

SYNTHESE DES SCHWEINE-PROINSULIN-(28-34)-HEPTAPEPTIDES

MIT ARGININ-U-<sup>14</sup>C IN POSITION 31

K. Neubert und H.-D. Jakubke

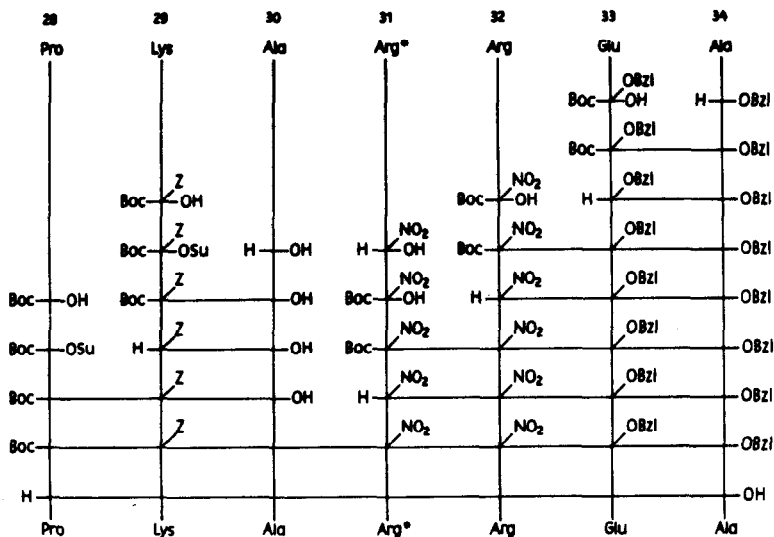
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Sektion Biowissenschaften

Wissenschaftsbereich Biochemie, 402 Halle/S., D D R

(Received in Germany 18 March 1974; received in UK for publication 29 April 1974)

Kürzere radioaktiv markierte Teilsequenzen aus den Übergangsbereichen zwischen B- und C-Kette bzw. C- und A-Kette des Proinsulins stellen einfache Modellssubstrate für enzymatische Studien der Insulinfreisetzung dar.

Für das von uns ausgewählte Proinsulinfragment 28 - 34 mit der Sequenz Pro-Lys-Ala-Arg-Arg-Glu-Ala wurden bereits drei unterschiedliche Synthesekonzeptionen ( 1 ) experimentell überprüft, die aber den Anforderungen einer Synthese mit markiertem Material nicht genügten. Die nachfolgend realisierte strategische Variante basiert auf einer 3 + 4 -Verknüpfung:



Dieser Syntheseweg erlaubt einmal Variationen bei der kritischen Knüpfung der Arg-Arg-Bindung und reduziert andererseits die Zahl der Reaktionsschritte nach dem Einbau des  $^{14}\text{C}$ -markierten Arginins auf ein vertretbares Maß.

Das N-terminale Tripeptid wurde schrittweise nach dem N-Hydroxysuccinimid-ester-Verfahren unter Einsatz der Salze der entsprechenden Aminosäuren ( 2 ) in 98- bzw. 92-proz. Ausbeute aufgebaut. Für die Synthese des C-terminalen Fragmentes fand bis zur Tripeptidstufe die Mischanhydrid-Methode ( 3 ) Verwendung ( Ausb. 90.5 bzw. 67 % ), während der zweite Argininrest mit DCC/1-Hydroxybenzotriazol ( Ausb. 71 % ) nach Geiger und König ( 4 ) angeknüpft wurde. Obgleich orientierende Versuche mit inaktivem Material, über die an anderer Stelle berichtet werden soll, z. B. mit dem Pentafluorphenylester höhere Ausbeuten ergaben, wurde diese Variante wegen der Einsparung eines Reaktionsschrittes mit markiertem Arginin vorgezogen.

Die Vereinigung der beiden Fragmente gelang in 65-proz. Ausbeute nach dem Geiger-König-Verfahren in Dimethylformamid ( Reaktionszeit 2 Stdn. bei  $-2^{\circ}\text{C}$ , 5 Stdn. bei Raumtemperatur ). Vom vollgeschütztem Heptapeptid ( F. 192 -  $193.5^{\circ}\text{C}$  ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{21} - 32^{\circ} \text{ c} = 1$  in DMF ) wurden mit Fluorwasserstoff/Trifluoressigsäure in Gegenwart von Anisol in einem Schritt sämtliche Schutzgruppen abgespalten (  $[\alpha]_{\text{D}}^{21} - 41.7^{\circ} \text{ c} = 0.5$  in n Essigsäure ). Nach Dansylierung und dünnschichtchromatographischer Trennung waren zwei geringfügige Verunreinigungen nachweisbar. Die Aminosäureanalyse ergab mit der Theorie gut übereinstimmende Werte ( Pro 1.0, Lys 1.05, Ala 2.0, Arg 1.9, Glu 1.05 ).

Die ermittelte spezifische Radioaktivität des Syntheseendproduktes von  $48 \mu\text{Ci/mMol}$  erwies sich für die beabsichtigten enzymatischen Untersuchungen als ausreichend.

#### Literatur

- (1) K. Neubert und H.-D. Jakubke, Peptides 1972 ( eds. H. Hanson and H.-D. Jakubke ), North-Holland Publ. Comp., Amsterdam (1973), 235
- (2) E. Wünsch, G. Schönsteiner-Altman und E. Jaeger, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 352, 1424 ( 1971 )
- (3) J. R. Vaughan jr., J. Amer. chem. Soc. 73, 3547 (1951)
- (4) W. König und R. Geiger, Chem. Ber. 103, 788 (1970)