

chungen an Cholinesterasen. Am wichtigsten sind die ausgezeichneten kinetischen Eigenschaften von **1** und **3** sowie ihre Quantenausbeuten bei der photochemischen Freisetzung von Arsenocholin bzw. Arsenocarbamoylcholin. Daher kann man sich von ihnen einen entscheidenden Beitrag zu zukünftigen zeitaufgelösten kristallographischen Untersuchungen des Katalysemechanismus von Cholinesterasen versprechen, und sie könnten ebenso erfolgreich auf andere Systeme angewendet werden.

## Experimentelles

Alle Einzelheiten der photochemischen Reaktionen und der Cholinesteraschemmung von **1–3** sind in Lit.[8,10] zu finden. Die kristallographischen Daten (ohne Strukturaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Strukturen (**2** und sein N-Homologes) wurden als „supplementary publication no. CCDC-102120 bzw. 102121“ beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB21EZ (Fax: (+44)1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).

**1:** Farbloses Pulver. <sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.56 (d, 3H, J = 6.2 Hz), 2.26 (s, 9H), 3.09–3.17 (m, 2H), 3.70–3.86 (m, 2H), 5.06 (q, 1H, J = 6.3 Hz), 7.44–7.52 (m, 1H), 7.60–7.76 (m, 2H), 7.79 (dd, 1H, J = 1.1, 8.0 Hz); MS (Positivionen-FAB): m/z (%): 313.8 (100) [C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>As]; Elementaranalyse: ber. für C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>AsI: C 35.40, H 4.80, N 3.18, As 16.99; gef.: C 35.47, H 4.76, N 3.09, As 17.03.

**2:** Farblose Kristalle. <sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 2.19 (s, 9H), 3.22 (t, 2H, J = 5.8 Hz), 4.05 (t, 2H, J = 5.8 Hz), 4.90 (s, 2H), 7.52–7.69 (m, 3H), 8.00 (dd, 1H, J = 1.3, 7.8 Hz); MS (Positivionen-FAB): m/z (%): 299.8 (100) [C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>As].

**3:** Sehr hygroskopisches, farbloses Pulver. <sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, CD<sub>3</sub>CN): δ = 1.56 (d, 3H, J = 6.9 Hz), 1.91 (s, 9H), 2.67 (t, 2H, J = 5.8 Hz), 4.33 (t, 2H, J = 5.8 Hz), 5.10–5.21 (m, 1H), 6.77 (br. s, 1H), 7.44–7.53 (m, 1H), 7.71–7.76 (m, 2H), 7.85 (d, 1H, J = 8.8 Hz); MS (Positivionen-FAB): m/z (%): 356.8 (100) [C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>As]; Elementaranalyse: ber. für C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>AsI: C 34.73, H 4.58, N 5.79, As 15.48; gef.: C 34.86, H 4.62, N 5.88, As 15.45.

Eingegangen am 27. April 1998 [Z11782]

**Stichwörter:** Arsen • Bioorganische Chemie • Enzyminhibitoren • Photochemie

- [1] T. L. Blundell, L. N. Johnson, *Protein Crystallography*, Academic Press, London, **1976**.
- [2] S. R. Adams, R. Y. Tsien, *Annu. Rev. Physiol.* **1993**, *55*, 755–784; G. P. Hess, *Biochemistry* **1993**, *32*, 989–1000.
- [3] D. W. J. Cruickshank, J. R. Helliwell, L. N. Johnson, *Time-Resolved Macromolecular Crystallography*, Oxford University Press, Oxford, **1992**, zit. Lit.
- [4] A. Chatonnet, O. Lockridge, *Biochem. J.* **1989**, *260*, 625–634.
- [5] J. L. Sussman, M. Harel, F. Frolow, C. Oefner, A. Goldman, L. Toker, I. Silman, *Science* **1991**, *253*, 872–879.
- [6] M. Harel, I. Schalk, L. Ehret-Sabatier, F. Bouet, M. Goeldner, C. Hirth, P. H. Axelsen, I. Silman, J. L. Sussman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 9031–9035; M. Harel, G. J. Kleywegt, R. B. G. Ravelli, I. Silman, J. L. Sussman, *Structure* **1995**, *3*, 1355–1366; Y. Bourne, P. Taylor, P. Marchot, *Cell* **1995**, *83*, 503–512; M. Harel, D. M. Quinn, H. K. Nair, I. Silman, J. L. Sussman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2340–2346; M. L. Raves, M. Harel, Y.-P. Pang, I. Silman, A. P. Kozikowski, J. L. Sussman, *Nature Struct. Biol.* **1997**, *4*, 57–63.
- [7] D. R. Ripoll, C. H. Faerman, P. H. Axelsen, I. Silman, J. L. Sussman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 5128–5132; M. K. Gilson, T. P. Straatsma, J. A. McCammon, D. R. Ripoll, C. H. Faerman, P. H. Axelsen, I. Silman, J. L. Sussman, *Science* **1994**, *263*, 1276–1278; A.

- Shafferman, A. Ordentlich, D. Barak, C. Kronman, R. Ber, T. Bino, N. Ariel, R. Osman, B. Velan, *EMBO J.* **1994**, *13*, 3448–3455.
- [8] L. Peng, M. Goeldner, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 185–191.
- [9] a) T. Milburn, N. Matsubara, A. P. Billington, J. B. Udgaonkar, J. W. Walker, B. K. Carpenter, W. W. Webb, J. Marque, W. Denk, J. A. McCray, G. P. Hess, *Biochemistry* **1989**, *28*, 49–55; b) J. W. Walker, J. A. McCray, G. P. Hess, *Biochemistry* **1986**, *25*, 1799–1805.
- [10] L. Peng, J. Wirz, M. Goeldner, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 420–422; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 398–400; L. Peng, J. Wirz, M. Goeldner, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 2961–2964.
- [11] L. Peng, M. Goeldner, *Methods Enzymol.* **1998**, *291*, 265–278; L. Peng, I. Silman, J. L. Sussman, M. Goeldner, *Biochemistry* **1996**, *35*, 10854–10861.
- [12] R. B. G. Ravelli, M. L. Raves, Z. Ren, D. Bourgeois, M. Roth, J. Kroon, I. Silman, J. L. Sussman, *Acta Crystallogr. Sect. D* **1998**, im Druck.
- [13] J. R. Cannon, J. S. Edmonds, K. A. Francesconi, C. L. Raston, J. B. Saunders, B. W. Skelton, A. H. White, *Aust. J. Chem.* **1981**, *34*, 787–798, zit. Lit.
- [14] A. Kostick, A. S. Secco, M. Billingham, D. Abrams, S. Cantor, *Acta Crystallogr. Sect. C* **1989**, *45*, 1306–1309.
- [15] B. Hedlund, H. Norin, A. Christakopoulos, P. Alberts, T. Bartfai, *J. Neurochem.* **1982**, *39*, 871–873.
- [16] J. W. Walker, G. P. Reid, J. A. McCray, D. R. Trentham, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 7170–7177; A. Barth, K. Hauser, W. Mantele, J. E. T. Corrie, D. R. Trentham, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 10311–10316.

## Die Erkennung von Sulfationen durch Guanidinium-Rezeptoren ist entropiebestimmt\*\*

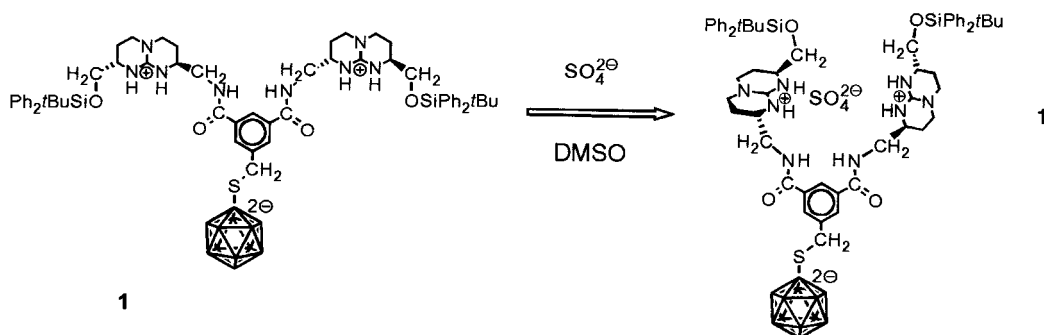
Michael Berger und Franz P. Schmidtchen\*

Es gibt viele Gründe, die Bindung von Gastmolekülen durch Wirtmoleküle auf die funktionelle und geometrische Komplementarität und auf die Präorganisation von Bindungsstellen im künstlichen Rezeptor zurückzuführen.<sup>[1]</sup> Dieser Ansatz betont die Bedeutung der gegenseitigen enthalpischen Wechselwirkungen, läßt aber entropische Beiträge außer acht, die in vielen Fällen die Wirt-Gast-Bindung in Lösung bestimmen.<sup>[2–4]</sup> Das rationale Design von abiotischen Wirt-Verbindungen muß daher die grundlegenden Beiträge zur Gibbs-Bindungsenthalpie getrennt ansprechen. Dies erfordert in erster Linie deren experimentelle Trennung in die zugrundeliegenden Beiträge von Enthalpie und Entropie, um die Möglichkeiten auszuloten, Enthalpie-Entropie-Kompensation zu vermeiden.<sup>[5]</sup> Häufig wird durch dieses Phänomen ein spürbarer Fortschritt im Wirt-Design verschleiert oder letztlich gar verhindert.

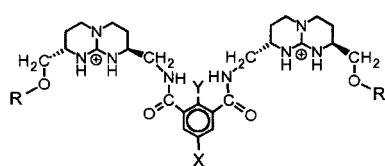
Die Sulfatbindung an abiotische Guanidinium-Rezeptoren könnte ein guter Ausgangspunkt für Untersuchungen in dieser Richtung sein: Der ditope Wirt **1** bindet Sulfat auch in DMSO,<sup>[6]</sup> und der verwandte Rezeptor **2** ist in der Lage, diesen Gast aus sehr verdünnter (10<sup>–4</sup> M) wäßriger Lösung mit

[\*] Prof. Dr. F. P. Schmidtchen, Dipl.-Chem. M. Berger  
Institut für Organische Chemie und Biochemie der Technischen Universität München  
Lichtenbergstraße 4, D-85747 Garching  
Fax: (+49)89-289-13345  
E-mail: FPSchmid@nucleus.org.chemie.tu-muenchen.de

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie unterstützt.



sehr hoher Ausbeute (99.8 %) zu extrahieren [Gl. (1)].<sup>[7]</sup> Eine <sup>1</sup>H-NMR-Titration mit **2** ergab nur eine Untergrenze für die Assoziationskonstante ( $K_a$  für **2** in  $\text{CD}_3\text{OD} > 10^6 \text{ M}^{-1}$ ), während der Wirt **4** bei einer ähnlichen Untersuchung Sulfat in



	X	Y	R	Gegen-anion
<b>1</b>	$\text{CH}_2\text{SB}_{12}\text{H}_{11}^{2\ominus}$	H	$\text{Si}^t\text{BuPh}_2$	—
<b>2</b>	$\text{OC}_{16}\text{H}_{33}$	H	$\text{Si}^t\text{BuPh}_2$	$\text{Cl}^\ominus$
<b>3</b>	$\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	H	$\text{Si}^t\text{BuPh}_2$	$\text{Cl}^\ominus$
<b>4</b>	$\text{CH}_2\text{OH}$	H	H	$\text{Cl}^\ominus$
<b>5</b>	OH	H	$\text{Si}^t\text{BuPh}_2$	$\text{Cl}^\ominus$
<b>6</b>	Br	F	H	$\text{ClO}_4^\ominus$

wäßrigem DMSO mit  $K_a = 290 \text{ M}^{-1}$  ( $\text{DMSO}/\text{D}_2\text{O}$  1/1) komplexierte. In beiden Fällen wurden die komplexierungsbedingten Verschiebungen (complexation induced shifts, CIS) der Arensignale verfolgt, da die an sich empfindlicheren NH-Signale aufgrund von Sulfat-katalysiertem Protonenaustausch nicht beobachtet werden konnten. Die Aufspaltung der mit  $K_a$  verbundenen Gibbs-Assoziationsenergien  $\Delta G_a^\ominus$  in deren Komponenten  $\Delta H_a^\ominus$  und  $\Delta S_a^\ominus$  durch NMR-Methoden erfordert aufwendige und recht ungenaue van't-Hoff-Analysen der Bindungsdaten. Eine wesentlich genauere und schnellere Methode ist die isotherme Titrationskalorimetrie (ITC),<sup>[8]</sup> die  $\Delta H_a^\ominus$  direkt als Meßparameter liefert.  $\Delta G_a^\ominus$  sowie der Wirt-Gast-Stöchiometriefaktor  $n$  lassen sich durch Regressionsanalyse aus der Titrationskurve erhalten. Die Reaktionsentropie  $\Delta S_a^\ominus$  läßt sich dann einfach über die Gibbs-Helmholtz-Gleichung berechnen.

Als typisches Beispiel für die Qualität der experimentellen Daten zeigt Abbildung 1 die Wärmepulse bei der Titration des Wirts **3** mit Sulfat in Methanol.<sup>[9]</sup> Aus der Integration über die Zeit erhält man für jeden Titrationschritt die entsprechende Wärmemenge, die als Titrationskurve aufgetragen und nach der Regression analysiert werden kann.<sup>[10]</sup>

Die Gastkomplexierung ist stark endotherm mit  $\Delta H_a^\ominus = +7.7 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Die Regression ergibt dafür  $K_a = 6.8 \times$

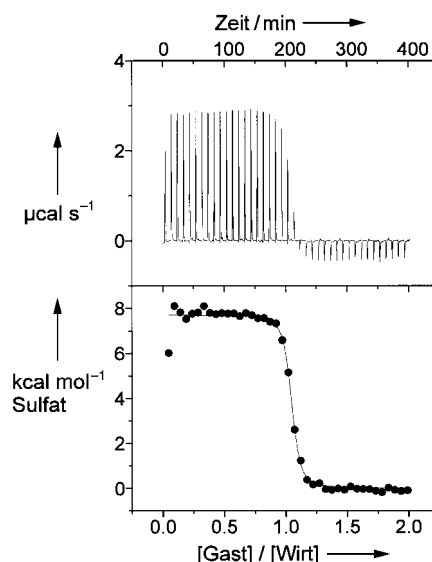


Abb. 1. ITC-Titration des Wirts **3** (0.137 mM) mit Tetramethylammoniumsulfat (2.865 mM) in Methanol bei 303 K.  $\Delta H_a^\ominus = +7.7 \text{ kcal mol}^{-1}$ ;  $K_a = 6.8 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ ;  $n = 1.03$ .

$10^6 \text{ M}^{-1}$  und den Stöchiometriefaktor  $n = 1.03$  als unabhängigen Parameter. Bei Raumtemperatur ist die Bindung demnach stark entropiegetrieben, wobei  $T\Delta S_a^\ominus$  das ungünstige  $\Delta H_a^\ominus$  bei weitem überkompensiert (Tabelle 1). Mit dem Wirt

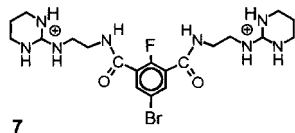
Tabelle 1. Bindung von Sulfat an Guanidinium-Wirte bei 303 K.<sup>[a]</sup>

Wirt	$n$	$\Delta H_a^\ominus$ [kcal mol <sup>-1</sup> ]	$K_a$ [M <sup>-1</sup> ]	$\Delta G_a^\ominus$ [kcal mol <sup>-1</sup> ]	$T\Delta S_a^\ominus$ [kcal mol <sup>-1</sup> ]
<b>1</b> <sup>[b]</sup>	0.47	+1.50	284	-3.40	+4.90
<b>3</b>	1.03	+7.71	$6.8 \times 10^6$	-9.47	+17.18
<b>5</b>	0.95	+7.07	$4.9 \times 10^6$	-9.27	+16.34
<b>6</b>	1.12	+7.28	$4.4 \times 10^5$	-7.82	+15.10
<b>7</b>	0.94	+5.46	$2.7 \times 10^6$	-8.91	+14.37
<b>9</b>	0.54	+3.76	313	-3.43	+7.22
<b>10</b>	0.46	+2.76	553	-3.80	+6.56

[a] Sulfat: Bis(tetramethylammonium)sulfat, Lösungsmittel: Methanol, sofern nicht anders angegeben. [b] Bis(tetraethylammonium)sulfat, DMSO.

**5**, dem die Benzylethergruppe von **3** fehlt, wird eine sehr ähnliche Assoziationsenthalpie und -entropie erhalten, was darauf hindeutet, daß der dritte aromatische Substituent nicht an der Gastbindung beteiligt ist. Durch die Einführung eines Fluor-Substituenten in 2-Position des zentralen aromatischen

Ringes und die Entfernung der Silylgruppen erhält man den Wirt **6** mit zwei freien Hydroxygruppen, der ein schlechterer Wirt für Sulfat ist. Obwohl die Bindungsenthalpie unverändert erscheint und damit eine nahezu ideale Bindungsgeometrie in den bisher besprochenen Rezeptoren nahelegt, ist die Assoziationsentropie verringert. Dies spricht für solvophobe Wechselwirkungen der Silylgruppen von **2**, **3** und **5** bei der Gastbindung, die bei **6** nicht zur Verfügung stehen. Die



Hydroxygruppen spielen anscheinend keine Rolle bei der Sulfatkomplexierung in Methanol. Betrachtet man den monocyclischen, weniger gespannten Guanidinium-Rezeptor **7**, so ergibt sich eine anscheinend bessere Bindungsgeometrie, was sich in dem stärker negativen (weniger positiven)  $\Delta H_a^\circ$  widerspiegelt, während  $\Delta S_a^\circ$  kaum beeinflusst wird. Anhand der beachtlichen Bindungskonstanten in Methanol ( $K_a(\mathbf{7} \text{ in } \text{CH}_3\text{OH}) = 2.7 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ ) dürfte man vermuten, daß Sulfatkomplexierung auch in Wasser möglich sein sollte. Die Wärmeeffekte waren allerdings verschwindend klein, so daß wir keine Titrationskurve erhalten konnten. Eine  $^{19}\text{F}$ -NMR-Titration mit Sulfat in  $\text{D}_2\text{O}$  war hingegen möglich; dabei wurde ein  $K_a$ -Wert von  $84 \text{ M}^{-1}$  bei 298 K erhalten.

Da die Guanidiniumgruppe und auch Sulfat in protischen Lösungsmitteln stark solvatisiert sind, spricht das positive  $\Delta H_a^\circ$  für eine endotherme Umstrukturierung der Solvathülle infolge der Komplexierung. Der Komplex ist weniger stark solvatisiert als seine isolierten Bestandteile. Folglich führt die Freisetzung von Solvensmolekülen im Zuge der Assoziation zur entropischen Überkompensation des positiven  $\Delta H_a^\circ$ . Dieser Effekt ist bei dem hydrophileren Wirt **6** schwächer und ergibt einen kleineren günstigen Entropiebeitrag und damit eine schwächere Bindung.

Die geringe Löslichkeit des elektroneutralen, zwitterionischen Wirtes **1** in protischen Lösungsmitteln erlaubte keinen direkten Vergleich mit den dikationischen Guanidinium-Rezeptoren. Titrations mit diesem Wirt in DMSO als Lösungsmittel ergaben die unerwartete Stöchiometrie der Wirt-Gast-Wechselwirkung von 0.5. Da bekannt ist, daß **1** in DMSO unter diesen Bedingungen dimerisiert,<sup>[6]</sup> entspricht dieses Ergebnis einer Sulfatbindung an das Wirt-Dimer, ohne dessen Aggregationsform aufzubrechen.<sup>[11]</sup> Dabei sollte nur ein schwach gebundener Borancluster anstelle stark gebundener Solvensmoleküle aus der ersten Guanidinium-Bindungsstelle in dem Yin-Yang-Dimer<sup>[6]</sup> verdrängt werden, so daß stärker negative Werte für die Enthalpie und Entropie der Gastbindung als im Fall der kationischen Wirte erhalten werden. Trotzdem bleibt die Komplexbildung auch in diesem Fall entropiegetrieben.

Um den Vorteil der Kombination von zwei monotopen Guanidiniumgruppen zu einem ditopen Rezeptor auszuloten und zu quantifizieren, wurden die Guanidine **8** und **9** in DMSO untersucht. In beiden Fällen wurde kein Wärmeeffekt bei der Sulfat-Titration beobachtet. Die Wirt-Gast-Wechselwirkung mit den monotopen Ankergruppen ist offenbar sehr schwach und deren kovalente Verknüpfung zu besser prä-

	R	Gegen-anion
<b>8</b>	$\text{CH}_2\text{OSi}(\text{tBu})\text{Ph}_2$	$\text{Br}^\ominus$
<b>9</b>	$\text{CH}_2\text{OH}$	$\text{Cl}^\ominus$
<b>10</b>	$\text{CH}_2\text{N}_3$	$\text{ClO}_4^\ominus$

organisierten, ditopen Wirten für die erfolgreiche Assoziation unter diesen Solvensbedingungen unverzichtbar. In Wasser gibt es ebenfalls keine enthalpische Wechselwirkung zwischen der Dihydroxyverbindung **9** und Sulfat, dagegen besteht in Methanol eine schwache, endotherme Assoziation ( $\Delta H_a^\circ = +3.76 \text{ kcal mol}^{-1}$  und  $K_a = 313 \text{ M}^{-1}$ ). Der Austausch der Hydroxygruppen gegen Azidsubstituenten, die keine H-Brücken bilden, führt zu einer ungefähren Verdoppelung von  $K_a$  ( $553 \text{ M}^{-1}$ ), was in erster Linie auf einem günstigen enthalpischen Effekt beruht. Dennoch ist die Bindungsaffinität der monotopen Guanidinium-Ankergruppen um vier Größenordnungen geringer als die der ditopen Rezeptoren. Die kalorimetrischen Ergebnisse zur Sulfatbindung von ditopen Guanidinium-Wirten zeigen die dominierende Rolle der Solvation für die Gastbindung und legen nahe, das Design von Solvationseigenschaften als einen vielversprechenden Weg zur Verbesserung von Bindungsaffinität und -selektivität zu nutzen.

Eingegangen am 6. Mai 1998 [Z11824]

**Stichwörter:** Guanidine • Kalorimetrie • Thermodynamik • Wirt-Gast-Chemie

- [1] a) D. J. Cram, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 1041–1052; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 1009–1020; b) F. P. Schmidtchen, M. Berger, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1609–1646.
- [2] R. Meissner, X. Garcias, S. Mecozzi, J. Rebek, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 77–85.
- [3] W. Peschke, F. P. Schmidtchen, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 5155–5158.
- [4] D. J. Cram, H.-J. Choi, J. A. Bryant, C. B. Knobler, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7748–7765.
- [5] D. H. Williams, M. S. Westwell, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, 57–63.
- [6] M. Berger, F. P. Schmidtchen, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8947–8948.
- [7] H. Stephan, K. Gloe, P. Schiessl, F. P. Schmidtchen, *Supramol. Chem.* **1995**, *5*, 273–280.
- [8] a) I. Wadsö, *Chem. Soc. Rev.* **1997**, 79–86; b) J. E. Ladbury, B. Z. Chowdhry, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 791–801.
- [9] Die Synthesen der Wirtverbindungen werden in einer ausführlichen Publikation beschrieben werden.
- [10] Die Messungen wurden an einem MCS-ITC-Instrument (MicroCal) durchgeführt. In allen Fällen wurde der Wirt in der Meßzelle vorgelegt und die Sulfatlösung zutitriert. Um für die Verdünnungswärmen zu korrigieren, wurde die Gastlösung in reines Lösungsmittel titriert und die so erhaltenen Wärmemengen von den Wirt-Gast-Titrations subtrahiert. Die Daten wurden mit dem Programm Origin (MicroCal) ausgewertet und analysiert.<sup>[12]</sup>
- [11] Eine genauere Betrachtung der mehrdimensionalen Fehler-Hyperfläche der NMR-Bindungsdaten bei der Reaktion von **1** mit Sulfat ergab kein Minimum, das eine 1:2-Wirt-Gast-Komplexbildung rechtfertigen würde.<sup>[6]</sup> Eine erneute Berechnung der Daten unter Berücksichtigung der Wirt-Dimerisierung und 1:1-Komplexbildung ergab  $K_a = 680 \text{ M}^{-1}$  in guter Übereinstimmung mit der hier vorliegenden Bestimmung bei leicht höherer Temperatur.
- [12] T. Wiseman, S. Williston, J. F. Brandts, L.-N. Lin, *Anal. Biochem.* **1989**, *179*, 131–137.