

Diss. ETH Nr.6000

UV ABSORPTION AND CIRCULAR DICHROISM OF CO-OLIGOPEPTIDES OF TRYPTOPHAN , PHENYLALANINE AND GLYCINE.

A Dissertation Submitted To The
Swiss Federal Institute Of Technology
Zürich

For The Degree Of
Doctor Of Natural Sciences

Presented By

VINCENZO RIZZO

Dottore In Chimica From The University Of Pisa (Italy)

Born On 13th April 1949

Citizen Of Italy

Accepted On The Recommendation Of

Prof. Dr. P.Pino

Prof. Dr. P.L.Luisi

ZÜRICH

1977

ABSTRACT.

The uv absorption properties in aqueous solution and the CD properties in aqueous and in trifluoroethanol solution have been investigated for co-oligopeptides of tryptophan , phenylalanine and glycine of the general structures $\text{H-Gly-X-(Gly)}_n\text{-Trp-Gly-OH}$, X = Trp or Phe , $n = 0,1,2$. These have been compared with uv and CD properties of model compounds containing one aromatic residue (i.e. H-Trp-Gly-OH , H-Gly-Trp-OH , H-Gly-Trp-Gly-OH and H-Phe-Gly-OH , H-Gly-Phe-OH , H-Gly-Phe-Gly-OH) or two aromatic residues (i.e. H-Trp-Trp-OH , H-Trp-Trp-Gly-OH , H-Gly-Trp-Trp-OH and H-Phe-Trp-OH , H-Phe-Trp-Gly-OH , H-Gly-Phe-Trp-OH).

The uv absorption spectra have been analyzed in terms of the chromophoric contributions of the two aromatic side chains and of the peptide bond. No interaction leading to a modification of the uv absorption spectra (e.g. stacking , charge-transfer complexation) has been detected between the two aromatic side chains of the investigated co-oligopeptides.

The mean absorption contribution of the peptide bond ($6910 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) suggests that the backbone of the investigated peptides is mostly in a disordered conformational state and excludes the possibility of a formation of helical structures for the longer peptides. However the presence of the β -structure for some of the products is not excluded.

In the CD spectra there are evidences of a chromophoric interaction between the two aromatic moieties of the tetrapeptides : $\text{H-Gly-Trp-Trp-Gly-OH}$ and $\text{H-Gly-Phe-Trp-Gly-OH}$. On this basis,

it is postulated that a particular conformation is present in the solutions of these two tetrapeptides.

A study of the effect of solvent and pH upon the CD properties of all of the investigated products indicates that this conformation is peculiar to peptides containing the sequences -Trp-Trp- and -Phe-Trp- and is stabilized to a great extent by polar interactions which involve both the side chains and the peptide backbone. A tentative structure having both side chains folded upon the central peptide bond has been proposed.

Aside from conformational information, this work contributes knowledge about the chromophoric properties of tryptophyl and phenylalanyl residues. Evidences of chromophoric interactions between the aromatic side chains are reported. In particular, an exciton couplet between the B_b transitions of two tryptophan chromophores has been identified in the CD spectrum of H-Trp-Trp-OH in methanol. New evidence has been obtained for the existence of an electronic transition of tryptophan at around 235 nm.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden die UV-Absorptionseigenschaften in wässriger Lösung und die CD-Eigenschaften in wässriger Lösung und in Trifluoräthanol für Co-Oligopeptide von Tryptophan, Phenylalanin und Glycin mit der allgemeinen Struktur $\text{H-Gly-X-(Gly)}_n\text{-Trp-Gly-OH}$, X = Trp (n=0,1,2) und X = Phe (n=0,1,2) , untersucht.

Diese wurden verglichen mit den UV- und CD-Eigenschaften von Peptiden, die entweder einen aromatischen Rest enthalten: H-Trp-Gly-OH , H-Gly-Trp-OH , H-Gly-Trp-Gly-OH und H-Phe-Gly-OH , H-Gly-Phe-OH , H-Gly-Phe-Gly-OH , oder zwei aromatische Reste: H-Trp-Trp-OH , H-Trp-Trp-Gly-OH , H-Gly-Trp-Trp-OH und H-Phe-Trp-OH , H-Phe-Trp-Gly-OH , H-Gly-Phe-Trp-OH .

Die UV-Absorptionsspektren wurden bezüglich der chromophorischen Beiträge der beiden aromatischen Seitenketten und der Peptidbindung analysiert. Zwischen den zwei aromatischen Seitenketten der untersuchten Co-Oligopeptide wurde keine Wechselwirkung festgestellt, welche eine Änderung der UV-Absorptionsspektren bewirkt hätte (z.B. "Stacking", Ladung-Transfer Komplexierung).

Der durchschnittliche Absorptionswert ($6910 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ bei 192.5 nm) des Amidchromophors der untersuchten Peptide deutet darauf hin, dass das Rückgrat dieser Verbindungen meistens in mehreren verschiedenen Konformationen mit gleicher Wahrscheinlichkeit vorliegt. Insbesondere konnte die Bildung von helicalen Strukturen für die längeren Peptide ausgeschlossen werden. Jedoch ist die Anwesenheit von einer β -Struktur bei einigen der untersuchten Verbindungen nicht auszuschliessen.

Aus den CD-Spektren wurde geschlossen , dass eine chromophorische Wechselwirkung zwischen den zwei aromatischen Seitenketten der Tetrapeptide , H-Gly-Trp-Trp-Gly-OH und H-Gly-Phe-Trp-Gly-OH , besteht . Diese Sachveralt bedingt , dass eine besondere Konformation in der Lösungen dieser beiden Tetrapeptide vorliegt.

Aus der Untersuchung der CD-Eigenschaften sämtlicher Verbindungen bezüglich Lösungsmittel und pH geht Hervor , dass diese Konformation kennzeichnend ist für Peptide , die die Sequenzen -Trp-Trp- und -Phe-Trp- enthalten , und dass diese Konformation meistens stabilisiert wird durch polare Wechselwirkungen , welche zwischen den beiden Seitenketten und dem Rückgrat der Peptide bestehen. Es wurde eine Struktur dieser speziellen Konformation vorgeschlagen , bei der die mittlere Peptidbindung zwischen den zwei Seitenketten liegt.

Ungeachtet der konformationellen Aspekte hat diese Arbeit auch zur Erforschung der chromophorischen Eigenschaften der Tryptophan- und Phenylalanin-Reste beigetragen. Es wurden chromophorische Wechselwirkungen zwischen den aromatischen Seitenketten beobachtet. Insbesondere wurde ein "exciton couplet" zwischen den B_b Uebergangen der Tryptophan-Chromophore von H-Trp-Trp-OH in Methanol nachgewiesen. Anhand der CD-Daten wurden weitere beweise für einen Elektronenübergang bei Tryptophan um ca. 235 nm gefunden.