

dreidimensional sichtbar zu machen. Da die Verwendung von β -gal als Markerenzym in Maus-Modell-Untersuchungen weit verbreitet ist, sollte es mit diesen neuartigen Reagentien möglich werden, Genexpressionsmuster in normalen und in genetisch veränderten Tiermodellen zu verfolgen.

Während die Frage, wie sich MRI-Kontrastmittel anders als durch Mikroinjektion in spezifische Zelltypen bringen lassen, zur Zeit untersucht wird,^[14] ist das hier beschriebene Reagens der erste Schritt zur Entwicklung einer neuen Klasse von bildverstärkenden Verbindungen; es wird zur Zeit in vivo getestet. Die Anwendung dieser Kontrastmittel zur Detektion physiologischer Prozesse und neuronaler Aktivitäten eröffnet nun die Möglichkeit, biologische Fragestellungen durch MRI zu untersuchen, die bislang durch lichtmikroskopische Methoden unzugänglich waren.

Experimentelles

Synthese von 2,3,4,6-Tetraacetyl-1-(2-bromethoxy)- β -galactose: 2-Bromethanol wurde mit 2,3,4,6-Tetraacetyl-1- α -bromgalactose zu einem Gemisch aus dem α - und dem β -Anomer von 2,3,4,6-Tetraacetyl-1-(2-bromethoxy)-galactose (10/90) in 68% Ausbeute (8.3 g) umgesetzt. Das gereinigte β -Anomer wurde durch Flash-Chromatographie erhalten. Die stereochemischen Zuordnungen wurden anhand einer Röntgenstrukturanalyse des β -Anomers vorgenommen.

2,3,4,6-Tetraacetyl-1-(2-bromethoxy)- β -galactose wurde mit Cyclen monosubstituiert. Die Acetat-Schutzgruppen wurden abgespalten und die drei Carbonsäure-substituenten durch Umsetzung mit Bromessigsäure bei pH 10.5 eingeführt. Das Produkt, 4,7,10-Triessigsäure 1-(2- β -galactopyranosylethoxy)-1,4,7,10-tetraacetylclododecan, wurde durch Anionenaustausch-FPLC (fast performance liquid chromatography; Detektion bei 218 nm) in 37% Gesamtausbeute isoliert. Gd^{3+} oder Tb^{3+} wurden in die Komplexe eingebaut, und EGad-Gd bzw. EGad-Tb wurden durch wiederholte Umkehrphasen-HPLC mit einer analytischen C₁₈-Säule und einem Wasser/Acetonitril-Gradienten (0–10%; Fluoreszenzdetektor $\lambda_{ex} = 274$ nm, $\lambda_{em} = 315$ nm) in 70% Ausbeute isoliert. Ein hochauflösendes Massenspektrum des isolierten Feststoffs gab für das Signal des Moleküls ($M + Na$)⁺ die richtige exakte Masse und das erwartete Isotopenverhältnis.

Kristallstruktur von C₁₆H₂₃O₁₀Br: CAD-4-Diffraktometer; farblose Plättchen, monoklin, Raumgruppe P₂1 (Nr. 4); insgesamt 5603 Reflexe gemessen, davon 2981 für die Verfeinerung verwendet.

Fluoreszenzexperimente [5, 6] mit EGad: Die Zerfallsgeschwindigkeit (umgekehrt proportional zur Lebensdauer) wurde bei $\lambda_{em} = 545$ nm ($\lambda_{ex} = 460$ nm) mit einem Hitachi-f-4500-Fluoreszenz-Spektrophotometer (2 s Verzögerung, 64 Scans) in H₂O, H₂O/D₂O (1/1) und D₂O gemessen (exponentielle Kurvenanpassung mit dem Programm DeltaGraph 3, Delta Point Inc., Monterey, CA). Die Steigung der gegen die D₂O-Konzentration aufgetragenen Zerfallsgeschwindigkeiten wurde mit dem Literaturwert für die Steigung von 0.239/q verglichen, um q zu erhalten.

Bei identischen Durchführungen der hochauflösenden Inversion-Recovery-NMR-Experimente (Bruker AMX 500, 26 °C) wurde EGad (2 mM) bei 37 °C mit β -gal in zwei Konzentrationen (1.7 μ M und 5.1 μ M), mit hitzeaktiviertem β -gal (10 min, 80 °C, 5.1 μ M) sowie ohne β -gal in Phosphatpuffer (25 mM, pH 7.3) inkubiert. Es wurden minimale Enzymkonzentrationen verwendet, um potentielle Wechselwirkungen zwischen Kontrastmittel und Enzym zu verringern. Die Lösungen wurden in einem 40- μ L-Rundboden-NMR-Röhreinsatz (Wilmad-Glas) in ein 5-mm-NMR-Röhrchen eingesetzt, das [D]₃]Chloroform enthält. Die Messungen von T_1 wurden unmittelbar nach dem Mischen sowie nach vollständiger Abspaltung der Galactopyranose (> 95% nach 7 d Inkubation) durchgeführt. Die Daten wurden mit dem Programm Felix (BIOSYM/Molecular Simulations, San Diego, CA) verarbeitet, und an die Peakhöhen wurde eine exponentiell ansteigende Kurve angepaßt, so daß man T_1 erhielt (Regressionsfaktor $r > 0.999$).

Eingegangen am 18. September 1996 [Z 9568]

Stichworte: Analytische Methoden · β -Galactosidase · Lanthanoide · NMR-Spektroskopie

- [4] I. Bertini, C. Luchinat, *NMR of Paramagnetic Molecules in Biological Systems*, Benjamin/Cummings, 1986.
- [5] S. H. Koenig, K. E. Kellar, *Magn. Res. Med.* **1995**, *34*, 227–233.
- [6] V. Alexander, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 273–242; K. Kumar, C. A. Chang, M. F. Tweedle, *Inorg. Chem.* **1993**, *32*, 587–593.
- [7] L. S. Szczepaniak, A. Sargeson, I. I. Creasei, R. J. Geue, M. F. Tweedle, R. G. Bryant, *Bioconjugate* **1992**, *3*, 27–31.
- [8] K. Kumar, M. F. Tweedle, *Pure Appl. Chem.* **1993**, *65*, 515–520.
- [9] S. I. Kang, R. S. Ranganathan, J. E. Emswiler, K. Kumar, J. Z. Gougoutas, M. F. Malley, M. F. Tweedle, *Inorg. Chem.* **1993**, *32*, 2912–2918; S. Aime, M. Botta, G. Ermondi, *ibid.* **1992**, *31*, 4291–4299.
- [10] M. Li, P. R. Selvin, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 8132–8138.
- [11] W. D. Horrocks, D. R. Sudnick, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 334–339.
- [12] X. Zhang, C. A. Chang, H. G. Brittain, J. M. Garrison, J. M. Telser, M. F. Tweedle, *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 5597–5600.
- [13] Die molare Größe, die mit diesen T_1 -Werten zusammenhängt, ist das Relaxationsvermögen R. Für EGad (1800 mM⁻¹) und Gad (2400 mM⁻¹) wurden die R-Werte bei 500 MHz bestimmt und mit denen einer verwandten Verbindung, DO3a (2700 mM⁻¹), verglichen.
- [14] J. F. Kayyem, R. M. Kumar, S. E. Fraser, T. J. Meade, *Chem. Biol.* **1995**, *2*, 615–620.

Glycylglycin-Rotaxane – Wasserstoffbrücken-vermittelte Selbstorganisation synthetischer Peptid-Rotaxane

David A. Leigh,* Aden Murphy, John P. Smart und Alexandra M. Z. Slawin

Zwar weist DNA topologisch unterschiedliche Strukturen auf, die auf Wasserstoffbrücken-Wechselwirkungen beruhen,^[1–4] doch wurden verknotete,^[5–7] Catenan-^[5, 6, 8, 9] und Rotaxan-Substrukturen^[5, 6, 10–12] in Polypeptiden und Proteinen erst in den letzten Jahren identifiziert. Nichtnatürliche DNA-Knoten wurden ebenso synthetisiert wie komplexe Catenane^[13–15] und als vielversprechende Vorläufer für neue Typen von Wirkstoffdepots, für mechanische Werkzeuge im Nanomaßstab oder sogar für „Biochips“ angesehen.^[16, 17] Wir berichten hier, daß geschickt an den Enden geschützte Glycylglycine als Matrizen für die Synthese von Benzylamid-Makrocyclen dienen können. Dieser Synthese liegt ein durch Wasserstoffbrücken gelenkter „Schnappmechanismus“ unter Beteiligung von fünf Molekülen zugrunde. Peptid-[2]rotaxane wurden so in 62% Ausbeute erhalten. Beim Pyridin-2,6-dicarbamidobenzyl-Makrocyclus bleiben die vier Wasserstoffbrücken zwischen den einzelnen Komponenten, die die Rotaxanbildung steuern, auch im festen Zustand, in unpolaren Lösungsmitteln wie Chloroform und sogar in polaren Lösungsmitteln wie DMSO und DMSO-Wasser-Gemischen erhalten. Dabei hüllt der Makrocyclus einen Teil des Peptidrückgrats so ein, daß dieses sogar für so kleine Reagenzien wie D₂O von außen unzugänglich ist.

Benzylamid-[2]catenane wie 1 sind strukturchemisch heterogen und am einfachsten durch Kondensation von acht Molekülen aromatischer 1,3-Dicarbonsäurechloride und Xylolendi-

[*] Dr. D. A. Leigh, A. Murphy, Dr. J. P. Smart

Department of Chemistry

University of Manchester Institute of Science and Technology

Sackville Street, GB-Manchester M60 1QD (Großbritannien)

Telefax: Int. + 44/161-200-4539

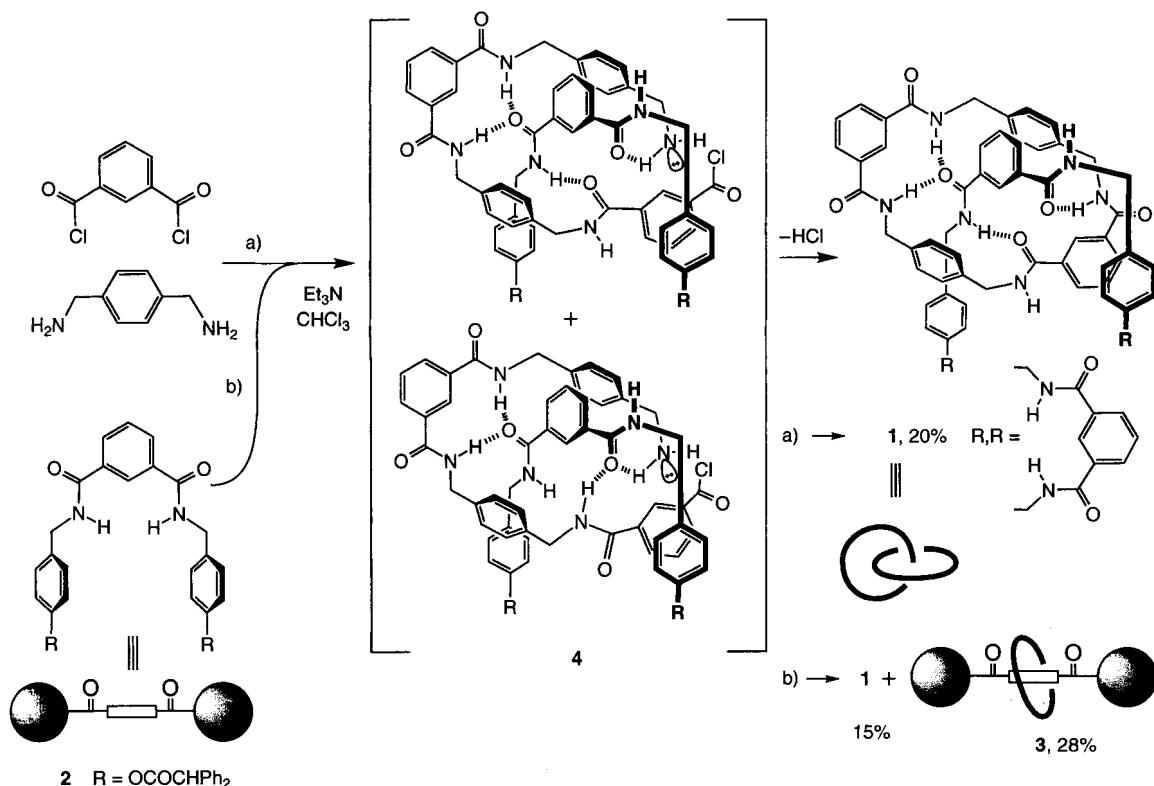
E-mail: David.leigh@Umi.ac.uk

A. M. Z. Slawin

Molecular Structure Laboratory

Department of Chemistry, University of Loughborough

GB-Loughborough, Leicestershire LE11 3TU (Großbritannien)



Schema 1. a) Reaktionsmechanismus zur Bildung von Benzylamid-Catenanen; b) „Schnappmechanismus“ zur Synthese von Benzylamid-Rotaxanen. Vögtle et al. haben für Amidrotaxane einen Syntheseweg beschrieben, bei dem das „Auffädeln“ durch die Komplexierung einer in situ (im Hohlraum des Makrocyclus) hergestellten Amidgruppe gelingt [35].

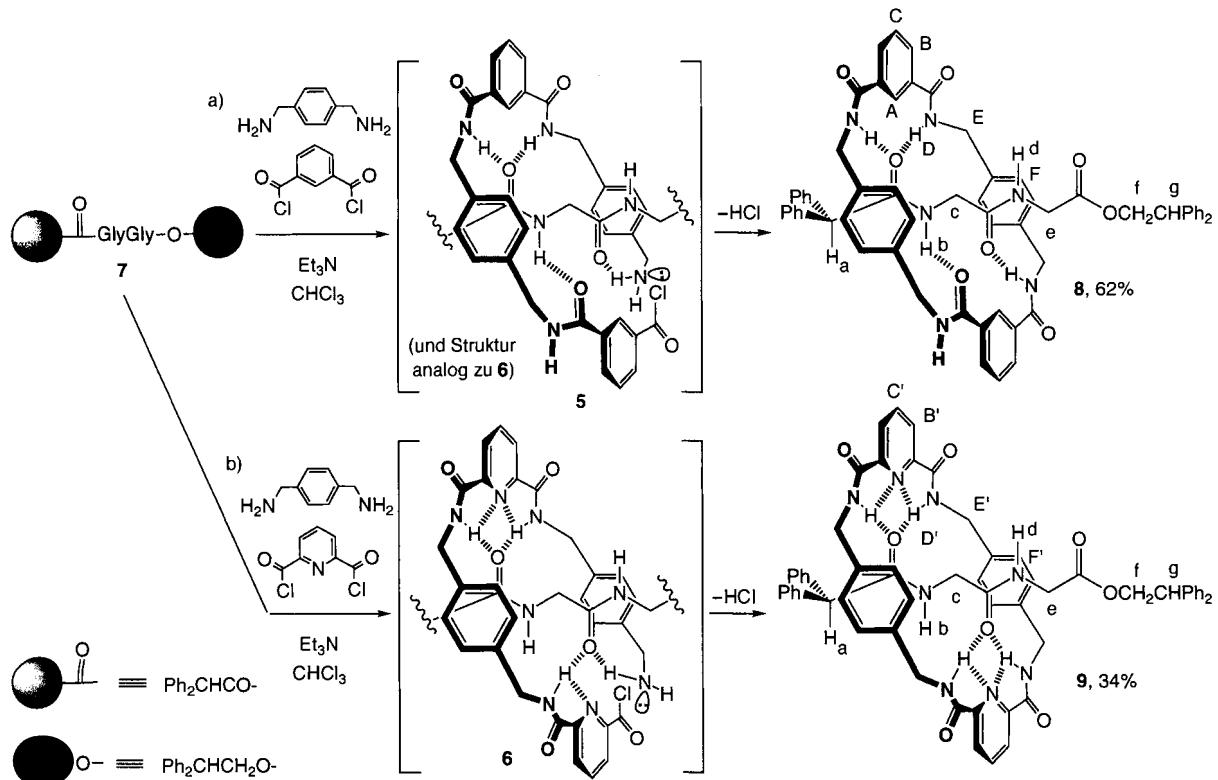
amine in unpolaren Lösungsmitteln zugänglich.^[18, 19] Wenn die Reaktionen in Gegenwart eines geeigneten an den Enden geschützten Benzyl-1,3-diamid-„Fadens“ (z. B. **2**) ablaufen, werden auch [2]Rotaxane wie **3** gebildet.^[20] In beiden Fällen wird als Mechanismus für die Bildung des topologisch komplexen Produkts zunächst eine Selbstorganisation der Ausgangsverbindungen des Makrocyclus um die beiden transoiden Amidbindungen angenommen (**4**, Schema 1).^[21] Unterschiedlich ausgerichtete Wasserstoffbrücken-Bindungsstellen in ähnlicher räumlicher Anordnung kommen auch bei benachbarten Aminosäureresten in Peptidketten vor, so daß möglicherweise auch diese die korrekte Strukturinformation tragen, um die Cyclisierung von Benzylamid-Makrocyclen zu Rotaxanen zu steuern (Schema 2, **5** und **6**).

Um diese Hypothese zu prüfen, wurde das einfachste Dipeptid, Glycylglycin, in einen passenden „Faden“ eingebaut. Dazu wurde das N-terminale Ende des kommerziell erhältlichen Glycylglycinethylesters mit Diphenylacetylchlorid acyliert (in Et_3N , THF, 90%) und anschließend das Carboxylat-Ende mit 2,2-Diphenylethanol ($(\text{Bu}_2\text{SnCl})_2\text{O}$, Toluol, Δ , 90%) umgesetzt.^[22] Äquimolare Mengen Isophthaloyldichlorid und *p*-Xylylendiamin wurden langsam zu einer Lösung des Dipeptids in trockenem Chloroform gegeben (Schema 2a). Nach Zugabe von 5 Äquiv. des Reagens wurde kein Dipeptid mehr verbraucht. Es wurde filtriert, mit Säure und Base gewaschen und die drei in Lösung verbliebenen Verbindungen durch Flash-Chromatographie getrennt. In der Reihenfolge der Elution wurden das Peptid-[2]rotaxan **8** (62% Ausbeute), das nicht umgesetzte Dipeptid **7** und das [2]Catenan **1** identifiziert.

Die ^1H -NMR-Spektren von **7** und **8** in CDCl_3 sind in Abbildung 1a und b wiedergegeben. Mit Ausnahme der Signale der Phenylschutzgruppen und des Amidprotons H_b sind alle Proto-

nensignale des Peptidfadens im Rotaxan zu deutlich höherem Feld verschoben, was auf die Abschirmung durch die aromatischen Ringe der makrocyclischen „Hülle“ zurückzuführen ist. Die Protonen nahe dem N-terminalen Glycinrest sind stärker abgeschirmt (z. B. H_c stärker als H_e) und das Signal von H_b ist um $\Delta\delta = 0.5$ zu niedrigerem Feld verschoben, was darauf schließen läßt, daß die Entschirmung des Protons durch die intramolekulare Wasserstoffbrücke größer ist als die Abschirmung durch den Makrocyclus. Diese Ergebnisse sind in Einklang mit der in CDCl_3 vorherrschenden Struktur **8** (Schema 2). Ein solches Wasserstoffbrücken-Motiv, bei dem der Makrocyclus an beide Seiten einer einzelnen Amidgruppe bindet, tritt in der Kristallstruktur von Benzylamid-Catenanen auf.^[18, 23] Zwar haben die Wasserstoffbrücken-Bindungsstellen, also die beiden Amidcarbonylgruppen und die Amid- und Estercarbonylgruppe, etwa den gleichen Abstand voneinander, doch überbrückt der Makrocyclus bevorzugt die beiden Amidcarbonylgruppen, weil die Estercarbonylgruppe ein schlechter Wasserstoffbrücken-Acceptor ist.^[24] Da sich der Makrocyclus bei Raumtemperatur (gemessen an der NMR-Zeitskala) schnell um den zentralen Dipeptidfaden dreht, weist diese Komponente ein einfaches Spektrum auf. Niedertemperatur-NMR-Untersuchungen in $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$ ergaben für die Rotationsbewegung eine Energiebarriere von $13.4 \text{ kcal mol}^{-1}$ bei 298 K (gemäß einer Rotationsfrequenz von 820 s^{-1}).

In $[\text{D}_6]\text{DMSO}$, einem Lösungsmittel, das als Wasserstoffbrücken-Acceptor wirkt, wird das Netz von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Rotaxankomponenten zerstört, und der Makrocyclus bewegt sich frei entlang der zentralen Peptidkette: Die beiden Glycin-Methylengruppen, deren Protonensignale (für H_c und H_e) sowohl im Spektrum des Dipeptids als auch in dem des Rotaxans zusammenfallen (Abb. 2a und b),



Schema 2. Synthese von **8** und **9** über eine Wasserstoffbrücken-vermittelte Selbstorganisation von fünf Ausgangsmolekülen. Das Rotaxan **9** bildet sich über das Intermediat **6** mit vier Wasserstoffbrücken, die ausschließlich auf die Carbonylgruppen des „Fadens“ gerichtet sind. Das Rotaxan **8** kann nach zwei Mechanismen gebildet werden: In einem Zwischenprodukt sind – analog zu **6** – alle vier Wasserstoffbrücken der Ausgangsmoleküle für die Cyclisierung auf die Carbonylgruppen des „Fadens“ gerichtet, im anderen Zwischenprodukt sind – wie in **5** – drei Wasserstoffbrücken auf die zwei Carbonylgruppen des „Fadens“ und die vierte auf das Amid-Wasserstoffatom des zentralen Dipeptids gerichtet.

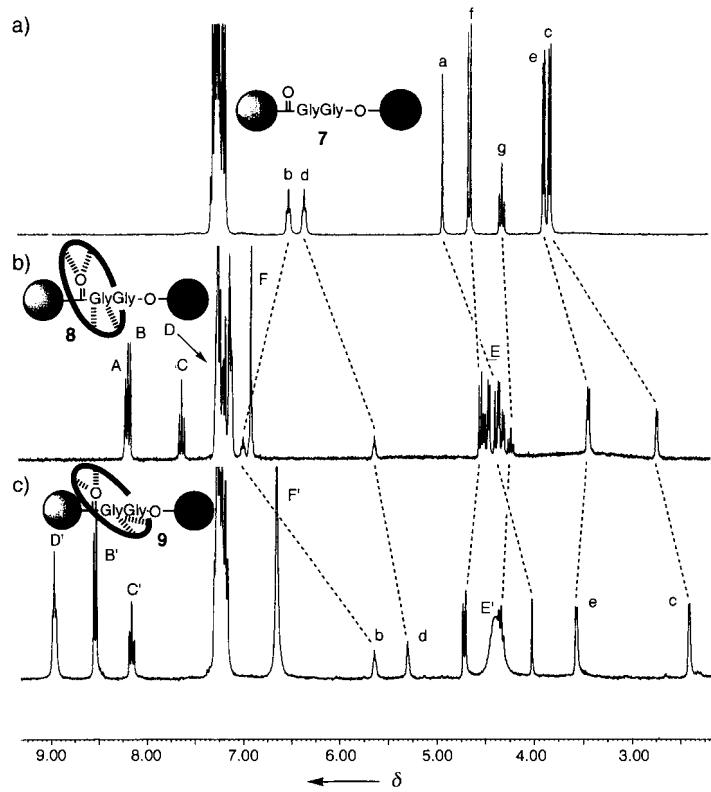


Abb. 1. ^1H -NMR-Spektren (300 MHz): a) von Glycylglycin 7, b) vom Peptid-[2]rotaxan 8 (mit Isophthaloyl-Makrocyclus) und c) vom Peptid-[2]rotaxan 9 (mit Pyridyl-Makrocyclus) in CDCl_3 .

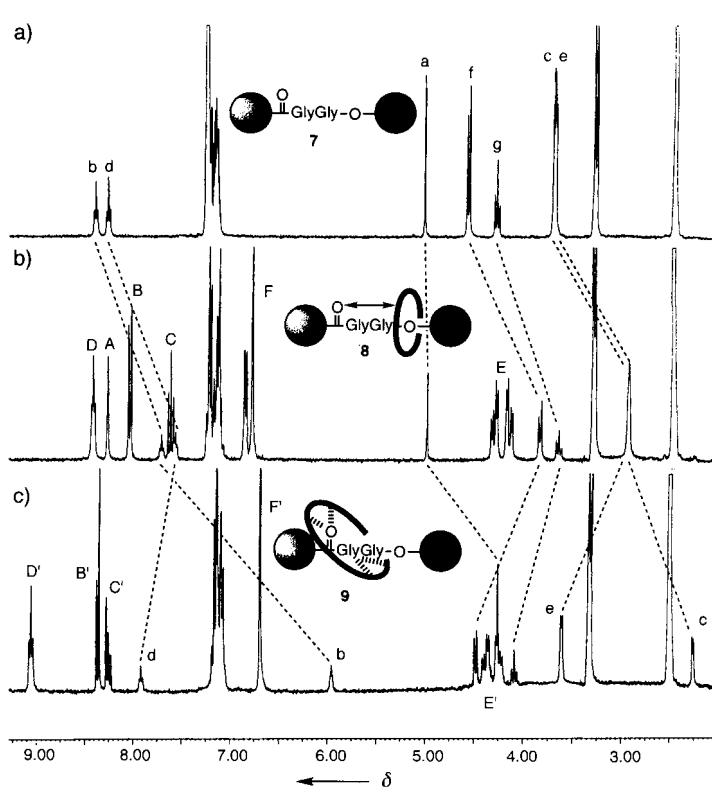


Abb. 2. ^1H -NMR-Spektren (300 MHz): a) von Glycylglycin 7, b) vom Peptid-[2]rotaxan 8 (mit Isophthaloyl-Makrocyclus) und c) vom Peptid-[2]rotaxan 9 (mit Pyridyl-Makrocyclus) in $[\text{D}_6]\text{DMSO}$.

und die Peptidamidprotonen H_b und H_d werden gleichermaßen vom Makrocyclus abgeschirmt. In beiden Lösungsmitteln treten die Benzyl-Protonen des Makrocyclus (H_E) als ABX-System auf, da die beiden Seiten des Makrocyclus unterschiedliche Umgebungen aufweisen – eine Seite ist dem N-Terminus des Peptids zugewandt, die andere dem C-Terminus.

Ersetzt man bei der Rotaxan-Synthese Isophthaloylchlorid durch 2,6-Pyridindicarbonsäurechlorid (Schema 2 b), erhält man ähnlich wie bei Benzylamid-Catenanen^[19] untereinander verknüpfte Strukturen mit unterschiedlichen Wasserstoffbrücken-Motiven und dynamischen Eigenschaften. So folgen die chemischen Verschiebungen der Peptidsignale im Pyridyl-Rotaxan **9** den gleichen Trends wie die im Isophthaloyl-Rotaxan **8** (Abb. 1c), allerdings sind die Signale für die Protonen des Makrocyclus breiter, weil der Pyridyl-Makrocyclus langsamer rotiert (für 298 K: 100 s⁻¹ bei **9** und 820 s⁻¹ bei **8**). Darüber hinaus sind die Amidprotonen des „Fadens“ H_b und H_d abgeschirmt; möglicherweise wirkt – anders als bei **8** – keines der Amidprotonen als Wasserstoffbrücken-Donor. Beide Feststellungen sind in Einklang mit der Tatsache,^[19, 25] daß Pyridin-2,6-dicarbamido-Einheiten eine starke Neigung zu einer cisoiden Konformation aufweisen und Wasserstoffbrücken bilden, wie sie für **9** in Schema 2 dargestellt sind.

Im Unterschied zum Isophthaloyl-Rotaxan **8** bleiben die Wasserstoffbrücken bei **9** sogar in Lösungsmitteln wie [D_6]DMSO, das als Wasserstoffbrücken-Acceptor wirkt, bestehen (vgl. das ¹H-NMR-Spektrum in Abb. 2c)! Anders als bei **8** weisen die Signale der Protonen, die in der Nähe des C-Terminus liegen (H_e , H_f und H_g), bei **9** nahezu die gleichen chemischen Verschiebungen auf wie die analogen Protonen in **7** (Abb. 2a), während H_a und H_c um $\Delta\delta = 0.7$ bzw. 1.5 abgeschirmt sind. Das Proton H_b wird um $\Delta\delta = 2.5$ abgeschirmt, weil es vom Makrocyclus eingehüllt und daher für das als Wasserstoffbrücken-Acceptor wirkende Lösungsmittel unzugänglich ist. D_2O -Zugabe hat keinen Effekt auf die Rotaxan-Struktur, und nur beim Glycin-Amidproton H_d tritt Deuteriumaustausch auf. Dagegen werden weder H_b noch die Amidprotonen des Makrocyclus (H_D) im Inneren des Rotaxans ausgetauscht, obwohl durch die schnelle Rotation des Pyridyl-Makrocyclus zwischenzeitlich alle vier Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Komponenten gebrochen werden.^[26] Wegen dieser Abschirmung des Peptid-Rückgrats gegen externe Reagentien könnte die Rotaxan-Bildung zum Schutz von höheren Peptiden gegen chemischen oder enzymatischen Abbau genutzt werden.

Durch langsames Eindampfen einer Lösung von **9** in Ethanol wurden Einkristalle des Peptidrotaxans für eine Röntgenstrukturanalyse^[37] erhalten. Die Wasserstoffbrücken-Motive und die relative Position der Rotaxankomponenten zueinander sind in Lösung und im festen Zustand gleich (Abb. 3). Der Makrocyclus nimmt eine Art Sessel-Konformation ein, so daß der N-terminalen Glycinrest vollständig eingehüllt wird. Der andere Glycinrest ragt dagegen aus dem Inneren des Makrocyclus heraus, so daß eine Aminosäure in dieser Position bei gleichem Mechanismus der Rotaxan-Bildung substituiert werden könnte. Wie erwähnt, werden verzweigte Wasserstoffbrückenbindungen im Makrocyclus von jedem Pyridyl-Stickstoffatom zu den benachbarten 1,3-Diamidprotonen und von diesen zu den Amidcarbonylgruppen des zentralen Peptidfadens gebildet. Interessanterweise stehen die Wasserstoffbrücken (ähnlich wie bei anderen Wasserstoffbrücken-haltigen Catenanen)^[18, 23, 27, 28] senkrecht zu den einsamen Elektronenpaaren der Amidcarbonylgruppen, was die „weiche“ Acceptor-Ausrichtung^[29–31] der $NH \cdots O=C$ -Wasserstoffbrücken in diesen Verbindungen anzeigen. Während die Kristallstrukturen der Rotaxane keinen Hinweis auf eine Stapelung der π -Elektronen zwischen den Kompo-

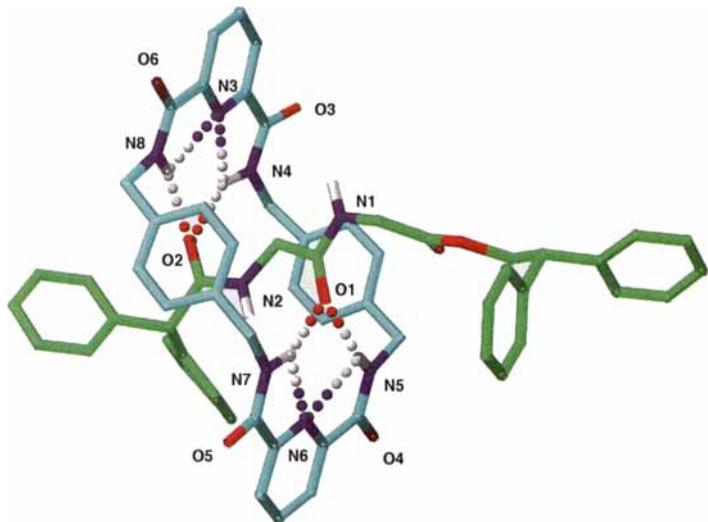


Abb. 3. Struktur von **9** im Kristall (die Kohlenstoffatome des Makrocyclus sind blau, die des Dipeptids grün, Sauerstoffatome rot, Stickstoffatome violett und Wasserstoffatome weiß dargestellt). Zwei Moleküle Kristallwasser, die keine Wasserstoffbrücken zum Rotaxan bilden, sind nicht dargestellt. Intramolekulare Wasserstoffbrückenlängen (in Å): N3-HN8 2.313, N3-HN8 2.282, N6-HN5 2.284, N6-HN7 2.248, O2-HN4 2.229, O2-HN8 2.306, O1-HN5 2.090, O1-HN7 1.923; intermolekulare Wasserstoffbrückenlängen (in Å): O5-HN1' 2.71 [37].

nenten liefern (und diese während der Reaktion, die offenbar nur durch Wasserstoffbrücken vermittelt wird, nicht möglich ist), treten $C-H \cdots \pi$ -Aren-Bindungen zwischen den sauren Methylenprotonen (H_s) des N-terminalen Glycinrestes des Di-peptids und den Xylylenringen des Makrocyclus auf.

Die Ausbeuten der Peptid-Rotaxane sind mit 62 und 34 % signifikant höher als die, die mit **2** erzielt wurden (28 und 0 % mit Isophthaloyldichlorid bzw. 2,6-Pyridindicarbonsäurechlorid); die Wasserstoffbrücken-Bindungsstellen der Di-peptidmatrix und der Vorläuferverbindungen des Makrocyclus (**5** und **6**, Schema 2) sind somit komplementär zueinander. Durch die nachfolgende Beteiligung der Amidgruppen an intramolekularen Wasserstoffbrücken wird die Wechselwirkung zwischen den Rotaxankomponenten und ihrer unmittelbaren Umgebung stark verändert – beide Peptid-Rotaxane sind in Chloroform > 20000 × so gut löslich wie die freien Makrocyclen. Auch die physikalischen Eigenschaften und die Stabilität werden beeinflußt: So liegt der Schmelz- und Zersetzungspunkt von **7** bei 148 °C und damit um 82 °C niedriger als der Zersetzungspunkt des noch festen **9** bei 230 °C.

Da Wirkstoffe auf Peptidbasis in vivo leicht abgebaut werden und eine schlechte Membranpermeabilität aufweisen, sind sie nur beschränkt einsetzbar. Bei Ausdehnung der beschriebenen Wasserstoffbrücken-gesteuerten Synthesen auf komplexere Peptide könnten diese vorübergehend in die Rotaxan-Superstruktur eingebunden und so vor Einflüssen der Umgebung geschützt (ähnlich wie dies mit Wirkstoffdepots auf Dendrimerbasis versucht wurde^[32]), ihre Stabilität erhöht und ihre Lipophilie- und Löslichkeitseigenschaften eingestellt werden.

Experimentelles

Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Synthese der Peptid-[2]rotaxane: Zu einer heftig gerührten Lösung von 500 mg (0.988 mmol) **7** und 1.60 g (15.8 mmol) Triethylamin in trockenem Chloroform wurden 7.91 mmol Amine in 40 mL trockenem Chloroform (stabilisiert mit Penten, nicht mit Ethanol [18]) und 7.91 mmol Säurechlorid in 40 mL trockenem Chloroform über einen Zeitraum von 4 h mit einer motorgetriebenen Spritzenpumpe zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert und das Filtrat nacheinander mit 3 × 100 mL 1 M HCl und 3 × 100 mL 5 % Natriumbicarbonatlösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden im Vakuum zur Trockene eingeengt und der feste Rückstand säulenchromatographisch

gereinigt (Kieselgel, Laufmittel $\text{CHCl}_3/\text{EtOAc}$). Die Verbindungen wurden in der Reihenfolge Peptid-[2]rotaxan (**8** oder **9**), nicht umgesetztes Peptid **7** und [2]-Catenan eluiert.

Ausgewählte physikalische und spektroskopische Daten für **8**: Ausbeute 635 mg (62%); Schmp. 219°C; $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 38.90, 41.25, 43.11, 48.91, 56.10, 65.88, 125.80, 126.64, 127.41, 128.12, 128.36, 128.42, 128.60, 130.19, 134.31, 136.93, 139.95, 140.87, 165.68, 168.76, 169.35, 170.25, 171.39$; FAB-MS (*mNBA*-Matrix): m/z : 1040 [$(\text{Rotaxan} + \text{H})^+$], 535 [$(\text{Makrocyclus} + \text{H})^+$]; C,H,N-Analyse ber. für $\text{C}_{64}\text{H}_{58}\text{O}_8\text{N}_6$: C 74.0, H 5.6, N 8.1, O 12.3; gef.: C 73.9, H 5.7, N 7.8, O 12.1.

Ausgewählte spektroskopische und physikalische Daten für **9**: Ausbeute 350 mg (34%); Schmp. 230°C (Zers.); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 41.17, 42.16, 42.59, 49.72, 58.55, 68.16, 125.60, 127.20, 127.46, 127.70, 128.37, 128.45, 128.76, 129.03, 137.99, 139.01, 140.22, 149.35, 163.66, 169.02, 169.38, 171.32$; FAB-MS (*mNBA*-Matrix): m/z : 1042 [$(\text{Rotaxan} + \text{H})^+$], 535 [$(\text{Makrocyclus} + \text{H})^+$]; C,H,N-Analyse ber. für $\text{C}_{62}\text{H}_{56}\text{O}_8\text{N}_8$: C 71.5, H 5.4, N 10.8, O 12.3; gef.: C 71.8, H 5.65, N 10.4, O 12.0. Zwar enthalten die zentralen Peptide von **8** und **9** eine schwache Esterbindung, doch fragmentieren die Rotaxane im Massenspektrometer nicht am Peptidfaden, sondern am Makrocyclus unter Bildung eines geladenen Fragments. Die makrocyclische Hülle schützt das Peptid also sogar unter den Bedingungen der FAB-Massenspektrometrie vor dem Abbau.

Eingegangen am 21. August 1996 [Z 9478]

Stichworte: Rotaxane · Makrocyclen · Peptide · Selbstorganisation · Wasserstoffbrücken

- [1] F. B. Dean, A. Stasiak, T. Koller, N. R. Cozzarelli, *J. Biol. Chem.* **1985**, *260*, 4975–4983.
- [2] D. W. Sumners, *The Role of Knot Theory in DNA Research in Geometry and Topology* (Hrsg.: C. McCrory, T. Schifrin), Marcel Dekker, New York, **1987**, S. 297–318.
- [3] C. O. Dietrich-Buchecker, J.-P. Sauvage in *Bioorganic Chemistry Frontiers* (Hrsg.: H. Dugas), Springer, Berlin, **1991**, Bd. 2, S. 195–248.
- [4] A. D. Bates, A. Maxwell, *DNA Topology*, Oxford University Press, New York, **1993**.
- [5] C. Liang, K. Mislow, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11189–11190.
- [6] C. Liang, K. Mislow, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 4201–4213.
- [7] F. Takusagawa, S. Kamitori, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8945–8946.
- [8] C. Liang, K. Mislow, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3588–3589.
- [9] A. J. Laphorn, D. C. Harris, A. Littlejohn, J. W. Lustbader, R. E. Canfield, K. J. Machin, F. J. Morgan, N. W. Isaacs, *Nature* **1994**, *369*, 455–461.
- [10] N. Q. McDonald, W. A. Hendrickson, *Cell* **1993**, *73*, 421–424.
- [11] M. P. Schlunegger, M. G. Grüter, *J. Mol. Biol.* **1993**, *231*, 445–458.
- [12] J. Murray-Rust, N. Q. McDonald, T. L. Blundell, M. Hosang, C. Oefner, F. Winkler, R. A. Bradshaw, *Structure* **1993**, *1*, 153–159.
- [13] N. C. Seeman, *DNA Cell Biol.* **1991**, *10*, 475–486.
- [14] J. Chen, N. C. Seeman, *Nature* **1991**, *350*, 631.
- [15] Y. Zhang, N. C. Seeman, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1661–1669.
- [16] B. H. Robinson, N. C. Seeman, *Protein Eng.* **1987**, *1*, 295–300.
- [17] D. B. Amabilino, J. F. Stoddart, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2725–2828.
- [18] A. G. Johnston, D. A. Leigh, R. J. Pritchard, M. D. Deegan, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1324–1327; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 1209–1212.
- [19] A. G. Johnston, D. A. Leigh, L. Nezhat, J. P. Smart, M. D. Deegan, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1327–1331; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 1212–1216.
- [20] A. G. Johnston, D. A. Leigh, A. Murphy, J. P. Smart, M. D. Deegan, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10662–10663.
- [21] Der Mechanismus für die Bildung von Catenanen, wie er von Vögtle et al. [36] für die Hunter-Vögtle-Catenane vorgeschlagen wurde (Bindung eines Säurechlorids im Inneren des Hohlraums eines Amidmakrocyclus), trifft für die Bildung von Benzylamid-Catenanen nicht zu: Die Bindungskonstanten von Säurechloriden an Benzylamid-Makrocyclen ($< 10 \text{ M}^{-1}$) sind mindestens um zwei Größenordnungen zu klein.
- [22] J. Otera, N. Dan-oh, H. Nozaki, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 5307–5311.
- [23] D. A. Leigh, K. Moody, J. P. Smart, K. J. Watson, A. M. Z. Slawin, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 326–331; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 306–310.
- [24] E. M. Arnett, E. J. Mitchell, T. S. S. R. Murty, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 3875–3891.
- [25] C. A. Hunter, D. H. Purvis, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 779–782; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 792–795.
- [26] Das deutlich unterschiedliche Verhalten der Isophthaloyl- und der Pyridylrotaxane in polaren Lösungsmitteln beruht nicht auf den stärkeren Wasserstoffbrücken-Wechselwirkungen im Pyridylrotaxan, sondern auf den unterschiedlichen Anordnungen der Wasserstoffbrücken, die in der Isophthaloyl-Einheit, nicht aber in der Pyridyl-Einheit möglich sind [19–25].
- [27] S. Ottens-Hildebrandt, M. Nieger, K. Rissanen, J. Rouvinen, S. Meier, G. Harder, F. Vögtle, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 777–778.

- [28] H. Adams, F. J. Carver, C. A. Hunter, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 809–810.
- [29] R. Taylor, O. Kennard, W. Versichel, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 5761–5766.
- [30] P. Murray-Ruat, J. P. Glusker, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 1018–1025.
- [31] G. A. Jeffrey, W. Saenger, *Hydrogen Bonding in Biological Structures*, Springer, Berlin, **1991**.
- [32] D. A. Tomalia, H. D. Durst, *Top. Curr. Chem.* **1993**, *165*, 193–313.
- [33] A. Altomare, M. C. Burla, M. Camalli, M. Cascarano, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, G. Polidori, *J. Appl. Crystallogr.*, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [34] Molecular Structure Corporation, TEXSAN, Texray Structure Analysis Package, **1985** und **1992**, MSC 3200A Research Forest Drive, The Woodlands, TX 77381, USA.
- [35] a) F. Vögtle, M. Händel, S. Meier, S. Ottens-Hildebrandt, F. Ott, T. Schmidt, *Liebigs Ann.* **1995**, 739–743; b) F. Vögtle, R. Jäger, M. Händel, S. Ottens-Hildebrandt, W. Schmidt, *Synthesis* **1996**, 353–356; c) F. Vögtle, R. Jäger, M. Händel, S. Ottens-Hildebrandt, *Pure Appl. Chem.* **1996**, *68*, 225–232; d) F. Vögtle, M. Händel, R. Jäger, S. Meier, G. Harder, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 640–643; e) R. Jäger, M. Händel, J. Harren, K. Rissanen, F. Vögtle, *Liebigs Ann.* **1996**, 1201–1207.
- [36] a) S. Ottens-Hildebrandt, S. Meier, W. Schmidt, F. Vögtle, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1818–1821; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1767–1770; b) F. Vögtle, T. Dünnwald, T. Schmidt, *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 451–460.
- [37] Kristalldaten von **9**: $\text{C}_{62}\text{H}_{57}\text{O}_{8.5}\text{N}_8$, $M_r = 1050.18$, klarer Kristall; Abmessungen $0.15 \times 0.2 \times 0.66 \text{ mm}^3$, monoklin, Raumgruppe $P2_1/n$ (Nr. 14), $a = 18.172(2)$, $b = 16.874(4)$, $c = 18.259(38) \text{ \AA}$, $\beta = 92.34(1)^\circ$; $V = 5594(1) \text{ \AA}^3$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.247 \text{ g cm}^{-3}$, $Z = 4$; 8950 Reflexe wurden gemessen, davon 8645 unabhängige. Diffraktometer Rigaku AFC7S, $2\theta_{\text{max}} = 120.1^\circ$, CuK_α -Strahlung, $\lambda = 1.54178 \text{ \AA}$, $T = 296 \text{ K}$. Die Struktur wurde mit Direkten Methoden bestimmt (SIR92) [33] und mit der Kleinsten-Fehlerquadrate-Methode verfeinert (TEXSAN [34]); $R = 0.061$ und $R_w = 0.045$ für 713 Parameter. Alle Wasserstoffatome wurden an chemisch sinnvollen Positionen plaziert. Die kristallographischen Daten (ohne Strukturfaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Struktur wurden als „supplementary publication no. CCDC-100060“ beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse angefordert werden: The Director, CCDC, 12 Union Road, GB-Cambridge CB2 1EZ, UK (Telefax: Int. +1223/336033; E-mail: deposit@chemcrys.cam.ac.uk).

Konvergente Synthese von Dendrimeren mit Kohlenhydrat-Einheiten**

Peter R. Ashton, Sue E. Boyd, Christopher L. Brown, Narayanaswamy Jayaraman und J. Fraser Stoddart*

Monodispersität, hohes Molekulargewicht und nanoskopische Abmessungen sind unverwechselbare Charakteristika von Dendrimeren. Infolge des wachsenden Interesses an der Synthese solcher Verbindungen kam eine zusehends breitere Palette von Bausteinen zum Einsatz.^[1] In der Glycobiologie nutzt man Neoglykonjugate^[2] als effektives Werkzeug zum Studium von Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen und verfügt somit über neue Möglichkeiten zum Erkennen unterschiedlicher Neoglycosysteme.^[3] Diesbezüglich sind Dendrimere, die über Kohlenhydrat-Einheiten mit wohldefinierten und zudem vorherbestimmbaren Strukturmerkmalen verfügen, ein wichtiger Ansatz zur Entwicklung neuartiger und effizienterer Neoglykonjugate. Man hat beispielsweise Grund zu der Annahme, daß solche zuckerfunktionalisierten Dendrimere andere biologische Antworten hervorrufen, als man sie von Cluster-Glycosiden

[*] Prof. J. F. Stoddart, P. R. Ashton, Dr. S. E. Boyd, Dr. C. L. Brown, Dr. N. Jayaraman
School of Chemistry, University of Birmingham
Edgbaston, GB-Birmingham, B12 2TT (Großbritannien)
Telefax: Int. +121/414-3531
E-mail: j.f.stoddart@bham.ac.uk

[**] Synthetic Carbohydrate Dendrimers, 2. Mitteilung. Diese Arbeit wurde vom Engineering and Physical Sciences Research Council und vom Biotechnology and Biological Sciences Research Council unterstützt. – 1. Mitteilung: Lit. [5].