



Doctoral Thesis

Reduktion und reversibler Schutz der Schwefelfunktionen im Insulin ein Beitrag zur Methodik der Partialsynthese von Proteinen

Author(s):

Rüegg, Urs Theodor

Publication Date:

1974

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000294247> →

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](#).

**REDUKTION UND REVERSIBLER SCHUTZ DER
SCHWEFELFUNKTIONEN IM INSULIN:
EIN BEITRAG ZUR METHODIK DER PARTIALSYNTHESE
VON PROTEINEN**

ABHANDLUNG

zur Erlangung

des Titels eines Doktors der Naturwissenschaften

der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN

HOCHSCHULE ZÜRICH

vorgelegt von

URS TH. RÜEGG

Dipl. Naturwissenschaftler ETH

geboren am 17. September 1946

von Zürich

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. J. Rudinger, Referent

Prof. Dr. R. E. Humbel, Korreferent

aku-Fotodruck

Zürich

1974

ZUSAMMENFASSUNG

- 1) Anhand von Insulin und Serumalbumin wurde gezeigt, dass Tributylphosphin [102,103] Disulfide in Proteinen quantitativ und stöchiometrisch reduziert. In Kombination mit verschiedenen Alkylierungsmitteln wurde ein einfacher Weg zur Darstellung S-alkylierter Proteine in hohen Ausbeuten gefunden.

Eine selektive Reduktion einer Disulfidbindung in Insulin war mit Tributylphosphin unter den gewählten Bedingungen nicht möglich.

Tributylphosphin reduziert auch Bunesalze (S-Sulfonate). Dies ermöglichte eine vereinfachte Methodik zur Insulinketten-Rekombination.

- 2) Die S-4-Picolylgruppe [72,73] erwies sich für Sulfhydrylschutz in der Partialsynthese geeignet: Sie liess sich unter milden Bedingungen in reduzierte Insulinketten einführen; diese waren chemisch stabil und hatten gute Löslichkeitseigenschaften. Durch Elektrolyse konnten die Schutzgruppen quantitativ abgespalten werden. Die regenerierten Sulfhydrylketten wurden in die S-Sulfo-Ketten übergeführt. Letztere wurden gereinigt und die A- und B-Ketten miteinander rekombiniert. Insulin wurde in hoher Ausbeute gewonnen. Nichts deutete darauf hin, dass Einführung oder Abspaltung der Gruppen zu Schädigung des Restmoleküls geführt hätte.

- 3) Die Reaktion von 1.3-Propansulton mit Nucleophilen wurde untersucht; folgende Reaktivitätsreihe wurde gefunden: $R-S^- \gg R-NH_2 \approx OH^-$

Durch Reaktion von 1.3-Propansulton mit sulfhydrylhaltigen Proteinen (reduzierte Insulinketten, reduziertes Serumalbumin) wurden S-sulfo-propylierte Proteine hergestellt. Aufgrund der günstigen Löslichkeitseigenschaften der Produkte dürfte diese Methode für die Proteinchemie von Interesse sein.

Auch ω -Toluolsulton reagiert mit Sulfhydrylen: S-2-sulfobenzylierte Insulinketten konnten hergestellt werden. Analog der S-Benzylgruppe konnte auch die S-2-Sulfobenzylgruppe mit Natrium in flüssigem Ammoniak abge-

spalten werden. Derart regenerierte Insulin-A-Kette wurde mit B-Kette, die durch Sulfitolyse von Insulin direkt gewonnen wurde, rekombiniert. In relativ hoher Ausbeute konnte Insulin isoliert werden. Insulin, das durch Abspaltung der S-2-Sulfobenzylgruppen von B-Kette und anschließende Rekombination mit "nativer" A-Kette isoliert wurde, war uneinheitlich und zeigte eine stark verminderte biologische Aktivität.

Mit der S-2-Sulfobenzylgruppe wurde eine neue Schwefelschutzgruppe, die sich in beschränkter Masse für Partialsynthese von Proteinen eignen dürfte, gefunden.

- 4) Die bereits bekannte S-Acetamidomethylgruppe [70] wurde auf ihre Brauchbarkeit für Partialsynthese untersucht und für nur bedingt tauglich befunden: Bei ihrer Einführung kommt es als Nebenreaktion zu Alkylierung des Aromaten von Tyrosin. Die nach saurer Hydrolyse anfallenden Produkte, 3-Aminomethyltyrosin und 3,5-Di-(aminomethyl)tyrosin, wurden isoliert und charakterisiert.