

Beiträge zur Synthese von reaktiven Derivaten der Peptidhormone

Synthese und Eigenschaften von Maleimidosauren
und Maleoylpeptiden

Doctoral Thesis

Author(s):

Keller, Oskar

Publication date:

1974

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000085320>

Rights / license:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

Diss. Nr. 5325 A

BEITRAEGE ZUR SYNTHESE VON REAKTIVEN DERIVATEN DER PEPTIDHORMONE:
(1) SYNTHESE VON "CARBA"-ANALOGEN DES OXYTOCINS UND (2) SYNTHESE
UND EIGENSCHAFTEN VON MALEIMIDOSAEUREN UND MALEOYLPEPTIDEN.

A B H A N D L U N G

zur Erlangung
des Titels eines Doktors der Naturwissenschaften
der
E I D G E N O E S S I S C H E N T E C H N I S C H E N
H O C H S C H U L E Z U E R I C H

vorgelegt von

O S K A R K E L L E R

Dipl. Natw. ETH

geboren am 8. Juni 1946

von Diepoldsau (Kt. St. Gallen)



Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. J. Rudinger, Referent

PD Dr. H. Gerlach, Korreferent

4. ZUSAMMENFASSUNG

Als Beitrag zur Synthese von potentiellen Inhibitoren von Peptidhormonen wurde

1. die Verwendung der Maleimidgruppe als reaktive Gruppe bearbeitet und
2. das Peptidhormon im Falle des Oxytocins durch Substitution der Disulfidbrücke stabilisiert.

Die Einführung der Maleimidgruppe in Peptide und Aminosäuren konnte unter racemisierungsfreien Bedingungen in wässriger Lösung mit den N-Alkoxy-maleimiden 35a und 35b erfolgen. Ueber die so erhältlichen Maleimidocarbonsäuren ergab sich eine weitere Möglichkeit, die reaktive Gruppe in Peptide einzuführen, entweder über die entsprechenden Aktivester oder durch DCCI-Kupplung an freie Aminogruppen des Peptids. Freie Carboxylgruppen in Peptiden konnten für die Einführung der Maleimidgruppe durch DCCI-Kupplung mit dem 6-Maleimidocapronsäurehydrazid (41e) ausgenützt werden.

Es wurden zwei Tripeptide (42 und 46) synthetisiert und zwar als Präkursoren für maleimidhaltige Neurohypophysenhormone. Diese können z.B. für Versuche der Rezeptormarkierung, der Inhibition oder der Affinitätschromatographie (durch Bindung an thiolhaltige Träger) eingesetzt werden.

Von den maleimidhaltigen Angiotensin II-derivaten wurde das Mal= β Ala-[(Asn¹, Val⁵)Angiotensin II] biologisch getestet. Das Derivat zeigte angiotensinähnliche Wirkung, aber keine Inhibitoreigenschaften.

Die Reaktion von Thiolgruppen mit der Doppelbindung des Maleimids wurde aber auch dazu genützt, einmal die Mercaptoäthylsulfonsäure als Elektrophoresemarker in Maleimidoderivate einzuführen und auch als analytische Methode zur Detektion von Maleimidderivaten auf Dünnschicht/(Silikagel)- und Elektrophoreseplatten (Cellulose).

Als weitere Anwendungsmöglichkeit wurde ein Maleimidharz hergestellt, welches Mercaptane kovalent binden kann.

Mit den Eigenschaften der Verträglichkeit gegenüber verschiedenen Kupplungsmethoden, der milden Einführung in Aminosäuren und der Abspaltungsmöglichkeit durch Hydrolyse (pH 9-10) mit anschliessender Acidolyse (pH 2-3) kann die

Maleoylgruppe (Mal) als Alternative zur bekannten Phthaloylschutzgruppe (Pht) betrachtet werden.

Während für die Synthese des l-Carba-oxytocins (Id) das selektiv geschützte Cystathioninderivat 10a als Schlüsselsubstanz bereits bekannt war, musste für die Herstellung des 1,6-Dicarba-oxytocins (Ie) das entsprechende Diaminokorksäurederivat synthetisiert werden.

Ausgehend von den Aminosäuren Glu resp. Gln wurden die α -Esterderivate der Glutaminsäure, nämlich Tos-Glu-OBu^t und Tos-Glu-OPrⁱ resp. Pht=Glu-OMe in 100 g-Massstab hergestellt. Dies waren die Ausgangsmaterialien für die Kolbe-Elektrolyse, welche im 70 g-Massstab durchgeführt wurde, wobei man die α' , α -LL-Diaminokorksäure in Ausbeuten um 18% erhielt (bisher 20-25% im 1 g-Massstab).

Der selektive Schutz gelang durch stochastische Aminoacylierung zum einfach α' -geschützten Dsu-Derivat 9 als Hauptprodukt. Den selektiven Carboxylschutz erreichte man in α' -Position durch Veresterung mit 0,4N HCl/MeOH und in α -Position durch selektive Hydrolyse des Dimethylesters in Anwesenheit der Tri-tylgruppe.

Die beiden Carba-oxytocin-derivate Id und Ie wurden durch Fragmentkupplung mit anschliessender Zyklisierung unter hoher Verdünnung in Pyridin (Aktiv-estermethode) hergestellt.

Das l-Carba-oxytocin (Id) zeigte eine uterotonische Aktivität von 368 I.U./mg, das 1,6-Dicarba-oxytocin (Ie) von 5,4 I.U./mg. Mit zunehmendem Substitutionsgrad in der Disulfidbrücke konnte ein Abfall in der Geschwindigkeit der Muskelrelaxation am isolierten Rattenuterus im Oelbadversuch festgestellt werden. Die metabolische Stabilität steigt in der Reihenfolge: Oxytocin<Id<Ie.

Ausgehend vom bekannten, selektiv geschützten Cystathionin 10a wurden zwei "Seco"-analoge des l-Carba-oxytocins hergestellt. Die beiden linearen Peptide zeigten schwache uterotonische Aktivität.