

DOI: 10.1002/ange.200601111

Ein Kleeblattknoten aus Aminosäuren und Steroiden***Martin Feigel,* Rüdiger Ladberg, Simon Engels,
Regine Herbst-Irmer* und Roland Fröhlich**

Lineare Oligoamide aus nichtnatürlichen, konformativ fixierten Aminosäuren können helicale oder bandartige Sekundärstrukturen bilden.^[1] Daneben konnte gezeigt werden, dass Amid-Makrocyclen sogar molekulare Knoten bilden, wenn die verwendeten monomeren Einheiten konkave Geometrie aufweisen.^[2] Die konkave Oberfläche der Cholsäuren wurde sehr häufig als Gerüststruktur in der supramolekularen Chemie genutzt.^[3] Wir haben nun alle drei genannten Elemente zusammengeführt und Cyclopeptide aus Aminocholsäuren hergestellt. Dabei fanden wir, dass cyclische Amide, die alleine aus Aminocholsäuren bestehen, Strukturen mit offenen Hohlräume bilden, während Cyclopeptide aus Aminocholsäuren und natürlichen Dipeptiden geschlossene, kompakte Strukturen ergeben, die durch β -Schleifen der Dipeptide ermöglicht werden.^[4] Hier berichten wir über die unerwartete Geometrie cyclischer Oligoamide, deren Sequenz alternierend aus einer Aminodesoxycholsäure und einer natürlichen Aminosäure besteht.

Ausgehend vom geschützten Dipeptid **1** lassen sich lineare Sequenzen herstellen, die alternierend 3- α -Aminodesoxycholsäure und Valin enthalten (Schema 1). So führt die Fragmentkondensation von **1b** und **1c** unter standardmäßigen EDC-Peptidkuppelungsbedingungen zum Tetrapeptid **2a** und anschließend zum Hexapeptid **3**.

Nach Entschützen von **3** und Aktivierung des C-Terminus in Form des Pentafluorphenolesters erhält man die Makrocyclen Cyclo(valin-3 α -aminodesoxycholsäureamid)₃ (**4**) und Cyclo(valin-3 α -aminodesoxycholsäureamid)₆ (**5**). Die Verbin-

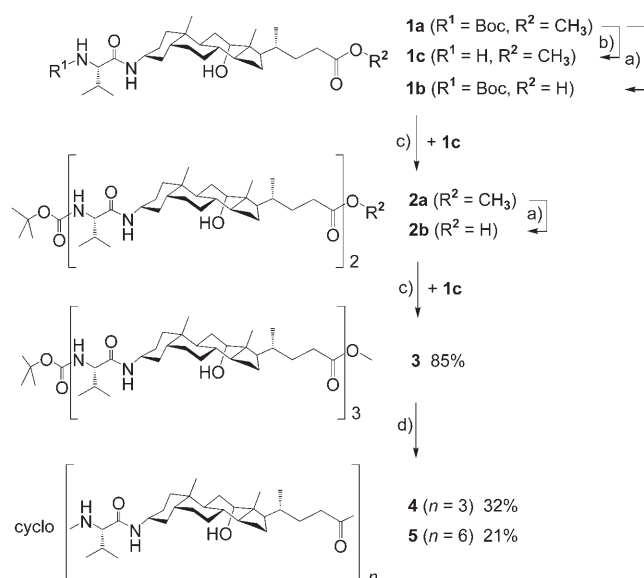
[*] Prof. Dr. M. Feigel, Dr. R. Ladberg, S. Engels
Fakultät für Chemie
Ruhr-Universität Bochum
Universitätsstraße 150, 44780 Bochum (Deutschland)
Fax: (+49) 234-321-4497
E-Mail: feigel@indi-f.nsc.ruhr-uni-bochum.de
Dr. R. Herbst-Irmer^[‡]
Institut für Anorganische Chemie
Universität Göttingen
Tammannstraße 4, 37077 Göttingen (Deutschland)
Dr. R. Fröhlich^[‡]
Organisch-chemisches Institut
Universität Münster
Corrensstraße 40, 48149 Münster (Deutschland)

[‡] Röntgenstrukturanalyse

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.



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



Schema 1. Synthese der Makrolactame **4** und **5**. a) KOH, Methanol, Wasser; b) Trifluoressigsäure (TFA), Dichlormethan; c) EDC, HOBT, Dichlormethan; d) Bedingung a, dann: 1. Dicyclohexylcarbodiimid, Pentafluorphenol, 2. TFA, 3. NaHCO_3 , Wasser, Chloroform, Dichlormethan. Einzelheiten zur Synthese sind in den Hintergrundinformationen zu finden.

dungen werden nach Chromatographie in akzeptablen Ausbeuten gewonnen (Schema 1). Das ^1H -NMR-Spektrum von **4** in CDCl_3 spiegelt die erwartete C_3 -Symmetrie der Verbindung wider; ein teilweise verbreiteter Signalsatz für Valin und die Aminocholansäure wird beobachtet (Abbildung 1). Beim Abkühlen der Lösung verbreitern sich die Signale weiter und spalten bei 223 K schließlich in einen nicht vollständig aufgelösten dreifachen Signalsatz für drei unterschiedliche Valin-Aminocholansäure-Einheiten auf. Offenbar führen intramolekulare Wasserstoffbrücken und/oder intermolekulare Aggregation zur Nichtäquivalenz der Gruppen.

Anders als das Spektrum von **4** zeigt das ^1H -NMR-Spektrum von **5** bereits bei Raumtemperatur zwei unterschiedliche

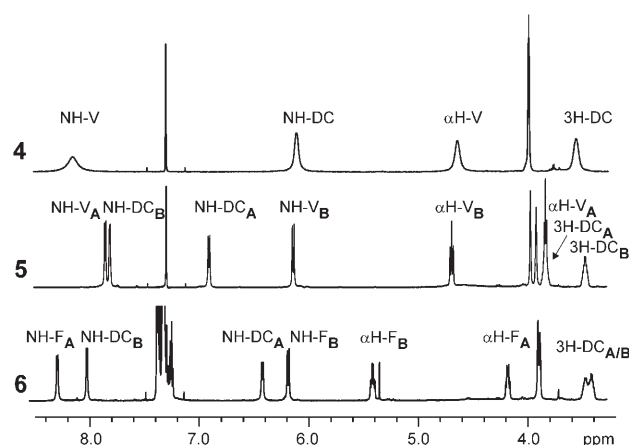
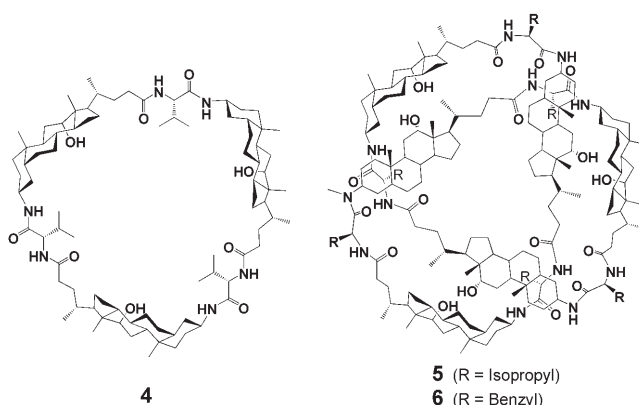


Abbildung 1. ^1H -NMR-Spektren (600 MHz) der Makrolactame **4**, **5** und **6** in Chloroform. Abkürzungen: V = Valin, F = Phenylalanin, DC = 3α -Aminodesoxycholansäure; die zwei unterschiedlichen Aminosäure-Aminocholansäure-Einheiten in **5** und **6** sind mit **A** und **B** bezeichnet.

Signalsätze gleicher Intensität für die Protonen der insgesamt sechs Valin-Aminocholansäure-Einheiten (Abbildung 1). Die beiden Signalsätze sind in Abbildung 1 als **A** und **B** bezeichnet. NOE-Kreuzsignale werden innerhalb der Protonen jeder Valin-Aminocholansäure-Einheit beobachtet, jedoch treten auch einige NOE-Kontakte zwischen Valinprotonen vom Typ **A** und Valinprotonen **B** auf.^[5] Offenbar kommen sich die Valineinheiten **A** und **B** räumlich nahe, was nur möglich ist, wenn an dieser Stelle der Makrocyclus eingeschnürt oder überbrückt ist. Ähnliche Spektren und NOE-Daten werden auch für den Makrocyclus **6** gefunden, der Phenylalanin anstelle von Valin als natürliche Aminosäure enthält, und der ebenfalls nach Schema 1 hergestellt wurde.^[6] Die Aufspaltung der NMR-Signale von **5** und **6** bleibt auch in polaren Lösungsmitteln (z. B. DMF) und bei erhöhter Temperatur (323 K) erhalten. Damit ist es unwahrscheinlich, dass Wasserstoffbrücken alleine für die Aufspaltung maßgeblich sind; für **5** wurde daher die Struktur eines molekularen Knotens postuliert, aber zunächst nicht bewiesen.^[7]

Kristalle von **5**, die für eine Röntgenstrukturbestimmung geeignet sind, wurden aus *n*-Propanol gewonnen. Die Ergebnisse zeigen eindeutig, dass **5** die Struktur eines molekularen Kleeblattknotens hat (Schema 2, Abbildung 2).^[8] Der



Schema 2. Strukturformeln von **4**, **5** und **6**.

Knoten hat nahezu C_3 -Symmetrie. Er besteht aus drei identischen Schleifen mit jeweils einer äußeren Aminocholansäure, aus drei Kreuzungsbereichen mit je zwei Valin-Aminosäuren und einem zentralen Bereich mit drei weiteren, inneren Aminocholansäuren.

Kleeblattknoten existieren in zwei enantiomeren Formen, die je nach Symmetrie der enthaltenen Überkreuzungen ihrer Kette als 3_1^{ppp} und 3_1^{mmm} bezeichnet werden.^[9] Die beiden möglichen Knotenformen von **5** sind Diastereomere, da hier die Kette bereits chirale L-Valin- und 3α -Aminocholansäure-Einheiten enthält. Das 3_1^{ppp} -Isomer von **5** wird isoliert, ein entsprechendes Isomer mit 3_1^{mmm} -Symmetrie kann nicht gefunden werden. Offenbar führt die Chiralität der Ringelegende dazu, dass Überkreuzungen vom p-Typ bevorzugt sind. Bei näherer Betrachtung der Kreuzungsbereiche in der Festkörperstruktur von **5** zeigt sich, dass Wasserstoffbrücken zwischen den Valineinheiten **A** und **B** vorliegen. Auch ist die OH-Gruppe einer der Aminodesoxycholansäuren an einer

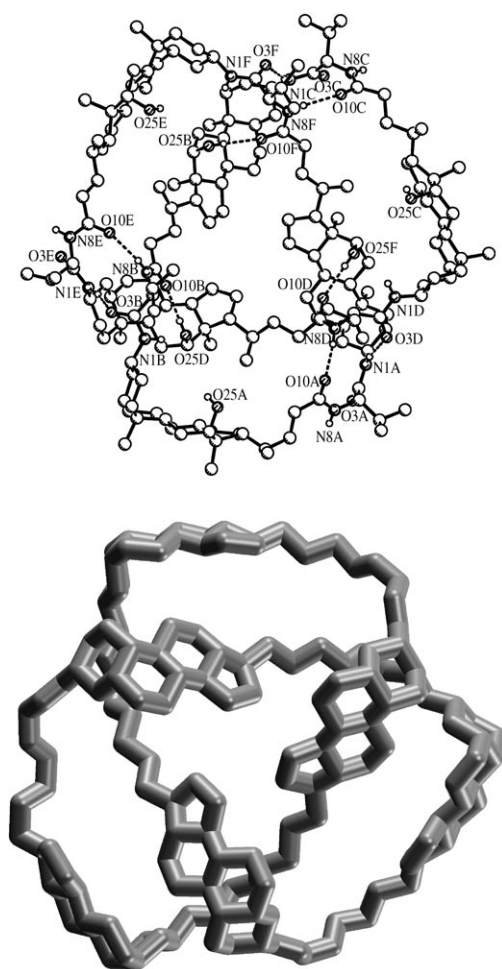


Abbildung 2. Struktur von **5** im Festkörper. Oben: Schakal-Abbildung mit intramolekularem Wasserstoffbrückenmuster. Unten: Die Darstellung ohne Seitengruppen verdeutlicht die Topologie des Knotens (Ansicht von der Rückseite der oberen Zeichnung).

Wasserstoffbrücke zu einem gegenüberliegenden Valin beteiligt (Abbildung 2). Zusätzlich fixiert ein Wassermolekül die OH-Gruppen von Steroiden vom Typ **A** und **B** im Kreuzungsbereich (eine detaillierte Abbildung hierzu befindet sich in den Hintergrundinformationen).

Die Knoten **5** und **6** haben schalenförmige Gestalt und weisen eine nichtpolare äußere sowie eine polare innere Oberfläche auf. Der Hohlraum von **5** ist im Festkörper mit zwei Propanol- und drei Wassermolekülen gefüllt. Die Unterschiede in Form und Polarität der inneren und äußeren Oberfläche von **5** sind in Abbildung 3 gezeigt.

Es ist schwierig, eine Antwort auf die Frage zu finden, warum der Knoten **5** in doch recht hohen Ausbeuten entsteht: Da in der abschließenden Ringschlussreaktion die Amidbindung irreversibel geschlossen wird, muss die Knotengeometrie bereits zuvor in der offenen Struktur ausgebildet sein. Die notwendigen Überkreuzungen der Kette werden im Knoten offenbar durch intramolekulare Wasserstoffbrücken und durch ein verbrückendes Wassermolekül stabilisiert (siehe oben). Es ist somit möglich, dass das im Cyclisierungsschritt verwendete Zweiphasensystem (Chloroform/Wasser) die Faltung der Kette in Richtung auf eine Knotengeometrie

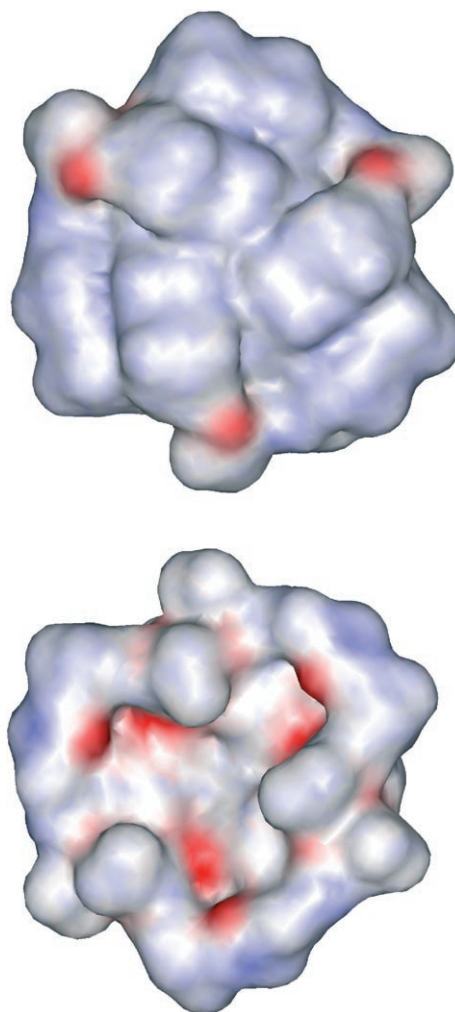


Abbildung 3. Oberflächen der Vorder- und Rückseite von **5**.

begünstigt. Circular dichroismus (CD)-Spektren des Knotens **5** und seiner linearen Vorstufen **1a**, **2a** und **3** wurden in Trifluorethanol gemessen. Die CD-Kurven der cyclischen und der linearen Verbindungen zeigen den gleichen Verlauf mit einem Minimum bei 225 nm und einem intensiven Maximum bei 200 nm (siehe Hintergrundinformationen). Vermutlich ist in Trifluorethanol die Faltung der Ketten in den linearen Ausgangsverbindungen ähnlich der Faltung im Knoten – Unterschiede zur Faltung in dem Lösungsmittelgemisch, das für die Cyclisierung verwendet wurde, sind natürlich möglich. 2D-ROESY-NMR-Spektren der linearen Vorstufe **3** in Chloroform zeigen keine Kreuzsignale, die auf die Annäherung zweier in der Sequenz entfernter Valineinheiten hinweisen; eine derartige Geometrie wird erwartet, wenn zwei Moleküle **3** dimerisieren, um anschließend den Knoten **5** zu bilden.

Da die Kette der Knoten **5** und **6** Aminosäuren enthält, liegt die Frage nahe, ob die Knotenfaltung durch eine helicale Konformation der Aminosäuren begünstigt wird und bereits in den linearen Vorstufen vorgeformt ist. Die Diederwinkel ϕ und ψ der Valinreste vom Typ **A** und **B** in der Kristallstruktur von **5** betragen: **A**: $\phi = -91^\circ$, $\psi = +145^\circ$; **B**: $\phi = -111^\circ$, $\psi = +134^\circ$. Die Werte weisen auf den oberen linken Quadranten

des Ramachandran-Diagramms für Peptide hin, in dem parallele und antiparallele β -Faltblattstrukturen zu finden sind. Tatsächlich kann das Wasserstoffbrückenmuster zwischen den Valineinheiten **A** und **B** in **5** (siehe oben) als Teil eines stark verdrehten parallelen β -Faltblatts betrachtet werden. Die Kopplungskonstanten $^3J_{\text{NH-C}\alpha\text{H}}$ der Amidprotonen der Knoten **5** und **6** in Chloroform entsprechen Werten für eine gestreckte Aminosäurekonformation, wie sie auch im Festkörper gefunden wird. Die Werte, die in der linearen Vorstufe **3** gemessen werden, sind ähnlich (siehe Hintergrundinformationen). Zusammenfassend folgt: Die Bildung des Knotens ist nicht auf eine helicale Aminosäuregeometrie zurückzuführen. Wasserstoffbrücken (auch unter Einbeziehung der OH-Gruppen der Cholansäure), die parallele Anordnung von je zwei Valineinheiten und die konkave Form des Steroidgerüsts zusammen sind die Faktoren, die zur Faltung des Knotens führen.

Bisher sind nur wenige molekulare Systeme bekannt, in denen Makrocyclen die Topologie eines Kleeblattknotens aufweisen.^[2,9–14] Die erste erfolgreiche Synthese derartiger Strukturen verwendete Kupfer-Phenanthrolin-Komplexe, um die benötigte Kettenüberkreuzung zu induzieren.^[10] Ein alternativer Weg basiert auf DNA-Oligonucleotiden, deren Sequenz so gewählt ist, dass nach Faltung zum Doppelstrang und enzymatischer Ligation der freien Enden ein cyclischer DNA-Knoten entsteht.^[11]

Die Kettenüberkreuzung einer dritten Art von Knoten basiert auf den ladungsbedingten Wechselwirkungen zwischen Bipyridinium- und 1,5-Dioxynaphthyl-Einheiten; dieser Knoten wurde nur in sehr geringen Ausbeuten erhalten.^[12]

Der erste Amid-Knoten wurde durch Reaktion von 2,6-Pyridindicarbonsäurechloriden und *p*-Aminodiphenylmethan in hohen Ausbeuten erhalten.^[13] Die Verbindung ist der Ausgangspunkt zu einer Vielfalt von Knotanderivaten.^[2,14] Der hier synthetisierte Knoten **5** ist ebenfalls ein Amidknoten, hat jedoch einige bemerkenswerte Eigenschaften: Die Kette des Knotens **5** ist gerichtet, da sie aus (natürlichen und nichtnatürlichen) Aminosäuren besteht. Nach unserer Kenntnis ist die Verbindung **5** das erste Cyclopeptid, dessen Peptidrückgrat als Knoten vorliegt.^[15] Die Verbindung hat im Festkörper praktisch C_3 -Symmetrie, die NMR-Spektren in Lösung bestätigen eine gemittelte C_3 -Symmetrie. Intramolekulare Bewegungen, die die unterschiedlichen Kettensegmente **A** und **B** des Knotens ineinander überführen, sind auf der NMR-Zeitskala langsam. Der Knoten weist eine polare innere und eine unpolare äußere Oberfläche auf. Man kann somit erwarten, dass molekulare Gäste eingeschlossen, komplexiert und eventuell sogar katalytisch umgewandelt werden. Zukünftige Untersuchungen werden zeigen, ob der Knoten sich auch mit anderen Aminosäuren als L-Valin oder L-Phenylalanin bildet. Art und Position der Aminosäuren im Cyclus sollten sich leicht durch (Festphasen-)Synthese bestimmen lassen.

Eingegangen am 21. März 2006,
veränderte Fassung am 11. Mai 2006
Online veröffentlicht am 20. Juli 2006

Stichwörter: Cyclopeptide · Knoten · Lactame · Makrocyclen · Steroide

- [1] a) S. H. Gellman, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173–180; b) D. J. Hill, M. J. Mio, R. B. Prince, T. Hughes, J. Moore, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3893–4011; c) L. H. Yuan, H. Q. Zeng, K. Yamato, A. R. Sanford, W. Feng, H. Atreya, D. K. Sukumaran, T. Szyperski, B. Gong, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16528–16537.
- [2] Übersichtsartikel: O. Lukin, F. Vögtle, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 1480–1501; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1456–1477.
- [3] Weiterführende Literatur: a) A. P. Davis, *Chem. Soc. Rev.* **1993**, *22*, 243–253; b) A. P. Davis, J.-B. Joos, *Coord. Chem. Rev.* **2003**, *240*, 143–156; c) E. Virtanen, E. Kolehmainen, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 3385–3399.
- [4] a) D. Albert, M. Feigel, *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 2168–2181; b) D. Albert, M. Feigel, K. Benet-Buchholz, R. Boese, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2855–2857; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2727–2729; c) M. Feigel, R. Ladberg, M. Winter, D. Bläser, R. Boese, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 371–377.
- [5] Signifikante NOE-Kreuzsignale verbinden in **5** die α -Protonen von Valin **B** ($\alpha\text{H-V}_\text{B}$) mit mehreren Protonen des Valins **A** (z. B. NH-V_A , $\beta\text{H-V}_\text{A}$ und $\text{CH}_3\text{-V}_\text{A}$). Ähnliche Ergebnisse werden in den ROESY-Spektren von **6** gefunden, z. B. $\alpha\text{HF}_\text{B}\text{-NHFA}$ und $\alpha\text{HF}_\text{B}\text{-}\beta\text{HF}_\text{A}$; Einzelheiten siehe Hintergrundinformationen.
- [6] S. Engels, M. Feigel, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [7] R. Ladberg, Dissertation, Universität Bochum, **2001**.
- [8] Einkristallstrukturanalyse von **5**: $\text{C}_{174}\text{H}_{288}\text{N}_{12}\text{O}_{18} \cdot 12\text{C}_3\text{H}_7\text{OH} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $M = 3629.36$, farbloser Kristall $0.45 \times 0.30 \times 0.20$ mm, $a = 23.825(1)$, $b = 25.642(1)$, $c = 37.758(1)$ Å, $V = 23067.1(15)$ Å³, $\rho_\text{ber.} = 1.045$ g cm⁻³, $\mu = 0.547$ mm⁻¹, empirische Absorptionskorrektur ($0.791 \leq T \leq 0.899$), $Z = 4$, orthorhombisch, Raumgruppe $P2_12_12_1$ (No. 19), $\lambda = 1.54178$ Å, $T = 223$ K, ω - und φ -Scans, 196089 Reflexe gesammelt ($\pm h$, $\pm k$, $\pm l$), $[(\sin\theta)/\lambda] = 0.60$ Å⁻¹, 40764 unabhängige Reflexe ($R_\text{int} = 0.079$) und 29891 beobachtete Reflexe [$I \geq 2\sigma(I)$], 2306 verfeinerte Parameter, 2850 geometrische und thermische Restriktionen (SIMU, DELU, SAME, ISOR), $R = 0.099$, $wR^2 = 0.283$, Flack-Parameter 0.2(2), max./min. Restelektronendichte $0.91/-0.44$ e Å⁻³, Wasserstoffatome an Wasser konnten nicht lokalisiert werden, alle anderen Wasserstoffatome wurden berechnet und als Reiteratome verfeinert. Die Daten wurden mit einem Nonius-KappaCCD-Diffraktometer aufgenommen. Verwendete Programme: Datenaufnahme COLLECT (Nonius, **1998**), Datenreduktion Denzo-SMN (Z. Otwinowski, W. Minor, *Methods Enzymol.* **1997**, 276, 307–326), Absorptionskorrektur Denzo (Z. Otwinowski, D. Borek, W. Majewski, W. Minor, *Acta Crystallogr. Sect. A* **2003**, *59*, 228–234), Strukturlösung SHELXS-97 (G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. A* **1990**, *46*, 467–473), Strukturverfeinerung SHELXL-97 (G. M. Sheldrick, Universität Göttingen, **1997**), Graphik SCHAKAL (E. Keller, Universität Freiburg, **1997**). CCDC 600890 enthält die ausführlichen kristallographischen Daten zu dieser Veröffentlichung. Die Daten sind kostenlos beim Cambridge Crystallographic Data Centre über www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif erhältlich.
- [9] a) C. Dietrich-Buchecker, G. Rapenne, J.-P. Sauvage, A. De Cian, J. Fischer, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 1432–1439; b) F. Vögtle, A. Hüntel, E. Vogel, S. Buschbeck, O. Safarowsky, J. Recker, A.-H. Parham, M. Knott, W. M. Müller, U. Müller, Y. Okamoto, T. Kubota, W. Lindner, E. Francotte, S. Grimme, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2534–2537; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2468–2471.
- [10] a) C. O. Dietrich-Buchecker, J.-P. Sauvage, *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 192–194; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, *28*, 189–192; b) C. O. Dietrich-Buchecker, J. Guilhem, C. Pascard, J.-P. Sauvage, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 1202–1204; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 1154–1156; c) „Molecular Knots—From

Early Attempts to High-Yield Template Synthesis“: J.-P. Sauvage, C. Dietrich-Buchecker in *Molecular Catenanes, Rotaxanes and Knots* (Hrsg.: J.-P. Sauvage, C. Dietrich-Buchecker), Wiley-VCH, Weinheim, **1999**, S. 107–142.

- [11] a) J. E. Mueller, S. M. Du, N. C. Seeman, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 6306–6308; b) N. C. Seeman, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 3408–3428; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 3220–3238.
- [12] P. R. Ashton, O. A. Matthews, S. Menzer, F. M. Raymo, N. Spencer, J. F. Stoddart, D. J. Williams, *Liebigs Ann.* **1997**, 2485–2494.
- [13] O. Safarowsky, M. Nieger, R. Fröhlich, F. Vögtle, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1699–1701; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1616–1618.
- [14] a) O. Lukin, J. Recker, A. Böhmer, W. M. Müller, T. Kubota, Y. Okamoto, M. Nieger, F. Vögtle, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 458–461; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 442–445; b) O. Lukin, W. M. Müller, U. Müller, A. Kaufmann, C. Schmidt, J. Leszczynski, F. Vögtle, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 3507–3517; c) O. Lukin, T. Kubota, Y. Okamoto, F. Schelhase, A. Yoneva, W. M. Müller, U. Müller, F. Vögtle, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 4681–4684; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4542–4545; d) O. Lukin, T. Kubota, Y. Okamoto, A. Kaufmann, F. Vögtle, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 2804–2810.
- [15] Cyclopeptide, die eine verknotete Anordnung von Disulfidbrücken enthalten, sind bekannt, z.B.: K. J. Rosengren, N. L. Daly, M. R. Plan, C. Waine, D. J. Craik, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 8606–8616.