

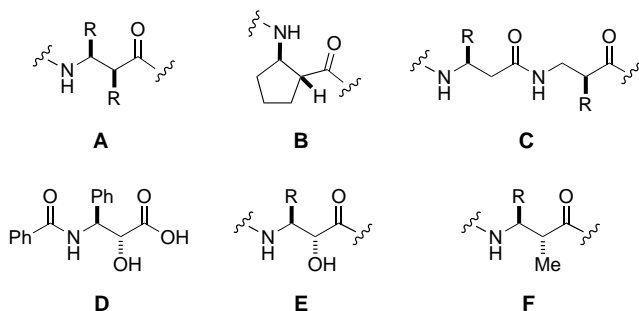


Die vierte helicale Sekundärstruktur von β -Peptiden: (P)-2₈-Helix eines β -Hexapeptids aus (2R,3S)-3-Amino-2-hydroxycarbonsäure-Einheiten**

Karl Gademann, Andreas Häne, Magnus Rueping, Bernhard Jaun und Dieter Seebach*

Im Zeitalter der Proteomanalysen wird immer wieder der Ruf nach synthetischen Mimetika für Proteine laut, welche die Funktion von Proteinen auf molekularer Ebene nachahmen können.^[1] Oligomere von β -Aminosäuren (so genannte β -Peptide) haben sich unlängst als eine herausragende Klasse solcher Proteinmimetika entpuppt.^[2] Viele Arten von Sekundärstrukturelementen wie Helices, Schleifen und Faltblätter wurden bei β -Peptiden sowohl im Feststoff als auch in Lösung gefunden.^[2] Es wurden so Verbindungen mit neuen Eigenschaften synthetisiert, darunter auch solche mit interessanter biologischer Aktivität.^[3]

Bislang wurden drei Arten von Helices identifiziert, die durch unterschiedliche Substitutionsmuster der zugrunde liegenden β -Aminosäuren resultieren. So bildet sich eine 3₁₄-Helix^[4] als Sekundärstruktur von β -Peptiden aus Bausteinen des Typs **A**. Eine 2.6₁₂-Helixkonformation nehmen

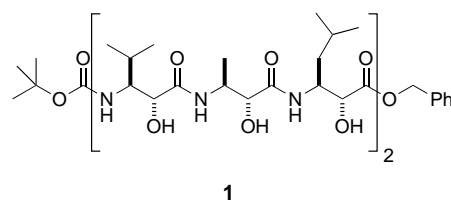


dagegen β -Peptide ein, die aus *trans*-2-Aminocyclopentanecarbonsäure-Einheiten **B** aufgebaut sind.^[5] Für „gemischte“ β -Peptide **C** schließlich wurde ein interessanter Fall von Helizität entdeckt, der bei α -Proteinen bisher unbekannt ist: Die Helix besteht aus sich abwechselnden zehn- und zwölfgliedrigen, H-verbrückten Ringen.^[6] Wir berichten jetzt über

einen vierten Helixtyp von β -Peptiden in Lösung, der auftritt, wenn jeder Aminosäure-Baustein in 2-Position eine Hydroxygruppe enthält (**E**).

β -Aminosäuren dieses Typs wurden in den vergangenen zwanzig Jahren umfassend untersucht, weil in der Seitenkette des antiproliferativ wirkenden Taxols eine solche 3-Amino-2-hydroxycarbonsäure als Benzoylderivat **D** vorkommt. Außerdem berichteten zwei Arbeitsgruppen über Konformationsanalysen an Oligomeren des Typs **E**: Grierson et al. untersuchten ein α -Silyl-geschütztes Oligomer und wiesen ihm auf der Grundlage von NMR-spektroskopischen Untersuchungen und theoretischen Berechnungen eine kettenförmige Konformation zu.^[7] Tromp et al. stellten ein Oligomer aus Bausteinen her, die diastereoisomer zu **E** sind, konnten dessen Konformation aber nicht bestimmen.^[8]

Die Synthese des β -Hexapeptids **1** war für uns aus folgendem Grund interessant: Wir wollten den Einfluss von Heteroatomen, die direkt am Peptidrückgrat gebunden sind,



auf die Konformation studieren.^[9,10] Die relative Konfiguration *unlike* wurde gewählt, um die Bildung einer 3₁₄-Helix auszuschließen. Man beachte dazu, dass die analoge Verbindung **F** mit einem α -Methyl- statt eines α -Hydroxysubstituenten in einer Faltblattstruktur vorliegt und extrem unlöslich ist.^[11] Überraschenderweise war das terminal geschützte β -Peptid **1** gut löslich in Methanol! Außerdem zeigte das ¹H-NMR-Spektrum in CD₃OH gute Dispersion der Signale der Rückgratprotonen – ein erster Hinweis auf das Vorliegen einer bevorzugten Konformation. Ermutigt durch diese Beobachtung führten wir mehrere 2D-NMR-Experimente durch, um nähere Informationen über die Struktur von **1** zu erhalten.

Alle Signale in den ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren konnten durch eine Kombination von COSY-, TOCSY-, HSQC- und HMBC-Experimenten zugeordnet werden.^[12] Die Kopplungskonstanten $J(\text{NH}, \text{C}_\beta\text{H})$ und $J(\text{C}_\beta\text{H}, \text{C}_\alpha\text{H})$ wurden direkt dem ¹H-NMR-Spektrum entnommen. Mithilfe dieser Daten konnten bereits zwei konformationelle Variablen bestimmt werden: In Übereinstimmung mit einer *antiperiplanaren* Orientierung der NH- und C_βH -Atome maßen wir mit 9.0 bis 10.6 Hz große Werte für $J(\text{NH}, \text{C}_\beta\text{H})$; die beobachteten kleinen Kopplungskonstanten $J(\text{C}_\alpha\text{H}, \text{C}_\beta\text{H})$ von 2.3 bis 3.9 Hz dagegen deuten auf eine bevorzugte *synclinale* (*sc*) Anordnung um die $\text{C}_\alpha\text{C}_\beta$ -Bindung hin. Die Unterscheidung zwischen (+)- und (–)-*sc*-Konformation gründet auf Long-Range-C-H-Korrelationsexperimenten: Zwischen dem Carbonyl-C- und dem C_βH -Atom konnten keine Kreuzpeaks detektiert werden, was eine (+)-*sc*-Konformation um die zentrale Bindung untermauert. All diese experimentellen

[*] Prof. Dr. D. Seebach, Dr. K. Gademann, Dipl.-Chem. A. Häne, Dr. M. Rueping, Prof. Dr. B. Jaun
Laboratorium für Organische Chemie der
Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich
Hönggerberg, 8093 Zürich (Schweiz)
Fax: (+41) 1-632-1144
E-mail: seebach@org.chem.ethz.ch

[**] K.G. dankt der ETH für ein Nachwuchsförderungsstipendium und Prof. Dr. E. M. Carreira für finanzielle Unterstützung. Wir danken der Novartis Pharma AG (Basel) für großzügige Unterstützung.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder beim Autor anzufordern.

Befunde sind mit einer wohldefinierten Sekundärstruktur in Lösung vereinbar.

Zur näheren Untersuchung dieser Sekundärstruktur wurde eine Serie von ROESY-Spektren aufgenommen; 40 daraus entnommene NOE-Kreuzpeaks wurden zugeordnet.^[12] Das Auftreten von schwachen $\text{NH}_i\text{-NH}_{(i+1)}$ -Kreuzpeaks und von NOEs zwischen NH_i - und $\text{C}_{\beta(i-1)}\text{H}$ - und $\text{C}_{\alpha(i-1)}\text{H}$ -Atomen legt eine kompakte Sekundärstruktur nahe. Die Kreuzpeaks wurden integriert und in Distanzeinschränkungen umgewandelt, welche mit bekannten Abständen kalibriert wurden. Die Berechnung der Struktur wurde nach dem Verfahren der simulierten Kühlung mit dem Programm X-PLOR durchgeführt, wobei 40 Distanzeinschränkungen verwendet wurden; auch wurden 12 Vorgaben bezüglich Diederwinkeln eingesetzt, die aus den J -Werten mithilfe modifizierter Karplus-Gleichungen erhalten wurden.^[12] Die Berechnung der Struktur konvergierte gut, und aus 50 Strukturen wurden die 20 energieärmsten und keine NOE-Verletzungen über 0.2 Å enthaltenden Konformationen als repräsentativ für die Sekundärstruktur in Lösung ausgewählt (Abbildung 1).

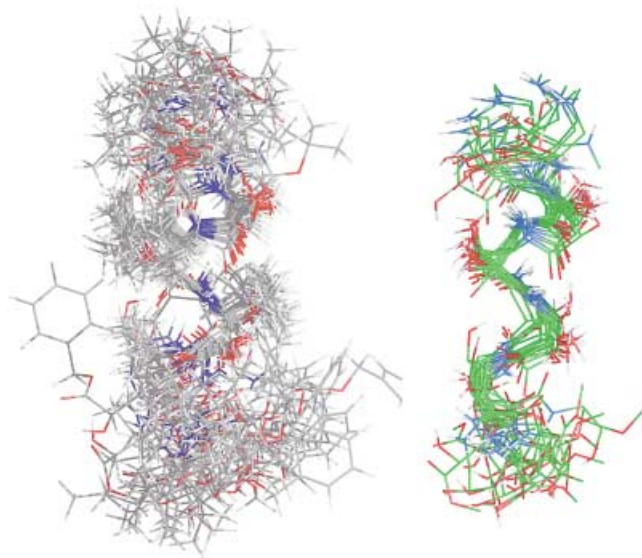


Abbildung 1. Aus NMR-Daten abgeleitete Struktur des β -Peptids **1**. Links: Bündel der 20 energieärmsten Konformationen, welche die NOE-Einschränkungen um weniger als 0.2 Å und die Diederwinkelschränkungen um weniger als 5° verletzen. Die Strukturen sind im Bereich der Rückgratome der Bausteine 2–5 überlagert (Farbgebung: C: grau; H: weiß; N: blau; O: rot). Rechts: Ansicht desselben Bündels, wobei Schutzgruppen, Seitenketten und H-Atome zur besseren Übersicht weggelassen sind (Farbgebung: C: grün; H: weiß; N: blau; O: rot). Graphikprogramm: MOLMOL.^[16]

Beide terminale Aminosäure-Einheiten (insbesondere die Schutzgruppen) wie auch die Seitenketten „fransen aus“ (Abbildung 1, links). Das Rückgrat hingegen ist wohldefiniert, was vor allem für die Bausteine 2–5 gilt (Abbildung 1, rechts; mittlerer quadratischer Fehler des Abstands (RMSD) der Rückgratome = 0.82). Die Struktur kann als rechtsgängige Helix mit einer Ganghöhe von 4.7 bis 4.9 Å beschrieben werden, die ungefähr zwei Bausteine pro Win-

dung enthält. Die Amidgruppen sind in einer sequenziellen Auf/Ab-Anordnung um die Helixachse angeordnet. Zudem legen die Strukturberechnungen eine bevorzugte Anordnung um den CO-C_{α} -Diederwinkel nahe, bei dem die Carbonylgruppe und die α -Hydroxygruppe in *synperiplanarer* Anordnung vorliegen. Da es nicht möglich war, mit unseren NMR-Experimenten direkt H-Brücken zu beobachten, haben wir bei der Bestimmung der Struktur keine Vorgaben für diese H-Brücken gemacht. Beim einfachen Betrachten des Strukturbündels scheinen H-Brücken von den α -Hydroxyprotonen zu den benachbarten Carbonylgruppen allerdings plausibel. Außerdem könnte die Bildung achtgliedriger, H-verbrückter Ringe zwischen der NH-Gruppe der Aminosäure i und der C=O -Gruppe der Aminosäure $(i-2)$ ein weiterer Beitrag zur Triebkraft für die Bildung der beobachteten Sekundärstruktur sein (Abbildung 2, links).

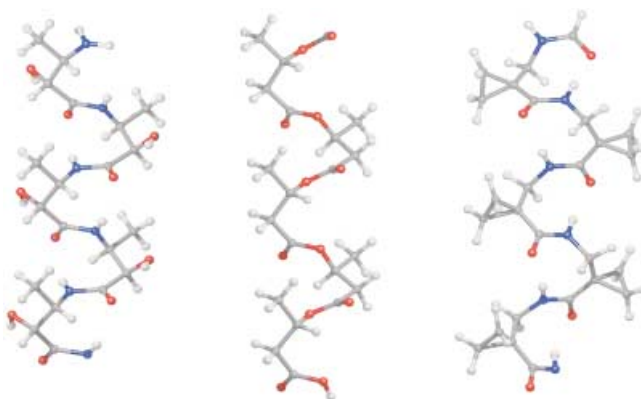


Abbildung 2. Vergleich des Strukturmodells des β -Peptids **1** (links) mit der röntgenographisch ermittelten Faserstruktur von Poly((S)-3-hydroxybutyrat) (Mitte)^[13] und einem Modell, das mithilfe von Kristallstrukturdaten des Dimers, Trimers und Tetramers der 1-Aminomethylcyclopropancarbonsäure erhalten wurde (rechts).^[14]

Ein Vergleich der Torsionswinkel der neuen Helix mit denen anderer Sekundärstrukturen offenbart einen faszinierenden Zusammenhang: Der Strukturtyp des β -Peptids **1** (Abbildung 2, links) erinnert an die so genannte 2_1 -Helix, die für das Polymer der β -Hydroxybuttersäure (PHB) gefunden wurde (Abbildung 2, Mitte).^[13] Der größte Unterschied in den Strukturen liegt darin, dass die C=O -Bindungen des Oligoesters beinahe senkrecht zur Helixachse liegen – die Amidebenen in **1** dagegen bilden mit der Helixachse einen kleineren Winkel, was H-Brücken möglich macht. Eine ähnliche Struktur für eine Kette aus 1-Aminomethylcyclopropancarbonsäure-Bausteinen wurde mithilfe von Röntgenstrukturdaten der Dimere, Trimere und Tetramere modelliert (Abbildung 2, rechts).^[14] Diese Struktur enthält gefaltete achtgliedrige H-verbrückte Ringe und unterscheidet sich im $\text{C}_{\beta}\text{-C}_{\alpha}\text{-CO-N}$ -Torsionswinkel nur wenig von unserer neuen Struktur. Auch Oligomere von α -Aminoxymethancarbonsäuren nehmen eine ähnliche Struktur (1.8₈-Helix) mit vergleichbaren Rückgrat-Torsionswinkeln ein.^[15]

Eine Suche in der Cambridge Crystallographic Database deckte viele Ähnlichkeiten zwischen den Rückgrat-Torsions-

winkeln unserer neuen Helix und denen der Taxol-Seitenkette auf: zehn von elf Kristallstrukturen zeigen eine *syn-periplanare* Anordnung der C=O- und der Hydroxygruppe! Daraus kann man schließen, dass die Strukturinformation für die Helixbildung bereits in den Monomeren „kodiert“ ist.

Es ist bemerkenswert, dass der Ersatz von Methyl- (**F**) durch Hydroxysubstituenten (**E**) einen derart drastischen Wechsel in der Sekundärstruktur – vom Faltblatt zur Helix – bewirkt! Unsere Untersuchung des β -Hexapeptids **1** erweitert den faszinierenden Reichtum helicaler Strukturen von β -Peptiden. Offensichtlich können durch nur geringfügige Änderungen in den eingesetzten Bausteinen unterschiedliche Peptidstrukturen erhalten werden. Wir sind zuversichtlich, dass die Strukturvielfalt der β -Peptide dazu dienen wird, eine proteinähnliche Architektur und schließlich auch proteinähnliche Funktion zu erzeugen.

Eingegangen am 4. Oktober 2002 [Z50290]

Stichwörter: Aminosäuren · beta-Peptide · Konformationsanalyse · Peptidmimetika · Sekundärstruktur

- [1] Übersichtsartikel: D. J. Hill, M. J. Mio, R. B. Prince, T. S. Hughes, J. S. Moore, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3893–4011; J. Venkatraman, S. C. Shankaramma, P. Balaram, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3131–3152; S. H. Gellman, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173–180.
- [2] Übersichtsartikel: R. P. Cheng, S. H. Gellman, W. F. DeGrado, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3219–3232; K. Gademann, T. Hintermann, J. V. Schreiber, *Curr. Med. Chem.* **1999**, *6*, 905–925; D. Seebach, J. L. Matthews, *Chem. Commun.* **1997**, *21*, 2015–2022. Für β -Carbopeptide (Kohlenhydrat-haltige Aminosäuren) siehe: T. D. W. Claridge, J. M. Goodman, A. Moreno, D. Angus, S. F. Barker, C. Taillefumier, M. P. Watterson, G. W. J. Fleet, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 4251–4255, zit. Lit.
- [3] Ausgewählte Beispiele: K. Gademann, M. Ernst, D. Hoyer, D. Seebach, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1302–1304; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1223–1226; M. Werder, H. Hauser, S. Abele, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 1774–1783; E. A. Porter, X. F. Wang, H. S. Lee, B. Weisblum, S. H. Gellman, *Nature* **2000**, *404*, 565–566, Erratum: E. A. Porter, X. F. Wang, H. S. Lee, B. Weisblum, S. H. Gellman, *Nature* **2000**, *405*, 298–298; Y. Hamuro, J. P. Schneider, W. F. DeGrado, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 12200–12201.
- [4] D. Seebach, M. Overhand, F. N. M. Kühnle, B. Martinoni, L. Oberer, U. Hommel, H. Widmer, *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 913–941; D. H. Appella, L. A. Christianson, I. L. Karle, D. R. Powell, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 13071–13072.
- [5] D. H. Appella, L. A. Christianson, D. A. Klein, D. R. Powell, X. L. Huang, J. J. Barchi, S. H. Gellman, *Nature* **1997**, *387*, 381–384.
- [6] D. Seebach, K. Gademann, J. V. Schreiber, J. L. Matthews, T. Hintermann, B. Jaun, L. Oberer, U. Hommel, H. Widmer, *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 2033–2039; D. Seebach, S. Abele, K. Gademann, G. Guichard, T. Hintermann, B. Jaun, J. L. Matthews, J. V. Schreiber, *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 932–982.
- [7] I. A. Motorina, C. Huel, E. Quiniou, J. Mispelter, E. Adjadj, D. S. Grierson, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8–17.
- [8] R. A. Tromp, M. van der Hoeven, A. Amore, J. Brussee, M. Overhand, G. A. van der Marel, A. van der Gen, *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 1109–1112; R. A. Tromp, Dissertation, Universität Leiden, Niederlande, **2002**.
- [9] Für hydroxylierte γ -Peptide und eine allgemeine Diskussion siehe: M. Brenner, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **2001**, *84*, 1181–1189.
- [10] Die Aminohydroxysäuren und das β -Peptid **1** wurden durch etablierte Methoden hergestellt. Siehe dazu Lit. [9] sowie M. T. Reetz, M. W. Drewes, K. Harms, W. Reif, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 3295–3298.
- [11] D. Seebach, S. Abele, K. Gademann, B. Jaun, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1700–1703; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1595–1597.
- [12] Tabellen von ^1H - und ^{13}C -chemischen Verschiebungen, J -Werten, NOEs, Spektren und die Details zur Bestimmung der Struktur sind als Hintergrundinformationen erhältlich. Siehe dazu <http://www.angewandte.de>.
- [13] Übersichtsartikel: H. M. Müller, D. Seebach, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 483–509; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 477–502; D. Seebach, M. G. Fritz, *Int. J. Biol. Macromol.* **1999**, *25*, 217–236; R. H. Marchessault, G.-E. Yu in *Biopolymers* (Hrsg.: A. Steinbrüchel), Wiley-VCH, Weinheim, **2002**, S. 157–202.
- [14] S. Abele, K. Vöggtli, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 1539–1558.
- [15] D. Yang, J. Qu, B. Li, F.-F. Ng, X.-C. Wang, K.-K. Cheung, D.-P. Wang, Y.-D. Wu, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 589–590; Y.-D. Wu, D.-P. Wang, K. W. K. Chan, D. Yang, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11189–11196.
- [16] R. Koradi, M. Billeter, K. Wüthrich, *J. Mol. Graphics* **1996**, *14*, 51–54.