

9 und **10** wurden analog zu **8** synthetisiert. Die Produkte wurden durch Zusatz von *n*-Hexan zum eingeengten Filtrat (**9**) oder durch Fällung mit *n*-Hexan (**10**) als Feststoffe gewonnen. **9**: ^{29}Si -NMR (CDCl_3): $\delta = -103.2$; ^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 0.03$ (s, 3 H, SiCH_3), 2.46 (s, 3 H, CCH_3), 3.35–4.05 (3 m, 2 H, 1 H, 1 H, CH_2CH_2), 4.10 (s, 1 H, (Z)-C=CH₂), 4.56 (s, 1 H, (E)-C=CH₂), 6.75–7.60 (m, 8 H, Aryl); ^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 1.6$ (SiCH_3), 17.0 (CCH_3), 46.2 (CH_2CH_2), 85.8 (=CH₂), 119.1, 119.6, 119.8, 120.4, 122.8, 125.8, 126.9, 128.3, 128.8, 134.9, 151.8, 154.2 (Salen-Aryl), 158.1 (=C=N), 167.6 (C=N); Elementaranalyse (%): ber. für $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{Si}$: C 67.83, H 5.99, N 8.33; gef.: C 67.69, H 6.30, N 8.07. **10**: ^{29}Si -NMR (CDCl_3): $\delta = -117.0$; ^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 2.51$ (s, 3 H, CH_3), 3.35–4.03 (3 m, 2 H, 1 H, 1 H, CH_2CH_2), 4.13 (s, 1 H, (Z)-C=CH₂), 4.60 (s, 1 H, (E)-C=CH₂), 6.75–7.60 (m, 8 H, Aryl), 5.60–5.75 (m, 3 H, CH=CH₂); ^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 17.1$ (CH_3), 46.3, 46.7 (CH_2CH_2), 86.1 (=CH₂), 119.1, 119.7, 120.3, 120.4, 122.6, 125.8, 126.4, 128.3, 128.8, 135.0, 151.7, 154.4, (Salen-Aryl), 158.1 (=C=N), 168.7 (C=N), 132.7, 138.4 (CH=CH₂); Elementaranalyse (%): ber. für $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{Si}$: C 68.93, H 5.78, N 8.04; gef.: C 67.85, H 6.41, N 6.99.

12, 13, 14: Zu einer Lösung von **8** (ca. 1 g) in THF (ca. 40 mL) wurde bei etwa 30°C die stöchiometrische Menge der entsprechenden Säure ($\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$, $(\text{NO})_2\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$, $\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$), gelöst in wenig THF, tropfenweise unter Rühren zugegeben. Die Verbindungen fielen aus und wurden über eine G3-Fritte abfiltriert, mit wenig THF gewaschen und im Vakuum getrocknet. **12** und **14** schmelzen ab etwa 200°C unter deutlicher Braunkärbung/Zersetzung oder zersetzen sich ohne zu schmelzen. **13** schmilzt bei 106°C. **12**: Elementaranalyse (%): ber. für $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5\text{SiSi}$: C 61.11, H 5.70, N 5.28; gef.: C 59.80, H 5.76, N 5.66; ^{13}C -NMR ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 19.0$ (CH_3), 46.0 (CH_2CH_2), 174.7, 159.2, 150.3, 136.0, 133.0, 130.4, 126.4, 126.2, 120.9, 119.5, 119.2 ppm. **13**: Elementaranalyse (%): ber. für $\text{C}_{38}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_1\text{Si}$: C 59.13, H 5.35, N 9.07; gef.: C 59.12, H 5.24, N 9.03; ^{13}C -NMR ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 19.1$ (CH_3), 46.0 (CH_2CH_2), 174.7, 160.7, 159.2, 150.4, 141.8, 136.1, 133.0, 130.4, 126.4, 126.2, 125.1, 124.1, 120.9, 119.6, 119.2 ppm. **14**: Elementaranalyse (%): ber. für $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_8\text{Si}$: C 70.92, H 6.12, N 4.73; gef.: C 71.52, H 5.65, N 5.38; ^{13}C -NMR ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 18.3$ (CH_3), 45.6 (CH_2CH_2), 172.0, 161.1, 158.2, 134.7, 133.4, 129.7, 127.1, 126.4, 125.2, 120.6, 120.1, 117.5 ppm.

Eingegangen am 7. November 2001 [Z18181]

- [1] R. Tacke, M. Mallak, R. Willeke, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2401–2403; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2339–2341; R. Tacke, M. Pülm, B. Wagner, *Adv. Organomet. Chem.* **1999**, *44*, 221–273; I. S. Ignat'yev, H. F. Schäfer III, *Organometallics* **2001**, *20*, 3113–3121; R. J. P. Corriu, J. C. Young in *The chemistry of organic silicon compounds*, Vol. 1 (Hrsg.: S. Patai, Z. Rappoport), Wiley, **1989**, S. 1241–1288; D. Kost, I. Kalikhman in *The chemistry of organic silicon compounds*, Vol. 2 (Hrsg.: Z. Rappoport, Y. Apeloig), Wiley, **1998**, S. 1339–1446.
- [2] C. Chuit, R. J. P. Corriu, C. Reye, J. C. Young, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1371–1448; I. El-Sayed, Y. Hatanaka, S. Onozawa, M. Tanaka, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3597–3598.
- [3] I. Kalikhman, S. Krivonos, L. Lameyer, D. Stalke, D. Kost, *Organometallics* **2001**, *20*, 1053–1055; V. Kingston, B. Gostevski, I. Kalikhman, D. Kost, *Chem. Commun.* **2001**, 1272–1273; I. Kalikhman, O. Girshberg, L. Lameyer, D. Stalke, D. Kost, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 4709–4716; N. Kano, F. Komatsu, T. Kawashima, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10778–10779.
- [4] F. Mucha, J. Haberecht, U. Böhme, G. Roewer, *Monatsh. Chem.* **1999**, *130*, 117–132; F. Mucha, U. Böhme, G. Roewer, *Chem. Commun.* **1998**, 1289–1290; M. S. Singh, P. K. Singh, *Main Group Met. Chem.* **2000**, *23*, 183–188.
- [5] Röntgenstrukturanalysen: Die Messungen wurde mit einem ENRAF-NONIUS-CAD4-Diffraktometer durchgeführt. Lösung der Strukturen mit Direkten Methoden, Methode der kleinsten Fehlerquadrate, alle Nichtwasserstoffatome wurden anisotrop verfeinert. Die Wasserstoffatome wurden in idealisierten Positionen fixiert und nach dem Reitermodell isotrop verfeinert. Lösung und Verfeinerung der Strukturen gegen F^2 mit den Programmen SHELXS-86 (G. M. Sheldrick, Universität Göttingen, **1986**) und SHELXL-97 (G. M. Sheldrick, Universität Göttingen, **1997**). **9**: $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{Si}$, $M_r = 336.46$, gelbes Prisma, $0.4 \times$

0.3×0.3 mm, monoklin, Raumgruppe $P2_1$, $a = 6.734(1)$, $b = 11.540(6)$, $c = 11.051(5)$ Å, $\beta = 98.77(1)$ °, $V = 848.7(6)$ Å³, $\rho_{\text{ber.}} = 1.317$ g cm⁻³, $F(000) = 356$, $\mu = 1.330$ mm⁻¹, keine Absorptionskorrektur, $Z = 2$, $\lambda = 1.54178$ Å, $T = 293$ K, $\omega/2\theta$ -Scans, 6769 gemessene Reflexe ($-8 \leq h \leq 7$, $-14 \leq k \leq 14$, $-13 \leq l \leq 13$), 3508 unabhängige und 3182 beobachtete Reflexe mit $I > 2\sigma(I)$, 219 Parameter, $R = 0.0596$, $wR_2 = 0.1280$ (alle Reflexe), Restelektronendichte 0.529 und -0.303 e Å⁻³, Flack-Parameter 0.00(3). **8**: $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5\text{Si}$, $M_r = 398.53$, blassgelber Kristall, $0.6 \times 0.4 \times 0.4$ mm, monoklin, Raumgruppe $P2_1$, $a = 8.795(1)$, $b = 11.491(1)$, $c = 10.739(1)$ Å, $\beta = 112.90(2)$ °, $V = 999.8(2)$ Å³, $\rho_{\text{ber.}} = 1.324$ g cm⁻³, $F(000) = 420$, $\mu = 1.219$ mm⁻¹, keine Absorptionskorrektur, $Z = 2$, $\lambda = 1.54178$ Å, $T = 293$ K, $\omega/2\theta$ -Scans, 5022 gemessene Reflexe ($-11 \leq h \leq 11$, $-6 \leq k \leq 14$, $-13 \leq l \leq 13$), 2517 unabhängige und 2108 beobachtete Reflexe mit $I > 4\sigma(I)$, 271 Parameter, $R = 0.0533$, $wR_2 = 0.1013$ (alle Reflexe), Restelektronendichte 0.348 und -0.231 e Å⁻³, Flack-Parameter $-0.04(4)$. CCDC-171307 (**9**) und CCDC-165814 (**8**) enthalten die ausführlichen kristallographischen Daten zu dieser Veröffentlichung. Die Daten sind kostenlos über www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html erhältlich (oder können bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: Cambridge Crystallographic Data Centre, 12, Union Road, Cambridge CB21EZ; Fax: (+44) 1223-336-033; oder deposit@ccdc.cam.ac.uk).

- [6] Die Messung wurde mit $\text{CuK}\alpha$ -Strahlung durchgeführt, 1661 Friedel-Paare gemessen (89.9 %), Flack-Parameter 0.00(3).
- [7] P. Pfeiffer, E. Breit, E. Lübbe, T. Tsumaki, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1933**, *503*, 127.

Modulare Bausteine für die Aminosäure-Erkennung in Peptiden

Mark Wehner und Thomas Schrader*

Die selektive molekulare Erkennung kurzer Peptidsequenzen ist von fundamentaler Bedeutung für viele natürliche Regulationsprozesse. So bindet das natürliche Antibiotikum Vancomycin fest an das C-terminale D-Ala-D-Ala-Fragment in Peptiden, die in Bakterien für die Zellwand-Biosynthese genutzt werden,^[1] und zahlreiche Zell-Zell-Erkennungsprozesse beruhen auf der Erkennung der RGD-Sequenz.^[2]

Bei den ersten Versuchen zur Nachahmung der natürlichen hochwirksamen Peptidwirke durch künstliche Strukturen wurde die konformative Freiheit des Wirtmoleküls durch Bildung einer Spalte (Rebek et al.), eines Makrocyclus (Still et al.) oder sogar eines Hohlraums (Still et al.) beschränkt; die spezifischen Haftgruppen stammten oft aus (nicht)natürlichen Aminosäuren.^[3] Mehrere Arbeitsgruppen haben Rezeptormoleküle für wichtige Sekundärstrukturen geschaffen, die in Peptiden und Proteinen auftreten. So können α -helicale^[4] und β -Faltblatt^[5]-Bereiche von Polypeptiden durch synthetische Liganden mit einem komplementären Wasserstoffbrückendor- und acceptormuster erkannt werden. In den letzten Jahren wurde durch Methoden der kombinatorischen Chemie ein beachtlicher Fortschritt erreicht.^[6]

[*] Prof. Dr. T. Schrader, M. Wehner
Fachbereich Chemie der Universität
Hans-Meerwein-Straße, 35032 Marburg (Deutschland)
Fax: (+49) 6421-28-28917
E-mail: schrader@mail.uni-marburg.de

Ortsspezifische Proteasen wie Thrombin, Trypsin und viele andere verfügen über eine flache Mulde zur effizienten Erkennung des Rückgrats des zu spaltenden Peptids in seiner gestreckten Konformation. Diese Anordnung wird kombiniert mit einer spezifischen Bindungstasche für die Seitenkette der Zielaminoäure und definiert so die Spaltungsstelle. Wir fragten uns, ob solch ein rationales Design auch in der künstlichen Peptiderkennung genutzt werden könnte: Kann man einen Baukasten mit Modulen schaffen, von denen jedes einzelne eine bestimmte Aminoäure oder besser noch eine kurze Sequenz in peptidischer Umgebung erkennt?

Kürzlich berichteten wir über die Stabilisierung kleiner Peptide in der β -Faltblattkonformation^[7] und zeigten, dass N-acylierte 3-Aminopyrazole mit jedem verfügbaren Wasserstoffbrückendor (D) und -acceptor (A) auf der Oberseite eines Dipeptids wechselwirken. Mit einem dieser Heterocyclen können zwei aufeinander folgende Aminoäuren verklammert werden, wobei sich drei annähernd lineare Wasserstoffbrücken mit der DAD-Sequenz bilden (Abbildung 1). Dieser Erkennungsprozess fixiert gleichzeitig das Peptid in der thermodynamisch günstigen β -Faltblattkonformation. Auf diese Weise wurden kleine, lösliche Modelle für diese wichtige Sekundärstruktur hergestellt.

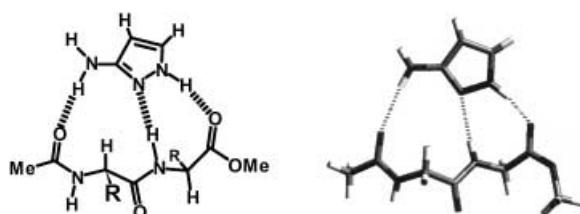
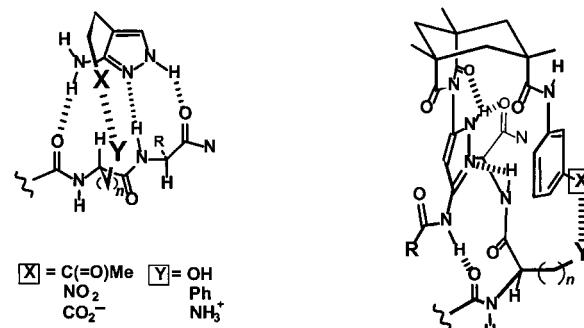


Abbildung 1. β -Faltblatt-Stabilisierung mit Aminopyrazolen – Dreipunkthaftung einer Dipeptid-Oberseite durch das DAD-Muster des Aminopyrazols. Links: Lewis-Struktur; rechts: Modell auf Basis von Molekülmechanik-Rechnungen (Cerius², Molecular Simulations, Dreiding 2.21).

In einem β -Faltblatt zeigen die N-H- und die C=O-Bindungen des Rückgrats nach oben und nach unten, während die Aminoäurereste R horizontal in einer wohldefinierten Anordnung stehen. Diese vororientierte Anordnung war unser Ausgangspunkt für ein neues modulares Konzept für Peptidrezeptoren: Wenn es möglich wäre, am Aminopyrazol einen U-förmigen Substituenten anzubringen, der an seiner Spitze eine geschickt platzierte Haftgruppe trägt, könnte diese zur Seitenkette der entsprechenden Aminoäure herunterreichen und so zu einer zusätzlichen spezifischen nichtkovalenten Wechselwirkung führen. Mit einer auswechselbaren Spitze könnten verschiedene Haftgruppen in die Basiseinheit des Peptidrezeptors eingeführt werden. Dies würde zu einem Baukasten mit Bausteinen führen, die zwischen den typischen Klassen von Aminoäuren unterscheiden können. Unseres Wissens gibt es bis heute kein derartiges rational entworfenes System von Peptidrezeptoren.

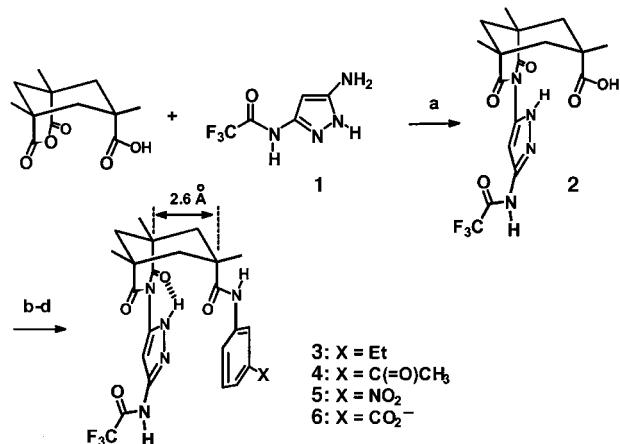
Für den U-förmigen Spacer wählten wir das Gerüst der Kemp-Tricarbonsäure, weil es außergewöhnlich starr ist und seine Chemie gut bekannt ist.^[8] Zwei Carboxygruppen wurden dazu bestimmt, die monoacylierte 3,5-Diaminopyrazol-Einheit als Imidfunktion zu tragen, während die dritte an

ein Anilinderivat mit der richtigen Haftgruppe in *m*-Position gekuppelt werden könnte. Schema 1 zeigt die allgemeine Struktur der Bausteine: Die Imid- und auch die benachbarte Aminopyrazol-Einheit liegen beide in derselben Ebene und sind über eine intramolekulare Wasserstoffbrücke miteinander verkettet.



Schema 1. Entwurf von modularen Bausteinen für die Peptiderkennung. Rechts: die U-förmige Kemp-Tricarbonsäure bringt die Rezeptorspitze X nahe an den charakteristischen Rest Y der Aminoäure im Peptid heran.

Bei der Synthese muss darauf geachtet werden, dass man die drei Aminogruppen des 3,5-Diaminopyrazols ohne übertriebenen Einsatz von Schutzgruppen chemoselektiv behandeln kann. Wir beginnen mit der Imidbildung zwischen dem monotrifluoracetylierten Diaminopyrazol **1** und dem Anhydrid der Kemp-Tricarbonsäure (Schema 2). Die Imid-Zwi-



Schema 2. Synthese der Werte **3-6**; a) Toluol, 110 °C ($-\text{H}_2\text{O}$); b) Boc_2O , 90 °C; c) *m*-Aminobenzolderivat, PyCloP, 50 °C, CHCl_3 ; d) Kieselgel, ($-\text{Boc}$); a)–d) 17–22 % Gesamtausbeute. Boc = *tert*-Butoxycarbonyl, PyCloP = Chlortris(pyrrolidin-1-yl)phosphoniumhexafluorophosphat.

schenstufe **2** muss *N*-Boc-geschützt werden, damit nachfolgend das Anilinderivat angeknüpft werden kann. Der kritischste Schritt ist die Einführung des Anilins mit der Haftgruppe. Obwohl dabei nur eine Amidbindung gebildet werden muss, enthält das Produkt dieser Kupplungsreaktion zwei aromatische Ringe in einer Distanz von 2.6 Å und darunter. Wir waren schließlich mit PyCloP erfolgreich, allerdings nur bei 50 °C in Chloroform. Bei der anschließenden säulenchromatographischen Reinigung wird auch die

Boc-Gruppe abgespalten, sodass direkt die gewünschten Produkte **3–6** erhalten werden.

Mit dieser Methode konnten *m*-Ethylanilin, *m*-Aminoacetophenon, *m*-Aminobenzoësäurebenzylester und sogar *m*-Aminonitrobenzol an das Imid-Zwischenprodukt **2** gekuppelt werden. Der Benzylester wurde schließlich hydrogenolytisch gespalten und die entstandene freie Säure in das Tetrabutylammoniumsalz **6** überführt – die Haftgruppe für basische, kationische Aminosäurereste. Das *m*-Aminoacetophenon **4** stellt ein Wirtmolekül für OH- und SH-haltige Aminosäuren dar, das *m*-Aminonitrobenzol **5** sollte elektronenreiche Aminosäuren auswählen, und das *m*-Ethylanilin **3** dient als Bezugssubstanz mit einem vergleichbaren räumlichen Anspruch, die jedoch nur zur Erkennung des Peptidrückgrats geeignet ist.

Die Verbindungen **3–6** gehören zu den ersten Derivaten der Kemp-Tricarbonsäure mit zwei aromatischen Substituenten.^[9] Da beide Arylreste unsymmetrisch sind, treten zwei Konformere auf, die sich prinzipiell in ihren spektroskopischen Eigenschaften unterscheiden sollten. In den ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren von **3–6** wird jedoch stets nur ein Signalsatz beobachtet. NOESY-Spektren von **4** weisen auf zahlreiche Kontakte zwischen den Alkylsubstituenten des Cyclohexanringes hin, aber nur auf einen einzigen zwischen den beiden aromatischen Ebenen, die einander sehr nahe stehen sollten. Demgemäß wird in der produktiven Konformation auch nur ein einziger H,H-Abstand < 4.5 Å berechnet; dies ist genau der aus dem NOESY-Experiment ermittelte (3.2 Å; Abbildung 2).

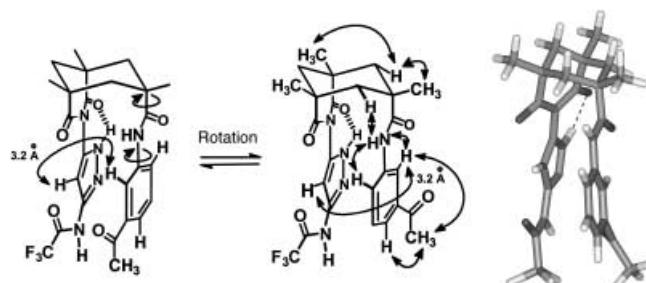


Abbildung 2. NOE-Kontakte im Wirt **4** und mögliche Rotation um die *trans*-Amidbindung. Die produktive Konformation ist auf der rechten Seite gezeigt; Doppelpfeile weisen auf reziproke NOE-Kreuzpeaks hin. Die beiden abgebildeten Konformere stellen die mit Abstand energiegiünstigsten Strukturen dar, die unter allen anderen Geometrien während der Konformationssuche gefunden wurden.^[15]

Ein Selbstassoziations-Experiment mit **4** wurde in Chloroform über einen Konzentrationsbereich von 10^{-2} M bis 10^{-3} M durchgeführt. In diesem Bereich, der auch später für die NMR-Titrationen verwendet wurde, konnte bei keinem Protonensignal des Wirts ein Komplexierungs-induzierter Shift festgestellt werden. Offensichtlich verhindert das sterisch anspruchsvolle U-Stück wirksam die Dimerisierung der Rezeptormoleküle.

Von den einfachen acylierten Aminopyrazolen wussten wir, dass gestreckt vororientierte Dipeptide die höchsten Assoziationskonstanten lieferten. Im Gegensatz zu allen bisherigen Experimenten bewirkte unsere neue Bezugsverbindung **3**

keine Komplexierungsinduzierten Shifts, nachdem sie zu N/C-geschütztem Divalin gegeben wurde. Die beiden 2-Propylreste der Valine scheinen sterisch einfach zu anspruchsvoll zu sein, um eine Komplexierung mit der Aminopyrazol-modifizierten Kemp-Tricarbonsäure zu erlauben. Diese Ansicht wird auch durch Kraftfeldrechnungen gestützt.

Zu unserer Freude stellte der Ersatz von Valin durch Alanin die erwarteten Tieffeldshifts des NH-Protons auf der Peptidoberseite wieder her. Eine Job-Auftragung^[10] (Abbildung 3) bestätigte die gewünschte 1:1-Stöchiometrie, und NMR-Titrationen in CDCl_3 lieferten Assoziationskonstanten

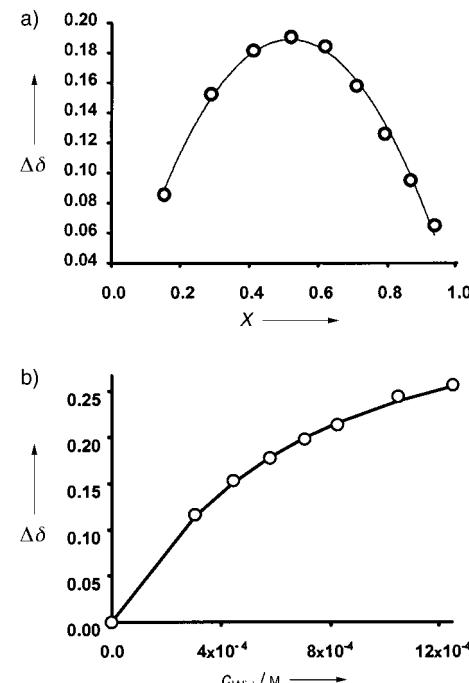


Abbildung 3. a) Job-Diagramm für die Komplexbildung von **6** mit Ac-Orn-Ala-OMe. b) NMR-Titrationskurve für die Komplexbildung von **6** mit Ac-Orn-Ala-OMe.

unter 100 M^{-1} (Ac-Ala-Ala-OMe/Ac-Phe-Ala-OMe).^[11] Diese Zahlen sind relativ niedrig, aber sie müssen auch unterhalb derer für valinhaltige Dipeptide liegen, denn Alanin hat eine höhere Tendenz zur Bildung einer α -Helix als zur Bildung eines β -Faltblatts. Zum Vergleich titrierten wir die beiden oben genannten alaninhaltigen Dipeptide mit dem besten β -Faltblattliganden, den wir früher entwickelt hatten, und erhielten genau dieselben Werte (Tabelle 1).

In Molekülmechanik-Rechnungen (MacroModel 7.0, OPLS-AA – Kraftfeld) geht das Rückgrat eines serinhaltigen Dipeptids im Sinne einer Dreipunkthaftung einen Komplex mit dem trifluoracetylierten Aminopyrazol ein (Abbildung 4). Dadurch kommt die Serin-Hydroxygruppe nahe an die Acetophenon-Carbonylgruppe, und es bildet sich eine relativ starke neue Wasserstoffbrücke.

Zuerst testeten wir unser neues Rezeptormodul für Serin: Die NMR-Titration mit Dialanin ergab einen K_a -Wert von 80 M^{-1} , in guter Übereinstimmung mit der Bezugsverbindung. Als Ac-Ser-Ala-OMe durch **4** gebunden wurde, beobachteten wir jedoch einen elffachen Anstieg von K_a auf 900 M^{-1} . Eine

Tabelle 1. Assoziationskonstanten K_a [M^{-1}] für die Komplexbildung der Werte 3–6 mit verschiedenen Dipeptiden.^[a]

Wirt	Standard	selektive Bindung	Spezialfälle
TriflAMP ^[b]	Ala-Ala: 50 ^[c]	–	Phe-Ala: 40
Bezug 3	Orn-Ala: 280	Ala-Ala: 70	Phe-Ala: ≤ 40
XH-Binder 4	Ala-Ala: 80	Ser-Ala: 900	Ser-Val: keine Shifts
Aren-Binder 5	–	Phe-Ala: 350	Ala-Phe: keine Shifts
Kation-Binder 6	Propylamin: 490	Orn-Ala: 2360	–

[a] Die Assoziationskonstanten wurden durch NMR-Titrationen in $CDCl_3$ bestimmt. Alle Dipeptide wurden als *N*-Acetylmethylester geschützt. Die Komplexstöchiometrie war immer 1:1, sofern nicht anders angegeben. [b] TriflAMP = 3-Trifluoracetylamino-5-methylpyrazol. [c] Fehler wurden als Standardabweichungen aus der nichtlinearen Regression bestimmt; sie bewegten sich üblicherweise zwischen 10 und 40% (Ausnahme: sehr schwache Bindung).

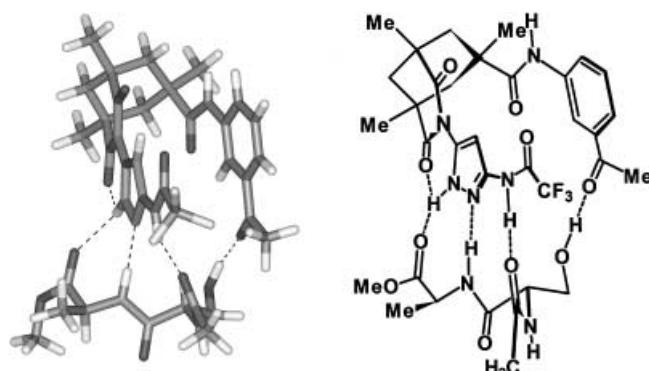


Abbildung 4. Ergebnis der Monte-Carlo-Simulation der produktiven Komplexgeometrie bei der sequenzselektiven Bindung von Serinylalaninhaltigen Dipeptiden durch 4.

Job-Auftragung bestätigte auch hier die Bildung eines 1:1-Komplexes.^[12] Die Einführung eines zusätzlichen Wasserstoffbrücken-Acceptors in das starre Gerüst des Rezeptormoduls bewirkt also einen deutlichen Anstieg der Freien Bindungsenthalpie für ein serinhaltiges Dipeptid, aber nicht für Dialanin.

Als repräsentatives Beispiel für elektronenreiche aromatische Aminosäuren testeten wir Phenylalanin in einer peptidischen Umgebung. Mit der Bezugsverbindung 3 und Ac-Phe-Ala-OMe wurde ein K_a -Wert von $\leq 40 M^{-1}$ gemessen, wieder ein Hinweis auf die sterische Abstoßung des Benzylrests durch das Kemp-Tricarbonsäurederivat. Als unser *m*-Nitroanilin-gestütztes Rezeptormodul für aromatische Aminosäuren 5 mit Ac-Phe-Ala-OMe titriert wurde, konvergierte die nichtlineare Regression der Bindungskurven mehrerer Protonensignale übereinstimmend bei einem K_a -Wert von $350 M^{-1}$. Erneut wurde die Komplexstöchiometrie anhand einer Job-Auftragung zu 1:1 berechnet. Diesmal wurde der neunfache K_a -Anstieg von markanten Hochfeldshifts für die aromatischen Protonen von Gast und Wirt begleitet, ein deutlicher Hinweis auf π -Stapel-Wechselwirkungen. Wir konnten so zeigen, dass ein Nitroaren an der richtigen Stelle im starren Rezeptor den Komplex von 5 mit einem phenylalaninhaltigen Dipeptid erheblich verstärkt.

Bei der Proteinerkennung bilden basische Aminosäuren oft Ionenpaare mit Carboxygruppen, z.B. von Aspartaten oder Glutamat. Diese Wechselwirkungen sind in unpolaren

Medien im Allgemeinen viel stärker als einfache Wasserstoffbrücken. Um zu vermeiden, dass solch ein Ionenpaar die Rückgraterkennung durch das Aminopyrazol übersteuert, wählten wir für die basische Aminosäure ein Gegenion, das selbst mit dem Alkylammoniumion eine starke Ionenpaar-verstärkte Wasserstoffbrücke eingeht. Deshalb bauten wir die kurze basische Aminosäure Ornithin als Acetatsalz in das alaninhaltige Dipeptid Ac-Orn-Ala-OMe ein.^[13] Jetzt muss der Benzoatrest von 6 mit dem Acetat-Gegenion des Ornithins im Dipeptid konkurrieren. Während der NMR-Titration verschoben sich ungewöhnlich viele Protonensignale mit $\Delta\delta_{sat}$ -Werten von bis zu 1 ppm (Abbildung 5). Das breite

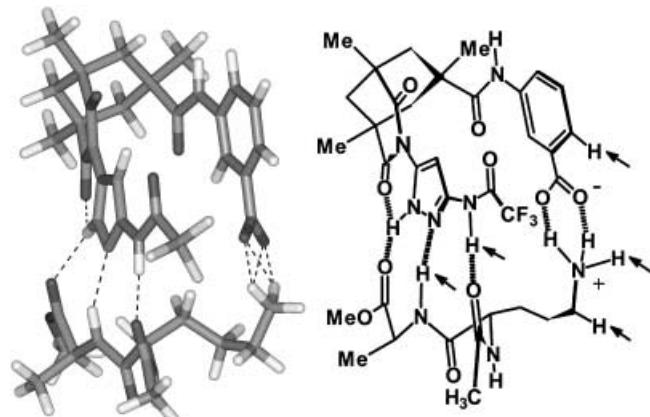


Abbildung 5. Links: Monte-Carlo-optimierte Struktur von 6@Ac-Orn-Ala-OMe in Chloroform (1000 Schritte). Rechts: Pfeile deuten auf Atome von Wirt und Gast, für die bei der Titration Komplexierungs-induzierte Shifts beobachtet wurden.

Ammonium-Signal sowie die Signale für die benachbarte Methylengruppe und auch beide *ortho*-Protonen neben dem Benzoatrest im Wirt zeigten ausgeprägte Komplexierungs-induzierte Shifts, die die Bildung des neuen Ionenpaares anzeigen. Auch das Signal für das NH-Proton auf der Peptidoberseite verschob sich drastisch um ca. 1 ppm. Die nichtlineare Regression verschiedener Bindungskurven von Wirt- und Gastsignalen ergab Assoziationskonstanten um $2400 M^{-1}$; die 1:1-Stöchiometrie wurde wieder mit einer Job-Auftragung nachgewiesen (Abbildung 3). Als Kontrollexperiment titrierten wir 6 mit *n*-Propylammoniumacetat und fanden einen K_a -Wert von $490 M^{-1}$ für die Bildung der Salzbrücke. Der Unterschied zwischen den beiden letzten Werten muss auf die Rückgraterkennung des Peptids durch 6 zurückzuführen sein. Er beweist experimentell, dass beide Erkennungsprozesse bei der Aggregatbildung von 6 mit Ac-Orn-Ala-OMe gleichzeitig ablaufen. Dieses Peptid wurde außerdem mit der Bezugsverbindung 3 titriert, wobei eine relativ niedrige Bindungskonstante von ca. $280 M^{-1}$ ermittelt wurde. In diesem Fall ist jedoch nicht klar, ob das Aminopyrazol mit dem Peptidrückgrat oder mit dem Alkylammoniumacetat-Ionenpaar reagiert. In jedem Fall wurde eine Bevorzugung von ca. 9:1 für die selektive Erkennung von Ornithin durch das anionische Rezeptormodul 6 nachgewiesen. So führt die Befestigung einer günstig platzierten Benzoatfunktion am starren Rezeptormodul zu einer zusätzlichen Ionen-

paar-verstärkten Wasserstoffbrücke mit einer repräsentativen basischen Aminosäure.

Direkte Informationen über die Peptidkonformation können aus Karplus-Analysen der H(N)-H(α -C)-Kopplungskonstanten erhalten werden, die mit dem charakteristischen Diederwinkel θ korrelieren.^[14] Wir untersuchten Komplexe aus den drei Wirten mit zusätzlichen Haftgruppen und ihren jeweils besten Peptid-Bindungspartnern. Die Zugabe der Wirte **3–6** zur Peptidlösung führte stets zu schärferen Signalen und in den meisten Fällen zu 3J -Werten, die gegenüber denen der freien Peptide erhöht waren und sich den berechneten Werten für die reinen Komplexe näherten.

Wir haben hiermit gezeigt, dass durch rationales Design Peptidrezeptoren entwickelt werden können, die einige der wichtigsten Klassen von Aminosäuren in peptidischer Umgebung selektiv binden. Gegenwärtig arbeiten wir an der selektiven Erkennung saurer und unpolärer Aminosäuren in Peptiden. In einigen Fällen ist die Komplexbildung so empfindlich gegen sterische Faktoren, dass ein Rezeptormodul das Dipeptid mit umgekehrter Sequenz vollkommen ablehnt. So wird z. B. Ac-Ala-Phe-OMe überhaupt nicht komplexiert. Modelling-Studien legen nahe, dass nur eine bestimmte gegenseitige Ausrichtung der beiden Bindungspartner produktiv ist, während die andere sterisch gehindert zu sein scheint. In diesem Sinne untersuchen wir gegenwärtig die Sequenzselektivität der anderen und neuer Rezeptormodule. Zum besseren Vergleich behielten wir für die andere Aminosäure in den meisten Fällen ein Alanin im Peptid. Es wird interessant sein, ob größere Reste als die kleine Methylgruppe überhaupt toleriert werden. Ein erster Hinweis kommt aus der Titration von Ac-Ser-Val-OMe mit unserem Serin-Binder **4**: Keine Komplexierungs-induzierten Shifts sind zu sehen, obwohl dasselbe Dipeptid mit C-terminalem Alanin mit einer hohen Assoziationskonstante von 900 M^{-1} gebunden wurde.

In Zukunft wollen wir zwei oder mehr dieser Fragmente über spezifische kovalente Linker miteinander verbinden, um die sequenzselektive Erkennung von Tetra- und Pentapeptiden in polarer Lösung zu erreichen. Mit diesen Rezeptormodulen sollte es möglich werden, an bestimmte essentielle Erkennungsmotive in Peptiden und Proteinen anzudocken. Dies könnte für die Proteinmarkierung, ihren Schutz oder auch die allosterische Inhibition von Enzymen genutzt werden.

Eingegangen am 4. Dezember 2001 [Z18326]

- [1] D. H. Williams, B. Bardsley, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1264–1286; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1172–1193.
- [2] R. Haubner, D. Finsinger, H. Kessler, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1440–1456; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1374–1389.
- [3] a) M. Famulok, K.-S. Jong, G. Deslongchamps, J. Rebek, Jr., *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 880–882; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 858–860; b) S. S. Yoon, W. C. Still, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 823–824; c) C.-T. Chen, H. Wagner, W. C. Still, *Science* **1997**, *279*, 851–853; d) M. A. Hossain, H. J. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11208–11209.
- [4] Review: J. P. Schneider, J. W. Kelly, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2169–2187; a) D. S. Kemp, T. P. Curran, J. G. Boyd, T. J. Allen, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6683–6697; b) M. W. Peczu, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9327–9328; c) Y. Mito-Oka, S. Tsukiji, T. Hiraoka, N. Kasagi, S. Shinkai, I. Hamachi, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 7059–7062.

- [5] Übersicht: J. S. Nowick, *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 287–296; H. L. Schenck, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4869–4870.
- [6] a) W. C. Still, *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 155–163; b) H. Wennemers, M. Conza, M. Nold, P. Krattiger, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 3342–3347; c) T. Braxmeier, M. Demarcus, T. Fessmann, S. McAteer, J. D. Kilburn, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 1889–1898.
- [7] C. Kirsten, T. Schrader, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12061–12068.
- [8] J. Rebek, Jr., *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 261–272; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 245–255.
- [9] S. Shinoda, H. Tsukube, Y. Nishimura, I. Yamazaki, A. Osuka, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 3757–3762.
- [10] a) P. Job, *C. R. Hebd. Séances Acad. Sci.* **1925**, *180*, 928; b) M. T. Blanda, J. H. Horner, M. Newcomb, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4626.
- [11] 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), Verlag Chemie, Weinheim, **1991**, S. 123.
- [12] Leider blieb das NMR-Signal für das Hydroxy-Proton während der ganzen Titration extrem breit, sodass kein direkter Hinweis auf diese zusätzliche Wasserstoffbrücke erhalten werden konnte.
- [13] Die kurze Seitenkette des Ornithins kann vom Benzoatrest des Wirts leichter erreicht werden als die des Lysins (siehe Abbildung 5).
- [14] a) M. Delepierre, C. M. Dobson, F. M. Poulsen, *Biochemistry* **1982**, *21*, 4756; b) V. F. Bystrov, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **1976**, *10*, 41.
- [15] MacroModel 7.0, Schrödinger Inc., **2000**. Kraftfeld: Amber* und OPLS-AA.

Synthese und Struktur von Na_3N

Dieter Fischer und Martin Jansen*



Bei den binären Nitriden der Alkalimetalle findet man einen der ausgeprägtesten Homologiebrüche im Periodensystem. Während sich Li_3N bereits bei Raumtemperatur spontan aus den Elementen bildet,^[1] sind zahlreiche Versuche, höhere Homologe wie Na_3N oder K_3N herzustellen, bisher fehlgeschlagen. In der Literatur beschriebene Erfolgsmeldungen haben sich nicht reproduzieren lassen.^[2]

Bei den bisherigen Anläufen zur Herstellung von Na_3N oder K_3N wurden entweder die Azide gezielt zersetzt (in Ammoniak) oder fein verteiltes Metall mit Stickstoff einer elektrischen Entladung ausgesetzt.^[2–4] Besonders die zweite Vorgehensweisen lässt das Bemühen erkennen, die Elemente in möglichst aktivierter Form zur Reaktion zu bringen. Die bestmögliche Aktivierung wäre allerdings erst dann erreicht, wenn einzelne Atome der Elemente nach Vereinigung im gewünschten Verhältnis umgesetzt würden. Genau von diesem Gedanken haben wir uns bei der nunmehr erfolgreichen Synthese von Na_3N leiten lassen.

Bei der experimentellen Umsetzung haben wir die einzelnen Komponenten (hier Na , N_2) separat in einer Vakuumkammer atomar in die Gasphase überführt und in statistischer

[*] Prof. Dr. M. Jansen, Dr. D. Fischer
Max-Planck-Institut für Festkörperforschung
Heisenbergstraße 1, 70569 Stuttgart (Deutschland)
Fax: (+49) 711-689-1502
E-mail: martin.jansen@fkf.mpg.de