



Doctoral Thesis

Untersuchungen über die Bedeutung der Histidinreste für die biologische Aktivität von Insulin

Author(s):

Bosshard, Hans Rudolf

Publication Date:

1971

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000194143> →

Rights / License:

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

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

**Untersuchungen über die Bedeutung
der Histidinreste für die
biologische Aktivität von Insulin**

ABHANDLUNG
ZUR ERLANGUNG DER WÜRDE EINES
DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN
DER
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

VORGELEGT VON
HANS RUDOLF BOSSHARD
DIPL. NATURWISSENSCHAFTER ETH
GEBOREN AM 27. APRIL 1942
VON WILA, KANTON ZÜRICH

ANGENOMMEN AUF ANTRAG VON
PROF. DR. R. SCHWYZER, REFERENT
PROF. DR. R. E. HUMBEL, KORREFERENT

1971 ZÜRICH
ZENTRALSTELLE DER STUDENTENSCHAFT

IV. ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wurde gezeigt, dass Acrylnitril nicht nur mit den α - und ϵ -Aminogruppen, sondern auch mit den Imidazolylseitenketten der Histidinreste in Rinderinsulin reagiert.
2. Zur Herstellung und Analyse von cyanoäthylierten Insulinderivaten wurden experimentelle Methoden ausgearbeitet.
3. Cyanoäthyliertes Insulin besteht aus einem Gemisch verschiedener Komponenten, die chromatographisch nur teilweise aufgetrennt werden konnten. Es gelang nicht, ein molekular einheitliches Insulinderivat zu isolieren.
4. Die Verteilung der Cyanoäthylgruppen auf Histidin^{B5} und Histidin^{B10} wurde durch Aminosäurenanalyse der isolierten B-Kettenpeptide Phe¹-Cys(Aet)⁷ und Gly⁸-Cys(Aet)¹⁹ bestimmt. Der Gehalt an cyanoäthyliertem Histidin^{B5} war etwa 3 mal grösser als derjenige an blockiertem Histidin^{B10}.
5. Die biologische Aktivität cyanoäthylierter Insulinderivate schwankte je nach dem Grad der Cyanoäthylierung zwischen 50% und 20% des Wertes für natives Rinderinsulin. Immunologisch verhielt sich ein cyanoäthyliertes Insulinderivat, dessen Histidinreste zu 50% blockiert worden waren, ähnlich wie natives Rinderinsulin.
6. Ein Zusammenhang zwischen der Blockierung der Histidinreste und dem Abfall der biologischen Aktivität wurde diskutiert. Die biologische Aktivität schien vor allem durch Cyanoäthylierung von Histidin^{B5} erniedrigt zu werden.
7. Im Hinblick auf die chemische Synthese von B-Kettenanalogen mit β -(1-Pyrazolyl)alaninresten anstelle der Histidinreste wurden die geschützten Fragmente aus dem N-terminalen Sequenzbereich 1 bis 11 N-tert. Butyloxycarbonyl-phenylalanyl-valyl-asparaginyll-glutaminyl- β -(1-pyrazolyl)alanyl-leucyl-S-benzhydrylcysteyll-glycin-äthylester und N-2-(p-Biphenyl)-2-propyloxycarbonyl-O-tert. butylseryl- β -(1-pyrazolyl)alanyl-leucin-hydrazid aufgebaut.

8. Für eine Neusynthese der Rinderinsulin B-Kette wurden folgende geschützten Fragmente aus den Sequenzbereichen 1 bis 11 und 17 bis 20 hergestellt: N-tert. Butyloxycarbonyl-phenylalanyl-valyl-asparaginyll-glutaminyll-N^{Im}-tritylhistidyl-leucyl-S-benzhydrylcysteyll-glycin-hydrazid, N-2-(p-Biphenylyl)-2-propyloxycarbonyll-0-tert. butylseryll-N^{Im}-tritylhistidyl-leucin-hydrazid und N-2-(p-Biphenylyl)-2-propyloxycarbonyll-leucyl-valyl-S-benzhydrylcysteyll-glycin als Dicyclohexylammoniumsalz.