

Am auffallendsten ist der kleine K_a -Wert für Ethanol, der eine halbe Größenordnung unterhalb dem von Noradrenalin liegt: Das Rezeptormolekül erkennt klar den Brenzcatechinring des Hormons (vgl. **13** mit **10**). Dies wird durch die starke Hochfeldverschiebung der Arenprotonensignale in vielen Gastmolekülen mit einem 2-Phenylethylamin-Gerüst unterstrichen (bis zu 0.5 ppm). Solche Hochfeldverschiebungen der aromatischen Signale sind bei Sandwich-Anordnungen üblich, wie sie für Komplexe von Wirt **2** postuliert wurden.

Ein anderer interessanter Zusammenhang ist die Abnahme der Bindungsenergie, wenn die phenolischen Hydroxygruppen aus der Gaststruktur entfernt werden (vgl. **11** mit **12**), was darauf hindeutet, dass **2** selektiv Catecholamine bindet. Freie phenolische Hydroxygruppen verstärken den elektronenreichen Charakter eines Benzolrings wegen ihres starken $-I$ -Effekts nur unwesentlich. Deswegen muss die beobachtete Abnahme der Bindungsenergie dahingehend erklärt werden, dass nun keine Wasserstoffbrücken zwischen den Brenzcatechin-Hydroxygruppen und der Isophthalamid-Kopfgruppe der Wirtverbindung mehr gebildet werden können. Ein Kontrollexperiment in DMSO ergab eine starke Tieffeldverschiebung eines der beiden Hydroxyprotonensignale von Noradrenalin bei der Komplexbildung mit **2**, ein anderer starker Indikator für Wasserstoffbrücken. In der 1:1-Mischung aus Wasser und Methanol kann der Beitrag der Wasserstoffbrücken zu den Brenzcatechin-Hydroxygruppen zu ca. 2.1 kJ mol^{-1} abgeschätzt werden, während die Bildung von π -Stapeln mit dem Brenzcatechinring ca. 1.6 kJ mol^{-1} beisteuert.

Die Daten in Tabelle 1 lassen aber auch eine bemerkenswerte Formselektivität des neuen Adrenalinrezeptors erkennen: Im Allgemeinen ist das schlanke Dopamin-Grundgerüst ein günstiges Bindungsmotiv für **2** (**9**–**15**). Dagegen werden Verbindungen wie Aminosäuren mit einem zusätzlichen Substituenten in α -Position zum Ammoniumzentrum viel schwächer gebunden und führen zu Komplexen anderer Stöchiometrie. Offensichtlich werden diese Gäste nicht im Innern des neuen Wirts eingeschlossen (**16**–**20**). Hierin unterscheidet sich **2** wesentlich vom Wirt **1**, der aufgrund seiner geräumigen Cavität nicht zwischen Aminosäuren und Adrenalinderivaten unterscheiden kann. Alle oben diskutierten Effekte bestätigen, dass der makrocyclische Wirt **2** Adrenalinderivate in Wasser/Methanol (1/1) durch mehrere nichtkovalente Wechselwirkungen erkennt. Hier ergänzen sich elektrostatische Anziehung, Wasserstoffbrücken, π -Stapelung und hydrophobe Kräfte.

Das hier vorgestellte Wirtmolekül für Adrenalin bindet selektiv dopaminförmige Gäste. Die Bindungskonstante in Wasser liegt dabei drei Größenordnungen unterhalb der des natürlichen Vorbilds (10^5 M^{-1}). Gegenwärtig optimieren wir die Wirtstruktur, indem starrere Elemente eingebaut werden, um eine noch bessere Präorganisation und Desolvatation zu erzielen.

Eingegangen am 26. März 2001 [Z16850]

[1] T. P. Iisma, T. J. Biden, J. Shine, *G Protein-Coupled Receptors*, Springer, Heidelberg, 1995.

[2] Neuere GPCR-Kristallstrukturen: a) E. Pebay-Peyroula, G. Rummel, J.-P. Rosenbusch, E. M. Landau, *Science* **1997**, 277, 1676; b) D. Doyle,

J. M. Cabral, R. A. Pfuetzner, A. Kuo, J. M. Gulbis, S. L. Cohen, B. T. Chait, R. Mackinnon, *Science* **1998**, 280, 69; c) K. Palczewski, T. Kumasaka, T. Hori, C. A. Behnke, H. Motoshima, B. A. Fox, I. Le Trong, D. C. Teller, T. Okada, R. O. Stenkamp, M. Yamamoto, M. Miyano, *Science* **2000**, 289, 739–745.

- [3] a) M. I. Rodriguez-Franco, P. San Lorenzo, A. Martinez, P. Navarro, *Tetrahedron* **1999**, 55, 2763; b) K. Odashima, K. Yagi, K. Tohda, Y. Umezawa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 2375; c) R. R. Makote, M. M. Collinson, *Chem. Mater.* **1998**, 10, 2440.
- [4] J. A. Gavin, M. E. Garcia, A. J. Benesi, T. E. Mallouk, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 7663–7669.
- [5] a) M.-F. Paugam, L. S. Valencia, B. Bogess, B. D. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 11203; b) M.-F. Paugam, J. T. Biens, B. D. Smith, A. J. Christoffels, F. de Jong, D. N. Reinhoudt, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 9820–9825; c) M. B. Inoue, E. F. Velazquez, M. Inoue, Q. Fernando, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1997**, 2113–2118.
- [6] T. Schrader, M. Herm, *Chem. Eur. J.* **2000**, 6, 47–53.
- [7] Im natürlichen β -Adrenalinrezeptor wird die Bindungsstelle durch eine cyclische Anordnung von sieben membranbranddurchspannenden α -Helices gebildet, welche eine recht hydrophobe Umgebung für den Adrenalingast schaffen: S. Trumpp-Kallmeyer, J. Hofack, A. Bruunvelds, M. Hibert, *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 3448–3462.
- [8] Molekülmechanikrechnungen: Cerius², Molecular Simulations Inc.; Kraftfeld Dreiding 2.21. Monte-Carlo-Simulationen und Moleküldynamikrechnungen: Macromodel 7.0, Schrödinger Inc., 2000; Kraftfeld Amber*. Eine 3000-Schritt-Monte-Carlo-Simulation wurde durchgeführt, an die sich eine Moleküldynamikrechnung (10 ps, 300 K) anschloss.
- [9] a) E. Negishi, A. O. King, N. Okukado, *J. Org. Chem.* **1977**, 42, 1821–1823; b) Übersichten: *Organozinc Reagents* (Hrsg.: P. Knochel, P. Jones), Oxford University Press, Oxford, 1999, S. 213–243; *Metal-Catalyzed Cross Coupling Reactions* (Hrsg.: F. Diederich, P. J. Stang), Wiley-VCH, Weinheim, 1998, S. 1–47.
- [10] a) P. Job, *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.* **1925**, 180, 928; b) M. T. Blanda, J. H. Horner, M. Newcomb, *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 4626.
- [11] Da sowohl die NOE-Wechselwirkungen zwischen OH- und NH-Protonen als auch die Diagonale ein negatives Vorzeichen aufweisen, können wir Austauschphänomene nicht a priori ausschließen. Es wurde jedoch kein Kreuzpeak für den Austausch zwischen Wasser und dem NH-Proton gefunden.
- [12] a) H. J. Schneider, R. Kramer, S. Simova, U. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 6442; b) C. S. Wilcox in *Frontiers in Supramolecular Chemistry* (Hrsg.: H. J. Schneider), VCH, Weinheim, 1991, S. 123.

Zwei Mechanismen für die langsame Wirt-Gast-Komplexierung zwischen Cucurbit[6]uril und Cyclohexylmethylamin: pH-abhängige supramolekulare Kinetik**

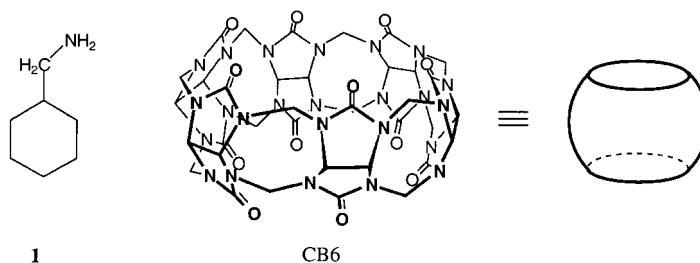
Cesar Marquez und Werner M. Nau*

Supramolekulare funktionelle Materialien sind zurzeit von großem Interesse.^[1–3] Für deren Eignung ist letztendlich entscheidend, insbesondere im Falle von potentiellen supramolekularen Maschinen, mit welcher Geschwindigkeit sie

[*] Prof. Dr. W. M. Nau, Dipl.-Chem. C. Marquez
Departement Chemie der Universität
Klingelbergstraße 80, 4056 Basel (Schweiz)
Fax: (+41) 61-267-3855
E-mail: Werner.Nau@unibas.ch

[**] Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Projekte 620-58000 und 4047-057552) im Rahmen des Nationalen Forschungsprogrammes „Supramolekulare funktionelle Materialien“ unterstützt.

arbeiten und funktionieren. Eine Vorhersage und Optimierung dieser Geschwindigkeit erfordert die Kenntnis der Reihenfolge und der Geschwindigkeitskonstanten der elementaren supramolekularen Prozesse. Hiermit beschäftigt sich das in der Entwicklung begriffene Gebiet der supramolekularen Kinetik.^[4] Wir haben vor kurzem eine Fluoreszenzsonde für die Messung der Wirt-Gast-Komplexierung mit Cyclodextrinen eingeführt^[5] und untersuchen in dieser Studie die Faktoren, die für das andere Extrem einer sehr langsamem Wirt-Gast-Komplexierungskinetik zwischen Cyclohexylmethylamin **1** und der Containerverbindung Cucurbit[6]uril (CB6) verantwortlich sind. Die Kinetik wies eine starke pH-Abhängigkeit auf. Es stellte sich jedoch heraus, dass die



1

Geschwindigkeitskonstanten nicht von der Thermodynamik der Komplexierung abhängen, sondern vom Ausmaß der Protonierung des Gastes. Die besondere pH-Abhängigkeit der Kinetik deutet darauf hin, dass die Wirt-Gast-Komplexierung über zwei Mechanismen abläuft, wobei der Eintritt des protonierten Gastes durch die Bildung eines Assoziationskomplexes verlangsamt wird. Der unprotonierte Guest dringt dagegen direkt in die Cavität ein, und zwar mit einer um einen Faktor 20 größeren Geschwindigkeitskonstanten. Eine derartige pH-Regulation einer supramolekularen Kinetik zwischen einem organischen Guest und einem Containermolekül als Wirt wurde bisher noch nicht beschrieben.

CB6 ist ein Glycoluril-Makrocyclus mit zwei „Kronen“ aus jeweils sechs Ureido-Carbonylgruppen an beiden Rändern, der sich zur Komplexierung organischer Ammoniumsalze über Ionen-Dipol-Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen eignet.^[6, 7] Man kann die kleinen Öffnungen des Hohlraums von CB6 als Einlasspforten betrachten, da deren Größe (ca. 4 Å)^[8] entscheidet, ob und wie rasch die Komplexierung vorstatten geht. Der innere, größere Hohlraum (5.5 Å breit und 6 Å hoch)^[8] eignet sich zur Aufnahme von nichtpolaren organischen Gästen durch stabilisierende van-der-Waals-Wechselwirkungen. CB6 ist eine wasserlösliche molekulare Containerverbindung^[9] mit molekularen Erkennungseigenschaften^[3] und bildet Komplexe, die denen von „Molecule-within-molecule“-Strukturen,^[10, 11] Hemicarceplexen^[12] und Caviplexen^[13] sehr ähnlich sind. Neben diesen Anwendungen wurde CB6 bereits erfolgreich als supramolekulare Komponente bei der Konstruktion von supramolekularen Schaltern,^[6] Polyrotaxanen^[14, 15] und Catenanen^[16] eingesetzt. Zudem wurde auch über Anwendungen zur Dekontamination von Wasser und Luft^[17] berichtet sowie über den Einsatz in fluoreszierenden Feststoffen.^[18] Es sollte auch erwähnt werden, dass Cucurbit[*n*]urile verschiedener Größe

($n = 5-8$)^[19] sowie ein permethyliertes Derivat charakterisiert worden sind.^[20]

Die Kinetik der Komplexierung von CB6 mit den meisten organischen Gästen ist langsam auf der NMR-Zeitskala, sodass zwei separate Signalgruppen beobachtet werden, die der komplexierten und der unkomplexierten Komponente zugeschrieben werden können.^[6, 9, 21] Auf diese Weise gelang es Mock et al., die Komplexierungskinetiken von Cycloalkylmethylaminen mit Hilfe eines Verdrängungs-Konkurrenz-Verfahrens sowie einer NMR-Koaleszenzmethode zu bestimmen (Tabelle 1).^[21] Das beobachtete Maximum der Bindungskonstante (K) für den mittelgroßen Guest Cyclobutylmethylamin deutet auf ein Wechselspiel zwischen stabilisierenden und abstoßenden van-der-Waals-Wechselwirkungen des Gastes mit den Hohlraumwänden hin. Interessanterweise haben wir nun auch eine Komplexierung von Cyclohexylmethylamin **1** nachweisen können, welches vorher für zu groß gehalten wurde, um gebunden zu werden.^[22] Für dieses größte Amin findet der Austausch innerhalb von Stunden bis Tagen

Tabelle 1. Eintritts- (k_{ingress}) und Austrittsgeschwindigkeitskonstanten (k_{egress}) sowie Bindungskonstanten ($K = k_{\text{ingress}}/k_{\text{egress}}$) für die Einschlusskomplexe zwischen CB6 als Wirt und Cycloalkylmethylaminen als Gäste.^[a]

Gast	k_{ingress} [M ⁻¹ s ⁻¹]	k_{egress} [s ⁻¹]	K [M ⁻¹]
Cyclopropylmethylamin ^[b]	$\geq 10^6$	$> 10^7$	1.5×10^4
Cyclobutylmethylamin ^[b]	5.9×10^3	1.6×10^{-2}	3.7×10^5
Cyclopentylmethylamin ^[b]	5.5×10^0	1.6×10^{-5}	3.3×10^5
Cyclohexylmethylamin 1 ^[c]	8.8×10^{-4}	1.1×10^{-5}	8.0×10^1

[a] ¹H-NMR-Spektroskopisch in D₂O/Ameisensäure (1/1, v/v) bei 40 °C bestimmt. [b] Daten aus Lit. [6, 21]. [c] Diese Arbeit; $c(\text{CB6}) = 3 \text{ mM}$, $c(\mathbf{1}) = 6 \text{ mM}$. Die Fehler der angegebenen Werte betragen 5 %. Werte in D₂O-Lösung mit 0.2 M Na₂SO₄ bei 40 °C und pH 7.0: $k_{\text{ingress}} = 8.2 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $k_{\text{egress}} = 7.3 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ und $K = 1.1 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$.

statt. Somit kann die Kinetik in der klassischen Weise, also durch Aufnahme von Spektren zu verschiedenen Zeiten, direkt verfolgt werden, sodass eine indirekte Messung über Koaleszenz oder Konkurrenzreaktionen^[21] überflüssig wird.

Die Tatsache, dass die Komplexierungskinetik von CB6 (Tabelle 1), welches nur zwei enge Öffnungen hat, viel langsamer ist als diejenige von Wirtverbindungen mit größeren Öffnungen wie Cyclodextrinen^[5] oder Calixarenen^[23] deutet auf eine physikalische (sterische) Barriere bei der Komplexierung und Dekomplexierung hin. Die Geschwindigkeitskonstanten für den Eintritt (k_{ingress}) und Austritt (k_{egress}) ähneln denjenigen, die für einige Hemicarceranden erhalten wurden, bei denen der Eintritt des Guests durch die Einlassöffnung ebenfalls geschwindigkeitsbestimmend ist.^[24-29] Eine derartige *konstriktive Bindung*^[30] kann auch für CB6 angenommen werden, welches Hemicarceranden bezüglich der Größe der Öffnungen sehr ähnelt (ca. 4 Å).^[6, 21, 22] Diese Annahme wird durch die beobachtete Abnahme der k_{ingress} -Werte mit zunehmendem sterischen Anspruch des Guests (Tabelle 1) und der leichten Abnahme des k_{egress} -Wertes beim Übergang von Cyclopentylmethylamin zum größeren Cyclohexylmethylamin (Tabelle 1) gestützt. Letzteres war angeichts der Bindungskonstanten dieser beiden Amine ein unerwartetes Ergebnis.

Die Untersuchung von Geschwindigkeitskonstanten unter veränderten Reaktionsbedingungen ist ein wichtiges mechanistisches Hilfsmittel. Wir haben die pH-Abhängigkeit von k_{ingress} und k_{egress} für **1** im Detail analysiert und diese mit den Bindungskonstanten (K) verglichen, welche aus den Gleichgewichtskonzentrationen bei genügend langen Zeiten erhalten werden (Tabelle 2, Abbildung 1). Das Experiment konnte

Tabelle 2. Eintritts- (k_{ingress}) und Austrittsgeschwindigkeitskonstanten (k_{egress}) sowie Bindungskonstanten ($K = k_{\text{ingress}}/k_{\text{egress}}$) für die Einschlusskomplexe zwischen CB6 und **1** in Abhängigkeit vom pH-Wert.^[a]

pH	$10^4 k_{\text{ingress}}$ [$\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$]	$10^6 k_{\text{egress}}$ [s^{-1}]	K [M^{-1}]
0.6	0.18	0.49	37
1.6	4.0	3.1	130
2.4	6.5	4.0	165
3.6	7.6	4.6	165
4.2	7.6	4.5	170
4.8	8.1	4.9	165
6.0	8.1	4.8	170
7.5	8.1	4.8	170
8.2	8.7	5.2	170
8.6	9.7	5.7	170
10.0	52	30	170
11.0	110	92	120
12.2	140	1100	13
14.0	145 ^[b]	1450 ^[b]	10 ^[b]

[a] ^1H -NMR-Spektroskopisch in D_2O bei Raumtemperatur mit $c(\text{CB6}) = 3 \text{ mM}$ und $c(\mathbf{1}) = 6 \text{ mM}$ bestimmt. Der pH-Wert wurde durch Zugabe von D_2SO_4 - oder NaOH -Lösungen eingestellt. Die Natrium-Gesamtkonzentration wurde durch Zugabe entsprechender Mengen Na_2SO_4 auf 0.2 M eingestellt, um eine ausreichende Löslichkeit von CB6 zu gewährleisten. Die Fehler der angegebenen Werte betragen 5 %. [b] Extrapoliert durch Anpassung der Gleichungen (1) und (2) an die experimentellen Daten, siehe Text.

aufgrund zu schwacher Bindung, einer sehr raschen Kinetik und der konkurrierenden Bindung von Natriumionen bei sehr hohen NaOH -Konzentrationen^[13] nicht bei sehr hohen pH-Werten durchgeführt werden. Die pH-Abhängigkeit der Bindungskonstanten (Abbildung 1b) kann in einfacher Weise erklärt werden. Der Komplex ist aufgrund der Protonierung von CB6^[13] bei niedrigen pH-Werten (< 2) destabilisiert, wodurch sich die Triebkraft zur Komplexierung von organischen Ammoniumsalzen verringert. Aber auch bei hohen pH-Werten (> 11) kommt es zu einer Destabilisierung des Komplexes, da der Ammoniumkomplex zum Aminkomplex deprotoniert wird und letzterem die stabilisierenden Ionen-Dipol-Wechselwirkungen mit den Ureido-Carbonylgruppen von CB6 fehlen. Zwischen den beiden extremen pH-Werten erreicht die Bindungskonstante einen Plateauwert von 170 M^{-1} .

Die k_{ingress} - und k_{egress} -Werte decken einen Bereich von mehr als zwei Größenordnungen ab. Allerdings stellte sich heraus, dass k_{ingress} nicht von der Triebkraft der Komplexierung abhängt. Die Daten bei hohen pH-Werten zeigen, dass das Amin den größeren k_{ingress} -Wert hat, obwohl dessen Komplex eine niedrigere Bindungskonstante aufweist. Ein schlagartiger Anstieg tritt jenseits von pH 10 auf. Daher war das Gleichgewicht für die Bildung des Einschlusskomplexes bei pH 7.5 erst nach einer Woche erreicht, bei pH 10.0 dagegen

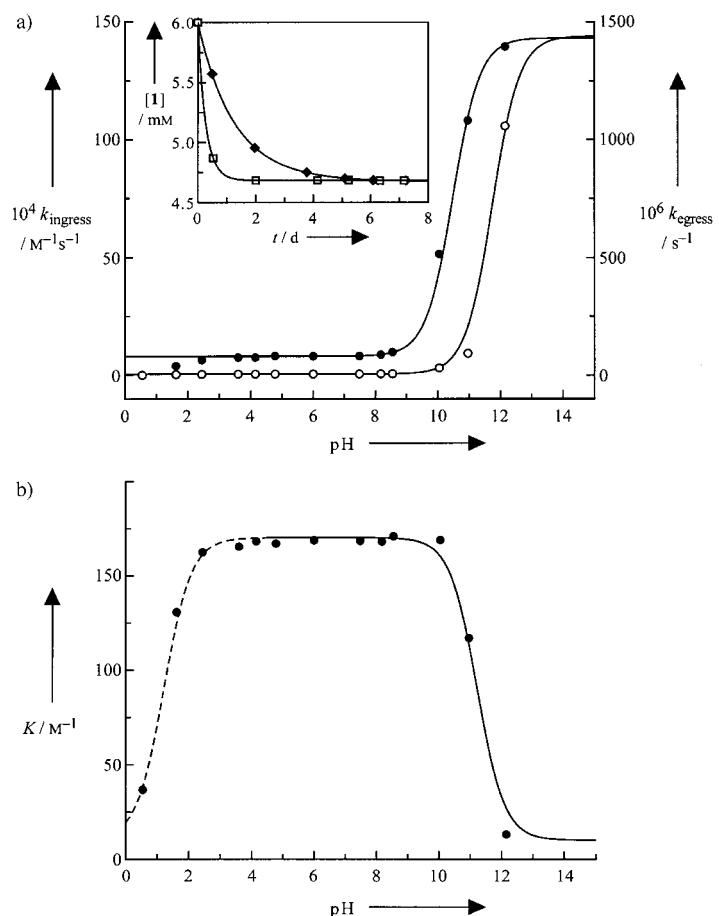
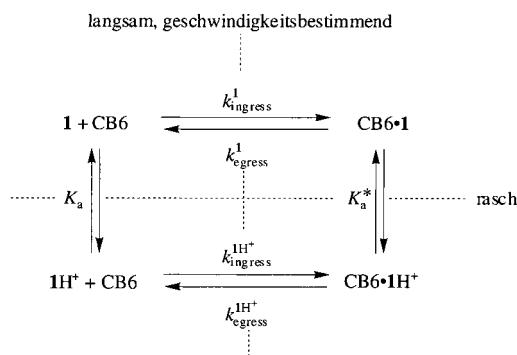


Abbildung 1. pH-Abhängigkeit der kinetischen und thermodynamischen Parameter der Komplexierung zwischen CB6 und **1** (Tabelle 2): a) Auftragung der Eintritts- (k_{ingress} , ●, linke Skala) und Austrittsgeschwindigkeitskonstanten (k_{egress} , ○, rechte Skala) gegen den pH-Wert. Die Abweichung der drei Datenpunkte bei dem niedrigsten pH-Werten ist auf eine kompetitive Protonierung von CB6 zurückzuführen, siehe Text; diese Datenpunkte wurden in den Regressionsanalysen gemäß Gleichungen (1) und (2) (interpolierte Kurven) nicht berücksichtigt. Der Einschub zeigt repräsentative kinetische Kurven bei pH 7.5 (●) und pH 10.0 (○). b) Auftragung der Bindungskonstanten ($K = k_{\text{ingress}}/k_{\text{egress}}$) gegen den pH-Wert.

bereits nach einigen Stunden (Einschub in Abbildung 1a). Demgegenüber lief die Freisetzung des Gastes aus dem Komplex in verdünnter Lösung bei pH 7 mit einer Halbwertszeit von ca. 40 h ab, während bei pH 11 lediglich 2 h erforderlich waren, wobei sich die Thermodynamik der Komplexierung in diesem pH-Bereich kaum ändert.

Die sprunghaften Änderungen der kinetischen Parameter treten in der Nähe des $\text{p}K_a$ -Wertes von **1** auf. Dieser beträgt ^1H -NMR-Messungen zufolge 10.50, was in guter Übereinstimmung mit einem früheren Wert ist.^[31] Es lag daher nahe, eine Konkurrenz der Ein- und Austrittsprozesse zwischen dem protonierten und dem unprotonierten Amin sowie dessen Komplex gemäß Schema 1 anzunehmen. Die Ein- und Austrittsprozesse sind hierbei langsam und geschwindigkeitsbestimmend, während sich die Protonierungsge wichtes des freien Amins (K_a) und des Komplexes (K_a^*) rasch einstellen. Das steht im Einklang mit dem Befund, dass sich die protonierten und unprotonierten Spezies auf der NMR-Zeitskala in einem dynamischen Gleichgewicht befinden. Die



Schema 1. Kinetik des Ein- und Austritts und der Säure-Base-Gleichgewichte in der Komplexierung von **1** und seiner Ammoniumform **1H⁺** mit CB6.

größeren k_{ingress} - und k_{egress} -Werte bei höheren pH-Werten signalisieren, dass die Aminform (**1**) schneller in CB6 eintritt und auch daraus austritt als die Ammoniumform (**1H⁺**). Gemäß Schema 1 können die gemessenen k_{ingress} - und k_{egress} -Werte als Summe der Geschwindigkeitskonstanten für den Eintritt und Austritt der protonierten ($k_{\text{ingress}}^{\text{H}^+}$, $k_{\text{egress}}^{\text{H}^+}$) und der unprotonierten Form (k_{ingress}^1 , k_{egress}^1) ausgedrückt werden, wobei jede mit dem Anteil der betreffenden Konzentration bei einem bestimmten pH-Wert zu gewichten ist [Gl. (1), (2)].

$$k_{\text{ingress}} = \frac{[\text{1H}^+]}{[\text{1H}^+] + [\text{1}]} k_{\text{ingress}}^{\text{H}^+} + \frac{[\text{1}]}{[\text{1H}^+] + [\text{1}]} k_{\text{ingress}}^1 \quad (1)$$

$$= \left(\frac{[\text{H}^+]}{K_a + [\text{H}^+]} \right) k_{\text{ingress}}^{\text{H}^+} + \frac{K_a}{K_a + [\text{H}^+]} k_{\text{ingress}}^1$$

$$k_{\text{egress}} = \frac{[\text{CB6} \cdot \text{1H}^+]}{[\text{CB6} \cdot \text{1H}^+] + [\text{CB6} \cdot \text{1}]} k_{\text{egress}}^{\text{H}^+} + \frac{[\text{CB6} \cdot \text{1}]}{[\text{CB6} \cdot \text{1H}^+] + [\text{CB6} \cdot \text{1}]} k_{\text{egress}}^1 \quad (2)$$

$$= \left(\frac{[\text{H}^+]}{K_a^* + [\text{H}^+]} \right) k_{\text{egress}}^{\text{H}^+} + \frac{K_a^*}{K_a^* + [\text{H}^+]} k_{\text{egress}}^1$$

Gleichung (1) kann direkt an die experimentellen k_{ingress} -Werte angepasst werden, wobei man den bekannten pK_a -Wert von **1** verwenden kann. Die durch Anpassung der Gleichungen erhaltene Kurve in Abbildung 1a liefert einen Wert von $0.0145 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ für die Eintrittsgeschwindigkeitskonstante des freien Amins (k_{ingress}^1), die damit nahezu 20-mal größer ist als die der Ammoniumform ($k_{\text{ingress}}^{\text{H}^+} = 8.0 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Gleichung (2) kann an die experimentellen k_{egress} -Werte angepasst werden, sofern der unbekannte K_a^* -Wert des Komplexes gemäß dem thermodynamischen Kreisprozess in Schema 1 ausgedrückt wird [Gl. (3)].

$$K_a^* = \frac{k_{\text{ingress}}^1 k_{\text{egress}}^{\text{H}^+}}{k_{\text{egress}}^1 k_{\text{ingress}}^{\text{H}^+}} K_a \quad (3)$$

Einsetzen von Gleichung (3) in Gleichung (2) und die Verwendung der bekannten Werte für K_a , k_{ingress}^1 und $k_{\text{ingress}}^{\text{H}^+}$ erlaubt eine hervorragende Kurvenanpassung (Abbildung 1a), und man erhält Werte für die Austrittsgeschwindigkeitskonstanten des Amin- und des Ammoniumkomplexes, k_{egress}^1 und $k_{\text{egress}}^{\text{H}^+}$, von 1.45×10^{-3} bzw. $4.7 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$. Das Verhältnis der Geschwindigkeitskonstanten für das freie Amin ($k_{\text{ingress}}^1/k_{\text{egress}}^1$) liefert eine niedrige Bindungskonstante von 10 M^{-1} für den unprotonierten Komplex. Die kinetischen

und thermodynamischen Konstanten des freien Amins sind in Tabelle 2 als extrapolierte Werte für pH 14 eingetragen. Diese Werte können nun in Gleichung (3) eingesetzt werden und liefern einen pK_a^* -Wert von 11.75 für den CB6-Komplex. Dieser Wert liegt mehr als eine Einheit über dem des freien Amins. Es ist erwähnenswert, dass es sich bei den angepassten pH-Geschwindigkeitsprofilen in Abbildung 1a de facto um Titrationskurven handelt, aus denen die betreffenden pK_a -Werte und Geschwindigkeitskonstanten (Plateauwerte) direkt abgelesen werden können. Die Zunahme des pK_a -Wertes bei der Komplexierung (von 10.50 auf 11.75) ist aufgrund der zusätzlichen Stabilisierung der Ammoniumform durch Ionen-Dipol-Wechselwirkungen im Komplex durchaus erwartet. Derartige komplexierungsinduzierte Verschiebungen des pK_a -Werts von Ammoniumionen sind nicht nur in der supramolekularen Chemie, sondern auch in biomolekularen Systemen von großer Bedeutung.^[32]

Das gesamte Phänomen kann qualitativ im Sinne eines Wechsels des bevorzugten Komplexierungs- und Dekomplexierungsweges verstanden werden (Schema 1). Bei niedrigem pH-Wert dominieren die Komplexierung der freien Ammoniumform und die Dekomplexierung des Ammoniumkomplexes. Oberhalb von pH 10 läuft die Komplexierung hauptsächlich über das freie Amin ab, aber erst oberhalb von pH 11 gewinnt die Dekomplexierung des Aminkomplexes an Bedeutung und bestimmt dann die Austrittsgeschwindigkeit. Wie man aus dem Vergleich der pH-Abhängigkeit der kinetischen und der thermodynamischen Daten erkennen kann (Abbildung 1a bzw. b), existiert ein sehr schmaler Bereich zwischen pH 10 und 11, in dem die Bindungskonstante den Werten bei niedrigeren pH-Werten ähnelt, während die kinetischen Parameter schlagartig ansteigen. Aus kinetischer Sicht ist es daher empfehlenswert, die Komplexierung bei $\text{pH} \approx pK_a$ durchzuführen. Die Kenntnis derartiger Protonierungseffekte ist von großer Bedeutung, da Amino- und Ammoniumgruppen in der supramolekularen Chemie sehr häufig angetroffen werden.^[11, 33–35]

Die Tatsache, dass die Bindungskonstante in einem Bereich groß bleibt, in dem das Amin zum größten Teil deprotoniert vorliegt, ist eine Folge des höheren pK_a^* -Wertes des Komplexes. Dementsprechend erfolgt die Komplexbildung zwischen pH 10 und 11 nicht über eine direkte Komplexierung der verbleibenden Ammoniumionen, sondern über eine rasche Komplexierung des Amins, der eine unverzügliche Protonierung des basischeren Komplexes folgt (Schema 1). Unterhalb von pH 11 ist der Komplex zum Großteil protoniert, sodass k_{egress} nahezu konstant bleibt. Erst bei höheren pH-Werten kommt es zu einer signifikanten Deprotonierung des Komplexes, die in einer Zunahme von k_{egress} und damit einhergehend einer Abnahme der Bindungskonstanten resultiert. Für das vorliegende System bleibt die Bindungskonstante in dem Bereich, in dem k_{ingress} stark ansteigt, unverändert. Mit dem allgemeinen Reaktionsmechanismus in Schema 1 kann allerdings auch prinzipiell eine Zunahme der Bindungskonstanten in der $\text{pH} \approx pK_a$ -Region erklärt werden, sofern $pK_a^* \gg pK_a$ gilt.

Der niedrigere k_{egress} -Wert der Ammoniumform steht mit dessen höherer Bindungskonstanten in Einklang. Dagegen entspricht der niedrigere k_{ingress} -Wert der Ammoniumform

nicht den thermodynamischen Erwartungen. Eine mechanistische Erklärung muss berücksichtigen, dass sowohl das Ausmaß der Protonierung der Aminogruppe (Tabelle 2) als auch die Größe des organischen Restes (Tabelle 1) die Kinetik beeinflussen. Basierend auf den Ergebnissen von Moleküldynamikrechnungen^[36] schlagen wir daher die Reaktionsmechanismen in Schema 2 vor.

Demnach dringt das Amin direkt mit seinem organischen Rest in den unpolaren Hohlraum ein. Diesen Weg schlägt das Ammoniumion nicht ein, da es sehr rasch einen intermediären Assoziationskomplex bildet, in dem die Ammoniumgruppe durch die Ureido-Carbonylgruppen am Rand von CB6 koordiniert ist, während der organische Rest noch immer der wässrigen Phase ausgesetzt ist.^[37] Der nachfolgende geschwindigkeitsbestimmende Eintritt des organischen Restes beinhaltet einen Umklappprozess, d.h., er verläuft über einen anderen Übergangszustand. Dieser Übergangszustand der Umwandlung des Assoziations- in den Einschluskomplex erfordert eine merkliche Verzerrung der Öffnung, was diesen Prozess gegenüber demjenigen mit dem Amin verlangsamt, aber einen vollständigen Verlust der stabilisierenden Ionen-Dipol-Wechselwirkungen verhindert, da das Ammoniumion zumindest noch teilweise durch die Carbonylgruppen koordiniert bleiben kann. Typische berechnete Strukturen für den Eintritt der Amin- und Ammoniumform sind in Abbildung 2

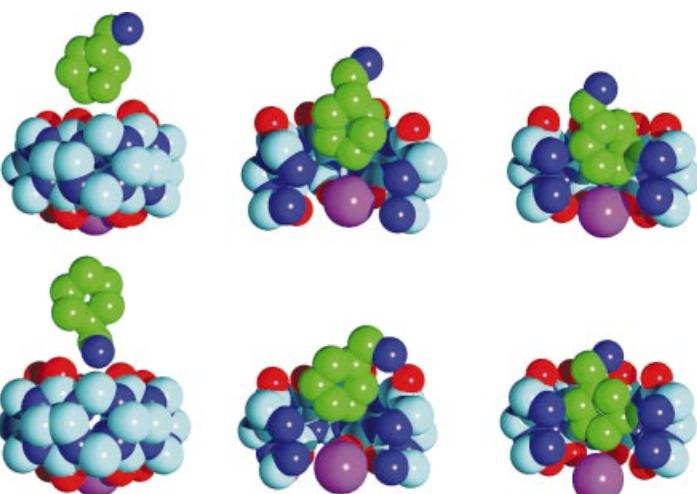
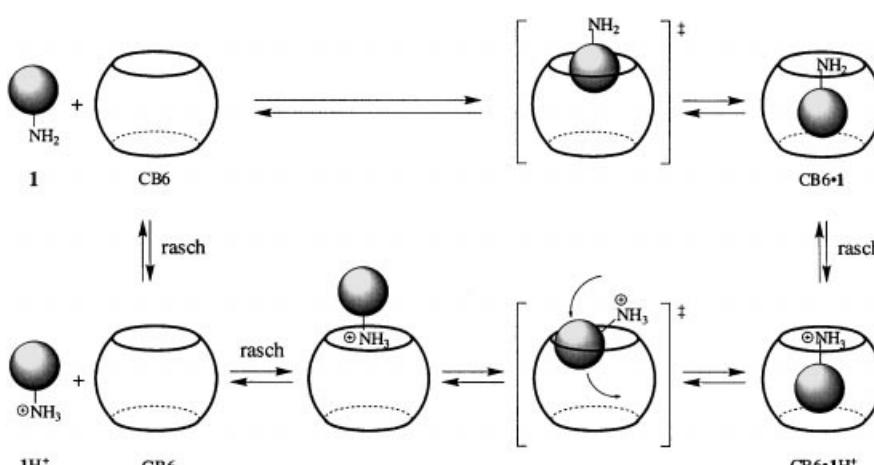


Abbildung 2. Repräsentative Strukturen aus Moleküldynamikrechnungen, die das Eindringen von unprotoniertem (oben) und protoniertem **1** (unten) in CB6 zeigen. Die Strukturen in der Mitte und auf der rechten Seite sind als Schnitte dargestellt. Die Rechnungen wurden mit einem an der unteren Öffnung komplexierten Natriumkation durchgeführt; dieses ist aus experimentellen Gründen erforderlich, um die Löslichkeit des Gastes zu verbessern. Beachtenswert ist, dass beim Eindringen des Ammoniums (unten) die Ionen-Dipol-Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen zu den Carbonylgruppen am CB6-Rand aufrechterhalten werden, während dies beim Amin (oben) nicht der Fall ist.



Schema 2. Vorgeschlagene Mechanismen für die Komplexierung von **1** und 1H^+ mit CB6.

gezeigt. Die Beteiligung von verschiedenen Übergangszuständen wird insbesondere auch durch die Austrittsgeschwindigkeitskonstanten gestützt, die sich um mehr als einen Faktor 300 für den protonierten und den unprotonierten Komplex unterscheiden. Dieser Unterschied kann nicht in vollem Umfang auf Unterschiede in den Grundzustandsenergien zurückgeführt werden ($K_a/K_a^* \approx 18$), sodass man zusätzlich unterschiedliche Übergangzustandsenergien annehmen muss.

Alternative Erklärungen für die beobachteten kinetischen Effekte wurden ebenfalls in Betracht gezogen. Eine unterschiedlich rasche Desolvatation der Amin- und der Ammoniumform kann nicht für die beobachteten Geschwindigkeiten entscheidend sein, da Ionen und Lösungsmittelmoleküle in Nano- bis Mikrosekunden ausgetauscht werden, wie für die

raschen Komplexierungsgleichgewichte von Kronenethern mit anorganischen Kationen, einschließlich Ammonium, bekannt ist.^[38] Die Assoziationskomplexe sollten also Teil eines raschen vorgelegerten Gleichgewichtes sein, unterscheiden sich aber spektroskopisch nicht genügend, um direkt nachgewiesen werden zu können. Zudem wurde die Möglichkeit untersucht, dass die Bildung des Assoziationskomplexes die Konzentration von freiem Amin und unkomplexiertem CB6 herabsetzt und auf diese Weise die Kinetik verlangsamt. In diesem Falle lagert sich der Assoziationskomplex nicht in den Einschluskomplex um, sondern stellt praktisch eine

Sackgasse dar und dient lediglich als Reservoir. Damit allerdings ein derartiger Reservoireffekt die beobachtete Erniedrigung der Eintrittsgeschwindigkeitskonstante (um den Faktor 20) erklären kann, muss die Bindungskonstante des Assoziationskomplexes viel größer als die des Einschluskomplexes sein, was der angenommenen schwachen Bindung in diesen Assoziationskomplexen widerspricht.^[37] Auch kann ein Reservoireffekt nicht die große Abnahme der unimolekularen Austrittsgeschwindigkeitskonstanten erklären, da diese größer ist als man aufgrund der Grundzustandsenergiedifferenz erwarten würde (siehe oben). Ein andersartiger Übergangszustand, wie der in Schema 2 vorgeschlagene, ist daher erforderlich. Es ist zu beachten, dass die kinetische Behandlung gemäß Gleichung (1) und (2) trotz der Verfeinerung des Mechanismus in Schema 2 nicht verändert werden

muss, solange der Assoziationskomplex in einem raschen vorgelagerten Gleichgewicht gebildet wird.

Eine interessante Implikation dieser mechanistischen Besonderheit besteht darin, dass die Ionen-Dipol-Wechselwirkungen, die den Komplex thermodynamisch stabilisieren, die Komplexierungskinetik durch die Bildung eines intermediären Assoziationskomplexes verlangsamen. Dessen Bildung verhindert eine direkte Einlagerung. Ein eng verwandter Fall, bei dem ein derartiger Assoziationskomplex die Kinetik einer Komplexierung ebenfalls verlangsamt, wurde von Rebek et al. für die langsame Komplexierung von Organoquecksilberverbindungen mit Kronenethern beschrieben.^[39] Es ist offensichtlich, dass die mechanistischen Details der elementaren Reaktionsschritte, die durch Messungen von Geschwindigkeitskonstanten unter verschiedenen Reaktionsbedingungen zugänglich werden, für das Verständnis und die Optimierung der Kinetik und Thermodynamik von supramolekularen Prozessen unabdingbar sind. Viele supramolekulare Aggregate basieren auf einer Kombination von verschiedenen nichtkovalenten Wechselwirkungen wie van-der-Waals-Kräften, Wasserstoffbrückenbindungen, π,π -Wechselwirkungen, Charge-Transfer-Stabilisierung oder Ionen-Dipol-Anziehung.^[1-3] Wie hier repräsentativ für ein Wirt-Gast-System gezeigt wurde, in dem Ionen-Dipol- und van-der-Waals-Wechselwirkungen sowie sterische Hinderung eine Rolle spielen, sind die relativen Geschwindigkeitskonstanten der Prozesse, die von einer dieser Wechselwirkungen abhängen, und die Reihenfolge, in der sie ablaufen, wesentliche Kriterien für das Design supramolekularer Systeme.

Wir kehren nun wieder auf den ursprünglichen Zusammenhang der supramolekularen *Funktionalität* zurück und stellen fest, dass wir experimentelle Belege dafür erhalten haben, dass die hier untersuchte Funktion (Einlagerung eines organischen Ammoniumions in CB6) nicht nur „an- und ausgeschaltet“ werden kann (Abbildung 1b), sondern dass auch die Geschwindigkeit dieses Prozesses innerhalb einer Größenordnung durch Einstellung des pH-Wertes „justiert“ werden kann (Abbildung 1a). Dieses Wirt-Gast-System kann als ein Modell für einen pH-abhängigen *kinetischen Regler* betrachtet werden, der von einem thermodynamischen Schalter zu unterscheiden ist. Eine kinetische Regulation von supramolekularen Funktionen kann unabdingbar sein, z. B. im Falle von supramolekularem Wirkstofftransport,^[40] um eine beschleunigte oder verlangsamte Freisetzung innerhalb von Stunden oder Wochen durch natürliche oder externe Stimuli zu erreichen. Vor diesem Hintergrund sind der pH-anhängige Gastaustausch von CB6 auf dieser attraktiven, allerdings selten angetroffenen Zeitskala^[28, 34, 41] als auch die Wasserlöslichkeit von CB6 bei physiologischen Elektrolytkonzentrationen viel versprechende Eigenschaften.

Experimentelles

Das Cyclohexylmethylammoniumsalz wurde aus dem käuflichen Amin (Fluka) durch Ausfällung mit Diethylether nach Zugabe von D_2SO_4 erhalten. CB6 wurde von Merck, Ameisensäure, NaOH und Na_2SO_4 (alle >98 %) von Fluka bezogen. D_2O (Glaser AG, Basel, Schweiz, >99.8 %) wurde als Lösungsmittel für alle Messungen eingesetzt. Die NMR-Spektren wurden zu verschiedenen Zeiten nach Probenbereitung mit

einem Bruker-DPX-400MHz-Avance-Spektrometer aufgenommen, und die Datenanalyse wurde mit dem SwaN-MR-Programm durchgeführt.^[42]

Kinetische Analyse: Die Kinetik war mit einer reversiblen 1:1-Wirt-Gast-Komplexierung in Einklang. Wegen der eingeschränkten Löslichkeit von CB6 in nichtsaurer Lösung und der relativ geringen Empfindlichkeit der NMR-Integrationsmethode war es nicht möglich, kinetische Bedingungen pseudo-erster-Ordnung einzustellen. Wir haben die von Mauser^[43] beschriebene Methode verwendet, um die Geschwindigkeitskonstanten für den Eintritt und Austritt unter kinetischen Bedingungen zweiter Ordnung zu erhalten. Die Abnahme der Konzentration des Gastes, die am exaktesten verfolgt werden konnte, ist durch die Gleichungen (4) und (5)

$$[\text{Gast}] = [\text{Gast}]_0 - \frac{([\text{Gast}]_0 - [\text{Gast}]_\infty)re^{-rt}}{r + k_{\text{ingress}}([\text{Gast}]_0 - [\text{Gast}]_\infty)(re^{-rt} - 1)} \quad (4)$$

$$r = \sqrt{(k_{\text{egress}} + k_{\text{ingress}}([\text{Wirt}]_0 - [\text{Gast}]_0))^2 + 4k_{\text{ingress}}k_{\text{egress}}[\text{Gast}]_0} \quad (5)$$

gegeben, die für die verwendeten Bedingungen zutreffen, d. h. $[\text{Gast}]_0 + [\text{Wirt}]_0$ und $[\text{Komplex}]_0 = 0$. Hierbei sind die Konzentrationen von Wirt und Gast die Summe der Konzentrationen von protonierten und unprotonierten Formen, die sich in einem bezüglich der NMR-Zeitskala dynamischen Gleichgewicht befinden. Die Kinetik wurde verfolgt, bis keine weitere Konzentrationsänderung mehr festgestellt werden konnte. Eine nicht-lineare Kleinste-Quadrat-Anpassung an die experimentellen Daten lieferte die betreffenden Geschwindigkeitskonstanten und Bindungskonstanten in Tabelle 2.

Eingegangen am 17. April 2001 [Z 16955]

- [1] V. Balzani, A. Credi, F. M. Raymo, J. F. Stoddart, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 3484–3530; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3348–3391.
- [2] J.-P. Sauvage, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 611–619.
- [3] J.-M. Lehn, *Supramolecular Chemistry*, VCH, Weinheim, **1995**.
- [4] S. Petrucci, E. M. Eyring, G. Konya in *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Hrsg.: J. E. D. Davies, J. A. Ripmeester), Elsevier, Oxford, **1996**, S. 483–497.
- [5] W. M. Nau, X. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8022–8032.
- [6] W. L. Mock in *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Hrsg.: F. Vögtle), Elsevier, Oxford, **1996**, S. 477–493.
- [7] J. A. A. W. Elemans, A. E. Rowan, R. J. M. Nolte, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2000**, *39*, 3419–3428.
- [8] W. A. Freeman, W. L. Mock, N. Y. Shih, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 7367–7368.
- [9] Y. M. Jeon, J. Kim, D. Whang, K. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9790–9791.
- [10] F. C. Tucci, A. R. Renslo, D. M. Rudkevich, J. Rebek, Jr., *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1118–1121; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1076–1079.
- [11] P. L. Wash, A. R. Renslo, J. Rebek, Jr., *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 1261–1262; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1221–1222.
- [12] D. J. Cram, *Nature* **1992**, *356*, 29–36.
- [13] H. J. Buschmann, E. Cleve, E. Schollmeyer, *Inorg. Chim. Acta* **1992**, *193*, 93–97.
- [14] C. Meschke, H. J. Buschmann, E. Schollmeyer, *Polymer* **1998**, *40*, 945–949.
- [15] E. Lee, J. Heo, K. Kim, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 2811–2813; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2699–2701.
- [16] S. G. Roh, K. M. Park, G. J. Park, S. Sakamoto, K. Yamaguchi, K. Kim, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 671–675; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 637–641.
- [17] H. J. Buschmann, K. Jansen, E. Schollmeyer, *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2000**, *37*, 231–236.
- [18] B. D. Wagner, A. I. MacRae, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 10114–10119.
- [19] J. Kim, I. S. Jung, S. Y. Kim, E. Lee, J. K. Kang, S. Sakamoto, K. Yamaguchi, K. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 540–541.
- [20] A. Flinn, G. C. Hough, J. F. Stoddart, D. J. Williams, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1550–1551; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1475–1477.

- [21] W. L. Mock, N. Y. Shih, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 2697–2699.
- [22] W. L. Mock, N. Y. Shih, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4440–4446.
- [23] P. Franchi, M. Lucarini, G. F. Pedulli, D. Sciotto, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 269–272; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 263–266.
- [24] Y.-S. Byun, O. Vadhat, M. T. Blanda, C. B. Knobler, D. J. Cram, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 1825–1827.
- [25] C. Sheu, K. N. Houk, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8056–8070.
- [26] P. D. Kirchhoff, M. B. Bass, B. A. Hanks, J. M. Briggs, A. Collet, J. A. McCammon, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3237–3246.
- [27] K. N. Houk, K. Nakamura, C. Sheu, A. E. Keating, *Science* **1996**, *273*, 627–629.
- [28] J. Yoon, D. J. Cram, *Chem. Commun.* **1997**, 1505–1506.
- [29] R. C. Helgeson, C. B. Knobler, D. J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 3229–3244.
- [30] D. J. Cram, M. T. Blanda, K. Paek, C. B. Knobler, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7765–7773.
- [31] G. Girault-Vexlearschi, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1956**, 577–613.
- [32] J. Rao, I. J. Colton, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9336–9340.
- [33] W. Herrmann, B. Keller, G. Wenz, *Macromolecules* **1997**, *30*, 4966–4972.
- [34] S. Chiu, S. J. Rowan, S. J. Cantrill, P. T. Glink, R. L. Garrell, J. F. Stoddart, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3631–3634.
- [35] M. Ghosh, R. Zhang, R. G. Lawler, C. T. Seto, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 735–741.
- [36] Die Rechnungen wurden *in vacuo* mit dem Programm HyperChem 6.0, Hypercube Inc., und dem implementierten Kraftfeld MM+ mit dem zugehörigen Parametersatz durchgeführt. Die Anfangsgeometrien der Einschluskomplexe wurden über eine Konformationssuche mit AM1-berechneten Atomladungen optimiert. In den Moleküldynamikrechnungen wurde der Austritt aus dem optimierten Komplex untersucht, wobei für den Eintrittsprozess eine mikroskopische Reversibilität angenommen wurde. Bei einer konstanten Simulationstemperatur von 398 K, die erforderlich war, um innerhalb einer akzeptablen Simulationszeit die Reaktion zu verfolgen, einer Badrelaxationszeit von 0.1 ps und einer Schrittgröße von 1 fs war der Prozess innerhalb einer Simulationszeit von 2 ps abgeschlossen. Das Ausmaß der Bindung der Ammoniumgruppe durch die Carbonylgruppen am CB6-Rand wird in den Gasphasenberechnungen überschätzt. Allerdings weisen die Bindungskonstanten der Assoziationskomplexe in wässriger Lösung signifikant große Werte auf,^[37] was darauf hindeutet, dass Solvatationseffekte diese Bindung nicht vollständig aufheben.
- [37] R. Hoffmann, W. Knoche, C. Fenn, H. J. Buschmann, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1994**, *90*, 1507–1511.
- [38] G. W. Liesegang, M. M. Farrow, F. A. Vazquez, N. Purdie, E. M. Eyring, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 3240–3243.
- [39] J. Rebek, Jr., S. V. Luis, L. R. Marshall, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 5011–5012.
- [40] G. Wenz, *Clin. Drug Invest.* **2000**, *19*, 21–25.
- [41] T. Haino, D. M. Rudkevich, J. Rebek, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11253–11254.
- [42] SwaN-MR 3.2.0, Menarini Ricerche S.p.A, Florenz (Italien).
- [43] H. Mauser, *Formale Kinetik*, Bertelsmann Universitätsverlag, Düsseldorf, **1974**.

Von Split-Pool-Molekülbibliotheken zu räumlich adressierbaren Mikro-Arrays und deren Einsatz in der funktionellen Proteomik**

Nicolas Winssinger, Jennifer L. Harris,
Bradley J. Backes und Peter G. Schultz*

Zur Untersuchung zellulärer, das gesamte Genom umfassender Vorgänge wurden bereits zahlreiche Verfahren entwickelt. Oligonucleotid-Arrays liefern wichtige Informationen über Änderungen des mRNA-Expressionsniveaus als Antwort auf eine Reihe von physiologischen Stimuli.^[1, 2] Zweidimensionale Gelelektrophorese^[3] sowie andere chromatographische Trennverfahren ermöglichen in Kombination mit der Massenspektrometrie^[4] eine direktere Analyse von Proteom-Funktionen.^[5] Auch zur Genom-umfassenden Analyse von Proteinstrukturen wurden bereits Verfahren entwickelt.^[6] Zielgerichtete Untersuchungen von Protein-Funktionen führten zur Kartierung von Protein-Protein-^[7] und Protein-DNA-Wechselwirkungen^[8] und gelten als Wegbereiter der Entwicklung von Proteinchips.^[9] Methoden, mit denen die katalytische Aktivität von Proteinen eines gesamten Genoms festgestellt werden kann, liefern auch entscheidende Erkenntnisse über zelluläre Aktivitäten.^[10, 11]

Niedermolekulare organische Verbindungen werden bereits seit geraumer Zeit als Agonisten oder Antagonisten von Rezeptoren sowohl zur Analyse und Steuerung der katalytischen Aktivität von Enzymen als auch zur Modulierung biologischer Netzwerke eingesetzt.^[12] Demnach sind Mikro-Arrays mit niedermolekularen Inhibitoren oder Substraten ein Instrument zur Charakterisierung zellulärer Aktivitäten. Um zwischen mehr als 30 000 potentiellen Genprodukten im Menschen unterscheiden zu können, braucht man unbedingt Mikro-Arrays mit einer großen Zahl an Verbindungen. Es wurde bereits von hochdichten Mikro-Arrays mit Peptiden oder nichtnatürlichen Oligomeren berichtet (40 000 Verbindungen pro cm²),^[13] doch ist wegen der angewendeten photolithographischen Techniken die zugängliche molekulare Diversität stark eingeschränkt. Unlängst wurden mehrere niedermolekulare Verbindungen auf eine Glasplatte gedruckt, mit dem Bestreben, automatische Druckvorgänge mit Split-Pool-Molekülbibliotheken zu verbinden.^[14] Das Split-Pool-Verfahren^[15] ist bei der Erzeugung molekularer Diversität viel effizienter als die Parallelsynthese,^[16] jedoch ist bei ihm die Identität jedes Mitglieds der Molekülbibliothek

[*] P. G. Schultz, N. Winssinger, J. L. Harris, B. J. Backes
Department of Chemistry and
the Skaggs Institute for Chemical Biology
The Scripps Research Institute
10550 North Torrey Pines Road, La Jolla CA 92037 (USA)
Fax: (+1) 858-784-9440
E-mail: schultz@scripps.edu
und
The Genomics Institute of the Novartis Research Foundation
3115 Merryfield Row, Suite 200, San Diego, CA 92121 (USA)

[**] Diese Arbeit wurde durch das Skaggs Institute for Chemical Biology (P.G.S.), das Genomics Institute of the Novartis Research Foundation (J.L.H. und B.J.B.) und die National Institutes of Health (Stipendium für N.W.) unterstützt. Wir danken Affymetrix für die generöse Spende des GenFlex-Marker-Arrays.