

Bioanorganische Chemie

Modulare Synthese Ruthenium-markierter
Diarylether-Peptide**

Alexander Schmid und Thomas Lindel*

Professor Wolfgang Steglich zum 70. Geburtstag gewidmet

Die Erforschung peptoider^[1] Verbindungen ist von grundlegender Bedeutung für die bioorganische und -anorganische Chemie. Man denke an die faszinierende Welt der β - und γ -Peptide.^[2] Eine besonders interessante Gruppe bilden radioaktive Metallkomplexe von Peptoiden, die die empfindliche Detektion und vielleicht sogar die Zerstörung von Tumorzellen in Aussicht stellen. Dabei würde biochemische Selektivität mit hochenergetischer Strahlung kombiniert. Als prominentestes Beispiel wird in der Nuklearmedizin ¹¹¹In-markiertes Octreotid eingesetzt, das an die Rezeptoren des regulatorischen Hormons Somatostatin bindet.^[3] Beck et al. unterstrichen die Bedeutung von Aminosäure- und Peptid-Metallkomplexen für das sich schnell entwickelnde Gebiet der Bioorganometallchemie.^[4]

Peptide werden normalerweise nach ihrer Synthese markiert, seit kurzem auch an speziell funktionalisierten Positionen.^[5] Die Einführung sterisch anspruchsvoller Metallkomplexe in ein kleines Peptid kann jedoch dessen Eigenschaften verändern. Deshalb wäre es sehr wünschenswert, bei der Suche nach biologischer Aktivität unter bereits metallmarkierten Peptoiden auswählen zu können. Ruthenium-Isotope scheinen besonders geeignet zur Markierung, da ihre Halbwertszeiten von drei Tagen bis zu einem Jahr reichen^[6] und da sie als inerte Sandwichkomplexe inkorporiert werden können. Der Kenntnisstand über rutheniumbasierte Metallopharmaka wurde kürzlich zusammengefasst.^{[7], [8]} Man erkannte bereits früh das Potenzial von Ruthenium-Isotopen^[6] für radiopharmazeutische Anwendungen, stand jedoch vor dem Problem, im Peptidbereich vorwiegend kleine Moleküle wie β -Ruthenocenyloxyalanin charakterisieren zu können.^[20] Mehrere Arbeitsgruppen, insbesondere Pearson et al., setzten $[\text{RuCp}^*]^+$ -monomarkierte Diarylether-Peptide lediglich als Intermediate zur Synthese von Naturstoffen ein.^[9] Sheldrick et al. erhielten aus Dipeptiden und Diketopiperazinen zweifach $[\text{RuCp}^*]^+$ -markierte Peptide.^[10]

Als Quelle radioaktiver, inerten Ruthenium-Sandwich-Komplexe wäre Ruthenium(III)chlorid direkt nutzbar, das in

einer Stufe inerte $[\text{RuCp}^*]^+$ -Sandwichkomplexe von Benzolderivaten liefert.^[13] Wir berichten hier über die Synthese und Charakterisierung einer vollständigen Startsequenz für den modularen Aufbau metallmarkierter Peptide mit neuartiger Architektur. Unser Ziel war ein Ansatz, der auf festphasengestützte Prozesse und damit auf die Kombinatorische Chemie übertragbar sein sollte. Essenziell ist der Einsatz eines $[\text{RuCp}^*]^+$ -Fragments ($\text{Cp}^* = \text{Pentamethylcyclopentadienyl}$) in doppelter Funktion: als markierende Gruppe und als Aktivator von Chlorarenen für die nucleophile Substitution durch Phenolate.^[11] Die resultierenden $[\text{RuCp}^*]^+$ -komplexierten Diarylether-Teilstrukturen erhöhen die Stabilität des Peptoids gegen Proteasen.^[12]

Abbildung 1 zeigt das Bauprinzip dieser Oligopeptide mit alternierenden Diarylether- und Amidbindungen. Jeder zweite Baustein ist Ruthenium-markiert, was eine hohe

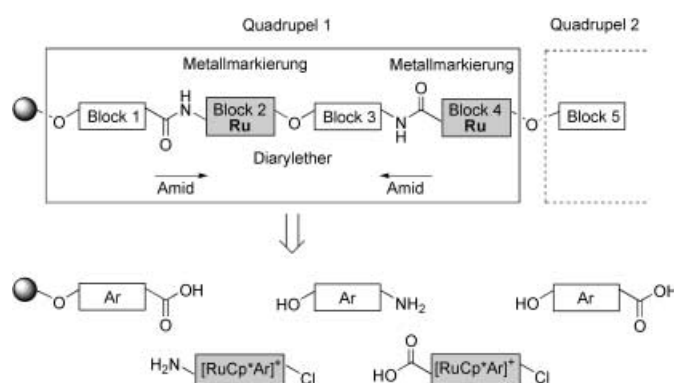


Abbildung 1. Modularer Aufbau Ruthenium-markierter Peptide mit alternierenden Amid- und Diaryletherbindungen. Nach den ersten vier Bausteinen ist repetitive Verlängerung möglich.

Markierungsdichte gewährleistet. Anders als beim Aufbau regulärer Peptide sind hier vier Verlängerungsschritte zu einem Quadrupel nötig, bevor der Syntheszyklus wiederholt werden kann. Die Synthese der vollständigen, tetrapeptoiden Startsequenz ist also entscheidend für die Entwicklung eines automatisierbaren Protokolls zur modularen Synthese dieses Typs metallmarkierter Oligomere.

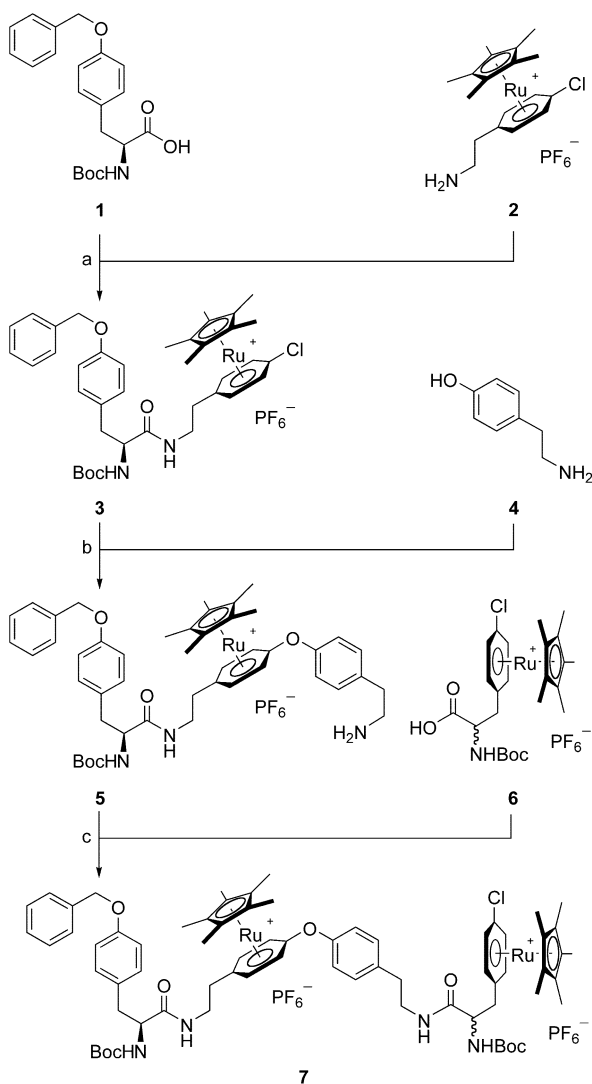
Schema 1 fasst die Synthese des zweifach $[\text{RuCp}^*]^+$ -markierten Diarylether-Peptoids **7** zusammen. Als η^5 -Ligand wurde Cp^* anstelle von Cp gewählt, da $[\text{RuCp}^*(\eta^6\text{-aren})]^+$ -Komplexe aus $\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ in einem Schritt zugänglich sind,^[13] während die analogen Cp -Komplexe nur über eine vierstufige Synthese hergestellt werden können.^[14] Zur Synthese des Tetrapeptoids **7** wurden *N*-Boc-OBn-Tyrosin (**1**), $[\text{RuCp}^*]^+$ -komplexiertes *p*-Chlorphenylethylamin (**2**), Tyramin (**4**) und der $[\text{RuCp}^*]^+$ -Komplex von *N*-Boc-geschütztem *p*-Chlorphenylalanin (**6**) eingesetzt. Die freie Carbonsäure **6** ist am besten über ihren Ethylester^[13b] zugänglich, der von LiOH in THF/H₂O (4:1) bei 0 °C (1 h) selektiv hydrolysiert wird.

Zur Knüpfung der ersten Amidbindung wurde die Carbonsäure **1** mit in situ erzeugtem *tert*-Butyl(pentafluorphenyl)carbonat^[15] in den aktivierten Ester überführt, der dann mit dem $[\text{RuCp}^*]^+$ -komplexierten freien Amin **2** zum

[*] Dipl.-Chem. A. Schmid, Prof. Dr. T. Lindel
Ludwig-Maximilians-Universität
Department Chemie
Butenandtstraße 5–13, 81377 München (Deutschland)
Fax: (+49) 89-218-077-734
E-mail: thomas.lindel@cup.uni-muenchen.de

[**] Wir danken der Degussa AG und der Macherey-Nagel GmbH & Co KG für die Unterstützung.

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



Scheme 1. Synthese des doppelt Ruthenium-markierten Tetrapeptoids 7. a) 1, Pentafluorphenol (1 Äquiv.), Boc_2O (1 Äquiv.), Pyridin, 23 °C, 4 h; dann 2, 1 d 23 °C, 1 d 50 °C; 75 %. b) 4, [18]Krone-6, KOtBu , THF/MeCN (1:1), 30 min, 0 °C; dann Überführung in eine vorgekühlte Lösung von 3, von –78 °C, 90 min; dann 23 °C, 15 min, 64 % Ausbeute. c) 6, HOBt, THF, EDCI, 0 °C, 15 min; dann 5 in THF, $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, von 0 °C nach 23 °C in 24 h, 80 % Ausbeute. HOBt = *N*-Hydroxybenzotriazol, EDCI = *N*-Ethyl-*N'*-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid.

Dipeptoid 3 umgesetzt wurde. Die Reaktion von 3 mit 4 lieferte das $[\text{RuCp}^*]^+$ -komplexierte Tripeptoid 5 in guter Ausbeute. Die Synthese von 7 wurde durch Umsetzung von 5 mit 6 nach dem EDCI/HOBt-Protokoll vervollständigt. Der gegenwärtig als Schutzgruppe dienende Benzylrest soll später durch einen Festphasen-Linker ersetzt werden.

Die Erforschung größerer, permanent geladener Peptide wie 5 und 7 erfordert die Entwicklung besonders leistungsfähiger chromatographischer Verfahren. Mit Aminopropylfunktionalisiertem Kieselgel konnten kleinere peptide $[\text{RuCp}^*]^+$ -Komplexe gereinigt werden.^[16] Wir fanden, dass solche stationären Phasen besonders geeignet sind, die Adsorptions- und Ionenaustauscheigenschaften vereinen. Von der kieselgelbasierten, benzolsulfonierten Nucleosil-

SA-Phase werden anionische und nichtgeladene Komponenten mit Methanol leicht eluiert.^[17] Die kationischen Produkte können anschließend mit einem Natriumacetat-Gradienten differenziert eluiert werden.^[18] Das Elutionsprofil (Abbildung 2) belegt die Effizienz dieses Verfahrens für das Dreikomponentengemisch der $[\text{RuCp}^*]^+$ -markierten Diarylether-Peptide 5, 7 und 8.

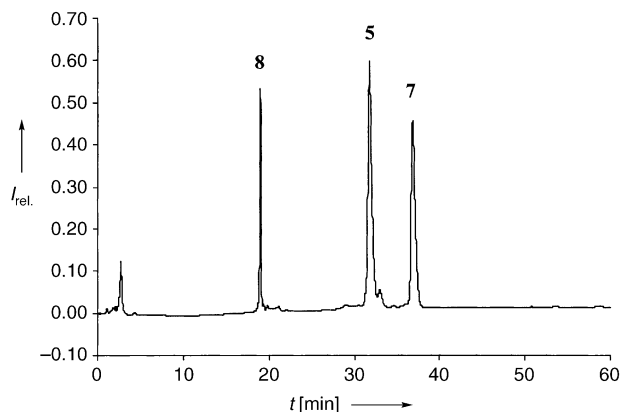
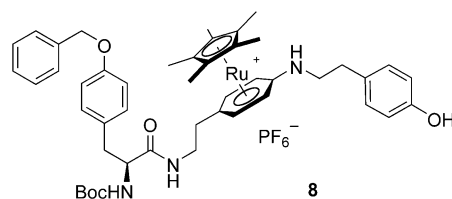


Abbildung 2. HPLC-Elutionsprofile eines Gemischs der regioisomeren Tripeptide 5 und 8 sowie des Tetrapeptoids 7. Bedingungen siehe Lit. [18].

Das neue Chromatographie-Protokoll erlaubte uns die Identifizierung von Nebenprodukten, speziell aus dem Angriff des ambidenten Nucleophils 4 am Dipeptoid 3. Das vollständig charakterisierte, zu 5 regioisomere Tripeptoid 8 weist eine $[\text{RuCp}^*]^+$ -komplexierte Alkylarylamin-Teilstruktur auf.



Ähnlich wie bei entsprechenden Sandwichkomplexen freier Phenole^[19] könnte man annehmen, dass die (verglichen mit dem Diarylether 5) ausgeprägte Hochfeld-Verschiebung der Signale der aromatischen Protonen der Sandwich-Teilstruktur von 8 eine η^5 -Koordination des Benzolrings sowie die Bildung einer C=N-Doppelbindung anzeigt. Im ^1H -NMR-Spektrum ist jedoch bei $\delta = 4.29$ ppm ein durch COSY-, HSQC- und HMBC-Experimente eindeutig zuzuordnendes NH-Proton zu erkennen, was eine η^6 -Koordination belegt. Die Bildung von 8 lässt sich am besten durch anfängliches Belassen der Reaktionsmischung bei –78 °C vermeiden (90 min, 1.1 Äquiv. 4). Mit Ausnahme des freien Amins 2, das unmittelbar vor Verwendung aus seiner Boc-geschützten Vorstufe freigesetzt werden sollte, zersetzt sich in wässriger Lösung oder an Luft keiner der gereinigten $[\text{RuCp}^*]^+$ -Komplexe.

Unser Ansatz erlaubt die Kontrolle der Häufigkeit und Position der $[\text{RuCp}^*]^+$ -Markierungen. Auf der Basis der Synthese des Tetrapeptoids **7** sind nun repetitive Schritte möglich. Der sterisch anspruchsvolle Cp^* -Ligand schränkt die Zahl der möglichen Vorzugskonformationen ein und sollte bei längeren Ketten die Bildung interessanter Sekundärstrukturen fördern.

Eingegangen am 22. September 2003 [Z52927]

Stichwörter: Bioanorganische Chemie · Diarylether · Metallmarkierung · Peptide · Sandwichkomplexe

- [1] Die Bezeichnung Peptoid („-oid“ aus dem Altgriechischen εἶδος – Bild) war ursprünglich auf die Oligomere *N*-substituierter Glycine beschränkt: R. J. Simon, R. S. Kania, R. N. Zuckermann, V. D. Huebner, D. A. Jewell, S. Banville, S. Ng, L. Wang, S. Rosenberg, C. K. Marlowe, D. C. Spellmeyer, R. Tan, A. D. Frankel, D. V. Santi, F. E. Cohen, P. A. Bartlett, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, 89, 9367–9371. a) D. Seebach, T. Sifferlen, D. J. Bierbaum, M. Rueping, B. Jaun, B. Schweizer, J. Schaefer, A. K. Mehta, R. D. O'Connor, B. H. Meier, M. Ernst, A. Glättli, *Helv. Chim. Acta* **2002**, 85, 2877–2917; b) D. Seebach, L. Schaeffer, M. Brenner, D. Hoyer, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 800–802; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 776–777, zit. Lit.
- [2] a) D. Seebach, T. Sifferlen, D. J. Bierbaum, M. Rueping, B. Jaun, B. Schweizer, J. Schaefer, A. K. Mehta, R. D. O'Connor, B. H. Meier, M. Ernst, A. Glättli, *Helv. Chim. Acta* **2002**, 85, 2877–2917; b) D. Seebach, L. Schaeffer, M. Brenner, D. Hoyer, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 800–802; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 776–777, zit. Lit.
- [3] a) A. Janecka, M. Zubrzycka, T. Janecki, *J. Pept. Res.* **2001**, 53, 91–107; b) A. J. van der Lely, W. W. de Herder, E. P. Krenning, D. J. Kwekkeboom, *Endocrine* **2003**, 20, 307–311.
- [4] K. Severin, R. Bergs, W. Beck, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 1722–1743; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 1635–1654.
- [5] W. E. P. Greenland, K. Howland, J. Hardy, I. Fogelman, P. J. Blower, *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 1751–1757, zit. Lit.
- [6] ^{97}Ru (Halbwertszeit 2.89 d, Elektroneneinfang), ^{103}Ru (39.27 d, β^-) und ^{106}Ru (1.02 a, β^-): *Handbook of Chemistry and Physics*, 76. Aufl. (Hrsg.: D. R. Lide), CRC, Boca Raton, FL, **1995**, S. 11–64.
- [7] D. B. Grotjahn, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, 190–192, 1125–1141.
- [8] M. J. Clarke, *Coord. Chem. Rev.* **2003**, 236, 209–233.
- [9] a) A. J. Pearson, J. G. Park, S. H. Yang, Y. H. Chuang, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 1363–1364; b) A. J. Pearson, S. Zigmantas, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 8765–8768, zit. Lit.; c) C. W. West, D. H. Rich, *Org. Lett.* **1999**, 1, 1819–1822, zit. Lit.; d) A. Marchetti, J. M. Ontoria, V. G. Matassa, *Synlett* **1999**, 1, 1000–1002; e) S. Venkatraman, F. G. Njoroge, V. Girijavallabhan, A. T. McPhall, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 3152–3155.
- [10] a) W. S. Sheldrick, A. Gleichmann, *J. Organomet. Chem.* **1994**, 470, 183–187; b) A. J. Gleichmann, J. M. Wolff, W. S. Sheldrick, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1995**, 1549–1554.
- [11] a) A. N. Nesmeyanov, N. A. Vol'kenau, I. N. Bolesova, L. S. Shul'pina, *Dokl. Akad. Nauk SSSR* **1980**, 254, 1408–1409; b) J. A. Segal, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1985**, 1338–1339.
- [12] H. Eickhoff, G. Jung, A. Rieker, *Tetrahedron* **2001**, 57, 353–364.
- [13] a) A. R. Kudinov, M. I. Rybinskaya, Yu. T. Struchkov, A. I. Yanovskii, P. V. Petrovskii, *J. Organomet. Chem.* **1987**, 336, 187–197; b) A. Schmid, H. Piotrowski, T. Lindel, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, 2255–2263.
- [14] a) T. P. Gill, K. R. Mann, *Organometallics* **1982**, 1, 485–488; b) B. M. Trost, C. M. Older, *Organometallics* **2002**, 21, 2544–2546.
- [15] M. Breslav, N. Doviborov, F. Naider, *J. Chem. Res. Synop.* **1994**, 362–363.
- [16] a) D. Leone-Stumpf, T. Lindel, *Chem. Eur. J.* **2001**, 7, 3961–3965; b) D. Leone-Stumpf, T. Lindel, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 1853–1858.
- [17] Nucleosil SA (Macherey-Nagel) enthält *n*-Propylbenzolsulfonsäure-Einheiten und wurde vorwiegend für die Trennung anorganischer Kationen verwendet: M. M. Muentner, K. C. Stokes, R. T. Obie, J. R. Jezorek, *J. Chromatogr. A* **1999**, 844, 39–51, zit. Lit.
- [18] Stationäre Phase: EC 250/4 Nucleosil 100-5 SA von Macherey-Nagel. Mobile Phase: MeOH (10 min), dann in 40 min Gradient von MeOH nach MeOH/NaOAc·3H₂O (0.74 M), dann 10 min MeOH/NaOAc·3H₂O (0.74 M). UV-Detektion bei 239 nm.
- [19] L. Djakovitch, F. Moulines, D. Astruc, *New J. Chem.* **1996**, 20, 1071–1080.
- [20] W. H. Soine, C. E. Guyer, F. F. Knapp, Jr., *J. Med. Chem.* **1984**, 27, 803–806.