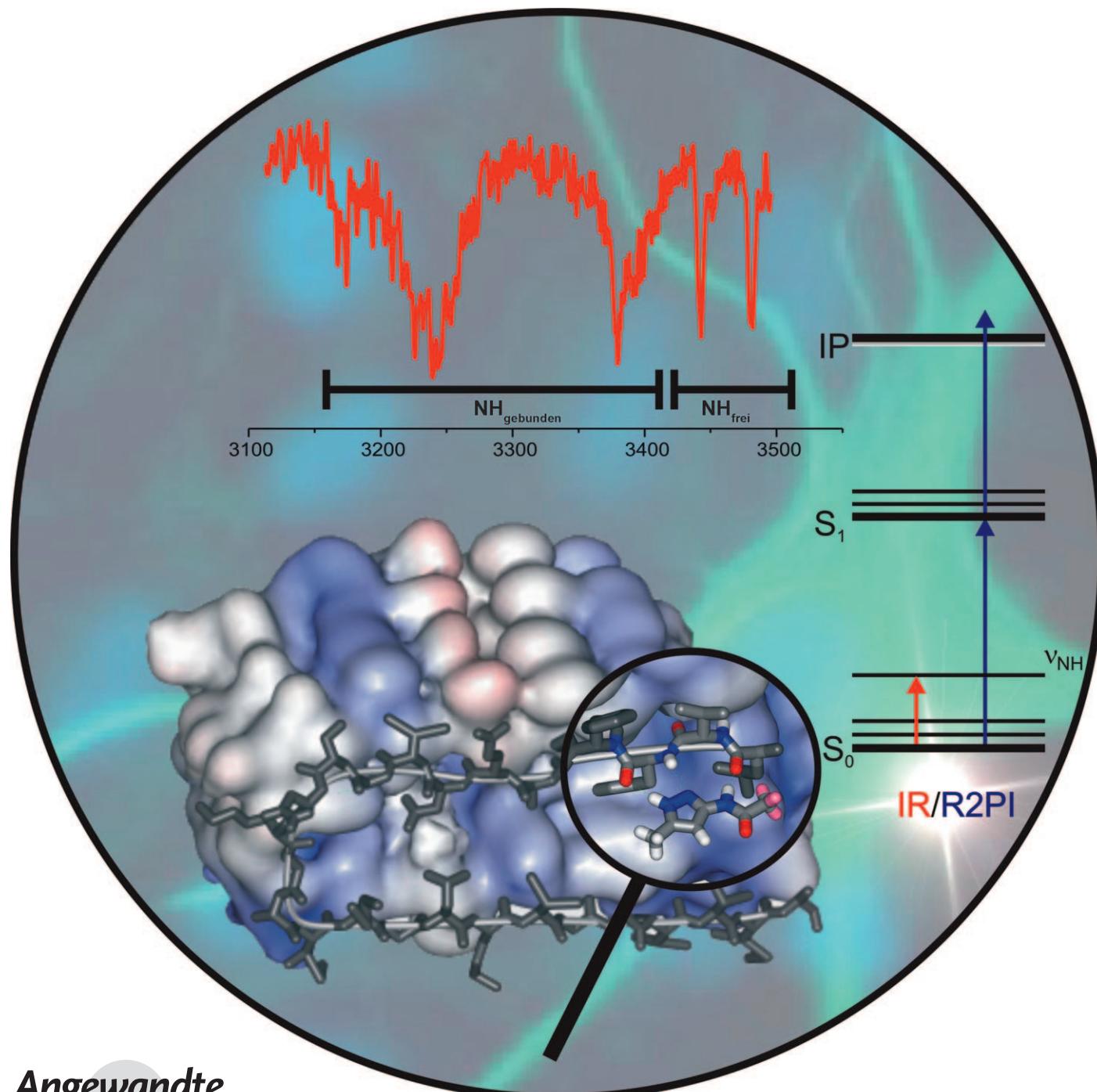


# Wechselwirkung kleiner, geschützter Peptide mit Aminopyrazolderivaten: effektive Verkappung von $\beta$ -Faltblattmodellen in der Gasphase\*\*

Holger Fricke, Andreas Gerlach, Claus Unterberg, Mark Wehner, Thomas Schrader und Markus Gerhards\*

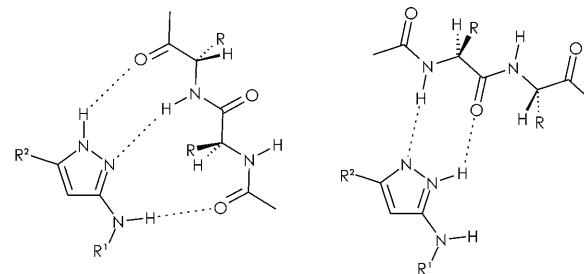


In den frühen achtziger Jahren wurde von Prusiner et al. das fehlgefaltete Prionprotein ( $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ ) als infektiöses Partikel identifiziert.<sup>[1]</sup> Auf der Grundlage des Prionenmodells ist dieser Umfaltungsprozess für die pathogene Wirkung des betroffenen Proteins verantwortlich. So gilt insbesondere die Veränderung der natürlichen, durch  $\alpha$ -Helices geprägten Tertiärstruktur hin zu einer  $\beta$ -Faltblatt-dominierten Struktur als Hauptursache für bekannte neurologische Erkrankungen wie die Creutzfeld-Jakob-Krankheit oder BSE. In ähnlicher Weise können bestimmte Aminosäuresequenzen (z. B. KLVFF = Lysin-Leucin-Valin-Phenylalanin-Phenylalanin) innerhalb eines löslichen, geknäuelten Peptids als Keim für ein wachsendes  $\beta$ -Faltblatt wirken und dessen Aggregation verursachen. Die entstehenden, unlöslichen Proteinplaques werden schließlich in der Hirnrinde abgelagert und sind ein charakteristisches Merkmal der Alzheimer-Erkrankung.<sup>[2]</sup> Eine vielversprechende Strategie gegen die pathologische Proteinaggregation beruht auf der Entwicklung geeigneter Ligandenmoleküle, die Solvens-exponierte  $\beta$ -Faltblätter verdecken und damit ihr Wachstum stoppen oder bereits vorhandene Fibrillen auflösen. Karpurniota, Meredith et al. verfolgten einen ähnlichen Ansatz, indem sie mithilfe von N-Alkylierung oder Substitution amidischer NH-Gruppen durch Estersauerstoffatome die KLVFF-Sequenz modifizierten. Diese Studien führten zwar zu wirkungsvollen In-vitro-Aggregationsinhibitoren, erreichten jedoch aus verschiedenen Gründen nie die klinische Testphase.<sup>[3]</sup> In den letzten Jahren wurden Aminopyrazolderivate als effektive Liganden mit hoher Affinität für die Oberseite eines wachsenden, ausgedehnten Peptidstrangs entdeckt. Diese starren Heterocyclen wurden in Lösung auf ihre Fähigkeit zur Erkennung des Peptidrückgrats mit NMR- und IR-spektroskopischen Methoden sowie mit Kraftfeldrechnungen untersucht.<sup>[4-8]</sup>

Um mit einer möglichen Peptiddimerisierung konkurrieren zu können, muss mit der Bildung eines Peptid-Ligand-Komplexes ein überdurchschnittlicher Gewinn an freier Enthalpie einhergehen. Die Gesamtaffinität eines Liganden in Lösung hängt jedoch von einer Vielzahl von Faktoren ab, z. B. von der Peptidumgebung oder den Solvationsenergien beteiligter Spezies. Eine Methode zur Studie intrinsischer Bindungseigenschaften ist die Anwendung spektroskopischer Methoden auf Moleküle und kleine Cluster in Molekularstrahlen. Anders als bei Messungen in Lösung hat man hier die Option, Strukturen isolierter Spezies zu erforschen, in unserem Fall die Cluster aus Peptiden und Aminopyrazolen.

Weiterhin können Reaktionsdynamiken und Photoreaktivität ohne Einfluss einer bestimmten chemischen Umgebung betrachtet werden.

Ein entscheidender Vorteil der Molekularstrahlexperimente besteht in der Möglichkeit, isolierte Cluster massen-, isomeren- und zustandsselektiv zu analysieren. Die R2PI-Methode (R2PI: resonance enhanced two photon ionization),<sup>[9]</sup> bei der das Molekül durch ein UV-Photon zunächst angeregt und anschließend durch ein zweites UV-Photon ionisiert wird, ermöglicht eine Diskriminierung auch zwischen einander sehr ähnlichen Isomeren, z. B. Tautomeren, da diese verschiedene elektronische Anregungsenergien aufweisen. Dies ist vor allem von Bedeutung, wenn der tautomere Ligand mit dem Peptid strukturell stark unterschiedliche Komplexe mit einer variierenden Zahl von Wasserstoffbrücken bilden kann (Abbildung 1). Die Bildung bevorzugter



**Abbildung 1.** Bindung eines Peptids mit der normalen und der tautomeren Struktur von MAP zur Verdeutlichung der Unterschiede in Bezug auf die H-Donor- und H-Akzeptoreigenschaften.  $\text{R}^1 = \text{H}$  (MAP),  $\text{R}^1 = \text{CF}_3\text{CO}$  (tf-MAP),  $\text{R}^2 = \text{CH}_3$ .

Clusterstrukturen ist nicht nur eine Folge der veränderten Umgebung, sondern resultiert auch zu nicht geringem Anteil aus der intrinsischen Eigenschaft der Bindungspartner, die Stärke ihrer Wasserstoffbrücken zu optimieren. Auf Basis eines durch den R2PI-Prozess generierten Ionensignals können im nächsten Schritt IR-Spektren des Grundzustandes ( $\text{S}_0$ ) mit der Infrarot(IR)/R2PI-Methode gemessen werden.<sup>[10,11]</sup> Bei dieser Variante der IR/UV-Doppelresonanzspektroskopie wird der Schwingungsgrundzustand durch Absorption eines IR-Photons depopuliert. Diese Depopulation wird durch eine Abnahme des R2PI-Ionensignals detektiert, da das erste UV-Photon des R2PI-Vorgangs das Molekül ebenfalls aus dem genannten Schwingungsgrundzustand des  $\text{S}_0$ -Zustands heraus anregt. Auf diese Weise kann durch Wahl der isomerenspezifischen UV-Anregungsresonanz für jedes Isomer ein eigenständiges IR-Spektrum unter Vermeidung spektraler Überlagerungen aufgezeichnet werden. Einerseits bieten diese IR-Spektren direkte Informationen über die Konformation flexibler Moleküle wie Peptide, deren Schwingungsfrequenzen für freie und wasserstoffbrückengebundene Gruppen markante Unterschiede aufweisen. Andererseits hat man durch die Verschiebung der entsprechenden IR-Frequenzen gegenüber denjenigen des Monomers Zugang zu den relativen Stärken der Wasserstoffbrücken.

Um Aufschluss über die Selektivität und Effizienz von Pyrazol-basierten Liganden zu erhalten, wurden systematisch

[\*] Dr. H. Fricke, Dr. A. Gerlach, Dr. C. Unterberg, Prof. Dr. M. Gerhards Physikalische und Theoretische Chemie, TU Kaiserslautern und Forschungszentrum OPTIMAS Erwin-Schrödinger-Straße 52, 67663 Kaiserslautern (Deutschland) Fax: (+49) 631-205-2750  
E-Mail: gerhards@chemie.uni-kl.de

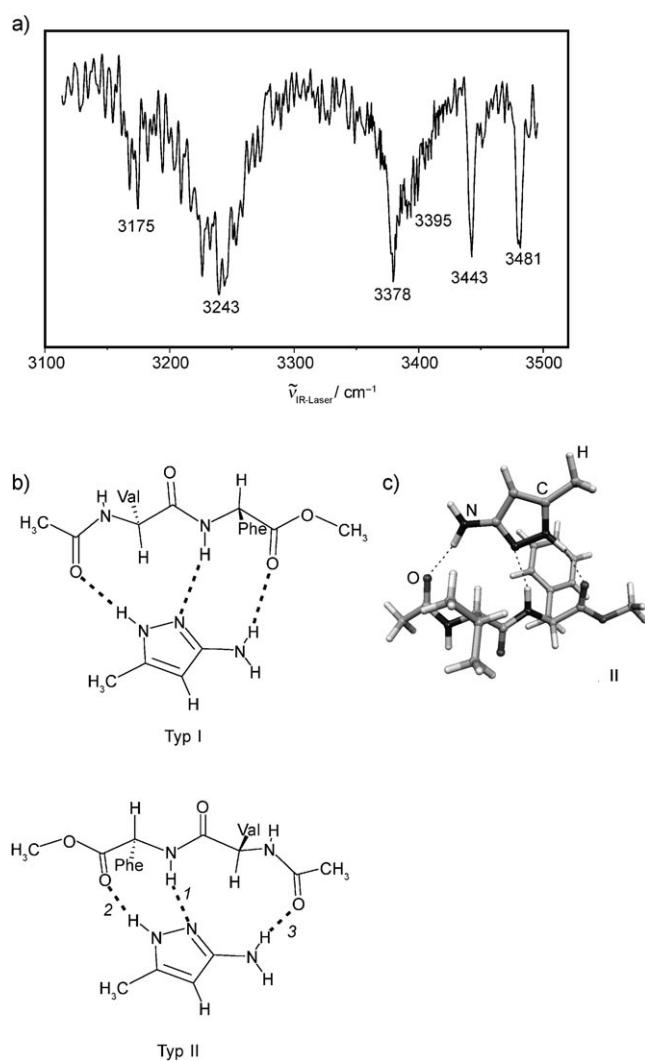
Dr. M. Wehner, Prof. Dr. T. Schrader  
Institut für Organische Chemie, Universität Duisburg-Essen  
Universitätsstraße 5, 45117 Essen (Deutschland)

[\*\*] Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft (GE 961/3-3) für die finanzielle Unterstützung sowie den Rechenzentren der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf und insbesondere der Universität zu Köln für die zu Verfügung gestellte Rechenzeit. Dieser Beitrag ist Teil der Doktorarbeit von H. Fricke.

deren Aggregate mit kleinen Peptidmolekülen studiert. Die Zusammensetzung dieser Aggregate wurde auf der Grundlage der KLVFF-Aminosäuresequenz ausgewählt, die das hydrophobe, als Keimzelle der Aggregation geltende Element des Alzheimer-Peptids darstellt. Die Monomere des Dipeptids Ac-Val-Phe-OMe<sup>[12]</sup> und des Tripeptidmodells Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe<sup>[13]</sup> wurden im Molekularstrahl bereits charakterisiert.<sup>[12,13]</sup> Diese wurden nun mit 5-Methyl-3-aminopyrazol (MAP) sowie mit 5-Methyl-3-trifluoracetylpyrazol (*tf*-MAP) kombiniert. Anders als bei unseren früheren Arbeiten über Komplexe aus geschützten Aminosäuren und Pyrazol bzw. MAP können die oben genannten Ligand-Dipeptid-Paare die maximale Zahl von drei intermolekularen Wasserstoffbrücken bilden. So können MAP wie auch *tf*-MAP drei Wasserstoffbrücken in Form einer Donor-Akzeptor-Donor-Anordnung mit den Amidgruppen des gestreckten Peptidstranges eingehen (Abbildung 1).

Als erstes Beispiel wurde das Aggregat aus MAP und dem Dipeptid Ac-Val-Phe-OMe untersucht. Das über die intensivste Bande des R2PI-Spektrums bei  $38030\text{ cm}^{-1}$  aufgenommene IR/R2PI-Spektrum des einzigen beobachtbaren Isomers ist in Abbildung 2 zu sehen. Typischerweise können die IR-Spektren in zwei Bereiche unterteilt werden: So sind die NH-Streckschwingungen oberhalb von  $3400\text{ cm}^{-1}$  üblicherweise den freien NH-Gruppen zuzuordnen, die NH-Streckschwingungen unterhalb von  $3400\text{ cm}^{-1}$  in der Regel den wasserstoffbrückengebundenen Aminogruppen. Alle NH-Streckschwingungsfrequenzen des isolierten MAP und des Ac-Val-Phe-OMe sind höher als  $3400\text{ cm}^{-1}$ <sup>[12,14,15]</sup> und stammen daher von freien NH-Gruppen. Interessanterweise zeigt das IR/R2PI-Spektrum von Ac-Val-Phe-OMe/MAP deutlich, dass innerhalb des Clusters zwei NH-Gruppen immer noch frei sind ( $3481$  und  $3443\text{ cm}^{-1}$ ), wogegen die anderen drei NH-Gruppen als wasserstoffbrückengebunden erachtet werden können ( $3395$ ,  $3378$ ,  $3243\text{ cm}^{-1}$ ); dies könnte auf eine dreifach wasserstoffbrückengebundene Anordnung hinweisen. (Der Übergang bei  $3175\text{ cm}^{-1}$  kann einem Oberton der NH-Biegeschwingung zugeordnet werden, genauso wie die Signale bei  $3150$  und  $3152\text{ cm}^{-1}$  in den Abbildungen 3 und 4.) Der intensivste Übergang bei  $3243\text{ cm}^{-1}$  kann – mit Blick auf die Ergebnisse unserer Forschung bezüglich der Cluster von Ac-Phe-OMe mit Pyrazol und MAP<sup>[14]</sup> – gut in Einklang mit der NH-Streckmode des wasserstoffbrückengebundenen Phenylalanins gebracht werden. Analog kann die Bande bei  $3481\text{ cm}^{-1}$  der asymmetrischen Streckschwingung der freien NH<sub>2</sub>-Gruppe des MAP zugeordnet werden.<sup>[14]</sup> Die zweite freie NH-Schwingungsfrequenz bei  $3443\text{ cm}^{-1}$  ist in guter Übereinstimmung mit der NH-Streckmode des Valinrestes. In Ac-Val-Phe-OMe, das eine zum  $\beta$ -Faltblatt analogen Struktur aufweist, ist die Schwingung bei  $3441\text{ cm}^{-1}$  lokalisiert. Diese detaillierten Betrachtungen lassen eine dreifach wasserstoffbrückengebundene Struktur vermuten (Abbildung 2).

Um diese Zuordnungen zu verifizieren, wurde für eine Vielzahl möglicher, aus Kraftfeldrechnungen abgeleiteter Strukturen eine Geometrieoptimierung auf Hartree-Fock(HF)- und DFT-Basis mit anschließender Normalkoordinatenanalyse durchgeführt. Wegen der guten, durch eine Reihe von Arbeiten gezeigten Fehlerkompensation wurde für



**Abbildung 2.** a) IR/R2PI-Spektrum von Ac-Val-Phe-OMe/MAP (3100–3500  $\text{cm}^{-1}$ ); b) entsprechende Bindungsmotive; c) zugeordnete, auf B3LYP/6-31+G(d)-Niveau berechnete Struktur (Typ II).

die HF-Rechnungen der sehr kleine 3-21G(d)-Basissatz verwendet, wogegen die DFT-Rechnungen mit dem inzwischen allgemein etablierten Funktional B3LYP unter Verwendung des 6-31+G(d)-Basissatzes vorgenommen wurden. Diese Rechnungen stützen die Annahme einer dreifach wasserstoffbrückengebundenen Anordnung für Ac-Val-Phe-OMe/MAP. Bei genauem Hinsehen offenbart sich jedoch, dass die beiden Moleküle innerhalb des Aggregats zwei alternative Relativpositionen zueinander einnehmen können, die durch eine einfache 180°-Drehung von einem der beiden Moleküle ineinander überführbar sind (in Abbildung 2 wurde das Peptid gedreht). DFT- und Einzelpunkt-MP2-Rechnungen können bei energetisch nahe liegenden Strukturen nur eine Abschätzung für deren relative Energien geben; dennoch kann eine Strukturzuordnung über die berechneten Frequenzen erfolgen: So geben die Frequenzberechnungen eindeutig der Typ-II-Struktur den Vorzug. Ein interessanter Aspekt der Clusterstruktur besteht darin, dass die Geometrie des isolierten Ac-Val-Phe-OMe-Moleküls im Cluster fast

vollständig erhalten bleibt. Aus einem Vergleich der beobachteten NH-Streckschwingungsfrequenzen der isolierten Spezies (Peptid und MAP) mit denen des Clusters kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass nur zwei starke Wasserstoffbrücken vorliegen ( $\Delta\tilde{\nu}_{\text{Phe}} = 208 \text{ cm}^{-1}$  und  $\Delta\tilde{\nu}_{\text{Pyr}} = 129 \text{ cm}^{-1}$  mit  $\tilde{\nu}_{\text{NH-Phe}}(1) = 3243 \text{ cm}^{-1}$  und  $\tilde{\nu}_{\text{NH-Pyr}}(2) = 3395 \text{ cm}^{-1}$ ), wogegen die dritte Wasserstoffbrücke zwischen der weniger aciden NH<sub>2</sub>-Gruppe des MAP und der Acetylgruppe des Dipeptids wesentlich schwächer ist ( $\Delta\tilde{\nu}_{\text{NH}_2\text{-Bindung}} = 24 \text{ cm}^{-1}$  mit  $\tilde{\nu}_{\text{NH}_2\text{-Bindung}}(3) = 3378 \text{ cm}^{-1}$ ). Die letztgenannte könnte zugunsten eines stärkeren Bindungspartners aufgebrochen werden, was eine verminderte Effizienz des MAP-Liganden zur Folge hätte.

Im nächsten Schritt gingen wir zu Clustern aus MAP und dem als Tripeptidmodell zu erachtenden Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe über,<sup>[13]</sup> da dieses mit drei vollständigen Amidgruppen ein besseres Modell für eine native Peptidrückgratkonformation repräsentiert. Folglich kann jedoch der Peptidbindungspartner zusätzliche, mit den intermolekularen Bindungen zum MAP konkurrierende, intramolekulare Wasserstoffbrücken eingehen. Experimentell wird erneut nur ein Isomer des Clusters gefunden; das zugehörige, über den elektronischen Ursprung bei  $35648 \text{ cm}^{-1}$  aufgezeichnete IR/R2PI-Spektrum ist in Abbildung 3 zu sehen. Das Spektrum unterscheidet sich zwar von dem des Ac-Val-Phe-OMe/MAP-Clusters, die Übergänge bei  $3402$  und  $3486 \text{ cm}^{-1}$  sind allerdings identisch mit den Werten der freien NH<sub>2</sub>-Gruppe von isoliertem MAP.<sup>[14]</sup> Weiterhin stimmt der Übergang bei  $3368 \text{ cm}^{-1}$  hervorragend mit dem für eine intramolekulare Wasserstoffbrücke der Form N-H···O=C erhaltenen Wert des Ac-Phe-NHMe-Moleküls<sup>[16]</sup> überein, in dem ein als  $\gamma$ -Turn bezeichneter, siebengliedriger Ring auftritt.

Diese Befunde zeigen, dass die NH<sub>2</sub>-Gruppe von MAP diesmal frei ist und nur zwei intermolekulare Wasserstoff-

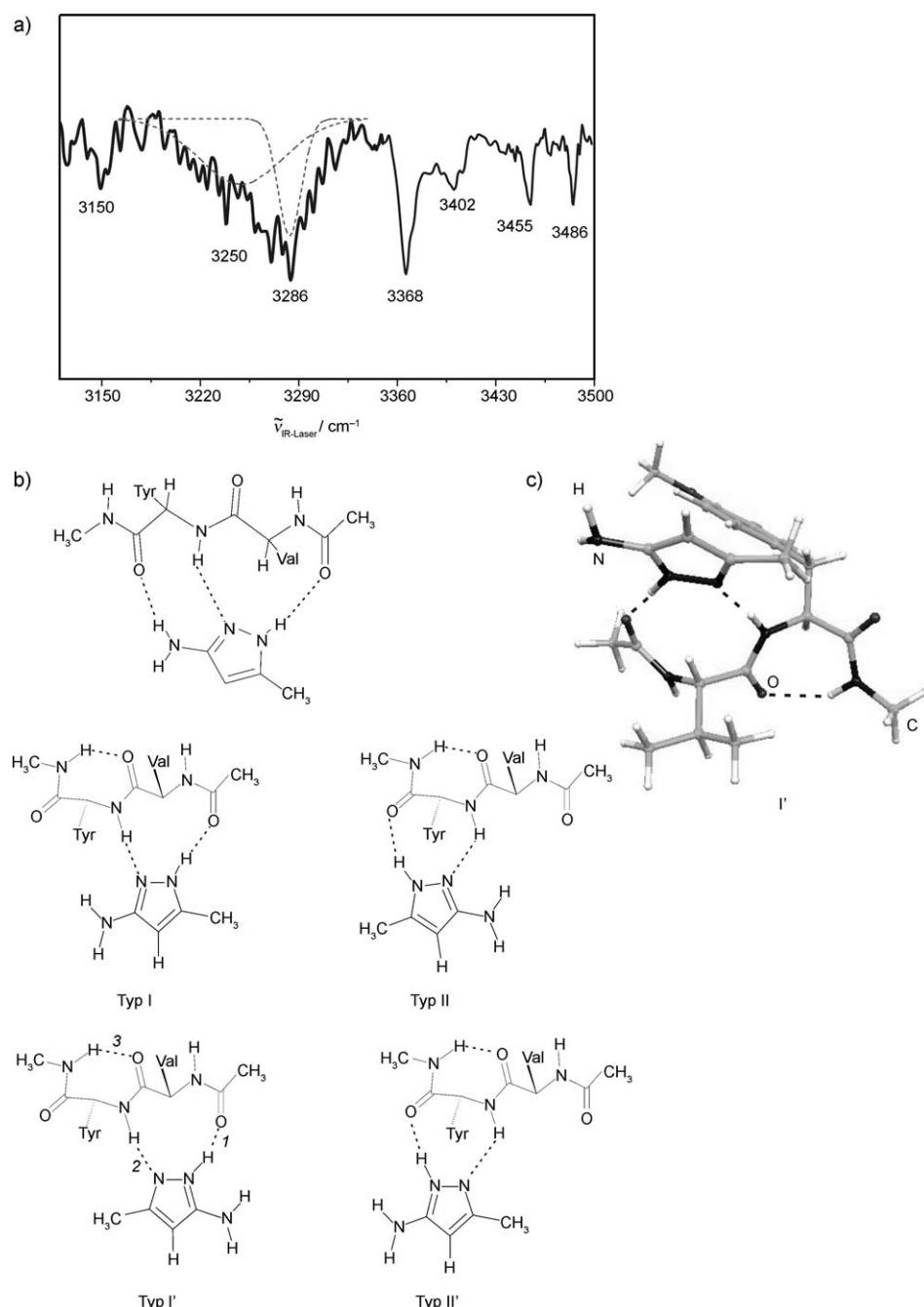


Abbildung 3. IR/R2PI-Spektrum von Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe/MAP ( $3100$ – $3500 \text{ cm}^{-1}$ ); b) entsprechende Bindungsmotive; c) zugeordnete, auf B3LYP/6-31 + G(d)-Niveau berechnete Struktur (Typ I').

brücken zum Peptid gebildet werden. Der Verlust der dritten intermolekularen Wasserstoffbrücke wird jedoch durch die zusätzliche intramolekulare Wasserstoffbrücke überkompenziert. Diese Ergebnisse werden sehr gut durch Ab-initio- und DFT-Rechnungen, wie sie bereits oben dargelegt wurden, untermauert. In Abbildung 3b werden vier mögliche Strukturmotive auf Basis der beschriebenen Kombination aus einer intra- mit zwei intermolekularen Wasserstoffbrücken visualisiert. Die beste Übereinstimmung zwischen Experiment und Rechnung wurde für Struktur I' gefunden. Dieses

Bindungsmotiv umfasst drei starke Wasserstoffbrücken, was durch die Verschiebung der Frequenzen relativ zu den freien NH-Streckschwingungen des Monomers deutlich wird:  $\Delta\tilde{\nu}_{\text{Pyr}} = 238 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\Delta\tilde{\nu}_{\text{Tyr}} = 161 \text{ cm}^{-1}$  und  $\Delta\tilde{\nu}_{\text{NHMe}} = 111 \text{ cm}^{-1}$  (mit  $\tilde{\nu}_{\text{NH-Pyr}}(1) = 3286 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\tilde{\nu}_{\text{NH-Tyr}}(2) = 3250 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\tilde{\nu}_{\text{NHMe}}(3) = 3368 \text{ cm}^{-1}$ ). Offensichtlich sind somit die Wasserstoffbrückendonor-Eigenschaften der MAP-Aminogruppe recht schwach ausgeprägt, und eine konkurrierende, stärkere Wasserstoffbrücke wird bevorzugt, sobald diese, wie im Fall von Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe, gebildet werden kann. Dies zieht eine Änderung der Peptidkonformation im Vergleich zu jener des Monomers nach sich.

Um einen geeigneten Liganden zu erhalten, der wieder drei Wasserstoffbrücken zum Peptid, in diesem Fall zu Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe, ausbildet, wurde die Aminogruppe von MAP trifluoracetyliert (*tf*-MAP), wodurch sich die NH-Acidität signifikant erhöhte. Das über den elektronischen Ursprung bei  $35524 \text{ cm}^{-1}$  aufgenommene IR/R2PI-Spektrum von Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe mit *tf*-MAP (Abbildung 4) weist nun nur noch einen Übergang bei  $3465 \text{ cm}^{-1}$  auf, der eindeutig einer freien NH-Streckschwingung zuzuordnen ist; alle anderen NH-Gruppen sind in Wasserstoffbrücken involviert. Sowohl Ab-initio- als auch DFT-Rechnungen lassen ein Bindungsmotiv vermuten, das dem von Ac-Val-Phe-OMe/MAP bis auf eine bemerkenswerte Ausnahme stark ähnelt: Zusätzlich zu den drei erwarteten intermolekularen Wasser-

stoffbrücken zwischen Peptid und Ligand ist die C-terminale NHMe-Gruppe an einer intramolekularen Wasserstoffbrücke beteiligt (Abbildung 4). Zieht man die beiden möglichen relativen Orientierungen der Clusterkomponenten zueinander in Betracht, so bevorzugen Ab-initio- wie auch DFT-Rechnungen erneut die Typ-II-Struktur (Abbildung 2). In diesem Fall sind alle Wasserstoffbrücken stark, weshalb die Frequenzen gegenüber denen des Monomers stark verschoben sind:  $\Delta\tilde{\nu}_{\text{Pyr}} = 256 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\Delta\tilde{\nu}_{\text{Amid}} \approx 220 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\Delta\tilde{\nu}_{\text{Tyr}} = 205 \text{ cm}^{-1}$  und  $\Delta\tilde{\nu}_{\text{NHMe}} = 80 \text{ cm}^{-1}$  (mit  $\tilde{\nu}_{\text{NH-Pyr}}(1) = 3268 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\tilde{\nu}_{\text{NH-Amid}}(2) = 3238 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\tilde{\nu}_{\text{NH-Tyr}}(3) = 3206 \text{ cm}^{-1}$  und  $\tilde{\nu}_{\text{NHMe}}(4) = 3397 \text{ cm}^{-1}$ ). Somit konnte das erwünschte Strukturmotiv mit drei intermolekularen Wasserstoffbrücken mithilfe des stark NH-aciden *tf*-MAP wiederhergestellt werden. Außerdem wurde eine zusätzliche intramolekulare, das gesamte Aggregat stabilisierende Wasserstoffbrücke ausgebildet. Bemerkenswerterweise werden die stärksten Wasserstoffbrücken zum Pyrazolheterocyclus ausgebildet, möglicherweise der Grund für seine Effizienz bei der Unterdrückung der Peptidaggregation. Ähnliche Studien an isolierten DNA-Basenpaaren konnten die außerordentliche Stärke von NH-N-Bindungen demonstrieren.<sup>[17]</sup> Mit der hier vorgestellten Methode können relative Stärken intermolekularer Bindungen in isolierten Komplexen bestimmt werden. Diese Untersuchungen stützen die Befunde unabhängiger NMR-Studien in Chloroformlösung und Freon-Matrix, die auf eine Aggregation der Aminopyrazole unter Ausbildung von  $\beta$ -Faltblattmodellen hinweisen.<sup>[5,8]</sup>

Es lässt sich somit schlussfolgern, dass die Cluster kleiner Peptide mit speziell synthetisierten  $\beta$ -Faltblatt-Liganden in der Gasphase mithilfe hochselektiver spektroskopischer Methoden (R2PI, IR/R2PI) erforscht werden können. Für jedes der von uns untersuchten Systeme wurden eindeutig definierte Strukturen gefunden. Durch Gegenüberstellung von experimentellen Daten mit DFT- und Ab-initio-Rechnungen konnten die gefundenen Frequenzen vollständig den entsprechenden NH-Streckschwingungen zugeordnet werden sowie die bevorzugte Peptidkonformation und ihre relative Orientierung zu den Liganden bestimmt werden. Vor allem war es möglich, die Konkurrenz zwischen inter- und intramolekularen Wasserstoffbrücken sowie die relative Stärke aller beteiligten Wasserstoffbrücken zu bewerten. Die gewählte Untersuchungsstrategie bietet somit ein wertvolles Hilfsmittel, um einen tieferen Einblick in die intrinsischen Eigenschaften von wasserstoffbrückengebundenen Komplexen zu gewinnen und auf diese Weise zur Optimierung des Ligandendesigns beizutragen.

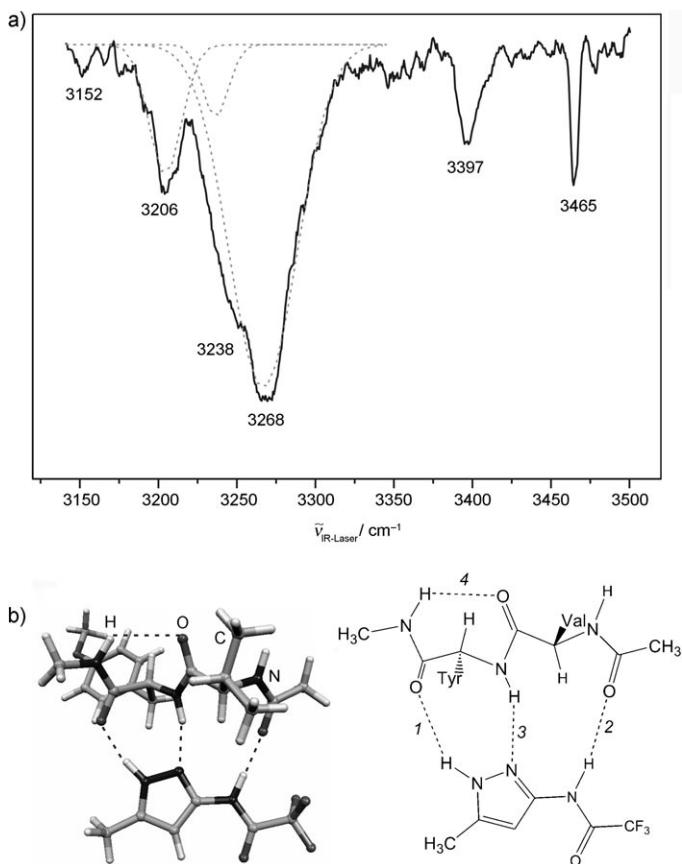


Abbildung 4. a) IR/R2PI-Spektrum von Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe/*tf*-MAP (3100–3500  $\text{cm}^{-1}$ ); b) zugeordnete, auf B3LYP/6-31+G(d)-Niveau berechnete Struktur (Typ II).

## Experimentelles

Der experimentelle Aufbau wurde bereits an anderer Stelle im Detail beschrieben,<sup>[12,13]</sup> weshalb hier lediglich eine Zusammenfassung gegeben werden soll: Die R2PI- und IR/R2PI-Spektren wurden in einer Vakuumapparatur aufgenommen; diese besteht aus einem differentiell gepumpten, linearen Flugzeitmassenspektrometer und einer Pulsdüse (General Valve Iota One, 500- $\mu\text{m}$ -Öffnung) zur Erzeugung eines Molekularstrahls. Ein frequenzverdoppelter, durch einen Nd:YAG-Laser (Lumonics HY 750) gepumpter Farbstofflaser (Lumonics HD 300) wurde für die Anregung in den  $S_1$ -Zustand mit anschließender Ionisation verwendet. Das IR-Licht im Bereich von 2.86

bis  $3.23\text{ }\mu\text{m}$  ( $3100\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ ) wurde in einem  $\text{LiNbO}_3$ -Kristall durch Frequenzmischung der Fundamentalen ( $1064\text{ nm}$ ) eines geseedeten Nd:YAG-Lasers (Spectra Physics PRO-230) mit der Strahlung eines durch die zweite Harmonische des gleichen Nd:YAG-Lasers gepumpten Farbstofflasers (Sirah Precision Scan) erzeugt. Die generierte IR-Strahlung wurde in einem OPA-Prozess durch erneutes Abmischen mit der YAG-Fundamentalen in einem weiteren  $\text{LiNbO}_3$ -Kristall verstärkt. Da der gewählte zeitliche Versatz der Laser nicht mehr als  $100\text{ ns}$  beträgt, konnten die Laserstrahlen räumlich überlappt werden. Für die IR/R2PI-Messungen des Grundzustandes wurde der IR-Laser  $60\text{ ns}$  vor dem UV-Laser eingestrahlt. Die Probensubstanz und die Pulsdüse wurden geheizt, wobei der Temperaturgradient vom Liganden über das Peptid zur Pulsdüse hin zunahm. So wurden die Liganden auf  $110\text{ (MAP)}$  bzw.  $150^\circ\text{C}$  ( $\text{tf-MAP}$ ) geheizt, die Peptide und die Pulsdüse auf  $160$  bzw.  $170^\circ\text{C}$ . Als Trägergas wurde Helium verwendet ( $2000\text{ mbar}$ ).

Eingegangen am 22. Mai 2008

Online veröffentlicht am 30. Dezember 2008

**Stichwörter:** Gasphasenreaktionen · IR-Spektroskopie · Molekulare Erkennung · Peptide · Wasserstoffbrücken

- [1] D. C. Bolton, M. P. McKinley, S. B. Prusiner, *Science* **1982**, *218*, 1309–1311.  
 [2] L. O. Tjernberg, J. Naslund, F. Lindqvist, J. Johansson, A. R. Karlstrom, J. Thyberg, L. Terenius, C. Nordstedt, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 8545–8548.

- [3] a) D. J. Gordon, S. C. Meredith, *Biochemistry* **2003**, *42*, 475–485;  
 b) A. Kapurniotu, A. Schmauder, K. Tenidis, *J. Mol. Biol.* **2002**, *315*, 339–350.  
 [4] T. Schrader, C. Kirsten, *Chem. Commun.* **1996**, 2089–2090.  
 [5] C. N. Kirsten, T. H. Schrader, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12061–12068.  
 [6] P. Saweczko, G. D. Enright, H.-B. Kraatz, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 4409–4419.  
 [7] P. Rzepecki, T. Schrader, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3016–3025.  
 [8] W. Wang, K. Weisz, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 854–861.  
 [9] P. M. Johnson, *J. Chem. Phys.* **1976**, *64*, 4143–4148.  
 [10] R. H. Page, Y. R. Shen, Y. T. Lee, *J. Chem. Phys.* **1988**, *88*, 4621–4636.  
 [11] C. Riehn, C. Lahmann, B. Wassermann, B. Brutschy, *Chem. Phys. Lett.* **1992**, *197*, 443–450.  
 [12] C. Unterberg, A. Gerlach, T. Schrader, M. Gerhards, *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 8296–8300.  
 [13] H. Fricke, A. Gerlach, C. Unterberg, P. Rzepecki, T. Schrader, M. Gerhards, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, *6*, 4636–4641.  
 [14] C. Unterberg, A. Gerlach, T. Schrader, M. Gerhards, *Eur. Phys. J. D* **2002**, *20*, 543–550.  
 [15] C. A. Rice, N. Borho, M. A. Suhm, *Z. Phys. Chem.* **2005**, *219*, 379–388.  
 [16] M. Gerhards, C. Unterberg, A. Gerlach, A. Jansen, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, *6*, 2682–2690.  
 [17] E. Nir, K. Kleinermanns, M. S. de Vries, *Nature* **2000**, *408*, 949–951.