

- und der H···O-Abstand betragen 3.39 sowie 3.12 bzw. 2.43 sowie 2.40 Å, und der C–H···O-Winkel beträgt 174 sowie 132°. Die diametral gegenüberliegenden Schwefelatome neben den „*trans*“-substituierten Kohlenstoffatomen sind etwa 3.6 Å von den Flächenmittelpunkten der ihnen benachbarten *p*-Xylylenringe entfernt.
- [21] Liegt eine 1,5-Dioxynaphthalin-Einheit „innerhalb“ des tetrakationischen Cyclophans, befinden sich die Signale der Protonen H-4,8 (M. Asakawa, P. R. Ashton, S. E. Boyd, C. L. Brown, R. E. Gillard, O. Kocian, F. M. Raymo, J. F. Stoddart, M. S. Tolley, A. J. P. White, D. J. Williams, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 26–37) bei sehr hohem Feld ( $\delta = 2.1\text{--}2.6$ ). Diese Protonen des Naphthalinrings im [2]Catenan geben ein verdecktes Signal (identifiziert über ein COSY-Experiment) bei  $\delta = 7.60\text{--}7.70$ , das ein eindeutiger Beweis dafür ist, daß die 1,5-Dioxynaphthalin-Einheit des Makrocyclus nicht „innerhalb“ des tetrakationischen Cyclophans liegt. Durch 2D-ROESY-Experimente (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN, 31 °C, 200 ms Mischungszeit) wurde bestätigt, daß das tetrakationische Cyclophan die TTF-Einheit umschließt: Es werden Kreuzsignale zwischen den an den TTF-Kern gebundenen OCH<sub>2</sub>-Protonen und den  $\alpha$ -Bipyridinium- sowie den *p*-Xylylprotonen des tetrakationischen Cyclophans beobachtet. Kreuzsignale, die beweisen würden, daß ein Teil der 1,5-Dioxynaphthalin-Einheit innerhalb des Cyclophans liegt, traten nicht auf!
- [22] Das Reduktionspotential von *o*-Chloranil (+0.83 V; L. Horner, E. Geyer, *Chem. Ber.* **1965**, *98*, 2016–2045) läßt erwarten, daß die dikationische TTF-Spezies **5<sup>4+</sup>** entsteht. Das in MeCN aufgenommene UV/Vis-Spektrum (Konzentration  $9 \times 10^{-5}$  M) zeigt keine Absorption bei  $\lambda_{\max} = 600$  nm, die für **5<sup>5+</sup>** charakteristisch wäre. Die andere typische Bande für die monooxidierte TTF-Spezies bei  $\lambda_{\max} = 450$  nm wird von der intensiveren Bande des *o*-Chloranils ( $\lambda_{\max} = 435$  nm) verdeckt. Einen weiteren klaren Beweis für das Vorliegen der zweifach oxidierten TTF-Einheit liefert die Massenspektrometrie. Bei Experimenten mit Elektrospray-Ionisation (VG-ProSpec-Massenspektrometer) in MeCN als Lösungsmittel sind bei einer 3:1-Mischung aus **5<sup>4+</sup>** und *o*-Chloranil die Ionen mit *m/z* 775 und 468 am häufigsten. Sie entsprechen dem Verlust von zwei bzw. drei PF<sub>6</sub><sup>−</sup>-Gegenionen. Bei Beobachtung der Isotopenhäufigkeiten bei diesen Teilchen ergibt sich für das Ion mit *m/z* 775 (Verlust zweier Gegenionen) eine Trennung von 0.5 u zwischen den Isotopen, d.h. dieses Ion ist zweifach geladen. Das Ion mit *m/z* 468 ist dreifach geladen (Isotopentrennung 0.3 u). Im Spektrum einer frisch gemischten Probe von *o*-Chloranil und **5<sup>4+</sup>** im Verhältnis 2:1 ist ein Ion mit *m/z* 898 am häufigsten. Dieses Signal resultiert aus dem Einbau eines von *o*-Chloranil abgeleiteten Gegenions in das [2]Catenan. Auch dieses Teilchen erwies sich bei der Untersuchung der Isotopenhäufigkeiten als zweifach geladen. Außerdem tauchen im Spektrum Signale mit *m/z* 775 und 468 auf. In einem nach einwöchigem Stehen der Probe aufgenommenen Spektrum sind dies die intensivsten Signale. Die Isotopenabstände beweisen, daß diese Ionen zweifach (*m/z* 775) bzw. dreifach (*m/z* 468) geladen sind. In keinem der aufgenommenen Spektren finden sich Hinweise auf Monokationen. Wie im Hinblick auf das zweite Reduktionspotential des Kronenethers **3** erwartet, entsteht bei der Oxidation mit *o*-Chloranil bevorzugt **5<sup>6+</sup>**. Wir danken einem der Gutachter für die Aufforderung, auf den Oxidationszustand der TTF-Einheit näher einzugehen.
- [23] S. Hüning, G. Kiesslich, H. Quast, D. Scheutzow, *Liebigs Ann. Chem.* **1973**, 310–323.
- [24] G. Schukat, E. Fanghänel, *J. Prakt. Chem.* **1985**, 327, 767–774.
- [25] Die elektrochemischen Experimente wurden in Argon-gespülten MeCN-Lösungen mit einem PC-gesteuerten Princeton-Applied-Research-273-Vielzweckgerät durchgeführt; es kamen cyclovoltammetrische und Differential-Puls-voltammetrische Techniken zum Einsatz. Einzelheiten zu diesen Meßmethoden wurden in Lit.<sup>[5e]</sup> beschrieben.
- [26] Eine detaillierte Untersuchung des interessanten elektrochemischen Verhaltens von **3** wird an anderer Stelle veröffentlicht werden.
- [27] Die alternative Erklärung, daß der Elektrodenprozeß infolge des gehinderten Zugangs zur innerhalb des Catenans liegenden TTF-Einheit nicht reversibel ist, kann angesichts des bei allen bisher untersuchten Catenanen und Rotaxanen beobachteten Verhaltens ausgeschlossen werden. Siehe hierzu beispielsweise: a) Lit.<sup>[5b]</sup>; b) P. R. Ashton, R. Ballardini, V. Balzani, M. Belohradsky, M. T. Gandolfi, D. Philp, L. Prodi, F. M. Raymo, M. V. Reddington, N. Spencer, J. F. Stoddart, M. Venturi, D. J. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4931–4951.
- [28] Bei einem Catenan aus dem Cyclobis(paraquat-*p*-phenylen)-Tetrakation und einem Kronenether (1/5DN38C10) mit zwei 1,5-Dioxynaphthalin-Einheiten findet die Oxidation der 1,5-Dioxynaphthalin-Einheit in „längsseitiger“ Position bei +1.30 und die Oxidation der „innerhalb“ des Makrocyclus gelegenen Einheit bei +1.55 V vs. SCE statt.
- [29] Streng genommen sind **5<sup>4+</sup>** und **5<sup>5+(5<sup>6+</sup>)</sup>** mit ihren unterschiedlichen Oxidationszuständen keine Isomere; deshalb haben wir den Begriff Isomer(e) in unserer Diskussion dieser beiden Catenan-Teilchen in Anführungszeichen gesetzt.

## Chemische Synthese einer cyclischen Protein-domäne: Hinweise auf eine durch die Faltung unterstützte Cyclisierung\*\*

Julio A. Camarero, Joanna Pavel und Tom W. Muir\*

Die Verknüpfung von Peptidfragmenten auf konventionellem chemischem Weg bietet einen einzigartigen Zugang zu Proteinen natürlicher<sup>[1]</sup> und nicht natürlicher Topologie.<sup>[2]</sup> In Hinblick auf Protein-Engineering und Proteinfaltung ist die cyclische Topologie besonders faszinierend.<sup>[3]</sup> Zwar ist die Kopf-Schwanz-Cyclisierung gängig, um bei kleinen Peptiden Strukturen zu erzwingen,<sup>[4]</sup> doch weiß man nur wenig über die Auswirkungen dieser Modifizierung auf die Strukturen und Funktionen von Proteinen. Der Großteil unseres Wissens darüber beruht auf Pionierarbeiten von Creighton et al. über eine cyclische Variante des Rinderpankreas-Trypsin-Inhibitors (BPTI), die durch willkürliche chemische Quervernetzung hergestellt wurde.<sup>[5]</sup> Hier zeigen wir, daß eine Rückgrat-cyclisierte Proteindomäne spontan eine Faltung annehmen kann, die der natürlichen ähnlich ist. Hergestellt wurde die Proteindomäne durch eine intramolekulare Variante<sup>[5]</sup> der chemischen Verknüpfung unter natürlichen Bedingungen nach Kent.<sup>[6]</sup> Ferner zeigen wir, daß die Cyclisierungsgeschwindigkeit vom Faltungszustand abhängt.

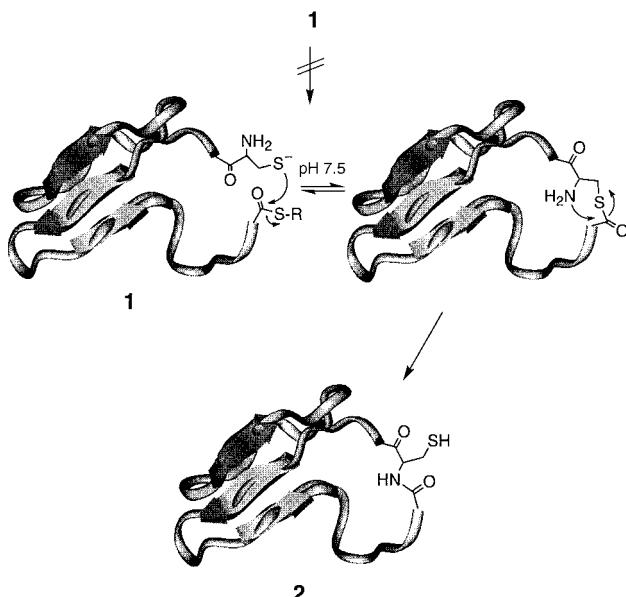
In unseren ersten Untersuchungen zur Cyclisierung von Proteinen beschäftigten wir uns mit der WW-Domäne des menschlichen Yes-Kinase-assoziierten Proteins (YAP).<sup>[7]</sup> Bedingt durch die globuläre Struktur dieser Proteindomäne, die sich aus einem dreisträngigen, antiparallelen  $\beta$ -Faltblatt zusammensetzt, befinden sich die flexiblen N- und C-Termini in unmittelbarer Nähe zueinander.<sup>[8]</sup> Unter der Vorausset-

[\*] Dr. T. W. Muir, Dr. J. A. Camarero, J. Pavel  
The Laboratory of Synthetic Protein Chemistry  
The Rockefeller University  
Box 223, 1230 York Avenue, New York, NY 10021 (USA)  
Telefax: Int. +212/327-7358  
E-mail: muirt@rockvax.rockefeller.edu

[\*\*] Diese Arbeit wurde unter der Schirmherrschaft der Rockefeller University durchgeführt. JAC erhielt ein Postdoktoranden-Stipendium des spanischen Ministeriums für Erziehung und Wissenschaften. TWM dankt für die Unterstützung durch die National Institutes of Health (GM55843-01). Wir danken Dr. Sean Cahill für seine Hilfe bei den NMR-Experimenten und Dr. Hartmut Oschkinat für die fruchtbaren Diskussionen und für die Zuordnungen der NMR-Signale des YAP-WW-Domänen-Liganden-Komplexes.

zung, daß die Verknüpfung in Gegenwart eines Denaturierungsmittels möglich ist,<sup>[6]</sup> wurde erwartet, daß man schnell Erkenntnisse über die Auswirkungen der räumlichen Nähe der Enden auf die Reaktionsgeschwindigkeit erlangen könnte.

In Schema 1 ist die Strategie für die Synthese der cyclischen WW-Domäne dargestellt. Der Schlüsselschritt war die Herstellung einer linearen Polypeptidvorstufe **1**, die



Schema 1. Synthese der cyclischen WW-Proteindomäne **2**.

beide für die chemische Verknüpfung unter natürlichen Bedingungen erforderlichen Gruppen enthält: einen N-terminalen Cystein-Rest und eine C-terminale Thioestergruppe ( $R = 3\text{-COO}^- \cdot 4\text{-NO}_2\text{-C}_6\text{H}_3$ ).<sup>[9]</sup> Die Cyclisierung des vollständig ungeschützten Peptids **1** zur cyclischen WW-Domäne **2** verläuft erstaunlich glatt und extrem schnell (Abb. 1). Das Verknüpfungsprodukt wurde durch Electrospray-Massenpektrometrie (ES-MS), Trypsin-Spaltung und Edman-Abbau als **2** identifiziert.<sup>[10]</sup>

Die YAP-WW-Domäne bindet an prolinreiche Peptide, die die Consensus-Sequenz PP<sub>x</sub>Y enthalten.<sup>[11]</sup> Die Bindung wurde durch einen Fluoreszenz-Assay untersucht, um Auswirkungen der Cyclisierung auf die Funktion der YAP-WW-Domäne zu ermitteln (Abb. 2a): Die Cyclisierung der WW-Domäne hat keinen nachteiligen Einfluß auf die Bindungsaktivität, wie anhand der natürlichen Struktur des Proteins vorhergesagt wurde. Das cyclische Protein hat sogar eine etwas höhere Affinität zum Liganden als sein lineares Pendant (Dissoziationskonstanten  $K_{d(\text{cyclisch})} = 35$  und  $K_{d(\text{linear})} = 50 \mu\text{M}$ ).<sup>[12]</sup> Unabhängig davon, ob das Protein in Gegenwart oder in Abwesenheit von 6 M Guanidiniumchlorid (GdmCl) hergestellt wurde, war die Affinität zum Liganden interessanterweise gleich. Dies deutet darauf hin, daß die Faltung nicht durch die cyclische Topologie gehemmt wird.

Die Strukturen der cyclischen und linearen, an den Liganden gebundenen YAP-WW-Domänen in Lösung wurden durch 2D-NMR-Spektroskopie bestimmt. Die Abweichungen der chemischen Verschiebungen der Hauptketten-

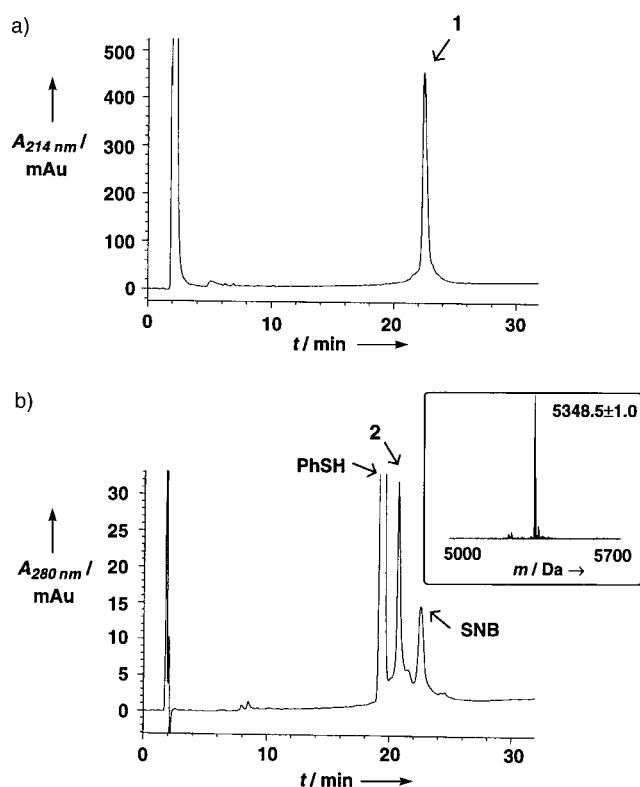


Abb. 1. a) HPL-Chromatogramm der gereinigten Vorstufe **1**. b) Rohprodukt der Verknüpfung nach 2 min Reaktionszeit; Skala mit willkürlichen Einheiten (Au) wie bei (a). SNB steht für das Nebenprodukt 5-Sulfanyl-2-nitrobenzoësäure, das bei der Cyclisierung freigesetzt wird. Einschub: ES-MS des gereinigten **2**.

protonen im Kernbereich der  $\beta$ -Faltblatt-Struktur der linearen<sup>[13]</sup> und der cyclischen Domänen betragen durchweg weniger als 0.05 ppm. Dies zeigt, daß beiden Molekülvarianten dieselbe Faltungstyp zugrunde liegt (Abb. 2b). Die NMR-Proben wurden einfach durch Lösen der durch HPLC gereinigten Proteine in einem den Liganden enthaltenden Phosphatpuffer angesetzt. Geht man davon aus, daß die HPLC-Reinigung denaturierend wirkt, ist dies wiederum ein Hinweis darauf, daß das cyclische Protein wie sein lineares Pendant spontan in Gegenwart des Liganden falten kann.

Um einen Einfluß der Faltung der WW-Domäne auf die Cyclisierungsgeschwindigkeit festzustellen, wurde die Reaktion mit und ohne Zusatz eines chemischen Denaturierungsmittels durchgeführt. Dabei stellte sich heraus, daß sich der Zusatz von 6 M GdmCl zur Pufferlösung deutlich auf die Cyclisierungsgeschwindigkeit auswirkt: Unter Faltungsbedingungen verließ die Reaktion ungefähr um eine Zehnerpotenz schneller als unter Entfaltungsbedingungen (Abb. 3). Interessanterweise wurde das lineare Polypeptid **1** glatt in das cyclische Produkt **2** umgewandelt, unabhängig davon, ob dem Puffer 6 M GdmCl zugesetzt worden waren. Die Geschwindigkeitszunahme beim Übergang von Entfaltungs- zu Faltungsbedingungen ist signifikant und läßt sich mit der räumlichen Nähe der N- und C-Termini in der natürlichen Konformation des Proteins erklären. Die lokale Konzentration der funktionellen Gruppen ist vermutlich unter Faltungsbedingungen höher als unter Entfaltungsbedingungen, was eine raschere Reaktion zur Folge hat.<sup>[14]</sup> Folglich wird die Cyclisierungs-

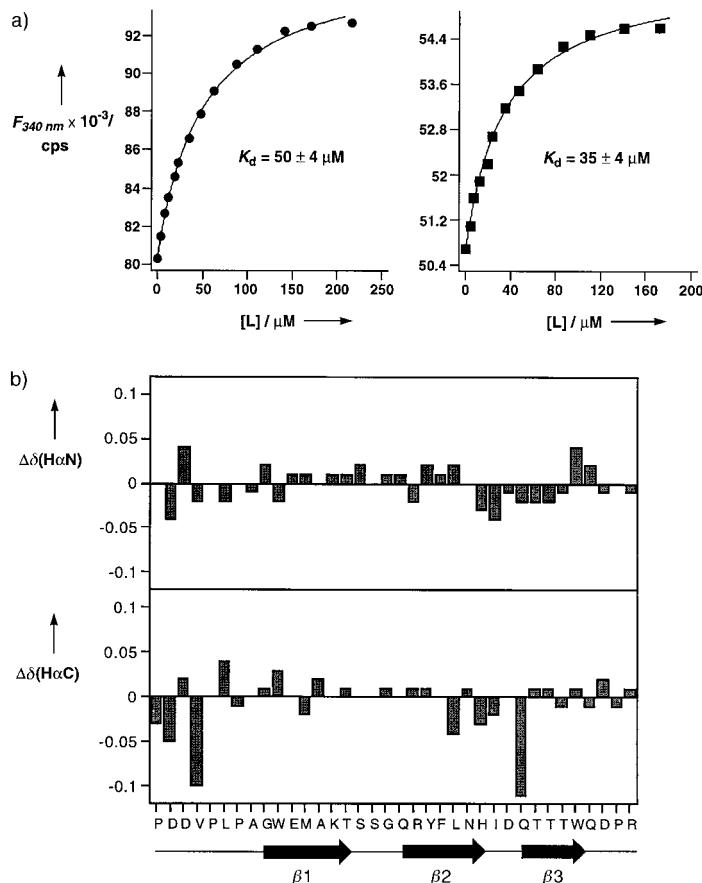


Abb. 2. a) Bindung der linearen (●) und cyclischen (■) Formen der WW-Domäne an den prolinreichen Liganden Ac-GTPPPPYTVG-NH<sub>2</sub> (L). cps = counts per scan. b) Übersicht über die Zuordnung der NMR-Signale der Hauptkettenprotonen:  $\Delta\delta(\text{H}\alpha\text{N})$  und  $\Delta\delta(\text{H}\alpha\text{C})$  sind die Abweichungen der gemessenen chemischen Verschiebungen der Rückgratprotonen der cyclischen WW-Domäne von denen der linearen WW-Domäne. Unten ist die Anordnung der Sekundärstrukturelemente gezeigt.<sup>[7]</sup>

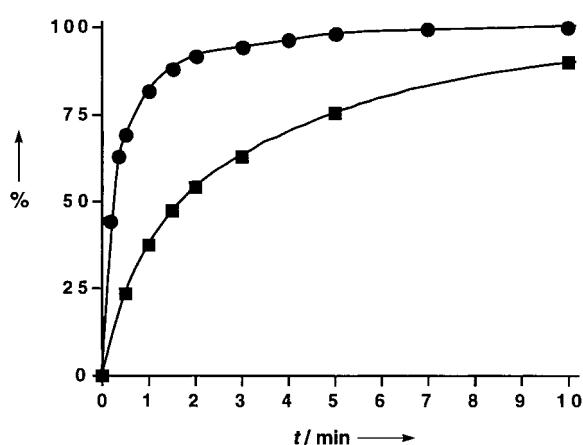


Abb. 3. Der Reaktionsverlauf der Cyclisierung unter Faltungs- (0 M GdmCl, ●) und Entfaltungsbedingungen (6 M GdmCl, ■).

reaktion durch die natürliche Konformation des Proteins unterstützt.

Wir haben somit eine cyclische Variante einer WW-Proteindomäne durch intramolekulare chemische Verknüpfung hergestellt. Von der Möglichkeit, Rückgrat-cyclisierte Poly-

peptide aus ungeschützten, linearen Vorstufen herzustellen, könnte in zukünftigen Arbeiten im Bereich des Protein-Engineerings profitiert werden. So lässt sich die Rückgrat-Cyclisierung allgemein zur Fixierung der Struktur kleiner Proteinsequenzen oder auch komplementär zu Disulfidbrücken einsetzen.<sup>[15]</sup> Gleichzeitig werden neue Möglichkeiten geschaffen, Sequenzpermutationen durch chemoselektive Cyclisierung und anschließende Spaltung der Hauptkette hervorzurufen. Schließlich lässt unsere Feststellung, daß die Kinetik der Protein-cyclisierung empfindlich auf Veränderungen der Proteinstruktur reagiert, eine potentielle Anwendung beim Studium der strukturellen Dynamik von Proteinen erwarten.

### Experimentelles

Alle Peptidsynthesen wurden nach einer Vorschrift für Boc-Festphasen-Peptidsynthesen mit In-situ-Neutralisation/HBTU-Aktivierung durchgeführt (HBTU = 1-Hydroxybenzotriazol-Tetramethyluroniumhexafluorophosphat).<sup>[16]</sup> Der Peptid-Thioester **1** wurde, wie kürzlich beschrieben,<sup>[5a]</sup> aus der entsprechenden Thiosäure (auf einem Glycin-Thioester-Träger<sup>[17]</sup> präpariert) mit 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoësäure) (DTNB, Ellman-Reagens) hergestellt und durch préparative HPLC gereinigt. ES-MS: beob.: 5546.3 (1.4) Da; ber. für C<sub>244</sub>H<sub>361</sub>N<sub>65</sub>O<sub>76</sub>S<sub>4</sub>: 5545.5 (Monoisotope), 5549.0 (mittlere Isotopenverteilung).

Cyclisierung: Gereinigtes **1** (0.4  $\mu\text{mol}$ , 2.2 mg) wurde bis zu einer Peptidkonzentration von  $\approx 50 \mu\text{M}$  in einem frisch entgasten 0.1 M Natriumphosphatpuffer mit 1 mM EDTA bei pH 7.5 in Gegenwart von jeweils 0.05 Volumen-% PhSH und BnSH gelöst. Bei Cyclisierungen unter Entfaltungsbedingungen wurden 6 M GdmCl zugesetzt. Um den Verlauf der Reaktion zu verfolgen, wurden regelmäßig kleine Proben (50  $\mu\text{L}$ ) entnommen, sofort mit 5 Proz. Trifluoressigsäure in Wasser (20  $\mu\text{L}$ ) versetzt und dann durch HPLC analysiert. Der Umsatz von **1** zu **2** wurde auf der Grundlage der Absorptionen bei 280 nm ermittelt. Die Gesamtausbeute der Cyclisierung nach HPLC-Reinigung betrug 1.8 mg (0.32  $\mu\text{mol}$ , 81%). Das cyclische Protein **2** wurde durch ES-MS und Trypsin-Spaltung charakterisiert. ES-MS: beob.: 5348.5 (1.0) Da; ber. für C<sub>237</sub>H<sub>356</sub>N<sub>64</sub>O<sub>72</sub>S<sub>3</sub>: 5346.5 (Monoisotope), 5350.0 (mittlere Isotopenverteilung).

Trypsin-Spaltung von **2**: 100  $\mu\text{g}$  **2** wurden in 0.1 M Tris(hydroxymethyl)aminomethan (Tris)-HCl-Puffer (pH 8.4, 200  $\mu\text{L}$ ) gelöst. Nach Zugabe von 10  $\mu\text{g}$  lyophilisierten Trypsins (Sigma) wurde der Ansatz 3 h bei 37 °C gehalten, anschließend wurde eine Dithiothreitol (DTT)-Lösung (50 mM, 20  $\mu\text{L}$ ) zugegeben. Die drei erwarteten Fragmente T1 (H-AMLSQGC-FEIPDDVPLPAGWEMAK-OH), T2 (H-TSSGQR-OH) und T3 (H-YFLNHIDQTTTWQDPR-OH) wurden durch HPLC isoliert und durch ES-MS und Edman-Abbau charakterisiert.

Die Isothermen für die Ligandenbindung wurden durch Detektion der intrinsischen Trp-Fluoreszenz bei 340 nm in Abhängigkeit von der Konzentration des Liganden bei 22 °C bestimmt. In allen Fällen wurde die Proteinkonzentration in einem Puffer, der 40 mM Natriumphosphat, 50 mM NaCl und 1 mM DTT bei pH 7.2 enthielt, bei 2  $\mu\text{M}$  gehalten. Die Dissoziationskonstanten  $K_d$  wurden aus den Meßdaten erhalten, wobei ein 1:1-Rezeptor-Ligand-Komplex angenommen wurde.<sup>[18]</sup>

2D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektren wurden mit einem Bruker-DPX-400-Spektrometer (400.132 MHz) aufgenommen. Die NMR-Proben wurden in einem Puffer gelöst, der 10 mM Natriumphosphat, 100 mM NaCl, 1 mM [D<sub>10</sub>]DTT, 0.02 % NaN<sub>3</sub> und 10 % D<sub>2</sub>O bei pH 6.2 enthielt. Bei 278 K wurde eine Reihe von TOCSY- und NOESY-Experimenten<sup>[19]</sup> von Proben durchgeführt, die sowohl die linearen als auch die cyclischen WW-Domänen mit dem Liganden enthielten (die Proteinkonzentrationen betrugen 0.6–1.2 mM, das Peptid-Protein-Verhältnis 3:1). Für TOCSY-Experimente lag die typische Mischzeit bei 30 ms, für NOESY-Experimente bei 50–250 ms.

Eingegangen am 30. Juni 1997 [Z 10614]

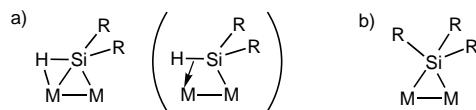
**Stichwörter:** Cyclisierungen • Festphasensynthesen • Peptide • Proteinstrukturen

- [1] a) T. W. Muir, *Structure* **1995**, *3*, 649–652; b) C. J. A. Wallace, *Curr. Opin. Biotech.* **1995**, *6*, 403–410.
- [2] a) P. E. Dawson, S. B. H. Kent, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7263–7266; b) A. Nefzi, X. Sun, M. Mutter, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 229–230; c) L. E. Canne, A. R. Ferre-D'Amare, S. K. Burley, S. B. H. Kent, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 2998–3007; d) J. Shao, J. Tam, *ibid.* **1995**, *117*, 3893–3899; e) K. J. Rose, *ibid.* **1994**, *116*, 30–33; f) T. W. Muir, M. J. Williams, M. H. Ginsberg, S. B. H. Kent, *Biochemistry* **1994**, *33*, 7701–7708.
- [3] a) D. P. Goldenberg, T. E. Creighton, *J. Mol. Biol.* **1984**, *179*, 527–545; b) D. P. J. Goldenberg, *J. Cell. Biochem.* **1985**, *29*, 321–335; c) D. P. Goldenburg, T. E. Creighton, *J. Mol. Biol.* **1983**, *165*, 407–413.
- [4] a) V. J. Hruby, *Life Science* **1982**, *31*, 189–199; b) H. Kessler, *Angew. Chem.* **1982**, *94*, 509–520; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 512–523; c) J. Rizo, L. M. Giersch, *Ann. Rev. Biochem.* **1992**, *61*, 387–418.
- [5] a) J. A. Camarero, T. W. Muir, *Chem. Commun.*, **1997**, 1369–1370; b) L. Zhang, J. P. Tam, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2363–2370.
- [6] WW-Domänen sind Proteinbausteine, die in einer Vielzahl von Signaltransduktions- und Zellskelett-Proteinen vorkommen. Übersichten: a) M. Sudol, *Prog. Biophys. Molec. Biol.* **1996**, *65*, 113–132; b) M. Sudol, H. I. Chen, C. Bougeret, A. Einbond, P. Bork, *FEBS Letters* **1995**, *369*, 67–71.
- [7] M. J. Macias, M. Hyvonen, E. Baraldi, J. Schultz, M. Sudol, M. Saraste, H. Oschkinat, *Nature* **1996**, *382*, 646–649.
- [8] P. E. Dawson, T. W. Muir, I. Clark-Lewis, S. B. H. Kent, *Science* **1994**, *266*, 776–779.
- [9] Um in der WW-Kernsequenz (Reste 165–209 des menschlichen YAP-Proteins) eine Verknüpfung unter natürlichen Bedingungen zu erleichtern, wurden Cys und Gly an den N- bzw. C-Terminus gebunden.
- [10] Das cyclische Protein **2** wurde mit Trypsin gespalten, und die Peptidfragmente, die die Verknüpfungsregion (AMLSQGC-FEIPDDVPLPAGWEMAK) enthielten, wurden durch Edman-Ausbau charakterisiert.
- [11] H. I. Chen, M. Sudol, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 7819–7823.
- [12] Die lineare WW-Domäne wurde durch Boc-Festphasen-Peptidsynthese auch chemisch synthetisiert und nach Standardverfahren gereinigt.
- [13] Reste, die direkt auf den N- bzw. C-Terminus folgten, konnten weder in den linearen noch in den cyclischen WW-Domänen eindeutig zugeordnet werden.
- [14] Für viele intramolekulare organische Reaktionen wurden hohe effektive Molaritäten beschrieben: F. M. Menger, *Acc. Chem. Res.* **1985**, *18*, 128–134.
- [15] B. Li, J. Y. K. Tom, D. Oare, R. Yen, W. J. Fairbrother, J. A. Wells, B. C. Cunningham, *Science* **1995**, *270*, 1657–1660.
- [16] M. Schnolzer, P. Alewood, A. Jones, D. Alewood, S. B. H. Kent, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1992**, *40*, 180–193.
- [17] D. Yamashiro, C. H. Li, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1988**, *31*, 322–334.
- [18] A. R. Viguera, J. L. Arrondo, A. Musacchio, M. Saraste, L. Serrano, *Biochemistry* **1994**, *33*, 10925–10933.
- [19] a) A. Bax, D. G. Davis, *J. Magn. Reson.* **1985**, *65*, 355–360; b) A. Kumar, R. R. Ernst, K. Wüthrich, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1980**, *95*, 1–6.

## Ein zweikerniger Rhodiumkomplex mit symmetrisch verbrückendem Triarylsilylligand: Synthese und Struktur von $[LRh(H)(\mu-Cl)(\mu-SiAr_2)(\mu-SiAr_3)Rh(H)L]$ ( $Ar = Ph, p-FC_6H_4$ ; $L = PiPr_3$ )<sup>\*\*</sup>

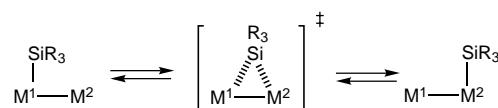
Kohtaro Osakada,\* Take-aki Koizumi und Takakazu Yamamoto\*

Seit einigen Jahren sind verbrückend koordinierende sekundäre Silylgruppen ( $SiHR_2$ ) in Zweikernkomplexen der späten Übergangsmetalle nichts Ungewöhnliches mehr.<sup>[1]</sup> Komplexe dieser Art haben neben einer  $\sigma$ -Einfachbindung zwischen dem Silicium- und einem Metallzentrum eine Zwei-Elektronen-drei-Zentren-Bindung ( $\pi$ -Bindung) zwischen dem Silicium-, dem Wasserstoff- und dem zweiten Metallzentrum (Schema 1 a).



Schema 1. Häufig (a) und selten vorkommende (b) Koordinationsart von sekundären bzw. tertiären Silylgruppen in zweikernigen Metallkomplexen.

Eine Folge dieser  $\mu-\eta^1,\eta^2$ -Koordination durch den Liganden sind zwei signifikant verschiedene M-Si-Bindungslängen. Metallkomplexe mit tertiären Silylgruppen als Brückenligand (Schema 1 b) scheinen weniger stabil zu sein, denn es fehlt die Si-H-Bindung, die bei primären und sekundären Silylgruppen die M-Si-M-Koordination über die Si-H-M-Zwei-Elektronen-drei-Zentren-Bindung stabilisiert, und es gibt nur wenige Verbindungen dieser Art. Mehrkernige Kupferkomplexe, deren Metallzentren durch äußerst sperrige  $Si(SiMe_3)_3$ -Liganden verbrückt werden, wurden erst vor kurzem hergestellt.<sup>[2]</sup> Zweikernige Metallkomplexe mit verbrückenden tertiären Silylgruppen sind als Modellverbindungen für Übergangszustände interessant, die beim Wandern tertärer Silylgruppen von einem zum andern Metallzentrum in zweikernigen Metallkomplexen auftreten (Schema 2).<sup>[3, 4]</sup> Die zu  $SiR_3^-$  isolobalen  $PR_3$ -Gruppen sind als Brückenliganden in Metallkomplexen bereits bekannt.<sup>[5]</sup> Wir berichten hier über



Schema 2. Wanderung einer tertiären Silylgruppe von einem zum anderen Metallzentrum in zweikernigen Metallkomplexen.

[\*] Prof. Dr. K. Osakada, T. Koizumi, Prof. Dr. T. Yamamoto  
Research Laboratory of Resources Utilization  
Tokyo Institute of Technology  
4259 Nagatsuta, Midori-ku, Yokohama 226 (Japan)  
Telefax: Int. +45/924-5276  
E-mail: kosakada@res.titech.ac.jp

[\*\*] Diese Arbeit wurde vom japanischen Ministerium für Bildung, Wissenschaft, Kultur und Sport gefördert (Grants-in-Aid for Scientific Research 02923921 und 09440229). T. K. dankt der Japan Society for Promotion of Science (JSPS) für ein Stipendium.