

## 229. Ein Strukturmodell für das Prolin im Peptidverband

von R. Weber

Herrn Professor Dr. K. BERNHARD zum 60. Geburtstag vom Laboratorium Prof. M. BRENNER, Institut für organ. Chemie, Basel, gewidmet.

(18. VII. 63)

In einer Ring- $\alpha$ -Iminosäure (z. B. Prolin, Hydroxyprolin) ist die freie Drehbarkeit um die Bindung zwischen dem Stickstoff und dem  $\alpha$ -Kohlenstoffatom aufgehoben. Somit verringern Ringiminosäuren in einer Peptidkette die Anzahl der möglichen Konstellationen des Peptid-«Rückgrates».

Im Falle des Kollagens wirkt sich einerseits die Raumerfüllung der Atome des Prolins und des Hydroxyprolins und andererseits das Wegfallen der vom Stickstoff ausgehenden Wasserstoffbrücken dahin aus, dass sich keine  $\alpha$ -Helix ausbilden kann. Solche Besonderheiten der Ringiminosäuren lassen sich praktisch nur an Stereo-modellen diskutieren. In der Regel enthalten die handelsüblichen Modellbausätze keine geeigneten Ringelemente für Prolin und Hydroxyprolin. In der vorliegenden Mitteilung sollen deshalb Konstruktionsparameter für ein solches Bausatzelement vorgeschlagen werden<sup>1)</sup>.

Die der Literatur zu entnehmenden Daten über die räumliche Atomanordnung peptidisch gebundenen Prolins bzw. Hydroxyprolins beziehen sich zum Teil auf verschiedene Koordinatensysteme. Es sind daher zum Zweck eines Vergleiches geeignete Transformationen auszuführen. Solche Transformationen, sowie die für die Modellkonstruktion erforderliche Bestimmung von Abständen und Winkeln, erheischen einen erheblichen Rechenaufwand und legten deshalb die Benützung eines Digital-Computers nahe. Die hiezu aufgestellten Rechenprogramme können zur Lösung ähnlicher Aufgaben dienen<sup>1a)</sup> und werden daher unten kurz skizziert.

A. *Prolin*. Über die gegenseitige räumliche Anordnung der Atome peptidisch gebundenen Prolins liegen folgende Angaben vor:

1. Die «kristallographischen Parameter»<sup>2)</sup> des L-Leucyl-L-prolyl-glycins<sup>3)</sup>, gefunden durch FOURIER-Synthese auf Grund von RÖNTGEN-Streudiagrammen.

2. Die Zylinderkoordinaten der Atome in der Kollagen-II-Helix nach RICH & CRICK<sup>4)</sup>, gefunden durch fortgesetzte Verfeinerung eines Helixmodells und jeweiligen Vergleich der daraus berechneten Interferenzen mit denjenigen, die an einer nativen Rattenschwanzsehne ausgemessen wurden.

<sup>1)</sup> Inzwischen hat die Firma W. BÜCHI, Flawil (Schweiz), nach den Angaben dieser Mitteilung mit der serienmässigen Herstellung eines DREIDING-Modells für peptidisch gebundenes Prolin begonnen.

<sup>1a)</sup> *Anmerkung bei der Korrektur*. Im Rahmen einer Zusammenarbeit mit dem biophysikalischen Laboratorium der Universität Genf (Prof. E. KELLENBERGER) wurde das Programm zur Berechnung der Daten für die Konstruktion eines Grossmodells von DNA gemäss den Koordinaten nach R. LANGRIDGE *et al.*, J. molec. Biol. 2, 44 (1960), benützt.

<sup>2)</sup> Schiefwinklige Koordinaten der Atommittelpunkte, angegeben in Bruchteilen der Kantenlängen der monoklinen Elementarzelle.

<sup>3)</sup> Y. C. LEUNG & R. E. MARSH, Acta Crystallogr. 11, 17 (1957).

<sup>4)</sup> A. RICH & F. H. C. CRICK, J. mol. Biol. 3, 483 (1961).

*Cartesische Koordinaten für peptidisch gebundenes Prolin bzw. Hydroxyprolin*

Atom		Koordinaten					
		Pro gemäss		Hypro gemäss	Stereomodell		
		Leu-Pro-Gly A	Kollagen II B	Kollagen II C	Pro D	Hypro E	
1	O (C=O) <sup>6)</sup>	x	-2,202	-2,018	-2,025	-2,019	wie
		y	-1,073	-1,036	-1,022	-1,049	Kolonne D
		z	0,007	-0,006	0,008	0,000	
2	C ( $\alpha$ ) <sup>6)</sup>	x	-2,056	-1,956	-1,951	-2,000	wie
		y	1,314	1,390	1,399	1,365	Kolonne D
		z	0,084	0,015	0,005	0,000	
3	C (C=O) <sup>6)</sup>	x	-1,399	-1,318	-1,317	-1,325	wie
		y	0	0	0	0	Kolonne D
		z	0	0	0	0	
4	N (Ring, Pro)	x	0	0	0	0	0
		y	0	0	0	0	0
		z	0	0	0	0	0
5	C ( $\alpha$ , Pro)	x	0,739	0,797	0,802	0,778	wie
		y	-1,250	-1,232	-1,231	-1,238	Kolonne D
		z	0,020	-0,016	-0,008	0,000	
6	C ( $\beta$ , Pro)	x	2,151	2,253	2,276	2,219	2,276
		y	-0,831	-0,826	-0,816	-0,828	-0,816
		z	-0,247	-0,203	0,005	-0,218	0,000
7	C ( $\gamma$ , Pro)	x	a: 2,255	2,262	2,240	2,260	2,240
		b: 2,250					
		y	a: 0,605	0,611	0,652	0,609	0,652
		b: 0,655					
		z	a: 0,232				
b: -0,495							
8	C ( $\delta$ , Pro)	x	0,859	0,892	0,884	0,881	wie
		y	1,178	1,195	1,208	1,190	Kolonne D
		z	0	0	0	0	
9	C (C=O, Pro)	x	0,566	0,629	fehlt	0,608	wie
		y	-1,970	-1,988		-1,982	Kolonne D
		z	1,345	1,310		1,322	
10	O (OH, Hypro)	x			3,326	(3,265)	3,324
		y			1,400	(1,361)	
		z			-1,753	(-0,482)	-0,176

5) Vgl. Fig. 1.

6) Gehört zu derjenigen Aminosäure, welche dem Prolin in der Peptidkette «voransteht», d. h. an den Prolinstickstoff gebunden ist.

7) In der Elektronendichtekarte für das Tripeptid (vgl. 3)) ist das Dichtemaximum in zwei Zentren a und b aufgespalten; offenbar kommen im Kristall beide Lagen vor. Variante b wird beim Vorschlag in Kolonne D nicht berücksichtigt.

8) Für den Fall behelfsmässiger Umwandlung von Prolin in Hydroxyprolin (vgl. Text).

Wir transformierten nun die Orte der einzelnen Atome in ein neues rechtwinkliges Koordinatensystem. Ein solches System lässt sich durch drei Punkte, deren Wahl im Prinzip freisteht, definieren. Es seien dies die in Fig. 1 mit ③, ④ und ⑥ bezeichneten Atommittelpunkte. (Die chemische Bedeutung der Nummern ist im Text der Fig. 1 erläutert.) Der Mittelpunkt ④ bilde den Koordinatenursprung, die Verbindungsgerade ③-④ gebe die  $x$ -Richtung an, und die drei Atome ③, ④ und ⑥ sollen in die  $x,y$ -Ebene fallen.

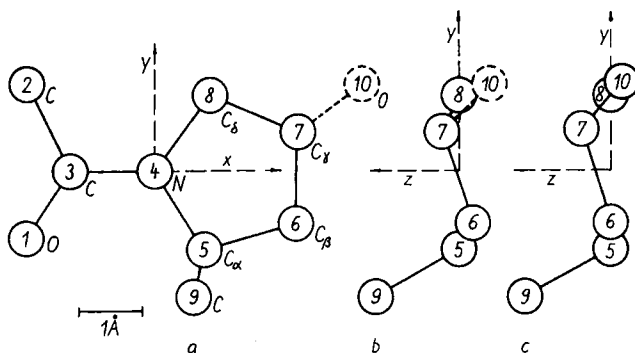


Fig. 1. Modellvorschlag für das Prolin bzw. Hydroxyprolin

①: Carbonylsauerstoff. ②:  $\alpha$ -Kohlenstoff. ③: Carbonylkohlenstoff. ① bis ③ gehören zur «vorangehenden», d. h. an den Prolinstickstoff gebundenen Aminosäure, sind aber im Modell fest mit dem Prolinring verbunden. ④: Stickstoff des Prolinrings. ⑤ bis ⑧: Kohlenstoffe  $\alpha$  bis  $\delta$  des Prolinrings. ⑤: Carbonylkohlenstoff des Prolins, frei drehbar um die Achse ⑤-⑥, deshalb im Modell nur als «Valenz» auszubilden. ⑩: Hydroxylsauerstoff für den Fall des Hydroxyprolins.

1a. *Prolinmodell*: Projektionen der Atomkoordinaten in die  $x,y$ -Ebene, entsprechend dem Vorschlag in Kolonne D der Tabelle (Grundriss).

1b. *Prolinmodell*: Projektion in die  $y,z$ -Ebene (Seitenriss).

1c. *Hydroxyprolinmodell*: Projektion in die  $y,z$ -Ebene (Seitenriss).

In 1b und 1c würden die mit ⑥ und ⑧ koplanaren Atome ①, ②, ③ und ④ der Übersichtlichkeit halber weggelassen.

Die sich daraus ergebenden transformierten Koordinaten sämtlicher Atome sind in den Kolonnen A und B der Tabelle aufgeführt. Die Übereinstimmung der aus den erwähnten Quellen errechneten Atomorte ist recht gut; einen nennenswerten Abstand (0,14 Å) besitzen – wenn man das Koordinatensystem in der beschriebenen Weise festlegt – lediglich die Orte des Atoms ②. Gemäss beiden Quellen liegen die Atome ①, ②, ③, ④, ⑤ und ⑧ beinahe koplanar (Peptidbindung!).

Ohne grosse Willkür ergeben sich nun die Abmessungen eines Prolyl-Elements für einen Modellbausatz dadurch, dass die Atome ① bis ⑤ und ⑧ durch Nullsetzen der  $z$ -Koordinaten völlig koplanar gemacht werden und für die übrigen Daten ein Mittelwert<sup>9)</sup> aus den beiden Varianten (Kolonnen A und B) gebildet wird. Die so

<sup>9)</sup> Bei der Mittelwertbildung wurde den Werten der Kolonne A einfaches und denjenigen der Kolonne B doppeltes Gewicht beigemessen. Dies entspricht der vorgesehenen Verwendung des Elementes zum Einbau in Modelle zur Kollagenstruktur.

erhaltenen «Gebrauchs»-Koordinaten stehen in der Kolonne D der Tabelle; sie sind auch den Fig. 1 und 2 zugrunde gelegt. Die aus den Koordinaten berechneten Atomabstände und Valenzwinkel sind in Fig. 2 eingezeichnet.

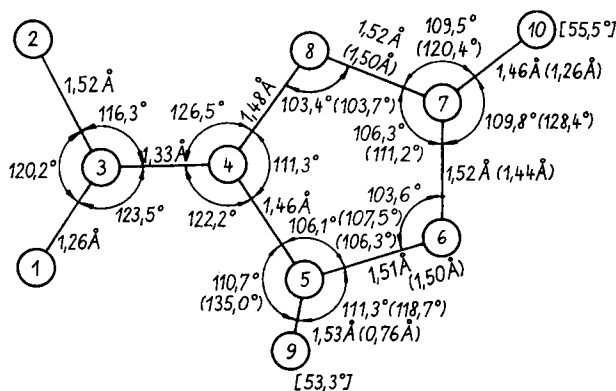


Fig. 2. Prolinmodell wie in Fig. 1a

Ohne Klammern: Wahre Atomabstände und Valenzwinkel. Runde Klammern: In die Zeichenebene projizierte Abstände und Winkel. Eckige Klammern: Wahre Winkel zwischen der Valenz ⑤–⑩ bzw. ⑦–⑩ und der Ebene ④–⑤–⑥ bzw. ⑥–⑦–⑧.

Nicht eingezeichnet sind die Wasserstoffatome. In der Regel wird deren Bindungslänge zu 1,09 Å angenommen. Hinsichtlich der Bindungsrichtung ist man auf Mutmassungen angewiesen. Unter Zugrundelegung tetraederartiger Symmetrie ergibt sich für die Richtung der Wasserstoffvalenzen an den Kohlenstoffatomen ⑤ bis ⑧ folgendes: ⑥: Die Valenzen liegen in der Ebene, welche senkrecht zur Ebene ⑤–⑥–⑦ steht und den Winkel ⑤–⑥–⑦ halbiert. Sie sind gegen die Ebene ⑤–⑥–⑦ um je 55° geneigt. ⑧: *Mutatis mutandis* gilt dasselbe wie für die H-Atome an ⑥. ⑤ und ⑦: Für das jeweilige verbleibende Wasserstoffatom gilt, wiederum *mutatis mutandis*, das für die entsprechende Lage am Atom ⑥ Genannte.

**B. Hydroxyprolin.** Im Fall von Hydroxyprolin im Peptidverband liegt keine Bestätigung der von RICH & CRICK angenommenen Atomanordnung durch eine unabhängige und vollständige RÖNTGEN-Analyse (FOURIER-Synthese) eines kristallisierten Oligopeptides vor. RICH & CRICK gelangen in ihrem Helixmodell zu Koordinaten für die Atome des Hydroxyprolins (Kolonne C der Tabelle), die nach unserer Transformation mit denjenigen des Prolins weitgehend übereinstimmen. Die Abweichungen bestehen darin, dass auch das Atom ⑥ ( $\beta$ -Kohlenstoff, Ring) koplanar mit den Atomen ① bis ⑤ und ⑧ liegt und dafür das Atom ⑦ ( $\gamma$ -Kohlenstoff) noch weiter (0,46 Å) aus der Ebene herausgehoben ist. Der Hydroxylsauerstoff ⑩ kommt dann 0,18 Å unter die Ebene zu liegen.

Da diese Verschiedenheit zwischen peptidischem Prolin und Hydroxyprolin keinen Einfluss auf das «Rückgrat» hat, ist ein spezieller Bauteil für das Hydroxyprolin nur dann nötig, wenn in vielkettigen Kollagenmodellen dessen besondere Funktionen diskutiert werden sollen. Wir denken z. B. an die sterischen Voraussetzungen für die Ausbildung von Wasserstoffbrücken und Esterbindungen<sup>10)</sup>. Für

<sup>10)</sup> Zur behelfsmässigen Markierung eines Prolinbauteiles als Hydroxyprolin kann an die «entsprechende» Wasserstoffvalenz am Atom ⑦ ein Hydroxylrest angebracht werden. Die Lage für den behelfsmässigen Sauerstoff ist in der Kolonne D der Tabelle und in den Fig. 1a, 1b und 2 so angegeben, dass der korrekte, d. h. im wahren Hydroxyprolin vorhandene Winkel zwischen der Valenzrichtung ⑦–⑩ und der Ebene ⑥–⑦–⑧ resultiert.

diesen Fall würden wir ein Modell mit Koordinaten gemäss Kolonne E der Tabelle vorschlagen; der Unterschied zum Prolinmodell ist am besten beim Vergleich der entsprechenden Seitenrisse erkennbar (Fig. 1b und 1c).

*Charakter des Rechenprogrammes.* In einem durch den «Fortran-Processor» in Maschinensprache übersetzten kombinierten und durch Eingabe von Leitziffern steuerbaren Programm wurden auf einer «IBM 1620» folgende Operationen automatisiert<sup>11)</sup>:

1. Einlesen eines Satzes von Koordinaten, gegeben a) als schiefwinklige Koordinaten in Kantentlängen-Einheiten einer monoklinen Elementarzelle, b) als Zylinderkoordinaten, c) als Cartesische Koordinaten;

2. Transformation der nach 1. eingelesenen Koordinaten in ein beliebig verdrehtes und verschobenes Cartesisches System;

3. die Berechnung a) des Abstandes zweier Atome, b) des Winkels, den drei Atome einschliessen, c) des Winkels, den zwei durch je drei Atome definierte Ebenen miteinander bilden, d) der Polarkoordinaten<sup>12)</sup> eines beliebigen Atoms, wobei Ursprung, Polrichtung und Nullazimut durch drei wählbare Atome definiert werden.

Diese Arbeit wurde auf Anregung von Herrn Prof. M. BRENNER (Basel) durchgeführt. Dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS und der KOMMISSION ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG durch Arbeitsbeschäftigungskredite des Bundes danken wir für die Bereitstellung der Mittel. Weiter danken wir dem Rechenzentrum Basel (Dr. A. LEEPIN) für die Möglichkeit, am Kernspeicher-Rechenautomaten IBM 1620 zu arbeiten.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Unter dem Gesichtspunkt der Konstruktion von Molekelmodellen erheischen die der Literatur zu entnehmenden Atomkoordinaten in vielen Fällen eine Umformung. Die Angaben über peptidisch gebundenes Prolin bieten ein Beispiel. Es ist ein Rechenprogramm zur automatischen Datentransformation ausgearbeitet und zur Berechnung der Abmessungen eines Modells für Prolin bzw. Hydroxyprolin im Peptidverband verwendet worden.

Institut für organische Chemie der Universität Basel

<sup>11)</sup> Auf Anfrage erhältlich.

<sup>12)</sup> Polarkoordinaten ermöglichen es unmittelbar, Valenzrichtungen in ein kugelförmiges Modellatom zu bohren.

## 230. Eine neue Mikrokapillarpipette für chromatographische Arbeiten

von H. R. Stocker

(18. VII. 63)

Zum Aufbringen der papier- oder dünn-schicht-chromatographisch zu untersuchenden Substanzlösungen bedient man sich meistens sogenannter Blutzuckerpipetten; oft kommen jedoch auch speziell für elektrophoretische Zwecke gedachte «ELPHOR»-Präzisionspipetten zum Einsatz, und in einigen Fällen verwendet man auch die etwas kostspieligen «AGLA»-Mikrometer- oder «HAMILTON»-Spritzen, wobei erstere das Maximum an Genauigkeit herauszuholen gestatten. Beim chromatographischen Arbeiten sieht man sich oft in die Lage versetzt, eine grössere Menge Analysenlösung aufzutragen, und zwar unter Wahrung eines möglichst kleinen