

Zinkkomplexe von Aminosäuren und Peptiden, 2<sup>[1]</sup>

# Koordination einfacher Histidin-Derivate an Zink

Martin Förster, Rainer Burth, Anne K. Powell, Thomas Eiche und Heinrich Vahrenkamp\*

Institut für Anorganische und Analytische Chemie der Universität Freiburg, Albertstraße 21, D-79104 Freiburg

Eingegangen am 16. August 1993

**Key Words:** Histidine derivatives / Zinc complexes / Solution equilibria

## Zinc Complexes of Amino Acids and Peptides, 2<sup>[1]</sup>. – Coordination of Simple Histidine Derivatives to Zinc

The bis(L-histidine)ZnCl<sub>2</sub> complex **1** is likely to have tetrahedral ZnN<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> coordination. For the compound (L-histidine)-ZnCl<sub>2</sub> · HCl (**2**) a structure determination has revealed a tetrahedral ZnOCl<sub>3</sub> coordination. Of the C-protected histidine derivatives His-OMe and His-NH<sub>2</sub> and zinc salts of non-coordinating anions the complexes (His-OMe)<sub>2</sub>ZnX<sub>2</sub> (**3**) and (His-NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>Zn(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (**4**) were obtained. A structure determination of (His-OMe)<sub>2</sub>Zn(BPh<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O has revealed a ZnN<sub>4</sub> coordination with chelating histidine units. Of the N-protected

histidine derivative N<sup>z</sup>-acetylhistidine the complexes (Ac-His)ZnX · H<sub>2</sub>O (**5**, X = ClO<sub>4</sub>, BF<sub>4</sub>) have been isolated which are coordination polymers in the solid state. From pH-dependent <sup>13</sup>C-NMR studies it is concluded that in solution the imidazole N and carboxyl O are coordinated to zinc in (Ac-His)Zn and (Ac-His)<sub>2</sub>Zn units. The doubly protected histidine derivative Bz-His-OMe acts as a monodentate ligand forming the tetrahedral complexes (Bz-His-OMe)<sub>4</sub>Zn(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (**6**) and [(Bz-His-OMe)<sub>2</sub>Zn(2,9-dimethyl-o-phenanthroline)](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (**7**).

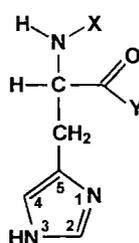
Bei unseren Studien zur Koordinationschemie des Zinks mit Bezug zu dessen biologischen Funktionen verfolgen wir zwei Linien. Die eine zielt über die Untersuchung von Zinkkomplexen mit nichtbiologischen chelatisierenden Liganden auf die Modellierung von Koordination und Funktion des Metalls in zinkhaltigen Enzymen<sup>[2]</sup>. Die andere benutzt als Ausgangspunkt die natürlichen Bindungspartner des Zinks im biologischen Material, die Aminosäurebausteine mit koordinationsfähigen Seitengruppen. Dies sind in erster Linie Cystein, Histidin, Glutaminsäure und Asparaginsäure, die Schwefel, Stickstoff und Sauerstoff als Donoratome zur Verfügung stellen<sup>[3,4]</sup>. Wir verwenden diese Aminosäuren, Derivate davon und Peptide, die sie enthalten, als Liganden für Zinkkomplexe.

Die laufenden Untersuchungen befassen sich mit der Darstellung der aminosäurehaltigen Ligandensysteme, ihrer Umsetzung mit Zinksalzen und der Charakterisierung der entstehenden Verbindungen durch spektroskopische und Gleichgewichts-Bestimmungsmethoden sowie mit der Ermittlung ihrer Strukturen durch Kristall- und NMR-Strukturanalyse. Das Ziel der Untersuchungen ist die Auffindung der Parameter, mit denen das Zink-Ion auf die Stabilität und Geometrie von Zink-Peptid-Komplexen Einfluß nimmt. Diese Studien sollen so die Untersuchungen an biologischem Material ergänzen, in welchem in der Regel der Koordinationsort und die Koordinationsgeometrie des Zinks durch die Struktur des Proteins vorgegeben sind.

Während über Zink-Enzyme<sup>[3,4]</sup> und andere zinkhaltige Peptidsysteme (Insulin, Zinkfinger<sup>[5]</sup>) sehr viel strukturanalytisches Material vorliegt, haben sich die publizierten Untersuchungen über Metall-Aminosäure- und -Peptidkomplexe viel seltener auf das Zink als auf andere biorelevante

Metalle konzentriert<sup>[6-9]</sup>. Von den Zinkkomplexen sind hauptsächlich Stabilitätsuntersuchungen bekannt. Wir haben uns deshalb vorgenommen, eine solidere Basis von Fakten dadurch zu schaffen, daß wir einerseits systematische und vergleichende Lösungsstudien vornehmen und andererseits versuchen, reine Stoffe zu isolieren und möglichst durch Strukturanalysen zu charakterisieren.

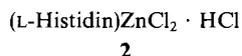
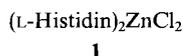
Ersteres haben wir zuerst mit einer potentiometrischen Untersuchung von Zinkkomplexen zweizähliger Cystein- und Histidinderivate in Angriff genommen<sup>[1]</sup>. Die vorliegende Arbeit beschreibt unseren Einstieg in die präparative Chemie dieser Verbindungen am Beispiel einfacher Histidinderivate. Wichtige Vorläuferarbeiten hierzu wurden in den fünfziger Jahren von Weitzel et al. vorgenommen<sup>[10-12]</sup>. An Strukturanalysen liegen bisher diejenigen von Zn(L-His)<sub>2</sub> · 2 H<sub>2</sub>O<sup>[13]</sup> und Zn(DL-His)<sub>2</sub> · 5 H<sub>2</sub>O<sup>[14]</sup> vor. Uns lag unter anderem daran, herauszufinden, inwieweit jede der drei Donorfunktionen des Histidins (Imidazol-N, Aminogruppe, Carboxylatgruppe) dessen Koordinationsverhalten bestimmt und ob die tetraedrische Koordination des Zinks eindeutig bevorzugt ist. Hierzu setzten wir L-Histidin selbst und seine am C- und/oder N-Terminus blockierten Derivate als Liganden mit verschiedenen Zinksalzen um.



X	Y	Derivat
H	OH	His
H	OMe	His-OMe
H	NH <sub>2</sub>	His-NH <sub>2</sub>
Acetyl	OH	Ac-His
Benzoyl	OMe	Bz-His-OMe

### Komplexe des freien L-Histidins

In Ergänzung der schon beschriebenen Gewinnung der  $\text{Zn}(\text{His})_2$ -Komplexe aus Histidin und Zinkoxid oder Zinkhydroxid<sup>[10]</sup> führten wir Umsetzungen des ungeschützten Histidins mit Zinksalzen durch. Als erwähnenswerte neue Beobachtung dabei ist zu berichten, daß das Histidin nicht mit Halogenid-Anionen als Ligand für das Zink konkurrieren kann. Beleg hierfür sind die aus Zinkchlorid in Wasser gewonnenen Komplexe. So entstand mit L-Histidin im 2:1-Molverhältnis eine Verbindung, die wir auf Grund ihrer Löslichkeit in Aceton als einen molekularen Komplex ansehen. Aus den Analysendaten kann geschlossen werden, daß diese Substanz hauptsächlich aus dem Komplex **1** besteht. Sie konnte jedoch nicht analysenrein erhalten werden und enthielt je nach Aufarbeitungsbedingungen bis zu ca. 10% Hydrolyseprodukte. Die Zink- und Chlorid-Analysen deuten an, daß letztere sowohl  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  sein können als auch das Derivat von **1**, in welchem anstelle eines Chlorid-Ions eine OH-Gruppe vorliegt. Versuche, die Hydrolyse durch Gegenwart von HCl zurückzudrängen, führten nur zur Verunreinigung mit dem nachfolgend beschriebenen **2**. Gemäß der Tatsache, daß die meisten molekularen  $\text{ZnCl}_2$ -Komplexe tetraedrisch gebaut sind<sup>[15]</sup>, kann geschlossen werden, daß in **1** eine tetraedrische  $\text{ZnN}_2\text{Cl}_2$ -Koordination vorliegt, wobei das Histidin als Ligand in seiner zwitterionischen Form der freien Aminosäure verbleibt und über das Imidazol-N-Atom an das Zink-Atom gebunden ist.



Unterstützt wird diese Annahme durch das Ergebnis der Umsetzung von Zinkchlorid mit L-Histidin-hydrochlorid. Sie lieferte die Verbindung **2**, die in ihrer Zusammensetzung den von Weitzel<sup>[10]</sup> beschriebenen Verbindungen des D- und DL-Histidins entspricht. Die <sup>1</sup>H-NMR-Daten in  $\text{D}_2\text{O}$ -Lösung erlauben keine Unterscheidung von **2** und L-His · HCl und lassen damit den Schluß zu, daß **2** in Lösung dissoziiert. Für den kristallinen Zustand belegt jedoch die Struktur-

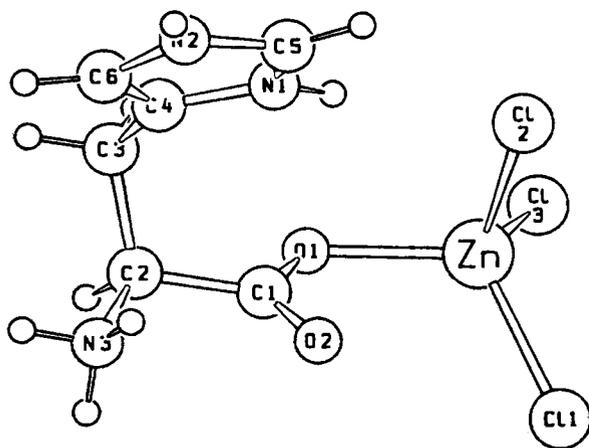


Abb. 1. Molekülstruktur von **2** im festen Zustand. Ausgewählte Atomabstände: Zn–Cl1 226.2(1), Zn–Cl2 226.1(1), Zn–Cl3 224.8(1), Zn–O1 200.0(2), Zn–O2 285.0(2) pm

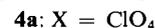
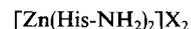
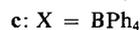
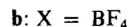
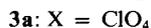
analyse (Abb. 1) die Koordination des Histidins an das Zink-Zentrum in Form des molekularen L-Histidiniumtrichlorozinkats.

Das Zink in **2** ist in guter Näherung tetraedrisch von Cl und O umgeben (Valenzwinkel am Zink 108–113°). Die Form von **2** wird durch zwei intermolekulare (Cl1···H3, Cl3···H2) und eine intramolekulare (Cl2···H7) Wasserstoffbrücke mitbestimmt. Die Lokalisierung aller H-Atome in der Struktur erlaubt die sichere Aussage, daß alle drei Stickstoffatome des Histidins in der protonierten Form vorliegen. Dies macht verständlich, warum die Carboxylatgruppe als untypischer Donor an das Zink koordiniert ist. Die Zn–Cl- und Zn–O-Abstände liegen im üblichen Rahmen für Chloro- und Carboxylato-Komplexe des Zinks<sup>[15]</sup>. Die Länge des zweiten Zn–O-Abstandes schließt eine zweizählige Anordnung des Carboxylatliganden aus. Insgesamt bietet der Komplex **2** damit eine vollkommen „unphysiologische“ Beziehung zwischen Zink und Histidin. Die Identifizierung seiner Struktur muß gleichzeitig als ein Caveat dienen gegenüber den Schlüssen aus vielen Lösungsstudien über Stabilität und Struktur von Zinkkomplexen mit stickstoffhaltigen Liganden, bei denen Zinkhalogenide zum Einsatz kamen<sup>[6–9,15,16]</sup>.

### Komplexe des C-blockierten Histidins

Die 1957 beschriebenen Versuche von Weitzel<sup>[10]</sup> zur Synthese von Zinkkomplexen des Histidin-methylesters (His-OME) hatten ergeben, daß dieser Ester in wäßriger Lösung in Gegenwart von Zink-Ionen schnell hydrolysiert wird, mit dem Ergebnis, daß nur  $\text{Zn}(\text{His})_2$  isolierbar war. Die potentiometrisch ermittelten akzeptablen Stabilitäten von  $[\text{Zn}(\text{His-OME})]^{2+}$ - und  $[\text{Zn}(\text{His-OME})_2]^{2+}$ -Spezies<sup>[11]</sup> in Lösung ließen jedoch eine Isolierbarkeit entsprechender Komplexsalze erwarten. Wir verifizierten dies durch Umsetzungen in wasserfreiem Methanol und durch Verwendung von Zinksalzen mit nichtkoordinierenden Anionen. In mittleren Ausbeuten fielen so die Verbindungen **3a–c** an.

Bei entsprechenden Umsetzungen mit Zinkhalogeniden oder Zinknitrat bildeten sich spontan uneinheitliche Niederschläge, die wir für Koordinationspolymere halten. Das Gleiche trat bei entsprechenden Reaktionen von Histidinamid (His-NH<sub>2</sub>) ein. Aus Zinkperchlorat und Histidinamid entstand dagegen wieder eine lösliche Komplexverbindung, die als **4a** isoliert werden konnte.



Die <sup>1</sup>H-NMR-Daten der Komplexe **3** und **4** bestätigen ihre Existenz und Stabilität in methanolischer Lösung durch eine deutliche Hochfeldverschiebung (0.15–0.75 ppm) aller Signallagen im Vergleich zu denen der freien Liganden. Versuche zur Gewinnung von Einkristallen einer der Verbindungen waren erst nach großer Mühe erfolgreich. Sie führten zur Strukturanalyse von **3c** (Abb. 2), die die erwartete Koordination der beiden freien Donorfunktionen des Histidin-methylesters an das Zink-Ion belegte.

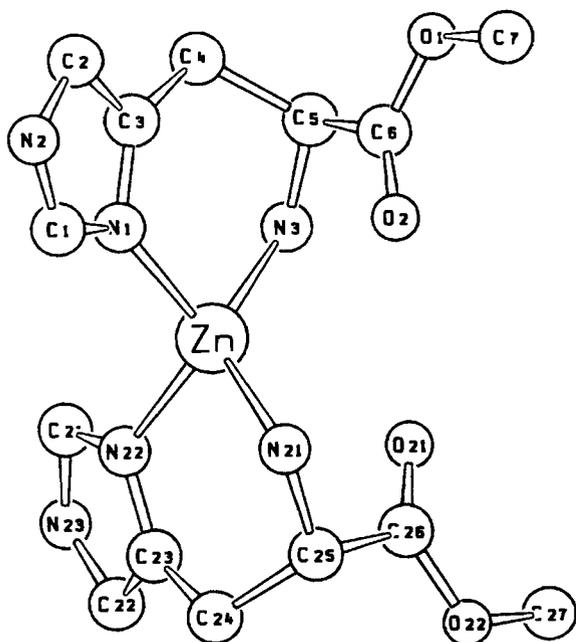


Abb. 2. Struktur des Komplexkations von **3c**. Ausgewählte Bindungsabstände: Zn–N1 194.7(1), Zn–N3 204.7(1), Zn–N21 201.2(1), Zn–N22 199.1(1) pm. – Bindungswinkel: N1–Zn–N3 95.0(1), N1–Zn–N21 112.0(1), N3–Zn–N21 130.3(1), N1–Zn–N22 116.9(1), N3–Zn–N22 108.5(1), N21–Zn–N22 95.6(1) Grad

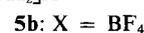
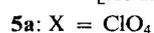
Die Molekülgeometrie des Kations von **3c** entspricht sehr weitgehend derjenigen von  $\text{Zn}(\text{L-His})_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ <sup>[13]</sup>. Die Tetraedergeometrie um das Zink ist stark verzerrt mit sehr kleinem „Biß“ der Chelatliganden und sehr großem N–Zn–N-Winkel zwischen den beiden Aminfunktionen. Die Öffnung auf dieser Seite des Komplexes wird für zwei sehr schwache Zn–O-Wechselwirkungen mit den Carboxylat-Sauerstoffatomen (je 279 pm) genutzt. Deren Einbeziehung in die Koordinationssphäre des Zinks führt aber zu keiner sinnvollen Form eines Koordinationspolyeders. Bei den Zn–N-Abständen sind die zu den Heterocyclen-N-Atomen charakteristisch kürzer als die zu den Amin-N-Atomen. Für letztere spiegelt sich darin auch wider, daß sie an Wasserstoffbrückenbindungen (zum Kristallwassermolekül und zu den Carboxylat-O-Atomen) beteiligt sind.

### Komplexe des N-blockierten Histidins

Zinkkomplexe dieses Typs wurden bis jetzt noch nicht in reiner Form isoliert. Potentiometrische Untersuchungen zu ihrer Stabilität in Lösung hatten jedoch die zu erwartende Aussage geliefert, daß durch die Blockierung der Aminfunktion durch Acylgruppen das Zinkbindungsvermögen des Histidins stark reduziert wird<sup>[14,17]</sup>. Neben der Verhinderung der Amin-Koordination ist hierfür auch die für einen Chelateffekt ungünstige Bindungssituation (Zn–O–N-Chelatring siebengliedrig) verantwortlich.

Unsere Versuche, aus *N*-Acetylhistidin und Zinksalzen kristalline Komplexe zu erhalten, die eine strukturchemische Identifizierung erlaubt hätten, blieben erfolglos. Mit Zinksulfat, -nitrat, -acetat, -halogenid oder -hydroxid entstanden spontan Niederschläge uneinheitlicher Zusammensetzung,

die nur in wäßrigen Säuren löslich waren. Mit Zinkperchlorat und -tetrafluorborat bildeten sich Lösungen mit einem pH-Wert  $\approx 4$ . Wurden diese Lösungen mit Natronlauge oder Ammoniak langsam auf pH 7 gebracht, dann schieden sich die Verbindungen der Zusammensetzung **5** als amorphe Pulver ab. Anhand der Festkörper-IR-Spektren ließ sich nachweisen, daß in diesen Komplexen die Bindungspartner des Zinks ( $\text{Ac-His}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{ClO}_4^-$  bzw.  $\text{BF}_4^-$ ) vorhanden sind. Da die Anionen nichtkoordinierend sind und das Wassermolekül vermutlich eine Koordinationsstelle des Zinks besetzt, muß angenommen werden, daß das *N*-Acetylhistidin in deprotonierter Form vorliegt und drei Donorfunktionen zur Verfügung stellt. Dies impliziert unseres Erachtens, daß die Verbindungen **5** Koordinationspolymere sind.



Da von den Ac-His-Komplexen des Zinks keine Kristalle zu gewinnen waren, wurde versucht, mit Hilfe der  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie Strukturinformation über sie zu erhalten. Hierzu wurden, analog zum Vorgehen bei potentiometrischen Titrationsen, von  $\text{D}_2\text{O}$ -Lösungen verschiedener Zusammensetzung bei variablem pH-Wert (präziser pD-Wert)

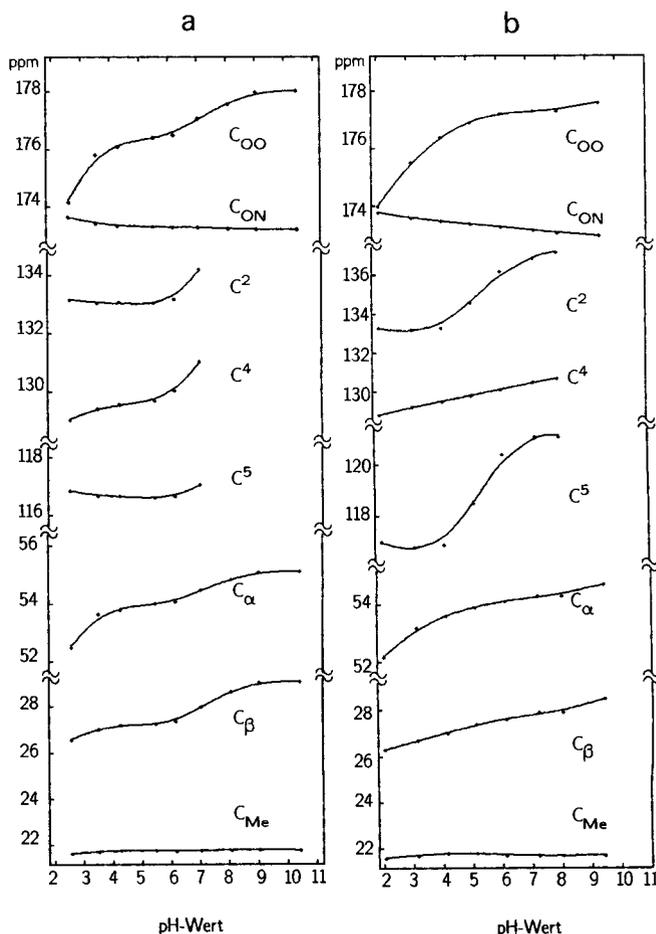


Abb. 3.  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten a) von Ac-His als Funktion des pH-Wertes, b) einer Lösung von Ac-His und  $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$  (2:1) als Funktion des pH-Wertes

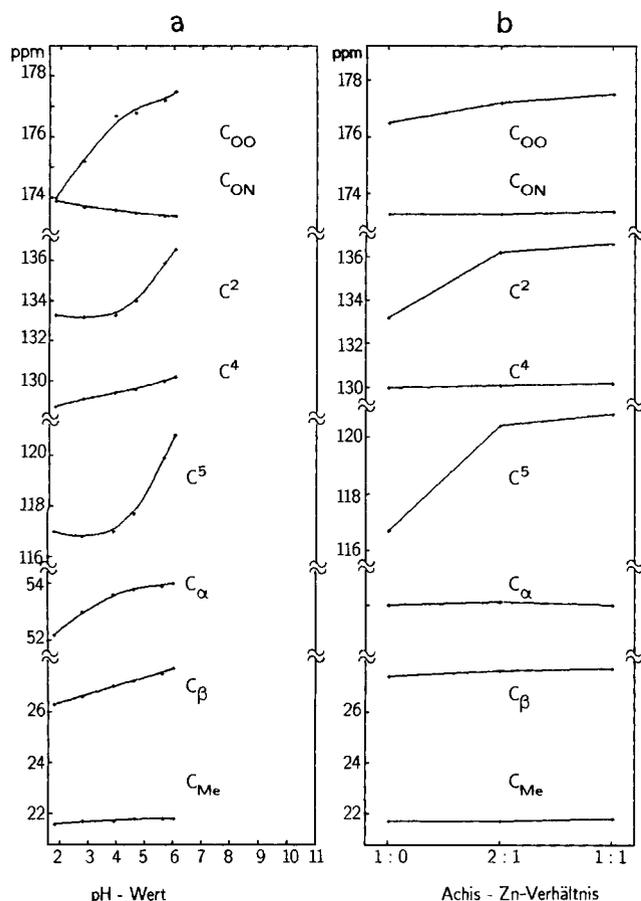


Abb. 4.  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten a) einer Lösung von Ac-His und  $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$  (1:1) als Funktion des pH-Werts, b) von Ac-His bei pH = 6 als Funktion des Molverhältnisses Ac-His/ $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$

die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren aufgenommen. Die Abbildungen 3 und 4 geben die Meßergebnisse wieder.

Abb. 3a zeigt für das reine  $N^\alpha$ -Acetylhistidin, daß die Deprotonierung der Carboxylgruppe ( $\text{p}K_a = 2.94$ ) und des Imidazolrings ( $\text{p}K_a = 7.11$ )<sup>[1]</sup> sich in charakteristischen Tiefeldverschiebungen der  $^{13}\text{C}$ -Signallagen benachbarter Atome äußern. Die Signale der Imidazol-C-Atome verbreitern sich dabei so sehr, daß sie bei ca. pH = 7 unsichtbar werden. Hierin drückt sich die Abhängigkeit der Quadrupolrelaxation vom Protonierungszustand des  $^{14}\text{N}$ -Kerns aus<sup>[18,19]</sup>.

Die Meßkurven in Abb. 3b repräsentieren ein Ac-His:Zn-Verhältnis von 2:1. Auffällig ist zunächst, daß am Neutralpunkt nicht der Komplex **5a** ausfällt, sondern die Messung über den ganzen pH-Bereich möglich ist. Dies deutet auf die Bildung von 2:1-Komplexen hin. In Übereinstimmung mit der für solche Komplexe ermittelten sehr geringen Stabilität<sup>[1]</sup> konnten wir aber in separaten Versuchen keinen davon isolieren. Bei den  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten in Abb. 3b fällt auf, daß diejenigen für den Imidazolring und für das Carboxylat-C-Atom am deutlichsten von denen in Abb. 3a abweichen. Daraus geht hervor, daß  $N^\alpha$ -Acetylhistidin wie erwartet als  $N,O$ -Chelatligand über diese beiden Funktionen an das Zink gebunden wird. Erneut verschwinden die Signale der Imidazol-C-Atome bei ca. pH = 8.

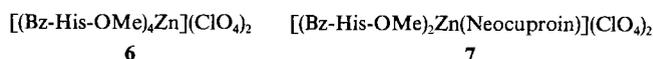
Bei der in Abb. 4a wiedergegebenen Messung für ein Ac-His:Zn-Verhältnis von 1:1 trat ab pH = 6 die Fällung von **5a** ein. Bis zu diesem Punkt sind sehr starke Signalverschiebungen für  $\text{C}^2$  und  $\text{C}^5$  im Imidazolring, die Nachbaratome des Donor-Stickstoffatoms, und für das Carboxyl-C-Atom zu beobachten. Damit sind bis zum Zeitpunkt der Fällung zwei der Histidin-Donorfunktionen im Produkt **5** ausgeglichen. Die dritte muß offenbleiben.

Abb. 4b lenkt das Augenmerk auf alle relativen Signalverschiebungen bei pH = 6.  $\text{C}^2$ ,  $\text{C}^5$  und C(Carboxyl) stechen deutlich heraus. Beim Ac-His:Zn-Verhältnis von 1:1 sind alle Meßeffecte am größten. Sie sind aber für das 2:1-Verhältnis auch nicht wesentlich kleiner. Dies spricht für das Vorliegen des 2:1-Komplexes in Lösung, wie es ja auch aus dem Nicht-Ausfallen von **5a** geschlossen werden muß. Denn wenn ein Gemisch von 1:1-Komplex und freiem Ac-His vorläge, sollte man angesichts des für Zinkkomplexe typischen raschen Ligandenaustauschs Signallagen erwarten, die etwa zwischen denen von 1:1-Komplex und freiem Ac-His liegen.

### Komplexe von C- und N-blockiertem Histidin

Als Bestandteil einer Polypeptidkette kann das Histidin nur die Imidazol-N-Atome als Ligandatome zur Verfügung stellen. In einfachster Form wird dies durch Histidinderivate modelliert, die am C- und N-Terminus blockiert sind. Dementsprechend gibt es einige bioorganische Untersuchungen mit solchen Derivaten in Form  $N^\alpha$ -acylierter Histidin-Ester oder -Amide<sup>[20]</sup>, während über Zinkkomplexe davon noch nicht berichtet wurde. Wir wählten zu deren Gewinnung die einigermaßen gut zugängliche Verbindung  $N^\alpha$ -Benzoylhistidin-methylester (Bz-His-OMe).

Bz-His-OMe wurde mit Zinkperchlorat umgesetzt. Um die oben erwähnte Hydrolyse von Histidinenestern in Gegenwart von Zinksalzen zu vermeiden, diente Methanol als Lösungsmittel. Bei einem Molverhältnis von 4:1 entstand glatt der Komplex **6**, für den das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum das Vorliegen der intakten Bz-His-OMe-Einheiten sicherstellte. Damit dürfte **6** ein tetraedrisch konfiguriertes Komplexkation enthalten, in dem die vier Imidazolgruppen der Bz-His-OMe-Liganden die Donorfunktionen stellen. Als Variante dieses  $\text{Zn}\text{N}_4^{2+}$ -Komplextyps ließ sich mit zwei Moläquivalenten Bz-His-OMe und einem Moläquivalent Neocuproin (2,9-Dimethyl-*o*-phenanthrolin) auf gleiche Weise der Komplex **7** erhalten. **6** und **7** sind die einfachsten Komplexe, in denen Histidin in einer peptidanalogen Bindungssituation als Zinkligand fungiert. Wenngleich Kristalle davon für eine Strukturanalyse bisher nicht erhalten wurden, lassen die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren die Identität der Liganden und die Stöchiometrie der Komplexe die tetraedrische Koordination des Zinks als gesichert erscheinen.



Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen über die Zusammensetzungen und Strukturen der nachgewiesenen Komplexe die Schlüsse, die aus den vorausgehenden potentiometrischen Stabilitätsbestimmungen<sup>[1]</sup> und aus den frühen

chemischen Untersuchungen<sup>[10–12]</sup> gezogen wurden. Die Aminosäure Histidin kann, gegebenenfalls in teilweise blockierter Form, Chelatkomplexe mit dem Zink bilden. Dabei ist das Sechsring-Chelat [N(Imidazol) und N<sup>α</sup> als Donoren] günstiger als das Siebenring-Chelat [N(Imidazol) und O als Donoren]. Da beide Chelat-Ringgrößen für Metallkomplexe nicht ideal sind, ist das Ausmaß des Chelateffekts insgesamt gering, vgl. die Stabilitätskonstanten<sup>[1]</sup>. Die einzige von der Natur nutzbare Donorqualität des Histidins, die in den Imidazol-N-Atomen liegt, kann so durch Chelatisierung nicht wesentlich gesteigert werden. Die leichte Bildung und Stabilität der Komplexe **6** und **7** unterstreicht dies für die einzähnigen Histidinliganden.

Diese Arbeit wurde von der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemischen Industrie* unterstützt. Wir danken Dr. W. Deck und Herrn A. Meißner für NMR-Messungen und Herrn A. Abufarag für experimentelle Hilfe.

## Experimenteller Teil

Die Umsetzungen wurden ohne Luftausschluß in frisch destillierten Lösungsmitteln durchgeführt. — IR: Bruker IFS-25-FTIR-Gerät. — NMR: Bruker AC-200-Gerät. — Die Zinksalze und L-Histidin-hydrochlorid wurden käuflich erworben. Daraus wurden Histidin<sup>[21]</sup>, His-OMe<sup>[22,23]</sup>, His-NH<sub>2</sub><sup>[24]</sup>, N<sup>α</sup>-Ac-His<sup>[25]</sup> und N<sup>α</sup>-Bz-His-OMe<sup>[26]</sup> gewonnen. Bei allen Ausgangsmaterialien und Produkten wurde darauf geachtet, daß sie nicht racemisiert, d.h. L-Histidin-Derivate sind. <sup>1</sup>H-NMR- und Analysendaten sind in Tab. 1 und 2 zusammengefaßt.

**1:** Es wird eine Vorschrift gegeben, die zu einer Cl-armen Substanz führt, d.h. vermutlich zu einer, die mit His<sub>2</sub>Zn(OH)Cl verunreinigt ist: Zu 400 mg (2.58 mmol) L-Histidin in 7 ml Wasser wurden 186 mg (1.36 mmol) ZnCl<sub>2</sub> in 7 ml Wasser gegeben. Die klare Lösung wurde 1 h bei Raumtemp. gerührt und danach im Exsikkator zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde in 3 ml Wasser aufgenommen und die Lösung mit 10 ml Aceton versetzt. Durch Abkühlen auf –30°C schieden sich 270 mg (47%) von verunreinigtem **1** ab, welches nach Trocknen i. Vak. als hygroskopisches, leicht zusammenbackendes, gelblich-graues Pulver vom Schmp. 170°C anfiel.

**2:** 1.01 mg (4.9 mmol) Histidin-hydrochlorid-hydrat wurden in wenig heißem Wasser gelöst. Nach raschem Abkühlen wurde eine wäßrige Lösung von 650 mg (4.8 mmol) ZnCl<sub>2</sub> zugetropft. Zu der klaren Lösung wurde schließlich unter Schütteln soviel Aceton gegeben, daß eine gesättigte Lösung vorlag. Bei –27°C kristallisierten 0.90 g (56%) **2** vom Schmp. 250°C (Zers.). Weitzel et al.<sup>[10]</sup> nennen für D-His-HCl-ZnCl<sub>2</sub> einen Schmp. von 269–272°C.

**3a:** Zu einer Lösung von 340 mg (2.00 mmol) His-OMe in 20 ml Methanol wurde langsam eine Lösung von 300 mg (1.00 mmol) Zn(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 2 H<sub>2</sub>O in 10 ml Methanol getropft. Es wurde filtriert und mit 10 ml Ether überschichtet. Bei 4°C kristallisierten 244 mg (40%) **3a** vom Schmp. 198°C (Zers.) aus, die abfiltriert, mit Ether gewaschen und i. Vak. getrocknet wurden.

**3b:** Wie **3a** mit 340 mg (1.00 mmol) Zn(BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O; Ausb. 308 mg (52%) **3b** vom Schmp. 184°C (Zers.).

**3c:** Wie **3a** mit 150 mg (1.00 mmol) ZnCl<sub>2</sub> und 684 mg (2.00 mmol) NaBPh<sub>4</sub>; Ausb. 430 mg (41%) **3c** vom Schmp. 210°C (Zers.).

**4a:** Wie **3a** aus 308 mg (1.00 mmol) His-NH<sub>2</sub> und 300 mg (1.00 mmol) Zn(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 2 H<sub>2</sub>O; Ausb. 376 mg (65%) **4a** vom Schmp. 257°C (Zers.).

**5a:** 108 mg (0.57 mmol) Ac-His wurden zusammen mit 215 mg (0.57 mmol) Zn(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O in 5 ml Wasser gelöst. Der pH-Wert der Lösung betrug 4.3. Mit 0.1 N NaOH wurde die Lösung bis pH = 7 titriert. Dabei fiel ab pH = 6.5 der Komplex **3b** als farbloser Niederschlag aus. Er wurde abzentrifugiert, mit Wasser und Methanol gewaschen und i. Vak. getrocknet. Man erhielt so 185 mg (86%) **5a** vom Schmp. 320°C (Zers.).

**5b:** Wie **5a** aus 148 mg (0.78 mmol) Ac-His und 260 mg (0.75 mmol) Zn(BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O; Ausb. 214 mg (78%) **5b** vom Schmp. 330°C (Zers.).

**6:** Zu einer Lösung von 200 mg (0.73 mmol) Bz-His-OMe in 20 ml Methanol wurde langsam eine Lösung von 68 mg (0.18 mmol) Zn(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O in 10 ml Methanol getropft. Zu der klaren Lösung wurden 15 ml Wasser gegeben, der dabei entstandene weiße Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und i. Vak. getrocknet. Es verblieben 134 mg (55%) **6** vom Schmp. 172–174°C.

**7:** Zu einer Lösung von 200 mg (0.73 mmol) Bz-His-OMe und 136 mg (0.36 mmol) Zn(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O in 50 ml Methanol wurde

Tab. 1. <sup>1</sup>H-NMR-Daten der löslichen Komplexe (δ/J[Hz], Standard für D<sub>2</sub>O TSP, für CD<sub>3</sub>OD und CD<sub>3</sub>CN TMS)

<b>1</b>	(D <sub>2</sub> O)	3.24/6.5 (d, 2H), 3.88/6.5 (t, 1H), 7.02 (s, 1H), 8.22 (s, 1H)
<b>2</b>	(D <sub>2</sub> O)	3.15/6.4 (d, 2H), 3.83/6.4 (t, 1H), 7.19 (s, 1H), 8.46 (s, 1H)
<b>3a</b>	(CD <sub>3</sub> OD)	3.24 (m, 2H), 3.71 (s, 3H), 4.25 (m, 1H), 7.16 (s, 1H), 7.98 (s, 1H)
<b>3b</b>	(CD <sub>3</sub> OD)	3.25 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 4.24 (m, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.97 (s, 1H)
<b>3c</b>	(CD <sub>3</sub> OD)	3.24 (m, 2H), 3.71 (s, 3H), 4.25 (m, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.98 (s, 1H)
<b>4a</b>	(CD <sub>3</sub> OD)	3.26 (m, 2H), 4.19 (m, 1H), 7.08 (s, 1H), 7.94 (s, 1H)
<b>6</b>	(CD <sub>3</sub> OD)	3.23 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 4.25 (m, 1H), 6.91 (s, 1H), 7.37 (m, 3H) 7.65 (m, 2H), 7.81 (s, 1H)
<b>7</b>	(CD <sub>3</sub> CN)	2.64 (s, 6H), 3.12 (m, 4H), 3.54 (s, 6H), 4.63 (m, 2H), 7.03 (s, 2H), 7.34 (m, 6H), 7.52 (m, 4H), 7.91 (m, 2H), 8.05 (s, 2H), 8.20 (m, 2H), 8.77 (m, 2H)

Tab. 2. Elementaranalysen

	Summenformel (Molmasse)	Analysen	C			
			H	N	Zn	
<b>1</b>	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> Zn (446.6)	Ber.	32.27	4.06	18.82	14.64
		Gef.	30.0	4.0	16.5	17.7
			-33.5	-5.6	-19.7	-15.0
<b>2</b>	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> Zn (327.9)	Ber.	21.98	3.07	12.82	-
		Gef.	21.85	3.05	12.74	-
<b>3a</b>	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>6</sub> O <sub>12</sub> Zn (602.7)	Ber.	27.90	3.68	13.95	10.85
		Gef.	30.03	3.61	14.90	10.65
<b>3b</b>	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> B <sub>2</sub> F <sub>8</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> Zn (577.3)	Ber.	29.12	3.84	14.56	11.32
		Gef.	29.01	3.74	14.20	11.30
<b>3c</b>	C <sub>62</sub> H <sub>62</sub> B <sub>2</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> Zn (1042.2)	Ber.	71.45	6.00	8.07	6.27
		Gef.	69.22	5.94	7.62	6.23
<b>4a</b>	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>8</sub> O <sub>10</sub> Zn (572.7)	Ber.	25.17	3.40	19.57	11.42
		Gef.	25.16	3.40	19.35	11.40
<b>5a</b>	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>1</sub> N <sub>3</sub> O <sub>8</sub> Zn (379.1)	Ber.	25.35	3.19	11.09	17.25
		Gef.	24.20	3.19	10.28	17.30
<b>5b</b>	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> BF <sub>4</sub> N <sub>3</sub> O <sub>8</sub> Zn (366.4)	Ber.	26.23	3.30	11.47	17.84
		Gef.	26.80	3.36	11.89	17.90
<b>6</b>	C <sub>56</sub> H <sub>60</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>12</sub> O <sub>20</sub> Zn (1357.5)	Ber.	49.55	4.46	12.38	4.82
		Gef.	49.64	4.38	12.52	5.08
<b>7</b>	C <sub>42</sub> H <sub>42</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>8</sub> O <sub>14</sub> Zn (1019.2)	Ber.	49.50	4.15	11.00	6.42
		Gef.	49.47	4.38	9.84	6.92

unter Rühren langsam eine Lösung von 76 mg (0.36 mmol) Neocuproin in 20 ml Methanol getropft. Nach Filtrieren wurde die klare Lösung auf  $-30^{\circ}\text{C}$  abgekühlt. Der ausgefallene weiße Niederschlag wurde abfiltriert und mit kaltem Methanol gewaschen. Nach Trocknen i. Vak. verblieben 143 mg (38%) 7 vom Schmp.  $149^{\circ}\text{C}$  (Zers.).

**NMR-Titrations:**  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurden von 0.5 M Lösungen von Ac-His in  $\text{D}_2\text{O}$  aufgenommen. Die Variation der pD-Werte von 2.0–10.4 erfolgte mit NaOD und DCl, ihre Messung potentiometrisch. Als zugegebenes Zinksalz wurde  $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  verwendet, dessen Konzentration in Lösung 0.25 und 0.5 M betrug.

Tab. 3. Kristallographische Details

	2	3c
Summenformel	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{O}_2\text{Zn}$	$\text{C}_{62}\text{H}_{62}\text{B}_2\text{N}_6\text{O}_4\text{Zn}$
Molmasse	327.9	1042.2
Krist. aus	Wasser	Methanol/Diethylether
Kristallgröße [mm]	0.4x0.2x0.2	0.2x0.3x0.1
Farbe	farblos	farblos
Raumgruppe	$P 2_1 2_1 2_1$	P1
Z	4	1
a [Å]	1357.4 (2)	1118.6 (2)
b [Å]	981.4 (1)	1143.5 (2)
c [Å]	861.3 (2)	1289.6 (3)
$\alpha$ [°]	90	103.75 (3)
$\beta$ [°]	90	75.26 (3)
$\gamma$ [°]	90	116.34 (3)
V [nm <sup>3</sup> ]	1.1474 (3)	1.4148 (5)
$d_{\text{ber.}}$ [g/cm <sup>3</sup> ]	1.82	1.22
$d_{\text{gef.}}$ [g/cm <sup>3</sup> ]	1.80	1.23
$\mu$ [cm <sup>-1</sup> ]	27.5	4.89
Meßmethode	$\omega/2\theta$	$\omega/2\theta$
2 $\theta$ -Bereich [°]	2–50	2–45
hkl-Bereich	+h,+k,+l	+h,+k,+l
Reflexe [ $I > 4\sigma(I)$ ]	1896	4620
Variable	166	684
R-Wert	0.025	0.073
Restel.-Dichte [10 <sup>-6</sup> e/qm <sup>3</sup> ]	+ 0.8 - 0.5	+ 0.9 - 1.5

**Strukturanalysen**<sup>[27]</sup>: Kristalle von 2 und 3c wurden durch sehr langsames Verdunsten der Reaktionslösungen erhalten. Tab. 3 gibt die Details zu den kristallographischen Arbeiten. Die auf einem Nonius-CAD4-Diffraktometer mit Mo-K $\alpha$ -Strahlung erhaltenen Meßdaten wurden einer empirischen Absorptionskorrektur<sup>[28]</sup> unterworfen. Die Strukturen wurden mit direkten Methoden gelöst und mit anisotropen Temperaturfaktoren verfeinert<sup>[29]</sup>. Alle H-Atome wurden mit fixem C–H-Abstand von 96 pm und gemein-

samem isotropen Temperaturfaktor in die Berechnungen mit einbezogen. Die Phenylringe der BPh $_4$ -Anionen wurden als starre Gruppen verfeinert. Abbildungen wurden mit dem Programm SCHAKAL<sup>[30]</sup> erstellt.

- <sup>[1]</sup> 1. Mitteilung: P. Gockel, H. Vahrenkamp, A. Zuberbühler, *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 511–520.
- <sup>[2]</sup> Vgl. R. Alsfasser, M. Ruf, S. Trofimenko, H. Vahrenkamp, *Chem. Ber.* **1993**, *126*, 703–710.
- <sup>[3]</sup> *Zinc Enzymes* (Hrsg.: I. Bertini, C. Luchinat, W. Maret, M. Zeppezauer), Birkhäuser, Boston, **1986**.
- <sup>[4]</sup> *Zinc and its Role in Biology and Nutrition* (Hrsg.: H. Sigel), Marcel Dekker, New York, **1983**.
- <sup>[5]</sup> N. P. Pavletich, C. O. Pabo, *Science* **1991**, *252*, 809–817.
- <sup>[6]</sup> H. C. Freeman in *Inorganic Biochemistry* (Hrsg.: G. L. Eichhorn), Elsevier, Amsterdam, **1973**, Bd. 1, S. 121–166.
- <sup>[7]</sup> S. H. Laurie in *Comprehensive Coordination Chemistry* (Hrsg.: G. Wilkinson, R. D. Gillard, J. A. McCleverty), Pergamon Press, Oxford, **1987**, Bd. 2, S. 739–776.
- <sup>[8]</sup> *Amino Acids and Derivatives as Ambivalent Ligands* (Hrsg.: H. Sigel), Marcel Dekker, New York, **1979**.
- <sup>[9]</sup> *Biocoordination Chemistry: Coordination Equilibria in Biologically Active Systems* (Hrsg.: K. Burger), Ellis Horwood, New York, **1990**.
- <sup>[10]</sup> G. Weitzel, F. Schneider, A. M. Fretzdorff, H. E. Heyke, *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.* **1957**, *307*, 14–22.
- <sup>[11]</sup> G. Weitzel, F. Schneider, A. M. Fretzdorff, *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.* **1957**, *307*, 23–35.
- <sup>[12]</sup> G. Weitzel, W. Schaeg, F. Schneider, *Liebigs Ann. Chem.* **1960**, *632*, 124–133.
- <sup>[13]</sup> R. H. Kretsinger, F. A. Cotton, R. F. Bryan, *Acta Crystallogr.* **1963**, *16*, 651–657; T. J. Kistenmacher, *Acta Crystallogr., Sect. B.*, **1972**, *28*, 1302–1304.
- <sup>[14]</sup> M. M. Harding, S. J. Cole, *Acta Crystallogr.* **1963**, *16*, 643–650.
- <sup>[15]</sup> R. H. Prince in *Comprehensive Coordination Chemistry* (Hrsg.: G. Wilkinson, R. D. Gillard, J. A. McCleverty), Pergamon Press, Oxford, **1987**, Bd. 3, S. 925–1045.
- <sup>[16]</sup> R. H. Prince, *Adv. Inorg. Chem. Radiochem.* **1979**, *22*, 349–440.
- <sup>[17]</sup> R. B. Martin, J. T. Edsall, *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 1107–1111.
- <sup>[18]</sup> L. D. Couves, D. N. Hague, A. D. Moreton, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1992**, 217–223.
- <sup>[19]</sup> H. O. Kalinowski,  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie, G. Thieme, Stuttgart, **1984**, S. 570–571.
- <sup>[20]</sup> vgl. E. R. Cole, J. L. Koppel, J. J. Olwin, *Nature* **1967**, *213*, 405–406; P. Boschov, W. Seidel, J. Muradian, M. Tominaga, A. Paiva, L. Juliano, *Bioorg. Chem.* **1982**, *11*, 383–393.
- <sup>[21]</sup> J. P. Greenstein, M. Winitz, *Chemistry of the Amino Acids*, Wiley, New York, **1961**, Bd. 3, S. 1971, 1989.
- <sup>[22]</sup> G. Hillman, *Z. Naturforsch.* **1946**, *1*, 682–684.
- <sup>[23]</sup> E. Fischer, U. Suzuki, *Chem. Ber.* **1905**, *38*, 4173–4196.
- <sup>[24]</sup> R. W. Chambers, F. H. Carpenter, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 1522–1525.
- <sup>[25]</sup> M. Bergman, L. Zervas, *Biochem. Z.* **1928**, *203*, 280–286.
- <sup>[26]</sup> W. Nagai, K. L. Kirk, L. A. Cohen, *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 1971–1974.
- <sup>[27]</sup> Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, Gesellschaft für wissenschaftlich-technische Information mbH, D-76344 Eggenstein-Leopoldshafen, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD-57423 (für 2) und CSD-400259 (für 3c), der Autorennamen und des Zeitschriftenzitats angefordert werden.
- <sup>[28]</sup> N. Walker, D. Stuart, *Acta Crystallogr., Sect. A*, **1983**, *39*, 158–166.
- <sup>[29]</sup> G. M. Sheldrick, SHELX, Universität Göttingen, **1986–1992**.
- <sup>[30]</sup> G. Keller, SCHAKAL, Universität Freiburg, **1988–1992**.

[274/93]