

Bindung von Metall-Ionen an Dipeptide: Struktur von Thallium(I)-(3-benzyl-6-carboxylatomethyl-2,5-diketopiperazin)

Binding of Metal Ions by Dipeptides:
Structure of Thallium(I) 3-Benzyl-6-carboxylatomethyl-2,5-diketopiperazine

P. Mikulcik, P. Bissinger, J. Riede und H. Schmidbaur*

Anorganisch-chemisches Institut der Technischen Universität München,
Lichtenbergstraße 4, D-W-8046 Garching

Z. Naturforsch. **47b**, 952–956 (1992); eingegangen am 17. Februar 1992

Cyclic Dipeptides, 2,5-Dioxopiperazines, L-Aspartyl-L-phenylalanine, Thallium(I) Complex,
Metal Complexation by Peptides

Ester cleavage of aspartame (L- α -aspartyl-L-phenylalanine methylester) (**1**), by equimolar quantities of thallium ethoxide is accompanied by intramolecular cyclisation to give thallium 3-benzyl-6-(carboxylatomethyl)-2,5-dioxopiperazine (**2**). The solid state structure of the crystalline product was determined by single-crystal X-ray diffraction analysis. The cations were found to form four short and four elongated contacts to seven oxygen atoms and one nitrogen atom of a total of six neighbouring 3-benzyl-6-(carboxylatomethyl)-2,5-dioxopiperazine anions. There are inter-anionic hydrogen bonds only between the imino groups and the carbonyl oxygen atoms (O3, O4), featuring a pattern similar to that found for cytosine-guanosine contacts in DNA.

Untersuchungen an Metall-Peptid-Komplexen tragen dazu bei, Einblicke in Metall-Protein-Wechselwirkungen in biologischen Systemen zu geben [1]. Ganz allgemein hängt der Transport von Metallionen in Flüssigkeiten und durch Membranen im Körper weitgehend vom Komplexierungsvermögen der Aminosäuren und Peptide ab. Auch die Wirksamkeit von cyclischen Peptidantibiotika läßt sich durch Synthese und Charakterisierung geeigneter Metall-Peptidkomplexe weitgehend modellieren [2].

Vor diesem Hintergrund sollten Metallkomplexe des Dipeptids L- α -Aspartyl-L-phenylalanin synthetisiert werden. Der entsprechende Methylester, L- α -Aspartyl-L-phenylalaninmethylester („Aspartam“), ist als Süßstoff im Handel [3]. In einer früheren Arbeit [4] berichteten wir über die Synthese von Natrium-cyclo(L- α -aspartyl-L-phenylalanin)-Tetrahydrat und dessen Charakterisierung mittels der Einkristallröntgenstrukturanalyse. Die vorliegende Untersuchung konzentriert sich auf den Thallium(I)-Komplex. Die Gründe für die Wahl des IIIA-Elements liegen in der chemischen Verwandtschaft zum essentiellen Alkali-

metall Kalium. Aufgrund des ähnlichen Ladungs/Radius-Verhältnisses (K^+ 1,33 Å; Tl^+ 1,50 Å) [5] und der Ähnlichkeit des chemischen Verhaltens vermag Thallium(I) Kalium(I) in vielen seiner Verbindungen einschließlich Komplexsalzen zu verdrängen, so z. B. in der Aktivierung der (Na,K)-ATP-ase [6] und Nitrophenylphosphatase [7]. Dabei zeichnet sich das IIIA-Metall durch eine gegenüber Kalium zehnfach höhere Affinität aus.

Synthese

Thalliumethoxid wurde in wäßriger Lösung mit L- α -Aspartyl-L-phenylalaninmethylester (**1**) im Verhältnis 1:1 umgesetzt. Langsames Eindiffundieren von Methanol in die Lösung im Exsikkator führte nach einigen Tagen zur Kristallisation von (**2**).

Das in kristalliner Form erhaltene Produkt war jedoch nicht das erwartete Thallium-L- α -aspartyl-L-phenylalaninat, sondern stellte sich als Thallium-3-benzyl-6-(carboxylatomethyl)-2,5-dioxopiperazin, Thallium-cyclo(L- α -aspartyl-L-phenylalanin) (**2**), heraus, das durch Esterhydrolyse des Dipeptidesters mit nachgeschalteter Cyclisierung entstanden war. Die Kondensation des verseiften Produkts in neutralem und basischem Medium wurde bereits früher als Folgereaktion der Esterhydrolyse erkannt. Die Stabilität von Aspartam im wäßrigen Medium ist in hohem Grade von

* Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. H. Schmidbaur.

Temperatur und pH-Wert abhängig. GLC- und HPLC-Untersuchungen zeigten, daß Einstellen einer 0,05-proz. Aspartam-Lösung mit NaOH nach mehreren Stunden zu zwei Produkten führten: L- α -Aspartyl-L-phenylalanin durch Basenkatalyse und 2,5-Dioxopiperazin (2,5-DOP) durch intramolekulare Cyclisierung des Esterhydrolysats [8, 9]. Während L- α -Aspartyl-L-phenylalanin in diesen Studien das Hauptprodukt darstellte, kristallisierte in unserem Fall der Thallium-2,5-DOP-Komplex aus. Der Grund ist vermutlich in der höheren Rigidität des cyclisierten gegenüber dem offenkettigen L- α -Aspartyl-L-phenylalanin zu finden, die weniger Anlaß zu Fehlordnungen bei der Kristallpackung gibt.

Die mikroanalytische Bestimmung wies eindeutig auf das Vorliegen eines Thalliumkomplexes des cyclisierten Dipeptids ohne Hydratgehalt hin, eine Eigenschaft, die Thallium mit den Alkalimetallen Rubidium und Cäsium teilt, deren Verbindungen ebenfalls bevorzugt ohne Wasser auskristallisieren [10].

Kristallstruktur

Die Struktur von **2** wurde mittels Röntgenbeugung bei 23 °C bestimmt. Die Verbindung kristallisiert in der triklinen Raumgruppe $P\bar{1}$ mit zwei Molekülen in der Einheitszelle. Kristallstrukturdaten, Strukturparameter und fraktionelle Atomkoordinaten sind in Tab. I und II aufgelistet. Thallium bildet vier kurze Kontakte (2,670–2,780 Å) zu einem über die β -Carboxylatgruppe zweizählig chelatisierenden DOP aus (O1, O2), zu einem β -Carboxylat-Sauerstoffatom (O1') bzw. einem Carbonyl-Sauerstoffatom (O3'') zweier weiterer Anionen (Abb. 1). Darüber hinaus bestehen vier lange Bindungen (3,42–3,52 Å) zu drei weiteren benachbarten Komplexeinheiten, von denen eine über den Amidstickstoff (N1''') und Carbonyl-Sauerstoff (O4'''), die anderen beiden über O2'''' und O3^v an das Metall gebunden sind (Tab. III).

Bei der Esterhydrolyse und der intramolekularen Cyclisierung scheint teilweise eine Inversion an den beiden asymmetrischen Kohlenstoffatomen stattgefunden zu haben, so daß im Kristall alternierend L,L- und D,D-Enantiomere vorkommen.

Zwei enantiomere Komplexeinheiten sind jeweils über zwei β -Carboxylat-Sauerstoffatome derart miteinander verbrückt, daß sie über das im Mittelpunkt des Thallium-Thallium-Vektors lie-

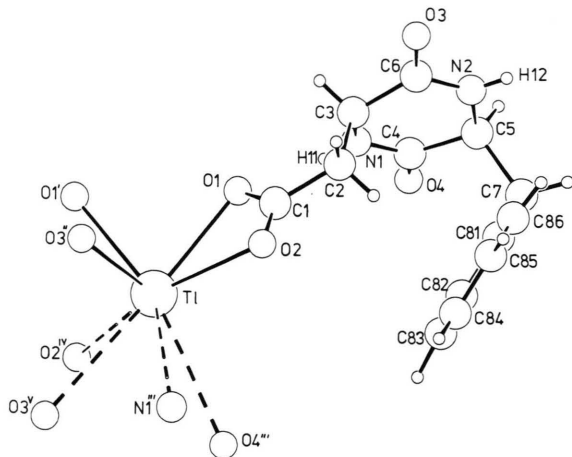
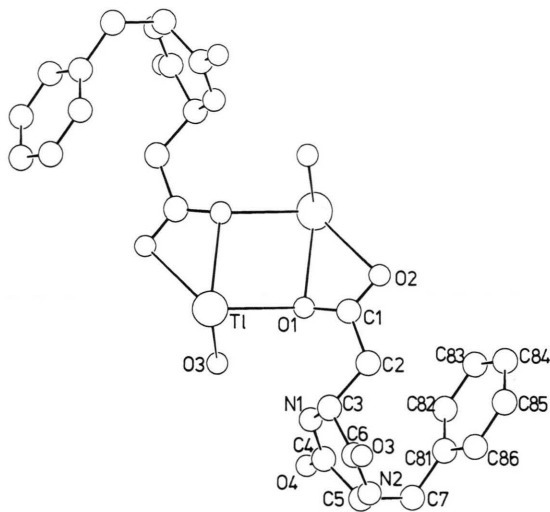
Tab. I. Röntgenstrukturdaten von **2***

Formel	$C_{13}H_{13}N_2O_4Tl$
M	465,64 g/mol
Kristallsystem	triklin
Raumgruppe	$P\bar{1}$ ($N^\circ 2$)
<i>a</i>	6,117(1) Å
<i>b</i>	7,866(1) Å
<i>c</i>	14,329(2) Å
α	101,13°
β	99,66°
γ	98,39°
V	655,47 Å ³
Z	2
ρ_{calcd}	2,36 g/cm ³
μ (Mo-K α)	124,6 cm ⁻¹
F(000)	436 e
T	23 °C
Diffraktometer	Enraf-Nonius CAD4
λ	0,71069 Å
gemessene Reflexe	2849
unabhängige Reflexe	2847
beobachtete Reflexe	2575 ($F_o > 4\sigma(F_o)$)
Strukturlösung	Patterson
H-Atome	alle 13 gefunden und isotrop verfeinert
Verfeinerte Parameter	233
<i>R</i> (<i>R</i> _w)	0,019 (0,020)
$\Delta\rho_{\text{fin}}$ (max/min)	0,40/−0,52 e/Å ³

* Ergänzende Daten zur Kristallstrukturanalyse wurden hinterlegt und können abgerufen werden vom Fachinformationszentrum Karlsruhe GmbH, D-W-7514 Eggenstein-Leopoldshafen 2, unter Angabe des Zeitschriftenzitats, der Autoren und der Hinterlegungsnummer CSD 56089.

Tab. II. Fraktionelle Atomkoordinaten und äquivalente isotrope Temperaturfaktoren.

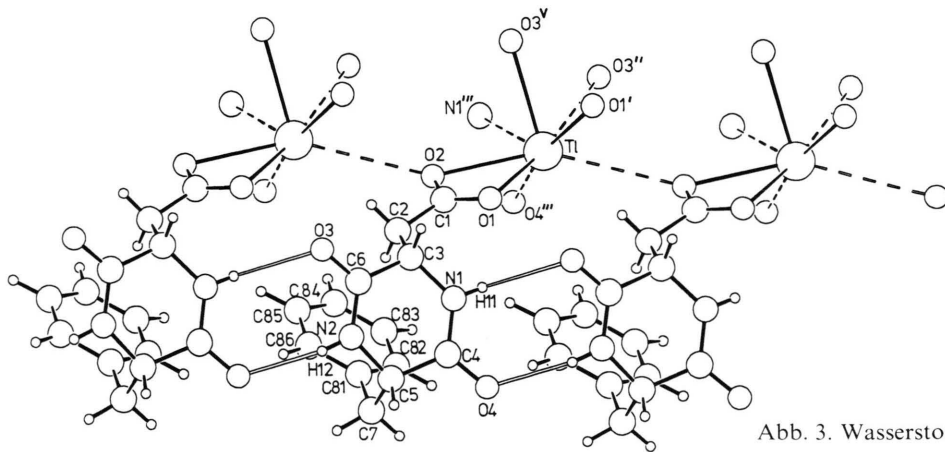
Atom	<i>x/a</i>	<i>y/b</i>	<i>z/c</i>	U(eq.)
Tl	−0,04289(3)	−0,31181(2)	−0,08477(1)	0,030
O1	0,1422(5)	−0,6012(4)	−0,0760(2)	0,036
O2	0,3649(6)	−0,3971(4)	−0,1206(3)	0,049
O3	0,7827(5)	−0,9171(4)	−0,0786(2)	0,035
O4	−0,0445(4)	−1,1563(4)	−0,2918(2)	0,030
N1	0,1902(5)	−0,9549(4)	−0,1695(3)	0,023
N2	0,5583(5)	−1,0834(4)	−0,2156(2)	0,022
C1	0,3125(7)	−0,5482(5)	−0,1089(3)	0,030
C2	0,4685(7)	−0,6771(5)	−0,1341(3)	0,028
C3	0,4102(6)	−0,8593(5)	−0,1143(3)	0,023
C4	0,1487(6)	−1,0830(5)	−0,2479(3)	0,022
C5	0,3469(6)	−1,1494(5)	−0,2848(3)	0,021
C6	0,5951(6)	−0,9595(5)	−0,1350(3)	0,024
C7	0,3634(7)	−1,1100(5)	−0,3857(3)	0,027
C81	0,4350(6)	−0,9186(5)	−0,3844(3)	0,025
C82	0,2792(8)	−0,8141(6)	−0,4095(3)	0,036
C83	0,3478(9)	−0,6369(6)	−0,4072(4)	0,042
C84	0,5750(9)	−0,5598(6)	−0,3791(4)	0,042
C85	0,7296(8)	−0,6617(6)	−0,3536(3)	0,038
C86	0,6634(7)	−0,8384(6)	−0,3570(3)	0,032

Abb. 1. Umgebung der Thalliumatome in **2**.Abb. 2. Lage des Inversionszentrums in **2**.Tab. III. Abstände [Å] und Winkel [°] für **2** (Standardabweichungen in Klammern).

Tl-O1	2,701(3)	Tl-O2	2,779(4)
Tl-O1'	2,665(3)	Tl-O3''	2,746(3)
Tl-O4'''	3,419(3)	Tl-N1'''	3,481(3)
Tl-O2''''	3,517(4)	Tl-O3 ^v	3,417(3)
O1-C1	1,260(5)	O2-C1	1,239(5)
O3-C6	1,245(4)	O4-C4	1,244(4)
N1-C3	1,453(4)	N1-C4	1,316(4)
N2-C5	1,448(4)	N2-C6	1,324(4)
C1-C2	1,521(5)	C2-C3	1,517(5)
C3-C6	1,507(5)	C4-C5	1,519(5)
C5-C7	1,554(5)	C7-C81	1,503(5)
C81-C82	1,392(5)	C81-C86	1,399(5)
C82-C83	1,383(6)	C83-C84	1,388(7)
C84-C85	1,372(7)	C85-C86	1,378(6)
Tl-O1-C1	95,2(2)	C3-N1-C4	127,0(3)
C5-N2-C6	127,1(3)	O1-C1-O2	124,3(4)
O1-C1-C2	118,6(3)	O2-C1-C2	117,1(4)
C1-C2-C3	116,8(3)	N1-C3-C2	112,5(3)
N1-C3-C6	111,8(3)	C2-C3-C6	108,4(3)
O4-C3-N1	123,2(3)	O4-C4-C5	117,9(3)
N1-C4-C5	118,9(3)	N2-C5-C4	112,4(3)
N2-C5-C7	111,7(3)	C4-C5-C7	111,5(3)
O3-C6-N2	121,6(3)	O3-C6-C3	119,5(3)
N2-C6-C3	118,8(3)	C6-C7-C81	114,5(3)

gende Inversionszentrum miteinander in Beziehung stehen. Zur besseren Übersicht wurden in Abb. 2 die längeren Thalliumkontakte sowie die Wasserstoffatome weggelassen.

Die einzigen Protonendonoren in diesem Komplex stellen die Iminogruppen dar, die Wasserstoffbrückenbindungen mit den beiden Peptidcarbonyl-Sauerstoffatomen (O3, O4) ausbilden. Aufgrund der perfekten Übereinstimmung von Zahl und Geometrie der Funktionen werden Wasserstoffbrücken-Polymerketten parallel zu den Metallsträngen aufgebaut (Abb. 3). Auf diese Weise

Abb. 3. Wasserstoffbrückenbindungen in **2**.

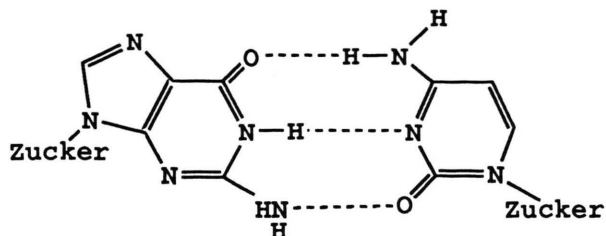


Abb. 4. Wasserstoffbrückenbindungen Cytosin-Guanosin.

entstehen Vernetzungen, die in ihrer wechselseitigen Geometrie an die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Basenpaar Cytosin-Guanosin in der Desoxyribonucleinsäure erinnern (Abb. 4) [11].

Diskussion

2,5-Dioxopiperazine (2,5-DOP's) finden sich in einer Vielzahl von Molekülen mit wichtigen biologischen Funktionen. So zählen die antibakteriell und cytostatisch wirksamen Stoffwechselprodukte verschiedener Pilzarten zur Naturstoffklasse der Schwefel enthaltenden Dioxopiperazine, den 3,6-Epidithio-2,5-dioxopiperazinen. Gliotoxin [12] (Abb. 5a), Sporidesmin [13] (Abb. 5b), Acetylarnotin (Abb. 5c) von *Arachniotus aureus* (Eidam) Schröter [14,15] und Chaetocin (Abb. 5d) von *Chaetomium minutum* [16] wurden isoliert und strukturell charakterisiert. Cycloserin wurde bis vor 30 Jahren erfolgreich gegen die mycobakterielle Tuberkulose eingesetzt [17]. Daher waren DOP's mit verschiedenen *cis*- α -Kohlenstoffsubstituenten Gegenstand intensiver Untersuchungen.

Das einfachste cyclische Dipeptid, Cycloglycin (Abb. 6a), liegt gemäß röntgenstrukturanalytischen Ergebnissen in einer planaren Ringkonformation vor [18], in Übereinstimmung mit theoretischen Arbeiten über die Molekülkonformation, die speziell nicht-bindende Wechselwirkungen untersuchten [19].

Die Einführung von Substituenten am α -Kohlenstoffatom kann jedoch diese Konformation in

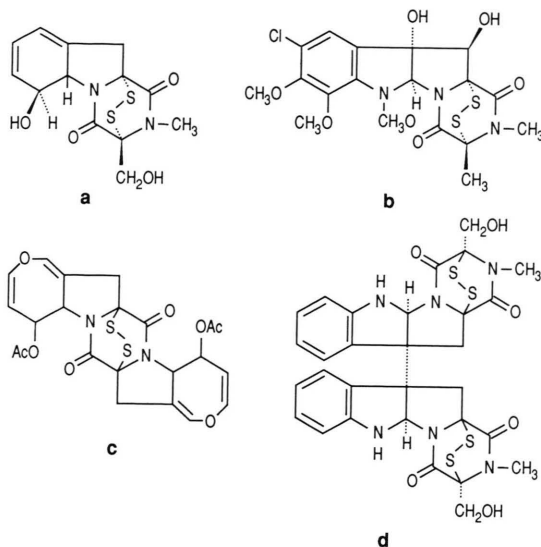


Abb. 5. Natürlich vorkommende cyclische Peptide.

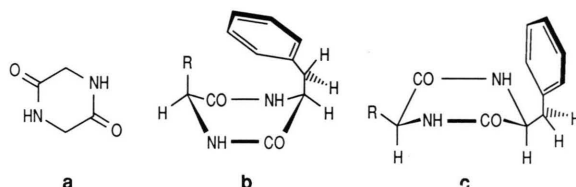


Abb. 6. Konformationen von 2,5-Dioxopiperazinen.

erheblicher Weise verändern. Untersuchungen an arylsubstituierten 2,5-DOP's brachten zwei weitere Konformationsmöglichkeiten zutage. Zusätzlich zur oben erwähnten planaren Form kommen eine Boot-Konformation in Frage, in der die α -Kohlenstoffsubstituenten in quasi-axialer Position stehen (Abb. 6b), sowie eine invertierte Boot-Konformation mit quasi-äquatorialständigen Substituenten (Abb. 6c).

Die Boot-Konformation, in der der aromatische Rest und der DKP-Ring einander zugewandt sind, scheint weithin eine strukturelle Gemeinsamkeit aller cyclischen Dipeptide mit einer aromatischen

A-B...C	A-B	B...C	A...-C	Sym.op. ^a
N1-H11...O3	0,750(4)	2,380(4)	3,026(5)	a
N2-H12...O4	0,835(6)	2,115(6)	2,912(6)	b

Tab. IV. Wasserstoffbrückenbindungen [Å] in 2.

^a a: x+1, y, z; b: x-1, y, z

Seitenkette zu sein. Hochfeldverschiebungseffekte infolge des aromatischen Ringstroms, die im Protonenresonanzspektrum von *cyclo*(Glycyl-L-phenylalanin) [20], *cyclo*(L-Seryl-L-tyrosin) und *cyclo*(Glycyl-L-tyrosin) [21] auftauchten, wurden mit dem Vorliegen dieser Konformation begründet.

In **2** liegt der Ligand wie im Fall des Natriumkomplexes unter Beibehaltung der DOP-Ringplanarität in der für DOP's mit aromatischer Seitenkette typischen gefalteten Konformation (Abb. 6b) vor, so daß die C_β-C_{Ar}-Bindung parallel zur C_β-C_α-Bindung steht. Diese gefaltete Konformation begünstigt wahrscheinlich die attraktiven Wechselwirkungen zwischen dem Peptidring und dem Aromaten.

Experimenteller Teil

0,29 g L-α-Aspartyl-L-phenylalaninmethylester (1,0 mmol) werden in 10 ml H₂O suspendiert und langsam mit 0,14 ml TIOEt (2,0 mmol) versetzt.

Anfangs ausfallender gelber Niederschlag – lokal gebildetes Thalliumhydroxid – löst sich nach wenigen Minuten wieder auf, während der pH-Wert von 2,80 auf 12,80 ansteigt. Die Reaktionslösung wird von unumgesetztem Material durch Filtrieren befreit und in einem mit Methanoldampf gesättigten evakuierten Exsikkator zur Kristallisation selbst überlassen. Nach einer Woche haben sich farblose, nadelförmige Kristalle gebildet.

C₁₃H₁₅N₂O₅Tl (M = 483,659 g/mol)

Ber. C 32,21 H 3,12 N 5,78,

Exp. C 32,17 H 2,70 N 5,66.

¹H-NMR (D₂O): δ = 0,56 [dd, ²J = 16,50, ³J = 10,40 Hz, 1 H, H 21]; 2,07 [dd, ²J = 16,50, ³J = 5,30 Hz, 1 H, H 22]; 2,94 [dd, ²J = 21,90, ³J = 3,67 Hz, 1 H, H 71]; 3,19 [dd, ²J = 21,90, ³J = 3,67 Hz, 1 H, H 72]; 3,95 [dd, ³J = 10,40, ³J = 5,30 Hz, 1 H, H 3]; 4,35 [dd, ³J = 3,60, 1 H, H 5]; 7,21 [m, H 82–H 86].

Die Arbeit wurde in großzügiger Weise durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt.

-
- [1] H. Freeman in J. Eichhorn (Herausg.): Inorganic Biochemistry, Bd. 1, Elsevier, Amsterdam (1973).
- [2] V. T. Ivanov, A. I. Miroshnikov, N. D. Abdullaev, L. B. Senyavina, S. F. Arkhipova, N. N. Uvorova, K. Kh. Khalilulina, V. F. Bystrov und Yu. A. Ovchinnikov, Biochem. Biophys. Res. Commun. **42**, 654 (1971).
- [3] R. H. Mazur, J. M. Schlatter und A. H. Goldkamp, J. Am. Chem. Soc. **91**, 2684 (1969); J. Med. Chem. **16**, 1284 (1973).
- [4] P. Mikulcik, J. Riede und H. Schmidbaur, Chem. Ber. **124**, 2743 (1991).
- [5] R. D. Shannon, Acta Crystallogr. **A 32**, 751 (1976).
- [6] J. Britten und M. Blank, Biochim. Biophys. Acta **159**, 160 (1968).
- [7] C. E. Inturrisi, Biochim. Biophys. Acta **173**, 567 (1969).
- [8] W. S. Tsang, M. A. Clarke und F. W. Parrish, J. Agric. Food Chem. **33**, 734 (1985).
- [9] K. Hayakawa, T. Schilpp, K. Imai, T. Higuchi und O. S. Wong, J. Agric. Food Chem. **38**, 1256 (1990).
- [10] R. B. Heslop und K. Jones, Inorganic Chemistry, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam (1976).
- [11] A. Streitwieser und C. H. Heathcock, Organische Chemie, Verlag Chemie, Weinheim (1980).
- [12] J. Fridrichson und A. M. Mathiesen, Acta Crystallogr. **23**, 439 (1967); J. Fridrichson und A. M. Mathiesen, *ibid.* **18**, 1043 (1965).
- [13] J. W. Ronaldson, A. Taylor, E. P. White und R. J. Abraham, J. Chem. Soc. **1963**, 3172.
- [14] R. Nagarajan, L. L. Huckstep, D. H. Lively, D. C. Delong, M. M. Marsh und N. Neuss, J. Am. Chem. Soc. **90**, 2980 (1968).
- [15] D. B. Cosulich, N. R. Nelson und J. H. van den Hende, J. Am. Chem. Soc. **90**, 6519 (1968).
- [16] D. Hauser, H. P. Weber und H. P. Sigg, Helv. Chim. Acta **5**, 1061 (1970).
- [17] J. Michalsky, J. Ctvrtnik, A. Horakova und V. Bydzovsky, Experientia **18**, 217 (1962).
- [18] R. Degeilh und R. E. Marsh, Acta Crystallogr. **12**, 1007 (1959).
- [19] G. N. Ramachandran und C. M. Venkatachalam, Biopolymers **6**, 1255 (1968).
- [20] G. Grawne, G. W. Kenner, N. H. Rogers, R. C. Sheppard und K. Titlestad, in E. Bricas (Herausg.): Peptides 1968 North-Holland Publishing Co., Amsterdam (1968).
- [21] C. F. Lin und L. E. Webb, J. Am. Chem. Soc. **95**, 6803 (1973).