

# Nichtkovalente Chiralitätssensorik-Ensembles zur Detektion und Reaktionsverfolgung von Aminosäuren, Peptiden, Proteinen und aromatischen Wirkstoffen\*\*

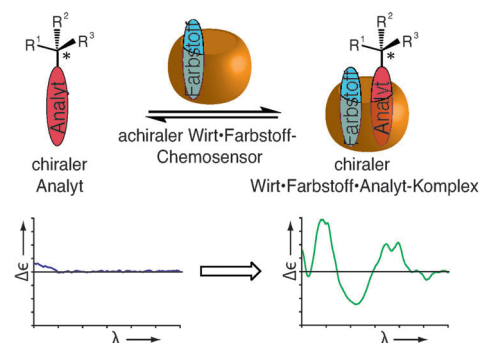
Frank Biedermann\* und Werner M. Nau\*

**Abstract:** Ternäre Komplexe des makrocyclischen Wirts *Cucurbit[8]uril* mit dikationischen Farbstoffen und chiralen aromatischen Analyten zeigen starke induzierte Circular dichroismus (ICD)-Signale im Nah-UV- und sichtbaren Bereich. Dies ermöglicht eine neuartige Herangehensweise zur Chiralitätssensorik und Sequenzerkennung in Wasser mit mikromolaren Analytkonzentrationen. Chemische Reaktionen können zudem in Echtzeit verfolgt werden, da die reversible und nichtkovalente Bindung augenblicklich auf Konzentrationsänderungen anspricht. Die hier vorgestellte supramolekulare Methode eignet sich für viele bioanalytische Anwendungen, z. B. für Enzymassays, die Wirkstoffanalytik und die kontinuierliche Verfolgung enantioselektiver Reaktionen, insbesondere asymmetrischer Katalyse.

Die meisten biologischen Analyten sind chiral, aber im sichtbaren Spektrum transparent.<sup>[1]</sup> Die Kombination von chiralen Rezeptoren mit chromophoren Signaleinheiten stand daher im Mittelpunkt der Entwicklung supramolekularer Chemosensoren. Dabei führt die Zugabe eines chiralen Analyten entweder zu einer direkten Bindung an den chiralen chromophoren Rezeptor oder zu einer Verdrängung eines Indikatorfarbstoffs aus dem chiralen Wirt.<sup>[1]</sup> In beiden Fällen ist das Design des stereodiskriminierenden Rezeptors die eigentliche Herausforderung, besonders wenn die Analytdetektion in Wasser erfolgen soll. Ein alternativer, neuerer Ansatz zur Detektion von Chiralität beruht auf Circular dichroismussonden,<sup>[2]</sup> die stöchiometrische chemische Reaktionen, typischerweise mittels Metall-Ligand-Bindungen, mit dem Analyt eingehen. Hierfür sind allerdings reaktive funktionelle (Hydroxy- oder Amino-)Gruppen und ausreichend lange Reaktionszeiten Voraussetzung.

Die Induktion von Circular dichroismus (CD) durch nichtkovalente Wechselwirkungen zwischen chiralen Analyten und achiralen Chemosensoren sollte sowohl das Design chiraler Wirte als auch die Bildung kovalenter Addukte überflüssig machen. Daher können solche nichtkovalenten ICD-Sonden ein breites Spektrum von Analyten detektieren,

auch von chemisch unreaktiven. Sie eignen sich auch zur Reaktionsverfolgung selbst von raschen chemischen Reaktionen. Es gibt bereits Beispiele für messbare ICD-Effekte mittels nichtkovalenter Bindung an aromatische Wirte.<sup>[2b,3]</sup> Diese haben allerdings kein praktisches Anwendungspotenzial, weil die Cotton-Banden im Bereich der harten UV-Strahlung liegen oder hohe millimolare Konzentrationen von Analyten benötigt würden.<sup>[2a]</sup> Die supramolekularen Chiralitätssensorik-Ensembles, die wir hier vorstellen, bestehen aus einem achiralen Wirt und achiralen Farbstoffen als Hilfschromophoren (Abbildung 1).



**Abbildung 1.** Die Komplexierung eines chiralen Analyten durch ein selbstorganisiertes Wirt-Farbstoff-Chemosensorik-Ensemble verstärkt und verschiebt das schwache intrinsische CD-Signal aus der Region der harten UV-Strahlung in den Nah-UV- und sichtbaren Bereich.

Es ist zunächst erwähnenswert, dass die intrinsischen CD-Signale von vielen chiralen Analyten, z. B. Aminosäuren, Peptiden, Proteinen und Zuckern sowie von synthetischen Wirkstoffen, schwach sind und in der Region der harten UV-Strahlung liegen (Abbildung 1, links). Nach Zugabe des achiralen Wirt-Farbstoff-Rezeptors erscheinen starke ICD-Banden (rechts), bedingt durch die Bildung eines chiralen Wirt-Farbstoff-Analyt-Komplexes. Dieser supramolekulare Ansatz zur Chiralitätssensorik hat folgende Vorteile:

- 1) Ein breites Spektrum an chiralen aromatischen Verbindungen kann detektiert werden, und deren Konfiguration lässt sich durch die gegensätzlichen ICD-Effekte zuordnen.
- 2) ICD-Spektren sind zwar schwer vorherzusagen,<sup>[4]</sup> aber hinreichend diagnostisch, um verschiedene Analyten, z. B. Peptidsequenzen, zu unterscheiden.
- 3) Die Stärke des optischen Signals ermöglicht eine empfindliche (mikromolare) Detektion, und zwar selektiv für chirale Analyten.

[\*] Dr. F. Biedermann, Prof. Dr. W. M. Nau  
School of Engineering and Science  
Jacobs University Bremen  
Campus Ring 1, 28759 Bremen (Deutschland)  
E-Mail: frankbiedermann@daad-alumni.de  
w.nau@jacobs-university.de

[\*\*] Wir danken Suhang He für Hilfe bei den Messungen. Diese Arbeit wurde unterstützt vom DAAD und der DFG.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201400718> zu finden.

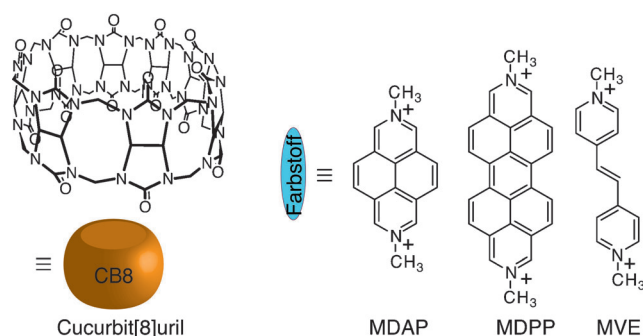
- 4) Die ICD-Effekte stellen sich augenblicklich ein,<sup>[5]</sup> sodass eine Echtzeitverfolgung von (katalytischen) Reaktionen der chiralen Analyten möglich ist.
- 5) Die Signale der ternären Komplexe sind in den Nah-UV- oder sichtbaren Bereich verschoben, sodass die Methode auch für biologische Proben und zum Screening mit Einweg-Mikrotiterplatten (aus Plastik) einsetzbar ist.

Diese Vorzüge, in Kombination mit dem Einsatz in wässriger Lösung, garantieren analytische Funktionalität.

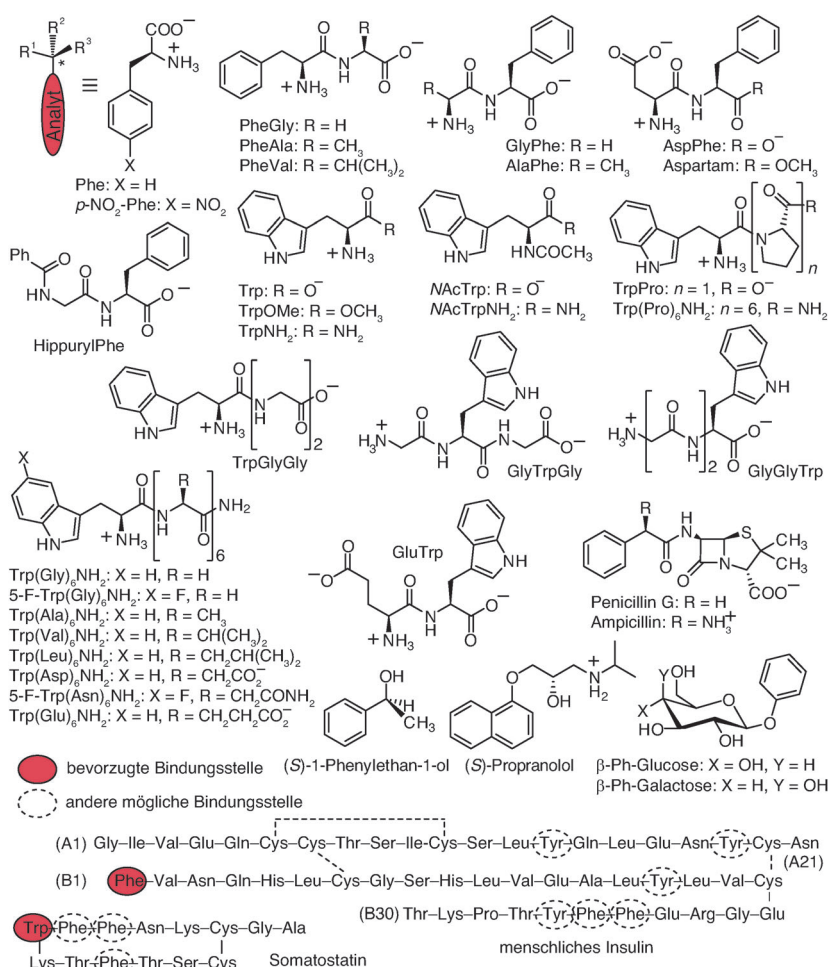
Wirt-Gast-Komplexe der fassförmigen, makrocyclischen Cucurbit[n]urile (CBn,  $n = 5-14$ )<sup>[6]</sup> zeigen hohe Bindungsaffinitäten und sind daher von besonderem Interesse für eine hochempfindliche Detektion in Wasser.<sup>[7]</sup> Der simultane Einschluss eines Farbstoffs und eines Analyten in der großen Kavität von CB8 wurde zur optischen Bestimmung von aromatischen Kohlenwasserstoffen,<sup>[8]</sup> Neurotransmittern<sup>[9]</sup> und Trp/Phe-substituierten Peptiden<sup>[10]</sup> herangezogen. Allerdings kann keine der bekannten Methoden zwei Enantiomere voneinander unterscheiden, da diese identische Affinitäten haben und daher exakt das gleiche Signal bei Fluoreszenz-, UV/Vis-, ITC- und Raman-spektroskopischen Messungen liefern. Unsere Idee war nun, dass chirale Analyten starke und charakteristische ICD-Signale mit achiralen CB8-Farbstoff-Komplexen generieren sollten.<sup>[11]</sup> Das CB8-Farbstoff-Chemosensorik-Ensemble hat eine ausreichend große Bindungstasche, um mit der gewünscht breit gefächerten Selektivität eine Vielzahl von chiralen Analyten mit aromatischen Gruppen als gemeinsamem Erkennungsmotiv zu binden.

Das Screening einer kleinen Bibliothek aus stark absorbierenden Farbstoffen lieferte die dikationischen MDAP, MDPP und MVE (Abbildung 2) als beste Kandidaten (siehe die Hintergrundinformationen (SI)), weil diese mit hoher Affinität an CB8 binden, kompatibel mit einer Vielzahl von Analyten sind und genauso starke ICD-Signale liefern wie in früheren Studien (siehe Tabellen S1–S3 (SI)).<sup>[3]</sup> Einer der Farbstoffe kann für einen bestimmten Zweck, z. B. die Detektion bei einer spezifischen ICD-Wellenlänge, am besten geeignet sein; für die folgenden Anwendungsbeispiele sind die drei Farbstoffe allerdings im Prinzip austauschbar.

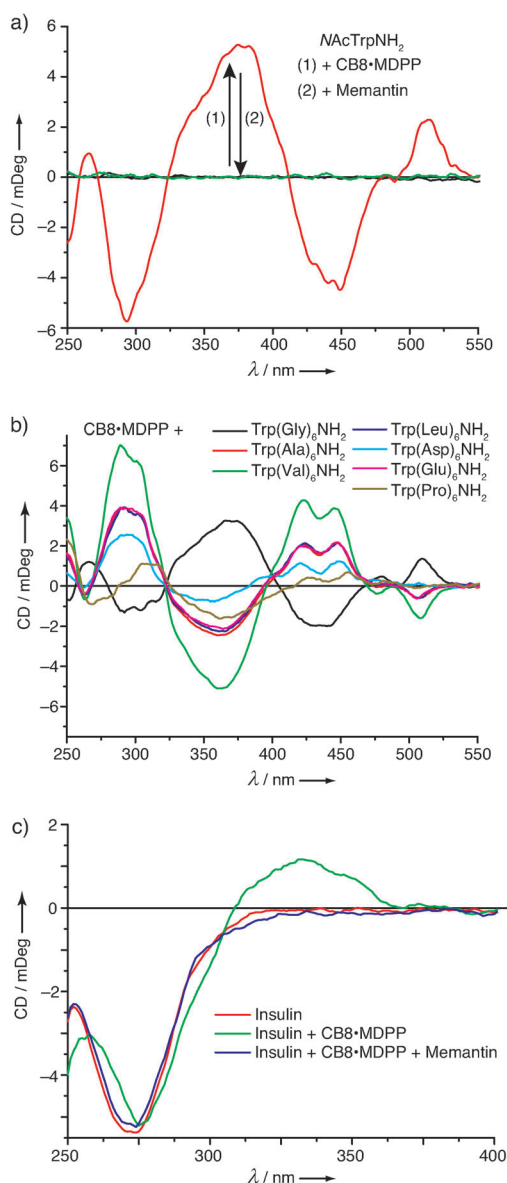
Abbildung 3 zeigt alle hier untersuchten Analyten. Das Aminosäurederivat NAcTrpNH<sub>2</sub> (40  $\mu\text{M}$ ) hat z. B. eine kaum detektierbare intrinsische CD-Bande bei 280 nm (Abbildung 4a). Wenn der gleiche Analyt allerdings zum CB8-MDPP-Reporterpaar (jeweils 20  $\mu\text{M}$ ) hinzugegeben wird, entstehen starke ICD-Banden in der Region, in welcher der Farbstoff absorbiert (bis 550 nm). ICD-Effekte werden allgemein durch konstruktive Orbitalüberlappung (begünstigt Exzitonen-Kopplung) und durch eine eingefrorene molekulare Konformation verstärkt.<sup>[2a,12]</sup> Offensichtlich ist beides für die parallele Anordnung von Farbstoff und Analyt in der CB8-Kavität der Fall (Abbildung 1).<sup>[6c,13]</sup>



**Abbildung 2.** Chemische Strukturen und Cartoonarstellungen des Makrocyclus CB8 und der Farbstoffe.



**Abbildung 3.** Chemische Strukturen der chiralen Analyten.



**Abbildung 4.** Beispiele für Chiralitätsdetektion. a) CD-Spektren von  $\text{NAcTrpNH}_2$  ( $40 \mu\text{M}$ , schwarze Linie) nach Zugabe von  $\text{CB8-MDPP}$  ( $20 \mu\text{M}$  in  $\text{H}_2\text{O}$ , rote Linie) und anschließender Komplexierung von  $\text{CB8}$  durch Memantin als konkurrierenden Gast ( $60 \mu\text{M}$ , grüne Linie). b) CD-Spektren von  $\text{CB8-MDPP}$  ( $20 \mu\text{M}$  in  $\text{H}_2\text{O}$ ) in Gegenwart verschiedener  $\text{Trp}(\text{Xaa})_6\text{NH}_2$ -Heptapeptide ( $\geq 3 \text{ Äquiv.}$ ). c) CD-Spektren von Insulin ( $50 \mu\text{M}$ , pH 2.7) in Gegenwart von  $\text{CB8-MDPP}$  ( $20 \mu\text{M}$ ) und nach anschließender kompetitiver Komplexierung von  $\text{CB8}$  durch Memantin ( $60 \mu\text{M}$ ).

Bindungskonstanten aus UV/Vis- und ICD-Titrationsen gefunden.  $\text{CB8}$  agiert in jedem der Beispiele als unentbehrliches Templat. In einem Kontrollexperiment konnte überzeugend demonstriert werden, dass die Zugabe von Memantin den  $\text{CB8-MDPP} \cdot \text{NAcTrpNH}_2$ -Komplex zerstört, indem es stark an  $\text{CB8}$  bindet ( $K_a \approx 10^{11} \text{ M}^{-1}$ )<sup>[14]</sup> und damit die ICD-Effekte vernichtet aufhebt (Abbildung 4a). Der Einsatz von MDAP und MVE als alternative Farbstoffe führte erwartungsgemäß zu anderen ICD-Spektren, aber wiederum bei niedrigen Analytkonzentrationen ( $40\text{--}100 \mu\text{M}$ ; Abbildung S2 und Ta-

belle S2 (SI)), sodass auch mit diesen eine empfindliche Detektion in Wasser möglich ist.

Die meisten auf einem einzelnen Rezeptor basierenden optischen Detektionsverfahren liefern qualitativ ähnliche Signale für strukturell unterschiedliche Analyten, z. B. eine Fluoreszenzlöschung, sodass diese nicht unterschieden werden können. Für die weit verbreiteten Indikatorverdrängungsassays ist dies stets der Fall, denn die spektrale Antwort des freigesetzten Farbstoffs sagt nichts über die Struktur des Analyten aus. Verschiedene Derivate der Aminosäure Trp und Phe erzeugten hingegen unterschiedliche ICD-Spektren in Gegenwart unseres Chemosensorik-Ensembles (Abbildungen S3, S4 und Tabellen S1, S2 (SI)). Dadurch ermutigt haben wir eine kleine Bibliothek von Di-, Tri- und Heptapeptiden mit N- oder C-terminalen Trp/Phe-Resten untersucht. Wiederum wurden Analyt-spezifische ICD-Spektren bei mikromolaren Konzentrationen erhalten (Abbildungen 4b und S3, S4 sowie Tabelle S1 (SI)). Auch interne Trp-Reste erzeugen charakteristische ICD-Signale (Abbildung S3 und Tabelle S1 (SI)). Ein einziger Trp-Rest reicht hierbei für die Detektion von Peptiden aus, wie für das cyclische Peptidhormon Somatostatin (Abbildung 3) gezeigt werden konnte. Überraschenderweise ist das ICD-Muster spezifisch genug, um durch Vergleich mit kleineren Modellpeptiden Trp (und nicht die beiden Phe-Reste) als bevorzugte Bindungsstelle in Somatostatin zu identifizieren (Abbildung S3 und Tabelle S1 (SI)). Derartige Strukturinformationen sind in Lösung allenfalls NMR-spektroskopisch bei wesentlich höheren Konzentrationen zugänglich. Uns ist kein anderer Rezeptor bekannt, welcher derartig spezifische optische Signale für vergleichbare Peptidsequenzen liefert. Von der Proteomik inspirierte Ideen zur Peptidsequenzerkennung oder „Peptid-Fingerprinting“ mithilfe von Hauptkomponenten- oder Diskriminanzanalyse liegen nahe.<sup>[15]</sup> Doch sogar ohne diese mathematischen Verfahren kann man viele N-terminal Trp-funktionalisierte Heptapeptide (Abbildung 3) bei  $\leq 50 \mu\text{M}$  voneinander unterscheiden (Abbildung 4b): Die Peptidstartsequenzen  $\text{TrpGly}$ ,  $\text{TrpVal}$ ,  $\text{TrpAsp}$  und  $\text{TrpPro}$  zeigen nämlich charakteristische Cotton-Banden, nur  $\text{TrpAla}$ ,  $\text{TrpGlu}$ , und  $\text{TrpLeu}$  liefern ähnliche ICD-Spektren.<sup>[16]</sup>

Zucker sind sehr schlecht mit direkten optischen Methoden nachweis- oder unterscheidbar. Leider binden unmodifizierte Zucker nicht an die  $\text{CB8}$ -Farbstoff-Komplexe, jedoch werden starke Komplexe mit Phenyl- $\beta$ -D-galactose und Phenyl- $\beta$ -D-glucose gebildet (Tabellen S1 und S2 (SI)). Diese beiden Epimere zeigen in Wasser identische Spektren im Bereich der harten UV-Strahlung; sogar ihre schwachen intrinsischen CD-Spektren sind praktisch gleich. In Gegenwart des  $\text{CB8-MDAP}$ -Rezeptors zeigen sie jedoch starke ICD-Banden mit definierten isodichroitischen Punkten, sodass die Epimere nun leicht unterschieden werden können (Abbildung S7 (SI)). Interessanterweise sind die ICD-Effekte für die biomolekularen Analyten stark, obwohl deren Stereozentren nicht in der Kavität des Wirts eingeschlossen sind.

Die große Mehrzahl (ca. 80 %) aller oral verabreichten Wirkstoffe enthält mindestens einen aromatischen Rest,<sup>[17]</sup> der wiederum als Anker für unsere Rezeptoren fungiert. Ein Beispiel ist der chirale, Naphthol-basierte Wirkstoff Propranolol (Abbildung 3), der zwar im Nah-UV-Bereich absorbiert

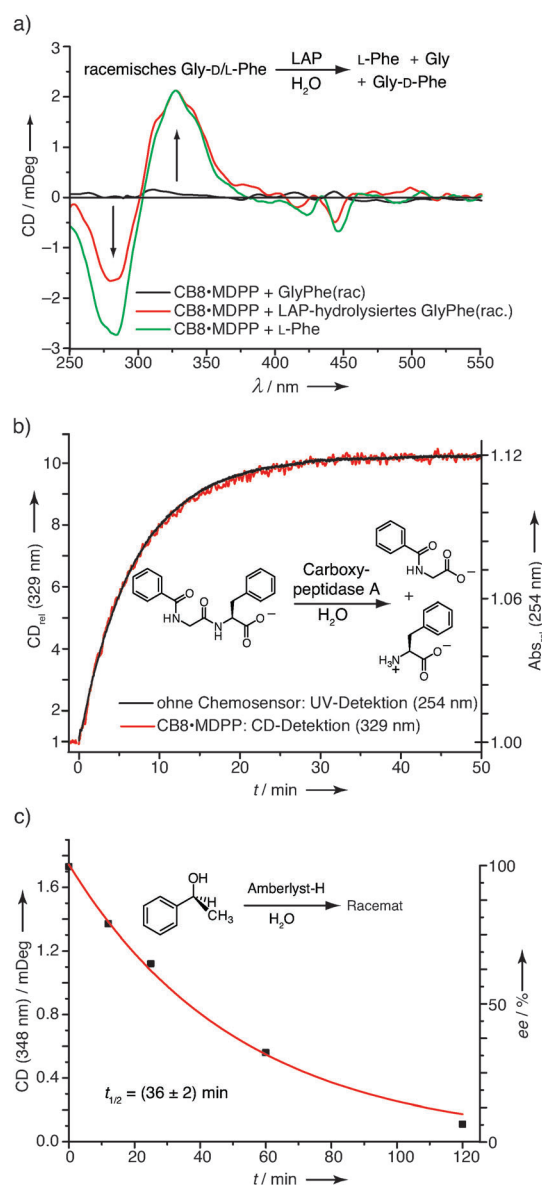


aber wegen seiner konformativen Flexibilität nur sehr schwache CD-Signale zeigt.<sup>[4,12a]</sup> Die Zugabe des CB8-Farbstoff-Paars generiert jedoch deutliche Cotton-Banden (Tabellen S1 und S2 (SI)). Ähnliches wurde für Penicillin-G und Ampicillin beobachtet (Abbildung S4 (SI)). Die Methode kann logischerweise zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses von Wirkstoffen, einer sehr wichtigen praktischen Anwendung,<sup>[2a,18]</sup> erweitert werden, weil 1) racemische Gemische keine ICD-Effekte ergeben (Abbildung 5a) und 2) beide Enantiomere zwar die gleiche Affinität für den achiralen Chemosensor haben, aber gespiegelte ICD-Spektren zeigen (Abbildung S3 (SI)).

Wir untersuchten die ICD-Chiralitätsdetektion auch für Insulin. Dieses Protein hat an seiner B-Kette einen sterisch zugänglichen, N-terminalen Phe-Rest;<sup>[7c]</sup> die sechs internen Phe- oder Tyr-Reste liegen im Inneren verborgen. Zugabe des CB8-MDPP-Rezeptors zu Insulin (50  $\mu\text{M}$ ) erzeugte eine markante ICD-Bande bei 335 nm (Abbildung 4c und Tabelle S1 (SI)); anschließendes Versetzen mit Memantin zerstörte den Komplex wieder, und die ICD-Bande verschwand, sodass eine unspezifische Bindung des Farbstoffs an das Protein ausgeschlossen werden kann (Abbildung 4c). Rinderserumalbumin (BSA) und Lysozym fungierten als Negativkontrollen: Deren aromatische Aminosäuren, und die der meisten anderen Proteine, sind im hydrophoben Proteininneren abgeschirmt, und in der Tat wurden hierfür keine ICD-Effekte beobachtet.

Wegen des für viele chirale Analyten beobachtbaren, starken ICD-Effekts war es uns möglich, eine neuartige, empfindliche Echtzeitmethode zur markierungsfreien Verfolgung von chemischen Reaktionen, z. B. der enzymatischen Umsetzung chiraler Metaboliten, zu entwickeln. Dies wird dadurch möglich, dass die nichtkovalente Bindung des Analyten an den supramolekularen Chemosensor reversibel ist und einen schnellen Austausch zeigt,<sup>[5]</sup> wodurch sich unser Ansatz von komplementären chiroptischen Methoden unterscheidet, die auf der Bildung kovalenter Addukte basieren.<sup>[2]</sup> Die dynamische Gleichgewichtseinstellung zwischen dem Analyten und Reporterpaar ermöglicht es zudem, dass nichtstöchiometrische Mengen des Wirtes und sogar ein Überschuss an Farbstoff verwendet werden können. Wir liefern hier die experimentellen Nachweise für diesen neuen Ansatz.

- 1) Die von  $\beta$ -Galactosidase katalysierte Hydrolyse von Phenyl- $\beta$ -D-galactose war leicht verfolgbar. Dessen Spaltung in Phenol und Galactose führte zur erwarteten Abnahme des ICD-Signals (Abbildung S7 (SI)), weil der sich bildende Chemosensor-Phenol-Komplex achiral ist.
- 2) Die kompakte Struktur von BSA (siehe oben) wird durch Zugabe der Protease Pepsin zerstört, und die aromatischen Aminosäuren werden für den Chemosensor zugänglich. Diese strukturelle und chemische Umwandlung kann im Beisein des Reporterpaares kontinuierlich durch die auftretenden ICD-Effekte verfolgt werden (Abbildung S8 (SI)).
- 3) Da die ICD-Muster der Peptide sequenzspezifisch sind, kann man darauf neuartige, markierungsfreie Enzymassays aufbauen, z. B. für Exopeptidasen wie Carboxypeptidase A.<sup>[19]</sup> Dieses Enzym spaltet bevorzugt C-terminale



**Abbildung 5.** Beispiele für Reaktionsverfolgung. a) CD-Spektren von CB8-MDPP (20  $\mu\text{M}$ ) in Gegenwart von racemischem Gly-D/L-Phe vor und nach dessen enzymatischer Hydrolyse mit Leucinaminopeptidase (LAP), pH 7.8. b) Kinetiken für die Hydrolyse von Hippuryl-Phe (160  $\mu\text{M}$ ) mit Carboxypeptidase A, pH 7.8. Der Reaktionsfortschritt wurde mit CD (329 nm) in Gegenwart von CB8-MDPP (20  $\mu\text{M}$ , rote Linie) und als Kontrolle direkt mit UV/Vis-Spektroskopie (254 nm, schwarze Linie) verfolgt. c) Racemisierung von (S)-1-Phenylethanol (0.08 M in  $\text{H}_2\text{O}$ ) mit Amberlyst-H bei 65  $^{\circ}\text{C}$ , gemessen durch Zugabe von Teilproben der Reaktionsmischung (10  $\mu\text{L}$ , 400  $\mu\text{M}$  Endkonzentration) zu einer CB8-MVE-Lösung (beide 40  $\mu\text{M}$ ).

Phe-Reste, wie durch die Verdauung des Modells substrats Hippuryl-Phe mithilfe des ICD-Assays direkt beobachtet werden konnte (Abbildung 5b).

- 4) Auch Leucinaminopeptidase (LAP) wurde für die Enzymverdauung eingesetzt, z. B. von AlaPhe zu Ala und Phe (Abbildung S9 (SI)) oder von GlyTrpGly. Die Enzymverdauung von GlyTrpGly wurde sowohl durch die ICD-Banden in der Nah-UV- als auch in der sichtbaren Region verfolgt (Abbildung S10 (SI)).

5) Chirogenese kann ebenfalls gut verfolgt werden, denn jede enantiospezifische Umsetzung eines racemischen Substrats in Gegenwart des achiralen chromophoren Rezeptors sollte zu messbaren ICD-Effekten führen. Die enzymatische Verdauung von racemischem Gly-D/L-Phe mit LAP lieferte in der Tat den dichroitischen Fingerabdruck von L-Phe, weil nur das Gly-L-Phe-Dipeptid hydrolysiert wurde (Abbildungen 5a und S11 (SI)).

Von großer praktischer Relevanz ist der Umstand, dass die ICD-Methode die Verfolgung von enzymatischen Reaktionen im Nah-UV-Bereich ( $>310$  nm) ermöglicht und somit biologische Matrixeffekte, z. B. durch absorbierende und/oder CD-aktive Verunreinigungen oder Additive verringert werden. Letztere können mit alternativen optischen Assays in der Region der harten UV-Strahlung – die im Übrigen auch von uns eingesetzt wurden, um die mit der ICD-Methode ermittelten Kinetiken zu verifizieren – nicht vermieden werden (Abbildungen 5b und S8 (SI)). Die Übereinstimmung beider Assays lieferte eine weitere Bestätigung, dass die Additive (CB8 und Farbstoff) keinen starken Einfluss auf die enzymatische Aktivität hatten.

Vor Kurzem haben wir supramolekulare Tandem-Assays als zeitaufgelöste Varianten von Indikatorverdrängungsassays eingeführt.<sup>[7a,20]</sup> Damit konnten wir bisher aber weder eine Racemisierung noch eine Umwandlung zweier Enantiomere ineinander beobachten, weil dies das schwierige Design eines chiralen Rezeptors vorausgesetzt hätte.<sup>[7a,20]</sup> Die ICD-Methode mit einem achiralen Wirt-Farbstoff-Paar ermöglicht es uns nun, Racemisierungen mit Leichtigkeit zu verfolgen, hier gezeigt für eine heterogene Katalyse (Abbildung 5c). Unsere Wahl fiel auf eine Amberlyst-katalysierte Reaktion wegen deren industrieller Relevanz für die Isomerisierung von pharmazeutischen Grundstoffen.<sup>[21]</sup> Anstatt die Racemisierung von (S)-1-Phenylethanol direkt in der Reaktionsmischung zu messen, bevorzugten wir es hier, Testproben aus der Reaktionsmischung zu entnehmen und diese zu einer Küvette mit unserem Chiralitätssensorik-Ensemble, hier CB8-MVE, zu geben. Die Abnahme des ICD-Signals bei 348 nm kann in diesem Fall direkt mit der Racemisierungsgeschwindigkeit korreliert werden, was wiederum eine empfindlichere Detektion als die Verwendung von direkten chir-optischen Substrateigenschaften ermöglicht. Dieses abschließende Beispiel zeigt auch, dass die ICD-Methode nicht auf enzymatische Reaktionen beschränkt ist.

Zusammenfassend haben wir eine vielseitige Methode auf Grundlage selbstorganisierter, achiraler Wirt-Farbstoff-Paare vorgestellt, welche die Detektion von chiralen wasserlöslichen Analyten bei niedriger Konzentration durch ICD-Effekte im bevorzugten Nah-UV- und sichtbaren Bereich ermöglichen. Die Methode kann auf viele strukturverwandte Analyten angewendet werden, in unserem Fall auf solche mit einem sterisch zugänglichen aromatischen Erkennungsmotiv. Außer der einfachen Analytdetektion vieler Biomoleküle und synthetischer Wirkstoffe kann die supramolekulare Methode zur Chiralitätsdetektion auch bei der Sequenzerkennung von Peptiden und der Reaktionsverfolgung von enzymatischen und katalytischen Reaktionen Einsatz finden. Da Chiralität und Affinität von Reaktanten und Produkten die einzigen

Voraussetzungen für die Anwendbarkeit der Methode sind, ergeben sich vielfältige Einsatzmöglichkeiten, z. B. zur Detektion im Durchfluss mit immobilisierten Chemosensoren. Mehrere achirale wasserlösliche Wirte, z. B. Makrocyclen mit kovalent angebundenen Chromophoren, sind bekannt,<sup>[3b,7d,22]</sup> die ein untersuchenswertes Potenzial in der Chiralitätssensorik haben.

Eingegangen am 22. Januar 2014

Online veröffentlicht am 9. April 2014

**Stichwörter:** Circular dichroismus · Cucurbiturile · Farbstoffe / Pigmente · Makrocyclen · Sequenzerkennung · Supramolekulare Chemie

- [1] a) V. M. Mirsky, A. Yatsimirsky, *Artificial Receptors for Chemical Sensors*, Wiley-VCH, Weinheim, **2011**; b) L. Pu, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1687–1716; c) Y. Kubo, S. Maeda, S. Tokita, M. Kubo, *Nature* **1996**, *382*, 522–524; d) W. H. Huang, P. Y. Zavalij, L. Isaacs, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 7569–7571; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7425–7427; e) D. Leung, J. F. Folmer-Andersen, V. M. Lynch, E. V. Anslyn, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12318–12327; f) A. Galan, D. Andreu, A. M. Echavarren, P. Prados, J. De Mendoza, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1511–1512; g) R. M. Meudtner, S. Hecht, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 5004–5008; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4926–4930.
- [2] a) C. Wolf, K. W. Bentley, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 5408–5424; b) G. A. Hembury, V. V. Borovkov, Y. Inoue, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 1–73; c) L. You, J. S. Berman, E. V. Anslyn, *Nat. Chem.* **2011**, *3*, 943–948; d) K. W. Bentley, Y. G. Nam, J. M. Murphy, C. Wolf, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 18052–18055; e) F. A. Scaramuzzo, G. Licini, C. Zonta, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 16809–16813.
- [3] a) M. Inouye, M. Waki, H. Abe, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2022–2027; b) Y. Kikuchi, K. Kobayashi, Y. Aoyama, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1351–1358; c) T. Morozumi, S. Shinkai, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 1219–1220.
- [4] B. Mayer, X. Zhang, W. M. Nau, G. Marconi, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5240–5248.
- [5] Die Wirt-Gast-Komplexierung verläuft sehr schnell (ns–ms) relativ zu den meisten chemischen und enzymatischen Reaktionen: W. M. Nau, G. Ghale, A. Hennig, H. Bakirci, D. M. Bailey, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 11558–11570 und Lit. [7a]. Die Geschwindigkeitskonstante der Wirt-Farbstoff-Analyt-Komplexierung war ebenfalls sehr hoch, zu schnell für die Messung mit Stopped-Flow-Verfahren (diese Arbeit).
- [6] a) E. Masson, X. X. Ling, R. Joseph, L. Kyremeh-Mensah, X. Y. Lu, *R. Soc. Chem. Adv.* **2012**, *2*, 1213–1247; b) J. Kim, I. S. Jung, S. Y. Kim, E. Lee, J. K. Kang, S. Sakamoto, K. Yamaguchi, K. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 540–541; c) H.-J. Kim, J. Heo, W. S. Jeon, E. Lee, J. Kim, S. Sakamoto, K. Yamaguchi, K. Kim, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 1574–1577; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1526–1529; d) F. Biedermann, M. Vendruscolo, O. A. Scherman, A. De Simone, W. M. Nau, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 14879–14888; e) X.-J. Cheng, L.-L. Liang, K. Chen, N.-N. Ji, X. Xiao, J.-X. Zhang, Y.-Q. Zhang, S.-F. Xue, Q.-J. Zhu, X.-L. Ni, Z. Tao, *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 7393–7396; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 7252–7255.
- [7] a) A. Hennig, H. Bakirci, W. M. Nau, *Nat. Methods* **2007**, *4*, 629–632; b) G. Ghale, V. Ramalingam, A. R. Urbach, W. M. Nau, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 7528–7535; c) J. M. Chinai, A. B. Taylor, L. M. Ryno, N. D. Hargreaves, C. A. Morris, P. J. Hart, A. R. Urbach, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 8810–8813; d) T.

- Minami, N. A. Esipenko, A. Akdeniz, B. Zhang, L. Isaacs, P. Anzenbacher, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 15238–15243.
- [8] S. Kaser, F. Biedermann, J. J. Baumberg, O. A. Scherman, S. Mahajan, *Nano Lett.* **2012**, *12*, 5924–5928.
- [9] V. Sindelar, M. A. Cejas, F. M. Raymo, W. Chen, S. E. Parker, A. E. Kaifer, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 7054–7059.
- [10] a) O. A. Ali, E. M. Olson, A. R. Urbach, *Supramol. Chem.* **2013**, *1*–7; b) S. Sonzini, S. T. J. Ryan, O. A. Scherman, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 8779–8781.
- [11] CD-Signale von chiralen CB8-Komplexen wurden in mindestens zwei Studien zur Verifikation der ternären Komplexbildung benutzt: Für Donor-Akzeptor-Dyaden (T. Mori, Y. H. Ko, K. Kim, Y. Inoue, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3232–3247) und für Anthracen-Cyclodextrin-Konjugate (C. Yang, C. F. Ke, W. T. Liang, G. Fukuhara, T. Mori, Y. Liu, Y. Inoue, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 13786–13789).
- [12] a) G. Pescitelli, L. Di Bari, N. Berova, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 4603–4625; b) B. Ranjbar, P. Gill, *Chem. Biol. Drug Des.* **2009**, *74*, 101–120.
- [13] F. Biedermann, O. A. Scherman, *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 2842–2849.
- [14] L. Cao, M. Šekutor, P. Y. Zavalij, K. Mlinarić-Majerski, R. Glaser, L. Isaacs, *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 1006–1011; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 988–993.
- [15] a) S. Stewart, M. A. Ivy, E. V. Anslyn, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 70–84; b) L. You, G. Pescitelli, E. V. Anslyn, L. Di Bari, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 7117–7125.
- [16] Keines der Peptide oder deren Komplexe konnte UV/Vis-spektroskopisch unterschieden werden (Abbildung S6 (SI)). Außerdem waren die intrinsischen CD-Banden der Peptide sehr schwach, wenig charakteristisch und lagen mit  $\lambda < 280$  nm im ungünstigen Bereich der harten UV-Strahlung.
- [17] G. R. Bickerton, G. V. Paolini, J. Besnard, S. Muresan, A. L. Hopkins, *Nat. Chem.* **2012**, *4*, 90–98.
- [18] D. M. Bailey, A. Hennig, V. D. Uzunova, W. M. Nau, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 6069–6077.
- [19] A. Hennig, D. Roth, T. Enderle, W. M. Nau, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 733–737.
- [20] R. N. Dsouza, A. Hennig, W. M. Nau, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 3444–3459.
- [21] D. W. House, Vol. 5476964 A, US Patent, USA, **1994**.
- [22] A. Ueno, T. Kuwabara, A. Nakamura, F. Toda, *Nature* **1992**, *356*, 136–137.