

$\omega/2\theta$, $\theta_{\max} = 74.33^\circ$, Zahl gemessener Reflexe = 10510, Zahl unabhängiger Reflexe = 10170, Zahl der Reflexe in der Verfeinerung = 6117, $I > 3.00\sigma(I)$, Parameterzahl = 660, $R = 0.0792$, $R_w = 0.0955$, Gewichtungsschema $\omega(1 - (\delta F/6\sigma F)^2)^2$, $\Delta\rho = 0.45/-1.10 \text{ e } \text{\AA}^{-3}$, $R = \Sigma(|F_o| - |F_c|)/\Sigma|F_o|$, $R_w = \{\Sigma(|F_o| - |F_c|)^2/\Sigma F_o^2\}^{1/2}$. Ein Kristall von **2** wurde mit Perfluoropolyether auf einen Glasfaden geklebt und auf dem Diffraktometer montiert. Die Elementarzellenparameter wurden durch Zentrieren von 21 unabhängigen, starken Reflexen mit $11^\circ \leq \theta \leq 20^\circ$ bestimmt. Die Messung wurde auf einem Enraf-Nonius-CAD4-Diffraktometer mit einem Graphitmonochromator durchgeführt. 10510 Reflexe mit $2.88^\circ \leq \theta \leq 74.33^\circ$ wurden gemessen. 3 Reflexe, im Intervall von 2 h aufgenommen, zeigten eine Intensitätsabnahme von 24.60 %. Die üblichen Korrekturen wurden angewendet; Absorptionskorrektur mit φ -Scans (minimale/maximale Transmission: 0.51/1.00). Die Struktur wurde mit Direkten Methoden (Programm SIR92) gelöst,^[12] anisotrope Verfeinerung (Methode der kleinsten Fehlerquadrate) mit dem Programm CRYSTALS für alle Nichtwasserstoffatome.^[13] Die Positionen der Wasserstoffatome wurden geometrisch bestimmt. Der fehlgeordnete tmeda-Ligand wurde mit geeigneten „Restraints“ verfeinert. Chebychevs polynomische Gewichtungen wurden verwendet, um die Verfeinerung abzuschließen.^[14] Die Streufaktoren sind den International Tables, Vol. IV, Tabelle 2.2B entnommen. Die kristallographischen Daten (ohne Strukturfaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Struktur wurden als „supplementary publication no. CCDC-102686“ beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB21EZ (Fax: (+44) 1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).

- [9] a) M. B. Hursthouse, M. A. Hossain, M. Motevalli, M. Sanganee, *J. Organomet. Chem.* **1990**, *381*, 293–297; b) F. Pauer, P. P. Power in *Lithium Chemistry* (Hrsg.: A. M. Sapsee, P. von R. Schleyer), Wiley, New York, **1995**, S. 295–392.
 [10] G. G. Eberhardt, W. A. Butte, *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 2928–2932.
 [11] D. B. Collum, *Acc. Chem. Res.* **1992**, *25*, 448–454.
 [12] A. Altomare, G. Cascarano, G. Giacovazzo, A. Guagliardi, M. C. Burla, G. Polidori, M. Camalli, *J. Appl. Crystallogr.* **1994**, *27*, 435–435.
 [13] D. J. Watkin, R. J. Carruthers, P. Betteridge, *Crystals*, Chemical Crystallography Laboratory, Oxford, **1985**.
 [14] J. R. Carruthers, D. J. Watkin, *Acta Crystallogr. Sect. A* **1979**, *35*, 698–699.

Identifizierung von Peptid-Zirconium-Komplexen, die die Phosphathydrolyse beschleunigen, durch „On-bead-screening“ einer kombinatorischen Undeca-peptid-Bibliothek**

Albrecht Berkessel* und David A. Héralut

Professor Bernt Krebs zum 60. Geburtstag gewidmet

Die Suche nach neuen niedermolekularen Katalysatoren ist ein faszinierendes Teilgebiet der modernen Organischen Chemie. Bei der Planung biomimetischer Katalysatoren kann die räumliche Anordnung funktioneller Gruppen in den

aktiven Zentren von Enzymen als Ausgangspunkt dienen.^[1, 2] Oftmals befindet sich im aktiven Zentrum ein Metallion. Der Erfolg beim Modellieren eines Metalloenzym – und bei der Konstruktion eines neuartigen Metallkomplex-Katalysators im allgemeinen – hängt stark von der Abstimmung zwischen Metall, Ligand und Substrat ab. Obwohl dies lange bekannt ist, hat die Parallelsynthese von Liganden und die Entwicklung schneller Screening-Methoden erst in den letzten Jahren Einzug in die Katalysatorforschung gehalten.^[3–6]

Wir beschreiben hier unseren Ansatz zur Auffindung künstlicher Hydrolaseaktivität, der aus folgenden Schritten bestand: a) Split-Mix-Synthese^[7] einer Ligandenbibliothek, bestehend aus 625 festphasengebundenen Undeca-peptiden, b) Komplexierung der Komponenten der Ligandenbibliothek mit Lewis-sauren Übergangsmetallionen, c) Screening der Bibliothek mit chromogenen Testsubstraten. Auf diese Weise konnten festphasengebundene Peptide identifiziert werden, die als Liganden die Hydrolyse von Phosphaten beschleunigen. Hierbei wurden die Sequenzen der aktivsten Peptide (und inaktiver Kontrollpeptide) durch Edman-Abbau bestimmt. Die Aktivität oder Inaktivität der festphasengebundenen Peptide konnte auch in homogener Lösung bestätigt werden.

Die allgemeine Struktur der Bibliothek ist in Abbildung 1 gezeigt. Zunächst wurde Fmoc-L-Phe mit PyBOP^[8] als Kupplungsreagens an TentaGel S-NH₂ gebunden (Fmoc = 9-Fluorenylmethoxycarbonyl). Nach Aufteilung in fünf Fraktionen wurde die zweite Aminosäure eingeführt. An der



Abbildung 1. Allgemeine Struktur der Undeca-peptid-Bibliothek. PEG = Polyethylenglykol.

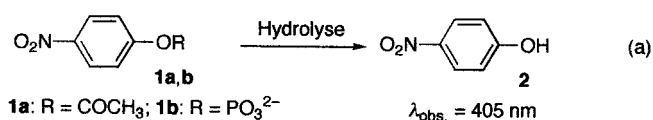
Position **X** befindet sich nach diesem Schritt L-Arg, L-His, L-Tyr, L-Trp oder L-Ser. Nach dem Zusammenfassen der Fraktionen wurde zweimal Gly angeknüpft. Sieben weitere Kupplungsschritte, darunter der dreifache „Split-mix“-Einbau von **X** und eine abschließende Entschützung, vervollständigten die Synthese. Insgesamt wurden so 625 festphasengebundene Undeca-peptide kombinatorisch aufgebaut, die an vier Positionen L-Arg, L-His, L-Tyr, L-Trp oder L-Ser enthalten. Diese vier Positionen sind durch drei Gly-Gly-Einheiten voneinander getrennt. Arginin wurde gewählt, da z. B. in der Staphylokokken-Nuclease^[9] oder in anderen Phosphorylgruppen übertragenden Enzymen^[10] die Aktivierung des anionischen Phosphatrests gegenüber dem nucleophilen Angriff von Wasser durch Ionenpaarbildung mit der kationischen Guanidinium-Einheit erfolgt. Auf dieser Basis wurde bereits eine ganze Reihe von Mono- und Bis-Guanidiniumrezeptoren entworfen, die als Enzymmodelle für die Hydrolyse von Phosphorsäureestern dienen.^[11, 12] Der Imidazolrest des Histidins fungiert in vielen Metalloenzymen als Ligand, ebenso wie Tyrosin.^[12, 13] Vom elektronenreichen Indolsystem des Tryptophans wurde erwartet, daß es mit aromatischen Estern, die als Testsubstrate zum Einsatz kommen sollten, π - π -Wechselwirkungen eingeht. Schließlich sollte die Hydroxygruppe des Serins als Phosphorylgruppen-Acceptor bei einer Phosphatübertragung fungieren.^[10–12]

[*] Prof. Dr. A. Berkessel, Dr. D. A. Héralut
 Institut für Organische Chemie der Universität
 Greinstraße 4, D-50939 Köln
 Fax: (+49) 221-470-5102
 E-mail: berkessel@uni-koeln.de

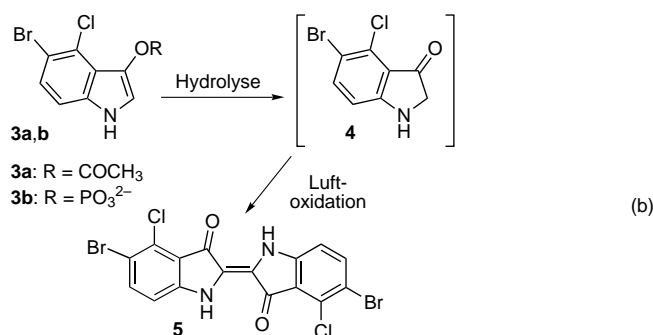
[**] Diese Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Wir bedanken uns bei der BASF AG, namentlich bei den Herren Dr. H. Platsch, T. Brugger und W. Weishaar, für die Edman-Sequenzierungen.

Unser Ansatz zur Simulation von Hydrolaseaktivität weist Parallelen zu früheren Arbeiten auf, die sich auf Esterasen und Proteasen bezogen.^[14, 15] Beispielsweise wurden die Bausteine der katalytischen Triade (Asp-His-Ser), getrennt durch Gly-Spacer, so in ein 29meres Peptid eingebaut, daß die räumliche Anordnung der katalytisch wirksamen funktionellen Gruppen im aktiven Zentrum des Enzyms nachgeahmt werden sollte. Leider konnten die bemerkenswerten Aktivitäten und Selektivitäten, die von Zouhair Atassi und Man-shouri^[14] beschrieben wurden, von anderen Arbeitsgruppen nicht reproduziert werden.^[16] Vermutlich liegen die untersuchten 29mere nicht in der Konformation vor, in der die katalytische Triade die gewünschte Orientierung einnimmt.^[16] Unser Ansatz beschränkt sich nicht auf die strukturelle Nachahmung, sondern zielt darauf ab, eine kombinatorische Vertauschung funktioneller Gruppen mit der Einschränkung des Konformationsraums durch Koordination an ein Übergangsmetallion zu verbinden.

Zum Screening der Bibliothek hinsichtlich der Hydrolaseaktivität sollte ein chromogenes Testsubstrat verwendet werden. Bei der Hydrolyse der üblicherweise eingesetzten *para*-Nitrophenylester **1a** und **1b** wird *para*-Nitrophenol **2** freigesetzt [Gl. (a)], das UV/Vis-spektroskopisch quantitativ



bestimmt werden kann. Da **2** aber frei diffundieren kann, ist keine Information darüber zu erhalten, an welchem Polymerkügelchen es freigesetzt wurde. Wir haben deshalb die 3-Hydroxyindolderivate **3a,b** eingesetzt [Gl. (b)].^[17] Hier



entsteht durch die Hydrolyse das Indoxylderivat **4**, das in Gegenwart von Sauerstoff zum unlöslichen Indigofarbstoff **5** oxidiert wird. Im Screening wurden ca. 2500 Polymerkügelchen in EPPS-Puffer^[18] bei pH 5.6 mit 1 mM Lösungen von Cu²⁺, Zn²⁺, Fe³⁺, Co³⁺, Eu³⁺, Ce⁴⁺ oder Zr⁴⁺ – oder ohne Metallsalz – inkubiert. Beim Testsubstrat **3b** konnte in Gegenwart von Zr⁴⁺ Aktivität festgestellt werden: In diesem Assay nahmen ca. 20 der ca. 2500 Polymerkügelchen die typische Türkisfarbe des Indigoderivats **5** an (Abbildung 2a). Die drei am intensivsten gefärbten Kügelchen sowie zwei nicht angefärbte Kontrollproben wurden isoliert; die durch Edman-Abbau bestimmten Peptidsequenzen sind in Abbildung 3 zusammengefaßt. Die Sequenz **A** wurde von dem am

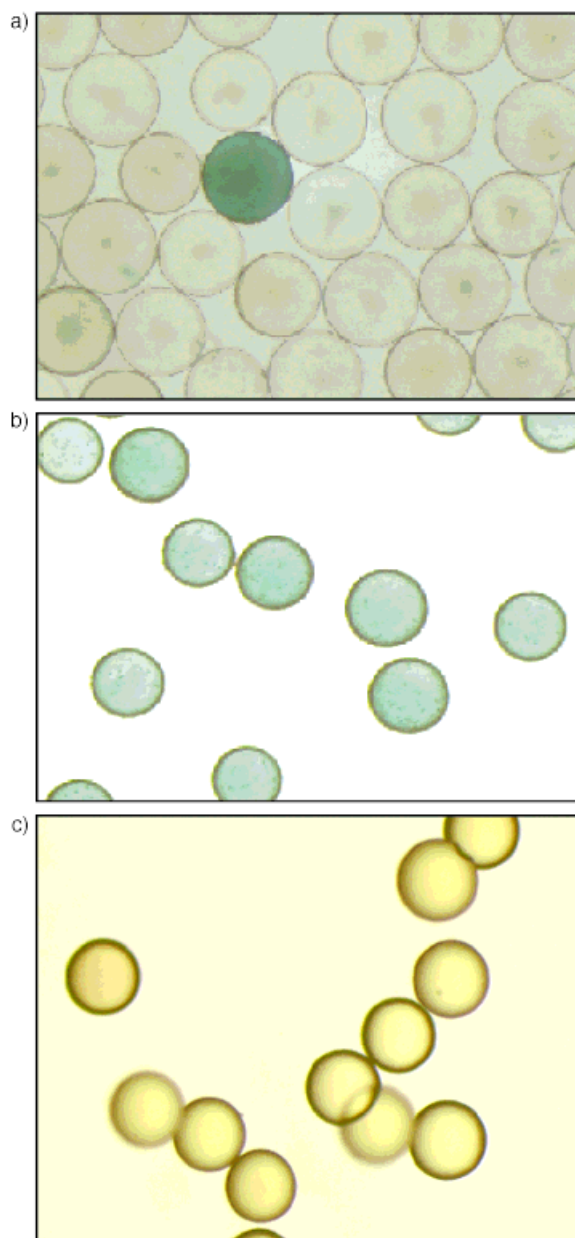


Abbildung 2. TentaGel-Kügelchen nach Inkubation mit Zr⁴⁺ und **3b**, beladen mit den folgenden Undeca-peptiden: a) Bibliothek, b) Sequenz **A**, c) Sequenz **D**.

aktive Sequenzen:

- H₂N-Ser-Gly-Gly-His-Gly-Gly-Arg-Gly-Gly-His-Phe-CO₂H **A**
H₂N-Ser-Gly-Gly-Ser-Gly-Gly-Ser-Gly-Gly-His-Phe-CO₂H **B**
H₂N-Ser-Gly-Gly-Arg-Gly-Gly-His-Gly-Gly-His-Phe-CO₂H **C**

inaktive Sequenzen:

- H₂N-Trp-Gly-Gly-Arg-Gly-Gly-Trp-Gly-Gly-Arg-Phe-CO₂H **D**
H₂N-Arg-Gly-Gly-Ser-Gly-Gly-Arg-Gly-Gly-Trp-Phe-CO₂H **E**

Abbildung 3. Treffer- und Kontrollsequenzen, die durch Screening der Undeca-peptid-Bibliothek mit Zr⁴⁺ und **3b** gefunden wurden.

stärksten angefärbten Polymerkügelchen bestimmt.^[19] Dieses Peptid wurde in polymergebundener Form nachsynthetisiert. Die TentaGel-Kügelchen, die nun ausschließlich das Peptid **A** enthielten, nahmen in Gegenwart von Zr⁴⁺ und dem Substrat

3b alle eine Türkisfärbung an (Abbildung 2b). Die Kontrollsequenz **D** wurde ebenfalls an fester Phase nachsynthetisiert: Unter Assay-Bedingungen ließ sich keine Anfärbung beobachten (Abbildung 2c).

Im nächsten Schritt wurde die Aktivität des Peptids **A** und die Inaktivität des Peptids **D** in homogener Lösung überprüft. Hierzu wurden die beiden Peptide an Wang-Harz synthetisiert und abgespalten. Tatsächlich führte die Inkubation des Testsubstrats **3b** mit dem Peptid **A** und Zr^{4+} zur Bildung eines blauen Niederschlags, während in Gegenwart von **D** keine derartige Reaktion beobachtet werden konnte. Da die geringe Löslichkeit des Farbstoffs **5** keine spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse erlaubt, wurde hier *para*-Nitrophenylphosphat **1b** eingesetzt. Das Ergebnis ist in Abbildung 4 wiedergegeben (siehe Experimentelles): In Gegenwart

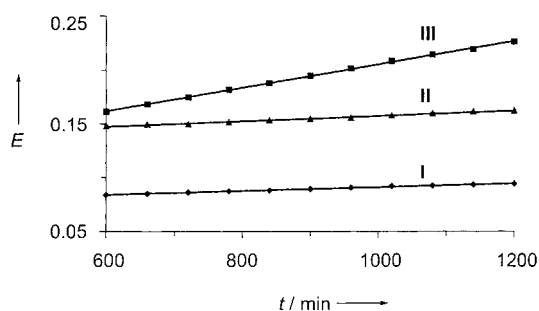


Abbildung 4. UV/Vis-Verfolgung der Hydrolyse von **1b** (20 °C, 67 mM MES-Puffer,^[20] pH 5,4, $\lambda_{\text{obs}} = 405 \text{ nm}$). Spur I: **1b** (3,3 mM); Spur II: **1b** (3,3 mM); $ZrCl_4$ (1,7 mM), Peptid **D** (1,7 mM); Spur III: **1b** (3,3 mM), $ZrCl_4$ (1,7 mM), Peptid **A** (1,7 mM).

des Kontrollpeptids **D** und Zr^{4+} erfolgte die Hydrolyse von **1b** mit einer Geschwindigkeit, die der der Hintergrundreaktion entsprach (Abbildung 4, Spur II bzw. I). Dagegen hydrolysierte **1b** in Gegenwart des aktiven Peptids **A** etwa fünfmal schneller (Abbildung 4, Spur III).^[21] Interessanterweise wurde kürzlich über die Beschleunigung der Phosphathydrolyse durch Zr^{4+} (allein und in Gegenwart von Amin- oder Hydroxyliganden) berichtet.^[22, 23]

Wir haben hiermit eine Bibliothek von 625 festphasengebundenen Undecapeptiden kombinatorisch synthetisiert. Das „On-bead-screening“ dieser Bibliothek mit den Testsubstraten **3a,b** in Gegenwart einer Reihe von Übergangsmetallen hat zur Identifizierung von Peptiden innerhalb der Bibliothek geführt, die in Gegenwart von Zr^{4+} die Phosphathydrolyse beschleunigen. Die Aktivität der polymergebundenen Verbindungen (und die Inaktivität der Kontrollpeptide) konnte in homogener Lösung bestätigt werden. Die Inaktivität der Kombination Zr^{4+} /Kontrollpeptid **D** deutet darauf hin, daß durch unsere Experimente vermutlich Peptidliganden identifiziert wurden, die die Bindung oder Aktivierung des anionischen Phosphats am Zirkoniumion nicht vollständig unterbinden (eine Spaltung des neutralen Esters **3a** wurde nicht festgestellt). Dies ist ein wichtiger Ausgangspunkt für die Entwicklung von Liganden, die die Zr^{4+} -beschleunigte Phosphathydrolyse in biologischen Matrices ermöglichen sollen. Eine Interpretation der Aktivität von **A** oder der Inaktivität von **D** und **E** erscheint uns auf der Basis der Sequenzen allein und ohne weitere Strukturinformationen

noch nicht sinnvoll, doch es ist auffällig, daß die inaktiven Sequenzen **D** und **E** zwei positive Ladungen tragen ($2 \times \text{Arg}$), während **A** und **C** nur eine Arginineinheit enthalten und **B** gar keine. Auch könnte die Kombination aus Histidin als neutralem Liganden für Zr^{4+} ^[24] und Serin als Phosphatacceptor als gemeinsames Merkmal der aktiven Sequenzen **A–C** angenommen werden. Unseres Wissens ist diese Arbeit das erste Beispiel für eine im eigentlichen Sinn kombinatorische Auffindung eines neuen aktiven und definierten Metall-Ligand-Systems: Auf die kombinatorische Bildung der Bibliothek folgte das Screening nach aktiven Liganden, und die Sequenzen der „Treffer“ und der inaktiven Kontrollproben wurden anschließend ermittelt.

Experimentelles

Zur Mikroskopie wurde ein Zeiss-Axioplan-2-Mikroskop mit MC-3250-CCD-Kamera und KS-100-Software zur Bildbearbeitung verwendet. Die Bestimmung der Peptidsequenzen erfolgte direkt von einzelnen Polymerkügelchen mit einem Procise-494-Protein-Sequencer von Applied-Biosystems. TentaGel S-NH₂ wurde von Rapp-Polymere, Tübingen, bezogen. **3a** und **3b** von Molecular Probes Europe BV, Leiden, Niederlande. Zur Peptidynthese auf TentaGel S-NH₂ wurde ein übliches Verfahren angewendet, das aus der Wiederholung folgender vier Schritte besteht: 1) Kupplung mit 2 Äquiv. einer Fmoc-geschützten L-Aminosäure mit 2 Äquiv. PyBOP^[8] als Kondensationsreagens in 3% N-Methylmorpholin in wasserfreiem DMF; 2) Waschen mit wasserfreiem DMF; 3) Entschützen mit 20% Piperidin in wasserfreiem DMF; 4) Waschen mit wasserfreiem DMF. Die Ausbeuten der Kupplungen wurden UV/Vis-spektroskopisch anhand der darauffolgenden Entschützungs Schritte bestimmt. Nach dem letzten Zyklus wurden die Polymerkügelchen mit TFA/EtSH/DMS/Phenol (80:10:5:5) behandelt (TFA = Trifluoressigsäure, DMS = Dimethylsulfid). Für die Split-mix-Synthese der Bibliothek wurden die Aminosäuren **X** in fünf getrennten Reaktoren angeknüpft [Fmoc-L-Arg(Pmc), Fmoc-L-Trp, Fmoc-L-His(Trt), Fmoc-L-Ser(tBu)], für den Einbau von Gly wurde das gesamte Harz in einem Reaktor vereinigt.

Screening: 5 mg des Harzes (ca. 2500 Polymerkügelchen, entsprechend ca. 1,2 µmol Peptid) wurden mit 1 mL einer 1 mM Lösung von **3a** oder **3b** in EPPS-Puffer (10 mM, pH 5,6) und 1 mL von 1 mM Lösungen folgender Salze in EPPS-Puffer (10 mM, pH 5,6) behandelt: $CuCl_2$, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, $ZnCl_2$, $EuCl_3 \cdot 6H_2O$, $ZrCl_4$, $(NH_4)_2Ce(NO_3)_6$ oder $Na_3[Co(NO_2)_6]$; in einem weiteren Experiment wurde das Metallsalz weggelassen. Eine Türkisfärbung von Polymerkügelchen trat ausschließlich bei Verwendung des Testsubstrats **3b** und nur in Gegenwart von Zr^{4+} auf. Bei diesem Assay fand man nach 1 d Inkubation bei Raumtemperatur ca. 20 gefärbte Kügelchen. Die drei am kräftigsten gefärbten wurden isoliert, zusammen mit zwei Kontrollproben, die keinerlei Färbung aufwiesen. Die Edman-Analyse dieser fünf Kügelchen ergab die Sequenzen **A–C** bzw. **D,E**. Für Experimente in homogener Lösung wurden die Peptide **A** und **D** analog auf Wang-Harz hergestellt und mit TFA vom Träger abgespalten. Die in Abbildung 4 wiedergegebenen Experimente wurden in einem Beckman-DU-640-Spektrometer bei 20 °C in einem Gesamtvolumen von 3 mL durchgeführt. Beim Peptid **A** (Abbildung 4, Spur III) ergaben sich nach 20 h Reaktionszeit etwa 7% Umsatz für **1b**. Der Umsatzgrad wurde durch Kalibrierung mit **2** bestimmt. Die Entwicklung der Extinktion mit der Zeit wurde bis zu 2 d verfolgt und blieb in diesem Intervall linear ($\rho \geq 0,998$). Die abgebildeten Steigungen waren innerhalb $\pm 5\%$ reproduzierbar.

Eingegangen am 5. August 1998 [Z12255]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 102–105

Stichwörter: Enzymmimetika • Hydrolysen • Kombinatorische Chemie • Peptide • Übergangsmetalle

- [1] R. Breslow, *Acc. Chem. Res.* **1995**, 28, 146–153.
- [2] a) A. J. Kirby, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 770–790; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 705–724; b) Y. Murakami, J. Kikuchi, Y. Hiseada, O. Hayashida, *Chem. Rev.* **1996**, 96, 721–758.
- [3] L. C. Hsieh-Wilson, X.-D. Xiang, P. G. Schultz, *Acc. Chem. Res.* **1996**, 29, 164–170.
- [4] a) S. J. Taylor, J. P. Morken, *Science* **1998**, 280, 267–270; b) K. D. Shimizu, B. M. Cole, C. A. Krueger, K. W. Kuntz, M. L. Snapper, A. H. Hoveyda, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 1782–1785; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 1704–1707; c) B. M. Cole, K. D. Shimizu, C. A. Krueger, J. P. A. Harrity, M. L. Snapper, A. H. Hoveyda, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 1776–1779; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 1668–1671; d) S. R. Gilbertson, X. Wang, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 6475–6478; e) K. Burgess, H.-J. Lim, A. M. Porte, G. A. Sulikowski, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 192–194; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 220–222; f) G. Liu, J. A. Ellman, *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 7712–7713.
- [5] Laut Lit. [6] kann durch Anknüpfen katalytisch aktiver Gruppen an Polyallylamin und Komplexbildung mit Metallionen ebenfalls Phosphataseaktivität erhalten werden.
- [6] F. M. Menger, A. V. Eliseev, V. A. Migulin, *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 6666–6667.
- [7] a) K. S. Lam, M. Lebl, V. Krchnák, *Chem. Rev.* **1997**, 97, 411–448; b) F. Balkenhohl, C. von dem Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 2436–2488; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 2288–2337; c) A. Furka, F. Sebestyén, M. Asgedom, G. Dibó, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1991**, 37, 487–493; d) R. A. Houghten, C. Pinilla, S. E. Blondelle, J. R. Appel, C. T. Dooley, J. H. Cuervo, *Nature* **1991**, 354, 84–86; e) K. S. Lam, S. E. Salmon, E. M. Hersh, V. J. Hruby, W. M. Kazmiersky, R. J. Knapp, *Nature* **1991**, 354, 82–84.
- [8] PyBOP: Benzo[1,2,3-c]oxazolin-5-ylxytripyrrolidinylphosphonium-hexafluorophosphat: J. Coste, D. Le-Nguyen, B. Castro, *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 205–208.
- [9] a) F. A. Cotton, E. E. Hazen, Jr., M. J. Legg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1979**, 76, 2551–2555; b) P. W. Tucker, E. E. Hazen, Jr., F. A. Cotton, *Mol. Cell. Biochem.* **1979**, 23, 67–86.
- [10] N. Sträter, W. N. Lipscomb, T. Klabunde, B. Krebs, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 2158–2191; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 2024–2055.
- [11] a) M.-S. Muche, M. W. Göbel, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 2263–2265; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 2126–2129; b) V. Jubian, A. Veronese, R. P. Dixon, A. D. Hamilton, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 1343–1345; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 1237–1239; c) D. M. Perreault, L. A. Cabell, E. V. Anslyn, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, 5, 1209–1220; d) T. Oost, M. Kalesse, *Tetrahedron* **1997**, 53, 8421–8438; e) R. Hettich, H.-J. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 5638–5647; f) P. Hurst, B. K. Takasaki, J. Chin, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 9982–9983.
- [12] D. M. Perreault, E. V. Anslyn, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 470–490; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 432–451.
- [13] a) S. J. Lippard, J. M. Berg, *Principles of Bioinorganic Chemistry*, University Science Books, Mill Valley, USA, **1994**; b) J. Reedijk in *Bioinorganic Catalysis* (Hrsg.: J. Reedijk), Dekker, New York, USA, **1993**, S. 1–10.
- [14] M. Zouhair Atassi, T. Manshour, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90, 8282–8286.
- [15] Beispiele für das Design katalytisch aktiver Peptide: a) K. Johnsson, R. K. Allemann, H. Widmer, S. A. Benner, *Nature* **1993**, 365, 530–532; b) K. S. Broo, H. Nilsson, J. Nilsson, A. Flodberg, L. Baltzer, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 4063–4068.
- [16] a) B. W. Matthews, C. S. Craik, H. Neurath, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, 91, 4103–4105; b) D. R. Corey, M. A. Phillips, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, 91, 4106–4109; c) J. A. Wells, W. J. Fairbrother, J. Otlewski, M. Laskowski, Jr., J. Burnier, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, 91, 4110–4114.
- [17] Erhältlich von Molecular Probes Europe BV, Leiden, Niederlande.
- [18] EPPS: 3-[4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl]propansulfonsäure. Ca. 5 mg des Polymers (ca. 1.2 µmol Peptid) wurden mit 1 µmol des Metallsalzes und 1 µmol des Testsubstrats **3a** oder **3b** inkubiert.
- [19] Um sequenzspezifische Adsorption auszuschließen, wurden folgende Kontrollexperimente ausgeführt: a) **3b** wurde enzymatisch hydrolysiert (Alkalische Phosphatase aus Rinderdarmschleimhaut, EC 3.1.3.1, Sigma, 20 U mg⁻¹) und an der Luft zu **5** oxidiert. Die

Behandlung von ca. 2500 Polymerkügelchen der Bibliothek mit der resultierenden tiefblauen Suspension ergab keine Anfärbung. b) Nach Quellen von TentaGel S-NH₂ in einer wässrigen Lösung von Alkalischer Phosphatase führte die Inkubation mit **3b** zu einer kräftigen Anfärbung aller Kügelchen.

- [20] MES: 2-Morpholinylethansulfonsäure.
- [21] Mischungen aus L-Arg, L-His und L-Ser entsprechender Konzentrationen bewirken keine Beschleunigung.
- [22] a) R. Ott, R. Krämer, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 2064–2067; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 1957–1960; b) R. A. Moss, J. Zhang, K. G. Ragunathan, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 1529–1532.
- [23] Unkomplexiertes Zr⁴⁺ als Ursache für die beobachtete Beschleunigung erscheint sehr unwahrscheinlich: a) Bei konstanter Zr-Konzentration führt eine Erhöhung der Peptidkonzentration nicht zu einer Abnahme der Hydrolysegeschwindigkeit, während bei konstanter Peptidkonzentration die Erhöhung der Zr-Konzentration sehr wohl eine Zunahme der Hydrolysegeschwindigkeit bewirkt. b) Auch die Signalverschiebungen, die in den NMR-Spektren des Peptids **A** nach Zusatz von Zr⁴⁺ auftreten, deuten auf Komplexbildung hin.
- [24] R. C. Fay in *Comprehensive Coordination Chemistry*, Vol. 3 (Hrsg.: G. Wilkinson, R. D. Gillard, J. A. McClaverty), Pergamon, Oxford, **1987**, S. 363–451.

Wasserstoffbrückenbindungs-induzierte Selbstassoziation eines anionischen Nickelkomplexes zu Überstrukturen, deren Art vom Gegenkation abhängt**

Makoto Tadokoro,* Kiyoshi Isobe, Hidehiro Uekusa, Yuji Ohashi, Jiro Toyoda, Koji Tashiro und Kazuhiro Nakasuji*

Dank ihrer Stärke, Richtungsabhängigkeit und Komplementarität spielen Wasserstoffbrücken- und koordinative Bindungen eine entscheidende Rolle bei der Gestaltung zahlreicher für molekulare Selbstassoziations- oder Erkennungsprozesse vorgesehener Molekül-Architekturen in der Chemie, Physik und Biologie.^[1, 2] Mit entsprechenden Bindungsstellen ausgestattete molekulare Bauelemente können weiträumige regelmäßige Molekülanordnungen in einer, zwei oder drei Dimensionen bilden.^[3–5] Die Möglichkeit, den

[*] Prof. M. Tadokoro, Prof. K. Isobe
Graduate School of Science
Osaka City University, Sumiyoshi-ku
Osaka 558-8585 (Japan)
Fax: (+81) 6-605-2522
E-mail: tadokoro@sci.osaka-cu.ac.jp

Prof. K. Nakasuji, Dr. J. Toyoda, Prof. K. Tashiro
Graduate School of Science, Osaka University
Toyonaka, Osaka 560-0043 (Japan)
Fax: (+81) 6-850-5392
E-mail: nakasuji@chem.sci.osaka-u.ac.jp

Dr. H. Uekusa, Prof. Y. Ohashi
Faculty of Science
Tokyo Institute of Technology O-okayama (Japan)

[**] Diese Arbeit wurde vom japanischen Ministerium für Bildung, Wissenschaft und Kultur gefördert (Förder-Nr. 10146103). Wir danken dem Analytik-Zentrum der Osaka City University für die Bereitstellung eines Vierkreisdiffraktometers und für Elementaranalysen.