

Mehrfache orthogonale Konjugationen mit Molekülgerüsten: Anwendung in der chemischen Biologie und Wirkstoff-Forschung**

David M. Beal und Lyn H. Jones*

Biokonjugation · Chemische Biologie · Klick-Chemie · Molekülgerüste

Heteropolyfunktionelle Molekülgerüste, die sich sequenzielle Klick-Reaktionen zunutze machen, werden eine bedeutende Rolle in den Bereichen der chemischen Biologie und chemisch aktivierten Biotherapeutika, der so genannten „Chemologics“ spielen. Dieser Kurzaufsatz fasst die bestehenden Synthesetechniken zusammen und verdeutlicht das beträchtliche Potenzial, das dieses Fachgebiet birgt.

1. Einleitung

Die effiziente präparative Derivatisierung von Biomolekülen ist von großer aktueller Bedeutung. Trotz den Durchbrüchen auf dem Gebiet der Klick-Chemie^[1] ist die derzeitige Auswahl an Transformationen, die die Chemie an der Schnittstelle zur Biologie zuverlässig und reproduzierbar bereitstellt, besonders im pharmazeutischen Umfeld immer noch unzureichend. Eigene Arbeiten im Bereich der chemischen Biologie zeigten immer wieder, dass es an nützlichen Transformationen mangelt, sodass dieser Kurzaufsatz als Appell an die Syntheschemiker zu verstehen ist, das Repertoire entsprechender Umwandlungen weiter zu vergrößern.

In der organischen Synthese niedermolekularer Verbindungen werden kontinuierlich Fortschritte erzielt, besonders im Zusammenhang mit der Wirkstoff-Entwicklung. Allerdings sollte man sich intensiver damit beschäftigen, entsprechende Reaktionen stärker auf die Anforderungen der chemischen Biologie auszurichten. Gleichmaßen können bereits bestehende Verfahren durch die Optimierung vorhandener Vorschriften, die für die Biokonjugation entwickelt wurden, deutlich verbessert werden.

Chemische Reaktionen, die durch den Einsatz polyfunktioneller Molekülgerüste eine einfache und reproduzierbare Modifizierung von Biomolekülen ermöglichen, sind für unsere Gruppe von besonderem Interesse und stehen im Mittelpunkt dieses Kurzaufsatzes.

Zwar gibt es bereits eine Reihe von Gerüsten, die heterodifunktionelle Vernetzer aufweisen, z.B. den kommerziell erhältlichen Biotinreporter Sulfo-SBED **1** (Sulfosuccinimidyl-2-[6-(biotinamido)-2-(*p*-azidobenzamido)hexanoamido]-ethyl-1,3'-dithiopropionat; Abbildung 1),^[2] jedoch kennt man nur relativ wenige, die über drei (oder mehr) gut definierte orthogonale Möglichkeiten verfügen, sequenzielle Konjugationen von Biomolekülen zu ermöglichen.

Polyfunktionelle Molekülgerüste haben unzählige Anwendungsmöglichkeiten und können von großem Nutzen im Bereich der Biotherapeutika sein, besonders solche Gerüste, die durch den Einsatz chemischer Techniken, so genannter „Chemologics“, aktiviert oder verbessert wurden.^[3] Ein An-

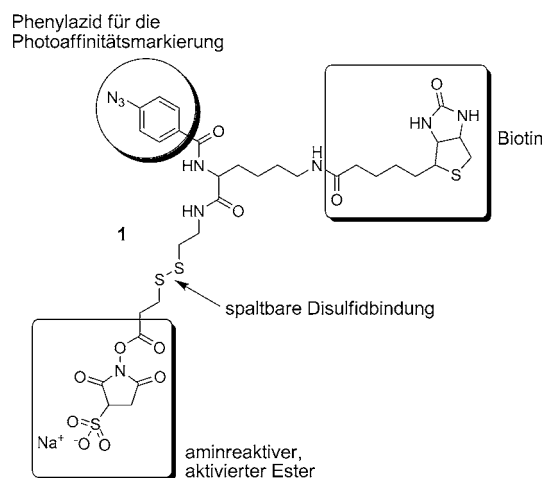


Abbildung 1. Difunktionaler Vernetzer Sulfo-SBED 1.

[*] Dr. L. H. Jones
Chemical Biology, BioTherapeutics Chemistry
WorldWide Medicinal Chemistry
Pfizer, 200 Cambridge Park Drive, Cambridge MA (USA)
E-Mail: lyn.jones@pfizer.com

D. M. Beal
School of Biosciences, University of Kent
Canterbury, Kent, CT2 7NJ (Großbritannien)

[**] Beide Autoren haben gleichermaßen zu diesem Kurzaufsatz beigetragen.

wendungsbeispiel findet sich in der synthetischen Immunologie. Hier werden neue Methoden benötigt, um diskontinuierliche Epitope nachzuahmen, um ausgeklügelte Antigen-Designs zur Entwicklung therapeutischer Impfstoffe oder monoklonaler Antikörper (mAb) zu ermöglichen.^[4,5] In der Onkologie können Antikörper-Wirkstoff-Konjugate (Antibody-Drug Conjugates, ADCs) von der einfachen Biokonjugation des mAb erkennenden Moleküls an verschiedene zytotoxische Agentien profitieren, bei denen es sich ebenfalls um Biomoleküle oder um komplexe, potenziell reaktive Naturstoffe handeln kann.^[6] Des Weiteren kann der zielgerichtete Transport therapeutischer Oligonukleotide, darunter auch siRNAs (small interfering RNAs), heterovalente Expressionen nutzen, um in die Zelle zu gelangen.^[7]

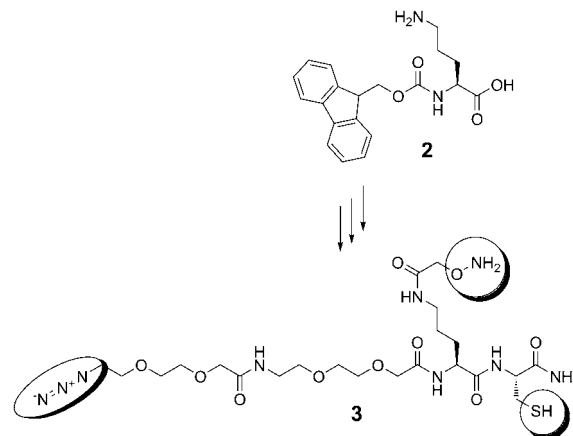
Auch die chemische Biologie kann profitieren, wo z.B. aktivitätsbasierte Sondenmoleküle Proteinreaktivität mit Anreicherung (z.B. von Biotin oder Fluorierreagentien) und Reporterfunktionen (wie z.B. Fluoreszenz- und massenspektrometrische Markierungen) vereinen können.^[8–11] Die Permutationen und Kombinationen dieser funktionellen Moleküle sind nahezu unbegrenzt, doch sind sie sehr stark auf die Fähigkeit der Synthesechemie angewiesen, eine solche „plug-and-play“-Strategie zu ermöglichen.

Dieser Kurzaufsatz soll nicht nur die derzeitige Entwicklung komplexer biomolekularer Architekturen mithilfe heteropolyfunktioneller Gerüste beleuchten – wir hoffen, dass er darüber hinaus auch das große Potenzial dieses Gebiets aufzeigen wird, um so weitere Investitionen in dieses spannende Forschungsfeld anzuregen. Die Gliederung der einzelnen Abschnitte erfolgte entsprechend den chemischen Reaktionen, die verwendet wurden, um die gewünschte Komplexität und Funktionalität zu erzeugen; zusätzlich werden die Anwendungen des vorhandenen Syntheserepertoires in der chemischen Biologie besprochen.

2. Oxim-Thiol-CuAAC

Jüngste Arbeiten von Renard, Romieu et al. demonstrieren einen einfachen, aber sehr effizienten Zugang zu einem polyfunktionellen Gerüst (**3**), das sich von einem Lysin ableitet und sich die Trifunktionalität dieser Aminosäure zunutze macht.^[12,13] Lysin hat drei mögliche Konjugationspunkte: ein Hydroxylamin für die Bindung des Oxims,

ein Thiol für die Reaktion mit Maleimid oder α -Halogenketonen und ein Azid für die Kupfer-katalysierte Azid-Alkin-Konjugation (CuAAC).^[14,15] Das Gerüst wurde aus Fmoc-Lys-OH (**2**; Fmoc = 9-Fluorenylmethoxycarbonyl) konvergent über 14 Stufen synthetisiert, wobei die Gesamtausbeute weniger als 1 % betrug (Schema 1). Der Grad der Reaktivität an jeder Position ist ausschlaggebend für eine erfolgreiche An-



Schema 1. Trifunktionelles Oxim-Thiol-CuAAC-Gerüst **3**.

wendung des Molekülgerüsts. Eine abschließende CuAAC-Konjugation ist aus zweierlei Gründen notwendig: Zum einen gilt es, eine Kupfer/Natriumascorbat-vermittelte Bildung von Disulfid aus dem Thiol zu vermeiden; zum anderen könnte es zu einer Kupfer-bedingten Spaltung des freien Aminoxy substituenten kommen.

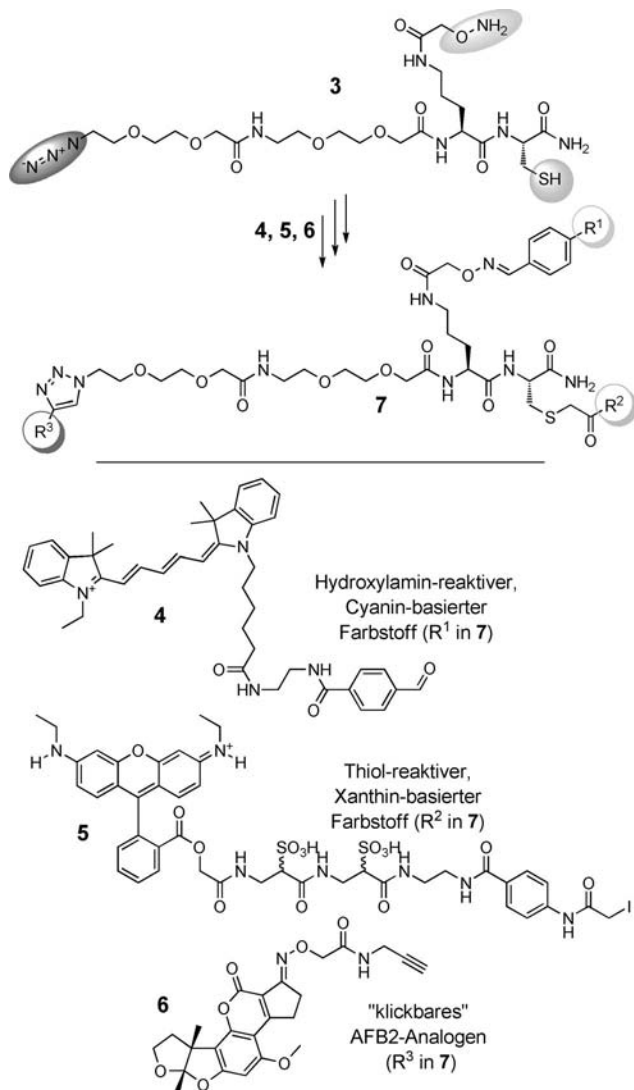
Der Nutzen dieses Konstrukts wurde im Anschluss durch die Erzeugung einer FRET-Kassette (FRET = resonanter Fluoreszenzenergietransfer) für empfindliche Moleküle wie das Mycotoxin AFB2 (nukleophil-reaktiver Lactonrest) untersucht. Die Reaktion des Gerüsts **3** (Schema 2) mit den geeignet derivatisierten Farbstoffen Cyanin und Xanthen (**4** bzw. **5**) lieferte die Grundkassette (nach jeder Stufe war hierbei die Reinigung mit Umkehrphasen-HPLC erforderlich). Vorangegangene Versuche, Molekülgerüste dieser Art herzustellen, hatten sich wegen der Empfindlichkeit von AFB2 schwierig gestaltet. Die Synthese des Alkin-funktionalisierten AFB2-Moleküls **6** über Oximligation ermöglichte



David Beal erhielt 2002 an der University of Greenwich (Großbritannien) den BSc in Chemie, während er für Pfizer Global Research and Development in Sandwich arbeitete. In seiner 14-jährigen Tätigkeit bei Pfizer (1997–2011) war er an verschiedenen Programmen beteiligt, die sich über unterschiedliche therapeutische Bereiche in der Abteilung für Wirkstoff-Entdeckung erstreckten. Im Anschluss wurde er Mitarbeiter der Abteilung Chemical Biology von Dr. Lyn Jones. Derzeit promoviert er bei Dr. Wei-Feng Xue an der University of Kent über nanoskalige Eigenschaften von Amyloidfibrillen.



Lyn Jones studierte an der University of Bath (Großbritannien) und promovierte 1998 in organischer Synthesechemie bei Prof. Alan Armstrong an der University of Nottingham. Als Postdoktorand forschte er mit Prof. Kim Janda am Scripps Research Institute in La Jolla (USA) im Bereich der chemischen Biologie und Biochemie. 2001 kam er als Abteilungsleiter für medizinische Chemie zu Pfizer nach Sandwich (Großbritannien). Vor Kurzem wechselte er nach Cambridge (USA), um dort bei Pfizer die Abteilungen Chemical Biology sowie Orphan & Genetics Diseases Chemistry zu leiten.



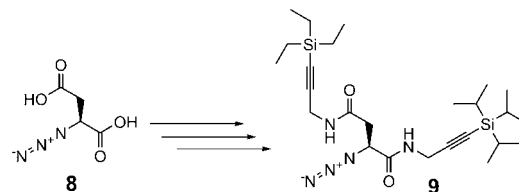
Scheme 2. Funktionalisierung von **3** zur Bildung der FRET-AFB2-Konjugate **7**.

die CuAAC-vermittelte Konjugation der finalen Komponente an das Molekülgerüst. Diese Arbeit vereinigt, ganz ohne Schutzgruppenmanipulationen, drei sequenzielle und orthogonale chemische Umwandlungen und ebnet damit den Weg für die Synthese dieser komplexen Strukturen **7**. Ein zusätzliches Beispiel war die Verwendung Oligonukleotid verknüpfender Fragmente und ihre Immobilisierung auf festen Oberflächen, was Anwendung bei der Erzeugung von transportablen Biosensoren finden könnte.

3. CuAAC-CuAAC-CuAAC

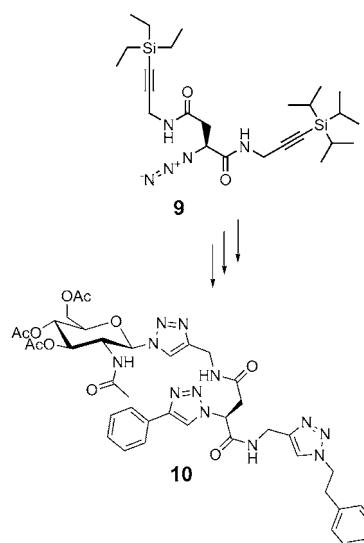
Für die Bildung von Bindungen in biologischen Systemen ist die CuAAC die Methode der Wahl, vor allem dank ihrer Chemoselektivität und der Biokompatibilität der Azid- und Alkinkupplungspartner. So präsentierten Aucagne und Mitarbeiter eine Schutzgruppenstrategie, die eine Differenzierung zwischen Alkinen und Aziden in denselben Molekülen

ermöglicht, und lieferten damit ein Gerüst, in dem drei aufeinanderfolgende CuAAC-Reaktionen ablaufen können.^[16] Ausgehend von der kommerziell erhältlichen Azidasparaginsäure **8** gelang es, ein (unterschiedlich) Silyl-geschütztes Gerüst **9** über fünf Stufen in einer Gesamtausbeute von 17 % herzustellen (Schema 3).



Scheme 3. Synthese des CuAAC-CuAAC-CuAAC-Gerüsts nach Aucagne et al.

Die Reihenfolge, in der die Konjugationen erfolgen, ergibt sich aus der Reaktivität der unterschiedlichen Silylschutzgruppen der Alkinfunktionen. Der einleitenden CuAAC-Reaktion des α -Azids schließt sich eine Entschützung des Triethylsilyl(TES)-Alkins mit Silbernitrat an. Setzt man das resultierende Gerüst in einer CuAAC-Reaktion in Gegenwart eines weiteren Azids um, führt dies zur Konjugation einer zweiten Komponente. Die dritte und letzte CuAAC-vermittelte Konjugation wird durch die Entschützung des Triisopropylsilyl(TIPS)-Azids mithilfe von Tetraäthylammoniumfluorid (TBAF) bewirkt. So werden mit dieser Methode drei unterschiedliche Komponenten an den Kern des Gerüsts konjugiert, wodurch das Produkt **10** in einer beachtlichen Gesamtausbeute von 72 % entsteht. Auch wenn nur eine der hier gekoppelten Komponenten als Biomolekül angesehen werden kann, zeigt sich doch, dass dieses System in ein trifunktionelles, Biomolekül-kompatibles Molekülgerüst weiterentwickelt werden könnte.



Scheme 4. Funktionalisierung des CuAAC-CuAAC-CuAAC-Gerüsts nach Aucagne et al.

Die Gruppe um Carell nutzte kürzlich eine ähnliche CuAAC-CuAAC-CuAAC-Strategie, um mit Alkylschutzgruppen eine Dreifachmodifikation in DNA einzuführen.^[17] Eine Standard-Phosphoramidit-Reaktion fügte in eine DNA-Helix Nukleotide ein, die ein terminales Alkin sowie TIPS- und Trimethylsilyl(TMS)-geschützte Alkine enthielten (Abbildung 2). So konnte eine Vielzahl an Azid-haltigen Mole-

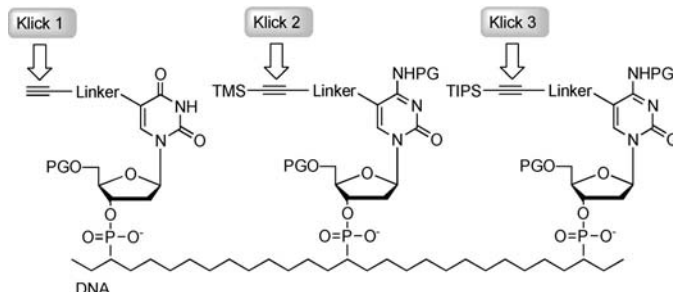


Abbildung 2. Molekülgerüst nach Carell et al., entwickelt für CuAAC-CuAAC-CuAAC-Modifikationen. PG = Schutzgruppe.

külen (darunter ein Fluoreszenzfarbstoff, Biotin und ein Zucker) hoch effizient und sequenziell konjugiert werden. Der Erfolg dieser Strategie basiert auf der quantitativen, selektiven Abspaltung von TMS mithilfe von Ammoniak in Gegenwart der TIPS-Schutzgruppe, die dann vor der abschließenden Klick-Kupplung durch TBAF entfernt wird.

4. Oxim-Maleimid-4 × CuAAC

Boturyn und Mitarbeiter erweiterten die Lysinstrategie durch Entwicklung eines Linkers, der vier Alkineinheiten mit Oxim- und Maleimid-Kupplungseigenschaften vereint.^[18] Die Autoren stellten durch Standardmethoden der präparativen Festphasenchemie ein Decapeptidgerüst her, das sich von sechs Lysin-, zwei Prolin- und zwei Glycinresten ableitet. Dabei gewährleistet die Verwendung der funktionalisierten Lysinderivate **11** und **12** (Abbildung 3) die Kontrolle über die Synthese des Decapeptid-Linkers. Das Maleimid wurde wegen seiner Unverträglichkeit mit dem für die Fmoc-vermittelte Entschützung des Resins verwendeten Piperidin erst im Anschluss an die Festphasensynthese angefügt.

Wegen der Instabilität des Aldehydteils von **13** (Abbildung 4) und der Tendenz der Thiol-Kupplungspartner, in

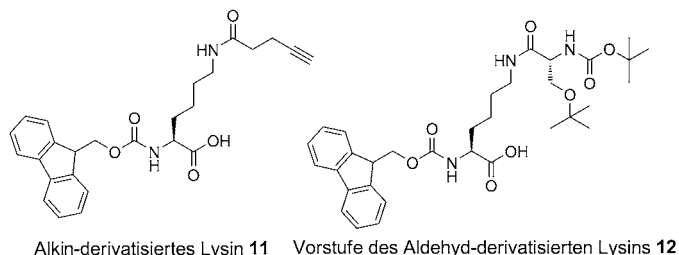


Abbildung 3. Funktionalisierte Lysinderivate für die Bildung von Gerüst **13**.

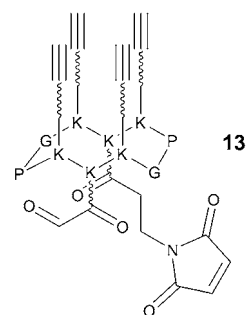


Abbildung 4. Klickbares Decapeptidgerüst.

Gegenwart von Kupfer zu oxidieren, wurde die CuAAC-Konjugation als letzte Klick-Reaktion durchgeführt. Die Fähigkeit zur Kupplung von Biomolekülen durch dieses Gerüst wurde anhand sequenzieller Verknüpfungen mit Zucker **14** (Oxim), linearem KLA-Peptid **15** (Maleimid) und cyclischem RGD-Peptid **16** (CuAAC) demonstriert (Abbildung 5).

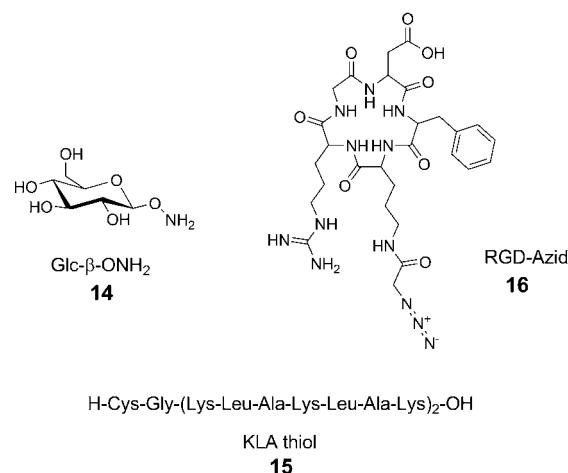


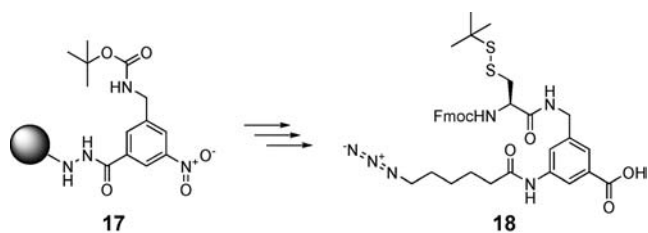
Abbildung 5. Biomoleküle, gekuppelt an das Decapeptidgerüst **13**.

Darüber hinaus konnte ein Oligonukleotid an eine ähnliche Gerüst durch CuAAC angefügt werden. Ein entscheidender Vorteil dieses Gerüsts ist, dass auf dem Weg zum endgültigen, trifunktionellen Konjugat keine Reinigung von Zwischenstufen benötigt wird. Diese Arbeit belegt, dass es prinzipiell möglich ist, synthetische Krebsimpfstoffe zu entwickeln, die mehrfache Kohlenhydratepitope aufweisen.

5. Thiol-Amid-CuAAC

Waldmann et al. beschrieben 2006 mehrere Gerüstkerne mit großem Potenzial für die Bildung biomolekularer Architekturen.^[19] Das Gerüst basiert auf einem Benzolring-haltigen Kern, der teilweise an einem Harz ausgehend von **17** synthetisiert wird (Schema 5).

Der Funktionalisierung der Carbonsäure **18** mit einer Fluoreszenzsonde schließt sich die Entschützung des Cysteins an, was das Anfügen eines exprimierten Peptids oder Proteins

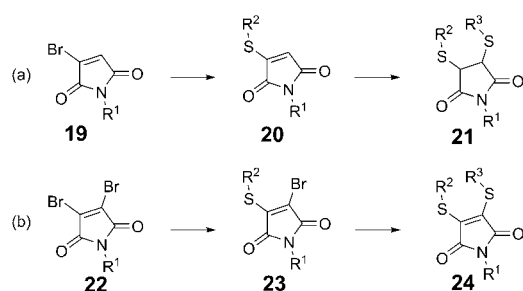


Schema 5. Synthese eines Thiol-Amid-CuAAC-Gerüsts.

(expressed protein ligation: EPL)^[20] an eine N-terminale Thioestergruppe eines weiteren Proteins (hier: Ras) ermöglicht. Am verbleibenden Azid kann anschließend durch eine Staudinger-Ligation die Kupplung des Proteins an eine Phosphan-funktionalisierte Glasoberfläche erfolgen. Damit liefert diese Arbeit die Möglichkeit zur Erzeugung von Protein-Mikroarrays für Anwendungen in der Proteomforschung.

6. Funktionalisierte Maleimide

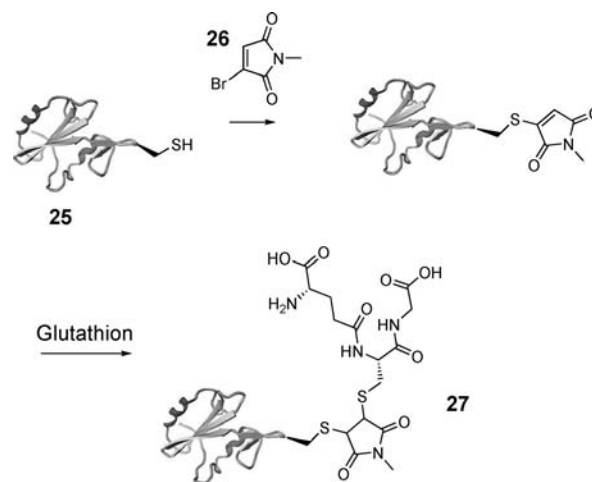
Dass eine maßgebliche Diversität auch ausgehend von einem sehr einfachen Gerüst erzielt werden kann, belegten vor Kurzem Baker, Caddick et al., indem sie funktionalisierte Maleimide als neue Reagentien für die Biokonjugation entwickelten.^[21,22] Die Reaktivität des Brom-haltigen Maleimids **19** (Schema 6a) stellt sich folgendermaßen dar: Die Umset-



Schema 6. Reaktivität von a) Brommaleimiden und b) Dibrommaleimiden.

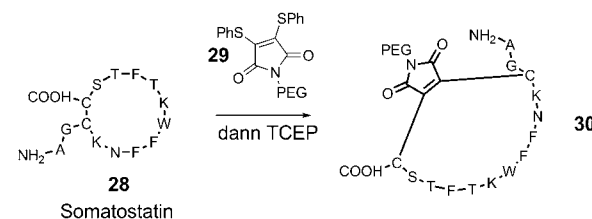
zung mit einem Thiol-Äquivalent bewirkt das Verdrängen des Bromids unter Bildung von **20**. Durch die Zugabe eines zweiten Thiols zum Maleimid erhält man das gesättigte Produkt **21**. Im Fall des Dibrommaleimids **22** (Schema 6b) bildet sich das ungesättigte Produkt **24** durch Entfernen des zweiten Bromids aus **23**.

Um die bioorthogonalen Eigenschaften dieses Prozesses aufzuzeigen, wurden an *N*-Methylbrommaleimid (**26**) in einem ersten Schritt die SH2-Domäne des Proteins Grb2 (**25**; L111C) und anschließend Gluthation angefügt, was zur Bildung des Produkts **27** führte (Schema 7).^[22] Eine ähnliche Reaktion zeigt Dibrommaleimid mit demselben Cystein-haltigen Protein. Das gebildete Produkt wurde mit Gluthation oder Thioglucose umgesetzt, um die Möglichkeiten des Gerüsts zu demonstrieren.



Schema 7. Addition der SH2-Domäne (L111C) des Proteins Grb2 und von Gluthation an *N*-Methylbrommaleimid.

Eine folgende Arbeit zur Verbrückung von Disulfid-haltigen Proteinen, z.B. Somatostatin (**28**), mithilfe von Bis-thiophenol-funktionalisiertem Maleimid mit einer Polyethylenglycol(PEG)-Gruppe am Stickstoffatom (**29**), lieferte **30** und zeigte damit das Potenzial funktionalisierter Maleimide als äußerst nützliche Gerüste auf (Schema 8).^[22] Darüber

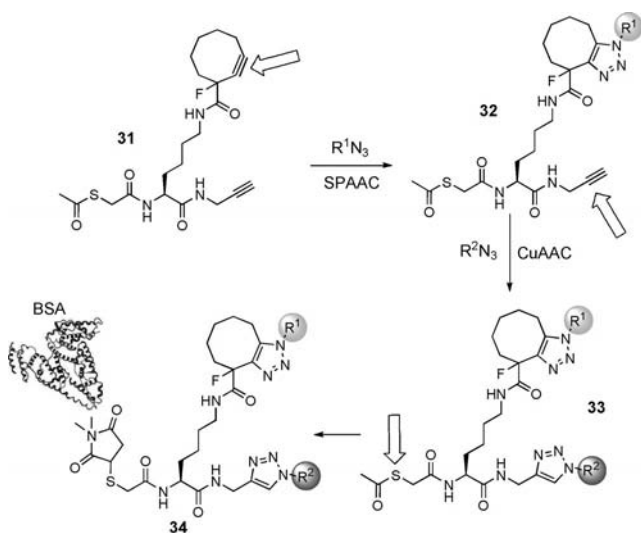


Schema 8. Verbrückung von cyclischem Disulfid-Somatostatin mit Bis-thiophenol-funktionalisiertem Maleimid.

hinaus verspricht die Umkehrbarkeit dieser Reaktionen durch Zugabe von Tris(2-carboxyethyl)phosphan (TCEP) Anwendungsmöglichkeiten dieser Motive als neuartige Gerüste in der Prodrug-Entwicklung. So könnte leicht mit der Einführung eines klickbaren Armes am Stickstoffatom des Maleimids ein trifunktionelles Gerüst für sequenzielle Bio-konjugationen geschaffen werden.

7. CuAAC-SPAAC-Thiol

Unsere Gruppe stellte ein Molekülgerüst her, welches das sequenzielle Anfügen von Peptidazidmonomeren ermöglicht, um die Expression diskontinuierlicher Epitope auf Carrier-Proteinen wie Rinderserumalbumin (BSA) für die Entwicklung von synthetischen Impfstoffen und eine Antikörperbildung in einem Eintopfprozess zu ermöglichen.^[23] Ausgehend von Fmoc-Lysin wurde das Gerüst **31** (Schema 9) in einer Gesamtausbeute von 6% über nur fünf Reaktionsstufen bereitgestellt, wobei sowohl Kupfer-vermittelte als auch span-



Scheme 9. Addition von Azid-haltigen Monomeren und Maleimid-BSA an das CuAAC-SPAAC-Thiol-Gerüst.

nungsunterstützte Azid-Alkin-Kupplungs(SPAAC)-Vorschriften verwendet wurden.^[24] Der Einsatz des fluorierten Cyclooctinmotivs ermöglichte die SPAAC-vermittelte Konjugation mit Biomolekülen.^[25] Hierbei ist die Abfolge der Reaktionen mit dem Gerüst variabel, allerdings muss die SPAAC-Reaktion, die zu Produkt **32** führt, vor der CuAAC-Reaktion erfolgen (\rightarrow **33**), um eine Kreuzreaktivität zu vermeiden. Acetatschutzung machte die Thiolgruppe für die Maleimid-vermittelte Ligation an BSA zugänglich (**34**). Die Substratbandbreite wurde durch die hoch effiziente Konjugation von Peptiden (**35–37**), Zuckern (**38**), Lipiden (**39**), Biotin (**40**) und fluoreszierenden Molekülen (**41**) aufgezeigt (Abbildung 6). Angefügt wurde außerdem eine perfluorierte aliphatische Kette **42**, die in der chemischen Biologie noch breitere Anwendung finden dürfte.^[26]

8. Zusammenfassung und Ausblick

Die Klick-Chemie hat die Vielfalt an Architekturen und Funktionalitäten, die in biologisch relevanten Systemen erzeugt werden können, bedeutend gesteigert. Besonders die Fähigkeit, Biomoleküle modifizieren zu können und rasch zusätzlich Funktion und Komplexität zu erschaffen, hat die Forschungsgebiete der „Chemologics“ und der chemischen Biologie vorangebracht. Polyfunktionelle und biokompatible Linker haben einen beträchtlichen Einfluss in der synthetischen Immunologie, beim Design von Immunogenen, in der Aktivitäts-basierten Proteomforschung und in Techniken, die eine gezielte Therapie ermöglichen. Das Ziel wird die Verwirklichung selektiver Transformationen sein, die eine möglichst quantitative Ausbeute liefern, ohne dass Schutzgruppenmanipulationen oder eine aufwändige Reinigung nötig sind. Erst dann können hoch komplexe biomolekulare Architekturen (speziell Konjugatbibliotheken und –Arrays) zuverlässig und reproduzierbar aufgebaut werden.

Jedes hier vorgestellte Molekülgerüst hat seine Vorteile (und Nachteile), und es wird deutlich, dass einige Gerüste

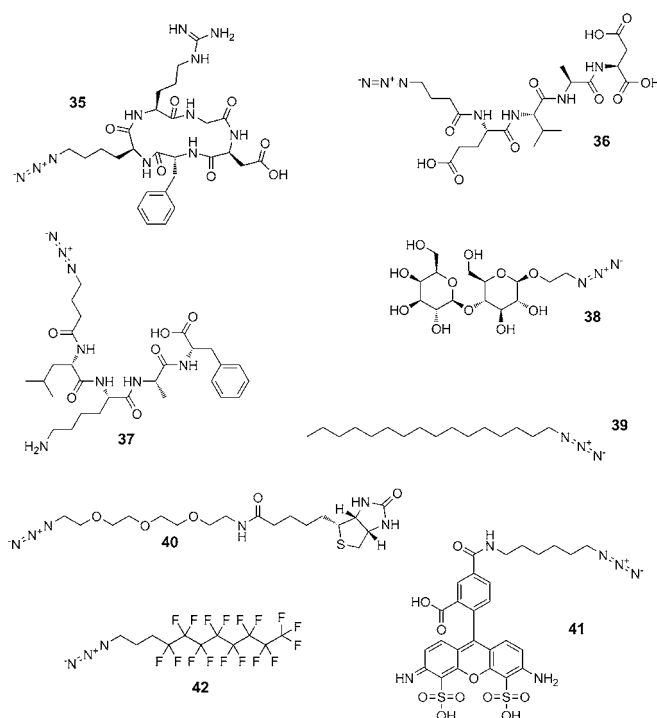


Abbildung 6. Biomoleküle, die in Kombination mit dem CuAAC-SPAAC-Thiol-Gerüst **33** verwendet und an R¹ und R² angefügt wurden.

leicht und andere weniger gut zu synthetisieren sind. Eine verbreitete Strategie beruht darauf, dass man sich die intrinsische Trifunktionalität eines einfachen Aminosäurekerns zunutze macht. Andere einfache Gerüste werden durch den Einsatz von orthogonal funktionalisierten aromatischen Systemen erzeugt, die besonders vielversprechend für die Bildung eher starrer Architekturen sind (z.B. im Fall von diskontinuierlichen synthetischen Epitopen). Ähnlich verhält es sich bei cyclischen Decapeptiden, bei denen der Kern eine verminderte Flexibilität und die Fähigkeit zur Bildung multivalenter Konstrukte aufweist. Gerüste, bei denen keine Schutzgruppenmanipulation notwendig ist, werden vermutlich den größten Nutzen haben. Ohne Zweifel wird die bemerkenswert einfache und elegante Strategie der Verwendung funktionalisierter Maleimide die chemische Biologie weiterhin stark beeinflussen. Gerüste, die denselben Satz an „Monomeren“ verwenden, um Komplexität zu erreichen (wie bei der sequenziellen Addition von Azid-haltigen Biomolekülen an ein Gerüst mit terminaler und gespannter Alkin-einheit), werden in der Zukunft häufiger zur Anwendung kommen.

Ein weiterer Bereich, der die Biokonjugationschemie bedeutend beeinflussen wird, beruht auf den bahnbrechenden Arbeiten von Schultz, der den genetischen Code durch die Erzeugung eines einzigartigen Codon-tRNA-Paares und der zugehörigen Aminoacyl-tRNA-Synthetase erweitert hat.^[27] Diese Technik ebnet den Weg für eine selektive biomolekulare Ligation, indem zielgerichtet nichtnatürliche Aminosäuren mit z.B. Keton-, Azid- oder Alkineigenschaften in Zielproteine eingeführt werden können. Durch das immer größere Repertoire an Klick-Reaktionen wird die Vielfalt polyfunktioneller Architekturen exponentiell steigen und ei-

ne Modifizierung von Biomolekülen für jeden erdenklichen Zweck umsetzbar sein. So bricht ein neues Zeitalter der chemischen Medizin an, da praktisch der gesamte chemische Raum für therapeutische Anwendungen zur Verfügung steht.

Eingegangen am 1. Januar 2012

Online veröffentlicht am 19. April 2012

Übersetzt von Dr. Kathrin Imke Ladwein, Basel

- [1] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2056–2075; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004–2021.
- [2] <http://www.piercenet.com/browse.cfm?fldID=23A2097D-0154-4B13-9D95-3F08AAD8B2C9>.
- [3] L. H. Jones in *New Frontiers in Chemical Biology* (Hrsg.: M. E. Bunnage), RSC Publishing, Cambridge, **2011**, S. 204–223.
- [4] C. Chamorro, J. A. W. Krutjitz, M. Farsaraki, J. Balzarini, R. Liskamp, *ChemComm* **2009**, 821–823.
- [5] J. D. Warren, X. Geng, S. J. Danishefsky, *Top. Curr. Chem.* **2007**, *267*, 109–141.
- [6] P. R. Hamman, R. G. Dushin in *New Frontiers in Chemical Biology* (Hrsg.: M. E. Bunnage), RSC Publishing, Cambridge, **2011**, S. 224–257.
- [7] M. G. Stanton, S. L. Colletti, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7887–7901.
- [8] G. C. Adam, E. J. Sorensen, B. F. Cravatt, *Mol. Cell. Proteomics* **2002**, *1*, 828–835.
- [9] A. F. H. Berry, W. P. Heal, A. K. Taradfer, T. Tolmachova, R. A. Baron, M. C. Seabra, E. W. Tate, *ChemBioChem* **2010**, *11*, 771–773.
- [10] M. Trester-Zedlitz, K. Kamada, S. K. Burley, D. Fenyö, B. T. Chait, T. W. Muir, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2416–2425.
- [11] D. S. Wilbur, B. E. B. Sandberg, US pat, US/0023288 A1, **2001**.
- [12] G. Clavé, H. Volland, M. Flaender, D. Gasparutto, A. Romieu, P.-Y. Renard, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 4329–4345.
- [13] G. Clavé, H. Boutal, A. Hoang, F. Perraut, H. Volland, P.-Y. Renard, A. Romieu, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 3065–3078.
- [14] C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3064.
- [15] V. V. Rostovtsev, L. G. Green, C. V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 2708–2711; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596–2599.
- [16] I. E. Valverde, A. F. Delmas, V. Aucagne, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 7597–7602.
- [17] P. M. E. Gramlich, S. Warncke, J. Gierlich, T. Carell, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 3491–3493; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3442–3444.
- [18] M. Galibert, O. Renaudet, P. Dumy, D. Boturyn, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 1941–1944; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 1901–1904.
- [19] A. Watzke, M. Köhn, M. Gutierrez-Rodriguez, R. Wacker, H. Schröder, R. Breinbauer, J. Kuhlmann, K. Alexandrov, C. M. Niemeyer, R. S. Goody, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 1436–1440; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1408–1412.
- [20] R. M. Hofmann, T. W. Muir, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2002**, *13*, 297–303.
- [21] M. E. B. Smith, F. F. Schumacher, C. P. Ryan, L. M. Tedaldi, D. Papaioannou, G. Waksman, S. Caddick, J. R. Baker, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 1960–1965.
- [22] F. F. Schumacher, M. Nobles, C. P. Ryan, M. E. B. Smith, A. Tinker, S. Caddick, J. R. Baker, *Bioconjugate Chem.* **2011**, *22*, 132–136.
- [23] D. M. Beal, V. E. Albrow, G. Burslem, L. Hitchen, C. Fernandes, C. Laphorn, L. R. Roberts, M. D. Selby, L. H. Jones, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 548–554.
- [24] C. Jewett, C. R. Bertozzi, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1272–1279.
- [25] M. K. Schultz, S. G. Parameswarappa, F. G. Pigge, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2398–2401.
- [26] M. Cametti, B. Crousse, P. Metrangolo, R. Milani, G. Resnati, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 31–42.
- [27] X. Wu, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 12497–12515.