

Die Entwicklung der Thiol-En-Kupplung als Klick-Prozess für die Materialwissenschaften und die bioorganische Chemie**

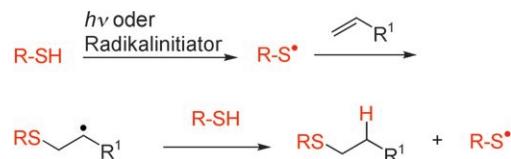
Alessandro Dondoni*

Klick-Chemie · Radikalreaktionen ·
Thiol-En-Kupplung

Zu Beginn dieses Jahrzehnts stellten Sharpless et al. das Konzept der Klick-Chemie vor.^[1] Seither ist die Zahl der Publikationen^[2] zur Kupfer(I)-katalysierten Azid-Alkin-Cycloaddition (CuAAC) als der typischen Klick-Reaktion exponentiell gestiegen (es sind bereits über 1000).^[3] Der Erfolg dieser Reaktion, die als Ligationsmethode auf so unterschiedlichen Gebieten wie organischer Synthese, Polymer- und Materialwissenschaften, medizinischer Chemie, Molekularbiologie und Biotechnologie Verwendung findet,^[4] beruht auf ihrer Effizienz, ihrer Regio- und Chemoselektivität, dem problemlosen Reaktionsverlauf unter aeroben Bedingungen und dem breiten Anwendungsbereich, der auch komplexe molekulare Reagentien einschließt. Den Nutzen der CuAAC-Reaktion für die Synthese belegt die Bildung eines stabilen Linkers, des 1,4-disubstituierten 1,2,3-Triazolrings (eine Schlüssel funktion^[4c]), der selbst biologische und pharmakologische Wirkungen aufweist. Das Gebiet der Klick-Chemie umfasst aber noch andere bekannte Reaktionen^[1] wie die Hetero-Diels-Alder-Reaktion, die nucleophile Ringöffnung von gespannten heterocyclischen Elektrophilen, die Umwandlung von Carbonylverbindungen in Oximether und Hydrazone sowie Additionen an C-C-Mehrfachbindungen durch Epoxidierung, Dihydroxylierung, Aziridinierung und Addition von Nitrosyl- und Sulfenylhalogeniden.

Viele weitere Reaktionen aus dem Repertoire der klassischen und modernen Synthesemethoden müssen für die Klick-Chemie erst noch erschlossen werden. Als eine interessante Klick-Methode hat sich nun die 100 Jahre alte^[5] und heute als Thiol-En-Kupplung (TEC) bezeichnete Addition von Thiolen an Alkene herausgestellt. Die photochemisch/thermisch induzierte Variante dieser Reaktion verläuft über einen Radikalmechanismus zu einem Anti-Markownikow-Thioether^[6] (Schema 1). Die hohe Effizienz, die Kompatibilität mit zahlreichen funktionellen Gruppen sowie die Un-

empfindlichkeit gegenüber Wasser und Sauerstoff belegen den „Klick-Status“ dieser Reaktion. Besonders interessant ist, dass die Substrate über eine Thioetherbindung verknüpft werden, die auch in stark sauren oder basischen Medien sowie unter oxidierenden und reduzierenden Bedingungen stabil ist.



Schema 1. Die Thiol-En-Radikalreaktion.

In der Polymerchemie findet die TEC seit Jahren breite Anwendung.^[7] Die UV-induzierte Vernetzung von ungesättigten Polymeren (Photohärtung) durch Reaktion mit multifunktionellen Thiolen wird derzeit in der Oberflächenbeschichtung genutzt, da das Verfahren eine Reihe von Vorteilen gegenüber anderen Härtungsmethoden hat, insbesondere solchen mit Schwermetallkatalysatoren.^[8] Auch Materialien für Anwendungen in der Medizin und besonders der Zahnmedizin^[9] wurden mit dieser Methode hergestellt. Allerdings wurde der Klick-Aspekt der TEC auf dem Gebiet der Polymerwissenschaften erst vor kurzem erkannt. Bezeichnenderweise wurde in einer Arbeit über die Modifizierung des Gerüsts von Poly[2-(3-butenyl)-2-oxazolin] durch Reaktion mit Thiolen der neue Begriff „Thio-Klick“ geprägt.^[10] Sowohl hydrophobe Fluorpolymere als auch wasserlösliche Glycopolymere wurden aus dem gleichen leicht zugänglichen Ausgangsmaterial hergestellt. Analog erfolgte die Funktionalisierung von 1,2-Polybutadien durch das Anbinden einer Reihe von Arylthiolen (die *in situ* aus Acetyl- oder Benzoylesthern hergestellt wurden) an angehängte Vinylgruppen.^[11] In beiden Arbeiten wurden der breite Anwendungsbereich und der modulare Charakter der TEC sowie der Verzicht auf giftige Übergangsmetallkatalysatoren hervorgehoben. Die Produkte, wohldefinierte Polymere, entstanden ohne Nebenreaktionen wie die Kupplung von Thiylradikalen, die zur Disulfidbildung führen könnte. Hawker et al. nutzten Thiol-En-Reaktionen zur Synthese von Polythioether-Dendrimeren.^[12] In dieser Arbeit wurde die C-S-Verknüpfung sowohl zum Aufbau des Dendritengerüsts als auch zur

[*] Prof. Dr. A. Dondoni
Dipartimento di Chimica, Università di Ferrara
Via L. Borsari 46; I-44100 Ferrara (Italien)
Fax: (+ 39) 0532-455-167
E-Mail: adn@unife.it
Homepage: http://web.unife.it/progetti/chimica_nmr/

[**] Ich danke meinem Kollegen Prof. A. Marra und Dr. M. Fiore für wertvolle Hilfe bei der Literaturrecherche.

Funktionalisierung der Kettenenden genutzt. Ausgehend von einem 2,4,6-Triallyoxy-1,3,5-triazin-Zentrum wurde das Dendrimer [G4]-OH₄₈ der vierten Generation (Abbildung 1) durch iterative Zyklen aus photoinduzierter TEC und Alkenbildung aufgebaut. Nach der Umwandlung von [G4]-OH₄₈ in das Polyalken-Dendrimer [G4]-En₄₈ ermöglichte die TEC mit monofunktionellen Thiolen die nahezu vollständige Funktionalisierung der Dendrimerperipherie. Aufgrund der umfangreichen Verwendung und der Zuverlässigkeit der TEC in dieser anspruchsvollen Synthese kamen die Autoren zu dem Schluss, dass die Reaktion den Anforderungen der Klick-Chemie genügt.

Mit der Anknüpfung von bioorganischen Molekülen wie Aminosäuren, Peptiden oder Kohlenhydraten über TEC ge-

langen Schlaad et al. wichtige Modifizierungen von synthetischen Polymeren.^[13] Die Autoren erkannten, dass diese Reaktion für die Synthese von Polymeren aus biologischen und synthetischen Anteilen – „Biohybride“ oder „molekulare Chimären“ – ein ähnliches Potenzial besitzt wie die CuAAC.

In neueren Arbeiten wird über Anwendungen der TEC in der bioorganischen Chemie berichtet. Die ersten Untersuchungen aus den Arbeitskreisen von Vliegenthart und Fraser-Reid konzentrierten sich besonders auf die Synthese von Neoglykonjugaten und beschrieben die Kettenverlängerung von Allylglycosiden durch radikalische Additionen verschiedener Thiole, die zu Glycosiden mit Sulfid-Spacern führte.^[14] Analog verlief die von Klaffke et al. beschriebene photochemische Kupplung der Allyl-N-glycoside von Oligosacchariden an Cysteamin zu Thioether-Spacern mit terminaler Aminogruppe. Die Produkte wurden anschließend durch Transglutaminase (TGase)-vermittelte Kupplung mit dem Dipeptid Benzylcarbonyl-Glutamin-Glycin (Cbz-Gln-Gly) in Neoglycopeptide überführt.^[15] Heidecke und Lindhorst gelang eine effiziente Synthese von Glycodendronen mit Thioether-gebundenen Mannosideinheiten durch thermische radikalische TEC in Gegenwart von Azobisisobutyronitril (AIBN).^[16] Diese Verbindungen wurden als Oligomannosid-Mimetika geplant und daher auf ihre Inhibitorwirkung gegenüber der Adhäsion von Bakterien untersucht. Damit war der Nutzen der TEC in der Glycobiologie nachgewiesen. Als robuste, effiziente und orthogonale Ligationsmethode für komplexe, multifunktionelle Substrate wurde die TEC erst kürzlich mit der Synthese von Vakzinen aus tumorassoziierten Glycopeptidantigenen durch Kunz et al. etabliert.^[17] Von besonderer Bedeutung war hierbei die Immunkompatibilität der Thioetherverknüpfung mit Rinderserumalbumin (BSA), die für die Entwicklung von Impfstoffen gegen Tumoren entscheidend ist. Nach einer Untersuchung zur Anwendbarkeit der radikalischen TEC für die Konjugation von Aminosäuren und Peptiden wurden die BSA-Glycopeptidvakzine synthetisiert, indem zunächst gebildete Glycopeptide durch mehrere Thioetherverknüpfungen in das Trägerprotein BSA eingeführt wurden. Abbildung 2 zeigt einen dieser Impfstoffe mit einem Sialinsäurerest.

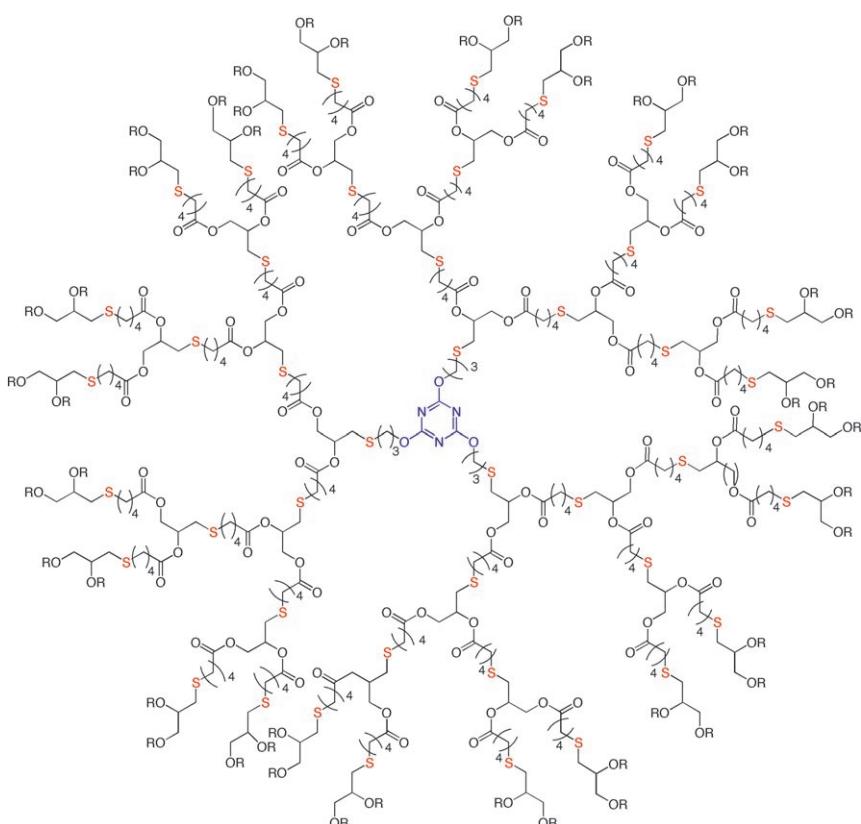


Abbildung 1. Das Thiodendrimer [G4]-OH₄₈ (R = H) und einige seiner Ester (R = C(O)(CH₂)₄S-CH₂CO₂H, C(O)(CH₂)₄SCH₂CO₂(CH₂)₄-Pyren-1-yl, C(O)(CH₂)₄SCH₂CH(NHFmoc)CO₂H. Fmoc = 9-Fluorenylmethoxykarbonyl.

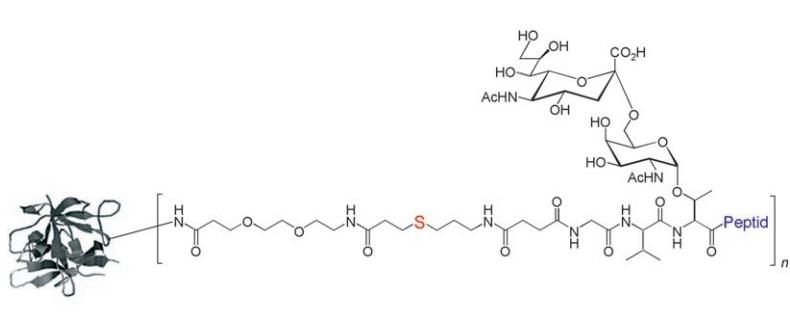


Abbildung 2. Ein Glycopeptid-Vakzin mit einem Sialinsäurerest.

Cysteinderivate durch Kupplung von Cystein mit verschiedenen Alkenen wurde die Flexibilität der AIBN-initiierten Reaktion bestätigt. Bemerkenswerterweise verlief die Kupplung ohne Racemisierung der Aminosäure. Zudem war die TEC auch auf hoch funktionalisierte Alkene anwendbar, wie die Anknüpfung eines fluoreszierenden Dansylderivats sowie eines Biotin-Markers zeigen.

Die hier beschriebenen Reaktionen sind repräsentativ für effiziente Anwendungen der Thiol-En-Kupplung zum regioselektiven Aufbau komplexer Molekülbauusteine. Die biologisch verträgliche Kupplungsreaktion kommt ohne schädliche Metallkatalysatoren aus, wird durch UV-Bestrahlung oder Radikalstarter ausgelöst und verläuft vollständig atomökonomisch. Das sind äußerst interessante Eigenschaften, die sowohl die Ausführung der Reaktion als auch die Produktisolierung vereinfachen. Als Nebenprodukt der Reaktion wird durch Homokupplung des Thiols hauptsächlich das entsprechende Disulfid gebildet, aus dem das Thiol leicht regeneriert werden kann (beispielsweise mit dem billigen Dithiothreitol). Ein bekannter Nachteil der TEC ist die Umkehrbarkeit der Thiylradikaladdition an die Alkendoppelbindung.^[6b] Diese Reversibilität kann in Abhängigkeit von der Struktur der beiden Reagentien erheblich variieren und von der Temperatur und der Thiolkonzentration abhängen. Daher müssen für jedes System optimale Reaktionsbedingungen gesucht werden, um das Gleichgewicht in Richtung des irreversiblen „Sperrschrifts“ zu verschieben, in dem das Thioalkylradikal ein H-Atom von einem anderen Thiol unter Bildung des stabilen Endprodukts abspaltet.

Bisher hat die TEC auf so unterschiedlichen Feldern wie der Polymerchemie und der bioorganischen Chemie große Aufmerksamkeit erregt. Dieses Interesse wird wahrscheinlich auf verwandte Gebiete wie Nanomaterialien, Molekularbiologie und Biomedizin übergreifen. Weil kein Metallkatalysator erforderlich ist, kann die Biokonjugation von Nutzen sein, wo die CuAAC wegen der Toxizität von Kupfer für lebende Zellen ausscheidet.^[19] Allerdings ist zu berücksichtigen, dass In-vivo-Versuche durch mangelnde Selektivität aufgrund der hohen Diffusion von Thiolverbindungen in den Zellen erschwert werden. Ein weiterer Aspekt kann die niedrige Toleranz von Biomolekülen gegenüber energiereicher UV-Strahlung sein. Glücklicherweise lassen sich die Reaktionen in Gegenwart geeigneter Photoinitiatoren mit energiearmem Licht bei 365 nm durchführen.^[12] Schließlich wird eine stärkere Beachtung dieser Reaktion wahrscheinlich ihre Verwendung als alternative Ligationsmethode neben der etablierten CuACC und anderen Klick-Prozessen anregen.^[20]

Online veröffentlicht am 9. Oktober 2008

- [1] a) H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2056–2075; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004–2021; b) H. C. Kolb, K. B. Sharpless, *Drug Discovery Today* **2003**, *8*, 1128–1137.
- [2] Eine ständig aktualisierte Liste findet sich unter: <http://www.scripps.edu/chem/sharpless/click.html>.
- [3] a) V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 2708–2711; *Angew. Chem. Int. Ed.*

- 2002**, *41*, 2596–2599; b) C. W. Tørnøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3062.
- [4] Übersichten: a) V. D. Bock, H. Hiemstra, J. H. van Maarseveen, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 51–68; b) W. H. Binder, C. Kluger, *Curr. Org. Chem.* **2006**, *10*, 1791–1815; c) A. Dondoni, *Chem. Asian J.* **2007**, *2*, 700–708; d) S. R. Hanson, W. A. Greenberg, C.-H. Wong, *QSAR Comb. Sci.* **2007**, *26*, 1243–1252; e) P. Wu, V. V. Fokin, *Aldrichimica Acta* **2007**, *40*, 7–17; f) J. F. Lutz, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 1036–1043; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1018–1025; g) Y. L. Angell, K. Burgess, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1674–1689; h) J. E. Moses, A. D. Moorhouse, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1249–1262; i) S. Dedola, S. A. Nepogodiev, R. A. Field, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1006–1017.
- [5] T. Posner, *Chem. Ber.* **1905**, *38*, 646–657.
- [6] a) F. R. Mayo, C. Walling, *Chem. Rev.* **1940**, *27*, 351–412; b) K. Griesbaum, *Angew. Chem.* **1970**, *82*, 276–290; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1970**, *9*, 273–287; c) S. Z. Zard, *Radical Reactions in Organic Synthesis*, Oxford University Press, Oxford, **2003**.
- [7] a) C. R. Morgan, F. Magnotta, A. D. Ketley, *J. Polym. Sci. Polymer Chem. Edn.* **1977**, *15*, 627–645; b) C. E. Hoyle, T. Y. Lee, T. Roper, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2004**, *42*, 5301–5338.
- [8] Y. B. Kim, H. K. Kim, H. C. Choi, J. W. Hong, *J. Appl. Polym. Sci.* **2005**, *95*, 342–350.
- [9] J. A. Carioscia, H. Lu, J. W. Stanbury, C. N. Bowman, *Dent. Mater.* **2005**, *21*, 1137–1143.
- [10] A. Gress, A. Völkel, H. Schlaad, *Macromolecules* **2007**, *40*, 7928–7933.
- [11] R. L. A. David, J. A. Kornfield, *Macromolecules* **2008**, *41*, 1151–1161.
- [12] K. L. Killops, L. M. Campos, C. J. Hawker, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5062–5064.
- [13] a) Y. Geng, D. E. Discher, J. Justynska, H. Schlaad, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 7740–7743; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7578–7581; b) Z. Hordyjewicz-Baran, L. You, B. Smarsly, R. Sigel, H. Schlaad, *Macromolecules* **2007**, *40*, 3901–3903.
- [14] a) P. B. van Seeventer, J. A. L. M. van Dorst, J. F. Siemerink, J. P. Kamerling, J. F. G. Vliegenthart, *Carbohydr. Res.* **1997**, *300*, 369–373; b) T. Buskas, E. Söderberg, P. Konradsson, B. Fraser-Reid, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 958–963.
- [15] D. Ramos, P. Rollin, W. Klaffke, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2948–2956.
- [16] C. D. Heidecke, T. K. Lindhorst, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 9056–9067.
- [17] S. Wittrock, T. Becker, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 5319–5323; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5226–5230.
- [18] G. Triola, L. Brunsveld, H. Waldmann, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 3646–3649.
- [19] Mit gespannten Alkinen, z.B. Cyclooctinderivaten, lässt sich dieser Nachteil umgehen: a) N. J. Agard, J. A. Prescher, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15046–15047; b) X. Ning, J. Guo, M. A. Wolfert, G.-J. Boons, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 2285–2287; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2253–2255.
- [20] Anmerkung während der Korrektur (22. Juli 2008): Nach Einreichen dieses Highlights erhielt der Verfasser Kenntnis von einer kürzlich erschienenen Publikation (P. Jonkheijm, D. Weinrich, M. Köhn, H. Engelkamp, P. C. M. Christianen, J. Kuhlmann, J. C. Maan, D. Nüsse, H. Schroeder, R. Wacker, R. Breinbauer, C. M. Niemeyer, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 4493–4496; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4421–4424), in der über die photochemische TEC zur kovalenten Bildung von Proteinmustern unter Erhaltung der Proteinstruktur und -reaktivität berichtet wird. Diese Arbeit liefert einen weiteren Beweis für das Potenzial der TEC in der Biokonjugation.