reste, um Helicität zu induzieren^[17, 18] und zwei unterschiedlich modifizierte Glutaminsäuren (in Position i und $i + 4$ relativ zueinander): Eine trägt einen fluoreszierenden Methoxy-naphthalin-Elektronendonator (Don), während die andere mit einer Piperidon-Elektronenacceptorgruppe (Acc) versehen ist (Abb. 2). Die kürzeren Peptide (Dodecamere) dieser Serie, einschließlich 1, lieferten in Acetonitril CD-Spektren, die auf eine unvollständig ausgebildete, helical Struktur hindeuten, die dennoch über den Temperaturbereich von 0 bis 60 °C stabil war. Erstaunlicherweise ließen Studien der PET-Fluoreszenzlösung an 1 darauf schließen, daß bei niedri-



- 1) Ac-Ala-Aib-Ala-Acc-Leu-Aib-Ala-Don-Ala-Aib-Leu-Ala-NH₂
- 2) Ac-Ala-Ala-Aib-Ala-Phe-Ala-Acc-Leu-Aib-Ala-Don-Ala-Aib-Leu-Ala-NH₂

Abb. 2. Sequenz der Peptide 1 und 2 sowie Struktur von Don und Acc [16, 30].

ger Temperatur (< 0 °C) in Lösung zwei Konformationen vorgeben^[16].

Um zusätzliche Information zu gewinnen, wurde Peptid 2 synthetisiert. Es hatte die gleiche zentrale Sequenz wie 1, war aber im Vergleich zu 1 um drei Aminosäuren länger, um die Helicität zu verstärken. CD-Spektren von 2 wurden über einen Temperaturbereich von -40 bis 60 °C aufgenommen. Bei tieferen Temperaturen zeigten die Spektren zwei ausgeprägte, für eine α -Helix charakteristische^[19–22] Minima gleicher Intensität bei 208 und 222 nm (Abb. 3 a). Das Peptid liegt bei -30 °C, wie die Intensität im Spektrum zeigt, nahezu zu 100% α -helical vor^[19]. Erwärmst man auf über -20 °C, ändert sich das CD-Spektrum schnell, wobei die Intensität des Minimums bei 222 nm stark abnimmt (Abb. 3 b). Dieser Trend setzt sich bei 20 °C fort, während weiteres Erwärmen auf 60 °C das Spektrum im wesentlichen nicht weiter beeinflußt (Abb. 3 c). Diese Ergebnisse sind ein überzeugender Beweis für einen scharfen thermischen Übergang von einer α -helicalen Konformation bei niedrigen Temperaturen zu einer anderen stabilen Konformation bei höheren Temperaturen. Letztere ist weder Zufallsknäuel noch eine β -Faltblattstruktur, was die Unterbrechung des stetigen Kurvenverlaufs entlang der x-Achse – konstant bei 200 nm in allen Spektren – und die nahezu gleichbleibende Intensität des Minimums bei θ_{208} beweisen^[19]. Vergleiche mit anderen CD-Spektren helicaler Peptide deuten darauf hin, daß es sich bei dieser Konformation um eine 3_{10} -Helix handelt^[13, 20, 23]. Jene Spektren weisen ein Minimum bei θ_{208} und eine Schulter bei θ_{222} auf, wobei das Verhältnis der Intensitäten von $\theta_{222}:\theta_{208}$ im Bereich von 0.5 bis 0.8 liegt^[21, 23]. Für Peptid 2 erhält man bei 20 °C ein ähnliches Verhältnis von 0.7.

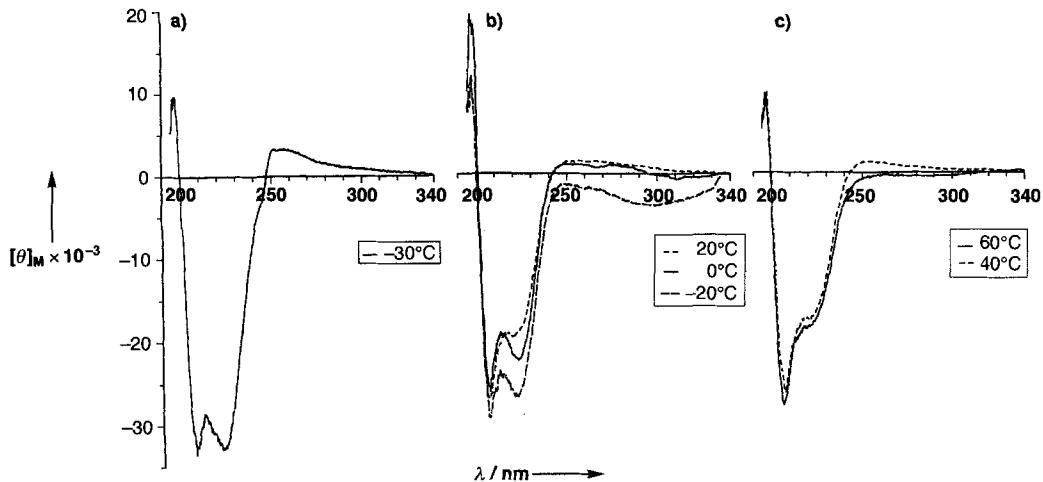


Abb. 3. Circulardichroismus-Spektren des Peptids 2 in Acetonitril bei (a) -30 °C, (b) -20 bis 20 °C und (c) 40 und 60 °C [31].

Weitere Hinweise für die Bildung einer 3_{10} -Helix erhielt man aus Infrarot-Spektren von **2** in Acetonitril bei Raumtemperatur, die eine starke Amid-I-Bande bei 1662 cm^{-1} aufwiesen. Dies liegt außerhalb des üblicherweise mit der Amid-I-Bande einer α -Helix assoziierten Bereichs von $1650\text{--}1655\text{ cm}^{-1}$ ^[24], befindet sich jedoch innerhalb des Bereichs von $1662\text{--}1665\text{ cm}^{-1}$, den man für kurze (Aib)_n-Homopeptide findet, welche gut charakterisierte 3_{10} -Helices bilden^[25]. Sie stimmt außerdem mit der Amid-I-Bande des Antibiotikums Alamethicin in Phospholipid-Membranen und Methanol überein, das in einer Kombination von α - und 3_{10} -Helices vorliegt^[24].

Obwohl die CD-Spektren mit einer reversiblen Konformationsänderung des gesamten Peptids vereinbar sind, könnte auch eine nur partielle Änderung des Rückgrats diskutiert werden. Sowohl die Röntgenstrukturanalyse^[26] als auch NMR-Messungen^[27] helicaler Peptide haben Bereiche von α - und 3_{10} -Helices im selben Molekül aufgezeigt; in Proteinen wird ein α -helicaler Verlauf oft mit einer 3_{10} -Schleife beendet^[19]. Mit dem markierten Glutaminsäure-Rest im zentralen Segment des Peptids war die Möglichkeit gegeben, dies genauer zu untersuchen, da die erhaltenen Ergebnisse Änderungen in diesem Bereich des Peptids wiedergeben sollten. Das Fluoreszenzverhalten der Peptidlösung wurde über den gleichen Temperaturbereich wie bei den CD-Messungen verfolgt. Bei jeder Temperatur konnten zwei Spezies anhand ihrer unterschiedlichen Fluoreszenzlebensdauern unterschieden werden. Der relative Anteil jeder Spezies änderte sich reversibel mit der Temperatur, wobei die größte Änderung über denselben Bereich wie im CD-Spektrum beobachtet wurde. Diese Ergebnisse zeigen, daß das Peptid in zwei diskreten, miteinander im thermischen Gleichgewicht stehenden Konformationen vorliegt. In Abbildung 4 ist der prozentuale

als auch mit PET-Fluoreszenzlösung wurden ähnliche Schmelzbereiche (ΔT) von 44 K gemessen, dagegen fand man mit Fluoreszenzmessungen eine Schmelztemperatur (T_m) von $-8 \pm 4^\circ\text{C}$ und über Circulardichroismus $4 \pm 10^\circ\text{C}$. Die Fluoreszenzdaten zeigen, daß die konformativen Änderungen, die bei den CD-Messungen beobachtet wurden, auch die zentrale Region des Peptidrückgrats, die die Marker enthielt, betreffen müssen. Durch einen Vergleich können wir der Komponente mit der kurzen Lebensdauer das Peptid im 3_{10} -Zustand zuordnen, was zeigt, daß PET-Fluoreszenzlösung bei dieser Form effizienter ist.

Die Bildung einer stabilen 3_{10} -Helix bei höheren Temperaturen weist auf einen günstigen Entropiebeitrag bezüglich dieser Konformation hin. Abbildung 5 zeigt die gemittelten Konfor-

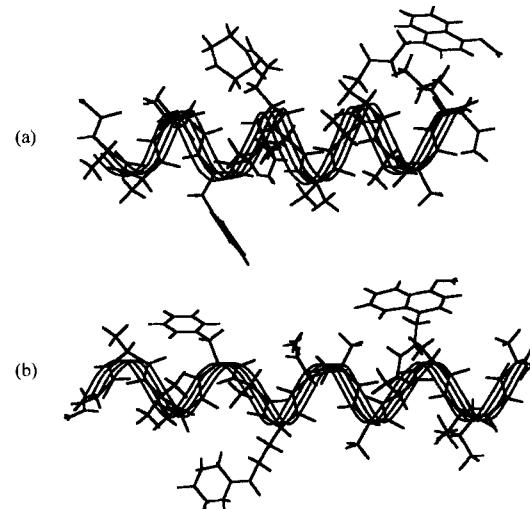


Abb. 5. Gemittelte Konformation des Peptids **2** nach 200 ps einer Moleküldynamik-Simulation, wobei es in (a) der Konformation einer α -Helix, und (b) der einer 3_{10} -Helix fixiert wurde [33].

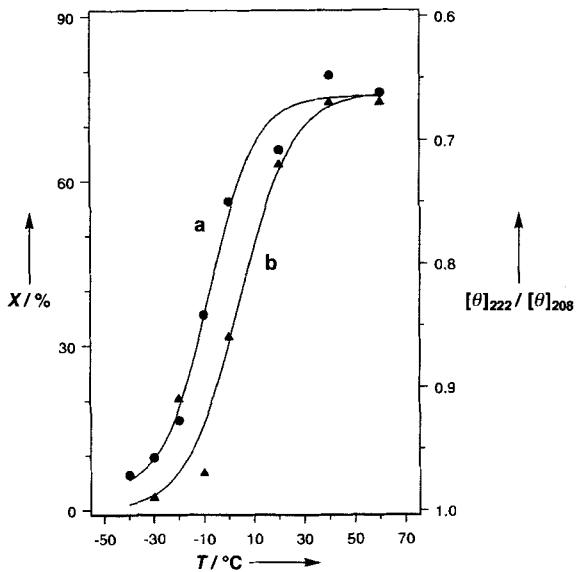


Abb. 4. Prozentualer Anteil X der Komponente mit der kürzeren Lebensdauer (●, Kurve a) [32], sowie das Verhältnis der Intensitäten der CD-Minima bei 222 nm und 208 nm (▲, Kurve b) aufgetragen gegen die Temperatur (Peptid **2** in Acetonitril).

Anteil X des Peptids mit der kürzeren Fluoreszenzlebensdauer gegen die Temperatur und gleichzeitig das Verhältnis von θ_{222} zu θ_{208} zum Vergleich aufgetragen. Letzteres ist ein Maß für die Umwandlung der α - in die 3_{10} -Helix; beide Datensätze korrelieren stark miteinander. Beide weisen einen scharfen, für einen kooperativen Prozeß typischen Übergang auf. Sowohl mit CD

mationen des Peptids in beiden helicalen Formen als Ergebnis einer Moleküldynamik-Simulation. Man erkennt, daß in der 3_{10} -Helix die sterisch anspruchsvollen Marker-tragenden Seitenketten im Mittel weiter voneinander entfernt sind. Der dadurch gewonnene höhere Grad konformationeller Freiheit steht in Einklang mit dem „Umschalten“ in diese Konformation bei höherer Temperatur (Abb. 5). Das Fehlen jeglicher Zufallsknäuel-Bildung im zugänglichen Temperaturbereich läßt sich auf die drei stark helixfördernden Aib-Reste und die Verwendung eines aprotischen Lösungsmittels, Acetonitril, zurückführen, das die Bildung intramolekularer Wasserstoffbrückenbindungen stark unterstützt. Der Frage, warum die Fluoreszenzlösung in dieser Form am effizientesten ist, gehen wir momentan nach. Interessanterweise haben de Rege et al. vorhergesagt, daß verschiedene Sekundärstrukturmotive die Donor-Acceptor-Elektronenkopplung unterschiedlich regulieren^[28].

Die Ergebnisse beweisen, daß der wohldefinierte Übergang von der α -Helix zur 3_{10} -Helix in einem synthetischen Peptid möglich ist. Dies ist der erste Schritt in Richtung eines molekularen Schalters, der auf diesen beiden Konformationen basiert. Der hier beobachtete, wohldefinierte Übergang läßt vermuten, daß es möglich werden wird, komplexere Peptide zu synthetisieren, die auf eine Reihe von Reizen, wie die Bindung eines Ions oder Moleküls, antworten können. Dies wird die Entwicklung von Bauelementen ermöglichen, die für die molekulare Elektronik nötig sind.

Eingegangen am 14. August 1995 [Z 8303]

Stichworte: Circular dichroismus · Elektronentransfer · Fluoreszenz · Molekulare Schalter · Peptide

- [1] J. M. Lehn, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 1347–1362; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 1304–1319.
- [2] A. P. Desilva, C. P. McCoy, *Chem. Ind.* **1994**, *24*, 992–996.
- [3] A. P. Desilva, H. Q. N. Gunaratne, C. P. McCoy, *Nature* **1993**, *364*, 42–44.
- [4] S. Lee, T. Iwata, H. Oyagi, H. Aoyagi, M. Ohno, K. Anzai, Y. Kirino, G. Sugihara, *Biochim. Biophys. Acta* **1993**, *1151*, 76–82.
- [5] A. P. Todd, G. L. Millhauser, *Biochemistry* **1991**, *30*, 5515–5523.
- [6] C. A. McPhalen, M. G. Vincent, D. Picot, J. N. Janssonius, A. M. Lesk, C. Chothia, *J. Mol. Biol.* **1992**, *227*, 197–213.
- [7] M. Gerstein, C. Chothia, *J. Mol. Biol.* **1991**, *220*, 133–149.
- [8] K. Otoda, S. Kimura, Y. Imanishi, *Biochim. Biophys. Acta* **1993**, *1150*, 1–8.
- [9] D. Pathak, D. Ollis, *J. Mol. Biol.* **1990**, *214*, 497–525.
- [10] G. Basu, D. Anglos, A. Kuki, *Biochemistry* **1993**, *32*, 3067–3076.
- [11] W. R. Fiori, S. M. Miick, G. L. Millhauser, *Biochemistry* **1993**, *32*, 11957–11962.
- [12] K. Otoda, Y. Kitagawa, S. Kimura, Y. Imanishi, *Biopolymers* **1993**, *33*, 337–1345.
- [13] T. Iwata, S. Lee, O. Oishi, H. Aoyagi, M. Ohno, K. Anzai, Y. Kirino, G. Sugihara, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 4928–4933.
- [14] S. E. Huston, G. R. Marshall, *Biopolymers* **1994**, *34*, 75–90.
- [15] J. Tirado-Rives, D. S. Maxwell, W. L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 11590–11593.
- [16] F. Donald, G. Hungerford, D. J. S. Birch, B. D. Moore, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 313–314.
- [17] C. Toniolo, G. M. Bonora, A. Bavoso, E. Benedetti, B. di Blasio, V. Pavone, C. Pedone, *Biopolymers* **1983**, *22*, 205–215.
- [18] I. L. Karle, P. Balaram, *Biochemistry* **1990**, *29*, 6747–6756.
- [19] N. Greenfield, G. D. Fasman, *Biochemistry* **1969**, *8*, 4108–4116.
- [20] M. C. Manning, R. W. Woody, *Biopolymers* **1991**, *31*, 569–586.
- [21] R. W. Woody, *Peptides (NY)* **1985**, *7*, 15–114.
- [22] W. C. Johnson, *Proteins: Struct. Funct. Genet.* **1990**, *7*, 205–214.
- [23] T. S. Sudha, E. K. S. Vijayakumar, P. Balaram, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1983**, *22*, 464–468.
- [24] P. I. Haris, D. Chapman, *Biopolymers* **1995**, *37*, 251–263.
- [25] D. F. Kennedy, M. Crisma, C. Toniolo, D. Chapman, *Biochemistry* **1991**, *30*, 6541–6548.
- [26] R. O. Fox, F. M. Richards, *Nature* **1982**, *300*, 325–330.
- [27] E. K. Bradley, J. F. Thomason, F. E. Cohen, P. A. Kosen, I. D. Kuntz, *J. Mol. Biol.* **1990**, *215*, 607–622.
- [28] P. J. F. de Rege, S. A. Williams, T. J. Therien, *Science* **1995**, *269*, 1409–1413.
- [29] C. Toniolo, E. Benedetti, *Trends Biochem. Sci.* **1991**, *16*, 350–353.
- [30] Die Peptide wurden mit einem NovaSyn-Crystal-Festphasen-Peptidsynthesizer an einem modifizierten Rink-Harz mit der 9-Fluorenylmethoxycarbonyl(FMOC)-Schutzgruppenstrategie und Benzotriazol-1-yl-oxy-tris(pyridinolino)phosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP) als Kupplungsreagens synthetisiert. Nach der Abspaltung mit 10proz. Trifluoressigsäure in Dichlormethan wurde das Rohpeptid mit Umkehrphasen-Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie gereinigt und mit Elektrospray-Massenspektrometrie charakterisiert.
- [31] Die CD-Spektren wurden bei einer Konzentration von ca. 10^{-5} M mit einer 1-cm-Zelle an einem Jasco-J600-Spektralpolarimeter aufgenommen. $[\theta]_D$ ist in Grad cm² dmol⁻¹ angegeben. Im Experiment wurde zunächst auf 60 °C erwärmt, dann auf –40 °C abgekühlt. Die Spektren waren über mehrere Durchläufe hinweg identisch.
- [32] Die Fluoreszenzdaten wurden bei einer Peptidkonzentration von ca. 5×10^{-5} M in entgastem Acetonitril mit einem Fluorimeter für zeitaufgelöste Untersuchungen (single photon counting) mit einer coaxialen Blitzlicht-Anregungsquelle aufgenommen, wobei die Halbwertsbreite bei 1.2 ns lag. Als Anregungs- und Emissionswellenlängen wurden mit Monochromatoren 300 bzw. 360 nm ausgewählt. Bei 0 °C wurden Lebensdauern von 4.14 und 6.32 ns erhalten, während die Lebensdauer ohne Fluoreszenzlösung bei 7.59 ns lag. Beide Datensätze ließen sich mit einer sigmoiden Kurve der Form $F(T) = Y_{\min} + [(Y_{\max} - Y_{\min})/(1 + \exp(-A(T - T_m)))]$ annähern, wobei A eine Konstante, T die Temperatur und T_m die Schmelztemperatur bezeichnen. Der Schmelzbereich ΔT ergab sich aus dem mittleren 80 %-Bereich der Kurve zwischen den oberen und den unteren y-Werten. Als Ungenauigkeit des T_m -Wertes wurde die zweifache Standardabweichung angenommen.
- [33] Die Moleküldynamik-Simulationen wurden mit den Programmpaketen Insight II, Discover und Analysis der Firma Biosym Technologies an einem Silicon Graphics Iris Indigo Computer durchgeführt. Mit CVFF als Kraftfeld wurden Dynamik-Rechnungen bei 293 K in Vakuum angesetzt, wobei die α -Kohlenstoffatome des Peptids festgehalten wurden, so daß das Peptid die jeweilige helicale Konformation (α -Helix, 3_{10} -Helix) beibehielt.

Multiple Sialyl-Lewis^X-N-Glycopeptide: Effektive Liganden für E-Selectin**

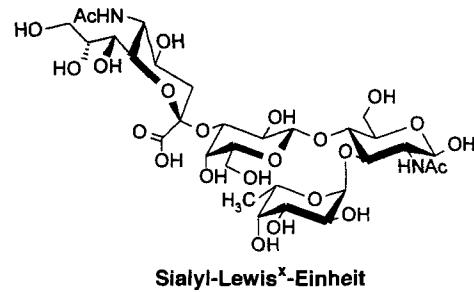
Ulrich Sprengard, Manfred Schudok, Wolfgang Schmidt, Gerhard Kretzschmar und Horst Kunz*

Professor Albert Eschenmoser zum 70. Geburtstag gewidmet

Selectine (E- und P-Selectin), eine Gruppe von Zelladhäsionsmolekülen, spielen in der Anfangsphase der Leukozytenadhäsion eine zentrale Rolle als Transmembranglycoproteine auf Blutplättchen (P-Selectin) und Endothelzellen (E- und P-Selectin)^[1]. Die vorübergehende Bindung der Selectine an Oligosaccharidliganden leitet das „Rolling“ (das Abbremsen) der Leukozyten auf dem vaskulären Endothelgewebe ein und führt bei entzündlichen Prozessen über eine komplexe Kaskade makromolekularer Wechselwirkungen mit anderen Adhäsionsmolekülen schließlich zur Auswanderung der Leukozyten (Diapedese) in das umliegende Gewebe. Komplexe Glycoproteine mit dem Sialyl-Lewis^X-Epitop und eng verwandten Saccharideinheiten wurden als hochaffine Liganden der Selectine identifiziert^[2, 3].

So gehören die Mucine zu einer Gruppe endogener Selectinliganden mit multiplen Oligosaccharideinheiten großer Oberflächendichte^[4]. Die potentiell höhere Avidität multivalenter Wechselwirkungen kann für die Effizienz der Selectin-Glycoproteinbindung von entscheidender Bedeutung sein.

Als einfache, artifizielle Modellverbindungen wurden z.B. über Diole verbrückte divalente Sialyl-Lewis^X-Analoga^[5] und trivale Sialyl-Lewis^X-Konjugate^[6] ausgehend von Nitrome-



[*] Prof. Dr. H. Kunz

Institut für Organische Chemie der Universität Mainz
J.-J.-Becher-Weg 18-20, D-55099 Mainz

Telefax: Int. + 6131/39-4786

Dipl.-Chem. U. Sprengard

Institut für Organische Chemie der Universität Mainz und
Zentralforschung der Hoechst AG, Frankfurt

Dr. M. Schudok

Pharma-Forschung der Hoechst AG, Frankfurt

Dr. G. Kretzschmar, Dr. W. Schmidt

Zentralforschung der Hoechst AG, Frankfurt

[**] Die Autoren danken Herrn Dr. Kogler (Allgemeine Pharma-Forschung der Hoechst AG) für die Durchführung wichtiger NMR-Experimente. In dieser Arbeit werden folgende Abkürzungen verwendet: Asp = Asparaginsäure, COSY = correlated spectroscopy, DIPEA = Ethyldiisopropylamin, EEDQ = *N*-Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin, ESI = Electrospray-Ionisation, Fmoc = (9-Fluorene-9-ylmethoxy)carbonyl, Fuc = fucosyl, Gal = α -D-Galactose, Glc = α -D-Glucose, Gly = Glycin, HATU = *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumhexafluorophosphat, HMBC = H-detected multiple-bond correlation, HMQC = heteronuclear multiple-quantum coherence (NMR), HOAT = 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol, HOBr = 1-Hydroxy-1H-benzotriazol, HSQC = heteronuclear single-quantum coherence (NMR), PHDQF = phase sensitive double quantum filtered, Ser = Serin, TBTU = (1H-Benzotriazol-1-yloxy)bis(dimethylaminomethyl)urettetrafluoroborat, TCP = Chlorotritylpolystyrol, TFA = Trifluoressigsäure, TOCSY = total correlation spectroscopy (2D-NMR).