

## Irreversible Adsorption von Cellobiose, Ascorbinsäure und Tyrosin an hydrophobe Oberflächen in Wasser und ihre Ablösung durch Molekulares Röhren

Guangtao Li, Karl Doblhofer und Jürgen-Hinrich Fuhrhop\*

Hydrophobe Nanometerspalten, die von dem Volumenwasser aus zugänglich sind, treten als reaktive Zentren von Enzymen und Rezeptoren auf.<sup>[1]</sup> In diesen Hohlräumen reichern sich Gastmoleküle und Substrate an, bei der spezifischen Fixierung spielen offenbar die Größe sowie stereochemisch passende Wasserstoffbrücken die dominierende Rolle.<sup>[2]</sup> Für die hydrophoben Membranoberflächen wurden immobilisierte Wasserschichten berechnet<sup>[3]</sup> und eine Verstärkung dipolarer Wechselwirkungen gemessen.<sup>[4]</sup> Im Zusammenhang mit der festen Bindung wasserlöslicher Substrate an hydrophobe Oberflächen konnten wir durch Experimente zeigen, dass starre Moleküle mit einer hydrophoben und einer hydrophilen Kante über Monate hinweg in hydrophoben Nanometerspalten fixiert werden und nicht ins benachbarte Volumenwasser diffundieren. 1,2-*trans*-Cyclohexandiol mit zwei äquatorialen OH-Gruppen zeigte diesen Effekt sehr ausgeprägt, das *cis*-Diastereomere mit einer axialen OH-Gruppe nicht. Da nur zwei benachbarte äquatoriale OH-Gruppen geometrisch gut in hexagonales Eis passen, ein äquatorial-axiales Paar aber nicht, haben wir eine Immobilisierung des Hydratkomplexes in den hydrophoben Lücken für den Effekt verantwortlich gemacht.<sup>[5]</sup> Für die Immobilisierung von Wasser an hydrophoben Wänden existieren auch Modell-Moleküldynamik(MD)-Rechnungen.<sup>[6]</sup> Hier berichten wir nun erstens über eine Reihe von wichtigen Naturstoffen und Analoga, die ebenfalls in hydrophoben Nanometerlücken fixiert werden, zweitens darüber, dass Elektrolyte (KCl, Ferricyanid) aus dem Volumenwasser nicht in die immobilisierte Schicht der adsorbierten Moleküle eindringen und drittens über die Wirkung von Dimethylviologen, das bei Cyclovoltammetrie die fixierten Moleküle ins Volumenwasser hineinröhrt.

Die Membranlücken wurden wie früher beschrieben durch zwei aufeinander folgende Selbstorganisationsschritte gebildet. Zuerst legten sich vierfach symmetrisch substituierte Porphyrine flach auf die Goldoberfläche, dann bildeten langkettige Hydrosulfide Monoschichten aufrecht stehender Moleküle auf den frei gebliebenen Goldflächen um die Porphyrine herum. Als Amphiphile dienten Octadecylthiol (ODT) **1** oder das Diamid **2** (benötigte Zeit für die Selbstorganisation: 2 Stunden), als Porphyrine wurden die Carbonsäuren und Sulfide **3–6** (2 Tage) eingesetzt. Mit **1** entstehen

fluide und mit **2** steife Lipidmonoschichten, denen fluide bzw. formstabile Nanometerlücken entsprachen<sup>[6]</sup> (Abbildung 1). Tauchte man diese membranbedeckten Goldelektroden in

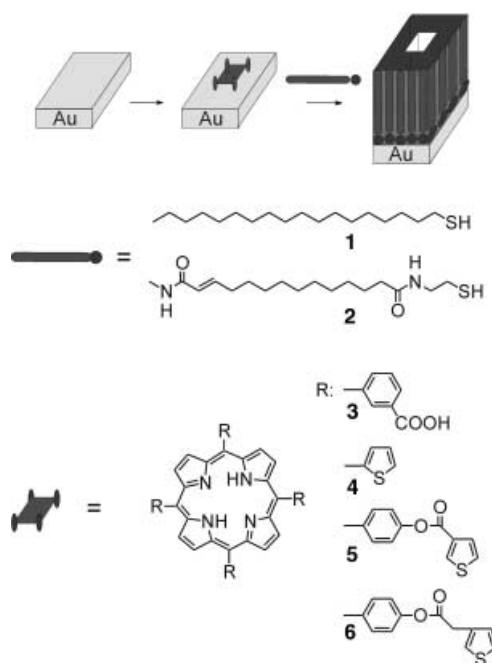


Abbildung 1. Der zweistufige Selbstorganisationsprozess und die hierbei verwendeten Substanzen zur Herstellung von Lücken mit einem Porphyrinboden in einer Lipidmembran.

eine wässrige Lösung von Ferricyanid (1 mM) und Kaliumchlorid (1M), so ließen beide lückenhaltigen Membranen die Vermessung von Cyclovoltammogrammen des  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ -Paars im Volumenwasser zu. Versuche zur Fluoreszenzlösung von anionischen Porphyrinen am Boden der Lücken mit kationischen Mangan(III)porphyrinen in der Volumenlösung zeigten dann, dass große und kleine Porphyrinliganden durch die fluide Membran drangen, während die Lücken in steifen Membranen zu großen Porphyrinen nicht passieren ließen. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde das Membranmodell in Abbildung 1 entwickelt, die Poren wurden dann wie beschrieben durch Eintauchen in eine 0.1M 1,2-*trans*-Cyclohexandiol-Lösung verschlossen.<sup>[5a–c]</sup>

Die vorliegende Arbeit beschreibt und deutet die Ergebnisse von Cyclovoltammetrie(CV)-Experimenten, die belegen, dass

- unter anderem Tyrosin, Ascorbinsäure und Cellobiose die Membranlücken in Gegenwart von Volumenwasser tagelang derart verstopfen, dass keinerlei Elektronentransport von der Elektrode zum Ferricyanid in der Volumenlösung stattfindet,
- der Zusatz von 1% Maltose zur Cellobiose deren blockierenden Effekt zerstört und
- die schon von der Cellobiose verschlossene Lücke sich wieder öffnet, wenn die CV in Gegenwart von Dimethylviologen durchgeführt wird.

Sowohl die fluiden als auch die starren hydrophoben Monoschichten mit 2-Nanometer breiten Lücken wurden auf einer Goldelektrode (Oberfläche: 30 mm<sup>2</sup>) mittlerer

[\*] Prof. J.-H. Fuhrhop, Dr. G. Li

FB Biologie, Chemie, Pharmazie

Institut für Chemie/Organische Chemie

Freie Universität Berlin

Takustraße 3, 14195 Berlin (Deutschland)

Fax: (+49) 30-838-5589

E-mail: fuhrhop@chemie.fu-berlin.de

Dr. K. Doblhofer

Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft

Faradayweg 4–6, 14195 Berlin (Deutschland)

Rauheit fixiert. Die gemessenen Ströme von Ferricyanid ( $10^{-3}$  M) in wässriger KCl-Lösung (1M) betragen etwa 50% der unter gleichen Bedingungen an nackten Goldelektroden gemessenen. Daraus lässt sich allerdings weder der Bedeckungsgrad noch die Leitfähigkeit der Lücken ableiten. Savéant et al. erklärten das Phänomen, dass sich z. B. bei einer 50-proz. Bedeckung der Elektroden durch Lipidmonoschichten die Fläche der CV-Kurven gegenüber den mit unbedeckten Elektroden gemessenen kaum änderte.<sup>[7]</sup> Die Löcherdichte bleibt also unbekannt. Die Bestimmung der Lochdichte durch AFM- oder STM-Messungen ist uns nicht gelungen, weil wir zwischen Ätzgruben in der Goldoberfläche<sup>[8]</sup> und Membranlücken nicht unterscheiden konnten. Beschichtete man die Goldelektroden vollständig mit ODT **1**, so wurde der Strom der Elektronen zwischen der Elektrode und den redoxaktiven Ionen vollständig blockiert. Die nach der in zwei Schritten verlaufenden Selbstorganisation aufgenommenen Cyclovoltammogramme („50%“) waren, wie schon von Savéant et al. beschrieben, qualitativ und quantitativ denen mit der nackten, hantelförmigen Elektrode gemessen ähnlich. Wenn in unserem Falle viel Porphyrin vorhanden war, waren die CV-Kurven symmetrisch, die Differenz der Peakpotentiale gering. Die Zahl der Porphyrinlücken konnte durch Substitution bei längeren Dauer des zweiten Selbstorganisationschritts, z. B. mit  $C_{18}$ -SH (4 Stunden), erniedrigt werden. Die Differenz der Peakpotentiale stieg dann an ( $> 300$  mV) und die CV-Kurven wurden unsymmetrisch (Abbildung 2, Kurve 2). Bei sehr niedriger Porphyrinbedeckung wurde in den Cyclovoltammogrammen keine umhüllte Fläche mehr beobachtet (keine Abbildung). Das für lineare Diffusion typische Cyclovoltammogramm an der nackten Elektrode war dann vollständig durch die für die radiale Diffusion typische polare Kurvenform ersetzt worden.<sup>[9, 10]</sup> Die Voltammogramme (2) der Abbildung 2 sind Zwischenformen. Die Vergrößerung der Differenzen der Peakpotentiale bei gleichbleibender Porphyrinkonzentration führen wir auf die Verlangsamung des Elektronentransports von der Goldelektrode auf die Ferricyanid-Ionen zurück.<sup>[11-13]</sup> Über die Leitfähigkeit des in die Poren eingeschlossenen Wassers und über eventuelle Restluft lässt sich nichts aussagen. Allerdings waren alle Cyclovoltammogramme innerhalb geringer Fehlertoleranzen reproduzierbar, wenn Elektroden und Membranen auf jeweils gleiche Weise vorbehandelt und beschichtet wurden. Wir haben dann die Versuche, die Fläche und Eigenschaften der Membranporen durch CV-Messungen zu charakterisieren, nicht weiter verfolgt. Schließlich kam es uns ja nur auf den Nachweis der Blockierung und der Öffnung der Poren an.

Sowohl die fluiden als auch die formstabilen Lücken ließen sich durch einfaches Eintauchen der Elektrode in eine 0.1M

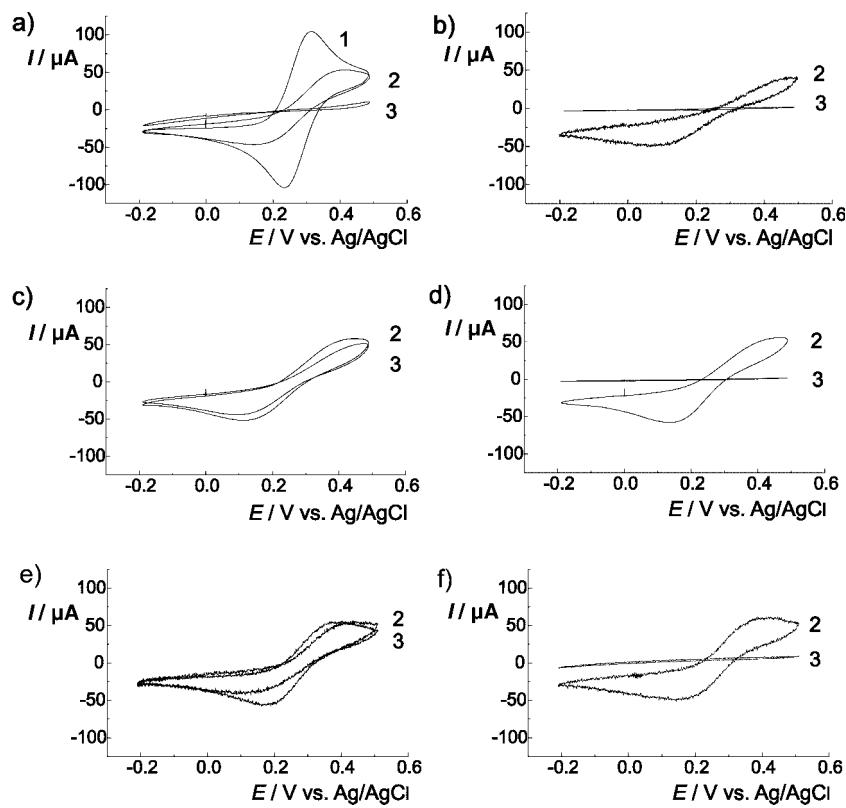
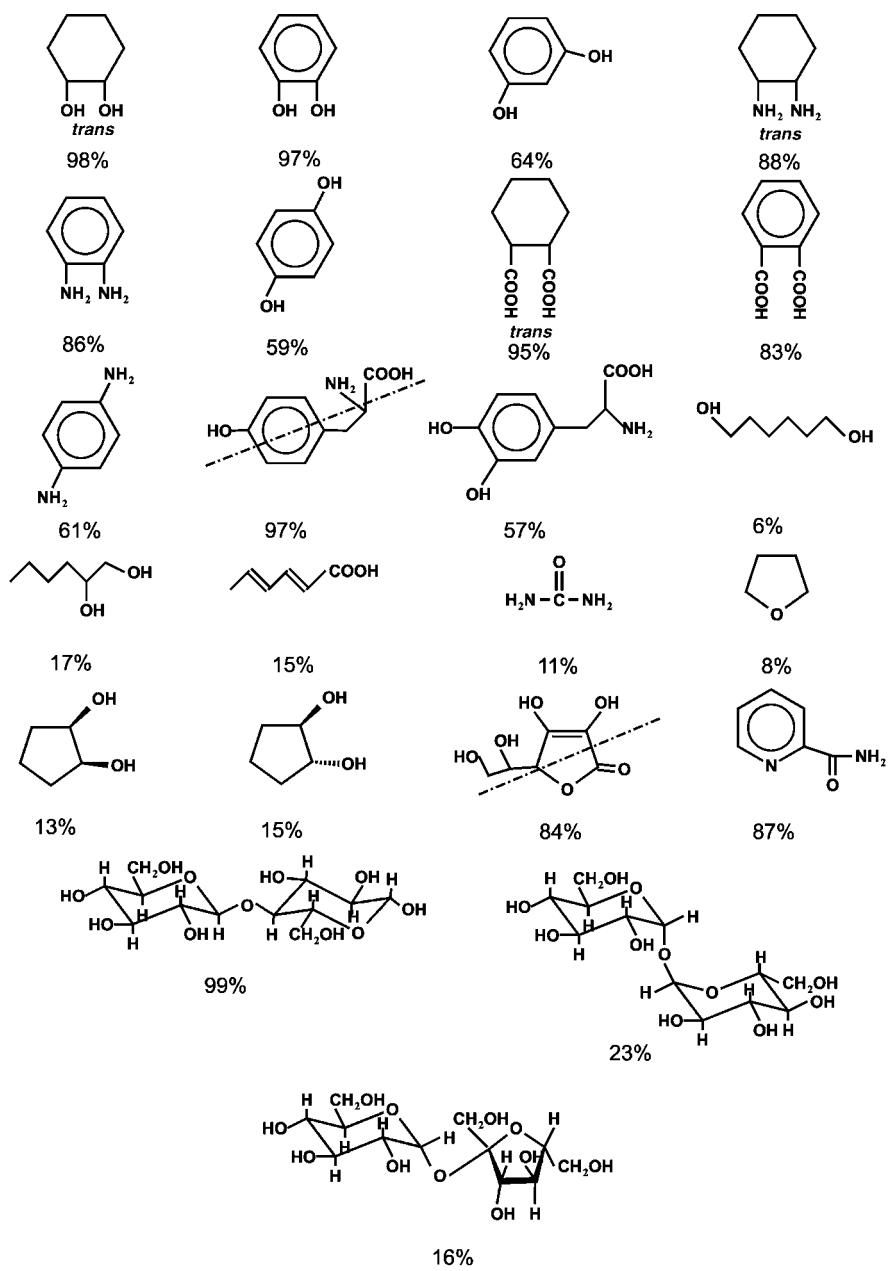


Abbildung 2. Cyclovoltammogramme einer wässrigen Lösung von Ferricyanid-Ionen ( $10^{-3}$  M; 1M KCl) bei  $100 \text{ mV s}^{-1}$  gemessen (1) mit einer nackten Goldelektrode, (2) mit einer Elektrode, die mit einer Monoschicht mit offenen Lücken aus ODT **1** (a – d) oder Diamid **2** (e,f) bedeckt ist und (3) nach Ex-situ-Behandlung mit einer 0.1M Lösung der folgenden Verbindungen und nachfolgendem Waschen mit Wasser: a) Ascorbinsäure (ODT **1**), b) Tyrosin (ODT **1**), c) Maltose (ODT **1**), d) Cellobiose (ODT **1**), e) Maltose (Diamid **2**), f) Cellobiose (Diamid **2**).

wässrige Lösung bestimmter organischer Stoffe schließen (Kurven 3 in Abbildung 2). Der Elektronentransport von Ferricyanid-Ionen im Volumenwasser zur Elektrode fand dann für mindestens vier Tage bis hin zu sechs Monaten nicht mehr statt. Das war der Fall, obwohl die Elektrode gründlich mit destilliertem Wasser gewaschen wurde und die Lücken in direktem Kontakt mit dem Volumenwasser standen, das keine zusätzlichen organischen Stoffe enthielt. Die Unterbrechung des Elektronenflusses von der Elektrode zum Ferricyanid dauerte monatelang an. Mit Ruthenium(II)-hexamin-Ionen in der gleichen Lösung mit gleichen Elektroden wurde dieser Effekt nicht beobachtet. Wir führen das darauf zurück, dass weder der  $\text{Ru}(\text{NH}_3)^{2+}$ -noch der  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ -Komplex durch die Schicht irreversibel adsorbiert Moleküle hindurch diffundieren konnten, dass aber beim Ruthenium ein Tunnelstrom noch möglich war. Auf Grund einer tausend Mal größeren Elektronentransfer-Geschwindigkeit im Vergleich zum Ferricyanid<sup>[9-10]</sup> überwinden offensichtlich die Elektronen die Wasser-Barriere auf dem Weg vom Ruthenium-Komplex zur Elektrode; der Elektronentransfer von der Goldelektrode zum träge reagierenden Ferricyanid kann hingegen nicht mehr nachgewiesen werden.

Schema 1 fasst die relative Wirksamkeit der eingesetzten, organischen Verbindungen zusammen. Abbildung 2 zeigt typische Cyclovoltammogramme vor der Behandlung mit den verschiedenen 0.1M Lösungen und etwa 2–3 Stunden



Schema 1. Blockadeeffekte von 0.1M Lösungen der abgebildeten Verbindungen für den Elektronentransport von Ferricyanid-Ionen im Volumenwasser. Die angegebenen Prozentzahlen entsprechen der gemessenen relativen Stromstärke:  $I_{\text{rel}} = [(I_{\text{offen}} - I_{\text{blockiert}})/I_{\text{offen}}] \times 100\%$  bei offenen ( $I_{\text{offen}}$ ) und geschlossenen ( $I_{\text{blockiert}}$ ) Poren bei 0.4 V.

danach. Bei wirksamen Blockademolekülen ging die Größe der erhaltenen Ströme (bei einem Potential von 0.4 V) auf Werte zwischen < 0.1 % und 2 % der ursprünglichen Werte zurück, die Elektronen-Transfergeschwindigkeit vom Ferri-cyanid zum Gold und der Faraday-Strom sanken hingegen auf fast Null.<sup>[11-13]</sup> Nur starre, cyclische Moleküle mit wasserlöslichen Substituenten in der Ringebene wirkten als Blocker (1,2-*trans*-Cyclohexandiol, -diamin, -dicarboxylat und die analogen Benzolderivate, Cellobiose, Ascorbinsäure). Offenkettige Verbindungen oder Carbocyclen mit flexiblen Konformationen (Sorbinsäure, Glycerin, 1,2-*trans*-Cyclopentandiol) hatten ebenso wenig Wirkung wie starre Cyclohexan-derivate mit axialen Substituenten (1,2-*cis*-Cyclohexandiol,

Maltose). Geladene Moleküle waren bei gleicher Stereochemie ebenso aktiv wie elektroneutrale Moleküle.

Wir haben dann versucht, die Poren für den Elektronentransport zum Ferricyanid wieder zu öffnen. Das gelang innerhalb weniger Minuten, wenn dem Volumenwasser  $\geq 10\%$  Ethanol oder etwas Salzsäure ( $\text{pH} < 3$ ) zugesetzt wurde. Waren die Poren einmal geöffnet, so ließen sie sich durch Zugabe der im Schema 1 angegebenen Verbindungen nur dann wieder verschließen, wenn die Elektrode aus der  $\text{KCl}/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ -Lösung entfernt, gewaschen und in eine 0.1M Lösung der oben gezeigten Verbindungen getaucht wurde. Dieses Verfahren bezeichnen wir als Ex-situ-Zugabe. Direkte Zugabe einer der blockierenden Verbindungen in die elektrolythaltige Lösung („in situ“) hatte einen geringeren Effekt, der außerdem beim Waschen mit einer  $\text{KCl}/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ -Lösung ohne die organische Verbindung sofort verschwand. Abbildung 3 zeigt den In-situ-Effekt der Cellobiose, der hier etwa 80% der ex situ beobachteten Blockierung ausmacht. Maltose hatte ex wie in situ keinerlei Effekt. Aus dem negativen Ergebnis des In-situ-Experimentes, bei dem die Einlagerung der organischen Stoffe während der CV in der Elektrolytlösung durchgeführt wurde, folgt, dass die blockierende Lösung in den Membranspalten elektrolytfrei sein muss. Den störenden Einfluss des Elektrolyts auf den Blockadeeffekt führen wir auf den Zusammenbruch eisartig-geordneter Hydratstrukturen in den Membranlücken zurück. Aus dem Befund, dass der ex situ erzeugte Blockadeeffekt in Gegenwart der Elektrolytlösung tagelang erhalten blieb, folgt dann auch, dass keine Ionen in diese Hydratstrukturen hinein diffundieren.

Das änderte sich, wenn man dem Volumenwasser  $10^{-3}\text{ M}$  Dimethylviologen zuführte und einige CV-Zyklen mit der Elektrode zwischen  $+0.5$  und  $-0.8\text{ V}$  (gegen

Ag/AgCl) durchführte. Nach etwa 12 Zyklen war die Pore dann vollständig frei, das CV erschien in der gleichen Form wie vor der Blockierung (Abbildung 4). Kontrollexperimente mit Ferricyanid und Kaliumchlorid im Volumenwasser, aber ohne Viologen, ergaben keinerlei Öffnungseffekt. Wir vermuten, dass das schmale Viologenmolekül durch die Fernwirkung des elektrischen Feldes in das elektrolytfreie (!) Hydratwasser der Pore hineingezogen, abgestoßen und lateral bewegt wird. Möglicherweise wird auch ein Pyridiniumring dabei reversibel reduziert und zurück oxidiert. Jedenfalls ändert das Molekül laufend seine Lage und Orientierung und wirkt als molekularer Rührstab, der das Adsorbat ins Volumenwasser befördert. Alle Öffnungsprozesse (Ethanol,

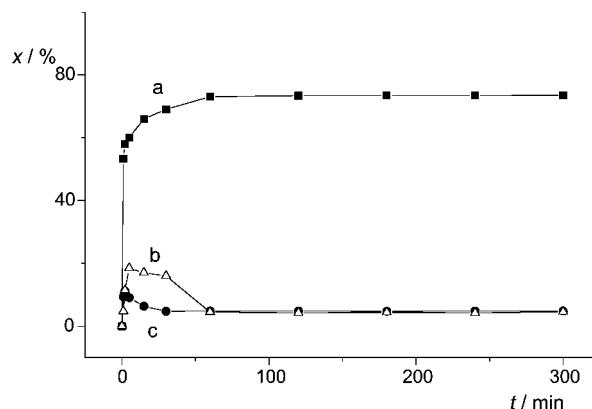


Abbildung 3. In-situ-Experimente mit ODT-beschichteten Elektroden, die offene Lücken enthielten, a) nach Zugabe von Cellobiose (0.1M) zur KCl/Fe(CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup>-Lösung, b) nach Zugabe von Maltose, c) Kontrollexperiment mit der nackten Elektrode.

Salzsäure, Rühren mit Viologen) ließen sich durch einfaches Eintauchen der Elektrode in 0.1M Cellobiose-Lösung (ex situ) vollständig und mehrfach wieder umkehren.

Im Falle der Cellobiose haben wie auch gefunden, dass nur die reine Verbindung einen blockierenden Effekt hat. Mischte man ihr während des Ex-situ-Experiments  $\geq 1\%$  Maltose bei, so wurde unter den gleichen Bedingungen, bei denen Cellobiose vollkommen blockierte, keine signifikante Verringerung des Stromflusses von der Elektrode zum Ferricyanid gemessen. Außerdem ließen sich keinerlei Unterschiede zwischen fluiden und steifen Membranlücken (Membran aus ODT 1 bzw. Diamid 2) bei den Blockierungsversuchen nachweisen.

Die Ergebnisse zeigen, dass planare, steife Moleküle von der Art der Glucose und der Phenole sowohl an fluiden als auch an starren Lipidmembranen so fest haften, dass sie von Volumenwasser bei pH 7 innerhalb mehrerer Tage nicht abgelöst werden. Die feste Haftung wird nur nach einem mehrstündigen Ordnungsprozess hydratisierter Moleküle<sup>[5, 14]</sup> erzielt und kann durch geringe Mengen strukturbrechender Substanzen ebenso unterbunden werden wie durch Elektrolyte. Der Rühreffekt des Viologens während der CV zeigt, dass das Wasservolumen in der Membranlücke keine Elektrolyten enthält, sonst würde das elektrische Feld nicht anziehend wirken. Einen Grund für die Wasserunlöslichkeit

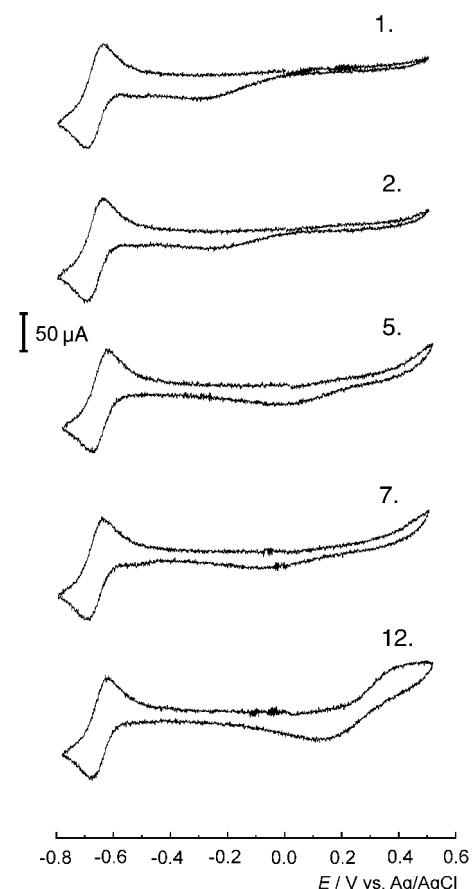


Abbildung 4. Aufeinanderfolgende Cyclovoltammogramme, die die Öffnung der mit Tyrosin blockierten Poren in Gegenwart von  $10^{-3}\text{M}$  Viologen belegen.

der an der hydrophoben Membran fixierten Cellobiose, Ascorbinsäure u.s.w. können wir noch nicht angeben. Vermutlich gibt es einen sehr engen Kontakt zwischen der Membran und den organischen, gelösten Verbindungen, der das Eindringen von Hydratwasser dauerhaft verhindert. Die mittleren Weglängen der Wassermoleküle in  $8\text{ nm}^3$  großen Lücken sind möglicherweise so klein, dass es die Eigenschaften eines Festkörpers annimmt.<sup>[14]</sup> Das in der Abbildung 5 dargestellte Modell fasst die Beobachtungen am Beispiel der Cellobiose zusammen. Die hydrophobe Seite

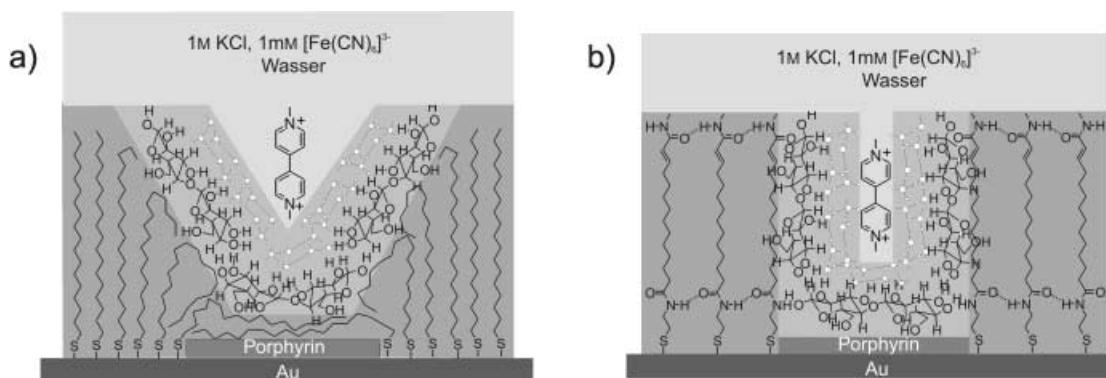


Abbildung 5. Modell der hydratisierten, immobilen Cellobiose-Schicht in hydrophoben Membranlücken a) in einer fluiden ODT-Schicht, b) in einer steifen Schicht aus amphiphilen Diamiden wie 2. Die wässrige Volumenphase mit Leitsalz und Ferricyanid mischt sich nicht mit der Hydrathülle, wohl aber dringt das Viologen-Molekül dort ein und wirkt als molekularer Rührer.

der Glucoseeinheiten wird an den hydrophoben Wänden der Membranlücke adsorbiert und durch Wasserstoffbrücken sowie eine immobile hexagonale Hydrathülle<sup>[5, 15]</sup> fixiert. Eine einzige axiale OH-Gruppe oder ein Prozent eines  $\alpha$ -Glycosids (Maltose) reicht aus, um den langwierigen Fixierungsprozess der Moleküle zu stören. Das Viologenmolekül dringt während der zyklischen Änderung des Elektrodenpotentials in das immobile Wasservolumen ein, weil es vom elektrischen Feld der Elektrode angezogen wird.

Die beschriebenen, in neutralem Wasser praktisch irreversiblen Anlagerungsprozesse sind für sich neuartig und interessant und könnten z.B. bei Erkennungsprozessen der Oligosaccharide von Glycoproteinen an Membranoberflächen eine Rolle spielen. Hohe thermodynamische Bindungskonstanten sind von Kohlenhydraten und hydrophoben Wänden in wässrigen Medien kaum zu erwarten. Das Einfrieren von starren Hydraten und das Auftauen durch Membranprozesse erscheinen im Licht der hier beschriebenen Befunde plausibel. Vor allem aber erlaubt die Fixierung wasserlöslicher Redoxsysteme (Tyrosin, Ascorbinsäure) in Wasservolumen von der Größe einiger Kubiknanometer den Aufbau neuer supramolekularer Systeme zur photolytischen Wasserspaltung.<sup>[16]</sup>

Eingegangen am 7. November 2001

Veränderte Fassung am 22. Februar 2002 [Z18179]

- [1] D. Voet, J. G. Voet, *Biochemie*, VCH, Weinheim, **1992**, S. 311, 354 (Enzyme); D. Voet, J. G. Voet, *Biochemie*, VCH, Weinheim, **1992**, S. 876 (DNA); D. Voet, J. G. Voet, *Biochemie*, VCH, Weinheim, **1992**, S. 259 (Glycoproteine).
- [2] G. A. Jeffrey, W. Saenger, *Hydrogen Bonding in Biological Structures*, Springer, Berlin, **1991**.
- [3] R. G. Nuzzo, D. L. Allara, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 4481.
- [4] A. Ulman, *An Introduction to Ultrathin Organic Films*, Academic Press, San Diego, **1991**.
- [5] a) J.-H. Fuhrhop, T. Bedurke, M. Gnade, J. Schneider, K. Doblhofer, *Langmuir* **1997**, *13*, 455; b) W. Fudickar, J. Zimmermann, L. Ruhmann, J. Schneider, B. Roeder, U. Sigel, J.-H. Fuhrhop, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9539; c) M. Skupin, G. Li, W. Fudickar, J. Zimmermann, B. Roeder, J.-H. Fuhrhop, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3454.
- [6] M. Vossen, F. Forstmann, *J. Chem. Phys.* **1995**, *101*, 2379.
- [7] C. Amatore, J.-M. Savéant, D. Tessier, *J. Electronanal Chem.* **1983**, *147*, 39.
- [8] E. Delamarche, B. Michel, H. A. Biebuyck, C. Gerber, *Adv. Mater.* **1996**, *8*, 719.
- [9] O. Chailapakul, R. M. Crooks, *Langmuir* **1993**, *9*, 884.
- [10] O. Chailapakul, R. M. Crooks, *Langmuir* **1995**, *11*, 1329.
- [11] M. T. Carter, G. K. Rowe, J. N. Richardson, L. M. Tender, R. H. Terrill, R. W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 2896.
- [12] A. J. Bard, L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, Wiley, New York, **2001**.
- [13] C. E. D. Chidsey, *Science* **1991**, *251*, 919.
- [14] F. Franks, *Pure Appl. Chem.* **1987**, *59*, 1189.
- [15] J. Lu, M. E. Green, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 2776.
- [16] G. Li, W. Fudickar, M. Skupin, A. Klyszcz, C. Draeger, M. Lauer, J.-H. Fuhrhop, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1907; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1829.

## Synthese von Neo-Peptidoglycanen: eine überraschende Aktivität proteolytischer Enzyme\*\*

Nicole Wehofsky, Reik Löser, Andrij Buchynskyy, Peter Welzel und Frank Bordusa\*

Glycosylierungen gehören zu den häufigsten posttranslationalen Modifizierungen von Polypeptiden und haben einen großen Einfluss auf die Struktur, die Stabilität und die biologische Aktivität des Trägermoleküls. Infolge ihrer Beteiligung an Prozessen wie der Adhäsion, der Differenzierung und dem Wachstum von Zellen oder ihrer Assoziation mit Tumorzelllinien sind Glycopeptide und ihre Analoga von außerordentlichem biologischen und pharmazeutischen Interesse.<sup>[1]</sup> Ihre Isolierung aus natürlichen Quellen oder die gentechnologische Herstellung führt jedoch üblicher Weise zu Konjugaten mit verändertem oder inhomogenem Kohlenhydrat-Anteil. Den Zugang zu definierten Kohlenhydrat-Peptid-Konjugaten ermöglicht derzeit nur die Anwendung chemischer oder chemoenzymatischer Methoden. Trotz der Vielzahl der zur Verfügung stehenden Synthesemethoden stellt die Herstellung dieser Verbindungen aufgrund ihrer Komplexität, Hydrophilie und Säure- und in einigen Fällen Basenlabilität eine große Herausforderung außerhalb jeglicher Routine dar.<sup>[2]</sup>

In dieser Zuschrift wird über eine biokatalytische Methode berichtet, die eine selektive Acylierung von N-Glycanen mit Aminosäuren und Peptiden ermöglicht. Wie das bereits beschriebene Transglutaminase-Verfahren<sup>[3]</sup> erlaubt diese die Modifizierung von Glutamin(Gln)-Resten mit strukturell verschiedenen Kohlenhydraten. Die Anwendung dieser Methode ist jedoch nicht auf Gln beschränkt, sondern darüber hinaus auch auf Asparagin(Asn)-Derivate übertragbar. Selbst Konjugate, deren Kohlenhydrat-Struktur an den C-Terminus des Peptids geknüpft ist, sind durch das Verfahren zugänglich. Für die Methode ist kennzeichnend, dass Clostridin aus *Clostridium histolyticum* als Biokatalysator in Kombination mit neuartigen Substratmimetika vom iso-Typ als Aminosäure- bzw. Peptid-Komponente eingesetzt wird.

[\*] Dr. F. Bordusa, Dr. N. Wehofsky  
Max-Planck-Gesellschaft  
Forschungsstelle „Enzymologie der Proteinfaltung“  
Weinbergweg 22, 06120 Halle/Saale (Deutschland)  
Fax: (+49) 345-551-1972  
E-mail: bordusa@enzyme-halle.mpg.de  
Dipl.-Chem. A. Buchynskyy, Prof. P. Welzel  
Universität Leipzig  
Institut für Organische Chemie  
Johannisallee 29, 04103 Leipzig (Deutschland)  
Dipl.-Biochem. R. Löser  
Universität Leipzig  
Institut für Biochemie  
Talstraße 33, 04103 Leipzig (Deutschland)

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG, Innovationskolleg „Chemisches Signal und biologische Antwort“ und BO 1770/1-1) und dem Fonds der chemischen Industrie gefördert (P.W. und Liebig-Stipendium an F.B.).

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