

Konformationsvoraussetzungen für den süßen Geschmack von Dipeptiden und Dipeptidmimetica

Toshimasa Yamazaki, Ettore Benedetti, Darin Kent und Murray Goodman*

Die molekulare Basis der Geschmacksempfindung wird seit vielen Jahren intensiv erforscht. Wir konzentrierten uns dabei auf die Ermittlung detaillierter Struktur-Geschmacks-Beziehungen für Peptide und Peptidmimetica und kombinierten dazu Synthese, NMR-Analytik, Computersimulation und Röntgenstruk-

turanalyse. Dabei wurden Verbindungen mit verschiedenen peptidmimetischen Bausteinen verwendet, um so in den Geschmacksliganden vorhersagbare strukturelle Einschränkungen herbeizuführen. Dies bedeutete eine geringere molekulare Flexibilität und ermöglichte so die Entwicklung einer Struktur-Akti-

vitäts-Beziehung. Wir beschreiben hier die topochemischen Anforderungen, die süß oder bitter schmeckende Geschmacksliganden erfüllen müssen, und entwickeln detaillierte Struktur-Geschmacks-Beziehungen mit erheblicher Vorhersagekraft für Peptide und verwandte Moleküle.

1. Einleitung

Man nimmt an, daß die Geschmackübertragung durch Rezeptorproteine initiiert wird, die sich auf der Oberfläche der Geschmackszellen befinden. Strukturbiochemisch gesehen bilden der Geschmacksligand und das Rezeptorprotein einen Wirt-Gast-Komplex, der dann die Geschmacksempfindung erzeugt. Strukturen von Geschmacksrezeptoren sind noch nicht bekannt, aber es ist klar, daß der Geschmacksligand eine spezifische dreidimensionale Struktur, die „bioaktive Konformation“, annehmen muß, um mit dem Geschmacksrezeptor in Wechselwirkung treten zu können. Diese bioaktive Konformation muß einer zugänglichen Konformation des isolierten Liganden entsprechen, denn wir sind der Meinung, daß Wechselwirkungen zwischen Rezeptoren und Liganden unzugängliche nicht in erlaubte Konformationen umwandeln können.

Eine große Bandbreite nicht verwandter Verbindungen ist dafür bekannt, süß zu schmecken. Shallenberger und Acree^[1] machten schon früh den Versuch, gemeinsame Strukturmerkmale (Glucophore) süß schmeckender Moleküle zu ermitteln. Sie schlugen die Existenz eines Wasserstoffbrückendonors (AH) und eines Wasserstoffbrückenacceptors (B) in süß schmeckenden Molekülen vor (AH/B-Modell). Der Abstand zwischen diesen beiden Gruppen betrug nach systematischen Studien an nicht ver-

wandten süß schmeckenden Molekülen wie Zucker, Saccharin, Chloroform, ungesättigten Alkoholen und 2-Amino-1-propoxy-4-nitrobenzol zwischen 2.5 und 4.0 Å^[1]. Die AH- und B-Gruppen bilden nach diesem Modell durch zwei intermolekulare Wasserstoffbrücken zwischen dem Geschmacksliganden und dem Rezeptor einen bioaktiven Komplex. Studien mit einer Reihe stark süß schmeckender 2-Amino-4-nitrobenzolderivate führten Deutsch und Hansch zu dem Schluß^[2], daß ein hydrophober Bindungsraum ebenfalls nötig ist, um eine Verbindung süß schmecken zu lassen. Kier et al.^[3] erweiterten die Theorie von Deutsch und Hansch und bestimmten die Abstände zwischen der hydrophoben Stelle (X) und den AH- und B-Gruppen zu ungefähr 3.5 bzw. 5.5 Å (AH/B/X-Modell). In Abbildung 1 werden mehrere Typen süß schmeckender Moleküle mit ihren AH/B/X-Gruppen und den berechneten Abständen zwischen diesen Gruppen gezeigt. Aus den mit Hilfe der erweiterten Hückel-Theorie bestimmten bevorzugten Konformationen mehrerer Aminosäuren wurde geschlossen, daß die aromatischen Gruppen von D-Phenylalanin, D-Tyrosin und D-Tryptophan ideale Kandidaten für die hydrophobe X-Gruppe sind und daß kleinere Seitenketten als die Isobutylgruppe von Leucin die räumlichen Anforderungen an ein X-Glucophor nicht mehr erfüllen. Dem AH/B-System entsprechen in Aminosäuren die geladenen Amino- und Carboxylatgruppen. Dritte Bindungsstellen wurden auch in Zuckern von Shallenberger und Lindly^[4] und in Dipeptidestern von van der Heijden et al.^[5] identifiziert, wobei diese Konzepte der dritten Bindungsstellen nicht mit den von Kier vorgeschlagenen identisch sind.

Seit der Entdeckung des stark süßen Geschmacks von L-Aspartyl-L-phenylalaninmethylester (Aspartam, L-Asp-L-Phe-OMe, 1: ca. 200mal süßer als Saccharose) durch Mazur et al.^[6], wurden zahlreiche Struktur-Aktivitäts-Studien über Geschmacksmoleküle auf Peptidbasis durchgeführt. Bei Dipeptiden aus zwei chi-

[*] Prof. Dr. M. Goodman, D. Kent
Department of Chemistry
University of California, San Diego
La Jolla, CA 92093-0343 (USA)
Telefax: Int. + 619/534-0202

Dr. T. Yamazaki
Bone Research Branch, National Institute of Dental Research
National Institutes of Health, Bethesda (USA)
Prof. Dr. E. Benedetti
Universität von Neapel (Italien)

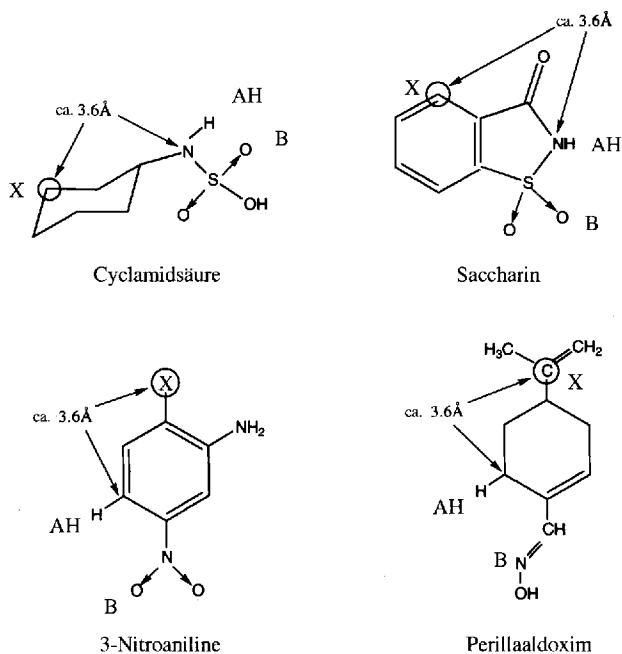


Abb. 1. Beispiele für die vier Klassen süß schmeckender Moleküle mit Angabe der AH-X-Abstände.

ralen Aminosäuren sind vier Stereoisomere möglich, die in der Regel unterschiedlich schmecken. Im Falle der Aspartyl-phenylalaninmethylester-Stereoisomere schmeckt nur das L-L-Isomer süß, die anderen Isomere schmecken bitter^[6]. Der L-Asparaginsäurerest in **1** kann durch Aminomalonsäure (Ama), ein kürzeres Homologes der Asparaginsäure, ersetzt werden^[7, 8]. Das höhere Homologe L-Glu-L-Phe-OMe hingegen schmeckt bitter^[6]. Die absolute Konfiguration des Ama-Rests in Ama-L-Phe-OMe ist für den süßen Geschmack ebenfalls wichtig. Ursprünglich wurde vermutet, daß (S)-Ama-L-Phe-OMe **6** wegen der Analo-

gie zur Konfiguration von **1** süß schmecken sollte^[7]. Wir wiesen jedoch kürzlich nach, daß es (R)-Ama-L-Phe-OMe **5** ist, das 800mal süßer als Saccharose ist, während (S)-Ama-L-Phe-OMe **6** geschmacksneutral ist^[8], indem wir die Konfigurationen der beiden Isomere durch Röntgenstrukturanalyse bestimmten. Die Geschmackseigenschaften der vier Diastereomere von Asp-Phe-OMe und der zwei Diastereomere von Ama-L-Phe-OMe zeigen, daß strenge räumliche Anforderungen am α -Kohlenstoffatom der N-terminalen Reste, genauer gesagt eine L-Konfiguration für den Asp-Rest und eine (R)-Konfiguration für den Ama-Rest, erfüllt sein müssen, damit das Molekül süß schmeckt. In diesen Analoga repräsentieren die protonierte Amino- und die Carboxylatgruppe des N-terminalen Rests die AH- bzw. B-Gruppe der Glucophor-Theorie von Shallenberger und Acree. Die Benzylseitenkette des Phenylalaninrests fungiert als hydrophobe X-Gruppe.

Während der N-terminale Rest von L-Asp-L-Phe-OMe **1** und (R)-Ama-L-Phe-OMe **5** für die süße Geschmacksempfindung erhalten bleiben muß, kann der C-terminale L-Phenylalaninmethylesterrest durch eine Vielzahl anderer Aminosäurederivate und strukturell verwandter Reste ersetzt werden. Diese Aminosäurederivate müssen eine hydrophobe X-Gruppe in der richtigen Orientierung enthalten, die in der Größe mit der Benzylseitenkette vergleichbar ist. Wie von Mazur^[9] und Ariyoshi^[10] vorgeschlagen wurde, muß der C-terminale Rest süß schmeckender Dipeptide zwei hydrophobe Gruppen unterschiedlicher Größe enthalten, zum einen die Aminosäureseitenkette und zum anderen die Ester- oder Amidgruppe. In der L-Konfiguration muß die Aminosäureseitenkette größer als die Ester- oder Amidgruppe sein; in der D-Konfiguration gilt das Umgekehrte.

Ariyoshi^[10] erklärte den süßen Geschmack von Aspartyldipeptiden mit Hilfe von Fischer-Projektionen. Dieses Modell ist durchaus für die Vorhersage der Geschmackseigenschaften peptidähnlicher Moleküle geeignet. Die „Süß“-Formel (Abb. 2a) ent-



Murray Goodman, geboren 1928 in New York, promovierte 1953 an der University of California, Berkeley, und ging dann als Postdoc an das Massachusetts Institute of Technology und an die Cambridge University nach England. 1956 wurde er Assistant Professor am Polytechnic Institute of Brooklyn und dort 1964 zum Full Professor ernannt. Nach einem Jahr als Direktor des Polymer Research Institute wurde er 1970 Professor of Chemistry an der University of California, San Diego, an der er von 1976 bis 1981 auch Vorstand des Chemistry Department war. Er erhielt viele Auszeichnungen, darunter die Scoffone-Medaille der Universität von Padua, ein Humboldt-Stipendium und die Max-Bergmann-Medaille, ist Herausgeber der Zeitschrift Biopolymers und hat über 350 Originalarbeiten über Biopolymere und ihre Modelle veröffentlicht. Seine Forschungsinteressen umfassen das Computer-gestützte Design bioaktiver Moleküle, die Synthese von Peptiden und Peptidmimetica sowie die spektroskopische Charakterisierung neuer biomolekularer Systeme.

Ettore Benedetti, geboren 1940 in Neapel, promovierte 1965 bei Alfonso M. Liquori in Neapel über ein kristallographisches Thema. Während eines dreijährigen Postdoc-Aufenthalts bei Murray Goodman am Polytechnic Institute of Brooklyn begann er sich für die Strukturen und Konformationen von Peptiden und Polypeptiden zu interessieren. Danach ging er an die Universität von Neapel zurück, an der er seit 1975 als ordentlicher Professor lehrt. Zugleich ist er dort Direktor des chemischen Instituts. Er ist Mitglied des Advisory Boards von Biopolymers und des Editorial Boards des International Journal of Peptide and Protein Research. Sein Forschungsschwerpunkt ist die Peptidchemie: Er untersuchte die Struktur-Aktivitäts-Beziehungen zahlreicher Peptidsysteme mit einer Vielzahl experimenteller und theoretischer Methoden, um so die Wirkungsmechanismen biologisch wichtiger Systeme verstehen zu lernen.

spricht den in der Literatur beschriebenen süß schmeckenden L-Aspartyldipeptiden, während die „Nichtsüß“-Formel (Abb. 2b) mit den L-Aspartyldipeptiden ohne süßen Geschmack vereinbar ist.

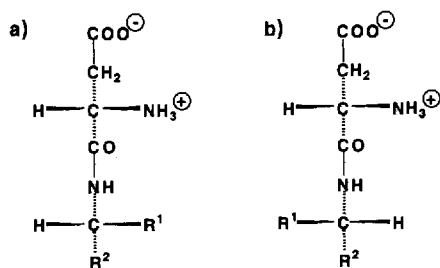


Abb. 2. Von Ariyoshi vorgeschlagene Fischer-Projektionen für a) ein süß und b) ein nicht süß schmeckendes Peptid auf Aspartylbasis. R¹ ist ein kleiner hydrophober und R² ein großer hydrophober Substituent.

Die Diskussion über die Wirkungsweise von Geschmacksliganden mit Hilfe von Fischer-Projektionen ist wegen des lediglich zweidimensionalen Charakters dieses Modells nur begrenzt möglich. So kann das Ariyoshi-Modell den süßen Geschmack von L-Asp-(S)-gAla-TMCP **12** (siehe Tabelle 1), das nach diesem Modell der „Nichtsüß“-Formel gehorcht, nicht erklären: Dieses Ergebnis zeigt, daß die molekulare Basis der Geschmacksempfindung durch die dreidimensionale Struktur, d. h. die relative räumliche Anordnung der drei Glucophore AH, B und X, definiert sein muß. Auf der Grundlage von Ergebnissen aus Konformationsanalysen mit einer Reihe von Aspartyldipeptiden, die stereoisomere Peptid- und peptidmimetische Bausteine als zweiten Rest enthielten, haben wir seit 1987 ein dreidimensionales Modell, das „L-Modell“, entwickelt, das die konformativen Voraussetzungen für süßen und bitteren Geschmack beschreibt^[11] und das wir im folgenden vorstellen wollen.

Unser L-Modell zur Erklärung des süßen Geschmacks wurde aus Studien über die Konformationen von Geschmacksliganden auf Dipeptidbasis mit Hilfe von Röntgenstrukturanalyse, NMR-Spektroskopie und Computersimulation entwickelt. Die untersuchten Verbindungen waren Aspartam **1** und Aspartam-analoga mit stereoisomeren Resten und peptidmimetischen

Bausteinen (Tabelle 1). Die Strukturen all dieser Analoga im Festkörper wurden röntgenographisch aufgeklärt^[8, 11, 12]. Die Verbindungen **5** und **6** enthalten einen Aminomalonylrest an erster Stelle, während alle anderen den L-Aspartylrest des Stammdipeptids Aspartam **1** beibehalten. In allen Aspartam-analoga sind die AH- und B-Gruppen durch die protonierte Amino- bzw. die Seitenkettencarboxylatgruppe des N-terminalen Rests [L-Asp, (R)-Ama, (S)-Ama] repräsentiert. Die Verbindungen **1–8** (Typ A) enthalten das hydrophobe Element X in der Seitenkette des zweiten Rests, bei den restlichen fünf (**9–13**) ist die X-Gruppe die C-terminale Amid- oder Estergruppe (Typ B). Die L-Aspartylderivate in Tabelle 1 sind im Falle von **1**, seinem Hydrochlorid **2**, **9** und **10** Dipeptide. Die anderen Verbindungen in Tabelle 1 enthalten als zweiten Rest peptidmimetische Bausteine wie α -Methylphenylalanin in **3** und **4**, Cyclohexylglycin in **7** und **8**, ein Retro-inverso-peptid von Alanin, gAla, in **11** und **12** und α -Aminocyclopropancarbonsäure in **13**. Die Formeln der in Tabelle 1 genannten Geschmacksliganden auf Peptidbasis sind in Abbildung 3 zusammengefaßt. Unser Modell geht davon aus, daß der N-terminale Rest konformativ fixiert ist, wenn das Molekül an den Geschmacksrezeptor bindet. Die relative Orientierung der X-Gruppe zur fixierten AH/B-Einheit ist durch die Konformation des zweiten Rests festgelegt. Jeder von uns dafür verwendete peptidmimetische Baustein weist jedoch eine charakteristische Vorzugskonformation auf. Daher war es möglich, spezifische topochemische Anordnungen zu identifizieren, die einen süßen oder bitteren Geschmackseindruck hervorrufen.

2. Röntgenstrukturanalysen

Im folgenden werden die röntgenographischen Untersuchungen der in Tabelle 1 enthaltenen Geschmacksliganden auf Peptidbasis beschrieben. In Tabelle 2 sind die maßgeblichen Ergebnisse der Röntgenstrukturanalysen zusammengefaßt. Alle Strukturen wurden bis zu akzeptablen bis sehr guten R-Werten von 0.103 bis 0.033 verfeinert. Die mittleren Standardabweichungen der Bindungslängen und Bindungswinkel liegen bei 0.002–0.02 Å bzw. 0.1–1.4°, die der Torsionswinkel sind nicht

Tabelle 1. Geschmack von Geschmacksliganden auf Peptidbasis.

Verbindung [a]	Kurzform	Geschmack [b]
Typ A		
1 L-Aspartyl-L-phenylalaninmethylester	L-Asp-L-Phe-OMe	süß
2 L-Aspartyl-L-phenylalaninmethylesterhydrochlorid	HCl · L-Asp-L-Phe-OMe	süß
3 L-Aspartyl-(α -methyl)-L-phenylalaninmethylester	L-Asp-L-(α -Me)Phe-OMe	süß
4 L-Aspartyl-(α -methyl)-D-phenylalaninmethylester	L-Asp-D-(α -Me)Phe-OMe	bitter
5 (R)-Aminomalonyl-L-phenylalaninmethylester	(R)-Ama-L-Phe-OMe	süß
6 (S)-Aminomalonyl-L-phenylalaninmethylester	(S)-Ama-L-Phe-OEt	geschmacksneutral
7 L-Aspartyl-(S)-cyclohexylglycinmethylester	L-Asp-(S)-Chg-OMe	süß
8 L-Aspartyl-(R)-cyclohexylglycinmethylester	L-Asp-(R)-Chg-OMe	bitter
Typ B		
9 L-Aspartyl-D-alanin-N-(2,2,4,4-tetramethylthietanyl)amid	L-Asp-D-Ala-TAN	süß
10 L-Aspartyl-D-alanin-(2,2,5,5-tetramethylcyclopentyl)ester	L-Asp-D-Ala-OTMCP	süß
11 N-L-Aspartyl-N'-(2,2,5,5-tetramethylcyclopentancarbonyl)-(R)-ethandiyldiamin	L-Asp-(R)-gAla-TMCP	süß
12 N-L-Aspartyl-N'-(2,2,5,5-tetramethylcyclopentancarbonyl)-(S)-ethandiyldiamin	L-Asp-(S)-gAla-TMCP	süß
13 L-Aspartyl- α -aminocyclopropancarbonsäure-n-propylester	L-Asp-Ac ³ c-OnPr	süß

[a] Formeln siehe Abb. 3; zur Definition der Typen A und B siehe Text. [b] Der Geschmack wurde von drei Testern durch qualitatives Probieren und anschließendes Ausspucken einer verdünnten Lösung der jeweiligen Verbindung in Wasser ohne Einstellung des pH-Werts bestimmt.

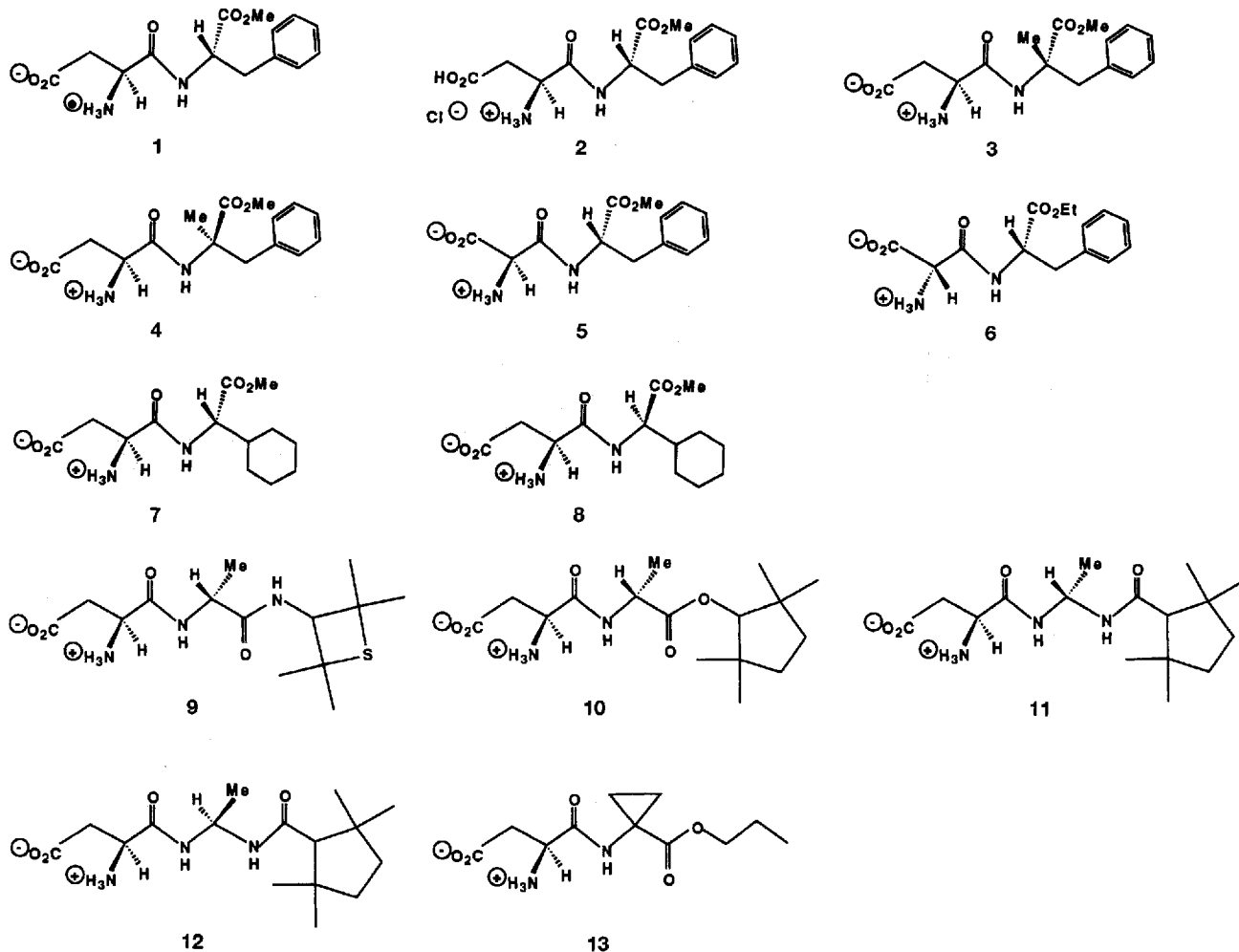


Abb. 3. Strukturen der in Tabelle 1 genannten Geschmacksliganden 1–13.

größer als 5°. Bei allen Verbindungen mit Ausnahme von 6 enthalten die Kristalle ein oder mehrere Moleküle Wasser in der Elementarzelle. In den Kristallen von 5 und 9 bilden vier unab-

hängige Moleküle mit wenig unterschiedlichen Konformationen die asymmetrische Einheit. Die röntgenographischen Untersuchungen der Retro-inverso-Geschmacksliganden 11 und 12

Tabelle 2. Wesentliche Ergebnisse aus den kristallographischen Analysen der Geschmacksliganden 1–13.

Verbin- dung	Kristallsystem, Raumgruppe [a]	Zahl der Moleküle in der Elemen- tarzelle	Zahl der Wasser- moleküle in der Ele- mentarzelle	<i>R</i>	Standardab- weichung der Bindungs- längen und -winkel	Lit.
1	tetragonal, $P4_1$	1	1	0.045	0.006 Å, 0.6°	[12a]
2	orthorhombisch, $P2_12_12_1$	1	8	0.033	0.002 Å, 0.1°	[12b]
3	orthorhombisch, $P2_12_12_1$	1	8	0.038	[b]	[12c]
4	orthorhombisch, $P2_12_12_1$	1	4	0.038	0.005 Å, 0.1°	[12d]
5	triklin, $P1$	4	4	0.073	0.010 Å, 3°	[8]
6	monoklin, $P2_1$	1	0	0.053	0.004 Å, 0.7°	[8]
7	monoklin, $P2_1$	1	4	0.108	0.020 Å, 1.5°	[11g]
8	monoklin, $P2_1$	1	2	0.062	0.010 Å, 0.5°	[11g]
9	triklin, $P1$	4	10	0.079	0.015 Å, 0.9°	[11d]
10	monoklin, $P2_1$	1	4	0.086	0.010 Å, 1.3°	[12c]
11, 12	monoklin, $P2_1$	4(2,2)	6	0.090	0.015 Å, 0.6°	[11b]
13	orthorhombisch, $P2_12_12_1$	1	4	0.056	0.002 Å, 0.3°	[12f]

[a] Die Kristallabmessungen sind in den angegebenen Literaturstellen zu finden.
[b] Der Wert wurde von den Autoren nicht angegeben.

Tabelle 3. Torsionswinkel [°] der Geschmacksliganden 1–13 im kristallinen Zustand [a].

[b]	ψ^1	ω^1	χ_1^1	$\chi_{1,1}^1$	$\chi_{2,2}^1$	ϕ^2	ψ^2	ω^2	χ_1^2
1	149.0	-178.5	-71.7	-173.4	4.0	-156.8	-173.6	179.1	61.7
2	165.5	170.9	-155.9	175.1	-4.8	-153.6	166.8	176.9	58.9
3	152.4	164.0	-63.9	-100.2	79.1	-42.3	-48.3	178.2	171.8
4	151.0	167.7	-68.9	177.2	-1.7	49.0	47.9	-177.3	173.2
5a	170.9	179.8	-159.4	-	-	-93.8	130.0	-176.8	-176.6
5b	174.3	-179.3	-161.4	-	-	-82.5	131.4	175.2	-172.5
5c	175.2	178.9	-164.1	-	-	-97.4	113.1	-179.2	-177.2
5d	168.4	-176.9	-159.9	-	-	-84.1	140.4	177.2	-175.0
6	-177.2	-175.3	162.0	-	-	-97.0	135.3	173.6	179.2
7	144.9	172.9	-66.9	151.0	-31.4	-118.2	63.4	-172.5	-48.9
8	167.1	176.5	-77.9	173.6	-6.3	88.1	-131.8	178.2	69.0
9a	158.5	170.5	-63.6	-175.5	5.9	126.0	-158.4	-172.1	-
9b	144.1	170.0	-66.8	-172.0	8.1	66.6	-151.9	175.4	-
9c	153.3	167.0	-64.0	-165.1	15.1	70.2	-151.1	171.2	-
9d	167.4	-174.2	-63.7	-168.4	8.7	74.1	-158.1	171.2	-
10	158.1	171.0	-61.8	-161.4	22.4	64.3	-140.9	176.2	-
11	172.0	-175.4	-82.6	-168.9	-1.3	104.4	-97.3	166.8	-
12	166.2	177.5	-75.4	177.8	-1.9	-99.7	104.8	-169.4	-
13	147.7	-179.9	-70.4	159.1	-21.9	-78.4	-0.6	179.1	103.7

[a] Die Torsionswinkel wurden nach der IUPAC-Konvention benannt. [b] a–d bei 5 und 9 kennzeichnen die unabhängigen Moleküle in der Elementarzelle.

wurden mit einem Kristall durchgeführt, der aus diesen beiden diastereomeren Molekülen bestand. In Tabelle 3 sind die Torsionswinkel angegeben, die die Rückgrat- und Seitenkettenkonformationen aller untersuchten Geschmacksliganden beschreiben.

2.1. Konformation und Packung der Geschmacksliganden auf Peptidbasis im festen Zustand

Dipeptidester mit einem ungeschützten N-Terminus können als sehr flexible Moleküle angesehen werden. Dennoch scheint es für die im Kristall auftretenden Strukturen in den entsprechenden (ϕ , ψ)-Diagrammen nur zwei Bereiche zu geben, die mit Konformationen dichter besetzt sind, und zwar bei (ϕ , ψ)-Werten von (-160° , 180°) und (-70° , 170°)^[13]. Im Kristall wird die Konformation eines Moleküls bekanntlich stark durch Packungseffekte und intermolekulare Wechselwirkungen beeinflusst. Dazu gehören vor allem elektrostatische Wechselwirkungen zwischen geladenen Gruppen, Wasserstoffbrücken, van-der-Waals- und hydrophobe Wechselwirkungen, wie die Stapelung aromatischer Gruppen, Alkyl-Phenyl- und Alkyl-Alkyl-Wechselwirkungen. Moleküle nehmen entsprechend im Kristall Konformationen ein, durch die ihre Packungsdichte maximiert wird. Im allgemeinen wird die beste Packungsdichte erreicht, wenn die Moleküle gestreckte oder halbgestreckte Konformationen annehmen.

Die Strukturen von Aspartam und seinen Analoga im Kristall bilden keine Ausnahme von dieser Tendenz, auch wenn sie durch die Anwesenheit mehr oder weniger gehinderter peptidmimetischer Reste verursachte deutliche Unterschiede in ihren Konformationen zeigen. Im kristallinen Zustand liegen alle diese Geschmacksliganden auf Peptidbasis, außer dem Aspartamhydrochlorid **2**, als Zwitterionen mit einer positiv geladenen N-terminalen Aminogruppe und einer negativ geladenen Seitenkettencarboxylatgruppe des N-Terminus vor. Belege für die zwitterionische Struktur sind die C-O-Bindungslängen, die zwischen denen von Einfach- und Doppelbindungen liegen, und die Tatsache, daß das NH_3^+ -Ion intra- und intermolekular als Wasserstoffbrückendonator für drei Acceptorgruppen agiert. Um möglichst gute elektrostatische Wechselwirkungen und intra- und intermolekulare Wasserstoffbrückenbildungen zu ermöglichen, liegen die geladenen Gruppen der Zwitterionen in diesen Strukturen nahe beieinander. Daher wird diese AH/B-Einheit im folgenden als zwitterionischer Ring bezeichnet. Die Konformation des Aspartylrests ist in allen Molekülen sehr ähnlich. Im Mittel nehmen die Torsionswinkel ψ^1 , ω^1 , χ_1^1 und $\chi_{2,1}^1$ Werte von $+156^\circ$, $+175^\circ$, -69° bzw. -173° (oder $+7^\circ$ für $\chi_{2,2}^1$) an. Die Konformation bezüglich der $\text{C}^\alpha\text{-C}^\beta$ -Bindung von Asp (χ_1^1) ist *gauche* - (g^-). Die Carboxylatgruppe der Aspartylseitenkette ist nahezu coplanar mit der $\text{C}^\alpha\text{-C}^\beta$ -Bindung; die $\chi_{2,1}^1$ - und $\chi_{2,2}^1$ -Diederwinkel liegen nahe bei 180° bzw. 0° . Die Konformation des Ama-Rests in den Verbindungen **5** und **6** ist der des Aspartylrests in den anderen Verbindungen sehr ähnlich.

Die Konformation des zweiten Rests variiert je nach Konfiguration und sterischen Einschränkungen im Molekül stark. Aspartam **1** ist die einzige Verbindung mit einer Struktur, in der das Rückgrat des zweiten Rests eine nahezu vollständig gestreckte Konformation ($\phi^2 = -156.8^\circ$, $\psi^2 = -173.6^\circ$) annimmt

(Abb. 4)^[20]. Der für den Torsionswinkel χ_1^2 der Phenylseitenkette beobachtete Wert von $+61.7^\circ$ (*gauche* +, g^+) ist durchaus erlaubt, wenn das Peptidrückgrat, wie auch experimentell gefunden, in der gestreckten Form vorliegt.

Die Torsionswinkel des Aspartamhydrochlorids **2**^[12b] im Kristall sind denen von Aspartam mit Ausnahme des χ_1^1 -Winkels des Aspartylrests sehr ähnlich. Dieser beträgt in **2** -155.9° , d. h. die Seitenkettencarboxylgruppe ist im Aspartamhydrochlorid von der positiv geladenen N-terminalen NH_3^+ -Gruppe weggedreht (*trans*-Konformation, t). Elektrostatische Wechselwirkungen zwischen der geladenen N-terminalen Gruppe und den Chlorid-Ionen werden durch cokristallisierte Wassermoleküle übertragen.

Die Molekülstrukturen der diastereomeren Aspartamanaloga **3** (süß)^[12c] und **4** (bitter)^[12d] im festen Zustand zeigt Abbildung 5. Im Gegensatz zu **1** mit einer gestreckten Rückgratkonfor-

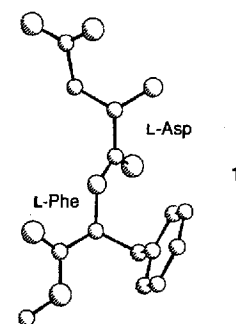


Abb. 4. Molekülstruktur von **1** im Kristall. Projektion senkrecht zu der durch die Atome C^β , N und $\text{C}(\text{O})$ des Asp-Rests definierten Ebene.

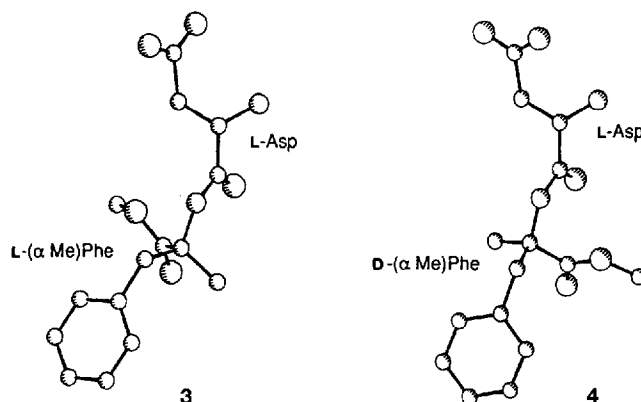


Abb. 5. Molekülstrukturen der diastereomeren Geschmacksliganden **3** und **4** im Kristall.

mation des zweiten Rests enthält **3** den α -Methylphenylalaninrest in einer rechtshändigen helicalen Konformation mit $\phi^2 = -42.3^\circ$ und $\psi^2 = -48.3^\circ$ und **4** ihn in einer linkshändigen helicalen Konformation mit $\phi^2 = 49.0^\circ$ und $\psi^2 = 47.9^\circ$. Gefaltete helicale Strukturen, d. h. 3_{10} - und α -Helices, werden von Peptiden stark bevorzugt, die α,α -Dialkylaminosäurereste enthalten^[14]. In beiden Diastereomeren nimmt die (α -Me)Phe-Seitenkette eine *trans*-Konformation bezüglich der $\text{C}^\alpha\text{-C}^\beta$ -Bindung ein, die durch einen Winkel χ_1^2 von 171.8° für das süß schmeckende L-L-Isomer und von 173.2° für das bitter schmeckende L-D-Isomer charakterisiert ist. Die Kristallstruktur beider Diastereomere ist im wesentlichen gleich und wird primär durch Packungseffekte bestimmt. Die relative Orientierung des zwitterionischen Rings des Aspartylrests und der Benzylseitenkette, den Hauptgruppen für hydrophile bzw. hydrophobe Wechselwirkungen, ist daher in beiden Strukturen genau gleich.

Auch die süß schmeckende (*R*)-Aminomalonylverbindung **5** und ihr geschmacksneutrales (*S*)-Analogon **6** haben im Kristall

sehr ähnliche Molekülstrukturen, in denen die L-Phe-Reste in einer halbgestreckten Rückgratkonformation und in einer Seitenkettenkonformation mit $\chi_1^2 = t$ vorliegen^[8]. Der zwitterionische Ring des N-Terminus und die Benzylseitenkette des zweiten Rests sind in diesen Verbindungen genauso planar und linear angeordnet (Winkel 180°), wie im süß schmeckenden **3** und im bitter schmeckenden **4**.

Die röntgenographisch ermittelten Strukturen^[11a] der beiden diastereomeren Moleküle **7** (süß) und **8** (bitter) sind in Abbildung 6 dargestellt. Beide Verbindungen sind am N-Terminus stark hydrophil und haben dort nahezu identische Konformationen. Dagegen sind die Konformationen der hydrophoben C-Termini der beiden Moleküle unterschiedlich: Die Cyclohexylringe zeigen relativ zum zwitterionischen Ring des Aspartylrests in entgegengesetzte Richtungen.

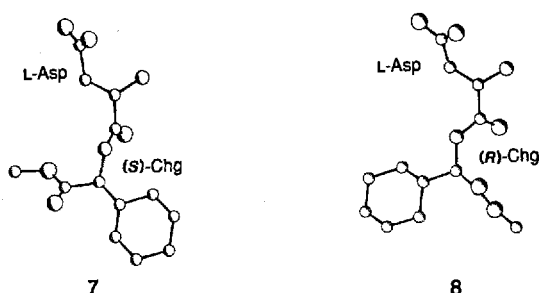


Abb. 6. Molekülstrukturen der Diastereomere **7** und **8** im Kristall. Projektion senkrecht zu der durch die Atome C β , N und C(O) des Asp-Rests definierten Ebene.

Die Molekülstruktur des süß schmeckenden L-Aspartyl-D-alaninderivats **10**^[12e] ist in Abbildung 7 dargestellt. Der D-Alanylrest hat eine halbgestreckte Rückgratkonformation, die durch Torsionswinkel $\phi^2 = 64.3$ und $\psi^2 = -140.9^\circ$ charakterisiert ist, wie sie für einen D-konfigurierten Rest durchaus erlaubt sind. Der zwitterionische Ring des Aspartylteils und die C-terminale 2,2,5,5-Tetramethylcyclopentylestergruppe sind annähernd planar und parallel angeordnet.

Das süß schmeckende L-Aspartyl-D-alaninderivat **9** kristallisiert mit vier Molekülen in der asymmetrischen Einheit^[11d]. Die Konformation des L-Aspartylrests ist in den vier unabhängigen Molekülen nahezu dieselbe, wobei die Torsionsvarianz nicht mehr als 25° beträgt. Die N-terminalen Aspartylreste sind in allen vier Molekülen zwitterionisch. Die größten Unterschiede weisen die Torsionswinkel der D-Ala-Reste (ϕ^2) auf; eines der Moleküle unterscheidet sich darin von den anderen dreien um ungefähr 60° (126.0 gegenüber 70.3° im Mittel). Der C(O)-N-C α -H-Torsionswinkel der C-terminalen TAN-Gruppe ist im erstgenannten Molekül um ca. 60° von denen der anderen drei Moleküle verschieden (−36.0 gegenüber +24.0° im Mittel). Insgesamt sind jedoch die Strukturen der vier

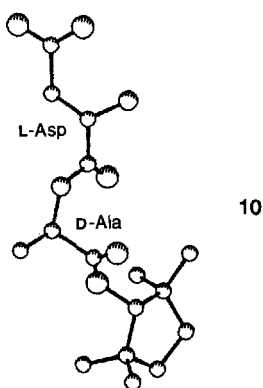


Abb. 7. Molekülstruktur des Dipeptidesters **10**. Projektion senkrecht zu der durch die Atome C β , N und C(O) des Asp-Rests definierten Ebene.

unabhängigen Moleküle weitgehend gleich der des süß schmeckenden **10**.

Die beiden intensiv süß schmeckenden Retro-inverso-Diastereomere **11** und **12** weisen im kristallinen Zustand für den (S)-gAla-Rest ϕ^2 - und ψ^2 -Mittelwerte von −100 bzw. +100° und für den (R)-gAla-Rest die gleichen Werte mit entgegengesetzten Vorzeichen auf^[11b]. Ihre Konformationen werden durch die geminalen NH-Gruppen beeinflusst, die an der Bildung intermolekularer Wasserstoffbrücken beteiligt sind. Die relative Orientierung des zwitterionischen Rings des Aspartylteils und der größten hydrophoben Gruppe des Moleküls (d. h. der C-terminalen TMCP-Gruppe) ist in den L-(R)- und L-(S)-Isomeren ähnlich der im süß schmeckenden **7** bzw. bitter schmeckenden **8** (Abb. 6). Dieser Befund zeigt deutlich, daß die Röntgenstrukturanalyse nicht geeignet ist, um klare und schlüssige Informationen über die Struktur-Geschmacks-Beziehungen bei diesen flexiblen Geschmacksliganden auf Peptidbasis zu erhalten; beide Isomere, **11** und **12**, schmecken intensiv süß, obwohl sie am C-Terminus entgegengesetzt gleiche Konformationen annehmen.

In Verbindung **13**^[12f] weist der Aspartylteil die gleiche Konformation auf wie in allen zuvor beschriebenen Verbindungen mit Ausnahme des Aspartamhydrochlorids (Abb. 8). Der Ac α -Rest ist durch eine starke Verdrehung des Peptidrückgrats mit $\phi^2 = -78.4$ und $\psi^2 = -0.6^\circ$ charakterisiert. Diese Werte liegen in der „Brücken“-Region des Ramachandran-Diagramms.

Die Packungen aller untersuchten Geschmacksliganden auf Peptidbasis sind sehr ähnlich, obwohl sich die Molekülstrukturen in den Kristallen deutlich unterscheiden. Als Beispiele sind die Packungen von **9** und den diastereomeren Aminomalonylverbindungen **5** und **6** in den Abbildungen 9 bzw. 10 dargestellt. Wegen der positiv geladenen NH $_3^+$ -Gruppe und der negativ geladenen COO $^-$ -Gruppe der Seitenkette des N-Terminus bestimmen hauptsächlich elektrostatische Wechselwirkungen die Anordnungen der Moleküle im festen Zustand. Dies führt zu einer

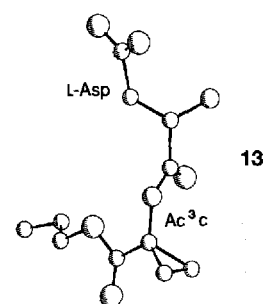


Abb. 8. Molekülstruktur von **13** im Kristall. Projektion senkrecht zu der durch die Atome C β , N und C(O) des Asp-Rests definierten Ebene.

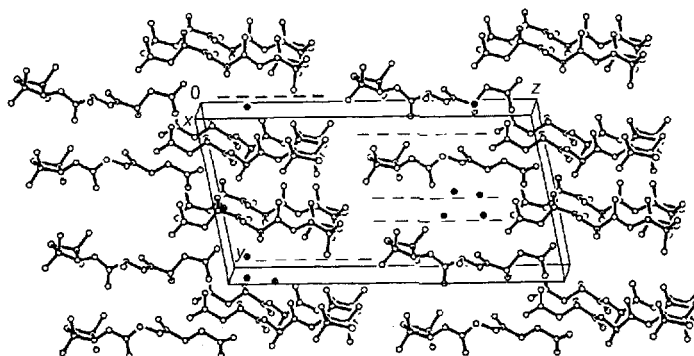


Abb. 9. Packung von **9** im Kristall. Die zehn Wassermoleküle in der Elementarzelle sind durch gefüllte Kreise dargestellt. Um die Positionen der Wassermoleküle besser zeigen zu können, wurden einige Moleküle **9** nur durch gestrichelte Linien dargestellt.

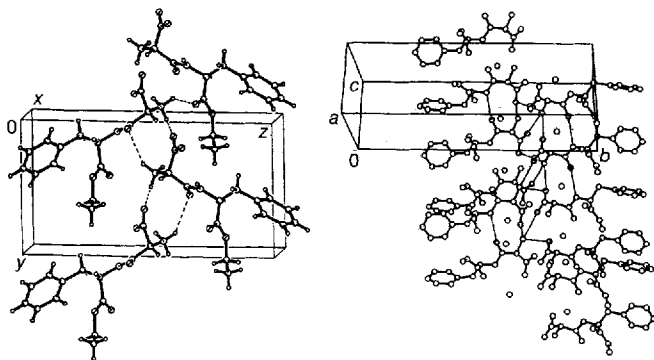


Abb. 10. Packung von **6** (links) und **5** (rechts) im Kristall. Die Wasserstoffbrücken zwischen den hydrophilen Teilen sind durch gestrichelte Linien symbolisiert. Die an keinen Bindungen beteiligten Kreise im rechten Teil stehen für die O-Atome von Wassermolekülen.

Maximierung der Zahl der Wasserstoffbrücken und der Donorgruppen, die an Wasserstoffbrücken beteiligt sind. Die entgegengesetzt geladenen Gruppen bilden miteinander und mit Lösungsmittelmolekülen (meist Wasser) Cluster, wobei sich komplizierte Muster intermolekularer Wasserstoffbrücken bilden. In allen Strukturen ist der resultierende hydrophile Kern von einer hydrophoben Oberfläche umgeben, die durch die Stapelung und Packung der hydrophoben Seitenketten des zweiten Rests oder der Schutzgruppen des C-Terminus entsteht. Die Geschmacksliganden auf Peptidbasis nehmen im kristallinen Zustand Konformationen ein, die diesen Typ der Molekülpackung optimieren. In allen Strukturen mit Ausnahme der des Aspartamhydrochlorids **2** haben die N-terminalen Aspartyl- oder Aminomalonylester die gleiche zwitterionische Form. Außerdem beträgt der ϕ^2 -Mittelwert der C-Termini abhängig von der Konfiguration ca. $+85^\circ$ oder -85° . Die anderen beiden Torsionswinkel, ψ^2 und χ_1^2 , beschreiben die Konformation des zweiten Rests und sind je nach Verbindung stark unterschiedlich. Zusammenfassend gilt also, daß die Konformationen der Moleküle im kristallinen Zustand hauptsächlich durch Packungseffekte und intermolekulare Wechselwirkungen bestimmt werden.

2.2. Der Zusammenhang zwischen Geschmack und Kristallstruktur bei Geschmacksliganden auf Peptidbasis

Alle hier beschriebenen süß oder bitter schmeckenden und geschmacksneutralen Liganden, mit Ausnahme des Aspartamhydrochlorids **2**, sind am N-Terminus zwitterionisch. Der zwitterionische Teil ist hierbei so angeordnet, daß die protonierte α -Amino- und die Seitenkettencarboxylatgruppe des N-Terminus die erforderliche Geometrie annehmen, um als AH/B-Einheit einen süßen Geschmackseindruck hervorzurufen.

Die Orientierung der hydrophoben X-Gruppe relativ zur AH/B-Einheit unterscheidet sich von einem Analogon zum nächsten grundlegend. Die süß schmeckenden Analoga **7** (Abb. 6) und **11** liegen in L-förmigen Konformationen vor, in denen der die AH/B-Gruppen enthaltende zwitterionische Ring des L-Aspartylteils den senkrechten Teil des L in Richtung der y -Achse bildet und das X-Glucophor entlang dem waagerechten Teil des L in Richtung der $+x$ -Achse zeigt. Die süß schmeckenden Analoga **12** und **13** (Abb. 8) nehmen eine umgekehrte L-förmige Konfor-

mation an, bei der die X-Gruppe in Richtung der $-x$ -Achse zeigt. Auch das bitter schmeckende Analogon **8** weist eine umgekehrte L-Form auf (Abb. 6). Bei den süß schmeckenden Analoga **3** (Abb. 5), **5**, **9** und **10** (Abb. 7) weist die X-Gruppe im Kristall in Richtung der $-y$ -Achse; dies führt zu gestreckten Strukturen, in denen die AH/B- und X-Gruppen in einer planaren Anordnung einen Winkel von ca. 180° einschließen. Diese Strukturen sind denen des bitter schmeckenden **4** (Abb. 5) und des geschmacksneutralen **6** sehr ähnlich. Bei Aspartam **1** weist die hydrophobe Benzylseitenkette (X) im Kristall in die $+z$ -Richtung (Abb. 4).

Die Analyse der Kristallstrukturen zeigt also deutlich, daß aus den Konformationen im festen Zustand keine Beziehung zwischen dem Geschmack und den Strukturen der Geschmacksliganden auf Peptidbasis abgeleitet werden kann.

3. NMR-Spektroskopie und Computersimulation

Da die röntgenographisch bestimmten Strukturen der Geschmacksliganden der Aspartamfamilie keine Beziehung zwischen der Molekülstruktur und dem Geschmack aufzeigen konnten, mußten wir nach weiteren zugänglichen Konformationen der Moleküle suchen. Dazu wurden die in Lösung bevorzugten Konformationen durch NMR-Spektroskopie und Computersimulation bestimmt^[8, 11, 12]. In Lösung treten Packungseffekte und intermolekulare Wechselwirkungen zwischen den Geschmacksliganden nicht auf, und die Moleküle liegen solvatisiert als Gleichgewichtsmischungen mehrerer bevorzugter Konformere vor.

Die in Lösung bevorzugten Konformationen der Geschmacksliganden **1–13** wurden durch Nuclear-Overhauser-Effect (NOE)-Experimente und aus vicinalen ^1H - ^1H -Kopplungskonstanten^[15] bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengefaßt. In allen Analoga auf L-Aspartylbasis weist dieser Rest unabhängig von der Struktur und Konfiguration des zweiten Rests die gleichen bevorzugten Konformationen auf, die durch einen ϕ^1 -Winkel (C^{α} -C(O)-Bindung) von 60 – 180° und einen χ_1^1 -Winkel entsprechend g^- (ca. -60°) definiert sind. Diese Konformationen finden sich nicht nur in den süß schmeckenden Molekülen, sondern auch in den bitter schmeckenden Molekülen **4** und **8**. Der ψ^1 -Winkel des (R)-Ama-Rests des süß schmeckenden Moleküls **5** ist auf den gleichen Bereich (60 – 180°) wie der des L-Asp-Rests beschränkt, der des geschmacksneutralen Moleküls **6** dagegen auf entgegengesetzte Werte (-180 bis -60°).

Die bevorzugten Konformationen der zweiten Reste lassen sich in Abhängigkeit vom Molekültyp in unterschiedliche Kategorien einteilen. Unter den Molekülen **1–8**, die die hydrophobe X-Gruppe in der Seitenkette des zweiten Rests enthalten und somit zum A-Typ gehören, bevorzugen die süß schmeckenden Moleküle **1**, **3**, **5** und **7** für den ϕ^2 -Winkel negative Werte von -180 bis -60° . Umgekehrt bevorzugen die bitter schmeckenden Moleküle **4** und **8** positive Werte für diesen Winkel: Für den D-(α -Me)Phe-Rest in **4** beträgt ϕ^2 60 – 180° und für den (R)-Chg-Rest in **8** (aus NMR-Experimenten) 98 und 142° . Obwohl sich die Moleküle **1**, **5** und **6** in den N-terminalen Resten unterscheiden, haben ihre L-Phe-Seitenketten die gleichen Vorzugskonformationen: Das bevorzugte Konformer bezüglich χ_1^1 ist g^- (43 – 48%); die t^- und g^+ -Konformere haben Anteile von 14 – 19% .

Tabelle 4. ^1H -NMR-spektroskopisch bestimmte Konformationen der Geschmacksliganden 1–13.

Rest	Bindung		Typ A:	1	3	4	5	6	7	8
Asp/Ama	ψ^1 ; C $^\alpha$ -C(O) χ_1^1 ; C $^\alpha$ -C $^\beta$	g $^-$ (ca. -60°) t (ca. 180°) g $^+$ (ca. 60°)	Typ A:	60 bis 180°	60 bis 180°	60 bis 180°	60 bis 180°	-180 bis -60°	60 bis 180°	60 bis 180°
				55 %	56 %	55 %	—	—	50 %	49 %
				21 %	22 %	23 %	—	—	27 %	26 %
				25 %	22 %	22 %	—	—	23 %	25 %
Rest 2	ϕ^2 ; N-C $^\alpha$ χ_1^2 ; C $^\alpha$ -C $^\beta$	g $^-$ (ca. -60°) t (ca. 180°) g $^+$ (ca. 60°)	Typ A:	-180 bis -60°	-180 bis -60°	60 bis 180°	-180 bis -60°	-180 bis -60°	-142 , -98°	98, 142°
				48 %	—	—	44 %	43 %	[a]	[a]
				14 %	—	—	19 %	18 %	17 % [a]	[a]
				38 %	—	—	37 %	39 %	[a]	16 % [a]
Asp	ψ^1 ; C $^\alpha$ -C(O) χ_1^1 ; C $^\alpha$ -C $^\beta$	g $^-$ (ca. -60°) t (ca. 180°) g $^+$ (ca. 60°)	Typ B:	9	10	11	12	13		
				60 bis 180°	60 bis 180°	60 bis 180°	60 bis 180°	60 bis 180°		
				59 %	60 %	60 %	58 %	62 %		
				19 %	18 %	18 %	20 %	16 %		
Rest 2	ϕ^2 ; N-C $^\alpha$ ψ^2 ; C $^\alpha$ -C(O)	g $^-$ (ca. -60°) t (ca. 180°) g $^+$ (ca. 60°)	Typ B:	22 %	22 %	22 %	22 %	22 %		
				60 bis 180°	60 bis 180°	—	—	—		
				—	—	—	—	—		
				—	—	—	—	—		
C-Terminus	τ^3			$0^\circ \pm 60^\circ$ [b]	$0^\circ \pm 60^\circ$ [c]	$0^\circ \pm 60^\circ$ [d]	$0^\circ \pm 60^\circ$ [d]			

[a] Da Cyclohexylglycin ein β -Proton enthält, kann die Rotationsisomerenanalyse anhand der vicinalen Kopplungskonstante J (M^α , H^β) nur einen Teil des Konformers liefern, in dem H^α und H^β *trans* angeordnet sind. [b] τ^3 ist der C(O)-N-C $^\alpha$ -H-Winkel der C-terminalen 2,2,4,4-Tetramethylthietanylamidgruppe. [c] τ^3 ist der N-C(O)-C $^\alpha$ -H-Winkel der C-terminalen 2,2,5,5-Tetramethylcyclopentylestergruppe. [d] τ^3 ist der N-C(O)-C $^\alpha$ -H-Winkel der C-terminalen 2,2,5,5-Tetramethylcyclopentancarbonylgruppe.

bzw. 37–39 %. Die bevorzugten Konformationen in Lösung unterscheiden sich dennoch klar von denen der L-Phe-Seitenketten von Aspartam 1 ($\chi_1^2 = +61.7^\circ$), 5 ($\chi_1^2 = -175.3(5.0)^\circ$) und 6 ($\chi_1^2 = 179.2^\circ$) im Kristall.

Bei den Geschmacksmolekülen, die zum B-Typ gehören und die das hydrophobe X-Element in der C-terminalen Amid- oder Estergruppe enthalten, weist der D-Ala-Rest von 9 bevorzugt positive Werte (60 – 180°) für ϕ^2 und einen breiten Bereich von ψ^2 -Werten auf. Ähnlich bevorzugt der D-Ala-Rest von 10 positive ϕ^2 -Werte von 60 – 180° . Der Ac 3 c-Rest von 13 weist ϕ^2 -Winkel von $0^\circ \pm 90^\circ$ auf. Für die Verbindungen 11 und 12 mit (R)- bzw. (S)-Konfiguration der Retro-inverso-gAla-Reste konnte ^1H -NMR-spektroskopisch keine klar bevorzugte Konformation des zweiten Rests ermittelt werden.

Die zugänglichen (oder bevorzugten) Konformationen eines jeden Moleküls werden stark durch van-der-Waals-Wechselwirkungen beeinflusst. Diese sterischen Wechselwirkungen können mit einem der vielen existierenden Kraftfelder wie CHARMM^[16] und DISCOVER^[17] bestimmt werden. Diese Methode ermöglicht die Identifizierung nahezu aller Konformationen der Geschmacksliganden auf Peptidbasis, die Energieminima entsprechen. Diese Konformationen repräsentieren somit die innerhalb des zugänglichen Konformationsraums der Moleküle bevorzugten Strukturen.

Eine intensive Suche nach solchen Konformationen wurde schrittweise durchgeführt, wobei mit kleinen Modellverbindungen wie den N-Methylamiden der N-terminalen Reste, L-Asp-NHMe, (R)-Ama-NHMe und (S)-Ama-NHMe, und den N-Acetylderivaten der C-terminalen Reste, Ac-L-Phe-OMe, Ac-L-Phe-OEt, L- und D-Ac-(α -Me)Phe-OMe, (S)- und (R)-Ac-CHg-OMe, Ac-D-Ala-TAN, Ac-D-Ala-OTMCP, (R)- und (S)-Ac-gAla-TMCP und Ac-Ac 3 c-OnPr, begonnen wurde und davon ausgehend auf die Strukturen der Geschmacksliganden selbst hingearbeitet wurde. Dieses Vorgehen basierte auf der Annahme, daß die Wechselwirkungen zwischen den Resten für die Bestimmung der bevorzugten Konformationen der Geschmacksliganden ohne Bedeutung sind. Diese Annahme wurde durch ^1H -NMR-Daten gestützt, die zeigen, daß zum einen der N-terminale L-

Aspartylrest unabhängig von Struktur und Konfiguration des zweiten Rests stets die gleichen Konformationspräferenzen zeigt und daß zum anderen die Konformation des zweiten Rests von der Struktur und Konfiguration des N-terminalen Rests unabhängig ist.

Die NMR-Studien ergaben, daß die L-Asp-Seitenkette drei Konformationen annimmt, wobei der g $^-$ -Zustand gegenüber dem t- und dem g $^+$ -Zustand bevorzugt ist (siehe Tabelle 4). Gleichwohl könnte der AH/B-enthaltende Aspartylteil konformativ fixiert vorliegen, wenn das Molekül an Geschmacksrezeptoren bindet. Als bioaktive Konformation des L-Aspartylrests haben wir, wie auch andere Gruppen, basierend auf folgenden Überlegungen die g $^-$ -Struktur angenommen:

1) Die für einen süßen Geschmackseindruck notwendigen Abstände der AH- und B-Gruppen (protonierte α -Amino- bzw. β -Carboxylatgruppen, 2.5–4.0 Å) werden nur erreicht, wenn die Aspartylseitenkette den g $^-$ - oder den g $^+$ -Zustand annimmt.

2) Alle untersuchten Peptidanaloga bevorzugen, wie durch NMR-Studien gezeigt wurde, für die Aspartylseitenkette in Lösung den g $^-$ -Zustand; die ermittelte Verteilung war 50–60 % g $^-$ und 22–25 % g $^+$.

3) Alle untersuchten Peptidanaloga mit Ausnahme des Aspartamhydrochlorids 2 haben im kristallinen Zustand die g $^-$ -Konformation.

Daher werden wir im folgenden nur die Konformere mit einem g $^-$ -Zustand der Aspartylseitenkette berücksichtigen und topologische Unterschiede in den Molekülstrukturen der Analoga aus Unterschieden in den Konformationen der zweiten Reste herleiten.

3.1. Bevorzugte Konformationen der Geschmacksliganden vom Typ A

Für L-Asp-L-Phe-OMe 1 wurden sechzehn Konformationen berechnet, die Energieminima entsprechen und mit den in Lösung erhaltenen ^1H -NMR-Daten vereinbar sind. Die Ergebnisse deuten darauf hin, daß der L-Phe-Rest sehr flexibel ist, da der L-Asp-Rest in allen diesen Konformationen die gleiche Struktur

mit im Mittel (ϕ^1 , ω^1 , χ_1^1 , $\chi_{2,1}^1$) \approx (175°, 180°, -56°, -170°) aufweist. Die energieärmste Konformation ist der röntgenographisch ermittelten Struktur^[12a] sehr ähnlich.

Die relative räumliche Anordnung der drei Glucophore von 1, der protonierten N-terminalen Aminogruppe (AH), der Carboxylatgruppe (B) des Asp-Rests und der aromatischen Gruppe (X) des Phe-Rests, ist durch einen Satz von sechs Winkeln definiert: ψ^1 , ω^1 , χ_1^1 und $\chi_{2,1}^1$ für L-Asp; ϕ^2 und χ_1^2 für L-Phe. Die vier Winkel des Asp-Rests sind in allen energieminierten Konformationen im wesentlichen gleich. Daher definieren die verbleibenden zwei Winkel, ϕ^2 und χ_1^2 , die relative räumliche Anordnung der Glucophore. Entsprechend den ermittelten Kombinationen dieser beiden Winkel ergeben sich für das süß schmeckende L-Asp-L-Phe-OMe 1 sechs bevorzugte topochemische Anordnungen der AH-, B- und X-Glucophore (Abb. 11).

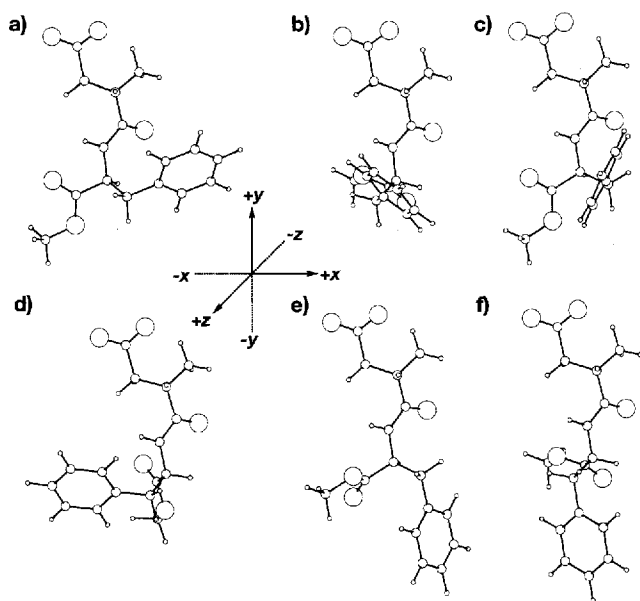


Abb. 11. Bevorzugte Konformationen von Aspartam 1 mit dem die AH- und B-Glucophore enthaltenden L-Aspartylteil im wesentlichen in der gleichen zwitterionischen Struktur in Richtung der +y-Achse weisend. Die hydrophobe Phenylalaninseitenkette zeigt in Richtung der +x-Achse in a, in Richtung der +z-Achse in b und c, entlang der -x-Achse in d und entlang der -y-Achse in e und f.

ϕ^2 nimmt laut Rechnung nur Werte in zwei Bereichen an: zwischen -165 und -140° sowie zwischen -90 und -60°. Für den χ_1^2 -Winkel wurden drei Werte berechnet: ca. 180 (t), ca. -60 (g⁻) und ca. +60° (g⁺). Bei der in Abbildung 11 a gezeigten Konformation mit ϕ^2 - und χ_1^2 -Werten von -148 bzw. -61° (g⁻) bildet der AH und B enthaltende zwitterionische Ring des Aspartylteils den senkrechten Teil eines L entlang der +y-Achse und die hydrophobe X-Gruppe den waagerechten Teil des L entlang der +x-Achse. Die in Abbildung 11 b gezeigte Struktur, bei der die X-Gruppe in die +z-Richtung zeigt, weist ϕ^2 - und χ_1^2 -Winkel von -67 bzw. -60° (g⁻) auf. Eine ähnliche topochemische Anordnung gibt Abbildung 11 c wieder; dort gelten für den Phe-Rest die Winkelwerte ϕ^2 = -163 und χ_1^2 = +58° (g⁺). Die Struktur in Abbildung 11 d mit ϕ^2 = -73 und χ_1^2 = +59° (g⁺) ist durch eine umgekehrte L-förmige Struktur gekennzeichnet, in der die X-Gruppe in Richtung der -x-Achse zeigt. In den Abbildungen 11 e und 11 f weist die X-Gruppe in Richtung der -y-Achse, wodurch eine gestreckte Struktur mit den AH/B-

und X-Gruppen in einer planaren Anordnung resultiert. Für diese gestreckten Strukturen muß der χ_1^2 -Winkel der Seitenkette ca. 180° (t) betragen, der ϕ^2 -Winkel dagegen kann recht beliebige Werte annehmen.

Die Konformationen minimaler Energie, die für das süß schmeckende L-Asp-L-(α -Me)Phe-OMe 3 berechnet wurden, sind denen von 1 sehr ähnlich. Somit sind die topochemischen Anordnungen der AH-, B- und X-Glucophore in den beiden Verbindungen gleich. Dies bedeutet, daß der Ersatz des α -Protons des L-Phe-Restes durch eine α -Methylgruppe die bevorzugte Konformation des L-Aspartyldipeptids nicht beeinflusst.

Das bitter schmeckende L-Asp-D-(α -Me)Phe-OMe 4 weist im wesentlichen die gleiche Struktur des L-Asp-Teils auf wie sein süß schmeckendes Diastereomer 3 und das ebenfalls süße Aspartam 1. Der für den D-(α -Me)Phe-Rest von 4 berechnete ϕ^2 -Winkel hat Werte zwischen 157 und 187° sowie 58 und 78°. Diese Winkelbereiche sind den für den L-(α -Me)Phe-Rest von 3 berechneten Werten entgegengesetzt. Folglich sind die topochemischen Anordnungen der AH-, B- und X-Glucophore des bitter schmeckenden Dipeptids 4 verschieden von denen der süß schmeckenden Analoga 1 und 3. Verbindung 4 kann keine L-förmige Struktur annehmen; seine Konformationen sind vielmehr durch eine große -z-Komponente gekennzeichnet, die hydrophobe Benzylseitenkette (X) zeigt in die -z-Richtung, und der D-(α -Me)Phe-Rest nimmt die Winkel ϕ^2 = 160 und χ_1^2 = 71° (g⁺) an. Diese Strukturart trat bei den süß schmeckenden Analoga 1 und 3 nicht auf.

Die dreidimensionalen Strukturen der Glucophore des süß schmeckenden 5 sind topochemisch gleich denen von 1. Im Gegensatz dazu sind die topochemischen Anordnungen der AH-, B- und X-Glucophore des geschmacksneutralen Analogons 6 von denen der süß schmeckenden Analoga 1, 3 und 5 und von dem des bitter schmeckenden Analogons 4 verschieden. Weder L-förmige Strukturen noch Strukturen mit einer großen -z-Komponente sind für 5 zugänglich. Positioniert man in den Konformationen von 6 das durch die protonierte Aminogruppe und die Carboxylatgruppe des (S)-Ama-Rests gebildete Zwitterion entlang der +y-Achse, so ragt die hydrophobe Phe-Seitenkette meistens in den durch die -x-, -y- und +z-Achse aufgespannten Raum.

Im Gegensatz zu den Analoga 1–6, die große Flexibilität im zweiten Rest aufweisen, erhält man für den Chg-Rest der Analoga 7 und 8 nur einige wenige bevorzugte Konformationen. Es gibt sowohl Cyclohexylkonformationen mit dem Substituenten in axialer als auch solche mit ihm in äquatorialer Position; die Energie der axialen Form ist Berechnungen zufolge mindestens 7 kcal mol⁻¹ höher als die der äquatorialen^[11b]. Daher werden im folgenden nur die Konformere mit äquatoralem Substituenten berücksichtigt. In beiden Diastereomeren ist die Konformation des Chg-Rests bezüglich der N-C α -Bindung (ϕ^2) die wesentlichste Größe für die relative räumliche Orientierung der AH-, B- und X-Glucophore. Da der Cyclohexanring direkt an das α -Kohlenstoffatom des zweiten Rests gebunden ist, verursacht eine Rotation der Cyclohexylseitenkette um die C α -C β -Bindung (χ_1^2) nur eine minimale Änderung der relativen Position der X-Gruppe. In beiden Diastereomeren sind die berechneten ϕ^2 -Winkel auf zwei Bereiche beschränkt: -145 bis -131° und -97 bis -77° für das süß schmeckende 7 sowie 77 bis 102° und ca. 140° für das bitter schmeckende 8. Diese Werte stimmen mit

den aus den ^1H -NMR-Experimenten abgeleiteten überein (siehe Tabelle 4). In **7** ist die hydrophobe Cyclohexylseitenkette (X) entlang der $+x$ -Achse orientiert (unter Bildung einer L-förmigen Struktur), wenn der (*S*)-Chg-Rest einen ϕ^2 -Winkel im Bereich von -145 bis -131° aufweist (Abb. 12a). Mit einem ϕ^2 -Winkel im Bereich von -97 bis -77° dagegen zeigt die

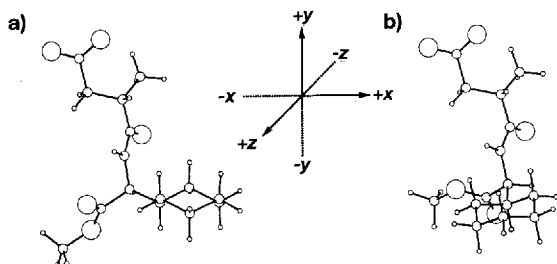


Abb. 12. Bevorzugte Konformationen von **7** mit dem die AH- und B-Glucophore enthaltenden L-Aspartylteil im wesentlichen in der gleichen zwitterionischen Struktur in Richtung der $+y$ -Achse weisend. Die hydrophobe Cyclohexylseitenkette zeigt in a entlang der $+x$ -Achse und in b entlang der $+z$ -Achse.

Cyclohexylseitenkette in $+z$ -Richtung (vor dem senkrechten Teil der L-förmigen Struktur, Abb. 12b). Im Gegensatz dazu weist die Cyclohexylseitenkette von **8** in Konformationen mit $\phi^2 = 77$ bis 102° in Richtung der $-x$ -Achse (umgekehrte L-Form, Abb. 13a) und in Richtung der $-z$ -Achse (hinter dem

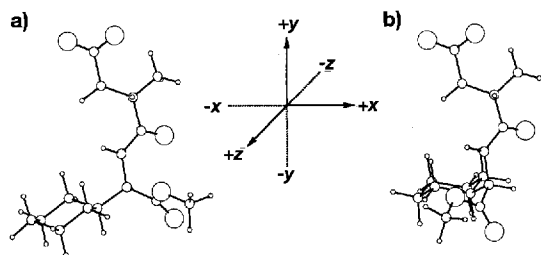


Abb. 13. Bevorzugte Konformationen von **8** mit dem die AH- und B-Glucophore enthaltenden L-Aspartylteil im wesentlichen in der gleichen zwitterionischen Struktur in Richtung der $+y$ -Achse weisend. Die hydrophobe Cyclohexylseitenkette zeigt in a entlang der $-x$ -Achse und in b entlang der $-z$ -Achse.

senkrechten Teil des L, Abb. 13b), wenn der ϕ^2 -Winkel ungefähr 140° beträgt. In diesen Fällen hat die Molekülorientierung eine große $-z$ -Komponente.

3.2. Bevorzugte Konformationen der Geschmacksliganden vom Typ B

Vierzehn Konformationen minimaler Energie wurden für das Diastereomerenpaar **11/12** berechnet, in denen die L-Asp-Seitenkette im g^- -Zustand (χ_1^1 ca. -60°) vorliegt. Diese vierzehn Strukturen lassen sich je nach der (ϕ^2, ψ^2) -Konformation des gAla-Rests in sieben Familien unterteilen. Jede Familie enthält zwei Konformationen mit unterschiedlichen Werten für den Torsionswinkel τ^3 der C-terminalen TMCP-Gruppe, der als N-C(O)-C¹-H definiert ist, und zwar $\tau^3 \approx +20$, und $\tau^3 \approx -20^\circ$. Die Ergebnisse der Computersimulationen führten zu zwei in-

teressanten und wichtigen Schlußfolgerungen bezüglich der Konformationsmerkmale dieser Retro-inverso-Moleküle:

1) Keine der Konformationen minimaler Energie weist im gAla-Rest Werte von $(\phi^2, \psi^2) \approx (+100^\circ, -100^\circ)$ oder $(\phi^2, \psi^2) \approx (-100^\circ, +100^\circ)$ auf, obwohl diese Werte in den Kristallen von **11** bzw. **12** ermittelt wurden^[11b]. Es gibt also keine Ähnlichkeiten zwischen den berechneten Strukturen und denen im Kristall. Dies spricht dafür, daß die Strukturen der Retro-inverso-Analoga **11** und **12** im Kristall zugänglichen Konformationen in Lösung, aber keinen minimaler Energie entsprechen. Im Kristall sind die geminalen NH-Gruppen des gAla-Rests außerdem an intermolekularen Wasserstoffbrücken beteiligt.

2) Der gAla-Rest weist ohne erkennbare Bevorzugung negative und positive ϕ^2 -Winkel auf, was in Einklang mit den Ergebnissen der ^1H -NMR-Studien ist. Dies läßt darauf schließen, daß es keine eindeutig bevorzugten Konformationen für diesen Rest gibt. In dieser Hinsicht unterscheiden sich die Retro-inverso-Analoga von den anderen Dipeptiden, die klare Bevorzugungen bei den Konformationen des zweiten Rests aufweisen.

Da der L-Aspartylteil in beiden Analoga die gleiche Konformation hat, bestimmt hier die (ϕ^2, ψ^2) -Konformation des zweiten Rests (gAla) die relative räumliche Orientierung der C-terminalen hydrophoben TMCP-Gruppe (X) und des AH/B-Glucophors. Eine Drehung um die C(O)-C¹-Bindung (τ^3) verursacht nur eine geringe relative Änderung der Position der X-Gruppe. Die Konformationen minimaler Energie von **11** sind in Abbildung 14 dargestellt. Das Molekül liegt gestreckt vor, wenn der (*R*)-gAla-Rest die Konformationen mit $(\phi^2, \psi^2) = (163^\circ, -165^\circ)$, $(63^\circ, -165^\circ)$ oder $(-52^\circ, 161^\circ)$, wie sie in Abbildung 14a, 14b bzw. 14c gezeigt sind, annimmt. In der in Abbil-

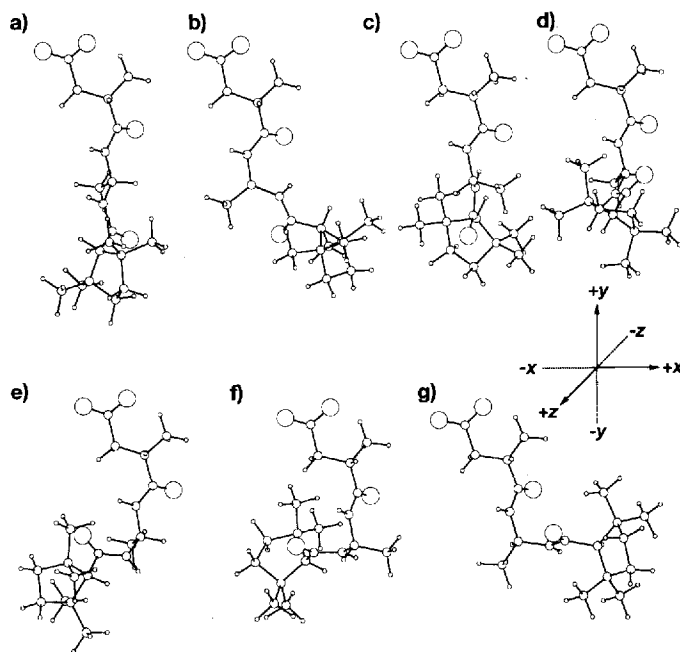


Abb. 14. Bevorzugte Konformationen von **11** mit dem die AH- und B-Glucophore enthaltenden L-Aspartylteil im wesentlichen in der gleichen zwitterionischen Struktur in Richtung der $+y$ -Achse weisend. Die C-terminale TMCP-Gruppe, die als hydrophobes X-Glucophor fungiert, zeigt in a, b und c in Richtung der $-y$ -Achse, in d in Richtung der $+z$ -Achse und in e in den Raum zwischen der $+z$ - und der $-x$ -Achse. Das Molekül hat in f eine umgekehrte L-Form, in der die TMCP-Gruppe entlang der $-x$ -Achse orientiert ist, und in g eine L-Form, in der die gleiche Gruppe entlang der $+x$ -Achse orientiert ist.

dung 14d dargestellten Struktur weist der (R)-gAla-Rest eine Konformation mit $(\phi^2, \psi^2) = (165^\circ, -66^\circ)$ auf, die zu einer Orientierung der hydrophoben TMCP-Gruppe (X) in die +z-Richtung führt. In der Struktur der Abbildung 14e, in der der (R)-gAla-Rest eine Konformation mit $(\phi^2, \psi^2) = (161^\circ, 51^\circ)$ annimmt, ragt die X-Gruppe in den Raum zwischen der +z- und der -x-Achse. Eine umgekehrte L-Form mit der X-Gruppe in der -x-Richtung liegt vor, wenn der (R)-gAla-Rest die in Abbildung 14f dargestellte Konformation mit $(\phi^2, \psi^2) = (-57^\circ, -66^\circ)$ aufweist. Beim Vorliegen der Werte $(\phi^2, \psi^2) = (64^\circ, 57^\circ)$ hat das Retro-inverso-Molekül eine L-Form, in der die X-Gruppe in Richtung der +x-Achse zeigt (Abb. 14g).

Wie aus Abbildung 15 hervorgeht, sind die topochemischen Strukturen des süß schmeckenden **12** denen seines Diastereomers **11** ähnlich. Das Molekül liegt gestreckt vor, wenn der (S)-gAla-Rest die Konformationen mit $(\phi^2, \psi^2) = (-164^\circ, 163^\circ)$, $(-67^\circ, 164^\circ)$ oder $(52^\circ, -160^\circ)$, wie sie in den Abbildungen 15a, 15b bzw. 15c gezeigt sind, annimmt. In der in Abbildung 15d dargestellten Struktur weist der (S)-gAla-Rest eine Konformation mit $(\phi^2, \psi^2) = (-159^\circ, -54^\circ)$ auf, in der die X-Gruppe in den Raum zwischen der +z- und der -x-Achse

zeigt. Die umgekehrte L-förmige Struktur in den Abbildungen 15e und 15f enthält den (S)-gAla-Rest in der Konformation $(\phi^2, \psi^2) = (-164^\circ, 62^\circ)$ bzw. $(-66^\circ, -57^\circ)$. Für die in Abbildung 15g gezeigte L-förmige Struktur gilt $(\phi^2, \psi^2) = (55^\circ, 65^\circ)$.

Ähnliche topochemische Anordnungen der AH-, B- und X-Glucophore finden sich in den D-Ala-enthaltenden süß schmeckenden Analoga **9** und **10**, obwohl der D-Ala-Rest dieser Moleküle nur positive ϕ^2 -Werte $(60-180^\circ)$ annimmt.

Der α -Aminocyclopropan-carbonsäurerest (Ac³C) weist ganz andere konformative Bevorzugungen für (ϕ, ψ) auf. Nur zwei enge ϕ -Bereiche sind für Ac³c zugänglich: der eine mit $\phi = 70^\circ \pm 30^\circ$ und der andere mit $\phi = -70^\circ \pm 30^\circ$. Dagegen sind die für Ac³c zugänglichen ψ -Bereiche relativ breit. Zwei Energieminima wurden für jeden erlaubten ϕ -Wert ermittelt: $\psi \approx 55^\circ$ und 180° für $\phi \approx +70^\circ$ sowie $\psi \approx -55^\circ$ und 180° für $\phi \approx -70^\circ$. Wegen des sterisch anspruchsvollen Ac³c-Rests ließen sich für das süß schmeckende L-Asp-Ac³c-OnPr **13** lediglich vier Familien von Konformationen minimaler Energie berechnen. In allen Familien hat der Aspartylteil im wesentlichen die gleiche Struktur ($(\psi^1, \omega^1, \chi^1_{1,1}, \chi^1_{2,1}) \approx (175^\circ, 180^\circ, -56^\circ, -170^\circ)$). Über vier ähnliche Familien wurde von Taylor et al.^[18] berichtet. Allerdings unterscheiden sich deren ψ^2 -Werte von unseren, da sie ein Doppelminimumspotential des Ac³c-Rests bzgl. der C²-C(O)-Bindung mit Minima bei 0 und 180° angenommen haben. Jede Familie besteht aus Konformationen, die sich hinsichtlich der Anordnungen der C-terminalen n-Propylestergruppe unterscheiden. Deren Konformation ist für die relative räumliche Anordnung der AH-, B- und X-Glucophore weniger entscheidend als die (ϕ^2, ψ^2) -Konformation des Ac³c-Rests.

Abbildung 16 zeigt die für **13** zugänglichen Konformationen. In der Ac³c-Konformation mit $(\phi^2, \psi^2) = (70^\circ, 57^\circ)$ hat das Dipeptidmolekül eine L-Form (Abb. 16a) mit der hydrophoben

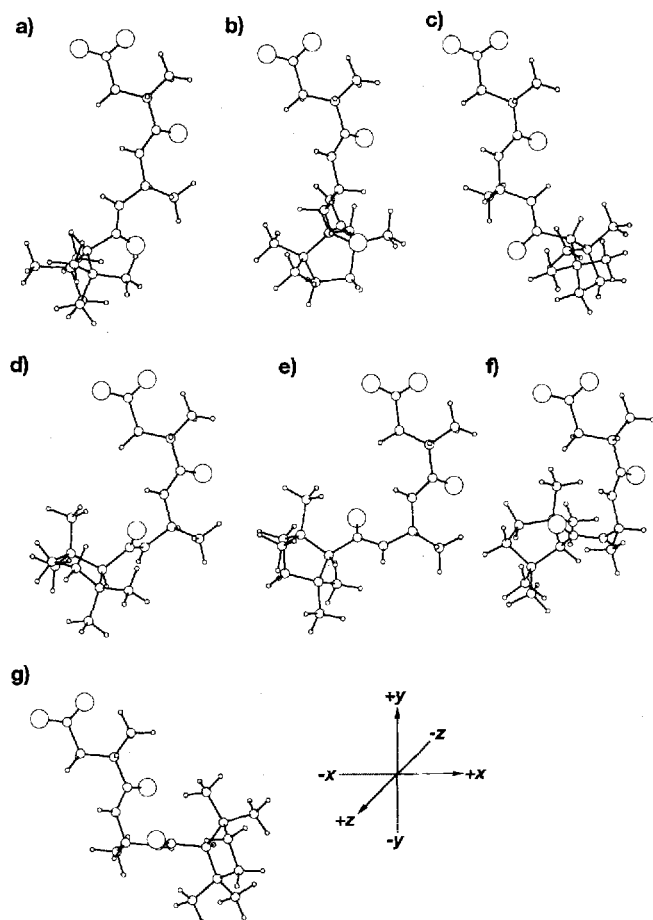


Abb. 15. Bevorzugte Konformationen von **12** mit dem die AH- und B-Glucophore enthaltenden L-Aspartylteil im wesentlichen in der gleichen zwitterionischen Struktur in Richtung der +y-Achse weisend. Die C-terminale TMCP-Gruppe, die als hydrophobes X-Glucophor fungiert, zeigt in a, b und c in Richtung der y-Achse und in d in den Raum zwischen der +z- und der -x-Achse. Das Molekül hat in e und f eine umgekehrte L-Form, in der die TMCP-Gruppe entlang der -x-Achse orientiert ist, und in g eine L-Form, in der die gleiche Gruppe entlang der +x-Achse orientiert ist.

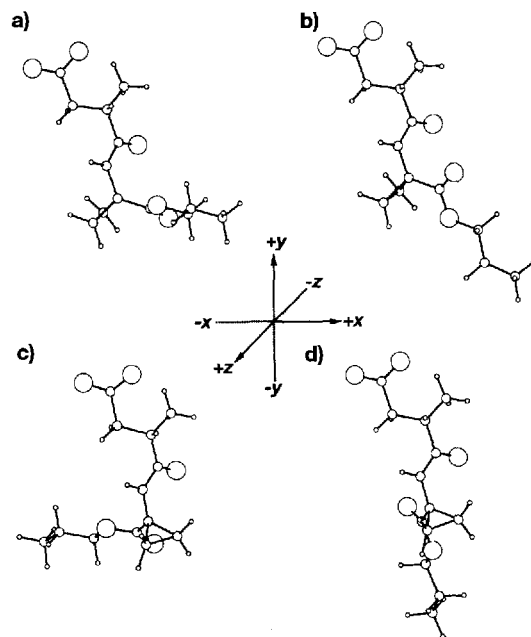


Abb. 16. Bevorzugte Konformationen von **13** mit dem die AH- und B-Glucophore enthaltenden L-Aspartylteil im wesentlichen in der gleichen zwitterionischen Struktur in Richtung der +y-Achse weisend. Das Molekül hat in a eine L-Form mit der hydrophoben n-Propylestergruppe in Richtung der +x-Achse und in c eine umgekehrte L-Form, in der die gleiche Gruppe in Richtung der -x-Achse zeigt. In b und d ist die n-Propylestergruppe in die -y-Richtung orientiert.

n-Propylestergruppe (X) in Richtung der $+x$ -Achse. Für die Konformation mit $(\phi^2, \psi^2) = (-70^\circ, -57^\circ)$ erhält man eine umgekehrte L-förmige Struktur, bei der die X-Gruppe in Richtung der $-x$ -Achse zeigt (Abb. 16c). In den Abbildungen 16b und 16d ist das L-Asp-Ac³c-Molekül gestreckt ($(\phi^2, \psi^2) = (73^\circ, -177^\circ)$ bzw. $(-74^\circ, 177^\circ)$).

4. Ein dreidimensionales Modell zum Verständnis der Geschmacksempfindung

Die topochemischen Anordnungen der AH- (Wasserstoffbrückendonator), B- (Wasserstoffbrückenakzeptor) und X-Glucophore (hydrophobe Gruppe), die die untersuchten Geschmacksliganden auf Peptidbasis annehmen können, lassen sich in fünf Klassen unterteilen:

I: eine L-förmige Struktur, in der der AH und B enthaltende zwitterionische Ring des N-Terminus (L-Asp, (R)-Ama oder (S)-Ama) den senkrechten Teil des L in Richtung der y -Achse und die hydrophobe X-Gruppe den waagerechten Teil des L in Richtung der $+x$ -Achse bildet;

II: eine umgekehrte L-förmige Struktur, in der die X-Gruppe in Richtung der $-x$ -Achse zeigt;

III: eine gestreckte Struktur, in der der AH/B-Teil des zwitterionischen Rings und die X-Gruppe in einer planaren linearen Anordnung einen Winkel von ca. 180° einschließen und die X-Gruppe in Richtung der $-y$ -Richtung zeigt;

IV: eine Struktur, in der die X-Gruppe in die $+z$ -Richtung zeigt;

V: eine Struktur mit deutlicher Orientierung der X-Gruppe in die $-z$ -Richtung.

Alle süß schmeckenden Analoga mit Ausnahme von **7** und **13** weisen, wie in Tabelle 5 gezeigt, die gleiche topochemische Anordnung der AH-, B- und X-Glucophore auf (Klassen I–IV). Die topochemische Anordnung, bei der die X-Gruppe in Richtung der $-z$ -Achse zeigt (Klasse V), ist für keines der süß schmeckenden Analoga, inklusive **7** und **13**, zugänglich. Daher ist diese topochemische Anordnung als Kandidat für die für den süßen Geschmack notwendige bioaktive Konformation ausgeschlossen.

Tabelle 5. Topochemische Anordnungen der AH-, B- und X-Glucophore in **1**–**13**.

Verbindung	Geschmack	topochemische Anordnungen [a]				
		I	II	III	IV	V
Typ A						
1 L-Asp-L-Phe-OMe	süß	ja	ja	ja	ja	nein
3 L-Asp-L-(<i>x</i> -Me)Phe-OMe	süß	ja	ja	ja	ja	nein
4 L-Asp-D-(<i>x</i> -Me)Phe-OMe	bitter	nein	ja	ja	ja	ja
5 (R)-Ama-L-Phe-OMe	süß	ja	ja	ja	ja	nein
6 (S)-Ama-L-Phe-OEt	geschmacksneutral	nein	ja	ja	ja	nein
7 L-Asp-(S)-Chg-OMe	süß	ja	nein	nein	ja	nein
8 L-Asp-(R)-Chg-OMe	bitter	nein	ja	nein	nein	ja
Typ B						
9 L-Asp-D-Ala-TAN	süß	ja	ja	ja	ja	nein
10 L-Asp-D-Ala-OTMCP	süß	ja	ja	ja	ja	nein
11 L-Asp-(R)-gAla-TMCP	süß	ja	ja	ja	ja	nein
12 L-Asp-(S)-gAla-TMCP	süß	ja	ja	ja	ja	nein
13 L-Asp-Ac ³ c-OnPr	süß	ja	ja	ja	nein	nein

[a] Zur Definition der topochemischen Anordnungen I–IV siehe Text.

Unter den süß schmeckenden Analoga ist **7** im Hinblick auf die Orientierung der X-Gruppe relativ zu den AH- und B-Gruppen besonders informativ. Da in diesem Analogon die konformative Zwänge erzeugende Cyclohexylgruppe direkt an das α -Kohlenstoffatom des zweiten Rests gebunden ist, überstreicht die hydrophobe X-Gruppe einen mit der xz -Ebene fast coplanaren Bogen. Damit sind für dieses Analogon keine gestreckten Strukturen, in denen die X-Gruppe in Richtung der $-y$ -Achse zeigt (Klasse III), zugänglich. Es kann also nur die topochemischen Anordnungen der Klasse I und der Klasse IV annehmen. Das süß schmeckende **13** ist ebenfalls informativ. Dieses Analogon nimmt Strukturen der Klassen I, II und III an, jedoch sind wegen des sterisch anspruchsvollen Ac³c-Rests keine Konformationen möglich, in denen der hydrophobe *n*-Propylester (X) in die $+z$ - (Klasse IV) oder $-z$ -Richtung (Klasse V) zeigt. Die beiden süß schmeckenden Analoga **7** und **13** haben damit nur die L-förmige Struktur (Klasse I) gemeinsam. Wie Tabelle 5 zu entnehmen ist, ist diese L-förmige Struktur die einzige topochemische Anordnung der AH-, B- und X-Glucophore, die für alle süß schmeckenden Analoga zugänglich ist. Daraus schließen wir, daß die L-förmige Anordnung für den süßen Geschmack essentiell ist. Unsere Folgerung wird dadurch gestützt, daß weder das geschmacksneutrale Analogon **6** noch die bitter schmeckenden Analoga **4** und **8** L-förmige Strukturen annehmen können (Tabelle 5). Die L-förmigen Strukturen von Aspartam **1** (Typ A mit der Phe-Seitenkette als hydrophober X-Gruppe) und **9** (Typ B mit der C-terminalen TAN-Gruppe als X-Gruppe) sind in Abbildung 17 gezeigt.

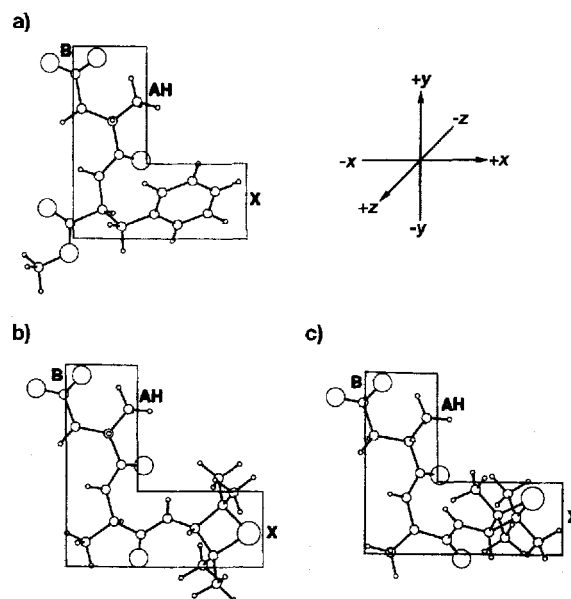


Abb. 17. Die einen süßen Geschmackseindruck erzeugenden L-förmigen Strukturen von a) **1** und b), c) **9**. In allen Strukturen bildet der die AH- und B-Glucophore enthaltende zwitterionische Ring des L-Aspartylteils den senkrechten Teil des L in Richtung der $+y$ -Achse, und die hydrophobe X-Gruppe zeigt in Richtung des waagerechten Teils des L entlang der $+x$ -Achse. Der zwitterionische Ring ist mit der Ebene des L coplanar.

Die für einen bitteren Geschmackseindruck notwendigen strukturellen Anforderungen an die Peptidmoleküle können aus Vergleichen der topochemischen Anordnungen der bitter schmeckenden Moleküle **4** und **8** mit den süß schmeckenden und

geschmacksneutralen Analoga abgeleitet werden. Das Molekül **4** kann vier topochemische Anordnungen annehmen: Strukturen der Klassen II, III, IV und V. Dagegen sind für **8** wegen des sterisch anspruchsvollen Cyclohexylglycinrests nur zwei topochemische Anordnungen zugänglich, nämlich Strukturen der Klassen II und V. Folglich sind den bitter schmeckenden Analoga **4** und **8** Strukturen der Klassen II und V gemeinsam. In den Strukturen der Klasse V weisen die Molekülorientierungen große $-z$ -Komponenten auf. Während Strukturen der Klasse II auch für die meisten süß schmeckenden und geschmacksneutralen Analoga möglich sind, zeigen nur die bitter schmeckenden Analoga **4** und **8** die topochemische Anordnung der Klasse V (Tabelle 5). Wir postulieren daher, daß diese Anordnung mit einer großen $-z$ -Komponente, bei der die X-Gruppe hinter dem senkrechten Teil des L in Richtung der $-z$ -Achse zeigt, einen bitteren Geschmackseindruck hervorruft. Die topochemischen Strukturen der Klasse V von **4** und **8** sind in Abbildung 18 dargestellt.

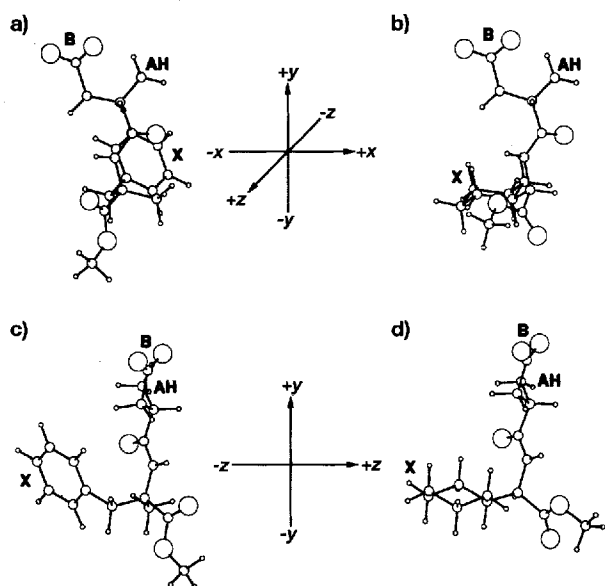


Abb. 18. Die einen bitteren Geschmackseindruck erzeugenden topochemischen Strukturen von a) **4** und b) **8**. In diesen Strukturen zeigt das hydrophobe X-Glucophor (Benzyl- bzw. Cyclohexylseitenkette) in die $-z$ -Richtung, d. h. hinter den senkrechten Teil des L (siehe Abb. 17). Somit weisen die Molekülorientierungen große $-z$ -Komponenten auf, wie in den Projektionen der Strukturen von **4** (c) und **8** (d) auf die yz -Ebene deutlich zu erkennen ist.

Das Dipeptidmolekül **6** vom Typ A nimmt drei topochemische Anordnungen ein: Strukturen der Klassen II, III und IV, aber weder die für süßen Geschmack nötigen L-förmigen Strukturen der Klasse I noch die für bitteren Geschmack erforderlichen der Klasse V. Dieses Molekül ist daher geschmacksneutral. Wir haben hier zwar keine zum Typ B gehörenden geschmacksneutralen Moleküle besprochen, doch es wurde bereits über mehrere derartige Dipeptide, z. B. D-Aspartyl-D-alanin-(2,2,4,4-tetramethylthietanyl)amid^[11d], ein Diastereomer von **9**, berichtet. Konformationsstudien mit Hilfe von NMR-Spektroskopie und Computersimulation zeigen, daß diese Verbindung Klasse-II-, -III- und -IV-Strukturen, jedoch weder Klasse-I- noch Klasse-V-Strukturen annehmen kann.

Die hier entwickelte Beziehung zwischen der topochemischen Anordnung der AH-, B- und X-Glucophore und dem Geschmack von Geschmacksliganden auf Peptidbasis ist in Abbildung 19 illustriert.

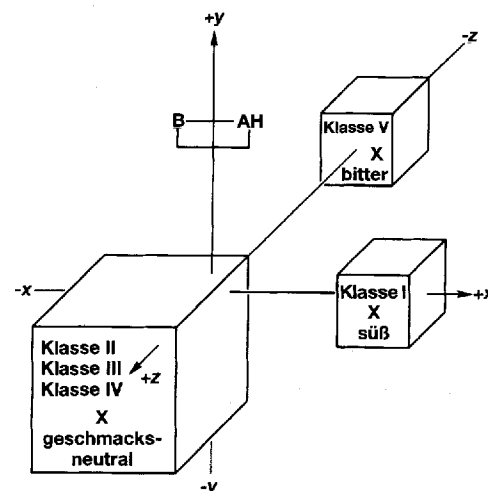


Abb. 19. Schematische Darstellung der Beziehung zwischen den topochemischen Anordnungen der AH-, B- und X-Glucophore und dem Geschmack. Das α -Kohlenstoffatom des zweiten Aminosäurerests des Geschmacksliganden ist im Ursprung des Koordinatensystems, d. h. bei (0, 0, 0), lokalisiert.

In allen in Tabelle 5 gezeigten Klassen topochemischer Anordnungen der AH-, B- und X-Glucophore weist der N-terminale Rest im wesentlichen die gleiche Struktur auf: ($\psi^1, \omega^1, \chi^1_{1,1}$) \approx ($175^\circ, 180^\circ, -56^\circ, -170^\circ$) für L-Asp und ($\psi^1, \omega^1, \chi^1_{1,1}$) \approx ($175^\circ, 180^\circ, -170^\circ$) für (R)-Ama. In allen Verbindungen sind die protonierte Amino- (AH) und die Seitenkettencarboxylatgruppe (B) so angeordnet, daß sie als AH/B-Einheiten wirken können. Die Unterschiede in der Gesamtstruktur und im Geschmack ergeben sich aus der Konformation des zweiten Rests. Hierbei sind die ϕ^2 - und χ^2_1 -Winkel für die Gesamtstrukturen und den Geschmack der Typ-A-Analoga entscheidend. Bei den Typ-B-Analoga sind die ϕ^2 - und ψ^2 -Winkel für den Geschmack ausschlaggebend. Diese Winkel bestimmen die relative Orientierung der hydrophoben X-Funktion zu den AH/B-Funktionen. In den Typ-A-Analoga erfordert die für den süßen Geschmack notwendige L-förmige Struktur ϕ^2 -Werte von $-150^\circ \pm 30^\circ$ und χ^2_1 -Werte von ca. -60° (g^-) im zweiten Aminosäurerest, in den Typ-B-Analoga sind ϕ^2 -Werte von $70^\circ \pm 30^\circ$ und ψ^2 -Werte von $0^\circ \pm 60^\circ$ für den süßen Geschmack erforderlich.

Die einen bitteren Geschmackseindruck hervorruftenden Strukturen der Klasse V mit großen $-z$ -Komponenten benötigen ebenfalls spezifische Torsionswinkel für den zweiten Rest: $\phi^2 = +150^\circ \pm 30^\circ$ und $\chi^2_1 \approx +60^\circ$ (g^+) erzeugen Strukturen der Klasse V für Geschmacksliganden vom Typ A. Neben dem bereits erwähnten bitter schmeckenden Dipeptid vom Typ B, L-Aspartyl-L-alanin-(2,2,4,4-tetramethylthietanyl)amid^[11d], wurde unter anderem auch L-Aspartyl-L-alanin-(2,2,5,5-tetramethylcyclopentyl)amid, die Stammverbindung des süß schmeckenden L-Asp-(S)-gAla-TMCP **12**, beschrieben^[11e]. Die Untersuchungen über die Konformationen dieser bitter schmeckenden Dipeptide vom Typ B mit Hilfe von NMR-Spektroskopie und Computersimulation zeigen, daß $\phi^2 =$

$-70^\circ \pm 30^\circ$ und $\psi^2 = 60^\circ \pm 30^\circ$ für den zweiten Rest benötigt werden, um Strukturen der Klasse V zu erzeugen.

Wie schon in Abschnitt 1 beschrieben, ist die absolute Konfiguration des zweiten Rests ein entscheidender Faktor für den Geschmack der Dipeptide. Für Geschmacksliganden vom Typ A ist eine L-Aminosäure an Position 2 für süßen Geschmack notwendig, während eine D-Aminosäure an der gleichen Position einen bitteren Geschmackseindruck hervorruft. Für Liganden vom Typ B hingegen ist eine D-Aminosäure an Position 2 für den süßen Geschmack notwendig, während der Einbau einer L-Aminosäure an der gleichen Position zu einem bitter schmeckenden oder geschmacksneutralen Molekül führt. Die Anforderungen an die Konfiguration des zweiten Rests, die in einem Molekül erfüllt sein müssen, um einen süßen Geschmackseindruck hervorzurufen, können über die Anforderungen an den ϕ^2 -Winkel für die Bildung L-förmiger Strukturen erklärt werden. Bei zum B-Typ gehörenden Geschmacksliganden sind für L-förmige Strukturen Konformationen mit $\phi^2 = 70^\circ \pm 30^\circ$ erforderlich. Für L-Aminosäuren ist diese Struktur energetisch weniger günstig als die Konformation mit negativen ϕ^2 -Werten. Die L-förmigen Strukturen der Dipeptide des A-Typs erfordern ϕ^2 -Werte von $-150^\circ \pm 30^\circ$. Eine solche Struktur ist mit D-Aminosäuren nicht zugänglich.

Um die Winkelerfordernisse für süßen und bitteren Geschmack zu verallgemeinern, führen wir den Diederwinkel θ_ϕ^2 ein, der durch $C(O)-N-C^\alpha-R_2$ [$C(O)-N-C^\alpha-X$ (hydrophobes Glucophor)] in Abb. 2a) definiert ist und mit ϕ^2 wie folgt zusammenhängt: $\theta_\phi^2 = \phi^2 - 120^\circ$ für Geschmacksliganden des A-Typs, die an Position 2 L- oder (S)-konfiguriert sind, $\theta_\phi^2 = \phi^2 + 120^\circ$ für Analoga des A-Typs, die an Position 2 D- oder (R)-konfiguriert sind, $\theta_\phi^2 = \phi^2$ für Dipeptidanaloga des B-Typs. Deshalb erfordert die für süßen Geschmack notwendige L-Form $\theta_\phi^2 = 90^\circ \pm 30^\circ$ für den A-Typ und $\theta_\phi^2 = 70^\circ \pm 30^\circ$ für den B-Typ. Die beiden θ_ϕ^2 -Wertebereiche liegen also sehr nahe beieinander. Im Gegensatz dazu benötigt die für bitteren Geschmack erforderliche Struktur der Klasse V Winkel $\theta_\phi^2 = -90^\circ \pm 30^\circ$ für den A-Typ und $\theta_\phi^2 = -70^\circ \pm 30^\circ$ für den B-Typ. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß für süßen Geschmack positive θ_ϕ^2 -Werte von $80^\circ \pm 40^\circ$ benötigt werden, während für bitteren Geschmack negative θ_ϕ^2 -Werte von $-80^\circ \pm 40^\circ$ erforderlich sind.

5. Vergleich des „L-Modells“ mit anderen Modellen für den süßen Geschmackseindruck

Zusätzlich zu unserem L-Modell wurden in der Literatur auch einige andere molekulare Modelle zur Erklärung des süßen Geschmackseindrucks vorgestellt. In den folgenden Abschnitten wollen wir unser Modell mit diesen anderen Modellen vergleichen.

5.1. Vergleich mit dem Temussi-Modell

Temussi et al.^[22] analysierten die bevorzugten Konformationen von Aspartam **1** mit Hilfe von 1H -NMR-Spektroskopie und Kraftfeldrechnungen. Als bioaktive Konformation schlugen sie eine gestreckte Struktur vor, in der der AH und B enthaltende zwitterionische Ring des L-Asp-Teils und die hydrophobe

Benzylseitenkette (X) des L-Phe-Rests in einer planaren parallelen Anordnung einen Winkel von ca. 180° einschließen (Klasse III in dieser Übersicht). Diese Struktur, die aus den Zuständen $\chi_1 = g^-$ (ca. -60°) der L-Asp- und t (ca. 180°) der L-Phe-Seitenkette resultiert, wurde ursprünglich als die in Lösung stabilste angesehen. Siemion und Picur^[21] zweifelten die $\chi_1 = t$ -Präferenz der L-Phe-Seitenkette an, und Temussi et al.^[20] berichteten ebenfalls, daß die in Lösung stabilste Form von Aspartam eine Struktur mit sowohl der L-Asp- als auch der L-Phe-Seitenkette im Zustand $\chi_1 = g^-$ ist. Diese Korrektur basierte auf der Zuordnung der beiden β -Protonen des L-Phe-Rests durch 1H -NMR-Studien an einem Aspartam mit stereospezifisch β -monodeutiertem Phenylalaninrest ((2S,3S)-[3- 2H]Phe). Dennoch nahmen die Autoren weiterhin an, daß die bioaktive Konformation von Aspartam die ursprünglich berichtete gestreckte Struktur sei.

Temussis Modell unterscheidet sich von unserem L-Modell im χ_1 -Wert der Seitenkette des zweiten Rests (L-Phe in Aspartam); er ist in Temussis Modell t (ca. 180°) und in unserem Modell g^- (ca. -60°). Da der L-Phe-Rest von Aspartam nach unseren NMR-Untersuchungen in Lösung beide χ_1 -Zustände annimmt, wobei allerdings der g^- -Zustand dominiert, ist klar, daß das Aspartammolekül sowohl gestreckt als auch L-förmig vorliegen kann (Abb. 11 und Tabelle 5) und daß deshalb Temussis Modell und unser Modell auf der Basis von Aspartam allein nicht beurteilt werden können. Unsere Untersuchungen haben jedoch gezeigt, daß die L-förmige Struktur die einzige für alle süß schmeckenden Analoga zugängliche topochemische Struktur ist und daß für bitter schmeckende und geschmacksneutrale Moleküle keine L-förmige Struktur zugänglich ist (Tabelle 5). Außerdem ist eine gestreckte Struktur, wie sie zum Temussi-Modell paßt, für das süß schmeckende **7** nicht zugänglich, während das bitter schmeckende **4** und das geschmacksneutrale **6** durchaus solche Strukturen aufweisen. Diese Ergebnisse machen die Überlegenheit des L-Modells deutlich.

5.2. Vergleich mit dem van-der-Heijden-Modell

Es wurde gezeigt, daß die Süßkraft einer großen Zahl von Dipeptiden auf L-Aspartylbasis von der Länge und Größe der C-terminalen Amid- oder Estergruppe sowie dem Seitenketten-substituenten des zweiten Rests abhängt^[23]. Basierend auf diesen Erkenntnissen kritisierten van der Heijden et al.^[24] Temussis Modell^[22] und postulierten eine alternative Struktur als bioaktive Konformation von Aspartam, in der sowohl für die L-Asp- als auch für die L-Phe-Seitenkette $\chi_1 = g^-$ (ca. -60°) gilt. Mit Hilfe von Molekülmodellen und dem STERIMOL-Ansatz wurden die Abstände AH-B, AH-X und B-X zu 3,0, 4,5 bzw. 7,3 Å berechnet. Van der Heijden et al. argumentierten, daß diese Struktur besser mit dem Geschmack einer Reihe von Dipeptid-Geschmacksliganden korreliert als die postulierte gestreckte Konformation des Temussi-Modells. Hinsichtlich der Seitenkettenkonformationen der L-Asp- und L-Phe-Reste ist das van-der-Heijden-Modell mit unserem L-Modell in Einklang. Außerdem wurden die AH-B-, AH-X- und B-X-Abstände von Aspartam in unserer angenommenen L-förmigen Anordnung zu 2,9, 5,2 bzw. 7,5 Å berechnet, d. h. sie sind denen des van-der-Heijden-Modells sehr ähnlich. Dies legt nahe, daß die Rückgratkonformationen in beiden Modellen gleich sind, obwohl die

Torsionswinkel, die die Konformation des Rückgrats beschreiben, von van der Heijden et al. nicht angegeben wurden.

5.3. Vergleich mit dem Görbitz-Modell

Als bioaktive Konformation von Aspartam schlug Görbitz^[12b] eine ziemlich kompakte Struktur mit AH-B = 2.9, AH-X = 3.7 und B-X = 5.2 Å vor. Diese Struktur korreliert gut mit dem für süß schmeckende Aminosäuren entwickelten Dreiecksmodell von Kier et al.^[3]. Da die Dipeptid-Geschmacksliganden viel süßer schmecken als die für die Entwicklung des Dreiecksmodells verwendeten Aminosäuren, sind die untersuchten Aminosäuren keine optimale Verbindungsklasse für die Ermittlung der für einen süßen Geschmackseindruck erforderlichen AH-X- und B-X-Abstände. Görbitz' bioaktive Struktur wird durch folgende Winkel beschrieben: $\psi^1 = 82.0$, $\omega^1 = -172.0$, $\chi_1^1 = +60.0$ (g^+) und $\chi_{2,1}^1 = -65.0^\circ$ für den L-Asp-Rest sowie $\phi^2 = -128.0$, $\psi^2 = 166.8$, $\chi_1^2 = -60.0$ (g^-) und $\chi_{2,1}^2 = -85.0^\circ$ für den L-Phe-Rest. Bezüglich der Konformation des L-Phe-Rests stimmen die ϕ^2 - und χ_1^2 -Werte der Görbitz-Struktur mit den nach unserem Modell geforderten Winkeln $\phi^2 = -150^\circ \pm 30^\circ$ und $\chi_1^2 \approx -60^\circ$ (g^-) überein. Dagegen unterscheiden sich die Konformationen des L-Asp-Rests in den beiden Modellen. Der größte Unterschied rührt von der χ_1^1 -Konformation der Seitenkette her: Görbitz' kompakte Struktur liegt bezüglich der L-Asp-Seitenkette im Zustand g^+ (ca. $+60^\circ$) vor, während nach unserem Modell der Zustand g^- (ca. -60°) angenommen wird. Beide χ_1^1 -Zustände liefern ähnliche Abstände der AH- und B-Glucophore im Aspartylteil, die mit den in vielen süß schmeckenden Nichtpeptidmolekülen gefundenen AH-B-Abständen (2.5–4.0 Å) übereinstimmen. Da, wie aus NMR-Untersuchungen (siehe Tabelle 4) hervorging, bei allen Dipeptidanaloga auf Aspartylbasis bezüglich der Aspartylseitenkette der g^- -Zustand in Lösung mit 50–60% (g^+ : 22–25%) dominiert, haben wir den Zustand $\chi_1^1 = g^-$ für den L-Asp-Rest als bioaktive Konformation angenommen. Auch im Festkörper liegen alle untersuchten Geschmacksliganden auf Aspartylbasis, mit Ausnahme des Aspartamhydrochlorids **2**, im g^- -Zustand vor. Es ist unmöglich, anhand der vorhandenen Daten zwischen den Zuständen $\chi_1^1 = g^+$ und g^- als aktiver Form der L-Aspartylseitenkette zu entscheiden. Eine Methode zur Klärung dieser Frage ist die Untersuchung von Stereoisomeren des N-terminalen L-Aspartylrests der Aspartam-ähnlichen Geschmacksliganden.

5.4. Vergleich mit dem Tinti-Nofre-Modell

Tinti, Nofre et al.^[25] wiesen nach, daß die in der Shallenberger-Acree-Hypothese^[1] als B-Gruppen angesehenen COO^- - und NO_2^- (oder CN^-) Gruppen an mehreren spezifischen Wechselwirkungen mit den Geschmacksrezeptoren beteiligt sind und dadurch den süßen Geschmackseindruck erzeugen. Sie postulierten, daß die NO_2^- - oder CN^- -Gruppen eine D-Gruppe, d.h. zusätzlich zu den AH-, B- und X-Glucophoren eine vierte Bindungsstelle sind^[26]. Die Bedeutung dieser vierten Bindungsstelle wurde durch die enorme Süßkraft des N-(4-Cyanphenyl-

carbamoyl)-L-aspartyl-L-phenylalaninmethylesters (14000mal süßer als Saccharose), der als eine Hybridverbindung aus den beiden Süßstoffen 4-Cyanphenylcarbamoyl- β -alanin (450mal süßer als Saccharose)^[27] und Aspartam **1** (200mal süßer als Saccharose)^[6] anzusehen ist, unter Beweis gestellt. Dieses Hybrid enthält die AH-, B-, X- und D-Glucophore innerhalb einer einzigen Struktur. Anhand dieser Befunde schlugen Tinti und Nofre^[28] ein Acht-Bindungsstellen-Modell mit vier Stellen hoher Affinität vor, die als AH (Wasserstoffbrückendonator), B (anionische Gruppe wie COO^-), G (hydrophobe Gruppe, die der X-Gruppe im AH/B/X-Modell entspricht) und D (Wasserstoffbrückenacceptor) bezeichnet werden, sowie vier sekundären Stellen (Y, E_1 , E_2 (Wasserstoffbrückenacceptoren) und XH (Wasserstoffbrückendonator). Die relativen Abstände dieser Bindungsstellen und ihre kartesischen Koordinaten wurden angegeben. Die Autoren beschreiben jedoch nicht, wie sie diese Abstände und Koordinaten bestimmt haben. Nach Tinti und Nofre müssen für einen süßen Geschmackseindruck nicht alle Rezeptorerkennungsstellen gleichzeitig mit dem Geschmacksliganden in Wechselwirkung treten. Eine geringere Zahl von Wechselwirkungen ist für die Geschmacksauslösung oft ausreichend. Die Süßkraft einer Verbindung hängt sowohl von der Zahl der an der Ligand-Rezeptor-Wechselwirkung beteiligten Rezeptorerkennungsstellen als auch von der Effektivität jeder einzelnen Wechselwirkung ab.

Die hier besprochenen Geschmacksliganden auf Peptidbasis (Tabelle 1) enthalten sechs der acht von Tinti und Nofre^[28] postulierten Stellen, nämlich AH (NH_3^+), B (COO^-), G (hydrophobe Gruppe entweder in der Seitenkette des zweiten Rests oder in der C-terminalen Amid- oder Estergruppe), Y (C=O der Amidbindung zwischen Rest 1 und 2), XH (NH der Amidbindung zwischen Rest 1 und 2) und entweder E_1 (C=O des zweiten Rests in Typ-A-Analoga) oder E_2 (C=O des zweiten Rests in Typ-B-Analoga). Von den vier Stellen hoher Affinität fehlt den Peptidderivaten die D-Stelle. Abbildung 20 zeigt einen Vergleich des Tinti-Nofre-Modells mit der aus unseren Studien hervorgegangenen bioaktiven L-förmigen Struktur von Aspartam. Die Übereinstimmung zwischen den beiden Modellen ist bezüglich der relativen Positionen der AH-, B-, G-, Y-, XH- und E_1 -Stellen recht gut.

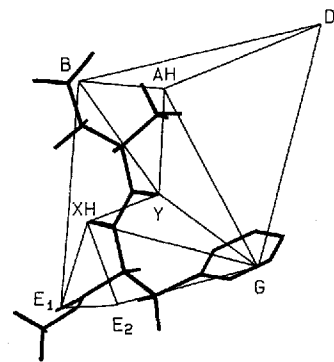


Abb. 20. Überlagerung des Tinti-Nofre-Modells (dünne Linien) mit unserem L-Modell (fette Linien) zur Erklärung des süßen Geschmacks von Aspartam **1**. Zur Definition der Bindungsstellen im Tinti-Nofre-Modell siehe Text.

6. Schlußbemerkungen

Wir haben hier die Ergebnisse umfangreicher Struktur-Aktivitäts-Studien an einer Reihe von Peptidderivaten der Aspartamfamilie vorgestellt. Die Verbindungen lassen sich in zwei Klassen einteilen. Die erste (Typ A) besteht aus Dipeptiden, die die hydro-

phobe Gruppe X als Amid- oder Esterfunktion im C-Terminus aufweisen. In beiden Klassen ist es unmöglich, direkt aus den Strukturen im Kristall auf den Geschmack der Moleküle zu schließen. Da die Konformationen im festen Zustand hauptsächlich durch Packungseffekte und intermolekulare Wechselwirkungen bestimmt sind, können auf dieser Basis allein keine bioaktiven Konformationen identifiziert werden.

Untersuchungen der Moleküle in Lösung mit Hilfe von NMR-Spektroskopie und Computersimulation ermöglichten es uns, ein allgemeines Strukturmodell zur Erklärung des süßen und bitteren Geschmacks dieser Moleküle vorzuschlagen. Für süß schmeckende Moleküle ist eine L-förmige Anordnung erforderlich, in der der zwitterionische Ring des N-terminalen Rests den senkrechten Teil des L und die hydrophobe Gruppe X den waagerechten Teil des L bildet. Die beiden Gruppen sind coplanar. In bitter schmeckenden Molekülen ist der zwitterionische Ring analog angeordnet, aber die hydrophobe Gruppe X weist eine große -z-Koordinate auf. Alle anderen topochemischen Anordnungen führen zu geschmacksneutralen Molekülen. Die in dieser Übersicht präsentierten Ergebnisse zeigen klar, daß allen süß schmeckenden Molekülen, aber auch nur diesen, coplanare, L-förmige Strukturen zugänglich sind.

Unser Modell vereint außerdem viele Merkmale anderer in der Literatur beschriebener Modelle. Durch die Korrelation und den Vergleich der diversen ermittelten Molekülstrukturen konnte jedoch ein Modell entwickelt werden, das die Grenzen der anderen publizierten Strukturuntersuchungen überwinden kann. Wir erweitern unsere Studien derzeit auf andere Peptidmimetica und Nichtpeptidmoleküle, um die Vorhersagekraft unseres Modells zu testen und zu verfeinern.

Wir danken den National Institutes of Health für die finanzielle Unterstützung (DE05476).

Eingegangen am 6. April,
veränderte Fassung am 4. Oktober 1993 [A 939]
Übersetzt von Dr. Anne Pakusch, Ludwigshafen

- [1] R. S. Shallenberger, T. E. Acree, *Nature* **1967**, 216, 480–482.
- [2] E. W. Deutsch, C. Hansch, *Nature* **1966**, 211, 75.
- [3] a) L. B. Kier, *J. Pharm. Sci.* **1972**, 61, 1394–1397; b) H. D. Holtje, L. B. Kier, *ibid.* **1974**, 63, 1722–1725.
- [4] R. S. Shallenberger, M. G. Lindley, *Food Chem.* **1977**, 2, 145–153.
- [5] A. van der Heijden, L. B. D. Brussel, H. G. Peer, *Chem. Senses Flavour* **1979**, 4, 141–152.
- [6] R. H. Mazur, J. M. Schlatter, A. H. Goldkamp, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91, 2684–2694.
- [7] a) M. T. Briggs, J. S. Morley GB-B 1299265 **1972**; b) M. Fujino, M. Wakimatsu, K. Tanaka, H. Aoki, N. Nakajima, *Naturwissenschaften* **1973**, 60, 351.
- [8] T. Ando, M. Ota, T. Kashiwagi, N. Nagashima, Y. Ariyoshi, R. K. Chadha, T. Yamazaki, M. Goodman, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 397–402.
- [9] R. H. Mazur in *Symposium: Sweeteners* (Hrsg.: G. E. Inglett), Avi Publ., Westport, CT USA, **1974**, S. 159.
- [10] Y. Ariyoshi, *Agric. Biol. Chem.* **1976**, 40, 983–992.

- [11] a) M. Goodman, J. Coddington, D. F. Mierke, W. D. Fuller, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 4712–4714; b) E. Benedetti, B. D. Blasio, V. Pavone, C. Pedone, W. D. Fuller, D. F. Mierke, M. Goodman, *ibid.* **1990**, 112, 8909–8912; c) M. Goodman, D. F. Mierke, D. W. Fuller in *Peptide Chemistry 1987* (Hrsg.: T. Shiba, S. Sakakibara), Peptide Research Foundation, Japan, **1988**, S. 699–704; d) R. D. Feinstein, A. Polinski, A. J. Douglas, M. G. F. Beijer, R. K. Chadha, E. Benedetti, M. Goodman, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 3467–3473; e) T. Yamazaki, Y.-F. Zhu, A. Pröbstl, R. K. Chadha, M. Goodman, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 6644–6656; f) Y.-F. Zhu, T. Yamazaki, J. W. Tsang, S. Lok, M. Goodman, *ibid.* **1992**, 57, 1074–1081; g) M. Goodman, T. Yamazaki, Y.-F. Zhu, E. Benedetti, R. K. Chadha, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 428–432; h) T. Yamazaki, Y.-F. Zhu, E. Benedetti, M. Goodman in *Peptide Chemistry 1992* (Proc. 2nd Jpn. Symp. Peptide Chem.) (Hrsg.: N. Yanaihara), Escom, Leiden, **1992**, S. 343–346.
- [12] a) M. Hatada, J. Jancarik, B. Graves, S. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 4279–4282; b) C. H. Görbitz, *Acta Chem. Scand. Ser. B* **1987**, 41, 87–92; c) S. Polinelli, Q. B. Broxterman, H. E. Schoemaker, W. H. J. Boesten, M. Crisma, G. Valle, C. Toniolo, J. Kamphuis, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, 2, 453–456. d) Die Details der Konformationsstudien an 4 mit Hilfe von Röntgenkristallographie, NMR-Spektroskopie und Computersimulationen werden an anderer Stelle berichtet. e) Die Details der Konformationsstudien an 10 mit Hilfe von Röntgenkristallographie, NMR-Spektroskopie und Computersimulationen werden an anderer Stelle berichtet. f) C. Mapelli, M. G. Newton, C. E. Ringold, C. H. Stammer, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1987**, 30, 498–510.
- [13] E. Benedetti, *Chem. Biochem. Amino Acids Pept. Proteins* **1982**, 6, 105–184.
- [14] a) C. Toniolo, E. Benedetti, *ISI Atlas Sci. Biochem.* **1988**, 1, 225–230; b) A. Santini, V. Barone, A. Basso, E. Benedetti, B. Di Blasio, F. Fraternali, F. Lelj, V. Padone, C. Pedone, M. Crisma, G. M. Bonora, C. Toniolo, *Int. J. Biol. Macromol.* **1988**, 10, 292–299; c) V. Padone, E. Benedetti, V. Barone, B. Di Blasio, F. Lelj, C. Pedone, A. Santini, M. Crisma, G. M. Bonora, C. Toniolo, *Macromolecules* **1988**, 21, 2064–2070.
- [15] a) A. Bax, D. G. I. Davis, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 2820–2821; b) A. A. Bothner-By, R. L. Stephens, I. Lee, C. D. Warren, R. W. Jeanloz, *ibid.* **1984**, 106, 811–813; c) A. Bax, D. G. I. Davis, *J. Magn. Reson.* **1985**, 65, 355–360; d) G. Bodenhausen, R. L. Vold, R. R. Vold, *ibid.* **1980**, 37, 93–106.
- [16] a) B. R. Brooks, R. E. Bruccoleri, B. D. Olafson, D. J. States, S. Swaminathan, M. Karplus, *J. Comput. Chem.* **1983**, 4, 187–217; b) L. Nilsson, M. Karplus, *ibid.* **1986**, 7, 591–616.
- [17] A. T. Hagler, *Peptides NY* **1985**, 7, 214–296.
- [18] E. W. Taylor, S. Wilson, C. H. Stammer in *Sweeteners: Discovery, Molecular Design, and Chemoreception* (Hrsg.: D. E. Walters, F. T. Orthoefer, G. E. Dubois), American Chemical Society, Washington, DC, **1991**, S. 162–175.
- [19] W. D. Fuller, M. Goodman, M. S. Verlander, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 5821–5822.
- [20] M. A. Castiglione Morelli, F. Lelj, F. Naider, M. Tallon, T. Tancredi, P. A. Temussi, *J. Med. Chem.* **1990**, 33, 514–520.
- [21] I. Z. Siemion, B. Picur, *Pol. J. Chem.* **1984**, 58, 475.
- [22] a) F. Lelj, T. Tancredi, P. A. Temussi, C. Toniolo, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 6669–6675; b) P. A. Temussi, F. Lelj, T. Tancredi, *J. Med. Chem.* **1978**, 21, 1154–1158; c) P. A. Temussi, F. Lelj, T. Tancredi, M. A. Castiglione Morelli, A. Pastore, *Int. J. Quantum Chem.* **1984**, 26, 889–906.
- [23] a) R. H. Mazur, J. A. Reuter, K. A. Swiatek, J. M. Schlatter, *J. Med. Chem.* **1973**, 16, 1284–1287; b) L. B. P. Brussel, H. G. Peer, A. van der Heijden, Z. Lebensm. Unters. Forsch. **1975**, 159, 337–343; c) G.-Z. Zeng, J.-T. Chen, H.-Z. He, Z.-Q. Wang, J.-S. Yan, *J. Agric. Food Chem.* **1991**, 39, 782–785.
- [24] a) A. van der Heijden, L. B. P. Brussel, H. G. Peer, *Food Chem.* **1978**, 3, 207–211; b) siehe Lit. [5].
- [25] a) J.-M. Tinti, D. Durozard, C. Nofre, *Naturwissenschaften* **1980**, 67, 193; b) J.-M. Tinti, C. Nofre, D. Durozard, *ibid.* **1981**, 68, 143.
- [26] J.-M. Tinti, C. Nofre, A. M. Peytavi, Z. Lebensm. Unters. Forsch. **1982**, 175, 266.
- [27] C. Nofre, J.-M. Tinti, EP-B 0 107 597, **1983**.
- [28] J.-M. Tinti, C. Nofre in *Sweeteners: Discovery, Molecular Design, and Chemoreception* (Hrsg.: D. E. Walters, F. T. Orthoefer, G. F. Dubois), American Chemical Society, Washington, DC, **1991**, S. 206–213.