

kann, vergleichbar mit dem von Proteinenzymen ist. Dies demonstriert auch, wie in einer hypothetischen „RNA-Welt“ Ribozyme den stereochemischen Verlauf von chemischen Reaktionen gesteuert haben könnten.

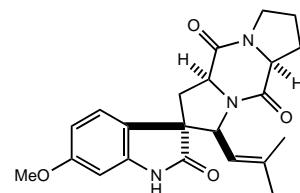
Eingegangen am 18. September 2000 [Z15830]

- [1] E. J. Corey, A. Guzman-Perez, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 402; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 388.
- [2] M. Ortega Lorenzo, C. J. Baddeley, C. Muryn, R. Raval, *Nature* **2000**, *404*, 376.
- [3] S. C. Sinha, C. F. Barbas III, R. A. Lerner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 14603.
- [4] K.-E. Jaeger, M. T. Reetz, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 68.
- [5] A. Jäschke, B. Seelig, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 257.
- [6] M. T. Reetz, M. H. Becker, H.-W. Klein, D. Stöckigt, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1872; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1758.
- [7] B. Zhang, T. R. Cech, *Nature* **1997**, *390*, 96.
- [8] P. J. Unrau, D. P. Bartel, *Nature* **1998**, *395*, 260.
- [9] T. M. Tarasow, S. L. Tarasow, B. E. Eaton, *Nature* **1997**, *389*, 54.
- [10] C. Wilson, J. W. Szostak, *Nature* **1995**, *374*, 777.
- [11] F. Huang, Z. Yang, M. Yarus, *Chem. Biol.* **1998**, *5*, 669.
- [12] B. J. Hicke, E. L. Christian, M. Yarus, *EMBO J.* **1989**, *8*, 3843.
- [13] A. Geiger, P. Burgstaller, H. von der Eltz, A. Roeder, M. Famulok, *Nucleic Acids Res.* **1996**, *24*, 1029.
- [14] U. Pindur, G. Lutz, C. Otto, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 741.
- [15] V. E. Gouverneur, K. N. Houk, B. de Pascual-Teresa, B. Beno, K. D. Janda, R. A. Lerner, *Science* **1993**, *262*, 204.
- [16] T. M. Tarasow, B. E. Eaton, *Cell. Mol. Life Sci.* **1999**, *55*, 1463.
- [17] B. Seelig, A. Jäschke, *Chem. Biol.* **1999**, *6*, 167.
- [18] S. Klußmann, A. Nolte, R. Bald, V. A. Erdmann, J. P. Fürste, *Nat. Biotechnol.* **1996**, *14*, 1112.
- [19] K. P. Williams, X. H. Liu, T. N. Schumacher, H. Y. Lin, D. A. Ausiello, P. S. Kim, D. P. Bartel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 11285.
- [20] J. Sauer, R. Sustmann, *Angew. Chem.* **1980**, *92*, 773; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, *19*, 779.
- [21] A. Heine, E. A. Stura, J. T. Yli-Kauhaluoma, C. Gao, Q. Deng, B. R. Beno, K. N. Houk, K. D. Janda, I. A. Wilson, *Science* **1998**, *279*, 1934.
- [22] F. E. Romesberg, B. Spiller, P. G. Schultz, R. C. Stevens, *Science* **1998**, *279*, 1929.
- [23] A. Jäschke, C. Frauendorf, F. Hausch, *Synlett* **1999**, 825.
- [24] Im Falle des Biotinmaleimids wurden aus Löslichkeitsgründen 2% DMSO zugesetzt.
- [25] Die Gleichungen für die Sekundärauftragungen sind $y = 2.4309x + 0.0066$ ($R^2 = 0.903$) für das Dien und $y = 54.539x + 0.0066$ ($R^2 = 0.990$) für das Dienophil. Die Standardabweichungen für den Schnittpunkt mit der y-Achse waren trotz der recht guten Regressionskoeffizienten von der gleichen Größenordnung wie die Messwerte (± 0.0060 bzw. ± 0.0045), womit die Korrektheit der Werte für V_{max} (1/Schnittpunkt mit der y-Achse) und K_m (–Steigung/Schnittpunkt mit der y-Achse) in Frage gestellt wird. Zur rechnerischen Überprüfung der erhaltenen kinetischen Konstanten haben wir zusätzlich eine direkte nichtlineare Regression der Daten aus Abbildung 1a nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate durchgeführt. Dies erfolgte unter Annahme eines vollkommen zufälligen Zweireaktantensystems (Random Bi-Uni-Mechanismus) und ergab für V_{max} $140 \pm 25 \mu\text{m min}^{-1}$, für K_m , Dien $200 \pm 35 \mu\text{m}$ und für K_m , Dienophil $5.2 \pm 1.3 \text{ mM}$ mit einem Korrelationskoeffizienten von $R^2 = 0.980$.

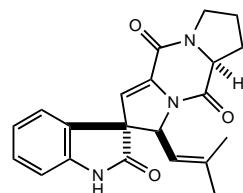
Totalsynthese von (–)-Spirotryprostatin B und drei Stereoisomeren**

Larry E. Overman* und Mark D. Rosen

Niedermolekulare Naturstoffe spielen in gegenwärtigen Untersuchungen zum Verständnis und zur Kontrolle der zellulären Proliferation eine wichtige Rolle.^[1] Osada und Mitarbeiter haben kürzlich in der Fermentationsmischung des Pilzes *Aspergillus fumigatus* eine Gruppe neuartiger Diketopiperazin-Alkaloide identifiziert, welche in mikromolaren Konzentrationen die Entwicklung der G2/M-Phase des Zellzyklus von Säugetieren inhibieren.^[2, 3] Die Spirotryprostathine A **1** und B **2** sind die komplexesten Vertreter dieser Alkaloide,^[2] die biosynthetisch alle auf die Prenylierung von Diketopiperazinen, abgeleitet von Tryptophan und Prolin, zurückzuführen sind.



Spirotryprostatin A **1**



Spirotryprostatin B **2**

Die ungewöhnlichen Strukturen und ihr potentieller Nutzen als Zellzyklusinhibitoren machen die Spirotryprostathine zu attraktiven Zielverbindungen für eine Totalsynthese. Eine zentrale Herausforderung eines stereokontrollierten Syntheseplans ist, die Konfiguration des quartären Spiro-Kohlenstoffatoms mit dem benachbarten Stereozentrum, das die 2-Methylpropenyl-Seitenkette trägt, zu korrelieren. Edmondson und Danishefsky berichteten 1998 über die Totalsynthese von Spirotryprostatin A **1** und damit über die erste Totalsynthese einer Verbindungen dieser Klasse.^[4] Dieses Jahr haben die Arbeitsgruppen von Williams,^[5] Danishefsky^[6] und Ganeshan^[7] die ersten Totalsynthesen von (–)-Spirotryprostatin B **2** abgeschlossen.

Unser Syntheseplan für Spirotryprostatin B **2** und verwandte Verbindungen unterscheidet sich deutlich von den vorherigen Synthesen (Schema 1). Die Strategie basiert auf

[*] Prof. L. E. Overman, M. D. Rosen

Department of Chemistry, University of California, Irvine

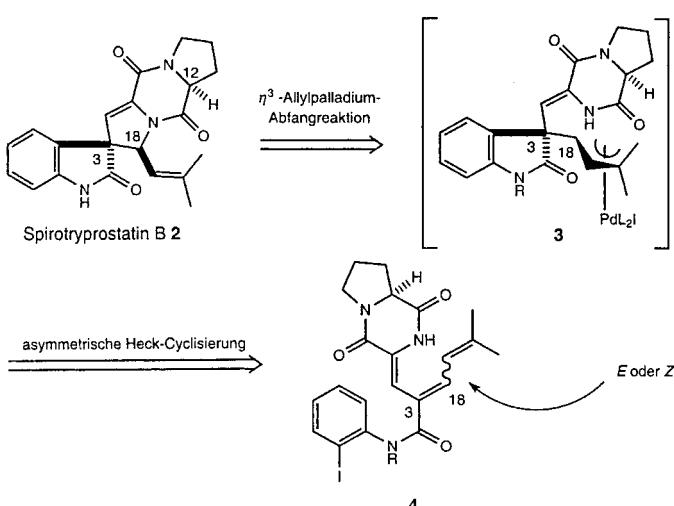
516 Rowland Hall, Irvine, CA 92697-2025 (USA)

Fax: (+1) 949-824-3866

E-mail: leoverma@uci.edu

[**] Wir danken dem NIH NIGMS (GM-30859) für die finanzielle Unterstützung, Prof. A. J. Shaka und N. D. Taylor für die DPFGSE Experimente, Prof. H. Osada für die zur Verfügung gestellten spektroskopischen Daten von natürlichem **1** und Prof. R. M. Williams und P. R. Sebahar für die zur Verfügung gestellten spektroskopischen Daten sowie einer Probe von synthetischem *ent*-**21**. Ebenso sind wir Prof. R. M. Williams und Prof. S. J. Danishefsky für den offenen Informationsaustausch vor der Veröffentlichung dankbar. Die verwendeten NMR- und Massenspektrometer wurden durch die NSF und die NIM finanziert.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

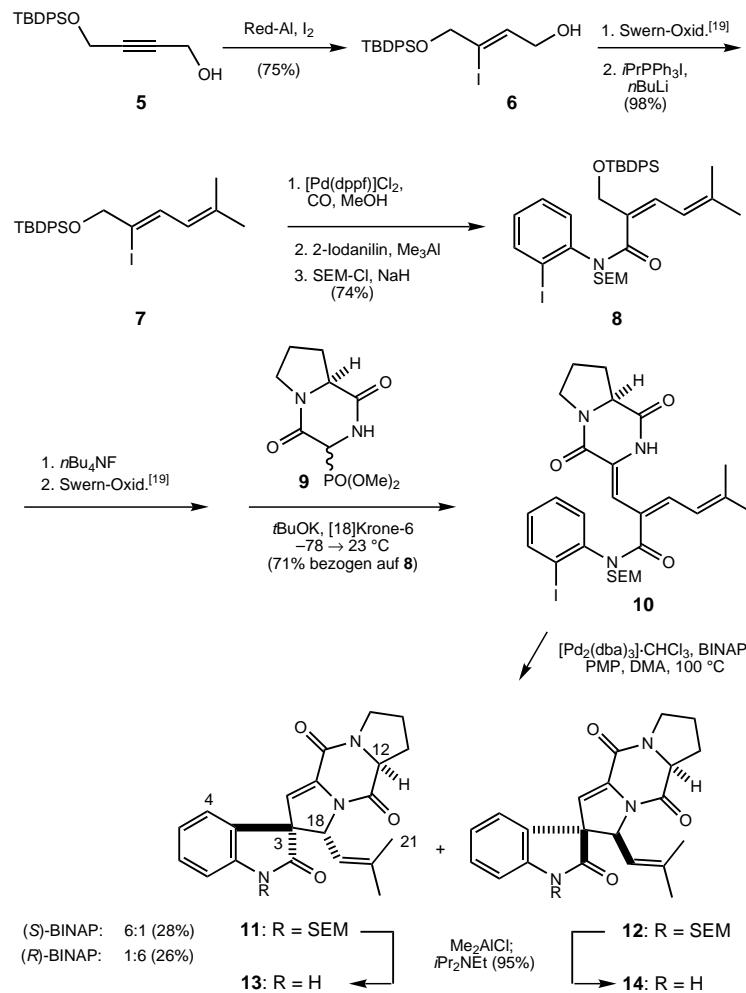


Schema 1. Retrosynthese von Spirotryprostatin B 2.

der Korrelation der relativen Konfiguration von C3 und C18 in **2**^[8] mit der Konfiguration der internen Doppelbindung des Zylkisierungsubstrates **4**. Das Konzept beruht auf der Stereoselektivität von zwei Palladium-katalysierten Reaktionen: Heck-Insertion^[9] und Abfangen der η^3 -Allylpalladiumzwischenstufe mit Stickstoffnucleophilen.^[10] Ein geeigneter chiraler Ligand^[11] könnte in einer suprafacialen intramolekularen Heck-Reaktion von (*E*)-**4** in einem bevorzugten 5-*exo*-Ringschluss die η^3 -Allylpalladiumzwischenstufe **3** erzeugen, bei der keine schnelle Isomerisierung zu erwarten ist.^[12] Falls die Reaktion der Zwischenstufe **3** mit dem proximalen Stickstoffatom des Diketopiperazins *anti* zum Metall ablief, würde Spirotryprostatin B **2** gebildet; eine Abfangreaktion *syn* zum Metall würde zu 18-*epi*-Spirotryprostatin B führen.^[13] Diese flexible Strategie ermöglicht es, auf das jeweilige stereochemische Ergebnis des zweiten Schrittes durch Veränderung der Konfiguration der internen Doppelbindung des Triens **4** zu reagieren.^[14–16] Wir beschreiben hier eine Umsetzung der in Schema 1 skizzierten Retrosynthese zur Herstellung von (–)-Spirotryprostatin B **2** und drei Stereoisomeren.

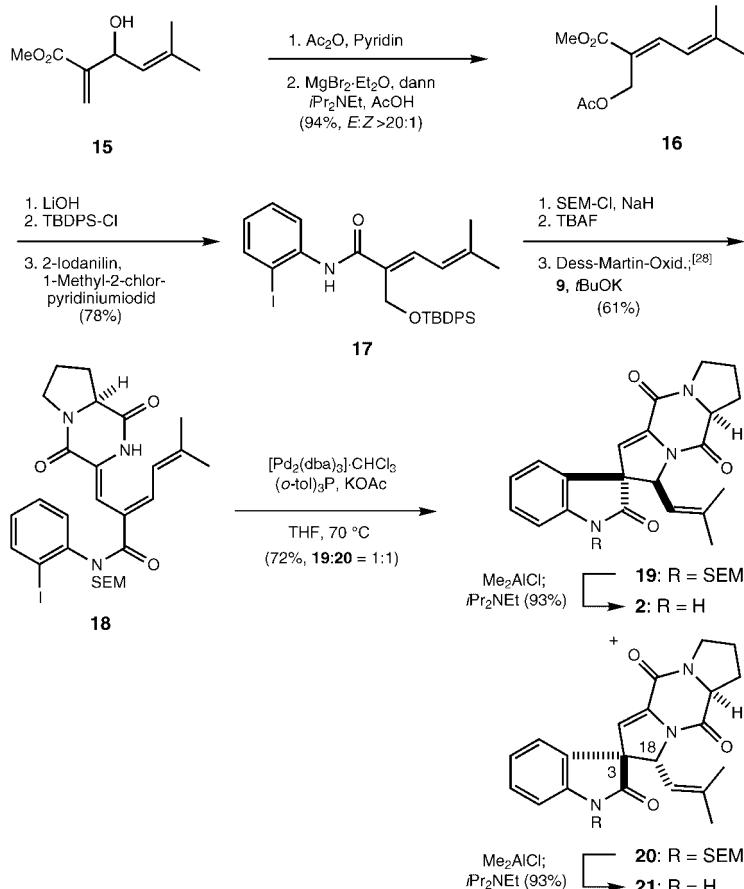
Wie in Schema 2 gezeigt, ging die Synthese der Cyclisierungsvorstufe **10** vom Alkohol **5** aus,^[17] der in hoher Ausbeute zum Dienyliodid **7** umgesetzt wurde.^[18, 19] Palladium-katalysierte Carbonylierung von **7** in Gegenwart von Methanol,^[20] Aminolyse des resultierenden Esters mit 2-Iodanilin^[21] und Schützen des Amidstickstoffatoms mit (2-Trimethylsilyl)ethoxymethylchlorid (SEM-Cl) ergaben das Anilid **8** mit einer Ausbeute von 74 %. Entfernung der *tert*-Butyldiphenylsilyl(TBDPS)-Gruppe, Swern-Oxidation^[19] und Reaktion des entstandenen Aldehyds mit dem Kaliumsalz des Diketopiperazinphosphonats **9**^[22] lieferten isomerenreines **10** in 71 % Ausbeute bezogen auf **8**.

Cyclisierung von **10** mit Pd-(*S*)-BINAP (20 Mol-%) und Überschuss an 1,2,2,6,6-Pentamethylpiperidin (PMP) in *N,N*-Dimethylacetamid (DMA) bei 100 °C^[11] ergab eine 6:1-Mischung der Pentacyclen **11** und **12** in einer Ausbeute von 28 %, während mit Pd-(*R*)-BINAP **12** als Hauptprodukt erhalten wurde (**12:11** = 6:1). Wir stellten fest, dass die SEM-Schutzgruppe durch Zusatz von 6 Äquiv. Me₂AlCl und anschließendes Erwärmen der resultierenden *N*-Hydroxymethylderivate mit Diisopropylethylamin in Methanol, um die Formaldehydeinheit zu entfernen, in hoher Ausbeute von diesen empfindlichen Produkten abgespalten werden kann. Analytisch reine Proben von 18-*epi*-Spirotryprostatin B **13** und 3-*epi*-Spirotryprostatin B **14** konnten aus diesen Gemischen durch präparative HPLC isoliert werden. Aufgrund der starken Kern-Overhauser-Effekte (NOEs) zwischen H4 und H18 wurde den Phenyl- und 2-Methylpropenylgruppen von **13** und **14** die *trans*-Anordnung zugeordnet, während die stereochemische Beziehung des Pyrrolidin- und des Dihydro-pyrrolringes durch Nachweis von Long-Range-NOEs zwischen H12 und H21 in **13** mit einem DPFGSE-NOE-Experiment ermittelt wurde.^[23, 24]



Schema 2. Synthese von 18-*epi*-Spirotryprostatin B **13** und 3-*epi*-Spirotryprostatin B **14**. TBDPS = *t*BuPh₂Si, Red-Al = [(MeOCH₂CH₂O)₂AlH₂]Na, SEM = CH₂OCH₂CH₂SiMe₃, BINAP = 2,2'-Bis(diphenylphosphanyl)-1,1'-binaphthyl, dppf = 1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocen, dba = (*E,E*)-Dibenzylidenacetone, PMP = 1,2,2,6,6-Tetramethylpiperidin, DMA = *N,N*-Dimethylacetamid.

Diese Pd-BINAP-katalysierten zweifachen Cyclisierungen von **10** zeigen, dass die η^3 -Allylpalladiumzwischenstufe in hoher Diastereomerenreinheit gebildet und abgefangen wird und dass das proximale Stickstoffatom der Diketopiperazin-einheit den Allylpalladiumkomplex *anti* zum Metallzentrum angreift. Daher wandten wir uns der Synthese des zu **10** stereoisomeren Cyclisierungssubstrats **18** zu, das zu Spirotryprostatin B **2** führen sollte (Schema 3).



Schema 3. Synthese von Spirotryprostatin B **2** und 3,18-Bis-*epi*-spirotryprostatin B **21**. Siehe Schema 2 für Abkürzungen.

Die Herstellung von **18** begann mit dem Allylalkohol **15**.^[25] Dieser wurde acetyliert und anschließend mit MgBr₂·Et₂O zum primären Allylbromid umgesetzt,^[26] das mit Essigsäure zum (*E*)-Dienoat **16** reagierte. Die Umwandlung von **16** in die Siloxycarbonsäure und Kupplung^[27] dieser Zwischenstufe mit 2-Iodanilin lieferten **17** in sehr guter Gesamtausbeute. In einer der Umsetzung von **8** zu **10** ähnlichen Reaktionssequenz wurde **17** in 61% Gesamtausbeute in isomerenreines **18** überführt.^[28, 29]

Analog der Cyclisierung von **10** wurde **18** mit Pd(S)-BINAP umgesetzt und führte überraschenderweise zur Bildung des Pentacyclus **11**. Kontrollexperimente, in Abwesenheit von Pd-(S)-BINAP, legten die Vermutung nahe, dass **18** sehr schnell zu **10** isomerisierte, wenn **18** in DMA in Gegenwart eines Überschusses an PMP über 80 °C erhitzt wurde. Verschiedene weniger basische Afbangreagentien für HI als PMP wurden eingesetzt, um die asymmetrische zweifache Cyclisierung

durchzuführen, ohne die Trieneinheit von **18** zu isomerisieren. Diese Versuche misslangen, doch konnte **18** mit 10 Mol-% [Pd₂(dba)₃]·CHCl₃, 40 Mol-% Tri-*o*-tolylphosphan und KOAc im Überschuss in THF bei 70 °C in eine 1:1-Mischung der Pentacyclen **19** und **20** überführt werden. Entfernen der SEM-Gruppe von diesen Produkten und chromatographische Reinigung lieferte reines (–)-Spirotryprostatin B **2** ([α]_D²⁵ = –159 (*c* = 0.40, CHCl₃), 21% Ausbeute bezogen auf **18**) sowie 3,18-Bis-*epi*-spirotryprostatin B **21**.^[30]

Wir haben (–)-Spirotryprostatin B (**2**) in einer Gesamtausbeute von 9% ausgehend von Methylacrylat und 3-Methyl-2-butenal den kommerziell erhältlichen Vorstufen von **15**, über zehn isolierte Intermediate synthetisiert. Mit dieser Synthese und der der Stereoisomere **13**, **14** und **21** wurde eine neue Strategie für den stereokontrollierten Aufbau von quartären Spiro- und benachbarten Stereozentren eingeführt. Des Weiteren zeigt diese Untersuchung erstmals, dass a) intramolekulare Heck-Insertionen von konjugierten Trienen unter hoher Regioselektivität ablaufen können, b) η^3 -Allylpalladiumzwischenstufen mit einem Stickstoffatom eines angeknüpften Diketopiperazins abgefangen werden können und c) letztere Reaktion *anti*-selektiv verläuft. Diese methodischen Fortschritte erweitern erneut die Anwendungen der Organopalladiumchemie für den Aufbau von komplexen Heterocyclen.

Eingegangen am 21. August 2000 [Z15668]

- [1] a) D. T. Hung, T. F. Jamison, S. L. Schreiber, *Chem. Biol.* **1996**, 3, 623–639; H. Osada, *J. Antibiot.* **1998**, 51, 973–982.
- [2] a) C. B. Cui, H. Kakeya, H. Osada, *J. Antibiot.* **1996**, 49, 832–835; b) C. B. Cui, H. Kakeya, H. Osada, *Tetrahedron* **1996**, 52, 12651–12666.
- [3] a) C. B. Cui, H. Kakeya, H. Osada, *Tetrahedron* **1997**, 53, 59–72; b) C. B. Cui, H. Kakeya, G. Okada, R. Onose, I. Ubukata, K. Takahashi, K. Isono, H. Osada, *J. Antibiot.* **1995**, 48, 1382–1384; c) C. B. Cui, H. Kakeya, G. Okada, R. Onose, H. Osada, *J. Antibiot.* **1996**, 49, 527–533; d) C. B. Cui, H. Kakeya, H. Osada, *J. Antibiot.* **1996**, 49, 534–540.
- [4] a) S. Edmondson, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 1190–1193; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 1138–1140; b) S. Edmondson, S. J. Danishefsky, L. Sepp-Lorenzino, N. Rosen, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 2147–2155.
- [5] P. R. Sebahar, R. M. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 5666–5667.
- [6] F. von Nussbaum, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 2259–2262; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 2175–2178.
- [7] H. Wang, A. Ganeshan, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 4685–4693.
- [8] Die absolute Konfiguration und die relative Konfiguration von Spirotryprostatin B **2** an C12 wurden in Lit. [2] nicht angegeben. Folglich haben wir uns entschlossen, einen Syntheseplan zu entwickeln, der uns den Zugang zu allen denkbaren stereochemischen Permutationen erlaubt. Diese stereochemischen Fragen sind erst durch die Totalsynthesen von **2** durch Williams et al. und Danishefsky et al. geklärt worden.^[5, 6]
- [9] Übersichten: a) A. de Meijere, F. E. Meyer in *Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions* (Hrsg.: P. J. Stang, F. Diederich), Wiley-VCH, Weinheim, **1998**, Kap. 3; b) J. T. Link, L. E. Overman in *Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions* (Hrsg.: P. J. Stang, F. Diederich), Wiley-VCH, Weinheim, **1998**, Kap. 6; Übersichten zu asymmetrischen Heck-Reaktionen: c) Y. Donde, L. E. Overman in *Catalytic Asymmetric Synthesis* (Hrsg.: I. Ojima), 2. Aufl., Wiley, New York, **2000**,

Kap. 8; d) M. Shibasaki in *Advances in Metal-Organic Chemistry* (Hrsg.: L. S. Liebeskind), JAI, Greenwich, **1996**, S. 119–151.

[10] Übersicht über Palladium-katalysierte Allylierungen von Stickstoff: P. Metz, *Methoden Org. Chem. (Houben-Weyl) 4th ed.* 1952–, Vol. E21/2, **1996**, S. 5643–5669.

[11] a) A. Ashimori, B. Bachand, L. E. Overman, D. Poon, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 6477–6487; b) A. Ashimori, B. Bachand, M. Calter, S. P. Govek, L. E. Overman, D. J. Poon, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 6488–6499.

[12] Die Epimerisierung dieser Zwischenstufe über einen π - σ - π -Mechanismus wäre ungünstig, da die Termini in **3** disubstituiert und neopentyllisch sind.

[13] Obwohl ein *anti*-Angriff auf η^3 -Allylpalladiumzwischenstufen mit sehr weichen Nucleophilen beobachtet worden ist, gibt es keine verwandten Präzedenzfälle für Abspaltreaktionen durch neutrale Amide: (A. Heumann, M. Réglier, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 975–1015 und Lit. [10]).

[14] Die Synthese von anellierten Indolen über bimolekulare Kupplung von 2-Halogenanilinen mit Dienen ist eingehend von Larock und Mitarbeitern entwickelt und untersucht worden.^[15] Die Kupplung einer asymmetrischen intramolekularen Heck-Reaktion mit bimolekularem Abfangen einer η^3 -Allylpalladiumzwischenstufe wurde zuerst von Shibasaki und Mitarbeitern beschrieben.^[16] Die stereochemischen Fragen, die das Kernstück dieser Arbeit sind, wurden in diesen frühen Studien nicht überprüft.

[15] Für eine Übersicht, siehe: R. C. Larock, *J. Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 111–124.

[16] a) K. Kagechika, M. Shibasaki, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4093–4094. Beispiele mit achiralen Palladiumkatalysatoren: b) B. Burns, R. Grigg, P. Ratananukul, V. Sridharan, P. Stevenson, T. Worakun, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 4329–4332; c) R. Grigg, V. Sridharan, S. Sukirthalingam, T. Worakun, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1139–1142.

[17] C. K. Hwang, W. S. Li, K. C. Nicolaou, *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 2295–2298.

[18] a) E. J. Corey, J. A. Katzenellenbogen, G. H. Posner, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 4245–4247; b) M. A. Blanchette, M. S. Malamas, M. H. Nantz, J. C. Roberts, P. Somjai, D. C. Whritenour, S. Masamune, M. Kageyama, T. Tamura, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2817–2825.

[19] A. J. Mancuso, D. Swern, *Synthesis* **1981**, 165–185.

[20] Übersicht: J. Tsuji, *Palladium Reagents and Catalysts: Innovations in Organic Synthesis*, Wiley, Chichester, **1997**, S. 188–209.

[21] M. F. Lipton, A. Basha, S. M. Weinreb, *Org. Synth. Coll. Vol.* **1988**, *6*, 492–495.

[22] A. Lieberknecht, H. Griesser, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 4275–4278.

[23] a) K. Stott, J. Stonehouse, J. Keeler, T. L. Hwang, A. J. Shaka, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 4199–4200; b) K. Stott, J. Keeler, O. N. Van, A. J. Shaka, *J. Magn. Reson.* **1997**, *125*, 302–324.

[24] Die Ergebnisse dieser Experimente stimmen mit den Zuordnungen von Nussbaum und Danishefsky überein.^[6] Andere spektroskopische und analytische Daten für diese Produkte stimmen mit den von diesen Autoren angegebenen überein.

[25] T. Janecki, *Synth. Commun.* **1993**, *23*, 641–650.

[26] D. Basavaiah, A. K. D. Bhavani, S. Pandiaraju, P. K. S. Sarma, *Synlett* **1995**, 243–244.

[27] E. Bald, K. Saigo, T. Mukaiyama, *Chem. Lett.* **1975**, 1159–1162.

[28] D. B. Dess, J. C. Martin, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155–4156.

[29] Die (*E*)-Dienylaldehydzwischenstufe in dieser Sequenz isomerisiert schnell; ihre Bildung und erfolgreiche Kondensation mit **9** verlangte die genaue Beachtung der experimentellen Details (siehe Hintergrundinformationen).

[30] Spektroskopische und analytische Daten für diese Produkte stimmten mit den bekannten Angaben überein.^[2, 5]

Direkter Nachweis der unteren kritischen Lösungstemperatur von oberflächenfixierten thermoresponsiven Hydrogelen durch Oberflächenplasmonenresonanz**

Erik Wischerhoff,* Thomas Zacher,
André Laschewsky* und El Djouhar Rekaï

Die Affinitätsbiosensorik ist eine wichtige Methode, um biochemische Bindungsprozesse zu untersuchen: Sie ermöglicht, biomolekulare Wechselwirkungen in Echtzeit zu verfolgen, und gestattet somit dem Anwender, kinetische Konstanten aus den Daten von Wechselwirkungsexperimenten abzuleiten.^[1] Eines der populärsten Transduktionsprinzipien in der Affinitätsbiosensorik ist die Oberflächenplasmonenresonanz (SPR).^[2] Die Anregung von Oberflächenplasmonen in dünnen Metallfilmen – oftmals Gold – durch totalreflektiertes Licht führt zu einem Minimum in der Intensität des reflektierten Lichtes bei einem bestimmten Einfallswinkel Θ_{SPR} , dem Resonanzwinkel. Eine Veränderung des Brechungsindex in unmittelbarer Nähe der Goldoberfläche verschiebt die Lage dieses Resonanzwinkels. SPR ermöglicht Wechselwirkungsmessungen in Echtzeit und erfordert keine markierten Analyten.^[3]

Eine wichtige Voraussetzung für den Erfolg der Affinitätsbiosensorik ist eine chemisch angepasste Sensoroberfläche. Typischerweise werden Hydrogelen als biokompatible Matrices verwendet, um die Denaturierung von kovalent immobilisierten Biomolekülen zu verhindern und deren eigentliche Funktionalität an Sensoroberflächen zu erhalten.^[4] Häufig werden hier Polysaccharide eingesetzt.^[5] Obwohl diese die Aufgabe meist in zufrieden stellender Weise erfüllen, sind synthetische hydrophile Polymere aufgrund einiger Vorteile eine attraktive Alternative. Erstens können sie widerstandsfähiger gegenüber rigiden chemischen Bedingungen (starke Säuren, Fouling etc.) sein und zweitens bieten sie die Möglichkeit, durch Anpassen ihrer Struktur Polymere mit neuen physikalischen Eigenschaften zu erhalten. Ein beeindruckendes Beispiel für die Möglichkeiten, die sich durch gezielte Modifikation von Hydrogelen eröffnen, sind die thermoresponsiven Hydrogelen.^[6]

Thermoresponsive Hydrogelen weisen in wässriger Lösung ein ungewöhnliches Verhalten auf, das dem intuitiven Emp-

[*] Dr. E. Wischerhoff,^[+] Dipl.-Phys. T. Zacher^[+]

BioTuL AG
Gollierstraße 70, 80339 München (Deutschland)

E-mail: e.wischerhoff@pharm.uu.nl

Prof. Dr. A. Laschewsky, Dr. El D. Rekaï

Department of Chemistry

Université Catholique de Louvain

Place L. Pasteur 1, 1348 Louvain-la-Neuve (Belgien)

Fax: (+32) 10-472836

E-mail: laschewsky@cico.ucl.ac.be

[+] Neue Adresse:

Department of Pharmaceutical Proteomics

Universiteit Utrecht

Sorbonnelaan 16, 3508 TB Utrecht (Niederlande)

Fax: (+31) 30-251-8219

[**] Diese Arbeit wurde von der Europäischen Kommission (CEE BIO-CT97-962372 und Erbfmbt 982915) unterstützt.