

Templat-assoziierte synthetische Proteine (TASP) als Mimetica für die Bindungsstellen von Rezeptoren und Antikörpern (oben) sowie der abgetrennte und auf einem Templat (grün) fixierte Funktionsteil (blau) der Bindungsstelle eines solchen Proteins (Bänderdarstellung; unten).

## Templat-assoziierte synthetische Proteine (TASP) als funktionelle Proteinmimetica\*\*

Manfred Mutter\*, Pascal Dumy, Patrick Garrouste, Christian Lehmann, Marc Mathieu, Cristina Peggion, Stéphane Peluso, Alain Razaname und Gabriele Tuchscherer

Die Anwendung von Peptidmimetica und topologischen Templaten zum Entwurf neuer Proteine („Protein-de-novo-Design“) hat in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen<sup>[1–4]</sup>. Unter Einbeziehung dieser Elemente in den Designprozeß versucht der Synthese-Chemiker, das komplexe Zusammenspiel zwischen Struktur und Funktion zu entschlüsseln. Um das bisher ungelöste Proteinfaltungsproblem zu umgehen, wurde das Konzept der Templat-assoziierten synthetischen Proteine (TASP) eingeführt. Dabei induziert ein maßgeschneidertes Trägermolekül (Templat) die Assoziation der kovalent fixierten Peptidblöcke und dirigiert sie zu einer charakteristischen räumlichen Faltungstopologie<sup>[5–8]</sup>. Wegen Schwierigkeiten bei der Synthese konnte das seit einigen Jahren aufgezeigte Potential dieses Entwurfes<sup>[5]</sup>, z.B. zur Synthese von Proteinmimetica, bis heute nicht entwickelt werden. Nach dem TASP-Konzept wird der Funktionsteil des Proteins, z.B. die Antigenbindungsstelle eines Antikörpers oder die Ligandbindungsstelle eines Rezeptors, vom übrigen Molekül abgetrennt und auf einem topologischen Templat fixiert (Abb. 1). Das Loop-unterstützende Strukturgerüst des nativen Proteins wird dabei durch

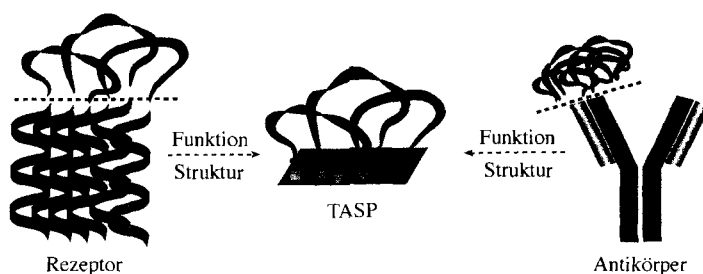


Abb. 1. Das Konzept der Templat-assoziierten synthetischen Proteine als Mimetica für die Bindungsstellen von Rezeptoren und Antikörpern.

ein synthetisches Trägermolekül ersetzt. Hier beschreiben wir eine Methode zur Synthese dieser neuen Generation von funktionellen TASP-Verbindungen.

Das Konzept umfaßt zwei Bausteine als Schlüsselemente: 1) Peptidsequenzen (Loops) mit C- und N-terminalen funktionellen Gruppen (sticky ends) zur chemoselektiven Verknüpfung<sup>[9–12]</sup> und 2) topologische Template zur regioselektiven Fixierung dieser Loops. Der Prototyp eines Templatmoleküls besteht aus zwei antiparallelen  $\beta$ -Faltblatt-Peptiden, die entweder durch  $\beta$ -Turn-induzierende Dipeptide oder nichtpeptidische  $\beta$ -Turn-Mimetica verknüpft sind. NMR-spektroskopische Untersuchungen und Moleküldynamik-Rechnungen bestätigen die in Abbildung 2a und b dargestellten Vorzugskonformationen von TASP-Templaten; die Verankerungsstellen (z.B. die  $\epsilon$ -Aminogruppen der Lysinseitenketten) weisen dabei alle auf eine Seite der  $\beta$ -Faltblatt-Ebene. Ausgehend von der Vielzahl orthogonaler Schutzgruppen für die Peptidsynthese wurde eine Reihe cyclischer Peptide als Template für die selektive Fixierung von Loop-Sequenzen entwickelt<sup>[13–15]</sup>. Mit diesem Templatmotiv können durch gezielte Modifikation der Flexibilität des Peptidrückgrats und der Seitenketten-Verankerungsstellen in nahezu beliebiger Zahl und räumlicher Anordnung eingebaut werden.

Die schrittweise Kondensation von Peptidsequenzen (Loops, L') an die topologischen Template (T'; Tabelle 1) erfolgt über

[\*] Prof. Dr. M. Mutter, Dr. P. Dumy, Dr. P. Garrouste, Dr. C. Lehmann, Dipl.-Chem. M. Mathieu, Dipl.-Chem. C. Peggion, Dipl.-Chem. S. Peluso, Dr. A. Razaname, Dr. G. Tuchscherer  
Institut für Organische Chemie, Universität Lausanne, BCH  
CH-1015 Lausanne (Schweiz)  
Telefax: Int. + 21/6923955  
E-mail: mmutter@ico.unil.ch

[\*\*] Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt.

Abb. 2. Design von TASP-Verbindungen als funktionelle Proteinmimetica. a) Ausgehend von einer regularisierten  $C_\alpha$ -Struktur mit MOLOC [23, 24] berechnete Struktur des cyclischen (ProGlyLysAlaLys)<sub>2</sub>- $\beta$ -Faltblatt-Templats T<sup>2</sup>. Kürzlich erschienene NMR/RMD-Untersuchungen [15] bestätigen, daß ein solches cyclisches Peptid eine antiparallele  $\beta$ -Faltblatt-Struktur mit zwei  $\beta$ -Turns des Typs II einnimmt. Die angegebenen, idealisierten  $C_\alpha$ - $C_\alpha$ -Abstände [pm] deuten an, daß die longitudinalen Abstände im Durchschnitt 1.4 Å größer sind als die transanularen; hingegen können sich die Distanzen auf der Höhe der Verankerungsstellen  $C_\alpha$ - $C_\alpha$  durch eine „Nockenwellen“-Bewegung („crankshaft“-motion) entlang der  $C_\alpha$ - $C_\beta$ -Bindung einstellen und bieten so, wie unten gezeigt, eine ideale Geometrie für die Fixierung eines Strukturmotivs [25]. b) Die Ausdehnung der Kette eines cyclischen Peptids zu einer 14mer-Einheit (ProGlyLysAlaLys)<sub>2</sub> (T<sup>1</sup>) erhöht die Zahl der potentiellen Verankerungsstellen und der möglichen Distanzen. c) Kondensation von zwei identischen Peptidsequenzen (HisAlaGlyHisGly) auf einem cyclischen 10mer-Templat (T<sup>2</sup>) führt zum 2-Loop-TASP TASP II mit quadratisch-planarer Metallbindungsstelle. Die Konformation wurde durch MAB-Kraftfeld-Rechnung optimiert [24] und dabei die Geometrie der Liganden durch gewichtete Superposition der Histidin-Seitenketten auf die Kristallstruktur des Tetrakis(imidazol)-Kupfer(II)-sulfates abgeleitet [26]. d) Darstellung eines der acht Isomere eines 3-Loop-TASP-Moleküls als Mimetikum für die Antigenbindungsstelle des Antikörpers McPC603 [18, 19]. Bei diesem Modell wurden ausgewählte Seitenketten als flexibel betrachtet; schwache Positions- und Wasserstoffbrückenbindungs-Constraints reichen aus, um die funktionelle Konformation zu erhalten.

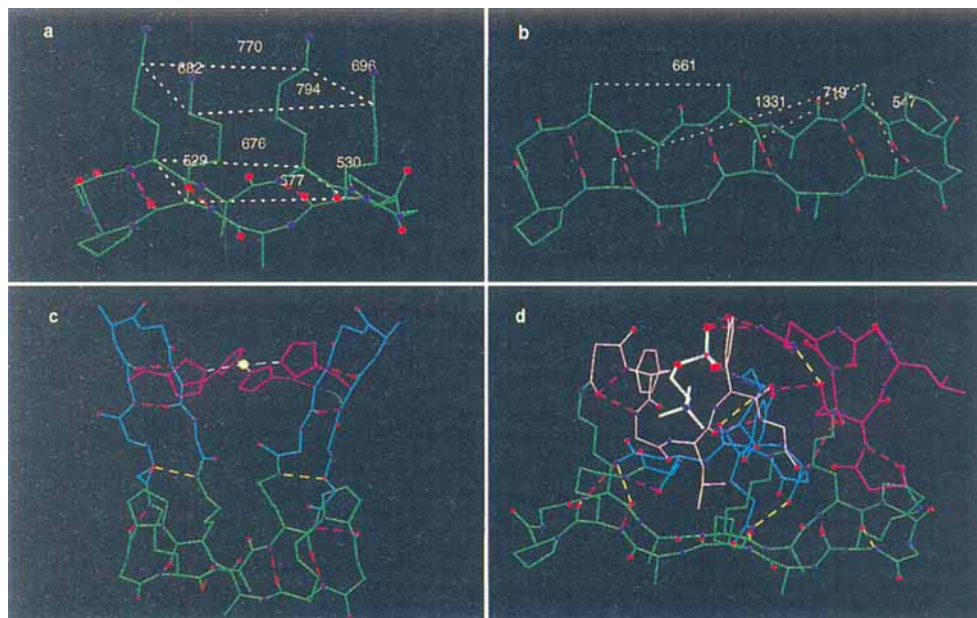
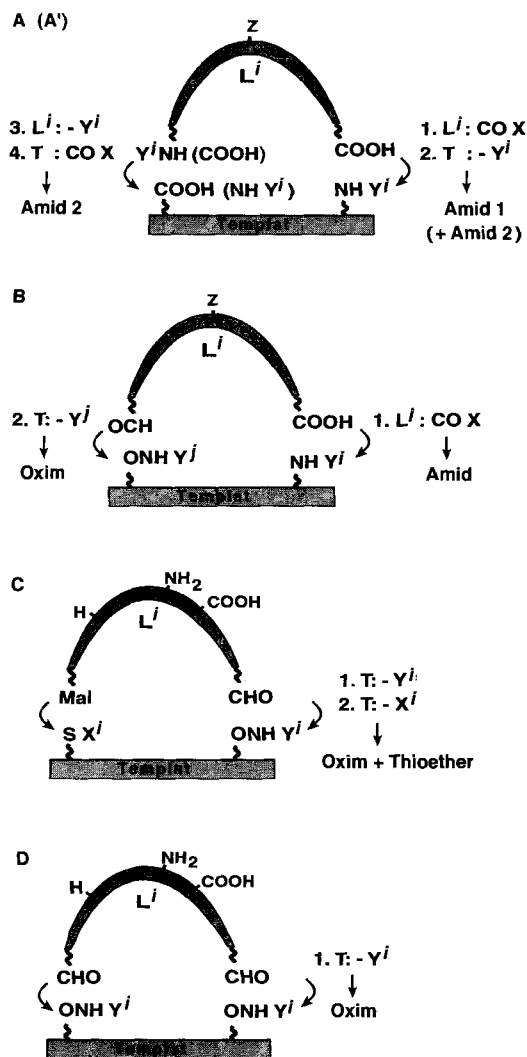


Tabelle 1.  $T^i$  und Loop-Sequenzen  $L^i$  für die Synthese von TASP-Verbindungen [a].

$T^1$ : c[K(Y <sup>1</sup> )C(Acm)K(Y <sup>1</sup> )PGK(Y <sup>2</sup> )AK(Y <sup>2</sup> )AK(Y <sup>3</sup> )PGK(Y <sup>3</sup> )A]
$T^2$ : c[K(Y <sup>4</sup> )PGK(Y <sup>1</sup> )AK(Y <sup>2</sup> )PGK(Y <sup>3</sup> )A]
$T^3$ : c[K(Y <sup>5</sup> )PGK(Y <sup>6</sup> )AK(Y <sup>2</sup> )PGK(Y <sup>3</sup> )A]
$T^4$ : c[K(Y <sup>6</sup> )PGCDRKK(Y <sup>6</sup> )PGFACA]
$L^1$ : Suc-K(Boc)GY( <i>t</i> Bu)NG-OH
$L^2$ : Suc-FGLY( <i>t</i> Bu)G-OH
$L^3$ : Suc-E( <i>t</i> Bu)LGR(Pmc)G-OH
$L^4$ : Boc-S( <i>t</i> Bu)H(Trt)AGH(Trt)G-OH
$L^5$ : Alloc-S( <i>t</i> Bu)H(Trt)AGH(Trt)G-OH
$L^6$ : X <sup>1</sup> -HPGHK(X <sup>2</sup> )G-NH <sub>2</sub>
$L^7$ : X <sup>2</sup> -FSRDELTRHIRHTGK(X <sup>2</sup> )G-OH

[a] Abkürzungen: Y<sup>1</sup>: Boc = *tert*-Butoxycarbonyl; Dde = 1-(4,4-Dimethyl-2,6-dioxocyclohexylen)ethyl; Y<sup>3</sup>: Alloc = Allyloxycarbonyl; Y<sup>4</sup>: Fmoc = 9-Fluorenylmethoxycarbonyl; Y<sup>5</sup>: COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S-Trt; Y<sup>6</sup>: H<sub>2</sub>NOCH<sub>2</sub>CO; Suc: HOOC-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO; X<sup>1</sup>: Maleoyl- $\beta$ -Ala; X<sup>2</sup>: OCHCO; A: Ala; C: Cys; D: Asp; E: Glu; F: Phe; G: Gly; H: His; I: Ile; K: Lys; L: Leu; N: Asn; P: Pro; R: Arg; S: Ser; Y: Tyr; Acm: Acetamidomethyl; Trt: Trityl; Pmc: 2,2,5,7,8-Pentamethylchroman-6-sulfonyl.

die Bildung von Amid-, Oxim- und/oder Thioether-Bindungen<sup>[9–12]</sup>. Nach Strategie A (Schema 1) wird der C-terminal aktivierte, vollständig geschützte Loop  $L^i$  an das Templat  $T^i$  fixiert, das nach Abspaltung der Schutzgruppe  $Y^i$  eine reaktive Veran-



Schema 1. Strategien A–D für die Fixierung von Peptidloop-Sequenzen  $L^i$  auf topologische Template  $T^i$  (Tabelle 1);  $Y^i$  und  $Y^j$ : Amino-Schutzgruppen der Verankerungsstellen; Z: Schutzgruppen der Seitenketten von  $L^i$ . A/A':  $L^1$ – $L^3$ ,  $T^1$ ; B:  $L^4$ ,  $L^5$ ,  $T^2$ ; C:  $L^6$ ,  $T^3$ ; D:  $L^7$ ,  $T^4$ .

kerungsstelle aufweist (Schritt 2, Amidbindung 1). Die selektive Abspaltung der N-terminalen Schutzgruppe  $Y^i$  des Loops  $L^i$  (Schritt 3) und die Aktivierung der Carboxygruppe im Templat (Schritt 4) vervollständigt die Cyclisierung des Loops (Amidbindung 2). Alternativ läßt sich nach Abspaltung der Schutzgruppe der Aminooxyfunktion im Templat das N-terminale Ende von  $L^i$  durch Oximbildung selektiv kondensieren (Schritt 2 in Strategie B). Die Kondensation von Peptiden mit gleichen funktionellen Gruppen an beiden Kettenenden (z.B. Carboxy- oder Aldehydgruppen, Strategie A' bzw. D) erfolgt simultan und liefert eine Mischung aus zwei Isomeren mit unterschiedlich orientierten Loops. Diese Strategien eignen sich sehr gut für die Herstellung von TASP-Bibliotheken für funktionales Screening<sup>[16]</sup>. Durch chemoselektive Verknüpfungen<sup>[9–12]</sup> ist auch die Kondensation vollständig ungeschützter Peptide in wäßriger Lösung oder Lösungsmittelgemischen möglich (Strategie C und D). Beispielsweise kann durch Kombination zweier orthogonaler Verknüpfungstechniken (z.B. Oxim- und Thioetherbindung) in Strategie C eine Loop-Sequenz in nur einem Schritt regioselektiv an das Templat kondensiert werden.

Die einzelnen Strategien wurden evaluiert durch Fixieren von Loops  $L^i$  unterschiedlicher Sequenzen und Kettenlängen an cyclische Peptide (siehe Abb. 2a und b) als regioselektiv adressierbare Template  $T^i$  (Tabelle 1). Die Kinetik der Reaktion wurde mit analytischer HPLC verfolgt (Abb. 3) und die Zielverbindungen durch ES-Massenspektrometrie, Aminosäureanalyse sowie NMR-Spektroskopie charakterisiert. Im allgemeinen ist die Kondensation mit äquimolaren Mengen an  $L^i$  und  $T^i$  (Abb. 3a, b) in weniger als zwei Stunden vollständig abgelaufen. Insbesondere in Strategie A' und D wird die Reaktion von  $L^i$  und  $T^i$  in hoher Verdünnung durchgeführt ( $<10^{-3}$  M), um die intramolekulare Loop-Cyclisierung zu begünstigen. Unter diesen Bedingungen läßt sich ein deutlicher Unterschied in der Reaktionskinetik des ersten und zweiten Kondensationsschrittes feststellen: Nach Fixieren eines Kettenendes des Loops  $L^i$  an das Templat findet der Ringschluß sehr schnell statt, ohne daß das offenkettige Zwischenprodukt nachgewiesen werden kann. Abgesehen von der selektiven Verknüpfung des C- und des N-terminalen Endes eines Loops wie in den Strategien A–C läßt sich das nichtcyclische Zwischenprodukt nur nachweisen, wenn die Cyclisierung wegen mehrerer schon vorhandener Loops sterisch gehindert ist. Allerdings erfolgte auch die Kondensation eines 18mer-Modellpeptids an ein bifunktionelles Templat durch Oximbildung ( $L^7$ , Strategie D) ohne die Bildung des offenkettigen Zwischenproduktes in nachweisbaren Mengen (Abb. 3b). Die erhöhte Reaktivität der Loop-Cyclisierung auf dem Templat im Vergleich zur gewöhnlichen End-zu-End-Cyclisierung ist im Einklang mit der Theorie der Peptidmakrocyclisierung<sup>[17]</sup>.

Ausgehend von  $n$  orthogonalen Amino- oder Carboxyschutzgruppen können entsprechend den Strategien in Schema 1 bis zu  $n$  unterschiedliche Loops selektiv fixiert werden. Durch Erweitern der Palette orthogonaler Schutzgruppen und Kombinieren mit unterschiedlichen Fixierungstechniken werden TASP-Verbindungen von größerer Komplexität hinsichtlich Struktur und Funktion (einschließlich TASP-Bibliotheken) zugänglich.

Als erstes Beispiel für eine potentiell Ligand-(Metall-, Substrat-, Antigen-, Übergangszustandsanalogon-)bindende TASP-Verbindung wurden Loop-Sequenzen aus der Antigenbindungsstelle (CDR, complementarity determining region) des Phosphorylcholin-bindenden monoklonalen Antikörpers McPC603 kovalent auf einem topologischen Templat fixiert (Abb. 2d, TASP I in Schema 2). Ausgehend von einem cyclischen Peptid mit Paaren selektiv funktionalisierter reaktiver



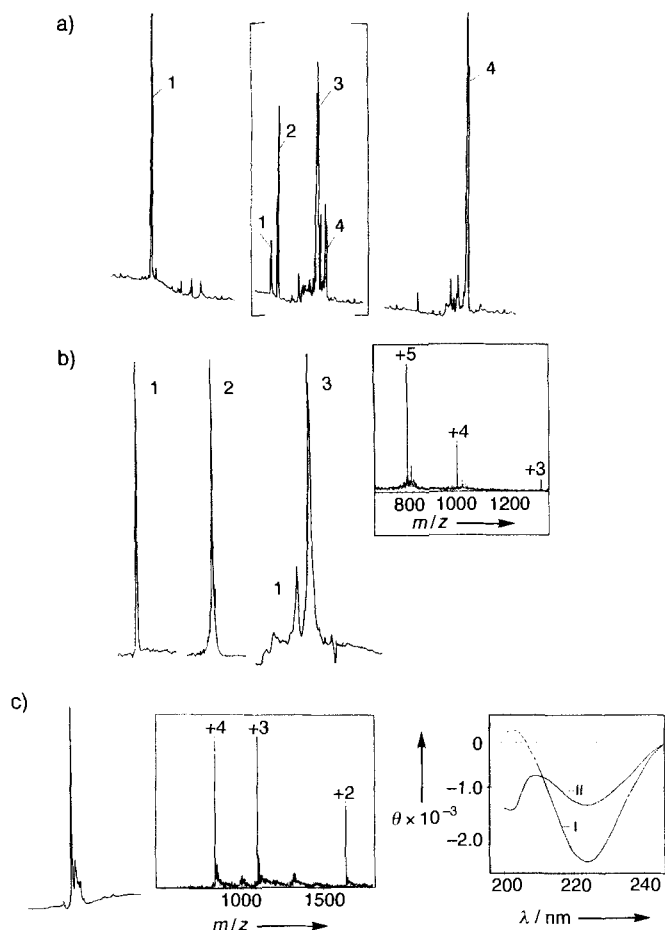
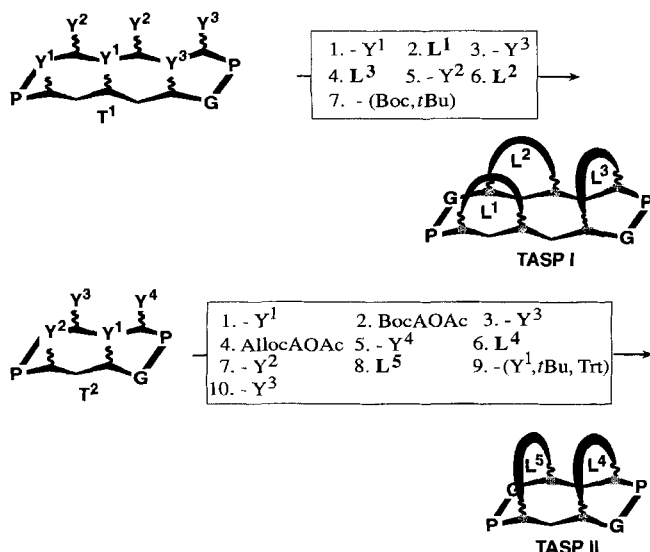


Abb. 3. a) Typische HPL-Chromatogramme einer Loop-Kondensationsreaktion nach Strategie A'. 1: T<sup>1</sup> nach Abspaltung von Y<sup>1</sup>; 2: PyBop; 3: acyclisches Produkt nach Verknüpfung eines Kettenendes (nur nachweisbar bei In-situ-Aktivierung von L<sup>1</sup> in hoher Verdünnung); 4: Rohprodukt (zwei Isomere) nach Fixieren von L<sup>1</sup> auf T<sup>1</sup> (1 h Reaktionszeit). b) HPL-Chromatogramme der Kondensation des 18mer-Peptids L<sup>7</sup> mit T<sup>4</sup> (Strategie D). 1: T<sup>4</sup>; 2: L<sup>7</sup>; 3: Rohprodukt der Kondensation (zwei Isomere) nach 1 h Reaktion; Einschub: ES-MS ( $m/z_{\text{ber.}}$ : 4003 [ $M^+$ ]). c) Synthese von TASP I. Links: HPL-Chromatogramm des Rohproduktes; Mitte: ES-MS ( $m/z_{\text{ber.}}$ : 3280 [ $M^+$ ]); rechts: CD-Spektren in Trifluorethanol (TFE; I) und TFE/H<sub>2</sub>O (1/1; II),  $c = 1 \text{ mg mL}^{-1}$ .



Schema 2. Synthesestrategien für TASP I (Abb. 2d) und TASP II (Abb. 2c). TASP I: L<sup>1</sup>–L<sup>3</sup>, T<sup>1</sup>; TASP II: L<sup>4</sup>, L<sup>5</sup>, T<sup>2</sup> (Tabelle 1).

Gruppen wurden durch schrittweise Kondensation von drei Loop-Peptiden (L<sup>1</sup>–L<sup>3</sup>) über Amidbindungen nach Strategie A TASP I in hoher Ausbeute und Reinheit erhalten (Abb. 3c, links). Zu bemerken bleibt, daß die Kondensation des dritten Loops wie im HPL-Chromatogramm ersichtlich auch in Gegenwart der beiden schon auf dem Templat cyclisierten Peptidsequenzen problemlos gelang. Interessanterweise wurden die Isomere mit unterschiedlich orientierten Loops nicht in äquimolaren Mengen gebildet, was auf eine energetische Nicht-äquivalenz der Loop-Orientierungen hindeutet. Die CD-Spektren (Abb. 3c, rechts) zeigen die charakteristischen Merkmale einer Loop-Cluster-Konformation<sup>[15, 20]</sup>.

Das regioselektive Fixieren von Loops (Strategie B) für TASP-Verbindungen mit definierter Kettentopologie wurde am Beispiel einer potentiell metallbindenden 2-Loop-TASP-Verbindung illustriert (Abb. 2c, TASP II in Schema 2). Dazu wurden zwei Aminogruppen des Templats T<sup>2</sup> zu Aminooxygruppen als chemoselektiven Verankerungsstellen umgewandelt. Nacheinander wurden zwei Peptide, die jeweils einen Histidinrest als Metallbindungsstelle enthalten, durch die Bildung einer C-terminalen Amid- und einer N-terminalen Oximbindung fixiert (Strategie B). Diese TASP-Verbindungen sind gut löslich in wäßrigen Pufferlösungen sowie in polaren organischen Lösungsmitteln und damit einer Vielzahl von biochemischen Untersuchungen zur Struktur zugänglich. So wurden anhand erster Ergebnisse zu Konformations- und Bindungseigenschaften die auf der Grundlage von Molecular-Modeling-Studien postulierten hypothetischen Strukturen von T<sup>2</sup> (Abb. 2c, d) bestätigt<sup>[21]</sup>.

Zusammenfassend eröffnen die hier entwickelten Strategien einen Synthesezugang zu einer neuen Generation von Proteinmimetica und erweitern damit das Templat-Konzept<sup>[5]</sup> im Protein-Design. Insbesondere kann die schrittweise Kondensation von Loops an regioselektiv funktionalisierte Template in wäßriger Lösung durchgeführt werden, wobei die Reaktion innerhalb von wenigen Stunden vollständig abläuft. Durch Fixieren des Templats an einem polymeren Träger sollte die mehrstufige Synthese mit unterschiedlichen Loop-Cyclisierungen zur Herstellung von TASP-Bibliotheken erheblich vereinfacht werden können. Die Zahl der selektiv verknüpfbaren Loops und damit die Komplexität der TASP-Verbindungen wird lediglich durch den aktuellen Stand hinsichtlich chemoselektiver Verknüpfungsreaktionen und orthogonaler Schutzgruppentechniken limitiert. Beispielsweise bietet die ligandeninduzierte Assoziation und Fixierung von Helices,  $\beta$ -Faltblättern und Loops auf Templat eine neue Möglichkeit zur Untersuchung von supramolekularen Wechselwirkungen und Erkennungsprozessen. Durch Ausschöpfung der enormen Vielfalt organischer Synthesemethoden zur Modifizierung der Struktur und der Funktionen von Peptiden sollte sich das TASP-Konzept in Zukunft auch zur Entwicklung von therapeutisch relevanten Proteinmimetica ausbauen lassen.

### Experimentelles

Die Template und Loop-Sequenzen (Tabelle 1) wurden nach Standardvorschriften der Festphasenpeptidsynthese [22] mit orthogonal geschützten Lys-, Glu- und Cys-Resten in der Templatsequenz T als selektiv adressierbare Verankerungsstellen für die Loops hergestellt. Die N-terminale Carboxygruppe der Loops L<sup>1</sup>–L<sup>3</sup> wurde durch Acylierung der am Harz gebundenen Peptide mit Bernsteinsäureanhydrid und die Aminooxyacetylgruppe (Y<sup>6</sup> in T<sup>4</sup>) durch Kupplung von Y<sup>6</sup>HNOCH<sub>2</sub>COOH an die  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-Gruppe der Lysinseitenketten eingeführt [9, 11]. Milde Oxidation (NaO<sub>4</sub>) eines Serinrestes, der entweder am N-Terminus (L<sup>4</sup>, L<sup>5</sup>, Strategie B) oder an der Seitenkette eines Lysinrestes (L<sup>6</sup>, L<sup>7</sup>, Strategie C bzw. D) gekuppelt ist, liefert die Aldehydfunktion in den Loop-Sequenzen L. Kupplung von Maleoyl- $\beta$ -alanin (Mal) mit PyBop (PyBop = Benzotriazol-1-yloxytris(pyrrolidino)phosphonium-hexafluorophosphat) am N-Terminus (L<sup>6</sup>) liefert die in Strategie C verwendete funktionelle Gruppe Mal [12]. Für die Kondensation der Loops L<sup>1</sup> an die Template T<sup>1</sup> wurden jeweils 1.1 Äquiv. L<sup>1</sup> zu einer 1 mM-Lösung T<sup>1</sup> gegeben. Die Amidbin-

dung (A, B) wird in DMF mit dem Kupplungsreagens PyBop, die Oximbindung in Acetat-Puffer (pH = 4.5; C, D) und die Thioetherbindung in einem Puffer bei pH 7 (oder zusammen mit der Oximbindung bei pH 4; C) geknüpft. Im allgemeinen läuft die Reaktion bei Raumtemperatur in weniger als zwei Stunden vollständig ab.

TASP I wurde durch sequentielle Abspaltung der Boc- (TFA), Alloc- ( $[(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{PdCl}_2]/\text{Bu}_3\text{SnH}$ ) und Dde- (2%  $\text{H}_2\text{NNH}_2$  in DMF) Aminoschutzgruppen im Templat T<sup>1</sup> und jeweils anschließender Kondensation von L<sup>1</sup>–L<sup>3</sup> in DMF über aktivierte N- und C-terminale Carboxygruppen (1 Äquiv., PyBop, Strategie A') synthetisiert. Nach Abspaltung der Schutzgruppen (TFA) wurden die Zielverbindungen durch präparative HPLC (Vydac, C18) gereinigt und durch ES-MS charakterisiert (Abb. 3c).

Für die Synthese von TASP II wurde die Boc-Aminoschutzgruppe im Templat T<sup>2</sup> abgespalten (TFA) und das Amin mit  $\text{BocHNOCH}_2\text{COOH}$  gekuppelt (PyBop, DMF). Im zweiten Schritt wurde die Alloc-Schutzgruppe mit  $[(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{PdCl}_2]/\text{Bu}_3\text{SnH}$  entfernt und  $\text{AllocHNOCH}_2\text{COOH}$  an die  $\epsilon\text{-NH}_2$ -Gruppe des Lysinrestes gekuppelt (PyBop, DMF). Nach Abspaltung der Fmoc-Gruppe mit 20% Piperidin in DMF wurde L<sup>4</sup> über die C-terminale Carboxygruppe an die freie  $\epsilon\text{-NH}_2$ -Gruppe in T<sup>2</sup> geknüpft (PyBop, 1 Äquiv.); nach Entfernen der Dde-Schutzgruppe mit 2%  $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  in DMF wurde L<sup>5</sup> auf die gleiche Weise fixiert. Im folgenden wurden alle säurelabilen Schutzgruppen mit TFA abgespalten, der N-terminale Serinrest in L<sup>4</sup> mit  $\text{NaIO}_4$  oxidiert und die erste Oximbindung geknüpft. Im letzten Schritt wurde die Alloc-Gruppe mit  $[(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{PdCl}_2]/\text{Bu}_3\text{SnH}$  entfernt, der N-terminale Serinrest in L<sup>5</sup> in die Aldehydform ( $\text{NaIO}_4$ ) überführt und die zweite Oximbindung gebildet. Die Zielverbindungen wurden durch ES-MS und Aminosäureanalyse charakterisiert.

Eingegangen am 8. Februar 1996 [Z 8797]

**Stichworte:** Proteinmimetica · Templatsynthesen

- [1] G. Tuchscherer, M. Mutter, *J. Biotechnol.* **1995**, *41*, 197.
- [2] G. Tuchscherer, B. Dörner, U. Sila, B. Kamber, M. Mutter, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3559.
- [3] J. W. Bryson, S. F. Betz, H. S. Lu, D. J. Suich, H. X. Zhou, K. T. O'Neil, W. F. DeGrado, *Science* **1995**, *270*, 935.
- [4] J. P. Schneider, J. W. Kelly, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2169.
- [5] M. Mutter, S. Vuilleumier, *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 551; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, *28*, 535.
- [6] M. Mutter, G. Tuchscherer, C. Miller, K. H. Altmann, R. I. Carey, D. F. Wyss, A. M. Labhardt, J. E. Rivier, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1463.
- [7] G. Tuchscherer, M. Mutter, *J. Peptide Sci.* **1995**, *1*, 3.
- [8] G. Tuchscherer, C. Servis, G. Corradin, U. Blum, J. Rivier, M. Mutter, *Protein Sci.* **1992**, *1*, 1377.
- [9] K. Rose, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 30.
- [10] P. E. Dawson, S. B. H. Kent, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7263.
- [11] G. Tuchscherer, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 8419.
- [12] A. Nefzi, X. Sun, M. Mutter, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *36*, 229.
- [13] I. Ernest, J. Kalvoda, C. Sigel, G. Rihs, H. Fritz, M. J. J. Blommers, F. Raschdorf, E. Francotte, M. Mutter, *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 1539.
- [14] P. Dumy, I. M. Eggleston, S. E. Cervigni, U. Sila, X. Sun, M. Mutter, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 1255.
- [15] P. Dumy, I. M. Eggleston, G. Esposito, S. Nicula, M. Mutter, *Biopolymers* **1996**, im Druck.
- [16] R. A. Houghten, C. Pinilla, S. E. Blondelle, J. R. Appel, C. T. Dooley, J. H. Cuervo, *Nature* **1991**, *354*, 84.
- [17] Nach der Cyclisierungstheorie ist die Cyclisierungs-Gleichgewichtskonstante  $K$  proportional zur Volumendichte  $W(r)$  der End-zu-End-Vektoren  $\langle r \rangle$ , wobei  $\langle \rangle$  das statistisch-mechanische Mittel von  $r$  über alle möglichen Loop-Konformationen bezeichnet. Unter der Annahme, daß in erster Näherung der flexible Loop in einer ungeordneten Konformation mit einer Gauß-Verteilung von  $\langle r \rangle$  vorliegt, nähert sich  $W(r)$  für eine bestimmte Distanz  $r_1$  der reagierenden Kettenenden ( $r_1$  entspricht der Distanz zwischen den Loop-Verankerungsstellen auf dem Templat) einem Maximalwert für  $r_1 \approx \langle r \rangle$ . Folglich sollte die Tendenz zum Ringschluß in Loop-Kondensationsreaktionen ( $r_1 \rightarrow \langle r \rangle$ ) höher sein als in regulären Cyclisierungsreaktionen ( $r_1 \rightarrow 0$ ). Siehe M. Mutter, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 8307.
- [18] Y. Satow, G. H. Cohen, E. A. Padlan, D. R. Davies, *J. Mol. Biol.* **1986**, *593*, 190.
- [19] G. B. Bloomberg, D. Askin, A. R. Gargaro, M. J. A. Tanner, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 4709.
- [20] R. W. Woody, *Peptides (NY)* **1985**, *7*, 15.
- [21] Diese Untersuchungen sind Gegenstand einer separaten Publikation.
- [22] J. M. Stewart, J. D. Young, *Solid Phase Peptide Synthesis*, 2. Aufl., Pierce Chemical, Rockford, IL, **1984**.
- [23] P. R. Gerber, *Biopolymers* **1992**, *32*, 1003.
- [24] P. R. Gerber, K. Müller, *J. Comput. Aided Mol. Des.* **1995**, *9*, 251.
- [25] P. J. Flory, *Statistical Mechanics of Chain Molecules*, Interscience, New York, NY, **1969**.
- [26] G. Fransson, B. K. S. Lundberg, *Acta Chem. Scand.* **1972**, *26*, 3969.

## Synthese, Struktur und magnetische Eigenschaften eines achtkernigen Nickel(II)-Komplexes mit einer zentralen hexahedro-Ni<sub>8</sub>-Einheit\*\*

Juan Faus\*, Francisco Lloret, Miguel Julve, Juan M. Clemente-Juan, M. Carmen Muñoz, Xavier Solans und Mercedes Font-Bardía

Zur Zeit besteht großes Interesse an mehrkernigen Übergangsmetallkomplexen, einer umfangreichen und strukturell vielfältigen Verbindungsklasse<sup>[1]</sup>. Mehrkernige High-spin-Nickel(II)-Komplexe wurden mit einer großen Zahl von Liganden isoliert, und ihre magnetischen Eigenschaften wurden intensiv untersucht<sup>[2]</sup>. Die meisten dieser Komplexe sind zweikernig, aber es wurden auch einige dreikernige und vierkernige Komplexe mit Cuban-artiger Struktur untersucht<sup>[2–4]</sup>. Komplexe mit einer noch größeren Zahl von Metallzentren sind sehr selten; ein paar fünfkernige Aggregate sind bekannt<sup>[5]</sup>. Vor kurzem wurde ein elfkerniger und ein cyclischer zwölfkerniger Komplex charakterisiert<sup>[4–6]</sup>.

Das Violurat-Ion,  $\text{H}_2\text{vi}^-$  ( $\text{H}_2\text{vi}^-$  = Violursäure (5-(Hydroxyimino)-2,4,6-(1*H*,3*H*,5*H*)-pyrimidintrion)) ist ein zweizähniger Ligand mit starkem Feld, der über das Oxim-Stickstoffatom und das Sauerstoffatom einer benachbarten Carbonylgruppe an Übergangsmetall-Ionen koordiniert und so einen fünfgliedrigen Chelatring bildet (Abb. 1)<sup>[7]</sup>. Möglich erscheinen für den Liganden  $\text{H}_2\text{vi}^-$  zwei Koordinationsarten, da der Ligand die Metall-Ionen auch über das Oxim-Sauerstoffatom und das Sauerstoffatom der anderen benachbarten Carbonylgruppe binden könnte, in diesem Fall in Form eines sechsgliedrigen Chelatrings. Damit könnte  $\text{H}_2\text{vi}^-$  auch als bis(zweizähniger) Brückenligand fungieren (Abb. 1). Diese Koordinationsweisen wurden jedoch bisher noch nicht gefunden.

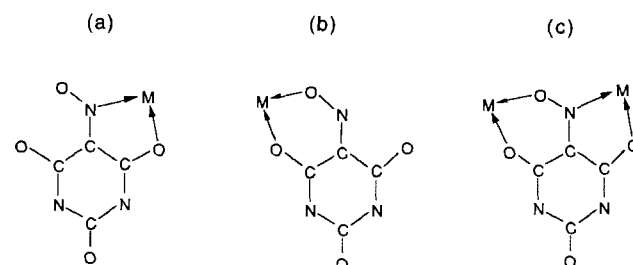


Abb. 1. Mögliche Koordinationsarten des Violurato-Liganden (die Wasserstoffatome sind nicht gezeigt): a) zweizählige-N,O; b) zweizählige-O,O (unbekannt) und c) bis(zweizählige) (verbrückend, diese Arbeit).

[\*] Prof. Dr. J. Faus, Dr. F. Lloret, Prof. Dr. M. Julve, J. M. Clemente-Juan  
Departamento de Química Inorgánica  
Facultad de Química  
Universidad de Valencia  
Dr. Moliner 50, E-46100-Burjassot, Valencia (Spanien)  
Telefax: Int. + 6/3864322  
E-mail: Juan.Faus@uv.es  
Dr. M. C. Muñoz  
Departamento de Física Aplicada  
Universidad Politécnica de Valencia  
Prof. Dr. X. Solans, Dr. M. Font-Bardía  
Departament de Cristallografia  
Mineralogia i Dipòsits Minerals  
Universitat de Barcelona

[\*\*] Diese Arbeit wurde gefördert von der Dirección General de Investigación Científica y Técnica (DGICYT) (Project PB94-1002) und dem Human Capital and Mobility Program (Network on Magnetic Molecular Materials from EEC) durch Grant ERBCHRX-CT920080.