

Tabelle 1. Ausgewählte spektroskopische Daten neuer Verbindungen (+ und – stehen für positive (C, CH₂) bzw. negative Phase (CH, CH₃) in APT-¹³C-NMR-Spektren). Alle Verbindungen ergaben zufriedenstellende Elementaranalysen oder korrekte hochaufgelöste Massenspektren.

- 3: ¹H-NMR (200 MHz, C₆D₆): δ = 1.04 (s, 18H), 1.27 (d, 18H, ³J(P,H) = 11 Hz), 2.08 (dt, 2H, ³J(P,H) = 11 Hz, ³J(H,H) = 6 Hz), 3.08 (m, 2H, ²J(P,H) = 13 Hz, ³J(H,H) = 6 Hz), 4.8 (m, 2H, ΣJ = 4 Hz), 5.23 (m, 2H); ¹³C-NMR (50 MHz, C₆D₆): δ = 23.7 (+, d, PCH₂CH₂, ²J(P,C) = 22 Hz), 30.3 (–, PCCH₃, ²J(P,C) = 13.8 Hz), 31.5 (–, t, P₂CCCH₃, ³J(P,C) = 4.6 Hz), 31.6 (+, d, PCCH₃, ¹J(P,C) = 23 Hz), 34.5 (+, t, P₂CCCH₃, ²J(P,C) = 6.9 Hz), 40.6 (+, d, PCH₂CH₂, ¹J(P,C) = 17.6 Hz), 79.5 (–, Cyclopentadienyl-CH), 81.1 (–, Cyclopentadienyl-CH), 105.6 (+, d, Cyclopentadienyl-CCH₂, J(C,P) = 14 Hz), 108.5 (+, t, ¹J(P,C) = 54.3 Hz); ³¹P-NMR (81 MHz, C₆D₆, ext. Standard H₃PO₄): δ = 37.8 (P₂CCCH₃), 28.9 (PCCH₃). MS (70 eV): m/z 496 (M⁺, 3%)
- 4: ¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆): δ = 1.20 (d, 54H, PCCH₃, ³J(P,H) = 10.7 Hz), 1.70 (m, 2H, PCH₂CH₂), 2.39 (m, 2H, PCH₂, ²J(P,H) = 8.3 Hz), 2.45 (s, 9H, Co₃CCCH₃), 4.42 (AA'BB', 2H, Cyclopentadienyl-H, ΣJ = 4 Hz), 4.96 (AA'BB', 2H, Cyclopentadienyl-H); ¹³C-NMR (100 MHz, C₆D₆): δ = 24.2 (+, d, CH₂), 24.3 (+, d, CH₂), 29.9 (–, d, PCCH₃, ²J(P,C) = 13.5 Hz), 31.4 (+, d, PCCH₃, ¹J(P,C) = 24.5 Hz), 37.3 (–, Co₃CCCH₃), 59.9 (+, Co₃CCCH₃), 67.9 (+, d, Co₃CCCH₃, ²J(P,C) = 10.1 Hz), 81.0 (–, Cyclopentadienyl-CH), 81.9 (–, d, Cyclopentadienyl-CH, J(P,C) = 1.9 Hz), 103.8 (+, d, Cyclopentadienyl-CCH₂, J(P,C) = 15.2 Hz); ³¹P-NMR (162 MHz, C₆D₆, ext. Standard H₃PO₄): δ = 27.0 (s), 189.9 (br.s). MS (CI – Methan): m/z 989.9 (M⁺, 10%)
- 5: ¹H-NMR (200 MHz, CD₂Cl₂): δ = 1.63 (s, 45H), 2.29 (s, 9H). MS (70 eV): m/z 682 (M⁺, 100%)
- 6: IR (KBr): ν̄ [cm^{–1}] = 1262, 1099, 1025, 804, 735 (PS), 650 (CCO₃). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 1.33 (d, 54H, PCCH₃, ³J(P,H) = 15 Hz), 2.06 (m, 6H, PCH₂CH₂), 2.28 (m, 6H, PCH₂), 2.33 (s, 9H, Co₃CCCH₃), 4.5 (m, 6H, Cyclopentadienyl-H), 4.72 (m, 6H, Cyclopentadienyl-H); ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 23.8 (+, d, PCH₂CH₂, ²J(P,C) = 13.6 Hz), 24.2 (+, d, PCH₂, ¹J(P,C) = 26.2 Hz), 27.6 (–, PCCH₃), 37.8 (+, d, PCCH₃, ¹J(P,C) = 41.6 Hz), 62.2 (+, Co₃CCCH₃), 65.8 (+, Co₃CCCH₃), 82.5 (–, Cyclopentadienyl-CH), 86.3 (–, Cyclopentadienyl-CH), 102.4 (+, d, Cyclopentadienyl-CCH₂, J(P,C) = 15.4 Hz). ³¹P-NMR (81 MHz, CDCl₃, ext. Standard H₃PO₄): δ = 78.5 [C(Bu₃)₂P=S], 578 (Co₃P=S). MS [FAB (o-Nitrobenzylalkohol)]: m/z 1117 (M⁺ + 1, 15%)
- 7: IR (CHCl₃): ν̄ [cm^{–1}] = 2964, 2928, 1604, 1260, 1228, 1132; ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 1.35 (d, 54H, PCCH₃, ³J(P,H) = 15 Hz), 2.07 (m, 6H, PCH₂CH₂), 2.22 (m, 6H, PCH₂), 2.31 (s, 9H, Co₃CCCH₃), 4.53 (m, 6H, Cyclopentadienyl-CH), 4.98 (m, 6H, Cyclopentadienyl-CH); ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 25.1 (+, d, PCH₂CH₂ oder PCH₂CH₂, J(P,C) = 20 Hz), 27.6 (–, PCCH₃), 37.6 (–, Co₃CCCH₃), 37.9 (+, d, PCCH₃), 62.5 (+, Co₃CC), 81.8 (–, Cyclopentadienyl-CH), 84.4 (–, Cyclopentadienyl-CH), 102.5 (+, d, Cyclopentadienyl-CCH₂, J(P,C) = 16.3); Signal für Co₃CC wurde wegen zu geringer Konzentration nicht beobachtet. MS (70 eV): m/z 1100 (M⁺, 100%)
- 8: MS (70 eV, 300 °C): m/z 1052 (M⁺, 18%), 1036 (21), 963 (37), 891 (17), 782 (18), 565 (21), 312 (CoCp⁺O, 71)

- [14] A. F. Hill, J. A. K. Howard, T. P. Spaniol, F. G. A. Stone, J. Szameitat, *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 213–214; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, *28*, 210–211.
- [15] U. Kölle, F. Khouzami, B. Fuss, *Angew. Chem.* **1982**, *94*, 132; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 131; U. Kölle, F. Khouzami, B. Fuss, *Angew. Chem. Suppl.* **1982**, 250–256.
- [16] P. B. Hitchcock, M. J. Maah, J. F. Nixon, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1986**, 737–738.
- [17] O. J. Scherer, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 1137–1155; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 1104–1122.
- [18] G. Ciani, A. Sironi, *J. Organomet. Chem.* **1983**, *241*, 385–393.
- [19] A. Gourdon, Y. Jeannin, *J. Organomet. Chem.* **1986**, *304*, C1–C3.
- [20] H. Lang, G. Huttner, B. Sigwarth, I. Jibril, L. Zsolnai, O. Orama, *J. Organomet. Chem.* **1986**, *304*, 137–155.
- [21] H. Lang, G. Huttner, L. Zsolnai, G. Mohr, B. Sigwarth, U. Weber, O. Orama, I. Jibril, *J. Organomet. Chem.* **1986**, *304*, 157–179.
- [22] A. Vizi-Orosz, G. Pályi, L. Markó, *J. Organomet. Chem.* **1973**, *60*, C25–C26.
- [23] C. E. Laplaza, W. M. Davis, C. C. Cummins, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2181–2183; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2042–2044.
- [24] O. J. Scherer, J. Braun, P. Walther, G. Heckmann, G. Wolmershäuser, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 861–863; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 852–854.
- [25] W. A. Herrmann, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 835–836; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 818–819.
- [26] J. F. Corrigan, S. Doherty, N. J. Taylor, A. J. Carty, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9799–9800.
- [27] Kristallstrukturanalyse von 7: DIP2020 Image Plate der Fa. ENRAF-NONIUS, MoK_α-Strahlung, Graphitmonochromator. Strukturlösung erfolgte mit Direkten Methoden (SHELXS-86). Verfeinerung mit voller Matrix nach dem Kleinste-Quadrate-Verfahren gegen F² (SHELXL-93). C₃₀H₈₇Co₃OP₂S₃, M_r = 1101.05, orthorhombisch, Raumgruppe Pna2₁, Z = 4, a = 23.446(3), b = 22.794(2), c = 10.531(2) Å, V = 5628.1(14) Å³, ρ_{ver} = 1.30 g cm^{–3}, μ = 1.13 mm^{–1}, 34477 gemessene Reflexe, 8159 unabhängige und 7446 beobachtete Reflexe für I > 2σ(I), Meßtemperatur 20 °C. Alle Nichtwasserstoffatome wurden anisotrop verfeinert, H-Atome in idealisierten Positionen berechnet. R₁ = 0.0375, wR₂ = 0.0859 (alle Daten) für 569 Parameter und 1 Restraint. Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, D-76344 Eggenstein-Leopoldshafen, unter der Hinterlegungsnummer CSD-404656 angefordert werden.

Synthese von Glycopeptiden und Lipopeptiden durch chemoselektive Verknüpfung**

Stefano E. Cervigni, Pascal Dumy und Manfred Mutter*

Ein wesentliches Merkmal natürlicher Glycoproteine ist ihre strukturelle Vielfalt. Die post-translationale Glycosidierung in eukariotischen Zellen spielt eine Schlüsselrolle bei unterschiedlichen Phänomenen wie der Protein stabilisierung gegenüber Denaturierung, der interzellulären Kommunikation und der Regulation des Zellwachstums^[1]. Zum besseren Verständnis des Beitrages des Kohlenhydratanteils von Glycoproteinen in biologischen Prozessen sind neuerdings viele Anstrengungen unternommen worden, die chemische Synthese von Glycopeptiden als Modelle für Glycoproteine zu verbessern. Darüber hinaus dient die Glycosylierung von Peptiden als Werkzeug bei der Entwicklung neuer Wirkstoffe zur Veränderung der biologischen Aktivität sowie zur Verbesserung der Bioverfügbarkeit und der Löslichkeit von natürlichen Peptiden^[2].

Der regiospezifische chemische Zugang zu Glycopeptiden wird erschwert durch die Labilität der glycosidischen Bindung sowie der Notwendigkeit zum selektiven Schutz mehrerer funk-

* Prof. Dr. M. Mutter, Dipl.-Chem. S. E. Cervigni, Dr. P. Dumy
Institut für Organische Chemie der Universität Lausanne
BCH-Dorigny, CH-1015 Lausanne (Schweiz)
Telefax: Int. + 21/6924015
E-mail: mmutter@ulys.unil.ch

** Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung gefördert. Wir danken Herrn M. Mathieu für die Synthese des Peptids 14.

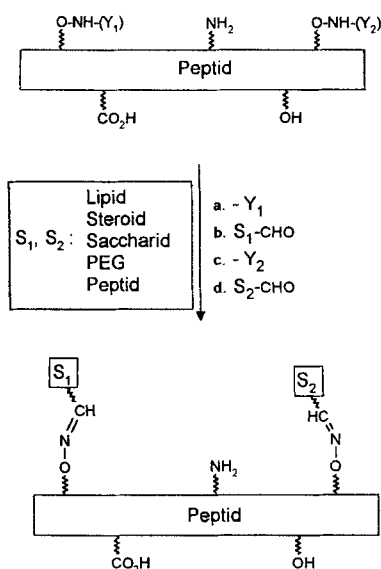
Stichworte: Cluster · Cobaltverbindungen · Phosphaalkine · Phosphorverbindungen

- [1] M. Regitz, Vortrag, GDCh-Ortsverband Hannover, 1.6.1995.
- [2] *Multiple Bonds and Low Coordination in Phosphorus Chemistry* (Hrsg.: M. Regitz, O. J. Scherer), Thieme, Stuttgart, **1990**, S. 478.
- [3] S. I. Al-Resayes, S. I. Klein, H. W. Kroto, M. F. Meidine, J. F. Nixon, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1983**, 930–932.
- [4] J. C. T. R. Burckett-St. Laurent, P. B. Hitchcock, H. W. Kroto, J. F. Nixon, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1981**, 1141–1143.
- [5] P. B. Hitchcock, M. J. Maah, J. F. Nixon, J. A. Zora, G. J. Leigh, M. A. Bakar, *Angew. Chem.* **1987**, *99*, 497–498; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 474–475.
- [6] R. T. Kettenbach, W. Bonrath, H. Butenschön, *Chem. Ber.* **1993**, *126*, 1657–1669.
- [7] J. Foerstner, R. Kettenbach, R. Goddard, H. Butenschön, *Chem. Ber.* **1996**, *129*, 319–325.
- [8] P. Binger, R. Milczarek, R. Mynott, M. Regitz, W. Rösch, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 645–646; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 644–645.
- [9] P. Binger, R. Milczarek, R. Mynott, C. Krüger, Y.-H. Tsay, E. Raabe, M. Regitz, *Chem. Ber.* **1988**, *121*, 637–645.
- [10] J. R. Fritch, K. P. C. Vollhardt, M. R. Thompson, V. W. Day, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 2768–2770.
- [11] H. Yamazaki, Y. Wakatsuki, K. Aoki, *Chem. Lett.* **1979**, 1041–1044.
- [12] J. R. Fritch, K. P. C. Vollhardt, *Angew. Chem.* **1980**, *92*, 570–572; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, *19*, 559–561.
- [13] M. Driess, D. Hu, H. Pritzkow, H. Schäufele, U. Zenneck, M. Regitz, W. Rösch, *J. Organomet. Chem.* **1987**, *334*, C35–C38.

tioneller Gruppen^[3]. Jüngste Entwicklungen zur Verknüpfung von ungeschützten Peptidfragmenten durch chemoselektive Reaktionen^[4] eröffnen nun Perspektiven zur Darstellung multifunktionaler Peptide und Proteine von hoher Komplexität. Zahlreiche Anwendungen dieses eleganten Konzepts sind daher im Bereich des De-novo-designs von Proteinen^[5], z.B. Peptid-dendrimeren^[6] und Proteinkonjugaten, vorgeschlagen worden^[7].

Wir stellen nun eine allgemeine Strategie zur regioselektiven Verknüpfung von ungeschützten Peptiden mit Sacchariden und Lipiden unter Bildung von Oximbindungen^[8] vor. Im Gegensatz zu anderen Methoden für die Synthese von Glycopeptiden^[9] bleibt in dieser die cyclische Natur der Saccharideinheit erhalten^[10].

Wie in Schema 1 gezeigt, werden hierbei Aminosäuren mit selektiv zugänglichen Amino-oxy-Funktionen in die Peptid-

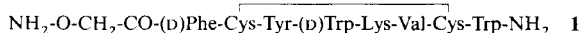


Schema 1. Strategie zur regioselektiven Oximbindung. a) und c): Selektive Abspaltung der Aminoxyacetyl-Schutzgruppe (Y₁, Y₂: orthogonale Schutzgruppen, z.B. *tert*-Butyloxycarbonyl (Boc) Allyloxycarbonyl (Alloc); b) und d): Oximbindung in Acetatspuffer (S₁, S₂: Aldehydgruppe enthaltende Verbindung). PEG = Polyethylenglycol.

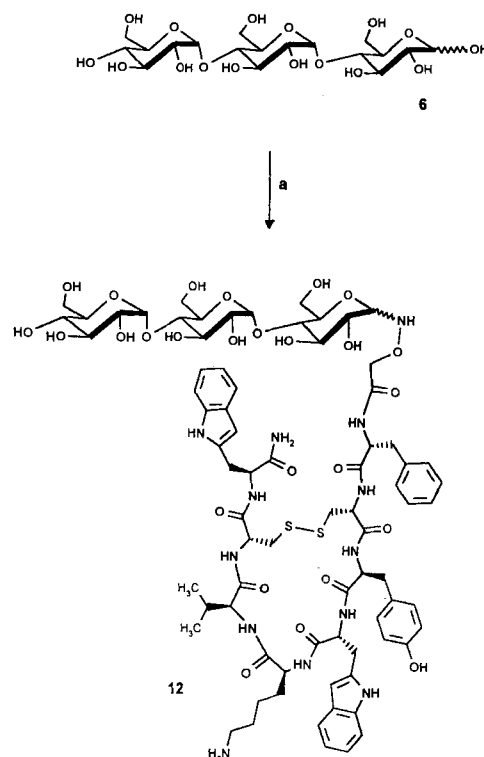
sequenz eingebaut; nach der sequentiellen Abspaltung der Amino-oxy-Schutzgruppe wird durch Reaktion mit dem Aldehyd die Oximbindung regioselektiv gebildet. Diese einfache Methode ermöglicht die direkte Verknüpfung von ungeschützten Peptiden mit freien Kohlenhydraten, Lipiden oder anderen Substraten.

Beispielsweise werden orthogonal geschützte Peptide durch Festphasensynthese gemäß Fmoc-Strategie (Fmoc = 9-Fluorenylmethoxycarbonyl) am säurelabilen Rink-Amid-Anker aufgebaut; anschließend wird die N-terminale Aminogruppe des Peptids und/oder die ε-Aminogruppe von Lysin selektiv mit unterschiedlich N-geschützten Amino-oxyacetyl-Derivaten umgesetzt^[11]. Nach Säurebehandlung wird z.B. das Amino-oxyacetyl-haltige Peptid mit den Aldehydgruppen der Zucker- oder Lipidkomponente unter Bildung des entsprechenden Oxims in einer Eintopfreaktion umgesetzt. Diese Reaktion verläuft unabhängig von der Peptidsequenz unter milden Bedingungen selektiv und in hohen Ausbeuten^[12].

Wie am Beispiel der Darstellung einer Reihe von Derivaten des Somatostatin-Analogons RC-160^[13] **1** (Tabelle 1 und



Schema 2) gezeigt, bietet dieses Verfahren eine Vielfalt von Möglichkeiten zur Modifizierung der physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften von Peptiden.



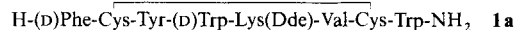
Schema 2. Oximbindung zwischen Maltotriose **6** und **1** (nur die cyclische Form ist dargestellt) [10]. a) Acetatspuffer/Acetonitril, pH 3, **1**, 120 h; präparative HPLC, **12**: 70%, ES-MS: 1689.8.

Tabelle 1. Ausbeuten der Oximderivate von **1** und erforderliche Reaktionszeiten.

Aldehyd	Derivat	Reaktionszeit [h] [a]	Ausb. [%] [b]
2 Glucoson [14]	8	5	65
3 Glucose	9	25	60
4 Gentobiose	10	75	70
5 Maltose	11	100	75
6 Maltotriose	12	120	70
7 Decanal	13	1	70

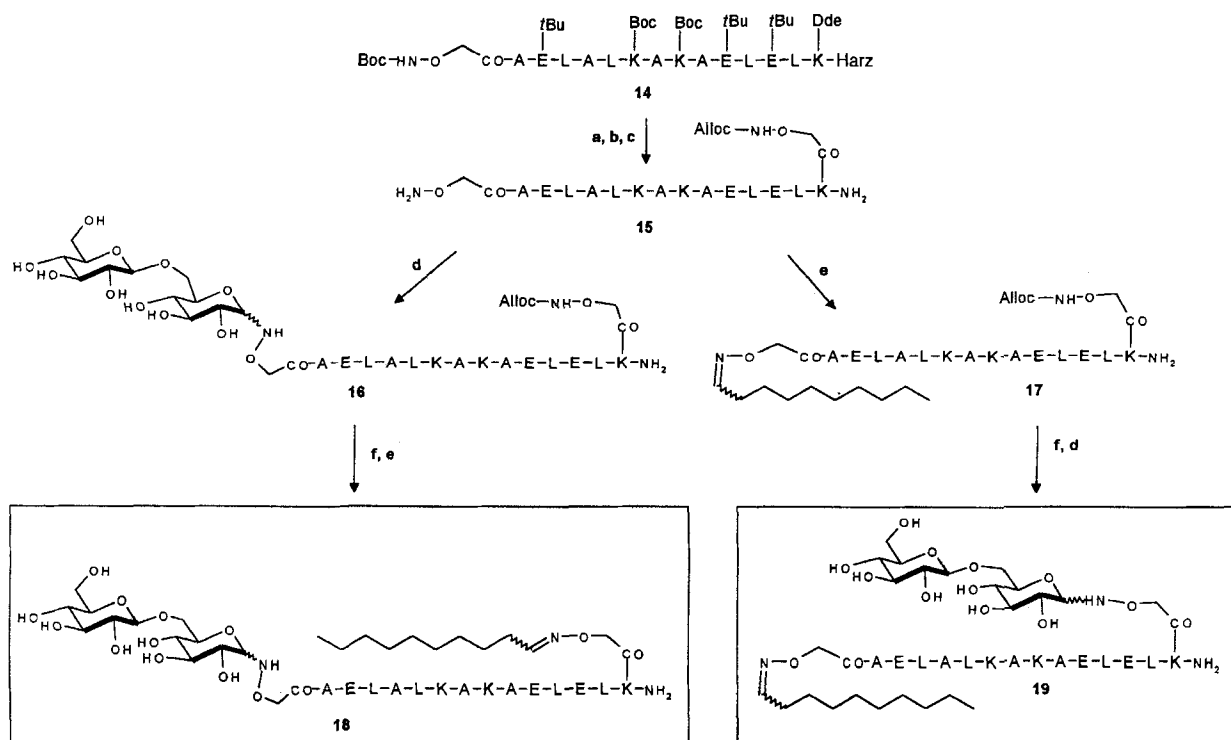
[a] Bestimmt durch analytische HPLC. [b] Ausbeute an isoliertem Produkt.

Als Vergleich haben wir z.B. das an Lys⁵ 1-(4,4-Dimethyl-2,6-dioxocyclohexylen)ethyl(Dde)-geschützte RC-160-Analogon **1a** synthetisiert und unter Reduktion der Schiff-Base mit



NaBH₃CN^[9] an Glucoson **2**, Gentobiose **4** oder Maltotriose **6** gebunden. Dabei verlief die reduktive Alkylierung zur Bildung von **8a**, **10a** und **12a** deutlich langsamer als die entsprechende Oximbindung zu Produkt **8**, **10** und **12**, insbesondere bei Anwesenheit längerer Saccharidketten. Interessanterweise verläuft die Reaktion mit Lipidkomponenten erheblich schneller und in hohen Ausbeuten (Tabelle 1). Die verminderte Reaktionsgeschwindigkeit von Kohlenhydraten lässt sich durch die geringe Gleichgewichtskonzentration der reaktiven Aldehydgruppe des reduzierenden Zuckers in Lösung erklären, was in den unterschiedlichen Reaktionszeiten zwischen Glucoson **2** und Glucose **3** besonders deutlich wird.

Zur Demonstration der Flexibilität der Methode wurden zwei isomere Glyco-Lipo- (**18**) und Lipo-Glyco-Peptide (**19**) durch Oxim-Verknüpfung dargestellt (Schema 3). Als Modell diente dabei ein amphiphiles, multifunktionelles Peptid, das Lösungsmittel-induzierte Konformationsübergänge zeigt („Switch-Pep-



Schema 3. Synthese der isomeren, Bis-Oximgruppen enthaltenden Peptide **18** und **19** (nur die cyclische Form ist dargestellt) [10]. a) $\text{NH}_2\text{-NH}_2$, 3proz. in DMF; b) Alloc-NHOCH₂CO₂Su (Su = Succinimidyl) in DMF; c) 50proz. TFA in CH_2Cl_2 (1:1); d) Gentobiose **4** in Acetatpuffer, pH 3; e) Decanal **7** in Acetatpuffer, pH 3; f) $(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{PdCl}_2$, $n\text{Bu}_3\text{SnH}$ in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOH}$ (96:4).

tid⁽¹⁵⁾. Die regioselektive Fixierung von Decanal (oder von Gentobiose) an das Amino-oxycetyl-haltige Peptid **15** via Oximbildung zu Produkt **16** (oder **17**) erfolgt nach Abspaltung der Boc/*t*Bu-Schutzgruppen und gleichzeitiger Trägerspaltung von **14**. Die Pd^{II}-katalysierte Abspaltung der Alloc-Schutzgruppe lieferte schließlich nach Umsetzung von **16** mit Decanal das Glyco-Lip-Peptid **18** und nach Umsetzung von **17** mit Gentobiose das Lipo-Glyco-Peptid **19** in 60 bzw. 65% Ausbeute^[16].

Die Beispiele zeigen, daß durch die Kombination von chemoselektiver Oximbildung und orthogonaler Schutzgruppentechnik eine Vielzahl von Verbindungen wie Glycoside und Lipide regioselektiv unter milden Bedingungen in wäßrigen Medien an vollständig ungeschützten Peptiden fixiert werden können. Die Methode läßt sich problemlos auf andere Aldehydgruppen-haltige Verbindungen wie Liganden, Nucleinsäuren oder Proteine übertragen und kann in Analogie zur posttranslationalen Glycosylierung als regioselektive „postsynthetische“ Modifizierung von Peptiden aufgefaßt werden. Die aufgezeigte Variationsbreite in der Funktionalisierung synthetischer Peptide eröffnet den Zugang zu komplexen Verbindungen von pharmakologischer Bedeutung. Eine weitere interessante Anwendung dieser Verknüpfungsstrategien liegt in der kombinatorischen Chemie, wobei eine neue Klasse von Bibliotheken chimärer Peptide erschlossen werden kann.

Experimentelles

Die Festphasensynthese der Peptide wurde wie folgt durchgeführt: Die linearen vollgeschützten Peptide wurden am Rinkamid-Harz stufenweise unter Verwendung von 3.0 Äquiv. *N*α-Fmoc-Aminosäuren (mit 3.0 Äquiv. Hydroxybenzotriazol und 3.0 Äquiv. *N,N*-Diisopropylcarbodiimid in DMF während 15 min voraktiviert) aufgebaut. Die Kupplungszeit in Gegenwart von 3.0 Äquiv. Diisopropylethylamin in DMF betrug 45 min. Die *N*α-Fmoc-Schutzgruppe wird durch Behandlung mit Piperidin (20% v/v in DMF, 20 min) abgespalten. Die Fixierung des Amino-oxycetyl-Restes an den N-Terminus oder an die ε-Aminogruppe des Lysinrestes gelang

durch Kupplung der *N*α-Boc- oder *N*α-Alloc-geschützten Derivate der Amino-oxycessigsäure. Anschließend wurde das geschützte Peptid mit 50proz. Trifluoressigsäure (TFA) vom Träger abgespalten (in CH_2Cl_2), das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Peptid mit Diethylether ausgefällt. Die chemoselektive Verknüpfungsreaktion wurde wie folgt durchgeführt: 10 μmol Amino-oxycetylisiertes Peptid wurde in 2 mL 0.1 M Acetatpuffer (pH 4.0)/ CH_3CN (1:1) gelöst und tropfenweise zu einer Lösung der Kohlenhydrat- oder Lipidkomponenten (100 μmol in identischer Puffer-Lösung) zugegeben. Die Mischung wurde durch Zugabe von 100 μL Eisessig auf pH 3 eingestellt und die Kupplungsreaktion mit analytischer HPLC in verschiedenen Zeitintervallen analysiert. Die Reinigung mit halbpräparativer HPLC ergab nach Lyophilisierung das gewünschte Glyco- bzw. Lipo-peptid als weißes Pulver; die Charakterisierung erfolgte durch ES-MS.

Die Alloc-Abspaltung wurde wie folgt durchgeführt: Eine Lösung des Peptids **16** oder **17** (15 mg, 0.008 mmol) und $(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{PdCl}_2$ (2–3 mg) in CH_2Cl_2 /4proz. AcOH (2.5 mL) wurde mit $n\text{Bu}_3\text{SnH}$ (10 μL, 0.035 mmol) behandelt und der Reaktionsverlauf mit HPLC verfolgt. Die orangefarbene Lösung wurde filtriert und im Vakuum eingedunstet; nach Zugabe von Diethylether bildet sich ein Niederschlag, der nach Zentrifugieren abdekantiert und mehrmals mit Ether gewaschen wurde. Nach Trocknung wurden 13 mg (91%) des Alloc-entschützten Peptids erhalten. Die reduktive Aminierung erfolgte nach einer modifizierten Variante [13]: Typischerweise wurde das geschützte Peptid **1a** (10 μmol) in 0.1 M Phosphatpuffer, pH 6/ CH_3CN (10:1, 2 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde die Kohlenhydratkomponente (200 μmol) als Festsubstanz zugegeben, die Mischung bei Raumtemperatur gerührt und die Kupplungsreaktion mit analytischer HPLC verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde das Glycopeptid durch halbpräparative HPLC gereinigt und mit Electrospray(ES-MS)-Massenspektrometrie charakterisiert.

Eingegangen am 22. Dezember 1995 [Z 8684]

Stichworte: Festphasensynthesen · Glycopeptide · Lipo-peptide · Oxime · Peptide

- [1] I. J. Goldstein, R. C. Hugues, M. Monsigny, T. Osawa, N. Sharon, *Nature* **1980**, 285, 66; N. Sharon, H. Lis, *The Proteins*, Vol. 5, Academic Press, New York, **1982**, S. 1–123.
- [2] J. F. Fisher, A. W. Harrison, G. L. Bundy, K. F. Wilkinson, B. D. Rush, M. J. Ruwart, *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 3140–3143.
- [3] H. Kunz, *Angew. Chem.* **1987**, 99, 297; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, 26, 294–308; U. Sprengard, G. Kretzschmar, E. Bartnick, C. Hüls, H. Kunz, *ibid.* **1995**, 107, 1104 bzw. **1995**, 34, 990–993; O. Frey, M. Hoffmann, H. Kessler, *ibid.* **1995**, 107, 2194–2195 bzw. **1995**, 34, 2026–2028.

- [4] M. Schnölzer, S. B. H. Kent, *Science* **1992**, 256, 221–225; P. E. Dawson, T. W. Muir, I. Clark-Lewis, S. B. H. Kent, *ibid.* **1994**, 266, 776–779; G. Tuchscherer, *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 8419–8422.
- [5] P. E. Dawson, S. B. H. Kent, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 7263–7266.
- [6] J. Shao, J. P. Tam, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 3893–3899.
- [7] I. Fisch, G. Künzi, K. Rose, R. E. Offord, *Bioconjugate Chem.* **1992**, 3, 147–153.
- [8] K. Rose, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 30–33.
- [9] B. A. Schwartz, G. R. Gray, *Arch. Biochem. Biophys.* **1977**, 181, 542–549.
- [10] P. Finch, Z. Merchant, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1975**, 1682–1686. Frühere ^1H - und ^{13}C -NMR-Messungen an Amino-oxyacetylsäure-D-glucose-Oxim beweisen die Präsenz einer Mischung von drei verwechselbaren Isomeren: die cyclische β -Form, sowie die acyclischen *syn*-(*E*)- und die *anti*-(*Z*)-Formen.
- [11] P. Dumy, I. M. Eggleston, S. Cervigni, U. Sila, X. Sun, M. Mutter, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 1255–1258.
- [12] Die Verwendung von verschiedenen Peptiden störte den Ablauf der Reaktion nicht.
- [13] R. Albert, P. Marbach, W. Bauer, U. Briner, G. Fricker, C. Bruns, J. Pless, *Life Sci.* **1993**, 53, 517–525.
- [14] Glucoson **2** (D-arabino-hexos-2-ulose) wurde nach D. J. Walton, T. Hvidt, W. A. Szarek, *Carbohydrate Res.* **1987**, 167, 123 hergestellt.
- [15] M. Mutter, R. Hersperger, *Angew. Chem.* **1990**, 102, 115; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, 29, 185–187.
- [16] Die reinen Produkte **18** und **19** wurden mit ESI-MS charakterisiert. Gef.: 2135.6 (ber.: 2135.2).

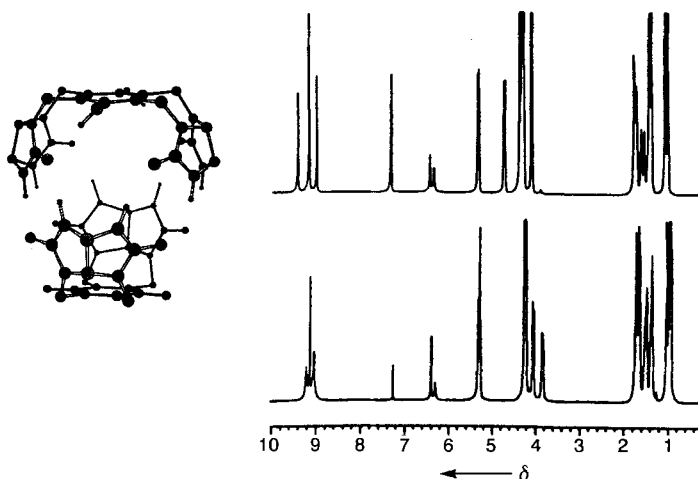


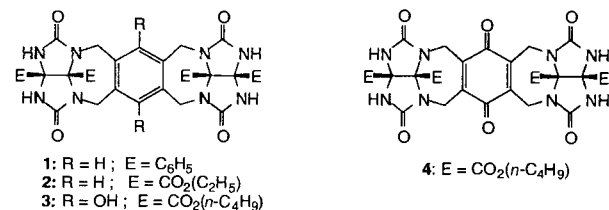
Abb. 1. Links: Energieminimierte Struktur [8] des Heterodimers **3-4** (die Glycolurilester sind zur besseren Übersicht nicht gezeigt). Rechts: 500-MHz- ^1H -NMR-Spektren der äquimolaren Gemische aus **2** und **3** (oben) sowie **3** und **4** (unten).

Synthese und Einschlußverhalten neuer, redoxaktiver dimerer Assoziat²

Xavier Garcías und Julius Rebek, Jr.*

Molekulare Assoziat bieten die Möglichkeit, Erkennungsphänomene zu untersuchen, wobei selbstkomplementäre Verbindungen besonders geeignet sind. Diese Verbindungen können über Wasserstoffbrücken dimerisieren^[1], wobei ein geschlossener Hohlraum entsteht, in dem kleinere, komplementäre Gastmoleküle eingeschlossen werden können^[2]. Wir beschreiben hier Systeme mit unterschiedlichem „Innenfutter“ und die Konsequenzen daraus für ihr Bindungsverhalten.

Die neuen Systeme sind dem Original **1** strukturell ähnlich, ihre inneren, dem Gast zugewandten Oberflächen sind jedoch entweder durch Elektronenüberschuß oder durch Elektronenmangel gekennzeichnet, und ihre Estergruppen führen vor allem bei **2** zu besserer Löslichkeit in organischen Medien^[3]. Die Synthesen verliefen auf schon beschriebenen Wegen: Das Hydrochinon **3** wurde durch Kondensation von 1,4-Bis(acetoxy)-2,3,5,6-



tetrakis(bromomethyl)benzol^[4] mit dem passenden Glycoluril im Überschuß erhalten. Das Chinon **4** erhielt man – ohne erkennbare Nebenreaktionen – durch NO₂-Oxidation von **3** in CH₂Cl₂.

3 und **4** zeigen in organischen Lösungsmitteln wie Chloroform die spektroskopischen Merkmale gut definierter Assoziat^[5]. Die Resonanzen der NH-Protonen bei tiefem Feld ($\delta \approx 9$) und die im allgemeinen scharfen NMR-Signale sprechen dafür, daß in Lösung die dimere Kapsel dominiert. **2**, eine strukturverwandte Verbindung, liegt sogar im kristallinen Zustand als dimere Kapsel vor^[6].

Zusätzlich zur Selbstorganisation zu Homodimeren findet man in Gemischen aus **3** und **4** oder aus einem von ihnen und **2** die Disproportionierung in Heterodimere^[7] (Abb. 1). Dieses Verhalten deckt sich mit Beobachtungen in unseren und anderen Labors. Die Hohlräume der Heterodimere und die der Originale **1-1** oder **2-2**, die durch Benzolringe als Abstandhalter charakterisiert sind, weisen nahezu identische Volumina auf. Die den Gästen zugewandten π -Oberflächen der Heterodimere zeichnen sich jedoch durch unterschiedliche Elektronendichten aus.

Der Einschluß von kleinen, komplementären molekularen Gästen konnte NMR-spektroskopisch direkt beobachtet werden, und die Assoziationskonstanten für die Bildung der verkapselten Komplexe wurden wie schon beschrieben^[2] berechnet. Die Werte sind in Tabelle 1 aufgeführt; die chemischen Verschiebungen der eingeschlossenen Gäste zeigt Tabelle 2. Neben Methan^[9] und Ethan wurden auch Methylfluorid (CH₃F) und Tetrafluormethan (CF₄) als Gäste eingesetzt, da nach jüngsten Berechnungen^[10] CF₄ als Gast für diese Kapseln mindestens so geeignet sein sollte wie CH₄. Es war uns jedoch weder mit ^1H - noch mit ^{19}F -NMR-Methoden möglich, den Einschluß von CF₄ zu beobachten.

Tabelle 1. Die Assoziationskonstanten K_a (M⁻¹, 298 K) für die Verkapselung von Gästen in den Dimeren N-N, N = **2**, **3**, **4** ($K_{a,298} = [\text{N-Gast-N}]/[\text{N-N}] \times [\text{freier Gast}]$).

Gast	2-2	Wirt 3-3	4-4
CH ₄	33	70	10
C ₂ H ₆	51	51	13
CH ₃ F	10	17	<0.3
CF ₄	0.7	0.6	<0.2

[*] Prof. Dr. J. Rebek, Jr.^[1], Dr. X. Garcías
 Department of Chemistry, Massachusetts Institute of Technology
 Cambridge, MA 02139 (USA)
 Telefax: Int. +617/253-7929
 E-mail: jrebek@mit.edu

[[†]] Neue Adresse: Institute for Chemical Biology
 The Scripps Research Institute
 10550 N. Torrey Pines Rd., La Jolla, CA 92037 (USA)

[**] Diese Arbeit wurde durch die National Institutes of Health gefördert. X. G. dankt dem Ministerio de Educación y Ciencia (Spanien) für ein MEC/Fulbright-Postdoktoranden-Stipendium.