

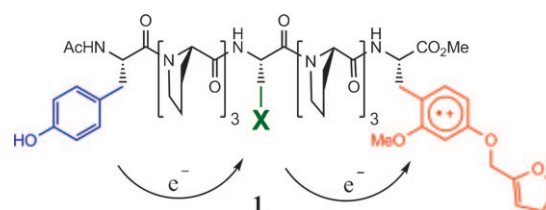
Elektronentransfer in Peptiden: der Einfluss geladener Aminosäuren**

Jian Gao, Pavel Müller, Min Wang, Sonja Eckhardt, Miriam Lauz, Katharina M. Fromm und Bernd Giese*

Elektronentransfer (ET) durch Proteine über lange Distanzen ist ein fundamentaler Prozess in biologischen Systemen, der sowohl bei der Umwandlung von Energie in der Photosynthese^[1a] und der Atmung^[1b] als auch bei metabolischen Prozessen eine große Rolle spielt.^[1c] Der Mechanismus dieser ET-Prozesse wird nach wie vor kontrovers diskutiert, wobei zwei Möglichkeiten in Betracht gezogen werden. Zum einen der Superaustausch-Mechanismus (Einstufenreaktion) und zum anderen der Hüpf-Mechanismus (Mehrstufenreaktion),^[2] bei dem jeder Schritt der Marcus-Regel^[3] folgt. Dieser Hüpf-Mechanismus wird heute für ET über lange Distanzen als wahrscheinlicher angesehen.^[4] Allerdings wurde ET durch α -helikale Peptide, die über intramolekulare H-Brücken verfügen, nach wie vor als Einstufenreaktion diskutiert.^[5] Rechnungen favorisieren hingegen auch für α -Helices eine Mehrstufenreaktion.^[6] Im Falle der Polyprolin-II (PPII)-Helix, die keine H-Brücken aufweist, wurde ein Wechsel von einer ein- zu einer mehrstufigen Reaktion beobachtet, sobald die Anzahl der Prolineinheiten zwischen dem Elektronendonator und dem Elektronenakzeptor größer als vier war.^[7] Quantenchemische Rechnungen erklären den Einfluss der Peptidkonformation auf die Distanzabhängigkeit mit einem Tunnel-Pfad-Modell.^[8] Vor kurzem konnte gezeigt werden, dass die Geschwindigkeit auch von der Richtung des ET-Prozesses abhängt und somit das Dipolmoment einen entscheidenden Einfluss hat.^[9] Ein weiterer Parameter, der den ET beeinflusst, sind Ionen, die als Cofaktoren an die Systeme gebunden sind.^[10] Ein analoger Coulomb-Effekt sollte auch in Peptiden mit entschützten Amino- oder Carboxylatgruppen eine Rolle spielen, die unter biologischen Bedingungen als Ionen vorliegen. Hier präsentieren wir unsere neuen Ergebnisse, die zeigen, dass ET in Peptiden tatsächlich von geladenen Endgruppen beeinflusst wird.

Die Untersuchungen wurden mit dem kürzlich von uns entwickelten Modellpeptid **1** durchgeführt, in dem der ET zwischen dem Radikalkation einer Dialkoxyphenylgruppe (Elektronenakzeptor am C-terminalen Ende) und Tyrosin als

Elektronendonator am N-terminalen Ende stattfindet. In der Mitte des Peptids befindet sich eine Aminosäure mit der Seitenkette X.^[11] Diese drei Aminosäuren werden durch Sequenzen von je drei Prolinen voneinander getrennt (Schema 1). Wenn die Seitenkette der Aminosäure X durch den Elektronenakzeptor oxidiert werden kann, fungiert diese zentrale Aminosäure als Zwischenstation (Relais) des Hüpf-Prozesses.^[11]



Schema 1. Modellpeptid **1** für die Untersuchung des intramolekularen ET mit X als Seitenkette der Aminosäure, die als Relais fungieren kann. ET findet durch das Peptidrückgrat statt.

Die Strukturen der Peptide vom Typ **1**, wurden mittels CD-Spektroskopie als PPII-Helices charakterisiert.^[12] Interessanterweise konnte über einen Temperaturbereich zwischen 20°C und 80°C keine Änderung der CD-Spektren beobachtet werden, was die konformative Stabilität dieser Peptide belegt. Diese Beobachtungen sind im Einklang mit experimentellen und theoretischen Daten anderer Polyprolin-Systeme.^[13,14] In einer PPII-helikalen Struktur entspricht jede Triprolin-Einheit einer Distanz von ca. 10 Å.^[13,14] Diese Triprolin-Sequenzen separieren daher den Donor, den Akzeptor und das Relais und dienen als Medium für den ET. Aus ¹³C-NMR-Spektren^[15,16] konnte geschlossen werden, dass ca. 80 % der Prolin-Peptidbindungen in einer *trans*-Konformation vorliegen. Die kleineren Signalsätze stimmen mit Peptiden überein, in denen mindestens eine Peptidbindung eine *cis*-Konformation einnimmt. Es ist bekannt, dass der Anteil von *cis*-Peptidbindungen für Proline ansteigt, wenn benachbarte aromatische Aminosäuren vorliegen.^[17] Um Peptide mit möglichst vergleichbaren Konformationen für die Experimente einzusetzen, wurden stets ähnliche Aminosäuresequenzen verwendet. In den Peptiden **2–5**, **10** und **11** befand sich je eine aromatische Aminosäure am C- und am N-Terminus sowie in der Mitte des Peptids. Diese drei aromatischen Aminosäuren wurden durch Triprolin-Sequenzen voneinander getrennt, und alle Experimente wurden in dem gleichen Lösungsmittelgemisch durchgeführt (CH₃CN/H₂O 3:1).^[18] Mit Peptiden der Struktur **1** konnte bereits gezeigt werden, dass a) Mehrstufenreaktionen schneller als Einstufenreaktionen sind,^[11a] b) nur ganz bestimmte Aminosäuren in einer

[*] Dr. J. Gao, Dr. P. Müller, Dr. M. Wang, Prof. Dr. B. Giese
Departement Chemie, Universität Basel
St. Johannis-Ring 19, 4056 Basel (Schweiz)
E-Mail: bernd.giese@unibas.ch

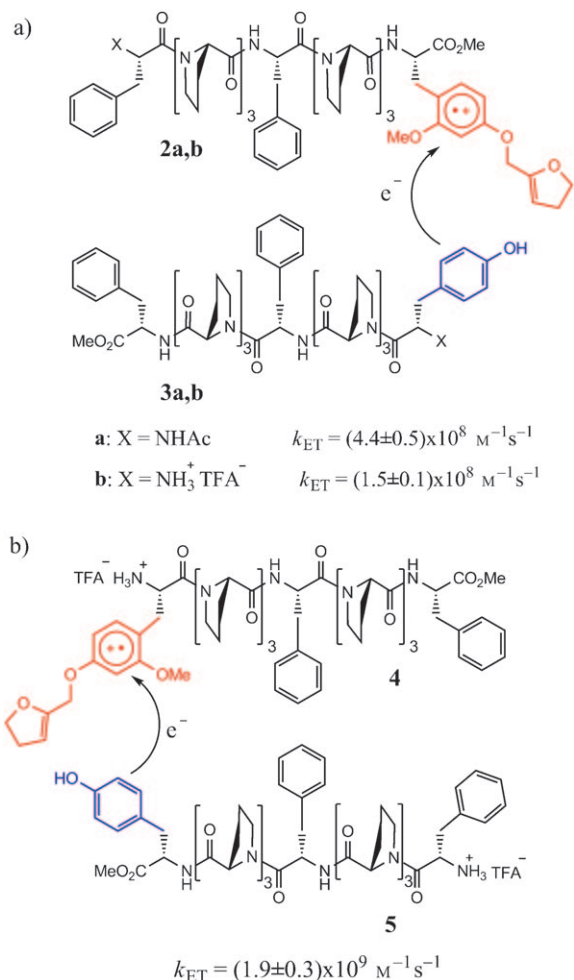
Dr. S. Eckhardt, Dr. M. Lauz, Prof. Dr. K. M. Fromm
Departement Chemie, Universität Fribourg
Chemin du Musée 9, 1700 Fribourg (Schweiz)

[**] Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds und vom Adolphe Merkle Institut (AMI) unterstützt. Wir danken Prof. M. Michel-Beyerle für hilfreiche Diskussionen.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201003389> zu finden.

Mehrstuufenreaktion als Relais-Aminosäuren fungieren können^[11b] und c) ET-Geschwindigkeiten von der Richtung durch das Peptidrückgrat abhängen.^[11c] Wir haben nun dieses System verwendet, um den Einfluss einer Ammoniumgruppe auf ET-Prozesse durch und zwischen Peptiden zu untersuchen.

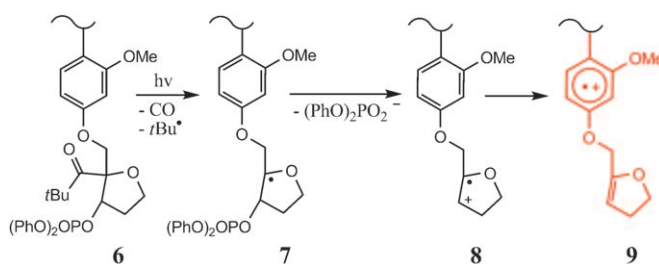
Zunächst wurde die Wirkung der Ladung auf *intermolekulare* ET-Reaktionen für drei Paare von Peptiden gemessen (Schema 2). Dabei diente eines der Peptide als Elektronen-



Schema 2. Intermolekulare ET-Geschwindigkeiten (k_{ET}) zwischen a) den Peptiden **2a,b** (Akzeptor rot) und **3a,b** (Donor blau) und b) den Peptiden **4** (Akzeptor rot) und **5** (Donor blau). TFA⁻ = Trifluoracetat.

akzeptor (**2a,b** und **4**) und das andere Peptid als Elektronendonator (**3a,b** und **5**).^[19] Intramolekularer ET durch dieses Peptide konnte aufgrund der hohen Redoxpotentiale der anderen Aminosäuren (Prolin und Phenylalanin) ausgeschlossen werden.

Die Erzeugung des Elektronenakzeptors in **2a,b** und **4** erfolgte nach einer bereits vorher entwickelten Methode (Schema 3): Durch eine photochemische Anregung (Excimer-Laser mit 308 nm, siehe Hintergrundinformationen) der Seitenkette **6** wurde ein Norrish-Reaktionsprodukt **7** erhalten, das anschließend durch heterolytische β -Fragmentierung

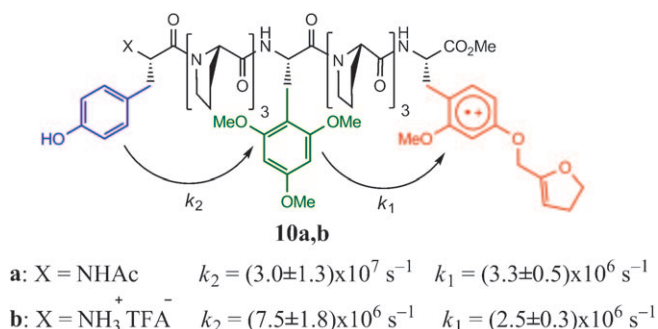


Schema 3. Bildung des geladenen Elektronenakzeptors **9** durch Laserphotolyse der Seitenkette **6**.

das aliphatische Radikalkation bildet (**7**→**8**). Oxidation des aromatischen Rings führt zum Radikalkation **9**, das in den Peptiden **2a,b** und **4** als Elektronenakzeptor fungiert.^[19,20] Tyrosin dient in den Peptiden **3a,b** und **5** als Elektronendonator, der während des ET-Prozesses oxidiert und deprotoniert wird.

Wir haben zunächst die intermolekularen ET-Geschwindigkeiten mithilfe von Laserexperimenten bestimmt. Die Radikalkationen **2a,b** und **4** ($\lambda_{\text{max}} = 450 \text{ nm}$), welche die Peptide **3a,b** und **5** zu den entsprechenden Tyrosylradikalen oxidiert haben ($\lambda_{\text{max}} = 408 \text{ nm}$), wurden durch einen Laserblitz generiert und die Transienten-Absorptionsspektren nach einer definierten Zeit (40–1000 ns) gemessen.^[20] Die Konzentrationen der reaktiven Zwischenstufen konnten aus den Originalspektren mittels Matlab unter Verwendung des Algorithmus von Gampp et al. bestimmt werden (siehe Hintergrundinformationen).^[21] Jeder Laserblitz (**6**→**9**) erzeugte nur kleine Mengen von **2a,b** und **4**, sodass die Peptide **3a,b** und **5** stets in großem Überschuss vorlagen, was eine Auswertung der Daten mittels Specfit als Kinetik pseudo-erster Ordnung ermöglichte (siehe Hintergrundinformationen).^[22] Die Geschwindigkeitskonstanten zweiter Ordnung (Schema 2) wurden aus den Geschwindigkeiten erster Ordnung unter Berücksichtigung der Konzentrationen von **3a,b** oder **5** berechnet. Die Daten zeigen, dass eine protonierte Aminogruppe den intermolekularen ET zwischen Peptiden entweder verlangsamt (Reaktion: **2b** + **3b** im Vergleich zu **2a** + **3a**) oder beschleunigt (Reaktion: **4** + **5**). Dieser Geschwindigkeitseffekt wird durch die Differenz der Coulomb-Energien zwischen den Ladungen hervorgerufen. Die Geschwindigkeit des ET-Schrittes nimmt ab, wenn sich die positive Ladung in der Nähe des Elektronendonors Tyrosin befindet, welches bei der Oxidation deprotoniert wird (Peptid **3b**). Demgegenüber steigt die Geschwindigkeit an, wenn sich die Ammoniumgruppe in der Nachbarschaft des positiv geladenen Elektronenakzeptors befindet, der beim ET ein Elektron aufnimmt (Peptid **4**). In unseren Modellpeptiden **2**–**5** führt die Position der Ammoniumgruppe zu einer 13-fachen Beschleunigung der Geschwindigkeit des intermolekularen ET von $1.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (Reaktion: **2b** + **3b**) auf $1.9 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (Reaktion: **4** + **5**).

Um zu untersuchen, welchen Einfluss eine Ladung auf intramolekulare ET-Prozesse ausübt, verwendeten wir die Peptide **10a,b** und **11a,b**^[23] in denen der ET in einer Zweistufenreaktion stattfindet (Schemata 4 und 5).^[11] Die oxidierte Dialkoxyphenylgruppe **9** fungiert wiederum als Elektronenakzeptor und Tyrosin als Elektronendonator. Das sich

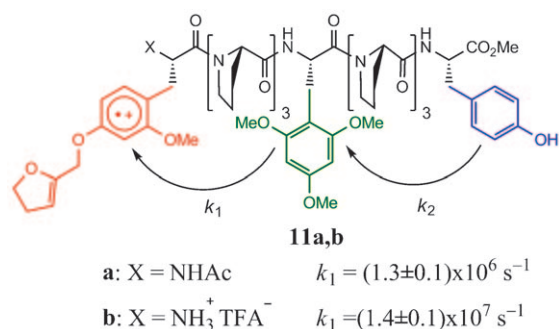


Schema 4. Intermolekularer ET durch die Peptide **10a,b** (Akzeptor rot, Donor blau, Relais grün). Peptid **10a** weist geschützte N- und C-terminale Aminosäuren auf, Peptid **10b** hingegen eine ungeschützte, protonierte N-terminale Aminosäure. Die Geschwindigkeitskonstanten der Hüpf-Schritte sind gegeben durch k_1 und k_2 .

zwischen Donor und Akzeptor befindende Trimethoxyphenylalanin dient als Relais und wird im ersten Schritt (k_1) als Elektronendonator zum entsprechenden Radikalkation oxidiert ($\lambda_{\text{max}} = 550 \text{ nm}$), wohingegen es im zweiten Hüpf-Schritt (k_2) als Elektronenakzeptor fungiert.

Im Zuge der intramolekularen ET-Experimente wurden zunächst die relativen Konzentrationen der reaktiven Zwischenstufen der geschützten Peptide **10a** und **11a** zwischen 30 und 500 ns bestimmt.^[24] Um aus diesen Messungen die Geschwindigkeitskonstanten k_1 und k_2 der intramolekularen Hüpf-Schritte zu ermitteln, wurden die Geschwindigkeiten der intermolekularen Reaktionen von den beobachteten Daten subtrahiert.^[25] Die resultierenden Hüpf-Geschwindigkeiten im neutralen Peptid **10a** (Schema 4) zeigen, dass der erste ET-Schritt (k_1) zwischen der Trimethoxyphenylseitenkette der Relais-Aminosäure und dem Dialkoxypheylradikalkation ca. 10-mal langsamer ist als der zweite ET-Schritt (k_2), in dem Tyrosin als Elektronendonator fungiert. Dies spiegelt die Unterschiede der Redoxpotentiale der jeweiligen aromatischen Seitenketten wider.^[11a]

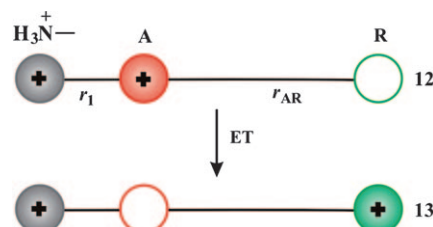
Für das Peptid **11a** (Schema 5) konnte aufgrund der geringen Konzentration des Trimethoxyphenylradikalkations lediglich die Geschwindigkeit des ersten ET-Schrittes (k_1)



Schema 5. Intramolekularer ET durch die Peptide **11a,b** (Akzeptor rot, Donor blau, Relais grün). Peptid **11a** weist geschützte N- und C-terminale Aminosäuren auf, Peptid **11b** trägt hingegen eine ungeschützte, protonierte N-terminale Aminosäure, sodass es sich beim Elektronenakzeptor um die Seitenkette dieser protonierten Aminosäure handelt. Es konnte lediglich die Geschwindigkeitskonstante k_1 für den ersten Hüpf-Schritt bestimmt werden.

zuverlässig bestimmt werden (siehe Hintergrundinformationen). In Peptid **10a** ist die Geschwindigkeit (k_1) 2.5-mal höher als in Peptid **11a**. Dies ist im Einklang mit dem berechneten Dipolmoment einer PPII-Helix, das zwar klein ist, aber dessen negatives Ende sich am N-Terminus befindet.^[14] Aus diesem Grund ist der ET in einer PPII-Helix in der Richtung N→C (**10a**) schneller als in der entgegengesetzten Richtung (**11a**). Anschließend haben wir Peptide mit einer Ammoniumgruppe an der N-terminalen Aminosäure synthetisiert^[23,26] und die Radikalkationen **10b** und **11b** mit einem Laserblitz generiert.^[27] Die Transienten-Absorptionsspektren zwischen 400 und 600 nm wurden zwischen 30 und 500 ns nach dem Laserblitz gemessen und die relativen Konzentrationen aller reaktiven Intermediate mittels Matlab aus den gemessenen Daten ermittelt.^[21] Die kinetische Analyse durch Specfit^[22] ergab Geschwindigkeiten (siehe Hintergrundinformationen), die um die intermolekularen Geschwindigkeiten korrigiert werden mussten.^[25] Die korrigierten intramolekularen ET-Geschwindigkeitskonstanten für die einzelnen Hüpf-Schritte sind in den Schemata 4 und 5 gezeigt. Die Fehlergrenzen für die ersten ET-Schritte k_1 sind klein genug, um sie für eine detaillierte Diskussion heranziehen zu können. Diese Geschwindigkeitskonstanten k_1 sind für die Peptide **10a** und **10b** (Schema 4) innerhalb ihrer Fehlergrenzen nahezu identisch. Dies zeigt, dass die positive Ladung eines Ammoniumions am N-terminalen Ende den entfernten Hüpf-Schritt zwischen dem Relais und der C-terminalen Aminosäure nicht beeinflusst. Demgegenüber beschleunigt ein Ammoniumion den direkt benachbarten ET-Schritt zwischen der Relais-Aminosäure und der N-terminalen Aminosäure um etwa eine Größenordnung. (Schema 5; k_1 : **11b** versus **11a**). Dieser Einfluss des Ammoniumions wird durch eine Änderung der Coulomb-Energie zwischen den positiven Ladungen während der ET-Reaktion hervorgerufen. Verbindung **11a** trägt lediglich eine positive Ladung, die sich entlang des neutralen Peptidrückgrats verschiebt (Schema 5). Für diesen Fall bleibt die Coulomb-Energie während des ET-Prozesses nahezu unverändert. Dagegen befinden sich im Peptid **11b** vor dem ET zwei positive Ladungen in geringem Abstand, welcher durch den ET-Schritt vergrößert wird (**12**→**13** in Schema 6).

Der Abstand zwischen der Ammoniumgruppe und dem Elektronenakzeptor in **11b** ist gegeben durch r_1 . Die Abstoßung erhöht die freie Enthalpie des Grundzustands von **11b** um die Coulomb-Energie $e^2/4\pi\epsilon r_1$, wobei ϵ die Dielektrizitätskonstante des Mediums und e die Elementarladung ist. Für eine Abschätzung der Coulomb-Energie wurde für die Distanz r_1



Schema 6. Darstellung (**12**→**13**) des ersten ET-Schrittes (k_1 in Peptid **11b**) mit A als Elektronenakzeptor und R als Relais-Aminosäure. Während des ET vergrößert sich der Abstand der beiden positiven Ladungen von r_1 auf $r_1 + r_{AR}$.

zwischen dem Ammoniumion und dem aromatischen Radikalkation in **11b** ein Wert von 3 Å angenommen.^[28] Die Dielektrizitätskonstante wurde auf 40 festgelegt, was dem ϵ -Wert für ein CH₃CN/H₂O-Gemisch von 3:1 entspricht.^[29] Dies führt zu einer Coulomb-Energie von 2.8 kcal mol⁻¹, um welche die freie Enthalpie des Grundzustands ΔG^0 von **11b** im Vergleich zu **11a** erhöht ist. Diese 2.8 kcal mol⁻¹ beschleunigen ausschließlich den benachbarten ET-Schritt (k_1 in Schema 5), weil der etwa 10 Å entfernte ET-Schritt von der positiven Ladung der N-terminalen Aminosäure nicht mehr beeinflusst wird (siehe Diskussion oben und k_1 in Schema 4). Folglich ist der erste ET-Schritt k_1 in **11b** (Schema 5) um 2.8 kcal mol⁻¹ exergonischer als in **11a**. Diese Differenz in der freien Enthalpie ΔG^0 kann unter Anwendung der Marcus-Theorie mit der freien Aktivierungsenthalpie ΔG^* korreliert werden.^[3] Die Marcus-Theorie beschreibt eine lineare Abhängigkeit der freien Aktivierungsenthalpie ΔG^* von $\Delta G^0/2$ für den Fall, dass $|\Delta G^0/\lambda|$ klein ist (λ ist die Reorganisationsenergie). In unserem System ist diese Bedingung für den ersten ET-Schritt (k_1) in **11a,b** erfüllt, da die beiden alkoxy-substituierten aromatischen Seitenketten sehr ähnliche Redoxpotentiale haben und somit die ΔG^0 -Werte sehr klein sind.^[11a] Eine Änderung der Coulomb-Energie von 2.8 kcal mol⁻¹ führt demnach zu einem Unterscheid der freien Aktivierungsenthalpie ΔG^* von 1.4 kcal mol⁻¹ zwischen dem ET in **11b** und **11a**. Nach der Gibbs-Gleichung beschleunigt eine Differenz der freien Aktivierungsenthalpie ΔG^* von 1.4 kcal mol⁻¹ die Geschwindigkeit um einen Faktor von ca. 10 (25°C). Dieser abgeschätzte Wert ist in gutem Einklang mit unseren gemessenen Daten (k_1 : **11b** versus **11a**). Dabei muss berücksichtigt werden, dass die Coulomb-Energie stark von der Dielektrizitätskonstante abhängt. In Proteinen und Enzymen, in denen ET in Peptidregionen stattfindet, die nicht von großen Wassermengen umgeben sind, können die ϵ -Werte kleiner sein als für ein CH₃CN/H₂O-Lösungsmittelgemisch. Deshalb ist der Ladungseinfluss auf ET-Geschwindigkeiten in biologischen Systemen vermutlich deutlich größer als in unseren Modellpeptiden.

Fazit: Protonierte Aminogruppen in Peptiden sind in der Lage, die ET-Geschwindigkeiten entweder zu beschleunigen oder zu verlangsamen. Diese Beobachtung lässt sich nach der Marcus-Theorie durch den Einfluss des Coulomb-Effekts auf die freie Aktivierungsenthalpie erklären. Es wird sich zeigen, ob die Natur basische oder saure Aminosäuren zur Kontrolle der Geschwindigkeit oder gar der Richtung von ET-Prozessen in Proteinen nutzt.

Eingegangen am 4. Juni 2010,
veränderte Fassung am 26. Oktober 2010
Online veröffentlicht am 18. Januar 2011

Stichwörter: Coulomb-Effekt · Elektronentransfer · Geladene Aminosäuren · Marcus-Theorie · Peptide

[1] Aktuelle Übersichtsartikel: a) S. Eberhard, G. Finazzi, F. A. Wollmann, *Annu. Rev. Genet.* **2008**, 42, 463; b) M. Cordes, B. Giese, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 892; c) J. Stubbe, D. G. Nocera, C. S. Yee, M. C. Y. Chang, *Chem. Rev.* **2003**, 103, 2167.

- [2] Aktuelle Übersichtsartikel: a) H. B. Gray, J. R. Winkler, *Chem. Phys. Lett.* **2009**, 483, 1; b) B. Giese, M. Graber, M. Cordes, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, 12, 755; c) Y.-T. Long, E. Abu-Irhayen, H.-B. Kraatz, *Chem. Eur. J.* **2005**, 11, 5186.
- [3] R. A. Marcus, *Angew. Chem.* **1993**, 105, 1161; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, 32, 1111.
- [4] Siehe z. B.: C. Shih, A. K. Museth, M. Abrahamsson, A. M. Blanco-Rodriguez, A. J. Di Bilio, J. Sudhamsu, B. R. Crane, K. L. Ronayne, M. Towrie, A. Vlcek, J. H. Richards, J. R. Winkler, H. B. Gray, *Science* **2008**, 320, 1760; S. Y. Reece, M. R. Seyedsayamdost, J. Stubbe, D. G. Nocera, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 13828; E. W. Schlag, S.-Y. Sheu, D.-Y. Yang, H. L. Selzle, S. H. Lin, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 3258; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 3196; K. Yanagisawa, T. Morita, S. Kimura, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 12780; T. Carell, L. T. Burgdorf, L. M. Kundu, M. Cichon, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2001**, 5, 491; C. Aubert, M. H. Vos, P. Mathis, A. P. M. Eker, K. Brettel, *Nature* **2000**, 405, 586; E. W. Schlag, D.-Y. Yang, S.-Y. Sheu, H. L. Selzle, S. H. Lin, P. M. Rentzepis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, 97, 9849; C. C. Page, C. C. Moser, X. X. Chen, P. L. Dutton, *Nature* **1999**, 402, 47.
- [5] F. Polo, S. Antonello, F. Formaggio, C. Toniolo, F. Maran, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 492.
- [6] X. Chen, L. Zhang, W. Sun, Z. Zhang, H. Liu, Y. Bu, R. I. Cukier, *Phys. Chem. Lett.* **2010**, 1, 1637.
- [7] R. A. Malak, Z. N. Gao, J. F. Wishart, S. S. Isied, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 13888.
- [8] T. R. Prytkova, I. V. Kurnikov, D. N. Beratan, *Science* **2007**, 315, 622; D. N. Beratan, J. N. Onuchic, *Photosynth. Res.* **1989**, 22, 173.
- [9] B. R. Chaudhry, J. D. E. T. Wilton-Ely, A. B. Tabor, D. J. Caruana, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, 12, 9996; H. S. Mandal, H.-B. Kraatz, *Chem. Phys.* **2006**, 326, 246; S. Yasutomi, T. Morita, Y. Imanishi, S. Kimura, *Science* **2004**, 304, 1944; K. J. Kise, B. E. Bowler, *Inorg. Chem.* **2003**, 42, 3891; A. Y. Kornilova, J. F. Wishart, W. Xiao, R. C. Lasey, A. Fedorova, Y.-K. Shin, M. Y. Ogawa, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 7999; M. A. Fox, E. J. Galoppini, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 5277.
- [10] J. S. Park, E. Karnas, K. Ohkubo, P. Chen, K. M. Kadish, S. Fukuzumi, C. W. Bielawski, T. W. Hudnall, V. M. Lanch, J. L. Sessler, *Science* **2010**, 329, 1324; S. Fukuzumi, *Prog. Inorg. Chem.* **2009**, 56, 49; L. M. Utschig, M. C. Thurnauer, *Acc. Chem. Res.* **2004**, 37, 439.
- [11] a) M. Cordes, A. Kötgen, C. Jasper, O. Jacques, H. Boudebous, B. Giese, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 3511; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 3461; *Angew. Chem.* **2008**, 120, 3511; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 3461; b) M. Wang, J. Gao, P. Müller, B. Giese, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 4296; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 4232; c) B. Giese, M. Wang, J. Gao, M. Stoltz, P. Müller, M. Graber, *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 3621.
- [12] M. Cordes, O. Jacques, A. Kötgen, C. Jasper, H. Boudebous, B. Giese, *Adv. Synth. Catal.* **2008**, 350, 1053.
- [13] S. Kakinoki, Y. Hirano, M. Oka, *Polym. Bull.* **2005**, 53, 109.
- [14] M. Kuemin, S. Schweizer, C. Ochsenfeld, H. Wennemers, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 15474.
- [15] Für die Bestimmung des *trans:cis*-Verhältnisses einer Prolin-Peptidbindung, siehe: H. Kessler, *Angew. Chem.* **1982**, 94, 509; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, 21, 512.
- [16] Die NMR-Spektren von **3a** wurden bei 298 K und 400 MHz in CD₃CN/D₂O 3:1 gemessen. Die Signale der aromatischen Protonen des Tyrosins zeigen, dass das Peptid in mindestens vier unterschiedlichen Konformeren vorliegt, wobei der Anteil des Hauptkonformers > 50 % beträgt. Durch die Signalüberlappung ist eine detailliertere Analyse nicht möglich.
- [17] C. Grathwohl, K. Wüthrich, *Biopolymers* **1981**, 20, 2623.
- [18] Ziel dieser Zuschrift ist die Bestimmung des Einflusses einer positiven Ladung auf die Geschwindigkeit von intermolekularen sowie intramolekularen ET-Prozessen. Dazu haben wir Peptide

mit sehr ähnlichen Aminosäuresequenzen verwendet, damit sie möglichst vergleichbare konformative und dynamische Flexibilität haben. So wurde immer der gleiche Elektronendonator, der gleiche Elektronenakzeptor, die gleiche Relais-Aminosäure sowie das gleiche Gegenion verwendet. Alle Experimente wurden im gleichen Lösungsmittelgemisch sowie bei gleicher Temperatur durchgeführt. Dies gibt uns die Möglichkeit, die experimentellen Daten der Peptide **2–5** und **10–11** miteinander zu vergleichen und Rückschlüsse auf den Einfluss der Ladung auf den ET-Schritt in Peptiden zu ziehen. Würde man a) die Aminosäuresequenz, b) den Elektronenakzeptor, Elektronendonator oder die Relais-Aminosäure, c) das Gegenion, d) die Polarität und/oder Viskosität des Lösungsmittels oder e) die Reaktionstemperatur ändern, würde die Geschwindigkeit des ET außer durch die Ladung noch durch weitere Faktoren beeinflusst. Dennoch handelt es sich dabei um interessante Einflüsse, die in laufenden Arbeiten untersucht werden. Für einen Vergleich unserer Daten mit denen anderer Arbeitsgruppen/Messungen muss in Betracht gezogen werden, dass es sich in unserem Fall um Experimente im Grundzustand handelt, bei denen Ladungen verschoben werden.

- [19] Die Synthese der nichtnatürlichen Aminosäure mit der Seitenkette **6** wurde bereit in Lit. [12] beschrieben. Ähnliche, vollständig geschützte Nonapeptide wurden bereits in Lit. [11a] verwendet. Die Ammoniumsalze wurden ausgehend von den N-terminal Cbz-geschützten Nonapeptiden hergestellt. Nach der Entschützung der N-terminalen Aminosäure durch Hydrierung an Pd/C wurden die erhaltenen Verbindungen in CH₃CN/H₂O 3:1 gelöst. Die Bildung der Trifluoracetate erfolgte während der Aufreinigung mittels HPLC. Zur Elution wurde ein Acetonitril/Wasser-Gemisch mit 0.1 % Trifluoressigsäure verwendet (Gradient: CH₃CN/H₂O 2:3 auf 4:1 innerhalb 16 min). Das Entfernen des Lösungsmittels bei 0.05–0.1 mbar lieferte farblose Feststoffe. MS- und NMR-Daten zeigten, dass es sich dabei um die Trifluoracetate der Peptide handelte. Der pH-Wert der für die Lasermessungen verwendeten Lösungen der Peptide in CH₃CN/H₂O beträgt etwa 6.
- [20] Der experimentelle Aufbau der Lasermessungen ist in Lit. [11] und [12] sowie in den Hintergrundinformationen beschrieben. Es wurden entgaste 1.0 bis 5.0 mM Lösungen der Peptide (1:1-Verhältnis) in CH₃CN/H₂O 3:1 verwendet. Zwischen 40 und 1000 ns nach dem Laserblitz wurden Transienten-Absorptionsspektren des Radikalkations **9** ($\lambda_{\text{max}} = 450$ nm) und des Tyrosylradikals ($\lambda_{\text{max}} = 408$ nm) zwischen 400 und 600 nm aufgenommen. Deren relative Konzentration wurde durch Kurvenanalyse in Matlab bestimmt, siehe Lit. [21].
- [21] H. Gampp, M. Maeder, C. J. Meyer, W. D. Zuberbühler, *Talanta* **1985**, 32, 95.
- [22] H. Gampp, M. Maeder, C. J. Meyer, A. D. Zuberbühler, *Talanta* **1985**, 32, 257.
- [23] Die nichtnatürlichen Aminosäuren sowie die Peptide wurden wie in Lit. [11] beschrieben synthetisiert. Die Ammoniumsalze wurden nach Lit. [19] synthetisiert.
- [24] Der experimentelle Aufbau der Lasermessungen ist in Lit. [11] und [12] sowie in den Hintergrundinformationen beschrieben. Es wurden entgaste 2.0 bis 5.0 mM Lösungen der Peptide in CH₃CN/H₂O 3:1 verwendet. Zwischen 30 und 500 ns nach dem Laserblitz wurden Absorptionsspektren des Radikalkations **9** ($\lambda_{\text{max}} = 450$ nm), des Tyrosylradikals ($\lambda_{\text{max}} = 408$ nm) und des Radikalkations des Trimethoxyphenylalanins ($\lambda_{\text{max}} = 550$ nm) zwischen 400 und 600 nm aufgenommen und deren relative Konzentration durch Kurvenanalyse in Matlab bestimmt, siehe Lit. [21]. Die Geschwindigkeiten der Folgereaktion wurde mittels Specfit bestimmt, siehe Lit. [22] und [25].
- [25] Die beobachtete Abnahme des Dialkoxyphenylradikalkations und die Zunahme des Tyrosylradikals verläuft durch die gleichzeitig stattfindende intermolekulare Reaktion schneller als für die intramolekulare Reaktion alleine. Aus diesem Grund wurden die beobachteten Geschwindigkeiten durch Subtraktion der intermolekularen Geschwindigkeiten bei der entsprechenden Konzentration des intramolekularen Experiments korrigiert. Der intermolekulare ET zwischen dem Elektronenakzeptor **9** und der Trimethoxyphenylgruppe (Seitenkette der Relais-Aminosäure) ist so langsam, dass er vernachlässigt werden kann.
- [26] Die Einführung einer Ladung hatte nahezu keine Auswirkung auf die erhaltenen CD-Spektren der Peptide (siehe Hintergrundinformationen). Daraus konnten wir schließen, dass die Struktur der PPII-helikalen Peptide durch das Einführen einer positiven Ladung nicht drastisch beeinflusst wird. Für eine Diskussion des Einflusses der Ladung auf die Konformation von PPII-Helices verweisen wir auf Lit. [14].
- [27] Der experimentelle Aufbau der Lasermessungen ist in Lit. [11] und [12] sowie in den Hintergrundinformationen beschrieben. Es wurden entgaste 1.0 bis 5.0 mM Lösungen der Peptide in CH₃CN/H₂O 3:1 verwendet. Zwischen 30 und 500 ns nach dem Laserblitz wurden Transienten-Absorptionsspektren des Radikalkations **9** ($\lambda_{\text{max}} = 450$ nm), des Tyrosylradikals ($\lambda_{\text{max}} = 408$ nm) und des Radikalkations des Trimethoxyphenylalanins ($\lambda_{\text{max}} = 550$ nm) zwischen 400 und 600 nm aufgenommen und deren relative Konzentration mit Hilfe einer Kurvenanalyse in MATLAB bestimmt, siehe Lit. [21]. Die Geschwindigkeiten der Folgereaktion wurden mittels SPECFIT bestimmt, siehe Lit. [22] und [25].
- [28] DFT-Rechnungen wurden mithilfe von Gaussian09 durchgeführt. Die Geometrie wurde auf dem B3LYP-Niveau unter Verwendung des 6-31G(d,p) Basissatzes optimiert. Nach diesen Kalkulationen beträgt der Abstand r_1 zwischen der Mitte des Ammoniumions und dem Rand des aromatischen Radikalkations für Peptid **11b** zwischen 2.9 und 3.9 Å. Unser Dank gilt Prof. Christian Bochet für die Durchführung der DFT-Rechnungen zur Bestimmung der r_1 -Werte.
- [29] G. P. Cunningham, G. A. Vidulich, R. L. Kay, *J. Chem. Eng. Data* **1967**, 12, 336.