

DOI: 10.1002/ange.200501812


Ladungswechselwirkungen machen es möglich: ein kombinierter statistischer und kombinatorischer Ansatz zur Auffindung künstlicher Rezeptoren für die Bindung von Tetrapeptiden in Wasser***Carsten Schmuck,* Martin Heil, Josef Scheiber und Knut Baumann*

Zwischenmolekulare Wechselwirkungen unter Beteiligung von Oligopeptiden oder Proteinfragmenten sind wichtige supramolekulare Prozesse, die für eine Reihe von biochemischen und medizinischen Vorgängen verantwortlich sind. Daher sind künstliche Rezeptoren für Peptide nicht nur als Modellsysteme für das Studium der zugrunde liegenden Prinzipien dieser supramolekularen Erkennungsprozesse interessant, sondern auch als Ausgangspunkte für die Synthese von Sensoren oder Wirkstoffen.^[1] Dies erfordert allerdings eine effektive Komplexierung des Zielpeptides durch den künstlichen Wirt auch unter physiologischen Bedingungen, also in Wasser, was nach wie vor eine schwierige Aufgabe ist.^[2,3] 1) Hydrophobe Wechselwirkungen, die in Wasser sehr stark sein können, sind unspezifisch, was den gezielten Entwurf selektiver Wirtssysteme erschwert;^[4] 2) elektrostatische Wechselwirkungen, z.B. in Form von Ionenpaaren oder H-Brücken, können zwar dank ihrer Spezifität – und bei H-Brücken auch Direktionalität^[5] – die Selektivität supramolekularer Erkennungsprozesse erhöhen,^[6] sind aber in Wasser wegen der konkurrierenden Solvatation durch die Lösungsmittelmoleküle außerordentlich schwach.^[7] Unseres Wissens gibt es daher bis heute noch keinen künstlichen Peptidrezeptor, der in der Lage ist, sein Zielsubstrat in Wasser ausschließlich auf der Grundlage von H-Brücken und Ionenpaaren effizient zu komplexieren. Alle bekannten Rezeptoren für Oligopeptide benötigen für eine effiziente Substratbindung entweder zusätzliche hydrophobe,^[8] aromatische^[1b,9] und/oder die wesentlich stabileren Metall-Ligand-Wechselwirkungen.^[10]

[*] Prof. Dr. C. Schmuck, Dr. M. Heil
Universität Würzburg
Institut für Organische Chemie
Am Hubland, 97074 Würzburg (Deutschland)
Fax: (+49) 931-888-4626
E-mail: schmuck@chemie.uni-wuerzburg.de

J. Scheiber, Dr. K. Baumann
Universität Würzburg
Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie
Am Hubland, 97074 Würzburg (Deutschland)

[**] Wir danken dem Fonds der Chemischen Industrie und der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 630) für finanzielle Unterstützung.

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

Wir konnten zum Beispiel kürzlich zeigen, dass von Tripeptiden abgeleitete, einarmige kationische Guanidiniocarboxylpyrrol-Rezeptoren das anionische Tetrapeptid *N*-Ac-L-Val-L-Val-L-Ile-L-Ala-OH^[2b] [ein Modell für den C-Terminus des bei der Alzheimerkrankheit involvierten Amyloid- β -Peptides A β (1–42)] effektiv binden und sogar die Fibrillenbildung des nativen A β (1–42) *in vitro* inhibieren können.^[11] Die Komplexbildung wird hierbei allerdings ebenfalls entscheidend von hydrophoben Wechselwirkungen des Rezeptors mit den Seitenketten des Tetrapeptides bestimmt. Ähnliche Beobachtungen machten Kilburn et al. beim Screening einer Bibliothek flexibler zweiarmiger Guanidiniumrezeptoren für Tripeptide.^[2d] In wässriger Lösung wird das farbstoffmarkierte anionische Tripeptid Glu(*Or*Bu)-Ser(*Or*Bu)-Val effektiv komplexiert ($K = 8 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$), wohingegen das entschützte Substrat überhaupt nicht gebunden wird. Dies deutet wiederum auf eine starke Beteiligung von hydrophoben Wechselwirkungen (offensichtlich mit den *t*Bu-Schutzgruppen) hin. Auch das künstliche Vancomycin-Analogon von Ellman et al., bei dem eine Carboxylatbindungsstelle an ein starres Tripeptid aus nichtnatürlichen hydrophoben Aminosäuren geknüpft wurde, bindet über hydrophobe Wechselwirkungen an das Substrat.^[2e]

Wir zeigen hier erstmals auf der Basis eines quantitativen experimentellen Screenings einer kleinen, aber maßgeschneiderten Rezeptorbibliothek **1** in Kombination mit einer statistischen QSAR-Analyse (QSAR: Quantitative Struktur-Aktivitäts-Beziehung), dass auch ein nichthydrophobes Tetrapeptid **2** in Wasser durch einen künstlichen Rezeptor **1** effizient gebunden werden kann, ohne dass dafür zusätzliche hydrophobe oder Metall-Ligand-Wechselwirkungen notwendig sind. Dies ist unseres Wissens das erste Beispiel für eine Tetrapeptidbindung in Wasser, die ausschließlich auf H-Brücken und Ionenpaaren basiert, und unterstreicht darüber hinaus eindrucksvoll das Potenzial dieses kombinierten experimentellen und theoretischen Ansatzes zur Auffindung supramolekularer Rezeptoren.

Der generelle Aufbau unserer Rezeptorbibliothek **1** ist in Abbildung 1 gezeigt: Eine effiziente Carboxylatbindungsstelle für den C-Terminus des Tetrapeptides^[12,13] wird mit einem linearen Tripeptid verknüpft, das die Bildung eines über H-Brücken gebundenen β -Faltblattes mit dem Substrat **2** ermöglichen sollte. Wechselwirkungen zwischen den Aminosäure-Seitenketten im Substrat und im Rezeptor soll-

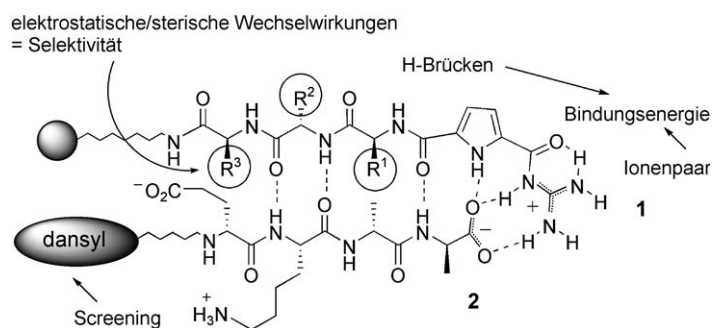


Abbildung 1. Komplexbildung zwischen der Rezeptorbibliothek **1** und dem dansylierten Tetrapeptidsubstrat **2** (Dansyl = 5-(Dimethylamino)naphthalin-1-sulfonyl).

ten den Komplex zusätzlich stabilisieren und darüber hinaus zu der gewünschten Substratselektivität führen. Auf der Grundlage dieses Rezeptorentwurfes (abgekürzt CBS-AA¹-AA²-AA³) ist zudem eine einfache und schnelle Festphasen-Peptidsynthese möglich, die zusätzlich durch kombinatorische Variation der Aminosäuren der Tripeptideinheit des Rezeptors die Einführung von struktureller Diversität in die Bibliothek gestattet.^[14]

Wir synthetisierten daher eine Rezeptorbibliothek **1** an Amino-TentaGel als festem Träger nach einem Standard-Fmoc-Protokoll (Fmoc = 9-Fluorenylmethoxycarbonyl) unter Verwendung des kombinatorischen „Split-Mix-Verfahrens“^[15] und der IRORI-Radiofrequenz-Codierung.^[16] Bei jedem der drei Kupplungsschritte wurden die acht Aminosäuren Lys(Boc), Tyr(*t*Bu), Ser(*t*Bu), Glu(OBzl), Phe, Val, Leu und Trp verwendet, wodurch sich eine Bibliothek mit 512 Mitgliedern ergab (Boc = *tert*-Butoxycarbonyl, Bzl = Benzyl). Diese acht Aminosäuren wurden aus den zwanzig proteinogenen so ausgewählt, dass sie einen möglichst repräsentativen Querschnitt mit unterschiedlichen polaren, geladenen und hydrophoben Seitenketten innerhalb der späteren Bibliothek darstellen würden. Abschließend wurden die Seitenketten in der so synthetisierten Bibliothek mit HBr (25%) in Eisessig entschützt, um die Rezeptoren in der jeweiligen geladenen Form zu erhalten. Als erstes Zielsubstrat zur Untersuchung der Bindungseigenschaften dieser Bibliothek wählten wir das Tetrapeptid D-Glu-L-Lys-D-Ala-D-Ala-OH (EKAA). Dieses ist nicht nur wegen seiner Flexibilität und seines polaren Charakters eine Herausforderung, sondern auch aus biologischer Sicht interessant, da diese Sequenz eine entscheidende Rolle bei der Synthese von Bakterienzellwänden spielt.^[17] Um die Bindungseigenschaften der 512 kombinatorisch synthetisierten Rezeptoren in wässriger Lösung untersuchen zu können, wurde ein fluoreszierendes und wasserlösliches Derivat **2** dieses Tetrapeptides EKAA an Wang-Harz als festem Träger synthetisiert (Standard-Fmoc-Protokoll). Genauere Informationen zur Synthese des markierten Substrates finden sich in den Hintergrundinformationen.

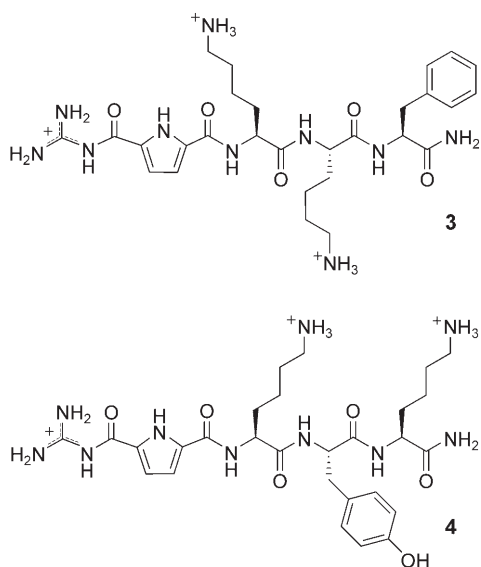
In einem ersten Experiment wurde ein qualitatives Festphasen-Screening in Wasser durchgeführt (Inkubierung der Bibliothek mit einer 5 μM Lösung des markierten Tetrapeptides **2** in 20 μM Bis-Tris-Puffer, pH 6.0; Bis-Tris = 2,2-Bis(hydroxyethyl)iminotris(hydroxymethyl)methan). Hierbei zeigte sich, dass in der Tat Rezeptoren vom Typ **1** in der Lage sind, **2** unter diesen Bedingungen effizient zu komplexieren. Wir bestimmten anschließend die Bindungseigenschaften aller 512 Rezeptoren in der Bibliothek mittels eines Fluoreszenz-Assays in 200 μM Bis-Tris-Puffer bei pH 6.0 unter Verwendung eines Hochdurchsatz-Mikrotiterplatten-Lesers auch quantitativ auf der Festphase.^[2b,18] Diesem Assay zufolge variieren die Bindungsaffinitäten der Rezeptoren innerhalb der Bibliothek für **2** von $K_{\text{ass}} = 17100 \text{ M}^{-1}$ (beste Rezeptoren) bis $K_{\text{ass}} < 20 \text{ M}^{-1}$ (schlechteste Rezeptoren) und damit um mehr als zwei Größenordnungen (Tabelle 1)!

Zur Verifizierung der Festphasen-Bindungsdaten führten wir Komplexbildungsstudien für die zwei ausgewählten Rezeptoren **3** und **4** auch in Lösung durch.

Tabelle 1: Ausgewählte Assoziationskonstanten K_{ass} für die Komplexbildung des dansylierten Tetrapeptides **2** (EKAA) durch Rezeptoren vom Typ **1** (CBS-AA¹-AA²-AA³-Harz).^[a]

Eintrag	Rezeptor	K_{ass} [M^{-1}]
1	CBS-KKF	17 100
2	CBS-KKL	15 400
3	CBS-KKE	15 300
4	CBS-KLF	8 800
5	CBS-FKK	6 200
6	CBS-KYK	5 900
7	CBS-FEK	1 600
8	CBS-VFF	660
9	CBS-VYV	360
10	CBS-KEE	100

[a] Ermittelt durch ein quantitatives Screening der Bibliothek in wässriger Pufferlösung [abgeschätzter experimenteller Fehler von $K \pm 20\%$].



Diese beiden Rezeptoren wurden dafür an Rink-Amid-Harz nach Standard-Fmoc-Protokoll nachsynthetisiert (Details zur Synthese finden sich in den Hintergrundinformationen). Rezeptor **3** (CBS-KKF) zeigte im Festphasen-Screening die höchste Affinität (Eintrag 1, Tabelle 1), **4** (CBS-KYK) dagegen nur eine mittlere Affinität (Eintrag 6). UV-Titrationsexperimente^[19] (Abbildung 2) bestätigten, dass beide Rezeptoren auch in Lösung stabile Komplexe mit dem unmarkierten Tetrapeptid N-Ac-EKAA-OH bilden. Die durch nichtlineare Kurvenregression aus den Bindungsisothermen berechneten Bindungskonstanten ($K_{\text{ass}} = 15400 \text{ M}^{-1}$ für **3** und 6200 M^{-1} für **4**) stimmen sehr gut mit den Daten aus dem quantitativen Festphasen-Screening überein ($K_{\text{ass}} = 17100$ bzw. 5900 M^{-1}).

Dies zeigt, dass die Ergebnisse des Festphasen-Screenings in der Tat der Situation in freier Lösung entsprechen. Ein Vergleich der relativen Bindungsaffinitäten innerhalb der Bibliothek (Tabelle 1) zeigt, dass die Komplexbildung wesentlich von der Ladung des Rezeptors abhängt. Die Rezeptoren, die zwei Lysinreste zusätzlich zum Guanidiniumkation aufweisen, bilden die stabilsten Komplexe mit Bindungskonstanten von $K_{\text{ass}} > 10^4 \text{ M}^{-1}$ (z. B. Einträge 1–3 in Tabelle 1),

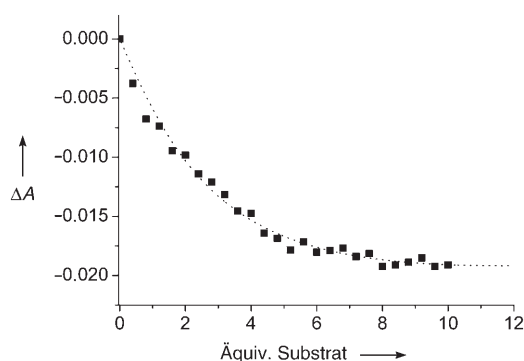


Abbildung 2. Bindungsisotherme für die Komplexbildung des Tetrapeptids N-Ac-EKAA-OH durch Rezeptor **3**, erhalten aus einer UV-Titration und korrigiert um die durch Verdünnung hervorgerufenen Absorptionsänderungen. Die gestrichelte Linie stellt die berechnete Kurvenanpassung für eine 1:1-Komplexierung dar.

wohingegen neutrale oder insgesamt anionische Rezeptoren das Substrat nicht effizient binden. So sinkt die Affinität von $K_{\text{ass}} = 15300 \text{ M}^{-1}$ für CBS-KKE (Eintrag 3) auf $K_{\text{ass}} \approx 100 \text{ M}^{-1}$ für CBS-KEE (Eintrag 10). Dies bedeutet einen Rückgang der Affinität um zwei Größenordnungen beim Austausch einer einzelnen Aminosäure (allerdings wird hierbei ein zuvor dikationischer Rezeptor in einen neutralen umgewandelt). Hydrophobe Wechselwirkungen spielen keine Rolle für die Substratbindung, denn Rezeptoren mit ausschließlich hydrophoben Seitenketten (z. B. Eintrag 8 oder 9) weisen nur eine moderate Affinität auf ($K \leq 1000 \text{ M}^{-1}$).

Diese qualitativen Trends für das Bindungsverhalten unserer flexiblen Rezeptoren vom Typ **1** für das Tetrapeptid EKAA (**2**) wurden anschließend durch eine QSAR-Analyse quantifiziert. Um einen ersten Eindruck bezüglich der wichtigsten für eine effektive Bindung nötigen Rezeptoreigenschaften zu erhalten, wurden einfache binäre Deskriptoren verwendet. Dabei wurden die folgenden neun Eigenschaften der drei Aminosäuren im Rezeptor in binärer Weise kodiert: sauer (= negativ geladen unter physiologischen Bedingungen), acyclisch, aliphatisch, basisch (= positiv geladen), geladen (= entweder sauer oder basisch), hydrophob, groß, mittel und klein.^[20] Abbildung 3 zeigt die aus der QSAR-Analyse erhaltenen Regressionskoeffizienten für diese neun binären Deskriptoren innerhalb der drei Aminosäuren des Rezeptors. Man sieht deutlich, dass die Eigenschaft „basisch“ (= positiv geladene Seitenkette) besonders in der ersten Aminosäure neben der Carboxylatbindungsstelle einen großen positiven Einfluss auf $\lg K_{\text{ass}}$ hat, wohingegen die Eigenschaft „sauer“ (= negativ geladene Seitenkette) einen negativen Einfluss hat; andere Eigenschaften wie Hydrophobie spielen so gut wie keine Rolle. Dies zeigt deutlich, dass die Komplexbildung zwischen Rezeptor **1** und Tetrapeptid **2** hauptsächlich durch Ladungswchselwirkungen bestimmt wird.

Des Weiteren wurde ein QSAR-Modell aufgestellt, um auch die Bindungseigenschaften von Rezeptoren vorherzusagen, die nicht Mitglieder unserer ursprünglichen Bibliothek waren. Zur Verbesserung der Güte des mathematischen Modells erweiterten wir den ersten Satz von neun binären Deskriptoren, die z. B. keine Unterscheidung zwischen den basischen Aminosäuren Lysin oder Histidin ermöglichen,

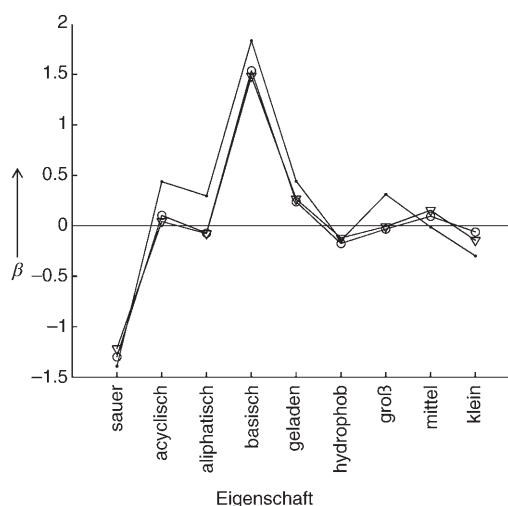


Abbildung 3. Größe der Regressionskoeffizienten (β) für die binären Deskriptoren. Die Ladung der Aminosäure (AS) beeinflusst die Komplexstabilität sehr stark. Für basische AS erhöht sich K_{ass} (positives Vorzeichen von β), für saure Aminosäuren ist es herabgesetzt. Alle anderen Deskriptoren, z. B. Hydrophobie, haben wenig Einfluss. Des Weiteren sieht man, dass der Effekt für die erste AS größer ist als für die weiteren AS (größere Koeffizienten β). --- erste AS, \circ zweite AS, ∇ dritte AS.

indem wir 49 ausgewählte physikalisch-chemische, energetische und konformative Eigenschaften der Aminosäuren kodierten.^[21] Dadurch ist eine individuelle Beschreibung aller 20 proteinogenen Aminosäuren möglich. Dieser Satz an Deskriptoren entspricht einem Ausschnitt aus dem Aminosäure-Index von Tomii und Kanehisa,^[21,22] der durch eine Clusteranalyse ermittelt wurde.^[22] Eine Auftragung der experimentellen $\lg K_{\text{ass}}$ -Werte gegen die Kreuzvalidierten Vorhersagen von $\lg K_{\text{ass}}$ ist in Abbildung 4 gezeigt.^[23]

Eine quantitative Auswertung dieses mathematischen Modells unter Verwendung einer Variablenselektionsroutine^[24,25] bestätigte ebenfalls, dass die Bindung des Tetrapeptids ausschließlich auf Ladungswechselwirkungen beruht.^[26] Die unterschiedlichen Deskriptoren, die Eigenschaften wie Hydrophobie, aromatischen Charakter oder Van-der-Waals-Wechselwirkungen beschreiben, haben kaum einen Einfluss auf die Güte des Modells.

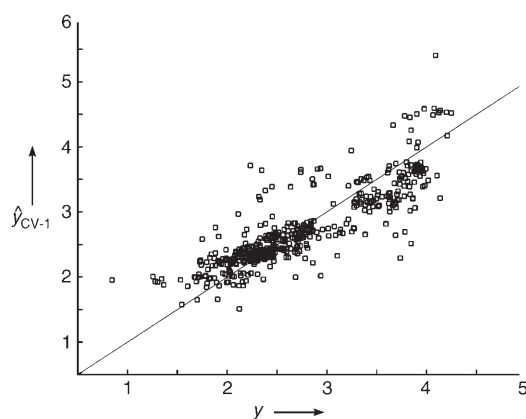


Abbildung 4. Experimentelle (y) gegen vorhergesagte Werte für $\lg K_{\text{ass}}$ ($\hat{y}_{\text{CV-1}}$).

Schließlich wurden auf der Basis des gesamten QSAR-Modells (d. h. aller $3 \times 49 = 147$ Variablen) die Bindungsaffinitäten einer virtuellen kombinatorischen Bibliothek mit allen möglichen Tripeptid-Sequenzen aus den Kombinationen aller 20 proteinogenen Aminosäuren vorhergesagt (Bibliothekgröße $n = 8000$ Mitglieder). Diese virtuelle Bibliothek ist 15-mal größer als die von uns für das experimentelle Screening eingesetzte Rezeptorbibliothek **1** (512 Mitglieder). Basierend auf dieser Vorhersage findet sich allerdings selbst unter den 7488 virtuellen Rezeptoren, die bisher noch nicht synthetisiert worden sind, keiner, der das Tetrapeptid **2** signifikant stärker bindet. Für den besten Rezeptor in dieser viel größeren virtuellen Bibliothek, CBS-KKR, wird z. B. eine Bindungskonstante vorhergesagt, die nur etwa dreimal höher ist als die des besten Rezeptors (CBS-KKF) in unserer ursprünglichen Bibliothek ($K = 50000$ gegenüber 17100 M^{-1}). Der zusätzliche finanzielle und zeitliche Aufwand, der für die Synthese und Untersuchung einer solchen, um den Faktor 15 größeren Rezeptorbibliothek auf der Basis aller 20 proteinogenen Aminosäuren nötig gewesen wäre, hätte sich also nicht ausgezahlt.^[27] Unsere wesentlich kleinere, aber auf einer gezielten Auswahl von Aminosäuren beruhende, maßgeschneiderte Bibliothek reicht völlig aus.

Die hier vorgestellte Kombination des quantitativen Screenings einer kombinatorischen Bibliothek in Kombination mit einer statistischen QSAR-Analyse zeigt drei wichtige Dinge auf: 1) Vollständig flexible einarmige künstliche Rezeptoren **1** binden auch polare Tetrapeptide wie EKAA effizient in Wasser. 2) Für dieses Substrat sind Ladungswechselwirkungen in Kombination mit H-Brücken ausschlaggebend für die Komplexbildung – zusätzliche hydrophobe oder aromatische Wechselwirkungen werden also nicht unbedingt benötigt, um eine effiziente Peptidbindung unter physiologischen Bedingungen zu erreichen. 3) Kleine, aber maßgeschneiderte Bibliotheken („fokussierte Bibliotheken“) sind ausreichend, um stellvertretend die Eigenschaften auch deutlich größerer Ensembles zu untersuchen. Die reine Größe einer kombinatorischen Bibliothek ist also nicht entscheidend, solange die Bibliothek die für die jeweilige Fragestellung richtige Diversität aufweist.^[28] Momentan arbeiten wir daran, die Eignung solcher Peptidrezeptoren, wie sie hier gefunden wurden, für die Synthese selektiver Peptidsensoren zu untersuchen.

Eingegangen am 25. Mai 2005

Online veröffentlicht am 18. Oktober 2005

Stichwörter: Kombinatorische Chemie · Rezeptoren · Struktur-Aktivitäts-Beziehungen · Supramolekulare Chemie

[1] a) H.-J. Böhm, G. Klebe, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2750–2778; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2588–2614; b) E. A. Meyer, R. K. Castellano, F. Diederich, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 1244–1287; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1210–1250.

[2] Ausgewählte Beispiele künstlicher Peptidrezeptoren: a) C. Schmuck, L. Geiger, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8898–8899; b) C. Schmuck, M. Heil, *ChemBioChem* **2003**, *4*, 1232–1238; c) S. Rensing, T. Schrader, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2161–2164; d) K. Jensen, T. M. Braxmeier, M. Demarcus, J. G. Frey, J. D. Kilburn,

- Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 1300–1309; e) R. Xuo, G. Greiveldinger, L. E. Marenus, A. Cooper, J. A. Ellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4898–4899; f) M. Sirish, H.-J. Schneider, *Chem. Commun.* **1999**, *10*, 907–908; g) M. Davies, M. Bonnat, F. Guillier, J. D. Kilburn, M. Bradley, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 8696–8703; h) A. Hossain, H. J. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11208–11209; i) R. Breslow, Z. Yang, R. Ching, G. Trojandt, F. Odobel, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 3536–3537; j) J. S. Albert, M. W. Pecuh, A. D. Hamilton, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 1455–1467.
- [3] Übersichtsartikel über künstliche Peptidrezeptoren: a) M. W. Pecuh, A. D. Hamilton, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 2479–2494; b) H.-J. Schneider, *Adv. Supramol. Chem.* **2000**, *6*, 185–216; c) H.-J. Schneider, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 890–892; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 848–850; d) T. H. Webb, C. S. Wilcox, *Chem. Soc. Rev.* **1993**, *22*, 383–395.
- [4] Übersichtsartikel über hydrophobe Wechselwirkungen: a) B. Widom, P. Bhimalapuram, K. Koga, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2003**, *5*, 3085–3093; b) L. R. Pratt, A. Pohorille, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 2671–2691; c) N. T. Southall, K. A. Dill, A. D. J. Haymet, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 521–533.
- [5] J. P. Glusker, *Top. Curr. Chem.* **1998**, *198*, 1–56.
- [6] L.-J. Prins, D. N. Reinhoudt, P. Timmerman, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2446–2492; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2383–2426.
- [7] a) M. Meot-Ner, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 213–284; b) G. A. Jeffrey, *An Introduction to Hydrogen Bonding*, Oxford University Press, New York, **1997**; c) J. Israelachvili, *Intermolecular & Surface Forces*, 2. Aufl., Academic Press, London, **1992**.
- [8] Die Bedeutung hydrophober Wechselwirkungen bei Peptid-Peptid-Interaktionen haben Kelly et al. bei Modellsystemen im Rahmen ihrer Arbeiten zu künstlichen β -Faltblattstrukturen nachgewiesen („hydrophobic cluster formation“): a) P. Chitnumsub, W. R. Fiori, H. A. Lashuel, H. Diaz, J. W. Kelly, *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 39–59; b) K. Y. Tsang, H. Diaz, N. Graciana, J. W. Kelly, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3988–4005; c) J. P. Schneider, J. W. Kelly, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2169–2187.
- [9] Übersichtsartikel zu aromatischen Wechselwirkungen in Peptiden und supramolekularen Modellsystemen: a) M. L. Waters, *Biopolymers* **2004**, *76*, 435–445; b) M. L. Waters, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, *6*, 736–741; c) C. A. Hunter, K. R. Lawson, J. Perkins, C. J. Urch, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **2001**, 651–669.
- [10] Einige neuere Beispiele für metallbasierte Peptidbindung: a) A. Buryak, K. Severin, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 4875–4878; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4771–4774; b) H. Imai, H. Munakata, Y. Uemori, N. Sakura, *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 1211–1213; c) A. T. Wright, E. V. Anslyn, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1341–1344; d) M. Sirish, V. Chertkov, H.-J. Schneider, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 1181–1188; e) H. Ogoshi, T. Mizutani, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 81–89.
- [11] C. Schmuck, P. Frey, M. Heil, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 628–631.
- [12] a) C. Schmuck, V. Bickert, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4579–4581; b) C. Schmuck, L. Geiger, *Curr. Org. Chem.* **2003**, *7*, 1485–1502; c) C. Schmuck, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 709–718.
- [13] Umfassende Übersichtsartikel zum Thema Anionenerkennung: a) K. A. Schug, W. Lindner, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 67–113; b) M. D. Best, S. L. Tobey, E. V. Anslyn, *Coord. Chem. Rev.* **2003**, *240*, 3–15; c) P. A. Gale, *Coord. Chem. Rev.* **2003**, *240*, 191–221; d) R. J. Fitzmaurice, G. M. Kyne, D. Douheret, J. D. Kilburn, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2002**, 841–864; e) T. S. Snowden, E. V. Anslyn, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 740–746; f) P. D. Beer, P. Schmitt, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1997**, *1*, 475–482; g) A. Bianchi, K. Bowman-James, E. Garcia-España, *Supramolecular Chemistry of Anions*, Wiley-VCH, New York, **1997**; h) F. P. Schmidtchen, M. Berger, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1609–1646; i) C. Seel, A. Galán, J. deMendoza, *Top. Curr. Chem.* **1995**, *175*, 101–132.
- [14] Übersichtsartikel zum Einsatz kombinatorischer Bibliotheken zur Auffindung von künstlichen Rezeptoren: a) N. Srinivasan, J. D. Kilburn, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2004**, *8*, 305–310; b) B. Linton, A. D. Hamilton, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 307–312; c) Y. R. DeMiguel, J. M. K. Sanders, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, *2*, 417–421; d) W. C. Still, *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 155–163.
- [15] K. S. Lam, M. Lebl, V. Krchnak, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 411–448.
- [16] A. W. Czarnik, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1997**, *1*, 60–66.
- [17] a) R. D. Süsmuth, *ChemBioChem* **2002**, *3*, 295–298; b) K. C. Nicolaou, C. N. Boddy, S. Bräse, N. Winssinger, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2230–2287; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2096–2152; c) D. H. Williams, B. Bardsley, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1264–1286; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1173–1193; d) C. T. Walsh, S. L. Fisher, I.-S. Park, M. Prahalad, Z. Wu, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 21–28.
- [18] a) P. W. Smith, G. Chang, W. C. Still, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1587–1590; b) S. S. Yoon, W. C. Still, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 567–578; c) Y. Cheng, T. Suenaga, W. C. Still, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 1813–1814; d) R. Arienzo, J. D. Kilburn, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 711–719.
- [19] a) C. S. Wilcox in *Frontiers in Supramolecular Chemistry and Photochemistry* (Hrsg.: H.-J. Schneider, H. Dürr), VCH, Weinheim, **1990**, S. 123–144; b) K. Hirose, *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2001**, *39*, 193–209; c) K. A. Connors, *Binding Constants*, Wiley, New York, **1987**; d) L. Fielding, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 6151–6170.
- [20] Selbst für diese einfachen binären Deskriptoren ist die Güte des mathematischen Modells bereits sehr gut, wenn man berücksichtigt, dass auch die zugrunde liegenden experimentellen Daten mit Fehlern behaftet sind: 72% der Variation in den Daten können erklärt werden. ($R^2_{CV-1} = 0.72$, $RMSEP_{CV-1} = 0.87$, $n = 476$). Die statistischen Gütekennzahlen für die Testdatenvorhersage (gemittelt über 100 Partitionen in Test- und Trainingsdaten) sind nahezu identisch zu den Gütekennzahlen der Kreuzvalidierung ($R^2_{Test,Avg} = 0.72$, $RMSEP_{Test,Avg} = 0.87$, $\theta = 3$), was die enorme Stabilität des Modells unterstreicht.
- [21] a) M. M. Gromiha, M. Oobatake, A. Sarai, *Biophys. Chem.* **1999**, *82*, 51–67; b) M. M. Gromiha, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2003**, *43*, 1481–1485.
- [22] K. Tomii, M. Kanehisa, *Protein Eng.* **1996**, *9*, 27–36.
- [23] Die 49 Variablen des Aminosäureindex wurden vor der Modellbildung autoskaliert (d. h., von jeder Variablen wurde der jeweilige Mittelwert subtrahiert und durch die Standardabweichung der Variablen dividiert), da die Indices auf verschiedenen Skalen gemessen wurden (z. B. Molekulargewicht und isoelektrischer Punkt). Bei Verwendung dieser 49 diversen Deskriptoren für jede der drei Aminosäuren (d. h. Gesamtzahl Deskriptoren: 147) wurde eine Modellqualität erreicht, die der des binären Modells ähnlich war ($R^2_{CV-1} = 0.71$, $RMSEP_{CV-1} = 0.88$, $\theta = 3$, $n = 476$; $R^2_{Test,Avg} = 0.73$, $RMSEP_{Test,Avg} = 0.85$) – allerdings ermöglichte dieses Modell die Unterscheidung aller 20 proteinogenen Aminosäuren.
- [24] a) K. Baumann, H. Albert, M. von Korff, *J. Chemom.* **2002**, *16*, 339–350; b) K. Baumann, M. von Korff, H. Albert, *J. Chemom.* **2002**, *16*, 351–360.
- [25] M. Stone, *J. Roy. Statist. Soc. Ser. B* **1974**, *36*, 111–147.
- [26] Der isoelektrische Punkt der Aminosäure-Seitenkette reicht nahezu aus, um die Bindungsaffinitäten der Rezeptoren zufrieden stellend vorherzusagen. Selbst allein auf der Basis dieser einen Variablen für alle drei Aminosäuren im Rezeptor ist die Güte des mathematischen Modells nur wenig schlechter als bei Verwendung aller 49 Deskriptoren ($R^2_{CV-1} = 0.69$, $RMSEP_{CV-1} = 0.91$, $\theta = 1$, $n = 476$; $R^2_{Test,Avg} = 0.69$, $RMSEP_{Test,Avg} = 0.91$).
- [27] Für einen kritischen Kommentar zur Größe kombinatorischer Bibliotheken bei der Wirkstoff-Findung siehe: R. Breinbauer,

I. R. Vetter, H. Waldmann, H. *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3002–3015; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2878–2890.

- [28] Die Bestimmung dieser „richtigen“ Diversität von kombinatorischen Bibliotheken ist derzeit Gegenstand intensiver Forschungen: a) G. Chen, S. Zheng, X. Luo, J. Shen, W. Zhu, H. Liu, C. Gui, J. Zhang, M. Zheng, C. M. Pua, K. Chen, H. Jang, *J. Comb. Chem.* **2005**, *7*, 398–406; b) B. K. Shoichet, *Nature* **2004**, *432*, 862–865; c) S. L. Schreiber, *Chem. Eng. News* **2003**, *81*, 51–61.