

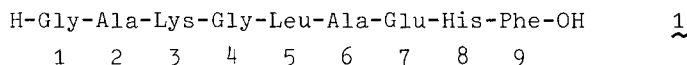
SYNTHESE DER PARTIELL GESCHÜTZTEN GLN⁷-ANALOGA ZWEIER BAKTERIOSTATISCH
 WIRKENDER NONAPEPTIDE AUS DEM ABWEHRSEKRET DER EUROPÄISCHEN UNKE¹

K. Friedel , G. Jonissek, A. Bauer und M. Rimpler

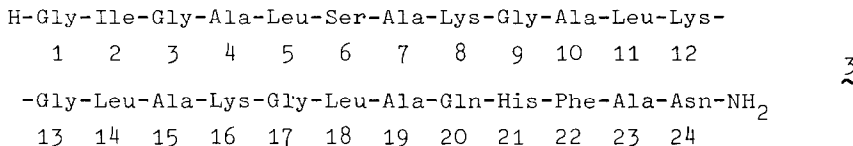
Institut für Klinische Biochemie und Physiologische Chemie
 der Medizinischen Hochschule Hannover, Abteilung Medizinische Chemie
 Postfach 610180, D-3000 Hannover 61

Die Synthese der partiell geschützten Gln⁷-Analoga zweier bakteriostatisch wirkender Nonapeptide aus dem Abwehrsekret der Europäischen Unke, die in der Primärstruktur große Ähnlichkeit mit Bombinin aufweisen, wird beschrieben.

Csordás und Michl²⁾ berichten von der Isolierung und Ermittlung der Primärstruktur zweier bakteriostatisch wirkender Nonapeptide 1 und 2, die im Abwehrsekret der Haut der Europäischen Unke (*Bombina variegata*) auftreten. 2 enthält im Unterschied zu 1 N-terminal Serin, ist aber sonst mit 1 identisch.

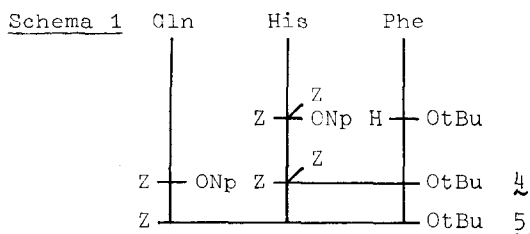


Beide Peptide zeigen auffallende Ähnlichkeit in der Aminosäuresequenz mit Bombinin (3), einem strukturell interessanten Tetracosapeptid³⁾ gleicher Herkunft, das oberflächenaktive neben hämolytischer Wirkung besitzt.



Bis auf Glutaminsäure, die im Bombinin als Amid auftritt, stimmen die Sequenzen 2-9 der beiden Nonapeptide 1 und 2 mit der Sequenz 15-22 des Bombinins überein. Da dieser Sequenz vermutlich besondere biologische Bedeutung zukommt, haben wir die geschützten Gln⁷-Analoga von 1 und 2 synthetisiert, um nach Abspaltung der Schutzgruppen die biologische Wirkung untersuchen zu können.

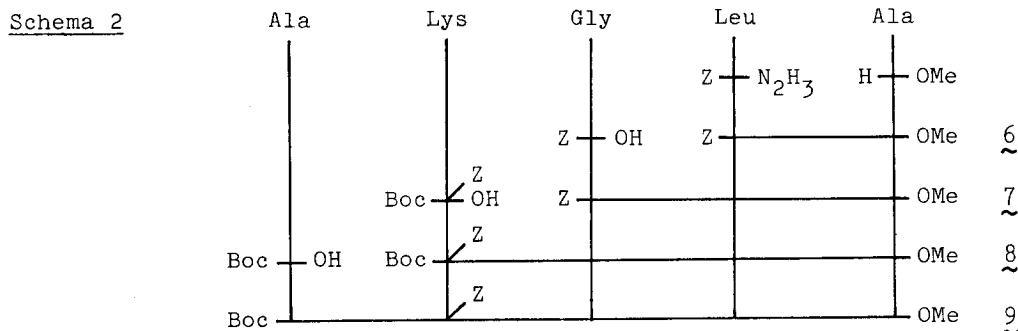
Die Synthese erfolgte nach der Methode der Fragmentkondensation, wozu in flüssig-homogener Phase zunächst das Fragment 5 (Schema 1) erhalten wurde.



Abkürzungen:

- Boc = tert.-Butyloxycarbonyl-
- Bzl = Benzyl-
- ONp = p-Nitrophenylester
- OtBu = tert.-Butylester
- Z = Benzyloxycarbonyl-

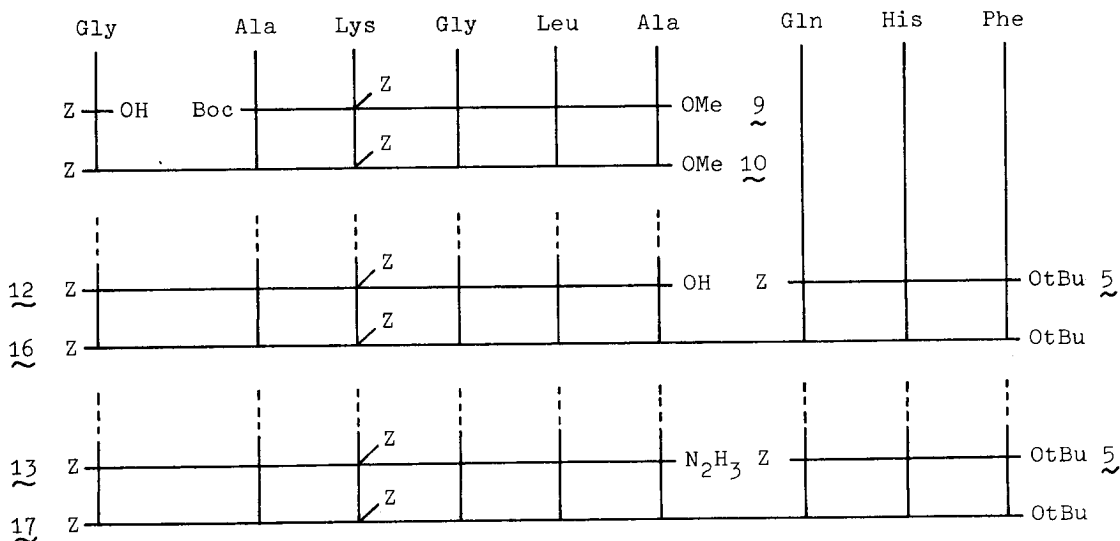
In Analogie zu der bereits beschriebenen Darstellung⁴⁾ der Partialsequenz 12-19 des Bombinins wurde dann der geschützte Tetrapeptidester 8 und daraus der geschützte Pentapeptidester 9 synthetisiert (Schema 2).



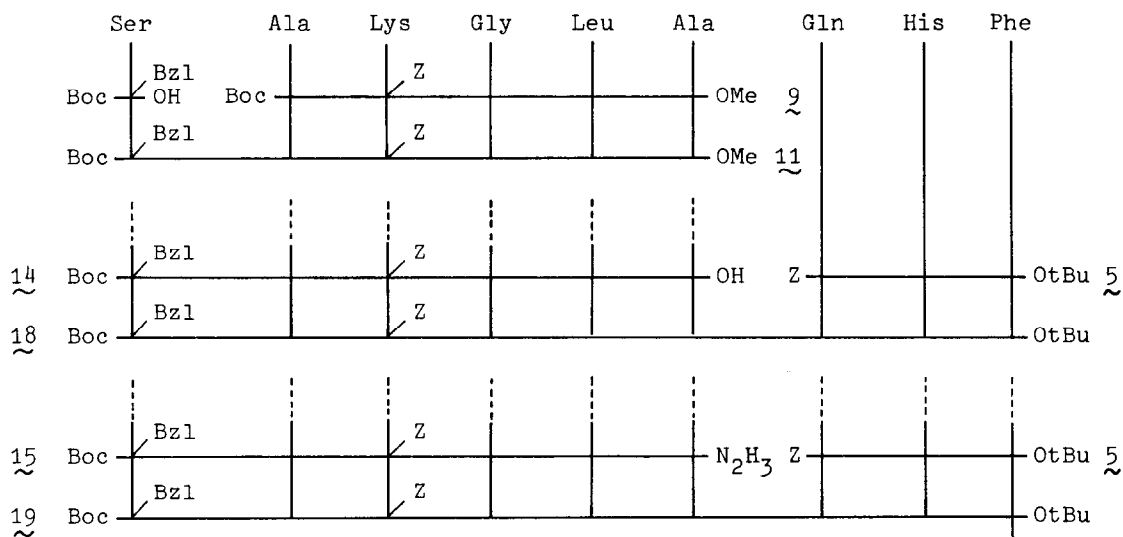
Aus 9 wurde in Anlehnung an die ebenfalls beschriebene Synthese⁵⁾ der Partialsequenz 6-19 des Bombinins der geschützte Hexapeptidester 10 mit N-terminalem Glycin (Schema 3) und daneben der geschützte Hexapeptidester 11 mit N-terminalem Serin (Schema 4) dargestellt. Beide Fragmente 10 und 11 wurden schließlich einerseits durch Verseifung in die Carboxylderivate 12 und 14 und andererseits durch Hydrazinolyse in die Carbonsäurehydrazide 13 und 15 übergeführt.

Damit lagen kupplungsfähige Fragmente vor, die mit dem C-terminalen Fragment 5 nach hydrogenolytischer Abspaltung der Schutzgruppe zu den Endprodukten kondensiert werden konnten. Über die Carbodiimid-Methode^{6,7)} haben wir so die geschützten Nonapeptide 16 und 18 und analog dazu über die Azid-Methode in ebenfalls nichtwässrigem Medium⁸⁾ die geschützten Nonapeptide 17 und 19 erhalten (Schemata 3 und 4).

Schema 3



Schema 4



Die Aminosäurenanalyse der Endprodukte 16, 17, 18 und 19 nach Hydrolyse in 6 N HCl ergab Werte, die im Rahmen der Genauigkeit der Analysenmethode gute Übereinstimmung mit der Theorie zeigen (Tab. 1).

Tabelle 1

Aminosäurenanalyse der geschützten Peptide 16, 17, 18 und 19 (Gln⁷-Analoge)

geschütztes Peptid	Ser	Gly	Ala	Leu	Lys	Glu	His	Phe	NH ₃
<u>16</u>	-	2.02	2.00	1.07	0.93	0.95	0.81	0.99	1.13
<u>17</u>	-	1.93	2.00	0.99	1.15	0.85	1.04	1.00	1.05
berechnet	-	2.00	2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
<u>18</u>	0.85	0.96	2.00	1.07	1.17	0.83	1.02	1.08	1.44
<u>19</u>	0.99	0.99	2.00	1.13	1.15	0.83	0.97	1.00	1.17
berechnet	1.00	1.00	2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Auch die (hier nicht angegebenen) Ergebnisse der Elementaranalyse der Zwischen- und Endprodukte entsprechen den berechneten Werten. Ausbeute, Schmelzpunkte und optisches Drehungsvermögen sind in Tab. 2 zusammengefaßt. Die ungünstige Ausbeute von 4 konnte auch durch Kupplung nach der Carbodiimid-Methode nicht gesteigert werden.

Tabelle 2

geschütztes Peptid	Ausbeute %	Schmelzpunkt °C	Optisches Drehungsvermögen $[\alpha]_{539}^{20}$ (c = 1 in DMF)
<u>4</u>	40	112-113	- 3.5°
<u>5</u>	84	162-164	-16.9°
<u>6</u>	85	97-98	-42.1° ^{b)}
<u>7</u>	80	105	-42.5° ^{b)}
<u>8</u>	75	139-140	-24.3°
<u>9</u>	74	194	-25.6°
<u>10</u>	77	195	-24.5°
<u>11</u>	75	192	-14.1°
<u>12</u>	92	165-167 ^{a)}	-21.6°
<u>13</u>	83	220-222	-20.2°
<u>14</u>	90	165-167 ^{a)}	-11.2°
<u>15</u>	93	235-236	-10.9°
<u>16</u>	78	238-240 ^{a)}	-19.6°
<u>17</u>	76	240-245 ^{a)}	-19.6°
<u>18</u>	75	230-235 ^{a)}	-15.6°
<u>19</u>	70	230-235 ^{a)}	-14.8°

a) unter Zersetzung

b) c = 1 in MeOH

Neben den genannten Daten gibt auch die dünnschichtchromatographische Kontrolle den Hinweis, daß die gewünschten Nonapeptide 16 und 17 mit N-terminalem Glycin einerseits sowie 18 und 19 mit N-terminalem Serin andererseits als identisch anzusehen sind. Damit haben im letzten Kupplungsschritt zwei verschiedene Methoden zum gleichen Ergebnis geführt. Nach acidolytischer und hydrogenolytischer Abspaltung der Schutzgruppen soll ihre biologische Wirkung untersucht und mit der Wirkung des Bombinins verglichen werden.

Literatur

- 1) Vorläufige Mitteilung
- 2) A. Csordás und Michl, Toxicon 7, 103 (1969)
- 3) A. Csordás und Michl, Monatsh. Chem. 101, 182 (1970)
- 4) K. Friedel, G. Jonissek und M. Rimpler, Liebigs Ann. Chem. 1978, 1187
- 5) K. Friedel, A. Bauer und M. Rimpler, Liebigs Ann. Chem. 1978, 1835
- 6) W. König und R. Geiger, Chem. Ber. 103, 788 (1970)
- 7) W. König und R. Geiger, Chem. Ber. 106, 3626 (1973)
- 8) J. Honzl und J. Rudinger, Collect. Czech. Chem. Commun. 26, 2333 (1961)

(Received in Germany 16 February 1979)