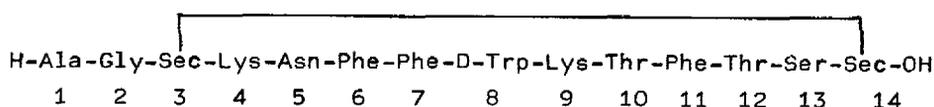


## SYNTHESE VON [3,14-L-SELENOCYSTEIN, 8-D-TRYPTOPHAN] SOMATOSTATIN

B. Hartrodt, K. Neubert<sup>a)</sup>, B. Bierwolf, W. Blech<sup>b)</sup> und H.-D. Jakubke<sup>c)</sup>  
Sektion Biowissenschaften<sup>a)</sup> und Physiologisch-chemisches Institut<sup>b)</sup> der  
Martin-Luther-Universität, 402 Halle/S.; Sektion Biowissenschaften der  
Karl-Marx-Universität, Bereich Biochemie<sup>c)</sup>, 701 Leipzig, D D R

Die konventionelle Synthese von [3,14-L-Selenocystein, 8-D-Tryptophan]-  
Somatostatin wird beschrieben. Das Diseleno-Somatostatin-Analogon hemmt  
ähnlich wie das native Peptidhormon die Insulin- und Glukagonssekretion.

Im Rahmen von Struktur-Aktivitäts-Studien konnte der Nachweis erbracht werden,  
daß sowohl cysteinfreie Somatostatin-Analoga mit Di-Carba- oder Peptidbindun-  
gen zwischen den Aminosäureresten 3 und 14 als auch kürzerkettige nichtredu-  
zierbare Cyclopeptide eine hohe biologische Aktivität zeigen<sup>1</sup>. Trotz des da-  
mit bestätigten nichtessentiellen Charakters der beiden Cysteine entschlossen  
wir uns, aus vorrangig synthetischen Erwägungen und in Anlehnung an entspre-  
chende Untersuchungen am Oxytocin<sup>2</sup> den noch nicht bekannten Einfluß der Sub-  
stitution der beiden Cysteinbausteine durch L-Selenocystein am Beispiel des  
Analogons [Sec<sup>3,14</sup>, D-Trp<sup>8</sup>]Somatostatin<sup>3</sup> zu studieren:



Die zusätzliche Modifikation in Position 8 führten wir unter Berücksichtigung  
der beschriebenen erhöhten biologischen Aktivität des [D-Trp<sup>8</sup>]Somatostatins<sup>4</sup>  
im Vergleich zum natürlichen Hormon durch.

Zur Darstellung des Diseleno-[D-Trp<sup>8</sup>]Somatostatins diente eine bereits für  
die Synthese des Somatostatins und entsprechender Analoga bewährte Variante<sup>5</sup>,  
die auf einer (6 + 8)-Segmentkondensation basiert (Abb.). Mit dem von  
Theodoropoulos et al.<sup>6</sup> beschriebenen tert.-Butyloxycarbonyl-Se-benzyl-L-seleno-  
cystein-4-nitrobenzylester wurde ein für diese Strategie geeignetes Seleno-  
cystein-Derivat ausgewählt. Durch Behandlung dieses Esters mit Hydrazin-Hydrat

konnte das Boc-Sec(Bzl)-NH-NH<sub>2</sub> in 83-proz. Ausbeute erhalten werden<sup>7</sup>:  
 Fp. 130 - 132°C;  $[\alpha]_D^{20} - 6.7^\circ$  (c = 1, DMF). Das geschützte Hydrazid diente als  
 Carboxykomponente für die Synthese von Boc-Sec(Bzl)-Lys[Z(oCl)]-Asn-Phe-OMe.  
 Andererseits wurde nach Entacylierung der genannten Schlüsselverbindung der  
 resultierende H-Sec(Bzl)-ONB für den Aufbau des C-terminalen Octapeptidseg-  
 mentes verwendet. Die Deblockierung gelang sowohl mit HCl/Eisessig als auch  
 mit HCl/Dioxan und lieferte das entsprechende kristalline Hydrochlorid in  
 91-proz. Ausbeute<sup>7</sup>: Fp. 87 - 90°C;  $[\alpha]_D^{20} - 2.8^\circ$  (c = 1, DMF).

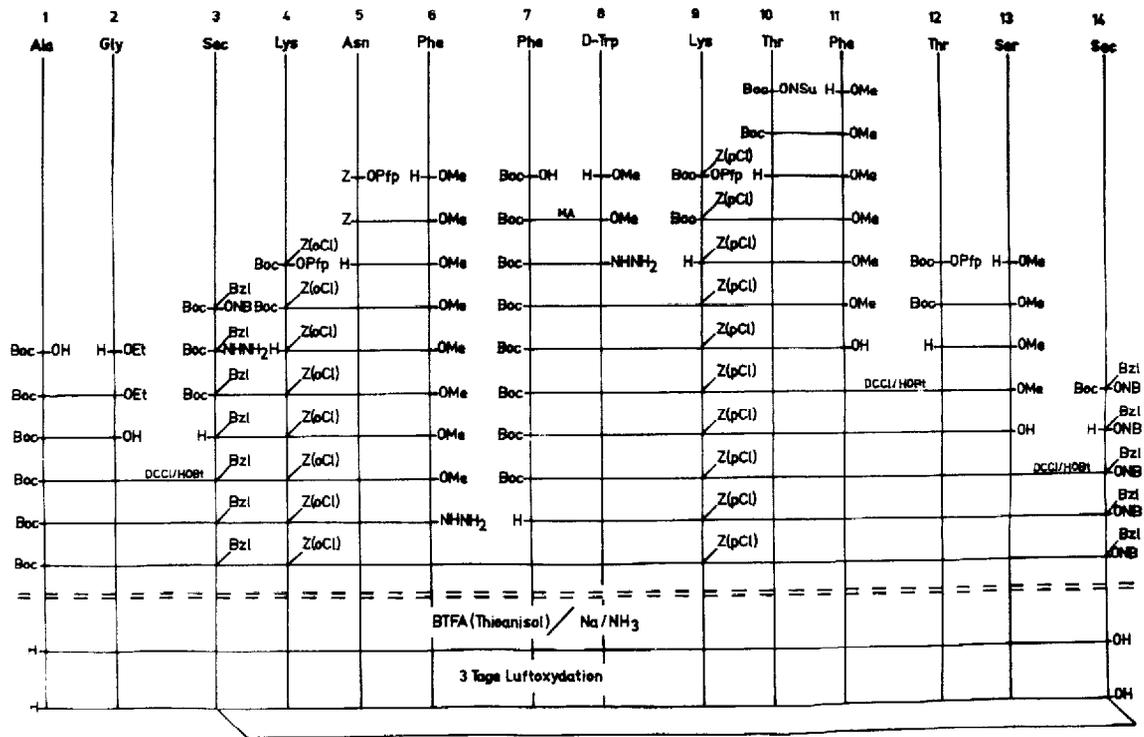


Abb.: Syntheseschema des Diseleno-[D-Trp<sup>8</sup>]Somatostatins

Das N-terminale Hexapeptid wurde ausgehend vom H-Lys[Z(oCl)]-Asn-Phe-OMe, der  
 durch schrittweisen Aufbau über die entsprechenden Pentafluorphenylester er-  
 halten wurde, durch Verlängerung mit Boc-Sec(Bzl)-NH-NH<sub>2</sub> nach der Azid-Metho-  
 de<sup>8</sup> (Ausb.: 50 %) sowie nachfolgender Deblockierung und Anknüpfung von  
 Boc-Ala-Gly-OH mittels des Geiger-König-Verfahrens<sup>9</sup> (Ausb.: 86 %) aufgebaut.  
 Zur Darstellung des C-terminalen Octapeptides wurde das durch eine (2 + 3)-  
 Azidkupplung in 68-proz. Ausbeute erhaltene Pentapeptid Boc-Phe-D-Trp-

Lys[Z(pCl)]-Thr-Phe-OMe nach der Esterverseifung mit H-Thr-Ser-OMe zum N-geschützten Heptapeptidmethylester (DCCI/HOBt: 90 % Ausb.) verknüpft, der nach C-terminaler Deblockierung mit H-Sec(Bzl)-ONB wiederum mittels DCCI/HOBt<sup>9</sup> zum gewünschten Segment-(7-14) umgesetzt wurde.

Die Vereinigung der beiden Segmente zum vollgeschützten Tetradecapeptid gelang in 63-proz. Ausbeute mittels der Azidvariante nach Honzl und Rudinger<sup>8</sup>:

Fp. 195 - 220°C (Zers.);  $[\alpha]_D^{25} - 17.3^\circ$  (c = 1, DMF); dünn-schichtchromatographisch einheitlich in 2-Butanol-Ameisensäure-Wasser (75:13.5:11.5), 1-Butanol-Essigsäure-Wasser (4:1:1) und 1-Butanol-Pyridin-Essigsäure-Wasser (4:1:1:2); Aminosäureanalyse<sup>10</sup>: Ala 1.0 (1), Gly 1.0 (1), Lys 2.2 (2), Asp 1.0 (1), Phe 3.2 (3), Thr 1.8 (2), Ser 0.9 (1).

Zur Entfernung der Schutzgruppen wurde das Tetradecapeptid-Derivat mit Bortris(trifluoracetat) in Gegenwart von Thioanisol<sup>11</sup> und danach zur Vervollständigung der Deblockierung mit Natrium in flüssigem Ammoniak behandelt. Die anschließende Cyclisierung erfolgte in Analogie zur Disulfidbrückenbildung beim Somatostatin<sup>12</sup> durch Luftoxydation in stark verdünnter wäßriger Lösung bei pH 6.5. Nach Konzentrierung der Lösung an einer Amberlite IRC-50-Säule wurde das Rohprodukt durch zweimalige Gelfiltration an Sephadex G-25F unter Verwendung von 2 M bzw. 1 M Essigsäure als Elutionsmittel gereinigt. Die Lyophilisation lieferte 58 mg (11 % d. Th.) dünn-schichtchromatographisch einheitliches Diseleno-[D-Trp<sup>8</sup>]Somatostatin:  $[\alpha]_D^{30} - 26.8^\circ$  (c = 1, 1 M Essigsäure);  $R_F$  0.43 in 1-Butanol-Pyridin-Essigsäure-Wasser (4:1:1:2); Aminosäureanalyse<sup>10</sup>: Ala 1.0 (1), Gly 0.8 (1), Lys 1.8 (2), Asp 0.9 (1), Phe 3.0 (3), Thr 1.8 (2), Ser 0.9 (1). 117 mg einer zweiten dünn-schichtchromatographisch uneinheitlichen Fraktion konnten nicht weiter gereinigt werden. Diese Befunde bestätigen den insgesamt unbefriedigenden Verlauf der Finaldeblockierung und unterstreichen die Notwendigkeit der Erprobung von Selen-Schutzgruppen, die unter mildereren Bedingungen abgespalten werden können.

Am Modell des isoliert perfundierten Pankreas der Wistar-Ratte<sup>13</sup> wurde die Wirksamkeit des Diseleno-[D-Trp<sup>8</sup>]Somatostatins auf die Insulin- und Glukagonsekretion in vitro untersucht. Analog dem Somatostatin (linear, Sereno, Freiburg, BRD) hatte das Diseleno-[D-Trp<sup>8</sup>]Somatostatin (152.8 nmol/l) einen hemmenden Einfluß auf die durch hohe Glucosekonzentrationen (11 nmol/l) induzier-

te Insulinsekretion. Nach der Stimulation der Insulin- und Glukagonsekretion durch 10 nmol Arginin/l in Gegenwart von 5.5 nmol Glucose/l führten unterschiedliche Konzentrationen von Diseleno-[D-Trp<sup>8</sup>]Somatostatin (57.8 nmol/l bzw. 5.8 nmol/l) zu einer Hemmung der Insulin- und Glukagonsekretion, die mit der nach Perfusion mit der gleichen Konzentration Somatostatin identisch war. Über Einzelheiten des Einflusses von Diseleno-[D-Trp<sup>8</sup>]Somatostatin auf die Insulin- und Glukagonsekretion wird gesondert berichtet<sup>14</sup>.

#### LITERATUR UND ANMERKUNGEN

1. D. F. Veber, F. W. Holly, R. F. Nutt, S. J. Bergstrand, S. F. Brady, R. Hirschmann, M. S. Glitzer und R. Saperstein, *Nature* **280**, 512 (1979) u. zit. Lit.; D. F. Veber, 6th Amer. Peptide Symp., Washington, 1979, Abstr. D-II, S. 38.
2. R. Walter und V. du Vigneaud, *J. Am. Chem. Soc.* **88**, 1331 (1966) u. zit. Lit.
3. Abkürzungen für Aminosäure- und Peptidderivate vgl. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, *J. Biol. Chem.* **247**, 977 (1972); Sec = L-Selenocystein; BTFA = Bortris(trifluoracetat); DCCI = Dicyclohexylcarbodiimid; HOBt = 1-Hydroxybenzotriazol; ONB = 4-Nitrobenzylester.
4. J. Rivier, M. Brown und W. Vale, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **65**, 746 (1975).
5. B. Hartrodt, K. Neubert und H.-D. Jakubke, Pharmazie, in Vorbereitung.
6. D. Theodoropoulos, I. L. Schwartz und R. Walter, *Biochemistry* **6**, 3927 (1967).
7. Die neuen Verbindungen Boc-Sec(Bzl)-NH-NH<sub>2</sub> und H-Sec(Bzl)-ONB · HCl zeigten zutreffende Elementaranalysen.
8. J. Honzl und J. Rudinger, *Coll. Czech. Chem. Commun.* **26**, 2333 (1961).
9. W. König und R. Geiger, *Chem. Ber.* **103**, 788 (1970).
10. Alanin diente als Bezugswert für die Aminosäureanalyse.
11. J. Pless und W. Bauer, *Angew. Chem.* **85**, 142 (1973).
12. N. Fujii und H. Yajima, *Chem. Pharm. Bull.* **23**, 1596, 2446 (1975).
13. B. Bierwolf und W. Blech, *Acta biol. med. germ.* **35**, 421 (1976).
14. B. Bierwolf, B. Hartrodt, K. Neubert, H.-D. Jakubke und W. Blech, *Endokrinologie*, in Vorbereitung.

(Received in Germany 11 February 1980)