

Dynamische kombinatorische Bibliotheken

Adaptive Verbindungsbibliotheken, die auf Zugabe einer Zielverbindung mit der spontanen Anreicherung des am besten geeigneten Liganden reagieren, stellen ein vereinfachtes und effizientes Screening in Aussicht.

Die kombinatorische Chemie hat sich in Verbindung mit dem Hochdurchsatz-Screening mittlerweile als ein unverzichtbares Werkzeug bei der Wirkstoffentwicklung etabliert. Kombinatorische Substanzbibliotheken werden üblicherweise durch Parallelsynthese in Form kompartimentierter diskreter Verbindungen erhalten, wobei sich durch spezielle Techniken wie der Split-Mix-Synthese die

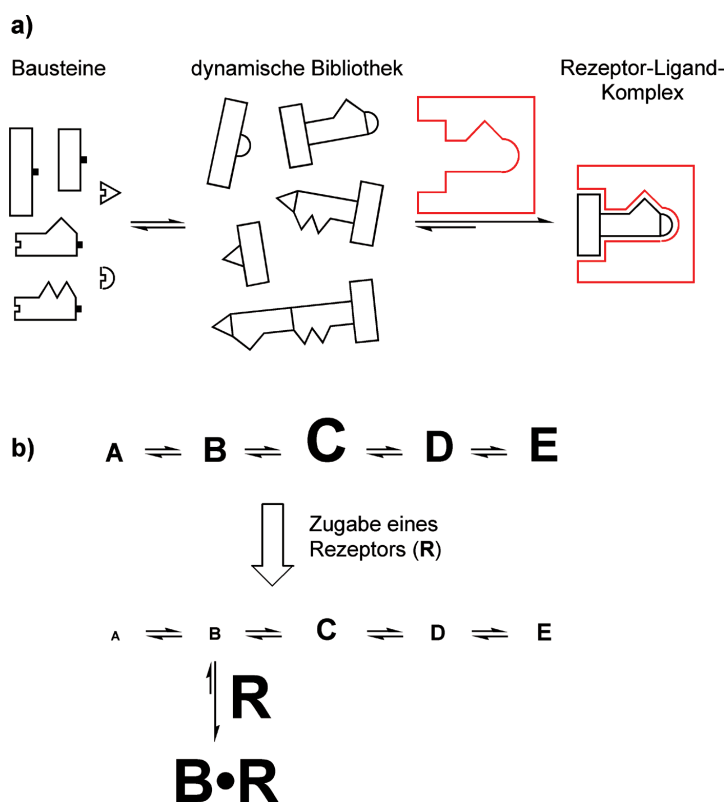
Anzahl der durchzuführenden Operationen minimieren lässt. Die Kompartimente können dabei einzelne Reaktionsgefäße, Mikroreaktoren, einzelne Harzkugeln oder räumlich definierte Punkte auf Oberflächen sein. Der Test der Verbindungen erfolgt individuell oder in kleinen Gruppen. Die Synthese von Substanzmischungen in Lösung dagegen hat sich nicht so weit entwickelt.

Ein neuer Ansatz zur Wirkstofffindung ist die Anwendung der dynamischen kombinatorischen Chemie. Dabei selektiert die Zielsubstanz, beispielsweise ein Rezeptor oder ein Enzym, selbst einen aktiven Liganden bzw. Inhibitor aus einer adaptiven Bibliothek und reichert diesen an. Hierdurch wird das Screening effizienter und erheblich einfacher.

Das Prinzip

Adaptive Verbindungsbibliotheken für die dynamische kombinatorische Chemie erhält man durch reversible kovalente oder nichtkovalente Verknüpfung mehrerer geeigneter Bausteine (Abbildung 1a). Die gebildeten Verbindungspools werden als dynamische kombinatorische Bibliotheken (DCLs)¹⁻⁴⁾ bezeichnet. Sie sind dadurch charakterisiert, dass die enthaltenen Addukte untereinander in einem thermodynamisch kontrollierten Austausch stehen. Gibt man nun ein Templat oder einen Rezeptor zu, der in der Lage ist, mit einer Komponente der DCL einen stabilen Komplex zu bilden, so führt dies zu einer Anreicherung des Komplexes auf Kosten der übrigen am Gleichgewicht beteiligten Komponenten (Abbildung 1b). Hierin liegt der Vorteil gegenüber statischen Bibliotheken, bei denen einzelne aktive Verbindungen in einem Meer aus nicht aktiven Verbindungen untergehen können.

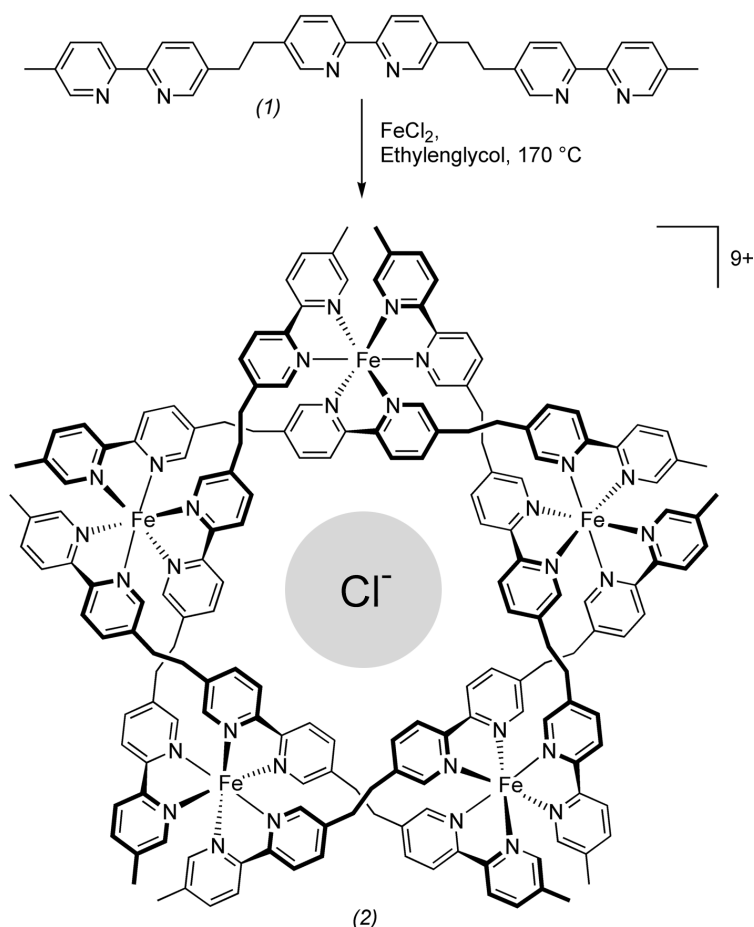
Abb. 1.
a) Aufbau und Screening einer dynamischen kombinatorischen Bibliothek (DCL).
b) Gleichgewichtsreaktionen innerhalb einer DCL. Zusatz eines Rezeptors führt zu veränderten Produktkonzentrationen, die durch unterschiedliche Schriftgrößen symbolisiert werden.



DCLs eignen sich sowohl zum Auffinden von Wirt- als auch von Gastmolekülen. Nach Huc und Lehn unterscheidet man entsprechend zwischen „receptor moulding“ und „substrate casting“.⁵⁾ Die einzelnen Bausteine einer DCL müssen sowohl funktionelle Gruppen, die reversible Bindungen bilden können, als auch Erkennungselemente tragen. Aus topologischer Sicht kann die Organisation dabei um ein zentrales Grundgerüst („scaffold“) herum geschehen, oder aber die einzelnen Bauteile sind gleichermaßen strukturgebend und für die molekulare Erkennung ausgestattete Einheiten.

Zur Erzeugung dynamischer Diversität sollte sich jeder reversible Prozess eignen, vorausgesetzt, die im Austausch stehenden Spezies sind eindeutig charakterisiert und identifizierbar. Die Austauschgeschwindigkeit muss schnell genug sein, um in angemessener Zeit zum Gleichgewichtszustand zu führen. Die Identifizierbarkeit angereicherter Komponenten setzt in der Regel voraus, dass die Gleichgewichtseinstellung eingefroren werden kann, z. B. durch Änderung von Reaktionsbedingungen wie pH-Wert, Temperatur oder Lichteinstrahlung oder durch Zugabe von Quenchern. Zu den Prozessen, mit denen sich DCLs aufbauen lassen, gehören unter anderem die basenkatalysierte Umesterung,^{6,7)} die Koordination an Metallionen,⁸⁻¹¹⁾ der Imin-,⁵⁾ Oxim-¹²⁾ und Hydrazonaustausch,¹³⁾ der Disulfidaustausch,^{14,15)} die Alkenmetathese¹⁶⁾ die photochemische *Cis/trans*-Isomerisierung,¹⁷⁾ Wasserstoffbrückenbildungen¹⁸⁾ sowie Basenpaarungen¹⁹⁾ – für eine ausführlichere Aufzählung siehe die unter Lit.¹⁻⁴⁾ erwähnten Übersichten.

Eine besonders bemerkenswerte Eigenschaft von DCLs ist, dass nicht alle aus den Bausteinen theoretisch zugänglichen Komponenten der Bibliothek zu jedem Zeitpunkt in signifikanten Mengen vorliegen müssen. Dies kann zum Beispiel in Abwesenheit eines Templats oder Rezeptors bei äußerst ungünstigen Gleichgewichtskonstanten der Fall sein. Nach Zugabe des Templats/Rezeptors bilden sie sich spontan. Derartige



Systeme werden nach Lehn als virtuelle kombinatorische Bibliotheken bezeichnet.^{3,5)}

Die Anfänge

DCLs existierten bereits in den Kolben der Chemiker lange bevor das Konzept konkret formuliert wurde, insbesondere in reversiblen supramolekularen Erkennungssystemen.²⁰⁾ 1996 konnten Lehn et al.⁸⁾ erstmals zeigen, dass sich die Zusammensetzung einer DCL aus Metallkomplexen in Abhängigkeit der eingesetzten Eisensalze ändert. Wurde eine Lösung des Tris(bipyridyl)-Liganden (1) (L) mit äquimolaren Mengen Eisen(II)-chlorid versetzt, bildete sich von den möglichen, im Gleichgewicht befindlichen zirkularen Helicaten mit vier bis sechs (oder mehr) Eisenionen das pentagonale Helicat $[\text{Fe}_5\text{L}_5\text{Cl}]^{9+}$ (2) in quantitativer Ausbeute (Abbildung 2). Mit Eisen(II)-sulfat oder -tetrafluoroborat dagegen

entstand überwiegend der hexagonale Komplex $[\text{Fe}_6\text{L}_6]^{12+}$. Chlorid fungierte in diesem Fall als Templat, das die Bildung einer einzelnen Cl^- -bindenden Spezies einer im obigen Sinne virtuellen kombinatorischen Bibliothek steuerte.

Sanders et al.⁶⁾ untersuchten die basenkatalysierte Makrolactonisierung von Cholsäureestern unter Gleichgewichtsbedingungen, die je nach Schutzgruppenmuster zu unterschiedlichen Produktverteilungen führte, und formulierten das Konzept der DCLs. In einer späteren Arbeit⁷⁾ konnten sie zeigen, wie Selektionsdruck (Zugabe von Metallionen) die Produktverteilung beeinflusst. Auch von biologischen dynamischen Bibliotheken wurde berichtet.²¹⁾

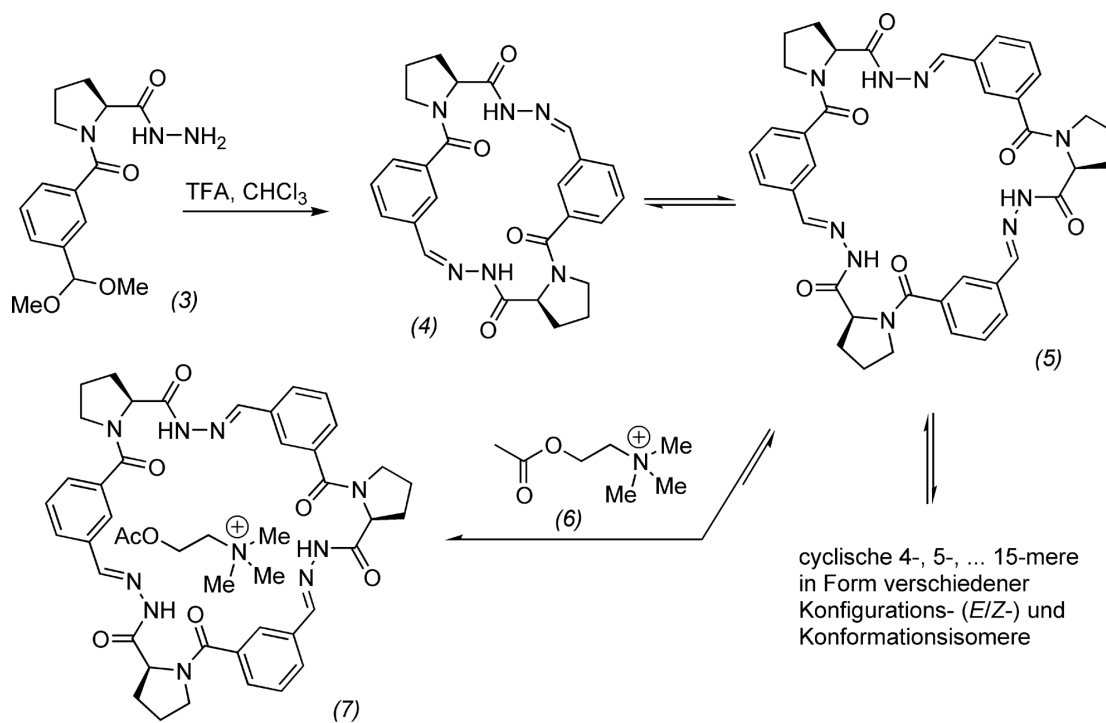


Abb. 3.
Cyclisierung von (3)
und Reaktion der
gebildeten DCL mit
Acetylcholin (6).¹³⁾
(TFA = Trifluoressig-
säure)

cyclische 4-, 5-, ... 15-mer
in Form verschiedener
Konfigurations- (*E/Z*-) und
Konformationsisomere

DCLs durch Imin austausch

Die Transiminierung von C-N-Doppelbindungen in Iminen, Oximen und Hydrazonen wurde vielfach zum Aufbau von DCLs herangezogen. Huc und Lehn nutzten eine virtuelle kombinatorische Bibliothek aus Iminen, deren Zusammensetzung sich in Gegenwart von Carboanhydrase (CA) zugunsten eines CA-Liganden verschob.⁵⁾ Da die Gleichgewichtseinstellung und auch die Hydrolyse der Imine sehr rasch verläuft, war es essentiell, die Imine vor der Analyse der Bibliotheks zusammensetzung durch Zugabe von NaBH₃CN zu den Aminen zu reduzieren. Durch HPLC-Analyse konnte auf diesem Weg ein kompetitiver Inhibitor der CA identifiziert werden.

Der Reduktionsschritt zum Einfrieren der Gleichgewichtseinstellung entfällt bei Acylhydrazoneaustausch. Dieser verläuft unter schwach sauren Bedingungen bei Raumtemperatur schnell und kommt bei Entfernung

der Säure zum Erliegen, weshalb sich diese Reaktion hervorragend zum Aufbau von DCLs eignet, wie Sanders et al. in zahlreichen Arbeiten zeigten.²⁾ Behandlung des Prolinderivats (3), das eine Hydrazidfunktion und eine als Dimethoxyacetal geschützte Formylgruppe enthält, mit einem Äquivalent Trifluoressigsäure führte zur Freilegung der Formylgruppe und anschließendem säurekatalysierten Hydrazonaustausch (Abbildung 3).¹³⁾ Hierbei entstand zunächst eine Reihe kinetisch kontrollierter Zwischenprodukte, die vom cyclischen Dimer (4) bis zum cyclischen 15-mer reichte, wobei das cyclische Trimer (5) die dominierende Komponente war. Nach Äquilibrierung reicherte sich (4) gemäß HPLC-Analyse zu 88% neben (5) (11%) an (Massenprozent). Zugabe von Acetylcholin zu der Reaktionsmischung führte zu einer drastischen Verschiebung des Gleichgewichts zu 86% Trimer (5) und 13% Dimer (4). Dies entspricht einer mehr als 50-fachen Anreicherung von (5) relativ zu (4). Mit einer ähnlich zusammengesetzten DCL gelang den Autoren auch eine Eintopf-synthese und die Isolierung eines neuen Rezeptors für Lithiumionen in präparativem Maßstab.²²⁾

Biologisch relevante Systeme

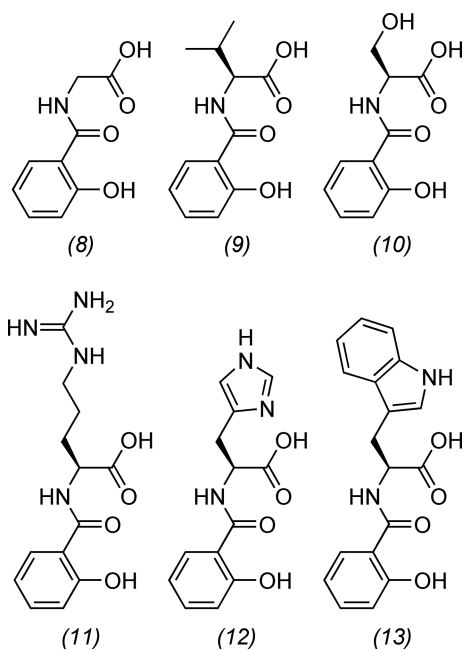
Neben den bereits erwähnten Experimenten mit der Carboanhydrase wurden zahlreiche weitere DCLs konstruiert, die auf Bindung an Biomakromoleküle ausgerichtet waren. Kritischer Punkt ist hierbei die reversible Verknüpfung der Bausteine der Bibliothek, die in wässrigem Medium unter milden, biokompatiblen Bedingungen ablaufen muss. Einmal mehr bewährte sich hier die Bildung von Acylhydrazonen. Damit gelang es Lehn und Mitarbeitern, einen potenten Bispyridinium-Inhibitor der Acetylcholinesterase mit nanomolarer Bindungskonstante zu identifizieren.²³⁾ DCLs auf Basis von Fe²⁺-Komplexbildung¹⁰⁾ sowie Disulfidaustausch¹⁵⁾ wurden bei der Suche nach Lectinliganden eingesetzt.

Die in Abbildung 4 gezeigten Salicylamide (8)–(13) kamen als Bausteine für potenzielle RNA-Liganden zum Einsatz.⁹⁾ Als strukturelle Organisationseinheit wurde Cu²⁺ gewählt, da mehrere Mono- und Bis(salicylamid)kupfer-Komplexe bekannt waren und Cu²⁺ bei Raumtemperatur nicht in der Lage ist, Oligonucleotide zu spalten. Nimmt man eine quadratisch-planare Struktur der Kupfer-

komplexe an, so besteht eine aus (8)–(13) gebildete dynamische Bibliothek aus mindestens 27 konstitutionell unterschiedlichen Komplexen. Screening der Bibliothek auf Bindung an einen RNA-Hairpin der Sequenz 5'-UAGUCUUUCGAGACUA-3' (einer Teilsequenz des Gruppe-I-Introns von *Pneumocystis carinii*) durch wiederholte Gleichgewichtsdialyse ergab, dass das Histidinderivat (12) in Gegenwart von Cu^{2+} mit einer Dissoziationskonstante von $K_D = 152 \text{ nM}$ mit Abstand am besten an die RNA bindet. Die Wechselwirkung ist selektiv für RNA; Bindung an eine sequenzanaloge DNA war mehr als 300fach schwächer. Der Komplex aus Cu^{2+} und (12) hat gemäß Job-Plot-Analyse eine Stöchiometrie von 1:1.

versibel miteinander verknüpft sind, können beispielsweise ihre Eigenschaften als Antwort auf veränderte Umgebungsbedingungen, wie Temperatur, Druck, Magnetfeld, Medium oder Zusatz von Modulatoren, verändern.³⁾ Nach wie vor besteht Entwicklungsbedarf bei den Reaktionstypen, die zur Verknüpfung der Bausteine einer DCL in Frage kommen. Eine weitere Herausforderung ist die Erhöhung der funktionellen Diversität derartiger Bibliotheken, die sich möglicherweise durch reversible Verknüpfungen auf mehreren Ebenen²⁴⁾ erreichen lässt.

Valentin Wittmann
Institut für Organische Chemie
Universität Frankfurt



Ausblick

Die dynamische kombinatorische Chemie ist eine noch junge Disziplin, die es erlaubt, adaptive Bibliotheken zu generieren, die auf einen angelegten Selektionsdruck durch Anreicherung von Komponenten mit gewünschten Eigenschaften reagieren. Während es in der Anfangsphase noch fraglich war, ob die Selektion von Liganden biologischer Zielmoleküle praktikabel ist,⁴⁾ konnte dies heute in vielen Fällen demonstriert werden. Das Konzept der dynamischen kombinatorischen Bibliotheken beschränkt sich jedoch nicht auf die Wirkstoffsuche, sondern hat auch Potenzial in den Materialwissenschaften. Dynamische kombinatorische Polymere, deren Bestandteile re-

Blickpunkt Synthese

will zur Beschäftigung mit neuen synthetischen Verfahren oder eleganten und wichtigen Synthesen aus der Literatur anregen. Die Rubrik erscheint von Februar bis Dezember alle zwei Monate und wird dieses Jahr von Dr. Valentin Wittmann, Institut für Organische Chemie der Universität Frankfurt, betreut.

- 1) O. Ramström, J.-M. Lehn, *Nature Rev. Drug Discov.* 2002, 1, 26–36; S. Otto, R. L. E. Furlan, J. K. M. Sanders, *Drug Discovery Today* 2002, 7, 117–125; J.-M. Lehn, A. V. Eliseev, *Science* 2001, 291, 2331–2332; G. R. L. Cousins, S.-A. Poulsen, J. K. M. Sanders, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2000, 4, 270–279; C. Karan, B. L. Miller, *Drug Discovery Today* 2000, 5, 67–75.
- 2) S. J. Rowan, S. J. Cantrill, G. R. L. Cousins, J. K. M. Sanders, J. F. Stoddart, *Angew. Chem.* 2002, 114, 938–993.
- 3) J.-M. Lehn, *Chem. Eur. J.* 1999, 5, 2455–2463.
- 4) A. Ganesan, *Angew. Chem.* 1998, 110, 2989–2992.
- 5) I. Huc, J.-M. Lehn, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997, 94, 2106–2110.
- 6) P. A. Brady, R. P. Bonar-Law, S. J. Rowan, C. J. Suckling, J. K. M. Sanders, *Chem. Commun.* 1996, 319–320.
- 7) P. A. Brady, J. K. M. Sanders, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1997, 3237–3254.
- 8) B. Hasenknopf, J.-M. Lehn, B. O. Kneisel, G. Baum, D. Fenske, *Angew. Chem.* 1996, 108, 1987–1990.
- 9) C. Karan, B. L. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 7455–7456.
- 10) S. Sakai, Y. Shigemasa, T. Sasaki, *Tetrahedron Lett.* 1997, 38, 8145–8148.
- 11) M. Albrecht, M. Schneider, H. Röttele, *Angew. Chem.* 1999, 111, 512–515.
- 12) V. A. Polyakov, M. I. Nelen, N. Nazarpak-Kandlousy, A. D. Ryabov, A. V. Eliseev, *J. Phys. Org. Chem.* 1999, 12, 357–363.
- 13) G. R. L. Cousins, R. L. E. Furlan, Y.-F. Ng, J. E. Redman, J. K. M. Sanders, *Angew. Chem.* 2001, 113, 437–442.
- 14) H. Hioki, W. C. Still, *J. Org. Chem.* 1998, 63, 904–905.
- 15) O. Ramström, J.-M. Lehn, *ChemBioChem* 2000, 1, 41–48.
- 16) K. C. Nicolaou, R. Hughes, S. Y. Cho, N. Winssinger, C. Smethurst, H. Labischinski, R. Endermann, *Angew. Chem.* 2000, 112, 3981–3986.
- 17) A. V. Eliseev, M. I. Nelen, *Chem. Eur. J.* 1998, 4, 825–834.
- 18) F. Hof, C. Nuckolls, J. Rebek, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 4251–4252.
- 19) C. Miculka, N. Windhab, G. Quinkert, A. Eschenmoser, Patent WO 97/43232, 1997.
- 20) J.-M. Lehn, *Supramolecular Chemistry – Concepts and Perspectives*, VCH, Weinheim, 1995.
- 21) P. G. Swann, R. A. Casanova, A. Desai, M. M. Frauenhoff, M. Urbancic, U. Slomczynska, A. Hopfinger, G. C. Le Breton, D. Venton, *Biopolymers* 1996, 40, 617–625.
- 22) R. L. E. Furlan, Y.-F. Ng, S. Otto, J. K. M. Sanders, *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 8876–8877.
- 23) T. Bunyapaboonsri, O. Ramström, S. Lohmann, J.-M. Lehn, L. Peng, M. Goeldner, *ChemBioChem* 2001, 2, 438–444.
- 24) V. Goral, M. I. Nelen, A. V. Eliseev, J.-M. Lehn, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001, 98, 1347–1352.

Abb. 4.

Salicylamide, die in Gegenwart von Cu^{2+} auf ihre Bindungsfähigkeit an einen RNA-Hairpin untersucht wurden.⁹⁾